

突然変異原性に関する研究 (その2)

——糖類の Ames test 及び Spore rec-assay——

三 好 康 之

Studies On the Mutagenicity (2)

——Results of mutagenicity tests for some sugars
by Ames test or spore rec-assay——

Yasutaka Miyoshi

近年、食生活環境に対する人々の関心の高まりとともに、日常摂取する食品の構成成分や食品添加物等の人体におよぼす悪影響、とりわけ発ガン性と密接な相関関係をもつといわれている突然変異誘発作用が注目されてきている。

突然変異誘発の原因物質として、食品の構成成分、食品添加物、医薬品、タバコ、農薬、化粧品、あるいはそれらに含まれる微量の不純物、産業活動で廃棄される産業廃棄物、ゴミ焼却場の排出物、動植物の構成成分及びそれらの調理による化学成分の変化物等、多種多様な化学物質の存在が証明されている¹⁾。

日常摂取する食品に含まれる変異原としてよく知られているものには、ワラビ、フキノトウのフラボノール²⁾、大多数の植物の花や葉中の成分として含まれるフラボノイド³⁾、焼魚や焼肉の焼け焦げ部分のアミノ酸、蛋白質の加熱分解物⁴⁾、あるいは食品添加物として以前使用されていた AF-2⁵⁾ 等がある。

化学物質による突然変異誘発の本質は染色体を構成する DNA の持つ遺伝的情報の変異で、多くの場合 DNA 損傷がみられる。一般に、これら DNA 損傷の大部分は細胞個体に備わっている独特の DNA 修復機能によって修復される。しかし大多数の突然変異誘発物質が同時に発ガン性物質としても知られているように、なんらかの理由によりこの修復機能が正常に働かない場合には、突然変異誘発作用と発ガン性との間に密接な相関関係が推察される。すなわち、発ガン性陽性を示す化学物質の80～90%は Ames test 陽性であり、発ガン性陰性を示す化学物質の70～80%は Ames test 陰性⁶⁾ であることも証明されている。

したがって、厚生省への新規食品添加物認可申請、あるいは厚生省食品添加物安全性再評価委員会での審議化学物質等については、まず第一次スクリーニングとして微生物を用いた変異原性試験が実施される。変異原性陽性の場合には、第二次スクリーニングとしてチャイニーズハムスター培養細胞を用いた染色体異常試験が実施される。しかし最終的には、哺乳実験動物を用いた莫大な費用と長期間を費やして発ガン試験が実施され、その動物試験データが優先されるのが通例⁷⁾ となっている。この理由は、微生物を用いた変異原性試験は、哺乳実験動物を用いた長期動物試験を代行しうるとは考えていないからである。

それにもかかわらず微生物を用いる変異原性試験は、簡便、正確、安価等の点で発ガン試験の第一次スクリーニングとして重要な試験法の一つとなっている。

突然変異原性の検索には、微生物の突然変異を検出する mutation test (Ames test)、微生物

の DNA に起こる修飾を検出する repair test (rec-assay) が広く用いられている。

Mutation test⁸⁾ は、1971年、カリフォルニア大学の Ames らによって分離開発された *Salmonella typhimurium* TA シリーズ株を用いる突然変異原検索試験法である。供試菌株はすべてヒスチジンを合成できないヒスチジン要求性 (His⁻) の株で、被検物質が His⁻ 株の遺伝子に作用した結果、ヒスチジンを再び合成できるように変異したヒスチジン非要求性 (His⁺) の復帰体株のコロニー数を数え、その復帰体株の多少によりその物質が突然変異原性を持つかどうかを判断する方法である。この試験の時、動物の薬物代謝酵素 (P-450) を添加すれば被検物質はこの酵素によって代謝活性化されるため、この酵素を添加しない場合に比べ突然変異原性の検出感度をさらにあげることが出来る。

