

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)	テトラオキシドクロム酸ストロンチウム		
別 名	Strontium chromate		
構造式又は示性式	$\begin{array}{c} \text{O}^- \\ \\ \text{O}=\text{Cr}-\text{O}^- \\ \\ \text{O} \end{array} \quad \text{Sr}^{2+}$		
試験に供した 化学物質の純度	96.8%	試験に供した 化学物質の Lot No.	L20Z007
不純物の名称及び 含有率(濃度)	Moisture:0.11%, HCl insolubles:0.54%, Chlorides:0.002%, Barium:0.55%		
C A S 番 号	7789-06-2	蒸 気 圧	—
分 子 量	203.61	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	黄赤色～濃赤色の結晶～ 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	難溶[50mg/ml 未満]*	—
	DMSO	難溶[50mg/ml 未満(懸濁可能)]*	—
供 試 元	Alfa Aesar		

*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 $uvrA$ /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 9月 5日 製造
購入の場合のLot No.	RAA201409A
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	188~236 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 μ mol
MgCl ₂	8 μ mol	NADH	4 μ mol
KCl	33 μ mol	Na-リン酸緩衝液	100 μ mol
グルコース-6-リン酸	5 μ 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.	SHBF0107V	anhydrous	99.99
溶媒選択の理由	被験物質の溶解度は、水やDMSOに50 mg/ml未満であるが、DMSOに50 mg/ml [被験物質溶液量をプレート当たり100 μ lにした場合に5000 μ gの被験物質質量に相当する]以上懸濁可能であり、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	被験物質にDMSOを加え超音波分散装置を用いて懸濁させた。				
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°C		
	本試験	40分、	25°C		
	本試験-2	40分、	25°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 μ 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	2.12	3.13	4.07	2.49	2.37
	本 試 験	2.22	3.18	4.07	2.50	2.37
	本 試 験 - 2	2.22	3.23	—	2.53	2.43
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9月2日 製造
購入の場合の Lot No.	ANI440ID
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	0.1 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、本試験-2の結果を表-3及び図-11～18に示した。変異原性の強さを比活性としてまとめ、表-4に示した。</p> <p>用量設定試験を最高用量5000 μg/7°レ-トより公比4の7用量で実施したところ、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がみられた。</p> <p>用量反応関係が得られるように用量を設定して本試験を実施したところ、TA98、TA100の代謝活性化法による場合およびWP2uvrA/pKM101の直接法による場合と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みられた。</p> <p>用量設定試験においてTA98、TA100、TA1535、TA1537の直接法による場合と代謝活性化法による場合において生育阻害を示さない用量が4段階以上得られなかったこと、本試験においてTA98、TA100の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みられたことから、TA98、TA100、TA1535、TA1537の直接法による場合と代謝活性化法による場合について、結果の再現性を確認するため本試験-2を実施したところ、TA98の代謝活性化法による場合に本試験同様に陰性対照値の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、テトラオキシドクロム酸ストロンチウム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	6380		
試験期間	2014年10月14日 ～ 2015年1月23日		

