



最終報告書

試験表題:Dec-(5 or 6)-enoic acid の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号: 

試験期間: 



試験責任者署名:






本報告書は表紙を含む 19 枚

目次

| | (頁) |
|----------------------------|-----------------------------|
| 1. 試験表題..... | 3 |
| 2. 試験番号..... | 3 |
| 3. 試験目的..... | 3 |
| 4. 試験委託者..... | 3 |
| 5. 試験施設..... | 3 |
| 6. 試験責任者..... | 3 |
| 7. 担当責任者..... | 3 |
| 8. 試験実施日..... | 3 |
| 9. GLP 及びガイドライン..... | 4 |
| 10. 試験関係資料の保存..... | 4 |
| 11. 要約..... | 5 |
| 12. 試験材料及び方法..... | 6 |
| 12.1. 被験物質..... | 6 |
| 12.2. 溶媒..... | 6 |
| 12.3. 対照物質..... | 6 |
| 12.4. 被験物質液の調製..... | 7 |
| 12.5. 陽性対照物質液の調製..... | 8 |
| 12.6. 使用菌株..... | 8 |
| 12.7. 最少グルコース寒天平板培地..... | 8 |
| 12.8. トップアガー..... | 8 |
| 12.9. S9 mix..... | 9 |
| 12.10. 試験方法..... | 10 |
| 12.11. 試験の成立条件..... | 11 |
| 12.12. 統計学的処理..... | 12 |
| 12.13. 判定基準..... | 12 |
| 13. 試験結果及び考察..... | 12 |
| 14. 試験の信頼性に影響をおよぼした要素..... | 12 |
| 別表 1 | 試験結果表 (用量設定試験) |
| 別表 2 | 試験結果表 (本試験) |
| 図 1 | 用量反応曲線 (用量設定試験) |
| 図 2 | 用量反応曲線 (本試験) |
| 添付資料 | 陰性対照値及び陽性対照値の背景データから算出した基準値 |



1. 試験表題

Dec-(5 or 6)-enoic acid の細菌を用いる復帰突然変異試験

2. 試験番号



3. 試験目的

被験物質の遺伝子突然変異誘発性を、*S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 及び *E. coli* WP2 *uvrA* の計 5 菌株を用い、プレインキュベーション法により検討する。

4. 試験委託者

国立医薬品食品衛生研究所



5. 試験施設



6. 試験責任者

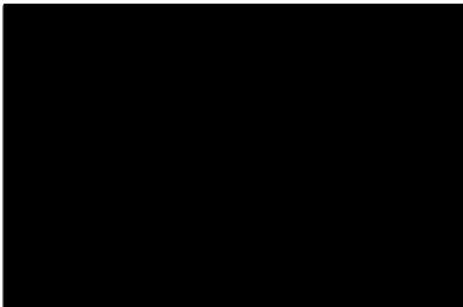


7. 担当責任者



8. 試験実施日

試験開始日
実験開始日
実験終了日
溶解性試験実施日
用量設定試験実施日
本試験実施日
試験終了日



9. GLP及びガイドライン

遵守した GLP :

「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(薬食発 0331 第 8 号, 平成 23・03・29 製局第 6 号, 環保企発第 110331010 号, 平成 23 年 3 月 31 日)

適用したガイドライン :

「新規化学物質等に係る試験の方法について」(薬食発 0331 第 7 号, 平成 23・03・29 製局 第 5 号, 環保企発第 110331009 号, 平成 23 年 3 月 31 日)

10. 試験関係資料の保存

保存場所 : 当試験施設, 資料保存施設

保存資料 : 試験計画書 (原本)

被験物質の受領, 返却または廃棄, 管理に関する記録

被験物質の使用に関する記録

菌株の管理に関する記録

試験の実施に関する記録

最終報告書 (原本)

その他 GLP に規定される記録文書

保存期間 : 本試験終了後 10 年間保存

11. 要約

Dec-(5 or 6)-enoic acid の遺伝子突然変異誘発性を, *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 及び *E. coli* WP2 *uvrA* を用い, 37°C, 20 分間のプレインキュベーション法により検討した. 試験は用量設定試験及び本試験により実施し, 用量設定試験及び本試験での試験結果の再現性を確認した. その結果, 本被験物質は代謝活性化の有無にかかわらずいずれの菌株に対しても復帰変異コロニー数を用量反動的に増加させず, 陰性対照と比較して復帰変異コロニー数の 2 倍以上の増加も認められなかった. また, 用量設定試験及び本試験において, 試験結果に再現性も得られた. 一方, 陽性対照は, 代謝活性化の有無にかかわらずすべての菌株に対して, 復帰変異コロニー数を陰性対照の 2 倍以上に増加させた. 陰性対照及び陽性対照の平均値は, 用量設定試験及び本試験のいずれにおいても, 背景データから算出した基準値の範囲内であった. また, 無菌試験の結果, 雑菌の混入がないことが確認された. これらの結果は, 試験が適切に実施されたことを示す. また, 試験の信頼性に悪影響をおよぼす疑いのある環境要因についても, なんら認められなかった.

以上の結果より, 本試験条件下において本被験物質の遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定する.

