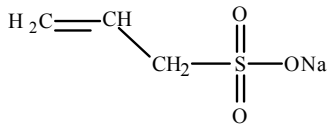
微生物を用いる変異原性試験結果報告書

1.　一般的事項

新規化学物質の名称 (IUPAC 命名法による)	２－プロペンスルホン酸ナトリウム		
別　　名			
構造式又は示性式（いずれも不明な場合はその製法の概要）			
試験に供した新規化学物質の純度	95%	試験に供した新規化学物質の Lot No.	A0330609
不純物の名称及び濃度			
CAS 番号	2495-39-8	蒸気圧	760 mmHg（114.2°C）*
分子量	144.13	分配係数	–3.5（25°C）*
融　点		常温における性状	固体
沸　点			
安定性	適切な条件化においては安定		

溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中での安定性
	水	50 mg/mL で溶解	発熱、ガスの発生等の反応性なし
	DMSO		
	アセトン		
	その他		

(備考)　上記被験物質情報は、製造元からの情報及び*：独立行政法人製品評価技術基盤機構化学物質総合情報システム（CHRIP）の情報による。なお、水の溶解度及び溶媒中での安定性については、株式会社ボゾリサーチセンターで実施した溶解性試験の結果である。

2.　試験に用いた菌株

菌株名	入手先	入手年月日
Salmonella typhimurium TA98	国立医薬品食品衛生研究所	1997 年 10 月 9 日
Salmonella typhimurium TA100	国立医薬品食品衛生研究所	1997 年 10 月 9 日
Salmonella typhimurium TA1535	国立医薬品食品衛生研究所	1997 年 10 月 9 日
Salmonella typhimurium TA1537	国立医薬品食品衛生研究所	1997 年 10 月 9 日
Escherichia coli WP2 *uvrA*	独立行政法人 製品評価技術基盤機構	2011 年 10 月 20 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	2013 年 9 月 26 日製造
購入の場合 Lot No.	RAA20130926
保存温度	−88.1~−78.8°C （保存期間：2013 年 10 月 23 日~2014 年 1 月 29 日）

(2)　S9 の調製方法

使　用　動　物		誘　導　物　質	
種・系統	ラット･SD 系	名称	PB& 5,6-BF
性	雄	投与方法	腹腔内投与
週齢	7 週齢	投与期間及び 投与量 (mg/kg 体重)	PB4 日間連続投与: 30+60+60+60(mg/kg 体重) PB 投与 3 日目 BF 投与: 80(mg/kg 体重)
体重	187–230 g		

(3)　S9Mix の組成

成　　分	S9Mix 1mL 中の量	成　　分	S9Mix 1mL 中の量
S9	0.1 mL	NADPH	4 µmol
$MgCl_2$	8 µmol	NADH	4 µmol
KCl	33 µmol	Na-リン酸緩衝液	100 µmol
グルコース-6-リン酸	5 µmol	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(%)
	注射用水	株式会社 大塚製薬工場	K3J84	日本薬局方	
溶媒選択の理由	水について溶解性試験を実施した。その結果、50 mg/mL で溶解し、発熱、ガスの発生等の反応性も認められなかったため注射用水を溶媒とした。				
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	用時調製・室温				
純度換算の有無	有　　(無)				

5.　前培養の条件

(1)　条件

ニュートリエントブロス	名　　称	製　造　元	Lot No.
	Nutrient Broth No.2	OXOID LTD.	876774
前培養時間	9 時間		
培養容器(形状・容器)	L 字管・48mL		
培養液量	10 mL	接種菌量	*S. typhimurium* 株　20 μL *E. coli* 株　10 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	WP2 *uvrA*	TA98	TA1537
生菌数 (× 10^9/mL)	用量設定試験	5.40	6.07	8.81	6.82	4.41
	本試験	5.42	6.18	8.84	6.42	4.92
測定方法	(1.)　O.D.値より換算　2.　段階希釈法　3.　その他					

6.　最小グルコース寒天平板培地

自製･購入の別	1.　自製　　②.　購入（購入元　極東製薬工業株式会社）
製 造 年 月 日	2013 年 10 月 16 日製造
購入の場合の Lot No.	DZLEAG01
使用寒天の名称･製造･Lot No.	OXOID AGAR No.1･OXOID LTD.･Lot No. 1213483-02

7.　試験の方法

(1)　試験方法とその選択理由

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 その選択理由	

(2)　試験条件

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
	S9Mix（代謝活性化法による場合）	0.5 mL
	トップアガー	2.0 mL
プレインキュベーション	温度	37°C
	時間	20 分間
インキュベーション	温度	37°C
	時間（用量設定試験）	48 時間
	時間（本試験）	49 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　面積補正:補正値　1.21）