表-1

試験結果表（用量設定試験）

被験物質の名称：テトラオキシドクロム酸ストロンチウム

試験実施期間		2014年 11月 18日から 2014年 11月 21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)	105 98	11 16	68 89	18 16	10 11	108 100 (103)	10 11 (12)	68 76 (75)	25 15 (19)	11 10 (11)		
	1.22	86	13	59	21	14	114 (100)	10 (12)	78 (69)	15 (18)	11 (13)		
	4.88	113	20	87	15	7	104 (109)	11 (16)	83 (85)	13 (14)	6 (7)		
	19.5	187	21	162	22	18	177 (182)	16 (19)	265 (214)	26 (24)	17 (18)		
	78.1	0*	0*	1002	0*	0*	0* (0*)	0* (0*)	981 (992)	0* (0*)	0* (0*)		
	313	0*	0*	516	0*	0*	0* (0*)	0* (0*)	446 (481)	0* (0*)	0* (0*)		
	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)	105 94	15 13	93 89	20 18	16 15	101 102 (101)	13 13 (14)	106 90 (95)	14 24 (19)	15 16 (16)	
		1.22	130	14	93	17	17	107 (119)	13 (14)	98 (96)	22 (20)	6 (12)	
		4.88	105	7	96	22	15	87 (96)	14 (11)	77 (87)	15 (19)	14 (15)	
		19.5	133	13	194	22	16	112 (123)	17 (15)	184 (189)	40 (31)	16 (16)	
		78.1	3*	0*	964	0*	0*	26* (15*)	0* (0*)	955 (960)	0* (0*)	0* (0*)	
		313	0*	0*	667	0*	0*	0* (0*)	0* (0*)	511 (589)	0* (0*)	0* (0*)	
		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		S9 mixを必要とするもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	9-AA	用量(μg/プレート)	0.01	0.5	0.005	0.1
	コロニー数/プレート	650	320	1087	459	621	636 (643)	366 (343)	1013 (1050)	412 (436)	455 (538)		
	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	1413	291	782	522	292	1422 (1418)	309 (300)	801 (792)	536 (529)	291 (292)		

【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. 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、NaN₃: 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：テトラオキシドクロム酸ストロンチウム

試験実施期間		2014年 11月 25日から 2014年 11月 28日					
代謝活性化系の有無	被験物質の用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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)	93 94 93 82 (91)	13 9 9 13 (11)	82 79 94 92 (87)	24 20 24 20 (22)	10 11 13 10 (11)	
	1.22	102 82 (92)	7 9 (8)	/	15 15 (15)	8 6 (7)	
	2.44	79 87 (83)	10 14 (12)	/	20 23 (22)	10 9 (10)	
	4.88	107 96 (103)	7 8 (8)	69 99 (79)	21 15 (18)	9 5 (7)	
	9.77	102 98 (100)	11 10 (11)	99 101 (100)	13 18 (16)	2 3 (3)	
	19.5	131 100 (116)	7 13 (10)	136 108 (122)	17 23 (20)	14 14 (14)	
	39.1	180* 81* (131*)	0* 0* (0*)	568 521 (545)	34 48 (41)	0* 0* (0*)	
	78.1	0* 0* (0*)	0* 0* (0*)	1041 1008 (1025)	0* 0* (0*)	0* 0* (0*)	
	153	/	/	328 653 (491)	/	/	
	313	/	/	538 189 (354)	/	/	
	625	/	/	0* 0* (0*)	/	/	
	1250	/	/	0* 0* (0*)	/	/	
	S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	119 99 98 103 (106)	13 11 15 16 (14)	119 101 105 94 (105)	17 17 20 18 (18)	8 10 10 9 (9)
		1.22	98 107 (103)	7 16 (12)	/	16 25 (21)	7 8 (8)
2.44		107 109 (108)	9 3 (6)	/	23 20 (22)	8 8 (8)	
4.88		108 92 (100)	14 8 (11)	93 105 (99)	14 15 (15)	10 7 (9)	
9.77		90 111 (101)	13 9 (11)	113 107 (110)	20 30 (25)	5 9 (7)	
19.5		108 128 (118)	6 17 (12)	137 145 (141)	16 30 (23)	11 9 (10)	
39.1		253 266 (260)	10 8 (9)	543 558 (551)	62 55 (59)	18 11 (15)	
78.1		7* 51* (29*)	0* 0* (0*)	928 993 (961)	0* 0* (0*)	0* 0* (0*)	
153		/	/	731 827 (779)	/	/	
313		/	/	675 643 (659)	/	/	
625		/	/	0* 0* (0*)	/	/	
1250		/	/	0* 0* (0*)	/	/	
陽性対照		S9 mixを必要としないもの	名称 AF-2 用量($\mu\text{g}/\text{プレート}$) 0.01 コロニー数/プレート 612 603 (608)	名称 NaN_3 用量($\mu\text{g}/\text{プレート}$) 0.5 コロニー数/プレート 310 314 (312)	名称 AF-2 用量($\mu\text{g}/\text{プレート}$) 0.005 コロニー数/プレート 1096 1034 (1065)	名称 AF-2 用量($\mu\text{g}/\text{プレート}$) 0.1 コロニー数/プレート 492 446 (469)	名称 9-AA 用量($\mu\text{g}/\text{プレート}$) 80 コロニー数/プレート 647 561 (614)
		S9 mixを必要とするもの	名称 2-AA 用量($\mu\text{g}/\text{プレート}$) 1 コロニー数/プレート 1417 1445 (1431)	名称 2-AA 用量($\mu\text{g}/\text{プレート}$) 2 コロニー数/プレート 310 285 (298)	名称 2-AA 用量($\mu\text{g}/\text{プレート}$) 2 コロニー数/プレート 791 782 (787)	名称 2-AA 用量($\mu\text{g}/\text{プレート}$) 0.5 コロニー数/プレート 524 526 (525)	名称 2-AA 用量($\mu\text{g}/\text{プレート}$) 2 コロニー数/プレート 254 278 (266)

