

環境変異原研究

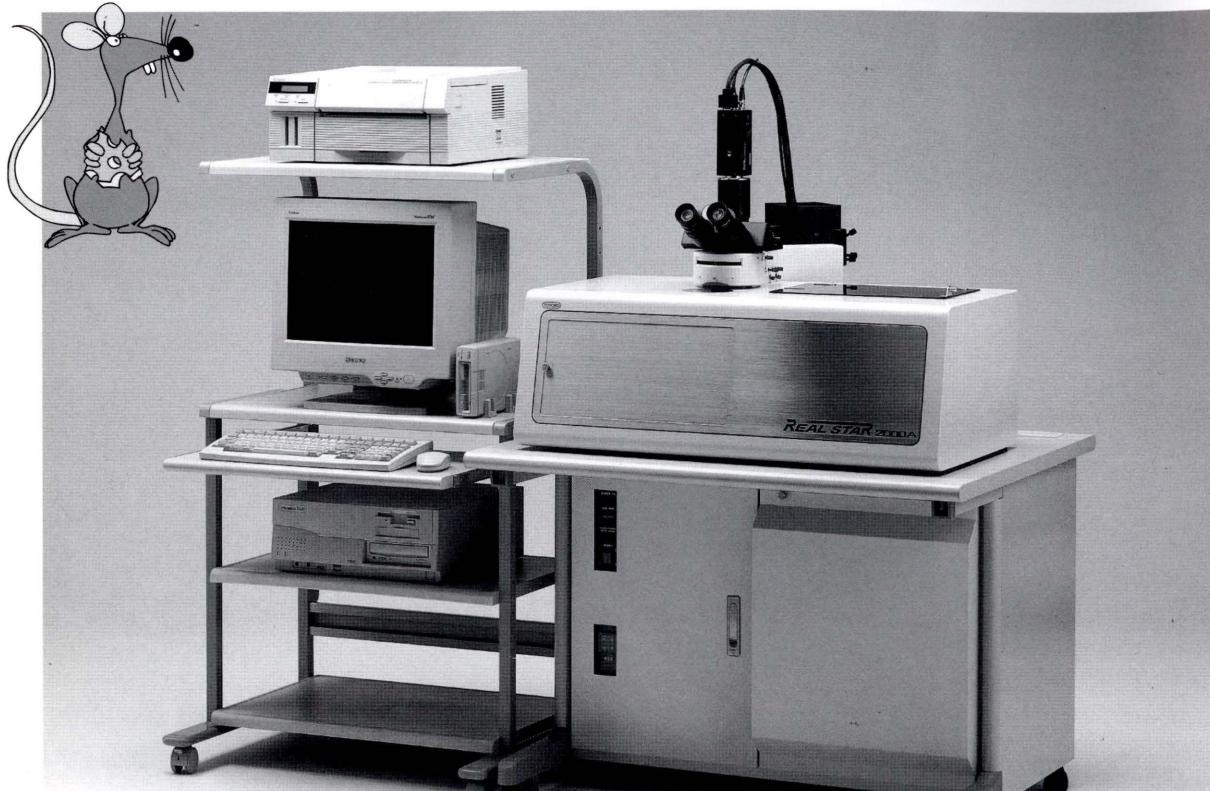
Environmental
Mutagen
Research

Vol.21 No.1 1999

小核試験自動計測装置

REAL STAR²⁰⁰⁰ 2000A

マウス末梢血による小核試験を自動で行い、客観的なデータを
計測することができます。



特徴

1. 標本(スライドグラス)自動供給装置を備えており、30枚までの標本を連続計測できます。
2. 標本名を入力するだけで、後は機械が自動的に計測を行います。
3. 当社のオリジナル技術を駆使した画像処理により、網赤血球(RET)と小核を有する網赤血球(MNRET)を精度良く認識し、個数を計測します。
4. 専用のアクリジンオレンジ塗布済みスライドグラスを用いることにより、簡単に安定したデータが得られます。

*REAL STAR2000Aは、REAL STAR2000に連続計測機能を付加したもので



特徴

1. スライドグラスに既にアクリジンオレンジが塗布されています。
2. 専用の塗布装置を用いているため、均一な塗布が施されています。
3. グリッドありタイプ(末梢血滴下位置及びカバーガラス貼合せ位置を印刷)とグリッドなしタイプがございます。

生化学事業部(東京)

東京都中央区日本橋小網町17番9号 〒103-8530
TEL 03-3660-4819 FAX 03-3660-4951

TOYOB

東洋紡績株式会社
[URL] <http://www.toyobo.co.jp/seihin/xr>

生化学事業部(大阪)

大阪市北区堂島浜二丁目2番8号 〒530-8230
TEL 06-6348-3786 FAX 06-6348-3833

テクニカルライン TEL 06-6348-3888 (開設時間: 9:00 ~ 12:00 13:00 ~ 17:00 土、日、祝を除く)
FAX 06-6348-3833 e-mail:techosk@bio.toyobo.co.jp

Environ. Mutagen Res., 21:1-10(1999)

総 説

茶カテキン類の抗変異原性および抗発がん性(I)

黒田 行昭^{1,2}, 原 征彦¹

¹国立遺伝学研究所 〒411-8540 静岡県三島市谷田 1111

²三井農林(株)食品総合研究所 〒426-0133 静岡県藤枝市宮原 223-1

Antimutagenic and anticarcinogenic activity of tea catechins (I)

Yukiaki Kuroda^{1,2} and Yukihiko Hara²

¹National Institute of Genetics

1111 yata, Mishima, Shizuoka 411-8540, Japan

²Food Research Institute, Mitsui Norin Co., Ltd
223-1 Miyabara, Fujieda, Shizuoka 426-0133, Japan

Summary

Tea is a most popular beverage, consumed by over two thirds of the world's population. Tea is processed differently in different parts of the world to give green (20%), black (78%) or oolong tea (2%). Green tea is consumed mostly in Japan and China. The antimutagenic and anticarcinogenic activities of green tea are extensively examined. The chemical components of green and black tea are polyphenols, which include (-)-epicatechin (EC), (-)-epicatechin-3-gallate (ECG), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and theaflavins (TFs). This article reviews the epidemiological and experimental studies on the antimutagenicity and anticarcinogenicity of tea extracts and tea polyphenols. In Japan, an epidemiological study showed an inverse relationship between habitual green tea drinking and the standardized mortality rates for cancer. Some cohort studies on Chanoyu (Japanese tea ceremony) women teachers also showed that their mortality rates including deaths caused by malignant neoplasms were surprisingly low. The antimutagenic activity of tea extracts and polyphenols including ECG and EGCG against various mutagens has been demonstrated in microbial systems (*Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*), mammalian cell systems and *in vivo* animal tests. The anticarcinogenic activity of tea polyphenols has been shown in experimental animals such as rats and mice, in transplantable tumors, in carcinogen-induced tumors in digestive organs and mammary glands, and in hepatocarcinomas.

This article is a Japanese edition of the review article published in Mutation Research (Kuroda and Hara, 1998) with the permission of Elsevier Science Publishers B. V.

Keywords : green tea, black tea, tea polyphenols, antimutagenesis, anticarcinogenesis

〈略 号〉

2AA : 2-aminoanthracene

9AA : 9-aminoacridine

2AF : 2-aminofluorene

AFB₁ : aflatoxin B₁

AOM : azoxymethane

B[a]P : benzo [a] pyrene

B[a]P diol epoxide : 7β, 8α-dihydroxy-9α, 10α-epoxy-7, 8, 9, 10-tetrahydrobenzo [a] pyrene

DBE : 1, 2-dibromoethane

DEN : N-diethyl-nitrosamine

DMBA : 7, 12-dimethyl benzanthracene

受付：1998年10月9日

受理：1998年11月4日

©日本環境変異原学会

DMH : 1, 2-dimethyl hydrazine
EMS : ethyl methanesulfonate
Glu-P-1 : 2-amino-6-methyl dipyrdo [1, 2-a : 3', 2'-d] imidazole
HCA : heterocyclic amines
IQ : 2-amino-3-methylimidazo- [4, 5-f] quinoline
20MC : 20-methylcholanthrene
MNNG : N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine
NDEA : N-nitrosodiethylamine

NMBA : N-nitrosomethylbenzylamine
N-OH-PhIP : N-hydroxy PhIP
N-OH-Trp-P-2 : 3-hydroxy amino Trp-P-2
NP : 2-nitropropane
4NQO : 4-nitroquinoline 1-oxide
PhIP : 2-amino-1-methyl-6-phenyl imidazo [4, 5-p] pyridine
Trp-P-1 : 2-amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido [4, 3-b] indole
Trp-P-2 : 3-amino-1-methyl-5H-pyrido [4, 3-b] indole

緒 言

茶(*Camellia sinensis*)は、その起源は中国南部地方に発祥したといわれ、全世界人口のおよそ3分2以上の人々の飲物として使用されている。中国の人々は紀元前3,000年頃には早くも茶を医療用に用い、6世紀の終り頃までにすでに一般的な飲料として用いていた。

茶は多くの薬理的な作用があるばかりでなく、飲料としても好まれる。緑茶は世界で生産される茶の約20%で、ウーロン茶は約2%，残りは紅茶である。緑茶は日本および中国で最も多く消費され、この場合は最初に熱い蒸気で葉に含まれる酵素類を不活化し、葉のポリフェノール類の酸化を防ぐ。紅茶は葉を発酵させてカテキン類を酸化させ、カテキン類の2量体であるテアフラビンおよびデアルビンの量をふやす。ウーロン茶は茶を部分的に酸化させたものである。

茶のポリフェノールは強力なラジカルを減少させたり除去する作用がある。それらは発がん過程における種々のプロモーターのラジカルや、放射線や光線に照射される過程で生じるラジカルを無毒化する作用をもつ。茶のポリフェノールは消化管内で亜硝酸を還元することにより、強い発がん作用のあるニトロソ化合物の生成を抑制する。茶のポリフェノールは、その他酵素作用やウイルスを不活化する作用があり、ウイルスによって起こる発がんを予防すると考えられる。茶ポリフェノールによる発がん抑制については、菅沼ら(1997)の報告もあるが、ここでは、茶のポリフェノールの抗変異原性および抗発がん作用について、最近10年間位の間に行われた疫学調査、および微生物、培養細胞、実験動物などを使った結果について総説した。原著は本論文著者によるMutation Research (Kuroda and Hara, 1999)に掲載されたものを、Elsevier Science Publishers B.V.の許可を得て、日本語版としてここに掲載した。

1. 茶ポリフェノール

茶の品種の差違や環境要因の影響、処理の方法、栽培法の変遷などによって、茶の葉に含まれる化学物質の成

分が異なってくる。処理しない茶の化学組成をTable 1に示した(Graham, 1983; Stagg and Millin, 1975)。

茶に含まれる最も重要な化学物質はポリフェノール、いわゆるカテキンとカフェインで、これらは大きな薬学的な意義をもっている。ポリフェノールは乾燥した葉の中に30–35%程度含まれ、これが飲料としての茶の質を決定する。このポリフェノールの量は、遺伝的要因と気候や日光の照射、降雨、温度、施肥、葉の古さなどの環境要因に依存している。

これらのポリフェノールの中でフラボノールはカテキンの部類に入り、茶葉の細胞の細胞質の空胞に存在する。これらは水に溶けやすく渋味をもった無色の物質である。緑茶や紅茶の粗抽出物の中のポリフェノールの含量はTable 2に示した(Wang et al., 1994)。そしてこれらの化学構造はFig. 1に示した。

この中でEGCGは緑茶の葉の中のエピカテキンの中で最大の含量をもち、EGCやEC、ECGがこれに続く。紅茶では、TF、TFA、TFB、TFDGなどのテアフラビンが多量に含まれている。ガレートをもつフラボノイドは茶葉の月日が経つに従って減少し、飲料としての質の低下に深く関連している。

2. 抗発がん性の疫学的研究

過去30年間、日本人の最大死因は第1位が脳卒中(高血圧)、第2位が「がん」(悪性新生物)、第3位が心臓疾患であったが、1985年以降は「がん」が日本人の死因の第1位を占めるようになった。1995年には日本人の約28%は「がん」で死亡した。厚生省(1969–1982)や日本癌学会(1981)によって発表された日本人の「がん」死亡の統計では、静岡県での男性および女性の「がん」(とくに「胃がん」)による死亡率は日本人のすべてのがんによる死亡率よりも遙かに低いことを示している。日本学術審議会(National Research Council)の食物と健康委員会(Committee on Diet and Health, 1989)や、世界保健機構(WHO)の国際がん研究機関(IARC)より出しているモノグラフ(1991)によると、これまでの茶とがんについての疫学的研究では、必ずしも一致した結果が得られ

Table 1 Chemical components of unprocessed tea
(Graham, 1983; Stagg and Millin, 1975)

Chemicals	% of dry wt.	Chemicals	% of dry wt.
Carbohydrate	30	Proteins (4% free amino acids)	20
Sugars	4	Lipids	2
Starch	2	Polyphenols	3
Pectins	11	Caffeine	5
Pentosans		Minerals (ash)	7
Crude fiber	13	Enzymes, flavor chemicals (volatile), vitamins, chlorophyll and other pigments (cellulose, lignin)	

Table 2 Catechins in green tea and black tea (Wang et al., 1994)

Catechins	Green tea ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	Black tea ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
Catechins	1.064	300
(+)-catechin (C)	21	20
(+)-gallocatechin (GC)		
Epicatechins		
(-)-epicatechin (EC)	98	37
(-)-epicatechin-3-gallate (ECG)	90	73
(-)-epigallocatechin (EGC)	411	42
(-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG)	444	128
Theaflavins		
Theaflavin (TF)	0	64
Theaflavin gallate A (TFA)	0	22
Theaflavin gallate B (TFB)	0	20
Theaflavin digallate (TFDG)	0	13
Thearubigins		
Procyanidine (PC)	3	
Procyanidin gallate (PCG)		
Proderfinidine (PD)		
Proderfinidine gallate (PDG)		9

ていない。Kinlen et al.(1988)はロンドンにおける症例・対照研究で、茶の消費と胃がんの減少とが正の相関関係があることを報告している。また、Stocks(1970)は20カ国を含む初期の研究で、男女ともに茶の消費と胃がんの減少とが有意義に正の相関関係があることを示している。

わが国においては、Tajima and Tominaga(1985)が、名古屋において紅茶および緑茶の飲用が胃がんおよび大腸がんの危険度を増大しないことを報告している。また北九州における胃がんと食の症例・対照研究では、緑茶をより頻繁に、または大量に飲む人は、胃がんにかかる危険度がより低い傾向があることを示している(Kono et al., 1988)。最近、茶の飲用とヒトの発がん危険度の関係について、いくつかの総説が発表されている(Yang and Wang, 1993; Katiyar and Mukhtar, 1996)。茶の飲用と膀胱や尿道、肺、大腸、直腸、食道、腎臓、肝臓、肺臓、鼻咽頭、脾臓、胃、子宮などの種々の臓器における発がんに関する適切な疫学的研究についての概説がな

されている。Gao et al.(1994)は症例・対照研究で、中国の上海市内では緑茶を飲用することによって、食道がんの危険度が減少することを示している。いくつかの症例・対照の研究では、普通の温度(35–47°C)では茶を飲む量と食道がんの発生率とは何の関係もないが、非常に高温(55–67°C)の茶の飲用は、食道がんの危険度を2倍–3倍に上昇させることと関連があることを示している(Cook · Mozaffari et al., 1979; De Long et al., 1974)。Oguni et al.(1988, 1989)は、Fig. 2に示した静岡県の75の市町村におけるがんによる死亡率を調査した。静岡県中西部の中川根町、本川根町、川根町は3川根町(3K町)といわれ、緑茶を主生産物とする地方である。この地方のあらゆる臓器のがんや胃がんの標準化した死亡率(SMR)を調べたところ、男女ともに日本人のこれらのがんの平均死亡率より著しく低いことを見出した。これと対照的に、太平洋に面した大須賀町(O町)や伊豆半島にあるいくつかの小さな町村では高いSMR値を示した。3K町における習慣的な緑茶を飲む量はO町よりも著し

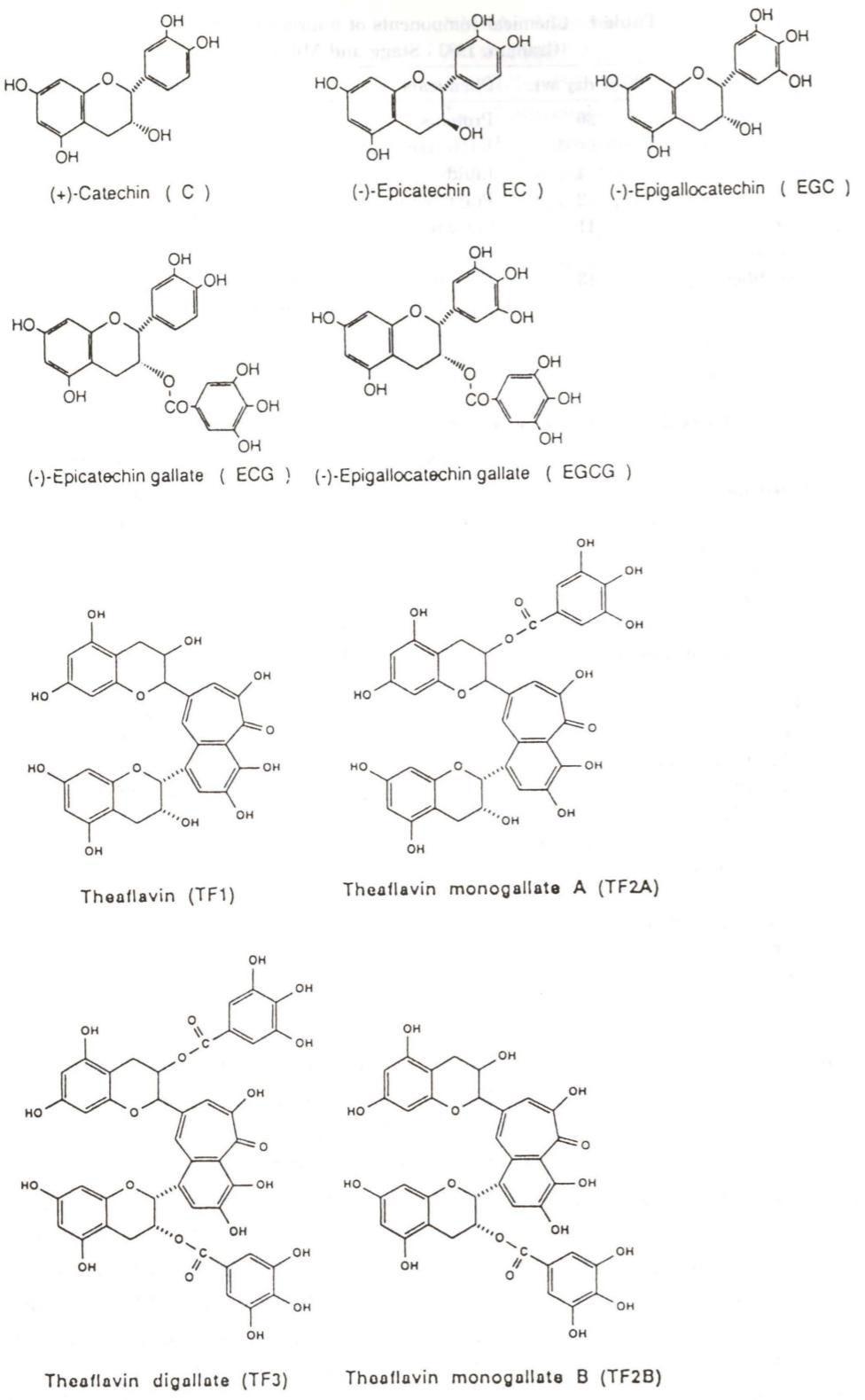


Fig. 1 Chemical structures of polyphenols in tea

く多い。緑茶生産量の最も多い地域として知られている中川根町の胃がんに対するSMRの値は男性が20.8で、女性が29.2であった。胃がんの全国平均のSMR値100と比較すると、中川根町のSMR値は、その1/5—1/3であった。さらに3川根町と大須賀町では緑茶の1日に飲

む頻度で比較した結果、3川根町における緑茶の1日あたり飲む頻度は大須賀町よりも高かった。

Sadakata et al.(1992)は茶の湯(茶道)で活動している指導者(師範)についてのコホート研究を行い、緑茶の飲用と寿命の関係を調べている。対象とした茶道の師範

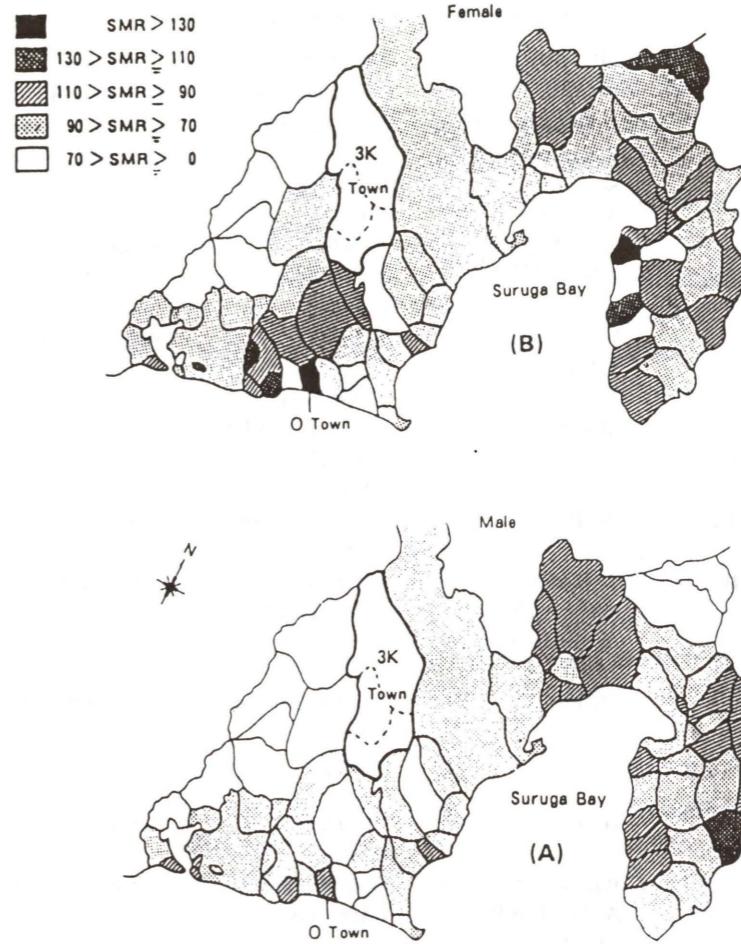


Fig. 2 Map of mortality ratio for stomach cancer in Shizuoka Prefecture, Japan (Oguni et al., 1989)

Table 3 Standardized mortality rates (SMRs) in Chajin in Tokyo (Sadakata et al., 1992)

	Standard population (1985)	
	Japanese women	Women in Tokyo
Number of expected deaths	512.4	493.9
Number of observed deaths	280	280
SMR	0.55 (0.487—0.630) ^{a,*}	0.57 (0.505—0.642)*

^aValues in parentheses indicate 95 % confidence interval

*P<0.05

は、東京在住の50歳以上の女性師範に限定し1980年1月1日に茶道の裏千家に師範として登録されている人とした。この名簿は1988年12月31日までの9年間にわたって、毎年更新された。この期間に死者があった場合は、死亡証明書によってその死因が確認された。各年の中間点ですべての死亡と名簿からの削除があったと仮定して、9年間における各年齢における延べ人数の観察値が計算された。そして、この延べ人数から推定される死亡数を全日本人女性の年齢別死亡率および東京在住の女性の年齢別死亡数によって、1985年の生存推計を用いて計算した。このコホート研究に登録された対象者の数はすべてで3,380人であった。この中で280人が死亡し、

435人が名簿から削除された。調査期間の終了時における人・年の総数は26,326人であった。茶道師範のSMRについてのコホート研究の結果はTable 3に示した。日本人全女性、および東京に在住する女性から推定される死者の数は、それぞれ512.4人および493.9人で、これらの期待値から算定されるSMRの値はそれぞれ0.55(95%信頼限界:0.487—0.620)および0.57(95%信頼限界:0.505—0.642)であった。

死亡した茶道師範の中で167人(59.6%)は、その死因が死亡証明書によって確認されており、これら確認された場合についての悪性新生物(がん)、脳血管傷害、心臓疾患、その他による死者はそれぞれ55人(32.2%), 41

Table 4 Studies on antimutagenicity of tea polyphenols

Tea polyphenols	Mutagens	Test systems	Reference
ECG, EGCG	Trp-P-2 N-OH-Trp-P-2 B[a]P diol oxide	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100	Okuda et al. (1984)
EGCG	Spontaneous mutations	"	"
EGCG	B. subtilis	<i>B. subtilis</i>	Kada et al. (1985)
Tannic acid	UV, 4NQO γ -rays, MNNG	<i>E. coli</i> B/rWP2 WP2s	Shimo et al. (1985)
GC, ECG	UV, 4NQO	<i>E. coli</i>	Shimo et al. (1986)
EGC, EGCG	MNNG	B/r WP2 WP2s, ZA159	
Green and black tea extracts	MNNG	<i>E. coli</i> B/r WP2 <i>S. typhimurium</i> TA100	Jain et al. (1989)
Black and green tea extracts	PhIP	<i>S. typhimurium</i> TA98	Apostolides et al. (1996)
Polyphenons 60, 100, B	Aryl-and heterocyclic amines AFB ₁ , B[a]P, DBE, 2-NP	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100 TA1535	Weisburger et al. (1996)
Gallc acid, methyl gallate, catechins, TF, tanic acid	PhIP	<i>S. typhimurium</i> TA98	Apostolides et al. (1997)
Black tea	H ₂ O ₂	<i>S. typhimurium</i> TA104	Shiraki et al. (1994)
TF, TFDG, TFDG	IQ, B[a]P AFB ₁ , Trp-P-1, Glu-P-1	<i>S. typhimurium</i> TA98, TA100	Shiraki et al. (1994)
Black tea extract	4NQO, EMS	Chinese hamster V79 cells 6TG ^r mutation	Kuroda (1996)
ECG, EGCG	AFB ₁	Rat bone marrow cells, chromosome aberrations	Ito et al. (1989)
Green tea extract	IQ, Glu-P-1, B[a]P, DMBA, 2AF, 2AA, 9AA, MNNG	<i>S. typhimurium</i> TA98	Bu-Abbas et al. (1994)

人(24.6 %), 35 人(21.0 %)および 36 人(21.6 %)であった。このコホート研究では、茶道師範の死亡率は日本人全女性および東京在住の女性の死亡率に比べて驚くほど低いことが示され、緑茶がこのようないくつかの死亡につながる病気に対して予防要因となっている可能性を示している。

沖縄においては長い間、肺がんによる死亡率が、日本国内の 47 都道府県(人口 100,000 人あたり男性 30.3 人および女性 7.9 人)に比して、高い肺がん死亡率(同男性 38.2 人および女性 10.2 人)を示してきた。

Ohno et al. (1995)は 1988 年、沖縄において茶の飲用

と肺がん危険率との関係について症例・対照研究を行った結果、とくに女性では沖縄茶(部分的発酵茶)の飲用が多いほど、肺がんの危険度が低いことがわかった。女性について、毎日 1—4 杯、5—9 杯および 10 杯以上の沖縄茶を飲む人の肺がん危険度の比率は、それぞれ 0.77, 0.77 および 0.38 であった。

3. 抗変異原性

1) 微生物系

茶のポリフェノールの抗変異原性の多くは、微生物や哺乳動物の *in vitro* および *in vivo* の系で、広範な研究

が行われている。ここに総説したこれらの研究は Table 4 に示した。

Trp-P-2 や N-OH-Trp-P-2 の変異原性に対する茶カテキン ECG および EGCG の抑制作用は、まず最初、サルモネラ菌 *Salmonella typhimurium* TA 98 および TA 100 にラット S 9 mix を添加または無添加で、1984 年 Okuda et al. によって見出された。EGCG は TA 100 の系統で S 9 mix 無添加でも B [a] P の変異原性に対して強い抑制作用があることを示した。

Kada et al. (1985) は微生物の系で、日常の食品や香料、薬品などを含む植物や動物の成分の天然物抗変異原性について、系統的なスクリーニングの研究を行い、日本の緑茶のホモジネートが枯草菌 *Bacillus subtilis* (*met his mut-1*) の NIG 1125 系統で、DNA 合成酵素 III の変異による自然突然変異に対して高い抗変異原性をもつことを見出した。Kada et al. はその抗変異原性の活性本体を化学的に決定することを試み、12 g の緑茶の粗抽出物から 0.85 g の EC, 1.44 g の EGC, 1.24 g の ECG および 4.87 g の EGCG を得た。上記 4 つのカテキンでの抗変異原性を調べた結果、EGCG のみが NIG 1125 系統で生物抗変異原性が示された。

Shimo et al. (1985) は大腸菌 B/r WP 2, および修復欠損系統 WP 2 s, ZA 159 を使って、紫外線または γ 線の放射線照射と 4 NQO または MNNG の化学物質処理によって誘発される突然変異に対して、抗変異原作用があり、また医療用に使用できる植物を見出すために、150 種類の植物についてスクリーニングを行った。この結果、紫外線または 4 NQO によって大腸菌 B/r WP 2 に誘発される突然変異が、タンニン酸によって抑制されることを見出した。この紫外線誘発の突然変異に対するタンニン酸の抑制作用は、DNA の修復能力をもつ WP 2 系統では顕著であるが、除去修復能力のない WP 2 s や ZA 159 系統ではみられなかった。

これらの結果から、タンニン酸は DNA 傷害の修復酵素を活性化するか、DNA との相互作用によって除去修復を高めていることを示している。大腸菌の DNA 修復能力の異なる系統での紫外線(254 nm)で誘発される突然変異に対して、生物抗変異原性をもつタンニン酸以外の植物フェノール成分をスクリーニングする過程で、Shimo et al. (1986) は GC, ECG, EGC, EGCG が突然変異の誘発を抑え、カフェイン酸やクロロゲニック酸、ケルセチンなどはその作用がないことを見出した。

これらの結果に対して Jain et al. (1989) は緑茶および紅茶の抽出物は、大腸菌 WP 2 系統において、MNNG の突然変異作用を減少させることを報告している。MNNG と茶抽出物を細胞に作用させる前にあらかじめ保温すると、MNNG の変異原性を 39—45 % 減少させた。他方、MNNG 処理の後で茶抽出物の処理を行っても、MNNG の変異原性は減少させることができなかった。MNNG

と緑茶や紅茶の EC, ECG, EGC, ガーリック酸、タンニン酸、n-プロピルガレートとと一緒に保温すると、MNNG の変異原性は減少した。これらの結果は、茶の抽出物が MNNG そのものか、その活性化体と消変異原的 (desmutagenic) に作用し合っているが、MNNG による DNA 傷害を生物的抗変異原的に修復するように働いてはいないことを示唆している。

タンパク質を多く含む食物、とくに肉や魚を調理する過程では、多くの複素環アミン類(HCAs)が形成される。約 19 の HCAs が分離され、その構造が決定された (Buecher et al., 1988; Adamson et al., 1995)。これらの HCAs の中で、PhIP(CASNo. 10650-23-5) は、その主な生成物の 1 つである。これは調理しない牛肉のもの重量の約 15 ppb 存在する。そしてその濃度は、調理の仕方によって変化する。この PhIP は、油でいためた牛肉のすべての遺伝毒性物質の 75 % を占め、また全変異原性の 18 % を占める (Felton et al., 1986)。

Apostolides and Weisburger (1995) および Apostolides et al. (1996) は、標準の緑茶および紅茶抽出物は α -ナフトフラビンとフェノーバービタールで誘発したラット肝の S 9 分画を加えたサルモネラ TA 98 テストで、PhIP によって誘発される突然変異を抑制することを報告している。溶媒による抽出法によって、茶の抽出物からポリフェノールを精製した。紅茶のポリフェノールは、緑茶のポリフェノールよりも突然変異をより強く抑制した。ポリフェノールを多量に含む茶の系統の成育と選抜が、南アフリカで行われた。PhIP の 2 つの濃度で生じた細菌の突然変異の濃度依存的な抑制効果が、調べたすべての茶抽出物に見出された。

Weisburger et al. (1996) は、緑茶のポリフェノール類として ポリフェノン 60 および 100、紅茶のポリフェノン B (Hara, 1994) について、1 セットの遺伝毒性のある発がん物質に対する影響を調べた。そしてこれらのすべての化学物質の変異原性を全般的に抑制するかどうか、または化学物質の種類や構造との関係で、選択的な抑制作用があるかどうかをサルモネラの TA 98, TA 100 および TA 1535 を用いて調べた。すべてラット肝 S 9 分画を含む系で、ポリフェノール類は AFB₁, B[a]P, DBE の多くのアリールおよび複素環アミンの変異原性を強く抑制し、2-ニトロプロパンの変異原性を選択的に抑制した。

ハムスターの S 9 分画を生化学的活性化のために必要とする 2 つのニトロソアミン類に対しては、強い抑制作用を示した。1-ニトロビレンや、直接作用する (S 9 なし) 2-クロロ・4-メチルチオ酪酸に対しては抑制作用がなかった。これらの結果から、ポリフェノール類は種々のタイプの発がん剤の突然変異性を著しく減少させることを示している。

茶および他の材料から得られたいいくつかの純粋のポリ

フェノール化合物について、サルモネラの TA 98 に S 9 分画を加えた系で、PhIP による突然変異の抑制について調べられている(Apostolides et al., 1997)。カテキンとそのガレートエステルとして C, EC, EGC, ECG および EGCG, テアフラビンとして TF, TFA, TFB, TFDG, およびグルコース(タンニン酸)は、 $10 \mu\text{M}$ PhIP の変異原性に対して 80–250 μM の濃度で低い IC_{50} を示した。一方、メチルガレートやガーリック酸はこの濃度範囲では抑制作用を示さなかった。その IC_{50} の値はガレートエステルの分子量に対して逆の比例関係を示した。またテアフラビンの混合分画では非常に低い IC_{50} の値を示した。PhIP の変異原性に対するガレート化カテキンおよびテアフラビンの抑制は、前発がん物質 PhIP が最終発がん物質 N-OH-PhIP への代謝活性化の抑制作用によるものである(Buonarati and Felton, 1990; Hayatsu et al., 1992; Boobis et al., 1994; Kato and Yamazoe, 1994)。

紅茶のテアフラビンの抗変異原性および抗酸化作用については、サルモネラ TA 104 系統を使用して報告されている(Shiraki et al., 1994)。TF, TF 2 A, TFB および TFDG など使用されたすべてのテアフラビンは、 H_2O_2 によって誘発される突然変異を抑制し、また t-ブチルヒドロ過酸化物によって誘発されるウサギ赤血球のゴーストの過酸化を抑制した。また、テアフラビンはラット肝のミクロゾーム系によって起される S 9 のリビドの過酸化の過程で、抗酸化作用を示した。

2) 哺乳動物細胞系

培養哺乳類細胞で、Kuroda(1996)は ECG および EGCG がチャイニーズ・ハムスター V 79 細胞で 4 NQO によって誘発される 6-チオグアニン(6 TG)抵抗性の突然変異に対して抑制作用をもつことを見出した。カテキン類のこの抗変異原活性は、細胞を 4 NQO で処理した後、突然変異発現時間の間カテキンで後処理した場合のみ見出され、4 NQO とカテキン類とを同時に処理した場合にはみられなかった。カテキン類のこの生物的抗変異原性は、EMS で誘発される突然変異では見出されなかった。このことはカテキン類の抗変異原性は、カテキンが生物学的抗変異原または抑制因子として細胞内で作用していることを示唆するものである。

3) *in vivo* の実験動物系

緑茶の熱湯抽出物はラットの骨髄細胞で AFB_1 を注射する 24 時間に緑茶抽出物を与えると、 AFB_1 で誘発した染色体異常を抑制する(Ito et al., 1989)。 AFB_1 注射の 2 時間前、または 2 時間後に緑茶の抽出物を与えたラットには、緑茶の抑制作用はみられなかった。この AFB_1 誘発の染色体異常に対する緑茶抽出物の抑制効果は、緑茶抽出物の量に比例し、 AFB_1 注射の 24 時間ま

は 2 時間前、0.1–2 g/kg の紅茶やコーヒーを与えた場合には抑制作用がみられなかった。

4. 抗発がん性

茶のポリフェノールの抗発がん性は、ラットやマウスを使って発がん剤によって誘発される種々のがんについて報告されている。

1) 移植性腫瘍

Hara et al.(1989)は 20 MC 誘発のラット固型腫瘍やマウスの肉腫 180、マウスのエールリッヒ固型腫瘍などの移植性腫瘍の増殖に対して、緑茶から抽出した EGCG や粗カテキン類の効果を調べた。この結果、EGCG および粗カテキン類は、これらの腫瘍を皮下移植した後、腹水または皮下に投与することによって、抑制効果のあることを示した。腫瘍を移植する前に粗カテキンを経口投与すると、腫瘍を移植した後の腹腔内投与の効果を高めることがわかった。EGCG および粗カテキン類は、増殖している腫瘍細胞に直接作用するよりも、免疫系の機構を活性化することによって、動物の移植性腫瘍の増殖を抑制している可能性を示した。

2) 消化器官のがん

Wang et al.(1995)は、ラットの NMBA 誘発の食道がんに対して、カフェインを除いた緑茶や紅茶、標準緑茶の抑制効果を示した。抑制作用は茶を NMBA 処理中や、処理後に与えた時に効果があり、茶の成分は食道がん生成過程のイニシエーションおよびイニシエーション後の過程を抑制する。カフェインを除去した紅茶も、脱カフェインの緑茶と同じような抑制作用を示した。緑茶抽出物とカテキン類、とくに EGCG は、マウスやラットの消化器官における発がん物質誘発のがんの増殖を抑制した。Han and Xu(1990)は、中国茶がラットで NMBA 誘発の食道がんの形成を抑制することを見出している。

A/J マウスに飲み水として緑茶を煎じた液を与えると、1 週間に一度 8 週間にわたって経口で NDEA を与えて誘発された前胃がんの増殖が抑えられた(Wang et al., 1992 a, 1992 b; Yamane et al., 1995)。MNNG で誘発されたラットの腺胃がんについては、Yamane et al.(1995)が EGCG による抑制作用を報告している。DMH を 1 週間に一度マウスに皮下注射して生じた大腸がんは、緑茶のカテキンまたは EGCG を 1 週に 5 回、23 週間にわたって胃に緑茶カテキンまたは EGCG を灌流させることによって抑制される(Pingzhang et al., 1994)。そのほか NDEA や B [a] P で前処理したマウスに緑茶の煎じたものを与えると、悪性の前胃がん(扁平上皮がん)をもつマウスの数を減少させることができた(Katiyar et al., 1993 a; 1993 b)。

また、数種の抗発がん性の化合物は、悪性細胞のアポ

トーシス(プログラムされた細胞死)を活性化させることが知られている(Lotan, 1995; Piazza et al., 1995)。Hibasami et al.(1998)は、ヒト胃がん由来の KATO III 細胞を緑茶カテキン(GTC)抽出物または EGCG で処理すると、増殖が抑制され、アポトーシスを誘導することを見出した。KATO 細胞を 1 mM の EGCG または 0.5 mg/ml の GTC 抽出物で 2 日間処理すると、アポトーシスによる断片化が示された。

Weisburger et al.(1997)は F 344 の雄のラットに、AOM の皮下注射を行って生じた大腸の異常癌のフォーカスが飲料水の代りに、1.25 %茶または茶とミルクの溶液を与えると減少することを示している。

3) 乳がん

乳がんについては、DMBA によって誘発されたラットの乳がんが、GTC を含む餌を与えることによって抑制され、生存率が有意に高くなることが示されている(Hirose et al., 1994)。魚を調理した際に生ずる最も多くの複素環アミンの一つである PhIP はすでに述べたように、サルモネラの TA 98 に強い変異原性を示し、F 344 の雌ラットの乳腺や大腸にがんを誘発する。1 % GTC を含む餌を与えたラットの生存率は、対照の正常の餌を与えたラットよりも高い。乳腺の腺がんの出現頻度は、ラットの餌に GTC を加えることによって減少した(Hirose et al., 1995)。

Weisburger et al.(1997)は、SD ラットの雌に DMBA を与えて誘発した乳がんの増殖率や体積が、発がん剤の投与 1 週間前から飲み水の代わりに 12.5 % の茶を与えると、減少することを報告している。茶とミルクを与えたラットでは、IQ によって誘発されるがんの増殖性は増大したが、がんの容積は減少した。高脂肪の餌で飼育したラットに DMBA を与えて乳がんを生じさせる実験で、2 % の茶を飲ませることによって乳がんが抑制された。これは、DMBA によって誘発される乳がんのプロモーションを茶が抑制したことを見出している(Rogers et al., 1998)。

4) 肝がん

肝がんに対する GTC の抑制作用についてもいくつかの報告がある。ラットの餌に緑茶の葉を与えると、DEN で誘発される肝がんや(Li , 1991), AFB_1 によって誘発される γ -グルタニル・トランスペクチダーゼ陽性の肝のフォーカスの形成が抑制された(Chen et al., 1987)。また、緑茶抽出物は酸素の遊離ラジカルによる肝細胞の致死の誘発や、肝細胞の DNA 合成などが抑制されることを示している(Klaunung, 1992)。

マウスの自然誘発の肝がんの増殖や、ヒト肝がん細胞系の増殖が、飲み水の中に EGCG を 0.05 % または 0.1 % の濃度で加えることによって抑制される(Nishida et

al., 1994)。Matsumoto et al.(1996)は F 344 の雄マウスに、DEN を腹腔内注射することによって生じた肝がんが、飲み水に 0.05 % または 0.1 % の EC, EGC, ECG, EGCG や紅茶抽出物、ウーロン茶抽出物を 6 週間与えることによって抑制されることが、グルタチオン S-トランスフェラーゼの胎盤型(GST-P)陽性のフォーカスの数や面積を測定することによって明らかにした。また、飲み水として与えた緑茶は、ラットの AFB_1 誘発の GST-P 陽性の肝細胞を抑制し、肝臓のアフラトキシンを非発がん性物質に代謝させる能力を促進した(Qin et al., 1997)。

参考文献

- Adamson, R. H., J. A. Gustafsson, N. Ito, M. Nagao, T. Sugimura, K. Wakabayashi and Y. Yamazoe (1995) : Proc. 23rd Inter. Symp. Princess Takamatsu Cancer Res. Fund, Princeton Sci. Publ. Princeton, N. J., pp. 260-267.
- Apostolides, Z. and J. H. Weisburger (1995) Mutat. Res., 326, 219-225.
- Apostolides, Z., D. A. Balentine, M. E. Harbowy and J. H. Weisburger (1996) Mutat. Res., 359, 159-163.
- Apostolides, Z., D. A., Balentine, M. E. Harbowy, Y. Hara and J. H. Weisburger (1997) Mutat. Res., 389, 167-172.
- Bu-abbas, A., M. N. Clifford, R. Walker and C. Ioannides (1974) Carcinogenesis, 15, 2575-2579.
- Boobis, A. R., A. M. Lynch, S. Murray, R. de la Torre, A. Solans, M. Farre, J. Segura, N. J. Gooperham and D. S. Davies (1994) Cancer Res., 54, 89-94.
- Buecher, G., M. G. Knize, I. F. Nes and J. S. Felton (1988) Carcinogenesis, 9, 247-253.
- Buonarati, M. H. and J. S. Felton (1990) Carcinogenesis, 11, 1133-1138.
- Chen, Z. Y., R. Q. Yan, G. A. Qin et al. (1987) Chung Hua Chung Liu Tsa Chin (Chinese J. Cancer), 9, 109-111.
- Committee on Diet and Health, Food and Nutrition Board (1989) Commission on Life Science, Nutrition Research Council, Diet and Health, National Academy Press, Washington DC, pp. 465-508.
- Cook-Mozaffari, P. J., F. Azordegan, N. E. Day, A. Resicand, C. Sabai and B. Aramesh (1979) Brit. J. Cancer, 39, 293-309.
- De Long, U. W., N. Breslow, J. G. Hong, W. Sridharan and K. Shanmugaratnam (1974) Int. J. Cancer, 13, 291-303.
- Felton, J. S., M. G. Knize, N. H. Shen, P. R. Lewis, B. D. Anderson, J. Happe and F. T. Hatch (1986) Carcinogenesis, 7, 1081-1086.
- Gao, Y. T., J. K. McLaughlin, W. J. Blot, B. T. Ji, Q. Dai and F. Fraumeni (1994) J. Nat. Cancer Inst., 86, 855-858.
- Graham, H. (1983) Kirk Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 3rd Edition, Vol. 22, A. Wiley Inter. Science Publications, John Wiley and Sons, New York, pp. 628-644.
- Han, C. and Y. Xu (1990) Biomed. Environ. Sci., 3, 35-42.
- Hara, Y., S. Matsuzaki and K. Nakamura (1989) J. Japan. Soc. Nutr. Food Sci, 42, 39-45.
- Hara, Y. (1994) C. T. Ho, T. Osawa, M. T. Huang and T. R. Rosen (Eds.) Food Phytochemicals for Cancer Prevention II. Teas, Spices and Herbs, ACS Symp. Series 547, Washin-

