

微生物を用いる変異原性試験結果報告書

1. 一般的な事項

| | | | |
|-----------------------------|--|-----------------------|--------------------|
| 新規化学物質の名称 (IUPAC 命名法による) | ドデカノイル=クロリド | | |
| 別 名 | Lauroyl Chloride | | |
| 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學物質の Lot No. | FWUAK |
| 不純物の名称及び濃度 | | | |
| CAS 番号 | 112-16-3 | 蒸気圧 | |
| 分子量 | 218.76 | 分配係数 | |
| 融 点 | -17°C* | 常温における性状 | 液体(比重:0.92) |
| 沸 点 | 145°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 | | 接触により分解し有毒なガスを発生する |
| | DMSO | 50 mg/mL で不溶 | 発熱、ガスの発生等の反応性なし |
| | アセトン | 100 mg/mL で溶解 | 時間の経過とともに赤色に変化 |
| | 1,4-ジオキサン | 100 mg/mL で溶解 | 発熱、ガスの発生等の反応性なし |

(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學物質総合情報システム（CHRIIP）の情報による。なお、溶解度及びDMSO、アセトン及び1,4-ジオキサン中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 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 | 2015年12月18日 |
| 購入の場合 Lot No. | RAA201512A |
| 保存温度 | -86.1~ -70.6°C (保存期間: 2016年1月21日~2016年3月8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 | 190~243 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 1,4-ジオキサン 製 造 元 和光純薬工業 株式会社 Lot No. ECJ2496 グレード JIS 規格 試薬特級 純度(%) 99.5%以上 |
| 溶媒選択の理由 | 本被験物質は、水との接触により分解し、有毒なガスを発生するため、DMSO、アセトンについて溶解性試験を実施した。その結果、DMSO の 50 mg/mL で溶解せず、アセトンに 100 mg/mL で溶解したため、アセトンを溶媒として調製した。しかし、アセトンは時間の経過とともに赤色に色調変化が見られたため、1,4-ジオキサンについて溶解性試験を追加した。その結果、100 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、1,4-ジオキサンを溶媒として試験を実施した。なお、被験液の調製には、モレキュラーシーブス 4A 1/16 (和光純薬工業株式会社 ; Lot No. HWL7297) で脱水した 1,4-ジオキサンを使用した。 |
| 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 Nutrient Broth No.2 | 製 造 元 OXOID LTD. | Lot No. 1239615 |
| 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 | 4.30 | 4.80 | 8.50 | 6.02 |
| | 本試験 | 4.16 | 4.80 | 8.46 | 5.92 |
| 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 | 2016年 2月9日製造 |
| 購入の場合のLot No. | DZLH2901 |
| 使用寒天の名称・製造・Lot No. | OXOID AGAR No.1・OXOID LTD.・Lot No. 1309432 |

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 | 0.05 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 | 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 |
| 判定の理由 | | |
| <p>用量設定試験の結果を別表 1 に、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ドデカノイル=クロリドは、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、1250 µg/plate 以上の用量で認められた。本被験物質によるプレート上の着色は、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。

菌に対する生育阻害は、代謝活性化の有無にかかわらず、すべての菌株の 625 µg/plate 以上の用量で認められた。

溶媒の選定にあたり、下記の文献を参照した。

Dorothy M. Maron, John Katzenellenbogen and Bruce N. Ames: COMPATIBILITY OF ORGANIC SOLVENTS WITH THE SALMONELLA/MICROSOME TEST, Mutation Res., 88, pp.343-350, 1981
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: ドデカノイル=クロリド

