

## P-051

**The evaluation of mutagenicity for amino acid containing material using E.coli WP3101P - WP3106P strains**

Saki Negishi, Kumiko Kawakami, Emi Masubuchi, Keita Sonohara, Hajime Sui

Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center

It is often difficult to evaluate the mutagenicity of amino acid containing material in Ames test because His<sup>+</sup> or Trp<sup>+</sup> reverse mutations are used as indexes for the evaluation of mutagenicity. On the other hand, the indexes of reverse mutation assay using E.coli WP3101P – WP3106P strains, developed by T. Ohta et al., are Lac<sup>+</sup> reverse mutation (Mutat. Res., 440, 1999). Thus, we conducted the reverse mutation assay using WP3101P – WP3106P (Lac<sup>+</sup> reverse mutation assay) to assess the usefulness of this assay on the evaluation of mutagenicity induced by amino acid containing mutagens.

We examined the effects of tryptophan on the result of Lac<sup>+</sup> reverse mutation assay. As a result, no increase in the number of revertant colonies and the background lawn was observed as compared with the negative control by adding tryptophan (WP3101P – WP3106P). Then Lac<sup>+</sup> reverse mutation assay was carried out with AF-2 to examine the effects of treated bacterial cell number on the positive response. As a result, the increases of positive response were observed at high dose range by increasing the bacterial cell number (WP3101P and WP3102P, without S9 mix).

Further experiments are in progress. We will also report the results of these experiments in this meeting.

## P-052

**Effect of solvents for Ames test with Acid Chloride**

Shinobu Yoshida<sup>1</sup>, Hajime Sui<sup>2</sup>, Kumiko Kawakami<sup>2</sup>, Kazumi Sasaki<sup>1</sup>, Yuko Obara<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Institute of Technology and Evaluation, <sup>2</sup>Food and Drug Safety Center

Dimethyl sulfoxide (DMSO) is the most commonly used solvent for Ames Test when the test substances are insoluble in water. However, DMSO is reported to react with acid halides.

We analyzed the reactivity with DMSO by GC-MS. Two kinds of acid chloride, o-Toluoyl chloride (CAS.933-88-0) and Octanoyl chloride (CAS.111-64-8), were used in the present study. We also performed the Ames Test using preparations of these substances with DMSO.

As a result, it was found that the compounds, which influence the results of Ames Test, were generated by mixing each acid chloride with DMSO.

In this meeting, we will also report the analysis results using other solvents, and discuss the solvent used for the evaluation of the mutagenicity induced by acid halide.

**大腸菌 WP3101P ~ WP3106P 株を用いたアミノ酸含有物質の変異原性評価**

根岸沙記、川上久美子、増渕恵美、園原啓太、須井哉  
一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所

通常の Ames 試験では、His<sup>+</sup> あるいは Trp<sup>+</sup> 復帰変異を指標としているため、アミノ酸含有物質の変異原性評価が困難となる場合がある。一方、T. Ohta らにより開発された大腸菌 WP3101P ~ WP3106P 株を用いた復帰変異試験は、Lac<sup>+</sup> 復帰変異を指標とする (Mutat. Res., 440, 1999)。そこで、WP3101P ~ WP3106P を用いる復帰変異試験（以下、Lac<sup>+</sup> 復帰変異試験）を行い、アミノ酸含有物質の変異原性評価における有用性を検討した。

最初に、Lac<sup>+</sup> 復帰変異試験において、トリプトファンが結果に影響を及ぼすか否か調べた。その結果、トリプトファンの用量増加に伴う、復帰変異コロニー数および菌叢の増加は認められなかった (WP3101P ~ WP3106P)。次に、処理菌数による陽性反応への影響を調べるために、AF-2 を用いて Lac<sup>+</sup> 復帰変異試験を行った。その結果、処理菌数を増やすことにより、高用量における陽性反応の増加が認められた (WP3101P と WP3102P、S9 mix 非存在下)。

本大会では、現在実施中の結果と合わせて報告する。

**酸クロライドの溶媒による Ames 試験結果への影響**

吉田しのぶ<sup>1</sup>、須井哉<sup>2</sup>、川上久美子<sup>2</sup>、佐々木和実<sup>1</sup>、小原裕子<sup>1</sup>

<sup>1</sup>独立行政法人 製品評価技術基盤機構 化学物質管理センター、

<sup>2</sup>一般財団法人 食品薬品安全センター

DMSO は Ames 試験において、非水溶性の物質に対してもっとも一般的に使用されている溶媒である。しかし、酸ハロゲン化物と反応するとの報告もある。

そこで、2種の酸クロライド、o-トルイルクロライド (CAS.933-88-0) およびオクタノイルクロライド (CAS.111-64-8) を用いて、DMSO との反応性を GC-MS により解析した。また、各化合物の DMSO 調製液を用いて、Ames 試験を行った。

その結果、酸クロライドは DMSO と反応し、Ames 試験の結果に影響を及ぼす化合物を生成することが判明した。

本大会では、DMSO 以外の溶媒を用いた場合の解析結果についても報告し、酸ハロゲン化物の変異原性を評価する際に用いる溶媒について考察する。