

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)	トリプロピレングリコールモノメチルエーテル		
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	99.6%	試験に供した新規化 学物質の Lot No.	AWG0895
不純物の名称及び濃度	/		
CAS 番号	20324-33-8	蒸気圧	0.002 kPa (0.017 mmHg) (25°C)*
分子量	206.28	分配係数	-0.2*
融 点	-60°C (-76°F) *	常温における性状	液体
沸 点	241.3°C *		
安定性	適切な条件下においては安定。		
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、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
<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	2013年10月25日製造
購入の場合 Lot No.	RAA20131025
保存温度	-87.6~-78.8°C (保存期間：2013年12月3日~2014年2月25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	195-247 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て試験を実施した。				
被験物質溶液の性状	<input checked="" type="radio"/> 溶解 <input type="radio"/> 懸濁 <input type="radio"/> 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 <input checked="" type="radio"/> 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	5.43	6.41	8.83	6.71	4.78
	本試験	5.28	6.63	8.83	6.49	5.20
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11月29日製造
購入の場合の Lot No.	DZLEBT01
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)	49 時間
	時間 (本試験)	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 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トリプロピレングリコールモノメチルエーテルは、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すべての菌株において認められなかった。

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。

(別表1)

試験結果表(用量設定試験)

被験物質の名称: トリプロピレングリコールモノメチルエーテル

No. T-1468

試験実施期間		2014年2月4日 より 2014年2月7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	TA98	TA1537
S9Mix (-)	陰性対照(注射用水)	119 114 (117)	16 9 (13)	16 17 (17)	26 18 (22)	9 6 (8)
	1.22	113 113 (113)	14 7 (11)	18 12 (15)	22 14 (18)	9 4 (7)
	4.88	111 115 (113)	13 9 (11)	11 14 (13)	14 16 (15)	5 4 (5)
	19.5	97 103 (100)	8 12 (10)	12 13 (13)	22 24 (23)	5 6 (6)
	78.1	96 98 (97)	10 10 (10)	19 15 (17)	19 25 (22)	5 4 (5)
	313	110 116 (113)	10 10 (10)	13 12 (13)	29 28 (29)	5 5 (5)
	1250	99 99 (99)	11 5 (8)	15 19 (17)	13 15 (14)	5 4 (5)
	5000	135 119 (127)	5 6 (6)	18 15 (17)	16 20 (18)	4 6 (5)
	S9Mix (+)	陰性対照(注射用水)	110 125 (118)	18 10 (14)	18 13 (16)	31 31 (31)
1.22		118 122 (120)	6 12 (9)	13 20 (17)	25 34 (30)	6 15 (11)
4.88		123 117 (120)	19 15 (17)	20 15 (18)	33 23 (28)	4 6 (5)
19.5		129 126 (128)	13 15 (14)	21 15 (18)	43 32 (38)	8 14 (11)
78.1		117 118 (118)	8 15 (12)	12 19 (16)	34 38 (36)	5 9 (7)
313		128 105 (117)	6 8 (7)	15 12 (14)	34 39 (37)	8 4 (6)
1250		111 126 (119)	11 8 (10)	12 24 (18)	24 37 (31)	8 8 (8)
5000		150 132 (141)	8 10 (9)	13 12 (13)	36 39 (38)	8 7 (8)
陽性対照		S9Mixを必要とするもの	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
	コロニー数/プレート	606 577 (592)	250 276 (263)	61 71 (66)	359 323 (341)	1767 1817 (1792)
	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/プレート)	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
	コロニー数/プレート	1041 976 (1009)	296 264 (280)	875 1042 (959)	359 368 (364)	112 102 (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

