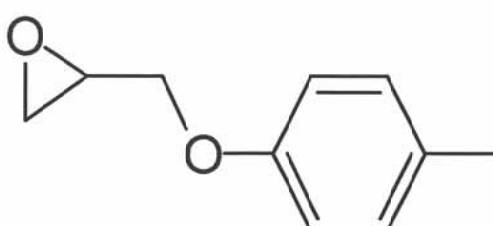


## 微生物を用いる変異原性試験結果報告書

## 1 一般的事項

化学物質の名称 (IUPAC 命名法による)	2-[(トリルオキシ)メチル]オキシラン		
別名	-		
構造式又は示性式			
試験に供した 化学物質の純度	95%	試験に供した 化学物質の Lot No.	E2114
不純物の名称及び 含有率(濃度)	水: 0.1955%		
C A S 番号	26447-14-3	蒸気圧	-
分子量	164.20	分配係数 (1-オクタノール/水分配係数)	-
融点	-		
沸点	-	常温における性状	無色の液体
安定性	水: - 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	難溶[50mg/ml 未満]*	-
	DMSO	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 (%)
	ジメチルスルホキシド (DMSO)	SIGMA-ALDRICH Co.	SHBB3671V	Anhydrous	≥99.9
溶媒選択の理由	被験物質の溶解度は、水に 50 mg/ml 未満であるが、DMSO に 100 mg/ml [被験物質溶液量をプレート当り 50 μl にした場合に 5000 μg の被験物質量に相当する] 以上であり、被験物質に DMSO 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 DMSO 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	1 時間 40分、	25℃		
	本試験	1 時間 30分、	25℃		
純度換算の有無	有			無	

## 5 前培養の条件等

## (1) 条件

ニュートリエントプロス	名 称	製 造 元	Lot No.
	Oxoid ニュートリエントプロス 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 μl

## (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	WP2uvrA/ pKM101	TA98	TA1537
生菌数 (×10 <sup>9</sup> /ml)	用量設定試験	2.38	3.47	4.30	2.62	2.46
	本 試 験	2.27	3.48	4.13	2.61	2.34
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5月27日 製造
購入の場合の Lot No.	ANI270ED
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-リッ酸緩衝液(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
	トップアガー	2 ml
プレインキュベーション	温 度	37 ℃
	時 間	20 分
インキュベーション	温 度	37 ℃
	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	陰性
<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。変異原性の強さを比活性としてまとめ、表-3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用量で実施したところ、TA100、TA1535及びWP2 <i>uvrA</i>/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が認められた。生育阻害はすべての菌株の直接法による場合と代謝活性化法による場合にみられた。</p> <p>復帰変異コロニー数の増加が認められた菌株については用量反応関係が得られるように、それ以外の菌株については最高用量を生育阻害を示す用量とし本試験を実施したところ、用量設定試験と同様、TA100、TA1535及びWP2 <i>uvrA</i>/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が認められた。</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、2-[(トリルオキシ)メチル]オキシランの微生物に対する変異原性は、陽性と判定した。</p>		

## (3) 参考事項

特記事項なし。

## 10 その他

試験実施施設	名 称	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター	
	所 在 地	〒257-0015 神奈川県秦野市平沢 2445	電話 0463 (82) 3911 FAX 0463 (82) 3860
試験責任者	職 氏 名	[REDACTED]	
	経 験 年 数	[REDACTED]	
試験番号	6371		
試験期間	2014年7月4日 ~ 2014年10月9日		

