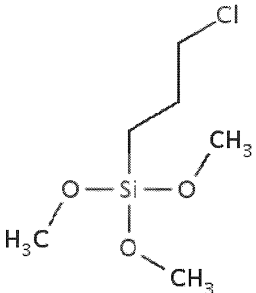


微生物を用いる変異原性試験結果報告書

1 一般的事項

化学物質の名称 (IUPAC 命名法による)	ハロアルキルアルコキシ-シラン		
別名	(3-Chloropropyl) trimethoxysilane、3-トリメトキシシリルプロピルクロリド		
構造式又は示性式			
試験に供した化学物質の純度	99.4%	試験に供した化学物質の Lot No.	2DTBL-CM
不純物の名称及び含有率(濃度)	—		
C A S 番号	2530-87-2	蒸気圧	0.5215hPa at 25°C
分子量	198.72	分配係数 (1-オクタノール/水分配係数)	—
融点	-50°C		
沸点	196°C at 1013hPa	常温における性状	無色～薄い黄色の透明液体
安定性	水：水と反応して直ちにメタノールを生じる。 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	—	不安定
	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 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	被験物質は水と反応することが分かっている。また、被験物質の溶解度は、無水 DMSO に 100 mg/ml [被験物質溶液量をプレート当り 50 μ l にした場合に 5000 μ g の被験物質に相当する] 以上であり、被験物質に無水 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無水 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 本試験	1時間	10分、 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 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	2.22	3.23	3.98	2.53	2.43
	本 試 験	2.27	3.39	4.13	2.61	2.42
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	0.05 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。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 $\mu\text{g}/\text{プレート}$より公比4の7用量で実施したところ、TA1535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 TA1535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、TA1535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、ハロアルキルアルコキシ-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。

表-1

試験結果表（用量設定試験）

被験物質の名称：ハロアルキルアルコキシシラン

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)	108	89	7	11	85	74	16	14	11	10
		109	90 (99)	9	10 (9)	89	76 (81)	14	16 (15)	8	10 (10)
	1.22	87	94 (91)	7	5 (6)	79	72 (76)	13	15 (14)	6	6 (6)
	4.88	104	90 (97)	7	7 (7)	67	79 (73)	8	22 (15)	5	8 (7)
	19.5	84	97 (91)	11	13 (12)	97	92 (95)	8	17 (13)	10	8 (9)
	78.1	121	84 (103)	15	13 (14)	83	70 (77)	16	21 (19)	8	8 (8)
	313	101	104 (103)	21	23 (22)	82	74 (78)	14	10 (12)	7	6 (7)
	1250	136	138 (137)	59*	71* (65*)	70	84 (77)	14	9 (12)	10	11 (11)
	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)	89	106	7	7	90	81	18	18	6
	112	107 (104)	7	6 (7)	102	96 (92)	24	17 (19)	9	11 (9)	
1.22	100	86 (93)	8	7 (8)	100	92 (96)	22	28 (25)	5	6 (6)	
4.88	99	98 (99)	8	3 (6)	92	89 (91)	20	17 (19)	5	5 (5)	
19.5	127	96 (112)	6	13 (10)	107	105 (106)	15	28 (22)	5	10 (8)	
78.1	115	116 (116)	18	14 (16)	120	144 (132)	36	21 (29)	8	10 (9)	
313	156	115 (136)	26	26 (26)	119	128 (124)	29	23 (26)	11	14 (13)	
1250	153	138 (146)	82	69 (76)	113	117 (115)	26	29 (28)	9	5 (7)	
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	80					
	コロニー数/プレート	602	312	986	397	542					
		617 (610)	319 (316)	973 (980)	405 (401)	529 (536)					
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	1473	290	853	521	285					
		1435 (1454)	317 (304)	854 (854)	475 (498)	262 (274)					