- gton DC, pp. 34-50.
- Hayatsu, H., N. Inada, T. Katsutani, S. Arimoto, T. Negishi, K. Mori, T. Okuda, and I. Sakata (1992) Prev. Med., 21, 370-376.
- Hibasami, H., T. Komiya, Y. Achiwa, K. Ohnishi, T. Kojima, K. Nakanishi, K. Akashi and Y. Hara (1998) Oncol. Rep., 5, 527-529.
- Hirose, M., T. Hoshiya, K. Akagi, M. Futakuchi and N. Ito (1994) Cancer Lett., 83, 149-156.
- Hirose, M., K. Akagi, R. Hasegawa, R. M. Yaono, T. Satoh, Y. Hara, K. Wakabayashi and N. Ito (1995) Carcinogenesis, 16, 217-221.
- Ito, Y., S. Ohnishi and K. Fujie (1989) Mutat. Res., 222, 253-261.
- Jain, A. K., K. Shimoi, Y. Nakamura, T. Kada, Y. Hara and I. Tomita (1989) Mutat. Res., 210, 1-8.
- Kada, T., K. Kaneko, S. Matsuzaki, T. Matsuzaki and Y. Hara (1985) Mutat. Res., 150, 127-132.
- Katiyar, S.-K., R. Agarwal and M. T. Zaim and H. Mukhtar (1993a) Carcinogenesis, 14, 849-855.
- Katiyar, S. K., R. Agarwal and H. Mukhtar (1993b) Cancer Lett., 73, 167-172.
- Katiyar, S. K. and H. Mukhtar (1996) Int. J. Oncol., 8, 221-238.
- Kato, R. and Y. Yamazoe (1994) Drug Metab. Rev., 26, 413-429.
- 厚生省(1969-1982) : Japan vital statistics studies. Kosei-Tokei Kyokai.
- Kinlen, L. J., A. N. Willows, P. Guldblatt and J. Yudkin (1988) Brit. J. Cancer, 58, 397-401.
- Klaunig, J. E. (1992) Prev. Med., 21, 510-519.
- Kono, S., M. Ikeda, S. Tokudome and T. Nomura (1988) Japan J. Cancer Res., 79, 1067-1074.
- Kuroda, Y. (1996) Mutat. Res., 361, 179-186.
- Kuroda, Y. and Y. Hara (1999) Mutat. Res., 436, 69-97.
- Li, Y. (1991) Chung Hua Chung Liu Tsa Chih (Chinese J. Cancer), 13, 193-195.
- Lotan, R. (1995) J. Nat. Cancer Inst., 87, 1655-1657.
- Matsumoto, N., T. Kohri, K. Okushio and Y. Hara (1996) Japan. J. Cancer Res., 87, 1034-1038.
- 日本癌学会(1981) Cancer mortality and morbidity statistics, Japan and the world. Japan Scientific Societies Press.
- Nishida, H., M. Omori, Y. Fukutomi, M. Ninomiya, S. Nishiwaki, M. Suganuma, H. Moriwaki and Y. Muto (1994) Japan. J. Cancer Res., 85, 221-225.
- Oguni, I., K. Nasu, S. Yamamoto and T. Nomura (1988) Agric. Biol. Chem., 52, 1879-1880.
- Oguni, I., K. Nasu, S. Kanaya, Y. Ota, S. Yamamoto and T. Nomura (1989) Japan. J. Nutrition, 47, 93-102.
- Ohno, Y., K. Wakai, K. Genka, K. Ohmine, T. Kawamura, A. Tamakoshi, R. Aoki, M. Senda, Y. Hayashi, K. Nagao, S. Fukuma and K. Aoki (1995) Japan. J. Cancer Res., 86, 1027-1034.
- Okuda, T., K. Mori and H. Hayatsu (1984) Chem. Pharm. Bull., 32, 3755-3758.
- Piazza, G. A., A. L. Rahm, M. Krutzsch, G. Sperl, N. S. Paranka, P. H. Gross, K. Brendel, R. W. Burt, D. S. Alberts and R. Pamukcu (1995) Cancer Res., 55, 3110-3116.
- Pingzhang, Y., Z. Jinying, C. Chujun, Y. Hara, Z. Qingfan and L. Zhengguo (1994) Cancer Lett., 79, 33-38.
- Qin, G., P. Gopalan-Hriczky, J. Su, Y. Ning and P. D. Lottker (1997) Cancer Lett., 112, 149-154.
- Rogers, A. E., L. J. Hafer, Y. S. Iskander and S. Yang (1998) Carcinogenesis, 16, 217-221.
- Sadakata, S., A. Fukao and S. Hisamachi (1992) Tohoku J. Exp. Med., 166, 475-477.
- Shimoi, K., Y. Nakamura, I. Tomita and T. Kada (1985) Mutat. Res., 149, 17-23.
- Shimoi, K., Y. Nakamura, I. Tomita, Y. Hara and T. Kada (1986) Mutat. Res., 173, 239-244.
- Shiraki, M., Y. Hara, T. Osawa, H. Kumon, T. Nakayama and S. Kawakishi (1994) Mutat. Res., 323, 29-34.
- Stagg, G. V. and D. J. Millin (1975) J. Sci. Food Agric. 26 : 1439-1499.
- Stocks, P. (1970) Brit. J. Cancer, 24, 215-225.
- 菅沼雅美, 岡部幸子, 藤木博太(1997) Environ. Mutagen Res., 19, 193-198.
- Tajima, K. and S. Tominaga (1985) J. Cancer Res., 76, 705-716.
- Wang, Z. Y., J-Y. Hong, M-T. Huang, K. R. Reuhl, A. H. Conney and C. S. Yang (1992a) Cancer Res., 52, 1943-1947.
- Wang, Z.-Y., R. Agarwal, W. A. Khan and H. Mukhtar (1992b) Carcinogenesis, 13, 1491-1494.
- Wang, Z.-Y., M.-T. Huang, Y.-R. Lou, J.-G. Xie, K. R. Reuhl, H. L. Newmark, C. C.-T. Ho, C. S. Yang and A. H. Conney (1994) Cancer Res., 54, 3428-3435.
- Wang, Z.-Y., L.-D. Wang, M.-J. Lee, C.-T. Ho, M.-T. Huang, A. H. Conney and C. S. Yang (1995) Carcinogenesis, 16, 2143-2148.
- Weisburger, J. H., Y. Hara, L. Dolan, F.-Q. Luo, B. Pittman and E. Zang (1996) Mutat. Res., 371, 57-63.
- Weisburger, J. H., A. Rivenson, K. Garr and C. Aliaga (1997) Cancer Lett., 114, 1-5.
- World Health Organization (1991) International Agency for Research on Cancer Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, IARC Press, Lyon, vol. 51, pp. 201-271.
- Yamane, T., T. Tokuhashi, K. Kuwata, K. Oya, M. Inagake, Y. Kitao, M. Suganuma and H. Fujiki (1995) Cancer Res., 55, 2081-2084.
- Yang, C. S. and Z.-Y. Wang (1993) J. Nat. Cancer Inst., 85, 1038-1049.
- Environ. Mutagen Res., 21 : 11 - 21 (1999)

環境のストレスによって誘導される非相同的組換え-DNA の切断と再結合の分子機構

小方 康至, 池田 日出男

東京大学医科学研究所・生物物理化学研究部 〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1

Illegitimate recombination induced by environmental stress : Molecular mechanism of DNA break and re-joining

Yasuyuki Ogata and Hideo Ikeda

Department of Molecular Biology, Institute of Medical Science, University of Tokyo,
Sirokanedai 4-6-1, Minato-ku, Tokyo 108-8639

Summary

Illegitimate recombination (Nonhomologous recombination) occurs between nonhomologous sequences or short homologous sequences at two different sites of DNA(s), and results in chromosome rearrangements including deletion, duplication, insertion, or translocation. We have developed an *in vitro* system for elucidating the molecular basis of illegitimate recombination using an *in vitro* packaging mixture for phage λ DNA that consists of lysates of induced lysogens of *E. coli*, and found that the recombination is catalyzed by DNA gyrase, *E. coli* DNA topoisomerase II, and does not require short homology. Subsequently, we developed an *in vivo* assay system for the quantitative analysis of illegitimate recombination during the formation of specialized transducing λ bio phage in *E. coli*, and found that the short-homology-independent illegitimate recombination (SHIIR) also occurs *in vivo* in oxolinic acid (an inhibitor for DNA gyrase A subunit)-treated *E. coli* cells and in temperature-sensitive *gyrA* mutants. On the basis of these results, we proposed that SHIIR is mediated by subunit exchange between DNA gyrase. On the other hand, short-homology-dependent illegitimate recombination (SHDIR) was enhanced by ultraviolet (UV) light-irradiation. With regard to the manner in which UV light-irradiation induces SHDIR, we proposed a model in which DNA double-strand breaks (DSBs) occur dependent upon UV light-related DNA damage. We searched for factors which participates in the process, and found that UV light-induced illegitimate recombination is dependent on RecJ protein and suppressed by RecQ protein. To examine the mechanism of illegitimate recombination in eukaryotes, we developed a plasmid system for quantitative analysis of deletion formation in *S. cerevisiae*, and found that Rad50, Mre11, Xrs2 proteins are involved in this process. Moreover, Hdfl protein, a yeast homologue of Ku70, and its interacting factor, Sir4 protein are responsible for the end-joining process, thereby suggesting that Hdfl protein and silencing factors alter broken DNA ends to create an inactivated chromatin structure, which is necessary for the re-joining of DNA ends.

Keywords : illegitimate recombination, short-homology-dependent and -independent, type II DNA topoisomerase, λ bio transducing phage, silencing factors

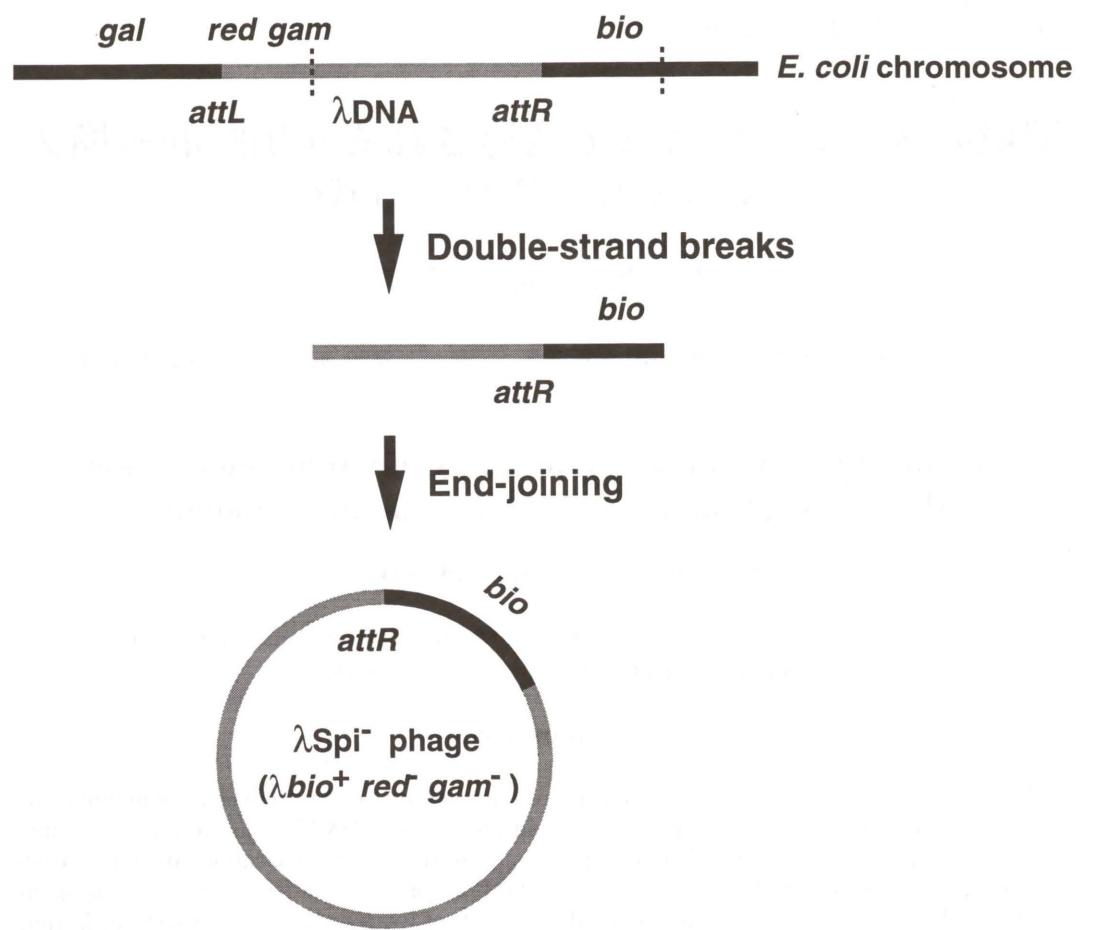


Fig. 1 Illegitimate recombination that occurs during formation of λ bio transducing phages. Most of λ bio phages have defects in the red-gam region of λ DNA, and these phages can form plaques on a lawn of *E. coli* P2 lysogen (Spi⁻ phenotype).

緒 言

最近、さまざまな遺伝子疾患が、その原因遺伝子の欠失(deletion)や重複(duplication),挿入(insertion),転座(translocation),逆位(inversion)などといった染色体異常によって引き起こされることがわかつてきた。例えば、骨格筋の変性や壊死を引き起こす性染色体劣性筋ジストロフィー症の場合、その多くは、原因遺伝子であるDMD(duchenne muscular dystrophy)遺伝子の欠失や重複によるものである。また、以前より腫瘍細胞においては染色体異常が観察されることが知られていたが、慢性骨髄性白血病(CML=chronic myelogenous leukemia)の原因遺伝子が、第9番染色体と第22番染色体の相互転座により形成されるBCR-ABL融合遺伝子であることが見出されて以来、主に造血器腫瘍と肉腫において、数多くの融合遺伝子が報告され、さらに、非腺性遺伝性大腸癌(HNPCC=hereditary nonpolyposis colorectal cancer)の原因遺伝子が、大腸菌においてDNA複製の際に誤って取り込まれた塩基や、鋲型DNAの一部が複製されずに生じた欠失を修復する「ミスマッチ

チ修復」に必要な遺伝子であるmutS遺伝子やmutM遺伝子のホモログであることが明らかにされるにいたり、癌化もまた、染色体異常が原因で起こることがわかつてきた。

私たちは、このような染色体異常の原因となる「非相同意組換え」が、紫外線や活性酸素などの環境のストレスによって亢進されることを見出し(Ikeda et al., 1995; Onda et al., 1999)、その分子機構の解明を試みている。本論文において私たちは、まず始めに、このような環境のストレスによって誘導される非相同意組換えの分子機構について報告する。

1. 非相同意組換えとは何か

「非相同意組換え」とは、DNA上の異なるふたつの部位において、相同意のない塩基配列や、高々数bpの短い相同意のある塩基配列の間で起こる組換えであり、長い相同意のある塩基配列の間で起こる「相同意組換え(homologous recombination)」とは対照的であるという意味で非相同意組換え(nonhomologous recombination)と呼ばれる。

非相同意組換えは、「非正統的組換え(illegitimate recombination)」とも呼ばれるが、そもそもこの言葉は、本来、バクテリアに溶原化したλファージが誘発される際にごくまれに形成される、そのゲノムの一部がλファージ由来の、もう一部がバクテリア由来のDNAからなる特殊なファージの形成過程において起こる組換えを指して用いられた言葉である(Fig. 1)^a。

後にFranklin(1966)は、バクテリアの染色体における欠失や、上で述べた特殊形質導入ファージの形成のように、ごくまれで、でたらめ(haphazard)な“genetic event”を“unusual recombination”と呼び、これが“normal recombination”(すなわち相同意組換え)とは異なり、いわゆるrec遺伝子の機能に依存しないことを示した。これにより、非相同意組換えと相同意組換えとは、基質となるふたつのDNA鎖の塩基配列の相同意の必要性のみならず、その反応の分子機構もまた異なっていることが明らかになった。

2. 染色体異常と非相同意組換え

ヒトにおける染色体異常の研究は、染色体の観察技術の向上によってもたらされた。今世紀初頭に議論となつた、ヒトの染色体数に関する論争(48説が正しいか47説が正しいかを巡る対立)は、培養細胞を材料として用いたり、いわゆる「押しつぶし法」を適用したりすることによって、従来のパラフィン切片法により観察されていた染色体像よりも明確な染色体像を顕微鏡下に観察することができるようになり、その決着をみたが(Tjio and Levan, 1956)、続く1958年、Fordらが同様な方法でTurner症候群の患者(外見的には女性であるが、小児様の発育不全を示し、しばしば翼状頸や外反足を伴う)の染色体数が45で、X染色体を1個しか有していないことを示すにいたり、ヒトの染色体異常の研究は隆盛を迎えた。

その後、1960年代には、ヒトの末梢血を採取して、そのなかに含まれるリンパ球を培養し、その染色体を観察する方法が開発され、このことは、種々の先天性疾患の原因となる染色体異常の発見を促し、さらには、正常人の染色体の観察による、染色体の多型や転座染色体の発見をもたらした。さらに進んで、1970年代には、染色体を縞状の濃淡のバンドに染め分けるさまざまな分染法が広く行われるようになり、これらの分染法は、形態学的に類似している染色体の識別や同定を可能にするのみならず、染色体異常の異常部位の同定、すなわち切断部位や再結合部位の特定を可能にした。

さらに、近年の分子生物学的手法の発展は、これまで顕微鏡下に観察された染色体異常の塩基配列レベルでの

解析を可能にしたが、これによって、ヒトにおいて観察される染色体異常の構造が、バクテリアやファージにおいて観察される非相同意組換えの産物の構造と共にしていることが明らかになった。したがって、バクテリアやファージにおける非相同意組換えの分子機構の解明が、ヒトの染色体異常の発生機構の解明に貢献することが考えられるようになった。

3. 非相同意組換えの分子機構の解明の試み

—II型のDNAトポアイソメレース(大腸菌DNAジャイレース)によって触媒される非相同意組換えの発見—

DNA複製や転写など、他のDNA関連反応に比べ、非相同意組換えの分子機構の解明が立ち遅れていたのは、Franklin(1966)が述べたように、この反応が、ごく「まれ」で、「でたらめ」に起こるものであるため、検出が困難であったからである。すなわち、反応の起こる頻度が非常に低い上に、この反応が、基質となるふたつのDNA鎖の塩基配列に長い相同意を必要とせず、DNA上のありとあらゆる部位で起こるため、均一な反応産物を得られなかったのである。

それに対して池田ら(1981)は、すでに確立されていたλファージのin vitroパッケージ系を利用し、in vitroにおいて非相同意組換えを再現することに成功した。λファージのin vitroパッケージ系とは、λファージ粒子のin vitro再構成系のことであり、大腸菌に溶原化しているλファージを誘発させることによって調製した細胞粗抽出液(溶菌液)を用い、外から加えたλDNAを蛋白の殻(λプロヘッドと尾部)にパッケージさせ、感染能力のあるファージ粒子を得るというものである。池田ら(1981)は、細胞粗抽出液に、λDNAとは相同意のないプラスミドpBR322を加えると、λDNAの一部が欠失し、そこにpBR322が挿入されたような構造を持つDNA、まさしく“hybrid genetic structure”(Campbell, 1962)をゲノムとするファージが形成されることに気づいたのである。

この反応を触媒する酵素がDNAジャイレース(大腸菌DNAトポアイソメレースII)であることを明らかにしたのが、以下の実験である。池田ら(1981)は、この系において、DNAジャイレースの阻害剤の一種であるオキソリソ酸を反応液に加えることによって、組換えが促進されることを見出した。当時はオキソリソ酸の標的是DNAジャイレースのふたつのサブユニットのひとつであるGyrA蛋白と考えられていたので(その後、DNAト

^a このファージを用いれば、バクテリアの遺伝子を他のバクテリアに導入することができることから、このようなファージは「特殊形質導入ファージ」と呼ばれる。なお、Campbell(1962)は、このようなファージのゲノムを、いみじくも“hybrid genetic structure”と呼んだ。

ポアイソメレースIVの発見によって、オキソリン酸がこの酵素をも標的とする薬剤であることが明らかになった(Kato et al., 1992))、オキソリン酸はGyrA蛋白に作用することによって非相同的組換え反応を促進させていることが考えられた。実際、オキソリン酸やそのプロトタ

イプであるナリジキシン酸に耐性を示す $gyrA$ 遺伝子の変異株(*nalA* 26)から細胞粗抽出液を調製した場合には、オキソリン酸によっては組換えは促進されなかった。その後、DNAジャイレースのもうひとつのサブユニットであるGyrB蛋白の阻害剤の一種であるクママイシンによって組換えが阻害されることが示され、この過程がDNAジャイレースそれ自体によって触媒されることが示唆された。

実際、精製されたDNAジャイレースを反応液に加えることによって組換えが促進されること(Ikeda et al., 1984 a), およびオキソリン酸存在下での組換え産物を解析した結果、DNAジャイレースによるDNAの切断部位とオキソリン酸によって誘導される非相同的組換えの反応産物の組換え部位がよく一致していること(Ikeda et al., 1984 b)が明らかになるにいたり、この反応がDNAジャイレースによって触媒されることが示された。

DNAジャイレースは、一方のDNA鎖に二重鎖切断を導入し、その間をもう一方のDNA鎖を通過させ、切斷したDNA末端を再び結合させることによって、DNAのリンク数を増減させる活性を持つことから^b、DNAジャイレースによって触媒される非相同的組換え反応の分子機構として、池田ら(1982)は、二重鎖切断が導入されたDNA鎖とDNAジャイレースが結合した中間産物、いわゆる「クリーバブル・コンプレックス」が独立にふたつ存在し、両者が互いに接近、結合した後、再び解離する際、サブユニットの交換が起こり、結果としてそれぞれのサブユニットに結合していたDNA鎖の交換が起こることによって組換えが起こると考え、このモデルを「DNAジャイレース・サブユニット交換モデル」と呼んだ(Fig. 2)。オキソリン酸は二重鎖切断が導入されたDNA鎖の再結合の過程を阻害することにより、このようなクリーバブル・コンプレックスを蓄積させることができるので、DNAジャイレースによる組換え反応におけるオキソリン酸の促進的効果は、まさしくこのクリーバブル・コンプレックスの数を増加させることにあると説明することができる。

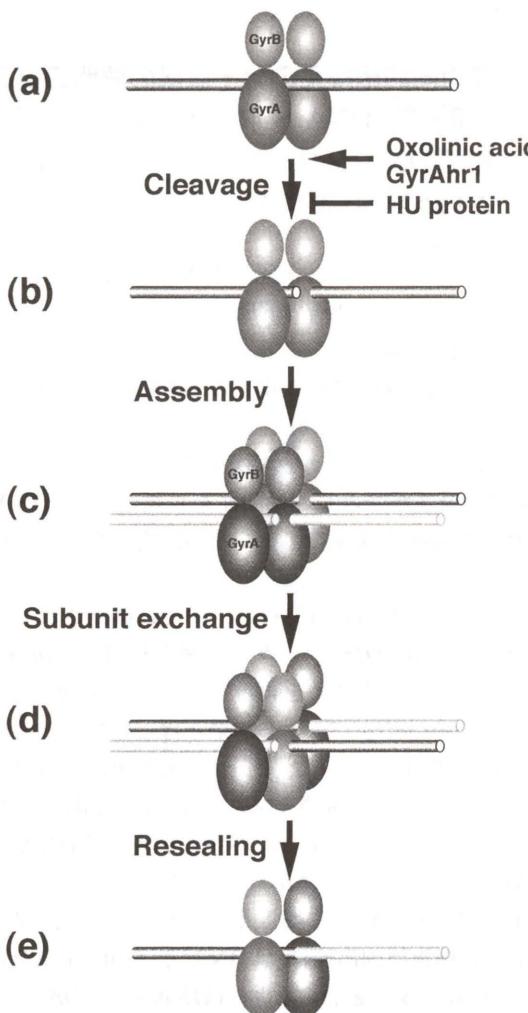


Fig. 2 DNA gyrase subunit exchange model for illegitimate recombination (Ikeda et al., 1982). A DNA gyrase cleaves DNA (b), and the gyrase-DNA complex, cleavable complex, assembles with another complex, forming the tetrameric structure (c). The dissociation of the tetrameric form results in subunit exchange that leads to the exchange of DNA strands (d).

^b ATP存在下において、基質がより弛緩しているときは、リンク数を減少させることによって負のスーパーコイルを導入し、逆に基質がより負にスーパーコイルしているときは、リンク数を増大させることによってDNAを弛緩させる(Kataoka et al., 1996)。その際、反応の飽和点は反応温度に依存して変化し、より低温ではより負にスーパーコイルし、より高温ではより弛緩することが示されている(Kataoka et al., 1996)。この性質は、熱刺激を与えたときの大腸菌細胞のDNAのスーパークリーリングの変化を説明するものである(Ogata et al., 1994)。

4. II型のDNAトポアイソメレースによって触媒される、相同配列を必要としない非相同的組換えが *in vivo* において起こることの証拠—非相同的組換えを定量的に検出する *in vivo* アッセイ・システムの確立と癌治療の現場からの報告—

これまで報告してきた、バクテリアの染色体やプラスミドなど、*in vivo* において検出される非相同的組換えは、すべて、塩基配列に短い(4–10 bp)相同性のあるDNA鎖の間で起こっていたものであった(Farabaugh et al., 1978; Studier et al., 1979; Pribnow et al., 1981; Albertini et al., 1982; Jones et al., 1982; Marvo et al., 1983; Lopez et al., 1984; Yi et al., 1988; Kumagai and Ikeda, 1991)。それに対し、上で述べた *in vitro* において大腸菌DNAジャイレースによって触媒され、オキソリン酸によって促進される非相同的組換えは、相同性のない(1–3 bp)DNA鎖の間で起こっていた(Naito et al., 1984)。したがって、DNAジャイレースによって触媒される非相同的組換えは、これまでに知られていないものであるか、*in vivo* においては実際に起こらない反応である可能性が考えられた。

そこで、池田ら(1995)は *in vivo* において非相同的組換えを定量的に検出するアッセイ・システム(λ Spi⁻アッセイ)の確立を試みた。その原理は、溶原化している λ ファージが誘発される際に非相同的組換えによって形成される λ bio特殊形質導入ファージを選択し、総ファージ数に対する λ bio特殊形質導入ファージ数の割合を求め、その値をもって非相同的組換えの頻度と定義する、というものである(Fig. 1)。 λ bio特殊形質導入ファージ(λ Spi⁻ファージ)とは、 λ DNAの一部と大腸菌染色体DNAの一部(*bio*遺伝子を遺伝マーカーとして持つ)からなるハイブリッドDNAをゲノムとするファージを意味し、そのほとんどは、 λ DNAの $attL$ 近傍にマップされる red 遺伝子と gam 遺伝子との両方を欠失している(λ bio⁺ red⁻ gam⁻)。このような変異ファージは、野生型ファージが感染することのできないP2ファージ溶原菌(WL 95)にも感染することができるため、WL 95の菌液を塗った寒天培地上にplaquesを形成することができる。また、ここで用いている λ ファージ(λ cI857)は、cIリップレッサーが温度感受性になっているため、溶原菌を熱処理すれば容易に λ ファージを誘発させることができる(熱誘発)。かくして、熱誘発により集積したファージを用い、P2ファージが溶原化していない大腸菌(Ymel)を指示菌としてplaquesを形成させ、その数を計測することによって総ファージ数を算出する一方、WL 95を指示菌としてplaquesを形成させ、 λ Spi⁻ファージ数を算出し、両者の比を求め、 λ Spi⁻ファージ

の出現頻度とした。

このようなシステムを用いて、*in vivo* における非相同的組換えに対するオキソリン酸の効果を検討したところ、オキソリン酸によって組換えが促進されることがわかった(Shimizu et al., 1995)。しかも、このとき組換えの産物を解析すると、短い相同性(平均8 bp)のあるDNA鎖の間で起こっているもの他に、*in vitro* においてDNAジャイレースによって触媒され、オキソリン酸によって促進される非相同的組換え同様、相同性のない(平均1 bp)DNA鎖の間で起こっているものが存在していた。さらに、オキソリン酸やナリジキシン酸に耐性を示す $gyrA$ 変異株(*nalA* 26)では、オキソリン酸による組換えの促進は観察されなかった。したがって、DNAジャイレースによる非相同的組換えは、*in vivo* においても実際に起こる反応であり、これまで知られていなかつた新しいタイプの組換えであることが示された。

最近、ミニFプラスミドをベクターとして用いたプラスミド・シャッフル法(Kato and Ikeda, 1996)により分離した $gyrA$ 遺伝子の温度感受性変異株のなかにオキソリン酸非存在下で λ Spi⁻ファージの出現頻度が上昇するものが複数存在することが見出された(Shimizu et al., 1997; Ashizawa et al., unpublished), これらの変異株は高温においてDNAに二重鎖切断を導入することはできても、再結合させることのできない株であった(Ashizawa et al., unpublished)。さらに、変異 $gyrA$ 遺伝子の遺伝子産物を精製し、それらの蛋白のDNAスーパークリーリング活性の測定を試みたところ、変異GyrA蛋白の反応産物のなかに、野生型GyrA蛋白の反応産物には観察されない、直鎖状DNAが検出された(Ashizawa et al., unpublished)。これらの結果は、先に述べた「DNAジャイレース・サブユニット交換モデル」を支持するものであって、変異GyrA蛋白が存在する、あるいは野生型GyrA蛋白の活性が、オキソリン酸存在下など、ある条件下で変化するなどして、DNAに二重鎖切断が導入されても再結合されないような状態が続いたとき、DNAジャイレースによる組換えが誘導されるものと思われる(Fig. 2)。

DNAジャイレースのDNAスーパークリーリング活性を促進させる蛋白性因子としては、ヒストン様蛋白のひとつであるHU(真核HMGのファンクショナル・アログ)(Yang and Ames, 1990)や、分子シャペロンの一種である熱ショック蛋白DnaK(真核hsp 70ホモログ)(Ogata et al., 1996)が存在するが、HU蛋白の欠失変異株ではDNAジャイレース依存の非相同的組換えが亢進することがわかり(Shanado et al., 1998)、DNAジャイレースによって触媒される組換えが *in vivo* において実際に起こっていることが確かめられるとともに、その分子機構が解明されつつある。

このような組換えは、T4ファージのDNAトポアイ

ソメレース(Ikeda et al., 1986)や真核のDNAトポアイソメレースII(Bae et al., 1988)でも触媒されることから、この反応はウイルスはおろか原核から真核にいたるまで高度に保存されているものであることが考えられる。実際、DNAトポアイソメレースIIを標的とする制癌剤の投与により、副作用として急性白血病(ALs=acute leukemias)が誘発されることが知られているが、このような急性白血病の患者のリンパ球では、第11番染色体のある領域(11q23)が切断され、他のさまざまな染色体領域と結合したような相互転座が頻繁に観察される。このとき、この領域に存在するMLL遺伝子(ALL1遺伝子)の構造を解析すると、その切断部位の近傍にはDNAトポアイソメレースIIの結合部位が存在していることがわかった(Negrini et al., 1993; Gu et al., 1994)。したがって、II型のDNAトポアイソメレースによって触媒され、その阻害剤によって促進される非相同的組換えが、ヒトの体内でも起こっていることが認知されるようになった。これなどはいわば、大腸菌からヒトにいたるまで共通に起こる疾患の例といえるだろう。

5. 紫外線や変異原物質、活性酸素など、環境のストレスによって誘導される、短い相同配列を必要とする非相同的組換え

先に述べたDNAジャイレースによって触媒される非相同的組換えは、その阻害剤であるオキソリソリン酸によって促進されることから、ある意味では環境のストレスによって誘導される非相同的組換えと考えることができる(オキソリソリン酸は熱ショック応答やSOS応答などのストレス応答を誘導する薬剤であることが知られている)。私たちは、特殊形質導入ファージの形成時に起こる非相同的組換えを検出するin vivoアッセイ・システムの確立の過程において、紫外線など、他の環境のストレスもまた非相同的組換えを誘導することを見出した(Ikeda et al., 1995)。ただし、この場合は、DNAジャイレースによって触媒される非相同的組換えとは異なり、短い相同配列を必要とする組換えであった(Yamaguchi et al., 1995)。したがって、非相同的組換えには、II型のDNAトポアイソメレースによって触媒され、その阻害剤によって促進される、相同配列を必要としないタイプと、紫外線などの環境のストレスによって誘導される、分子機構が明らかではない、短い相同配列を必要とするタイプとが存在することが明らかになった。

紫外線によって誘導される非相同的組換えの発見の経緯は、以下の通りである。 λ Spi⁻アッセイにおいては、 λ ファージを増殖させるために熱誘発を採用しているが、これは、ここで用いている λ ファージ(λ cI857)のcIリップレッサーが温度感受性であるためである。 λ ファージを誘発させる方法としては、他にも紫外線照射に

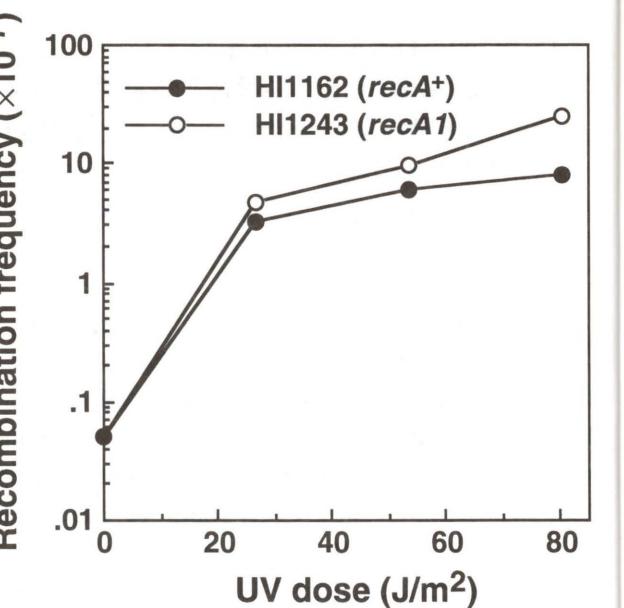


Fig. 3 Stimulation of illegitimate recombination by UV light-irradiation (Ikeda et al., 1995). *E. coli* HI1162 (as 594 except λ cI857 ind⁻) or HI1243 (as HI1162 except recA1) was grown to 2×10^8 cells/ml at 30°C in λ YP broth, and the culture was irradiated to UV light for various periods in a glass dish. Induction of the prophage was carried out by incubation at 42°C for 15 min, and the culture was then incubated at 37°C for 2 hr. The number of plaques on Ymel was defined as the concentration of total phages and the number of plaques on P2 lysogen WL95 was defined as the concentration of Spi⁻phages. The frequency of illegitimate recombination was defined as the ratio of the concentration of Spi⁻phage to the concentration of total phages.

よって誘発させる方法があるが、ここで用いている入ファージのind遺伝子は変異を持つため、紫外線照射によっては λ ファージを誘発させることはできない。一方、cI遺伝子とind遺伝子とが野生型である λ ファージを溶原化ファージとして採用し、紫外線照射によって入ファージを誘発させ、特殊形質導入ファージの出現頻度を測定したところ、その頻度は、熱処理によって λ ファージを誘発させるアッセイ・システムによって測定された特殊形質導入ファージの出現頻度に比べ、非常に高い値を示すことに気づいた。

これらふたつのアッセイ・システムの違いは、 λ ファージの誘発のさせ方だけなので、紫外線照射の効果は、 λ ファージの誘発のみならず、組換えそのものの促進にもあるのではないかと考えた。もし、そうであるならば、熱処理によって λ ファージを誘発させるアッセイ・システムにおいても、紫外線を照射すれば組換えの頻度が高くなるはずである。実際、このアッセイ・システムにおいて、照射した紫外線の線量に依存して組換えの頻度が上昇し、その値は、紫外線照射によって λ ファージを誘発させるアッセイ・システムによって測定された値とほ

ぼ同じ値を示すことがわかった(Fig. 3; Ikeda et al., 1995)。この紫外線照射によって誘導される非相同的組換えは、recA遺伝子の変異株でも同様に観察されるので、RecA機能に依存する相同的組換えの副産物を検出しているものではないし、RecAプロテアーゼを必要とするSOS応答の結果、起こる反応でもない。

それでは、どうして紫外線照射によって組換えが促進されるのかが問題となるが、紫外線照射によってDNAにチミンダイマーなどの損傷が生じ、その除去修復の過程で誤った塩基が取り込まれることにより、変異が生じることが知られているので、紫外線が持つ、変異を誘発するという性質が、組換えに寄与している可能性が考えられた。もしそうであるならば、紫外線に限らず変異を誘発するものであるならば、すべからく組換えを誘導すべきである。実際、強力な変異誘発剤であるニトロソグアニジンやアフラトキシンB₁によって非相同的組換えの頻度が上昇することがわかった(Ikeda et al., 1995)。したがって、この過程には、DNAの損傷が必要であることが示唆された。

同じことは活性酸素についてもいえ、大腸菌を過酸化水素水で処理すると、 λ Spi⁻アッセイにおいて、非相同的組換えの頻度が上昇することがわかった(Onda et al., 1999)。活性酸素によって生じるDNA損傷としては、8-オキソグアニジンが知られているが、その修復に関与するmutM遺伝子の欠失変異株では、組換えの頻度がさらに上昇するので、活性酸素によって誘導される非相同的組換えもまた、DNAの損傷によって引き起こされるものと思われる。

6. 環境のストレスによって誘導される、短い相同性を必要とする非相同的組換えの分子機構の解明

それでは環境のストレスによって誘導される非相同的組換えはどのような分子機構で起こるのだろうか。 λ Spi⁻アッセイにおいて検出される非相同的組換えは、 λ DNAの欠失と大腸菌染色体DNAの挿入である。欠失には、ふたつの異なる分子機構が存在し、ひとつは鉄型となるDNAの一部が複製されず、娘DNA鎖からその部分が消失することによって起こるものである。欠失が起きた部位には、しばしば順方向の反復配列が認められることから、このような配列を鉄型に持つとき、DNAポリメラーゼのスリップが起こるのであろうと考えられている。

もうひとつの欠失の分子機構は、その部位が切り出されることによって起こるものである。 λ Spi⁻アッセイは、いわば λ DNAの異常な切り出しを検出するものであり、したがって、ここで起きた欠失は切り出しによるものである。切り出しによる欠失の最初の段階は、

λ DNAと大腸菌染色体DNAとにそれぞれ二重鎖切断が導入されることなので(Fig. 1)、私たちは、紫外線照射によって組換えが亢進されるのは、紫外線によってこのような二重鎖切断が促進されるからではないかと考えた。

しかしながら、紫外線は γ 線などとは異なり、DNAに直接的に二重鎖切断を導入することはないことが、精製されたT7ファージのDNAを用いたin vitroにおける実験によって示されている(Smith and Hanawalt, 1969)。それに対して、除去修復や組換え修復のできない大腸菌の変異株に紫外線を照射した後、さらに大腸菌をインキュベーションした場合には、染色体の崩壊が起こり、低分子量のDNA断片が観察されることが報告されている(Wang and Smith, 1986)、in vivoにおいては紫外線によってDNA二重鎖切断が誘導されることが考えられる。

すでに紫外線照射によって生じたDNAの損傷部位では複製フォークの進行が停滞することが知られているので(Rupp and Howard-Flanders, 1968)、私たちは、その際、鉄型となったDNA鎖が一本鎖となるため、切断を受けやすくなるのではないかと考えた。とりわけ、紫外線照射によって誘導される非相同的組み換えの産物を解析すると、高頻度に組み換えが起こる部位(ホット・スポット)の近傍には、またしても順向き反復配列が存在していたので(Yamaguchi et al., 1995)、鉄型DNA鎖に生じた損傷部位で複製フォークの進行にブレーキがかかり、その近傍に存在する順向き反復配列でスリップし、鉄型DNA鎖が湾曲することによって生じた一本鎖DNAのループを、そのような構造を特異的に認識し、切断するヌクレアーゼが切断することによって二重鎖切断が形成されるのだろうと考えた(Fig. 4; Yamaguchi et al., 1995)。さらに、その後の解析により、ホット・スポット領域には、約140 bpの逆向きの反復配列が存在していることがわかった。逆向き反復配列を持つ一本鎖DNAは、ステム・ループやクルシフォーム構造のような特殊な二次構造を形成することが知られているので、鉄型DNA鎖の損傷部位で複製フォークが停滞したとき、このような二次構造が形成され、任意の箇所で切断を受け、二重鎖切断が形成されることが考えられる。いずれにせよ、私たちのモデルは、複製フォークの進行が損傷部位で停滞することを前提としているので、紫外線照射によって誘導されるDNA二重鎖切断にDNA複製の伸長反応が必要か否かを検証しなければならない。間接的な証拠としては、dnab遺伝子の温度感受性変異株では紫外線照射後の非相同的組み換えの頻度が低下する(Yamashita et al., unpublished)ことが挙げられよう。この場合、dnab遺伝子のDNA複製の開始段階の変異株(スロー・ストップ・フェノタイプを示す)では効果はなく、伸長段階の変異株(クイック・ストップ・フェノタイプを示す)では効果がある。

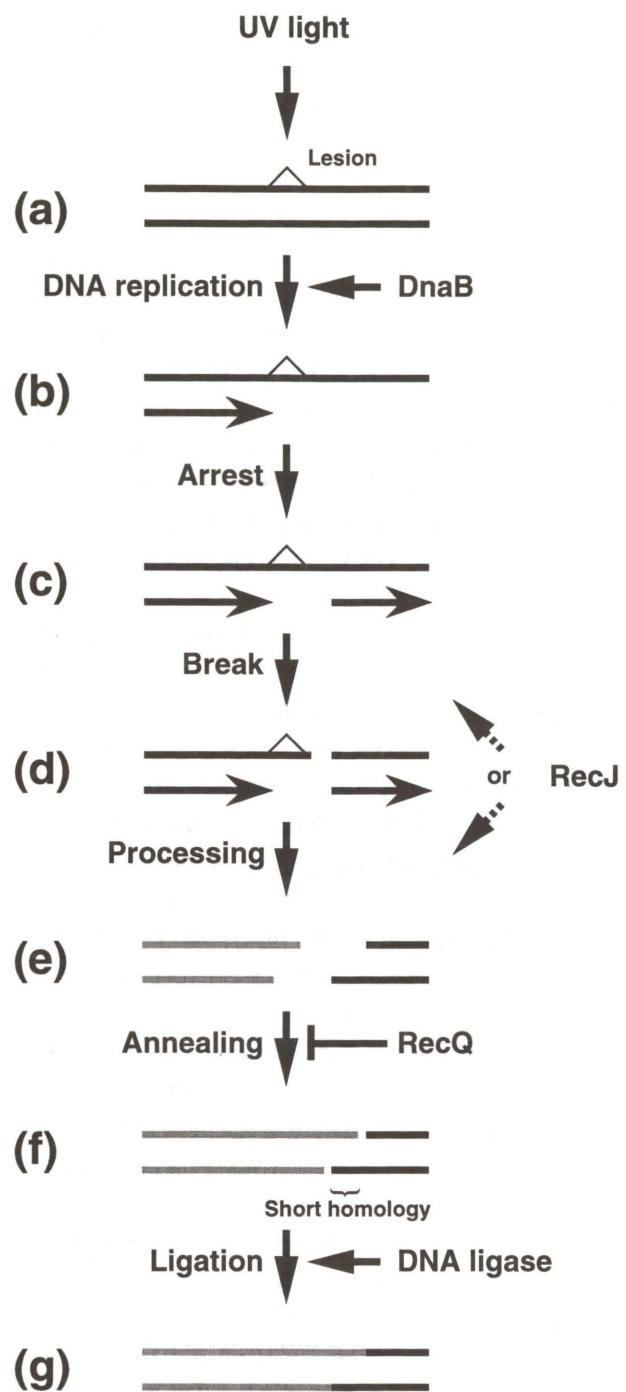


Fig. 4 A proposed mechanism of UV light-irradiation-induced illegitimate recombination. A lesion is induced by UV light-irradiation (a), and DNA replication occurs with the damaged DNA as a template (b). The progression of replication fork arrests at the lesion (c), and the template DNA is broken enzymatically (single-strand break), resulting in the formation of double-strand break (d). The ends of DNA is processed (e), annealed (f) and ligated (g). DnaB protein is involved in the step of the progression of replication forks, and RecJ protein participates in either the step of the formation of double-strand breaks (d) or the processing of DNA ends (e). Annealing is dependent on short homology (f), and this step is suppressed by RecQ protein. Ligation is carried out by DNA ligase.