Repair test⁹⁾ は、国立遺伝学研究所の賀田らによって開発された *Bacillus subtilis* の組換え修復一部欠損株 M-45 (rec⁻) に被検物質を作用させ、この株およびその野生株 H-17 (rec⁺) の生育阻止帯距離をそれぞれ測定し、両株のその差および程度により突然変異原性の検出を行う試験法である。

変異原物質によっておきる DNA 損傷は、突然変異の誘発のみならず細胞致死の原因となるため、DNA 修復機能を欠いた変異株は、DNA 障害を誘発する変異原物質によってその生育が強く阻害され、正常な DNA 修復機能を持つ野生株よりも高い感受性を示すために、野生株に比べて生育阻止帯距離が長くなる。逆に考えると、野生株に比べて、DNA 修復欠損株の生育を著しく阻害するような化学物質は、DNA に損傷を与える変異原物質であると解釈される。

この方法は簡便迅速に行える利点があるが、薬物代謝活性化の系が充分確立されていないことや薬物に対する枯草菌の濃度依存性の検討が必要である。

Ames test, repair test は、変異原物質の検索法として、食品添加物の再評価をはじめとして天然あるいは合成化学物質について、アメリカ、日本を中心に世界中で広く採用されてきている^{10), 11)}。

今報では、化学合成によってえられたアミノ多糖類、アミノ単糖類、および抽出天然多糖類、市販中性単糖類等について、Ames test あるいは repair test (spore rec-assay) を実施し、それぞれの糖類について突然変異原性の有無、あるいは突然変異抑制作用について実験調査し、いくつかの知見を得たので報告する。

実験方法

一般試薬類はすべて市販特級品、純水 (D.I.W.) は脱イオン後、蒸留して使用した。

Ames test⁸⁾

1 供試菌株

−80°C の冷凍庫に保存した *Salmonella typhimurium* TA-98 株を使用した。

2 培養培地組成

a. 前培養培地

nutrient broth (Difco)	8 g / D.I.W.
NaCl	5 g / 1,000 ml

以上を混合溶解して、高圧蒸気滅菌 (120°C, 1気圧, 20分, 以下同条件) し、冷蔵庫に保存し、用時使用した。

b. Vogel-Bonner の最小培地 (10倍濃度原液用)

MgSO ₄ · 7H ₂ O	2 g	D.I.W. 1,000 ml
citric acid · H ₂ O	20 g	
K ₂ HPO ₄	100 g	
NaNH ₄ HPO ₄ · 4H ₂ O	35 g	

MgSO₄ · 7H₂O を除くすべての塩を溶かした後に、これを添加して白色沈澱の析出を防いだ。ついで、高圧蒸気滅菌し冷蔵庫に保存した。

c. 最小グルコース・アガー培地

Vorgel-Bonner の最小培地 (10倍濃度原液用)

	100 ml/D.I.W. 100 ml
glucose	20 g/D.I.W. 100 ml
agar (Difco)	15 g/D.I.W. 700 ml

それぞれ別々のフラスコに入れ、高圧蒸気滅菌後、50°C になったら混合し、乾熱滅菌済みのシャーレに無菌的に 30 ml ずつ分注し、放置固化した。

d. ソフトアガー

NaCl	6 g	D.I.W.
agar	7~10 g	1,000 ml

40 ml ずつ三角フラスコに分注し、高圧蒸気滅菌後冷蔵庫に保存した。使用時に 4 ml の 0.05 mM L-ヒスチジン-0.05 mM D-ビオチン溶液を混合し、45°C に保温した。

3 供試試料

a. amino-dextran · HCl (AD116), amino-dextran · HCl (AD244), amino-dextran · HCl (AD-245)

dextran を過ヨウ素酸酸化, nitromethane 再縮合により, nitro-dextran をえた。このニトロ基を lithium aluminium hydride で還元 (AD116)¹²⁾, 液体アンモニア-金属リチウムで還元 (AD244, AD245)¹³⁾ して, amino-dextran をえた。えられた amino-dextran は、塩基性高分子多糖で、その分子量は約 10,000 である。

b. methyl 3-amino-3-deoxy- α -D-glucopyranoside · HCl (M3AG), methyl 3-amino-3-deoxy- α -D-mannopyranoside · HCl (M3AM)