()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：トリプロピレングリコールモノメチルエーテル

No. T-1468

試験実施期間		2014年2月24日 より 2014年2月27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	TA98	TA1537
S9Mix (-)	陰性対照 (注射用水)	102 103 (103)	8 12 (10)	17 23 (20)	26 25 (26)	8 7 (8)
	313	90 123 (107)	10 10 (10)	11 26 (19)	22 21 (22)	4 5 (5)
	625	90 93 (92)	7 11 (9)	13 11 (12)	19 24 (22)	4 8 (6)
	1250	106 105 (106)	7 11 (9)	10 19 (15)	18 24 (21)	5 3 (4)
	2500	102 129 (116)	6 11 (9)	11 16 (14)	20 16 (18)	5 8 (7)
	5000	132 123 (128)	13 6 (10)	16 18 (17)	23 30 (27)	7 5 (6)
	S9Mix (+)	陰性対照 (注射用水)	128 126 (127)	17 10 (14)	13 14 (14)	36 36 (36)
313		123 131 (127)	5 11 (8)	15 18 (17)	30 24 (27)	4 10 (7)
625		122 116 (119)	6 9 (8)	19 18 (19)	38 38 (38)	13 10 (12)
1250		117 103 (110)	5 5 (5)	13 15 (14)	28 34 (31)	5 5 (5)
2500		116 106 (111)	15 9 (12)	18 10 (14)	33 25 (29)	5 4 (5)
5000		106 137 (122)	7 6 (7)	19 15 (17)	36 31 (34)	8 7 (8)
陽性対照		名称	AF-2	SAZ	AF-2	AF-2
	用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
	コロニー数/プレート	610 617 (614)	255 265 (260)	50 77 (64)	441 471 (456)	1335 1375 (1355)
	名称	B[a]P	2AA	2AA	B[a]P	B[a]P
	用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
	コロニー数/プレート	934 908 (921)	269 287 (278)	771 967 (869)	397 448 (423)	105 109 (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

