

内分泌攪乱物質の生物的分解と評価

齋藤隆雄、加藤且也、横川善之
産業技術総合研究所 セラミックス研究部門

【目的】プラスチック可塑剤、プラスチック樹脂や非イオン系界面活性剤原材料などの一般産業化学物質に内分泌攪乱作用の可能性が指摘されている。本研究では、内分泌攪乱性が疑われる bisphenol A(BPA) や nonylphenol(NP)などを対象にして、これら化合物の土壌分離菌産生ラッカーゼによる効率的分解とエストロゲン感受性培養細胞を用いた内分泌攪乱性評価法を検討した。

【方法及び結果】土壌から分離したラッカーゼ生産菌 I-4 株は *Chaetrom iaceae*(科)に系統上含まれる不完全菌類と推定された。カフェ酸を添加したポテトデキストロース培養液中には、BPA や NP に対して分解活性を有するラッカーゼが分泌生産されていた。培養液から硫酸沈殿、陰イオン交換クロマトグラフィにより SDS-PAGE 上でほぼ単一バンドまで精製した。本ラッカーゼは至適 pH7.0、至適温度 42°C、分子量約 70kDa-80kDa、等電点 3.5 を示した。紫外一可視分光と電子スピン共鳴スペクトル解析により、1 分子中に Cu(II)を 4 分子含む銅酵素であることが明らかになった。本ラッカーゼは BPA、NP 以外にも内分泌攪乱物質である 4-octylphenol、2,4-dichlorophenol などのフェノール性化合物を分解した。さらに本ラッカーゼと 17 β -estradiol をメディエータ(HOBt)存在下で 40°C、24 時間反応したところ、ほぼ完全分解されることが示された。さらに、これら内分泌攪乱物質のラッカーゼによる酸化反応産物のエストロゲン活性はレポータ遺伝子を組み込んだヒト乳ガン細胞(MVLN 細胞、Pons ら)を用いて評価した。

本研究の一部は、環境省の平成 14 年度地球環境保全等試験研究費「産業起源内分泌攪乱物質の環境複合毒性検出システムの開発と動態予測モデル作成に関する研究」の一環として行ったものである。

Biodegradation of endocrine disruptors by fungal laccase and bioassay of estrogenic activity with hormone sensitive cells

Takao Saito, Katsuya Kato, Yoshiyuki Yokogawa

Ceramics Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Japan

Laccase producing fungi were screened from soil to utilize laccases for degradation of endocrine disrupting compounds, such as bisphenol A (BPA) and nonylphenol (NP). Laccase producing fungus strain I-4 was grown at 30°C for 7 days in potato dextrose broth supplemented with caffeic acid as an inducer. Laccase was purified from culture medium to homogeneity on SDS-PAGE gel by ammonium precipitation and anion exchange column chromatography. The optimum pH and temperature were 7.0 and 42°C, respectively. The purified laccase was found to be monomeric polypeptide of 70-80 kDa with the isoelectric point (pI) of 3.5. The UV-visible and EPR spectrum of the purified enzyme showed the presence of four Cu (II) ions in a different coordination environment. In addition to BPA and NP, laccase degraded 4-octylphenol, 2,4-dichlorophenol and 17 β -estradiol. Estrogenic activities of these reaction products were estimated with MCF-7 transformed with luciferase as a reporter gene (MVLN cells, Pons et al.).

This work was supported by Ministry of Environment (Japan).