

## 新マクロライド系抗生物質 TMS-19-Q の変異原性

園 明・小柳出貴巳子・小林洋四郎・山 宏

東洋醸造株式会社リサーチセンター 安全性研究所

TMS-19-Q の変異原性を、数種の試験を用いて調査した。

DNA 傷害性に関しては、細菌を用いる DNA 修復試験 (Rec アッセイ) と、哺乳動物培養細胞を用いる姉妹染色分体交換 (SCE) 試験により調査したが、TMS-19-Q によると思われる DNA 損傷は、いずれの試験においても検出されなかった。

遺伝子突然変異誘発性に関しては、細菌を用いる遺伝子突然変異試験 (Ames 試験) により調査したが、S-9 Mix. による代謝活性化の有無に関係なく、TMS-19-Q は、遺伝子突然変異を誘発しなかった。

染色体異常誘発性に関しては、哺乳動物培養細胞を用いる染色体異常試験と、齧歯類を用いる小核試験により調査したが、TMS-19-Q に特異的な染色体異常の誘発は、いずれの試験においても検出されなかった。

これらの結果から、TMS-19-Q は変異原性をもたないことが明らかになった。

TMS-19-Q は、当社研究所で開発された macrolide 系抗生物質で、Leucomycin A<sub>5</sub> の誘導体であり、化学的には 3'-O-propionylleucomycin A<sub>5</sub> である<sup>1)</sup>。

TMS-19-Q は、既存の macrolide 系抗生物質よりも強い抗菌力を有し、良好な血中濃度の得られることが証明されている<sup>2)</sup>。また TMS-19-Q は他の macrolide 系抗生物質と同様に実験動物における毒性も低いことが確認されている。

今回、著者らは TMS-19-Q の変異原性について、数種の試験系を用いて検討を行なったので報告する。

## I. 材料と方法

## 1. 被験薬物と対照薬物

TMS-19-Q は、SAKAKIBARA et al の方法<sup>1)</sup>に従って調製されたもの (Lot No. TMS-2 と TMS-23) を用いた。Ethyl methanesulfonate (EMS), 1-ethyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (ENNG), 2-aminoanthracene, 9-aminoacridine および Mitomycin C (MMC) は Sigma Chemical Co. USA から、2-nitrofluorene は Aldrich Chemical Co. USA から、benzo (a) pyrene は和光純薬 (株) から購入したものを用いた。また、Penicillin G は当社で製造したものを用いた。

## 2. 細菌を用いる DNA 修復試験

## 1) 試験菌株

国立遺伝学研究所変異遺伝部より分与された、*Bacillus subtilis* H 17 (Rec<sup>+</sup>) 株および M 45 (Rec<sup>-</sup>) 株を用いた。

## 2) 試験方法

具体的な試験方法は KADA et al.<sup>3)</sup>に従った。簡略に述べると、ブレイン・ハート・インフュージョン・ブイヨン中で約 16 時間軽く振盪しながら前培養を行なった試験菌を、ハート・インフュージョン寒天培地上に放射状に画線接種し、その原点にジメチルスルフォキシド (DMSO) を用い溶解希釈を行なった 1,000~1 μg/ml の TMS-19-Q, 100 μg/ml のペニシリン G (PCG), 7 μg/ml の MMC, または DMSO を 0.05 ml しみ込ませた 8mm 径のろ紙を置き、37°C で培養を行なった。なお、被験薬物の試験濃度は“飼料添加物の評価基準及びその試験方法”<sup>4)</sup>を参考に設定した。

判定は、24 時間の培養後に両菌株の阻止帯の長さを測定し、その差を求めることにより行なった。

## 3. 細菌を用いる遺伝子突然変異試験

## 1) 試験菌株

国立遺伝学研究所変異遺伝部より分与された *Salmonella typhimurium* TA 98, TA 100, TA 1535, TA 1537, TA 1538 および *E. coli* WP 2 uvr A を用いた。