【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. 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_3 : 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（本試験-2）

被験物質の名称：テトラオキシドクロム酸ストロンチウム

試験実施期間		2014年 12月 1日から 2014年 12月 4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)	94 111 98 101 (101)	7 7 7 6 (7)	/	17 17 16 17 (17)	9 16 10 11 (12)	
	2.44	105 101 (103)	10 9 (10)	/	/	9 13 (11)	
	4.88	126 116 (121)	10 13 (12)	/	29 20 (25)	6 8 (7)	
	9.77	124 92 (108)	10 6 (8)	/	15 23 (19)	7 8 (8)	
	19.5	167 192 (180)	2 9 (6)	/	31 32 (32)	17 8 (13)	
	39.1	0* 0* (0*)	0* 0* (0*)	/	31 31 (31)	0* 0* (0*)	
	78.1	/	/	/	0* 0* (0*)	/	
	S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	86 97 109 107 (100)	7 9 8 8 (8)	/	16 15 18 17 (17)	8 11 15 13 (12)
4.88		115 100 (108)	10 3 (7)	/	18 23 (21)	10 14 (12)	
9.77		116 86 (101)	6 6 (6)	/	21 18 (20)	10 11 (11)	
19.5		127 136 (132)	9 8 (9)	/	31 29 (30)	8 13 (11)	
39.1		165 199 (182)	10 14 (12)	/	47 64 (56)	15 16 (16)	
78.1		47* 16* (32*)	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 ₃ 0.5	AF-2 0.005	AF-2 0.1	9-AA 80
		コロニー数/プレート	707 680 (694)	328 329 (329)	/	483 468 (476)	645 587 (616)
		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	1474 1413 (1444)	291 292 (292)	/	517 506 (512)	260 271 (266)

【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. 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、NaN₃: 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-4

試験結果表（比活性）

被験物質の名称：テトラオキシドクロム酸ストロンチウム

	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	μg /プレート	Rev./mg	μg /プレート
用量 設定 試験	TA100	—	—	—	—
	TA1535	—	—	—	—
	WP2 <i>uvrA</i> / pKM101	1.17×10^4	78.1	1.11×10^4	78.1
	TA98	—	—	—	—
	TA1537	—	—	—	—
本 試 験	TA100	—	—	3.94×10^3	39.1
	TA1535	—	—	—	—
	WP2 <i>uvrA</i> / pKM101	1.20×10^4	78.1	1.14×10^4	39.1
	TA98	—	—	1.05×10^3	39.1
	TA1537	—	—	—	—
本 試 験 1 2	TA100	—	—	—	—
	TA1535	—	—	—	—
	WP2 <i>uvrA</i> / pKM101	/	/	/	/
	TA98	—	—	9.97×10^2	39.1
	TA1537	—	—	—	—

(注) 横線(—)は当該菌株について陰性対照値の2倍以上の復帰変異コロニー数を誘発しなかったことを示し、斜線(/)は当該菌株について試験を実施しなかったことを示す。