イブを示す)で効果があるので、少なくとも紫外線照射によって誘導される非相同的組み換えにはDNA複製の伸長反応が必要である。DNA複製の伸長反応はDNA二重鎖切断の形成過程に寄与しているのかも知れない(Fig. 4)。

次に、紫外線照射によって誘導される非相同的組み換えの分子機構を解明するために、この過程に関与するさまざまな因子を遺伝学的に同定することを試みた。その際、相同的組み換えに関与する遺伝子の中に、非相同的組み換えにも関与する遺伝子が存在する可能性を考え、*rec*変異株のなかに紫外線照射後、組み換えの頻度が上昇しないようなものが存在するか否かを検討した。その結果、相同的組み換えのRecF経路やRecE経路に関与する*recJ*遺伝子の破壊株では、紫外線を照射しても組み換えが促進されないことが示された(Ukita and Ikeda, 1996)。さらに、*recJ*破壊株において低頻度ながらも起こる組み換えの産物を解析したところ、この株では、野生株において観察される組み換えのホット・スポットが検出されないことがわかった。したがって、*recJ*遺伝子が紫外線照射後にホット・スポットで起こる非相同的組み換えに必要であることが示された。精製されたRecJ蛋白は、一本鎖DNAを5'末端から3'末端の方向に分解するDNAエキソヌクレアーゼ活性を持つ(Lovett and Kolodner, 1989)、非相同的組み換えにおけるRecJ蛋白の役割として、紫外線照射によって切断を受けたDNA鎖の末端を分解することにより、短い相同配列を持つDNA鎖との結合を促進させている可能性が考えられた(RecJ蛋白がDNA二重鎖切断の形成後に働くとする仮説)(Fig. 4; Ukita and Ikeda, 1996)。一方、RecJ蛋白が紫外線照射後のDNA二重鎖切断の過程に寄与する可能性も考えられるので(RecJ蛋白がDNA二重鎖切断の形成過程に働くとする仮説)、現在この仮説を検証している(Fig. 4)。

一方、*recJ*遺伝子と同様に相同的組み換えのRecF経路やRecE経路に関与する*recQ*遺伝子の破壊株では、*recJ*破壊株とは逆に、紫外線照射後、組み換えが野生株以上に亢進することが示された(Hanada et al., 1997)。ただし、この株では、紫外線非照射時でも組み換えが高頻度に起こるので、RecQ蛋白は、紫外線照射の有無に関わらず、非相同的組み換えを抑制していることがわかった。精製されたRecQ蛋白は、二本鎖DNAを3'末端から5'末端の方向に解離するDNAヘリカーゼ活性を持つので、この過程におけるRecQ蛋白の役割として、RecQ蛋白が、短い相同性を持つDNA鎖同士の結合を抑制していることが考えられる(Fig. 4; Hanada et al., 1997)。最近、癌が多発するブルーム症候群や早老病として知られるウェルナー症候群の原因遺伝子が*recQ*遺伝子のホモログであることが明らかにされたが、ひとつの可能性として、癌化や老化は、非相同的組み換えが抑制されず、

染色体異常が多発することによって起こるのかも知れない。

この他、この過程に関与する因子として、DNAの折り曲げに働くFis蛋白やIHF蛋白(Shanado et al., 1997)などが見出されており、今後はこれら遺伝学的に同定された蛋白を精製し、紫外線照射によって誘導される非相同的組み換えを *in vitro*において再構成することによって、それぞれの蛋白の役割を明らかにしていきたいと考えている。

7. 真核生物における非相同的組み換えの分子機構の解明

大腸菌を材料として用いて明らかにしてきた非相同的組み換えの分子機構が、真核生物にも共通であるか、また異なる分子機構が存在するかを明らかにすることは、染色体異常、ひいては遺伝子疾患や癌化、老化など、高次の生命現象を理解するうえで重要である。そこで、塚本ら(1996a)は、酵母を材料として用い、プラスミドにおける非相同的組み換えを定量的に検出する *in vivo* アッセイ・システムを確立した。その原理は、カナバニンとシクロヘキサミドというふたつの薬剤に耐性を示す酵母に、それぞれの薬剤に対する感受性をもたらすふたつの遺伝子(*CAN1*遺伝子と *CYH2*遺伝子)を隣り合わせに持つプラスミド(YCpL 2)を導入して(このプラスミドを持つ酵母はカナバニンとシクロヘキサミドを含む寒天培地にはコロニーを形成することはできない)、これらふたつの遺伝子を同時に欠失したようなプラスミドを持つ酵母(このようなプラスミドを持つ酵母はカナバニンとシクロヘキサミドを含む寒天培地に再びコロニーを形成することができるようになる)を選択し、その出現頻度をもって非相同的組み換えの頻度と定義するというものである。こうして検出された欠失は、両末端のDNA鎖の間に短い相同性(1–5 bp)が存在したことから、短い相同配列を必要とするタイプの非相同的組み換えにより起きたものであった。

次に、この過程に関与する因子を同定することを目的として、大腸菌における紫外線照射後の非相同的組み換えに対して *rec*変異の効果を検討したように、酵母における相同的組み換えや胞子形成時の減数分裂の際に起こる相同的組み換えに必要な遺伝子の変異の効果を検討した。その結果、この過程に *RAD50*, *RAD52*, *MRE11*, および *XRS2* 遺伝子が関与していることが示された(Tsukamoto et al., 1996a)。これらの遺伝子の役割を明らかにするため、組み換えの検出に用いたYCpL 2プラスミドにセントロメア(動原体)をふたつ持たせたプラスミドを構築した(Tsukamoto et al., 1997a)。このプラスミドを酵母に導入すると、細胞分裂の際にそれぞれのセントロメアが両極に引っ張られるためにDNA二重鎖切断が2ヶ所で起こり、組み換えが誘導されるので、非相同的組

換の最初の段階であるDNA二重鎖切断は必要ではなく、最後の段階であるDNA末端の結合(エンド・ジョイニング)のみを検出することができる。その結果、*RAD52*遺伝子以外はエンド・ジョイニングの過程に寄与していることが明らかになった(Tsukamoto et al., 1997a)。*Mre11*蛋白は一本鎖DNAを3'末端から5'末端の方向に分解するDNAエキソヌクレアーゼ活性を持ち(Paull and Gellert, 1998)、かつRad 50蛋白とXrs 2蛋白とで三者複合体を形成すること(Johzuka and Ogawa, 1995)が知られているので、これらの蛋白は、切断を受けて生じたDNA末端を分解し、一本鎖DNAを露出させることによってエンド・ジョイニングを促進させていると考えられる。一方、Rad 52蛋白は相同的組み換えに関与するので、この蛋白は、相同的組み換えにより、二量体のプラスミドを形成させ、ふたつのセントロメアを持つプラスミドを生じさせることにより、間接的に非相同的組み換えに寄与するのかも知れない。

この他にも、塚本ら(1996b)は、免疫グロブリン遺伝子の再編成時に起こるV(D)J組み換えに関与するKu 70蛋白の酵母ホモログ(Hdf 1)が非相同的組み換えに関与していること、とりわけ、ふたつのセントロメアを持つYCpL 2の組み換えに関与することから、この蛋白がエンド・ジョイニングの過程に関与することを見出した。Ku蛋白はDNA末端に結合する性質を持つことから、この蛋白は、DNA末端同士を接近させることによってエンド・ジョイニングを促進させていると考えられる。さらに、Hdf 1蛋白と相互作用する因子として同定したSir 4蛋白や、Sir 4蛋白とともに働くSir 2蛋白とSir 3蛋白もまた、エンド・ジョイニングに関与することが明らかになった(Tsukamoto et al., 1997b)。Hdf 1蛋白が、Sir 2, Sir 3, およびSir 4蛋白やヒストンと複合体を形成してテロメア領域などを不活性化すること(サイレンシング)を考慮すると、DNAが切断を受けたとき、Hdf 1蛋白がこれらサイレンシング因子とともにDNA末端を不活性化し、エンド・ジョイニングを促進させていく可能性が考えられる(Fig. 5; Tsukamoto and Ikeda, 1998)。しかしながら、サイレンシング因子の役割については、サイレンシング因子が接合型決定遺伝子の発現を抑制することによって間接的にエンド・ジョイニングに関与しているという説(Aström et al., 1999; J. Harber, 私信)もあり、現在、検討中である。

また、大腸菌RecQ蛋白同様、その酵母ホモログであるSgs 1蛋白もまた、非相同的組み換えを抑制していることがわかった(Yamagata et al., 1998)。先に述べたように、ウェルナー症候群やブルーム症候群の原因遺伝子(それぞれ *WRN* および *BLM*)の産物はRecQホモログなので、それがSgs 1蛋白の代わりに働き得るか否かを検証したところ、*sgs1*遺伝子を破壊し、その代わりに野生型の *WRN* および *BLM* 遺伝子を挿入した酵母で

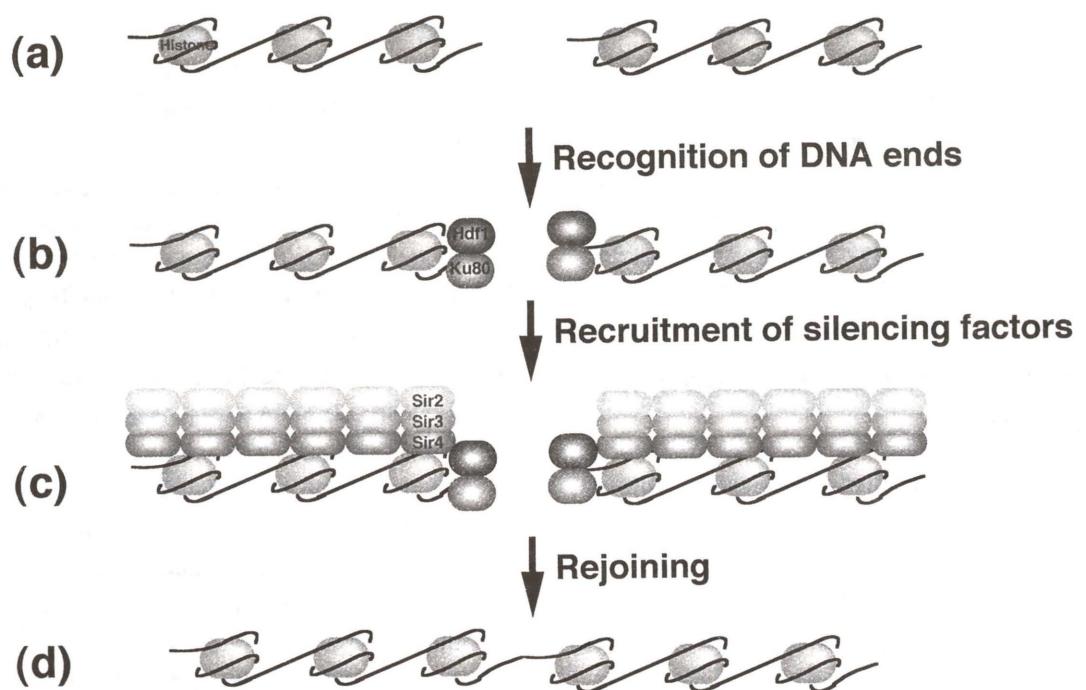


Fig. 5 A putative model for DNA end-joining (Tsukamoto et al., 1997b; Tsukamoto and Ikeda, 1998). Hdf1 protein and Ku80 homologue bind to broken DNA ends (b) and then recruit silencing factors (c), resulting in formation of heterochromatin-like structure, which is necessary for rejoining of the DNA ends (d).

は、非相同的組換えの頻度は上昇しなかった。したがって、WRN 蛋白や BLM 蛋白が非相同的組換えを抑制していることが明らかになった。ウェルナー症候群やブルーム症候群の患者の細胞では、染色体の不安定性が観察されるが、その原因は WRN 蛋白や BLM 蛋白の組換え抑制機能の欠損にあることが考えられる。

結語

大腸菌や酵母など、単細胞生物を材料として、遺伝学的、ならびに生化学的手法を用いることにより、非相同的組換えの分子機構の一端を明らかにすることができた。その結果として、ヒトにおいて観察される染色体異常の発生機構を説明することができるとなり、ひいてはヒトの遺伝子疾患や癌化、老化といった高次の生命現象までをも、私たちが解明した非相同的組換えの分子機構により推察することができるようになった。

とりわけ、私たちが見出した環境のストレスにより誘導される非相同的組換えの研究は、最近、問題となっている環境汚染によるヒトの疾患を理解するうえで重要なであろう。

参考文献

- Albertini, A. M., M., Hofer, M. P. Calos and J. H. Miller (1982) Cell, 29, 319-328.
 Åström, S. H., S. M. Okamura, and J. Rine (1999) Nature, 397, 310.
 Bae, Y.-S., I. Kawasaki, H. Ikeda and L. F. Liu (1988) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 2076-2080.
 Campbell, A. M. (1962) Adv. Genet., 11, 101-146.
 Farabaugh, R. J., U. Schmeissner, M. Hofer and J. H. Miller (1978) J. Mol. Biol., 126, 847-863.
 Franklin, N. C. (1966) Genetics, 55, 699-707.
 Gu, Y., T. Nakamura, S. A. Schichman, R. Prasad, O. Canaanai, H. Saito, C. M. Croce and E. Canaanai (1994) Cancer Res., 54, 2326-2330.
 Hanada, K., T. Ukita, Y. Kohno, K. Saito, J. Kato and H. Ikeda (1997) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94, 3860-3865.
 Ikeda, H., K. Moriya and T. Matsumoto (1981) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 45, 399-408.
 Ikeda, H., K. Aoki and A. Naito (1982) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79, 3724-3728.
 Ikeda, H. and M. Shiozaki (1984a) Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 49, 401-409.
 Ikeda, H., I. Kawasaki and M. Gellert (1984b) Mol. Gen. Genet., 196, 546-549.
 Ikeda, H. (1986) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 83, 922-926.
 Ikeda, H., H. Shimizu, T. Ukita and M. Kumagai (1995) Adv. Biophys., 31, 197-208.
 Johzuka, K. and H. Ogawa (1995) Genetics, 139, 1521-1532.
 Kataoka, K., T. Mizushima, Y. Ogata, T. Miki and K. Sekimizu (1996) J. Biol. Chem., 271, 24806-24810.
 Kato, J. and H. Ikeda (1996) Gene, 170, 141-142.
 Kato, J., H. Suzuki and H. Ikeda (1992) J. Biol. Chem., 267, 25676-25684.
 Kumagai, M. and H. Ikeda (1991) Mol. Gen. Genet., 230, 60-64.
 Lopez, P., M. Espinosa, B. Greenberg and S. A. Lacks (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81, 5189-5193.

- Lovett, S. T. and R. D. Kolodner (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, 2627-2631.
 Marvo, S. L., S. R. King and S. R. Jaskunas (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 80, 2452-2456.
 Naito, A., S. Naito and H. Ikeda (1984) Mol. Gen. Genet., 193, 238-243.
 Negrini, M., C. A. Felix, C. Martin, B. J. Lange, T. Nakamura, E. Canaanai and C. M. Croce (1993) Cancer Res., 53, 4489-4492.
 Ogata, Y., T. Mizushima, K. Kataoka, T. Miki and K. Sekimizu (1994) Mol. Gen. Genet., 244, 451-455.
 Ogata, Y., T. Mizushima, K. Kataoka, K. Kita, T. Miki and K. Sekimizu (1996) J. Biol. Chem., 271, 29407-29414.
 Onda, M., K. Hanada, H. Kawachi and H. Ikeda (1999) Genetics, 151, 439-446.
 Paull, T. T. and M. Gellert (1998) Mol. Cell, 1, 969-979.
 Pribnow, D., D. C. Sigurdson, L. Gold, B. S. Singer, C. Napoli, J. Brosius, T. J. Dull and H. F. Noller (1981) J. Mol. Biol., 149, 337-376.
 Rupp, W. D. and P. Howard-Flanders (1968) J. Mol. Biol., 31, 291-304.
 Shanado, Y., J. Kato and H. Ikeda (1997) J. Bacteriol., 179, 4239-4245.
 Shanado, Y., J. Kato and H. Ikeda (1998) Genes Cells, 3, 511-520.
 Shimizu, H., H. Yamaguchi and H. Ikeda (1995) Genetics, 140, 889-896.
 Shimizu, H., H. Yamaguchi, Y. Ashizawa, Y. Kohno, M. Asami, J. Kato and H. Ikeda (1997) J. Mol. Biol., 266, 297-305.
 Smith, K. C. and P. C. Hanawalt (1969) Molecular Photobiology, Academic Press, New York.
 Tjio, J. H. and A. Levan (1956) Hereditas, 42, 1-6.
 Tsukamoto, Y., J. Kato and H. Ikeda (1996a) Nucleic Acids Res., 24, 2067-2072.
 Tsukamoto, Y., J. Kato and H. Ikeda (1996b) Genetics, 142, 383-391.
 Tsukamoto, Y., J. Kato, and H. Ikeda (1997a) Mol. Gen. Genet., 255, 543-547.
 Tsukamoto, Y., J. Kato and H. Ikeda (1997b) Nature, 388, 900-903.
 Tsukamoto, Y. and H. Ikeda (1998) Genes Cells, 3, 135-144.
 Ukita, Y. and H. Ikeda (1996) J. Bacteriol., 178, 2362-2367.
 Wang, T-C. and K. C. Smith (1986) Mutation Res., 165, 39-44.
 Yamagata, K., J. Kato, A. Shimamoto, M. Goto, Y. Furuihi and H. Ikeda (1998) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95, 8733-8738.
 Yamaguchi, H. T., Yamashita, H. Shimizu and H. Ikeda (1995) Mol. Gen. Genet., 248, 637-643.

塩素処理水中に検出される消毒副生成物の変異原性とその構造活性相関

加藤 美津子¹, 斎藤 治子¹, 磯田 信一¹, 中澤 裕之²

¹横浜市衛生研究所 環境衛生課 〒235-0012 神奈川県横浜市磯子区滝頭1-2-17
²星葉科大学 薬品分析化学教室 〒142-0063 東京都品川区荏原1-4-41

Structure-activity relationships of halogenated by-products detected in chlorinated water and related mutagenic activities

Mitsuko Kato¹, Haruko Saito¹, Shin-ichi Isoda¹ and Hiroyuki Nakazawa²

¹Division of Inspection and Research in Environmental Hygiene,
Kanagawa Yokohama City Institute of Health
1-2-17 Takigashira, Isogo-ku, Yokohama 235-0012, Japan

²Department of Analytical Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Science,
Hoshi University, 1-4-41 Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo 142-0063, Japan

Summary

Chlorinated by-products such as trihalomethanes were identified in drinking water and swimming pool water, because of chlorination for disinfection. It is now accepted that many kinds of by-products; e.g., chlorinated acetic acids, acetones, and acetonitriles, are formed by the reaction of chlorine and organic compounds naturally present in water. And a small amounts of brominated by-products were identified in chlorinated raw water containing bromine.

Then, mutagenic activity of 20 halogenated by-products; viz., mono-, di-, tri-haloacetic acids, haloacetonitriles, and haloacetone which were detected in chlorinated water, were assayed using the Ames test with *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 strains. In addition, any correlation between structure and mutagenic activity was investigated.

The TA98 mutagenicity testing of monohalogenated compounds showed few positives. However, it was considered that these compounds have cell toxicity to TA98 and TA100. Monobrominated compounds were cytotoxic at doses of 2 to 40-fold lower than monochlorinated compounds.

The mutagenic activity of most dihalogenated by-products displayed positive. It was shown that the mutagenic activity of brominated compounds was greater than chlorinated compounds. With chloroacetones, it appeared that their mutagenic activity was determined by the bond position of the chlorine atoms rather than their number.

The mutagenic activity was altered by various functional groups. In the case of TA100 without S9 mix, the mutagenic activity of -CN compounds was the greatest, then >C=O>-COOH in that order.

MX and BMX displayed extremely potent mutagenic activity in this studied. There was a difference of positive dose range with the presence and absence of S9 mix, in case of MX and BMX mutagenicity testing.

Keywords: mutagenic activity, chlorinated by-products, MX, BMX, structure-activity

受付: 1998年5月19日

受理: 1998年9月10日

©日本環境変異原学会

緒 言

現在、水道水やプール水中に生存する微生物による感染症を防ぐために添加される塩素と、水中の微量な有機物質が反応して生成する消毒副生成物の健康影響が注目されている。Bellarら(1974)およびRook(1974)が水道水中から消毒副生成物を検出して以来、多くの報告が出され、最近ではプール水中の消毒副生成物の検出についても報告されている(杉野ら、1993; Erdinger et al., 1990; 磯田ら、1995; 健名ら、1991)。これらによると、trihalomethane等の揮発性消毒副生成物の他、haloacetic acid, haloacetonitrile, haloacetone等の水溶性消毒副生成物が生成されるといわれている。さらに、水道水中およびプール水中からは強変異原物質のMXが検出されている(Meier et al., 1987a; Hemming et al., 1986; 斎藤ら、1995)。また、塩素消毒によって生成する消毒副生成物としては、原水中にブロムイオンが存在すると、クロル化合物の他にブロム化合物も生成し、その生成量はブロムイオンの濃度に相関するといわれている(惣名ら、1992)。

消毒副生成物のうち、chloroformについては、発がん性があることがNational Cancer Institute(1976)から報告されている。しかし、haloacetic acidおよびhaloacetonitrile等の消毒副生成物の発がん性に関する報告例は少ない(Bull, 1985; Herren-Freund, 1987; Waskell, 1978)。変異原性についても、*Salmonella typhimurium* TA 100系についての報告例はあるが(Meier et al., 1985; Merrick et al., 1987; Horth, 1989), TA 98系については少ない(Mortelmans et al., 1986)。

一方、化合物は置換基の位置や数、種類によって変異原性に差があることが報告されており(Stern et al., 1987; Henshler et al., 1977), 消毒副生成物についてもいくつかの報告がされている(Ishiguro et al., 1988; Tuppurainen, 1994; LaLonde et al., 1991)。

そこで、haloacetic acid, haloacetonitrile, haloacetone等、水溶性の消毒副生成物について、Ames法による変異原性試験を*Salmonella typhimurium* TA 98およびTA 100菌株を用いて系統的に行い、変異原活性値とその構造の関係について検討した。

実験材料および方法

1. 試薬および試薬の調製

変異原性試験に使用した試薬は、次の通りである。また今回検討した消毒副生成物20化合物をTable 1に示した。

- 1) 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acryl-amide (AF-2; CAS No. 3688-53-7) : 和光純薬工業(株) : 特級
- 2) 2-aminoanthracene (2-AA; CAS No. 613-13-

- 8) : 和光純薬工業(株) : 特級
- 3) dimethylsulfoxide (DMSO; CAS No. 67-68-5) : 和光純薬工業(株) : 生化学用
- 4) nutrient broth No. 2 (N. B. No. 2) : Oxoid Co. Ltd.
- 5) Ames試験培地:クリメディアAM-N;オリエンタル酵母(株)
- 6) S9:キッコーマン(株):phenobarbitalおよび5,6-benzoflavoneの腹腔内投与による酵素誘導ラット肝ホモジネート
- 7) cofactor: Cofactor-I オリエンタル酵母(株)
- 8) S9 mix: cofactor水溶液に対し、S9濃度を10%になるように用時調製した。
- 9) biotin(以下Bio):和光純薬工業(株) : 特級
- 10) histidine(以下His):和光純薬工業(株) : 特級
- 11) sodium chloride:和光純薬工業(株) : 特級
- 12) bacto agar:Difco Laboratories
- 13) top agar:bacto agarおよびsodium chlorideに精製水を加え、高圧蒸気滅菌後用時BioおよびHis水溶液を加えて調製した。

2. 変異原性試験

変異原性試験は、労働省の労働安全衛生法による変異原性試験(1995)に準じた。試験菌株は、*Salmonella typhimurium* TA 98およびTA 100(日本バイオアッセイ研究センター由来)を使用し、preincubation法で、S9 mix無添加(直接法、以下-S9)および添加(間接法、以下+S9)の両条件で行った。

陽性対照としてTA 98-S9およびTA 100-S9ではAF-2をそれぞれ0.1および0.01μg/plate添加し、TA 98+S9およびTA 100+S9では2-AAをそれぞれ0.5および1.0μg/plate添加した。

前培養は、培地にnutrient broth No. 2を使用し、30mI三角フラスコを用いたS字振盪式で行った。

変異原性の判定は労働安全衛生法に準じて、溶媒対照に対して2倍以上の復帰コロニー(単位は revertants, 以下rev.)が出現したときを試験陽性とし、かつ、量-反応性がある場合、変異原性陽性とした。上述の条件に当てはまらない場合はすべて変異原性陰性とした。

また各試験ごとに、溶媒対照および陽性対照における変異コロニー数の許容範囲を確認した。

結 果

Haloacetic acid類の変異原性試験結果をTable 2に示した。TA 98系では、-S9および+S9の条件において作用濃度段階の公比を1.25にしても菌の生育阻害は認められ、変異原性試験陽性とはならなかったので、変異原性陰性と判定した。TA 100+S9においても、dibromoacetic acidを除いてTA 98の場合と同様に生育

Table 1 Characters of 20 chemicals for Ames test studied

Chemicals*	Molecular formula	Molecular weight	Supplier	Purity	CAS No.
• Haloacetic acids					
Monochloroacetic acid	CH ₂ ClCOOH	94.5	Aldrich Chemical Co. Inc.	99%	1979-11-8
Dichloroacetic acid	Cl ₂ CHCOOH	128.94	Wako pure chemical Industries, Ltd.	98%	79-43-6
Trichloroacetic acid	Cl ₃ CCOOH	163.39	Wako pure chemical Industries, Ltd.	98%	1976-3-9
Monobromoacetic acid	BrCH ₂ COOH	138.95	Wako pure chemical Industries, Ltd.	98%	1979-8-3
Dibromoacetic acid	Br ₂ CHCOOH	217.86	Wako pure chemical Industries, Ltd.	98%	631-64-1
• Haloacetonitriles					
Monochloroacetonitrile	CICH ₂ CN	75.5	Kanto Chemical Co., Inc.	>98.0%	107-14-2
Dichloroacetonitrile	Cl ₂ CHCN	109.94	Aldrich Chemical Co. Inc.	98%	79-43-6
Trichloroacetonitrile	Cl ₃ CN	144.39	Wako pure chemical Industries, Ltd.	98%	1976-3-9
Monobromoacetonitrile	BrCH ₂ CN	119.95	ACROS Organics	97%	590-17-0
Dibromoacetonitrile	Br ₂ CHCN	198.86	Merk KGaA	98%	3252-43-5
• Haloacetones					
Monochloroacetone	CICH ₂ COCH ₃	92.52	Kanto Chemical Co., Inc.	95%	302-17-0
1,1-Dichloroacetone	Cl ₂ CHCOCH ₃	126.97	Kanto Chemical Co., Inc.	97%	77439-76-0
1,3-Dichloroacetone	CICH ₂ COCH ₂ Cl	126.97	Kanto Chemical Co., Inc.	98%	10178-30
1,1,1-Trichloroacetone	Cl ₃ COCH ₃	161.41	Tokyo Chemical Industry Co Ltd.	95%	918-00-3
1,1,3-Trichloroacetone	Cl ₂ CHCOCH ₂ Cl	161.41	Aldrich Chemical Co., Inc.	90%	921-03-9
Monobromoacetone	BrCH ₂ COCH ₃	136.98	Wako pure chemical Industries, Ltd.	80%	598-31-2
• MX and BMX					
MX ^a	C ₅ H ₃ Cl ₃ O ₃	217.44	Wako pure chemical Industries, Ltd.	98%	77439-76-0
BMX-1 ^b	C ₅ H ₃ BrCl ₂ O ₃	261.89	Salford ultrafine chemicals & research Ltd.	99%	132059-51-9
BMX-2 ^c	C ₅ H ₃ Br ₂ ClO ₃	306.34	Salford ultrafine chemicals & research Ltd.	99%	132059-52-0
BMX-3 ^d	C ₅ H ₃ Br ₃ O ₃	350.79	Salford ultrafine chemicals & research Ltd.	100%	132059-53-1

* Each of chemicals was prepared the maximum concentration of 5000μg/plate by dimethylsulfoxide (DMSO) except MX and BMX. Each of MX and BMX was dissolved in DMSO at maximum of 500μg/plate.

^a MX: 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-franone, ^b BMX-1: 3-chloro-4-(bromochloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-franone, ^c BMX-2: 3-chloro-4-(dibromomethyl)-5-hydroxy-2(5H)-franone, ^d BMX-3: 3-bromo-4-(dibromomethyl)-5-hydroxy-2(5H)-franone

阻害は認められたが、変異原性は陰性となった。TA 100-S9においては、monochloroacetic acidおよびtrichloroacetic acidは試験陽性となったが、量-反応性が認められなかつたので変異原性陰性と判定した。変異原性陽性となった化合物は、monobromoacetic acidで変異原活性値は430 rev./μmolを示した。Dibromoacetic acid, dichloroacetic acidは変異原性が示唆されたが、活性値は低値であった。

Haloacetonitrile類の試験結果をTable 3に示した。Monochloro-およびmono-bromoacetonitrileは、すべての条件下で菌の生育阻害は認められたが、変異原性は陰性であった。DihaloacetonitrileはTA 98+S9を除いて変異原性陽性と判定した。今回試験したhaloacetonitrile類の中ではdibromoacetonitrileが最も高い変異原活性値を示し、TA 100+S9においては1000 rev./μmolであった。

TA 98-S9において変異原性陽性と判定した3物質の変異原活性値を比較すると、dibromoacetonitrileが最も高く、trichloroacetonitrileがこれに続いた。Dichloroacetonitrileは低い活性値であった。

Haloacetone類の試験結果をTable 4に示した。表に示したようにmonobromoacetoneは、すべての条件下で変異原性陰性であった。MonochloroacetoneはTA 98-S9で、1,1-dichloroacetoneはTA 98-S9およびTA 100-S9で、1,1,1-trichloroacetoneはすべての条件で変異原性陽性と判定したが、変異原活性値は非常に低い値であった。今回試験したすべてのchloroacetone類が、TA 98-S9において変異原性陽性と判定したが、変異原活性値は1,3-dichloroacetoneが最も高く、2500 rev./μmolを示し、次いで1,1,3-trichloroacetoneの1200 rev./μmolであった。TA 100の場合も同様であり、-S9および+S9の条件において

Table 2 Mutagenic activity of haloacetic acids

Chemicals	revertants/ μmol			
	TA98 -S9	TA100 +S9	TA98 -S9	TA100 +S9
Monochloroacetic acid	- ^a	- ^a	- ^b	- ^a
Dichloroacetic acid	- ^a	- ^a	18	- ^a
Trichloroacetic acid	- ^a	- ^a	- ^b	- ^a
Monobromoacetic acid	- ^a	- ^a	430	- ^a
Dibromoacetic acid	- ^a	- ^a	96	72

^a: Negative mutagenicity^b: Negative response and recognized killing^b: Although revertant colonies increased 2-fold or higher above the spontaneous revertant colonies as a positive mutagenicity, it was not linear of a dose-response curve

Table 3 Mutagenic activity of haloacetonitriles

Chemicals	revertants/ μmol			
	TA98 -S9	TA100 +S9	TA98 -S9	TA100 +S9
Monochloroacetonitrile	- ^a	- ^a	- ^a	- ^a
Dichloroacetonitrile	12	- ^b	140	150
Trichloroacetonitrile	140	- ^a	- ^b	- ^a
Monobromoacetonitrile	- ^a	- ^a	- ^a	- ^a
Dibromoacetonitrile	280	- ^a	780	1000

^a: Negative mutagenicity^b: Negative response and recognized killing^b: Although revertant colonies increased 2-fold or higher above the spontaneous revertant colonies as a positive mutagenicity, it was not linear of a dose-response curve

1,3-dichloroacetone の変異原活性値が最も高く、-S9 では 30000 rev./ μmol , +S9 では 2900 rev./ μmol の変異原活性値を示した。次いで 1,1,3-trichloroacetone の 16000 rev./ μmol および 2400 rev./ μmol であった。TA 100 の条件においては、1,3-と 1,1-dichloroacetone、また 1,1,3-と 1,1,1-trichloroacetone の間で、変異原活性値に大きな差が認められた。

MX および BMX 類は Table 5 に示すように、いずれの条件においても高い変異原活性値を示した。その中でも TA 100-S9 において最も高く、活性値は BMX-2 の 15000 rev./nmol から BMX-1 の 7600 rev./nmol の範囲にあった。TA 98 および TA 100 の+S9 においては、-S9 と比較して 1/40-1/70 および 1/80-1/190 の活性値を示した。

考 察

Chloroacetic acid 類の変異原性については、McCann ら(1975)および鶴川ら(1988)が TA 98+S9, -S9 および TA 100+S9, -S9 の条件で試験し、変異原性陰性と報告している。筆者らのデータでも dichloroacetic acid の TA 100-S9 においては変異原性が示

Table 4 Mutagenic activity of haloacetones

Chemicals	revertants/ μmol			
	TA98 -S9	TA100 +S9	TA98 -S9	TA100 +S9
Monochloroacetone	59	- ^a	- ^a	- ^a
1,1-Dichloroacetone	19	- ^b	110	120
1,3-Dichloroacetone	2500	240	30000	2900
1,1,1-Trichloroacetone	8	5	72	39
1,1,3-Trichloroacetone	1200	270	16000	2400
Monobromoacetone	- ^a	- ^a	- ^a	- ^a

^a: Negative mutagenicity^b: Negative response and recognized killing^b: Although revertant colonies increased 2-fold or higher above the spontaneous revertant colonies as a positive mutagenicity, it was not linear of a dose-response curve

Table 5 Mutagenic activity of MX and BMX

Chemicals	revertants/nmol			
	TA98 -S9	TA100 +S9	TA98 -S9	TA100 +S9
MX	1100	28	13000	80
BMX-1	940	20	7600	92
BMX-2	1500	21	15000	80
BMX-3	1200	27	11000	77

Impurities in chemicals were not found on our GC-MS (resolution: 10000) analysis

Table 6 Minimum dose of haloacetic acids at killing point

Chemicals	$\mu\text{g}/\text{plate}$			
	TA98 -S9	TA100 +S9	TA98 -S9	TA100 +S9
Monochloroacetic acid	4000	2600	3200	3200
Dichloroacetic acid	4000	4000	+	4000
Trichloroacetic acid	4000	4000	3200	3200
Monobromoacetic acid	250	1000	+	500
Dibromoacetic acid	4000	4000	+	+

⁺: Data were not showed, because of positive mutagenicity

唆されたが低い値であり、他の化合物は変異原性陰性であったことから、ほぼ一致した結果が得られた。Bromoacetic acid 類のうち、monobromoacetic acid は TA 100-S9 の条件で変異原性陽性となったことから、直接型の塩基対置換型変異原性物質であると考えられた。

Haloacetic acid 類の場合、作用濃度段階の公比を小さくしたが、変異原性試験陽性を示すことなく生育阻害を起こした。このことは変異原性に比較して菌の細胞に対する毒性が強いと考えられた。そこで今回の試験で生育阻害を起こした haloacetic acid 類の各作用濃度を Table 6 に示した。Monobromoacetic acid は最も低濃度の 250-1000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ で生育阻害を起こし、次いで monochloroacetic acid は 2600-4000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ で生育

Table 7 Minimum dose of haloacetonitriles at killing point

Chemicals	$\mu\text{g}/\text{plate}$			
	TA98 -S9	TA100 +S9	TA98 -S9	TA100 +S9
Monochloroacetonitrile	2500	5000	2500	5000
Dichloroacetonitrile	+	2500	+	+
Trichloroacetonitrile	+	840	840	1700
Monobromoacetonitrile	60	250	130	250
Dibromoacetonitrile	+	200	+	+

⁺: Data were not showed, because of positive mutagenicity

阻害を起こした。Giller ら(1997)は、fluctuation 法で試験を行った結果、haloacetic acid 類の中で monobromoacetic acid の毒性が強いと報告しているが、今回の筆者らの結果と一致した。また、trichloroacetic acid などは蛋白凝固作用があるため、これが生育阻害を起こした一因であるとも考えられる。

Monohaloacetonitrile についても、作用濃度段階の公比を小さくしたにもかかわらず、今回試験したすべての条件下で生育阻害を起こした。このことから、菌の細胞に対する毒性があることが示唆された。変異原性陰性を示した各 haloacetonitrile についての生育阻害作用濃度を Table 7 に示した。monochloroacetonitrile の-S9 条件下での生育阻害を示した作用濃度は、monobromoacetonitrile の 20-40 倍、+S9 では 20 倍であったことから、monobromoacetonitrileの方が菌の細胞に対する毒性は強いと考えられた。また、monochloroacetonitrile は、+S9 における生育阻害濃度が-S9 の場合の 2 倍となった。Monobromoacetonitrile でも同様に 2-5 倍であったことから、これらの物質は S9 mix で代謝されることにより菌の細胞に対する毒性が弱まる傾向にあると考えられた。

Curieux ら(1995)は、fluctuation 法で chloroacetonitrile 類の変異原性強度を比較検討しているが、その結果は TA 100 の場合、-S9 および+S9 において、変異原性が強い順に dichloro-, trichloro-, monochloroacetonitrile と報告しているが、dichloroacetonitrile の変異原活性値が最も高かったという点では筆者等の結果と一致した。生育阻害作用は、monochloro-よりも trichloroacetonitrile の方が強かった。

これらの結果から、dihaloacetonitrile は変異原性を示し、monohaloacetonitrile は変異原性よりも菌の細胞に対する毒性を示す傾向にあることが明らかとなった。

また、dibromoacetonitrile は塩基対置換型の変異原性物質であることが示唆された。

Dichloroacetonite および trichloroacetonite については、同一の炭素に塩素原子が複数結合するよりも、1位、3 位の炭素に結合する構造の方が変異原活性値が高くなることが示された。Merrick ら(1987)および Curieux ら

Table 8 Minimum dose of haloacetones at killing point

Chemicals	$\mu\text{g}/\text{plate}$			
	TA98 -S9	TA100 +S9	TA98 -S9	TA100 +S9
Monochloroacetonite	+	250	130	250
1,1-Dichloroacetonite	+	2500	+	+
Monobromoacetonite	13	50	25	100

⁺: Data were not showed, because of positive mutagenicity

(1994)は、1,1-および 1,3-dichloroacetonite の TA 100-S9 の変異原性について比較している。これによると 1,3-dichloroacetonite は 1,1-dichloroacetonite の約 100-300 倍の変異原性があると報告しており、筆者らの結果とほぼ同様であった。また、ジクロル体の方がトリクロル体よりも変異原活性値が高かった。

Haloacetone 類では、1,3-dichloroacetonite および 1,1,3-trichloroacetonite において、直接型のフレームシフト型および塩基対置換型の変異原性物質であることが示された。

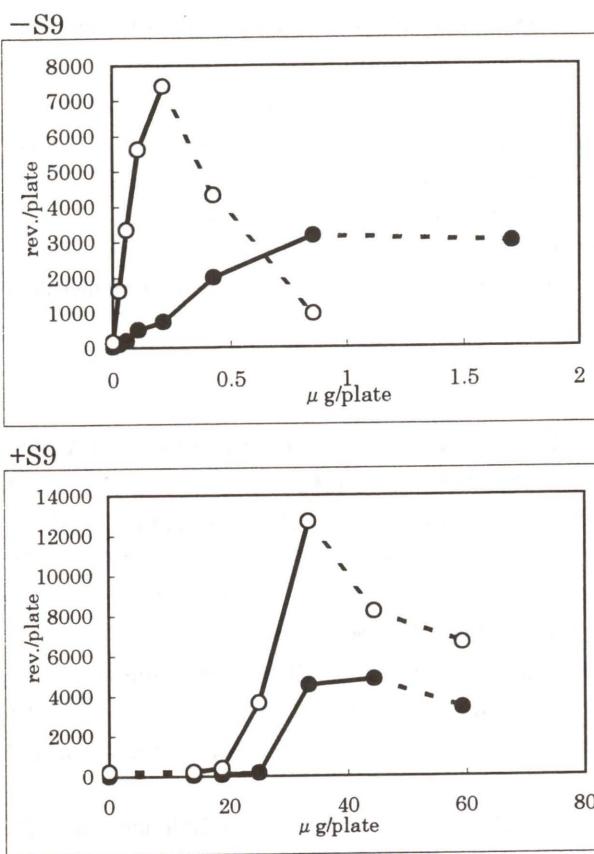


Fig. 1 Dose-response curve of MX on Ames test using *Salmonella typhimurium* TA98 strain (●) and TA100 strain (○). Solid line shows positive and dotted line shows negative or killing

かし、筆者らの結果は TA 98においては 20—28 rev./nmol, TA 100 では 80—92 rev./nmol の変異原活性値を示した。この結果の違いは、最高作用濃度の設定に関係していると考えられる。Tikkanen らは最高作用濃度を $0.03 \mu\text{g}/\text{plate}$ にしており、筆者らは $250 \mu\text{g}/\text{plate}$ を最高濃度とした。MX における作用濃度と変異コロニー数の変化を Fig. 1 に示したが、+S9 では 20—45 $\mu\text{g}/\text{plate}$ で試験陽性となり、-S9 では 0.03—0.8 $\mu\text{g}/\text{plate}$ で試験陽性を示した。

BMX 類の変異原性については、Suzuki ら(1995)が TA 100—S9 のみのデータを報告しているが、これらの報告とほぼ同様の結果を得た。

また、各官能基における変異原活性値の変化について、変異原性陽性となった化合物の多いジクロル化合物で比較してみると、TA 100—S9 の場合では-CN 基の変異原活性値が最も高く、次いで $\text{C}=\text{O}$ 基、-COOH 基の順となつた。一般に電子吸引性は、-CN 基が最も強く、 $\text{C}=\text{O}$ 基、-COOH 基の順であることから、このことが TA 100 の DNA に対する反応性に差が現れたことの一因とも考えられる。また同一の官能基をもつ化合物では、ブロム体の方がクロル体よりも変異原活性値が高かつた。このことは、ハロゲンの電子吸引性の因子が関係し

ていることが予測される。電子吸引性の強度と変異原活性値の関係については今後の検討課題である。

TA 98 では、変異原活性値と官能基の間に一定の関係はみられなかった。ジクロル体においては-CN 基と $\text{C}=\text{O}$ 基は同レベルの変異原活性値を示し、また両者とも菌の細胞に対する毒性も同様な強さであった。モノクロル体、モノブロム体とともに $\text{C}=\text{O}$ 基をもつ方が、-CN 基および-COOH 基よりも菌の細胞に対する毒性が強かつた。

結 語

塩素処理水から検出される水溶性消毒副生成物 20 物質の変異原性とその構造活性相関について Ames 法で検討した結果、次のことがわかった。

1) 消毒副生成物 20 化合物中、TA 98 菌株に対しては 12 化合物、TA 100 菌株では 13 化合物に変異原性陽性が示された。今回試験した消毒副生成物では、直接型の塩基対置換型変異原性を示す化合物が多くあった。

2) モノハロゲン化合物は、変異原性が示されてもその活性値は低い値であったが、菌の細胞に対する毒性があり、特にモノブロム体はモノクロル体に比べ低濃度で生育阻害が示された。

3) ジハロゲン化合物は変異原性陽性となった化合物が多く、その変異原活性値はジブロム体の方がジクロル体よりも高いことが示された。

4) 変異原性陽性となった chloroacetone 類の変異原活性値は、クロル原子の置換数よりもクロル原子の結合位置に影響されることが示唆された。

5) 官能基の種類によって変異原活性値に差が現れ、ジクロル化合物における TA 100 の変異原活性値は-S9 の場合、活性値の高い順に-CN 基、 $\text{C}=\text{O}$ 基、-COOH 基であった。

6) MX および BMX の TA 98 および TA 100 の変異原活性値は高値を示し、MX と BMX の変異原活性値に大きな差はみられなかった。

消毒副生成物は総じて TA 100—S9 において最も高い変異原活性値を示した。一方、塩素消毒した水の変異原活性値も TA 100—S9 において最も高い値を示すことから、今後はこれら消毒副生成物の塩素消毒水中の濃度を測定し、その寄与率について検討していきたい。

参考文献

- Backlund, P., E. Wondergem, K. Voogd and A. De Jong (1989) Mutagenic activity and presence of the strong mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-franone (MX) in chlorinated raw and drinking waters in the Netherlands, *Sci. Total Environ.*, 84, 273-282.
- Bellar, T. A., J. J. Lichtenberg and R. C. Kromer (1974) Occurrence of organohalides in chlorinated drinking waters, *J. Am. Water Works Assoc.*, 66, 703-706.
- Bull, R. J. (1985) Carcinogenic and mutagenic properties of chemicals in drinking water, *Sci. Total Environ.*, 47, 385-413.
- Curieux, F. Le, S. Giller, L. Gauthier, F. Erb and D. Marzin (1994) Study of the genotoxic activity of five chlorinated propanones using the SOS chromotest, the Ames-fluctuation test and the newt micronucleus test, *Mutat. Res.*, 341, 1-15.
- Curieux, F. Le, S. Giller, L. Gauthier, F. Erb and D. Marzin (1995) Study of the genotoxic activity of six halogenated acetonitriles, using the SOS chromotest, the Ames-fluctuation test and the newt micronucleus test, *Mutat. Res.*, 341, 289-302.
- Erdinger, L. and H. G. Stonntag (1990) Schwerfluechtige halogenorganische Verbindungen als Nebenprodukte der schwimmbeckenwasserbereitung, *Forum Staedte-Hygiene*, 41, 185-188.
- Giller, S., F. Le Curieux, F. Erb and D. Marzin (1997) Comparative genotoxicity of halogenated acetic acids found in drinking water, *Mutagenesis*, 12, 321-328.
- Hemming, J., B. Holbom, M. Reunanan and R. Kornberg (1986) Determination of the strong mutagen in chlorinated drinking and humic waters, *Chemosphere*, 15, 549-556.
- Henshler, D. and G. Bonse (1977) Metabolic activation of chlorinated ethylenes: dependence of mutagenic effect on electrophilic reactivity of the metabolically formed epoxides, *Arch. Toxicol.*, 39, 7-12.
- Herren-Freund, S. L. (1987) The carcinogenicity of trichloroethylene and its metabolites, trichloroacetic acid and dichloroacetic acid, mouse liver, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 90, 183-189.
- Horth, H. (1989) Identification of mutagens in drinking water, *Aqua*, 38, 80-100.
- Ishiguro, Y., J. Santodonato and M. W. Neal (1988) Mutagenic potency of chlorofranones and related compounds in *Salmonella*, *Environ. Mol. Mutagen.*, 11, 225-234.
- 磯田信一, 伊藤英幸, 菅谷なえ子, 長岡 登(1995)屋内プールの衛生学的検討—プール水中の消毒副生成物について—, 日本薬学会第 115 回年会講演要旨集, 3 : 200.
- 木苗直秀, 谷所達幸, 今村希美, 古郡三千代, 下位香代子, 西川秋佳, 高橋道人(1998)水道水中の強力な変異原物質 MX の二段階発癌性, 第 32 回日本水環境学会年会講演集, pp. 105.
- Kronberg, L. and T. Virtainen (1988) Ames mutagenicity and concentration of the strong mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-franone and of its geometric isomer E-2-chloro-3-(dichloromethyl)-4-oxo-butenoic acid in chlorine treated tap waters, *Mutat. Res.*, 206, 177-182.
- 健名智子, 高柳信孝, 井山洋子, 斎藤尚仁(1991)室内プール中の低分子有機ハロゲン化合物について, 富山県衛生研究所年報, 14 : 202-204.
- LaLonde, R. T., G.P. Cook, H. Perakyla and L. Bu (1991) Structure-activity relationships of bacterial mutagens related to 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-franone: an emphasis on the effect of stepwise removal of chlorine from the dichloromethyl group, *Chem. Res. Toxicol.*, 4, 540-545.
- McCann, J., E. Choi, E. Yamasaki and Ames B. N. (1975) Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella/microsome* test: assay of 300 chemicals, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 72, 5135-5139.
- Meier, J. R., H. P. Ringhand, W. E. Coleman, J. W. Munch, R. P. Streicher, W. H. Kaylor and K. M. Schenck (1985) Identification of mutagenic compounds formed during chlorination of humic acid, *Mutat. Res.*, 157, 111-122.
- Meier, J. R., R. B. Knohl, W. E. Coleman, H. P. Ringhand, J. W. Munch, W. H. Kaylor, R. P. Streicher and F. C. Kopfle (1987a) Studies on the potent bacterial mutagen, 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-franone: aqueous stability, XAD recovery and analytical determination in drinking water and in chlorinated humic acid solutions, *Mutat. Res.*, 189, 363-373.
- Meier, J. R., W. F. Blazak and R. B. Knohl (1987b) Mutagenic and clastogenic properties of 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-franone: a potent bacterial mutagen in drinking water, *Environ. Mol. Mutagen.*, 10, 411-424.
- Merrick, B. A., C. L. Smallwood, J. R. Meier, D. L. McKean, W. H. Kaylor and L. W. Condie (1987) Chemical reactivity, cytotoxicity, and mutagenicity of chloropropanones, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 91, 46-54.
- Mortelmans, K., S. Haworth, T. Lowlor, W. Speck, B. Tainer and E. Zeiger (1986) *Salmonella* mutagenicity tests: II. Results from the testing of 270 chemicals, *Environ. Mutagen.*, 8, Suppl., 7, 1-119.
- National Cancer Institute (1976) Report on carcinogenesis bioassay of chloroform, Carcinogenesis Program, Division of Cancer Cause and Prevention, Bethesda, MD.
- Rook, J. J. (1974) Formation of haloforms during chlorination of natural waters, *Water Treat. Exam.*, 23, 234-243.
- 斎藤治子, 磯田信一, 加藤美津子, 長岡 登(1995)屋内プール水の変異原性, 環境変異原研究, 17 : 169-177.
- Sternier, O., R. E. Carter and L. M. Nilsson (1987) Structure-activity relationships for unsaturated dialdehydes 1. The mutagenic activity of 18 compounds in the *Salmonella/microsome* assay, *Mutat. Res.*, 188, 169-174.
- Suzuki, N. and J. Nakanishi (1995) Brominated analogues of MX (3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-franone) in chlorinated drinking water, *Chemosphere*, 30, 1557-1564.
- 惣名史一, 相沢貴子, 真柄泰基(1992)塩素処理副生成物の測定法と実態調査, 第 43 回全国水道研究発表会抄録, pp. 702-704.
- 杉野邦雄, 堀本能之, 高津章子(1993)水道水, 水泳プール水中的 haloacetic acid 類の分析, 環境化学, 3 : 496-497.
- Tikkanen, L. and L. Kronberg (1990) Genotoxic effects of various chlorinated butenoic acids identified in chlorinated drinking water, *Mutat. Res.*, 24, 109-116.
- Tuppurainen, K. (1994) QSAR approach to molecular mutagenicity. A survey and case study: MX compounds, *J. Mol. Struct.*, 306, 49-56.
- 鵜川昌弘, 中村清一, 宮野啓一, 布浦雅子(1988)水中有機物の検索に関する研究(第 4 報)—水道水中のハロゲン化合物の分析—, 大阪府立公衛研所報, 26 : 63-70.
- Waskell, L. (1978) A study of the mutagenicity of anesthetics and their metabolites, *Mutat. Res.*, 57, 141-153.