## 2) S-9 Mix. の組成

S-9 は、Aroclor 1254 で誘導したものを、和光純薬工業 (大阪) より購入し用いた。S-9 Mix. は、1 ml 中に S-9 を 0.25 ml, MgCl<sub>2</sub> 8 μmol, KCl 33 μmol, glucose-6-phosphate 5 μmol, NADPH 4 μmol, NADH 4 μmol, それに Na-リン酸緩衝液 (pH 7.4) 0.5 ml を含むものを用いた。

## 3) 試験方法

試験方法は、すべて昭和 54 年 3 月に労働省労働基準

局より公示された“微生物を用いる変異原性試験の基準”<sup>5)</sup>に従った。簡略に述べると、TMS-19-QをDMSOに溶解希釈し、500~1 $\mu$ g/プレートの6段階の濃度について、プレインキュベーション法(37°C, 20分)を用いて復帰突然変異誘発性の有無を調べた。なお、試験濃度は予備試験で得られた最小増殖阻止濃度を参考にして設定した。

#### 4. 哺乳動物培養細胞を用いる姉妹染色分体交換(SCE)試験および染色体異常試験

##### 1) 細胞と培養条件

チャイニーズ・ハムスター肺組織由来のDon D-6細胞系を用いた。本細胞は、pseudo-diploid (22, XY)型の核型をもつ線維芽細胞である。

本細胞は、イーグルのMEM培地(日水製薬, 東京)に牛胎児血清(GIBCO, U.S.A.) 10%, ビルビン酸ナトリウム 1mM, L-セリン 0.2mM, ペニシリン 100 U/ml, それにストレプトマイシン 100 $\mu$ g/mlを添加した培養液を用い、37°Cの炭酸ガスふ卵器で培養した場合、世代時間 15.5 時間で指数的に増殖する。

##### 2) 薬物処理

SCE試験においては、姉妹染色分体間の分染を引き起こさせるために、細胞を前記の培養液に、さらに5-bromodeoxyuridine (BUdR, Sigma Chem. U.S.A.)を最終濃度  $10^{-5}$  M になるよう添加した培養液を用い、暗黒下で30時間培養した。被験薬物は、DMSOに溶解、ろ過滅菌を行なった後に培養液を用いて希釈した。被験薬物による細胞の処理時間は、30時間と、細胞周期の遅れによってSCE頻度が過小評価<sup>6)</sup>される危険性をさけるため、最初の6時間のみ処理する二つの方法を用いた。

染色体異常試験においては、被験薬物で細胞を16または30時間処理した。代謝活性化(+S-9 Mix.)を用いる場合は、培養液に対して1/20容のS-9 Mix.と被験薬物で2時間細胞を処理した後に、それらを洗い落とし、さらに16時間薬物を含まない培養液で培養する方法を用いた。

両試験におけるTMS-19-Qの試験濃度は、細胞増殖阻害曲線より求めた増殖阻害率によって設定した。すなわちSCE試験では姉妹染色分体間の分染が得られるよう増殖阻害率30% (40 $\mu$ g/ml)~10% (1.6 $\mu$ g/ml)の範囲の濃度を、染色体異常試験では50%細胞増殖阻害濃度(140 $\mu$ g/ml)前後の数濃度を用いて試験を行なった。

##### 3) 染色体標本の作成

細胞分裂中期の細胞を収集するため、培養終了の3時間前にColcemid (Difco, U.S.A.)を最終濃度0.05 $\mu$ g/mlになるように培養液中に加えた。培養終了後、細胞

をトリプシン液で剥離させ遠心により収集、低張液(0.075 M $\cdot$ KCl)で10分間処理メタノール・酢酸混合液(3:1)で4回固定操作を行なった後、air-drying法によって染色体標本を作成した。姉妹染色分体の分染はFPG法<sup>7)</sup>を用いて行なった。