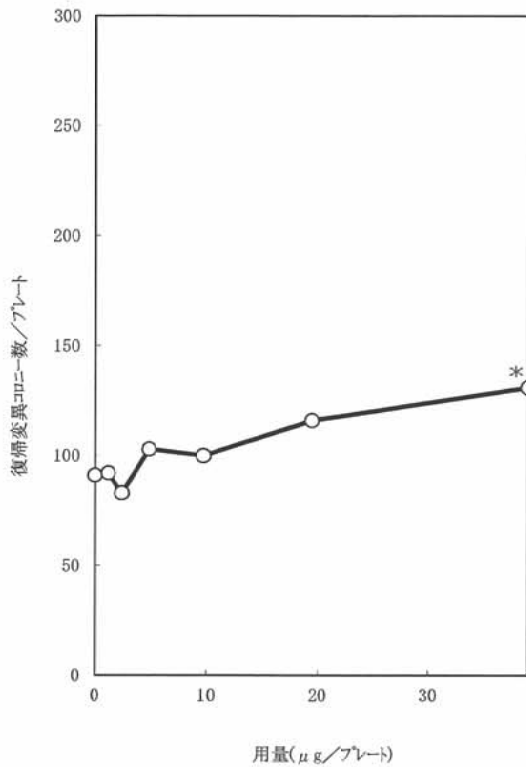


図-1 TA100における用量-反応曲線
直接法による場合 (本試験)
(39.1 μg/プレートまでプロットした。)

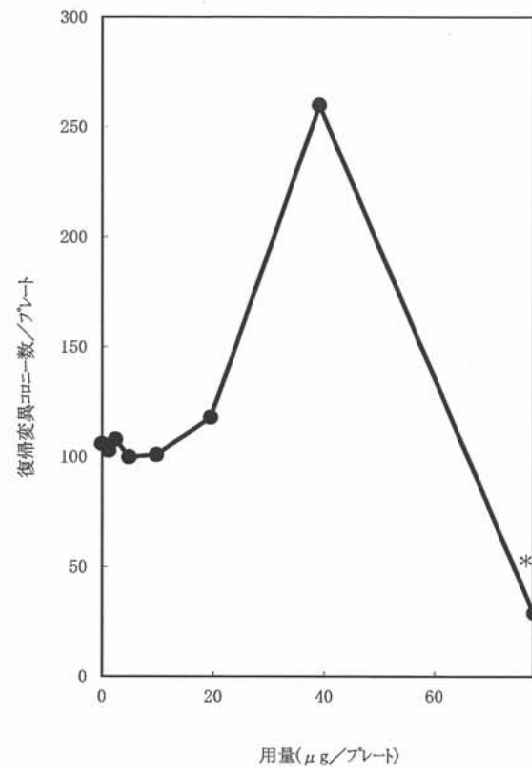


図-2 TA100における用量-反応曲線
代謝活性化法による場合 (本試験)

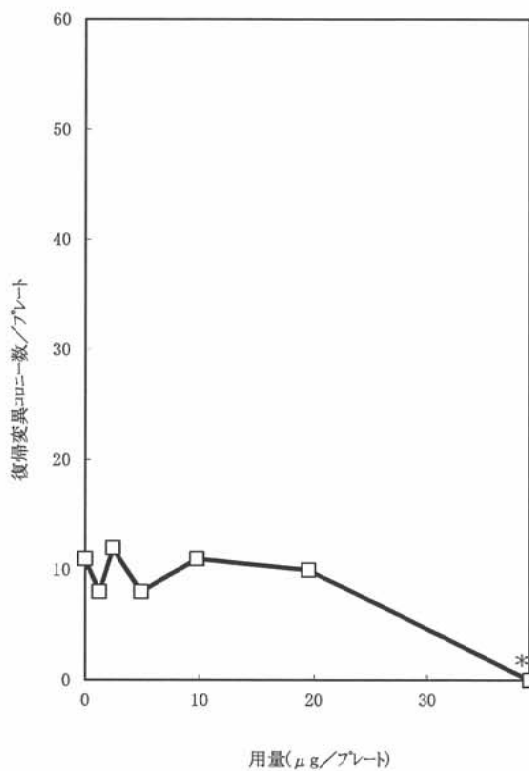


図-3 TA1535における用量-反応曲線
直接法による場合 (本試験)
(39.1 μg/プレートまでプロットした。)

