

株式会社 JA アグリひみ 御中

2008 年 11 月 25 日

マウスリンフォーマ TK 試験を用いた
ハトムギサンプルの遺伝毒性試験報告書

(MLA 試験：再現性確認含む)

株式会社ベルブリッジ
研究ラボ



石川県金沢市角間町
金沢大学 ベンチャービジネスラボラトリー

【材料および方法】

1. 被検物質および陽性対象

被検物質は ハトムギ分解エキス(賦型剤無し)をリン酸バッファー(PBS)に溶かし、濾過滅菌したものをを用いた。また、陽性対象として Methyl methanesulfonate (MMS, Sigma-Aldrich) を PBS で希釈し、濾過滅菌したものをを用いた。

2. 方法

代謝活性化系の非存在下で各濃度に調整した被検物質を細胞に作用させ、突然変異の発生頻度を陰性対象群(control)と比較した。なお、本試験はそれぞれ独立した 2 回の試験で評価した。

3. 濃度設定

本試験を行うにあたり、予め濃度設定試験を行ったが、規定される毒性(最高濃度の毒性が 10~20%)が得られなかったため、最高濃度は試験の上限である 5000 μ g/mL (5.0mg/mL) とし、2500, 1250, 625 μ g/mL の 4 濃度とした。また、陽性対象の MMS は短時間処理試験では 10 μ g/mL、長時間処理試験では 5.0 μ g/mL とした。

【試験結果】

本試験において、ハトムギ分解エキス(賦型剤無し)と control の突然変異の頻度を比較したが、短時間処理法・長時間処理法ともに有意な増加は見られなかった。また、染色体異常を示唆する値も有意な増加は見られなかった。

【結論】

マウスリンフォーマ TK 試験(代謝活性化系非存在下)における遺伝毒性は**陰性**である。

【データおよびグラフ】

1. 短時間処理試験(3時間)

1-1 1回目

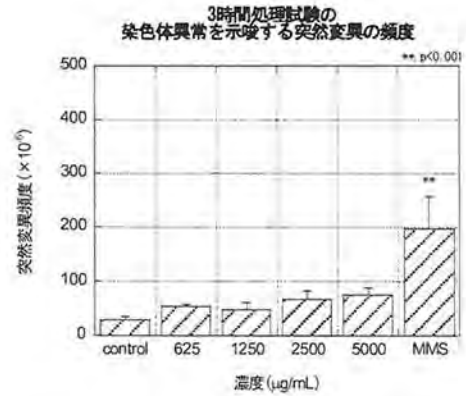
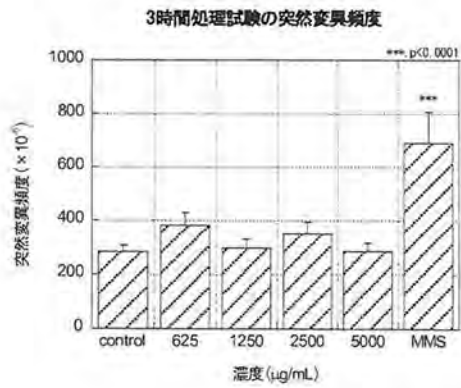
エキス濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	細胞増加率 (%)	細胞毒性 (%)	突然変異の頻度 ($\times 10^{-6}$)	染色体異常を示唆する 突然変異の頻度($\times 10^{-6}$)
control	100	100	283.6	29.2
625	83.0	98.8	383.2	53.5
1250	80.1	70.2	298.6	48.9
2500	68.2	85.6	351.2	67.4
5000	71.3	52.3	287.8	75.1
MMS	39.0	44.6	692.8 *1	196.8 *2

*1 有意差あり $p < 0.0001$ *2 有意差あり $p < 0.001$

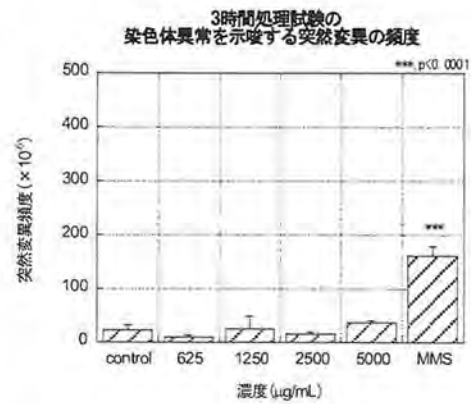
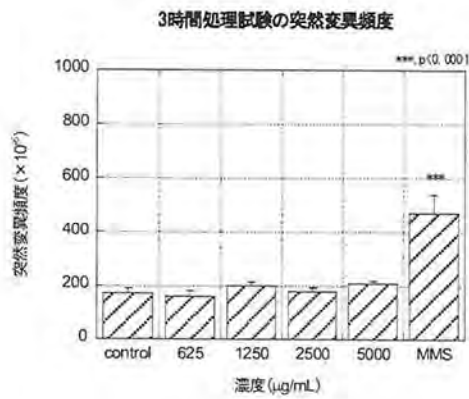
1-2 2回目