()内は、2枚のプレートの平均値を示す。

図 1

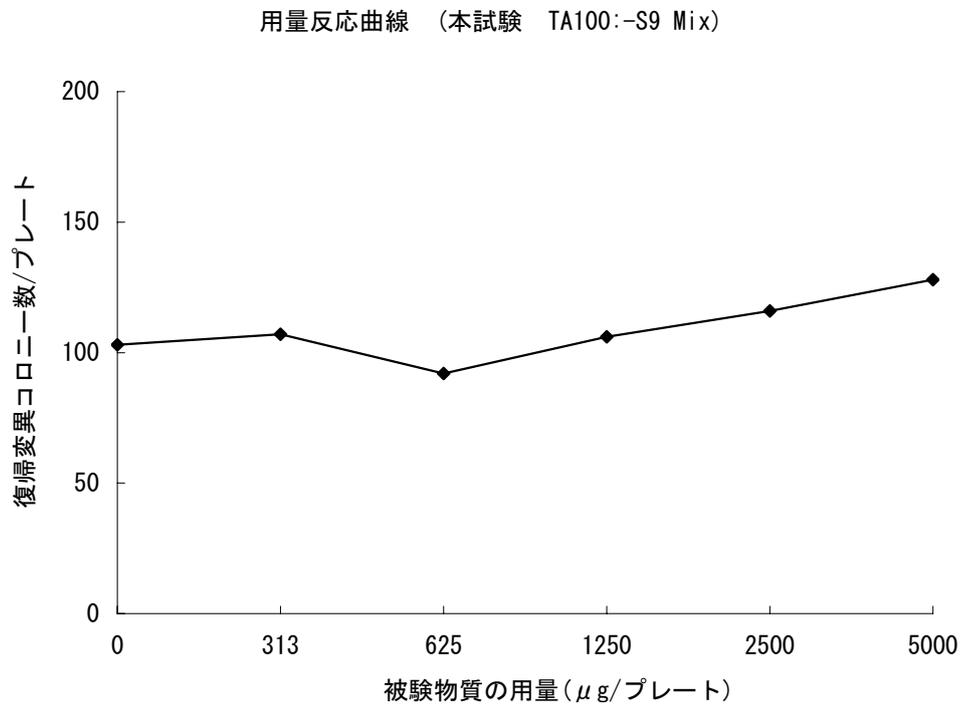


図 2

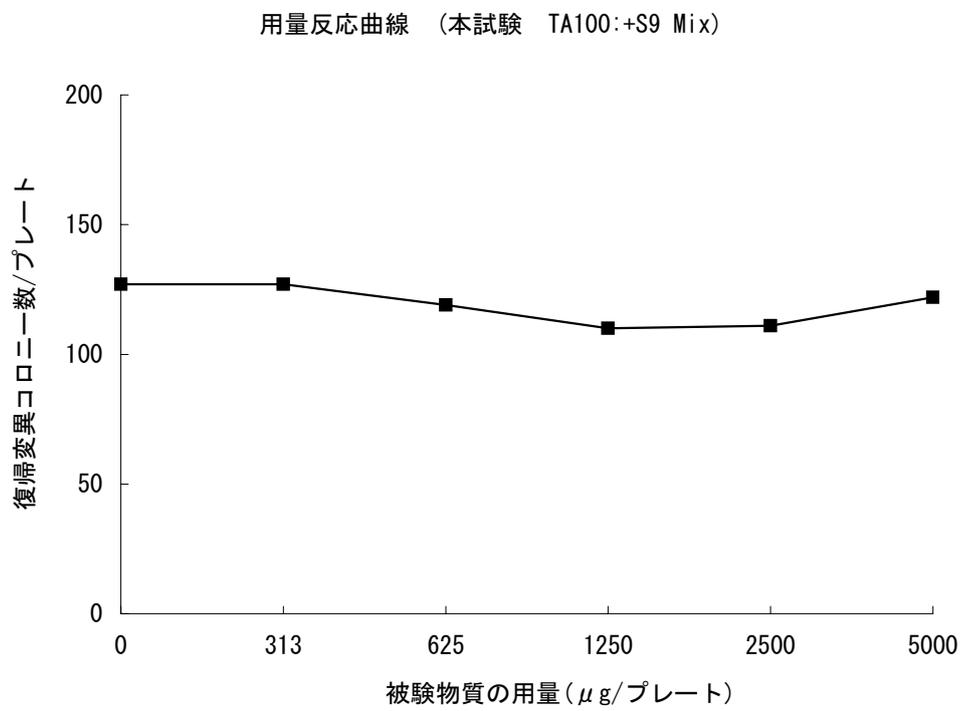


