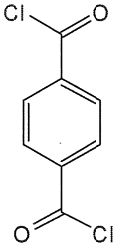


## 微生物を用いる変異原性試験結果報告書

## 1 一般的事項

化学物質の名称 (IUPAC 命名法による)	テレフタル酸クロライド		
別名	Terephthaloyl chloride		
構造式又は示性式			
試験に供した 化学物質の純度	99.9%	試験に供した 化学物質の Lot No.	87SXB-00
不純物の名称及び 含有率(濃度)	—		
C A S 番号	100-20-9	蒸気圧	2.7Pa/25℃
分子量	203.02	分配係数 (1-オクタノール/水分配係数)	—
融点	83℃		
沸点	266℃	常温における性状	白色結晶または粉末
安定性	水：水との接触により分解し、有毒なガスを発生する。 光：— 熱：—		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	水	—	—
	DMSO	—	—
	脱水アセトン	溶解[100mg/ml 以上]*	—

\*日本バイオアッセイ研究センターの試験による。

## 2 試験に用いた菌株

菌 株 名	入 手 先	入 手 年 月 日
TA100	東京大学医科学研究所癌生物学研究部	1985年 6月 21日
TA1535	同 上	1988年 5月 16日
TA98	同 上	1988年 5月 16日
TA1537	同 上	1988年 5月 16日
WP2 <i>uvrA</i> / pKM101	同 上	1983年 6月 29日

## 3 S9 mix

## (1) S9の入手方法等

自 製 ・ 購 入 の 別	1. 自 製 ②. 購 入 (製造元: キッコーマンバイオケミファ株式会社)
製 造 年 月 日	2014年 3月 20日 製造
購入の場合のLot No.	RAA-20140320
保 存 温 度	-80℃ (保存機器名 三洋電機株式会社 MDF-392AT)

## (2) S9の調製方法

使用動物		誘導物質	
種・系統	ラット・ Sprague-Dawley (Slc:SD)	名 称	フェノバルビタール(PB) 及び 5,6-ベンゾフラボン (BF)
性	雄		
週 齢	7 週	投与方法	腹腔内投与
体 重	179~229 g	投与期間及び投与量 (g/kg体重)	1日目(投与開始日) : PB 0.03 2日目~4日目 : PB 0.06 3日目 : BF 0.08

## (3) S9 mixの組成

成 分	S9 mix 1 ml中の量	成 分	S9 mix 1 ml中の量
S9	0.1 ml	NADPH	4 $\mu$ mol
MgCl <sub>2</sub>	8 $\mu$ mol	NADH	4 $\mu$ mol
KCl	33 $\mu$ mol	Na-リン酸緩衝液	100 $\mu$ mol
グルコース-6-リン酸	5 $\mu$ mol	その他 ( - )	-

## 4 被験物質溶液の調製

使用溶媒	名称	製造元	Lot No.	グレード	純度(%)
	脱水アセトン(モレキュラーシーブスで脱水したもの)	和光純薬工業株式会社	KWP4897	高速液体クロマトグラフ用	99以上
溶媒選択の理由	被験物質は水やDMSOと反応することが考えられること、被験物質の溶解度は、脱水アセトンに100 mg/ml[被験物質溶液量をプレート当たり50 $\mu$ lにした場合に5000 $\mu$ gの被験物質に相当する]以上であり、被験物質に脱水アセトンを加えた際に、発色、発泡、発熱等の変化は見られなかったことから溶媒に脱水アセトンを選択した。				
被験物質溶液の性状	溶解 懸濁 その他( )				
被験物質が難溶性の場合における懸濁等の方法	-				
溶液の調製から使用までの保存時間と温度	用量設定試験 本試験	1時間 30分、 1時間 20分、	25 $^{\circ}$ C 25 $^{\circ}$ C		
純度換算の有無	有			無	

## 5 前培養の条件等

## (1) 条件

ニュートリエントブロス	名称	製造元	Lot No.
	Oxoid ニュートリエントブロス No.2	OXOID LTD.	941971
前培養時間	10時間00分		
培養容器(形状・容量)	形状:三角フラスコ	容量:62.5 ml	
培養液量	15 ml	接種菌量	30 $\mu$ l

