

[概要]

創薬段階における毒性スクリーニング試験の1つである *in vitro* 小核試験は、化合物の染色体の構造異常・数的異常誘発能の有無を評価するための有用な方法です¹⁾。当社では新生チャイニーズハムスター肺由来細胞株（以下、CHL/IU 細胞）を用いた *in vitro* 小核試験の受託サービスを実施しています。細胞イメージアナライザー ArrayScan™ VTI（サーモフィッシュサイエンティフィック社製）を用いて画像取得から解析までを自動化することで、従来の顕微鏡を用いた目視評価に比べ、より短時間に客観的で均一性の高い結果の取得が可能です。以下に、当社での評価系の検証事例を示します。

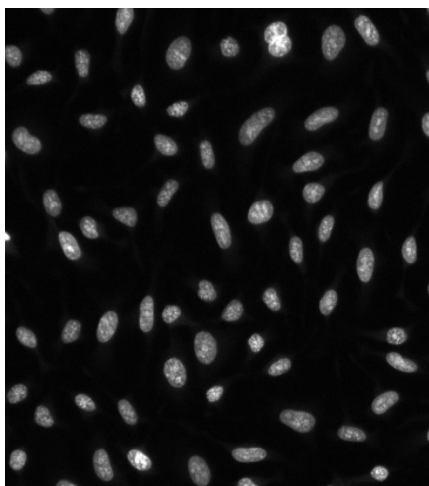
Keywords: 安全性試験、遺伝毒性

[事例]

播種後一晚培養した CHL/IU 細胞に、OECD ガイドライン¹⁾において陽性対照として推奨されている化合物（マイトマイシン C、シクロホスファミド、ベンゾ(a)ピレン、コルヒチン、ビンブラスチン）と染色体異常を誘発しない化合物（アミオダロン）²⁾を短時間処理法と長時間処理法にて曝露しました。短時間処理法は6時間、外因性の代謝活性化系である S9 存在下（短時間・S9 (+)）と非存在下（短時間・S9 (-)）で処理した後培地交換し、長時間処理法は24時間、S9 非存在下（長時間・S9 (-)）で処理しました。エタノールによる細胞固定後、Hoechst33342 による核の蛍光染色を行い、ArrayScan™ VTI により画像解析を行いました。

取得された画像例を以下に示します（図1；短時間・S9 (-) にて実施）。機器の画像解析アルゴリズムにより、細胞核（青矢印）と小核（赤矢印）の数、および小核頻度（細胞核に対する小核出現の割合）を算出し評価しました。各参照化合物の小核頻度の結果は、OECD ガイドライン¹⁾や文献²⁾と同等の結果を示しました（表1）。

(A) 陰性対照(DMSO)



(B) マイトマイシン C

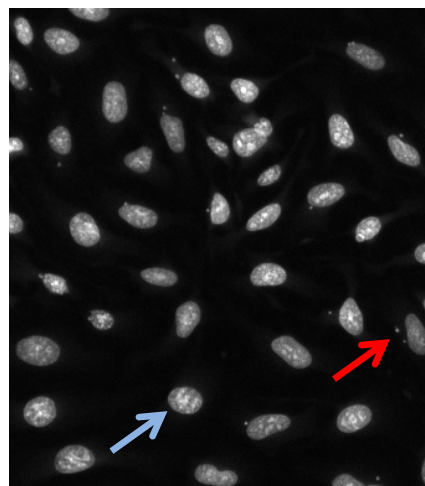


図1 ArrayScan™ VTI より得られる画像例

表 1 参照化合物における小核頻度の比較

カテゴリー	化合物名 (実施濃度) ※1	小核頻度 (%)		
		短時間・S9 (-)	短時間・S9 (+)	長時間・S9 (-)
陰性対照	DMSO のみ	0.36±0.02	0.49±0.13	0.70±0.01
染色体異常 誘発なし	アミオダロン (31 μM)	0.34±0.14	1.50±0.21	0.24±0.14
代謝活性化なしで 活性のある染色体 構造異常誘発物質	マイトマイシン C (1.5 μM)	11.14±0.13	1.63±0.06	11.10±0.15
代謝活性化を必要 とする染色体 構造異常誘発物質	シクロホスファミド (36 μM)	0.29±0.01	6.43±0.06	0.28±0.03
	ベンゾ(a)ピレン (250 μM)	0.22±0.01	5.20±1.27	0.28±0.25
異数性誘発物質	コルヒチン (0.98 μM)	2.76±0.98	0.56±0.23	23.97±0.54
	ビンブラスチン (0.063 μM)	0.63±0.44	0.38±0.18	24.55±1.61

※1：細胞生存率が⁵50%以上を示した濃度を記載

当社では、信頼性の高い評価系での試験を提供しております。

試験で使用する陽性対照など、試験実施に関する内容はお気軽にご相談ください。

[引用]

- 1) 経済協力開発機構(OECD)
化学物質の試験に関するガイドライン 哺乳類細胞を用いた *in vitro* 小核試験
<http://www.oecd-ilibrary.org/docserver/download/9714561e.pdf>
- 2) D. Diaz et al, Evaluation of an automated *in vitro* micronucleus assay in CHO-K1 cells. (2007) *Mutation Research* **630**: 1-13

[関連リンク]

tn465 Balb/c 3T3 細胞を用いた *in vitro* 光毒性試験
<https://www.scas.co.jp/technical-informations/technical-news/pdf/tn465.pdf>