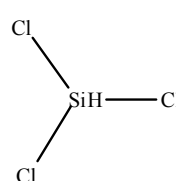


微生物を用いる変異原性試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質の名称 (IUPAC 命名法による)	三塩化シラン		
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	99.8%	試験に供した新規化 学物質の Lot No.	G71PK
不純物の名称及び濃度	/		
CAS 番号	10025-78-2	蒸気圧	65.3 kPa/20°C
分子量	135.45	分配係数	/
融 点	-127°C	常温における性状	液体 (比重 : 1.34)
沸 点	31°C		
安定性	適切な条件下では安定		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中での安定性
	水	/	接触すると、発火または可燃性ガスを発生する危険性がある。接触により分解し、有毒なガスを発生する。
	DMSO	/	/
	アセトン	/	/
	欄外に示す ¹⁾	可溶	/

(備考) 1) エーテル、ベンゼン、クロロホルム、四塩化炭素、二硫化炭素、ヘプタン

上記被験物質情報は、製造元からの情報による。

2. 試験に用いた菌株

菌株名	入手先	入手年月日
<i>Salmonella typhimurium</i> TA98	国立医薬品食品衛生研究所	1997年10月9日
<i>Salmonella typhimurium</i> TA100	国立医薬品食品衛生研究所	1997年10月9日
<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535	国立医薬品食品衛生研究所	1997年10月9日
<i>Salmonella typhimurium</i> TA1537	国立医薬品食品衛生研究所	1997年10月9日
<i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	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	2014年1月24日製造
購入の場合 Lot No.	RAA20140124
保存温度	-87.1~-77.1°C (保存期間: 2014年2月20日~2014年3月11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	196-246 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(%)
	空気				
溶媒選択の理由	本被験物質が酸素に対して安定であると考えられるため、溶媒(希釈用ガス)には空気を使用した。				
被験物質溶液の性状	溶解 懸濁 (その他) (ガス状)				
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					
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	<i>S. typhimurium</i> 株 20 µL <i>E. coli</i> 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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
生菌数 (× 10 ⁹ /mL)	用量設定試験	5.42	6.58	8.74	6.60	5.15
	本試験	5.44	6.18	8.80	5.73	4.81
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	2014年1月28日製造
購入の場合の Lot No.	DZLF1S01
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 (ガス暴露法)
その他の場合はその選択理由	本被験物質が低沸点物質であるため

(2) 試験条件

組 成	菌懸濁液	0.1 mL
	被験物質溶液	
	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	
	時間	
インキュベーション	温度	37°C
	時間	48 時間 ¹⁾

1) 被験暴露時間 24 時間を含む

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:補正值 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
<p>判定の理由</p> <p>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 1、2 として添付した。</p> <p>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。</p> <p>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。</p> <p>以上の試験結果より、本試験条件下において三塩化シランは、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。</p>	

(3) 参考事項

本被験物質によるプレート上の沈殿は、代謝活性化の有無にかかわらず、1.56%以上の用量で、プレートの水分と反応して生成されたとと思われる沈殿が認められた。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、すべての菌株の1.56%以上の用量で生育阻害が認められた。

被験物質の使用量の計算には下記を用いた。

気体の状態方程式

$$P [\text{atm}] V [\text{L}] = n [\text{mol}] R T [\text{K}]$$

定数はそれぞれ下記の通りとして計算した。

$$R = 0.082 [\text{atm}\cdot\text{L}/\text{mol}\cdot\text{K}]$$

$$0\text{K} = -273.15^\circ\text{C}$$

$$0^\circ\text{C}, 1 \text{ atm での気体 } 1 \text{ mol の体積} = 22.4 \text{ L}$$

10L のガス収集バッグ (スマートバッグ PA CCK-10 : GL サイエンス) 内で気化させた被験物質の量は、用量設定試験については 19.873、4.968、1.242、0.311、0.0776、0.0194 及び 0.0049 mL、本試験については 1.242、0.621、0.311、0.155、0.0776 及び 0.0388 mL であった。