表-1

試験結果表（用量設定試験）

被験物質の名称： 2-[(トリロキシ)メチル]オキシラン

試験実施期間		2014年 7月 8日から 2014年 7月 11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)	96 102 94 98 ( 98 )	10 8 14 8 ( 10 )	109 85 89 111 ( 99 )	26 26 26 29 ( 27 )	17 9 9 9 ( 11 )					
	1.22	122 115 ( 119 )	14 16 ( 15 )	102 102 ( 102 )	18 20 ( 19 )	8 10 ( 9 )					
	4.88	162 172 ( 167 )	16 24 ( 20 )	127 119 ( 123 )	18 21 ( 20 )	7 6 ( 7 )					
	19.5	331 290 ( 311 )	63 62 ( 63 )	179 162 ( 171 )	23 25 ( 24 )	6 8 ( 7 )					
	78.1	791 747 ( 769 )	235 238 ( 237 )	350 334 ( 342 )	32 17 ( 25 )	7 13 ( 10 )					
	313	1228 1259 ( 1244 )	487 526 ( 507 )	735 769 ( 752 )	21 24 ( 23 )	2 1 ( 2 )					
	1250	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	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)	76 117 104 111 ( 102 )	8 9 7 16 ( 10 )	126 119 109 115 ( 117 )	25 26 26 24 ( 26 )	13 8 8 11 ( 10 )				
		1.22	93 121 ( 107 )	16 17 ( 17 )	131 106 ( 119 )	26 20 ( 23 )	10 6 ( 8 )				
		4.88	107 93 ( 100 )	10 17 ( 14 )	121 114 ( 118 )	29 36 ( 33 )	9 9 ( 9 )				
		19.5	120 111 ( 116 )	14 13 ( 14 )	114 133 ( 124 )	24 32 ( 28 )	17 9 ( 13 )				
		78.1	117 124 ( 121 )	9 15 ( 12 )	127 150 ( 139 )	29 26 ( 28 )	6 8 ( 7 )				
		313	418 402 ( 410 )	60 66 ( 63 )	632 647 ( 640 )	33 25 ( 29 )	7 17 ( 12 )				
1250		0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )					
5000		0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )					
陽性対照		必要としないもの	名称 AF-2 用量(μg/プレート) 0.01	名称 NaN <sub>3</sub> 0.5	名称 AF-2 0.005	名称 AF-2 0.1	名称 9-AA 80				
		対照するもの	コロニー数/プレート 654 627 ( 641 )	334 328 ( 331 )	1281 1393 ( 1337 )	529 539 ( 534 )	475 438 ( 457 )				
陽性対照		必要としないもの	名称 2-AA 用量(μg/プレート) 1	名称 2-AA 2	名称 2-AA 2	名称 2-AA 0.5	名称 2-AA 2				
		対照するもの	コロニー数/プレート 1398 1292 ( 1345 )	280 265 ( 273 )	1028 1040 ( 1034 )	460 459 ( 460 )	248 250 ( 249 )				

【備考】

- 菌の生育阻害が認められる場合は、該当する数値の右に\*印を付した。
- ( )内には各プレートのコロニー数の平均値を記入した。
- 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。
- 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：2-〔トリロキシ〕メチル〕オキシラン