塩素処理した下水細菌培養液中に生成する変異原物質

伊藤 伸一¹, 畠本 力²

¹神奈川県衛生研究所 〒241-0815 横浜市旭区中尾1-1-1

²千葉大学薬学部 〒263-8522 千葉市稻毛区弥生町1-33

Mutagens in chlorinated culture solution of sewage bacteria

Shin-Ichi Itoh¹, Tsutomu Unemoto²

¹Kanagawa Prefectural Public Health Laboratory,
1-1-1 Nakao, Asahi-ku, Yokohama 241-0815, Japan

²Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chiba University,
1-33 Yayoi-cho, Inage-ku, Chiba-shi 263-8522, Japan

Summary

When sewage bacteria were grown with glucose as a sole source of carbon and energy, precursors of direct mutagenic substances were produced in the culture solution. The culture solution showed no significant mutagenic activity by itself. However after chlorination, it exhibited dose-related mutagenic activity in *Salmonella typhimurium* TA100 without S9 mix. About 80 % of the mutagenic precursors were recovered in the precipitate fraction obtained by centrifugation for 20 min at 12000×g. The mutagenic substances in the chlorinated culture solution were adsorbed to a solid phase extraction column (Excellpak SPE-GLF cartridge) and were effectively eluted with ethyl acetate. We could detect the formation of glyoxal and methylglyoxal in the chlorinated culture solution, but the amounts of these aldehydes were too small to consider as major mutagens. Further studies are required to identify the major mutagens.

Keywords : sewage bacteria, chlorination, direct mutagen, glyoxal, methylglyoxal

緒 言

1974年, Rookは水道水の塩素処理過程で水中の有機物と塩素とが反応して, trihalomethane (THM) が生成されることを報告した(Rook, 1974)。それ以来, 水道の浄水処理で塩素を用いている国々では、「水道水の安全性」が大きな社会的関心を呼び, 今日にいたっている。特に, 日本においては, 大都市近郊の重要な水道水源になっている河川や湖沼の水質が, 年々悪化の一途をたどっており, また水道水源の上流域に下水処理場の放流水等が流入しているケースも多く見受けられる現状から, 早急な対策が望まれている。

THMは発ガン性が疑われている揮発性物質で, 主な

前駆物質は, フミン物質と考えられている(Rook, 1974, 1976; Stevens et al., 1976; Oliver and Lawrence, 1979; Oliver and Visser, 1980)。我々は, THM前駆物質として下水細菌の代謝物質に着目して研究を行い, 下水細菌が水中の有機物を栄養源として, THM生成能がきわめて高いacetoacetic acid (CAS No.3483-11-2)を生成することを報告した(Itoh et al., 1985)。

一方, 有機物を塩素処理した場合, 挥発性物質ばかりでなく難揮発性物質も生成され, むしろ, 後者の中にも有害性の大きな物質, 例えは変異原物質等が存在すると指摘されてきた(Loper, 1980; Fallon and Fliermans, 1980; Hemming et al., 1981; Kronberg and Vartiainen, 1988; Vartiainen and Liimatainen, 1986)。北米や北欧では, 水道水中の主要な変異原物質として3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX, CAS No.77439-76-0)が同定されている。日本でも MX が水道水中に検出されており, MX の

受付: 1998年11月11日

受理: 1998年12月3日

©日本環境変異原学会

寄与率が最高で36%だったという報告(Kinae et al., 1992)もある。しかしながら、MXだけでは全変異原活性を説明できず、MX以外の変異原物質の存在が示唆されている(Suzuki and Nakanishi, 1990; 下位および富田, 1991)が、現在までのところMX以外に原因物質の解明は進んでいない。

福井らは、活性汚泥処理排水の塩素処理により変異原物質が生成されることを報告し、その前駆物質として微生物の代謝物質に注目している(Fukui et al., 1990, 1992)。我々も先のacetoacetic acidの研究から、下水細菌の培養液の塩素処理液中に難揮発性の変異原物質が存在するであろうと予想してモデル実験を行い、その処理液中に塩基置換型の直接変異原物質が生成されることを認めたので報告する。

実験材料および方法

1. 試薬

1) 下水細菌培養用試薬類

BOD測定用植種菌剤はPOLYBAC corporation製のPOLYSEED-US、エネルギー源のブドウ糖はDifco製のBACTO-DEXTROSEを用いた。

2) 塩素処理用試薬類

次亜塩素酸ナトリウム溶液は和光純薬工業製の食品添加物用、塩酸は和光純薬工業製の精密分析用を用いた。

3) 変異原物質の分離用試薬類

固相抽出カラムは、スチレンジビニルベンゼン共重合体とポリメタクリレートを担体として用いた横河アナリティカルシステムズ製のエクセルパック SPE-GLF (SPE-GLF)、チオ硫酸ナトリウムおよび亜硫酸ナトリウムは、和光純薬工業製の特級試薬を用いた。また残留農薬試験用のethyl acetateおよびdichloromethaneは、和光純薬工業製を用いた。

4) 変異原性試験用試薬類

寒天は、平板用が和光純薬工業製の細菌培地用、上層寒天用がDifco製のBACTO-AGARを用いた。dimethyl sulfoxide(DMSO, CAS No.67-68-5)は、同仁化学研究所製の蛍光分析用純溶媒(ルミナゾール)を用いた。S9 mix調製用Cofactor-Iはオリエンタル酵母工業製、S9はキッコーマン製のものを用いた。また、陽性対照物質は、和光純薬工業製の2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide(AF-2, CAS No.3688-53-7)を用いた。

5) Aldehyde類のGC/MS分析用試薬類

Glyoxal(CAS No.107-22-2)は東京化成工業製、methylglyoxal(CAS No.78-98-8)はAldrich chemical company製を用いた。o-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl) hydroxyl-amine hydrochloride(PFBOA, CAS No.57981-02-9)は和光純薬工業製の水質分析用を用いた。またPFBOA誘導体標準試薬は林純薬工業製のPFBOA glyoxalaldoxime(syn), (syn/syn), (syn/anti), (anti/

anti)およびPFBOA methylglyoxalaldoxime(syn), (anti), (syn/syn), (syn/anti), (anti/syn), (anti/anti)を用いた。

2. 試料の調製

1) 微生物源

BOD測定用植種菌剤のPOLYSEED-USを下水細菌として用いた。培養試験開始日に、POLYSEED-US 1カプセルをBOD希釈水500mlに溶かし、60分間激しく攪拌培養したものの上澄液を微生物源とした。

2) 培養

3lの褐色培養びんに、BOD希釈水2lと微生物源16mlを投入し、これに唯一のエネルギー源としてブドウ糖40mg(培養液中の濃度:20mg/l)を添加して、25°Cの恒温室で攪拌培養した。また、これと並行してブドウ糖を除いた空試験についても同様の培養操作を行った。

3) 塩素処理

培養液2lに、塩素濃度が100mg/lまたは所定濃度になるように次亜塩素酸ナトリウム溶液を添加し、1N塩酸でpH7.0に調整後、ただちに密栓して25°Cの恒温室で、24時間反応させた。これを塩素処理試料とした。

4) 変異原物質の分離

塩素処理試料2lにチオ硫酸ナトリウム(または亜硫酸ナトリウム)を加えて残留塩素を除去した後、塩酸を添加してpH2.0とした。これをSPE-GLFカートリッジ内に通水した。流速は20ml/minとし、試料1lに対してカートリッジを1本用いた。吸着物の溶出には、カートリッジ1本当たりethyl acetate5mlを用いた。抽出物は、窒素ガスを吹き付けて溶媒を留去した後、密栓し変異原性試験またはaldehyde類のGC/MS分析に供するまで-30°Cの冷凍庫内に保存した。

5) 菌体の分離

2.2)の下水細菌培養液を12000×gで20分間遠心処理し、菌体成分の沈殿区分とそうでない上澄区分とに分離した。

3. 変異原性試験

菌株は、*Salmonella typhimurium* TA 100およびTA 98株を用い、プレインキュベーション法(Yahagi et al., 1977)により変異原性試験を行った。

試験前日、乾固した試料を冷凍庫から取り出し、室温に戻した後、所定量のdichloromethaneを加えて溶解した。このdichloromethane溶液の必要量をプレインキュベーション用の小試験管に分注して、希釈列を作成し、冷蔵室内に一晩放置してdichloromethaneを留去した。試験当日、この小試験管にDMSO0.1mlを添加して試料を溶解した中に、ラット肝S9 mixまたは0.1Mりん酸緩衝液0.5ml、試験菌液0.1mlを混合した。ただちに37°Cで20分間振とう培養後、軟寒天2mlを加

えて平板上に播き、37°Cで64時間培養後に、コロニーを計数した。なお、培養時間については、あらかじめ48時間と64時間との間にコロニー数が変動しないことを確かめておいた。

変異原性の有無は、復帰変異コロニー数が自然復帰変異コロニー数の2倍以上あり、かつ用量-反応関係がある場合を陽性と判定した。なお、変異原活性は、用量-反応曲線が直線的な部分に、最小自乗法を適用して直線回帰式を求め、試料水1l当たりの復帰コロニー数に換算した値で示した。

4. Aldehyde類のGC/MS分析

Aldehyde類のglyoxalおよびmethylglyoxalは、誘導剤としてPFBOAを用いたGC/MS法(Yamada and Soma, 1989; Harimoto et al., 1997)で測定した。

試験当日、乾固した試料を冷凍庫から取り出し、室温に戻した後、蒸留水5mlを加え、超音波洗浄器を用いて内容物を水によく溶解、分散させた。この試料水に0.1% PFBOA溶液を0.3ml添加して、冷暗所で24時間反応させた。反応後、塩化ナトリウム2g、40%硫酸溶液0.1mlおよびhexane1.0mlを加え5分間振とうした。遠心分離後、hexane層を分取し、これをGC/MS分析用の試料とした。なお、glyoxalおよびmethylglyoxalのPFBOA誘導体は、それぞれ一量体と二量体が存在し、さらに幾何異性体も存在する。したがって、glyoxalおよびmethylglyoxalの定量に当たっては、各異性体ごとに作成した検量線から求めた各異性体量を合算して求めた。

GC/MS条件は以下の通りである。

<GC条件>

①ガスクロマトグラフ: HEWLETT PACKARD (HP)社製 5890 シリーズ II Plus

②カラム: HP社製 HP-5 Trace Analysis(長さ30m×内径0.25mm, 膜厚0.1μm)

③オープン温度: 50°C(1min)→10°C/min→100°C(0min)→3°C/min→180°C(0min)→30°C/min→250°C(0min)

④注入口温度: 250°C

⑤注入法: スプリットレス法(1μl)

⑥キャリアーガス: ヘリウム(12psi(50°C), 定流量モード)

<MS条件>

①質量分析計: HP社製 5972 A

②インターフェース温度: 280°C

③イオン化法: EI法(70eV)

④検出器: イオン選択性検出器(SIMモード)

5. TOC(全有機炭素)の分析

塩素処理を行う前の下水細菌培養液50mlをバイア

Table 1 Mutagenicity of chlorinated and non-chlorinated sewage bacteria culture in two *S. typhimurium* strains

Test strain	Mutagenic activity (net revertants/l) ^a	
	Chlorination	Non-chlorination
TA100 (-S9 mix)	7300	-
TA100 (+S9 mix)	-	-
TA98 (-S9 mix)	-	-
TA98 (+S9 mix)	-	-

^aSpontaneous revertants per plate (n=2) were TA100 (-S9 mix): 94, TA100 (+S9 mix): 103, TA98 (-S9 mix): 19, TA98 (+S9 mix): 33.
-: negative response

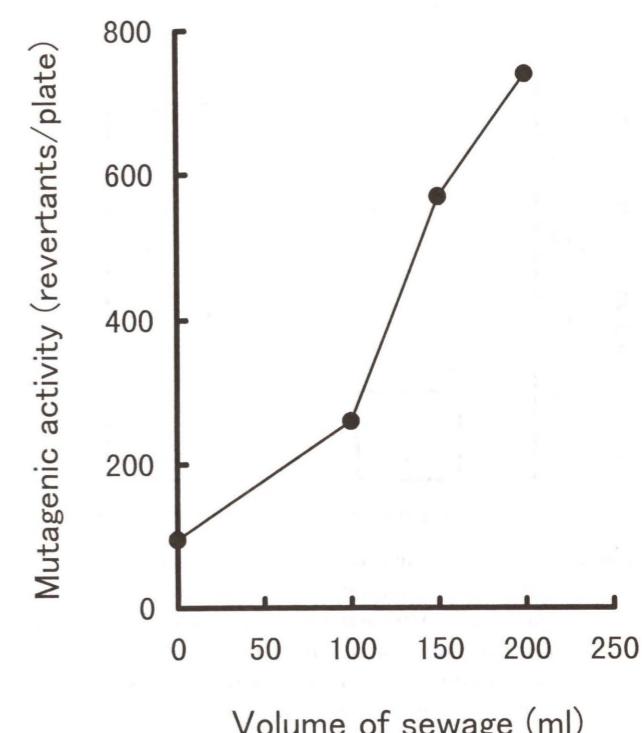


Fig. 1 Dose-response curve of chlorinated sewage bacteria culture in *S. typhimurium* TA100 without S9 mix

ルビンに取り、2N塩酸を6滴添加し、冷蔵庫で保存した。TOC分析直前に冷蔵庫から取り出した試料を、島津製作所製TOC-5000 Aにセットし、高純度空気を通気してIC(無機体炭素)を除去した後、TOCを測定した。

結果と考察

1. 塩素処理した下水細菌培養液の変異原性

ブドウ糖(20mg/l)を栄養源として、下水細菌を2日間攪拌培養した後に、その培養液を塩素処理(塩素濃度100mg/l)し、固相抽出を行った。Table 1およびFig. 1は、この固相抽出により得られた試料について、*Salmonella typhimurium* TA 100およびTA 98株に対する変異原性試験を行った結果である。なお、今回の一連の研究においては、独立した2回以上の実験を行い再現

性を確認した。Table 1 に示したように、この試料は、S9 mix 非存在下で TA 100 株に対して特異的に変異原活性を示す塩基置換型の強い変異原物質であることが明らかになった。なお、陰性例はすべて「—」とした。Fig. 1 は用量一反応関係を示した例である。200 mL 相当量までの濃度範囲で用量一反応関係が認められた。

Fig. 2 は、この変異原物質の前駆体が下水細菌により生成される細胞内物質なのか細胞外物質なのかを検討した結果である。前記 2.5) 項により調製された沈殿区分と上澄区分の試料について、それぞれ別々に塩素処理し、変異原性試験を行った。Fig. 2 に示したように、沈殿区分の変異原活性は上澄区分の約 4 倍の値を示した。このことから、変異原活性を示す主たる前駆体は、細菌の細胞

内物質である可能性が示唆された。

2. 変異原活性に及ぼす塩素濃度の影響

Fig. 3 は、培養 2 日の下水細菌培養液に塩素濃度が 20, 50, 100, 200 mg/l になるよう次亜塩素酸ナトリウム溶液を加えて塩素処理したときの変異原性試験の結果である。試料 1 L 当たりの純復帰コロニー数は、塩素濃度が高くなるに従って増大する傾向が認められた。また、ここで示された変異原物質は、この濃度範囲内では塩素により分解されにくい構造を持つものであると考えられるが、各塩素濃度条件で生成された変異原物質が、同じものなのかどうかは定かでない。なお、以後の本研究における塩素処理条件は、100 mg/l とすることにした。

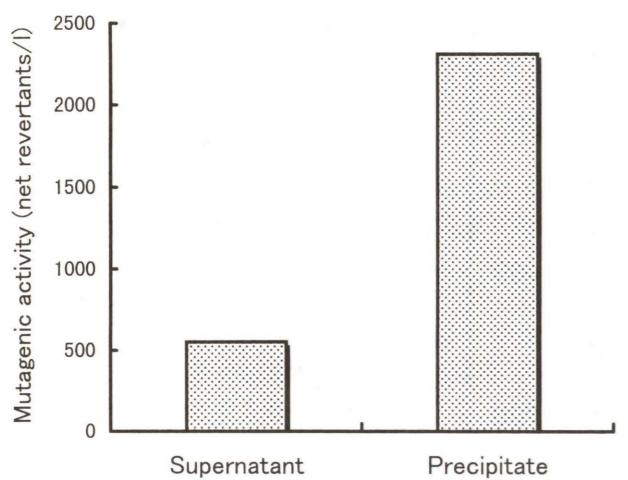


Fig. 2 Recovery of mutagenic precursors in the supernatant and precipitate fractions of the sewage bacteria culture. After separation of the two fractions by centrifugation for 20 min at 12000×g, each fraction was chlorinated and then mutagenic activity was determined in *S. typhimurium* TA100 without S9 mix.

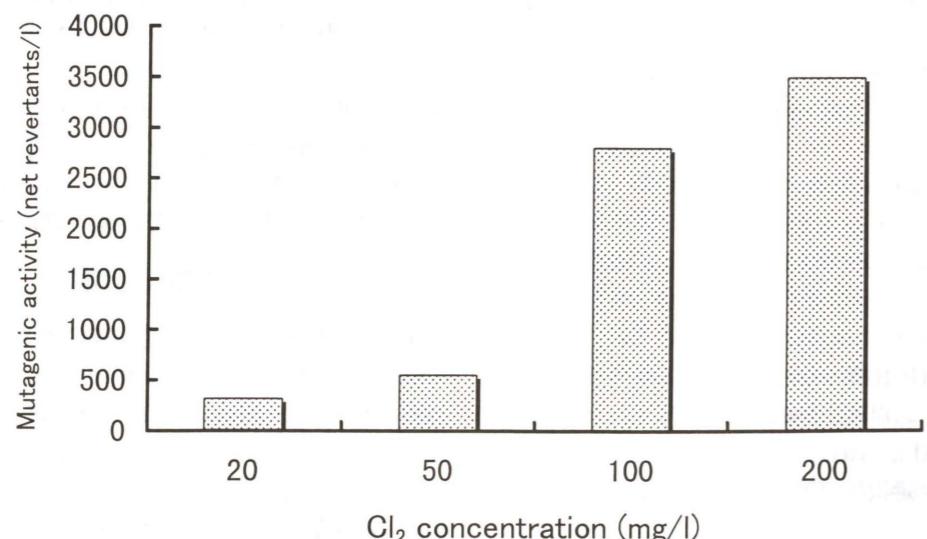


Fig. 3 Effect of chlorine concentration on the formation of mutagenic substances from sewage bacteria culture

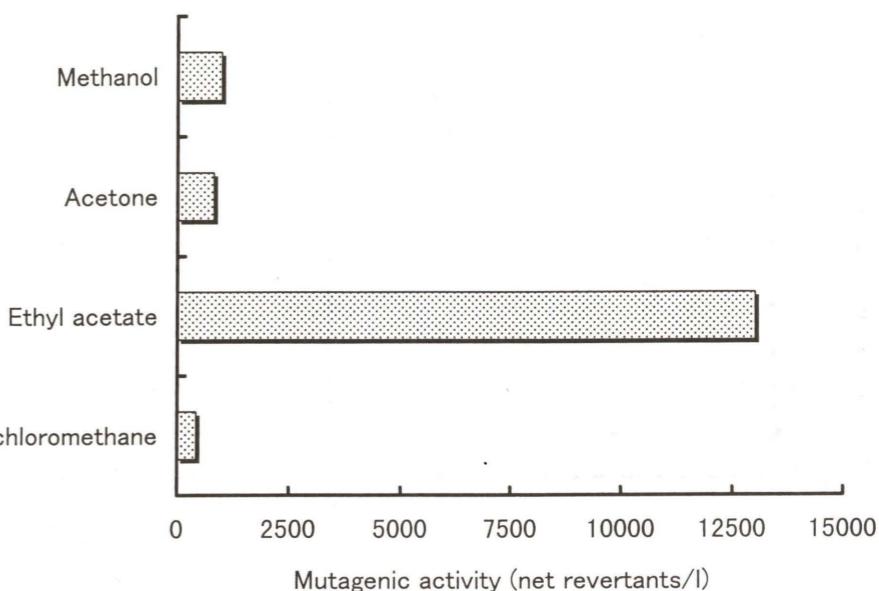


Fig. 4 Effect of solvent on the extraction of mutagenic substances from SPE-GLF cartridge

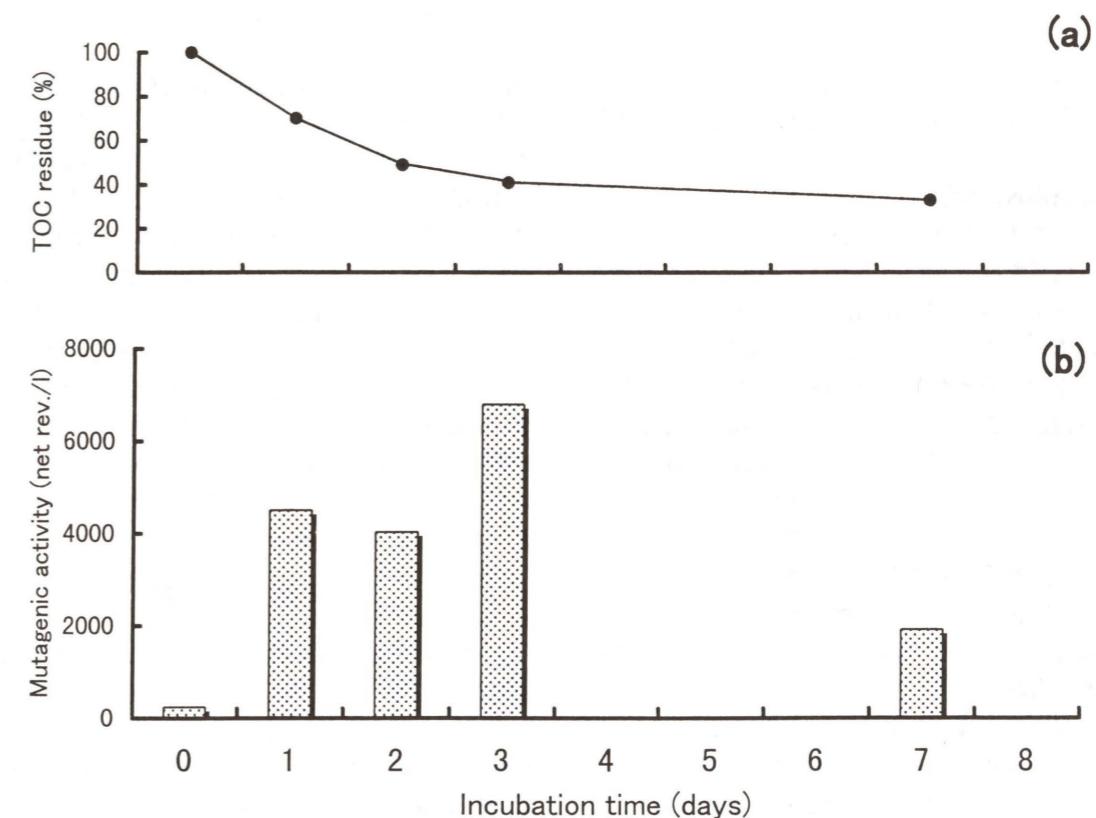


Fig. 5 Time courses of the residue of total organic carbon (TOC) in the culture of sewage bacteria (a) and the formation of mutagenic substances after chlorination of the culture (b)

4. 変異原物質生成に及ぼす培養時間の影響

培養時間が、0, 1, 2, 3, 7 日の下水細菌培養液をそれぞれ塩素処理し、その変異原活性から培養過程における変異原前駆物質の生成パターンを検討した。Fig. 5 はその結果である。なお、下水細菌の増殖過程は、TOC の残存率曲線から推測した。

変異原活性は、培養 0 日に比べて培養 1—3 日で約 20—30 倍と、TOC の減少とともに値の増加傾向が認められたことから、この変異原前駆物質は下水細菌の増殖に伴って生成されたものと考えられる。一方、培養 7 日でも TOC は 33.4 % 残存しており、変異原活性も培養 3 日の 28.3 % を示していたことから、この変異原前駆物質

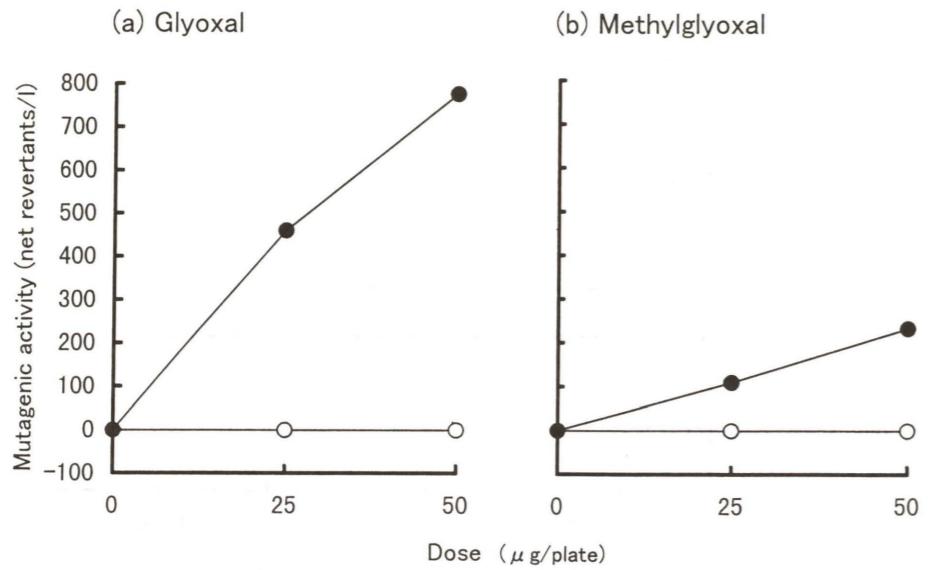


Fig. 6 Mutagenic activity of glyoxal (a) and methylglyoxal (b) in *S. typhimurium* TA98 (○) and TA100 (●) without S9 mix

は、比較的分解されにくい代謝物質か、あるいは常に下水細菌により生成される代謝物質と考えられる。

5. 変異原物質の検討

福井らは活性汚泥処理排水の塩素処理によって生成される変異原物質を検討したところ、その主な変異原物質はHemmingらが報告(Hemming et al., 1981)したフミン物質を塩素処理した際に生成されるMXとは異なる物質で、排水中の有機酸類やcarbonyl化合物が前駆物質である可能性を示唆している(Fukui et al., 1990, 1992)。また福井らは、前駆物質としてcarbonyl基を有する代謝物質のケト酸類の塩素処理生成物について変異原活性を調べたが、生活排水の塩素処理液中の変異原活性量を十分に説明できるケト酸類を見出していない。一方、我々が今回報告した変異原物質も実験条件等から判断して、福井らが追跡している変異原物質にきわめて近い物質と考えられる。

一般に塩素処理を行うと塩素の酸化作用によって、水中の有機物からaldehyde類が生成されることが知られている。そこで、今回我々は前駆物質の同定に先立って、まず変異原物質としてのaldehyde類について検討を行った。低分子のaldehyde類の中で変異原性を示すものは、formaldehyde, glyoxalおよびmethylglyoxalが知られており、特にglyoxalおよびmethylglyoxalは高い変異原活性を示すと報告されている(上野ら, 1995)点に注目した。Fig. 6は、glyoxalおよびmethylglyoxalの*S. typhimurium* TA 100およびTA 98株に対する変異原性試験の結果である。両物質とも塩基置換型の直接変異原性を示すことが確認された。

Fig. 7は下水細菌培養液の塩素処理液中に生成される

glyoxalおよびmethylglyoxalのGC/MS分析の結果である。培養1日の下水細菌培養液を塩素処理し、固相抽出により回収したglyoxalおよびmethylglyoxalをPFBOA誘導体化し、GC/MSで分析したところ、試料中にglyoxalおよびmethylglyoxalのPFBOA誘導体の存在を認めた。しかしながらTable 2に示したように、glyoxalおよびmethylglyoxalの生成量はきわめて微量であった。Fig. 6の結果から、両物質の総変異原活性に対する寄与率は0.1%以下と計算され、glyoxalおよびmethylglyoxalが主たる原因物質ではないことは明らかであった。今回の一連の検討では、MXの存在を調べていない。したがって、今後MXを含めて主要な原因物質をさらに追求する必要がある。

結 語

下水細菌培養液を塩素処理したところ、処理液中に塩基置換型の強い直接変異原性を示す変異物質の存在が認められた。この変異原物質は、下水細菌の一部の細胞内物質が塩素処理されることにより生成され、固相抽出時にethyl acetateによって特異的に溶出される中極性物質と考えられた。

この変異原物質として、塩素処理によって生成されるaldehyde類に着目し検討を行ったところ、塩素処理液中に高い変異原性を示すことで知られているglyoxalおよびmethylglyoxalの存在を認めた。しかしながら、その生成量から推定される寄与率はきわめて小さく、他の変異原物質の関与が強く示唆された。

以上のように、遺伝毒性を持たない下水細菌の一部の細胞内物質が、塩素処理されることにより遺伝毒性を持った物質に変化するという現象は、安全な飲料水を供給

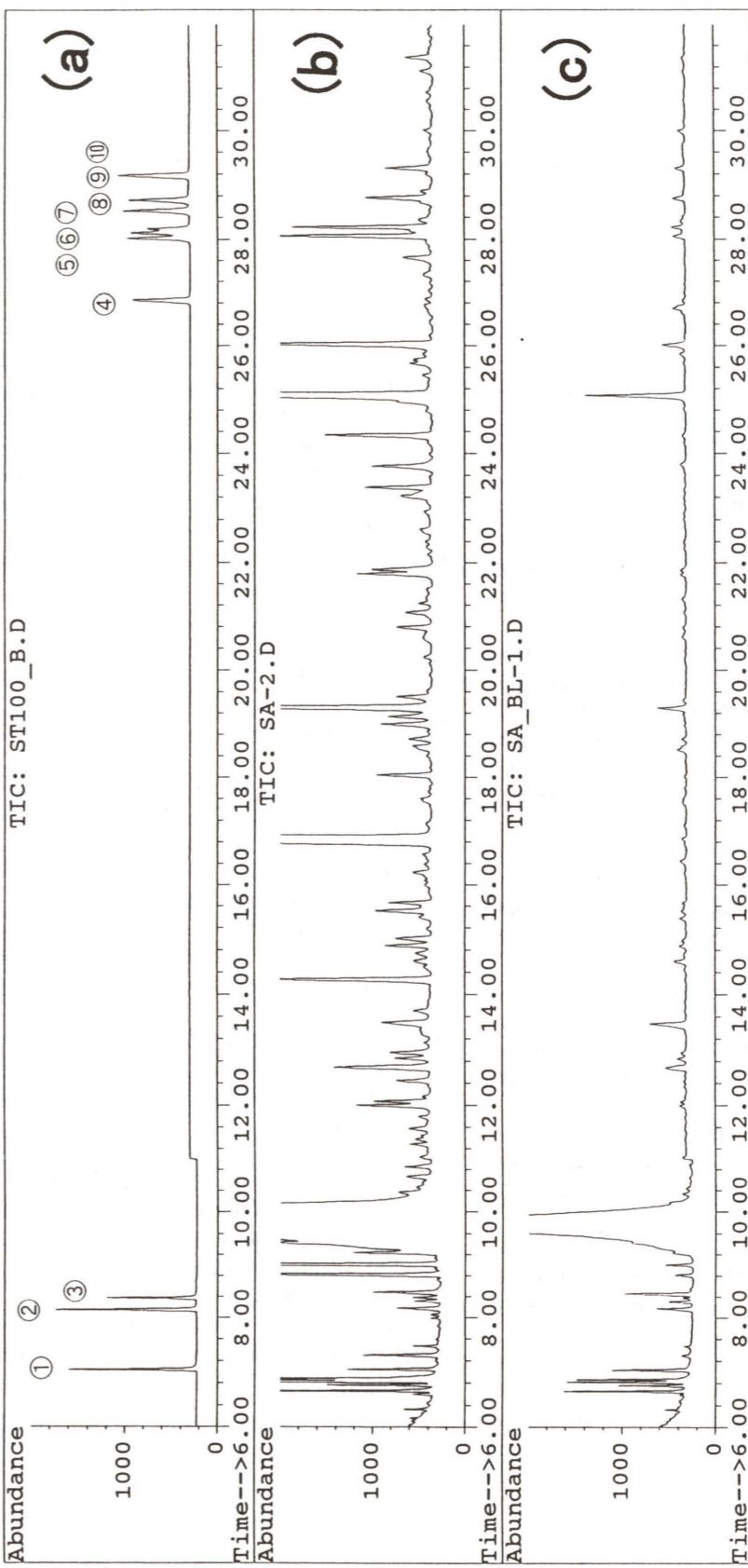


Fig. 7 Formation of glyoxal and methylglyoxal by the chlorination of sewage bacteria culture
(a) : ion chromatograms of PFBOA derivative standards, (b) : PFBOA derivatives in the chlorinated culture without glucose. Glucose was used as a sole source of carbon and energy.
Number ① : PFBOA glyoxalaldoxime (syn), ② : PFBOA methylglyoxalaldoxime (syn), ③ : PFBOA methylglyoxalaldoxime (anti), ④ : PFBOA glyoxalaldoxime (anti/anti), ⑤ : PFBOA glyoxalaldoxime (syn/anti), ⑥ : PFBOA methylglyoxalaldoxime (syn/syn), ⑦ : PFBOA methylglyoxalaldoxime (anti/anti), ⑧ : PFBOA methylglyoxalaldoxime (syn/anti), ⑨ : PFBOA methylglyoxalaldoxime (anti/syn), ⑩ : PFBOA methylglyoxalaldoxime (syn/syn)

Table 2 Contribution of mutagenic activity of identified compounds to the total mutagenic activity

Compound	Amount (ng/l)	Mutagenic activity ^a (net revertants/l)	Contribution ratio (%)
Glyoxal	10.6	<1	<0.1
Methylglyoxal	5.8	<1	<0.1
Sum of identified compounds		<1	<0.1
Total activity of ethyl acetate extraction	2490	100	

^aThe amount of mutagenic activity derived from glyoxal or methylglyoxal was estimated from the calibration curve of Fig. 6

MutaTMMouse lacZ 導入遺伝子の塩基配列

筒井 美枝¹, 築館 一男¹, 羽倉 昌志²

〒300-2635 茨城県つくば市東光台 5-1-3

〒501-6195 岐阜県羽島郡川島町竹早町 1

Sequence of the lacZ transgene of the MutaTMMouse

Yoshie Tsutsui¹, Kazuo Tsukidate¹, Atsushi Hakura²

¹Drug Safety Research Laboratories, Eisai Co., Ltd.
1-3 Tokodai, 5-chome, Tsukuba-shi, Ibaraki 300-2635

²Drug Safety Research Laboratories, Eisai Co., Ltd.
1 Takehaya, Kawashima-cho, Hashima, Gifu 501-6195

Summary

The nucleotide sequence of the lacZ transgene of the lacZ transgenic mouse strain (MutaTM Mouse, 40.6) has been determined. The lacZ transgene has 15 base-pair (bp) of an insertion of 5'-AA TTC CCG GGG ATC C-3' between the 25th and 26th nucleotides of the complete original *E. coli* lacZ gene demonstrated on the Big Blue Website of the internet, which is based on the report of Kalnins et al. (1983), resulting in 3087 bp. The lacZ transgene also carries mutations of three base-pair substitutions of A to G at the 312th, T to C at the 573rd, and C to A at the 3024th bp of the original *E. coli* lacZ gene. The nucleotide number of the transgene determined in this study is inconsistent with the 3126 bp and 3096 bp as reported by Gossen et al. (1989), and by Vijg and Douglas (1996), respectively.

Keywords : MutaTMMouse, lacZ transgenic mouse, lacZ gene, DNA sequence

緒言

トランスジェニックマウスを用いる *in vivo* 突然変異検出系は、臓器特異的に遺伝子突然変異を検出するのに有用な系であることが認識されつつある (Gossen et al., 1989; Kohler et al., 1991; Gorelick and Mirsalis, 1996; Heddle and Swiger, 1996; Hakura et al., 1998)。大腸菌 lacZ 遺伝子のリプレッサー遺伝子である lacI 遺伝子が標的遺伝子として組み込まれた Big BlueTM (Kohler et al., 1991), あるいは大腸菌の β -galactosidase の構造遺伝子である lacZ 遺伝子が組み込まれた MutaTM Mouse (Gossen et al., 1989)などを含め、現在いくつかの系統のトランスジェニックマウスが開発されている。

40.6 系 MutaTM Mouse には、*E. coli* 由来の lacZ 遺伝子がすべての細胞に約 80 コピーずつ導入されている (Gossen et al., 1989)。lacZ 遺伝子は全長約 3 kbp で塩基配列を調べるにはやや長いものの、回収した変異マークの塩基配列の解析をすることにより、突然変異の分析を行うことが可能である。

そこで私たちは、変異体の塩基配列の解析を行うための基礎データとして、MutaTM Mouse に導入されている lacZ 導入遺伝子のオリジナルの塩基配列の解析を行った。その結果、lacZ 導入遺伝子には Kalnins ら (1983)によって報告されている大腸菌 lacZ 遺伝子に 15 塩基対が挿入されていることに加えて、点突然変異が 3 カ所で起きていることを確認した。

実験材料および方法

1. 材料

雄性 MutaTM Mouse (40.6 系) は、Hazleton Research Products 社 (Denver, PA) から購入し、7 週齢で 1996

する立場にある水道にとって、きわめて重大な問題であり、原因となる物質の同定および生成機構の解明は、急務と考える。

参考文献

- Fallon, R. D. and C. B. Fliermans (1980) Formation of non-volatile mutagen by water chlorination : persistence and relationship to molecular weight of organic materials in water, Chemosphere, 9, 385-391.
- Fukui, S., Y. Yoshimura, S. Ogawa and Y. Hanazaki (1990) Formation of non-volatile potent mutagens in domestic sewage by chlorination, Chemosphere, 21, 705-716.
- Fukui, S., S. Ogawa, H. Kita, Y. Hanazaki and H. Kami (1992) 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone (MX) in chlorinated domestic sewage, Chemosphere, 24, 927-934.
- Harimoto, T., S. Shindo and H. Yamada (1997) The determination of glyoxal and methylglyoxal in water : study of reaction between glyoxal/methylglyoxal and o-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)hydroxylamine, Proceedings of 13th ozone world congress, 105-108.
- Hemming, J., B. Holombom, M. Reunanen and L. Kronberg (1981) Determination of the strong mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone in the chlorinated drinking and humic waters, Chemosphere, 15, 549-556.
- Itoh, S., S. Naito and T. Unemoto (1985) Acetoacetic acid as a potential tri-halomethane precursor in the biodegradation intermediates produced by sewage bacteria, Water Res., 19, 1305-1309.
- Kinae, N. C. Sugiyama, Y. Nasuda, K. Goto, K. Tokumoto, M. Furugori and K. Shimoi (1992) Seasonal variation and stability of chlorinated organic mutagens in drinking water, Wat. Sci. Tech., 25, 333-340.
- Kronberg, L. and T. Virtainen (1988) Ames mutagenicity and concentration of the strong mutagen 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone and of its geo-
- metric isomer E-2-chloro-3(dichloromethyl)-4-oxo-butenoic acid in chlorine-treated tap water, Mutat. Res., 206, 177-182.
- Loper, J. C. (1980) Mutagenic effects of organic compounds in drinking water, Mutat. Res., 76, 241-268.
- Oliver, B. G. and J. Lawrence (1979) Haloforms in drinking water : a study of precursors and precursor removal, J. Am. Wat. Wks Ass., 71, 161-163.
- Oliver, B. G. and S. A. Visser (1980) Chloroform production from the chlorination of aquatic humic material : the effect of molecular weight, environment and season, Water Res., 14, 1137-1141.
- Rook, J. J. (1974) Formation of haloforms during chlorination of natural waters, J. Wat. Treat. Exam., 23, 234-243.
- Rook, J. J. (1976) Haloforms in drinking water, J. Am. Wat. Wks Ass., 68, 168-172.
- 下位香代子, 富田 熊(1991)生活環境中の変異原及び抗変異原, 衛生化学, 37 : 149-178.
- Stevens, A. A., C. J. Slocum, D. R. Seeger and G. G. Robeck (1976) Chlorination of organics in drinking water, J. Am. Wat. Wks Ass., 68, 615-620.
- Suzuki, N. and J. Nakanishi (1990) The determination of strong mutagen, 3-chloro-4-(dichloromethyl)-5-hydroxy-2(5H)-furanone in drinking water in Japan, Chemosphere, 21, 387-392.
- 上野 仁, 中室克彦, 佐谷戸安好(1995)オゾン処理生成物としてのグリオキサール誘導体の代謝分解性, ラット肝細胞に対するDNA損傷性および浄水処理過程における消長, 水環境学会誌, 18 : 961-968.
- Virtainen, T. and A. Liimatainen (1986) High levels of mutagenic activity in chlorinated drinking water in Finland, Mutat. Res., 167, 29-34.
- Yahagi, T., M. Nagao, Y. Seino, T. Matsushima, T. Sugimura and M. Okada (1977) Mutagenicities of *N*-nitrosamines on Salmonella, Mutat. Res., 48, 121-130.
- Yamada, H. and I. Somiya (1989) The determination of carbonyl compounds in ozonated water by the PFBOA method, Ozone Sci. & Eng., 11, 127-141.

