

1 . 研究課題名 : RF-1005 遺伝毒物学を使った、ハイスループットな有害化学物質検出法の開発

2 . 研究代表者氏名及び所属 : 廣田耕志
(京都大学大学院医学研究科放射線遺伝学)



3 . 研究実施期間 : 平成 22 ~ 24 年度

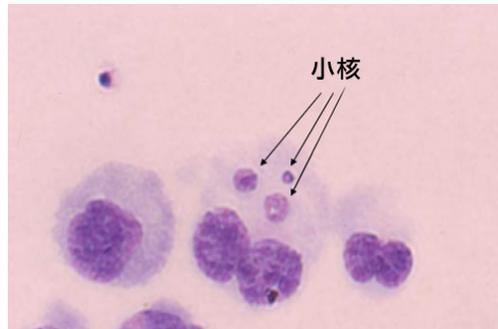
4 . 研究の趣旨・概要

近年環境中の遺伝毒物が問題視されており、その高感度かつハイスループットの検出が重要な課題となっている。本研究は、遺伝毒性物質のハイスループットな検出方法を確立することを目的とする。具体的には我々が既に作製済みの DNA 修復の変異細胞群に対しケミカルライブラリーを暴露し、DNA に導入された損傷に起因する小核 (ちぎれた核の断片) を検出する。この時、野性型細胞を陰性対象として同時に解析することで偽陰性を低減させる。我々はニワトリ DT40 細胞を用いる。それは、(1) 他どの脊椎動物細胞に比べても 2 桁以上遺伝子破壊の効率が高く、容易に変異体を作ることが可能 (しかも DNA 修復に関わる遺伝子の破壊体を既に 100 以上作製済み)、(2) 増殖速度が早く、かつ表現型がきわめて安定なので、短期間の検定で大量のデータを取得するのに有利、(3) 他の動物細胞と異なり、DNA 損傷が存在しても増殖が止まらないので、DNA 断烈以外の損傷 (UV による損傷など) が、DNA 複製後に DNA 断烈に発展して、小核として検出できる、の理由からである。本研究では毒物の検出に遺伝学を取り入れた新しい方法 (遺伝毒物学手法) による大規模ハイスループットスクリーニング法の開発をおこなう。

5 . 研究項目及び実施体制

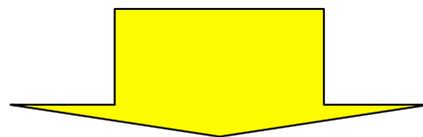
本研究は研究代表者単独で、米国 NIH との共同で行う。

6. 研究のイメージ



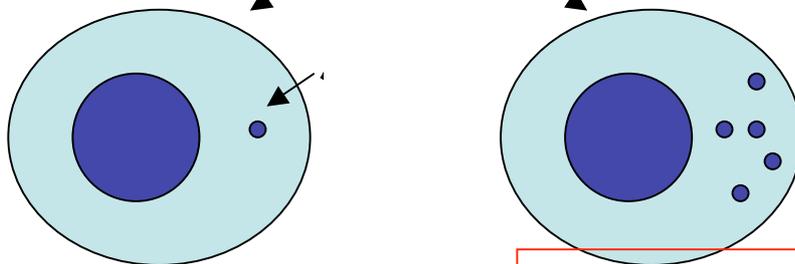
従来の小核試験

野生型細胞のみを検査→偽陰性、偽陽性の発生が問題



遺伝毒物学手法での検出法

各種ケミカルを暴露



野生型(陰性対照)

DNA修復の変異

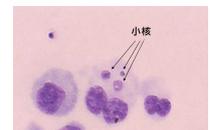
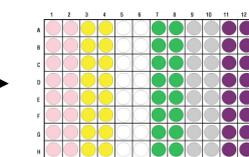
両者の差異が変異原性を示す

変異体を用いることで感度が向上(偽陰性低下)

本研究のゴール;ハイスループットの遺伝毒物学スクリーニング法を開発する



NIHのハイスループット



小核試験

ロボットによるハイスループットスクリーニング