9. 試験の結果

(1) 試験の結果は別表による。

(2) 結果の判定

判　定	陽性　　(陰性)

判定の理由

用量設定試験の結果を別表 1、本試験の結果を別表 2 に示した。なお、図 1~10 は別表 2 より作成した。また、当該試験の参考データとして参照した背景データを Attached Data として添付した。

用量設定試験及び本試験ともに代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの菌株においても陰性対照値の 2 倍以上となる復帰変異コロニー数の増加は認められず、用量反応性も認められなかった。

一方、陽性対照群では陰性対照群と比較して 2 倍以上となる復帰変異コロニー数の増加を示したことから、使用菌株の復帰突然変異誘発物質に対する反応は適切であったことが確認され、試験は適切に実施されたものと考えられた。

以上の試験結果より、本試験条件下において 2 －プロペンスルホン酸ナトリウムは、微生物に対する遺伝子突然変異誘発能を有さない（陰性）と判定した。

(3) 参考事項

本被験物質によるプレート上の沈殿及び着色は代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの用量においても認められなかった。

実体顕微鏡を用いて菌に対する生育阻害を観察した結果、代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの菌株においても認められなかった。

被験液の調製及び試験操作は、紫外線吸収膜付蛍光灯下で実施した。

10. その他

試験実施施設	名　称	株式会社ボゾリサーチセンター　東京研究所
	所在地	東京都世田谷区羽根木 1-3-11　電話 03(3327)2114 FAX03(3327)2115
試験責任者	職氏名	[redacted]
	経験年数	[redacted]
試験番号	T-1452	
試験期間	2013 年 12 月 25 日より 2014 年 2 月 28 日	

（別表1）

試 験 結 果 表（用量設定試験）

被験物質の名称： ２－プロペンスルホン酸ナトリウム

No. T-1452

試験実施期間		2014年1月21日　より　2014年1月24日				
代謝活性化系の有無	被験物質の用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）	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	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
S9Mix（－）	陰性対照（注射用水）	134 126 （ 130）	15 16 （ 16）	14 21 （ 18）	28 18 （ 23）	6 6 （ 6）
	1.22	132 117 （ 125）	16 9 （ 13）	13 17 （ 15）	20 33 （ 27）	10 7 （ 9）
	4.88	128 101 （ 115）	10 12 （ 11）	15 24 （ 20）	31 21 （ 26）	11 9 （ 10）
	19.5	114 113 （ 114）	16 14 （ 15）	22 18 （ 20）	26 21 （ 24）	8 6 （ 7）
	78.1	129 117 （ 123）	14 14 （ 14）	14 16 （ 15）	33 16 （ 25）	4 5 （ 5）
	313	120 131 （ 126）	19 10 （ 15）	24 13 （ 19）	21 22 （ 22）	11 5 （ 8）
	1250	95 116 （ 106）	8 13 （ 11）	17 15 （ 16）	22 19 （ 21）	4 6 （ 5）
	5000	111 145 （ 128）	18 10 （ 14）	21 11 （ 16）	17 19 （ 18）	8 7 （ 8）
S9Mix（＋）	陰性対照（注射用水）	138 128 （ 133）	10 13 （ 12）	24 18 （ 21）	36 39 （ 38）	6 8 （ 7）
	1.22	140 136 （ 138）	18 23 （ 21）	15 15 （ 15）	44 51 （ 48）	7 6 （ 7）
	4.88	145 163 （ 154）	12 17 （ 15）	21 24 （ 23）	41 46 （ 44）	9 6 （ 8）
	19.5	143 163 （ 153）	22 21 （ 22）	11 19 （ 15）	39 38 （ 39）	9 9 （ 9）
	78.1	148 127 （ 138）	11 16 （ 14）	22 13 （ 18）	41 36 （ 39）	9 8 （ 9）
	313	172 133 （ 153）	24 15 （ 20）	31 24 （ 28）	36 39 （ 38）	8 5 （ 7）
	1250	162 128 （ 145）	16 23 （ 20）	22 16 （ 19）	56 42 （ 49）	7 8 （ 8）
	5000	157 149 （ 153）	13 21 （ 17）	23 22 （ 23）	55 46 （ 51）	5 4 （ 5）
陽性対照 S9Mixを必要としないもの	名　称	AF-2	SAZ	AF-2	AF-2	ICR-191
	用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
	ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	639 608 （ 624）	232 217 （ 225）	51 52 （ 52）	480 468 （ 474）	1326 1187 （ 1257）
陽性対照 S9Mixを必要とするもの	名　称	B[*a*]P	2AA	2AA	B[*a*]P	B[*a*]P
	用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
	ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	921 964 （ 943）	360 402 （ 381）	851 1032 （ 942）	330 373 （ 352）	70 83 （ 77）

