

P-17

活性酸素産生系物質の変異原性検出における WP2 系 *oxyR* 変異導入株の有用性について

○小田大, 上垣外智之, 荒木明宏, 松島泰次郎
(日本バイオアッセイ研究センター、変異原性試験部、微生物試験室)

【目的】M. Blamco らの開発した WP2 系 *oxyR* 変異株は活性酸素産生系物質である menadione の変異原性を検出できる。そこで *oxyR* 変異導入株と非導入株の活性酸素産生系物質への感受性を比較した。

【方法】WP2/pKM101, WP2uvrA /pKM101, IC202: WP2*oxyR* /pKM101, IC203: WP2uvrA *oxyR* /pKM101 菌株を用い、活性酸素産生系物質 18 物質への変異原性をプレインキュベーション法 37℃、20 分で調べた。得られた変異原性の強さを比活性(revertants/mg)で比較した。

【結果】変異原性を示した 12 物質の、cumene hydroperoxide(HP), t-butyl hydroperoxide(BHP), hydrogen peroxide(H₂O₂), formaldehyde(FA), phenylhydrazine(PHZ), phenazine metosulfate(PMS), phenazine etosulfate(PES), menadione(MD), plumbagin(PB), adriamycin(AM), hydroquinone(HQ), streptonigrein(STN)のうち、HP, BHP, H₂O₂, PHZ, MD, PB の変異原性は WP2/pKM101, WP2uvrA /pKM101 よりも IC202, IC203 において強く検出でき、MD, PB の変異原性は IC202, IC203 でのみ検出できた。FA, HQ の変異原性は WP2/pKM101, WP2uvrA /pKM101 と IC202, IC203 で強さに差はなかった。PMS, PES, AM, STN の変異原性は IC202, IC203 よりも WP2/pKM101, WP2uvrA /pKM101 において強く検出された。

P-18

大腸菌 WP2uvrA 由来株を用いる突然変異スペクトルの簡易解析法の開発 (2) : pKM101 の導入菌株作製とフリーラジカル生成変異原の解析

○太田 敏博¹, 橋本 麻由美¹, 山形 秀夫¹, 赤沼 三恵²
(¹東薬大・生命科学, ²残留農薬研)

【目的】変異原性試験で広く用いられている大腸菌 WP2uvrA 株で突然変異誘発スペクトルを解析する目的で、この菌株から WP3101~WP3106 の 6 菌株のセットを作製した(1)。各々の菌株のもつ F' 因子上の *lacZ* 遺伝子に生じる特定の型の復帰突然変異を指標にして 6 種類の塩基対置換変異が個別に測定できる。今回、変異原に対する感受性を高めるため、プラスミド pKM101 を導入した菌株セットを作製し、DNA 鎖切断作用が知られている種々のフリーラジカル生成変異原について解析した。

【材料と方法】WP3101~WP3106 (*uvrA*, *trpE*, *lacZ*) に TA100 株より pKM101 を移し WP3101P~WP3106P の 6 菌株を作製した。フリーラジカル生成物質として hydroxyfuranone 類、peroxide 類、phenazine 類、hydrazine 類、および diazo 化合物などを用い、プレインキュベーション法で処理した。最少ラクトース寒天プレートにまき、2 日間培養後に Lac⁺ 復帰変異コロニーを計数した。

【結果】まず親株に相当する WP2uvrA/pKM101 株を用いた Trp⁺ 復帰変異試験を行い、変異原性が認められた化合物について Lac⁺ 復帰変異を指標として誘発変異の特異性を解析した。その結果、主に G:C→T:A トランスバージョンのみを誘発するタイプのものと、G:C→T:A 変異の他にも G:C→A:T, A:T→T:A, A:T→C:G, A:T→G:C 変異など多種類の変異を誘発するタイプに分けられた。今回作製した菌株で、ハイドロキシルラジカル等を生成する変異原による誘発突然変異スペクトルを簡単に調べることができた。

(1) Ohta et al., Mutation Res., 413, 219-225, 1998