12. 試験材料及び方法

12.1. 被験物質

名称：Dec-(5 or 6)-enoic acid

別名：(5 or 6)-Decenoic acid

CAS 番号：72881-27-7

構造式：



ロット番号：[REDACTED]

供給元及び受領日：[REDACTED]

使用量：583.94 mg

純度：83.8%

分子量：170.25

沸点：117～118°C/0.11 kPa

常温における性状：液体

安定性：常温で安定，自己重合性なし

溶解性：水に不溶，ジメチルスルホキシド及びアセトンに可溶¹⁾

溶解度：ジメチルスルホキシドに 5 wt%以上，アセトンに 10 wt%以上溶解¹⁾

溶媒中での安定性：水，ジメチルスルホキシド及びアセトンに安定¹⁾

保存条件：遮光，常温

保存場所：[REDACTED] (許容範囲：15～25°C)

保存期間：[REDACTED]

保存期間中の温度（実測値）：16～20°C

残余被験物質の管理：実験終了後被験物質管理責任者に移管

1) 溶解性試験の結果による

12.2. 溶媒

名称：ジメチルスルホキシド（以下 DMSO と略す）

ロット番号：[REDACTED]

規格等級：試薬特級

供給元：和光純薬工業株式会社

12.3. 対照物質

陰性対照は，被験物質液の調製に使用した DMSO とした。陽性対照物質は，細菌を用いる復帰突然変異試験に汎用されている，下記のものを使用した。

名称：2-(2-furyl-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide（以下 AF-2 と略す）

ロット番号：[REDACTED]

含量：99.7%

供給元：和光純薬工業株式会社

名称：Sodium azide（以下 AZI と略す）

ロット番号：[REDACTED]

純度：99.8%

供給元：和光純薬工業株式会社

名称：9-aminoacridine（以下 9AA と略す）

ロット番号：[REDACTED]

純度：98.80%

供給元：MP Biomedicals, LLC.

名称：2-aminoanthracene（以下 2AA と略す）

ロット番号：[REDACTED]

含量：96.5%

供給元：和光純薬工業株式会社

12.4. 被験物質液の調製

12.4.1. 溶解性試験

本被験物質の溶媒は、溶解性試験の結果より設定した。溶解性試験は、日本薬局方注射用水、DMSO 及びアセトンに実施した。溶解性試験の調製濃度は、日本薬局方注射用水及び DMSO の場合は 50 mg/mL、アセトンの場合は 100 mg/mL とした。

所定量の被験物質を用時秤量した。これに 50 または 100 mg/mL の濃度になるよう溶媒を加え、目視により発熱、発煙等の反応性の有無及び溶解性を確認した。その結果、本被験物質は DMSO 及びアセトンに対して溶解した。また、日本薬局方注射用水については、超音波による分散によっても一様な分散状態の懸濁液が得られなかった。一方、本被験物質と溶媒との反応性については、いずれの溶媒についてもなら認められなかった。従って、本被験物質はこれらの溶媒に対して安定であると判断した。

12.4.2. 溶媒の選択

本被験物質の溶媒は、溶液が得られ、また反応性が認められず溶媒中で本被験物質が安定であると判断された DMSO とした。

12.4.3. 調製

調製時期：用時調製した（被験物質の秤量は調製の前日に行った）。

純度換算：純度換算を行った（秤量値×0.838）。

液量換算：秤量した被験物質の液量を、添加する溶媒の液量から除いた。

調製方法：所定量の被験物質を秤量し、これに DMSO を加え 50 mg/mL 液を調製した。調製に使用した DMSO は、Molecular Sieves (3A) により脱水した。低用量の被験物質液は、得られた被験物質液を最高濃度とし、同様の DMSO を使用して段階希釈し調製した。使用後の残余被験物質液は、感染性廃棄物として廃棄した。

12.5. 陽性対照物質液の調製

陽性対照物質は、DMSO (LotNo. [REDACTED] 純度 100.0%, 和光純薬工業株式会社) に溶解し -80°C に凍結保存したものを、用時に解凍して使用した。調製濃度を下記に示す。使用後の残余陽性対照物質液は、感染性廃棄物として廃棄した。

| 化学物質名 | 濃度 (µg/mL) |
|-------|----------------|
| AF-2 | 0.1, 1.0 |
| AZI | 5 |
| 9AA | 800 |
| 2AA | 5, 10, 20, 100 |

12.6. 使用菌株

菌株は、既知変異誘発物質に対して高い感受性を有しており、細菌を用いる復帰突然変異試験に汎用されている下記の菌株を使用した。菌株の入手先及び入手年月日を以下に示す。入手した菌株は、-80°C で保存した。

| 菌株名 | 入手先 | 入手年月日 |
|--|-----------------|------------|
| 塩基対置換型変異株 ; <i>S. typhimurium</i> TA100, TA1535 | 日本バイオアッセイ研究センター | [REDACTED] |
| フレームシフト型変異株 <i>S. typhimurium</i> TA98, TA1537 | | |
| 塩基対置換型変異株 ; <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i> | NBRC | [REDACTED] |