## (2) 前培養終了時の生菌数等

菌株名		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 $uvrA$ / pKM101	TA98	TA1537
生菌数 ( $\times 10^9$ / ml)	用量設定試験	2.23	3.38	3.98	2.56	2.39
	本試験	2.33	3.25	3.95	2.77	2.41
測定方法 (いずれかを○で囲むこと)		① 0.D. 値よりの換算      2. 段階希釈法 3. その他 ( )				

## 6 最少グルコース寒天平板培地

自製・購入の別	1. 自製 (2.) 購入(製造元：オリエンタル酵母工業株式会社)
製造年月日	2014年4月15日 製造
購入の場合の Lot No.	ANI200DD
使用寒天の名称・ 製造元・Lot No. 等	使用寒天の名称：伊那寒天 BA-30A 製造元：伊那食品工業株式会社 Lot No. : 31122

## 7 試験の方法

## (1) 試験方法とその選定理由

採用した試験方法	(1.) プレインキュベーション法 2. プレート法 3. その他 ( )
その他の場合は その選定理由	—

## (2) 試験条件 (プレート当たり)

プレインキュベーション法		
組 成	菌懸濁液	0.1 ml
	被験物質溶液	0.05 ml
	Na-リン酸緩衝液(直接法による場合)	0.5 ml
	S9 mix(代謝活性化法による場合)	0.5 ml
	トッパアガー	2 ml
プレインキュベーション	温度	37 °C
	時間	20 分
インキュベーション	温度	37 °C
	時間	48 時間

## 8 コロニー計測の方法

計測方法	(1.) マニュアル計測 (2.) 機器計測
補正の有無	1. 無 (2.) 有(補正の方法 面積及び数え落とし補正)

## 9 試験結果

(1) 試験の結果は別表による。

(2) 結果の判定

判 定	陽性 <span style="float: right; border: 1px solid black; border-radius: 50%; padding: 2px;">陰性</span>
<p>[判定の理由]</p> <p>用量設定試験の結果を表-1に、本試験の結果を表-2及び図-1～10に示した。</p> <p>用量設定試験を最高用量5000 <math>\mu</math>g/プレートより公比4の7用量で実施したが、TA98、TA100、TA1535、TA1537及び WP2uvrA/pKM101の直接法による場合及び代謝活性化法による場合に陰性対照(溶媒対照)値の2倍以上の復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。生育障害はすべての菌株の直接法による場合及び代謝活性化法による場合にみられた。</p> <p>最高用量を生育障害を示す用量とし、公比2で7用量で本試験を実施したが、TA98、TA100、TA1535、TA1537及び WP2uvrA/pKM101の直接法による場合及び代謝活性化法による場合に陰性対照値の2倍以上の復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。</p> <p>陽性対照物質は、それぞれの試験菌株において陰性対照値の2倍以上の復帰変異コロニー数を誘発した。また、陰性対照値及び陽性対照値は、当センターのヒストリカルデータより作成した基準の範囲内であった。これらの結果は試験が適切に実施されたことを示している。</p> <p>以上の結果より、テレフタル酸クロライドの微生物に対する変異原性は、陰性と判定した。</p>	