試験は下記の手順で実施した。

- 1) 滅菌した小試験管に、代謝活性化しない場合は 0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.4) 0.5 mL を、代謝活性化する場合は S9 Mix 0.5 mL を加えた後、さらに各菌懸濁液 0.1 mL を加え、攪拌した。
- 2) 攪拌後、あらかじめ電子レンジを用いて溶解し、ユニット恒温槽で 45°C に保温されたトッパアガーを小試験管に 2.0 mL 加えて攪拌後、最小グルコース寒天平板培地に均一に重層し、固化したことを確認した。
- 3) 固化した最小グルコース寒天平板培地のふたを外し、逆さにして固定し、用量ごとに秤取した被験物質とともにガス収集バッグ内に移した。
- 4) ガス収集バッグをシーリングした後、ポンプを使って空気を半分程度注入し、被験物質が入った遠沈管を開放した。陰性対照には空気のみを同一の条件で実施した。無菌試験用として最高用量のバッグ内に最小グルコース寒天平板培地を入れた。
- 5) ホットプレートを使用し、被験物質を気化させた後、希釈用ガスを加え 1 atm になるように調節し、インキュベータに入れ、37°C で約 24 時間被験物質に暴露させた。
- 6) 暴露後、ガス収集バッグをドラフト内に移動し、バッグ内を空気と置換した後、開封し、用量ごとに再度ビニール袋に入れて密封し、再度インキュベータに入れ、37°C で用量設定試験、本試験ともに 24 時間培養し、被験物質の暴露時間との合計が 48 時間になるように培養した。

陽性対照群についてはプレート法で実施した。

試験実施にあたり、下記の文献を参照した。

- 荒木明宏,野口忠,松島泰次郎 (1988) : ガス状物質の微生物を用いる変異原性試験-テドラ-R バッグを用いる曝露試験, トキシコロジーフォーラム,11(2)184-193.
- Araki , T.Noguchi , F.Kato , T.Matsushima(1994) : Improved method for mutagenicity testing of gaseous compounds by using a gas sampling bag. , Mutation Research, 307, 335-344.

暴露用ガスの調製は、紫外線吸収膜付蛍光灯下で実施した。

(別表1)

試験結果表(用量設定試験)

被験物質の名称：三塩化シラン

No. T-1460

試験実施期間		2014年3月6日 より 2014年3月10日				
代謝活性化系の有無	被験物質の用量(%)	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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
S9Mix (-)	陰性対照(空気)	108 122 (115)	15 13 (14)	23 24 (24)	28 22 (25)	15 13 (14)
	0.0122	125 117 (121)	15 15 (15)	30 20 (25)	27 29 (28)	13 14 (14)
	0.0488	131 138 (135)	13 13 (13)	20 33 (27)	30 25 (28)	10 13 (12)
	0.195	120 113 (117)	12 14 (13)	21 28 (25)	31 26 (29)	18 12 (15)
	0.781	131 108 (120)	11 12 (12)	25 27 (26)	24 25 (25)	13 9 (11)
	3.13 #	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)
	12.5 #	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)
	50 #	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)
S9Mix (+)	陰性対照(空気)	146 135 (141)	14 12 (13)	19 33 (26)	38 36 (37)	14 12 (13)
	0.0122	142 138 (140)	13 12 (13)	16 24 (20)	40 49 (45)	13 11 (12)
	0.0488	167 125 (146)	14 11 (13)	38 28 (33)	42 36 (39)	12 15 (14)
	0.195	146 151 (149)	11 12 (12)	16 28 (22)	35 43 (39)	15 11 (13)
	0.781	150 126 (138)	10 19 (15)	22 31 (27)	42 33 (38)	13 11 (12)
	3.13 #	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)
	12.5 #	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)
	50 #	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)
陽性対照	名称	AF-2	SAZ	AF-2	AF-2	ICR-191
	用量(μg/プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
	コロニー数/プレート	425 449 (437)	217 235 (226)	79 64 (72)	425 492 (459)	175 158 (167)
	名称	B[a]P	2AA	2AA	B[a]P	B[a]P
S9Mixを必要とするもの	用量(μg/プレート)	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
	コロニー数/プレート	1012 1123 (1068)	427 440 (434)	1151 1085 (1118)	479 466 (473)	102 99 (101)