No. T-1996

| 試験実施期間 | | 2016年3月2日より2016年3月5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(1,4-ジオキサン) | 116 96 (106) | 9 10 (10) | 23 27 (25) | 16 19 (18) | 10 8 (9) |
| | 1.22 | 120 100 (110) | 12 13 (13) | 31 30 (31) | 12 11 (12) | 8 7 (8) |
| | 4.88 | 113 104 (109) | 10 9 (10) | 35 34 (35) | 18 17 (18) | 5 7 (6) |
| | 19.5 | 81 98 (90) | 11 8 (10) | 25 32 (29) | 15 21 (18) | 7 4 (6) |
| | 78.1 | 78 89 (84) | 4 5 (5) | 26 26 (26) | 14 11 (13) | 7 7 (7) |
| | 313 | 94 92 (93) | 5 10 (8) | 29 28 (29) | 14 15 (15) | 3 3 (3) |
| | 1250 # | 19 * 25 * (22) | 0 * 0 * (0) | 13 * 18 * (16) | 0 * 0 * (0) | 0 * 0 * (0) |
| | 5000 # | 0 * 0 * (0) | 0 * 0 * (0) | 0 * 0 * (0) | 0 * 0 * (0) | 0 * 0 * (0) |
| | 陰性対照(1,4-ジオキサン) | 128 129 (129) | 9 9 (9) | 28 33 (31) | 25 36 (31) | 9 13 (11) |
| | 1.22 | 144 129 (137) | 9 6 (8) | 33 30 (32) | 27 24 (26) | 10 7 (9) |
| S9Mix(+) | 4.88 | 121 127 (124) | 10 10 (10) | 37 34 (36) | 33 26 (30) | 13 8 (11) |
| | 19.5 | 138 123 (131) | 7 9 (8) | 40 41 (41) | 21 23 (22) | 6 6 (6) |
| | 78.1 | 124 92 (108) | 5 8 (7) | 38 37 (38) | 21 25 (23) | 10 11 (11) |
| | 313 | 113 131 (122) | 8 8 (8) | 40 37 (39) | 30 34 (32) | 8 9 (9) |
| | 1250 # | 80 * 97 * (89) | 4 * 3 * (4) | 39 * 32 * (36) | 6 * 11 * (9) | 2 * 2 * (2) |
| | 5000 # | 39 * 22 * (31) | 0 * 0 * (0) | 18 * 16 * (17) | 0 * 0 * (0) | 0 * 0 * (0) |
| | 名 称 | AF-2 | SAZ | AF-2 | AF-2 | ICR-191 |
| | 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 | 517 604 (561) | 248 233 (241) | 71 85 (78) | 410 369 (390) | 1422 1073 (1248) |
| | 名 称 | B[α]P | 2AA | 2AA | B[α]P | B[α]P |
| 陽性対照 | S9Mixを必要とするもの | 用 量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$) | 5.0 | 2.0 | 10.0 | 5.0 |
| | | コロニー数/プレート | 891 939 (915) | 289 310 (300) | 716 803 (760) | 340 377 (359) |
| | | | | | | 117 106 (112) |

(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[α]P : ベンゾ[α]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: ドデカノイル=クロリド

No. T-1996

| 試験実施期間 | | 2016年3月7日より2016年3月10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(1,4-ジオキサン) | 95 102 (99) | 9 8 (9) | 28 28 (28) | 15 14 (15) | 7 11 (9) |
| | 39.1 | 89 90 (90) | 5 3 (4) | 34 28 (31) | 12 11 (12) | 5 5 (5) |
| | 78.1 | 102 89 (96) | 4 2 (3) | 27 29 (28) | 13 15 (14) | 4 4 (4) |
| | 156 | 84 92 (88) | 3 2 (3) | 24 24 (24) | 12 11 (12) | 3 2 (3) |
| | 313 | 90 88 (89) | 4 3 (4) | 16 15 (16) | 10 12 (11) | 3 2 (3) |
| | 625 | 70* 80* (75) | 2* | 10* 10* (10) | 10* 8* (9) | 2* 2* (2) |
| | 1250# | 42* 44* (43) | 2* | 8* 7* (8) | 5* 6* (6) | 1* 1* (1) |
| | 陰性対照(1,4-ジオキサン) | 122 131 (127) | 9 8 (9) | 23 35 (29) | 30 20 (25) | 10 7 (9) |
| | 39.1 | 122 115 (119) | 9 5 (7) | 27 36 (32) | 30 32 (31) | 8 6 (7) |
| | 78.1 | 110 94 (102) | 5 3 (4) | 26 31 (29) | 24 19 (22) | 5 4 (5) |
| S9Mix(+) | 156 | 90 86 (88) | 4 3 (4) | 26 29 (28) | 16 15 (16) | 4 3 (4) |
| | 313 | 92 88 (90) | 4 5 (5) | 19 18 (19) | 12 12 (12) | 2 5 (4) |
| | 625 | 54* 44* (49) | 2* | 14* 11* (13) | 10* 12* (11) | 4* 2* (3) |
| | 1250# | 42* 36* (39) | 2* | 10* 11* (11) | 8* 6* (7) | 2* 1* (2) |
| | 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 | 556 502 (529) | 252 225 (239) | 70 66 (68) | 444 400 (422) | 1020 1111 (1066) |
| 陽性対照 | S9Mixを必要とするもの | 名 称 | B[α]P | 2AA | 2AA | B[α]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 |
| | S9Mixを必要とするもの | コロニー数/プレート | 1000 985 (993) | 206 211 (209) | 556 560 (558) | 402 422 (412) |