NBRC ; 独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー本部, 生物遺伝資源部門

12.7. 最少グルコース寒天平板培地

最少グルコース寒天平板培地は、極東製薬工業株式会社製造のバイタルメディア AMT-S 培地 (Lot No. [REDACTED] 使用寒天 ; 大洋寒天, Lot No. [REDACTED] SSK セールス) を使用した。

12.8. トップアガー

トップアガーは、加温溶解した軟寒天溶液 (Bacto Agar, Becton, Dickinson ; 0.6%, 塩化ナトリウム, 和光純薬工業株式会社 ; 0.5%) に、0.5 mmol/L ヒスチジン (関東化学株式会社), 0.5 mmol/L ビオチン (和光純薬工業株式会社) 及び 0.5 mmol/L トリプトファン (関東化学株式会社) を 1/10 の容量で加えて調製したものを使用した。

12.9. S9 mix

12.9.1. S9

S9は、オリエンタル酵母工業株式会社製造の以下のラット肝S9を使用した。S9は、使用するまで-80°Cで保存した。

| | |
|-----------|---|
| 使用動物 | ラット：Sprague-Dawley系 |
| 性、週齢/体重範囲 | 雄，7週齢/212.1±8.2g |
| Lot No. | |
| 製造年月日 | |
| 誘導物質 | Phenobarbital (PB) 及び 5,6-Benzoflavone (BF) |
| 投与量及び投与回数 | PB: 30 mg/kg 1回 (1日目) 60 mg/kg 3回 (2~4日目) BF: 80 mg/kg 1回 (3日目) |
| 投与方法 | 腹腔内投与 |

12.9.2. コファクター

コファクターは、グルコース-6-リン酸、NADH及びNADPH（オリエンタル酵母工業株式会社）を0.2 mol/L ナトリウム-リン酸緩衝液に溶解し、濾過滅菌（φ 0.45 μm）した後MgCl₂-KCl溶液を加えたものを使用した。調製したコファクターは、使用するまで氷冷下で保存した。

12.9.3. S9 mix の調製

-80°Cに凍結保存したS9を用時に解凍し、コファクターと1:9の割合で混合した。以下にS9 mix 1 mL中の成分濃度を示す。調製したS9 mixは、氷冷下で保存した。

| | |
|---------------------|----------|
| S9 | 0.1 mL |
| 塩化マグネシウム | 8 μmol |
| 塩化カリウム | 33 μmol |
| グルコース-6-リン酸 | 5 μmol |
| NADPH | 4 μmol |
| NADH | 4 μmol |
| リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.4) | 100 μmol |

12.10. 試験方法

12.10.1. 群構成

菌株ごとに、代謝活性化非存在下及び代謝活性化存在下について実施し、さらに陰性対照、陽性対照を設けた。用量当たりの最少グルコース寒天平板培地は、陰性対照群、被験物質群及び陽性対照群のいずれも2枚とした。なお、同日に複数の試験を実施した場合は、陽性対照物質は共有した。陽性対照物質の用量は、細菌を用いる復帰突然変異試験に広く使用されている下記の用量とした。

| 菌株 | 代謝活性化非存在下 | | 代謝活性化存在下 | |
|-----------------|-----------|--------------------------------------|----------|--------------------------------------|
| | 化学物質名 | 用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$) | 化学物質名 | 用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$) |
| TA100 | AF-2 | 0.01 | 2AA | 1.0 |
| TA1535 | AZI | 0.5 | 2AA | 2.0 |
| WP2 <i>uvrA</i> | AF-2 | 0.01 | 2AA | 10.0 |
| TA98 | AF-2 | 0.1 | 2AA | 0.5 |
| TA1537 | 9AA | 80.0 | 2AA | 2.0 |

12.10.2. 用量段階

本試験の用量段階は、用量設定試験の結果より設定した。用量設定試験は、5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ を最高用量とした以下公比4の計6用量とした。用量設定試験の結果を別表1及び図1に示す。

本被験物質は、代謝活性化存在下の *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 に対して 1250 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上、代謝活性化非存在下のすべての菌株及び代謝活性化存在下の *E. coli* WP2 *uvrA* に対して 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の用量で生育阻害を示した。しかし、復帰変異コロニー数の用量反応的な増加及び陰性対照と比較して復帰変異コロニー数の2倍以上の増加は、代謝活性化の有無にかかわらずいずれの菌株に対しても認められなかった。一方、被験物質の沈殿が代謝活性化存在下の 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の用量で観察されたが、復帰変異コロニー数の計測には影響をおよぼさなかった。

以上の結果より、本試験の用量段階は代謝活性化の有無にかかわらずすべての菌株について、生育阻害の観察された用量を参考に代謝活性化存在下の *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 の場合は 1250 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 、代謝活性化非存在下のすべての菌株及び代謝活性化存在下の *E. coli* WP2 *uvrA* の場合は 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ を最高用量とした以下公比2の計6用量とした（別表2）。

