

# 27PB-am088

in vitro 遺伝毒性試験法 BlueScreen™ HC の自動化と毒性スクリーニング試験への適用性の検証

○赤堀 容子<sup>1,2</sup>, 藤井 義峰<sup>1,2</sup>, 鈴木 恭介<sup>1,2</sup>, 村山 宣之<sup>1,2</sup>, 高橋 雅行<sup>1,2</sup> (¹第一三共 RD ノバーレ, ²分析研究部)

【目的】BlueScreen™ HC は、DNA 修復遺伝子 GADD45a にレポーター遺伝子 Gausia Luciferase を組み込んだ遺伝子を安定発現したヒトリンパ芽球 TK6 細胞を用いる遺伝毒性試験法である。今回 BlueScreen™ HC に自動分注機を組み合わせ、自動化した系を確立し、欧州動物実験代替法評価センター (EURL ECVAM) より公表された遺伝毒性陽性および陰性の 61 化合物<sup>1)</sup> を評価してスクリーニング試験への適用性を検証した。

【方法】BlueScreen™ HC は Gentronix limited (Alderley Edge, UK) より購入したキットを使用した。被験物質の DMSO 溶液 (50 mg/mL) を精製水で 50 倍希釈し、さらに段階希釈後 96well plate に分注した。それぞれのウェルに GLuc-T01 24e1 cell line (遺伝子導入 TK6 細胞, Gentronix) 懸濁液  $1.9 \times 10^4$  cells/75 $\mu$ L を添加し、37°C、5%CO<sub>2</sub> 中で 48h インキュベートし、coelenterazine を添加して発光強度を測定することにより DNA ダメージによる遺伝毒性を評価した。さらに試験後 thiazole orange と cell lysate buffer を添加して蛍光強度を測定し、細胞毒性をあわせて評価した。

【結果および考察】自動化された BlueScreen 試験での Sensitivity は 91% (20/22)%、Specificity は 95% (37/39) で、高い陽性一致率、陰性一致率が得られた。またこれらの値は Ames 試験での結果と比べて同等以上であった。さらに今回自動化された BlueScreen 試験は、少量の化合物で評価が可能でスループットも高いことから、探索初期のスクリーニングに適している評価法であることが確認された。

<sup>1)</sup> Kirklanda et al., Mutation Research 795 (2016) 7-30.