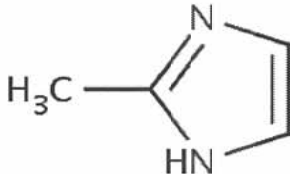


## 微生物を用いる変異原性試験結果報告書

## 1 一般的事項

化学物質の名称 (IUPAC 命名法による)	2-メチル-1H-イミダゾール		
別 名	2-Methylimidazole		
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.	PBGLF-E0
不純物の名称及び 含有率(濃度)	—		
C A S 番 号	693-98-1	蒸 気 圧	—
分 子 量	82.10	分 配 係 数 (1-オクタノール/水分配係数)	—
融 点	144℃		
沸 点	268℃	常温における性状	白色～ほとんど白色の結 晶～粉末
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	溶解[100mg/ml 以上]*	—
	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
WP2uvrA/ 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 7月 11日 製造
購入の場合のLot No.	RAA201407A
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	198~239 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 (%)
	蒸留水(高圧蒸気滅菌したもの)	和光純薬工業株式会社	KWP9781	高速液体クロマトグラフ用	99 以上
溶媒選択の理由	被験物質の溶解度は、蒸留水に 100 mg/ml [被験物質溶液量をプレート当り 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、被験物質に蒸留水を加えた際に、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蒸留水を選択した。				
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	50分、	25℃		
	本試験	50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 $\mu$ 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	WP2uvrA/ pKM101	TA98	TA1537
生菌数 ( $\times 10^9$ / ml)	用 量 設 定 試 験	2.23	3.35	4.12	2.67	2.46
	本 試 験	2.32	3.43	4.22	2.75	2.46
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7月24日 製造
購入の場合の Lot No.	ANI360GD
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-リソ酸緩衝液(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。</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 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はみられなかった。</p> <p>最高用量5000 <math>\mu</math>g/プレートから公比2の7または5用量で本試験を実施したが、TA98、TA100、TA1535、TA1537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、2-メチル-1H-イミダゾール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

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	6378		
試験期間	2014年9月9日 ～ 2014年12月24日		