12.10.3. 菌懸濁液の調製

三角フラスコ（容量 200 mL）に入れた濃度 25 g/L のニュートリエントブロス培養液（Lot No. XXXXXXXXXX Oxoid Ltd.）25 mL に菌懸濁液 50 μL （*S. typhimurium* TA1537 及び *E. coli* WP2 *uvrA* の場合は 1/5 に希釈）を接種し、37°C で 10 時間振盪培養した（ML-10F 及び PU-6、タイテック株式会社）。接種したニュートリエントブロス培養液は、培養開始まで 4°C に保存した。培養終了後培養液の濁度（OD）を BioSpec-mini（株式会社島津製作所）を使用して波長 660 nm で測定し、菌数が 1.0×10^9 個/mL 以上であることを確認した。

12.10.4. 試験操作

菌株と被験物質液の処理方法は、細菌を用いる復帰突然変異試験の定法として用いられる、37°C、20分間のプレインキュベーション法とした。

試験管に陰性対照物質、被験物質液または陽性対照物質 0.1 mL を分注した。これに代謝活性化非存在下の場合は 1/15 mol/L ナトリウム-リン酸緩衝液 (pH 7.4) を、代謝活性化存在下の場合は S9 mix を 0.5 mL 加え、さらに菌懸濁液 0.1 mL を加えて攪拌した後 37°C、振盪回数 105～116 回/分 (変動範囲) で 20 分間振盪した (BW201/BF-400, ヤマト科学株式会社)。振盪開始 20 分後これにトップアガーを 2.0 mL 加えて攪拌し、最少グルコース寒天平板培地に重層した。重層固化を確認した後最少グルコース寒天平板培地の上下を反転し、37°C で 48 時間培養した (FMU-4041, 福島工業株式会社)。

12.10.5. 無菌試験

被験物質への雑菌の混入、試験操作時の雑菌の混入がないことを確認するため、被験物質液と S9 mix について無菌試験を実施した。無菌試験における被験物質液及び S9 mix の添加量は、菌株と被験物質液の処理時の液量とした。最高濃度の被験物質液または S9 mix にトップアガーを 2.0 mL 加え、最少グルコース寒天平板培地に重層した。重層固化を確認した後最少グルコース寒天平板培地の上下を反転し、37°C で 48 時間培養した (FMU-4041, 福島工業株式会社)。

12.10.6. 識別

各菌株の前培養時には、油性マーカーペンで菌株名を培養容器に表記した。試験時の最少グルコース寒天平板培地には、試験番号、菌株名、用量、被験物質名 (別名を含む)、陰性対照物質名又は陽性対照物質名及び S9 mix の存在の有無を明記した。

12.10.7. 観察及び復帰変異コロニー数の計測

復帰変異コロニー数の計測時に目視で沈殿の有無を確認し、また実体顕微鏡を用いて background lawn の生育を観察し生育阻害の有無を確認した。沈殿または生育阻害が認められた場合は、その旨を記録した。復帰変異コロニー数の計測は、*S. typhimurium* TA100 及び陽性対照はコロニーアナライザー (CA-111D, システムサイエンス株式会社) を用いて計測し、他は用手法で計測した。コロニーアナライザーによる計数では、計測値を面積補正 (コロニーアナライザーの計数値×補正值 1.20) した。

12.11. 試験の成立条件

下記の条件を満たしている場合に、試験は成立とした。

1. 陰性対照群及び陽性対照群のコロニー数の平均値が背景データ (添付資料) の変動範囲内であること。変動範囲を外れる場合にあっては、背景データとの比較から偶発的な要因によるものと考えられること。
2. 陽性対照のコロニー数 (平均) が陰性対照値 (平均) の 2 倍以上を示す。
3. 無菌試験の結果、雑菌による汚染が無い。
4. 計測値に欠落がない。

12.12. 統計学的処理

統計学的処理は行わなかった。菌株ごとの被験物質の各用量、陰性及び陽性対照において計測した各用量の実数値を表示し、用量ごとの復帰変異コロニー数の平均値も併せて表示した。また、菌株ごとの被験物質の用量と復帰変異コロニー数の用量反応曲線を図示した。

12.13. 判定基準

被験物質処理の復帰変異コロニー数を陰性対照の復帰変異コロニー数と比較し、用量あたりの復帰変異コロニー数の平均値が陰性対照の平均値の2倍以上に増加し、その増加に用量反応性及び再現性が認められた場合に陽性と判定した。また、陰性対照と比較して復帰変異コロニー数の2倍以上の増加が観察された場合は、当該菌株について最大比活性値を算出した。

比活性値：

(当該用量における復帰変異コロニー数－陰性対照の復帰変異コロニー数)

用量 (mg)