試験実施期間		2014年 7月 14日から 2014年 7月 17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)	119 85 96 99 ( 100 )	10 7 10 14 ( 10 )	101 90 104 86 ( 95 )	13 14 13 21 ( 15 )	6 10 10 9 ( 9 )					
	0.610	/	16 15 ( 16 )	/	/	/					
	1.22	116 120 ( 118 )	14 6 ( 10 )	/	/	/					
	2.44	151 131 ( 141 )	18 11 ( 15 )	/	/	/					
	4.88	151 157 ( 154 )	22 31 ( 27 )	/	/	/					
	9.77	206 225 ( 216 )	39 44 ( 42 )	120 148 ( 134 )	/	/					
	19.5	299 285 ( 292 )	87 67 ( 77 )	164 164 ( 164 )	16 14 ( 15 )	8 9 ( 9 )					
	39.1	460 443 ( 462 )	137 159 ( 148 )	235 197 ( 216 )	18 17 ( 18 )	13 9 ( 11 )					
	78.1	650 694 ( 672 )	233 223 ( 228 )	328 332 ( 330 )	22 22 ( 22 )	11 6 ( 9 )					
	156	961 963 ( 962 )	467 440 ( 454 )	501 494 ( 498 )	17 14 ( 16 )	9 15 ( 12 )					
	313	/	/	763 690 ( 727 )	17 13 ( 15 )	2 6 ( 4 )					
	625	/	/	602* 699* ( 751* )	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )					
	1250	/	/	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )					
	S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	121 114 107 106 ( 112 )	8 8 8 9 ( 8 )	129 136 126 123 ( 129 )	24 16 18 16 ( 19 )	13 11 11 17 ( 13 )				
		19.5	99 104 ( 102 )	7 3 ( 5 )	127 138 ( 133 )	14 17 ( 16 )	6 8 ( 7 )				
39.1		105 126 ( 116 )	8 6 ( 7 )	138 162 ( 150 )	11 14 ( 13 )	7 6 ( 7 )					
78.1		116 143 ( 130 )	18 9 ( 14 )	152 146 ( 149 )	20 21 ( 21 )	6 9 ( 8 )					
156		188 159 ( 174 )	18 15 ( 17 )	285 253 ( 269 )	13 16 ( 15 )	10 5 ( 8 )					
313		400 406 ( 403 )	75 77 ( 76 )	709 717 ( 713 )	23 25 ( 24 )	10 9 ( 10 )					
625		314* 259* ( 287* )	70* 74* ( 72* )	986 1003 ( 995 )	18* 25* ( 22* )	5* 10* ( 8* )					
1250		0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )	0* 0* ( 0* )					
陽性対照		S9 mixを必要とするもの	名称 用量(μg/プレート)	AF-2 0.01	NaN <sub>3</sub> 0.5	AF-2 0.005	AF-2 0.1	9-AA 80			
		コロニー数/プレート	673 649 ( 661 )	330 317 ( 324 )	1148 924 ( 1036 )	445 457 ( 451 )	504 523 ( 514 )				
	S9 mixを必要とするもの	名称 用量(μg/プレート)	2-AA 1	2-AA 2	2-AA 2	2-AA 0.5	2-AA 2				
		コロニー数/プレート	1434 1430 ( 1432 )	292 286 ( 289 )	1035 930 ( 983 )	466 486 ( 476 )	292 255 ( 274 )				

【備考】

1. 菌の生育阻害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. 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-3

## 試験結果表 (比活性)

被験物質の名称：2 - [(トリルオキシ) メチル] オキシラン

	菌株名	-S9 mix		+S9 mix	
		比活性	計算に用いた用量	比活性	計算に用いた用量
		Rev./mg	$\mu\text{g}$ /プレート	Rev./mg	$\mu\text{g}$ /プレート
用量 設定 試験	TA100	$1.09 \times 10^4$	19.5	$9.84 \times 10^2$	313
	TA1535	$2.91 \times 10^3$	78.1	$1.69 \times 10^2$	313
	WP2 <i>uvrA</i> / pKM101	$3.11 \times 10^3$	78.1	$1.67 \times 10^3$	313
	TA98	—	—	—	—
	TA1537	—	—	—	—
本 試 験	TA100	$1.19 \times 10^4$	9.77	$9.30 \times 10^2$	313
	TA1535	$3.53 \times 10^3$	39.1	$2.17 \times 10^2$	313
	WP2 <i>uvrA</i> / pKM101	$3.09 \times 10^3$	39.1	$1.87 \times 10^3$	313
	TA98	—	—	—	—
	TA1537	—	—	—	—

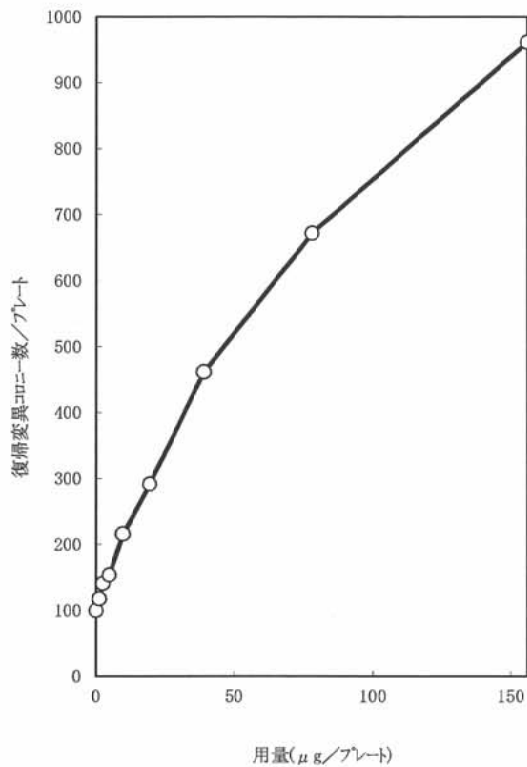


図-1 TA100における用量-反応曲線  
直接法による場合 (本試験)