表-1

試験結果表（用量設定試験）

被験物質の名称：2-メチル-1H-イミダゾール

試験実施期間		2014年 10月 20日から 2014年 10月 23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	114	11	9	107	98	18	17	26	17
		121	117 ( 115 )	9	9 ( 10 )	100	105 ( 103 )	22	18 ( 19 )	21	17 ( 20 )
	1.22	104	( 105 )	6	( 7 )	91	( 101 )	20	( 19 )	24	( 21 )
		106	( 105 )	8	( 7 )	111	( 101 )	18	( 19 )	17	( 21 )
	4.88	107	( 108 )	11	( 9 )	90	( 89 )	11	( 15 )	15	( 17 )
		108	( 108 )	7	( 9 )	87	( 89 )	18	( 15 )	18	( 17 )
	19.5	112	( 118 )	8	( 8 )	94	( 93 )	26	( 25 )	10	( 11 )
		124	( 118 )	8	( 8 )	92	( 93 )	23	( 25 )	11	( 11 )
	78.1	97	( 101 )	8	( 11 )	85	( 96 )	18	( 16 )	10	( 12 )
		105	( 101 )	14	( 11 )	106	( 96 )	13	( 16 )	13	( 12 )
	313	112	( 120 )	7	( 7 )	105	( 102 )	16	( 18 )	31	( 19 )
		127	( 120 )	7	( 7 )	99	( 102 )	20	( 18 )	7	( 19 )
	1250	112	( 110 )	6	( 6 )	96	( 97 )	13	( 17 )	13	( 15 )
		107	( 110 )	5	( 6 )	98	( 97 )	21	( 17 )	17	( 15 )
	5000	133	( 130 )	9	( 8 )	100	( 102 )	23	( 22 )	13	( 13 )
		127	( 130 )	7	( 8 )	104	( 102 )	21	( 22 )	13	( 13 )
S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	127	97	7	9	127	106	21	21	24	15
		128	114 ( 117 )	11	13 ( 10 )	123	106 ( 116 )	28	21 ( 23 )	22	21 ( 21 )
	1.22	127	( 121 )	8	( 5 )	116	( 107 )	20	( 23 )	24	( 23 )
		115	( 121 )	2	( 5 )	98	( 107 )	25	( 23 )	22	( 23 )
	4.88	139	( 132 )	11	( 10 )	89	( 107 )	30	( 30 )	20	( 23 )
		124	( 132 )	8	( 10 )	124	( 107 )	30	( 30 )	26	( 23 )
	19.5	116	( 120 )	8	( 11 )	113	( 113 )	30	( 26 )	24	( 23 )
		124	( 120 )	13	( 11 )	112	( 113 )	22	( 26 )	22	( 23 )
	78.1	135	( 117 )	9	( 9 )	128	( 120 )	22	( 20 )	24	( 21 )
		98	( 117 )	9	( 9 )	111	( 120 )	17	( 20 )	17	( 21 )
313	100	( 105 )	11	( 10 )	114	( 112 )	22	( 23 )	23	( 22 )	
	109	( 105 )	8	( 10 )	109	( 112 )	23	( 23 )	20	( 22 )	
1250	127	( 122 )	11	( 9 )	122	( 125 )	21	( 21 )	21	( 22 )	
	116	( 122 )	6	( 9 )	127	( 125 )	20	( 21 )	22	( 22 )	
5000	119*	( 112*)	13*	( 8*)	115*	( 106*)	21*	( 21*)	16*	( 15*)	
	104*	( 112*)	3*	( 8*)	97*	( 106*)	20*	( 21*)	14*	( 15*)	
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	690	372	1074	547	632					
		707 ( 699 )	353 ( 363 )	864 ( 969 )	488 ( 518 )	648 ( 640 )					
陰性対照	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	1466	285	886	526	279					
		1466 ( 1476 )	292 ( 269 )	903 ( 895 )	533 ( 530 )	276 ( 278 )					

【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-2

試験結果表（本試験）

被験物質の名称：2-メテル-1 H-イミダゾール

試験実施期間		2014年 10月 27日から 2014年 10月 30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	
(一)	陰性対照(溶媒対照)	114 106 98 113 ( 108 )	13 14 17 10 ( 14 )	111 119 106 121 ( 114 )	15 14 17 24 ( 18 )	15 15 13 10 ( 13 )	
	313	108 109 ( 109 )	11 8 ( 10 )	108 122 ( 115 )	24 18 ( 21 )	7 16 ( 12 )	
	625	99 116 ( 108 )	5 13 ( 9 )	117 113 ( 115 )	26 17 ( 22 )	18 10 ( 14 )	
	1250	98 89 ( 94 )	10 8 ( 9 )	136 128 ( 132 )	13 17 ( 15 )	10 8 ( 9 )	
	2500	120 123 ( 122 )	17 17 ( 17 )	113 116 ( 115 )	10 14 ( 12 )	7 13 ( 10 )	
	5000	98 122 ( 110 )	11 13 ( 12 )	114 102 ( 108 )	14 23 ( 19 )	13 14 ( 14 )	
	陰性対照(溶媒対照)	98 99 108 101 ( 102 )	11 14 8 9 ( 11 )	144 123 130 127 ( 131 )	23 18 25 25 ( 23 )	22 15 16 15 ( 17 )	
	78.1	113 111 ( 112 )	11 9 ( 10 )	136 109 ( 123 )	23 25 ( 24 )	24 17 ( 21 )	
	156	96 105 ( 101 )	13 14 ( 14 )	144 123 ( 134 )	23 21 ( 22 )	16 13 ( 15 )	
	313	102 102 ( 102 )	14 11 ( 13 )	129 138 ( 134 )	16 15 ( 16 )	23 17 ( 20 )	
(十)	625	105 79 ( 92 )	5 7 ( 6 )	156 143 ( 150 )	23 31 ( 27 )	23 15 ( 19 )	
	1250	94 96 ( 95 )	9 9 ( 9 )	124 134 ( 129 )	22 23 ( 23 )	15 21 ( 18 )	
	2500	93 98 ( 96 )	10 10 ( 10 )	136 134 ( 135 )	29 30 ( 30 )	11 15 ( 13 )	
	5000	101* 102* ( 102* )	13* 9* ( 11* )	123* 111* ( 117* )	22* 22* ( 22* )	13* 15* ( 14* )	
	陽性対照	名称 AF-2	NaNO <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA	
	必要なもの	用量(μg/プレート) 0.01	0.5	0.005	0.1	80	
対照	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	1427 1323 ( 1375 )	290 265 ( 278 )	906 825 ( 866 )	533 489 ( 511 )	271 205 ( 238 )	