（備考）

AF-2　：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド
SAZ　：アジ化ナトリウム
ICR-191　：2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl
2AA　：2-アミノアントラセン
B[*a*]P　：ベンゾ[*a*]ピレン

（　）内は、2枚のプレートの平均値を示す。

（別表2）

試 験 結 果 表（本試験）

被験物質の名称： ２－プロペンスルホン酸ナトリウム

No. T-1452

試験実施期間			2014年1月28日　より　2014年1月31日				
代謝活性化系の有無		被験物質の用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）	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	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
S9Mix（－）		陰性対照（注射用水）	90 105 （ 98）	12 16 （ 14）	12 21 （ 17）	22 19 （ 21）	3 5 （ 4）
		313	80 82 （ 81）	9 10 （ 10）	18 25 （ 22）	22 28 （ 25）	7 7 （ 7）
		625	91 80 （ 86）	10 7 （ 9）	14 19 （ 17）	24 20 （ 22）	4 4 （ 4）
		1250	79 101 （ 90）	13 15 （ 14）	22 12 （ 17）	32 21 （ 27）	5 7 （ 6）
		2500	90 77 （ 84）	11 11 （ 11）	11 11 （ 11）	19 19 （ 19）	3 5 （ 4）
		5000	93 84 （ 89）	7 5 （ 6）	10 19 （ 15）	28 27 （ 28）	5 2 （ 4）
S9Mix（＋）		陰性対照（注射用水）	95 85 （ 90）	10 15 （ 13）	20 18 （ 19）	34 48 （ 41）	8 8 （ 8）
		313	130 110 （ 120）	14 12 （ 13）	18 16 （ 17）	30 34 （ 32）	9 4 （ 7）
		625	103 102 （ 103）	15 8 （ 12）	15 17 （ 16）	40 46 （ 43）	5 5 （ 5）
		1250	105 124 （ 115）	11 11 （ 11）	23 22 （ 23）	53 45 （ 49）	5 8 （ 7）
		2500	102 119 （ 111）	13 11 （ 12）	15 23 （ 19）	56 46 （ 51）	7 8 （ 8）
		5000	97 103 （ 100）	8 11 （ 10）	18 18 （ 18）	31 33 （ 32）	7 13 （ 10）
陽性対照	S9Mixを必要としないもの	名　称	AF-2	SAZ	AF-2	AF-2	ICR-191
		用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
		ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	512 545 （ 529）	233 298 （ 266）	57 61 （ 59）	414 405 （ 410）	1217 1171 （ 1194）
	S9Mixを必要とするもの	名　称	B[*a*]P	2AA	2AA	B[*a*]P	B[*a*]P
		用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
		ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	923 946 （ 935）	270 319 （ 295）	990 900 （ 945）	382 345 （ 364）	87 106 （ 97）

（備考）

AF-2　：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド
SAZ　：アジ化ナトリウム
ICR-191　：2-メトキシ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノプロピルアミノ]アクリジン・2HCl
2AA　：2-アミノアントラセン
B[*a*]P　：ベンゾ[*a*]ピレン

