

エチジウムブロマイド（変異原物質）の新しい処理方法

キーワード：エチジウムブロマイド、変異原物質、遺伝子工学実験、DNA、グリシニン、オカラ

はじめに

遺伝子（DNA）を扱うバイオ研究者にとって、2008年4月25日付け毎日新聞社会面のトップ記事は、驚きだったでしょう。それには、「ある大学において 遺伝子組換え実験で使用される発ガン性物質のエチジウムブロマイド（以下、EB）が適切に処理されていなかった」とあり、しかもEBはバイオ研究者にとって日常的に扱う試薬だったからです。ところで、記事はゲル中のEBですが、ゲルを染めるのに用いたEB廃液の方が量的にも多く、むしろ課題はこちらの処理であると言えます。

新しいEB処理技術の開発は、EBの適切な処理の推進とともに、新しいビジネスへの取り組みにも繋がることとなります。当研究所では、EBの処理について従来よりもはるかに効率的な方法を見つけました¹⁾。その新しい処理技術を紹介します。

エチジウムブロマイドとは

EBの構造を図1に示しますが、EBはDNAの二本鎖に入り込み強く結合します。このDNAへの強い結合が突然変異（発ガン性）を誘導することになります。電気泳動などで分離したDNAを見ることはできませんが、ゲルをEB溶液に浸して染色するとEB結合DNAは図2のように蛍光を発するので、バンドとして観察できるようになります。

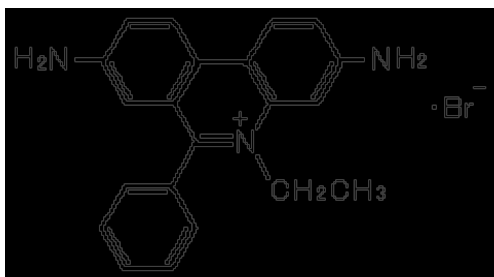


図1 エチジウムブロマイドの構造

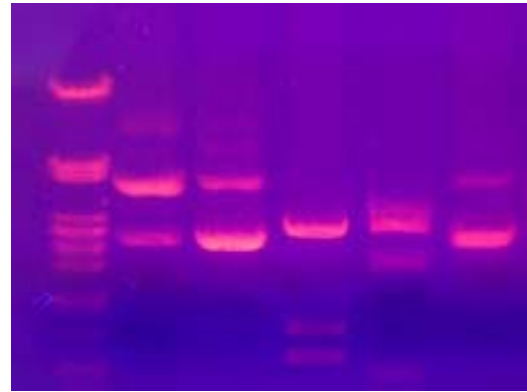


図2 DNAの電気泳動ゲル

エチジウムブロマイド処理の現状

EBは強い変異原性を示すので、使用中はもちろんのこと使用後の廃液についても取り扱いに十分な注意が必要です。アメリカの大学などでは、厳格な処理指針にもとづいて処理方法が具体的に指示されていますが、日本ではEBについて危険性の認識はあるものの、そこまでは徹底されていないのが現状です。

表1 エチジウムブロマイド処理の現状

処理方法	原理	評価	備考
<input type="checkbox"/> 下水への放流	希釈	×	もつてのほか
<input type="checkbox"/> 次亜塩素酸	脱色	×	より危険な物質へ
<input type="checkbox"/> 活性炭・樹脂	吸着	○	吸着状況が不明確
<input checked="" type="checkbox"/> 新しい方法	吸着	◎	吸着状況が明確

現在行われているEBの処理方法を表1に示します。いくつかの処理キットが商品化されていますが、主に活性炭や樹脂による吸着です。これらの問題点は、吸着状況が明確でないことで、不完全な処理の状態です。なお、古くは次亜塩素酸（ブリーチ）を用いて透明化を目途に処理していましたが、より危険な化合物

に変換されるとの報告もあり、今では推奨されていません。

エチジウムブロマイドの新しい処理

先に、食品製造の副産物である“オカラ”が、タンパク質の電気泳動分析で使われる染料(coomassie brilliant blue; CBB)をよく吸着することを報告しましたが²⁾、EBも非常によく吸着します。また、微生物の変異処理に使われるアクリジンオレンジ(AO)も同様によく吸着します。オカラ、活性炭および樹脂について、EBやAOの吸着特性を図3に示しますが、吸着速度に大きな差があり、オカラによるEBの吸着は5分で80%以上、15分で完了します。

その吸着機構ですが、EBは側鎖に解離性のアミノ基を持ちますが、その基本構造は芳香環が縮合した疎水性の高い化合物です。一方、オカラに残存するグリシニンも疎水性が高いタンパク質ですので、EBはオカラに残存しているグリシニンに疎水的に結合して吸着すると考えられます³⁾。

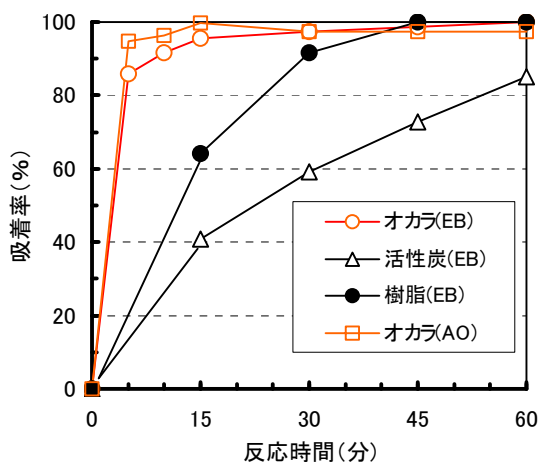


図3 各種材料のEB吸着の経過

吸着システムの開発

オカラが活性炭や樹脂に比べてはるかに強い吸着力をもつことがわかりましたが、この優れた性質を活用してEB処理を広く普及するには、吸着システムの構築が必要となりま

す。そのシステムで重要なことは、EBは強力な変異原性を持つことから、吸着が確実に行われていることの確認です。市販の吸着システムでは活性炭が黒いので吸着状況を確認することは困難です。一方、オカラは白いので吸着は赤く染着することによって容易に確認できます。図4は注射器を用いて試作したカラム方式の吸着システムです。通常の濃度(0.5 μg/ml)の染色液を5回(合計1 L)流した場合ですが、吸着力が強いのでEBは最上部に緊密なバンドで染着されています。なお、流下液にEBは含まれておらず、吸着は完全に行われていることを確認しています⁴⁾。



図4 試作ツール

おわりに

オカラは、変異原物質であるEBを活性炭や樹脂よりもはるかに迅速に吸着します。吸着機構はオカラに残存するタンパク質・グリシニンへの結合によるものと考えられ、EB処理の普及に向けたシステム開発はオカラからグリシニンを含む粒状ゲルでの利用へと進んでいます。日本国内でのEBは未規制ですが、欧米での規制は厳格です。EBは世界中のバイオ研究室で日常的に使われており、その市場は日本の20倍と言われているので、吸着システムの開発は新しいビジネスの創出に繋がる可能性を秘めています。

参考文献

- 1)特開 2007-29815 号「変異原物質吸着剤」
- 2)テクニカルシート (No. 02006) 2002 年発行
- 3)大豆たん白質研究、7, 63-68(2004)
- 4)生物工学 (日本生物工学会誌)、第 85 巻第 11 号 498-499(2007)

作成者 環境・エネルギー・バイオ系

藤原 信明 Phone: 0725-51-2686 (藤原)

増井 昭彦 Phone: 0725-51-2688 (増井)

発行日 2008 年 10 月 15 日