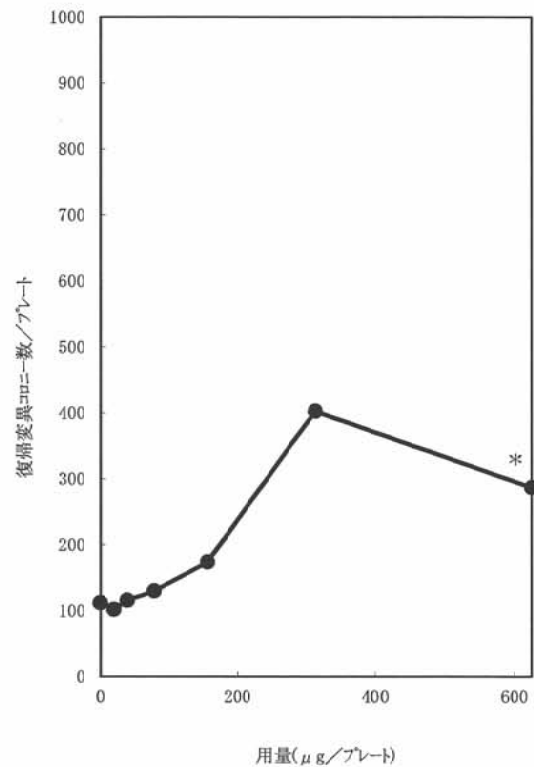


図-2 TA100における用量-反応曲線  
代謝活性化法による場合 (本試験)  
(625 μg/プレートまでをプロットした。)

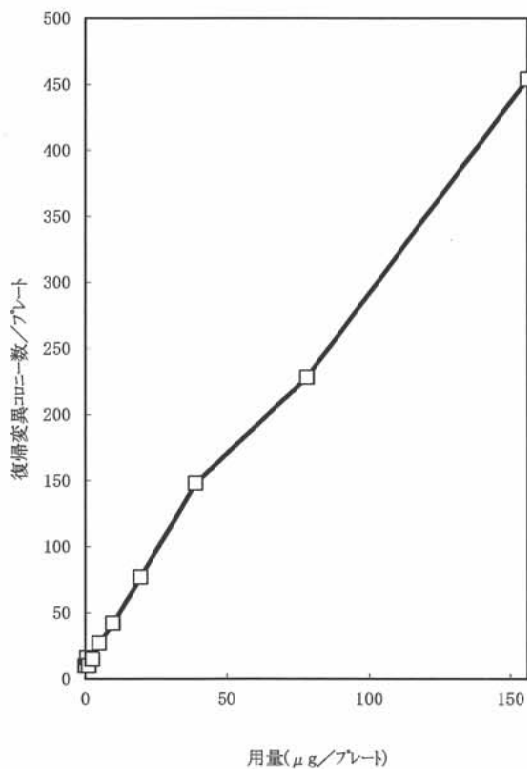


図-3 TA1535における用量-反応曲線  
直接法による場合 (本試験)