Table 1 Oligonucleotides used for *lacZ* amplification and sequencing

Primer	Sequence	Location ^a
gt10Fw ^b	5'-GAC TGC TGG GTA GTC CCC ACC TTT-3'	
gt10Rv ^b	5'-TGG CTT ATG ATT TCT TCC AGG GTA-3'	
P1 ^c	5'-GGC GAG CGA TAC ACC GCA TCC-3'	2634-2654
P2 ^d	5'-TGC TGT TGA CTG TAG CGG CTG-3'	2895-2915
P3 ^d	5'-GGA TGC GGT GTA TCG CTC GCC-3'	2634-2654
P4 ^d	5'-CGC CAA TCC ACA TCT GTG-3'	2315-2332
P5 ^d	5'-CGC GTT CGG TTG CAC TAC GC-3'	2114-2133
P6 ^d	5'-TGG ATG CGG CGT GCG GTC-3'	1846-1863
P7 ^d	5'-CTT CAT CCA CGC GCG CGT AC-3'	1524-1543
P8 ^d	5'-CGC CGG TAG CCA GCG CGG-3'	1306-1323
P9 ^d	5'-AGC GTG CGG TCG GCG GTG T-3'	965-983
P10 ^d	5'-ATG CCG CTC ATC CGC CAC-3'	624-641
P11 ^d	5'-GTG TAG ATG GGC GCA TCG-3'	303-320
P13 ^c	5'-AAT GTG TGG AAT TGT GAG-3'	-47 to -30
P14 ^c	5'-TAC ACG CTG TGC GAC CGC-3'	1213-1230
P15 ^c	5'-AGG CCA GAC GCG AAT TAT-3'	426-443
P16 ^c	5'-CCA GCG GCA CCG CGC CTT-3'	821-838
P17 ^c	5'-TTG CGA ATA CGC CCA CGC-3'	1623-1640
P18 ^c	5'-CTC TGG ATG TCG CTC CAC-3'	2024-2041
P19 ^c	5'-CAC AGA TGT GGA TTG GCG-3'	2315-2332

^a The A in the AGT at the start of the *lacZ* coding sequence (5'-3') is given nucleotide position 1^b Primers used for *lacZ* amplification^c Primers used for sequencing the leading DNA strand^d Primers used for sequencing the lagging DNA strand

年2月8日に入手した。

2例のMutaTMMouseの肝臓由来ファージおよび4例のマウスから無作為に拾った前胃、脾臓、大腸および腺胃由来のファージについて調べた。

2. 方法

1) *lacZ*導入遺伝子の増幅

15 mM MgCl₂を添加したExpand HF buffer (Boehringer Mannheim)を5 μ l, 2.5 mM dNTP-mixture (宝酒造)を4 μ l, 10 mM プライマー(gt 10 Fw およびgt 10 Rv, Table 1)をそれぞれ1 μ l, 7 μ M TaqStartTM抗体(Clontech Laboratories)を0.5 μ l, ExpandTMLong Terminator PCR System (Boehringer Mannheim)を0.5 μ lおよび滅菌蒸留水34 μ lを混合した溶液の23 μ lとMutaTMMouseの臓器から回収し、変異体がないことを確認した精製λgt 10 *lacZ*ファージ溶液2 μ lとを混合し、Perkin Elmer Gene Amp PCR system 9600(Perkin Elmer)を用いて94°C 3分後、94°C 30秒、68°C 3分を35サイクルさせるプログラムで約3 kbpの*lacZ*導入遺伝子を増幅させた。得られた*lacZ*導入遺伝子はQIAquick PCR Purification kit (Qiagen)を用いて精製した。

2) DNA 解析

DNA解析のため、増幅した約3 kbpの*lacZ*導入遺伝子DNAを8 μ lと、4 μ lの適当なプライマー(Table 1)およびdRhodamine terminator cycle sequencing

ready reaction kit (Applied Biosystems)を8 μ l混合し、TAKARA PCR thermal Cycler MP (TP 3000:宝酒造)を用いて、96°C 3分後、96°C 30秒、50°C 15秒、60°C 4分を25サイクル、60°C 7分のプログラムでPCRを行った。MicroSpin S-200 HR (Pharmacia)を用いて精製し、乾燥させたPCR産物をloading buffer 6 μ lに溶解した。このDNA溶液約2 μ lを3%ポリアクリルアミドゲルに添加し、ABI PRISMTM 377 DNA Sequencer (ABI)を用いて、泳動電圧1680 Vで10時間電気泳動した。塩基配列はABI PRISMTM 377 collection sequencing analysis Ver. 3.0(ABI)および、Genetyx Ver. 8.0(Software Development)で解析した。

相補鎖の塩基配列についても同様に解析を行い確認した。

結果および考察

Fig. 1にMutaTM Mouse(40.6系)に導入されていた*lacZ*導入遺伝子についての塩基配列を示した。ここではヌクレオチド番号付けを、開始コドン5'-ATG-3'のAから開始した。

その結果、*lacZ*導入遺伝子は、Kalninsら(1983)の報告と彼らの報告をもとにしたインターネットのThe Big Blue Website (<http://darwin.ceh.uvic.ca/bigblue/lacz-seq.htm>)で報告されている大腸菌*lacZ*遺伝子(総塩基数: 3072 bp)中の25番目と26番目の間に5'-AA TTC CCG GGG ATC C-3'の15 bpの塩基が挿入さ

	M	T	M	I	T	D	S	L	E	F	P	G	I	P	V	V	L	Q	R
1	ATG	ACC	ATG	ATT	ACG	GAT	TCA	CTG	GAA	TTC	CCG	GGG	ATC	CCC	GTC	GTT	TTA	CAA	CGT
58	CGT	GAC	TGG	GAA	AAC	CCT	GCG	V	T	Q	L	N	R	L	A	A	H	P	P
115	TTC	GCC	AGC	TGG	CGT	AAT	AGC	GAA	GAG	GCC	CGC	ACC	GAT	CGC	CCT	GCA	CAT	CCC	CCT
172	CGC	AGC	CTG	AAT	GGC	GAA	TGG	CGC	TTT	GCC	TGG	TTT	CCG	GCA	CCA	GAA	GCG	GTG	CGG
229	GAA	AGC	TGG	CTG	GAG	TGC	GAT	CTT	CCT	GAG	GCC	GAT	ACT	GTC	GTC	CCC	TCA	AAC	TTG
286	TGG	CAG	ATG	CAC	GGT	TAC	GAT	GCG	CCC	ATC	TAC	ACC	AAC	GTG	ACC	TAT	CCC	ATT	ACG
343	GTC	AAT	CCG	CGC	TTT	GTT	CCC	ACG	GAG	AAT	CCG	ACG	GTC	GTC	TCG	CTC	ACA	TTT	
400	AAT	GTT	GAT	GAA	AGC	TGG	CTA	CAG	GAA	GGC	CAG	ACG	CGA	ATT	ATT	TTT	GAT	GGC	GTT
457	AAC	TGG	GCG	TTT	CAT	CTG	TGG	TGC	AAC	GGG	CGC	TGG	TAC	GGC	CAG	GAC	AGT		
514	CGT	TTG	CCG	TCT	GAA	TTT	GAC	CTG	AGC	GCA	TTT	TTA	CGC	GCC	GGA	GAA	AAC	CGC	CTC
571	GCG	GTC	ATG	GTG	CTG	CGC	TGG	AGT	GAC	GGC	AGT	TAT	CTG	GAA	GAT	CAG	GAT	ATG	TGG
628	CGG	ATG	AGC	GCG	ATT	TTC	CGT	GAC	GTC	TCG	TTG	CTG	CAT	AAA	CCG	ACT	ACA	CAA	ATC
685	AGC	GAT	TTC	CAT	GTT	GCC	ACT	CGC	TTT	AAT	GAT	GAT	TTC	AGC	GCG	GTC	GTA	CTG	GAG
742	GCT	GAA	GTT	CAG	ATG	TGC	GGC	GAG	TTG	CGT	GAC	TAC	CTA	CGG	GTA	ACA	GTT	TCT	TTA
799	TGG	CAG	GGT	GAA	ACG	GAG	TGC	GCC	AGC	GCG	CCT	TTG	GCG	GTC	GGA	ATT	ATC		
856	GAT	GAG	CGT	GGT	GGT	TAT	GCC	GAT	CGC	GTC	ACA	CTA	CGT	CTG	AAC	GTC	GAA	AAC	CCG
913	AAA	CTG	TGG	AGC	GCC	GAA	ATC	CCG	AAT	CTC	TAT	CGT	GCG	GTC	GTT	GAA	CTG	CAC	ACC
970	GCC	GAC	GGC	ACG	CTG	ATT	GAA	GCA	GAA	GCC	TGC	GAT	GTC	GTC	GAG	GTG	CGG		
1027	ATT	GAA	AAT	GGT	CTG	ATT	CGA	GGC	GTT	AAC									
1084	CGT	CAC	GAG	CAT	CAT	CCT	CTG	CAT	GGT	CAG	GTC	ATG	GAT	GAG	CAG	ACG	ATG	GTG	CAG
1141	GAT	ATC	CTG	CTG	ATG	AAG	CAG	AAC	AAC	TTT	AAC	GCC	GTG	CGC	TGT	TCG	CAT	TAT	CCG
1198	AAC	CAT	CCG	CTG	TGG	TAC	ACG	CTG	TGC	GAC	CGC	TAC	GCG	CTG	TAT	GTG	GTG	GAT	GAA
1255	GCC	AAT	ATT	GAA	ACC	CAC	GGC	ATG	GTG	CCA	ATG	AAT	CGT	CTG	ACC	GAT	GAT	CCG	CGC
1312	TGG	CTA	CCG	GCG	ATG	AGC	GAA	CGC	GTA	ACG	CGA	TGC	ATG	GTC	CAG	CGC	GAT	AAT	CAC
1369	CCG	AGT	GTG	ATC	ATC	TGG	TCG	CTG	GGG	AAT	GAA	TCA	GCG	CAC	GGC	GCT	AAT	CAC	GAC
1426	GCG	CTG	TAT	CCG	TGG	ATC	AAA	TCT	GTC	GAT	CCT	TCC	CGC	CCG	GTC	CAG	TAT	GAA	GGC
1483	GCG	GGA	GCC	GAC	ACC	ACG	GCC	ACC	GAT	ATT	TGC	CCG	ATG	TAC	CGC	GTG	GAT		
1540	GAA	GAC	CAG	CCC	TTC	CCG	GCT	GTG	CCG	AAA	TGG	TCC	ATC	AAA	AAA	TGG	CTT	TCG	CTA
1597	CCT	GGA	GAG	ACG	CGC	CCG	CTG	ATC	CTT	TGC	GAA	TAC	GCC	CAC	GCG	ATG	GAT	AAC	AGT
1654	CTT	GGC	GGT	TTC	GCT	AAA	TAC	TGG	CAG	GCG	TTT	CGT	CAG	TAT	CCC	CGT	TTA	CAG	GGC
1711	GGC	TTC	GTC	TGG	GAC	TGG	GTG	GAT	CAG	TCG	ATT	AAA	TAT	GAT	GAA	AAC	GGC	AAC	
1768	CCG	TGG	TCG	GCT	TAC	GGC	GGT	GAT	TTT	GGC	GAT	ACT	CCG	AAC	GAT	CGC	CAG	TTC	TGT
1825	ATG	AAC	GGT	CTG	GTC	TTT	GCC	GAC	CGC	ACG	CCG	CAT	CCA	GCG	CTG	ACG	GAA	GCA	AAA
1882	CAC	CAG	CAG	CAG	TTT	TTC	CAG	TTC	CGT	TTA	TCC	GGG	CAA	ACC	ATC	GAA			

2281 CGT TGG CAA TTT AAC CGC CAG TCA GGC TTT CTT TCA CAG ATG TGG ATT GGC GAT AAA
 K Q L L T P L R D Q F T R A P L D N D
 2338 AAA CAA CTG CTG ACG CCG CTG CGC GAT CAG TTC ACC CGT GCA CCG CTG GAT AAC GAC
 I G V S E A T R I D P N A W V E R W K
 2395 ATT GGC GTA AGT GAA GCG ACC CGC ATT GAC CCT AAC GCC TGG GTC GAA CGC TGG AAG
 A A G H Y Q A E A A L L Q C T A D T L
 2452 GCG GCG GGC CAT TAC CAG GCC GAA GCA GCG TTG TTG CAG TGC ACG GCA GAT ACA CTT
 A D A V L I T T A H A W Q H Q G K T L
 2509 GCT GAT GCG GTG CTG ATT ACG ACC GCT CAC GCG TGG CAG CAT CAG GGG AAA ACC TTA
 F I S R K T Y R I D G S G Q M A I T V
 2566 TTT ATC AGC CGG AAA ACC TAC CGG ATT GAT GGT AGT GGT CAA ATG GCG ATT ACC GTT
 D V E V A S D T P H P A R I G L N C Q
 2623 GAT GTT GAA GTG GCG AGC GAT ACA CCG CAT CCG GCG CGG ATT GGC CTG AAC TGC CAG
 L A Q V A E R V N W L G L G P Q E N Y
 2680 CTG GCG CAG GTA GCA GAG CGG GTA AAC TGG CTC GGA TTA GGG CCG CAA GAA AAC TAT
 P D R L T A A C F D R W D L P L S D M
 2737 CCC GAC CGC CTT ACT GCC GCC TGT TTT GAC CGC TGG GAT CTG CCA TTG TCA GAC ATG
 Y T P Y V F P S E N G L R C G T R E L
 2794 TAT ACC CCG TAC GTC TTC CCG AGC GAA AAC GGT CTC CGC TGC GGG ACG CGC GAA TTG
 N Y G P H Q W R G D F Q F N I S R Y S
 2851 AAT TAT GGC CCA CAC CAG TGG CGC GGC GAC TTC CAG TTC AAC ATC AGC CGC TAC AGT
 Q Q Q L M E T S H R H L L H A E E G T
 2908 CAA CAG CAA CTG ATG GAA ACC AGC CAT CGC CAT CTG CTG CAC GCG GAA GAA GGC ACA
 W L N I D G F H M G I G G D D S Q S P
 2965 TGG CTG AAT ATC GAC GGT TTC CAT ATG GGG ATT GGT GGC GAC GAC TCC TGG AGC CCG
 S V S A E L Q L S A G R Y H Y Q L N W
 3022 TCA GTA TCG GCG GAA TAA CAG CTG AGC GCC GGT CGC TAC CAT TAC CAG TTG GTC TGG
 C Q K ***
 3079 TGT CAA AAA TAA

Fig. 1 Nucleotide sequence of the *lacZ* transgene of the MutaTMMouse (strain 40.6) and of its product β -galactosidase. The A in the AGT at the start of the *lacZ* coding sequence (5'-3') is given nucleotide position 1. The nucleotide number of the *lacZ* transgene is 3087 base-pair (bp)s, which includes an insertion of 15 bp between 25th and 26th nucleotides of the complete original *E. coli* *lacZ* gene demonstrated on the Big Blue Website of the Internet, which is based on the report of Kalnins et al. (EMBO J., 2, 593-597, 1983). The *lacZ* transgene also carries three base-pair substitution mutation of A to G at the 312th, T to C at the 573rd, and C to A at the 3024th of the original *E. coli* *lacZ* gene. These mutations are indicated by square boxes

れており、総塩基数は 3087 bp であった。また、*lacZ* 導入遺伝子は大腸菌 *lacZ* 遺伝子の 312 番目の A が G に、573 番目の T が C に、さらに 3024 番目の C が A に置換していた (Fig. 1)。なお、312 番目および 573 番目の塩基置換により、アミノ酸変化は生じなかったが、3024 番目の塩基置換により、フェニルアラニンからロイシンへのアミノ酸変化が起きていた。調べたファージは 2 例の MutaTMMouse の肝臓由来のものおよび 4 例のマウスから無作為に拾った前胃、脾臓、大腸および腺胃由来のものであり、これらのファージの *lacZ* 導入遺伝子はすべて同じ塩基配列であったことから、この塩基配列は MutaTMMouse の 1 例のみに認められた事象ではないと考えられる。これらの塩基置換変異は、初代の MutaTM Mouse が持っていた可能性以外に継代の過程で変異(3ヶ所の塩基置換)が蓄積した可能性も考えられる。

MutaTMMouse に組み込まれている大腸菌由来 *lacZ* 導入遺伝子は λ phage 由来ベクターである λ gt 10 の *EcoRI* site の間に組み込まれており、その総塩基数は 3126 bp であるとの Gossen らの報告(1989)や、3096 bp であるとの Vijg と Douglas の報告(1996)もある。これらの文献には塩基配列の詳細が記述されていないため、総塩基数が私たちとの結果と一致しない理由については不明である。

しかし、MutaTMMouse(40.6 系)に導入されていた大

腸菌 *lacZ* 導入遺伝子はオリジナルの大腸菌 *lacZ* 遺伝子の塩基配列とは異なっているものの、明らかな β -galactosidase 活性を示していたことから *in vivo* 突然変異検出系におけるレポーター遺伝子として機能するには特に問題はないものと考えられる。

謝 辞

エーザイ(株)筑波研究所の相根康司氏に種々の有益な技術的助言を得たことに対して感謝します。

参考文献

- Gorelick, N.J. and J.C. Mirsalis (1996) A strategy for the application of transgenic rodent mutagenesis assays, Environ. Mol. Mutagen., 28, 434-442.
- Gossen, J.A., W.J.F. de Leeuw, C.H.T. Tan, P. H. M. Lohman, F. Berends, D. L. Knook, E. C. Zwarthoff and J. Vijg (1989) Efficient rescue of integrated shuttle vectors from transgenic mice : A model for studying mutations *in vivo*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, 7971-7975.
- Hakura, A., Y. Tsutsui, J. Sonoda, J. Kai, T. Imade, M. Shimada, Y. Sugihara and T. Mikami (1998) Comparison between *in vivo* mutagenicity and carcinogenicity in multiple organs by benzo[a]pyrene in the *lacZ* transgenic mouse (MutaTMMouse), Mutat. Res., 399, 123-130.
- Heddle, J. A. and R. R. Swiger (1996) Risk estimation from somatic mutation assays, Mutat. Res., 365, 107-117.
- Kalnins, A., K. Otto, U. Rüher and B. Müller-Hill (1983)

Sequence of the *lacZ* gene of *Escherichia coli*, EMBO J., 2, 593-597.

Kohler, S. W., G. S. Provost, A. Fieck, P. L. Kretz, W. O. Bullock, J. A. Sorge, D. L. Putman and J. M. Short (1991) Spectra of spontaneous and mutagen-induced mutations in the *lacI* gene in transgenic mice, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 88, 7958-7962.

Vijg, J. and G.R. Douglas (1996) Bacteriophage lambda and plasmid *lacZ* transgenic mice for studying mutations *in vivo*, In : G.P. Pfeifer (Ed), Technologies for Detection of DNA Damage and Mutations, Plenum Press, New York, pp.391-410.

本稿は1998年5月29日、東京のヤクルトホールで開催された日本環境変異原学会主催の第9回公開シンポジウム「モデルDNA損傷と変異機構」（企画：根岸和雄、早津彦哉）で発表された（座長：須藤鎮世）

DNA 付加体、突然変異と発がん

長尾 美奈子¹, 牛島 俊和², 大河内 江里子², 落合 雅子³

¹東京農業大学応用生物科学部 〒156-0054 東京都世田谷区桜ヶ丘1-1-1

²国立がんセンター研究所発がん研究部, ³同 生化学部 〒104-0045 東京都中央区築地5-1-1

Relationships between DNA adduct levels, mutant frequency and carcinogenicity

Minako Nagao¹, Toshikazu Ushijima², Eriko Okochi²
and Masako Ochiai³

¹Nutrition and Health, Department of Biosciences, Tokyo University of Agriculture
1-1-1, Sakuragaoka, Setagaya-ku, Tokyo, 156-0054

²Carcinogenesis Division and ³Biochemistry Division,
National Cancer Center Research Institute
1-1, Tsukiji 5, Chuo-ku, Tokyo 104-0045

Summary

Relationships between DNA adduct levels, mutant frequency and carcinogenicity were studied using a food mutagen/carcinogen, MeIQ, to which humans are exposed on a daily basis. There was no direct correlation between adduct levels and mutant frequencies in various organs (heart, liver, colon, forestomach and bone marrow) of Big Blue mice (C57BL/6N) after administration of MeIQ for 12 weeks at a concentration of 300 ppm in diet. Further, we found no direct correlation between mutant frequency and carcinogenicity in various organs in the same animals (which are sensitive to colon carcinogenesis) after feeding of MeIQ for 92 weeks; mutant frequency was highest in the colon among the 5 organs examined, but cancer incidence was highest in the liver. In the colon, mutations occurring in the stem cells of crypts are considered to be amplified 200–300 fold, however, no such amplification is present in the liver. The kinetics of mutant cell-turnover seems to be different in different tissues. This may be an important factor for the absence of a direct correlation between mutant frequency and carcinogenicity.

(This paper, chaired by Shizuyo Sutou, was presented to the 9th JEMS Annual Symposium, "Synthetic Models for DNA Damage and Mutagenesis", organized by Kazuo Negishi and Hikoya Hayatsu, sponsored by the Environmental Mutagen Society of Japan, and held at Yakult Hall, Tokyo, May 29, 1998.)

Keywords : ヘテロサイクリックアミン, 遺伝子毒性発がん物, DNA一付加体, ^{32}P -ポストラベル法, MeIQx, *in vitro* 突然変異, $\text{A}\alpha\text{C}_1$, IQ, MeIQx, 突然変異スペクトル, *Apc*, *p53*, PhIP

緒言

遺伝子毒性発がん物質(genotoxic carcinogen)によ

受付：1998年9月17日
受理：1998年11月28日
©日本環境変異原学会

る発がんの過程では、まずDNA付加体が生成され、その一部は突然変異として固定される。その変異によりがん遺伝子等の活性化が起こり、また、がん抑制遺伝子等の不活性化が起こると、細胞は腫瘍形成能を獲得する。したがって、突然変異頻度は、DNA付加体レベルより発がん標的臓器との相関が高い、すなわち突然変異頻度の高い臓器こそが発がん標的臓器であろうと誰しも容易に想

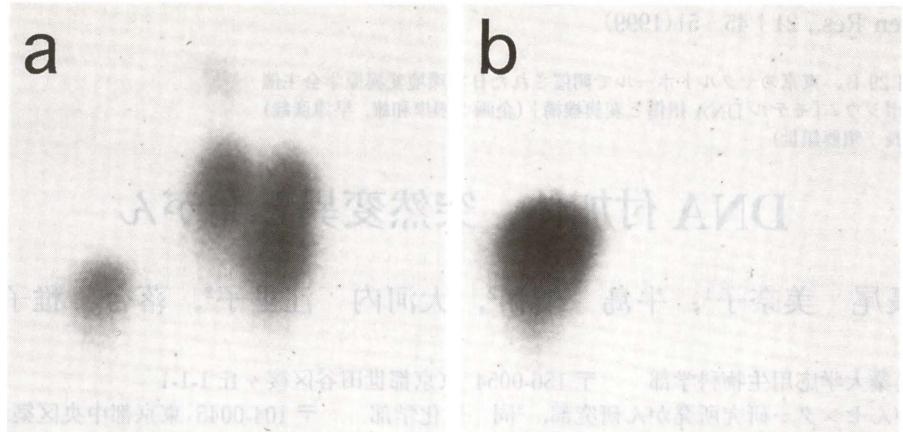


Fig. 1 ^{32}P -ポストラベル-改良法(1)によるグアニン-MeIQ 付加体の検出

a: 従来用いられている intensification 法 b: Intensification 法で得られたものをさらに NP-1 と PDE-I で消化する改良法-I で得られたスポット

像するが、事実は異なる。

ヒトがほとんど毎日摂取しているヘテロサイクリックアミン(HCA)について、 ^{32}P -ポストラベル法の改良を行い、それを用いて各臓器における付加体レベルを解析し、*in vivo* 突然変異頻度との相関を検討した。DNA 付加体レベルより突然変異頻度の方が発がんとより良い相関を示すことを期待したが、事実はそれほど簡単ではない事が本実験を通して明らかになった。各臓器によって細胞増殖、細胞回転のカインエティクスは異なるうえ、さらに発がんの過程はいろいろな遺伝的要因によって修飾を受けるので簡単ではない。我々の行った Big Blue マウス(♀; C 57 BL/6 N)を用いた解析を中心に、この問題に関連する最新の情報を含めて紹介する。

1. ^{32}P -ポストラベル法の改良

^{32}P -ポストラベル法は Randerath ら(1985)により開発され、約 15 年を経過するが、bulky な構造をもつ化合物の形成する DNA 付加体を解析するには便利な方法である。ただし、原法では付加体ヌクレオチドがモノヌクレオチドに完全に分解されないという欠点がある。我々はこの点に改良を加えた(Tada et al., 1994; Ochiai et al., 1998)。HCA の 1 つである 2-アミノ-3,4-ジメチルイミダゾ[4,5-f]キノリン(MeIQ)を Big Blue マウス(C 57 BL/6 N)に、餌に 300 ppm 混ぜて投与し、各臓器から DNA を抽出し、ミクロコッカスヌクレアーゼ(MCN)と脾臓ホスホジエステラーゼ(PDE-II)で DNA を消化し、intensification 法に従い、T₄ ポリヌクレオチドキナーゼ(T₄-PNK)でリン酸化した後、TLC で解析すると Fig. 1 に示すように多数の付加体が検出される。T₄-PNK でリン酸化したものをさらに、ヌクレアーゼ P 1(NP-1)1.6 U, pH 5.3-6 で処理した後、蛇毒ホスホジエステラーゼ(PDE-I, 30 mU) pH 8-9 でインキュベートし、TLC を行うと、1 つのスポットになる(Fig.

1 b)。NP-1 はホスファターゼ活性をもつことで、さらに PDE-I で処理すると付加体をもつオリゴヌクレオチドは 5'-モノヌクレオチドになる。得られたスポットは N² (Guanin-8-yl)-MeIQ-5'-リン酸であった。なお、改良法による付加体の回収率は原法の 90 % 以上であった。MeIQ を 12 週間投与した後、肝臓、心臓、前胃、骨髄および大腸における付加体を上記改良法で解析した結果、いずれも 1 スポットを与えた。すなわち、臓器間で付加体の形に差はなかった。しかし、原法の回収率は約 50 % であった点には留意する必要がある。

本改良法(改良法 I)は 2-アミノ-1-メチル-6-フェニルイミダゾ[4,5-b]ピリジン(PhIP)および 2-アミノ-3,8-ジメチルイミダゾ[4,5-f]キノキサリン(MeIQx)にも有用である(Fukutome et al., 1994; Totsuka et al., 1996)。2-アミノ-3-メチルイミダゾ[4,5-f]キノリン(IQ)に応用する場合には、NP-1 処理の前に PNK(30 U/13 μl) pH 5.7 で処理する必要がある(改良法 II)。これは IQ がグアニン-C 8 付加体の他グアニン-N² 付加体を生成し(その他少量の第 3 の付加体ができる)、その 3'-リン酸が NP-1 に抵抗性なためである(Ochiai et al., 1999)。

付加体の形が複数ある場合は、その形によって修復速度が異なる場合がある。ただし大腸粘膜など細胞の回転の速い臓器では細胞回転による除去が大きく効いて、がん化するポテンシャルをもつと考えられる細胞、例えは幹細胞(stem cells)における修復の付加体に対する特異性の解析は、 ^{32}P -ポストラベル法では不可能であろう。

MeIQ を 12 週間連続投与した時の DNA 付加体レベルの経時的变化を Fig. 2 に示す。細胞回転の遅い、またはほとんどない肝臓および心臓では 12 週まで直線的に増加する。それに対し細胞回転の速い大腸、骨髄、前胃では 1-4 週間でプラトーに達する。

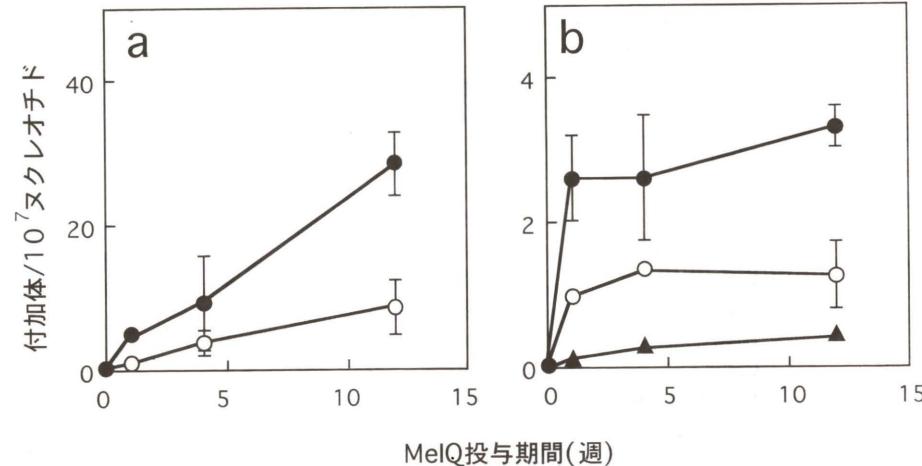


Fig. 2 種々臓器における MeIQ-DNA 付加体生成の経時的变化
a. 肝(●), 心(○) b. 大腸(●), 前胃(○), 骨髄(▲) (Ochiai et al., 1998)

Table 1 MeIQ 投与により Big Blue マウスの種々の臓器において誘発された lacI 突然変異の経時的变化

臓器	化合物	突然変異頻度 × 10 ⁶		
		MeIQ 投与期間(週)	1	4
Liver	None	20.7	30.6	
	MeIQ	21.2	31.0	142
Heart	None	15.8	29.1	
	MeIQ	26.4	20.8	
Colon	None	13.2	29.2	
	MeIQ	155	289	1105
Forestomach	None	32.8	38.2	
	MeIQ	25.6	32.0	97.6
Bone marrow	None	9.8	18.9	
	MeIQ	39.5	75.9	109

MeIQ は 300 ppm の濃度で CE-2 に混ぜて投与(Suzuki et al., 1996)

2. DNA 付加体レベルと *in vivo* 突然変異の相関

Big Blue マウスは lacI-lacZ オペロンを含む λ シャトルベクターを第 4 番染色体上に約 40 コピーもち、誘発された変異を青色の λ ファージプラターとして検出できる系である。Big Blue マウスに MeIQ を投与した時の、1, 4, 12 週における突然変異頻度を Table 1 に示す。1 週における肝臓での DNA 付加体レベルは大腸のそれより高い。したがって、突然変異頻度は DNA 付加体レベルには一義的に比例しない事は明らかである(Ochiai et al., 1998)。細胞回転の速い骨髄および大腸ではすでに 1 週で変異ファージの数の増加が認められるのに対し、肝臓では 12 週になってはじめて有意な増加が認められる。

Table 2 に種々の臓器の 12 週における DNA 付加体

レベルと突然変異頻度を示す。細胞増殖のほとんどない心臓では突然変異頻度の増加は認められない。骨髄における付加体レベルは肝臓の約 1/70 であるにも拘らず、肝臓と同じレベルの変異が誘発されていた。突然変異頻度は付加体レベルと細胞増殖の両因子が大きく関与することが示唆される。同一臓器における異なる化合物に由来する DNA 付加体レベルと突然変異頻度の関係を比較した Davis ら(1996)の結果を Table 3 に示す。付加体レベルと突然変異頻度に直線的相関関係はない。AαC は付加体当たりの変異原性が比較的弱い。MeIQx および AαC の主な DNA 付加体はグアニン C 8 である(IQについては前述)。したがって、変異原性の強さは DNA 塩基のどの部位が修飾されたかによって決まるというよりは、付加体全体の構造によって決まると思われる。

3. 突然変異頻度と発がん

Big Blue(C 57 BL/6 N)マウスにおける突然変異頻度と発がんとの相関を Fig. 3 に示す。発がん実験は 300 ppm の MeIQ を含む餌を連続投与し、実験期間は 92 週である。85 % のマウスに肝細胞がんが認められたのに対し、最も変異頻度の高かった大腸においては 42 % に腺がんが認められたに過ぎない。肝臓とほぼ同じ変異頻度を示した骨髄には悪性化は認められなかった(Nagao et al., 1998)。Hakura ら(1998)は Muta マウス(Balb/c × DBA/2)F 1 に B[a]P を 25 mg/kg/day 5 日間胃内投与して、最終 B[a]P 投与 2 週間後に変異頻度を測定し、41 週の発がん実験で両者を比較した。変異頻度が最も高かったのは大腸で小腸、前胃、骨髄、脾がこれに次いだ。一方発がんの標的臓器は前胃であり、脾臓における悪性リンパ腫がこれに次いだ。以上のように突然変異頻度と発がん性に相関がないのは、MeIQ のみが特殊なのではなく、むしろほとんどの化合物で観察されるのではないだろうか。

Table 2 Big Blue マウス各臓器における DNA 付加体レベルと突然変異頻度の比較

化合物	臓器	<i>lacI</i> 突然変異頻度 (10^{-6})	DNA 付加体レベル (付加体/ 10^7 ヌクレオチド)
None	Liver	30.6	0
	Heart	29.1	0
	Colon	29.2	0
	Forestomach	38.2	0
	Bone marrow	18.9	0
	MeIQ	142	28.3
MeIQ	Liver	20.8	8.4
	Colon	1105	3.3
	Forestomach	97.6	1.3
	Bone marrow	109	0.4

300ppm MeIQ を含む餌を 12 週投与した。各群 3 匹ずつ用いた。ただし前胃に関しては 8 匹に投与し、4 匹からの前胃をプールし、2 サンプルを解析した(Ochiai et al., 1998)

Table 3 DNA 付加体レベルと突然変異の頻度：化合物による相違^a

化合物	C57BL/6J lacZ	
	Adduct mol/ 10^7 ヌクレオチド	MF $\times 10^6$
None		29.0 \pm 3.6
IQ	1.3 \pm 0.5	134.1 \pm 10.8
MeIQx	0.5 \pm 0.3	112.7 \pm 14.6
AαC	12.7 \pm 2.2	78.2 \pm 9.5

^aDavis et al., 1996

Adduct: 24 hr after 10 daily doses (20mg/g, P.O.)

MF: 4 weeks after 10 daily doses (20mg/g, P.O.)

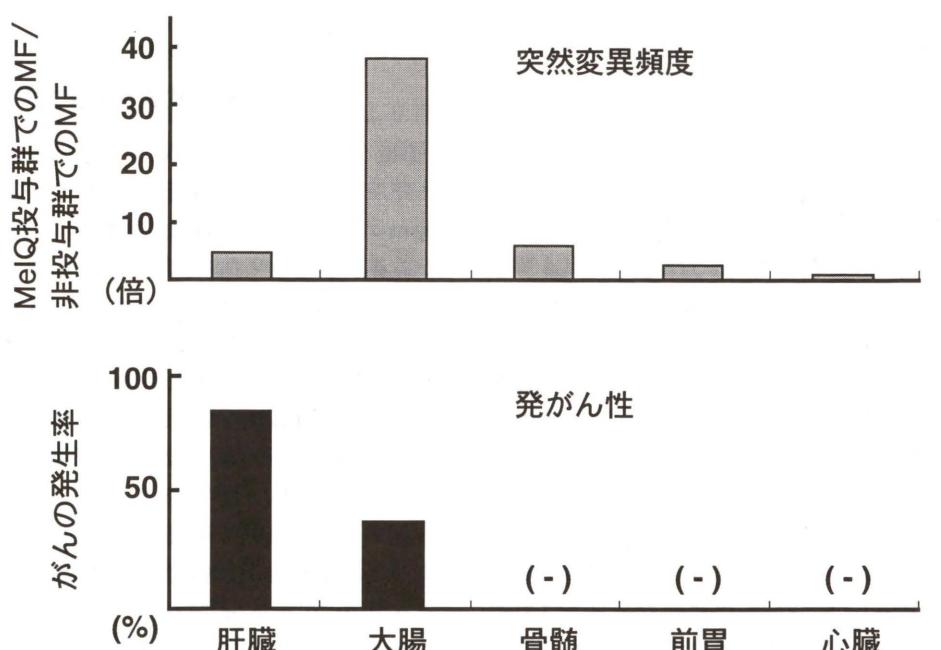


Fig. 3 MeIQ を投与した Big Blue マウス (C57BL/6N) における各臓器の突然変異頻度と発がん性
(Nagao et al., 1998)

Table 4 種々の細胞の種々の遺伝子における PhIP 誘発突然変異

遺伝子	宿主	サンプル数	突然変異の数(%)			文献
			G : C 欠失	GGGA → GGA	その他	
<i>Apc</i>	ラット 大腸癌	4	5 ^a (100)	5 ^a (100)		Kakiuchi et al., 1995
<i>lac I</i>	BBM(大腸)	115	30 (26)	8 (7)		Okonogi et al., 1997a
	BBR(大腸)	227	82 (36)	18 (8)		Okonogi et al., 1997b
<i>supF</i>	ヒト線維芽細胞	172	7 (4)	5 (3)		Endo et al., 1994
<i>Hprt</i>	ヒトリンパ芽球様細胞	55	5 (9)		5 (9)	Morgenthaler et al., 1995
					AAGGGGGC → AAGGGGC	
<i>hprt</i>	チャイニーズハムス ター線維芽細胞	40	5(12.5)	4 (10)		Farsani et al., 1996

^a: 1 つの腫瘍は 2 つの *Apc* 変異を持っていた

この相違の原因となっている因子には、いくつかあると想定されるが、突然変異しうるポテンシャルをもつ細胞の増殖カインeticsが各臓器によって異なることが重要な因子の 1 つである。肝細胞は増殖速度が遅く、変異した細胞は悪性化への変異を受けない限り、ゆっくり増殖する。さらに、肝では変異を受ける細胞と癌化のポテンシャルをもっている細胞との関係は良くわかっていない。

それに対し大腸では幹細胞は各陰窩当たり 1 個ある。この細胞に突然変異が起これば、その陰窩にある 200—300 の細胞はすべて、その変異細胞で占められる。すなわち幹細胞に生じた変異は 200—300 倍に増幅されている。幹細胞以外の細胞に生じた変異は、発がん物質投与を休止している間に粘膜から消滅することが考えられる。発がんのポテンシャルを持っている細胞は幹細胞に限られるという説があるが、決定にはいたっていないと思われる。いずれにしても、突然変異頻度が何を表わしているかは各臓器によって著しく異なる。

次に重要な因子は、細胞が腫瘍化するのに必要な遺伝子変異の数である。これは組織ごとに異なると考えられる。さらに、発がんの過程を修飾する遺伝子の関与がある。例えば、がん抑制遺伝子に変異のある *Min* マウスも遺伝的背景が異なると腸管の腫瘍発生が顕著に抑えられる。これは *Mom* という分泌型ホスホリバーゼ A2 (*PLA2s*) 遺伝子の発現レベルによる事が明らかにされている。その他、発がん感受性を制御している遺伝子は多数ある。

PhIP は F 344 ラット雄に大腸がんを誘発するが雌ラットには大腸がんを誘発せず、乳がんを誘発する。Big Blue ラット (F 344) 雌および雄に、発がん実験と同じ投与用法で餌に 400 ppm の PhIP を混ぜて投与(ただし変異テストの場合は 60 日間投与し、1 週間後に解析)した場合、大腸粘膜における、突然変異頻度は雌雄で差がない(Okonogi et al., 1997a)。PhIP による大腸の前がん病変ともいべき異常腺窩 (Aberrant Crypt Focus, ACF) の誘発は大腸がんと同様に雄で有意に増加する

が、雌では対照群よりわずかしか増加しない。去勢雄ラットでは ACF の数は雌ラットと同程度に低下していた。すなわち突然変異誘発後の細胞の運命がホルモンにより修飾されていることが示唆された。

4. 突然変異スペクトルと発がん

ここでは 2 つの問題をとりあげる。1 つは各化合物は、どの臓器でも同じ変異スペクトル(型と部位)を与えるか、各化合物はそれぞれ特異的な変異スペクトルを与えるか、動物の種が異なっても同じスペクトルを与えるかという問題である。第 2 は変異スペクトル解析により発がんリスク評価に関して重要な情報が得られるかという問題である。

1) の問題でまず各臓器で同じ変異スペクトルを与えるかという問題である。MeIQ は大腸、肝臓では主として G : C → T : A 変異を誘発し、G : C → A : T トランジションがこれに次ぐ。しかし骨髄では G : C → T : A, G : C → A : T, 一塩基欠失、およびその他の複合した変異、の 4 種類がほぼ等頻度に誘発されていた。この変異スペクトルの差は細胞増殖速度に直接関わるものではないことは、大腸が肝臓と同じスペクトルであることから推定される。骨髄の DNA 修復系または DNA 複製系になんらかの特異性の存在が推定される。

次に PhIP, AαC および MeIQ の 3 つの HCA について、これらはいずれも主としてグアニン C-8-付加体を生成するのであるが、Big Blue マウス大腸における変異スペクトルを比較した。いずれの化合物でも G : C → T : A 変異が最も多く、全突然変異の約 50 % を占めた。それに続く変異としては、PhIP による G : C 欠失が約 30 % であることが特徴で、その他の化合物では G : C → A : T 変異がこれに次いだ。さらに詳しく検討すると、MeIQ は 5'-GC-3' に、PhIP は 5'-GGG-3' に、AαC は CGT に塩基置換変異が最も高頻度に観察された。一塩基欠失の頻度は MeIQ, PhIP, AαC で 8/92, 30/115 および 8/105 であり、PhIP で有意に高かった。さらに PhIP では 8 個が GGG → GGA の変異であったのに対し、MeIQ では

1/92, AαC では 0/105 であり GGGGA → GGA 変異は PhIP にきわめて特異的であることがわかった (Okonogi et al., 1997 b). すなわちグアニン C-8-付加体を生成する化合物でも、その変異スペクトルはそれぞれの化合物に特異的であり、化合物特定変異として使えるものがある事がわかった。

Big Blue ラット大腸粘膜では、PhIP により誘発される変異は一塩基対欠失が最も高頻度で G : C → TA 塩基置換がこれに次いだ。GGGA → GGA の変異は雌雄のラット大腸粘膜で同じように観察された。すなわち、PhIP による大腸発がんの差異は、突然変異頻度、変異スペクトルいずれでも説明できない事がわかった (Okonogi et al., 1997 a).

ところで我々は PhIP 誘発ラット大腸がんにおけるがん遺伝子およびがん抑制遺伝子変異を解析しているが、50 % の腫瘍に *Apc* 変異を見出した。そのすべてが GGGGA → GGA の変異であり、この変異が PhIP の化合物特定変異としてヒト発がんにおける PhIP の関与を解明する手がかりに使えるか否か検討の必要性があった。幸いなことに Table 4 に示すように、ヒト線維芽細胞、ヒトリンパ芽球、チャイニーズハムスター線維芽細胞における *supF* および *H(hprt)* 遺伝子の変異が報告された。ヒトリンパ芽球 *Hprt* 変異をのぞいてすべての系で GGGGA → GGA 変異が変異の 3–10 % で検出された。ヒト *Hprt* では G : C の欠失はすべて AAGGGGGGC → AAGGGGGC であった。チャイニーズハムスターの *hprt* 遺伝子には 4 つの GGGGA 配列があるが線維芽細胞における 4 つの変異はすべてそのうちの 1 カ所で起こっていた。その配列はヒトでは保存されていない。このように突然変異の特異性には一次構造が重要なことはもちろんである。しかし変異の起こりやすさには、標的配列の周辺の一次構造あるいは 2 次、3 次構造が大きく関与していることが推定される (長尾美奈子, 1998)。したがって、化合物特定変異を異なる遺伝子に応用する場合には、この点を考慮する必要がある。

p53 遺伝子は種々のヒトがんで変異を起こしており、*Apc* と同様にがん抑制遺伝子である。これまでに 7000 例以上の変異スペクトルが報告されているが、そのうち 21 例に GGGGA → GGA 変異があることがわかった。これらの変異がすべて PhIP により誘発されたと仮定すると、そして PhIP 誘発突然変異の 3–10 % が GGGGA → GGA 変異であるとすると、PhIP はヒトがん *p53* 変異の 3–10 % に関わっていると算出される。

現在のところ B[a]P のようなヒトが暴露されている PhIP 以外の発がん物質では GGGGA → GGA 変異は報告されていない。また、AAF のように *in vitro* または大腸菌ではフレームシフトが優先的に起こる DNA 付加体を形成するものでも、*in vivo* ではフレームシフトが起らないと報告されている。もちろんその他どのような化

合物が PhIP と同じ化合物特定変異を持っているかが今後の問題であるが、一応 PhIP のヒト発がんにおけるリスクを考える手がかりができたと考えている。

結語

HCA のようにほとんどのヒトがほとんど毎日食べている発がん物質で、それに対する代謝活性化能はヒトそれぞれ異なるし、さらに DNA 付加体生成以後の過程で作用する因子の遺伝的背景もヒトそれぞれ異なる。このような環境発がん物質のヒト発がんにおける役割の解明はきわめて困難である。PhIP が幸い化合物特定変異とも呼ばれるべき変異を誘発することは幸いであった。

突然変異と発がんの関係は一見単純な問題に思えるが実はよくわかっていない事が多々ある。Big Blue 動物や Muta マウス、*lacZ*—プラスミドマウス、その他 Δ gpt マウスなどそれぞれ特徴がある。これらを使って環境変異原研究に新しい展開があることを願っている。

参考文献

- Davis, C. D., E. J. Dacquel, A. J. Schut, S. S. Thorgeirsson and E. G. Snyderwine (1996) *In vivo* mutagenicity and DNA adduct levels of heterocyclic amines in Muta™ Mice and c-myc/*lacZ* double transgenic mice, Mutat. Res., 356, 287-296.
- Endo, H., H. A. J. Schut and E. G. Snyderwine (1994) Mutagenic specificity of 2-amino-3-methylimidazo[4, 5-f]-quinoline and 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4, 5-b]-pyridine in the *supF* shuttle vector system, Cancer Res. 54, 3745-3751.
- Yadollahi-Farsani, M., N. J. Gooderham, D. S. Davies and A. R. Boobis (1996) Mutational spectra of the dietary carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4, 5-b]-pyridine (PhIP) at the Chinese hamster *hprt* locus, Carcinogenesis, 17, 617-624.
- Fukutome, K., M. Ochiai, K., Wakabayashi, S. Watanabe, T. Sugimura and M. Nagao (1994) Detection of guanine-C8-2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4, 5-b]-pyridine adduct as a single spot on thin-layer chromatography by modification of the ³²P-postlabeling method, Jpn J. Cancer Res., 85, 113-117.
- Hakura, A., Y. Tsutsui, J. Sonoda, J. Kai, T. Imade, M. Shimada, Y. Sugihara, and T. Mikami (1998) Comparison between *in vivo* mutagenicity and carcinogenicity in multiple organs by benzo[a]pyrene in the *lacZ* transgenic mouse (Muta™ Mouse), Mutat. Res., 398, 123-130.
- Kakiuchi, H., M. Watanabe, T. Ushijima, M. Toyota, K. Imai, J. H. Weisburger, T. Sugimura and M. Nagao (1995) Specific 5'-GGGA-3' → 5'GGA-3' mutation of the *Apc* gene in rat colon tumors induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4, 5-b]-pyridine (PhIP), Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92, 910-914.
- Morgenthaler, P.-M.L. and D. Holzhauser (1995) Analysis of mutations induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4, 5-b]-pyridine (PhIP) in human lymphoblastoid cells, Carcinogenesis, 16, 713-718.
- Nagao, M., H. Fujita, M. Ochiai, K. Wakabayashi, T. Sofuni, T. Matsushima, T. Sugimura and T. Ushijima (1998) No direct correlation between mutant frequencies and cancer incidence induced by MeIQ in various organs of Big Blue™ mice, Mutat. Res., 400, 251-257.
- 長尾美奈子 (1998) 分子レベルからみた化学発癌研究の展望, Mol. Medicine, 35 : 708-716.
- Ochiai, M., K. Ishida, T. Ushijima, T. Suzuki, T. Sofuni, T. Sugimura and M. Nagao (1998) DNA adduct level induced by 2-amino-3, 4-dimethylimidazo[4, 5-f]quinoline in Big Blue™ mice does not correlate with mutagenicity, Mutagenesis, 13, 381-384.
- Ochiai, M., H. Nakagama, R. J. Turesky, T. Sugimura and M. Nagao (1999) A new modification of the ³²P-postlabeling method to recover IQ-DNA adduct as mononucleotides, Mutagenesis, in press.
- Okonogi, H., G. R. Stuart, E. Okochi, T. Ushijima, T. Sugimura, B. W. Glickman and M. Nagao (1997a) Effects of gender and species on spectra of mutation induced by 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4, 5-b]-pyridine in the *lacZ* transgene, Mutat. Res., 395, 93-99.
- Okonogi, H., T. Ushijima, X. B. Zhang, J. A. Heddle, T. Suzuki, T. Sofuni, J. S. Felton, J. D. Tucker, T. Sugimura and M. Nagao (1997b) Agreement of mutational characteristics of heterocyclic amines in *lacZ* of the Big Blue® mouse with those in tumor related genes in rodents, Carcinogenesis, 18, 745-748.
- Randerath, E., H. P. Agrawal, J. A. Weaver, C. B. Bordelon and K. Randerath (1985) ³²P-Postlabeling analysis of DNA adducts persisting for up to 42 weeks in the skin, epidermis and dermis of mice treated topically with 7, 12-dimethylbenz[a]anthracene, Carcinogenesis, 6, 1117-1126.
- Suzuki, T., M. Hayashi, M. Ochiai, K. Wakabayashi, T. Ushijima, T. Sugimura, M. Nagao, T. Sofuni (1996) Organ variation in the mutagenicity of MeIQ in Big Blue™ *lacZ* transgenic mice, Mutat. Res., 369, 45-49.
- Tada, A., M. Ochiai, K. Wakabayashi, H. Nukaya, T. Sugimura and M. Nagao (1994) Identification of N-(deoxyguanosin-8-yl)-2-amino-3, 4-dimethylimidazo[4, 5-f]-quinoline (dG-C8-MeIQ) as a major adduct formed by MeIQ with nucleotides *in vitro* with DNA and *in vivo*, Carcinogenesis, 15, 1275-1278.
- Totsuka, Y., K. Fukutome, M. Takahashi, S. Takahashi, A. Tada, T. Sugimura and K. Wakabayashi (1996) Presence of N²-(deoxyguanosin-8-yl)-2-amino-3, 8-dimethylimidazo[4, 5-f]quinoxaline (dG-C8-MeIQx) in human tissues, Carcinogenesis, 17, 1029-1034.