【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、NaNO<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



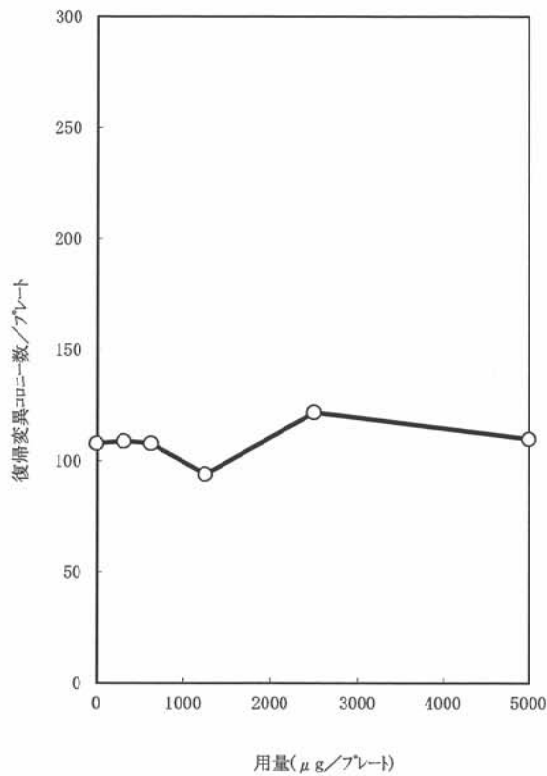


図-1 TA100における用量-反応曲線  
直接法による場合 (本試験)

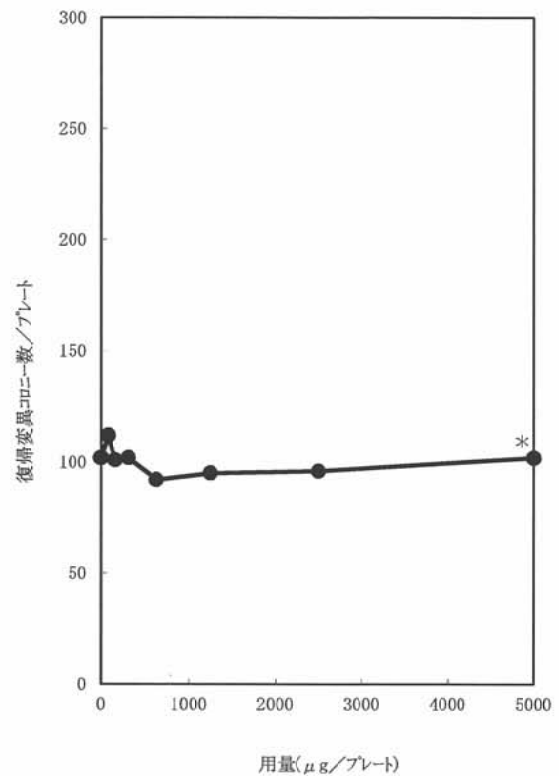


図-2 TA100における用量-反応曲線  
代謝活性化法による場合 (本試験)