（　）内は、2枚のプレートの平均値を示す。

図 1

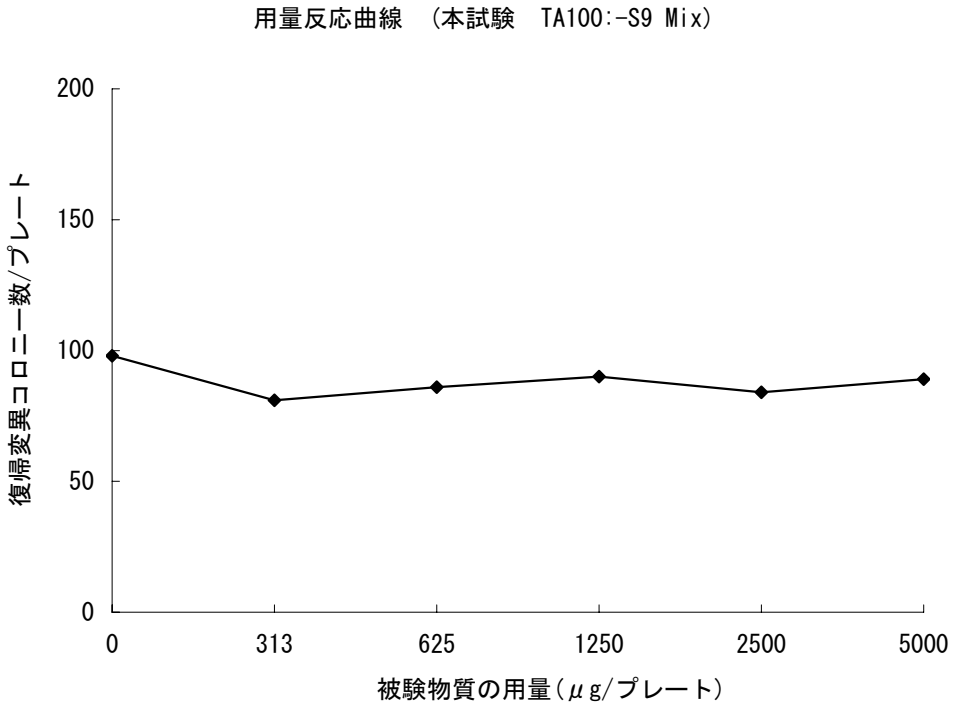

用量反応曲線　(本試験　TA100:-S9 Mix)
復帰変異コロニー数/プレート
200
150
100
50
0
0
313
625
1250
2500
5000
被験物質の用量(μg/プレート)

図 2

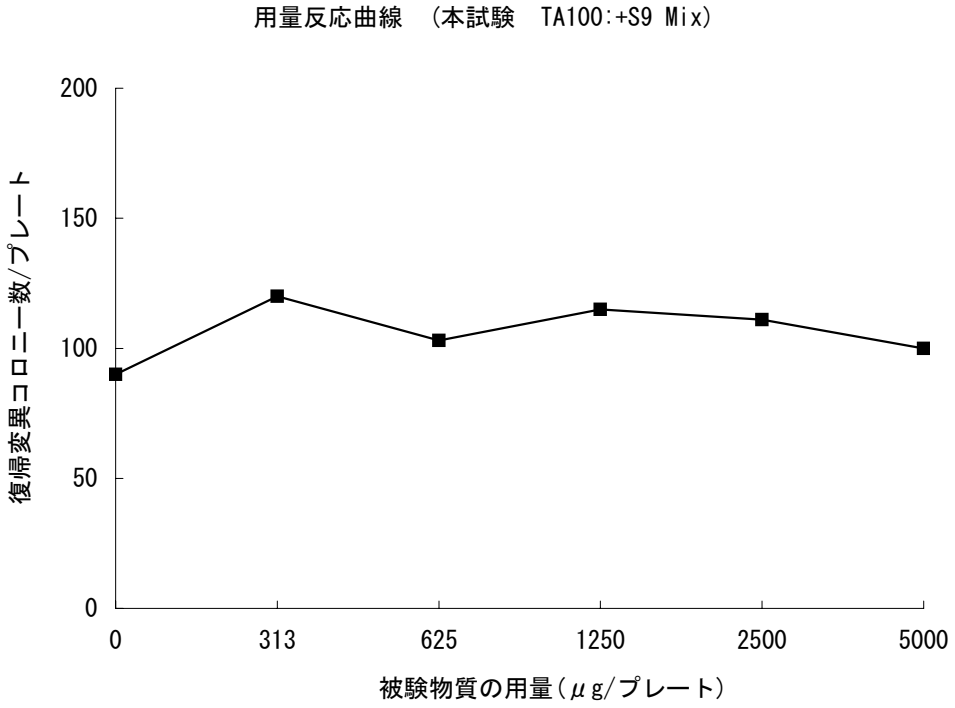

用量反応曲線　(本試験　TA100:+S9 Mix)
復帰変異コロニー数/プレート
200
150
100
50
0
0
313
625
1250
2500
5000
被験物質の用量(μg/プレート)