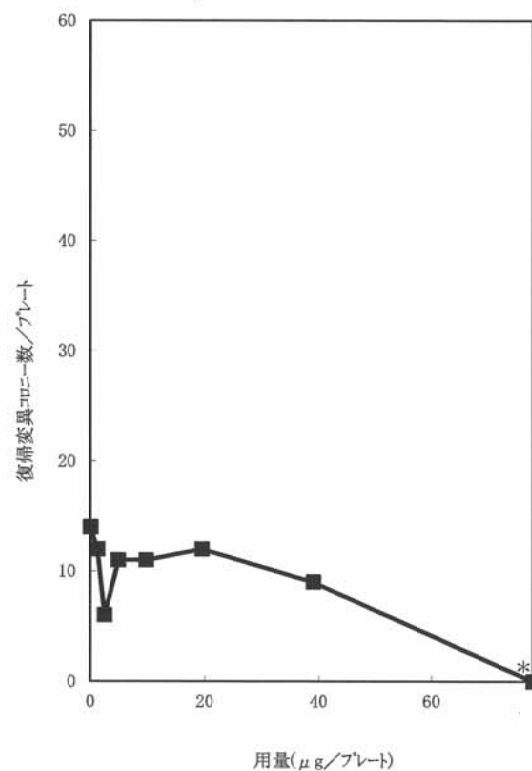


図-4 TA1535における用量-反応曲線
代謝活性化法による場合 (本試験)

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。

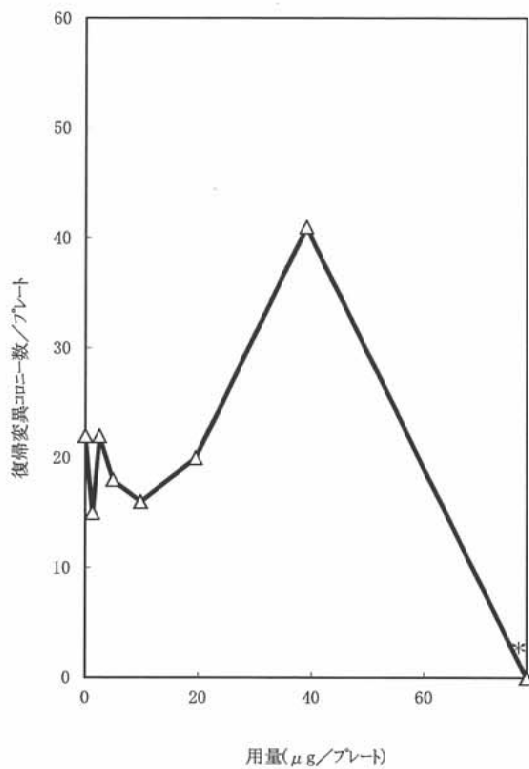


図-5 TA98における用量-反応曲線
直接法による場合 (本試験)

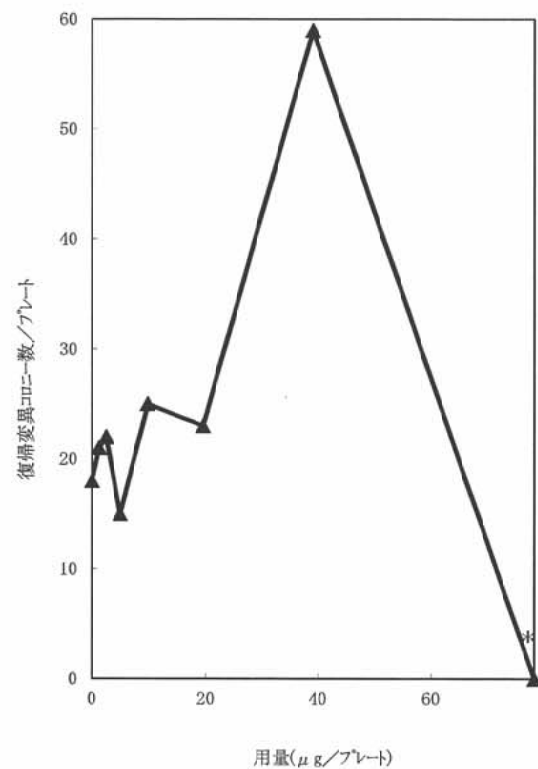


図-6 TA98における用量-反応曲線
代謝活性化法による場合 (本試験)