(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

* : 被験物質による生育阻害が認められたことを示す。

: 被験物質による沈殿が認められたことを示す。

()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：三塩化シラン

No. T-1460

試験実施期間		2014年3月10日 より 2014年3月13日				
代謝活性化系の有無	被験物質の用量(%)	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	TA98	TA1537
S9Mix (-)	陰性対照(空気)	113 104 (109)	14 10 (12)	18 13 (16)	18 21 (20)	8 7 (8)
	0.0977	123 128 (126)	15 8 (12)	14 12 (13)	21 22 (22)	8 9 (9)
	0.195	119 125 (122)	11 13 (12)	15 23 (19)	28 27 (28)	12 7 (10)
	0.391	126 136 (131)	10 12 (11)	14 16 (15)	22 24 (23)	10 7 (9)
	0.781	116 128 (122)	7 11 (9)	18 17 (18)	21 31 (26)	7 12 (10)
	1.56 #	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)
	3.13 #	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)
	S9Mix (+)	陰性対照(空気)	125 159 (142)	11 19 (15)	24 14 (19)	37 32 (35)
0.0977		124 150 (137)	13 18 (16)	11 17 (14)	34 27 (31)	10 15 (13)
0.195		122 155 (139)	12 15 (14)	19 28 (24)	33 41 (37)	12 11 (12)
0.391		143 119 (131)	13 15 (14)	21 15 (18)	37 35 (36)	16 15 (16)
0.781		134 139 (137)	12 18 (15)	22 16 (19)	42 39 (41)	13 9 (11)
1.56 #		0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)
3.13 #		0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)
陽性対照		名称	AF-2	SAZ	AF-2	AF-2
	用量(μg/プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
	コロ-数/プレート	362 407 (385)	215 234 (225)	62 48 (55)	398 367 (383)	215 266 (241)
	名称	B[a]P	2AA	2AA	B[a]P	B[a]P
	用量(μg/プレート)	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
	コロ-数/プレート	1177 1058 (1118)	479 476 (478)	1068 1146 (1107)	468 424 (446)	110 103 (107)