【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：ハロアルキルアルコキシシラン

試験実施期間		2014年 12月 9日から 2014年 12月 12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)	83 83	16 9	71 74	18 22	15 13	97 101 (91)	10 16 (13)	84 90 (80)	16 20 (19)	21 18 (17)	
	9.77		9 13 (11)									
	19.5		13 11 (12)									
	39.1		20 13 (17)									
	78.1	100 94 (97)	13 18 (16)	96 74 (85)	13 14 (14)	10 10 (10)						
	156	92 97 (95)	20 26 (23)	75 85 (80)	8 14 (11)	18 13 (16)						
	313	116 117 (117)	32 32 (32)	76 84 (80)	22 13 (18)	14 13 (14)						
	625	117 119 (118)	61 59 (60)	96 72 (84)	21 11 (16)	14 14 (14)						
	1250	157 149 (153)	86* 66* (76*)	89 98 (94)	15 13 (14)	8 15 (12)						
	2500	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)	109 109	13 16	111 92	22 30	16 21	102 119 (110)	11 13 (13)	114 89 (102)	18 17 (22)	14 11 (16)
		9.77		16 13 (15)								
		19.5		24 10 (17)								
39.1			26 22 (24)									
78.1		123 121 (122)	16 24 (20)	114 120 (117)	30 14 (22)	14 15 (15)						
156		119 143 (131)	28 29 (29)	131 117 (124)	18 23 (21)	17 17 (17)						
313		153 131 (142)	38 36 (37)	134 123 (129)	25 20 (23)	17 18 (18)						
625		159 136 (148)	44 55 (50)	116 130 (123)	33 25 (29)	10 10 (10)						
1250		152 177 (165)	86 91 (89)	121 111 (116)	17 23 (20)	15 17 (16)						
2500		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		80		
			コロニー数/プレート 551	316		883		444		645		
		517 (534)	307 (312)		786 (835)		425 (435)		582 (614)			
陽性対照	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 1481	271		783		514		275				
	1445 (1463)	303 (287)		778 (781)		486 (500)		248 (262)				

【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-3

試験結果表 (比活性)

被験物質の名称：ハロアルキルアルコキシ-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	μg /プレート	Rev./mg	μg /プレート
用量 設定 試験	TA100	—	—	—	—
	TA1535	4.48×10	1250	1.15×10^2	78.1
	WP2 <i>uvrA</i> / pKM101	—	—	—	—
	TA98	—	—	—	—
	TA1537	—	—	—	—
本 試 験	TA100	—	—	—	—
	TA1535	7.52×10	625	1.03×10^2	156
	WP2 <i>uvrA</i> / pKM101	—	—	—	—
	TA98	—	—	—	—
	TA1537	—	—	—	—

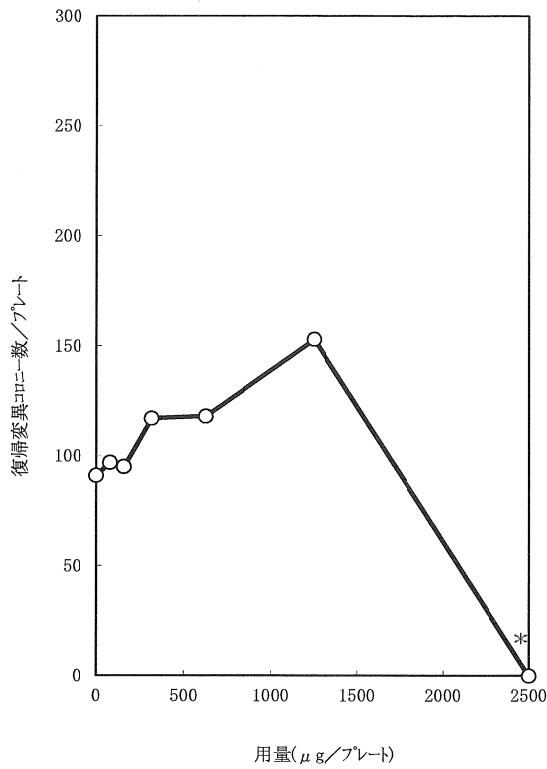


図-1 TA100における用量-反応曲線
直接法による場合 (本試験)
(2500 μg/プレートまでプロットした。)