図 3

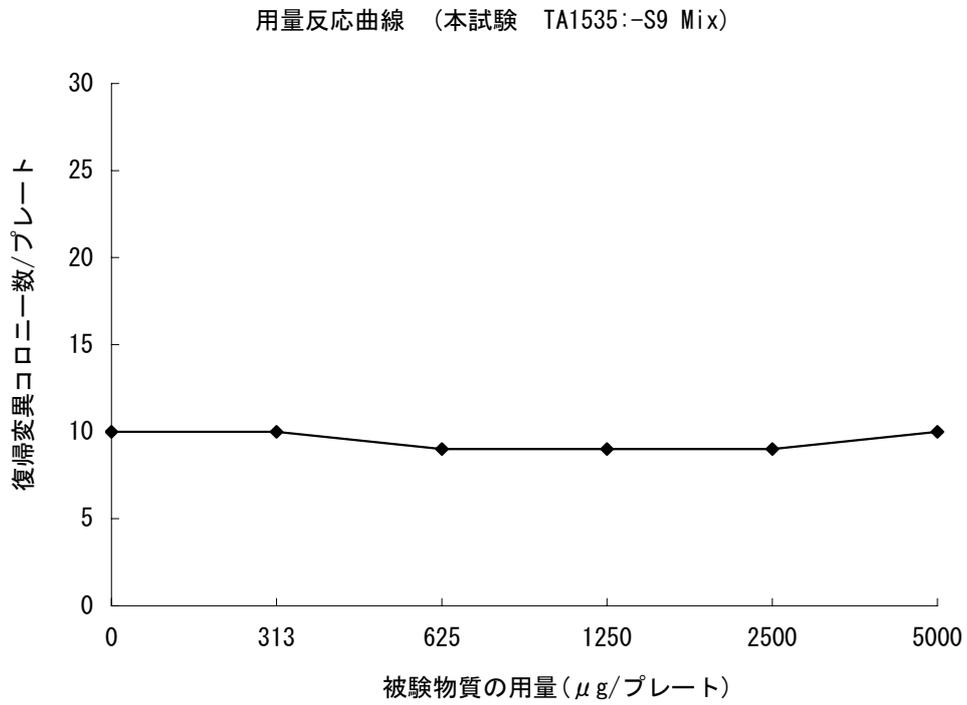


図 4

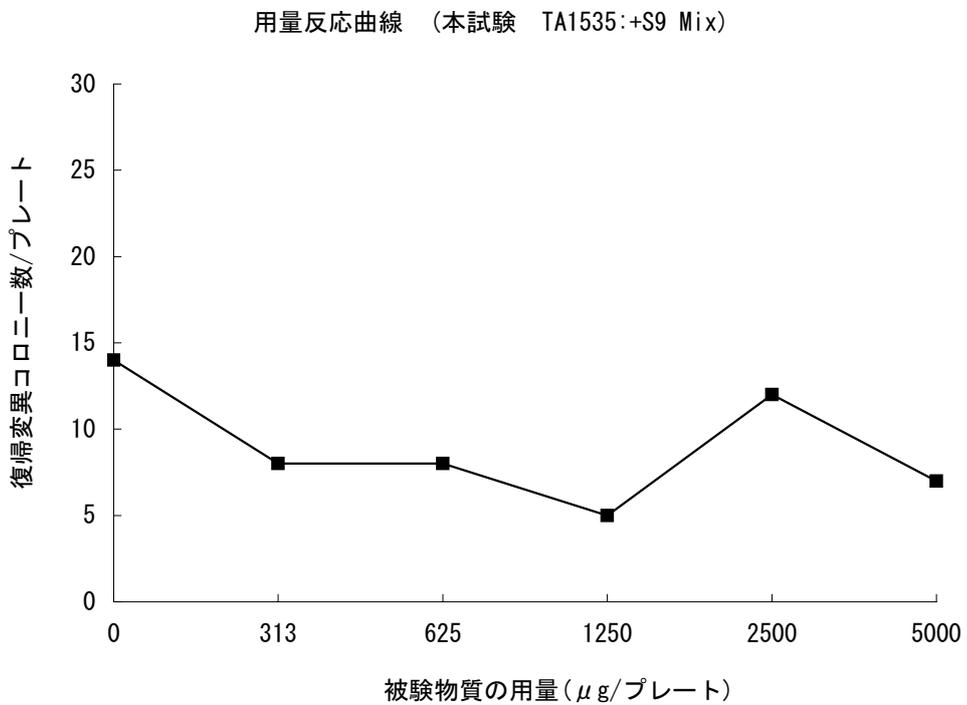


図 5

