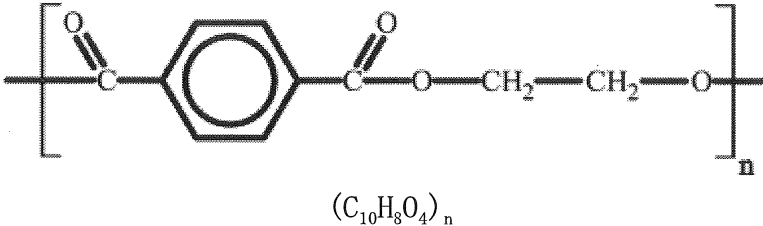


微生物を用いる変異原性試験結果報告書

1 一般的事項

化学物質の名称 (IUPAC 命名法による)	ポリエチレンテレフタレート		
別 名	Poly(ethylene glycol terephthalate)		
構造式又は示性式	 <p style="text-align: center;">(C₁₀H₈O₄)_n</p>		
試験に供した 化学物質の純度	—	試験に供した 化学物質の Lot No.	46418
不純物の名称及び 含有率 (濃度)	—		
C A S 番 号	25038-59-9	蒸 気 圧	—
分 子 量	—	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	白色ペレット(0.3 mm)
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[200mg/ml 未満 (粉 砕し懸濁可能)]*	—

*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	被験物質の溶解度は、水やDMSOに50 mg/ml未満であるが、DMSOに200 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10000 μ gの被験物質に相当する]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	粉碎装置を用いて粉碎した被験物質に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 本試験	40分、 30分、	25℃ 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	2.38	3.52	4.17	2.76	2.61
	本 試 験	2.28	3.38	4.08	2.59	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 °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	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10000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$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認められなかった。</p> <p>本試験を最高用量10000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$より公比2の5用量で実施したところ、用量設定試験と同様、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認められなかった。</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、ポリエチレンテレフタレート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

<p>被験物質はポリマーであり、純度換算できないため最高用量を10000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$として試験を行った。被験物質の沈澱が著しいプレートにマニュアルカウントを実施した。</p>
--

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	6387		
試験期間	2015年1月23日 ~ 2015年3月3日		

表-1

試験結果表（用量設定試験）

被験物質の名称：ポリエチレンテレフタレート

試験実施期間		2015年 1月 27日から 2015年 1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		
S9 mix (-)	陰性対照 (溶媒対照)	128 137 105 102 (118)	8 14 8 13 (11)	76 72 74 71 (73)	18 23 14 14 (17)	9 9 10 14 (11)		
	2.44	115 120 (118)	11 7 (9)	69 90 (80)	18 9 (14)	3 13 (8)		
	9.77	133 127 (130)	10 3 (7)	72 75 (74)	18 15 (17)	8 9 (9)		
	39.1	114 115 (115)	7 7 (7)	91 91 (91)	16 23 (20)	13 6 (10)		
	156 †	140 146 (143)	2 5 (4)	125 117 (121)	13 15 (14)	17 11 (14)		
	625 †	114 135 (125)	8 5 (7)	112 110 (111)	15 6 (11)	10 17 (14)		
	2500 †	121 124 (123)	11 10 (11)	102 108 (105)	11 12 (12)	16 9 (13)		
	10000 †	123 128 (126)	11 3 (7)	101 105 (103)	12 16 (14)	13 15 (14)		
	S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	128 124 122 115 (122)	14 8 8 13 (11)	109 106 109 116 (110)	24 25 17 18 (21)	9 11 13 18 (13)	
		2.44	136 136 (136)	8 9 (9)	101 106 (104)	25 29 (27)	17 8 (13)	
9.77		131 113 (122)	10 13 (12)	114 109 (112)	26 20 (23)	7 11 (9)		
39.1		116 157 (137)	14 10 (12)	96 107 (102)	29 22 (26)	18 10 (14)		
156 †		101 129 (115)	5 6 (6)	128 133 (131)	27 28 (28)	16 15 (16)		
625 †		98 113 (106)	3 7 (5)	126 166 (146)	27 16 (22)	20 15 (18)		
2500 †		105 112 (109)	6 9 (8)	130 167 (149)	18 29 (24)	16 17 (17)		
10000 †		114 92 (103)	2 8 (5)	161 146 (154)	11 18 (15)	11 13 (12)		
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	778 741 (760)	320 397 (359)	1090 1092 (1091)	506 536 (521)	658 533 (596)	
	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	1342 1319 (1331)	282 288 (285)	812 792 (802)	532 533 (533)	288 246 (267)		