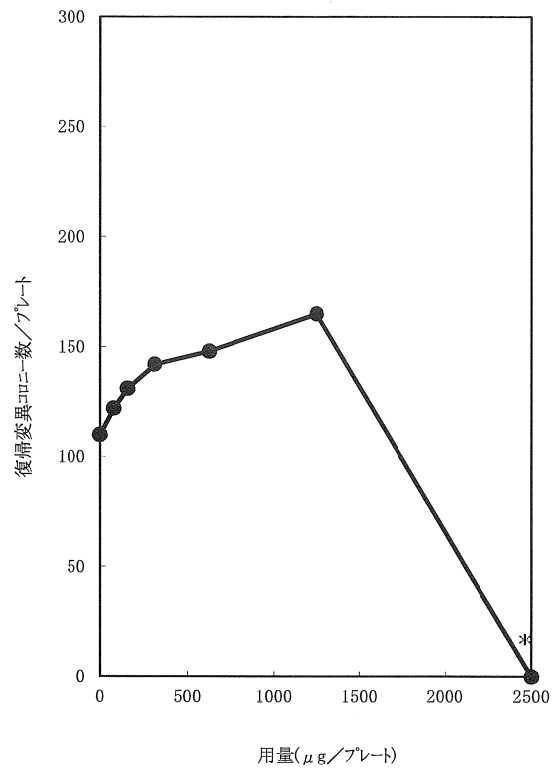


図-2 TA100における用量-反応曲線
代謝活性化法による場合 (本試験)
(2500 μg/プレートまでプロットした。)

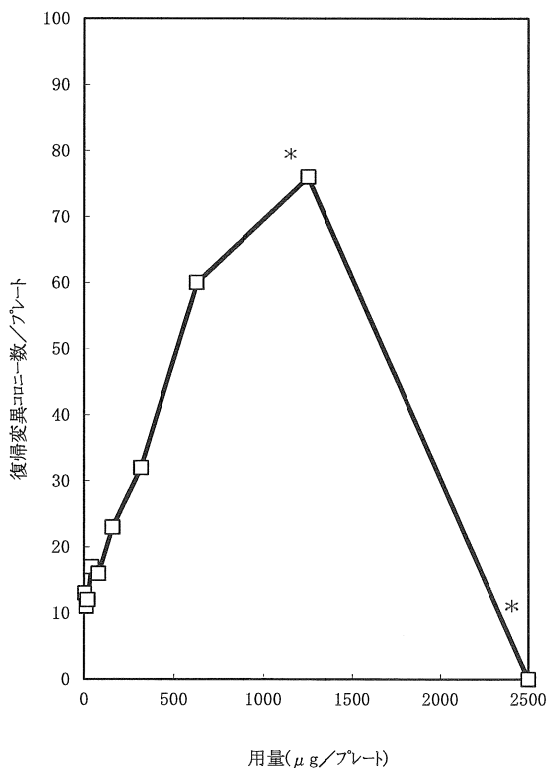


図-3 TA1535における用量-反応曲線
直接法による場合 (本試験)
(2500 μg/プレートまでプロットした。)

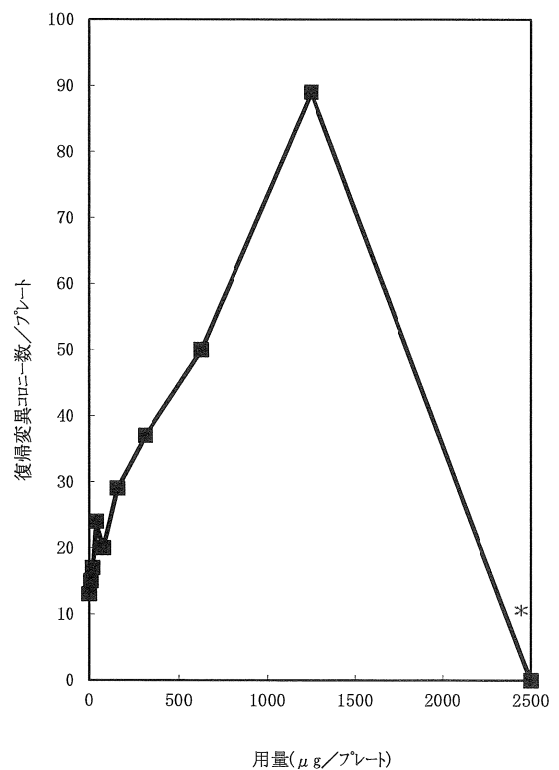


図-4 TA1535における用量-反応曲線
代謝活性化法による場合 (本試験)
(2500 μg/プレートまでプロットした。)

