

P-71 (O-9)

10 種類のヒトチトクローム P450 および NADPH-チトクローム P450 還元酵素を発現する変異原性試験用サルモネラ菌株の樹立

○山崎義征、藤田健一、中山佳都夫、鈴木昭浩、鎌滝哲也 (北大・薬・代謝分析)

【目的】環境中に存在する変異原物質の多くは代謝的活性化されてはじめて変異原性を示す。代謝的活性化には種差が存在するため、ヒトにおける変異原性を予測するためにはヒトの酵素を用いることが望ましい。しかしながら、ヒトの組織や酵素の入手は困難である。そこで、ヒトチトクローム P450 (P450) および NADPH-チトクローム P450 還元酵素 (OR) を同時に発現するサルモネラ菌株を樹立し、ヒトにおける変異原性を予測する系としての有用性について検討した。

【方法】10 種類のヒト P450 と OR との同時発現プラスミドを構築し、サルモネラ菌 TA1538 株に導入して各 P450 分子種と OR を同時に発現する変異原性試験菌株を樹立した。各 P450 分子種について発現条件を検討し、P450 による代謝的活性化を必要とする変異原物質である aflatoxin B₁ (AFB₁)、2-acetylaminofluorene (2-AAF)、2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) の変異原性試験を行った。

【結果】当面、CYP1A2、CYP2C9、CYP3A4 と OR を同時に発現するサルモネラ菌株について評価した。AFB₁ の変異原性は CYP1A2、CYP3A4 発現菌株で、2-AAF および PhIP の変異原性は CYP1A2 発現菌株にて検出された。これらの化合物の代謝的活性化に関与する P450 についての知見は従来との一致するものであり、樹立した菌株はヒトにおける変異原性を予測する系として有用であることが示唆された。

現在、他の CYP を発現する菌株について検討中である。

P-72 (O-8)

ヒト胎児型 P450 CYP3A7 を発現するサルモネラ菌株の樹立

○山田愛弥子¹、藤田健一¹、Guengerich, F. P.²、鎌滝哲也¹、(¹北大院・薬・代謝、²Vanderbilt 大)

【目的】CYP3A7 はヒト胎児肝に発現する主要な P450 分子種であるが、近年ヒト胎児組織の入手が困難であることから、CYP3A7 の毒性学的な機能はほとんど明らかにされていない。本研究では、CYP3A7 によって代謝的に活性化される変異原物質を検出する簡便な *in vitro* 試験系の開発を目的とし、変異原性試験に用いられるサルモネラ菌 TA1538 株に CYP3A7 発現ベクターを導入し、CYP3A7 のサルモネラ菌発現系を構築した。

【方法】N-末端部位を改変した CYP3A7 cDNA を pCW ベクターに組み込んだ発現ベクターをサルモネラ菌 TA1538 株に導入し、CYP3A7 を発現するサルモネラ菌株を樹立した。樹立した菌株を IPTG、 δ -アミノレブリン酸をそれぞれ終濃度 1.0 mM となるように加えた培地で培養し、CYP3A7 を発現させた。CYP3A7 により代謝的に活性化されることが *umu* 試験で明らかにされている変異原物質として AFB₁、IQ、MeIQ を、また代謝的に活性化されない MeIQx を用いて変異原性試験を行ない、復帰変異コロニー数を指標として検討した。

【結果】CYP3A7 を発現する TA1538 株における AFB₁、IQ、MeIQ の比活性はコントロールである pCW を導入した TA1538 株と比較して、1.9 倍、2.4 倍、1.9 倍高かったのに対し、MeIQx の比活性は両菌株でほぼ同程度であった。これは菌体に発現した CYP3A7 が変異原物質の代謝的活性化能を有することを示唆すると考えられる。以上、ヒト胎児型 CYP3A7 によって代謝的に活性化される変異原物質を検出する簡便な *in vitro* 試験系の構築に成功した。