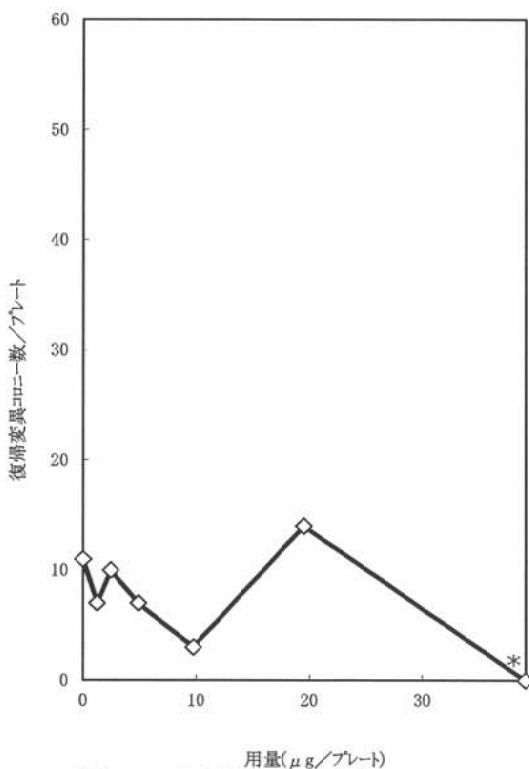


図-7 TA1537における用量-反応曲線
直接法による場合 (本試験)
(39.1 μg/プレートまでプロットした。)

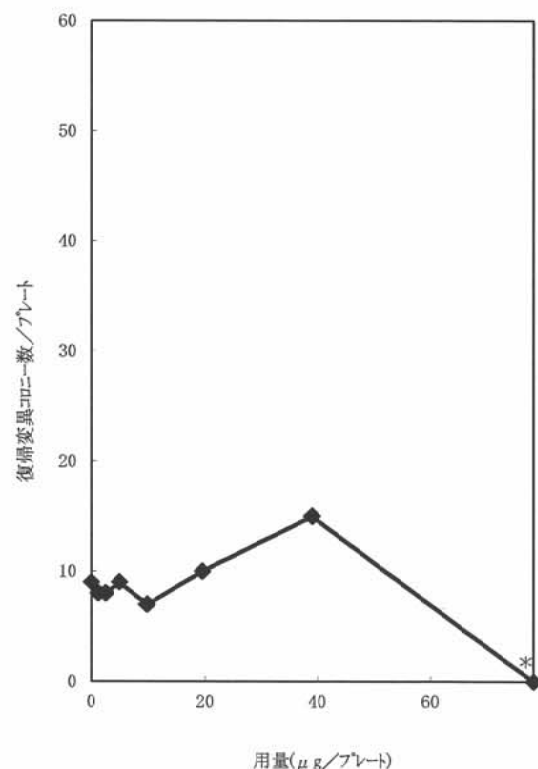


図-8 TA1537における用量-反応曲線
代謝活性化法による場合 (本試験)

