

微生物の SOS 反応を利用した *umu* 試験の開発とその国際貢献

小田 美光*

大阪信愛女学院短期大学

Human and Environment Vol. 10 (2017)

Development of *umu* Test Based on SOS Response in Bacteria and Its International Contribution

Yoshimitsu Oda

Institute of Life and Environmental Sciences, Osaka Shin-Ai College

Abstract. Ambient radiation and chemical mutagens in environment can have adverse effects on health. Genotoxicity studies conducted using different microorganisms have proven to be effective in identifying potential mutagens and carcinogens in the environment. Using a *Salmonella typhimurium* TA1535/pSK1002 tester strain, a rapid genotoxicity assay (*umu* test) based on SOS response in bacteria has been developed for screening environmental samples, foods and medicines. This test has been widely used to predict the detection of DNA-damaging chemicals in environmental genotoxicity field for three decades. We also developed the sensitive *umu* tester strains for detecting nitroarenes, aromatic amines, dihaloalkanes, and alkenylbenzenes by using different genetically engineered *umu* test systems, which introduced bacterial and rat or human phase I and II drug metabolizing enzyme genes into *umu* tester strains. Furthermore, we developed new high throughput *umu*-microplate assay systems to evaluate genotoxicity of small-volume environmental samples. The assay method has been adopted in Japan as the official method for water and wastewater test. Following several modifications, it is used as German standard water and wastewater testing method (DIN 38415-3) and Malaysian standard method. Furthermore, this test was approved as International standardization organization standards (ISO13829). The *umu* test has been evaluated as a genotoxic test method contributing to the society widely globally in this way.

Key words: *umu* test • carcinogen • genotoxicity • microorganism

1. はじめに

私は 30 数年間に渡って *umu* 試験を用いた研究を行い、その成果を日本環境変異原学会で発表をしてきた。今回（第 45 回日本環境変異原学会大会、2016 年 11 月 17 日）、「微生物の SOS 反応を利用した *umu* 試験の開発とその国際貢献」の題目で「功労賞」を受賞した。

*大阪信愛女学院短期大学生命環境総合研究所(客員教授)

〒538-0053 大阪市鶴見区鶴見 6-2-28

E-mail: oda.1948@hotmail.com

受付：2017 年 1 月 14 日 受理：2017 年 1 月 20 日

©2017 大阪信愛女学院短期大学

The SOS response

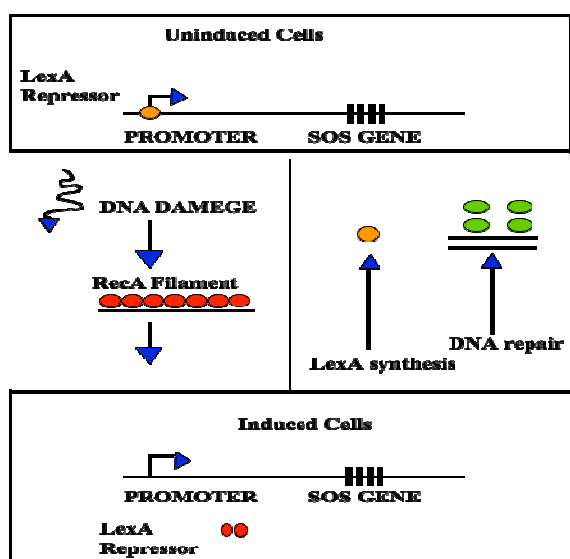


Fig. 1. The SOS response.

Table 1. SOS response-dependent genotoxicity test using bacteria

Test	SOS gene	Reporter gene(s)	Host strain
<i>umu</i> test	<i>umuDC</i>	<i>lacZ</i>	<i>S. typhimurium</i> TA1535
SOS chromotest	<i>sulA</i>	<i>lacZ</i>	<i>E. coli</i> PQ37
SOS <i>lux</i> test	<i>cda</i>	<i>luxCDABFE</i>	<i>S. typhimurium</i> TA1535
VITOTOX™	<i>recA</i>	<i>luxCDABE</i>	<i>S. typhimurium</i> TA104
<i>sulA</i> -test	<i>sulA</i>	<i>lacZ</i>	<i>S. typhimurium</i> TA1535
<i>recA::lux</i>	<i>recA</i>	<i>luxCDABE</i>	<i>E. coli</i> RFM443
<i>nrdA::lux</i>	<i>nrdA</i>	<i>luxCDABE</i>	<i>E. coli</i> RFM433
<i>recA::gfp</i>	<i>recA</i>	<i>gfpmut3</i>	<i>E. coli</i> C600
<i>cda::gfp</i>	<i>cda</i>	<i>gfpmut3</i>	<i>S. typhimurium</i> TA1535
<i>recA::DsRed</i>	<i>recA</i>	<i>DsRed2</i>	<i>E. coli</i> UTL2

