

## P-027

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

Hajime Sui<sup>1</sup>, Kumiko Kawakami<sup>1</sup>, Saki Negishi<sup>1</sup>,  
Emi Masubuchi<sup>1</sup>, Keita Sonohara<sup>1</sup>, Masami Yamada<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center,

<sup>2</sup>National 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 (NTP) compounds with TA100 and TA98. In the 39th and 41st meetings, we reported that the higher sensitivity was observed without S9 mix (AF-2 and 4NQO) by using one-tenth of the conventional bacterial cell number, and the number of revertants increased by main-incubation after pre-incubation, respectively. Based on these results, we focused on the bacterial cell number and main-incubation, and evaluated the test condition of the improved FAT by using mutagens (AF-2, B[a]P, 2AA, CP etc.) and the NTP compounds which showed positive response in the Ames test, but negative response in the improved FAT. We will report these results in the meeting.

**ハイ・スループット微生物遺伝毒性試験法の検討 9**

須井 哉<sup>1</sup>, 川上 久美子<sup>1</sup>, 根岸 沙記<sup>1</sup>, 増渕 恵美<sup>1</sup>,  
園原 啓太<sup>1</sup>, 山田 雅巳<sup>2</sup>

<sup>1</sup>一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所,

<sup>2</sup>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、感受性を向上させてきた (改良法 FAT, Sui *et al.*, Genes and Environ., 31, 47-55, 2009)。また、40 種の National Toxicology Program (NTP) 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%) が認められることを明らかにした。その後、従来の 1/10 量の菌数を用いることにより、S9 mix 非存在下 (AF-2 および 4-Nitroquinoline-1-oxide) では陽性反応の向上が認められたこと、ブレインキュベーション後の本培養により、復帰変異菌数が増加することを JEMS39 回および 41 回大会において報告した。これらの結果を踏まえ、菌数および本培養に着目し、変異原物質 (AF-2、Benzo[a]pyrene、2-Aminoanthracene、Cyclophosphamide など) および Ames 試験で陽性、改良法で陰性を示した NTP 選定化合物を用いて改良法 FAT の試験条件を検討したので、それらの結果を報告する。

## P-028

**Modified Ames test using a strain expressing human sulfotransferase on genotoxicity evaluation of methyleugenol related compounds**

Kazuyuki Minegawa<sup>1</sup>, Hiroshi Honda<sup>2</sup>, Yurika Fujita<sup>2</sup>,  
Noriko Yamaguchi<sup>1</sup>, Takayuki Fukuda<sup>1</sup>,  
Yoshihiro Oguma<sup>1</sup>, Naohiro Ikeda<sup>2</sup>, Toshio Kasamatsu<sup>2</sup>,  
Naohiro Nishiyama<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tokyo Laboratory, BoZo Research Center Inc.,

<sup>2</sup>R&D - Core Technology - Safety Science Research

Methyleugenol (ME) and various other alkenylbenzenes are known to exhibit genotoxicity via metabolic activation by hydroxylation followed by sulfation. Meanwhile they are reported generally negative in Ames test due to weak activity of sulfotransferase (SULT) in S9mix. Therefore, it is important to evaluate the potential of them in a simple and proper manner.

It is reported that Ames test using strains expressing human SULTs enabled to give a positive response with hydroxylated ME, primary activated form of ME. However, no cases are known about direct detection of the potential of ME itself in Ames test.

We tried to establish the test conditions using TA100-hSULT1C2 strain applicable for evaluation of ME related compounds. Optimizing various factors including metabolic activation condition, incubation time, and etc., gave positive response of ME. This modified test is considered useful for evaluation of genotoxicity on ME related compounds.

**メチルオイゲノール関連物質の遺伝毒性評価におけるヒト硫酸化酵素発現株を用いた改変 Ames 試験**

峯川 和之<sup>1</sup>, 本田 大士<sup>2</sup>, 藤田 侑里香<sup>2</sup>, 山口 典子<sup>1</sup>,  
福田 隆之<sup>1</sup>, 小熊 義宏<sup>1</sup>, 池田 直弘<sup>2</sup>, 笠松 俊夫<sup>2</sup>,  
西山 直宏<sup>2</sup>

<sup>1</sup>株式会社ボゾリサーチセンター 東京研究所,

<sup>2</sup>花王株式会社 基盤研究セクター 安全性科学研究所

メチルオイゲノール (ME) 等のアルケニル基をもつ芳香族化合物の一部は、①水酸化と②硫酸化の二段階の代謝活性化によって遺伝毒性を示すと考えられているが、通常の Ames 試験では陰性結果が得られることが報告されている。そのため、関連物質の遺伝毒性を簡便かつ適正に評価することは重要な課題である。これまでに、一段階目の代謝活性化により生成する ME 水酸化体については、ヒト硫酸抱合酵素 (SULT) を発現する菌株を用いた Ames 試験を実施することにより、陽性として検出できることが報告されている。しかしながら ME の遺伝子突然変異誘発能を、Ames 試験で直接的に検出した事例は知られていない。そこで我々は ME 関連物質の簡便な評価系の構築を目指し、サルモネラ菌の TA100 株に SULT を発現させた TA100-hSULT1C2 株を用いて Ames 試験条件を検討した。その結果、代謝活性化条件、インキュベーション時間等を最適化することで、これまで評価できなかった ME を陽性として正しく評価することができた。本系は ME 関連物質の遺伝毒性評価に有用と考えられる。