【備考】

1. () 内には各プレートのコロニー数の平均値を記入した。
2. 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。
3. 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。
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：ポリエチレンテレフタレート

試験実施期間		2015年 2月 3日から 2015年 2月 6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)	128 117	13 7	91 87	15 23	21 15	
		131 143 (130)	11 7 (10)	81 86 (86)	16 16 (18)	14 9 (15)	
	625 †	126	6	110	19	15	
		120 (123)	5 (6)	114 (112)	18 (19)	16 (16)	
	1250 †	124	6	99	13	8	
		121 (123)	7 (7)	112 (106)	19 (16)	16 (12)	
	2500 †	127	6	107	20	20	
	132 (130)	7 (7)	103 (105)	16 (18)	14 (17)		
	5000 †	136	4	105	21	13	
		131	8	103	18	9	
	10000 †	126 (129)	7 (8)	109 (106)	15 (17)	14 (12)	
S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	115 126	8 8	106 105	23 18	18 18	
		113 126 (120)	15 13 (11)	114 99 (106)	17 25 (21)	16 23 (19)	
	625 †	147	5	138	31	16	
		138 (143)	4 (5)	145 (142)	27 (29)	11 (14)	
	1250 †	129	4	134	25	10	
		141 (135)	5 (5)	147 (141)	20 (23)	18 (14)	
	2500 †	122	7	146	15	10	
	153 (138)	8 (8)	136 (141)	27 (21)	6 (8)		
	5000 †	133	5	133	35	12	
		137 (135)	4 (5)	145 (139)	18 (27)	16 (14)	
	10000 †	132	5	151	26	18	
		116 (124)	3 (4)	142 (147)	25 (26)	14 (16)	
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	731	319	1151	582	733
			761 (746)	349 (334)	983 (1067)	610 (596)	719 (726)
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	1430	286	787	518	288
			1439 (1435)	303 (295)	778 (783)	528 (523)	274 (281)

【備考】

1. () 内には各プレートのコロニー数の平均値を記入した。
2. 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。
3. 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。
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

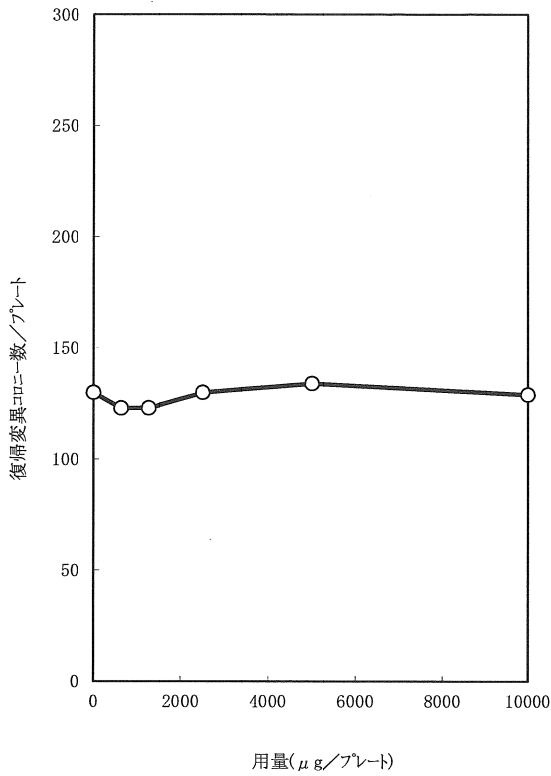


図-1 TA100における用量-反応曲線
直接法による場合 (本試験)