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。

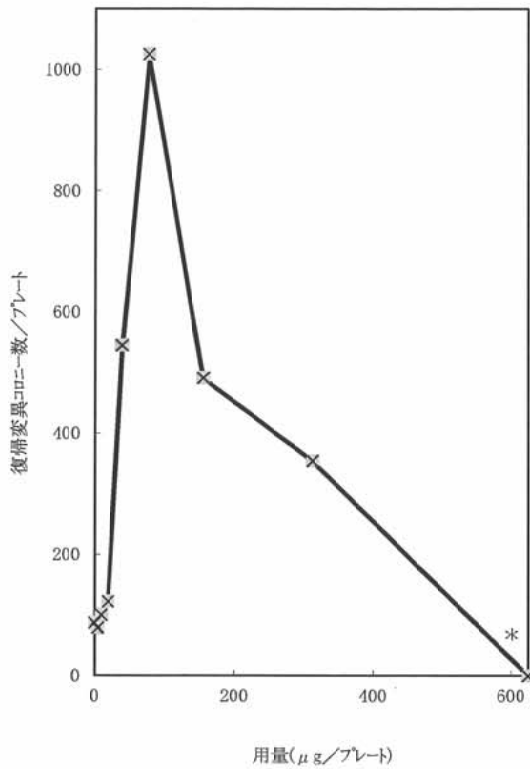


図-9 WP2uvrA/pKM101における用量-反応曲線
直接法による場合 (本試験)
(625 μg/プレートまでプロットした。)

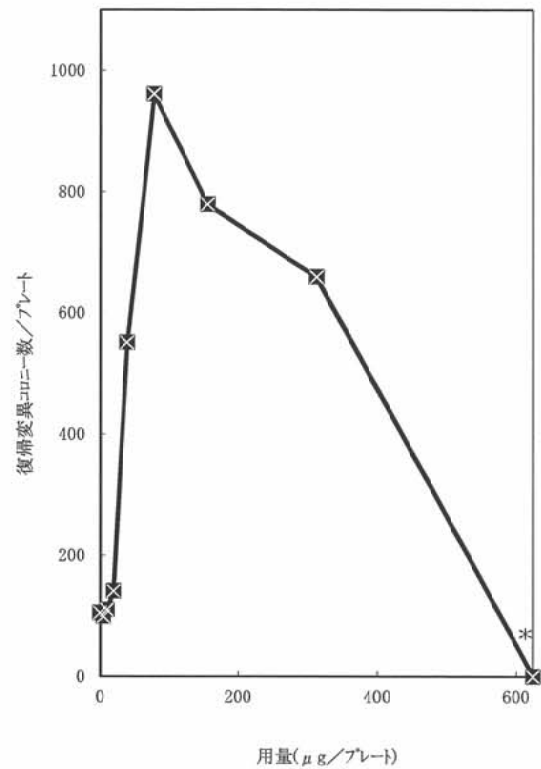


図-10 WP2uvrA/pKM101における用量-反応曲線
代謝活性化法による場合 (本試験)
(625 μg/プレートまでプロットした。)

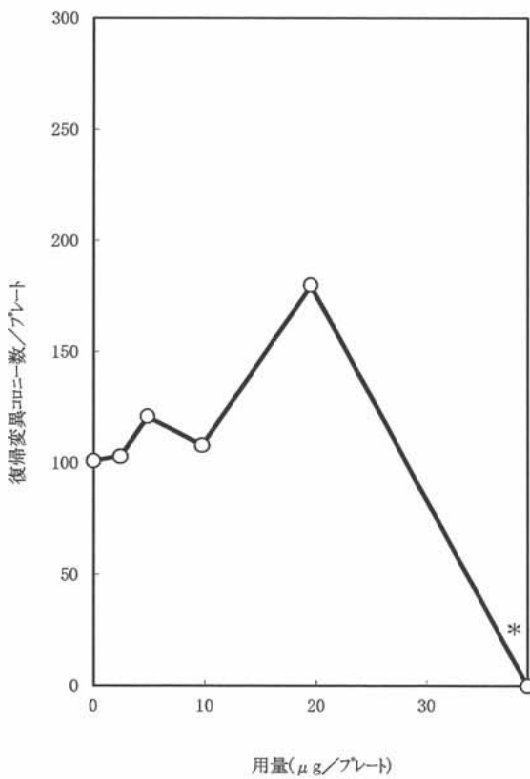


図-11 TA100における用量-反応曲線
直接法による場合 (本試験-2)