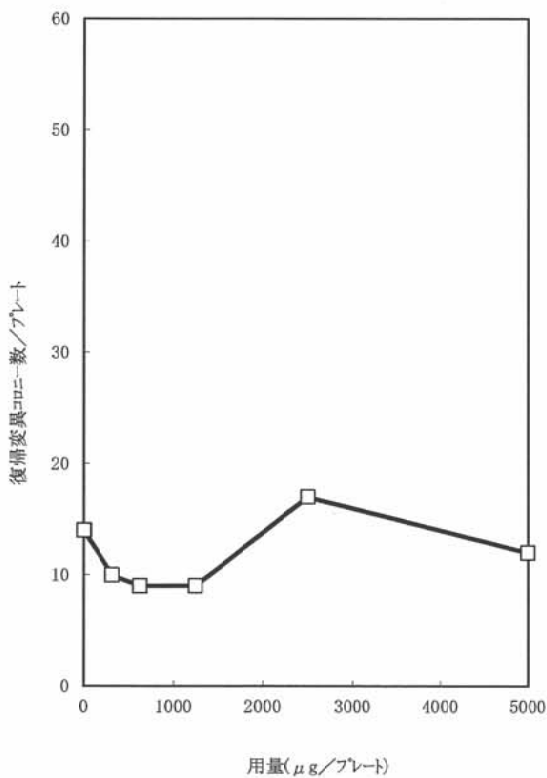


図-3 TA1535における用量-反応曲線  
直接法による場合 (本試験)

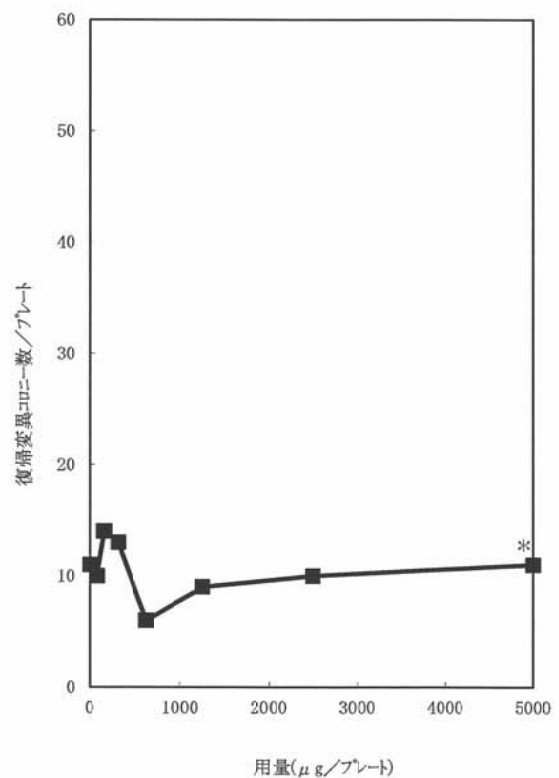


図-4 TA1535における用量-反応曲線  
代謝活性化法による場合 (本試験)

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。

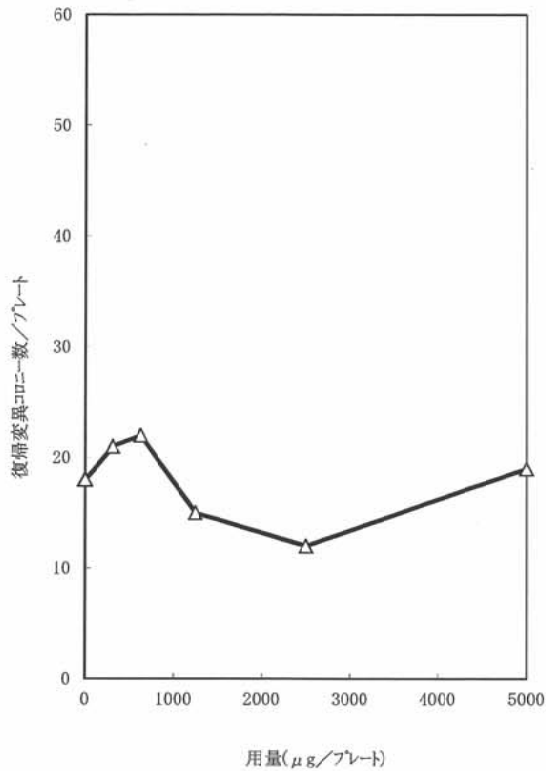


図-5 TA98における用量-反応曲線  
直接法による場合 (本試験)