受賞講演では、(1)微生物の SOS 反応を利用した *umu* 試験の評価に関する研究、(2)ニトロアレーン、芳香族アミンを高感度に検出できる *umu* 試験の開発に関する研究、(3)ラット、ヒトの薬物代謝酵素遺伝子を導入した *umu* 試験株の開発とそれら酵素の役割に関する研究、(4)ハイスループット化した *umu* 試験法の開発に関する研究、および (5)*umu* 試験法の国際的貢献について述べた。本稿では、その内容を記す。

2. SOS 反応

微生物の SOS 反応[1]を Fig. 1 に示す。SOS 反応とは、化学物質によって微生物の DNA に損傷を与えると緊急時の SOS 信号を発して細胞分裂を停止したり、DNA の傷を修復することにより生存を図る適応応答の反応である。SOS 反応は *recA* と *lexA* の両遺伝子によって調節をされている。正常状態では、LexA レプレッサー蛋白質が SOS 遺伝子の発現を抑制している。

Principle of *umu* test

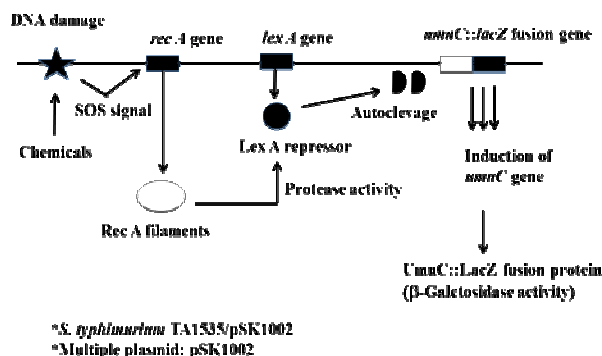


Fig. 2. Principle of *umu* test.

一方、化学物質により DNA 損傷を与えると SOS シグナルが RecA 蛋白質を活性化し、LexA レプレッサー蛋白質を自己融解することにより、SOS 遺伝子が誘導される。その後、DNA が修復されて LexA 蛋白質が合成され、元の正常状態に戻る。

3. SOS 反応依存の試験

Table 1 に示すように、今までに *umu* 試験 [2] 以外に、SOS 反応に依存した多くの試験が発表されている。それらの試験は、大腸菌やネズミチフス菌を用いて SOS chromotest [3]、SOS *lux* test [4]、VITOTOX™ [5]、*sulA* test [6]、*recA::lux* [7]、*nrd::luxCDABE* [8]、*recA::gfp* [9]、*cda::gfp* [10]、および *recA::DsRed* [11] があり、使っている SOS 遺伝子は、*umuDC*、*sulA*、*cda*、*recN*、*recA*、*nrdA* 遺伝子である。

レポーター遺伝子として、*lacZ*、*lux*、*gfp* などが用いられている。これらの SOS 試験法としては、*umu* 試験と SOS chromotest が最も汎用されている。

4. *umu* 試験の原理

Fig. 2 は、*umu* 試験の原理を示す。*umu* 試験では、ネズミチフス菌 TA1535/pSK1002 を用いて、菌体内にはマルチコピー型プラスミドの *umu::lacZ* 融合遺伝子を持つ pSK1002 が導入されている。化学物質によって DNA 損傷を与えると SOS シグナルが出て、活性化した RecA filament が LexA 蛋白質の自己消化を進めて LexA 蛋白質を自己融解する。その結果、*umuC::lacZ* 融合遺伝子が誘導される。

この融合蛋白質は β-ガラクトシダーゼ活性を持っているのでその活性を測定することにより、*umuC* 遺伝子の誘導の有無を判定する。

Table 2. Characteristics of *umu* test and Ames test for predicting carcinogenicity with 83 NTP

Measure	<i>umu</i> test results(%)	Ames test results (%)
Sensitivity	57(30/50)	47(25/33)
Specificity	87(26/30)	90(27/30)
Concordance	67(56/83)	63(52/83)