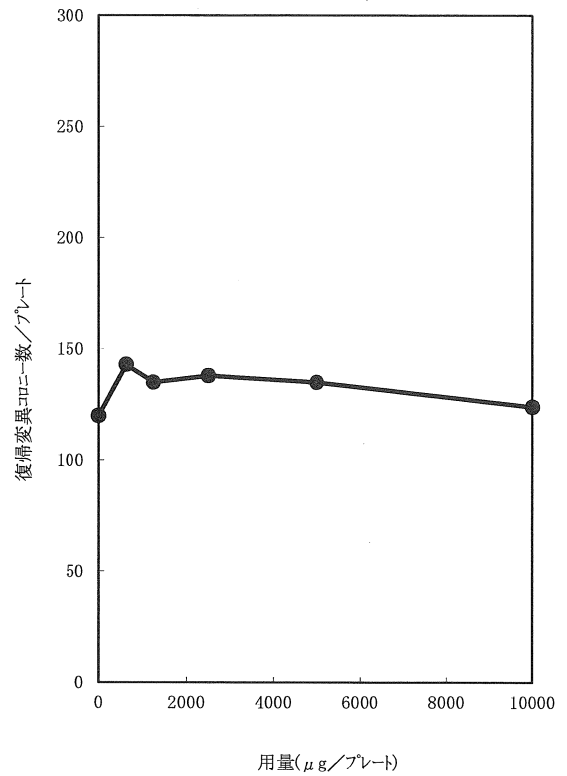


図-2 TA100における用量-反応曲線
代謝活性化法による場合 (本試験)

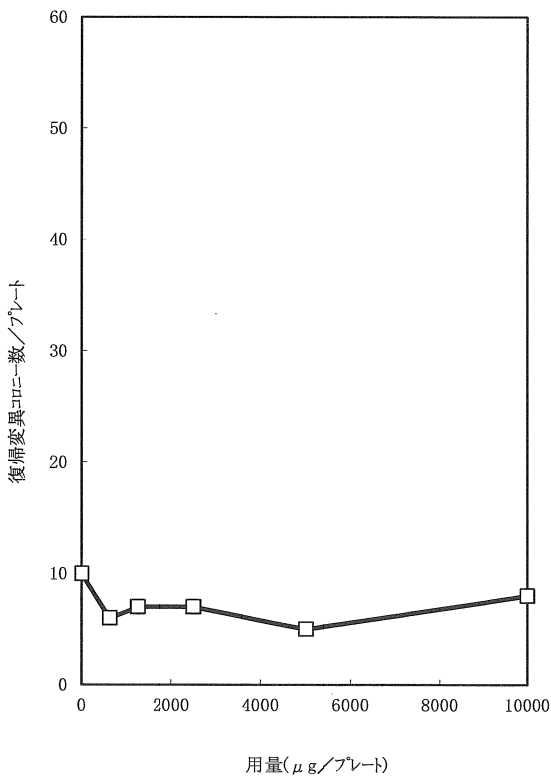


図-3 TA1535における用量-反応曲線
直接法による場合 (本試験)

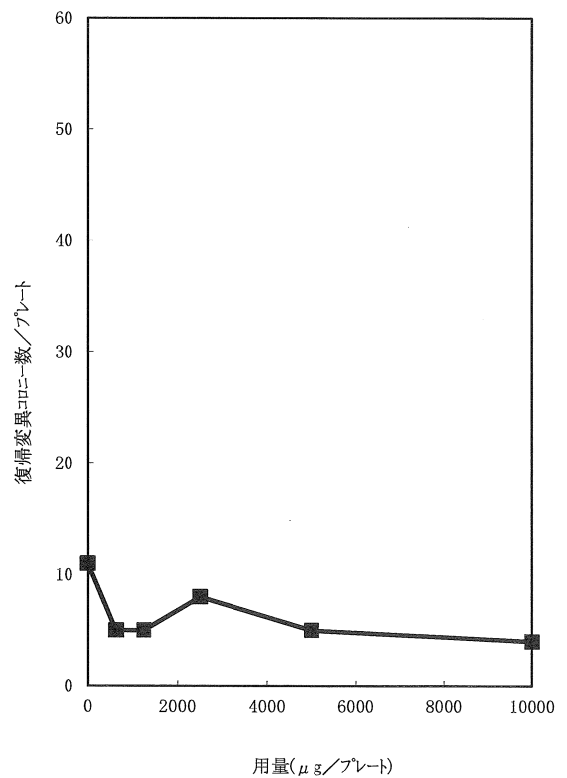


図-4 TA1535における用量-反応曲線
代謝活性化法による場合 (本試験)