13. 試験結果及び考察

用量設定試験の結果を別表1及び図1に、本試験の結果を別表2及び図2に示した。また、背景データから算出した陰性対照及び陽性対照値の変動範囲を、添付資料に示した。

本被験物質は、代謝活性化存在下の *S. typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 に対して 1250 µg/plate 以上、代謝活性化非存在下のすべての菌株及び代謝活性化存在下の *E. coli* WP2 *uvrA* に対して 2500 µg/plate 以上の用量で生育阻害を示した。しかし、復帰変異コロニー数の用量反応的な増加及び陰性対照と比較して復帰変異コロニー数の2倍以上の増加は、代謝活性化の有無にかかわらずいずれの菌株においても認められなかった。また、用量設定試験及び本試験において、試験結果に再現性も得られた。一方、被験物質の沈殿が、代謝活性化存在下の 5000 µg/plate の用量で観察された。陽性対照は、代謝活性化の有無にかかわらずすべての菌株に対して、復帰変異コロニー数を陰性対照の2倍以上に増加させた。陰性対照及び陽性対照の平均値は、用量設定試験及び本試験のいずれにおいても、背景データから算出した基準値の範囲内であった。無菌試験の結果、雑菌の混入がないことが確認された。これらの結果は、試験が適切に実施されたことを示す。また、試験の信頼性に悪影響をおよぼす疑いのある環境要因についても、なら認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下において本被験物質の遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定する。

14. 試験の信頼性に影響をおよぼした要素

該当する事項はなかった。

別表1

試験結果表 (用量設定試験)

被験物質の名称: Dec-(5 or 6)-enoic acid

試験番号

| 試験実施期間 | | | | | | | |
|-----------|-------------------|----------------------|---------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| 代謝活性化系の有無 | 被験物質の用量 (μg/プレート) | 復帰変異数 (コロニー数 / プレート) | | | | | |
| | | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | | |
| | | TA100 | TA1535 | WP2 <i>uvrA</i> | TA98 | TA1537 | |
| -S9 mix | 陰性対照 | 124 (119) 114 | 6 (9) 12 | 34 (33) 31 | 20 (24) 28 | 9 (6) 3 | |
| | 4.88 | 128 (121) 113 | 11 (11) 10 | 36 (34) 32 | 22 (24) 26 | 6 (6) 6 | |
| | 19.5 | 125 (120) 114 | 7 (8) 8 | 27 (33) 39 | 27 (28) 29 | 7 (7) 6 | |
| | 78.1 | 124 (119) 114 | 6 (9) 11 | 33 (33) 32 | 25 (24) 22 | 5 (5) 5 | |
| | 313 | 114 (112) 110 | 8 (8) 8 | 30 (31) 32 | 29 (28) 26 | 6 (7) 7 | |
| | 1250 | 97 (101) 105 | 8 (6) 4 | 36 (37) 37 | 19 (24) 29 | 4 (4) 4 | |
| | 5000 | 0* (0) 0* | 0* (0) 0* | 0* (0) 0* | 0* (0) 0* | 0* (0) 0* | |
| + S9 mix | 陰性対照 | 122 (129) 135 | 13 (9) 5 | 33 (36) 38 | 35 (37) 39 | 6 (8) 9 | |
| | 4.88 | 116 (122) 127 | 9 (10) 10 | 40 (38) 35 | 40 (37) 34 | 9 (8) 7 | |
| | 19.5 | 127 (132) 137 | 6 (9) 11 | 39 (35) 30 | 41 (42) 42 | 7 (8) 8 | |
| | 78.1 | 126 (126) 126 | 11 (10) 9 | 33 (34) 35 | 42 (39) 35 | 6 (7) 8 | |
| | 313 | 139 (139) 139 | 9 (9) 8 | 30 (36) 42 | 33 (32) 30 | 10 (12) 13 | |
| | 1250 | 92* (81) 70* | 8* (7) 6* | 32 (33) 33 | 30* (30) 30* | 10* (10) 10* | |
| | 5000 | 0*# (0) 0*# | 0*# (0) 0*# | 0*# (0) 0*# | 0*# (0) 0*# | 0*# (0) 0*# | |
| 陽性対照 | S9 mixを必要としないもの | 名称 用量 (μg/プレート) | AF-2 0.01 | AZI 0.5 | AF-2 0.01 | AF-2 0.1 | 9AA 80.0 |
| | S9 mixを必要とするもの | 名称 用量 (μg/プレート) | 2AA 1.0 | 2AA 2.0 | 2AA 10.0 | 2AA 0.5 | 2AA 2.0 |
| | | コロニー数/プレート | 489 (475) 460 | 518 (510) 502 | 80 (80) 79 | 332 (349) 366 | 297 (354) 410 |
| | | コロニー数/プレート | 1145 (1144) 1142 | 434 (418) 401 | 953 (949) 945 | 336 (342) 348 | 223 (216) 209 |

AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, AZI: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

陰性対照: ジメチルスルホキシド

(): 平均値

*: 生育阻害 #: 沈澱

別表2

試験結果表 (本試験)