(3) 参考事項

コロニー数の計測は、沈殿の著しいプレートにマニュアル計測を実施した。



表-1

試験結果表（用量設定試験）

被験物質の名称：テレフタル酸クロライド

試験実施期間		2014年 6月17日から 2014年 6月20日													
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		WP2uvrA/pKM101	TA98		TA1537						
S9 mix (-)	陰性対照 (溶媒対照)	106 139	12 17	123 113	20 22	15 12	124 108 ( 119 )	12 7 ( 12 )	113 127 ( 119 )	27 25 ( 24 )	10 13 ( 13 )				
	1.22	105 115 ( 110 )	3 12 ( 8 )	95 129 ( 113 )	22 18 ( 20 )	21 9 ( 15 )	4.88	116 135 ( 126 )	9 12 ( 11 )	149 121 ( 135 )	21 15 ( 18 )	13 16 ( 15 )			
	19.5	105 122 ( 114 )	8 7 ( 8 )	110 121 ( 116 )	18 21 ( 20 )	10 12 ( 11 )	78.1	121 115 ( 118 )	10 9 ( 10 )	111 114 ( 113 )	26 19 ( 23 )	12 8 ( 10 )			
	313	99* 100* ( 100* )	8* 11* ( 10* )	114* 99* ( 107* )	17* 21* ( 19* )	12* 15* ( 14* )	1250	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	77* 59* ( 68* )	22* 8* ( 15* )	0* 0* ( 0* )			
	5000 †	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	124 95	7 13	137 158	28 22	15 15		
	1.22	143 141 ( 142 )	8 10 ( 9 )	149 185 ( 168 )	33 34 ( 34 )	11 20 ( 16 )		4.88	119 111 ( 115 )	8 8 ( 8 )	151 150 ( 151 )	20 25 ( 23 )	16 20 ( 18 )		
	19.5	108 112 ( 110 )	13 10 ( 12 )	155 162 ( 159 )	30 36 ( 33 )	21 17 ( 19 )		78.1	134 128 ( 131 )	6 8 ( 7 )	167 175 ( 171 )	28 29 ( 29 )	13 17 ( 15 )		
	313 †	101 93 ( 97 )	15 11 ( 13 )	145 148 ( 147 )	30 14 ( 22 )	10 11 ( 11 )		1250 †	129* 98* ( 114* )	7* 8* ( 8* )	129* 108* ( 119* )	20* 17* ( 19* )	10* 12* ( 11* )		
	5000 †	79* 76* ( 78* )	0* 0* ( 0* )	95* 75* ( 85* )	18* 17* ( 18* )	0* 0* ( 0* )		陽性対照	S9 mixを必要とするもの	名称	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA
	用量(μg/プレート)	0.01	0.5	0.005	0.1	80			必要なもの	コロニー数/プレート	584 556 ( 570 )	380 411 ( 396 )	1142 921 ( 1032 )	564 471 ( 518 )	626 506 ( 566 )
	S9 mixを必要とするもの	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA			2-AA	用量(μg/プレート)	1	2	2	0.5	2
	コロニー数/プレート	1081 1159 ( 1120 )	285 328 ( 307 )	1085 962 ( 1024 )	479 484 ( 482 )	201 200 ( 201 )									

【備考】

1. 菌の生育阻害(抗菌作用)が認められる場合は、該当する数値の右に\*印を付した。
2. ( )内には各プレートのコロニー数の平均値を記入した。
3. 復帰変異数は、被験物質用量の低い順に実測値及び平均値を記入した。
4. プレート上に沈澱が析出した場合は、その用量に†印を付した。
5. 陽性対照物質の名称 AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN<sub>3</sub>: ナトリウム・アジド、9-AA: 9-アミノアクリジン、2-AA: 2-アミノアントラセン

表-2

試験結果表 (本試験)

被験物質の名称：テレフタル酸クロライド

試験実施期間		2014年 6月 23日から 2014年 6月26日											
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		WP2uvrA/pKM101	TA98		TA1537				
S9 mix (-)	陰性対照 (溶媒対照)	94 89	9 11	115 107	15 17	21 21	99 103 ( 96 )	12 11 ( 11 )	106 127 ( 114 )	19 16 ( 17 )	19 19 ( 20 )		
	4.88	115 98 ( 107 )	11 12 ( 12 )	98 134 ( 116 )	21 16 ( 19 )	17 20 ( 19 )							
	9.77	106 100 ( 103 )	13 10 ( 12 )	150 122 ( 136 )	18 22 ( 20 )	18 26 ( 22 )							
	19.5	97 115 ( 106 )	17 10 ( 14 )	124 151 ( 138 )	18 20 ( 19 )	19 19 ( 19 )							
	39.1	114 99 ( 107 )	15 12 ( 14 )	127 135 ( 131 )	15 17 ( 16 )	16 21 ( 19 )							
	78.1	106 122 ( 114 )	11 9 ( 10 )	143 139 ( 141 )	10 13 ( 12 )	16 21 ( 19 )							
	156	124 130 ( 127 )	8 8 ( 8 )	131 129 ( 130 )	17 18 ( 18 )	21 21 ( 21 )							
	313	118* 119* ( 119* )	8* 7* ( 8* )	107* 100* ( 104* )	15* 16* ( 16* )	11* 17* ( 14* )							
S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	92 105	10 9	167 157	26 17	19 17	94 95 ( 97 )	9 10 ( 10 )	135 135 ( 149 )	20 28 ( 23 )	22 24 ( 21 )		
	19.5	130 108 ( 119 )	8 10 ( 9 )	150 178 ( 164 )	18 26 ( 22 )	18 22 ( 20 )							
	39.1	111 100 ( 106 )	4 12 ( 8 )	164 172 ( 168 )	17 19 ( 18 )	20 25 ( 23 )							
	78.1	130 134 ( 132 )	9 15 ( 12 )	144 146 ( 145 )	24 20 ( 22 )	19 19 ( 19 )							
	156	130 111 ( 121 )	10 8 ( 9 )	169 175 ( 172 )	20 24 ( 22 )	26 18 ( 22 )							
	313 †	106 112 ( 109 )	7 10 ( 9 )	143 164 ( 154 )	26 14 ( 20 )	21 15 ( 18 )							
	625 †	108 106 ( 107 )	2 7 ( 5 )	148 141 ( 145 )	15 21 ( 18 )	17 14 ( 16 )							
	1250 †	98* 115* ( 107* )	6* 8* ( 7* )	146* 124* ( 135* )	13* 26* ( 20* )	10* 10* ( 10* )							
陽性対照	S9 mixを必要とするもの	名称	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA	用量(μg/プレート)	0.01	0.5	0.005	0.1	80
	コロニー数/プレート	637 561 ( 599 )	382 401 ( 392 )	1270 1096 ( 1183 )	543 521 ( 532 )	857 671 ( 764 )							
	S9 mixを必要とするもの	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	用量(μg/プレート)	1	2	2	0.5	2
	コロニー数/プレート	1006 1038 ( 1022 )	237 258 ( 248 )	1055 949 ( 1002 )	457 473 ( 465 )	197 196 ( 197 )							