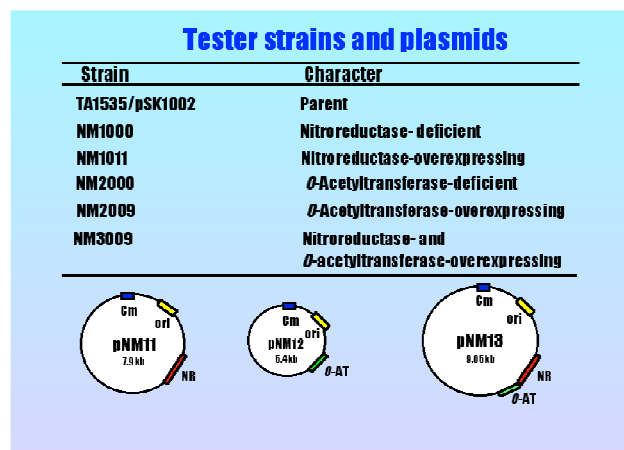


Fig. 3. Tester strains and plasmids.

5. *umu* 試験と Ames 試験の結果

Table 2 は、*umu* 試験の結果と Ames 試験の結果が発がん性との関係を 83 の NTP 化学物質を用いて比較をした[12]。Sensitivity は、発がん性陽性物質と *umu* 試験陽性物質との割合を%で示している。Specificity は、発がん性陰性物質と *umu* 試験陰性物質との割合を%で示している。Concordance は、発がん性陽性陰性物質と *umu* 試験陽性陰性物質の合わせたものの割合を%で示している。

Sensitivity は *umu* 試験では 57%、Ames 試験では 47%であり、Specificity は *umu* 試験では 87%、Ames 試験では 90%である。Concordance は、*umu* 試験では 67%であり、Ames 試験では 63%であった。*umu* 試験と Ames 試験との結果がよく似ていることを示唆している。

6. 新たな試験菌株の開発と感受性

次に、大気、水、食品などの混合物中に広く存在している発がん性ニトロアレーンと芳香族アミンを高感度に検出できる試験菌株の開発をした[13,14] (Fig. 3)。サルモネラ由来のニトロ還元酵素遺伝子をもつプラスミド (pNM11)を導入して NM1011 株を作製し、O-アセチル転移酵素遺伝子をもつプラスミド(pNM12)を導入して NM2009 株を作製し、両酵素遺伝子をもつプラスミド(pNM13)を導入して NM3009 株を作製した。

Table 3. Sensitivity of *umu* test strains overexpressing nitroreductase and/or O-acetyltransferase

Chemical	S9	Ratio of minimal concentration (μM)		
		TA1535/pSK1002	NM2009	M3009
1-nitropyrene	—	x 1	ND	x 250
1,8-dinitropyrene	—	x 1	ND	x 262
MMS	—	x 1	ND	x 64
2-AA	+	x 1	x 7	ND
MeIQ	+	x 1	x 95	ND
IQ	+	x 1	x 160	ND

ND: not determined

Table 4. Development of newly *umu* test system expressing rat and human drug metabolic Phase I and II enzymes

- Human cyochrome 450s and NADPH-P450 reductase
- Human N-acetyltransferases
- Human sulfotransferases
- Rat glutathione S-transferase 5-5

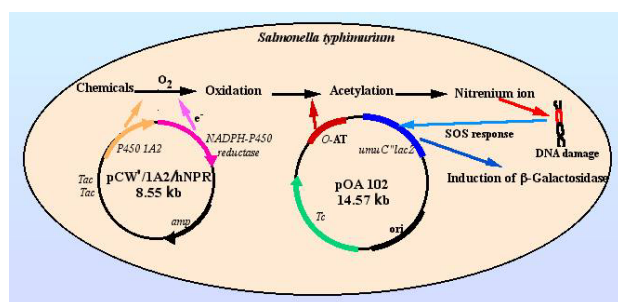
開発した試験菌株のニトロアレーンや芳香族アミンに対する感受性を検討した (Table 3)。その結果、NM3009 株は親株に比べて 1-ニトロピレン、1,8-ジニトロピレンおよび MMS は、それぞれ 250 倍、262 倍、64 倍と感度良く検出できた[13]。また、NM2009 株は S9 存在下で 2-アミノアントラセン、MeIQ および IQ をそれぞれ 7, 95, 160 倍と高感度で検出できることが明らかになった[14]。これらの菌株は、大気汚染物質や河川の試料にも応用できることが解った。

