

【基盤研究(S)】

総合・新領域系（複合新領域）



研究課題名 遺伝毒性試験の新機軸—DNA 損傷, 突然変異, 染色体—

京都大学・大学院工学研究科・准教授 まつだ ともなり
松田 知成

研究分野：複合新領域

キーワード：遺伝毒性試験、DNA アダクトーム、突然変異試験、タンパク質複合体解析

【研究の背景・目的】

新しい化学物質を世に出す前に必ず安全性評価が行われるが、遺伝毒性試験はその要ともいえるべき重要な試験である。しかしながら、現在行われている遺伝毒性試験は何十年も前に開発されたものが主流であり、発がん性を正確に評価できないなどの問題点をかかえている。近年の分析技術の発達と生物学的知見の蓄積から、遺伝毒性試験の新機軸を打ち出す条件が整いつつある。本研究では、化学物質による DNA 損傷、突然変異、染色体への影響を今までにない精度で検出する、メカニズム解明を指向した、新しい遺伝毒性試験を提案する。

【研究の方法】

以下に示す 3 種類の「メカニズム解明型遺伝毒性試験」の開発をそれぞれ進める。

① DNA アダクトーム法

前回の基盤研究で我々が開発した、未知および既知の DNA 損傷を、LC/MS/MS を用いて直接測定する方法である。この技術を、遺伝毒性試験として応用するため、様々な化学物質を培養細胞に曝露し、DNA アダクトーム法で未知の DNA 損傷を検出し、そのデータを蓄積する。

② 突然変異の直接シーケンス法

従来の変異原性試験は、遺伝学的手法を用いてきたが、ここ数年で DNA シーケンサーの性能が急激に向上し、理論的には、化学物質が引き起こす低頻度の突然変異を直接 DNA シーケンサーで検出することが可能になってきている。例えば、最新の次世代シーケンサーは一回の分析で 100 ギガ塩基以上読めるので、仮に、ある化学物質が 100 万塩基に一つの突然変異を誘発する場合、10 万個の突然変異が検出できることになる。しかし、実際にこの戦略で突然変異の解析を行うためには、鋳型 DNA の調整法やデータ処理法について検討する必要がある。これらの問題をクリアし、遺伝学的手法に依らない、まったく新しい突然変異解析方法を開発する。

③ DNA 損傷を介さない染色体異常の評価法

遺伝毒性試験の一つに染色体異常試験があるが、この試験の問題点として、発がん性予測の精度がよくないということが挙げられる。例えば、カフ

ェインやクルクミン（カレーの成分）も高濃度で染色体異常を誘発するが発がん性は認められない。染色体は DNA だけで構成されているわけではなく、様々なタンパク質複合体がその構造と機能の維持に重要な役割を果たしているため、染色体異常を引き起こす化学物質のターゲットは、DNA の場合と、タンパク質複合体の場合があると考えられる。このターゲットの違いを正確に把握できればより正確な発がん性予測が可能になると期待できる。そこで、染色体の構造や機能に重要なタンパク質複合体のプロテオーム解析を行うと同時に、化学物質曝露による、複合体の構造変化を追跡する技術を開発する。これらの研究を通じて、化学物質による、DNA 損傷を介さない染色体異常誘発メカニズムを解明していく。

【期待される成果と意義】

遺伝毒性試験は、新薬、新規化合物の開発段階において、世界中の企業で必ず行われる。今回の研究成果により、日本発の遺伝毒性試験の革新がなされれば、安全性評価の分野において非常に大きな貢献となり、公衆衛生や環境保全に資すること大であると考えている。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

Matsuda, T. (2010) Anticipated Mutation Assay Using Single-molecule Real-time (SMRT™) Sequencing Technology. *Genes and Environment*, 32, 21-24.

Chou, P. H. and Matsuda, T. et. al. (2010) Detection of lipid peroxidation-induced DNA adducts caused by 4-oxo-2(E)-nonenal and 4-oxo-2(E)-hexenal in human autopsy tissues. *Chem Res Toxicol*, 23, 1442-1448.

【研究期間と研究経費】

平成 23 年度—27 年度
146,400 千円

【ホームページ等】

<http://www.eqc.kyoto-u.ac.jp/local/matsuda@z05.mbox.media.kyoto-u.ac.jp>