被験物質の名称: Dec-(5 or 6)-enoic acid

試験番号

| 試験実施期間 | | [Redacted] | | | | | |
|-----------|-------------------|----------------------|------------------|--------------------|-------------------|------------------|------------------|
| 代謝活性化系の有無 | 被験物質の用量 (μg/プレート) | 復帰変異数 (コロニー数 / プレート) | | | | | |
| | | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | | |
| | | TA100 | TA1535 | WP2 <i>uvrA</i> | TA98 | TA1537 | |
| -S9 mix | 陰性対照 | 126 (130) 134 | 11 (13) 14 | 20 (22) 24 | 20 (19) 17 | 6 (7) 7 | |
| | 156 | 132 (125) 117 | 14 (14) 13 | 13 (19) 24 | 11 (13) 15 | 7 (6) 4 | |
| | 313 | 121 (122) 123 | 12 (12) 12 | 17 (19) 20 | 16 (16) 16 | 5 (6) 6 | |
| | 625 | 120 (122) 124 | 11 (9) 7 | 18 (23) 28 | 13 (16) 18 | 7 (7) 7 | |
| | 1250 | 116 (109) 102 | 7 (9) 10 | 21 (21) 20 | 19 (19) 18 | 4 (4) 4 | |
| | 2500 | 49 * (45) 40 * | 1 * (2) 3 * | 21 * (23) 24 * | 15 * (12) 8 * | 4 * (3) 2 * | |
| | 5000 | 0 * (0) 0 * | 0 * (0) 0 * | 23 * (24) 25 * | 0 * (0) 0 * | 0 * (0) 0 * | |
| + S9 mix | 陰性対照 | 138 (132) 125 | 5 (9) 12 | 22 (28) 33 | 28 (28) 27 | 11 (10) 9 | |
| | 39.1 | 127 (121) 114 | 8 (7) 6 | | 24 (27) 30 | 12 (11) 10 | |
| | 78.1 | 127 (131) 135 | 5 (7) 9 | | 31 (27) 23 | 6 (9) 11 | |
| | 156 | 127 (127) 126 | 9 (8) 7 | 17 (24) 30 | 23 (25) 27 | 10 (11) 11 | |
| | 313 | 120 (125) 129 | 7 (6) 5 | 26 (24) 21 | 25 (27) 28 | 4 (6) 8 | |
| | 625 | 111 (104) 96 | 8 (7) 5 | 20 (24) 28 | 21 (20) 19 | 7 (9) 10 | |
| | 1250 | 86 * (87) 88 * | 5 * (6) 7 * | 17 (28) 39 | 16 * (17) 17 * | 9 * (8) 6 * | |
| | 2500 | | | 26 * (22) 17 * | | | |
| | 5000 | | | 0 * # (0) 0 * # | | | |
| 陽性対照 | S9 mixを必要としないもの | 名称 | AF-2 | AZI | AF-2 | AF-2 | 9AA |
| | | 用量 (μg/プレート) | 0.01 | 0.5 | 0.01 | 0.1 | 80.0 |
| 陽性対照 | S9 mixを必要とするもの | 名称 | 2AA | 2AA | 2AA | 2AA | 2AA |
| | | 用量 (μg/プレート) | 1.0 | 2.0 | 10.0 | 0.5 | 2.0 |
| | | コロニー数/プレート | 483 (492) 500 | 403 (454) 505 | 86 (81) 75 | 369 (372) 374 | 312 (318) 323 |
| | | コロニー数/プレート | 937 (954) 970 | 335 (343) 351 | 748 (727) 706 | 403 (397) 391 | 177 (167) 157 |

AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, AZI: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene
 陰性対照: ジメチルスルホキシド