(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

* : 被験物質による生育阻害が認められたことを示す。

: 被験物質による沈殿が認められたことを示す。

()内は、2枚のプレートの平均値を示す。

図 1

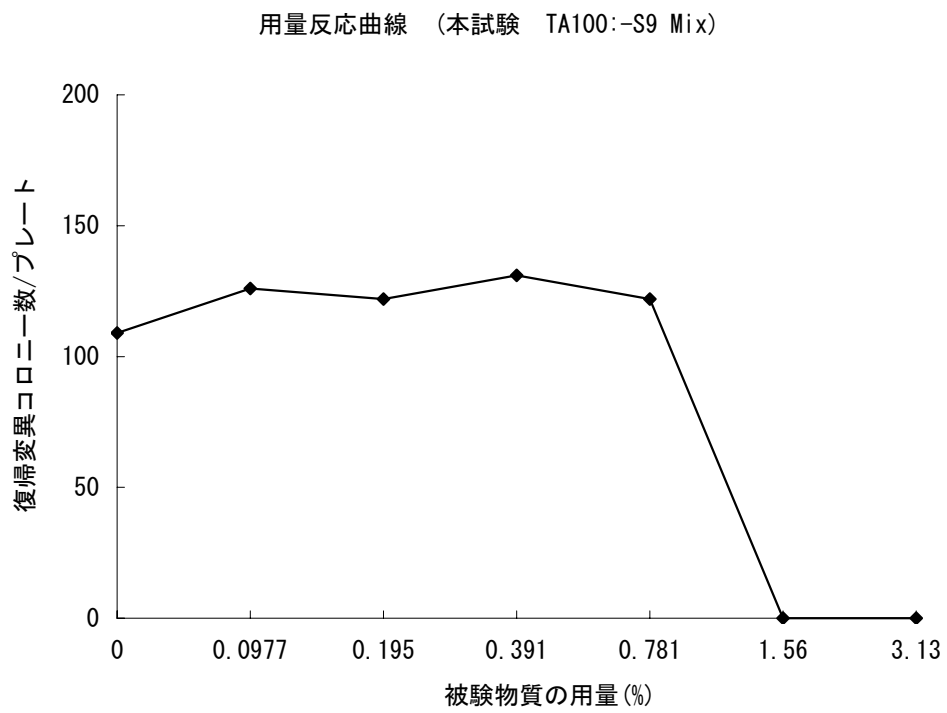


図 2

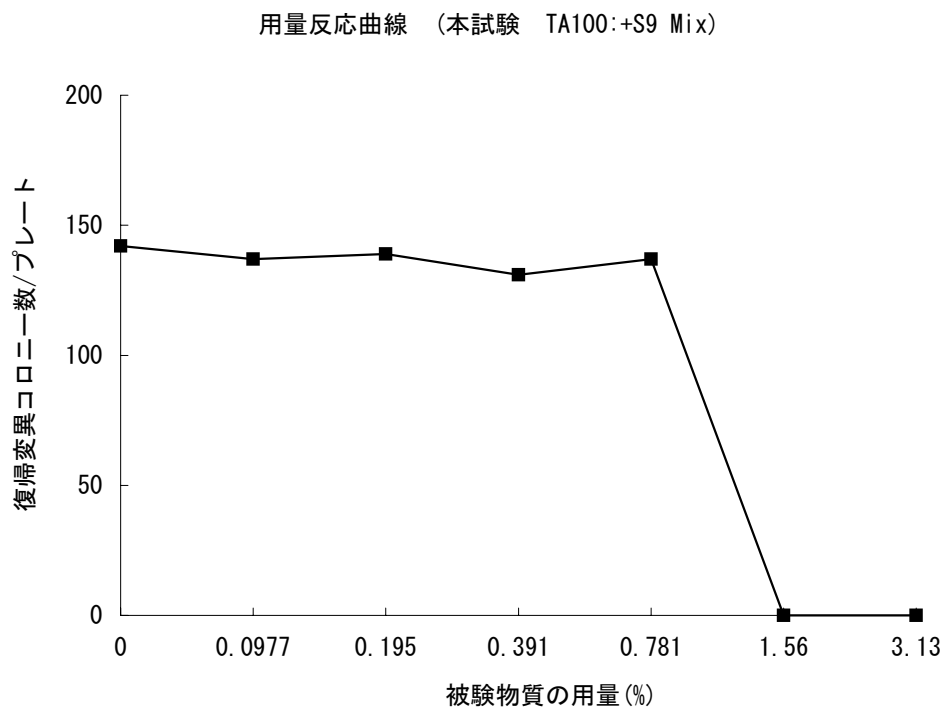


図 3

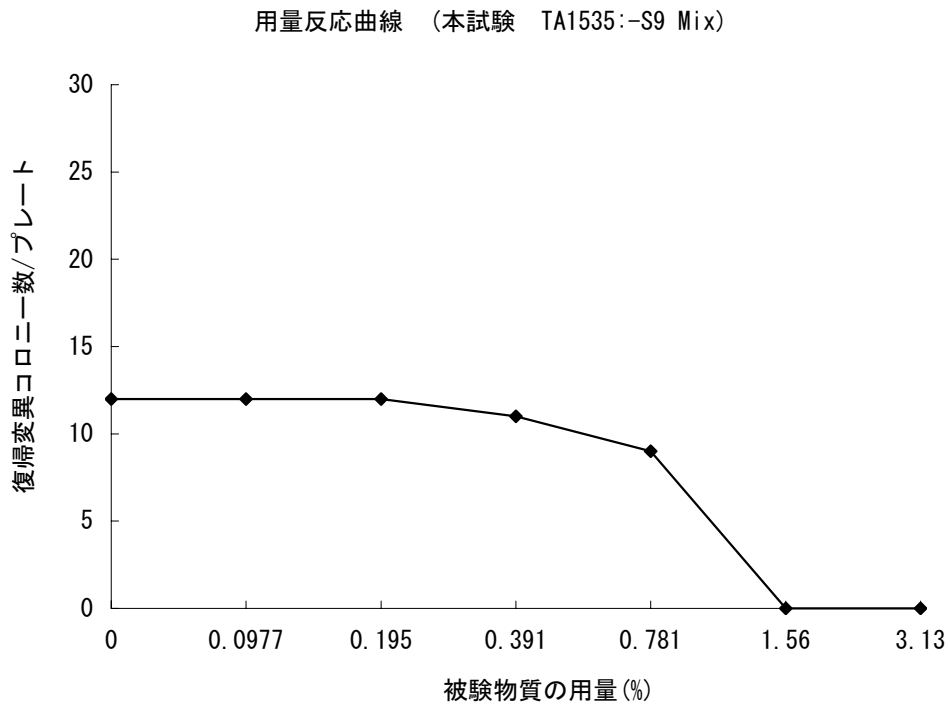


図 4