図 3

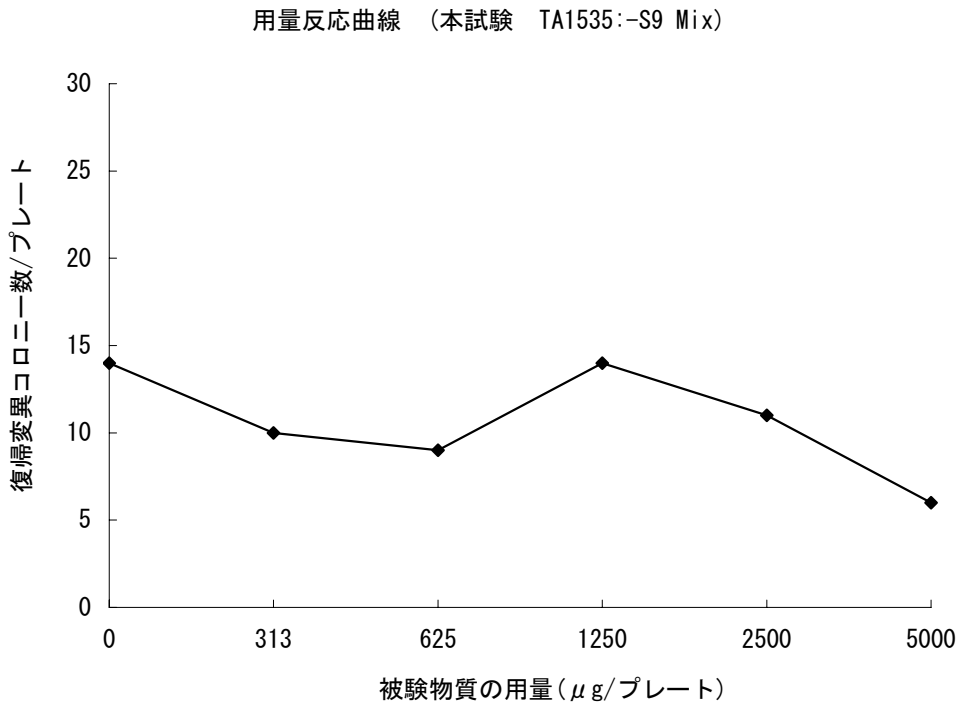

用量反応曲線　(本試験　TA1535:-S9 Mix)
復帰変異コロニー数/プレート
30
25
20
15
10
5
0
0
313
625
1250
2500
5000
被験物質の用量(μg/プレート)

図 4

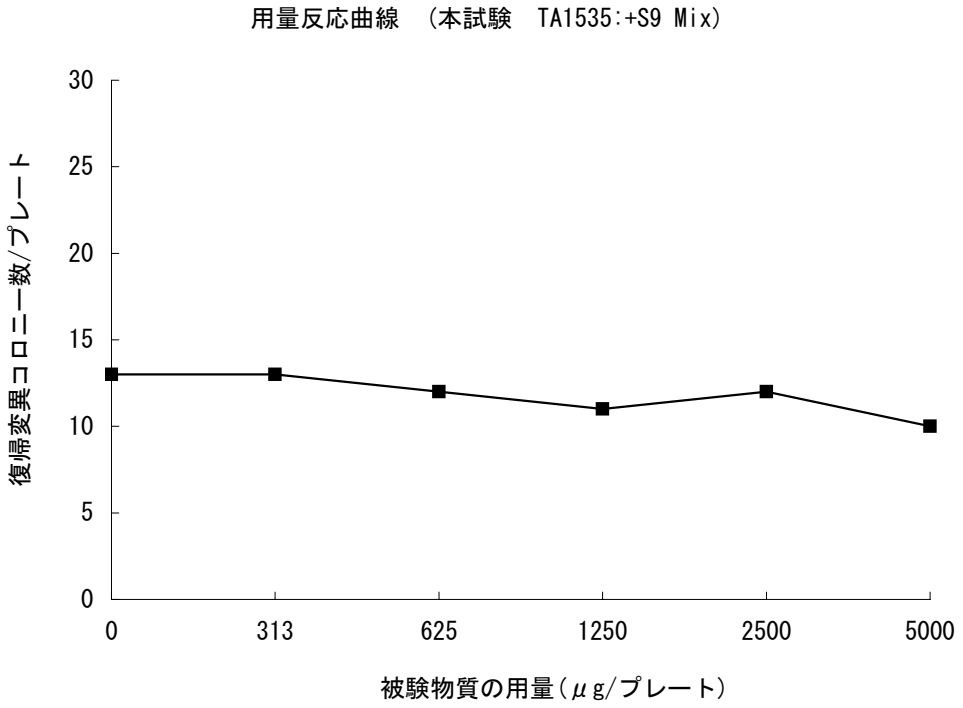

用量反応曲線　(本試験　TA1535:+S9 Mix)
復帰変異コロニー数/プレート
30
25
20
15
10
5
0
0
313
625
1250
2500
5000
被験物質の用量(μg/プレート)