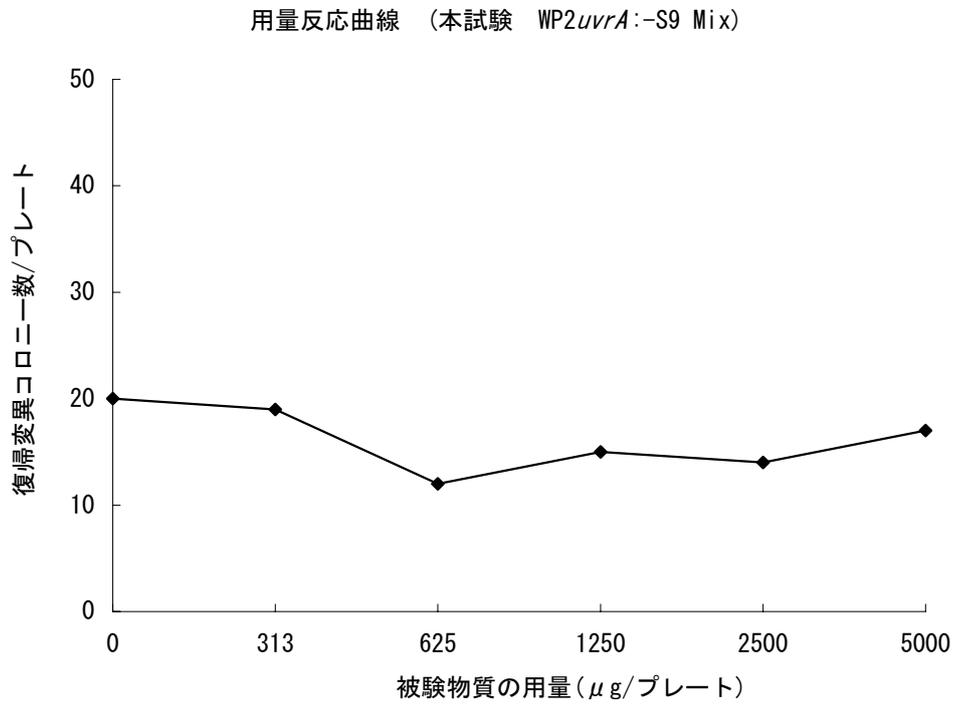


図 6

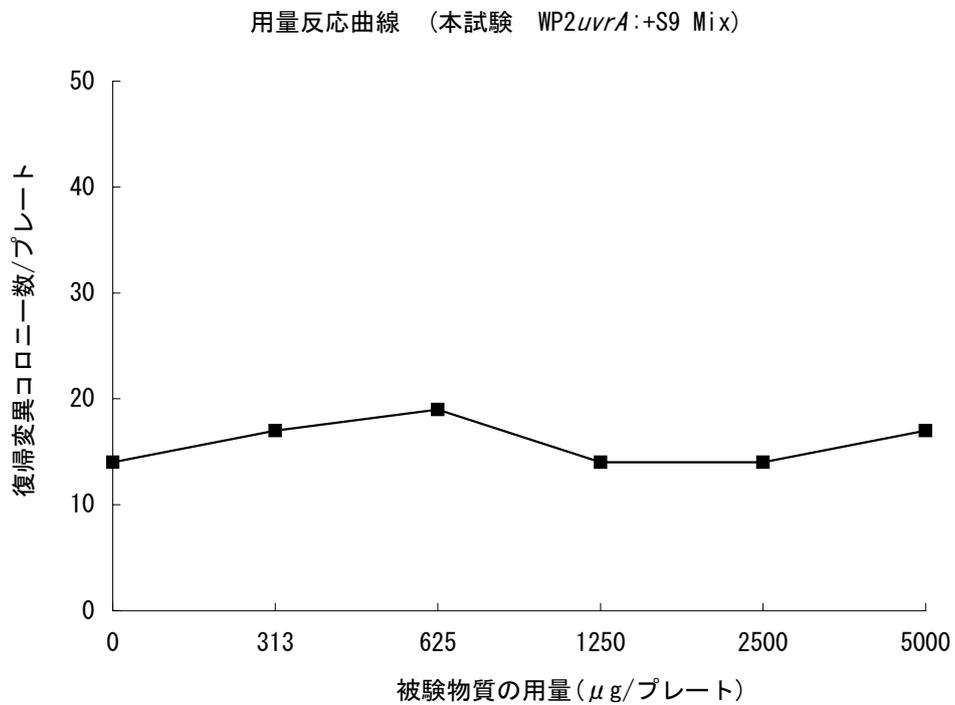


図 7

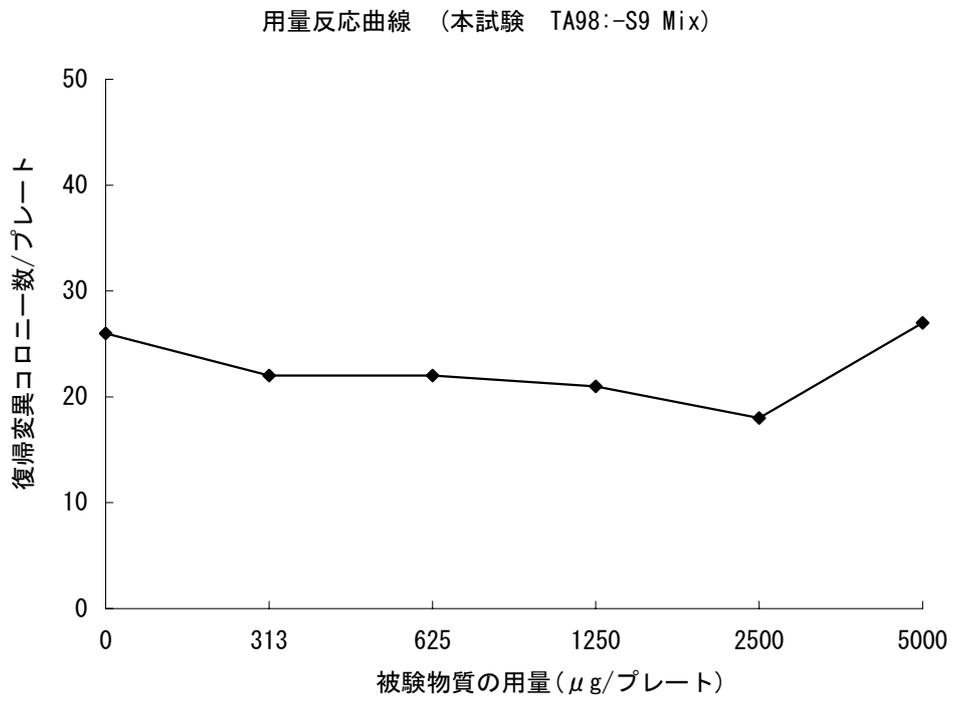