薬物代謝活性化を必要とする化学物質の場合は、一般に細胞の外にラットの S-9 を添加して実験をしている。細胞内に薬物代謝酵素を発現させれば、より高感度に検出できるのではないかと考え、細胞内にラットやヒトの薬物代謝の第 I 相と II 相の酵素を発現する *umu* 試験系を開発した。それらの酵素は、ヒトのチトクローム P450 と NADPH-P450 還元酵素、ヒト N-アセチル転移酵素、ヒト硫酸転移酵素およびラットグルタチオン S-転移酵素 5-5 を発現する試験菌株をそれぞれ作製した [15,16, 17, 18] (Table 4)。

Table 5 は、ラットとヒトの第 I 相と第 II 相の薬物代謝酵素を発現する *umu* 試験菌株の樹立を示す。左上にはヒトの 8 種類のチトクローム P450 (CYP) 分子種の遺伝子を導入して作製した試験菌株を示す。CYP1A1 と CYP1B1 発現株は、多環芳香族炭化水素 (PAH)、芳香族アミン (arylamine) を CYP1A2 発現株は芳香族アミンを検出でき、CYP2E1 と CYP2A6 発現株はニトロソアミンを CYP3A4 発現株はアフラトキシン B₁ を検出できる[15]。ヒト N-アセチル転移酵素 1 と 2 発現株は、芳香族アミンとニトロアレーンを検出できる[16]。

Table 5. Establishment of *umu* tester strains expressed human metabolic enzymes

<i>S. typhimurium</i>	Character	Detection
OY1002/1A1	Human CYP1A1 and NADPH-CYP-reductase and O-AT	PAH, Arylamines
OY1002/1A2	Human CYP1A2 and NADPH-CYP-reductase and O-AT	Arylamines
OY1002/1B1	Human CYP1B and NADPH-CYP-reductase and O-AT	PAH, Arylamines
OY1002/2C9	Human CYP2C9 and NADPH-CYP-reductase and O-AT	
OY1002/2D6	Human CYP2D6 and NADPH-CYP-reductase and O-AT	
OY1002/2E1	Human CYP2E1 and NADPH-CYP-reductase and O-AT	Nitrosoamines
OY1002/3A4	Human CYP3A4 and NADPH-CYP-reductase and O-AT	Aflatoxins
OY1002/2A6	Human CYP2A6 and NADPH-CYP-reductase and O-AT	Nitroarenes
NM6001	Human <i>N</i> -acetyltransferase 1	Arylamines, Nitroarenes
NM6002	Human <i>N</i> -acetyltransferase 2	Arylamines, Nitroarenes
NM7001	Human sulfotransferase 1A1	Arylamines, Benzylic alcohols
NM7002	Human sulfotransferase 1A2	Arylamines, Benzylic alcohols
NM7003	Human sulfotransferase 1A3	Alkenylbenzenes
NM5004	*Rat glutathione s-transferase	Dihaloalkanes

Fig. 4. SOS *umu* test system.Table 6. Comparison of results of *umu* test and Ames test to dihaloalkanes in strain expressing rat glutathione S-transferase

Chemicals	<i>umu</i> test system		Ames test system	
	GST(+)	GST(-)	GST(+)	GST(-)
1,2-dibromoethane	+++	-	+++	-
N-[2,3-epoxypropyl]phthalimide	+++	+		-
1,3-dichlororoacetone	++	+	+++	+
CH ₂ Cl ₂	++	-		
1,2-epoxy-3-phenoxypropane	+	-		
2,3-epoxypropyl p-methoxyphenyl ether	+	-		
1-bromo-2-chloroethane	+	-		
1-bromo-2,3-dichloropropane	+	-		
CH ₂ BrCl	+	-	+	-
CH ₂ Br ₂	+	-	++	-

ヒト硫酸転移酵素 1A1 と 1A2 発現株は、芳香族アミンとベンチルアルコールを、1A3 発現株は、アルキニー

ルベンゼンを検出できる[17]。ラットグルタチオン *S*-トランスフェラーゼ発現株は、ジハロアルカンを検出できることが明らかになった[18, 19]。

Fig. 4 はヒトの CYP1A2 を発現する *umu* test system の概要を示す[15]。バクテリアの細胞内には CYP1A2 とその還元酵素遺伝子を持つプラスミドとアセチル転移酵素と *umuC::lacZ* 遺伝子をもつプラスミドを導入してある。ヘテロサイクリックアミンを細胞に処理すると CYP とその還元酵素により酸化された水酸化代謝産物は、さらにアセチル転移酵素によりアセチル化され、その代謝産物がアリルニトロニウムイオンを産生し、DNA を損傷して *umuC* 遺伝子が誘導される。