図 5

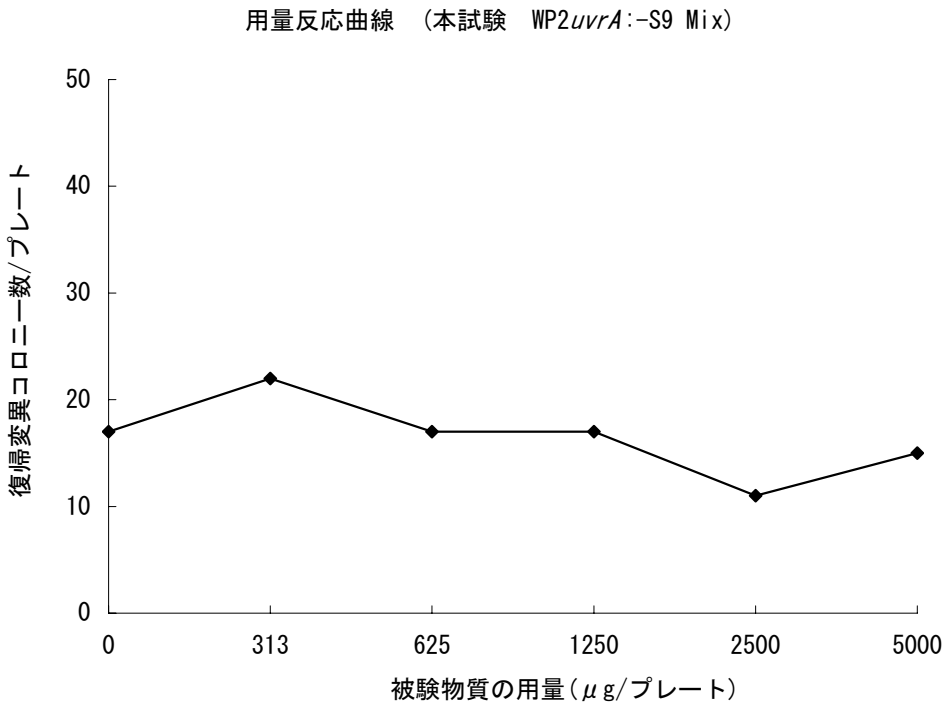

用量反応曲線　(本試験　WP2*uvrA*:-S9 Mix)
復帰変異コロニー数/プレート
50
40
30
20
10
0
0
313
625
1250
2500
5000
被験物質の用量(μg/プレート)

図 6

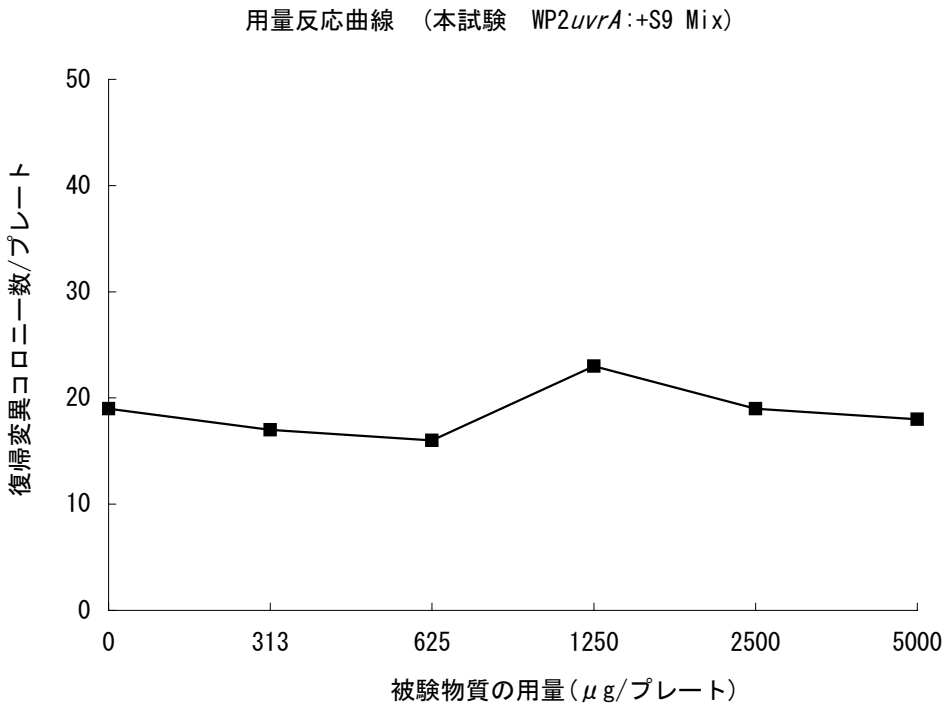

用量反応曲線　(本試験　WP2*uvrA*:+S9 Mix)
復帰変異コロニー数/プレート
50
40
30
20
10
0
0
313
625
1250
2500
5000
被験物質の用量(μg/プレート)