(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[α]P : ベンゾ[α]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

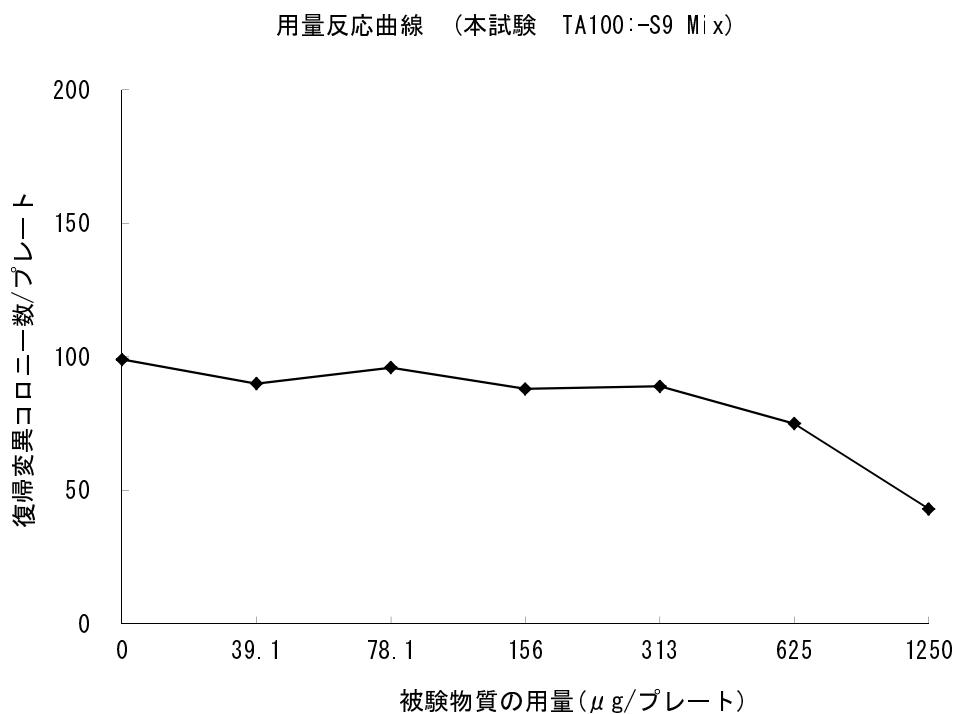


図 2

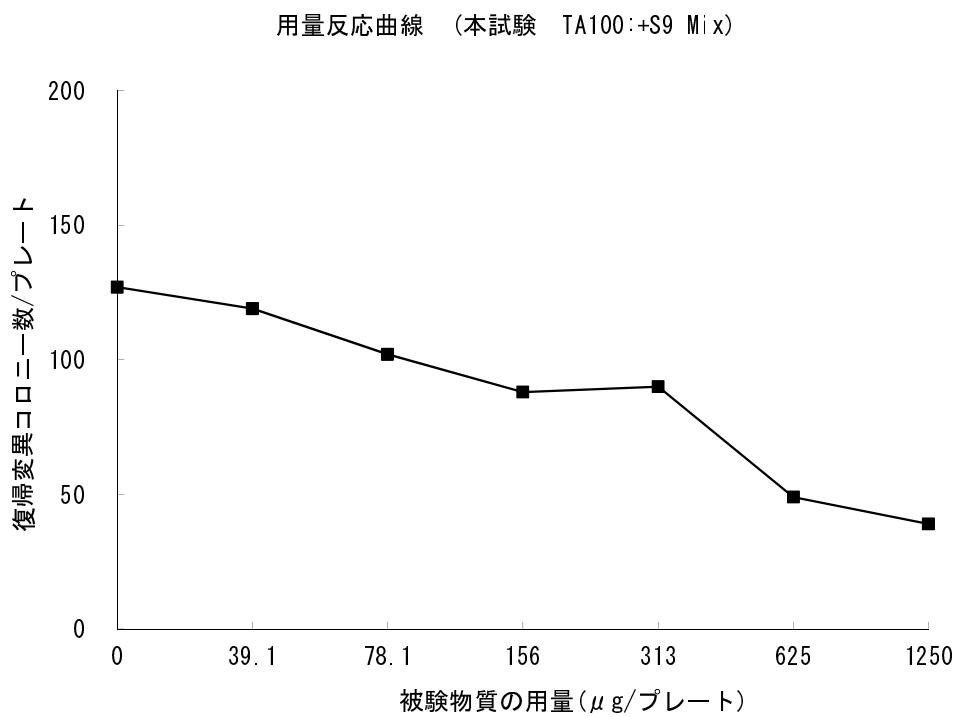


図 3