(): 平均値

*: 生育阻害 #: 沈澱

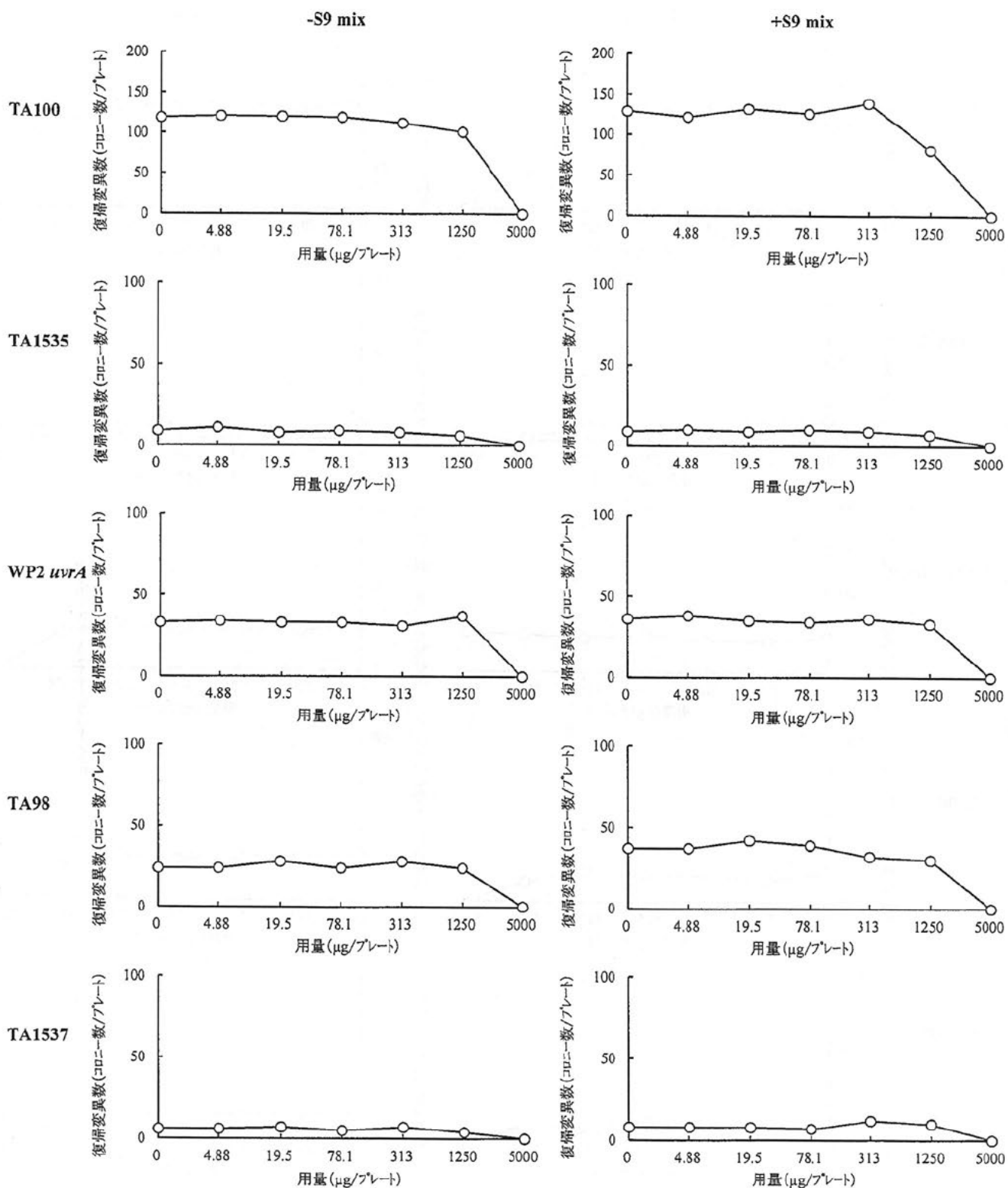


図1 Dec-(5 or 6)-enoic acidの試験結果—用量反応曲線(試験番号 [redacted] 用量設定試験)

