

P-31

gpt delta マウス由来の不死化細胞株の樹立と、*in vitro* 遺伝子突然変異検出系への応用

○竹入 章¹、三島 雅之¹、田中 健司¹、塩田 明文¹、
原田 麻子¹、井上 誠¹、増村 健一²、能美 健彦²
(¹中外製薬(株)富士御殿場研、²国立衛研・変異遺伝)

Establishment of the novel immortalized cell line derived from *gpt delta* mouse, and application to *in vitro* mutagenicity test system

Akira TAKEIRI¹, Masayuki MISHIMA¹, Kenji TANAKA¹, Akihumi SHIODA¹, Asako HARADA¹, Makoto INOUE¹, Ken-ichi MASUMURA², Takehiko NOHMI² (¹Fuji Gotemba Research Labs., Chugai Pharm. Co., Ltd., ²Div. Genet. and Mutagen., NIHS)

gpt delta マウスは、 λ EG10 ベクターを組込まれたトランスジェニックマウスであり、変異原物質により誘発された点突然変異および欠失変異を感度よく検出可能な *in vivo* 試験系である。

この *gpt delta* マウスより不死化細胞株を樹立することにより、 λ EG10 ベクターを保有する細胞株の作製が可能であると考えられた。また、この細胞株を利用することで、少量の化合物を用いて、多様な変異を検出可能で、かつ変異の解析が容易な *in vitro* 試験系の確立が出来るものと期待された。

そこで今回、*gpt delta* マウス肺由来の線維芽細胞を初代培養し、これに新たに作製した SV40 large T 抗原発現ベクターを導入することにより、不死化細胞株を得た。さらに、この細胞をクローニングして *gpt delta* L1 細胞を樹立した。

gpt delta L1 細胞にラット肝 S9 存在下で banzo[a]pyrene を 6 時間暴露させ、約 1 週間培養した後に 6-thioguanine selection および Spi⁻ selection により変異頻度を測定した。その結果、何れの場合も変異頻度が溶媒対照処置細胞と比較して有意に増加した。

このことから、*gpt delta* L1 細胞は *in vitro* 遺伝子突然変異検出系として利用可能であることが示唆された。

P-32

中国沈陽市の大気浮遊粉塵の遺伝毒性の季節変動

○絹川賢代¹、佐々木有¹、松本寛²、鈴木聡³、佐藤哲男³ (¹八戸高専、²北海道環境研、³HAB 協議会)

Seasonal genotoxic activity of airborne particles in Shenyang (People's Republic of China)

¹Masayo KINUKAWA, ¹Yu F Sasaki, ²Yutaka MATSUMOTO, ³Satoshi SUZUKI, ³Tetsuo SATOH (¹Hachinohe Natl. Col. Techn, ²Hokkaido Ins. Environ. Sci., ³HAB Consortium)

中国では経済発展とともに大量の石炭等が燃料として消費されているが、大気中への汚染物質の排出規制は我が国と比べると未だ緩いものである。中国は我が国の偏西風の風上に位置し、様々な大気汚染物質が越境してきている。そこで、中国の東北地方の遼寧省の省都であり重工業都市である沈陽市の大気浮遊粉塵について遺伝毒性の実態と季節変動を検討した。

沈陽市の3箇所（道路近傍、工業地域、住居地域）にHVサンプラーを設置し、2000年9月から2001年8月の1年間の大気浮遊粉塵サンプルを採取した。ジクロロメタンを抽出溶媒として超音波法によって大気浮遊粉塵から有機物質を抽出、抽出溶媒を留去し、DMSOに溶解した。これらのサンプルでヒト肝癌由来のHepG2細胞およびヒトリンパ腫由来のWTK1細胞を4時間処理、コメットアッセイによってDNA損傷の誘発を検出した。HepG2細胞は-S9条件下で、WTK1細胞は-S9、+S9（ラット肝）の条件下でコメットアッセイを行った。3地点のサンプルとも両細胞の-S9の条件下でDNA損傷の誘発はみられ、冬季に高い値となる傾向にあった。WTK1細胞では+S9の条件下でもDNA損傷の誘発はみられたが、-S9の方で高い値が得られる傾向にあった。現在、ヒト肝S9を用いた検討を行っているので、その結果も併せて報告する。