

氏名	ATHANASSIOS KUNGOLOS		
学位(専攻分野)	博 士(学 術)		
学位授与番号	博 甲 第 1027 号		
学位授与の日付	平成 4 年 3 月 28 日		
学位授与の要件	自然科学研究科生産開発科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文題目	Studies on a short-term bioassay of toxic chemicals using <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> を用いた有害化学物質の短期間生 物試験に関する研究)		
論文審査委員	教授 青山 勲	教授 長堀 金造	教授 四方田 穆
	教授 木村 和義	教授 篠田 純男	

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

有害化学物質の真核微生物を用いた毒性試験法を開発するために、酵母*Saccharomyces cerevisiae*を供試生物として用いた。また、*S. cerevisiae*の突然変異体にDNA修復機能欠損株があり、これを利用する事によって、化学物質のDNA損傷性を検出するシステムの開発を試みた。化学物質による毒性の評価を行うために、*S. cerevisiae*の増殖解析からいくつかの指標化を行ったところ、最大比増殖速度と生存率が最も高い感受性を示した。供試した主な化学物質は重金属類とPCP及び12種のクロロフェノール類である。一例として、重金属の毒性指標として、最大増殖速度を取り上げ、EC₅₀を比較してみると、CH₃HgClの3.5x10⁻⁴mmol/Lを筆頭にNiCl₂が最も毒性が弱く2.3mmol/Lであった。有機水銀は無機水銀より2桁毒性が強かったが、細胞内への取り込みも2桁多かった。これらの重金属の相互作用の様式を統計理論から定式化して評価したところ、多くは相加作用であったが、組み合わせによって相乗作用を示すものがあった。クロロフェノール類の毒性はその分子中の塩素数が多いほど毒性が強まった。これらの分子特性係数を用いて毒性の構造活性相関関係を重相関解析を行ったところ、オクタノール-水比と最も高い相関が得られた。DNA修復機能欠損株と野生株との増殖差から化学物質のDNA損傷性について検討した。環境変異原物質として知られている4NQOと非変異原物質であるkanamycinを検証物質として供試したところ、前者は両株の間に増殖差が認められたが、後者には差が認められなかった。この事から真核微生物である*Saccharomyces cerevisiae*を用いてDNA損傷性の供試

生物としての利用の可能性が認められた。

論文審査の結果の要旨

本論文は真核微生物である酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を用いて、有害化学物質の毒性評価を行うことと、併せて酵母を用いた生物毒性試験法の開発を試みたものである。まず酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を化学物質の毒性試験の供試生物として利用する理由と利点について述べている。本研究においては毒性を評価するために、酵母の増殖特性を解析し、生存率、比増殖速度、増殖曲線の描く面積、増殖曲線の変曲点、最大増殖量、最大細胞密度に達するまでの時間を指標として、それらの化学物質に対する感受性について比較検討を行ったところ、生存率と最大比増殖速度が最も良い結果を与えることを示した。これらを主たる毒性評価の指標として、化学形態の異なる水銀化合物の毒性について調べた。有機水銀は無機水銀より毒性が強く、同時に細胞内にも多量の水銀を濃縮することがわかった。Cd, Ni, Cr, Zn, Pb, Cuの毒性は、Cdが最も強く、無機水銀と同程度の毒性を示した。これらは錯形成剤EDTAの添加により毒性が緩和されることが明らかにされた。これらの重金属間の相互作用についての確率論的なアプローチからの理論的解析が行われ、大部分が相互作用であるが、重金属濃度の高い組合せでは相乗作用になることが示された。13種類のクロロフェノール化合物についての毒性評価を行ったところ、毒性の強さはクロロフェノールの塩素数の増加とともに増加した。これらの化合物の分子パラメータを用いて構造活性相関の重回帰分析が行われ、3つの分子パラメータを用いて、0.98以上の高い重相関係数が得られた。さらに本論文ではDNA修復機能欠損株を用いて、真核微生物をDNA損傷試験に利用する可能性について論じた。変異原として良く知られている4NQOと非変異原物質であるKanamycinを用いた試験結果から、上述の可能性について検証している。これらの研究は、真核微生物、酵母を用いた生物毒性試験法を確立する上に重要な知見を提供するものである。

これらの研究成果は学術上寄与するところが大きく、本論文の内容、論文発表会、参考論文等を総合的に審査した結果、博士(学術)の学位論文に値するものと判定した。