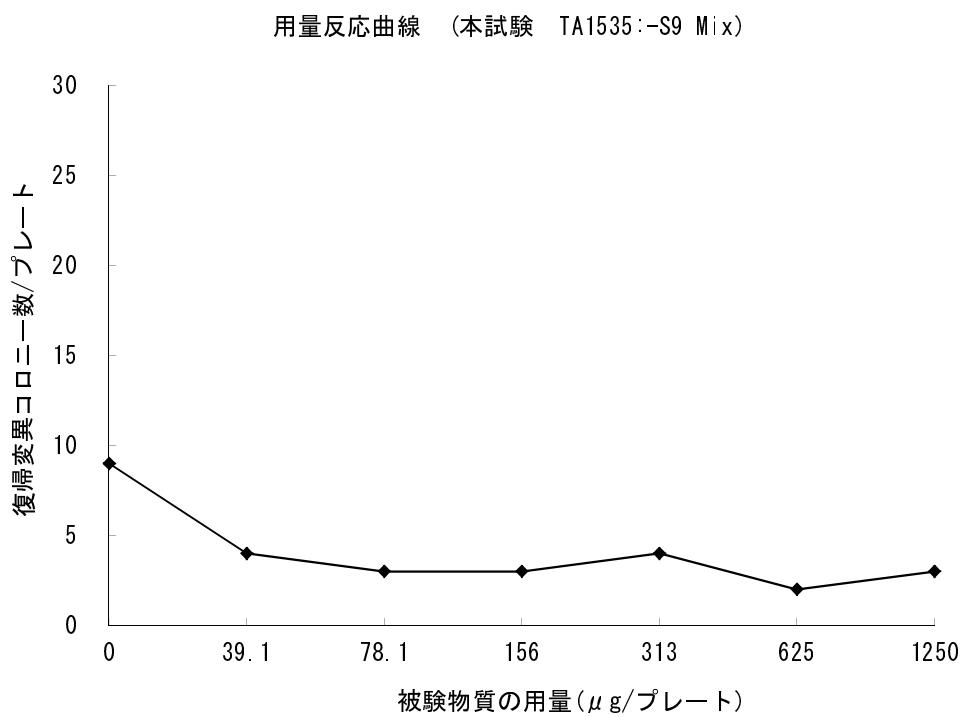


図 4

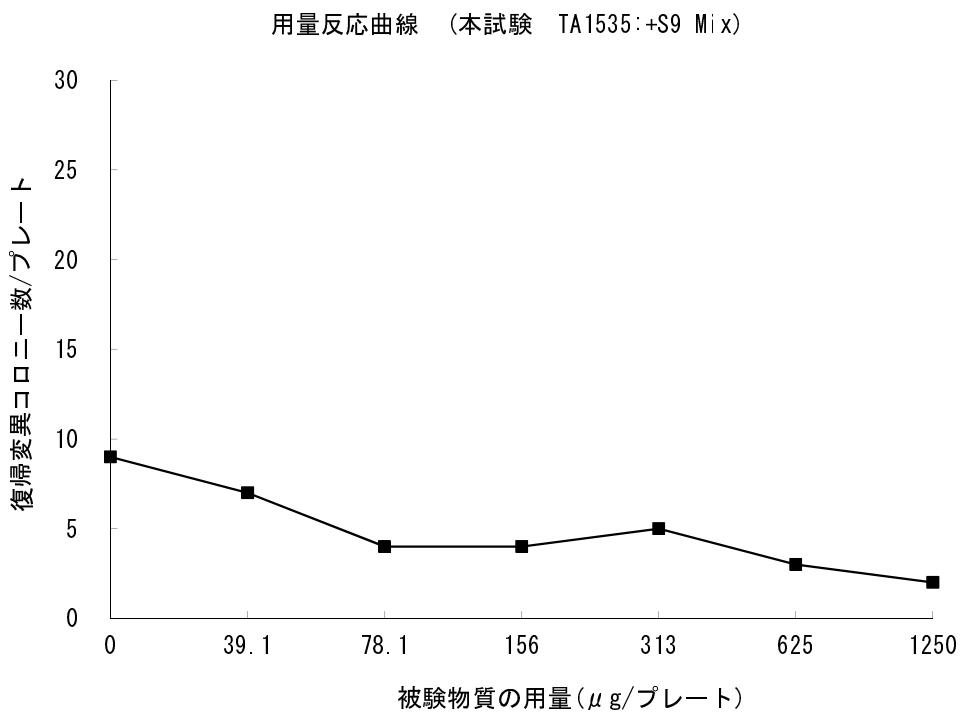


図 5