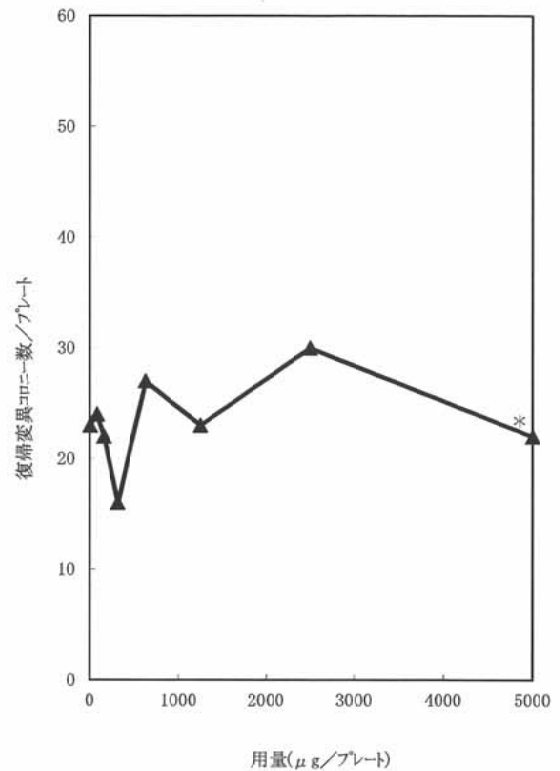


図-6 TA98における用量-反応曲線  
代謝活性化法による場合 (本試験)

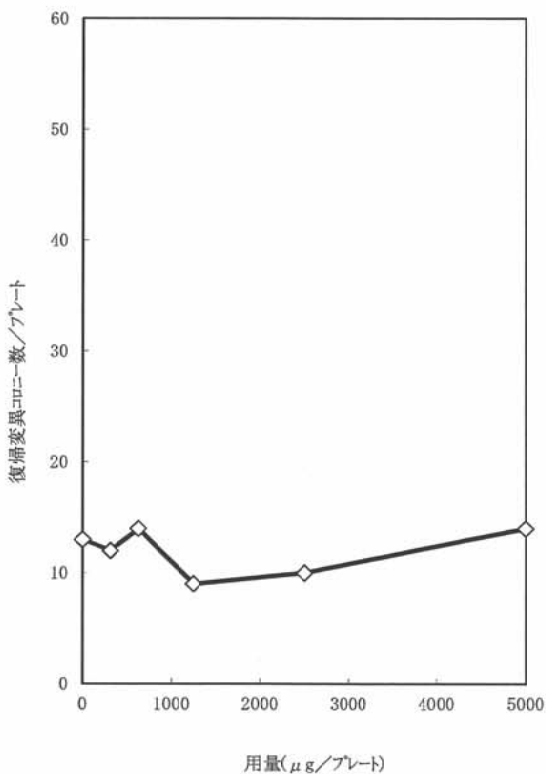


図-7 TA1537における用量-反応曲線  
直接法による場合 (本試験)

