

P-79

コメットアッセイにおいて HepG2 細胞を用いた間接変異原の検出

○齋藤宏美^{1,2}、宮川誠²、奥谷冴子¹、絹川賢代¹、佐々木有¹、(¹八戸高専、²三菱安科研)

Detection of *in vitro* genotoxicity of pro-mutagens by the comet assay with HepG2 cells
^{1,2}Hiromi SAITOH, ²Makoto Miyagawa, ¹Saeko OKUTANI, ¹Masayo KINUKAWA, ¹Yu F Sasaki (¹Hachinohe Natl. Col. Techn, ²Mitsubishi Chemical Safety Institute Ltd)

In vitro 遺伝毒性試験では、供試細胞に薬物代謝活性が欠損するために、phenobarbital/5,6-benzoflavone(PB/FB)で酵素誘導したラット肝S9を外部から加えることが一般的である。しかし、ラットとヒトの肝では発現するP450の分子種が異なるため、ラット肝S9を用いたデータをそのままヒトに外挿することには未知の部分が多い。また、ヒト肝S9を常時用いることは、その供給のみならず倫理的にも問題が多い。そこで、ヒト肝癌由来で薬物代謝活性の一部を保有する培養細胞であるHepG2細胞による間接変異原の検出と、内在性の代謝活性化系を持たないWTK1細胞にヒト肝S9を用いた場合(關橋ら、本大会)の検出感度との比較を試みた。

HepG2細胞を間接変異原で4時間処理し、コメットアッセイによってDNA損傷を検出した。用いた間接変異はヘテロサイクリックアミンを含む芳香族アミン、ニトロソアミン、アゾ色素等40種である。ヒト肝S9を用いた場合と同様にHepG2細胞でも4時間程度の処理でも十分な陽性結果が得られた。ヒト肝S9存在下でWTK1細胞を用いた場合と比べると定量的な差は見られるが、定性的に大きな差は見られなかった。このことから、HepG2細胞を用いた*in vitro*コメットアッセイによって、ヒト肝S9存在下の間接変異原の代謝活性化をよく検出し得ると考えられた。

P-80

染色体異常試験の迅速化についての研究

○武下健次、野口幸弘、橋本淳一、小川 徹
(ユビ・イ・科学分析センター)

Study of culture on *in vitro* chromosome aberration test

Kenji TAKESHITA, Yukihiro NOGUCHI, Jun-ichi HASHIMOTO, Tohru OGAWA (Ube Scientific Analysis Laboratory, Inc.)

【はじめに】*in vitro* 染色体異常試験の特性把握と精度向上を目標に、これまでに、細胞数を減らした方法を検討してきたところ、従来法の1/7~1/2の細胞数でも遜色無い結果が得られた。今回は、前培養期間を短縮して迅速化の可能性を検討した。

【方法】培養3日目(log phase)と6日目(stationary phase)のCHL/IUをトリプシン処理して細胞懸濁液を調製し、5,000個の細胞とMMCを1.5mlマイクロチューブで混合して6h処理した。回復時間12~36hについて染色体異常出現頻度を求め、公定法と比較した。

【結果】log phaseの細胞を使用した場合に比べstationary phaseでは観察可能な中期分裂細胞が約2/5に減少するが、結果は非常に良く一致し、本試験条件では、前培養期間の影響が少ないことが分かった。一方、公定法に比べると、染色体異常出現頻度は低い傾向を示した。この原因については、増殖曲線を調べたところ、倍化時間の影響ではなく、細胞の形態的な要因と考えられた。さらに現在検討中の結果も合わせて報告する。