##### 4) 姉妹染色分体交換と染色体異常の観察

SCE試験においてはよく展開し分染している分裂中期像30個、染色体異常試験では100個以上の分裂中期像を無作為に選び、SCE頻度および染色体の構造異常、倍数性細胞の出現率を求めた。統計学的分析はSTUDENTのt検定法とKASTENBAUMの統計表<sup>8)</sup>によった。

##### 5. 齧歯類を用いる小核試験

###### 1) 動物と飼育条件

静岡県実験動物農業協同組合より購入した10週齢の雄性ICR-Slcマウスを、室温23 $\pm$ 2°C、湿度55 $\pm$ 5%の条件下で1週間予備飼育した後に試験に供した。飼料は日本生物科学研究所製のNR-2を与え、水は水道水を自由に摂取させた。試験中の飼育条件も同様であった。

###### 2) 投与量と投与方法

1群5匹のマウスに0.5% CMCに懸濁したTMS-19-Qを、24時間の間隔をおいて総量4,000, 400, 40 mg/kg腹腔内投与した。溶媒対照群には0.5% CMC 40 ml/kgを、また陽性対照群にはEMS 500 mg/kgを試験群と同様に投与した。

なお、TMS-19-Qの最高投与量は、マウスの腹腔内投与急性毒性試験の最高投与量から定めた。

###### 3) 骨髄標本の作成と観察

骨髄標本の作成は、SCHMIDの方法<sup>9)</sup>に従った。要約すると、2回目の薬物投与の6時間後にマウスを頸椎脱臼によって殺した。骨髄細胞は大腿骨より仔牛血清を用いて洗い出し、これをスライドガラスに塗抹、メタノール固定し、乾燥後May-Grünwalds-Giemsa重染色を施した。

マウス1個体当たり1,000個の多染性赤血球を観察し、微小核を有する細胞数を求めた。統計学的分析は、KASTENBAUMの方法<sup>9)</sup>によった。

## II. 成績

### 1. 細菌を用いるDNA修復試験

Table 1に示したとおり、TMS-19-Qは50 $\mu$ g/diskからH17菌株(Rec<sup>+</sup>)に発育阻害作用を生じなくなる0.05 $\mu$ g/diskまでの濃度にわたって、両菌株の間に著しい発育阻止帯の差を生じなかった。一方、陽性対照として用いたMMCは、M45菌株(Rec<sup>-</sup>)に特異的に強い増殖阻害作用を示した。

陰性対照に用いたPCGでは逆にH17菌株に強く発

Table 1 Repair test on TMS-19-Q in *Bacillus subtilis* strain H17 (Rec<sup>+</sup>) and M45 (Rec<sup>-</sup>)

Test substances	Concentration ( $\mu\text{g}/\text{disk}$ )	Growth-inhibition zones (mm)		Difference (mm)
		M45	H17	
Vehicle control (DMSO)	0	0	0	0
TMS-19-Q	50	14	14	0
	25	13	13	0
	5	10.6	10.6	0
	2.5	8.7	9	-0.3
	0.5	5.3	5.3	0
	0.25	4.3	4.3	0
Positive control (MMC)	0.35	12	3.3	8.7
		10.6	18	-7.3
Negative control (PCG)	5	10.6	18	-7.3

Abbreviations : DMSO, dimethyl sulfoxide; MMC, mitomycin C; PCG, penicillin G.

