

中間評価調書

整理番号	7	研究課題名	化学物質の DNA 損傷性簡易検索法の開発とその応用
研究概要		<p>これまで、生体防御因子の一つとされる抗変異原物質の活性を簡便に検索できる、Spore rec-assay を利用した抗変異原物質のスクリーニング法(J. Health Sci., 46: 29-34, 2000)及び、市販の簡易培地を用いた Spore rec assay による変異原性物質の簡易検索法(食品衛生学雑誌, 43: 44-48, 2002)を開発した。この Spore rec-assay は、被検物質の枯草菌野生株と変異株に対する感受性の差を比較することにより、DNA 損傷性の有無を判断する方法であることから、本調査研究では、Spore rec-assay よりも更に生体に近い実験系で変異原性物質を検出できる方法を確立し、これを食品等に含まれる生体防御因子の検索に利用することを目的とする。そのため、細菌や哺乳動物の DNA と被検物質とを直接反応させ、その開裂や切断を検出する方法を検討する。</p> <p>(1) DNA (スーパーコイル及び子牛胸腺 DNA 等) と被検物質との反応系 (2) DNA 鎖切断もしくは開裂を検出するためのアガロースゲル電気泳動やキャピラリー電気泳動条件 種々の DNA 損傷性物質による適用性</p>	
進捗状況		<p>DNA と被検物質との反応条件及びアガロースゲル電気泳動条件に関しては、ほぼ検討が終わり、DNA 損傷性物質を用いた適用性についても、一部検討した。</p>	
研究の成果		<p>DNA 溶液 2 μL と被検物質溶液 50 μL を反応させ、その反応液 40 μL に Loading buffer 10 μL を加え、その 10 μL をアガロースゲル電気泳動に供する方法で、Trp-P-1 とマイトマイシン C (Mit. C) の開裂もしくは切断パターンを検討した。その結果、Trp-P-1 を添加した DNA の泳動パターンには変化が認められたが、Mit. C を添加した系には変化が認められなかった。</p>	
今後の計画		<p>Trp-P-1 や Mit. C による適用性の検討は、DNA 0.5 μg に対し、100 μg と高濃度であったため、低濃度における検討や、Trp-P-1 や Mit. C 以外の変異原による検討と同時に、更に、キャピラリー電気泳動による DNA 鎖切断あるいは開裂の検出法に関しても検討を加える。</p>	