methyl α -D-glucopyranoside を過ヨウ素酸酸化, nitromethane 再縮合により, methyl 3-nitro-3-deoxy- α -D-glucopyranoside (or, manno-) pyranoside をえた。このニトロ基を還元して, pyranose 環の 3 位にアミノ基を持つアミノ糖¹⁴⁾ をえた。

c. galactosamin

4 菌株の保存, 接種, 前培養

前培養培地の約 10 ml を L 字管に分注し、高圧蒸気滅菌した。この培地に菌を接種し、37°C で振とう培養 (約 60 往復/分) を 12~14 時間行い、菌懸濁液をえた。これをそのまま以後の試験に使用した。菌株の保存は菌懸濁液 0.8 ml と滅菌した dimethyl sulfoxide (DMSO) 0.07 ml を 2~3 ml の滅菌チューブに入れ、ドライアイス-アセトンで凍結して、凍結保存 (-80°C) した。

5 薬物代謝活性化酵素 S9-分画の調整

薬物代謝に関与する肝ミクロゾームの酵素を誘導するため、体重約 150 g の 5 週令の雄のウィスター系ラットに 75 mg の PCB (カネクロール) を 0.3 ml のコーンオイルに溶解し、腹腔内に 1 回投与した。投与 5 日目には水のみを与え、ラットを断頭屠殺し、肝臓をとり出した。これを冷 150 mM KCl 溶液で洗い、重量を秤り、その重量 (8 g) の 3 倍の冷 KCl 溶液を加え、

テフロンホモジナイザーで磨砕した。このホモジネートを滅菌済み遠沈管にいれ、 $9,000\times g$ で10分間遠心分離し、上清を滅菌済みの試薬ビンに3 ml ずつ分注し、直ちにドライアイスアセトンで凍結後、 -80°C に保存した。

6 薬物代謝活性化酵素 (S9-mix) の調整

S9-分画	$9,000\times g$	上清	3 ml
$\text{MgCl}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$		0.4 M 溶液	0.2 ml
KCl		1.65 M 溶液	0.2 ml
グルコース-6-リン酸		1M 溶液	0.05 ml
グルコース-6-リン酸脱水素酵素		100単位	0.05 ml
NADPH			36.24 mg
リン酸緩衝液 (pH 7.4)		0.25 M 溶液	4 ml
D.I.W.			2.5 ml

以上のうち、S9-分画を除くすべての試薬を混合し、ミリポアフィルターを通して除菌し、最後に S9-分画を加え、混合した。

7 実験操作

a. S9-mix を作用させる場合

陽性対照薬剤 acetylaminofluorene (AAF) をあらかじめ高圧蒸気滅菌した DMSO に溶解し、 $50\text{ }\mu\text{g}/100\text{ }\mu\text{l}$ の薬液を作り、この 0.1 ml を滅菌済み試験管に採り、S9-mix 調整液 0.5 ml と前培養しておいた TA-98 懸濁液 0.1 ml を加えよく混合し、 37°C 20分間振とうさせながらブレインキュベーションした。この後ソフトアガー 2.5 ml を加え、よく混合し、最小グルコース培地上に移し、均一に拡げた。このシャーレを 37°C 、48時間培養し、復帰変異コロニーを計数した。結果は2連の有効数値の平均で示し、陽性対照とした。

試料を用いた本試験では、AAF の代わりに(3)に示した試料を各々 500 μg 、1,000 μg 秤量し、0.1 ml の DMSO に溶かして加え、同様に操作した。

b. S9-mix を作用させない場合

陽性対照薬剤として 4-nitro-quinoline-N-oxide (4NQO) の $0.2\text{ }\mu\text{g}/100\text{ }\mu\text{l}$ の薬液を用いた。操作は S9-mix の代わりに滅菌済みの 100 mM リン酸緩衝液を使用した以外は a. 同様の操作を行った。