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。

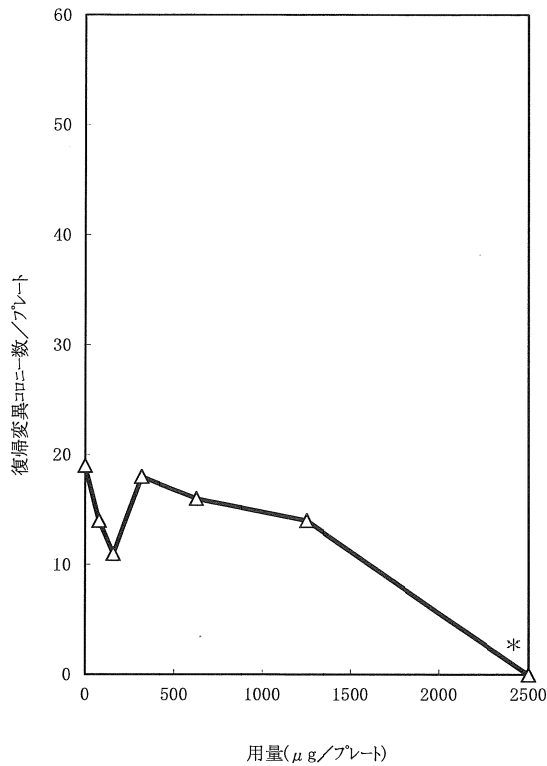


図-5 TA98における用量-反応曲線
直接法による場合 (本試験)
(2500 μg/プレートまでプロットした。)

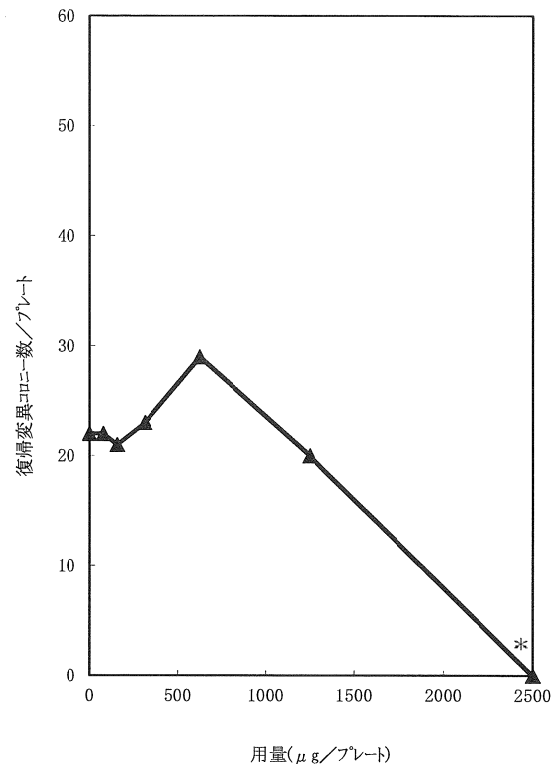


図-6 TA98における用量-反応曲線
代謝活性化法による場合 (本試験)
(2500 μg/プレートまでプロットした。)

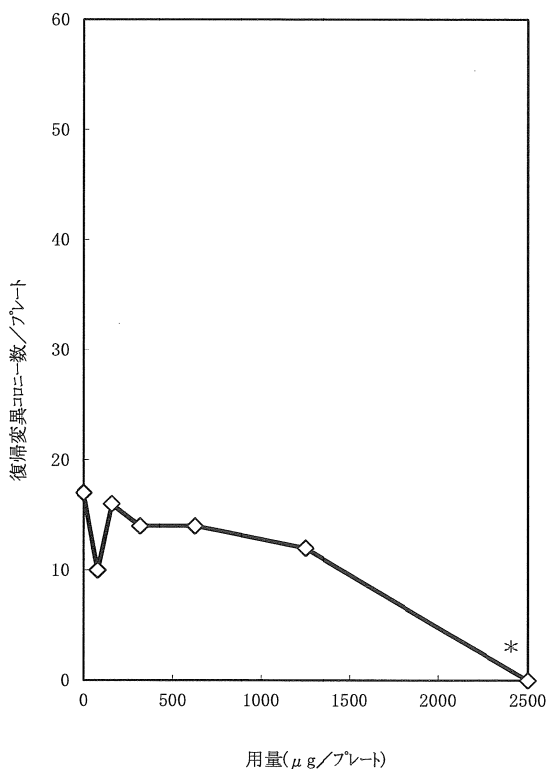


図-7 TA1537における用量-反応曲線
直接法による場合 (本試験)
(2500 μg/プレートまでプロットした。)

