

O-21

ノルハルマンのco-mutagenesis原因物質、aminophenylnorharmanによるDNA付加体生成

○戸塚ゆ加里、塩谷岳樹、石原純子、杉村隆、若林敬二
(国立がんセンター がん予)

DNA adduct formation of aminophenylnorharman, responsible for co-mutagenic action of norharman. Yukari TOTSUKA, Takeji ENYA, Junko ISHIHARA, Takashi SUGIMURA and Keiji WAKABAYASHI

タバコ煙や加熱食品中に存在するノルハルマンはS9 mixの存在下でアニリンと共存させると *S.typhimurium* TA98及びYG1024に対して変異原性を示す。この変異原性の発現はノルハルマンとアニリンとの複合体である9-(4'-aminophenyl)-9H-pyrido[3,4-b]indole (aminophenylnorharman, APNH)の生成によることが明かとされている。APNHのin vitro, in vivoにおけるDNA付加体生成およびその構造について検討した。

APNHをS9 mixの存在下で *S.typhimurium* YG1024と反応させ、生成するDNA付加体を³²P-ポストラベル法の改良付加物増感法で調べた。その結果、3個のDNA付加体スポットが認められ、そのパターンはS9 mix存在下でノルハルマンとアニリンを同時にYG1024と反応させた時に認められるDNA付加体パターンと同一であった。また、APNHを投与したラットの肝臓中にも同じDNA付加体スポットが認められた。更に、このDNA付加体パターンは、APNHの究極活性化体であるN-acetoxy-APNHと2'-deoxyguanosine-3'-monophosphateを反応させた時に認められる付加体パターンとも同一であった。一方、他の塩基との反応では付加体の生成は認められなかった。以上のことから、APNHはグアニン塩基との付加体を生成することがわかった。現在、この付加体の構造解析を行っている。

O-22

トランスジェニックマウスを用いる突然変異スペクトルの解析における *lacII* 遺伝子の有用性

○鈴木孝昌、小原有弘、王 雪、本間正充、林 真
(国立衛研・変異遺伝)

lacII gene is useful for sequence analysis in the transgenic mouse mutation assays.

Takayoshi SUZUKI, Arihiro KOHARA, Xue WANG, Masamitsu HONMA, Makoto HAYASHI (Div. Genet. And Mutagen., NIHS)

[背景] Muta Mouse, Big Blue などラムダファージベクターを用いたトランスジェニックマウスにおいては、本来の標的遺伝子以外にベクター上にある *cII* 遺伝子も標的遺伝子として利用可能である。*cII* 遺伝子は全長 294bp と短く、塩基配列の解析が容易な上、変異体の検出に positive selection が可能であり、その有用性が注目されている。

[方法] 各種変異原物質で処理した Muta Mouse および Big Blue マウスの臓器より抽出したDNAについて、*lacZ* および *lacI* 遺伝子の変異頻度を調べ、上昇の認められた臓器について、Hfl プロテアーゼを欠損した大腸菌を用いた positive selection 法により、*cII* 遺伝子の変異頻度を調べた。また得られた変異体について、ABI310 自動シーケンサーを用いた塩基配列解析を行い変異を同定した。

[結果] DMN, MeIQx, quinoline, procarbazine, cis-platin, α -aminoazotoluene について誘発変異頻度を比較検討した結果、*cII* 遺伝子も *lacZ* および *lacI* 遺伝子と同様に標的遺伝子として使用可能であることが示された。また得られた変異体の塩基配列解析の結果、それぞれの化合物に特徴的な変異スペクトルが得られた。既に 1000 例を超えるシーケンズデータが蓄積しており、その有用性が明らかとなるとともに、現在 Web での公開をめざして *cII* 変異データベースの構築を行っている。