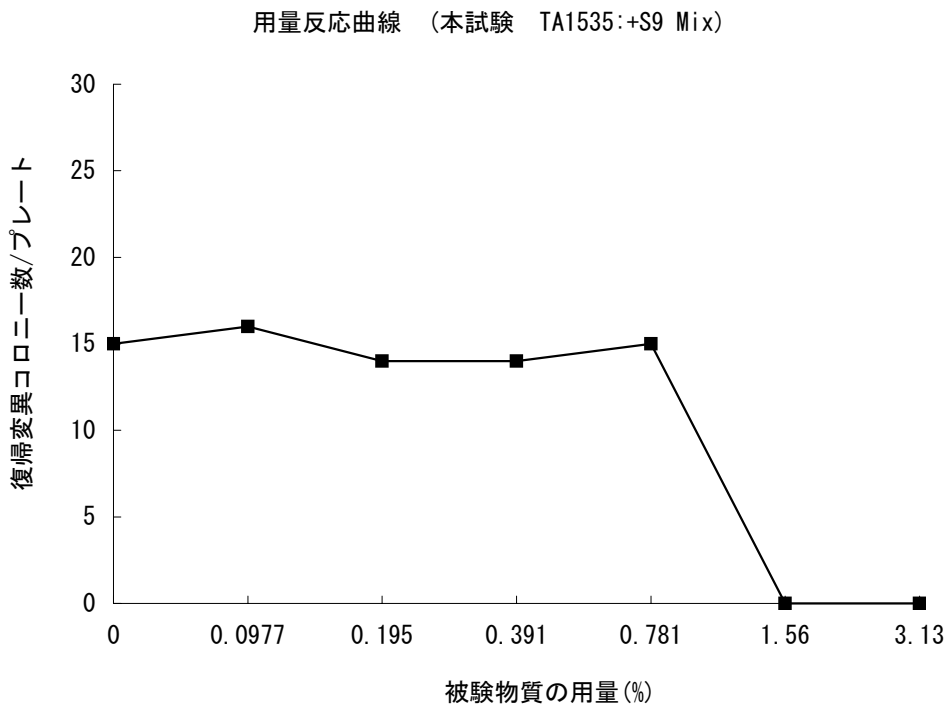


図 5

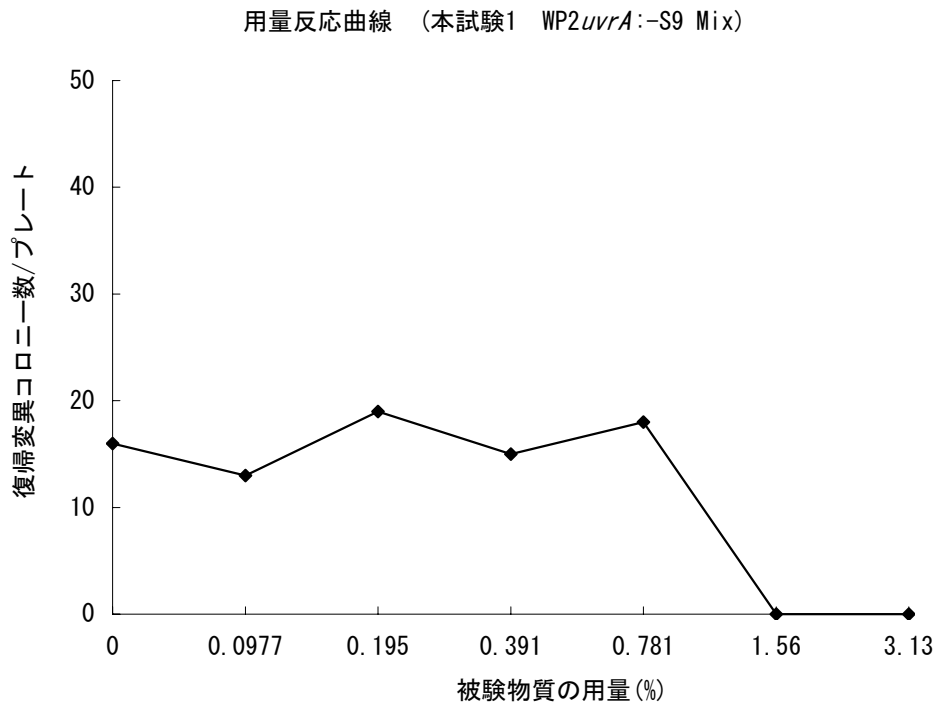


図 6

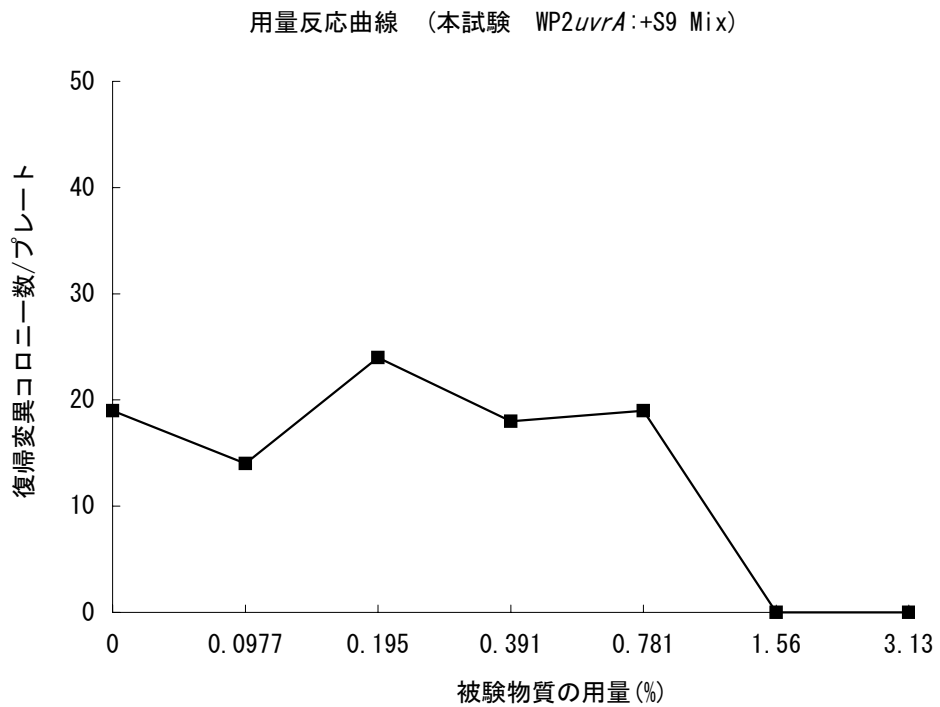


図 7