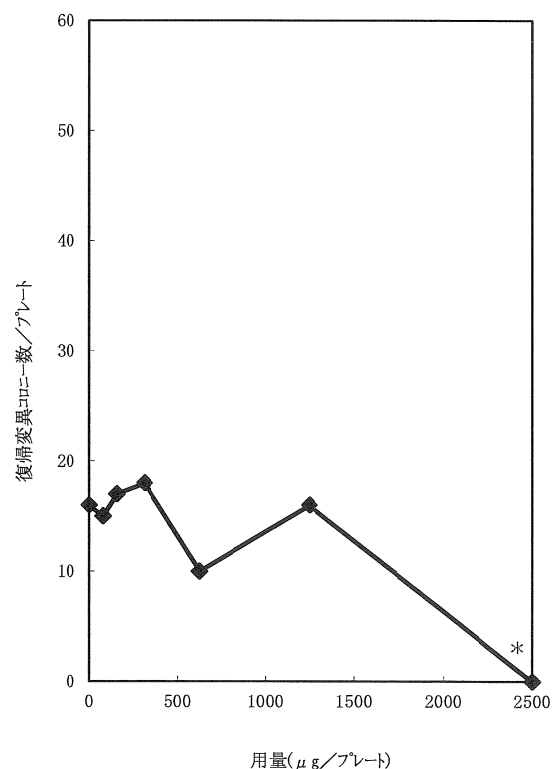


図-8 TA1537における用量-反応曲線
代謝活性化法による場合 (本試験)
(2500 μg/プレートまでプロットした。)

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。

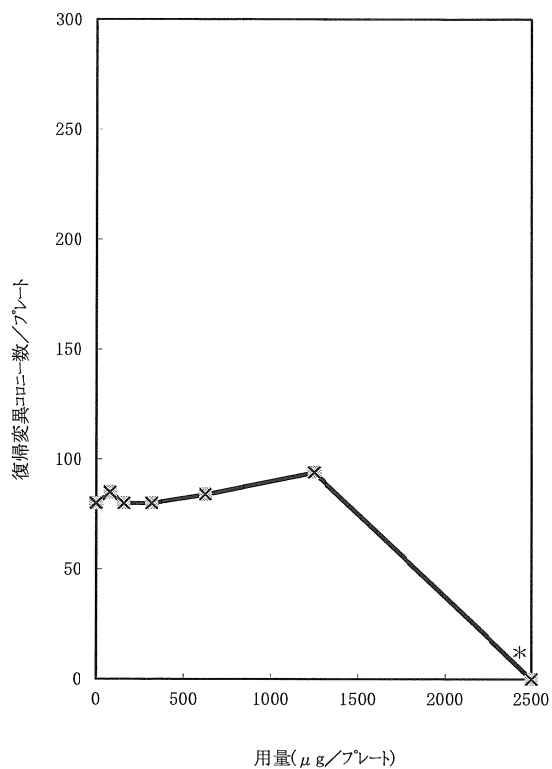


図-9 WP2uvrA/pKM101における用量-反応曲線
直接法による場合 (本試験)
(2500 μg/プレートまでプロットした。)

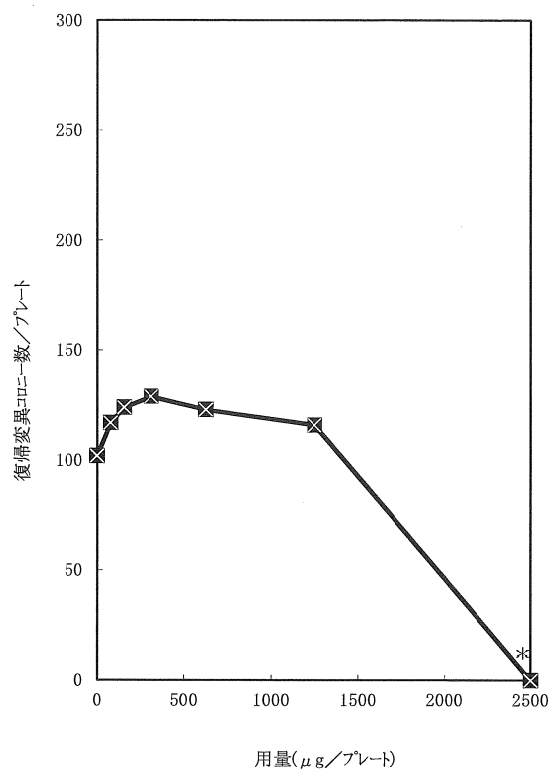


図-10 WP2uvrA/pKM101における用量-反応曲線
代謝活性化法による場合 (本試験)
(2500 μg/プレートまでプロットした。)

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。