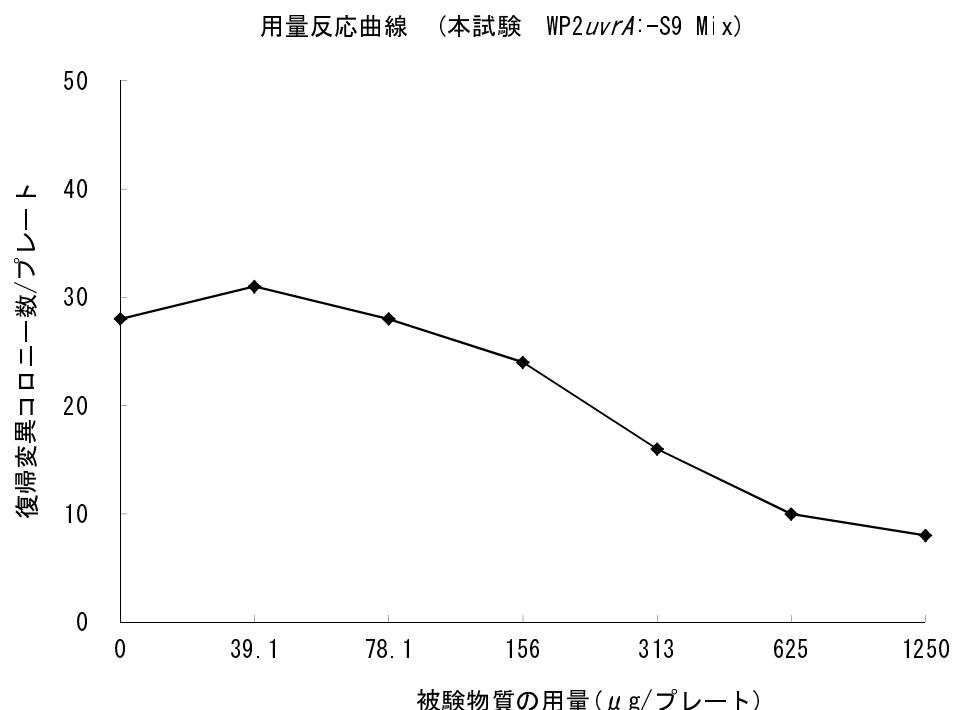


図 6

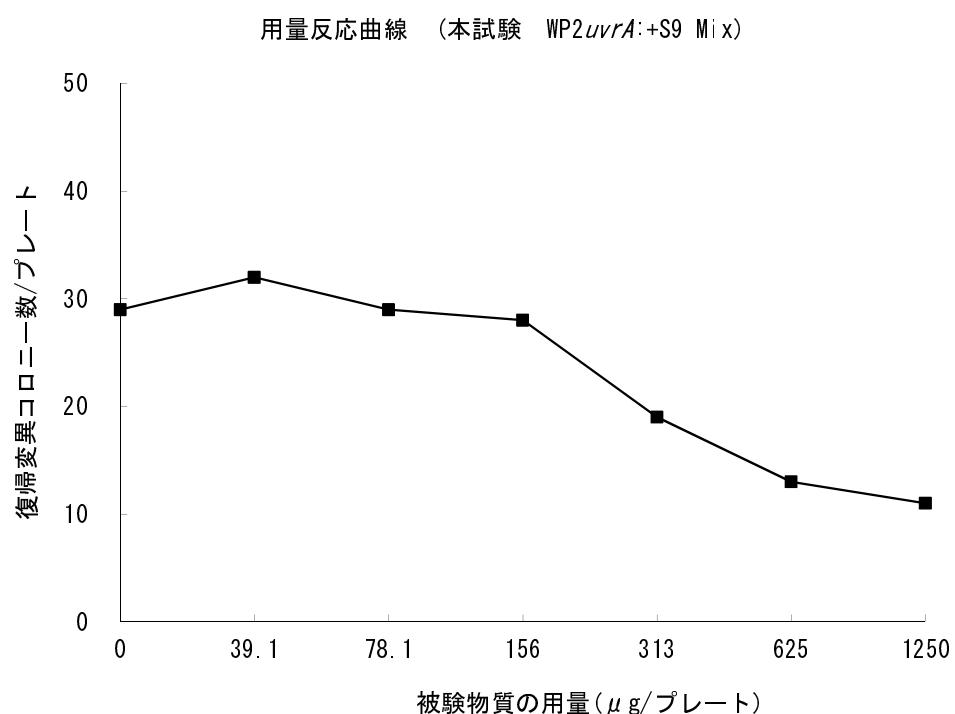


図 7

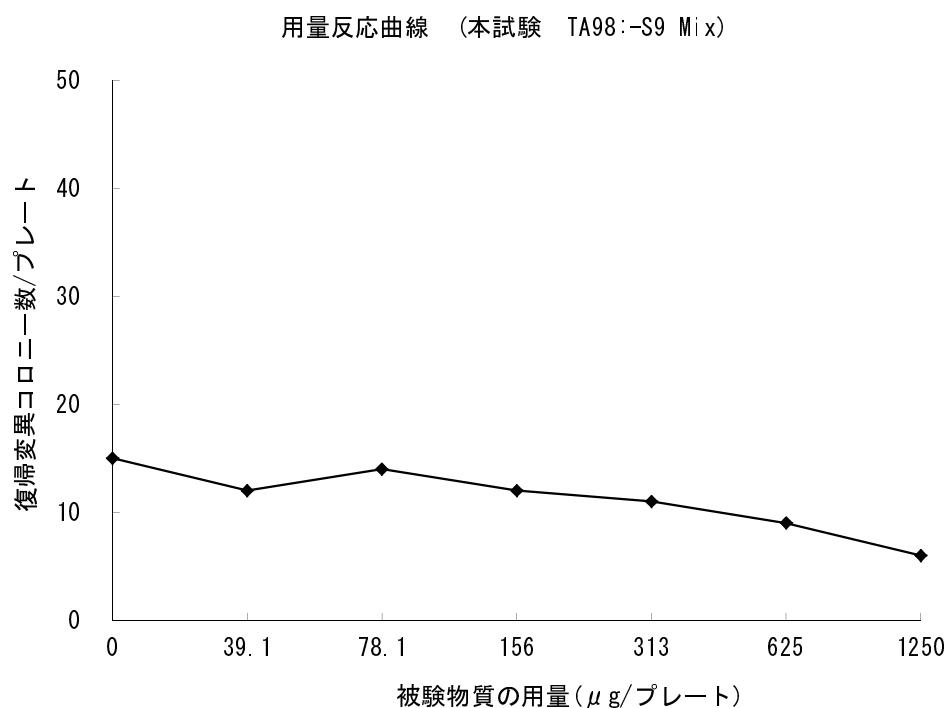