Repair test (spore rec-assay)⁹⁾

1 供試菌株

枯草菌の組換え修復欠損株 *Bacillus subtilis* M-45 (rec^-) と、その野生株である *Bacillus subtilis* H-17 (rec^+) を用いた。

2 培地組成

a. 液体培地

粉末酵母エキス	10 g	1,000 ml
粉末牛肉エキス	10 g	D.I.W.
NaCl	5 g	(pH 7.0)

以上を混合、10 ml ずつ小試験管に入れ、高圧蒸気滅菌して冷蔵庫に保管した。

b. 固体培地

上記液体培地に1.5%のアガーを加え、高圧蒸気滅菌後、乾熱滅菌済みのシャーレに 50 ml

ずつ分注した。固化後、シャーレを裏返して、37°C で2日間放置し、培地表面を乾燥して使用した。

3 供試試料

- a. amino-dextran · HCl (AD116)¹²⁾, amino-dextran · HCl (AD244), amino-dextran · HCl (AD245)¹³⁾
- b. methyl 3-amino-3-deoxy- α -D-glucopyranoside · HCl (M3AG), methyl 3-amino-3-deoxy- α -D-mannopyranoside · HCl (M3AM)¹⁴⁾
- c. galactosamin · HCl, glucosamine · HCl, mannosamine · HCl
- d. chitin, chitosan
- e. dextran, pectin, carboxymethylcellulose, galactomannan¹⁵⁾, arabinoxylan¹⁵⁾
- f. arabinose, galactose, glucose, mannose, talose, allose, altrose, gulose

4 菌株の保存及び前培養

固体培地約 10 ml を入れた試験管を高圧蒸気滅菌し、枯草菌 M-45 あるいは H-17 の胞子を少量ずつそれぞれ接種して、37°C で胞子を形成するまで培養し、冷蔵庫に保存した。

前培養は、液体培地約 10 ml を高圧蒸気滅菌し、枯草菌の胞子を少量ずつ接種して、37°C, 16時間 (120往復/min) 振とう培養し、使用時まで氷水中で保存した。

5 実験操作

a. 変異原物質の検索実験

滅菌した DMSO に 4NQO を溶解し、100 μ l あたり 200 μ g, 20 μ g, 2 μ g の対照薬液を作った。これらの 0.02 ml を乾熱滅菌済みの直径 12 mm の円型ろ紙にしみ込ませた。したがって、それぞれのろ紙は、4NQO を 40 μ g, 4 μ g, 0.4 μ g 含むこととなる。ついで、前培養した枯草菌をそれぞれシャーレの固体培地上に混じり合わないよう、ストリークした。