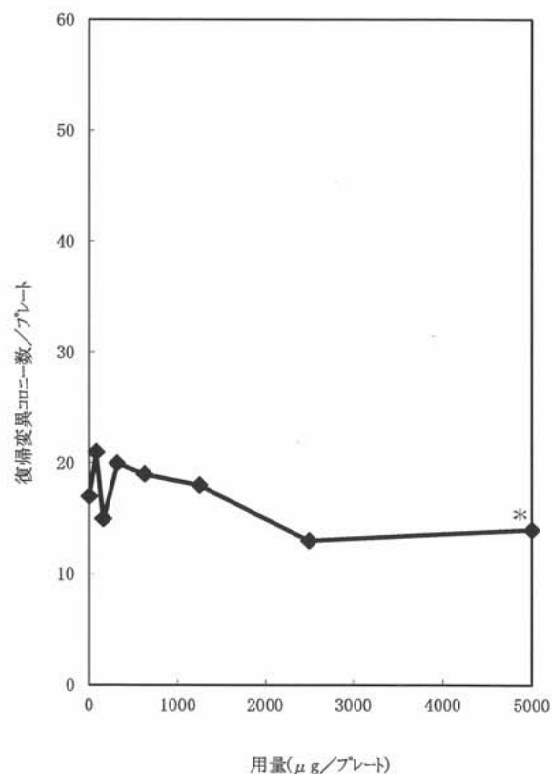


図-8 TA1537における用量-反応曲線  
代謝活性化法による場合 (本試験)

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。

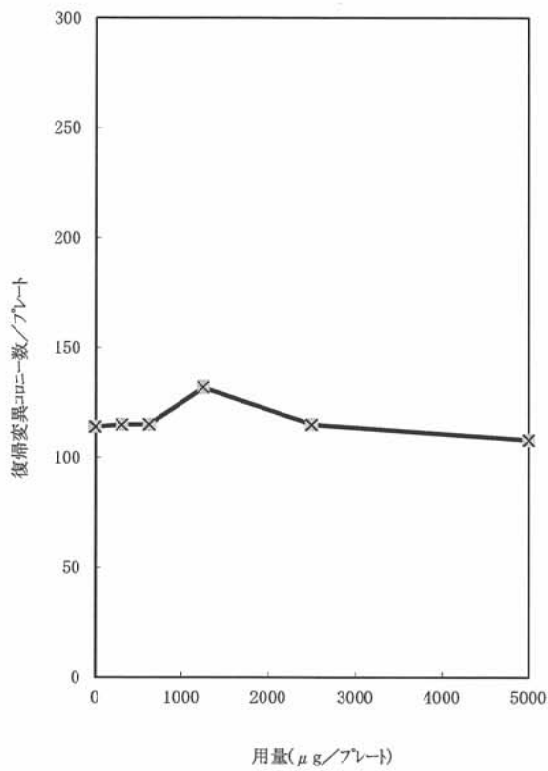


図-9 WP2uvrA/pKM101における用量-反応曲線  
直接法による場合 (本試験)

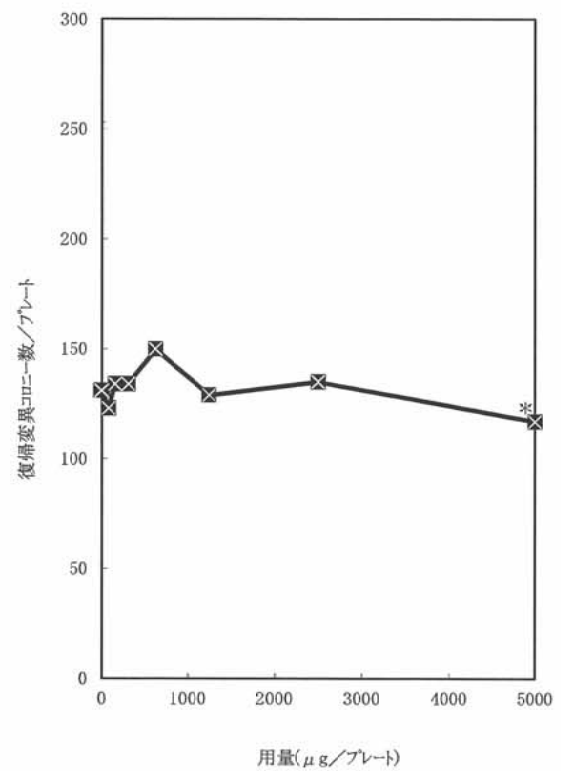


図-10 WP2uvrA/pKM101における用量-反応曲線  
代謝活性化法による場合 (本試験)

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。