一般的にはグルタチオン *S*-転移酵素は化学物質を解毒する役割をしていることが報告されている。しかし、逆に化学物質を代謝活性化することも知られている。ジハロアルカンの内 1,2-ジクロロエタンが、最近ヒトで胆嚢癌を起こすことがわかり問題になっている。

Table 6 は、ラット GST を発現する NM5004 株を用いてジハロアルカンの遺伝毒性作用を検討した結果を示す[18]。1,2-ジブromoエタン、1,3-ジクロロアセトンなどジハロアルカンは、親株に比べて強い遺伝毒性を示す。同様に、Ames 試験でも GST 発現株が親株よりも変異原性が強いことがわかる。これらの結果は、GST がジハロアルカンの代謝活性化に関与していることを示唆している。

7. ハイスループット化した *umu* 試験の開発

我々の環境中には微量の変異原物質や発がん物質が存在する。これらの発がん物質を検出するためには、微量の試料の遺伝毒性を評価できる検出系を開発することが必要となる。そこで、我々は *umu* 試験の規模を小さくしたマイクロプレートを用いたハイスループット化した *umu* 試験を開発した[20]。

Fig. 5 は、ハイスループット化した *umu* 試験の方法を示す。概略を述べると菌株を前培養後、1.5 時間対数増殖期の菌液を作製し、数μl の試料と菌液 100 μl を 96 穴のマイクロタイタープレートに加えて 2 時間振盪培養する。その後、菌液の濁度 A₅₉₅ を測定する。別のプレートで β-ガラクトシダーゼの基質を加えて酵素反応をする。赤色に発色した吸光度 A₅₇₀ を比色計で測定し、Relative β-galactosidase activity = A₅₇₀ / A₅₉₅ を計算する。陰性対照の 2 倍以上の活性値を陽性と判定する。実際、この方法を用いて我々は大気や河川の試料の遺伝毒性を検討した結果を報告している。また、他国でも多くの報告がなされている。更に、この方法は微量の新薬等のスクリーニングのために適用ができると思う。