陽性対照実験では、4NQO を 40 μ g, 4 μ g, 0.4 μ g 含むろ紙を、図 1 に示すように滅菌ピンセットで置いた。

糖類の変異原検索実験では、供試糖類を秤量後、0.02 ml の DMSO に溶かし、しみ込ませた直径 12 mm の円型ろ紙を用い、上記同様操作した。

ただちにシャーレを 4°C の冷蔵庫に入れ、そのまま24時間放置した。ついで、37°C で18時

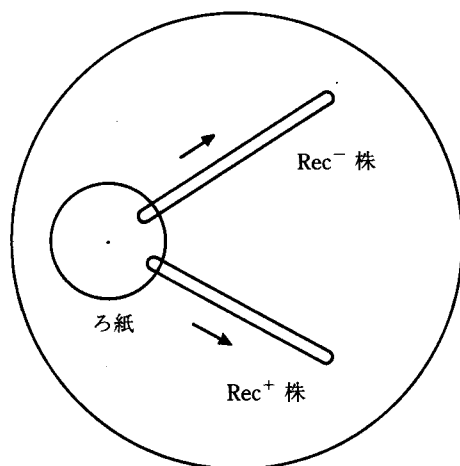


図1 streak の方法およびろ紙の位置

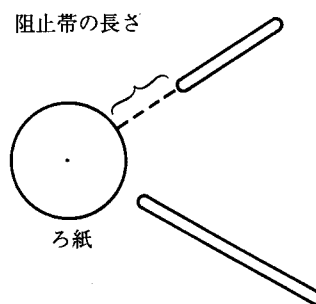


図2 阻止帯の測定

間倒置培養し、図2に示すようにそれぞれの生育阻止帯の長さを測定し、M-45 (rec⁻) と H-17 (rec⁺) の生育阻害の差を求めた。

b. 変異原抑制物質の検索実験

変異原物質の検索実験と異なるのは、陽性対照実験で用いた 4NQO を 40 μ g, 4 μ g, 0.4 μ g 含む 0.02 ml の DMSO 中に、秤量した供試糖類を加えて溶かし、しみ込ませた円型ろ紙を用いていることで、他の操作は同一である。

結果及び考察

Salmonella typhimurium TA-98 株を使用してえられた復帰変異原性試験の結果を表1に示す。

一般に、TA-98 株を用いる Ames テストでは、突然変異原物質が遺伝子に作用して、ヒスチジン合成能を回復するので、ヒスチジン非要求性 (His⁺) となった復帰体のコロニーを数える。

通常、対照試験で一平板に20~30のコロニーを与える条件で、対照の倍以上のコロニー数が観測される場合に、試験物質に“変異原性あり”と判定される。

表1に示すように、amino-dextran は高濃度 (1,000 μ g/disk) では、明らかに変異原性を示すこと、およびこの変異原性が、代謝活性化酵素 S9-mix の添加によって、顕著に増強される

Table 1 The Result of Mutation Test
Mutagenicity assay was carried out using Ames' strain of *Salmonella typhimurium*
TA-98 and histidine reversions were mesured

Compound Tested	Concentration of Compound (μ g/plate)	Mean Number of His ⁺ Revertants Found per Plate	
		With S9-Mix	Without S9-Mix
DMSO	—	9	9
AAF	50	181	
4NQO	0.2		106
AD116	500	16	15
AD116	1,000	241	33
AD244	500	17	13
AD244	1,000	270	63
AD245	500	26	11
AD245	1,000	317	139
M3AG	500	11	9
M3AG	1,000	16	1
M3AM	500	5	5
M3AM	1,000	40	3
GA	500	11	6
GA	1,000	31	5

DMSO : Dimethyl sulfoxide

AAF : Acetylaminofluorene

4NQO : 4-Nitro-quinoline-N-oxide

AD : Amino-dextran · HCl (aminopolysaccharide)

M3AG : Methyl 3-amino-3-deoxy- α -D-glucopyranoside · HCl

M3AM : Methyl 3-amino-3-deoxy- α -D-mannopyranoside · HCl

GA : D-Galactosamine · HCl

ことを見い出した。しかし, amino-dextran を構成する構成アミノ単糖には, 変異原性は認められなかった。

spore rec-assay 法による変異原性判定基準は, *Bacillus subtilis* M-45 (rec⁻) 株と *Bacillus subtilis* H-17 (rec⁺) 株の生育の差 D (mm) の値が, D>4 (同阻止帯比 R>1.2), 4>D>2 (同阻止帯比 R>1.2), D<2 の時それぞれ順に陽性 (+), 疑陽性 (+-), 陰性 (-) とされている¹¹⁾。

表 2 に示すように, アミノ糖類の DNA 損傷試験の結果をみると, 合成アミノ多糖類である, amino-dextran の濃度を 1,000 μ g/disk と大量に使用した場合, AD116 (D=9.5), AD245 (D=11.3) については D>4 を示し陽性と判断される可能性を示したが, H-17 (Rec⁺) 株の生育阻害がみられなかったため陽性と判断されなかった。

Table 2 The Result of Repair Test

Rec-assay was carried out using Kada's strain of *Bacillus subtilis* H-17(Rec⁺) or M-45(Rec⁻) and the length of inhibited zone was measured