農薬の変異原性データ集(1)

はじめに

我が国における農薬の安全性についての規制は、農林水産省、環境庁、厚生省などが、それぞれ分担して行っている。その主なものとして、農薬取締法による登録制度と使用基準の公表(農水省)、登録保留基準の設定および水質汚濁防止法による環境規制(環境庁)、食品衛生法による残留基準の設定、水道法による基準、および、毒劇法による毒物劇物の指定(厚生省)等があげられよう。特に、農薬の毒性試験の情報としては、農薬の物性、急性毒性、亜急性毒性、変異原性、慢性毒性、発がん性、繁殖毒性、刺激性、感作性、その他の薬理作用などが含まれる。このうち、変異原性については、現行のガイドライン(昭和60年、1月)によって、1) 微生物を用いる突然変異試験(Ames試験)、2) 培養細胞を用いる細胞遺伝学的試験、および、3) 枯草菌を用いるDNA修復試験(Rec-assay)などの*in vitro* 試験系が要求されているが、必要に応じて、*in vivo* 系のげっ歯類を用いる小核試験なども実施されている。

現在、我が国で使用されている農薬の種類はきわめて多く、化合物として300種近いと思われる。用途別には、殺虫剤、除草剤、殺菌剤、植物成長調整剤、殺鼠剤、抗ウイルス剤、土壤消毒剤、協力剤などに大別されるが、いずれもわれわれの衣食住に深い関連を持ち、近代社会の経済学的発展に大きく寄与してきた。しかしながら、近年、環境ホルモンの問題の浮上に伴い、今一度、それらのヒトに対する安全性が問われるようになった。

今回、本学会編集委員会の承認を得て、既存の農薬の変異原性に関する情報をまとめ、資料・情報に記載することとした。我が国では、すでに、農薬に関する毒性試験結果の詳細について、日本農薬学会誌にその概要が報告されている。これらのデータは、上市企業および団体から提供された貴重なデータである。今回、三井化学ライフサイエンス研究所・農薬グループのご協力を得て、これらのデータの中から変異原性を中心とする情報を抽出し、一定のフォーマットに編集してみた。当然のことながら変異活性の高い化合物は見当たらず、ほとんどのものが陰性である。また、化合物の構造式も記載することとしたが、これらは構造相関をみるためにも貴重な情報と考えている。ここでは110種類の化合物をあげたが、今後さらに、データを追加していく予定である。ご参考となれば幸いである。

略字、略号について

表中の記号の説明について下記する。

Rec: 枯草菌を用いるDNA修復試験; Rec-assay

Ames: 復帰突然変異試験; Ames test

CA: 培養細胞を用いる染色体異常試験

MN: げっ歯類を用いる小核試験

CAR: 発がん性試験(ラット、マウス)

TEG: 催奇形性試験(ラット、ウサギ)

UDS: 不定期DNA合成試験

MLA: マウスリンゴーマ突然変異試験

DLT: マウスを用いる優性致死試験

SCE: 姉妹染色分体交換試験

HMA: 宿主経由試験

HGPRT: 培養細胞を用いる突然変異試験

-S9: ラット肝S9を添加しない非代謝活性化系

+S9: ラット肝S9による代謝活性化系

直: 染色体異常試験の直接法(非代謝活性化による連続処理法)

±S9: 非代謝活性化系、および、代謝活性化系
(染色体異常試験では短時間処理法)

E-3: 10のべき乗をEで表現: $\times 10^{-3}$

判定: -; 陰性

±; 疑陽性

±; 陽性

(+); 弱陽性

S9: ラット肝ミクロソーム分画

?; 文献に試験データの記載なし

なお、いくつかの農薬については、参考までに編者の手許にある染色体異常試験のデータを付け加えた。石館(1987)および(1988)はそれぞれ、染色体異常データ集(L. I. C.出版, 1987)および総説(Ishidate et al. Mutat. Res., 195, 151-213, 1988)より引用した。その他の情報の詳細については、各項目の右肩に記載されている文献を参照されたい。

謝辞

この度のデータの収集にあたり、ご理解を賜りました日本農薬学会誌編集委員会に厚く御礼申し上げます。

また、データ集の作成のために貴重な時間をご提供下さいました、三井化学株式会社ライフサイエンス研究所の坂本修氏および江部洋史氏に心より感謝申し上げます。

(オリンパス光学工業株式会社 染色体研究センター
(CRC) 石館 基記)

殺虫・除草・微生物

1. Ametryn

種類: 除草剤 商品名: ゲザパックス 分子量: 227.33 分配係数: 有機溶媒に易溶	Rec: — 抗菌性: ? Dose: 100~10000 µg/well
Ames: — (-S9) — (+S9) Dose: 100~5000 µg/plate 備考: TA1537, TA98株 1濃度土, 用量相関なし (野村総合研究所, 1979)	
CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: -S9 75~300 µg/ml/3hr, +S9 37.5~150 µg/ml/3hr, 37.5~150 µg/ml/24h 備考: CHO(ATCC CCL61系)細胞 (スイスチバガイキー社 1989); CHL細胞で— (251 mg/ml) (石館, 1987)	
MN: ? 備考:	
その他:	
CAR: —	TEG: —

2. Aencymidol

種類: 植物成長調整剤 商品名: スリートーン 分子量: 256.3 分配係数: 1.91(水 25°C):logP	Rec: ? 抗菌性: ? Dose:
Ames: — (-S9) — (+S9) Dose: 250, 500, 1000, 2500, 5000 µg/plate 備考: 5000 µg/plateで抗菌性有り (リリース研究所, 1985)	
CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: 6hr (156.25~1250 µg/ml), 24~48hr (18.125~625 µg/ml) 備考: CHL細胞 (セラフォームラボトリーズ, 1990)	
MN: ? 備考:	
その他: UDS —, MLA —, in vivoSCE — (リリース研究所 1985)	
CAR: ?	TEG: —

3. Asulam

種類: 除草剤 商品名: 分子量: 229.23 分配係数: 4.53 ± 0.03(pKa)	Rec: — 抗菌性: — Dose: ~2000 µg/disk
Ames: — (-S9) — (+S9) Dose: 生育阻止を生じる濃度 備考: (残農研, 1977)	
CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:	
MN: ? 備考:	
その他: HMA —, 細胞形質転換 —, DLT — CAR: —	TEG: —

4. Bacillus thuringiensis 產生結晶毒素 Cas.No.: なし

種類: 微生物殺虫剤 商品名: トアロー水和剤CT 分子量: 約135000 分配係数: 有機溶媒に不溶 蛋白質。アミノ酸の配列順序は未確定 δ -endotoxin	Rec: — 抗菌性: — Dose: 10~2000 µg/disk
Ames: ? (-S9) — (+S9) Dose: 1~1000 µg/plate 備考: TM677(8-AGs): 8-azaguanine感受性株, TA100(Smd): Streptomycin依存性株 (残農研, 1983)	
CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:	
MN: ? 備考:	
その他:	
CAR: —	TEG: —

5. Benfuracarb

種類: 殺虫剤 商品名: Oncol 分子量: 410.5 分配係数:	Rec: — 抗菌性: ? Dose: ~10000 µg/disk
Ames: — (-S9) — (+S9) Dose: ~5000 µg/plate 備考: (The Institute of Environmental Toxicology, 1982)	
CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考: In vivo 染色体異常試験(CDラット) — (Hazleton Laboratories, 1983)	
MN: — 備考: 5, 50 mg/kg (2回), CD-1マウス (Hazleton Laboratories, 1983)	
その他:	
CAR: —	TEG: —

6. Benfuresate

種類: 除草剤 商品名: 分子量: 分配係数: 2.41(logP)	Rec: — (-S9) 抗菌性: ? Dose: 50~5000 µg/plate
Ames: — (-S9) — (+S9) Dose: 50, 150, 500, 1500, 5000 µg/plate 備考: (HRC, 1991)	
CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: -S9 15, 75, 150 µg/plate, +S9 75, 375, 750 µg/plate (溶媒エタノール) 備考: ヒトリハマ球 (HRC, 1984)	
MN: ? 備考:	
その他:	
CAR: —	TEG: —

7. Bensulfuron-methyl

種類: 水田用除草剤 商品名: DPX-F 5384 分子量: 410.4 分配係数: 2.45(pH1.5), 0.61(pH7):logP	Rec: — 抗菌性: — Dose: 20~5000 µg/disk
Ames: — (-S9) — (+S9) Dose: Salmonella (0.01~10 µg/plate), E. coli (10~1000 µg/plate) 備考: Salmonellaでの用量はかなり低い (残農研, 1981)	
CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: 1.0 M ~ 4 M 備考: CHL細胞, 1用量のみ (残農研, 1985)	
MN: ? 備考:	
その他:	
CAR: —	TEG: —

8. Bensultap

種類: 殺虫剤 商品名: 分子量: 431.63 分配係数: 192(logP, 25°C)	Rec: — 抗菌性: — Dose: 0~10000 µg/disk
Ames: — (-S9) — (+S9) Dose: ~5000 µg/plate 備考: (Institute of Environmental Toxicology, 1983)	
CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:	
MN: — 備考: 20, 200 mg/kg × 1, 10, 100 mg/kg × 5, CH3マウス (武田化学, 1980)	
その他: 前進突然変異試験 —, SCE —, DLT —, UDS — CAR: —	TEG: —

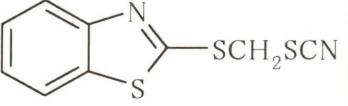
9. Benthiazole

Cas.No.: 21564-17-0 文献No.: 12, 343-345 (1987)

種類: 種子消毒剤
商品名: カビサイド, ブーサン

分子量: 238.35

分配係数:



2-(thiocyanomethylthio) benzothiazole

Rec: 土 (+S9) 抗菌性: ?

Dose: 100~400 µg/well

Ames: - (-S9) + (+S9)

Dose: 菌種により異なる
備考: E. coli(+S9) +, Salmonella - (野村総研, 1978, 1979)

CA (in vitro): ? (直) ? (±S9)

Dose:

備考:

MN: ?

備考:

その他: 代謝活性化の結果が Rec法と Ames法で異なる (同一試験機関)

CAR: ?

TEG: ?

10. Benzofenap

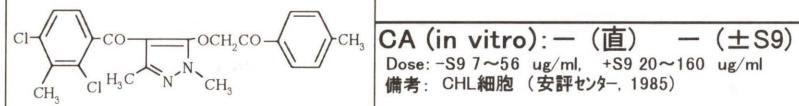
Cas.No.: 82692-44-2 文献No.: 15, 125-129 (1990)

種類: 除草剤

商品名:

分子量: 431.3

分配係数: 4.90E +4(Kow)



2-[4-(2,4-dichloro-m-toloyl)-1,3-dimethyl-pyraol-5-yloxy]-4'-methylacetophenone

Rec: - (-S9) 抗菌性: ?

Dose: 100~5000 µg/disk

Ames: - (-S9) - (+S9)

Dose: 5~5000 µg/plate

備考: Salmonella および E. coli (安評センター, 1981)

CA (in vitro): - (直) - (±S9)

Dose: -S9 7~56 µg/ml, +S9 20~160 µg/ml

備考: CHL細胞 (安評センター, 1985)

MN: ?

備考:

その他:

CAR: -

TEG: -

11. Bialaphos

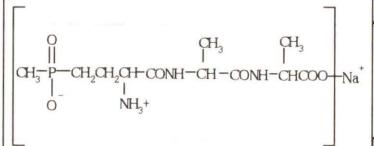
Cas.No.: 71048-99-2 文献No.: 12, 347-351 (1987)

種類: 非選択性除草剤

商品名: 明治ハービエース

分子量: 345.27

分配係数:



Sodium salt of L-2-amino-4-[(hydroxy)(methyl)phosphinoyl]butyryl-L-alanyl-alanine

Rec: - 抗菌性: + (強)

Dose: ~2000 µg/disk

Ames: - (-S9) - (+S9)

Dose: ~0.5 µg/plate (抗菌性のため 0.01 µg以下)

備考: (残農研, 1981)

CA (in vitro): - (直) - (±S9)

Dose: -S9 ~10 mg/ml, +S9 ~43 mg/ml

備考: CHL細胞 (明治製薬, 1987)

MN: ?

備考:

その他: 突然変異誘発頻度試験 - (明治製薬, 1985)

CAR: -

TEG: -

12. Buprofezin

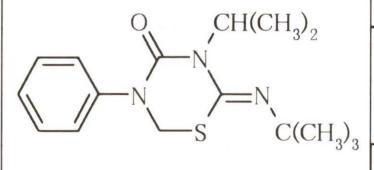
Cas.No.: 69327-76-0 文献No.: 11, 655-657 (1986)

種類: 殺虫剤

商品名: アプロード

分子量: 305.44

分配係数: 4.3(logP)



2-tert-butylimino-3-isopropyl-5-phenyl-3,4,5,6-tetrahydro-2H-1,3,5-thiadiazin-4-one

Rec: - 抗菌性: -

Dose: 20~5000 µg/plate

Ames: - (-S9) - (+S9)

Dose: 10~5000 µg/plate

備考: (残農研, 1980)

CA (in vitro): ? (直) ? (±S9)

Dose:

備考:

MN: ?

備考:

その他:

CAR: -

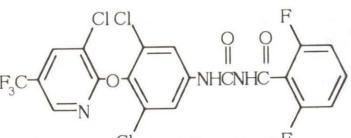
TEG: ?

13. Chlorfluazuron

Cas.No.: 71422-67-8 文献No.: 20, 225-228 (1995)

種類: 殺虫剤
商品名: アタブロン

分子量: 540.66
分配係数: 5.8(logP)



1-[3,5-Dichloro-4-(3-chloro-5-trifluoromethyl-2-pyridyloxy)phenyl]-3-(2,6-difluorobenzoyl)urea

Rec: - 抗菌性: ?

Dose: 50~5000 µg/disk

Ames: - (-S9) - (+S9)

Dose: 10~5000 µg/plate

備考: (残農研, 1986)

CA (in vitro): - (直) - (±S9)

Dose: 3.3E-6 ~ 3.3E-4 M

備考: CHL細胞 (残農研, 1986)

MN: ?

備考:

その他:

CAR: -

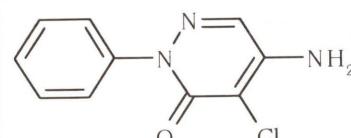
TEG: -

14. Chloridazon

Cas.No.: 1698-60-8 文献No.: 17, S171-S176 (1992)

種類: 除草剤
商品名: ピラミン, アリセップ, レナパック

分子量: 221.6
分配係数: 1.26(Kow)



1-Phenyl-4-amino-5-chloro-pyridazon-6(6H)-one

Rec: - 抗菌性: ?
Dose: 20~2000 µg/disk

Ames: - (-S9) - (+S9)

Dose: -S9 (10~3000 µg/ml), +S9 (10~1000 µg/ml)

備考: (Institute of Environmental Toxicology, 1976)

CA (in vitro): - (直) - (±S9)

Dose: -S9 (2.0, 4.0, 5.0 µg/ml), +S9 (1, 2, 4 µg/ml)

備考: Human lymphocytes (BASF, 1988)

MN: ?

備考:

その他: HMA - (Institute of Environmental Toxicology, 1976)

CAR: -

TEG: -

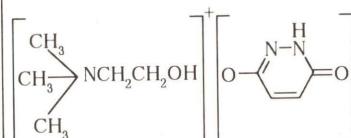
15. Choline salt of maleic hydrazide

Cas.No.: 123-33-1 文献No.: 12, 771-774 (1987)

種類: 萌芽抑制剤

商品名: エルノー

分子量: 215.25
分配係数: 0.0142(Kow)



Choline salt of 1,2-dihydro-3,6-pyridinedione

Rec: - 抗菌性: -

Dose:

Ames: - (-S9) - (+S9)

Dose:

備考: (残農研, 1983)

CA (in vitro): ? (直) ? (±S9)

Dose:

備考:

MN: ?

備考:

その他:

CAR: -

TEG: -

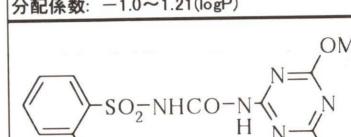
16. Cinosulfuron

Cas.No.: 94593-91-6 文献No.: 17, S165-S169 (1992)

種類: 除草剤
商品名: セイラント粒剤(混剤)

分子量: 413.41

分配係数: -1.0~1.21(logP)



1-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-3-[2-(2-methoxyethoxy-phenylsulfonyl)]urea

Rec: - 抗菌性: -

Dose: ~6000 µg/disk

Ames: - (-S9) - (+S9)

Dose: ~100 µg/plate

備考: TA100, TA98, TA1535, TA1537 (化検協, 1988)

CA (in vitro): - (直) - (±S9)

Dose: ~1000 µg/ml

備考: Human lymphocytes (チバガイキ, スイス, 1986)

MN: ?

備考:

その他:

CAR: -

TEG: -

17. Clomeprop

Cas.No.: 84496-56-0 文献No.: 16, 125-128 (1991)

種類: 水田用除草剤 商品名: 分子量: 324.2 分配係数: 4.8(logP)	Rec: - (±S9) 抗菌性: - Dose: 206~3300 µg/disk (+S9では1/2量)
(RS)-2-(2,4-dichloro-m-tolyl)oxymethylpropianilide	Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: 206~6600 µg/plate 備考: (安評センター, 1986)
	CA (in vitro): ± (直) - (±S9) Dose: 41.3~330 µg/ml 備考: - S9: 構造異常 -, 倍数体 ± (安評センター, 1986)
	MN: - 備考: 120, 600, 3000 mg/kg (CD-1 マウス) (Life Science Research, 1989)
	その他: CAR: - TEG: -

18. Copper terephthalate

Cas.No.: なし

文献No.: 13, 621-624 (1988)

種類: 殺菌剤 商品名: ポルコン 分子量: 281.7 分配係数: 3.7(Kow)	Rec: - 抗菌性: ? Dose: 50~10000 µg/disk
	Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: 10~5000 µg/plate 備考: (慶應大学・日本実験医学研究所, 1981; 野村総合研究所, 1981)
	CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:
	MN: ? 備考:
	その他: CAR: - TEG: -

19. Copper(quinolin-8-oato)

Cas.No.: 10380-28-6 文献No.: 16, 563-567 (1991)

種類: 殺菌剤 商品名: 分子量: 分配係数: 3.12(Kow)	Rec: - 抗菌性: ? Dose: 1~50 µg/disk
bis(quinolin-8-oato)copper(IUPAC)	Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: 0.1~10 µg/plate, 10 µg/plateで細菌の増加抑制 備考: (残農研, 1977)
	CA (in vitro): - (直) - (±S9) Dose: -S9: 0.136 µg/ml (24hr), 0.08 (48hr), +S9: 9.6 (6hr) 備考: CHL細胞 (安評センター, 1985)
	MN: - 備考: 1400, 2800, 5600 mg/kg × 2 (CFYラット, 15匹) (HRC, 1978)
	その他: CAR: - TEG: -

20. Cyanazine

Cas.No.: 21725-46-2 文献No.: 11, 127-130 (1986)

種類: 畑地用除草剤 商品名: グラメックス(英名Bladex) 分子量: 分配係数: 5000(Kow)	Rec: - 抗菌性: - Dose: ~2 mg/disk
2-(4-chloro-6-ethylamino-s-triazin-2-ylamino)-2-methylpropionitrile	Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: -S9: ~3 mg/plate, +S9: ~1 mg/plate 備考: (残農研, 1978)
	CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:
	MN: ? 備考:
	その他: HMA -, DLT -, 骨髄細胞に対する影響 - CAR: - TEG: -

21. Cycloprothrin

Cas.No.: 63935-38-6 文献No.: 16, 697-702 (1991)

種類: 殺虫剤 商品名: シクロサール 分子量: 482.36 分配係数: 4.19(logP)	Rec: - 抗菌性: ? Dose: 0~2000 µg/disk
Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: 10~5000 µg/plate 備考: (残農研, 1980)	CA (in vitro): - (直) - (±S9) Dose: -S9: 0, 82.5, 165, 330, 660 µg/ml; +S9: 0, 156, 313, 625, 1250 µg/ml 備考: CHL細胞 (残農研, 1985)
	MN: ? 備考:
	その他: CAR: - TEG: -

22. Cyproconazole

Cas.No.: 113096-99-4 文献No.: 22, 263-268 (1997)

種類: 殺菌剤 商品名: ALTO 分子量: 291.78 分配係数: 2.91(logP)	Rec: - 抗菌性: ? Dose: ~10000 µg/disk
Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: Salmonella: ~5000 µg/plate; E.coli: ~2000 µg/plate 備考: TA100, TA98, TA1535, TA1537, TA1538 (Hazleton Biotechnologies, 1986); Institute of Environmental Toxicology, 1992)	CA (in vitro): - (直) - (±S9) Dose: +S9: 45, 59.9, 99.9, 150, 200 µg/ml; -S9: 60.1, 100, 150, 200, 300 µg/ml 備考: CHO細胞 (Hazleton Washington, 1990)
	MN: ? 備考:
	その他: CAR: 肝細胞腫(non-genotoxic) TEG: -

23. Dazomet

Cas.No.: 533-74-4 文献No.: 17, S327-S335 (1992)

種類: 土壌殺菌剤 商品名: Basamid MG, Gasturd MG 分子量: 162.3 分配係数: 1.14(logP)	Rec: - (-S9) 抗菌性: ? Dose: 1~10000 µg/plate
Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: 1~200 µg/plate 備考: (Institute of Environmental Toxicology, 1977)	CA (in vitro): - (直) - (±S9) Dose: -S9: 0.002, 0.01, 0.05 µg/ml; +S9: 2.5, 12, 25 µg/ml 備考: Human lymphocytes (BASF, 1989)
	MN: ? 備考: In vivo 染色体異常試験で - (BASF, 1985)
	その他: HMA - (残農研, 1977)
	CAR: - TEG: -

24. Diazinon

Cas.No.: 333-41-5 文献No.: 14, 113-118 (1989)

種類: 殺虫剤 商品名: ダイアジノン 分子量: 304.3 分配係数: 3.42(logP)	Rec: - 抗菌性: ? Dose: 1, 5, 10, 25, 50, 100 µg/disk
Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: 10, 100, 1000 または 200, 1000, 5000 µg/plate 備考: (残農研, 1976)	CA (in vitro): - (直) ± (±S9) Dose: 5, 10, 20 µg/ml 備考: Human lymphocytes (Life Science Research, 1986); CHL細胞では + (+S9) 100 µg/ml (石館, 1987)
	MN: ? 備考:
	その他: HMA - (残農研, 1976), 大腸菌DNA損傷誘発試験 (+) (Life Science Research, 1986)
	CAR: - TEG: -

25. Diclomezine

Cas.No.: 62865-36-5 文献No.: 13, 625-628 (1988)

種類: 殺菌剤 商品名: モンガード 分子量: 分配係数:	Rec: 一 抗菌性: ? Dose: 100~3000 ug/disk
Ames: 一 (-S9) 一 (+S9) Dose: 100, 300, 1000, 3000 ug/plate 備考: (秦野研, 1979)	
CA (in vitro): 一 (直) 一 (±S9) Dose: 6, 30, 60 ug/ml 備考: CHO細胞 (HRC, 1986)	
MN: ? 備考:	
その他: CAR: ?	TEG: 一

26. Dienochlor

Cas.No.: 2227-17-0 文献No.: 15, 511-514 (1990)

種類: 殺ダニ剤 商品名: ペンタック水和剤 分子量: 474.6 分配係数:	Rec: 一 抗菌性: ? Dose: 0.1~10 ug/disk
Ames: ± (-S9) ± (+S9) Dose: 0.5, 1, 5, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000 ug/plate 備考: TA100 ± (-S9: 5~10 ug/plate, +S9: 500 ug/plate) (残農研, 1980)	
CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:	
MN: ? 備考: In vivo 染色体異常試験で-(26, 86.7, 260 mg/kg) ICR マウス (Litton Bionetics, 1979)	
その他: CAR: ?	TEG: 一

27. Diflubenzuron

Cas.No.: 35367-38-5 文献No.: 17, S159-S164 (1992)

種類: 殺虫剤 商品名: 兼商デミリン水和剤 分子量: 310.7 分配係数: 3.7(logP)	Rec: 一 抗菌性: 一 Dose: 20 ~ 2000 ug/disk
Ames: 一 (-S9) 一 (+S9) Dose: 10~5000 ug/plate 備考: (残農研, 1978; Western Regional Research Center, 1979)	
CA (in vitro): 一 (直) 一 (±S9) Dose: 100~250 ug/ml 備考: CHO細胞 (Hazleton Biotechnology, 1986)	
MN: 一 備考: 15, 150, 1500 mg/kg x 2 (Swiss-Websterマウス)(Western Regional Research Center, 1979)	
その他: MLA 一 CAR: 一	TEG: 一

28. Dimepiperate

Cas.No.: 61432-55-1 文献No.: 14, 109-112 (1989)

種類: 水田用除草剤 商品名: 分子量: 263.4 分配係数: 有機溶媒に易溶	Rec: 一 抗菌性: 一 Dose: 20~2000 ug/disk
Ames: 一 (-S9) 一 (+S9) Dose: 10~5000 ug/plate 備考: (残農研, 1980)	
CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:	
MN: 一 備考: 40, 200, 1000 mg/kg CDF1マウス (Life Science Research, 1984)	
その他: CAR: 一	TEG: 一

29. Dimethyldithio carbamate

Cas.No.: 15521-65-0 文献No.: 17, S25-S27 (1992)

種類: 殺菌剤 商品名: サンケル 分子量: 299.1 分配係数:	Rec: 一 抗菌性: ? Dose: 20~2000 ug/disk
Ames: 一 (-S9) 一 (+S9) Dose: 備考: (残農研, 1978)	
CA (in vitro): 一 (直) + (±S9) Dose: 50%増殖抑制濃度: 直接法 0.035 ug/ml, 代謝活性化法 313 ug/ml以上 (調製限界) 備考: (安科研, 1988)	
MN: 一 備考: 5回連続投与 (ICRマウス) (残農研, 1980)	
その他: CAR: ?	TEG: 一

30. Diphascinone

Cas.No.: 82-66-6 文献No.: 17, S319-S321 (1992)

種類: 殺鼠剤 商品名: ヤソジオン 分子量: 340.4 分配係数:	Rec: 一 抗菌性: ? Dose: 0.5~1000 ug/disk
Ames: 一 (-S9) 一 (+S9) Dose: TA1535, WP2uvrA: 0.5~1000 ug/plate, 他 4株: 0.1~500 ug/plate 備考: (日本バイオリサーチセンター, 1983)	
CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:	
MN: ? 備考:	
その他: CAR: ?	TEG: ?

31. Dithiopyr

Cas.No.: 97886-45-8 文献No.: 18, S91-S97 (1993)

種類: 除草剤 商品名: 分子量: 401.4 分配係数: 5.625E4(Kow)	Rec: 一 抗菌性: ? Dose: 200~20000 ug/disk
Ames: 一 (-S9) 一 (+S9) Dose: 10~5000 ug/plate 備考: (残農研, 1986; SRI International, 1987)	
CA (in vitro): 一 (直) 一 (±S9) Dose: 0.01~1.0 mM 備考: CHL細胞 (残農研, 1986)	
MN: ? 備考: その他: HGPRT突然変異試験 一 (モンサト, 1987); UDS試験 一 (SRI International, 1987)	
CAR: 一	TEG: 一

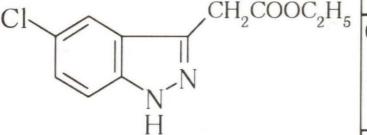
32. Espocarb

Cas.No.: 85785-20-2 文献No.: 15, 117-120 (1990)

種類: 水田用除草剤 商品名: フジグラス 分子量: 265.45 分配係数:	Rec: 一 抗菌性: -? Dose: 2000~26000 ug/disk
Ames: 一 (-S9) 一 (+S9) Dose: 50~5000 ug/plate 備考: (マック研究所, 1985)	
CA (in vitro): 一 (直) 一 (±S9) Dose: 18~72 ug/ml 備考: CHL細胞 (マック研究所, 1985)	
MN: ? 備考: その他: CAR: 一	TEG: 一

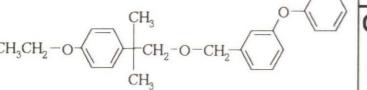
33. Ethychlozate

Cas.No.: 27512-72-7 文献No.: 11,137-138 (1986)

種類: 植物成長調整剤 商品名: フィガロン乳剤 分子量: 238.6 分配係数:  ethyl 5-chloro-3(1H)-indazolyl acetate	Rec: - 抗菌性: ? Dose: ~2000 ug/disk Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: ~500 mg/plate 備考: CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考: MN: ? 備考: その他: HMA - CAR: - TEG: -
---	--

34. Etofenprox

Cas.No.: 80844-07-1 文献No.: 14, 505-509 (1989)

種類: 殺虫剤 商品名: トレボン 分子量: 376.49 分配係数: 7.05(logP)  2-(4-ethoxyphenyl)-2-methylpropyl 3-phenoxybenzyl ether	Rec: - 抗菌性: - Dose: 100~20000 ug/disk Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: 0~5000 ug/plate 備考: (残農研, 1985) CA (in vitro): - (直) - (±S9) Dose: -S9: 1.0E-6~3.3E-4M (24, 48hr), +S9: 1.0E-6~3.3E-4 (9, 18hr) 備考: CHL細胞 (残農研, 1985) MN: ? 備考: その他: CAR: - TEG: -
---	---

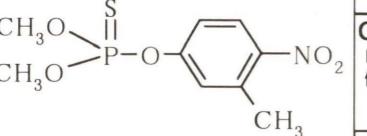
35. Extract of mixture

Cas.No.: なし 文献No.: 17, S253-S254 (1992)

種類: 植物成長調整剤 商品名: アルムグリーン 分子量: 分配係数: 構造式なし オウバク・クシン・オウゴン・カッコン・タイソウ・ダイオウ・ショウキヨウ・センチュウ・トウキ・カンゾウ・チビ・トウガラシ抽出物 3.5%	Rec: - 抗菌性: - Dose: 30~10000 ug/disk Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: 156.3, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 ug/plate 備考: TA100, TA98, TA1535, TA1537 (新日本化学, 1990) CA (in vitro): - (直) - (±S9) Dose: 0.375, 0.75, 1.5 mg/ml 備考: CHL細胞 (新日本化学, 1990) MN: ? 備考: その他: CAR: ? TEG: ?
--	---

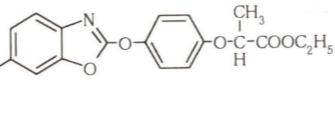
36. Fenitrothion

Cas.No.: 133-36-5 文献No.: 13, 401-405 (1988)

種類: 殺虫剤 商品名: スミチオン 分子量: 277.23 分配係数:  O,O-dimethyl-O-(3-methyl-4-nitrophenyl)-thiophosphate	Rec: - 抗菌性: - Dose: 0.26~26 mg/disk Ames: - (-S9) + (+S9) Dose: 10~5000 ug/plate 備考: TA100(+S9): ±(約140 revertants/nmol)、(TA100株の nitroreductaseによる代謝物?) (住友化学, 1983) CA (in vitro): + (直) + (±S9) Dose: 備考: CHL細胞(直: 50 ug/ml; ±S9: 100 ug/ml) (石館, 1987) MN: - 備考: 20, 400, 800 mg/kg (ICRマウス) -; In vivo 染色体異常試験 - (住友化学, 1982) その他: 体細胞突然変異試験(V79細胞) - ; DLT -, SCE - CAR: - TEG: -
---	--

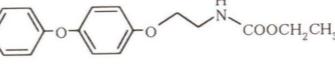
37. Fenoxaprop-ethyl

Cas.No.: 66441-23-4 文献No.: 17, S17-S23 (1992)

種類: 除草剤 商品名: 分子量: 361.8 分配係数:  ethyl 2-(4-(6-chloro-2-benzoxazolyl oxy)-phenoxy)-propanoate	Rec: ? 抗菌性: ? Dose: Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: 4000~5000 ug/plate 備考: (ヘキスト, 1982) CA (in vitro): - (直) - (±S9) Dose: 1~1000 ug/ml 備考: Human lymphocytes (Institute di Ricerche Biomediche, 1982) MN: - 備考: 18, 180, 1800 mg/kg x2 (NMRマウス)(ヘキスト, 1984) その他: UDS - (Institute di Ricerche Biomediche, 1982) CAR: - TEG: -
---	---

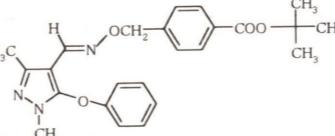
38. Fenoxy carb

Cas.No.: 79127-80-3 文献No.: 16, 709-712 (1991)

種類: 殺虫剤 商品名: インセガー 分子量: 301.34 分配係数: 4.30(logP)  (E)-2-(4-(2-methoxyethyl)phenoxy)butane	Rec: - 抗菌性: - Dose: 0~10000 ug/disk Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: 313, 625, 1250, 2500, 5000 ug/plate 備考: (化検協, 1988) CA (in vitro): - (直) - (±S9) Dose: -S9: 0.4, 2.0, 4.0 ug/ml; +S9: 0, 1.0, 5.0, 10.0 ug/ml 備考: Human lymphocytes (チューリッヒ大学およびエフ・ホフマン・ラ・ロッシュ, 1982) MN: ? 備考: その他: CAR: - TEG: -
--	---

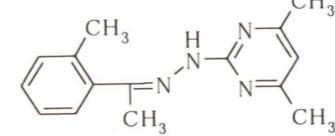
39. Fenpyroximate

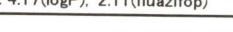
Cas.No.: 134098-61-6 文献No.: 17, S261-S267 (1992)

種類: 殺ダニ剤 商品名: ダニトロン 分子量: 421.5 分配係数: 5.01(logP, 20°C)  (E)-2-(4-(2-methoxyethyl)phenoxy)-4-(tert-butyl)-5-(phenoxypyrazol-4-ylmethyleneamino)-1-p-toluate	Rec: - 抗菌性: - Dose: 10~500 ug/disk Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: 50~5000 ug/plate 備考: (Life Science Research, 1989) CA (in vitro): - (直) - (±S9) Dose: 1.25~20 ug/ml 備考: Human lymphocytes (Life Science Reserch, 1989) MN: - 備考: 80, 400, 2000mg/kg x 1 (CD-1マウス), 2000ppmで骨髄増殖抑制 (LSR, 1989) その他: 体細胞突然変異(V79) -, UDS - CAR: - TEG: -
---	--

40. Ferimzone

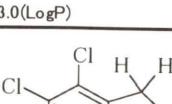
Cas.No.: 89269-64-7 文献No.: 19, S151-S157 (1994)

種類: 殺菌剤 商品名: 分子量: 254.34 分配係数: 2.89(logP):25°C  (Z)-2'-Methylacetophenone 4,6-dimethylpyrimidin-2-ylhydrazone	Rec: - (-S9) 抗菌性: ? Dose: 0~1000ug/disk Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: 0, 50, 100, 500, 1000, 2000, 5000 ug/plate 備考: TA100, TA98, TA1535, TA1537 (残農研, 1986) CA (in vitro): - (直) - (±S9) Dose: -S9: ~200 ug/ml (24hr), ~50 ug/ml (48hr), +S9: ~200 ug/ml 備考: CHL細胞 (化検協, 1987) MN: ? 備考: その他: CAR: - TEG: -
---	---

41. Fluazifop-butyl		Cas.No.: 69806-50-4 文献No.: 15, 305-310 (1990)
種類: 除草剤 商品名: Onecide 分子量: 383 分配係数: 4.17(logP), 2.11(fluazifop)	Rec : — (\pm S9) Dose : Ames : — (-S9) — (+S9) Dose : 備考: (Institute of Environmental Toxicology, 1982)	抗菌性: ?
	CA (in vitro): ? (直) ? (\pm S9) Dose: 備考:	
Butyl (RS)-2-[4-(5-trifluoromethyl-pyridyloxy)propionate	MN: ? 備考: In vivo 染色体異常試験で+ (Inveresk Research International, 1980)	
	その他: DLT — (Inveresk Research International, 1980)	
	CAR: —	TEG: +? (ラット, ウサギ)

42. Flutolanil		Cas.No.: 66332-96-5 文献No.: 13, 153-156 (1988)
種類: 殺菌剤 商品名: 分子量: 323.3 分配係数: 3.7(logP)	Rec : — Dose : 20 ~ 10000 ug/disk Ames : — (-S9) — (+S9) Dose : 10~25000 ug/plate 備考: (殘農研, 1980)	抗菌性: —
	CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:	
a,a,a-trifluoro-3'-isopropoxy-O-toluanilide	MN: ? 備考:	
	その他: CAR: —	TEG: ?

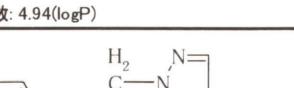
43. Fluvalinate	Cas.No.:	文献No.: 15, 121-124 (1990)
種類: 殺虫・殺ダニ剤 商品名: 分子量: 502.9 分配係数: 5.52(logP)	Rec : — Dose : 100~10000 ug/disk Ames : — (-S9) — (+S9) Dose : 10~5000 ug/plate 備考: (残農研, 1984)	抗菌性: —
	CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: 3.3E-6M ~ 3.3E-4M 備考: CHL細胞 (残農研, 1985)	
(RS)-a-cyano-3-phenoxybenzyl N-(2-chloro-a,a,a-trifluoro-p-tolyl)-D-valinate	MN: ? 備考:	
	その他:	
	CAR: —	TEG: —

44. Fthalide		Cas.No.: 27355-22-2 文献No.: 15, 311-314 (1990)
種類: 殺菌剤 商品名: ラブサイド 分子量: 271.92 分配係数: 3.0(LogP)	Rec : — Dose : 2~200 ug/disk Ames : — (-S9) — (+S9) Dose : 10~1000 ug/plate 備考: (残農研, 1976)	抗菌性: —
 4,5,6-トリクロロ-1,2-ジヒドロ-2,2-ジメチル-3H-フuran-3-オニン	CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: -S9 3.3E-4 ~ 2.0E-5M, +S9 3.3E-3 ~ 8.0E-5M 備考: CHL細胞 (残農研, 1988)	
	MN: ? 備考:	
	その他: HMA - (残農研, 1976)	
	CAR: —	TEG: —

45. Glyphosate—trimesium	Cas.No.: 81591-81-3 文献No.: 15, 629-633 (1990)
種類: 非選択性除草剤 商品名: タッチダウン 分子量: 245.216 分配係数: 2.6E-5(Kow)	<p>Rec : — 抗菌性: — Dose : 10~5000 ug/disk</p> <p>Ames : — (-S9) — (+S9) Dose : 1.6~5000 ug/plate 備考: (ICI, 1988)</p>
$\text{HOOCCH}_2\text{NHCH}_2\overset{\substack{\text{O} \\ \\ \text{O}}}{\text{P}}\text{---}\overset{\substack{\text{O} \\ \\ \text{OH}}}{\text{O}}\text{---S(CH}_3)_3$	<p>CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考: <i>in vivo</i>染色体異常試験で— (ストウファー・ケミカル・カンパニー, 1982)</p>
trimethylsulfonium N— (phosphonomethyl)glycinate	<p>MN: — 備考: CD-1 マウス、雄: 700, 900, 1100、雌: 400, 600, 800 mg/kg(X1) p.o. (ストウファー, 1986)</p> <p>その他: MLA(ICI 1988) —、形質転換試験 — (ストウファー・ケミカル・カンパニー, 1982)</p> <p>CAR: — TEG: —</p>

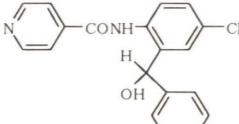
46. Imazapyr		Cas.No.: 81510-83-0 文献No.: 22, 360-364 (1997)
種類: 除草剤 商品名: ARSENAL、CHOPPER 分子量: 320.4 分配係数: 1.3 as the acid tech	Rec : — Dose : 270~26600 μg/disk Ames : — (-S9) — (+S9) Dose : ~5000 ug/plate 備考: (秦野研, 1982)	抗菌性: —
	CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: 50, 170, 500, 1700 μg/ml (-S9: 3, 8, 12hr; +S9: 2-1, 2-6, 2-10 hr) 備考: CHO細胞 (Hazleton Laboratories America, 1984)	
(RS)-2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl)nicotinate	MN: ? 備考:	
	その他: CAR: ?	TEG: —

47. Imazosulfuron		Cas.No.: 122548-33-8 文献No.: 20, 381-386 (1995)
種類: 除草剤 商品名: 分子量: 412.83 分配係数: 0.05(logP)	Rec : - (±S9) Dose : 600ug/disk(孢子法)	抗菌性: -
	Ames : - (-S9) - (+S9) Dose : 0, 313, 625, 1250, 2500, 5000 ug/plate 備考: TA100, TA98, TA1535, TA1537 (化検協, 1988)	
	CA (in vitro): - (直) - (±S9) Dose: ~500 ug/ml 備考: CHL細胞, 直接法±(500 ug/ml)だが、再試験で-); ±S9で-(500 ug/ml, 細胞毒性なし) (化検協, 1988)	
	MN: - 備考: その他: CAR: - TEG: -	

48. Imibenconazole	Cas.No.: 86598-92-7 文献No.: 20, 373-379 (1995)	
	種類: 果樹園芸用殺菌剤 商品名: マネージ 分子量: 411.7 分配係数: 4.94(logP)	Rec : — (±S9) 抗菌性: — Dose : ~5000 ug/ml (胞子法) Ames : — (-S9) — (+S9) Dose : 312.5~5000 ug/plate 備考: (HRC, 1988)
	 <p>4-Chlorobenzyl N-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)-thioacetimidate</p>	CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: -S9: 0.3~24 ug/ml, +S9: 0.5~50 ug/ml 備考: CHO-K1-BH4細胞 (HRC, 1988)
		MN: — 備考: BDF1 マウス, 1250, 2500, 5000 mg/kg X1, p.o. (残農研, 1991)
		その他: CAR: — TEC:

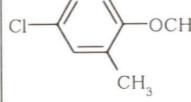
49. Inabenfide

Cas.No.: 82211-24-3 文献No.: 13,391-394 (1988)

種類: 植物成長調整剤 商品名: セリタード(SERITARD) 分子量: 338.79 分配係数: 1345(Kow)	Rec: — 抗菌性: ? Ames: — (-S9) — (+S9) Dose: ~10000 ug/plate 備考: (残農研, 1982)
	CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: -S9: ~200 ug/ml, +S9: ~100 ug/ml 備考: DON細胞 (中外製薬, 1985, 1986)
4'-chloro-2'-(a-hydroxybenzyl)isonicotinilide	MN: ? 備考: その他: CAR: ? TEG: —

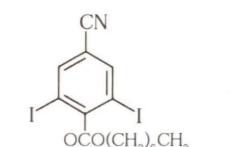
53. MCPB ethyl

Cas.No.: 94-81-5 文献No.: 17, S39-S43 (1992)

種類: 除草剤, 落果防止剤 商品名: 分子量: 256.5 分配係数: 4.26(logP)	Rec: — 抗菌性: ? Ames: — (-S9) — (+S9) Dose: 0~100 ug/disk 備考: (残農研, 1976)
	CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: 0, 2, 10, 20 ug/ml 備考: CHO-K1-BH4細胞 (HRC, 1986)
Ethyl-4-(2-methyl-4-chlorophenoxy)-butylate	MN: ? 備考: その他: HMA — (残農研, 1976) CAR: — TEG: —

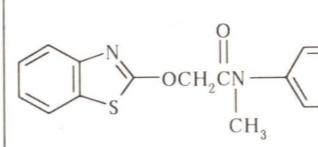
50. Ioxynil(Japan)

Cas.No.: 3861-47-0 文献No.: 16, 349-353 (1991)

種類: 除草剤 商品名: アクチノール 分子量: 497.13 分配係数: 4.5(logP)	Rec: — 抗菌性: ? Ames: — (-S9) — (+S9) Dose: ~2000 ug/disk 備考: 残農研(1976)
	CA (in vitro): — (直) ± (±S9) Dose: -S9 ~60uM, +S9 ~1000 uM 備考: +S9: 倍数体 ± (1000 uM), 構造異常 ± (250 uM)、濃度依存性なし (環境保健生物研究センター, 1987)
3,5-diido-4-octanoyloxybenzonitrile	MN: — 備考: ICRマウス; 50~200mg/kg, i.p. × 1(72hr); 12.5~50mg/kg, i.p. × 4(24hr) (環境保健生物セ, 1988) その他: HMA — (残農研, 1976) CAR: — TEG: —

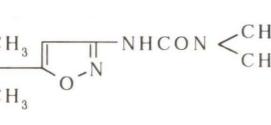
54. Mefenacet

Cas.No.: 73250-68-7 文献No.: 13, 633-637 (1988)

種類: 水田用除草剤 商品名: 分子量: 298.36 分配係数:	Rec: — 抗菌性: — Ames: — (-S9) — (+S9) Dose: 10~5000 ug/plate 備考: S9: (arochlor 1254mg/kg X1回投与ラット肝) (残農研, 1981)
	CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:
2-benzothiazol-2-yloxy-N-methylacetanilide	MN: — 備考: NMRIマウス(10000 mg/kg × 1) p.o. (西ドイツバイエル社, 1983) その他: DLT (経口1回) — (西ドイツバイエル社, 1984) CAR: ? TEG: —

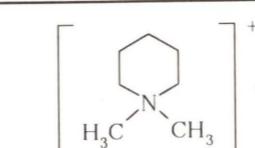
51. Isouron

Cas.No.: 55861-78-4 文献No.: 11, 131-135 (1986)

種類: 除草剤 商品名: 分子量: 211.26 分配係数:	Rec: — 抗菌性: — Dose: 0~2000 ug/disk
	Ames: — (-S9) — (+S9) Dose: 0~5000 ug/plate 備考: (残農研, 1978)
3-(5-tert-butyl-3-isoxazolyl)-1,1-dimethylurea	CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:
	MN: ? 備考: その他: HMA — CAR: — TEG: —

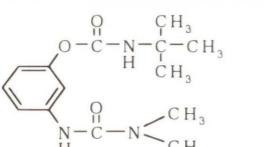
55. Mepiquat-chloride

Cas.No.: 24307-26-4 文献No.: 17, S269-S274 (1992)

種類: 植物成長調整剤 商品名: PIX, FRASTAR LC 分子量: 149.7 分配係数: 2.83(logP)	Rec: — (-S9) 抗菌性: — Ames: — (-S9) — (+S9) Dose: 1242~39740 ug/plate 備考: TA100, TA98, TA1535, TA1537 (日本曹達, 1989)
	CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: 2000, 3000, 4000, 5000 ug/ml 備考: CHO細胞 (Hazleton Biotechnologies, 1987)
1,1-Dimethylpiperidinium chloride	MN: ? 備考: その他: UDS — ; DLT — CAR: — TEG: —

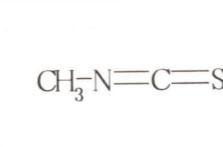
52. Karbutilate

Cas.No.: 4849-32-5 文献No.: 11, 307-309 (1986)

種類: 非農耕地用除草剤 商品名: 分子量: 279.34 分配係数:	Rec: — 抗菌性: — Dose: 0.1, 1, 2, 5 mg/disk
	Ames: — (-S9) — (+S9) Dose: 10~5000 ug/plate 備考: (秦野研, 1981)
3-(3,3-Dimethylureido)phenyl tert-butylcarbamate	CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:
	MN: ? 備考: その他: CAR: ? TEG: ?