【備考】

1. 菌の生育阻害(抗菌作用)が認められる場合は、該当する数値の右に\*印を付した。
2. ( ) 内には各プレートのコロニー数の平均値を記入した。
3. 復帰変異数は、被験物質用量の低い順に実測値及び平均値を記入した。
4. プレート上に沈澱が析出した場合は、その用量に†印を付した。
5. 陽性対照物質の名称 AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN<sub>3</sub>: ナトリウム・アジド、9-AA: 9-アミノアクリジン、2-AA: 2-アミノアントラセン



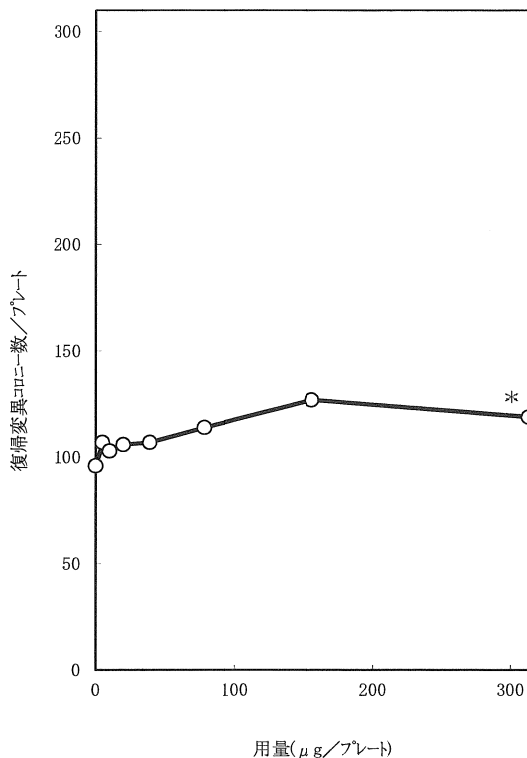


図-1 TA100における用量-反応曲線  
直接法による場合 (本試験)