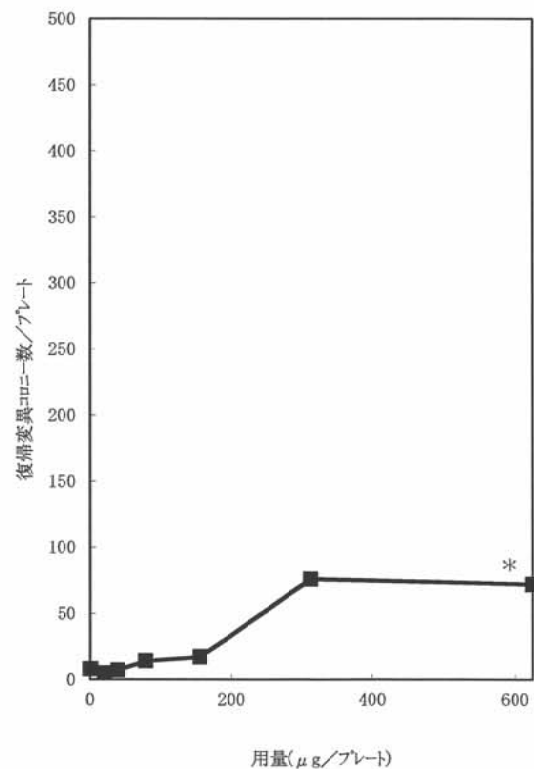


図-4 TA1535における用量-反応曲線  
代謝活性化法による場合 (本試験)  
(625 μg/プレートまでをプロットした。)

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。

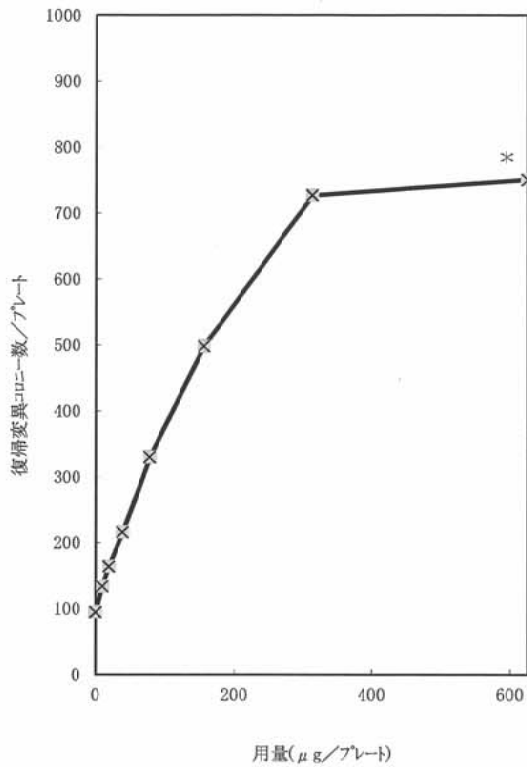


図-9 WP2uvrA/pKM101における用量-反応曲線  
直接法による場合 (本試験)  
(625 μg/プレートまでをプロットした。)

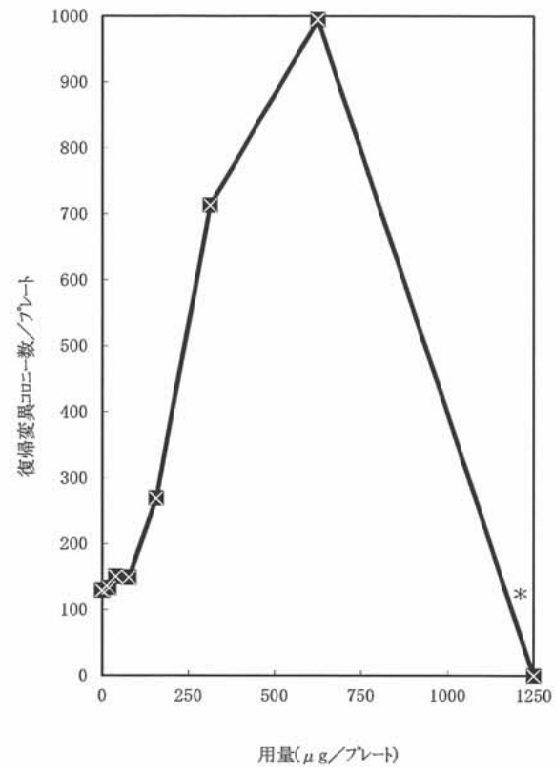


図-10 WP2uvrA/pKM101における用量-反応曲線  
代謝活性化法による場合 (本試験)

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。