

P-105

Effect of recovery time in the chromosomal aberration test using cultured mammalian cells

Hiroshi Seki, Toshio Sofuni, Toru Egashira
Safety Studies Division, BML, Inc.

In chromosomal aberration test using cultured mammalian cells (CHL/IU), short treatment of 6 hours followed by recovery time of 18 hours is widely accepted, where the usefulness of this method is characterized by the recovery time. To examine the effect of recovery time in 24-hour continuous treatment, we compared 24h+24h (treatment time+recovery time) with 24h+0h, 48h+0h and 6h+18h using mitomycin C (0.05 μ g/mL). The frequency of aberrant cells in 24h+24h (15.5%) was the same as 6h+18h (15%), while the frequency was higher in 24h+0h (53%) and 48h+0h (57%).

In order to examine the effect of the recovery time in 24-hour continuous treatment, seven recovery times with 4 hour intervals (0, 4, 8, 12, 16, 20 and 24 hours) were investigated. The frequency of aberrant cells at 24h+0h (59%) increased gently as recovery time increased, and reached a plateau at 24h+8h (73.5%) and 24h+12h (71%). The frequency of aberrant cells decreased rapidly beyond this time points and became 12% at 24h+24h. These results indicate that increased recovery time beyond 16 hours is not useful for cells that were continuously treated for 24 hours. Further studies comparing 6-hour short treatment with the results from 24-hour treatment is underway.

P-106

Investigation of test conditions for chromosomal aberration test in CHL/IU – follow-up time course of aberrant cells -

Kouichi MURATA, Akiko OKADA, Kenji TAKESHITA,
Yukihiro NOGUCHI, Masanori TAMURA
UBE Scientific Analysis Laboratory, Inc

Mutagenic compounds induce several types of genetic abnormality as structural aberration or numerical aberration. However, little is known about behavior of aberrant cells after cell cycle progress. Then, to follow-up time course of aberrant cells induced by different mechanism of action, chromosomal aberration test was carried out on some genotoxic chemicals using CHL/IU cell line. Benzo [a] pyrene induced chromosomal structural aberration at 6h treatment time in the presence of S9 mix, and the highest frequencies were obtained at 18h recovery time with fresh medium. At 42h recovery time, it was decreased. On the other hand, Mitomycin C induced structural aberration at 24h treatment time which was peak frequencies of aberration cells in the absence of S9 mix, but not detected at 6h treatment time. At 24h treatment with 48h recovery time, ratio of structural aberration cells was decreased, while polyploidy was markedly increased. Otherwise, we have found an aneugen induced premature chromatid separation and have investigated the relationship to aberrant cells.

培養細胞を用いる染色体異常試験における回復時間の影響について

関博、祖父尼俊雄、江頭徹
㈱BML、安全性試験部

培養細胞(CHL/IU)を用いる染色体異常試験では、6時間処理後18時間の回復時間をおくのが代表的な方法となっており、回復時間がその有用性を高めていると考えられる。今回、我々は24時間連続処理での回復時間の影響を検討するため、mitomycin C (0.05 μ g/ml)を用いて24h+24h(処理時間+回復時間)について24h+0h、48h+0hおよび6h+18hとの比較を行った。その結果、24h+24h (15.5%)の異常頻度は6h+18h (15%)と同様であったが、24h+0h (53%)と48h+0h (57%)に比べると低値であった。

そこで24時間連続処理後の回復時間の影響を詳細に検討するため、回復時間を4時間間隔の7段階(0, 4, 8, 12, 16, 20, 24時間)として調べた。その結果、24h+0h (59%)と比べると回復時間が増えるにつれて異常頻度が緩やかに増加し、24h+8hと24h+12hでプラトーになり(73.5%と71%)、それ以降急速に異常頻度が低下し、24h+24hでは12%となった。このことは24時間連続処理の場合には16時間以上の長時間の回復時間には有効性はないことが判明した。目下、6時間処理についても同様の実験を行い、24時間連続処理の結果と比較検討する予定である。

CHL/IU 細胞を用いた染色体異常試験の条件検討－異常細胞のその後－

村田浩一、岡田明子、武下健次、野口幸弘、田村雅範
ユービーイー科学分析センター

変異原物質は、構造異常や数値異常などさまざまな遺伝的異常を誘発する。しかしながら、細胞周期の進行後、異常細胞がその後どうなるかについてはほとんど知られていない。そこで、異なる作用メカニズムで誘発される異常細胞の時間経過を追うため、いくつかの遺伝毒性物質を用いてCHL/IU細胞における染色体異常試験を実施した。ベンゾピレンはS9 mix存在下、6時間処理で構造異常を誘発し、新鮮培地と交換後、回復時間18時間で最大の出現頻度を示した。その後回復時間48時間には低下した。一方、マイトマイシンCはS9 mix非存在下、処理時間24時間値をピークとした構造異常を示し、6時間値では検出できなかった。24時間処理後48時間回復において構造異常の低下が見られたが、その一方で倍数体の顕著な増加が観察された。その他、我々はpremature chromatid separationを誘発する数値異常物質を見出しており、異常細胞との関連を検討している。