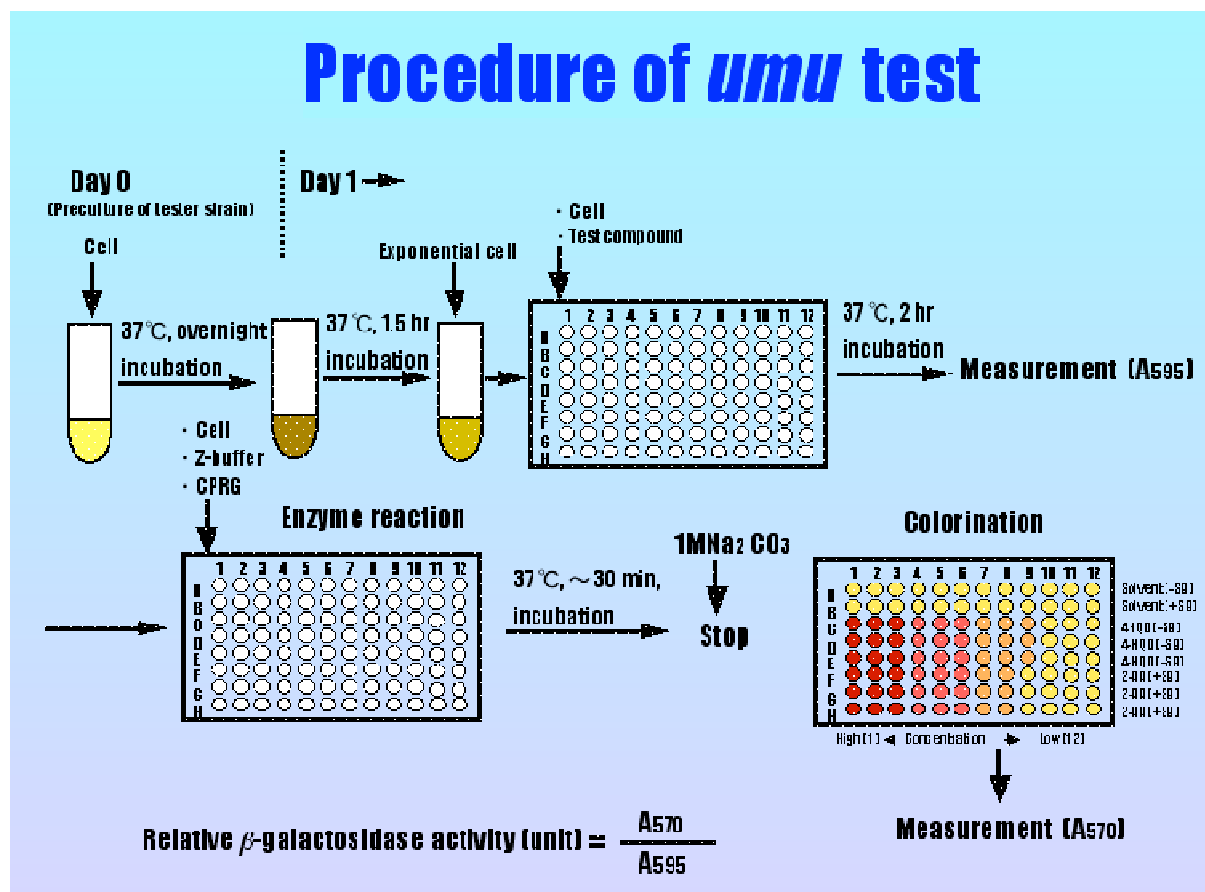


Fig. 5. Procedure of *umu* test.

Table 7. Standard methods for the determination of the genotoxicity of water and wastewater using *umu* test

Year	Description	Country
1993	An official method of the water supply test method (21)	Japan
1995	A standard method of the genotoxicity of water and wastewater (DIN 38415 T3) (23)	Germany
1997	An official method of the wastewater test method (22)	Japan
2000	A genotoxicity test of water and wastewater in International standardization Organization (ISO) Standards (ISO/CD 13829) (24)	ISO
2008	A standard method of the genotoxicity of water and wastewater (MS ISO13829) (25)	Malaysia

Table 8. Available *umu* test kit

✧	Umulac AT-F kit: ProteinPurify Co. LTD (Japan)
✧	UMU-chromo Test kit: Environmental bio-detection products inc. (Canada)
✧	UMU Genotoxicity Test Kit: MOLTOX ^R , Molecular Toxicology, inc (USA)
✧	<i>umuC</i> Easy AQ Genotoxicity Assay Kit: ANIARA. Com (USA)

8. *umu* 試験の国際貢献

我々は、*umu* 試験に関する論文を 1985 年に始めて Mutation Research に出版した。この論文は、現在 590 回引用されている [2]。

umu 試験は、国際的に水、排水の遺伝毒性試験の公定法として採用されている (Table 7)。まず日本では 1993 年と 1997 年に上水、下水の公定法に採用された [21, 22]。1995 年には、ドイツで、2000 年には ISO で水、排水の遺伝毒性試験の標準法として承認された [23, 24]。最近では、マレーシアで遺伝毒性試験の標準法として用いられている [25]。

9. *umu* 試験のキットの開発

我々は、ウムラック AT と名付けた *umu* test キットを開発した。また、独立してカナダやアメリカでも *umu* test キットが発売されている (Table 8)。

謝辞

この研究は下に示しました研究者やそれ以外の研究者を含む多くの共同研究者のご指導・ご協力によってなされたものです。ここに感謝をする次第です。その中で、初期の*umu* 試験の開発の研究では、大阪府立公衆衛生研究所の中村清一博士（当時）・大阪大学微生物病研究所の品川日出夫教授（当時）にご指導・ご協力いただきました。微生物の代謝酵素の遺伝子導入による高発現な試験株の開発に関する研究については、国立食品医薬品衛生研究所の渡辺雅彦博士（当時）・能美健彦博士（当時）および京都薬科大学の渡辺徹志教授にご協力を頂きました。ラットおよびヒトの薬物代謝酵素発現株の研究では、大阪府立公衆衛生研究所の山崎浩史博士（当時）、島田 力博士（当時）およびバンダービルト大学のゲンゲリッチ教授との共同研究で行いました。*umu* 試験のハイスループット化の研究では、大阪市立環境科学研究所の船坂邦宏博士、ヨハンスグーテンベルグ大学のRudolf K. Zhan 教授とGeorg Reifferscheid 博士、中国科学院生態環境研究中心の楊敏博士の共同研究で行いました。今回の功労賞候補者に推薦して下さいました羽倉昌志博士に深謝いたします。