図 8

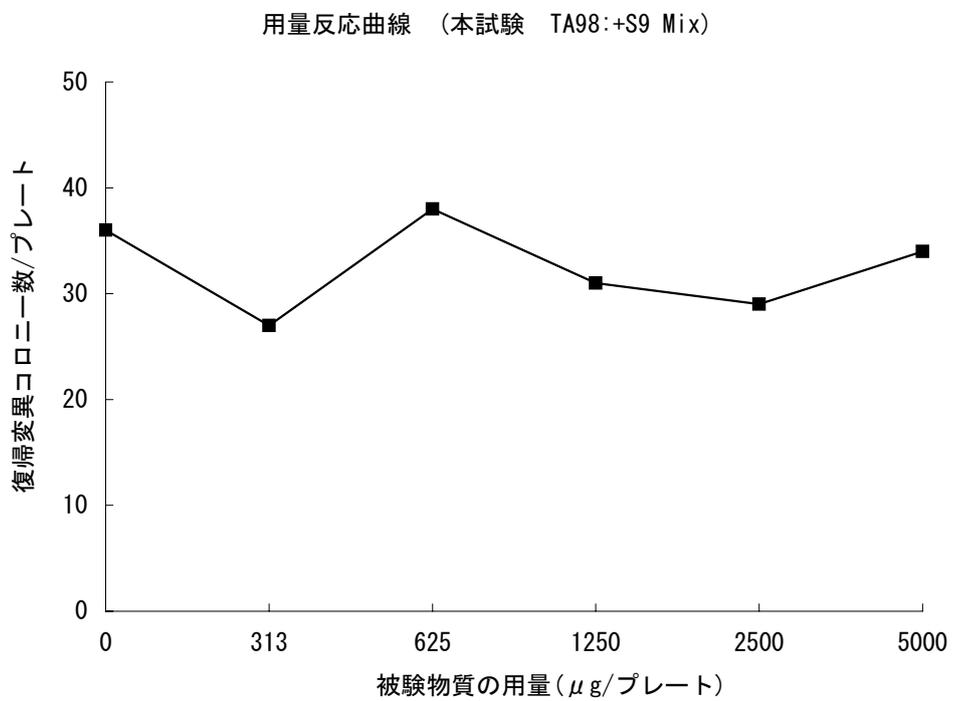


図 9

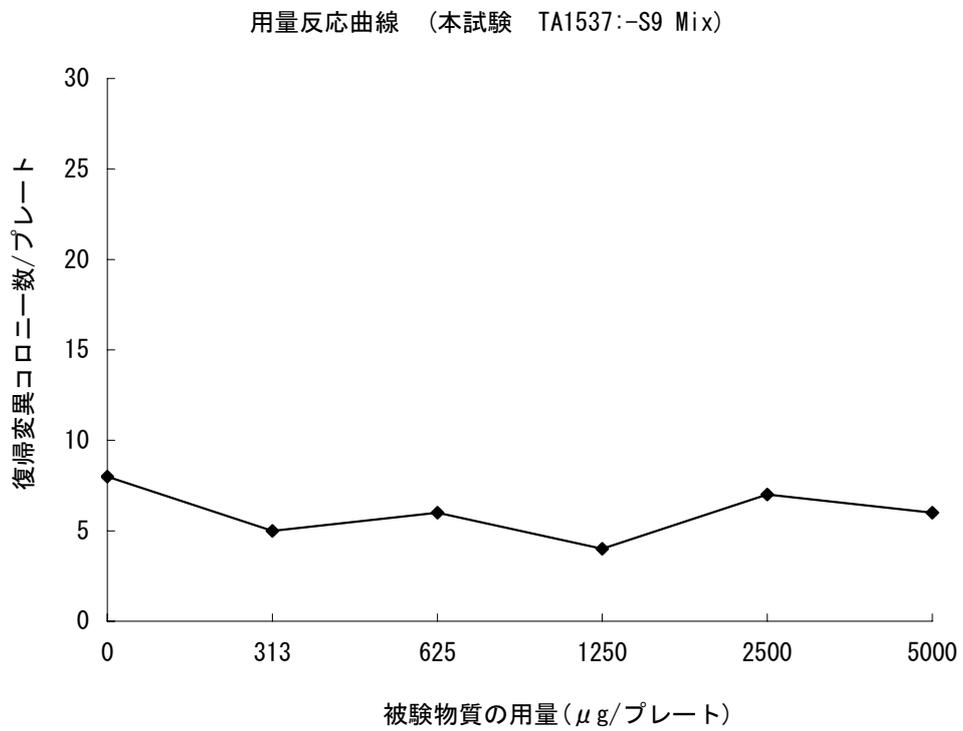


図 10