育阻害作用を示していたが、これは両菌株の発育速度の違いや、接種時の菌数の関係によるものと考えられる。

## 2. 哺乳動物培養細胞を用いる姉妹染色分体交換試験

Table 2 に示したとおり TMS-19-Q は、設定したいかなる処理時間と濃度においても SCE 頻度を増加させなかった。TMS-19-Q の 40  $\mu\text{g}/\text{ml}$  30 時間処理群に僅かな SCE 頻度の低下が認められたが、分裂指数 (mitotic index) の低下が同時にみられること、また同濃度の TMS-19-Q で短時間処理した場合に同様な傾向が認められなかったことから、この頻度の低下は細胞周期遅延に基づく sampling time variation<sup>6)</sup> と思われる。

一方、陽性対照に用いた既知変異原・発癌物質の

EMS は SCE 頻度を有意に増加させた。

## 3. 細菌を用いる遺伝子突然変異試験

Table 3 に総括して結果を示した。各菌株とも TMS-19-Q の抗菌作用により、高濃度において変異コロニー数が減少していたが、TMS-19-Q の特異作用によると思われるコロニー数の増加はいずれの場合においても認められなかった。

これに対して、陽性対照薬物は各菌株において著しい変異コロニー数の増加を示した。

## 4. 哺乳動物培養細胞を用いる染色体異常試験

Table 4 に結果を示した。分裂指数の低下が示すとおり TMS-19-Q は濃度の上昇に比例して細胞増殖を強く阻害した。しかし TMS-19-Q は濃度や処理時間の変化に伴って染色体の構造異常頻度を増加させることはなかった。これに対して陽性対照に用いた EMS は、処理時間の変化に伴って染色分体型切断、染色体型切断、交換、断片化などの染色体型異常を誘発した。

代謝活性化群においては、対照群、TMS-19-Q 処理群ともに染色分体型ギャップや No. 10, 11 などの小型の染色体の動原体部裂開などの異常がやや増加したが、TMS-19-Q に特異的と思われる染色体異常頻度の増加は認められなかった。これに対して、陽性対照に用いた BP は、染色分体型切断、交換などの染色体異常を増加させた。

また、TMS-19-Q は倍數性細胞の出現率を増加させなかった。

## 5. 齧歯類を用いる小核試験

Table 5 に結果を示した。TMS-19-Q は、どの投与量においても微小核形成率を対照群に比べ全く増加させなかった。

これに対して、EMS 投与群では対照群の 10 倍強の有意な微小核形成率上昇が認められた。

Table 2 Induction of sister-chromatid exchanges by TMS-19-Q and EMS in cultured Chinese hamster cells

Test substances and concentration ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Exposure time to test substances	Mitotic index (%)	SCEs per cell (Mean $\pm$ S. D.)	
BUdR	30 hr.	2.92	6.13 $\pm$ 2.22	
TMS-19-Q	40	0.72	5.08 $\pm$ 2.39	
	8	30 hr.	2.78	6.53 $\pm$ 2.47
	1.6	30 hr.	N.S.	6.37 $\pm$ 1.75
	40	6 hr. pulse 24 hr. chase	2.94	6.33 $\pm$ 2.35
	8	6 hr. pulse 24 hr. chase	N.S.	5.80 $\pm$ 1.63
EMS	125	30 hr.	2.23	43.97* $\pm$ 6.99

\*Statistically significant increase from the value of control (BUdR) (Student's t-test;  $P \leq 0.05$ ).

Abbreviations : BUdR, 5-bromodeoxyuridine; EMS, ethyl methanesulfonate; SCEs, sister-chromatid exchanges; S. D., standard deviation; N.S., not scored.

Table 3 Effect of TMS-19-Q on induction of auxotrophical mutation in six bacterial strains