本稿がきっかけで*umu* 試験を少しでも興味を持って頂ければ幸いです。

Acknowledgement

- Hideo Shinagawa, Osaka University Microbial Institute
- Seiichi Nakamura, Osaka Prefectural Institute of Public Health
- Tsutomu Shimada, Osaka Prefectural Institute of Public Health
- F. P. Guengerich, Vanderbilt University School of Medicine
- R. K. Zahn, Johannes Gutenberg Universitat
- G. Reifferscheid, Johannes Gutenberg Universitat
- Takehiko Nohmi, National Institute of Health Sciences
- Tetsushi Watanabe, Kyoto Pharmaceutical University
- Kunihiro Funasaka, Osaka City Environmental Science Institute
- Hiroshi Mochida, Pro-purify Co. Jp
- Min Yang, Chinese Academy of Sciences

参考文献

- [1] Little JW: Mechanism of specific LexA cleavage: autodigestion and the role of RecA coprotease. *Biochimie* 73, 411-421 (1991).
- [2] Oda Y, Nakamura S, Oki I, Kato T, Shinagawa H: Evaluation of the new system (*umu*-test) for the detection of environmental mutagens and carcinogens. *Mutat Res* 147, 219-229 (1985)
- [3] Quillardet P, Huisman O, D'Ari R, Hofnung M: SOS chromotest, a direct assay of induction of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* 79, 5971-5975 (1982)
- [4] Baumstark-Khan C, Cloara K, Rettberg P, Homeck G: Application of the Lux-Fluoro test as bioassay for combined genotoxicity and cytotoxicity of measurements by means of recombinant *Salmonella typhimurium* TA1535 cells. *Anal Chim Acta* 437, 23-30 (2001)
- [5] Verschaeve L, Van Gompel J, Thilemans L, Regniers L, Vanparys P, van der Lelie D, VITOTOX^R bacterial genotoxicity and toxicity test for the rapid screening of chemicals. *Environ Mol Mutagen* 33, 240-248 (1999)
- [6] EI Mzibri M, De Meo MP, Laget M, Guiraud H, Seree E, Barra Y, Dumenil G: The *Salmonella sulA*-test: a new *in vitro* system to detect genotoxins. *Mutat Res* 369, 195-208 (1996)
- [7] Min J, Kim EJ, LaRossa RA, Gu MB: Distinct responses of a *recA::luxCDABE Escherichia coli* strain to direct and indirect DNA damaging agents. *Mutat Res* 442, 61-68 (1999)
- [8] Hwang ET, Ahn J-M, Kim BC, Gu MB: Construction of a *ndrA::luxCDABE* fusion and its use in *Escherichia coli* as a DNA damage biosensor. *Sensors* 8, 1297-1307 (2008)
- [9] Kozrzynska M, Leung KT, Lee H, Trevors JT: Green fluorescent protein-based biosensor for detecting SOS-inducing activity of genotoxic compounds. *J Microbiol Methods* 48, 43-51 (2002)
- [10] Norman A, Hansen LH, Sorensen SJ: Construction of a Cold *cda* promoter-based SOS-green fluorescent protein whole-cell biosensor with higher sensitivity toward genotoxic compounds than constructs based on *recA*, *umuDC*, or *sulA* promoters. *Appl Environ Microbiol* 71, 2338-2346 (2005)
- [11] Bartolome A, Mandap K, David KJ, Sevilla Iii F, Villanueva J: SOS-red fluorescent protein (RFP) bioassay system for monitoring of antigenotoxic activity in plant extracts. *Biosens Bioelectron.* 21, 2114-2120 (2006)
- [12] Yasunaga K, Kiyonari A, Oikawa T, Abe N, Yoshikawa K: Evaluation of the *Salmonella umu* test with 83 NTP chemicals. *Environ Mol Mutagen* 44, 329-345 (2004)
- [13] Oda Y, Yamazaki H, Watanabe M, Nohmi T, Shimada T: Highly sensitive *umu* test system for the detection of mutagenic nitroarenes in *Salmonella typhimurium* NM3009 having high *O*-acetyltransferase and nitroreductase activities. *Environ Mol Mutagen* 21, 357-364 (1993)

