

クサガメビテロジェニンアッセイ (ELISA 法) の野外調査への応用

多田哲子^a、坂 雅宏^a、上田彬博^a、鎌田洋一^b

a 京都府保健環境研究所、b 大阪府立大学農学部獣医学科

日本本土に分布するヌマガメのうち、生息範囲の広いクサガメを調査対象とし、ビテロジェニン(VTG)アッセイを応用した。VTGアッセイには、クサガメ VTG ポリクローナル抗体(1次抗体)+抗原(VTG)+ビオチン付 VTG 抗体(2次抗体)にストレプトアビジンペルオキシダーゼを結合させ、基質を添加して発色させるサンドイッチ ELISA 法を用いた。この方法を用い、京都府内の河川・池沼について、周囲の状況から清浄と考えられる河川(対照地点 A)、池沼(対照地点 B)及び生活排水が混入している小河川(汚染地点 C)、外因性エストロジェンの汚染を受けている可能性の高い下水処理場放流地点直下の河川(汚染地点 D)の4地点で捕獲したカメの血清 VTG を測定した。もっとも多く個体を捕獲した対照地点 A での雄の血清 VTG 濃度範囲は 0.1~0.6 $\mu\text{g/ml}$ だった。雌の血清 VTG 濃度分布には2つのピークが見られ、0.1~1 $\mu\text{g/ml}$ の間に見られるピークは未成熟雌、10~15,000 $\mu\text{g/ml}$ の間に見られるピークは成熟雌のものと考えられた。特に成熟雌血清の VTG 濃度は、対数変換で背甲長との相関が見られた。より清浄な対照地点 B の雄 VTG 濃度はすべて 0.5 $\mu\text{g/ml}$ 未満であった。一方、汚染地点 C では、VTG 濃度が明らかに高い雄が2個体(1.1, 1.7 $\mu\text{g/ml}$ 、同地点で捕獲した雄の約2%)見つかった。更に、下水処理場放流地点直下の汚染地点 D では、対照地点での濃度分布域から1桁も高い(2.8, 5.9 $\mu\text{g/ml}$)VTG が雄2個体から検出された。魚類では下水処理場放流地点直下の河川や閉鎖性海域などで高いVTG濃度を示す雄の事例など、外因性エストロジェンの影響を示唆する事例が数例報告されているが、クサガメにおいても、同様の影響が生じている可能性が示唆された。

Field studies using a Reeves' pond turtle *Chinemys reevesii* vitellogenin assay by ELISA for investigation into the effects of xenoestrogens

Noriko Tada^a, Masahiro Saka^a, Yoshihiro Ueda^a, Yoichi Kamata^b

^a Kyoto Prefectural Institute of Hygienic and Environmental Sciences

^b Department of Veterinary Science, College of Agriculture, Osaka Prefecture University.

We developed a sandwich ELISA to measure the serum vitellogenin (VTG) concentration of the Reeves' pond turtle *Chinemys reevesii*, a widespread species in Japan. We collected serum samples of the turtles captured from two reference sites (sites A and B) and two polluted sites (sites C and D) in Kyoto Prefecture and measured the VTG concentration by the ELISA. In the reference sites, the VTG concentration of male turtles ranged from 0.1 to 0.6 $\mu\text{g/ml}$ (site A) and was lower than 0.5 $\mu\text{g/ml}$ (site B). On the other hand, in site C (a small stream receiving domestic wastewater), the VTG concentration of two male turtles (2 % of a total no. of male turtles captured at this site) was 1.1 and 1.7 $\mu\text{g/ml}$, significantly higher than that of reference male turtles. Moreover, in site D (a small river directly receiving wastewater from a sewage treatment plant), the VTG concentration of two male turtles was extremely high (2.8 and 5.9 $\mu\text{g/ml}$). These suggest that freshwater turtles may have been biochemically affected by estrogens or estrogen-like chemicals as well as fish on which effects of xenobiotic estrogens have been well-studied by the VTG assay.