Test substances	Concentration ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	With or without S-9Mix	Number of revertants/plate					
			Base change mutation			Frame shift mutation		
			TA 100	TA 1535	WP 2 <i>uvr</i> A	TA 98	TA 1537	TA 1538
Vehicle control	0	—	179	59	27	28	17	19
TMS-19-Q	500	—	0	1	8	0	0	0
	100	—	0	32	N.S.	0	0	0
	50	—	8	50	22	1	4	1
	10	—	57	58	21	30	5	7
	5	—	91	73	29	27	5	15
	1	—	153	62	30	28	10	15
Vehicle control	0	+	169	10	30	55	18	42
TMS-19-Q	500	+	1	10	13	0	3	0
	100	+	1	12	18	24	1	20
	50	+	59	10	19	41	10	48
	10	+	131	7	18	57	19	46
	5	+	141	14	20	56	16	47
	1	+	146	8	17	45	18	43
Positive controls								
ENNG	10	—	—	3,652	—	—	—	—
	5	—	—	—	1,844	—	—	—
	2	—	682	—	—	—	—	—
2-Nitrofluorene	5	—	—	—	—	—	—	1,904
	2	—	—	—	—	1,230	—	—
9-Aminoacridine	10	—	—	—	—	—	44	—
2-Aminoanthracene	80	+	—	—	772	—	—	—
	2	+	—	131	—	—	216	—
	1	+	960	—	—	1,035	—	932

Abbreviations : N.S., not scored; ENNG, 1-ethyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine.

Table 4 Cytogenetical studies on TMS-19-Q in cultured Chinese hamster cells

Test substances and concentration ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )	Exposure time (hr.)	Metabolic activation ( $\pm$ S-9 Mix.)	Mitotic index (%)	Chromosomal aberrations per cell					
				Structural aberrations				Others	Numerical aberrations**
				Chromatid		Chromosome			
				Gaps	Breaks	Gaps	Breaks		
Control (None)	16	—	13.6	2	0	0	0	0	2.6
TMS-19-Q 200*	16	—	0.1	0	0	0	0	0	N.S.
	40	—	8.0	3	0	0	0	3	0.9
	8	—	10.8	2	0	0	0	0	3.4
EMS 500	16	—	6.6	34 <sup>a</sup>	26 <sup>a</sup>	0	0	26 <sup>a</sup>	4.0
Control (None)	32	—	9.3	1	2	2	0	2	2.8
TMS-19-Q 200	32	—	<0.1			N.S.			N.S.
	40	—	4.0	3	0	1	0	3	5.1
	8	—	8.0	1	1	1	0	5	4.0
EMS 500	32	—	5.0	15 <sup>a</sup>	7 <sup>a</sup>	1	12 <sup>a</sup>	67 <sup>a</sup>	7.2
Control	2	+	12.3	4	0	0	0	4	3.2
TMS-19-Q 200	2	+	8.2	2	1	0	0	5	3.9
	40	+	9.3	4	1	0	0	2	2.4
	8	+	8.9	4	1	0	0	3	4.0
BP <sup>†</sup>	50	+	7.9	21 <sup>a</sup>	4	4	10 <sup>a</sup>	11 <sup>a</sup>	4.3

\* Based on count of 15 metaphases.

\*\*Percentage of polyploid cells in 200 metaphases.

Abbreviations : EMS, ethyl methanesulfonate; BP, benzo(a) pyrene; N.S., not scored.

a. Statistically significant increase from the appropriate control value (KASTENBAUM's statistical table;  $P \leq 0.05$ ).

Table 5 Frequencies of micronucleated polychromatic erythrocyte in mouse bone-marrow cells after treatment with TMS-19-Q and EMS

Test substances and total dosage (mg/kg)	Number of animals	Number of polychromatic erythrocytes analysed	Number and percentage (%) of micronucleated polychromatic erythrocytes
Control (CMC)	5	5,000	12/5,000 (0.24)
TMS-19-Q 4,000	5	5,000	11/5,000 (0.22)
400	5	5,000	11/5,000 (0.22)
40	5	5,000	10/5,000 (0.20)
EMS 500	5	5,000	121/5,000 (2.42)*

\*Statistically significant increase from the value of control (KASTENBAUM's statistical table;  $P \leq 0.05$ ).