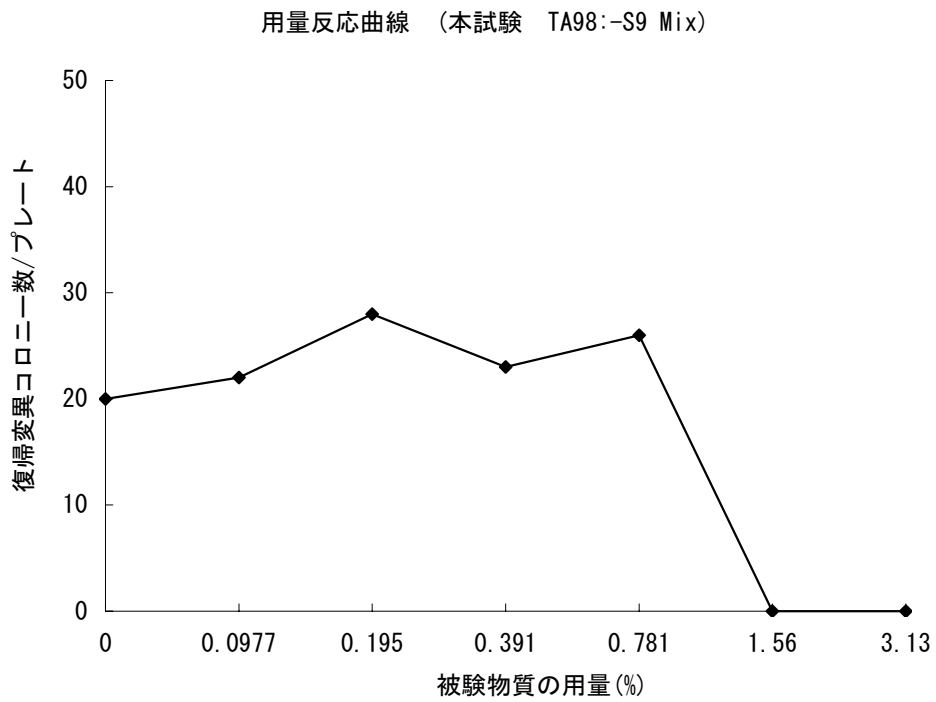


図 8

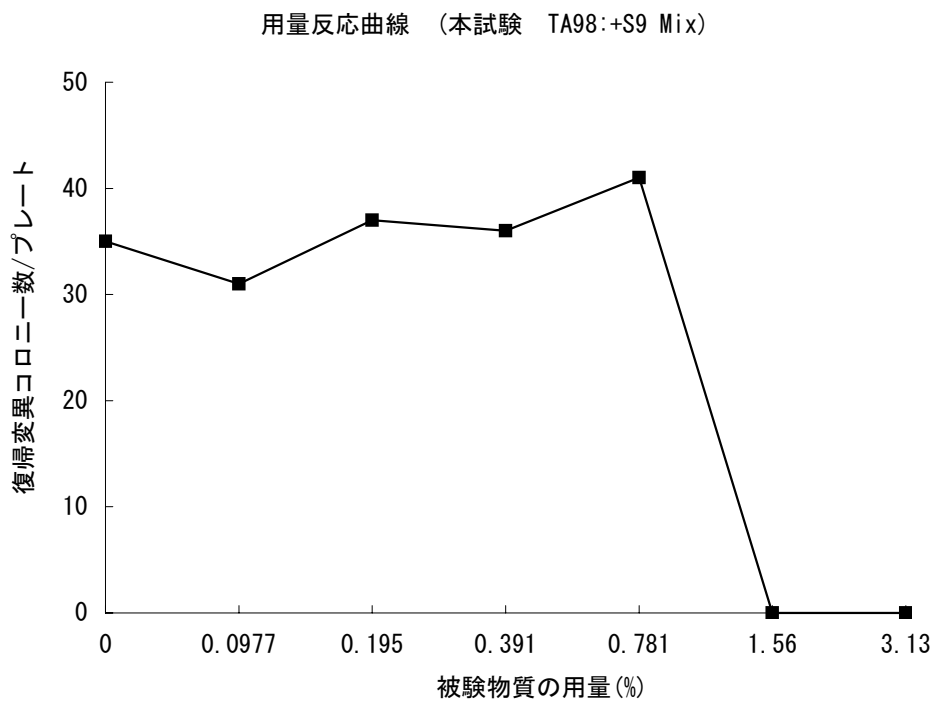


図 9

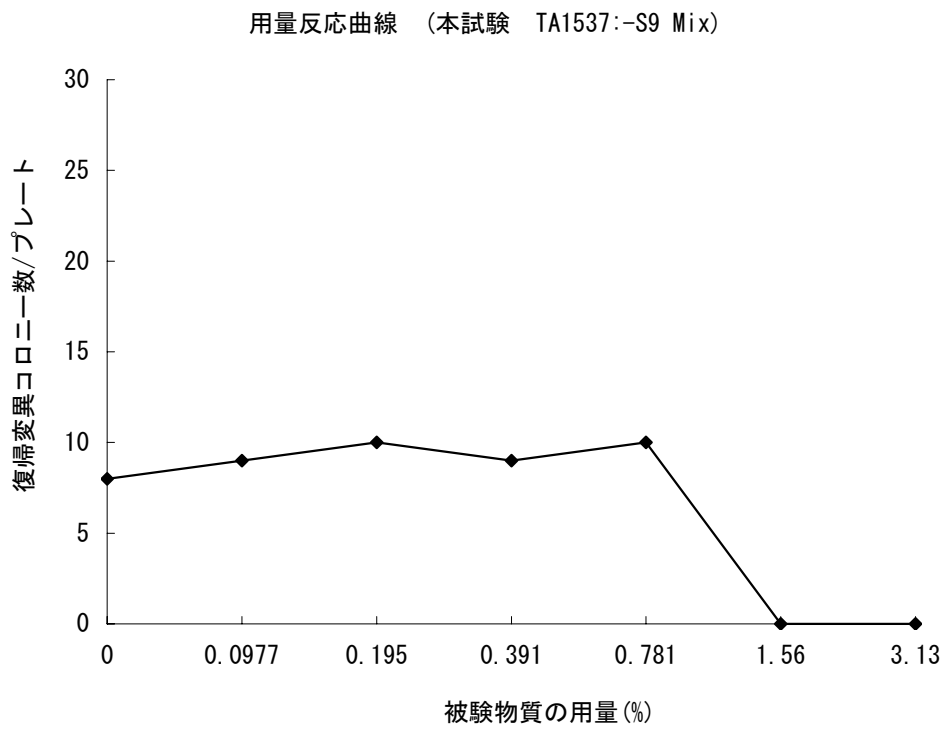


図 10