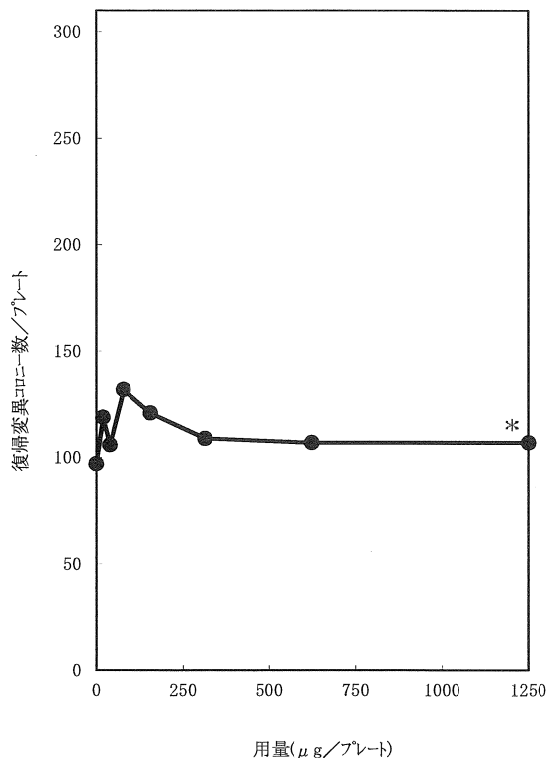


図-2 TA100における用量-反応曲線  
代謝活性化法による場合 (本試験)

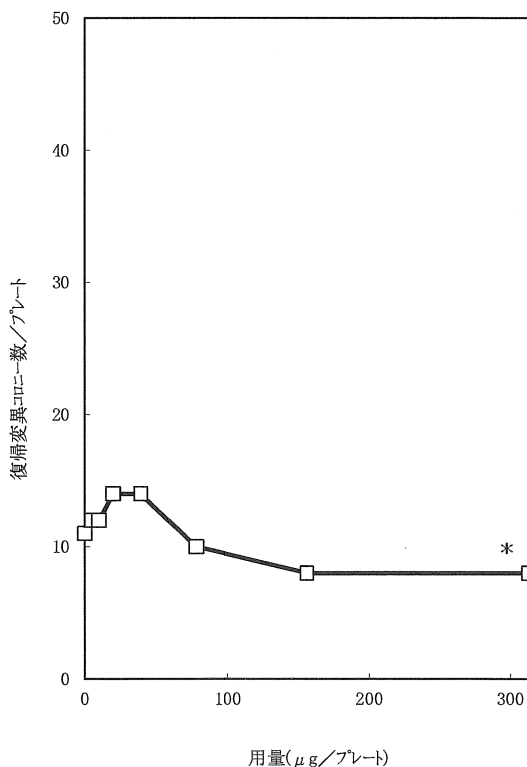


図-3 TA1535における用量-反応曲線  
直接法による場合 (本試験)

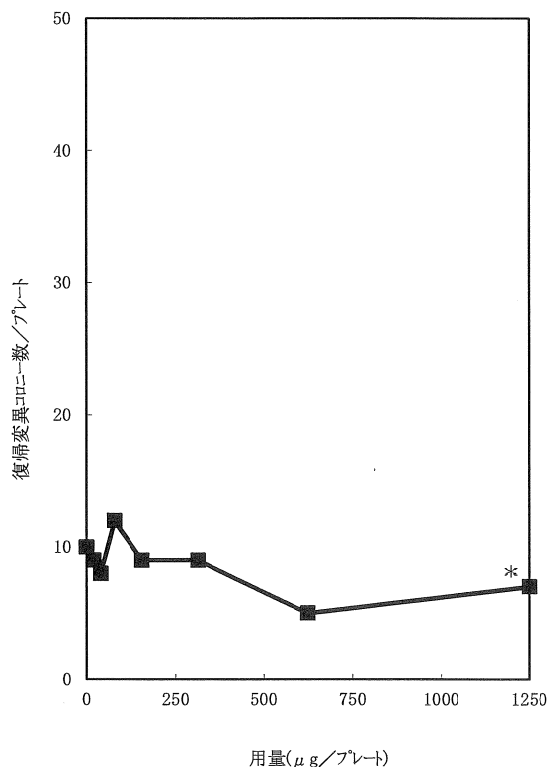


図-4 TA1535における用量-反応曲線  
代謝活性化法による場合 (本試験)