### III. 考 按

TMS-19-Q は, Kitasamycin の有効成分である Leucomycin A<sub>5</sub> の 3' 位を propionyl 化したもので<sup>1)</sup>, 抗菌力において従来のマクロライド系抗生物質よりも優れた性質を有している<sup>2)</sup>。著者らは, 今回 TMS-19-Q について, DNA 傷害性, 遺伝子突然変異誘発性, それに染色体異常誘発性を調査した。

突然変異は, DNA (遺伝子) に生じた様々な損傷に起因することが知られており, 変異原性調査の第1段階として, DNA 損傷を誘発する性質を検体が有するか否かを試験するのが最も妥当と考えられる。そこで著者らは, 国内で汎用されている枯草菌を用いた DNA 修復試験 (Rec-assay)<sup>3)</sup> と, 細胞レベルでの DNA 損傷検出系として近年注目されている SCE 試験<sup>10)</sup> を用い TMS-19-Q の DNA 傷害性を調査したが, TMS-19-Q によると思われる DNA 損傷は, いずれの試験においても検出し得なかった。

DNA 損傷は, error-prone 修復過程を経て突然変異を生ずると考えられているが, 前述の2つの試験においても検出が不可能なタイプの DNA 損傷も存在する。そこで著者らは TMS-19-Q の変異原性を調査する第2段階として細菌を用いる遺伝子突然変異試験 (いわゆる Ames *Salmonella*/microsome plate assay) を行なった。

この試験系は, その機構からして TMS-19-Q のような強い抗菌性を有する抗生物質を試験するためには, やや不向きな面がある。事実菌株によって予備試験時よりも抗菌性が強く現われたり, 高濃度において擬性的変異コロニーの出現が認められたが, 全般的にみて, 抗菌性を示さなくなる濃度においても変異体の増加は認められなかった。

染色体の構造異常の形成機構は, 突然変異のそれとは多少異なることから, 染色体異常試験を突然変異原性試

験として用いるのには異論もあるが, 両現象とも DNA 損傷を原因として生ずるらしいという共通性により, 染色体異常試験を DNA 傷害性の検出系として代用する場面がある<sup>11)</sup>。

また, 流産, 奇形, 先天性異常などは DNA 損傷によってのみでなく染色体の不分離 (異数性, 倍数性などの数的異常), 粘着化, 転座などを含めた染色体に生ずる広汎な変化によっても形成されると考えられており, したがって真核細胞に特徴的なこれらの現象を検出し得る染色体異常試験は, 原核細胞を用いた変異原性試験系とは別の重要性を有している<sup>12)</sup>。

以上のような理由から, 著者らは TMS-19-Q の染色体異常誘発性の有無をチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いて調査した。その結果, S-9 Mix. による代謝活性化法併用群において, No. 10 および 11 染色体の動原体部裂開を実験群, 対照群ともに認めた他には, 染色体の構造および数的異常の誘発は認められなかった。

次に培養細胞でみられた動原体部裂開が, TMS-19-Q の作用によるものか否かをさらに調査するため, 著者らはマウスを用いて小規模な小核試験を行なった。しかし TMS-19-Q は 4,000 mg/kg の高用量を投与した場合においても, 小核形成率を増加させなかった。

動原体部裂開に関しては, KATO et al.<sup>13)</sup> が本細胞系においては自然発生的に認められることを報告しており, 今回の試験においても TMS-19-Q 処理群のみでなく, 対照群においてもそれが認められたこと, また, マウスで小核形成率を増加させなかった事実から, 動原体部裂開は TMS-19-Q による特異的な異常とは考え難かった。

以上の結果を総括すると, TMS-19-Q は DNA 傷害性ばかりでなく遺伝子突然変異原性および染色体異常誘発性も示さず, 広義の変異原性をもたないものと結論した。