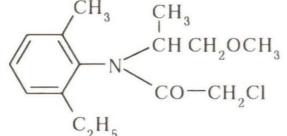
56. Methyl Isothiocyanate

Cas.No.: 556-61-6 文献No.: 15, 297-304 (1990)

種類: 土壌消毒剤 商品名: Ditrapex, Trapexide 分子量: 73.12 分配係数: 10.5(Kow)	Rec: — 抗菌性: ? Ames: — (-S9) — (+S9) Dose: 備考: (Institute of Environmental Toxicology, 1978)
	CA (in vitro): + (直) + (±S9) Dose: -S9: 0.1, 0.5, 1 ug/ml, +S9: 0.25, 0.75, 2.5 ug/ml 備考: V79細胞で— (Technische Hochschule Darmstadt, 1984), Human lymphocyteで— (Cytotest Cell Research GmbH & Co., 1988)
Methyl isothiocyanate	MN: — 備考: CD-1マウス(110 mg/kg, p.o.) (HRC, 1985) その他: HGPRT —, UDS試験 —, SCE — CAR: — TEG: —

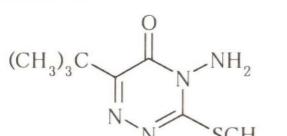
57. Metolachlor

Cas.No.: 51218-45-2 文献No.: 14, 103-107 (1989)

種類: 畑作用選択性除草剤 商品名: ゲザトップD水和剤 分子量: 283.8 分配係数: 3.45(logP)	Rec: 一 抗菌性: ? Dose: 0~5000ug/disk Ames: 一 (-S9) - (+S9) Dose: ~5000 ug/plate 備考: (野村生物科学研究所, 1986)
	CA (in vitro): (+) (直) - (±S9) Dose: -S9: ~1.2 mM(6hr), ~0.6mM (24hr), ~0.3mM (48hr), +S9: ~ 2.4 mM (6hr) 備考: CHL細胞 (野村生物科学研究所, 1986)
2-chloro-2'-ethyl-N-(2-methoxy-1-methylethyl)-6'-methylacetanilide	MN: 一 備考: チヤニース・ハムスター, 1250, 2500, 5000 mg/kg X 2, p.o. (チバガイキースイス, 1984)
	その他: DNA修復試験 (ヒト腺維芽細胞) -, DLT - (チバガイキースイス, 1984)
CAR: -	TEG: -

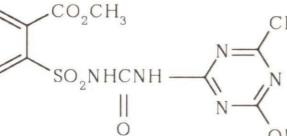
58. Metribuzin

Cas.No.: 21087-64-9 文献No.: 12, 127-129 (1987)

種類: 畑作用除草剤 商品名: センコル 分子量: 214.3 分配係数:	Rec: 一 抗菌性: -? Dose: 20~2000 ug/disk Ames: 一 (-S9) - (+S9) Dose: 10~5000 ug/plate 備考: (残農研, 1978)
	CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:
4-amino-6-tert-butyl-3-methylthio-1,2,4-triazin-5(4H)-one	MN: ? 備考:
	その他:
CAR: ?	TEG: -

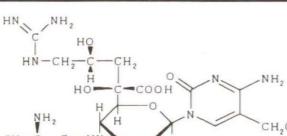
59. Metsulfuronmethyl

Cas.No.: 74223-64-6 文献No.: 19, S147-S150 (1994)

種類: 除草剤 商品名: デュポンサーべルDF 分子量: 381.4 分配係数: -1.745(logP); pH7	Rec: 一 抗菌性: ? Dose: 100~4000ug/disk Ames: 一 (-S9) - (+S9) Dose: サルモネラ(-S9) 0.078~20 ug/plate; (+S9) 0.313~40 ug/plate, 大腸菌 313~5000 ug/plate 備考: TA100, TA98, TA1535, TA1537 (残農研, 1991)
	CA (in vitro): + (直) + (±S9) Dose: 0.13~7.90 mM 備考: CHO細胞, 細胞毒性の認められた濃度で+ (デュポン・ハスケル研究所 1983).
Methyl 2-[3-(4-methoxy-6-methyl-1,3,5-triazin-2-yl)ureidosulfonyl] benzoate	MN: ? 備考: In vivo染色体異常試験で-, 500~5000 mg/kg x 1, p.o. (ヘーゼルトン, 1983)
	その他:
CAR: ?	TEG: -

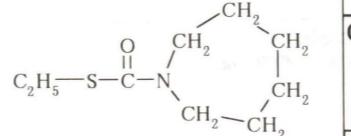
60. Mildiomycin

Cas.No.: 67527-71-3 文献No.: 19, S135-S140 (1994)

種類: 非食用作物用殺菌剤 商品名: 分子量: 514.5 分配係数:	Rec: 一 (-S9) 抗菌性: -? Dose: 20~2000ug/disk Ames: 一 (-S9) - (+S9) Dose: 5, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000 ug/plate 備考: (残農研, 1980)
	CA (in vitro): + (直) + (±S9) Dose: 備考: CHL細胞, 直接法: 377 ug/ml (24hr)+, 代謝活性化法: 283 ug/ml +, 566 ug/ml ± (化検協, 1989)
(2R,4R)-2-[(2R,5S,6S)-2-(4-amino-1,2-dihydro-5-hydroxymethyl-2-oxopyrimidin-1-yl)-5,6-dihydro-5-L-serylamino-2H-pyran-6-yl]-5-guanidino-2,4-dihydroxyvaleric acid	MN: ? 備考:
	その他:
CAR: ?	TEG: -

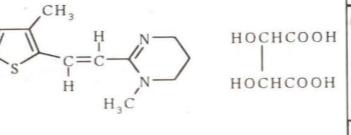
61. Molinate

Cas.No.: 2212-67-1 文献No.: 15, 113-115 (1990)

種類: 除草剤 商品名: 分子量: 187.3 分配係数: 2.88(logP)	Rec: 一 抗菌性: - Dose: 200~20000ug/disk Ames: 一 (-S9) - (+S9) Dose: 10~3000 ug/plate 備考: (残農研, 1977)
	CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:
	MN: ? 備考:
	その他:
CAR: -	TEG: -

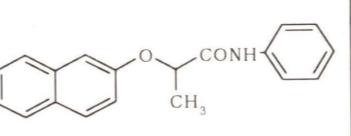
62. Moranter tetratrate

Cas.No.: 26155-31-7 文献No.: 17, S323-S325 (1992)

種類: 殺線虫剤 商品名: グリーンガード, ガード・エイト グリーン 分子量: 370.43 分配係数:	Rec: 一 抗菌性: ? Dose: 50~20000ug/disk Ames: 一 (-S9) - (+S9) Dose: 50~20000 ug/plate 備考: (横浜市立大学, 1982)
	CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:
	MN: ? 備考:
	その他:
CAR: ?	TEG: -

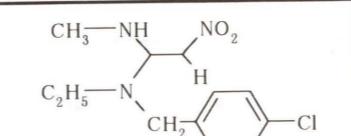
63. Naproanilide

Cas.No.: 7784-40-9 文献No.: 12, 563-566 (1987)

種類: 水田用除草剤 商品名: 分子量: 291.3 分配係数:	Rec: 一 抗菌性: - Dose: ~20mg/disk Ames: 一 (-S9) - (+S9) Dose: ~500 ug/plate 備考: 残農研(1976)
	CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:
a-(B-naphthoxy)propionanilide	MN: ? 備考:
	その他: HMA - (残農研, 1976)
CAR: ?	TEG: -

64. Nitenpyram

Cas.No.: 120738-89-8 文献No.: 23, 73-77 (1998)

種類: 殺虫剤 商品名: 分子量: 270.7 分配係数: -0.64 (logP, 25°C)	Rec: 一 抗菌性: - Dose: 0~10000 ug/disk Ames: 一 (-S9) - (+S9) Dose: 313, 625, 1250, 2500, 5000 ug/plate 備考: (化検協, 1990)
	CA (in vitro): - (直) - (±S9) Dose: 675, 1350, 2700 ug/ml 備考: CHL細胞 (化検協, 1990)
(E)-N-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-ethyl-N'-methyl-2-nitrovinylidenediamide	MN: ? 備考:
	その他:
CAR: -	TEG: -

65. Oxadixyl

Cas.No.: 77732-09-3 文献No.: 13, 639-643 (1988)

種類: 殺菌剤 商品名: サンドファン 分子量: 278.3 分配係数:	Rec: (+) 抗菌性: (+) 312.5 ug/disk (M45) Dose: 156.25~10000 ug/disk
Ames: (+)(-S9) - (+S9) Dose: 156.25, 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 ug/plate 備考: TA1537 + (化検協 1985), - (スイス・サンド社, 1979)	
CA (in vitro): - (直) - (±S9) Dose: -S9: (1250 ~ 2500 ug/ml), +S9: (250 ~ 2000 ug/ml) 備考: CHO細胞 (Hazleton Biotechnologies Co., 1985)	
MN: - 備考: CD-1マウス: 雄 29.06, 232.5 mg/kg, 雌 19.53, 156.2 X 2 (リットン・バイオネティックス, 1981)	
その他: UDS - (リットン・バイオネティックス, 1981) CAR: - TEG: -	

66. Oxydeprophos

Cas.No.: 2674-91-1 文献No.: 17, S309-S313 (1992)

種類: 殺虫剤 商品名: エストックス乳剤 分子量: 260.3 分配係数: -0.43(logP)	Rec: (+)(3mm) 抗菌性: - Dose: 1~50%水溶液 (0.02 ml)
Ames: (+)(-S9) (+)(+S9) Dose: 10~5000, 1000~40000 ug/plate 備考: E. coli, TA100(5000 ug/plate以上)で+ (残農研, 1978)	
CA (in vitro): + (直) + (±S9) Dose: -S9: 500~2000 ug/ml(24hr), 250~1000 ug/ml(48hr), +S9: 650~2600 ug/ml 備考: CHL細胞, 直: 1000~2000 (24hr), 1000 ug/ml(48hr); +S9: 2600ug/mlで構造異常+ (化検協, 1989)	
MN: ? 備考: その他: CAR: - TEG: -	

67. Oxytetracycline

Cas.No.: 79-57-2 文献No.: 17, S255-S259 (1992)

種類: 殺菌剤 商品名: マイコシールド 分子量: 694.26, 500 分配係数:	Rec: - 抗菌性: + Dose: 2~2000 ug/disk
Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: 0.05~100 ug/plate 備考: (残農研, 1978)	
CA (in vitro): - (直) - (±S9) Dose: -S9: 3.75~60 ug/ml; +S9: 7.81~125 ug/ml 備考: V79細胞 (ファイザー製薬, 1988)	
MN: ? 備考: その他: CAR: - TEG: -	

68. Paraquat

Cas.No.: 1910-42-5 文献No.: 13, 157-162 (1988)

種類: 非選択性除草剤 商品名: パラコート 分子量: 257 分配係数: 非極性溶媒に不溶	Rec: - 抗菌性: ? Dose: 20~500ug/disk
Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: 0.5~500 ug/plate 備考: (Institute of Environmental Toxicology)	
CA (in vitro): + (直) ? (±S9) Dose: 備考: Don細胞 + (-S9: 770ug/ml) (石館, 1988)、CHL細胞 + (-S9: 25 ug/ml, 48hr) (石館, 1987)	
MN: ? 備考: その他: HMA - (Institute of Environmental Toxicology) CAR: - TEG: -	

69. Pefurazoate

Cas.No.: 101903-30-4 文献No.: 16, 703-707 (1991)

種類: 稲種粉消毒剤 商品名: ヘルシード水和剤 分子量: 345.4 分配係数: 3.00(logP)	Rec: - 抗菌性: - Dose: 78~10000 ug/disk
Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: 78, 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 ug/plate 備考: TA100, TA98, TA1535, TA1537 (安科研, 1988)	
CA (in vitro): - (直) - (±S9) Dose: -S9: (1250 ~ 2500 ug/ml), +S9: (250 ~ 2000 ug/ml) 備考: CHL細胞 (三菱化成安科研, 1988), in vivo(SD)も行ない- (HRC 1988)	
MN: - 備考: ICRマウス 171, 342, 683 mg/kg, および 342 mg/kg X 4 (三菱化成安科研, 1988) その他: CAR: ? TEG: -	

70. Pencycuron

Cas.No.: 66063-05-6 文献No.: 13, 163-166 (1988)

種類: 殺菌剤 商品名: モンセラン 分子量: 328.84 分配係数: 4.82(logP)	Rec: - 抗菌性: - Dose: 20~500ug/disk
Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: 10~5000 ug/plate 備考: (残農研, 1981)	
CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:	
MN: - 備考: NMRIマウス 1000, 2000 mg/kg X 2 (ハイエル, 1981) その他: DLT - (ハイエル, 1982) CAR: - TEG: -	

71. Pendimethalin

Cas.No.: 40487-42-1 文献No.: 11, 663-665 (1986)

種類: 除草剤 商品名: 分子量: 281.3 分配係数:	Rec: - 抗菌性: - Dose: ~2mg/disk
Ames: (+)(-S9) - (+S9) Dose: 備考: 高濃度でのみコロニー数の増加 (残農研, 1976)	
CA (in vitro): - (直) ? (±S9) Dose: 0.1~30 ug/ml 備考: Don細胞 (残農研, 1977)	
MN: - 備考: 300, 1000 mg/kg X 1, p.o.; 100, 300 mg/kg X 5, p.o. (残農研, 1977) その他: DLT - CAR: ? TEG: -	

72. Piperophos

Cas.No.: 24151-93-7 文献No.: 16, 713-717 (1991)

種類: 水田用除草剤 商品名: 分子量: 分配係数:	Rec: - 抗菌性: - Dose: ~20000 ug/disk
Ames: - (-S9) - (+S9) Dose: ~5000ug/plate 備考: (残農研, 1978)	
CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:	
MN: ? 備考: その他: HMAを行い - (スタンフォードリサーチ インスティチュート, 1975) CAR: - TEG: -	

73. Polynactin complex

Cas.No.: 39285-04-6 文献No.: 15, 623-628 (1990)

種類: 殺ダニ剤 商品名: マイトサイジンB乳剤、トルビラン乳剤 分子量: 分配係数:	Rec : — 抗菌性: ? Dose: ~1000 ug/disk
Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: 1, 10, 50, 100, 500, 5000 ug/plate 備考: (スタンフォード研究所, 1977)	
CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: -S9: ~3.13 ug/ml, +S9: ~1.56 ug/ml 備考: CHL/IU細胞 (中外製薬, 1989)	
MN: ? 備考:	
その他: HMA — (残農研, 1977) CAR: — TEG: —	

74. Pretilachlor

Cas.No.: 51218-49-6 文献No.: 11, 139-142 (1986)

種類: 水田用除草剤 商品名: 分子量: 311.85 分配係数:	Rec : — 抗菌性: — Dose: ~20mg/disk
Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: ~5 mg/plate 備考: (残農研, 1980)	
CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:	
MN: — 備考: マウス 500, 1000, 2000 mg/kg, p.o. (野村生物科学研究所, 1985) その他: CAR: — TEG: —	

75. Prodiameine

Cas.No.: 29091-21-2 文献No.: 19, S141-S145 (1994)

種類: 除草剤 商品名: Kusablock 分子量: 350.3 分配係数:	Rec : — (±S9) 抗菌性: ? Dose: ~4400 ug/disk
Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: サルモネラ ~10000 ug/plate; 大腸菌 ~5000 ug/plate 備考: (Microbiological Associates Inc., 1985; BML Inc, 1990)	
CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: 4, 8, 15, 30, 60 ug/ml 備考: CHO細胞 (Microbiological Associates Inc., 1985)	
MN: ? 備考: その他: UDS — (Microbiological Associates Inc., 1985) CAR: ? TEG: —	

76. Product of aspergillus

Cas.No.: なし 文献No.: 18, S99-S100 (1993)

種類: 抗植物ウイルス剤 商品名: アグリガード水溶剤 分子量: 分配係数: 有機溶媒に不溶 構造式なし	Rec : — 抗菌性: — Dose: ~2000 ug/disk
Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: 10, 50, 100, 500, 1000, 5000, 10000 ug/ml 備考: ヒスピシンの混在のため、サルモネラ TM677株 (ストレプトマイシン依存性) 使用 (残農研 1984)	
CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:	
MN: ? 備考: その他: CAR: ? TEG: ?	

77. Profenofos

Cas.No.: 41198-08-7 文献No.: 12, 781-784 (1987)

種類: 殺虫剤 商品名: 分子量: 373.63 分配係数: 4.75(logP)	Rec : — 抗菌性: — Dose: ~25000 ug/disk
Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: ~5000 ug/plate 備考: (野村総合研究所, 1979)	
CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:	
MN: ? 備考: その他: DLT — (チバガイキースイス, 1974)	
CAR: — TEG: —	

78. Propaphos

Cas.No.: 7292-16-2 文献No.: 14, 511-515 (1989)

種類: 殺虫剤 商品名: カヤオス粉剤, カヤオス粒剤 分子量: 304.3 分配係数: 3.67(logP)	Rec : — 抗菌性: — Dose: 1, 5, 10, 25, 50, 100 ug/ml
Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: 0, 10, 100, 1000 ug/plate 備考: (残農研, 1976)	
CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: -S9: 2.4, 12, 24 ug/ml; +S9: 10, 50, 100 ug/ml 備考: CHO-K1-BH4細胞 (HRC, 1986)	
MN: ? 備考: その他: HMAを行い—(残農研 1976)	
CAR: — TEG: —	

79. Prothiofos

Cas.No.: 34643-46-4 文献No.: 15, 641-645 (1990)

種類: 殺虫剤 商品名: 分子量: 345.24 分配係数: 4.92(logP)	Rec : — 抗菌性: — Dose: 1~100% v/v
Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: 10~5000 ug/plate 備考: (残農研, 1978)	
CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: -S9: 100 ~ 500 ug/ml; +S9: 30 ~ 300 ug/ml 備考: Human lymphocytes (-S9, 500 ug/ml 細胞毒性) (バイエル・西ドイツ, 1988)	
MN: ? 備考: その他: DLT —	
CAR: — TEG: —	

80. Pyraclofos

Cas.No.: 77458-01-6 文献No.: 15, 635-640 (1990)

種類: 殺虫剤 商品名: 分子量: 360.8 分配係数: 3.77(logP)	Rec : — 抗菌性: ? Dose: 500~20000 ug/disk
Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: 50, 100, 500, 1000, 2000, 5000 ug/plate 備考: TA100, TA98, TA1535, TA1537 (残農研, 1986)	
CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: 3.3 E-6 ~ 3.3 E-4 M 備考: CHL細胞 +S9: 12, 18hr; -S9: 24, 48hr (残農研, 1987)	
MN: ? 備考: その他:	
CAR: — TEG: —	

81. Pyrazoxyfen

Cas.No.: 71561-11-0 文献No.: 13, 167-169 (1988)

種類: 水田用除草剤 商品名: 分子量: 403.27 分配係数: 3.69(logP)	Rec : — 抗菌性: — Dose: 50~5000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: 10~10000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 備考: (残農研, 1984)
	CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:
MN: ? 備考:	
その他: CAR: —	TEG: —

82. Pyributicarb

Cas.No.: 88678-67-5 文献No.: 15, 503-506 (1990)

種類: 水田用除草剤 商品名: オリザガード(+プロモブチド) 分子量: 330.44 分配係数: 5.18(logP)	Rec : — (+S9) 抗菌性: — Dose: 100~5000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: 10, 100, 500, 1000, 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 備考: (残農研, 1985)
	CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: 3.3 E-7 (24, 48hr)~1 E-4 M (9, 18hr) 備考: CHL細胞 (残農研, 1986)
MN: ? 備考:	
その他: CAR: —	TEG: —

83. Pyridaben

Cas.No.: 96489-71-3 文献No.: 19, S243-S251 (1994)

種類: 殺虫剤・殺ダニ剤 商品名: Sanmite 分子量: 364.9 分配係数: 6.37(logP, 23°C)	Rec : — (-S9) 抗菌性: ? Dose: Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: 備考: TA100, TA98, TA1535, TA1537 (Life Science Research, 1988)
	CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: 備考: CHL細胞 (日産化学, 1988)
MN: — 備考: (日産化学, 1988)	
その他: 体細胞突然変異試験 — (Life Science Research, 1988)	
CAR: —	TEG: —

84. Pyrifenoxy

Cas.No.: 88283-41-4 文献No.: 16, 355-359 (1991)

種類: 殺菌剤 商品名: ポジグロール 分子量: 265.17 分配係数: 2.51(logP)	Rec : — 抗菌性: ? Dose: ~1000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: 31.25, 62.5, 125, 250, 500, 1000, 2000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 備考: TA1535, TA1537, TA100, TA98, 大腸菌 (日本ロシュ研究所, 1987)
	CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: -S9: 12, 60, 120 $\mu\text{g}/\text{ml}$, +S9: 10.5, 52.5, 105 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 備考: Human lymphocytes、キヤップを含めると僅かに増加 (HRC, 1983)
MN: ? 備考:	
その他: CAR: —	TEG: —

85. Pyroquilon

Cas.No.: 57369-32-1 文献No.: 11, 659-661 (1986)

種類: 水田用殺菌剤 商品名: 分子量: 173.22 分配係数: オクタール 70g/l(20°C)	Rec : — 抗菌性: — Dose: ~2000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: ~10000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 備考: (残農研, 1982)
	CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:
MN: ? 備考:	
その他: CAR: —	TEG: —

86. Quinalphos

Cas.No.: 13593-03-8 文献No.: 16, 337-342 (1991)

種類: 殺虫剤 商品名: エカラック Ekalux 分子量: 298.3 分配係数:	Rec : — 抗菌性: — Dose: 0, 500, 1000, 5000, 10000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: 5, 10, 50, 100, 500, 1000, 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 備考: (Biosafety Research Center, Food, Drugs, and Pesticides, 1981 : HRC, 1980)
	CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考: in vivo染色体異常試験, — (HRC, 1980)
MN: — 備考: ICRマウス 0, 2.5, 8, 25 mg/kg × 2 (Sandoz Ltd., 1979)	
その他: CAR: —	TEG: —

87. Quinclorac

Cas.No.: 84087-01-4 文献No.: 15, 647-651 (1990)

種類: 除草剤 商品名: FACET WP 分子量: 242.1 分配係数: -1.164(pH 22°C):logP	Rec : — (-S9) 抗菌性: -S9(10000 $\mu\text{g}/\text{plate}$) + Dose: 1~10000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: 20~5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 備考: TA100, TA98, TA1535, TA1537 (BASF, 1988)
	CA (in vitro): + (直) + (±S9) Dose: -S9: 250, 500, 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$; +S9: 500, 1000, 2000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 備考: Human lymphocytes (細胞毒性あり) (BASF, 1986), in vivo染色体異常試験 (Chinese hamster) で — (~8000 mg/kg) (BASF, 1988)
MN: — 備考: NMRI マウス 500, 1000, 2000 mg/kg × 1 (0.5% CMC) (BASF, 1986)	
その他: CAR: —	TEG: —

88. Quinoclamin

Cas.No.: 2797-51-5 文献No.: 18, S19-S24 (1993)

種類: 除草剤 商品名: Mogeton 分子量: 207.62 分配係数: 1.53(logP)	Rec : — 抗菌性: ? Dose: 0.1~20 $\mu\text{g}/\text{disk}$ Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: 0.1~500 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 備考: Institute of Environmental Toxicology (1978)
	CA (in vitro): — (直) + (±S9) Dose: -S9: 1.125~9 $\mu\text{g}/\text{ml}$; +S9: 2.25~18 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 備考: Human lymphocytes 2つのdonor由来の片方で + (9, 18 $\mu\text{g}/\text{ml}$, +S9) (Toxicol Laboratories Ltd. 1987)
MN: — 備考: LACA系マウス 125, 250, 500 mg/kg, ip (Tox. Lab. Ltd, 1987)	
その他: CAR: —	TEG: —

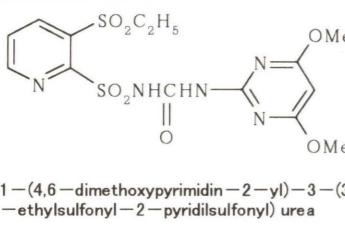
89. Rimsulfuron

Cas.No.:

文献No.: 22, 356-359 (1997)

種類: 除草剤
商品名: リムスルフロン

分子量: 431.4
分配係数: 0.0344(logP, 25°C, pH7)



1-(4,6-dimethoxypyrimidin-2-yl)-3-(3-ethylsulfonyl-2-pyridilsulfonyl) urea

Rec: - 抗菌性: -
Dose: 70~2220 μg/disk
Ames: - (-S9) - (+S9)
Dose: サルモネラ ~2000 ug/plate, 大腸菌 ~5000 ug/plate
備考: (残農研, 1994)

CA (in vitro): - (直) - (±S9)
Dose: 100~1300 μg/ml
備考: Human lymphocytes (米国デュポン社ハスクル研究所, 1989)

MN: ?

備考:

その他:

CAR: ?

TEG: -

90. Shiitake water

Cas.No.: 1078040-58-2 文献No.: 17, S275-S276 (1992)

種類: 抗ウイルス剤
商品名: レンテミン

分子量:
分配係数:

構造式なし

シイタケ菌糸体抽出液

Rec: - 抗菌性: -
Dose: ~1000 μg/disk

Ames: (+) (-S9) (+) (+S9)
Dose: 10, 50, 100, 500, 1000, 5000 ug/plate
備考: TA100 (5000 ug) 弱陽性 (ヒスチジンに関係なし), ブレインキューベーション法 - (残農研, 1979)

CA (in vitro): ? (直) ? (±S9)

Dose:

備考:

MN: ?

備考:

その他:

CAR: ?

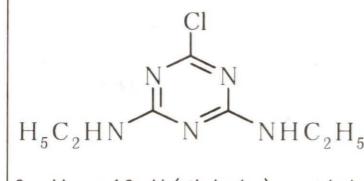
TEG: ?

91. Simazine

Cas.No.: 122-34-9 文献No.: 15, 315-318 (1990)

種類: 除草剤
商品名: シマジン

分子量: 201.66
分配係数: 1.96(logP)



2-chloro-4,6-bis(ethylamino)-s-triazine

Rec: - 抗菌性: ?
Dose: 100~10000 ug/well

Ames: - (-S9) - (+S9)
Dose: 50~10000 ug/plate
備考: (野村総合研究所, 1979)

CA (in vitro): - (直) - (±S9)

Dose: 6.25~100 μg/ml
備考: Human lymphocytes - (チバガイキ - スイス, 1988); CHL細胞 - (45 μg/ml) (石館, 1987)

MN: ?

備考:

その他: HMA - (スタンフォートリサーチ, 1977)

CAR: ?

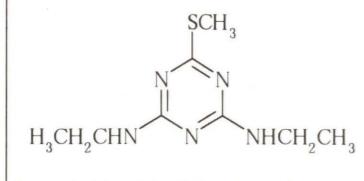
TEG: -

92. Simetryn

Cas.No.: 1014-70-6 文献No.: 17, S315-S318 (1992)

種類: 水田用除草剤
商品名: ギーポン

分子量: 213.3
分配係数: 2.60(logP)



2-methylthio-4,6-bis(ethylamino)-s-triazine

Rec: - 抗菌性: ?
Dose: 100~10000 ug/Well

Ames: - (-S9) - (+S9)
Dose: 50~5000 ug/plate
備考: (野村総合研究所, 1979)

CA (in vitro): - (直) ? (±S9)

Dose:
備考: CHL細胞 (-S9: 250 μg/ml) (石館, 1987)

MN: ?

備考: in vivo染色体異常試験で - (チバガイキ - スイス, 1981)

その他:

CAR: -

TEG: -

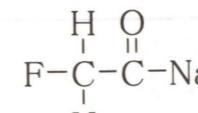
93. Sodium fluoroacetate

Cas.No.: 62-74-8

文献No.: 18, S157-S159 (1993)

種類: 殺鼠剤
商品名:

分子量: 100
分配係数:



Sodium Monofluoroacetate

Rec: ?
Dose:

抗菌性: ?

Ames: - (-S9) - (+S9)

Dose: 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 ug/plate
備考: TA100, TA98, TA1535, TA1537 (ブレインキューベーション法) (日本バイオリサーチセンター, 1988)

CA (in vitro): ? (直) ? (±S9)

Dose:

備考:

MN: ?

備考:

その他:

CAR: ?

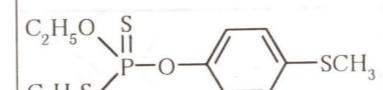
TEG: ?

94. Sulprofos

Cas.No.: 35400-43-2 文献No.: 12, 775-779 (1987)

種類: 殺虫剤
商品名:

分子量: 322.43
分配係数: 4.9(logP)



Rec: - 抗菌性: -
Dose: 1~100 % (DMSO) × 0.02 ml/disk

Ames: - (-S9) - (+S9)
Dose: 10~5000 ug/plate

備考: (残農研, 1980)

CA (in vitro): ? (直) ? (±S9)

Dose:

備考:

MN: ?

備考:

その他: DLT - (バイエル, 1975)

CAR: -

TEG: -

95. Tebufenpyrad

Cas.No.: 119168-77-3 文献No.: 20, 555-558 (1995)

種類: 殺ダニ剤
商品名:

分子量: 333.9
分配係数: 5.04(logP)



Rec: - 抗菌性: ?
Dose: 200~10000 ug/disk

Ames: - (-S9) - (+S9)
Dose: 50~5000 ug/plate

備考: (Life Science Research, 1990)

CA (in vitro): ? (直) ? (±S9)

Dose:

備考:

MN: -

備考: 75, 150, 300 mg/kg × 1 (CD-1マウス) (Life Science Research, 1990)

その他:

CAR: -

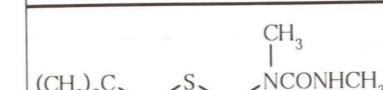
TEG: -

96. Tebuthiuron

Cas.No.: 34014-18-1 文献No.: 17, S35-S38 (1992)

種類: 非農耕地用除草剤
商品名:

分子量: 228.32
分配係数: 61(Kow)



Rec: - (-S9) 抗菌性: ?
Dose: 20~5000 ug/disk

Ames: - (-S9) - (+S9)
Dose: 10, 50, 100, 500, 1000, 5000, 10000 ug/plate

備考: (残農研, 1983)

CA (in vitro)(+)(直) (+)(±S9)

Dose: -S9: 1500~2100 ug/ml; +S9: 1350~1550 ug/ml

備考: CHO細胞, -S9: 1950 ug/ml; +S9: 1550 ug/ml で (+) (リリー研究所, 1989)

MN: ?

備考:

その他:

CAR: -

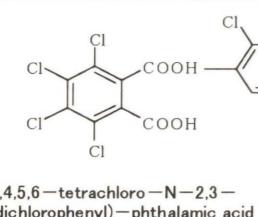
TEG: -

97. Tecloftalam

Cas.No.: 76280-91-6 文献No.: 13, 629-632 (1988)

種類: 殺菌剤
商品名: シラハゲンS
分子量: 447.9
分配係数: 2.17(logP)

Rec: - 抗菌性: ?
Dose: 1000, 3000, 10000 ug/disk
Ames: - (-S9) - (+S9)
Dose: 300, 1000, 3000, 10000 ug/plate
備考: (秦野研, 1979)



CA (in vitro): - (直) - (±S9)
Dose: 100, 200, 400 μM(6, 12, 24hr)
備考: Don細胞 (野村生物化学研究所, 1985)

MN: ?

備考:

その他:

CAR: ?

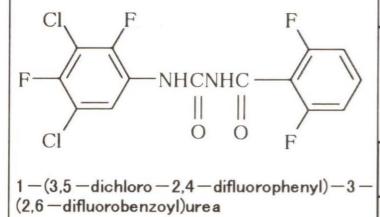
TEG: -

98. Teflubenzuron

Cas.No.: 83121-18-0 文献No.: 18, S15-S18 (1993)

種類: 殺虫剤
商品名:
分子量: 381.1
分配係数: 4.56(logP)

Rec: - 抗菌性: -
Dose: 50~5000 ug/disk
Ames: - (-S9) - (+S9)
Dose: 10~5000 ug/plate
備考: (残農研, 1986)



CA (in vitro): - (直) - (±S9)
Dose: 3.3 E-7 M ~ 3.3 E-4 M
備考: CHL細胞 (残農研, 1986)

MN: ?

備考:

その他:

CAR: ?

TEG: -

99. Thallium sulfate

Cas.No.: 10031-59-1 文献No.: 18, S209-S211 (1993)

種類: 殺鼠剤
商品名: タリウム「大塚」, メリーネコ6号, メリーネコタリウム
分子量: 504.85
分配係数:

Rec: ? 抗菌性: ?
Dose:
Ames: - (-S9) - (+S9)
Dose:
備考: 菌の発育阻害 (312.5 μg/plate以上) (日本バイオリサーチセンター, 1988)



thallium sulfate

CA (in vitro): ? (直) ? (±S9)
Dose:
備考:

MN: ?

備考:

その他:

CAR: ?

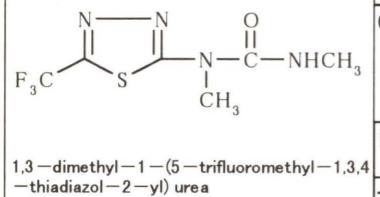
TEG: ?

100. Thiazafluron

Cas.No.: 25366-23-8 文献No.: 18, S225-S228 (1993)

種類: 除草剤
商品名:
分子量: 240.2
分配係数:

Rec: - 抗菌性: -
Dose: ~15000 ug/disk
Ames: - (-S9) - (+S9)
Dose: ~5000 ug/plate
備考: (野村総研, 1980)



CA (in vitro): - (直) - (±S9)
Dose: -S9: 625.0 (18hr), 312.5 (42hr), +S9: 1250.0 (3-15, 39 hr)
備考: CHO細胞 (チバガイキ・スイ, 1990)

MN: ?

備考:

その他:

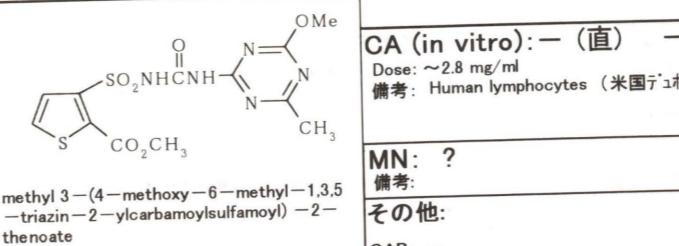
CAR: ?

TEG: -

101. Thifensulfuron-methyl

Cas.No.: 79277-67-1 文献No.: 18, S219-S223 (1993)

種類: 除草剤
商品名: DPX-M6316
分子量: 387.4
分配係数: 0.027(Kow, pH7)



CA (in vitro): - (直) - (±S9)
Dose: ~2.8 mg/ml
備考: Human lymphocytes (米国テュボンハスクル研究所, 1987)

MN: ?

備考:

その他:

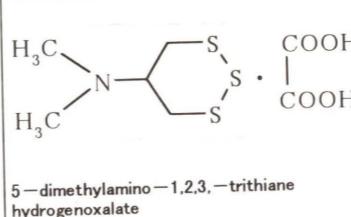
CAR: -

TEG: -

102. Thiocyclam

Cas.No.: 31895-22-4 文献No.: 12, 339-342 (1987)

種類: 殺虫剤
商品名: エビセクト
分子量: 271.4
分配係数:



CA (in vitro): ? (直) ? (±S9)
Dose:
備考:

MN: -
備考: ddYマウス (10.7, 21.4, 42.7, 85.3 mg/kg X 2, p.o. (0.5% CMC-Na) (野村総研, 1982)

その他:

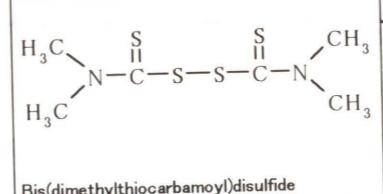
CAR: -

TEG: ?

103. Thiuram

Cas.No.: 137-26-8 文献No.: 15, 507-510 (1990)

種類: 殺菌剤
商品名: グリーンチオノック (80%)
分子量: 240.43
分配係数: 9.3 (50°C): Kow?



Rec: (+)(~1.0 ug) 抗菌性: ?
Dose: 0.1~10 ug/disk
Ames: (+)(-S9) (+)(+S9)

Dose: 1~1000 ug/plate

備考: (残農研, 1978)

CA (in vitro): - (直) ? (±S9)
Dose: 30, 60 ug/ml
備考: CHL細胞 +S9? (国立衛試, 1989)

MN: -
備考: BDF1マウス (550, 1100, 2200 mg/kg) (残農研, 1987)

その他:

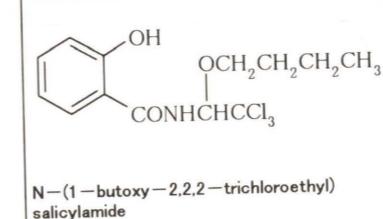
CAR: -

TEG: -

104. Trichlamide

Cas.No.: 70193-21-4 文献No.: 13, 395-399 (1988)

種類: 土壤殺菌剤
商品名: ハタクリン粉剤
分子量: 340.65
分配係数: 28500 (Kow, 25°C)



Rec: - 抗菌性: -
Dose: 2~20000 ug/disk
Ames: - (-S9) - (+S9)

Dose: サルモネラ (0~500 ug/plate), 大腸菌 (0~5000 ug/plate)

備考: (残農研, 1981)

CA (in vitro): ? (直) ? (±S9)
Dose:
備考:

MN: ?

備考:

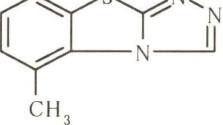
その他:

CAR: -

TEG: -

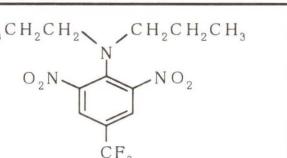
105. Tricyclazole

Cas.No.: 41814-78-2 文献No.: 14, 407-413 (1989)

種類: 殺菌剤 商品名: BEAM	Rec : — 抗菌性: ? Dose: 20~20000 $\mu\text{g}/\text{disk}$
分子量: 189.24 分配係数: 25.0(Kow)	Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: 10~50000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 備考: (Institute of Environmental Toxicology, 1978)
	CA (in vitro): — (直) + (±S9) Dose: -S9: 12.5~280 $\mu\text{g}/\text{plate}$, +S9: 12.5~50 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 備考: CHL使用、-S9: IC50の3倍で+; +S9: IC50以下で+ (Chemical Inspection and Testing Institute, 1987)
5-methyl-1,2,4-triazole(3,4-b)benzothiazole	MN: — 備考: CD-1マウス(100, 200, 300 mg/kg X 1) (Lilly Research Laboratories, 1988)
	その他: in vivo SCE — (Lilly Research Laboratories, 1981)
CAR: —	TEG: —

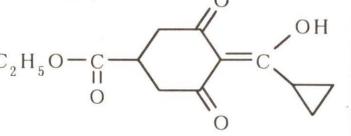
106. Trifluralin

Cas.No.: 1582-09-8 文献No.: 16, 557-561 (1991)

種類: 除草剤 商品名: トリファノサイド	Rec : — 抗菌性: ? Dose: ~2000 $\mu\text{g}/\text{disk}$
分子量: 335.33 分配係数: 6.0(logP)	Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: ~3000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 備考: (残農研, 1977)
	CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: -S9: 30 $\mu\text{g}/\text{ml}$, +S9: 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 備考: CHO細胞 (リリー研究所, 1989)
a,a,a-trifluoro-2,6-dinitro-N,N-dipropyl-p-toluidine	MN: ? 備考:
	その他: MLA —, HMA —, SCE —, DLT—
CAR: 膀胱腫瘍 (ラット, 腎結石)	TEG: —

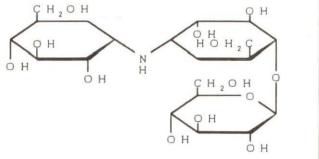
107. Trinexapac-ethyl

Cas.No.: <未決定> 文献No.: 22, 351-355 (1997)

種類: 植物生長調節剤 商品名: トリネキサパックエチル	Rec : ? 抗菌性: ? Dose:
分子量: 252.3 分配係数: 1.60(logPow,pH5.3)	Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: 313, 625, 1250, 2500, 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 備考: (残農研, 1994)
	CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: 62.5, 125, 250, 500, 1000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 備考: Human lymphocytes (チバガイギー社, 1989)
4-(cyclopropyl- α -hydroxy-methylene)-3,5-dioxocyclohexanecarboxylic acid ethyl ester	MN: — 備考: 700, 1500, 3000 mg/kg X 1 (16, 24, 48 hr)
	その他: 体細胞突然変異 (V79細胞 HGPRT) —, MLA —, Human fibroblast DNA修復試験 —, ラット肝UDS —
CAR: ?	TEG: —

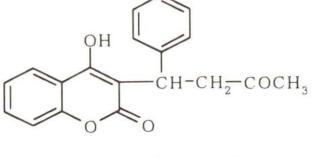
108. Validamycin A

Cas.No.: 37248-47-8 文献No.: 17, S29-S34 (1992)

種類: 殺菌剤 商品名:	Rec : — 抗菌性: ? Dose: 20~2000 $\mu\text{g}/\text{disk}$
分子量: 497.5 分配係数:	Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: S9: 10~1000 $\mu\text{g}/\text{plate}$, +S9: 10~3000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 備考: (残農研, 1977)
	CA (in vitro): — (直) — (±S9) Dose: 1250, 2500, 5000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (-S9: 24, 48hr, +S9: 18hr) 備考: CHL細胞 (化検協, 1988)
1L-(1,3,4/2,6)-2,3-dihydroxy-6-hydroxymethyl-4-[(1S,4R,5S,6S)-4,5,6-trihydroxy-3-hydroxymethylcyclohex-2-enylamino]cyclohexyl B-D-glucopyranoside	MN: ? 備考:
CAR: —	TEG: —

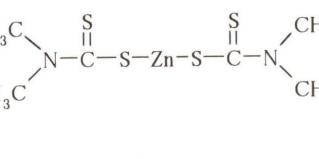
109. Warfarin

Cas.No.: 81-81-2 文献No.: 18, S163-S166 (1993)

種類: 殺鼠剤 商品名: ラテミン, ローダン, ヤソミ 分子量: 308.32 分配係数:	Rec : ? Dose:
	Ames : — (-S9) — (+S9) Dose: 312.5, 625, 1250, 2500, 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 備考: TA100, TA98, TA1535, TA1537 (ブレインキューベーション法) (日本バイオリサーチセンター, 1987)
	CA (in vitro): ? (直) ? (±S9) Dose: 備考:
	MN: ? 備考:
	その他: ? TEG: ?