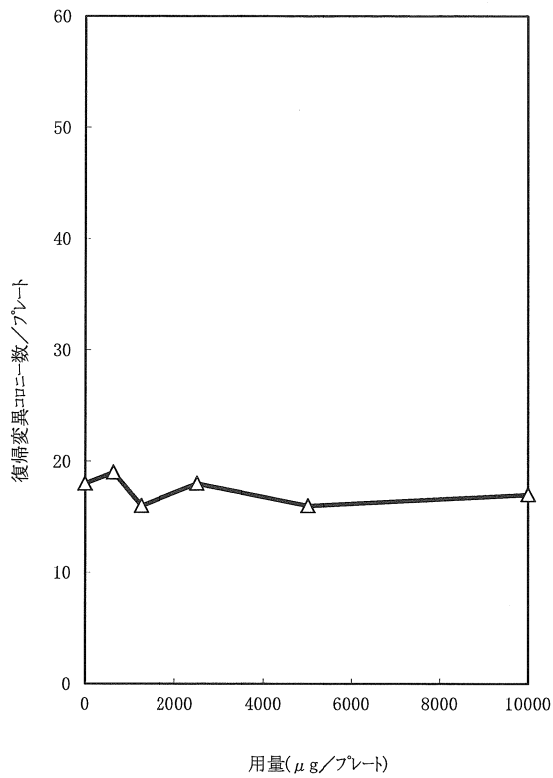


図-5 TA98における用量-反応曲線
直接法による場合 (本試験)

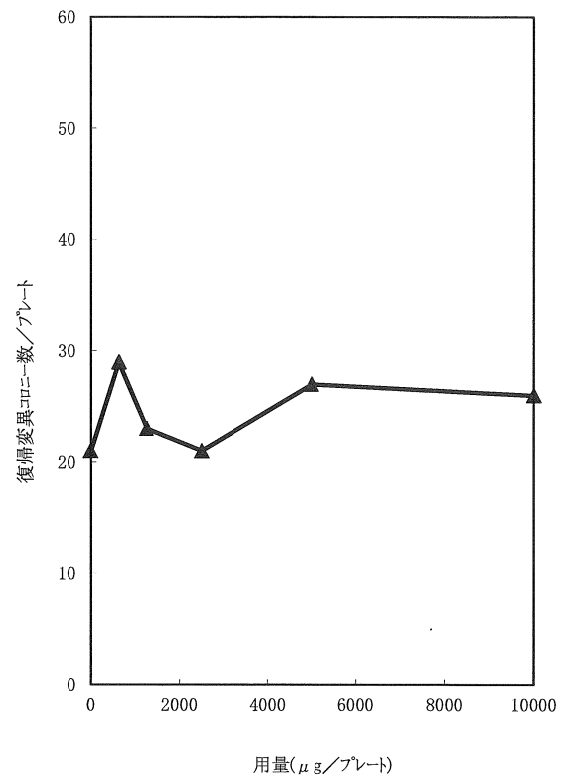


図-6 TA98における用量-反応曲線
代謝活性化法による場合 (本試験)

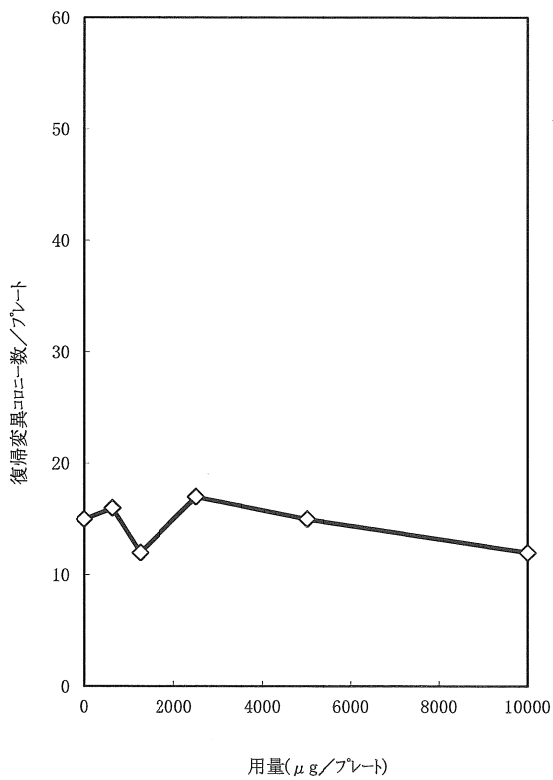


図-7 TA1537における用量-反応曲線
直接法による場合 (本試験)