図 7

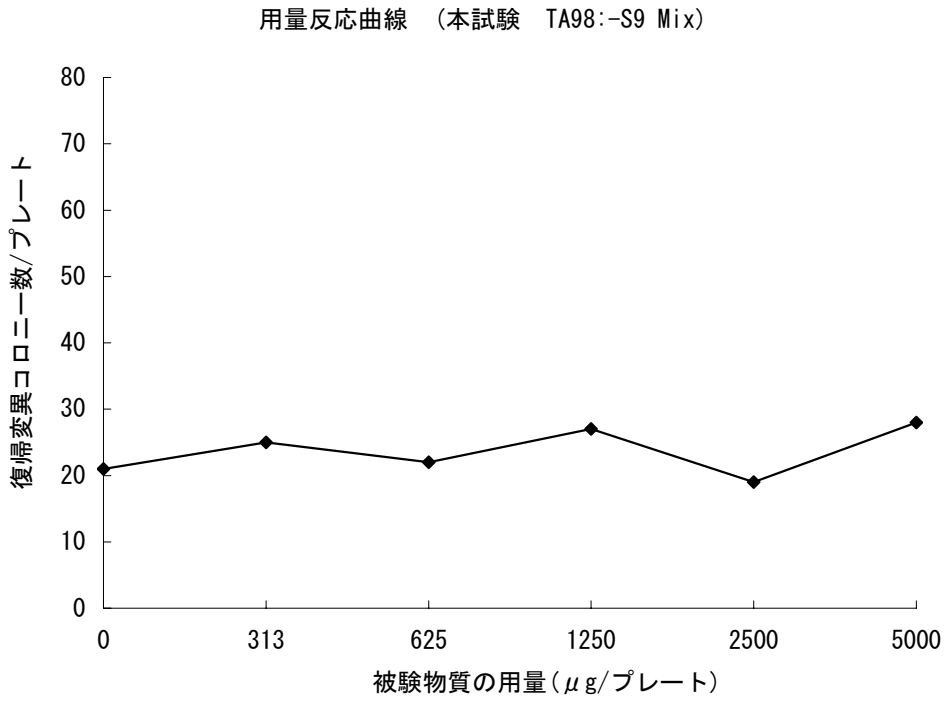

用量反応曲線　(本試験　TA98:-S9 Mix)
復帰変異コロニー数/プレート
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
313
625
1250
2500
5000
被験物質の用量(μg/プレート)

図 8

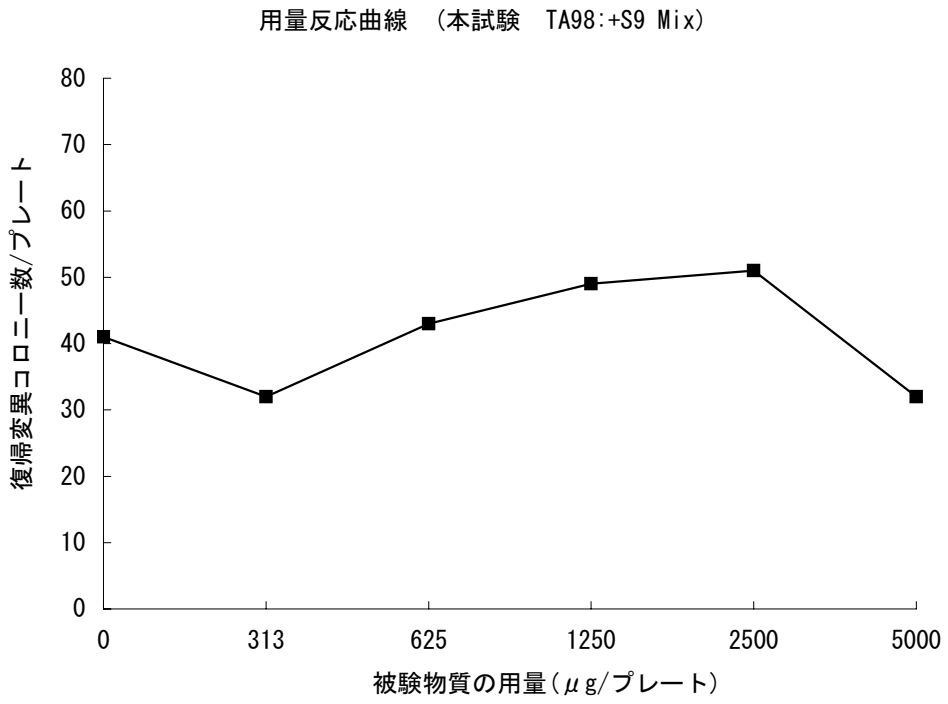

用量反応曲線　(本試験　TA98:+S9 Mix)
復帰変異コロニー数/プレート
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
313
625
1250
2500
5000
被験物質の用量(μg/プレート)