110. Ziram

Cas.No.: 137-30-4 文献No.: 17, S155-S158 (1992)

種類: 殺菌剤 商品名: パルノックス水和剤(ジラム 50%, チウラム 30%) 分子量: 305.8 分配係数: 3.4(水50°C):Kow?	Rec : + (7mm) 抗菌性: — Dose:
	Ames : (+)(-S9) (+)(+S9) Dose: 備考: TA100株 (残農研, 1987)
	CA (in vitro): + (直) + (±S9) Dose: -S9: 0.38~3.06 $\mu\text{g}/\text{ml}$, +S9: 0.76~12.23 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 備考: 異常出現頻度: -S9: 1.5~50.5% (再試 85.0%), +S9: ~49.0% (再試 ~25%) (残農研, 1988)
	MN: ? 備考:
	その他: ? CAR: — TEG: —

変異原性関連ホームページアドレスリスト

このインターネットの利用により、多くの情報を容易に入手できるようになってきた。以下に、各環境変異原学会、研究機関、雑誌、データベースサイトなど、変異原性試験に関連したホームページのアドレスを掲載する。各ホームページには、さらに関連サイトへのリンクが張られている場合があるので、上手に活用されたい。(日本グラクソ(株) 森田 健記)

変異原性関連ホームページアドレスリスト

ホームページ	URL アドレス*
各環境変異原学会	
日本環境変異原学会 JEMS・MMS 研究会 EEMS (European Environmental Mutagen Society) EMS (Environmental Mutagen Society) IAEMS (International Association of Environmental Mutagen Societies) UKEMS (UK Environmental Mutagen Society) ANZEMS (Australia & New Zealand EMS) ヨーロッパ諸国の EMS ホームページ集	http://dgm2alpha.nihhs.go.jp/jems http://member.nifty.ne.jp/atsushi_hyogo/mms/ http://www.tno.nl/~eems/ (新アドレス http://193.51.164.11/eems/index.htm) http://www.ornl.gov/TechResources/ems/hmepg.html http://www.iaems.nl/
雑誌関連	
Carcinogenesis Electric Journals & News letters Mutagenesis Mutation Research Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis The Molecular Carcinogenesis Usaco 雜誌リンク 日経バイオテクノロジー	http://www.oup.co.uk/carcin/ http://gort.ucsd.edu/newjour/ http://www.oup.co.uk/jnls/list/mutagen/abstinde/ http://www1.elsevier.com/journals/mutres/menu.htm http://www.interscience.wiley.com/jpages/0270-3211/ http://www.icr.ac.uk/molcanc/molcanc.html http://www.usaco.co.jp/links.htm http://biotech.nikkeibp.co.jp/BIO.shtml
研究機関	
IARC (International Agency for Research on Cancer) NIEHS (National Institute of Environmental Health Sciences) NIH (National Institute of Health) NIOSH (National Institute for Occupational Safety and Health) Oak Ridge National Laboratory US Environmental Protection Agency US FDA (Food and Drug Administration) WHO Home Page Leiden University 国立がんセンター	http://www.iarc.fr/ http://www.niehs.nih.gov/ http://www.nih.gov/ http://www.cdc.gov/niosh/homepage.html http://www.ornl.gov http://www.epa.gov http://www.fda.gov/default.html http://www.who.ch/ http://www.medfac.leidenuniv.nl/RadGen/ http://www.info.ncc.go.jp/

国立医薬品食品衛生研究所
国立感染症研究所
試験研究機関ディレクター
労働省産業医学総合研究所

データベース

Environmental Mutagen Information Center Database
EPA/IARC GAP Database (Genetic Activity Profiles)
Genetox
MedWeb Toxicology
NLM (National Library of Medicine)
NTP (National Toxicology Program)
NTP RESOURCES PAGE
NTP Testing Information

SIS Online Databases (Specialized Information Services)
Transgenic Mutation Detection Systems
IUTOX
Free Medline

ガイドライン

ICH (International Conference on Harmonisation)
OECD Chemical Testing
OECD GLP
厚生省

その他

医薬品機構
日本 QA 研究会
中央労働災害防止協会

* URL アドレスは変更される場合があります

http://dgm2alpha.nih.go.jp
http://www.nih.go.jp/yoken/index-j.html
http://www.titan.tokyo.jst.go.jp/kikan_dir/
http://www.nihjp/indexj.html

http://sis.nlm.nih.gov/emicfs.htm
http://www.epa.gov/gap-db/
http://www.ornl.gov/TechResources/Genetox/hmepg.html
http://www.gen.emory.edu/MEDWEB/keyword/toxicology.html
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nlmlist.html
http://ntp-server.niehs.nih.gov/
http://ntp-server.niehs.nih.gov/Main_Pages/NTP_PG1.html
http://ntp-server.niehs.nih.gov/Main_Pages/NTP_ALL_STDY_PG.html
http://sis.nlm.nih.gov/sisdbsm1.htm
http://darwin.ceh.uvic.ca/bigblue/bigblue.htm
http://www.ehsc.orst.edu/iutox
http://www.healthgate.com/Healthgate/MEDLINE

http://www.ifpma.org/ich1.html
http://www.oecd.org/ehs/test/
http://www.oecd.org/ehs/glpt.htm
http://www.mhw.go.jp/

http://www.ijnet.or.jp/iyakuhin-kiko/
http://www.jsqa.com
http://www.jisha.or.jp

日本環境変異原学会会則

第1条 本会は日本環境変異原学会 (The Environmental Mutagen Society of Japan) と称する。

第2条 本会は人間環境における突然変異原、とくに公衆の健康に重大な関係を有する突然変異原の研究を推進することを目的とする。

第3条 本会の会員は、正会員、学生会員、賛助会員および購読会員とする。正会員は本会の趣旨に賛同し、環境変異原の研究に必要な知識と経験を有し、定められた会費を納入した者とする。学生会員は、大学、または大学院に在籍し、毎年所定の手続を経て、定められた会費を納入した者とする。賛助会員はこの学会の事業を後援し、定められた会費を納入した個人または法人とする。購読会員は学会誌「環境変異原研究」の購読のみを行うものとする。

第4条 本会に入会を希望するものは、1名以上の評議員の推せん書とともに所定の申込書に記入の上、本会事務所に申込むものとする。

第5条 会員は毎年会費を納入しなければならない。次年度の年会費の額は評議員会において審議し総会において定める。

第6条 本会はその目的を達成するために次の事業を行う。

1. 年1回大会を開催し、学術上の研究成果の発表および知識の交換を行う。
2. 学会賞を設け、環境変異原の分野ですぐれた研究を行った会員および将来の成果が期待される会員（原則として個人）に授与する。
3. Mutation Research 誌を特価で購入配付する。
4. 国際環境変異原学会連合に加入し、国際協力に必要な活動を行う。
5. 学会誌「環境変異原研究」を発行する。
6. その他本会の目的を達成するために必要な活動を行う。

第7条 本会に次のとおり役員および評議員を置く。

会長 1名 庶務幹事 1名

会計幹事 1名 國際交流幹事 1名
編集幹事 1名 会計監査 2名
および評議員若干名

評議員は正会員の投票により選ぶ。
会長は評議員の互選によって定める。
庶務幹事、会計幹事、國際交流幹事、編集幹事および会計監査は会長が委嘱する。この他会長は必要な場合には会員の中より若干名を指名し総会の承諾を得て、評議員に加えることができる。

役員および評議員の任期は2年とする。
役員が同じ任務に引続いて就任する場合には2期をもって限度とする。

第8条 評議員会は会員を代表し、事業計画、経費の収支、予算決算およびその他の重要事項について審議する。

第9条 本会は年1回総会を開く。
総会において会則の改廃制定、予算・決算の承認、その他評議員会において審議した重要事項の承認を行う。

第10条 本会の事務執行機関は会長および4名の幹事をもって構成する。
会長は執行機関の長となり、また本会を代表する。

第11条 本会の事務は暦年による。

第12条 本会に名誉会員をおく。

附記

1. 本会則は平成6年1月1日より施行する。
2. 本会の事務所を
東京都豊島区駒込1-44-2 芥川ビル
財団法人 口腔保健協会 内に置く。
3. 正会員、学生会員、賛助会員および購読会員の会費は、それぞれ年額7,000円、5,000円および1口50,000円および年額10,000円とする。ただし、Mutation Research 誌の配布を希望するものは、会費の他に別途定める購読料を本会へ前納するものとする。

3月用

日本環境変異原学会入会申込書

年 月 日

日本環境変異原学会

役員名簿(平成 10 年度)

(10)

評議員名簿(平成 10~11 年度)

10
11

会長	大西 克成	(五十音順)
庶務幹事	能美 健彦	荒木 明宏 日本バイオアッセイ研究センター
会計幹事	若林 敬二	石館 基 オリンパス光学工業(株)・染色体研究センター
国際交流幹事	山添 康	太田 敏博 東京薬科大学・生命科学部
編集幹事	須藤 鎮世	大西 克成 徳島大学・医学部
会計監査	黒田 行昭	葛西 宏 産業医科大学・産業生態科学研究所
	菊川 清見	鎌滝 哲也 北海道大学・薬学部
賞等選考委員		菊池 康基 (株)ラビトン研究所・大阪医薬品臨床開発研究所
	祖父尼俊雄	
	田中 憲穂	木苗 直秀 静岡県立大学・食品栄養科学部
	森 秀樹	澁谷 徹 (財)食品薬品安全センター・秦野研究所
	清水 英祐	島田 弘康 第一製薬(株)・開発研究所
	太田 敏博	清水 英祐 東京慈恵会医科大学・医学部
	葛西 宏	須藤 鎮世 生命工学工業技術研究所
	鎌滝 哲也	祖父尼俊雄 国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部
編集委員		田中 憲穂 (財)食品薬品安全センター・秦野研究所
(委員長)須藤 鎮世		長尾美奈子 東京農業大学／国立がんセンター研究所・生化学研究部
降旗 千恵	能美 健彦	国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部
荒木 明宏	林 真	国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部
森田 健	早津 彦哉	岡山大学・薬学部
鈴木 勇司	森 秀樹	岐阜大学・薬学部
松岡 厚子	森 健	日本グラクソ(株)・筑波研究所
矢嶋 信浩	山添 康	東北大学・薬学部
企画委員		吉川 邦衛 三菱化学(株)・環境安全本部／東京工業大学
		若林 敬二 国立がんセンター研究所・がん予防研究部
	菊川 清見	
	布柴 達男	
	望月 正隆	
	長尾美奈子	
	島田 弘康	
	林 真	

日本環境変異原学会長 殿

貴学会に入会いたしたく評議員の署名を添えて申し込みます。

フリガナ:		
氏名:	(印)	
Name (ローマ字つづり)		
生年月日 (性別)	19 年 月 日	(男・女)
所属機関名:		
住所:	〒	
TEL:	FAX:	
電子メール:		
Affiliation		
Address		
Belong		
自宅住所:		
電話:		
Home address		
学会誌送付先:	(1)所属機関	(2)自宅
学位:	年取得	
研究領域 (複数可)		
加入学会名:		

_____の本学会への入会を推薦致します。

日本環境変異原学会評議員

(署名)
日付

印

入会申込書の送付先: 〒170-0003 東京都豊島区駒込1-44-2 芥川ビル
（財）口腔保健協会内 日本環境変異原学会事務局
Tel. 03-3947-8891 Fax 03-3947-8341

日本環境変異原学会 学生会員申込書

[1年間（翌年の3月31日まで）のみ有効です]

年 月 日

日本環境変異原学会長 殿

貴学会に学生会員として入会いたしたく貴学会員である指導教官の署名および在学証明書
(裏面に添付)を添えて申し込みます。

フリガナ：	
氏 名：	㊞
Name (ローマ字つづり)	
生年月日 (性別)	19 年 月 日 (男・女)
校名／学部：	
住 所：〒	
TEL：	FAX：
電子メール：	
Affiliation	
Address	
Belong	
自宅住所：	
電 話：	
Home address	
学会誌送付先：	①大 学 ②自 宅
研究領域 (複数可)	
指導教官名：	
連絡先：	

_____の本学会への学生会員としての入会を推薦致します。

指導教官

(署名)

印

入会申込書の送付先：〒170-0003 東京都豊島区駒込1-44-2 芥川ビル
財団法人日本環境変異原学会事務局
Tel. 03-3947-8891 Fax 03-3947-8341

環境変異原研究 投稿規定

1. 掲載論文

環境変異原研究に関する未発表の「総説」、「一般論文」、「短報」、および「特別企画（受賞講演）」、「論説」、「資料・情報」などを掲載する。なお、投稿論文の採否は編集委員会の審査により決定する。
「総説」は、一つのテーマに関連する多くの研究論文の総括、評価、解説などである。原則として編集委員会より寄稿を依頼する。

「一般論文」は、変異原に関する独創的研究の原著論文で、それ自身独立して価値ある結論あるいは事実を含むものとする。陰性データも受け付ける。

「短報」は、新しい技術の紹介や価値あるデータを含む短い報告とする。陰性データも受け付ける。
「論説」は、一つのテーマに関連する多くの研究論文の総括、評価、解説などで、会員からの投稿によるものとする。

「資料・情報」は、環境変異原に関する調査の結果などをまとめたもの、および公開シンポジウム、研究会の要旨などとする。
(Letter to Editorも受け付けます。)

2. 投稿資格

共著者のうちの1人は日本環境変異原学会会員でなければならない。ただし、招待寄稿の場合にはこの限りではない。

3. 論文原稿の書き方

論文原稿の用語は日本語または英語とし、最新の執筆規定に従い簡潔にわかりやすく書く。総説、一般論文、論説は、写真・図表を含めて刷り上がり8頁以内。短報は4頁以内とする。頁数の超過分や多額の経費を要する図表の実費は著者負担とする。

4. 論文原稿の送り先

論文原稿は正1部コピー2部の計3部を、日本環境変異原学会誌編集係宛に（簡易）書留便で送付すること。なお、最終稿では正1部、コピー1部ならびにフロッピーディスク(3.5インチ、使用した機種とソフト名を明記して、テキストファイル形式で保存)を編集委員長宛に送付すること。

5. 著作権

本誌に掲載された記事、論文などの著作権は日本環

境変異原学会に帰属するものとする。従って、本会が必要と認めた場合は転載し、また外部から引用の申請があった場合には、編集委員会において検討の上許可することがある。ただし、著作者自身が自分の記事、論文などの一部の複製、翻訳などの形で利用することを妨げるものではない。しかし、著作者自身であっても、全文を複製の形で他の著作物に利用する場合には、事前に文書にて申し出を行い、許諾を求めなければならない。

6. 校正

著者校正は原則として原稿に対する誤植の訂正に限る。原稿にない加筆・変更はしないこと。

7. 著者負担金

- 1) 投稿料は無料とする。ただし規定の頁数を超えることが明らかな場合、頁数の削減を求めることがある。
- 2) カラー印刷等の特殊印刷のため附加的に発生する費用は著者負担とする。
- 3) 別刷りは招待寄稿の場合も含め、すべて著者負担とする。別刷り希望者は著者校正時に添付する申し込み書に50部単位で申し込むこと。

論文原稿の送付先

〒170-0003
東京都豊島区駒込1-43-9 駒込TSビル
インテルナ出版
日本環境変異原学会誌編集係
Tel. 03-3944-2591
Fax. 03-3947-8073

最終稿の送付先、その他編集についての問い合わせ先

〒305-8566
茨城県つくば市東1-1
生命工学工業技術研究所
日本環境変異原学会 編集委員長
須藤 鎮世
Tel. 0298-54-6502
Fax. 0298-54-6095
E-mail sutou@nibh.go.jp

環境変異原研究 執筆規定

- 用語は日本語または英語とする。
- 原稿は原則としてワープロを用い、左横書きで作成する。
- 日本文の原稿：**
原稿はA4判用紙に1行約40字、1頁30~31行で印字する(刷り上がりの約1/2頁に相当する)。ただし、要約は英文(300語以内)とする。また、別に英文の題名、著者名(フルネーム)、所属機関名ならびに所在地を付ける。
- 英文の原稿：**
原稿はA4判用紙にダブルスペースで印字する。1頁25~27行を標準とする。原稿は著者の責任において英語の添削訂正を受けたものに限る。
- 論文の記述は、第1頁は表題、著者名、所属および所在地、第2頁は英文の要約(Summary)およびキーワード(英文5語以内、固有名詞や遺伝子名などで大文字の使用が必要な場合を除き、原則として小文字表記とする)、第3頁以下、緒言(Introduction)、実験材料および方法(Materials and Methods)、結果(Results)、考察(Discussion)または結果および考察、結語(Conclusion)、謝辞(Acknowledgments)、参考文献(References)、表、図の説明および図の順序とする。ただし、緒言の記述は、第3頁以下、緒言、1、……、2、……、結語、謝辞、参考文献、表、図の説明および図の順序とする。なお図と表の説明文はすべて英文とする。
- 学名、遺伝子記号などはイタリックとし、その他まぎらわしい記号については原稿に適宜指示を与える。
- 化学物質名は原則として英語とし、一般名を用いる。また、化学物質のCAS登録番号を記載する。文中に用いる英語の単語あるいは句は固有名詞を除いて小文字で書きはじめる(文頭の場合は大文字)。
- 数字は算用数字を用い、単位は英文の慣用による省略記号を用いる。
- 略字を使用するときは、論文中にはじめて使用するときに完全な語とその略字を括弧内に示す。
- 句読点はカンマ(,)およびピリオド(.)とする。
- 表、図(写真)は本文と別にし、それらの挿入箇所を本文の右余白に明示する。グラフ、写真、線画等はすべて図とし、一連の番号Fig.1,2…を付し、原則として英文の説明文を別紙に添える。
- 図と写真は原図またはキャビネ大の光沢写真版とし、裏面にFig.1,2…および上下を鉛筆書きし、A4判の台紙に一枚づつ軽く糊付けする。台紙の下部に

Fig.(一連番号)を付す。

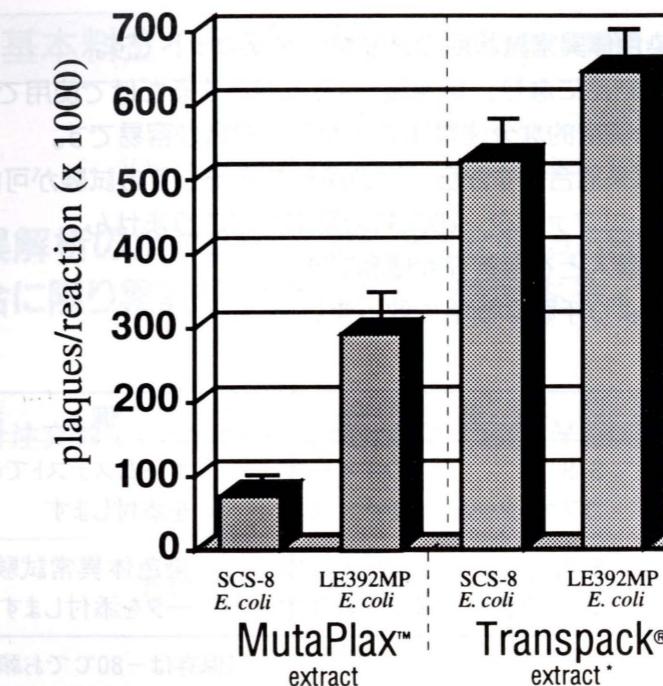
- 表は上部に一連の番号Table 1,2…と原則として英文の説明を記入すること(文頭のみ大文字)。表には縦罫を使用せず、また各語句の始めは原則として大文字とする。脚注を要するときに表示の語句の右肩にa, b, c…を付記し、表の下欄外にそれぞれの説明を記す。
 - 本文中の文献引用は著者名および年号をもつてする。
 - 参考文献は筆頭著者名のアルファベット順に配列し、雑誌の省略名はChemical Abstractsの記載方法に従う。記載順序は著者氏名、年号、題名、雑誌名、巻、頁(單行本の一部引用の場合は著者氏名、年号、題名、編者名、書名、発行所、発行地、頁)の順とする。単行本そのものを引用する場合は、編者名あるいは著者名、年号、書名、発行所、発行地の順とする。文献の記載方法は下記の例に従う。
- Ames, B. N., J. MacCann and E. Yamasaki (1975) Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test, Mutat. Res., 31, 347-364.
- Ashby, J., F. J. de Serres, M. Draper, M. Ishidate Jr., B. H. Margolin, B. Matter and M. D. Shelby (1985) Overview and conclusion of the IPCS collaborative study on in vitro assay systems, In : J. Ashby, F. J. de Serres et al. (Eds), Evaluation of Short-Term Tests for Carcinogens, Elsevier, Amsterdam, pp. 117-174.
- Friedberg, E. C., G. C. Walker and W. Siede (1995) DNA Repair and Mutagenesis, ASM Press, Washington, D. C.
- 藤川和男, 梁 治子, 近藤宗平(1984)ハエの翅毛スポットテスト—近ごろ注目されている短期試験法, 環境変異原研究, 6: 107-113.
- 佐々木正夫(1983)環境変異原と染色体異常, 外村晶(編), 染色体異常, 朝倉書店, 東京, pp. 107-113.
- 松影昭夫(編)(1996)DNA複製、修復と発癌, 羊土社, 東京。

改訂(1998年9月, 下線部)

一部追記(1999年1月)

Make No Mistake!

Transpack® λ Packaging Extract*
outperforms MutaPlax™ extract
5 to 1 for transgene recovery.



Legend
Method - manufacturers recommended packaging protocol
DNA Source - Big Blue® homozygous C57BL/6 mouse liver with 80 copies of transgene per cell
DNA Amount - 4 µg per reaction

Now available to researchers using Muta™ Mouse with proof of Muta Mouse purchase.

* U.S. Patent No. 5,188,957
◆ Using SCS-8 *E.coli* host cells

Big Blue® and Transpack® are registered trademarks of Stratagene.
Muta™ Mouse is a trademark of HRP Inc.
MutaPlax™ is a trademark of Epicentre Technologies Corp.

STRATAGENE®
pioneering the future of in vivo mutation research

お問い合わせ先:

KASHO 加商株式会社
ライフサイエンスグループ

〒103-0024 東京都中央区日本橋2丁目14番9号
電話 03-3276-7676 FAX.03-3276-7626
E-mail : Tsumoru_Miyano@kasho.co.jp

オリエンタルの変異原性試験用試薬 S-9／コファクター セット

無菌凍結品の変異原性試験用コファクターが、S-9とセットで販売になります。

より便利に！ より手頃な価格に！

- 特徴**
- エームステスト用と染色体異常試験用の2種類の試薬セットです。
 - コファクターが無菌凍結品になり、解凍後S-9と混合するだけで使用できます。
 - S-9とコファクターは実用的な分注量比ですから、混合が容易です。
 - S-9とコファクターは未混合ですから、混合条件を変更しての試験が可能です。
 - また、保存中にS-9とコファクターの未知の反応が起こりません。
 - セット販売ですから、購入と在庫管理が便利です。
 - 包装単位を少量化し、より手頃な価格に致しました。

製品名	包装単位	備考
エームステスト用 S-9／コファクターAセット	S-9 1ml × 10本 コファクターA 9ml × 10本	エームステストでのデータを添付します
染色体異常試験用 S-9／コファクターCセット	S-9 2ml × 3本 コファクターC 4.7ml × 3本	染色体異常試験でのデータを添付します

(保存は-80℃でお願い致します)

- エームステスト用コファクターA(注文量100ml以上)および染色体異常試験用コファクターC(注文量30ml以上)の単品注文もお受け致します。
- 従来品は引き取り取扱いしております。

変異原性試験用 S-9 (無菌凍結品)	2ml × 10本
エームステスト用 コファクターI (凍結乾燥品)	9ml用粉末 × 10本

誘導法の変更や、サル、イヌなどラット以外のS-9またはミクロソームの調製、その他、技術的なお問合わせは、弊社バイオ部までお願い致します。

製造元

 **オリエンタル酵母工業株式会社**

飼料・バイオ事業部
〒174-8505 東京都板橋区小豆沢3丁目6番10号
Tel.(03)3968-1192 Fax.(03)3968-4863

販売元

 **和光純薬工業株式会社**

本社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目1番2号
電話 (06) 6203-3741 (代表)
東京支店 〒103-0023 東京都中央区日本橋四丁目5番13号
電話 (03) 3270-8571 (代表)

トランジェニックマウスを用いる変異原性試験に！

DNAシークエンシング受託サービス

株アイシン・コスモス研究所では、お客様の研究をサポートするためにDNAシークエンシングの受託サービス業務を行っております。

◆Single Primer Extensionによるシークエンシング

基本料金：¥12,000/run (納期：お問い合わせ下さい)

一度にお受けするサンプル数に応じて割り引き致します！
(サンプルの本数や状態に応じて別途お見積もり致します。)

◆変異解析のためのgpt遺伝子(全長456bp)のシークエンシングの場合に限り累計注文数に応じ、価格をディスカウント!!

《累計注文数》 1run～50runまで 定価 ¥12,000  → ¥10,200/run

51run～100runまで 定価 ¥12,000  → ¥9,600/run

101run～ 定価 ¥12,000  → ¥9,000/run

◆変異解析のためのcII遺伝子(全長300bp)のシークエンシングの場合

1runからでも ¥7,200/run 

突然変異部位の解析も別途料金にて承ります！

サンプルは、精製DNA・PCR産物の状態でクール宛配便にてお送り下さい(電気泳動のデータの添付をお願いいたします)。

なお、プラスミドは菌体の状態でも別途料金にて受け付けております。

その他、cDNAクローンなどのFull lengthシークエンシングも承っておりますので、お気軽にご相談下さい。

 蛍光検出の未来を拓く
株式会社アイシン・コスモス研究所
東京：〒101-0021 東京都千代田区外神田5丁目2番11号
本社：〒448-8650 愛知県刈谷市八軒町5丁目50番地

TEL.03(3837)4856 FAX.03(3832)7716
Home Page URL : <http://www.ai-c.co.jp>
E-mail address : acgt@bio.ai-c.co.jp

KIKKOMAN S-9

このS-9は、キッコーマン研究本部で調製されたものです。

変異原性試験用凍結S-9

S-9調製法

家田貿易のS-9は7週令のSDラットの雄に誘導剤としてフェノバルビタール及び5,6-ベンゾフランボンを腹腔内投与した肝臓から調整したものを標準としていますが、その他の動物種及び誘導剤についても御相談に応じております。

保存

S-9は活性の高い酵素系よりなっており、-80°Cで保存して下さい。まれに解凍後分離することがありますので活性には異常がありませんので、よく攪拌して御使用下さい。

●包装単位

1.5ml × 12本詰 ●特注品、S-9に関して詰容量は4.5mlまでお受けいたします。

●活性データ

ロット毎に下記の生化学的活性データを添付致します。

分画	測定データ
S-9 (9,000×g分画)	タンパク質含量 チトクロームP-450含量 DMN脱メチル酵素活性 アニリン水酸化酵素活性 ベンゾ(a)ピレン水酸化酵素活性
ミクロソーム (10,000×g分画)	タンパク質含量 チトクロームP-450含量

薬物	菌株*
ベンゾ(a)ピレン	TA-100, TA-98, TA-1537
2-アミノアントラセン	TA-100, TA-98, TA-1537
9,10-ジメチルアントラセン	TA-100, TA-98, TA-1537
自然発生突然変異株数	TA-100, TA-98, TA-1537

* Salmonella typhimurium

エームス試験用凍結S-9MIX

特長

- ①エームス試験がより手軽になりました。
- ②S-9にコファクターミックスを加え無菌的に調整しました。
- ③解凍後、直ちにエームス試験にご使用いただけます。
- ④S-9が1mlとコファクターミックスが9ml入っており、20プレート分の試験が可能です。

●包装単位

10ml × 8本、5ml × 4本

Salmonella typhimurium TA-100,
Benzo(a)pyrene 5μg/plate



染色体異常試験用凍結S-9MIX

特長

- ①染色体異常試験がより簡単になりました。
- ②S-9にコファクターミックスを加え無菌的に調整しました。
- ③解凍後、直ちに染色体異常試験にご使用いただけます。
- ④S-9が1.05mlとコファクターミックスが2.45ml入っており、7プレート分の試験が可能です。

●包装単位

3.5ml × 3本

カタログNo.	品名	包装	価格
S-9	変異原性試験用凍結S-9	1.5ml × 12本	¥36,000
S-9 MIX	エームス試験用凍結S-9 MIX	10ml × 8本	¥43,200
S-9 MIXTS	染色体異常試験用凍結S-9 MIX	3.5ml × 3本	¥12,000



家田貿易株式会社

東京：〒113-0033 東京都文京区本郷3-14-16 EKビル
TEL.03(3816)2861 FAX.03(3814)5347
大阪：〒564-0044 大阪府吹田市南金田1-14-5
TEL.06(6338)1518 FAX.06(6338)5626

変異原性試験画像解析支援システム

各種変異原性試験をサポートする画像解析システムをご用意しております。

SCG画像解析システム

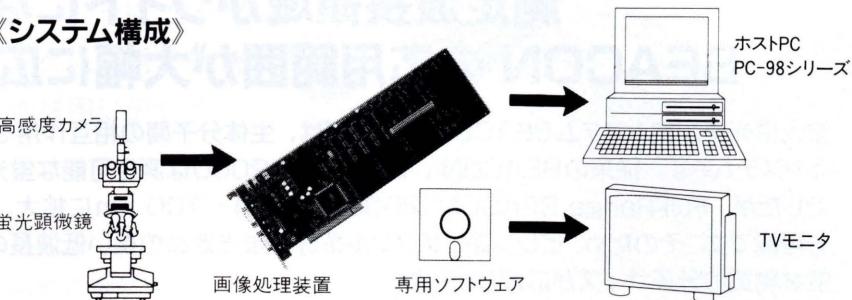
SCG試験に必要なデータを計測します。

高感度カメラの使用及び画像強調処理により細胞の不鮮明な箇所も計測が可能です。

《計測内容》

- Tail Length
- Shape Factor
- Nuclear Diameter
- Tail Intensity
- DNA Migration
- Ratio
- Tail Moment

《システム構成》



UDS画像解析システム

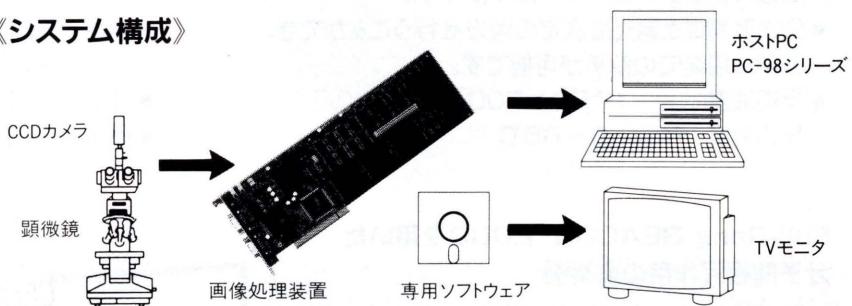
UDS試験に必要なデータを計測します。

フィルタ処理により画像強調を行ない、核と細胞質の各エリア内グレイン数及びNETグレイン数の計測が行なえます。

《計測内容》

- 核グレイン数(1エリア)
- 細胞質グレイン数(3エリア)
- NETグレイン数

《システム構成》



小核画像解析システム

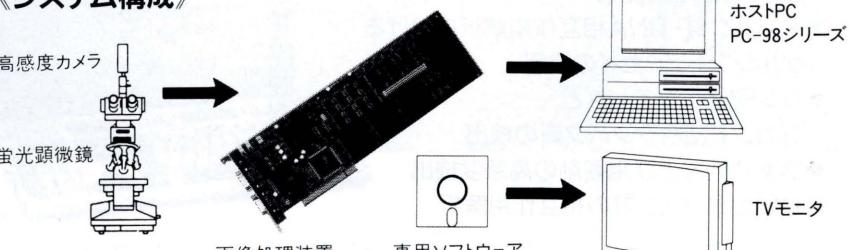
小核試験に必要なデータを計測します。

フルカラー画像解析装置に取込まれた画面内の核を抽出し、小核、主核のカウントやサイズを解析できます。

《計測内容》

- 小核カウント
- 小核サイズ
- 主核カウント
- 主核サイズ

《システム構成》



特許出願中

実績が保証します!

開発製造元

(株)日本システムハウス協会会員)

ImageTech®

ケイオ一電子工業株式会社

〒567-0828 大阪府茨木市舟木町5番12号 TEL.0726-34-1022
FAX.0726-34-1018

蛍光偏光度測定システム
Full-Range BEACON® 2000

**測定波長領域がワイドになり、
BEACON®の応用範囲が大幅に広がりました。**

蛍光偏光度測定システムBEACON®シリーズは、生体分子間の相互作用をリアルタイムで測定・解析できるシステムです。従来のBEACON®、BEACON® 2000では測定可能な蛍光波長領域が360~700 nmでしたが、Full-Range BEACON® 2000では254~700 nmに拡大。低波長領域の蛍光色素の測定も可能です。そのため、ピレン系、ダンシル系等の蛍光寿命の長い低波長の蛍光物質も使用でき、解析可能な物質の分子サイズが広がりました。

特長

- 固定化や、反応後の抽出分離、洗浄操作を必要としないホモジニアスな系での解析が可能です。
- 高価なチップやセンサーは不要です。
- 蛍光度測定と偏光度測定の両方を行うことができ、多用途での解析が可能です。
- 反応液量 : 100~500 μl
- 反応温度 : 6~65°C

仕様

- 測定波長領域 : 254~700 nm
- 感度 : 10^{-11} M (蛍光偏光度測定)
 10^{-13} M (蛍光度測定)
- 光源 : 高出力クオーツハロゲンランプ
水銀ランプ
- 尺法 : 53(W) × 38(D) × 24(H) cm
- 重量 : 17.9 kg

**Full-Range BEACON® 2000を用いた
分子間相互作用の解析例**

- エストロゲンレセプター-リガンド間の相互作用解析 (non-RI)
- non-RIでのイムノアッセイ
- 核酸ハイブリダイゼーション
- PCR産物の検出・定量
- DNAの高感度定量
- タンパク質-DNA相互作用解析におけるゲルシフトアッセイの代用
- リン酸化ペプチドなど
リガンド結合タンパク質の検出
- 酵素活性および阻害剤の高感度検出
- 糖鎖とタンパク質の相互作用解析



Full-Range
BEACON® 2000

宝酒造株式会社

東京 バイオ販売課 大阪 バイオ販売課
TEL.03-3271-8553 FAX.03-3271-7282 TEL.077-565-6979 FAX.077-565-6978

TaKaRaテクニカルサポートライン
TaKaRa製品の技術的なご質問に専門の係がお応えさせていただきます。
TEL.077-543-6116 FAX.077-543-1977

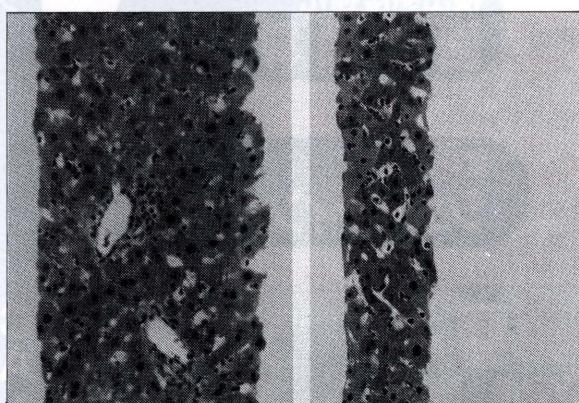
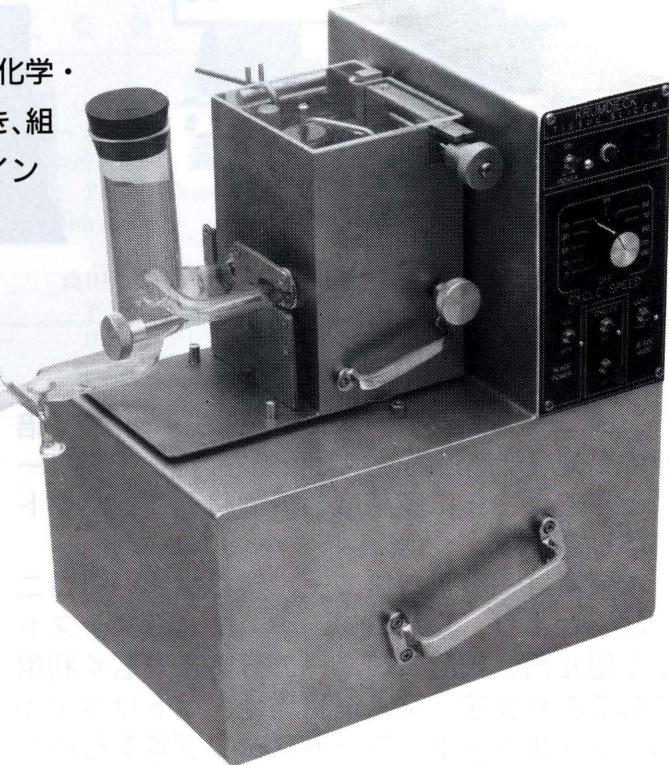
Now on the Web.
<http://www.takara.co.jp/>

THE KRUMDIECK TISSUE SLICER

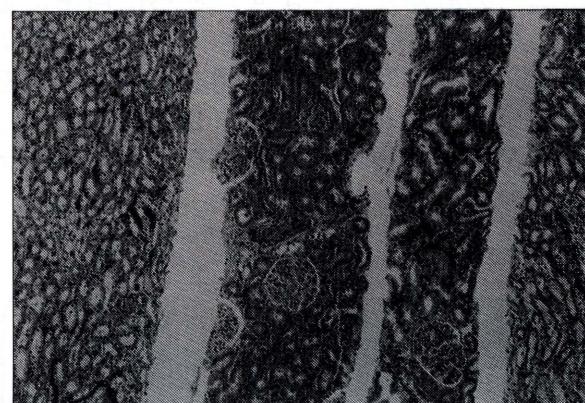
生きた組織の無菌スライスができます。

クルムディーク・ティッシュスライサーは、生化学・生理学・薬理学・毒物学などの研究に応用でき、組織培養のための無菌スライス作成用にデザインされています。

- 薄い円形のスライスが、5~15mm直径の範囲で作成できます。
- ボタンを押すだけで、2~3秒に一枚の割合で(最高スピードの場合)作成でき、初心者でも取扱いは簡単です。
- スライスは再現性良く、バラツキもなく60~1000μmの厚さで作成されます。



ラットの肝臓(倍率430×)



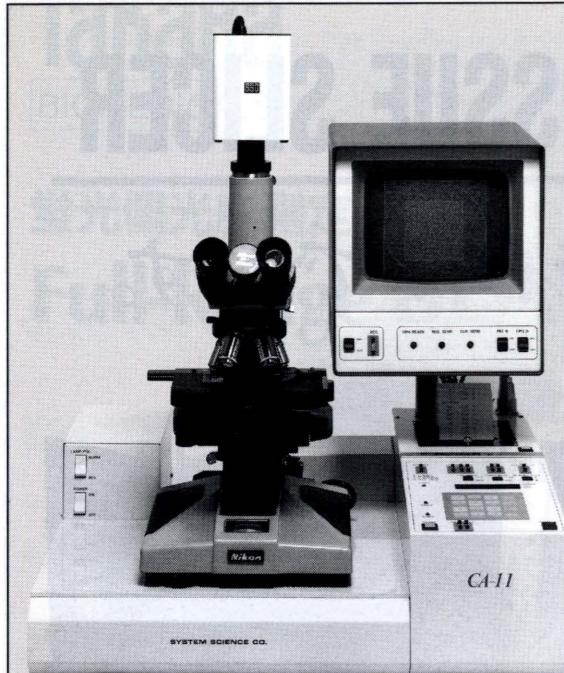
ラットの腎臓(倍率100×)

右の写真はラットの肝臓のスライス(厚さ60μmおよび135μm)で、左の写真はラットの腎臓のスライス(135~200μm)です。どちらも切片面の平行性と美しさ(ダメージがない)に注目して下さい。

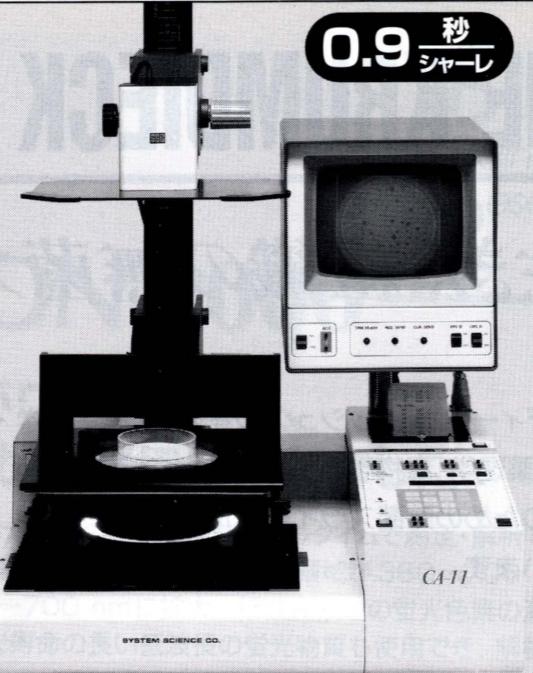


販売元
ショーシンEM株式会社

〒444-0241 愛知県岡崎市赤浜町蔵西1番地14(ショーシンビル)
TEL.(0564) 54-1231番(代表)
FAX.(0564) 54-3207番



CA-11DM

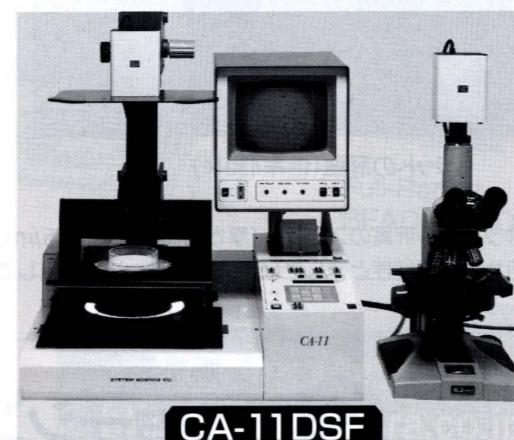
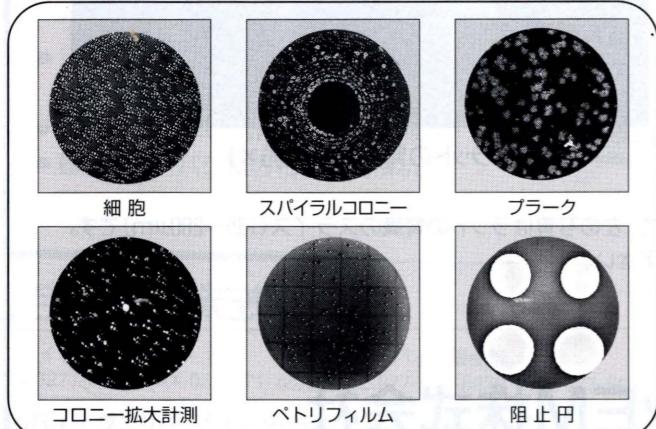


CA-11DS

コロニーアナライザーシリーズが、通常の2倍速の高分解能高速画像積算機能を持ち、Dシリーズとして、さらに高感度、低価格、コンパクトになりました。

本装置は、混釀コロニー、淡く小さいコロニーはもとより、食品コロニー、エームステストから阻止円、細胞コロニーの分野まで広く利用されております。又、選択培地、ペトリフィルム、フィルター上、フードスタンプ等あらゆるコロニーの計測ができます。さらに自由に倍率を変えての拡大計測、顕微鏡・マクロと2台のカメラがスイッチでの切替計測と豊富な機能を備えたシステムです。尚、パソコン接続によりデータの管理用に種々標準プログラムが取揃えています。

※依託試料の測定を行っております。お気軽にご相談下さい。



CA-11DSF

高速画像積算機能を持つたDシリーズ コロニー・アナライザー

阻止円計測 **コロニー 分離計測**

**自動エリア
スパイラルコロニー**

**検出感度強化
画像積算機能**

**試料の均一化
シェーディング補正**

編集後記

本号では、総説2編、シンポジウム特集1編、一般論文・短報3編および資料・情報2編が寄稿され、多彩な内容となりました。ご協力に感謝いたします。学会は会則の改定に取り組み、更なる飛躍を目指しています。学会の発展には本誌の充実が不可欠です。皆様からの投稿をお待ちしています。

担当編集委員 森田 健

編集委員

須藤 鎮世 (委員長) (1998-)

〒305-8566 茨城県つくば市東1-1

生命工学工業技術研究所

Tel : 0298-54-6502 Fax : 0298-54-6095

E-mail : sutou@nibh.go.jp

降旗 千恵 (1996-)

〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1

東京大学・医科学研究所・ヒト疾患モデル研究センター

Tel : 03-5449-5625 Fax : 03-5449-5445

E-mail : furi@ims.u-tokyo.ac.jp

荒木 明宏 (1997-)

〒257-0015 神奈川県秦野市平沢字大芝原2445

日本バイオアッセイ研究センター・変異原性試験部

Tel : 0463-82-3911 Fax : 0463-82-3860

E-mail : akiaraki@da2.so-net.ne.jp

鈴木 勇司 (1998-)

〒105-8461 東京都港区西新橋3-25-8

東京慈恵会医科大学・環境保健医学教室

Tel : 03-3433-1111 Fax : 03-5472-7526

E-mail : suzuki@jikei.ac.jp

森田 健 (1998-)

〒300-4247 茨城県つくば市和台43

日本グラクソ株式会社・筑波研究所

Tel : 0298-64-5532 Fax : 0298-64-8558

E-mail : tm28417@glaxowellcome.co.uk

松岡 厚子 (1999-)

〒158-8501 東京都世田谷区上用賀1-18-1

国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部

Tel : 03-3700-1141 Fax : 03-3700-2348

E-mail : matsuoka@nihs.go.jp

矢嶋 信浩 (1999-)

〒329-0512 栃木県下都賀郡石橋町大字下石橋字花林519

雪印乳業株式会社・生物科学研究所

Tel : 0285-52-1322 Fax : 0285-53-1314

E-mail : fvbd7044@mb.infoweb.ne.jp

複写される方に

本誌(書)に掲載された著作物を複写したい方は、著作権者から複写権の委託をうけている次の団体から許諾を受けて下さい。

学協会著作権協議会

〒107 東京都港区赤坂9-6-41 社団法人 日本工学会内

Tel : 03-3475-4621 Fax : 03-3403-1738

環境変異原研究 第21巻 第1号 1999年

平成11年2月21日 印刷

平成11年2月28日 発行

発行者 日本環境変異原学会

発行責任者 大西 克成

製作 インテルナ出版

製造発売元

SSC システムサイエンス株式会社

本社・工場/〒197-0011 東京都福生市福生1253-16

TEL 042(552)5956 (代表)

目 次

総 説

- 茶カテキン類の抗変異原性および抗発がん性(Ⅰ) 黒田行昭, 原 征彦 1
環境のストレスによって誘導される非相同意組換え
—DNA の切断と再結合の分子機構— 小方康至, 池田日出男 11

一般論文

- 塩素処理水中に検出される消毒副生成物の
変異原性とその構造活性相関 加藤美津子, 斎藤治子, 磯田信一, 中澤裕之 23
塩素処理した下水細菌培養液中に生成する変異原物質 伊藤伸一, 故本 力 31

短 報

- MutaTM Mouse lacZ 導入遺伝子の塩基配列 筒井美枝, 築館一男, 羽倉昌志 39

第9回公開シンポジウム

モデル DNA 損傷と変異機構

- DNA 付加体, 突然変異と発がん 長尾美奈子, 牛島俊和, 大河内江里子, 落合雅子 45

資料・情報

- 農薬の変異原性データ集(1) 石館 基 53
変異原性関連ホームページアドレスリスト 森田 健 83

付 記

- 日本環境変異原学会 会則 10
平成 10 年度 役員名簿
10 ~ 12 年度 評議員名簿
10 入会申込書
10 学生会員申込書

- 環境変異原研究 投稿規定
執筆規定