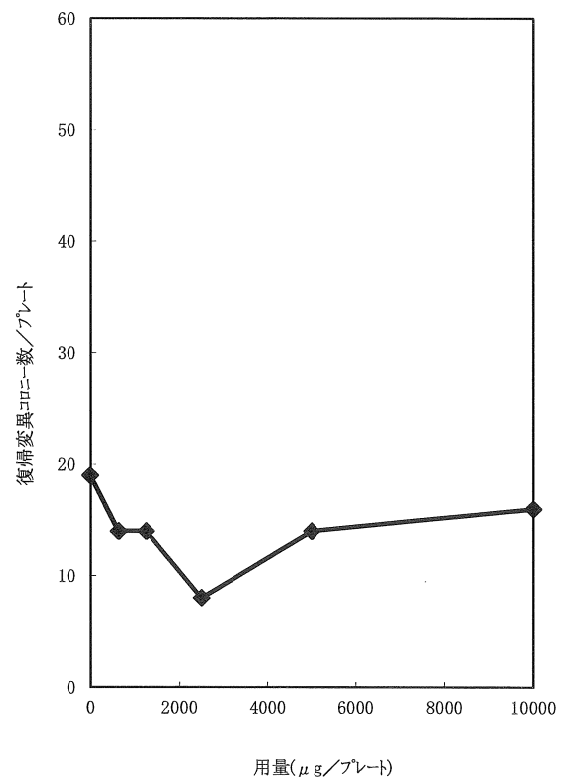


図-8 TA1537における用量-反応曲線
代謝活性化法による場合 (本試験)

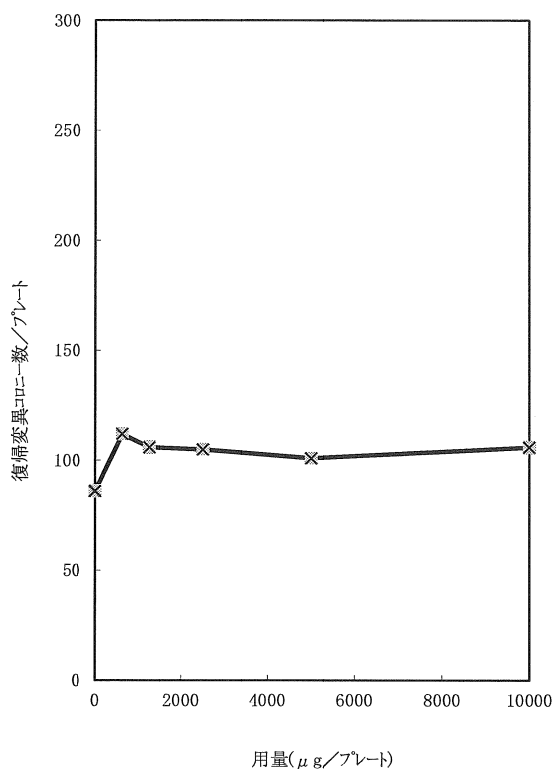


図-9 WP2 *uvrA*/pKM101における用量-反応曲線
直接法による場合 (本試験)

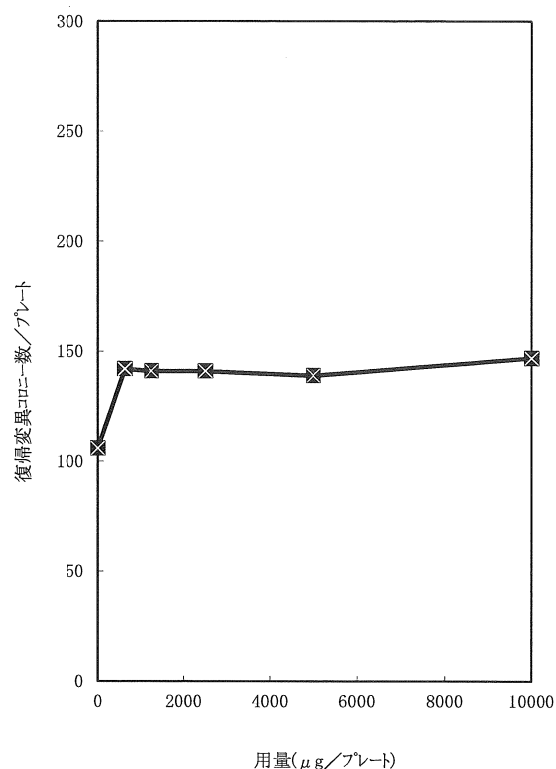


図-10 WP2 *uvrA*/pKM101における用量-反応曲線
代謝活性化法による場合 (本試験)