注：生育障害が認められる場合は、該当するポイントの左上に\*を付した。

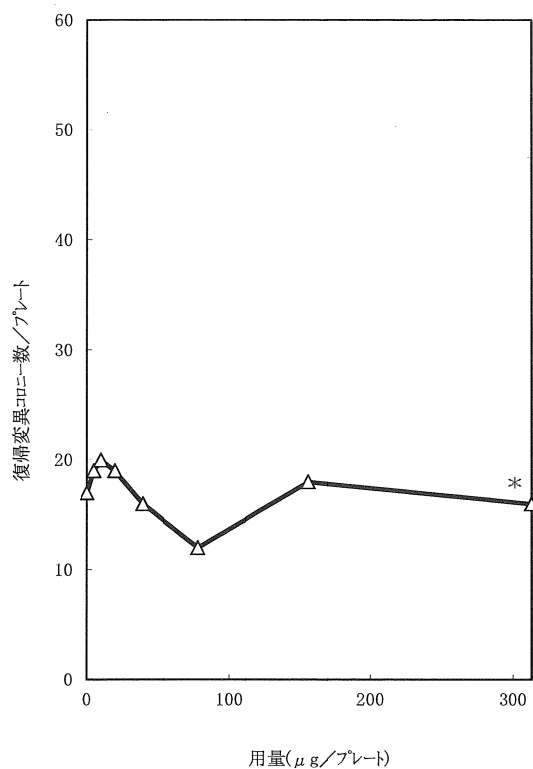


図-5 TA98における用量-反応曲線  
直接法による場合 (本試験)

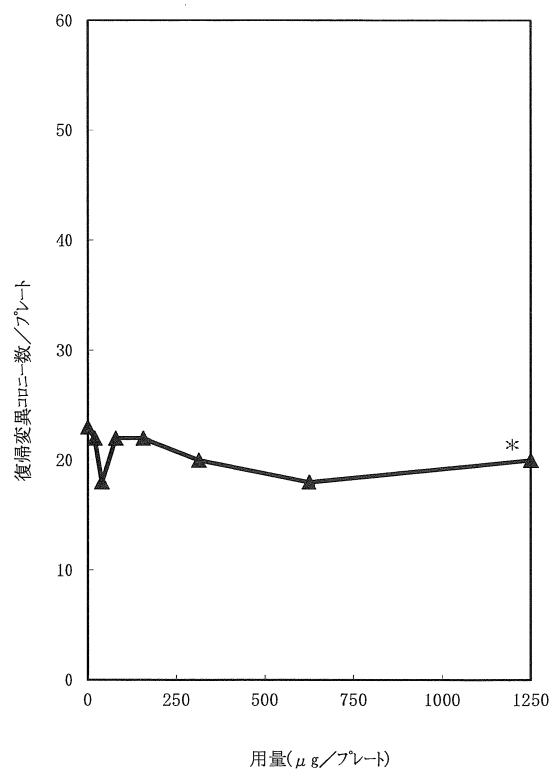


図-6 TA98における用量-反応曲線  
代謝活性化法による場合 (本試験)

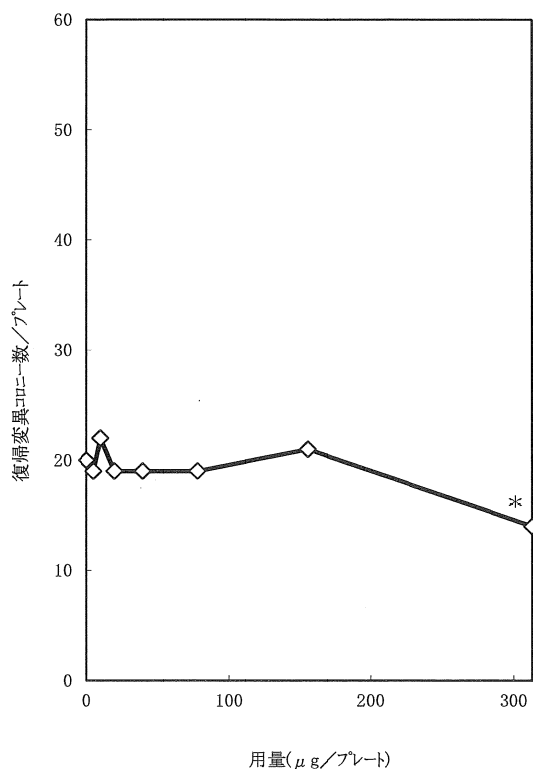


図-7 TA1537における用量-反応曲線  
直接法による場合 (本試験)