## 文 献

- 1) SAKAKIBARA, H.; O. OKEKAWA, T. FUJIWARA, M. OTANI & S. ŌMURA : Acyl derivatives of 16-membered macrolides I. Synthesis and biological properties of 3''-O-propionylleucomycin A<sub>5</sub> (TMS-19-Q). J. Antibiotics 34 : 1001~1010, 1981
- 2) SAKAKIBARA, H.; O. OKEKAWA, T. FUJIWARA, M. AIZAWA & S. ŌMURA : Acyl derivatives of 16-membered macrolides II. Antibacterial activities and serum levels of 3''-O-acyl derivatives of leucomycin. J. Antibiotics 34 : 1011~1018, 1981
- 3) KADA, T.; K. TUTIKAWA & Y. SADAIE : *In vitro* and host-mediated 'rec-assay' procedures for screening chemical mutagens, and phloxin a mutagenic red dye detected. Mutation Res. 16 : 165~174, 1972
- 4) 農林水産省畜産局衛生課 : 飼料添加物の評価基準及びその試験方法, 1980
- 5) 労働省労働基準局化学物質調査課 : 微生物を用いる変異原性試験の基準, 1979
- 6) CARRANO, A. V.; L. H. THOMPSON, D. G. STETKA, J. L. MINKLER, J. A. MAZRIMAS & S. FONG : DNA crosslinking, sister-chromatid exchange and specific-locus mutations. Mutation Res. 63 : 175~188, 1979
- 7) WOLFF, S. & P. PERRY : Differential Giemsa staining of sister-chromatids and the study of sister-chromatid exchanges without autoradiography, Chromosoma (Berl.) 48 : 341~353, 1974
- 8) KASTENBAUM, M. A. & K. O. BOWMAN : Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies. Mutation Res. 9 : 527~549, 1970
- 9) SCHMID, W.: The micronucleus test. Mutation Res. 31 : 9~15, 1975
- 10) PERRY, P. & H. J. EVANS : Biological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister chromatid exchanges. Nature 258 : 121~125, 1975
- 11) ISHIDATE, M. Jr. & S. ODASHIMA : Chromosome tests with 134 compounds on Chinese hamster cells *in vitro*. —A screening for chemical carcinogens. Mutation Res. 48 : 337~354, 1977
- 12) SAWADA, M. & M. ISHIDATE, Jr.. Colchicine-like effect of diethylstilbestrol (DES) on mammalian cells *in vitro*. Mutation Res. 57 : 175~182, 1978
- 13) KATO, H.; T. SAGAI & T. S. YOSIDA : Stable telocentric chromosomes produced by centric fission in Chinese hamster cells *in vitro*. Chromosoma (Berl.) 40 : 183~192, 1973

## MUTAGENICITY TESTS ON TMS-19-Q

AKIRA SONO, KIMIKO OYAIDE, YOSHIRO KOBAYASHI  
and HIROSHI YAMAMOTO

Toxicological Research Laboratories, Toyo Jozo, Co., Ltd.

Genetical toxicology tests on TMS-19-Q, a new macrolide antibiotic, were carried out by using microorganisms, cultured mammalian cells and small rodents.

The effect of the drug on DNA damage and/or repair was examined according to the Rec-assay with *Bacillus subtilis* tester strains and to sister-chromatid exchange (SCE) test with cultured Chinese hamster cells.

The results from these tests showed no remarkable difference in growth inhibition zones between the repair-deficient (M45) and -proficient (H17) tester strains, or no increase in SCE frequencies with increasing TMS-19-Q concentration; suggesting that the drug has no substantial effect on DNA damage and/or repair both in prokaryotes and eukaryotes.

Further evidence for no mutagenicity of the drug was revealed by the result from the Ames microsome assay in which the drug had no effects on induction of reverse mutation.

The cytogenetical effect of TMS-19-Q was examined in accordance with chromosomal aberration analysis in cultured Chinese hamster cells and with micronucleus test in mouse bone-marrow cells. Although an increase in centric fission of chromosome Nos. 10 and 11 was observed in cultured Chinese hamster cells when exposed to the drug in combination with S-9 mix., but the drug had no effect on induction of micronucleus in mice bone-marrow cells.

All these results support the notion that TMS-19-Q *per se* is genetically safe drug.