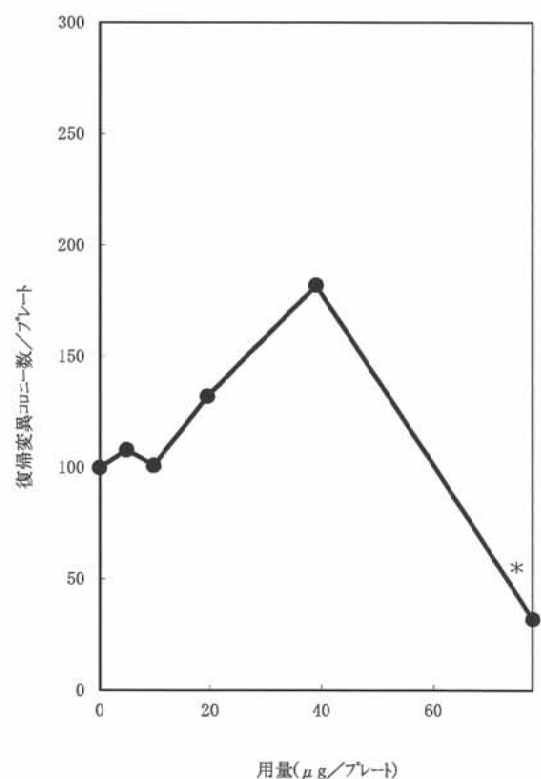
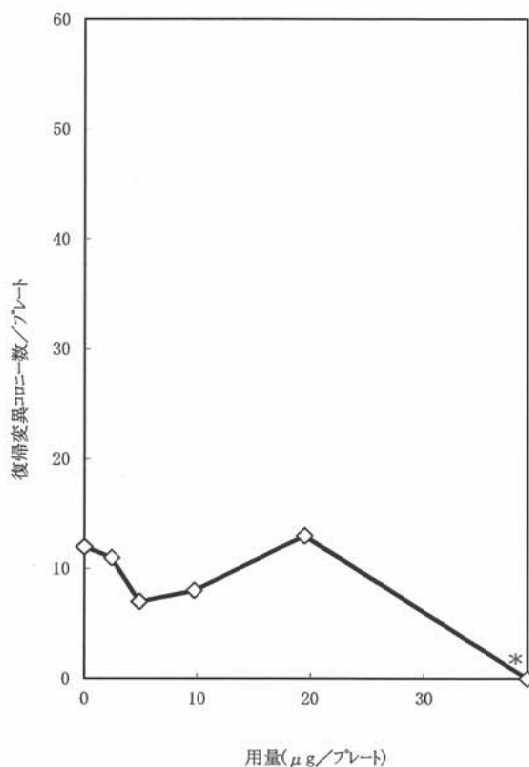
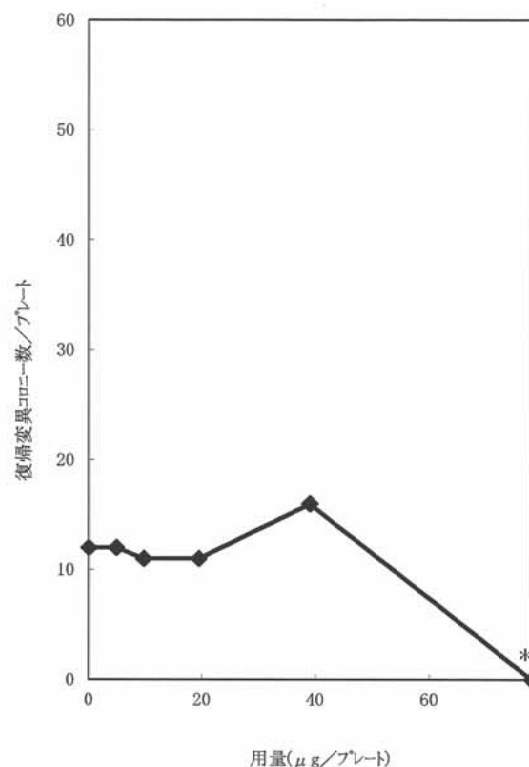


図-12 TA100における用量-反応曲線
代謝活性化法による場合 (本試験-2)

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。



用量(μg/プレート)
 図-17 TA1537における用量-反応曲線
 直接法による場合 (本試験-2)



用量(μg/プレート)
 図-18 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-2)

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。