Compound Tested	Concentration of Compound (μ g/plate)	Mean Length of Inhibited Zone (mm)		The Difference Between Rec ⁺ and Rec ⁻ (mm)
		Rec ⁺	Rec ⁻	
DMSO	—	0	0	0
4NQO	0.4	0	13.0	13.0
4NQO	4	9.8	26.8	17.0
4NQO	40	20.5	36.5	16.0
AD116	500	0		0
AD116	1,000	0	9.5	9.5
AD244	500	0	0	0
AD244	1,000	0	0	0
AD245	500	0	11.3	11.3
AD245	1,000	0	7.3	7.3
M3AG	500	0	0	0
M3AG	1,000	0	0.5	0.5
M3AM	500	0	0	0
M3AM	1,000	0	0	0
Chitin	20	0	0	0
Chitin	1,000	0	1.2	1.2
Chitosan	20	0	0	0
Chitosan	400	0	0	0
GUA	20	0	0	0
GUA	600	0	0	0
MNA	20	0	0	0
MNA	1,000	0	1.5	1.5

DMSO : Dimethyl sulfoxide

4NQO : 4-Nitro-quinoline-N-oxide

AD : Amino-dextran · HCl (aminopolysaccharide)

M3AG : Methyl 3-amino-3-deoxy- α -D-glucopyranoside · HCl

M3AM : Methyl 3-amino-3-deoxy- α -D-mannopyranoside · HCl

GUA : D-Glucosamine · HCl MNA : D-Mannosamine · HCl

amino-dextran を構成するアミノ単糖を含めて、他のアミノ糖類はすべて陰性と判定された。

表 3 に示すように、中性糖類の DNA 損傷試験の結果をみると、1,000 $\mu\text{g}/\text{disk}$ と大量に使用した場合に tallose (D=8.3, R=1.6) 陽性, allose (D=2.7, R=2.2) 疑陽性と判定された。

天然多糖類および他の中性単糖類については陰性と判断された。

Table 3 The Result of Repair Test

Rec-assay was carried out using Kada's strain of *Bacillus subtilis* H-17(Rec⁺) or M-45(Rec⁻) and the length of inhibited zone was measured

Compound Tested	Concentration of Compound ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Mean Length of Inhibited Zone (mm)		The Difference Between Rec ⁺ and Rec ⁻ (mm)
		Rec ⁺	Rec ⁻	
DMSO	—	0	0	0
4NQO	0.4	0	9.0	9.0
4NQO	4	1.0	21.0	20.0
4NQO	40	4.5	32.0	27.5
Pectin	1,000	0	0	0
Dextran	1,000	0	0	0
CMC	1,000	0	0	0
GM	1,000	0	0	0
AX	1,000	0	0	0
Galactose	20	0	0	0
Galactose	1,000	0	0	0
Glucose	20	0	0	0
Glucose	1,000	0	0	0
Mannose	20	0	0	0
Mannose	1,000	0	0	0
Talose	500	0	0	0
Talose	1,000	14.0	22.3	8.3
Allose	500	0	0	0
Allose	1,000	2.3	5.0	2.7
Altrose	500	0	0	0
Altrose	1,000	4.0	4.5	0.5
Gulose	500	0	0	0
Gulose	1,000	0.8	2.0	1.2

DMSO : Dimethyl sulfoxide

4NQO : 4-Nitro-quinoline-N-oxide

CMC : Carboxymethyl cellulose

GM : Galactomannan

AX : Arabinoxylan

表 4 に示すアミノ糖類の DNA 損傷抑制試験の結果をみると、4NQO (濃度 4 $\mu\text{g}/\text{disk}$) 中にアミノ糖類 (濃度 1,000 $\mu\text{g}/\text{disk}$) を大量に加えた場合には、アミノ多糖およびアミノ単糖すべてに DNA 損傷抑制効果ありと判定された。

表 5 に示すように、中性糖類の DNA 損傷抑制試験の結果をみると、4NQO (濃度 4 $\mu\text{g}/\text{disk}$) 中に 6 単糖 (濃度 1,000 $\mu\text{g}/\text{disk}$) を大量に加えた場合には、6 単糖すべてに DNA 損傷抑制効果はなく、むしろ 4NQO と共力して DNA 損傷を増大させていると判定された。