図 9

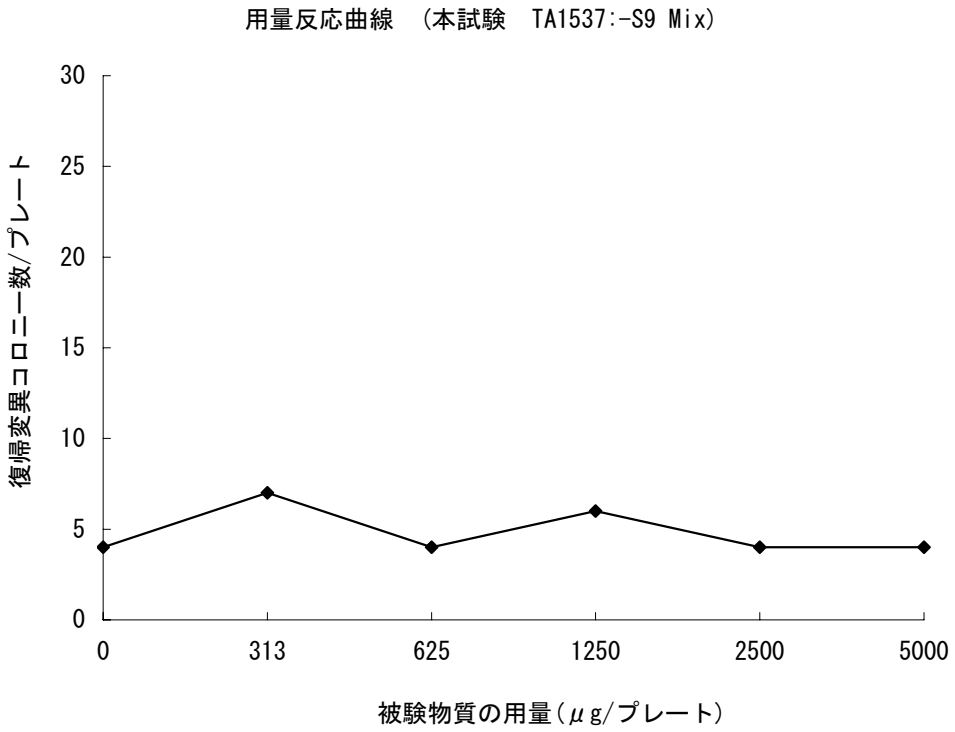
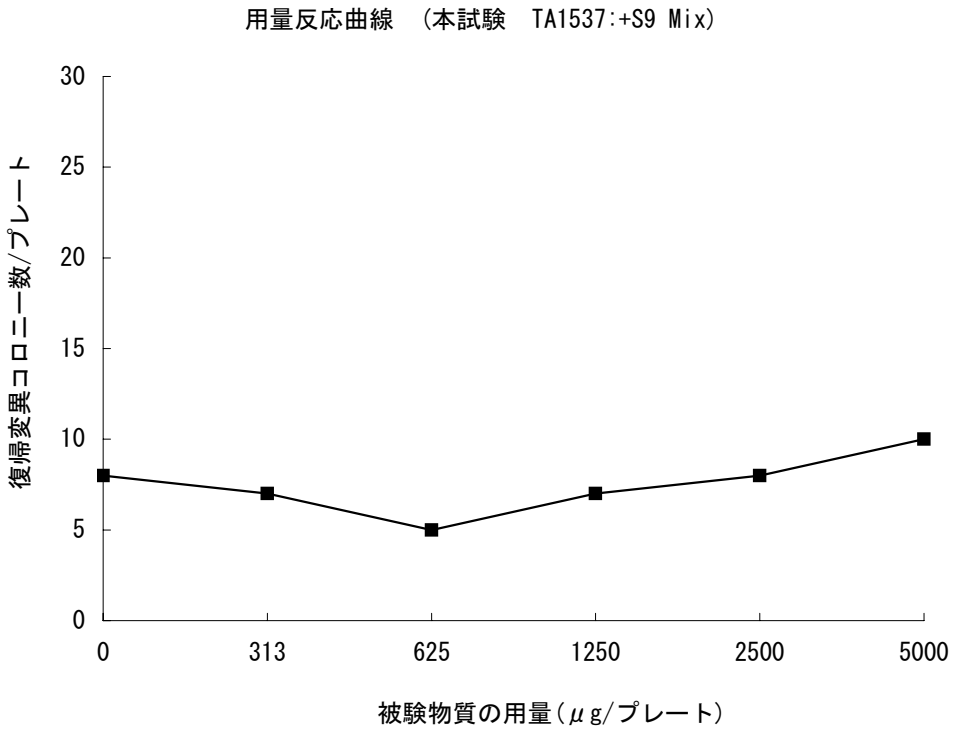

用量反応曲線　(本試験　TA1537:-S9 Mix)
復帰変異コロニー数/プレート
30
25
20
15
10
5
0
0
313
625
1250
2500
5000
被験物質の用量(μg/プレート)

図 10


用量反応曲線　(本試験　TA1537:+S9 Mix)
復帰変異コロニー数/プレート
30
25
20
15
10
5
0
0
313
625
1250
2500
5000
被験物質の用量(μg/プレート)