エキス濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	細胞増加率 (%)	細胞毒性 (%)	突然変異の頻度 ($\times 10^{-6}$)	染色体異常を示唆する 突然変異の頻度($\times 10^{-6}$)
control	100	100	170.2	23.0
625	109.4	77.7	159.3	10.2
1250	96.3	101.1	199.1	25.7
2500	92.9	104.3	178.2	16.0
5000	80.1	75.6	208.6	37.1
MMS	63.2	69.4	472.2 *1	162.1 *1

*1 有意差あり $p < 0.0001$



1 回目の 3 時間処理試験における突然変異の頻度(左)と
染色体異常を示唆する突然変異の頻度(右)



2 回目の 3 時間処理試験における突然変異の頻度(左)と
染色体異常を示唆する突然変異の頻度(右)

2. 長時間処理試験(24 時間)

2-1 1 回目

エキス濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	細胞増加率 (%)	細胞毒性 (%)	突然変異の頻度 ($\times 10^{-6}$)	染色体異常を示唆する 突然変異の頻度 ($\times 10^{-6}$)
control			304.8	56.3
625	細菌による コンタミネーションのため		178.1	4.5
1250			172.7	25.6
2500	測定不能		166.3	17.0
5000			244.9	30.9
MMS			581.5 *2	245.9 *1

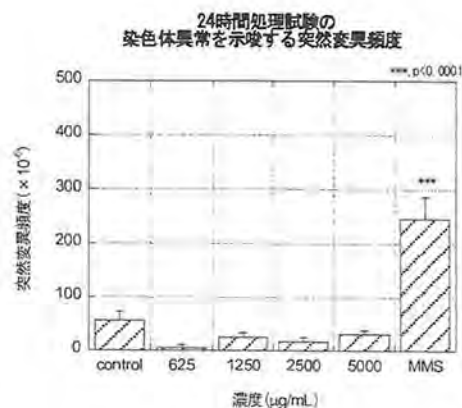
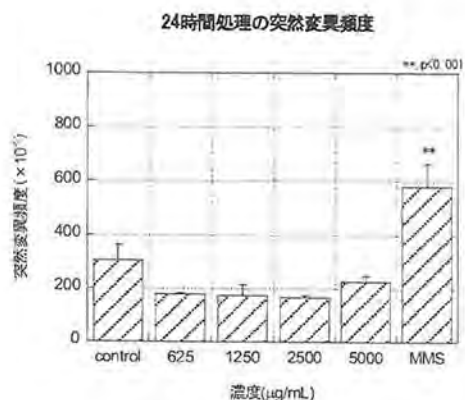
*1 有意差あり $p < 0.0001$

*2 有意差あり $p < 0.001$

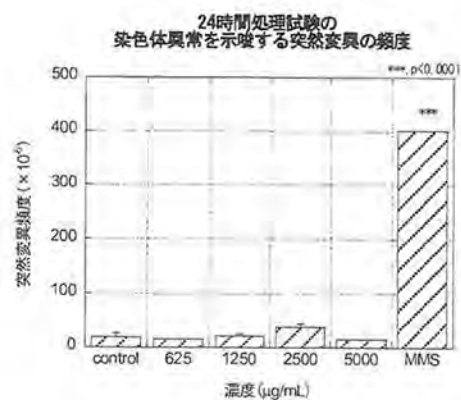
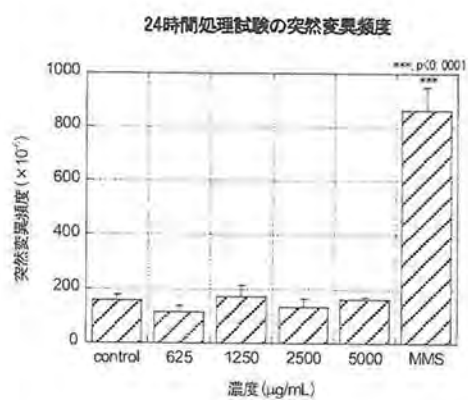
2-2 2 回目

エキス濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	細胞増加率 (%)	細胞毒性 (%)	突然変異の頻度 ($\times 10^{-6}$)	染色体異常を示唆する 突然変異の頻度 ($\times 10^{-6}$)
control	100	100	157.6	18.6
625	128.2	95.4	115.2	15.4
1250	76.6	92.5	171.7	21.4
2500	89.5	98.4	133.3	37.9
5000	108.7	140.3	161.5	15.7
MMS	36.4	50.5	861.3 *1	401.8 *1

*1 有意差あり $p < 0.0001$



1 回目の 24 時間処理試験における突然変異の頻度 (左) と
染色体異常を示唆する突然変異の頻度 (右)



2 回目の 24 時間処理試験における突然変異の頻度 (左) と
染色体異常を示唆する突然変異の頻度 (右)

【試験実施条件】

実施場所	弊社金沢研究所実験室(金沢大学ベンチャービジネスラボラトリー内)
実施期間	2008年10月20日~2008年11月19日
培養条件	37°C、CO ₂ 5%