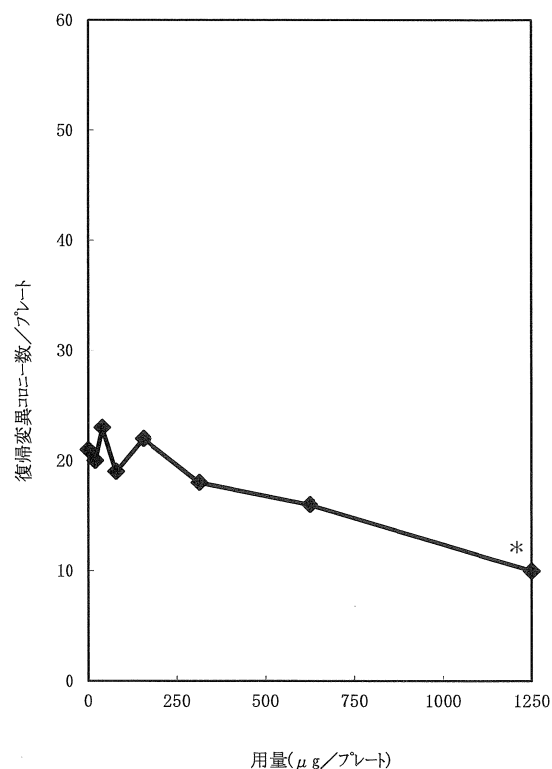


図-8 TA1537における用量-反応曲線  
代謝活性化法による場合 (本試験)

注：生育阻害が認められる場合は、該当するポイントの左上に\*を付した。

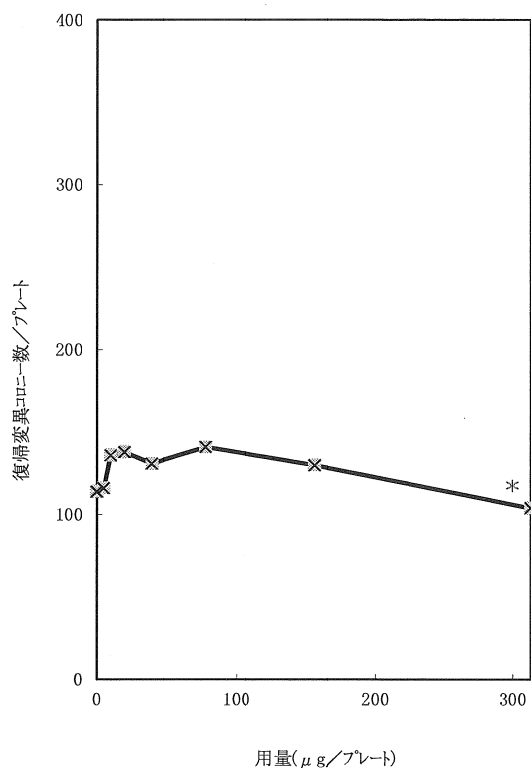


図-9 WP2uvrA/pKM101における用量-反応曲線  
直接法による場合 (本試験)

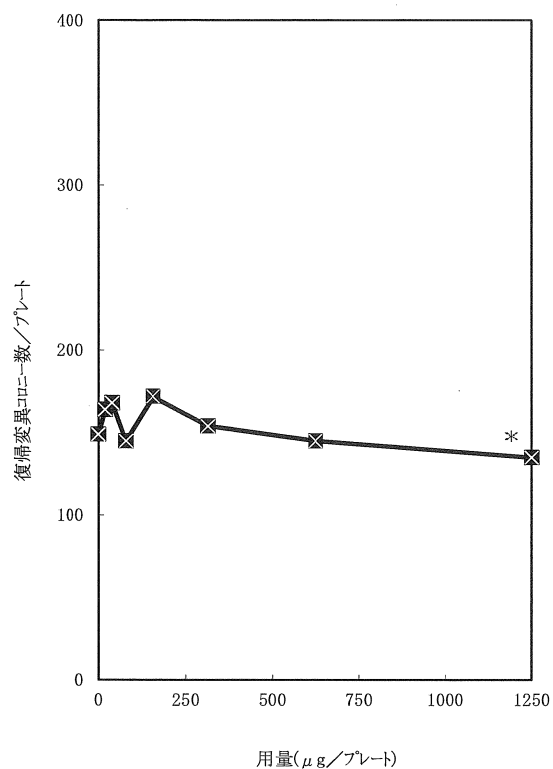


図-10 WP2uvrA/pKM101における用量-反応曲線  
代謝活性化法による場合 (本試験)

注：生育阻害が認められる場合は、該当するポイントの左上に\*を付した。