図 8

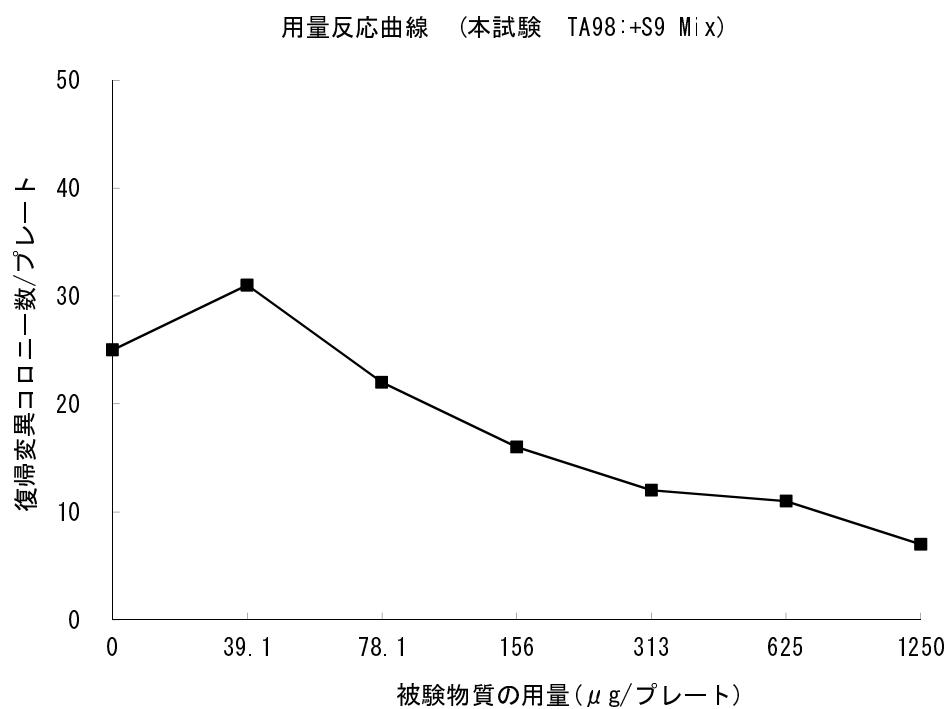


図 9

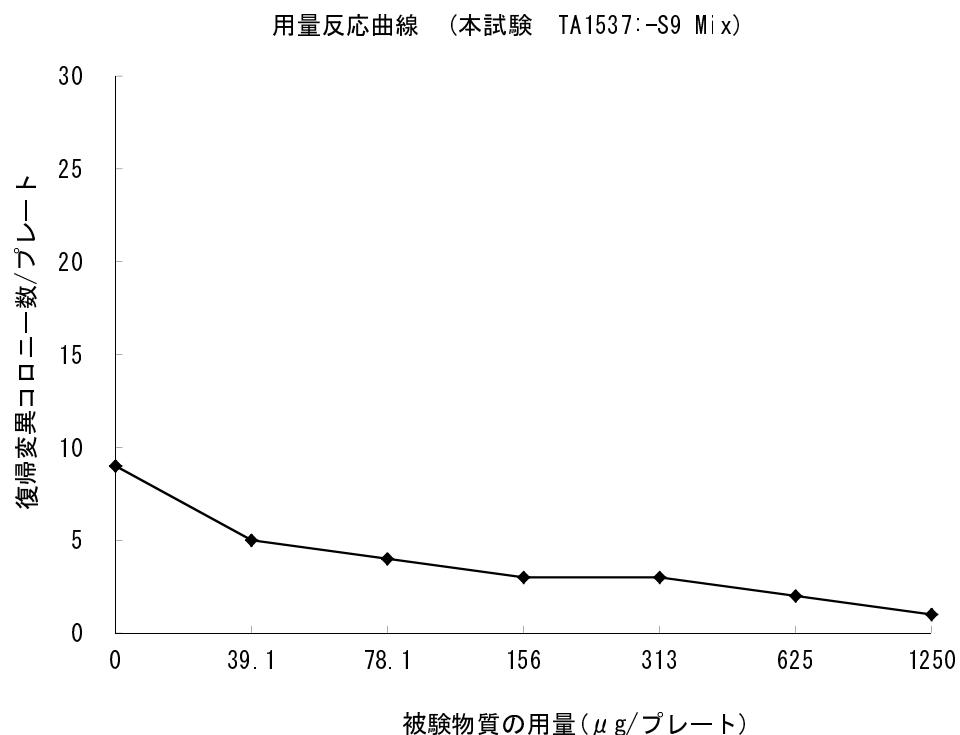


図 10