- [14] Oda Y, Yamazaki H, Watanabe M, Nohmi T, Shimada T: Development of high sensitive *umu*-test system: rapid detection of genotoxicity of promutagenic aromatic amines by *Salmonella typhimurium* strain NM2009 possessing high O-acetyltransferase activity. *Mutat Res* 334, 145-156 (1995)
- [15] Oda Y, Aryal P, Terashita T, Gillam EMJ, Guengerich FP, Shimada T: Metabolic activation of heterocyclic amines and other procarcinogens in *Salmonella typhimurium umu* tester strains expressing human cytochrome P4501A1, 1A2, 1B1, 2C9, 2D6, and 3A4 and human NADPH-P450 reductase and bacterial O-acetyltransferase. *Mutat Res* 492, 81-90 (2001)
- [16] Oda Y, Yamazaki H, Shimada T: Role of N-acetyltransferases, NAT1 or NAT2, in genotoxicity of nitroarenes and aromatic amines in *Salmonella typhimurium* NM6001 and NM6002. *Carcinogenesis* 20, 1079-1083 (1999)
- [17] Oda Y, Zhang Y, Buchinger S, Reifferscheid G, Yang M: Roles of human sulfotransferases in genotoxicity of carcinogens using genetically engineered *umu* test strains. *Environ Mol Mutagen* 53, 152-164 (2012)
- [18] Oda Y, Yamazaki H, Their R, Ketterer B, Guengerich FP, Shimada T: A new *Salmonella typhimurium* NM5004 strain expressing rat glutathione S-transferase 5-5: use in detection of genotoxicity of dihaloalkanes using an SOS/*umu* test system. *Carcinogenesis* 17, 297-302 (1996)
- [19] Shimada T, Yamazaki H, Oda Y, Hiratsuka A, Watabe T, Guengerich FP: Activation and inactivation of carcinogenic dihaloalkanes and other compounds by glutathione S-transferase 5-5 in *Salmonella typhimurium* tester strain NM5004. *Chem Res Toxicol* 9, 333-3340 (1996)
- [20] Oda Y, Funasaka K, Kitano M, Nakama A, Yoshikura T: Use of a high-throughput *umu*-microplate test system for rapid detection of genotoxicity produced by mutagenic carcinogens and airborne particulate matter. *Environ Mol Mutagen* 43, 10-19 (2004)
- [21] 上水試験方法. 25 変異原性試験. 日本水道協会 (1993)
- [22] 下水試験方法. 日本下水道協会 (1997)
- [23] German Institute of Standardization. DIN 38415-3-German standard methods for the examination of water, wastewater and sludge-Sub-animal testing (group T)-part 3: Determination of the genotoxic potential of water with the *umu*-test (T3). Berlin, Germany: German Institute of Standardization (1996)
- [24] International Standardization Organization. ISO/CD 13829-Water quality-Determination of the genotoxicity of water and waste water using the *umu*-test, Geneva, Switzerland: International Standardization Organization (2000)
- [25] Malaysian Standard. Malaysian Standardization ISO 13829-Water Quality-Determination of the genotoxicity of water and waste water using the *umu*-test. Malaysia (2008)

微生物の SOS 反応を利用した *umu* 試験の開発とその国際貢献
小田 美光

環境中の放射線と化学変異原物質は、健康に障害効果を示す。異なる微生物を使用して実施される遺伝毒性研究は、環境で潜在的な環境変異原物質や発がん物質を特定するために効果的であることがわかった。演者らは、ネズミチフス菌 TA1535/pSK1002 菌株を用いてバクテリアの SOS 反応に基づく迅速な遺伝毒性試験の *umu* テストを環境試料、食品および新薬をスクリーニングするために開発した。このテストは、多くの利点を備えた実用的で応用範囲の広く、30 年間環境遺伝毒性分野で DNA 損傷を示す有害な化学物質の検出を予測する遺伝毒性試験として汎用されてきた。また、我々は遺伝子工学手法を用いて細菌とラットあるいはヒトの I 相および II 相の薬物代謝酵素遺伝子を *umu* 試験菌株に導入した試験菌株を多数開発し、ニトロアレーン、芳香族アミン、ジハロアルカン類、アルキルベンゼンなどの発がん物質を検出することを明らかにした。更に、微量のボリュウムの環境サンプルの遺伝毒性作用を評価するために、新たにハイスループットな *umu*-マイクロプレート法を開発した。この *umu* テスト法は日本を始め、ドイツ、マレーシアおよび国際標準化機構 (ISO13829) で遺伝毒性試験の公定法として承認されており、国内外の大学や研究機関で汎用されている。このように *umu* 試験は、広く社会に貢献している遺伝毒性試験として国際的に評価をされている。

キーワード: *umu* テスト・発がん物質・遺伝毒性・微生物

論文集「人と環境」Vol. 10 (2017)
 大阪信愛生命環境総合研究所編
