

P-011

Further improvement of high-throughput fluctuation Ames test (Part VII)

Hajime Sui¹, Kumiko Kawakami¹, Hiroko Okutomi¹,
Masami Yamada², Takehiko Nohmi²

¹Hatano Research Institute, FDSC, ²National Institute of Health Sciences

We have improved a fluctuation Ames test (FAT) using a 384-well microplate, and the improved FAT is more sensitive than the conventional method (Sui *et al.*, Genes and Environ., 31, 47-55, 2009). High correlation (i.e., negative specificity: 100%, sensitivity: 71.4% and concordance: 80.0%) was observed between the results of the improved FAT and the Ames test using 40 National Toxicology Program compounds with TA100 and TA98. The improved FAT using YG5161 or TA102 showed high sensitivity for some test compounds. And we conducted the improved FAT by changing the bacterial cell number. As a result, sensitivity of the improved FAT without S9 mix (AF-2 and 4NQO) increased by using one-tenth of the conventional bacterial cell number. Based on these results, we focused on the number of revertants per well required for yellow discoloration of the mixture, and modified the test condition. We will report these results in the meeting.

This study was partly supported by a Grant-in-Aid for Research on Publicly Essential Drugs and Medical Devices from The Japan Health Sciences Foundation.

ハイ・スループット微生物遺伝毒性試験法の検討7

須井 哉¹、川上 久美子¹、奥富 弘子¹、山田 雅巳²、
能美 健彦²

¹(財)食品薬品安全センター秦野研究所、²国立医薬品食品衛生研究所

我々は、384ウェルマイクロプレートを用いるFluctuation Ames Test (FAT) に改良を加えて、感受性を向上させた(改良法FAT, Sui *et al.*, Genes and Environ., 31, 47-55, 2009)。その後、40種のNational Toxicology Program選定化合物を用い、TA100およびTA98を用いた改良法FATとAmes試験の結果に、高い相関性(特異性: 100%、感受性: 71.4%、予測性: 80.0%)が認められること、YG5161株やTA102株の導入により、改良法FATの感受性が高くなる場合があることを明らかにしてきた。また、菌数を変えて改良法FATを行った結果、S9 mix非存在下(AF-2および4NQO)では従来の1/10量の菌数を用いることにより、陽性反応の向上が認められた。この結果を踏まえ、黄変ウェル出現に必要な1ウェル当たりの復帰変異菌数に着目し、改良法FATの試験条件を検討したので、それらの結果を報告する。

本研究は、ヒューマンサイエンス振興財団による政策創薬総合研究事業の一環として行われた。

P-012

High Correlation between Ames and High-Throughput Mutation Test Results of Pharmaceutical Drug Candidates

Hideki Adachi, Kazuyasu Kijima, Toru Yamada,
Juki Kimura, Hitoshi Funabashi

Dainippon Sumitomo Pharma Co., Ltd.

High-Throughput Fluctuation Test (HTFT), a test with the same endpoint as that of the Ames test, has been reported to have a high concordance with the Ames results, when evaluated with industrial chemicals. However, there has been no report so far in which compounds such as pharmaceutical drug candidates were assayed in the test.

In this study, we conducted HTFT with our proprietary 47 drug candidates (21 Ames-negative and 26 Ames-positive) and assessed the predictivity for the Ames results. HTFT was performed in TA100 and TA98 with and without S9 mix. Microplates were used at the pre-incubation and incubation period, and the mutation was detected by measuring pH changes in medium. Our proprietary compounds showed a strong correlation between Ames and HTFT results (sensitivity, 88%; specificity, 86%; concordance, 87%), indicating a high predictivity of HTFT for drug candidates as well. Hence, considering the advantages with respect to the amount of required sample and potential throughput capacity, we concluded that HTFT is applicable to a genotoxicity screening test at the early stage of drug development.

医薬品候補化合物におけるAmes試験とハイスループット変異原性試験の高い相関性

足立 秀樹、木島 和恭、山田 徹、木村 重紀、
船橋 斉

大日本住友製薬(株)

Ames試験と同じく突然変異を指標とするHigh-Throughput Fluctuation Test (HTFT)という試験系が構築され、Ames試験の結果との間に高い相関性があることが報告されている。しかし、一般化学物質による研究は行われているが、医薬品候補化合物を評価した報告はなされていない。

そこで我々は、47の自社化合物(Ames試験陰性: 21、Ames試験陽性: 26化合物)を用いてHTFTを実施し、Ames試験の結果をどの程度予測できるかを検討した。S9 mix非存在及び存在下でTA100株及びTA98株を用いて、マイクロプレートでブレインキュベーション及び培養を行い、培地のpH変化を指標として突然変異を検出した。その結果、自社化合物において、Ames試験とHTFTの結果の間に強い相関性(陽性一致率: 88%、陰性一致率: 86%、全体一致率: 87%)が認められた。本研究によって、一般化学物質ばかりではなく、医薬品候補化合物に対してもHTFTはAmes試験結果の予測性が高いことが実証された。高い予測性に加えて、HTFTは被験化合物の少量化やハイスループット化が可能であることから、創薬研究における初期段階で実施可能な変異原性試験としての有用性が示された。