Table 4 The Result of Repair Test

Rec-assay was carried out using Kada's strain of *Bacillus subtilis* H-17(Rec⁺) or M-45(Rec⁻) and the length of inhibited zone was mesured

Compound Tested	Concentration of 4NQO (μ g/plate)	Mean Length of Inhibited Zone (mm)		The Difference Between Rec ⁺ and Rec ⁻ (mm)
		Rec ⁺	Rec ⁻	
DMSO	—	0	0	0
4NQO	0.4	0	8.0	8.0
4NQO	4	10.9	33.0	22.1
4NQO	40	19.2	36.2	17.0
AD245	0.4	0.8	9.8	9.0
	4	10.5	27.7	17.2
	40	21.3	37.8	16.5
Chitosan	0.4	0	6.2	6.2
	4	19.3	28.7	9.4
	40	20.5	34.8	14.3
M3AG	0.4	0	7.5	7.5
	4	14.2	31.7	17.5
	40	23.5	40.5	11.5
M3AM	0.4	0	9.3	9.3
	4	16.6	29.8	13.2
	40	22.2	32.8	10.6
GUA	0.4	5.0	9.0	4.0
	4	12.3	23.8	11.5
	40	21.3	35.5	14.2
MNA	0.4	3.7	13.5	9.8
	4	21.8	28.5	6.7
	40	28.8	39.5	10.7
GAA	0.4	0	8.4	8.4
	4	17.8	34.8	17.0
	40	24.0	37.5	13.5

Weight of each suger was 1,000 μ g per plate

DMSO : Dimethyl sulfoxide 4NQO : 4-Nitro-quinoline-N-oxide

AD : Amino-dextran · HCl (aminopolysaccharide)

M3AG : Methyl 3-amino-3-deoxy- α -D-glucopyranoside · HCl

M3AM : Methyl 3-amino-3-deoxy- α -D-mannopyranoside · HCl

GUA : D-Glucosamine · HCl MNA : D-Mannosamine · HCl

GAA : D-Galactosamine · HCl

要 約

1. *Salmonella typhimurium* TA-98 株を用いた Ames テストでは, amino-dextran は高濃度 (1,000 μ g/disk) で, 明らかに変異原性を示し, またこの変異原性が, 代謝活性化酵素 S9-mix の添加によって, 顕著に増強されることを見出した。しかし, amino-dextran を構成する構成アミノ単糖には, 変異原性は認められなかった。

2. *Bacillus subtilis* M-45 (rec⁻) および H-17 (rec⁺) 株を用いた spore rec-assay の結果から, アミノ糖類には DNA 損傷作用はなく, むしろ逆の DNA 損傷抑制効果ありと判定された。

3. spore rec-assay 法の結果から, 中性糖類の tallose は陽性, alose は疑陽性と判定され,

Table 5 The Result of Repair Test

Rec-assay was carried out using Kada's strain of *Bacillus subtilis* H-17(Rec⁺) or M-45(Rec⁻) and the length of inhibited zone was measured

Compound Tested	Concentration of 4NQO (μ g/plate)	Mean Length of Inhibited Zone (mm)		The Difference Between Rec ⁺ and Rec ⁻ (mm)
		Rec ⁺	Rec ⁻	
DMSO	—	0	0	0
4NQO	0.4	0	6.0	6.0
4NQO	4	3.0	8.3	5.3
4NQO	40	25.0	41.0	16.0
Tallose	0.4	2.0	2.5	0.5
	4	3.5	43.5	40.0
	40	3.9	47.0	43.1
Allose	0.4	0.8	2.5	1.7
	4	10.5	23.0	11.5
	40	32.5	—	—
Altrose	0.4	0.8	2.0	1.2
	4	2.3	38.5	36.2
	40	18.5	—	—
Gulose	0.4	0	6.3	6.3
	4	10.3	21.0	10.7
	40	25.1	31.0	5.9

Weight of each suger was 1,000 μ g per plate

DMSO : Dimethyl sulfoxide

4NQO : 4-Nitro-quinoline-N-oxide

さらに 4NQO と共力して DNA 損傷を増大させていると判定された。

Summary

The mutagenicity tests of some synthetic amino or natural sugars were carried out.