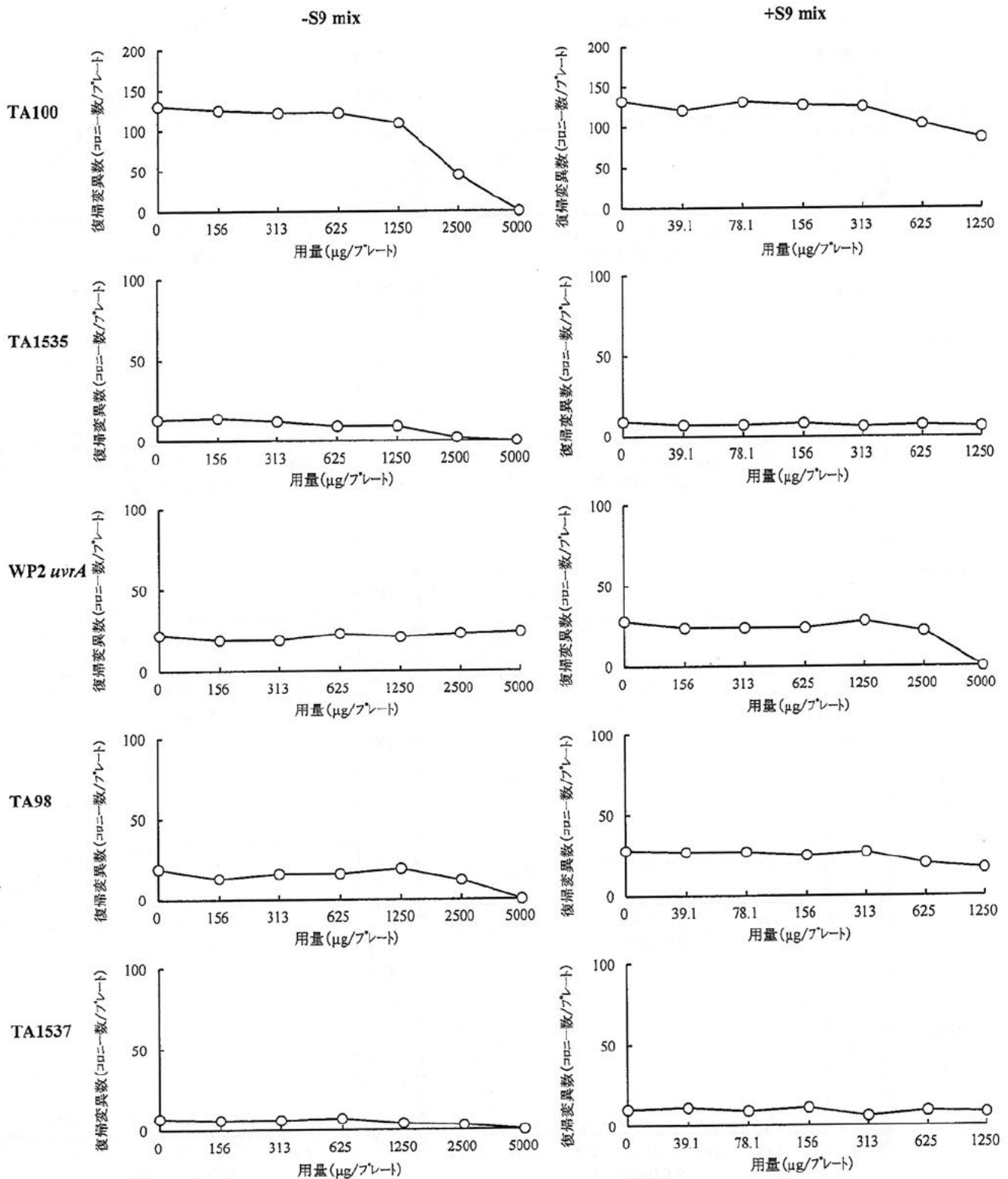


図2 Dec-(5 or 6)-enoic acidの試験結果—用量反応曲線(試験番号 [redacted] 本試験)

添付資料

陰性対照値及び陽性対照値の背景データから算出した基準値

データ集計期間： XXXXXXXXXX

陰性対照値

| 菌株名 | S9 mix | 背景データ | | | | | 変動範囲 |
|---------------------|--------|-------|-----|-----|-----|------|--------|
| | | データ数 | 最小値 | 最大値 | 平均値 | 標準偏差 | |
| TA100 | - | 807 | 80 | 161 | 117 | 10.4 | 86-148 |
| | + | 797 | 84 | 186 | 129 | 10.3 | 98-160 |
| TA1535 | - | 734 | 6 | 19 | 10 | 1.9 | 4-16 |
| | + | 709 | 4 | 30 | 10 | 2.0 | 4-16 |
| WP2 _{uvrA} | - | 717 | 10 | 47 | 21 | 4.8 | 7-35 |
| | + | 712 | 12 | 46 | 25 | 5.4 | 9-41 |
| TA98 | - | 804 | 12 | 33 | 20 | 3.5 | 10-31 |
| | + | 916 | 16 | 52 | 28 | 4.3 | 15-41 |
| TA1537 | - | 728 | 3 | 13 | 7 | 1.5 | 3-12 |
| | + | 714 | 5 | 23 | 10 | 2.6 | 2-18 |

陽性対照値

| 菌株名 | 陽性対照物質及び用量 (µg/plate) | S9 mix | 背景データ | | | | | 変動範囲 |
|---------------------|-----------------------|--------|-------|-----|------|-----|-------|----------|
| | | | データ数 | 最小値 | 最大値 | 平均値 | 標準偏差 | |
| TA100 | AF-2 : 0.01 | - | 545 | 332 | 814 | 492 | 84.3 | 239-745 |
| | 2AA : 1.0 | + | 534 | 436 | 1515 | 935 | 181.1 | 392-1478 |
| TA1535 | AZI : 0.5 | - | 524 | 103 | 574 | 411 | 75.6 | 184-638 |
| | 2AA : 2.0 | + | 504 | 71 | 468 | 276 | 73.4 | 56-496 |
| WP2 _{uvrA} | AF-2 : 0.01 | - | 506 | 65 | 246 | 100 | 24.0 | 65-172 |
| | 2AA : 10.0 | + | 497 | 176 | 1272 | 559 | 267.4 | 176-1361 |
| TA98 | AF-2 : 0.1 | - | 543 | 228 | 746 | 420 | 69.3 | 212-628 |
| | 2AA : 0.5 | + | 553 | 142 | 645 | 302 | 52.0 | 146-458 |
| TA1537 | 9AA : 80.0 | - | 520 | 149 | 824 | 448 | 137.1 | 37-859 |
| | 2AA : 2.0 | + | 506 | 70 | 437 | 218 | 56.7 | 48-338 |

菌株ごとに平均値 (M) 及び標準偏差 (S.D.) を算出し、変動範囲 (M±3S.D.) を設定した。変動範囲の下限値が0以下になった場合は、背景データのコロニー数の最小値を下限値とした。陽性対照値の変動範囲の下限値が陰性対照の変動範囲の上限以下になった場合は、陽性対照値の最小値を下限値とした。

信頼性保証部門陳述書

試験表題：Dec-(5 or 6)-enoic acid の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：[REDACTED]

標記試験は下記 GLP を適用して実施され、最終報告書には試験の実施方法が正確に記載され、かつ生データが正確に反映されていることを確認した。

信頼性保証部門による調査及び報告は、別紙の日程で実施した。

新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について

(平成 23 年 3 月 31 日、/薬食発 0331 第 8 号/平成 23・03・29 製局第 6 号/

環企発第 110331010 号/)

(信頼性保証部門責任者)

[REDACTED]
[REDACTED]
[REDACTED]

[REDACTED]

調査表

試験番号: [REDACTED]

| 調査項目 | 調査日 | 試験責任者 報告日 | 運営管理者 報告日 |
|--|------------|--------------|--------------|
| 試験計画書 被験物質の配布・秤量 前培養 検体調製 検体と菌の混合・培養 観察及びコロニー数計測 報告書第1稿及び生データ 最終報告書 | [REDACTED] | [REDACTED] | [REDACTED] |