Synthetic aminopolysaccharide, amino-dextran was mutagenic to Ames' strain of *Salmonella typhimurium* TA-98 after incubation with S9-mix.

The DNA-damaging activity of some sugars in spore rec-assay using Kada's strain of *Bacillus subtilis* M-45 (rec⁻) and H-17 (rec⁺) was negative except talose.

謝 辞

この研究を行うにあたり、貴重な菌株を供与いただきました国立遺伝学研究所 賀田恒夫元部長、ご助言をいただきました九州大学農学部 大村浩久元教授、桑野栄一助教授、宮崎大学農学部 水光正人助教授ならびに菌株及び酵素類の超低温保存を引き受けていただきました広島県衛生研究所 岸本敬之元部長に深く感謝致します。

引用文献

- 1) 賀田恒夫：変異原リストについて，田島弥太郎，賀田恒夫，近藤宗平，外村晶編 環境変異原実験法 (講談社)，pp. 270-347 (1980)
- 2) K. Herrmann: Flavols and flavones in food plant, J. Food Technol. **11**, 433 (1976)
- 3) T. Sugimura, M. Nagao, T. Matsushima, T. Yahagi, Y. Seino, A. Shirai, M. Sawamura, S. Natori, K. Yoshihira, M. Fukuoka and M. Kuroyanagi: Mutagenicity of flavone derivatives, Proc. Jap. Acad. **53**, 194 (1977)
- 4) T. Sugimura, S. Sato, M. Nagao, T. Yahagi, T. Matsushima, Y. Seino, M. Takeuchi, T. Kawachi: Overlapping of carcinogens and mutagens, In Fundamentals in Cancer prevention; P. N. Magee, S. Takeyama, T. Sugimura and T. Matsushima ed., Univ. Tokyo Press, Tokyo/Univ. Park Press, Baltimore, pp. 191-215 (1976)
- 5) T. Kada: *Escherichia coli* mutagenicity of furylfuramide, Jap. J. Genet. **48**, 301 (1973)
- 6) 河内 卓：食物に含まれる突然変異原物質とがん原物質，食品衛生研究 **29**, 11 (1979)
- 7) 石館 基：変異原性試験法によるがん原性物質のスクリーニング，食品衛生研究 **30**, 557 (1980)
- 8) 矢作多貴江：突然変異テスト—サルモネラ菌，田島弥太郎，賀田恒夫，近藤宗平，外村晶編 環境変異原実験法 (講談社)，pp. 56-67 (1980)
- 9) 賀田恒夫：修復テスト—Rec-assay 実験法，田島弥太郎，賀田恒夫，近藤宗平，外村晶編，環境変異原実験法 (講談社)，pp. 47-55 (1980)
- 10) 豊田正武，小川義之，川崎浩之進，齊藤行生：フライに用いた菜種油の変異原性試験について，食衛誌，**27**, 421 (1986)
- 11) 石崎睦雄，上野清一：天然及び合成食品添加物の DNA 損傷活性 (その5)，食衛誌，**30**, 447 (1989)
- 12) K. Maekawa, Y. Miyoshi and K. Tsuru: Nitro-and Amino-polysaccharide Formation from Dextran, Agr. Biol. Chem., **40**, 1951 (1976)
- 13) 三好康之，前川一之：Aminodextran の改良合成とその高分子的挙動，広島文教女子大学紀要，**16**, 109 (1981)
- 14) 三好康之：3-Aminodextran に関する研究，九州大学農学部農薬化学研究室報告，pp. 64-66 (1975)
- 15) 福本寿一郎，辻坂好夫，竹西繁行：ヘミセルラーゼに関する研究 (第1報)，農化，**44**, 447 (1970)

—平成4年9月30日 受理—