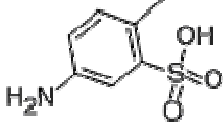


## 微生物を用いる変異原性試験結果報告書

### 1. 一般的事項

新規化学物質の名称 (IUPAC 命名法による)	アミノトルエンスルホン酸		
別 名	5-アミノ-2-メチルベンゼン-1-スルホン酸		
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	90.4%	試験に供した新規化学物質の Lot No.	AWM0225
不純物の名称及び濃度	/		
CAS 番号	118-88-7	蒸気圧	/
分子量	187.22	分配係数	/
融 点	常温における性状		結晶又は結晶性粉末
沸 点			
安定性	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 で不溶	発熱、ガスの発生等の反応性なし
	DMSO	50 mg/mL で溶解	発熱、ガスの発生等の反応性なし
	アセトン	/	
	その他	/	

(備考) 上記被験物質情報は、製造元からの情報による。なお、溶解度及び溶媒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度試験の結果である。

## 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	2015年12月18日 製造
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9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 <sub>2</sub>	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(%)
	DMSO	和光純薬工業株式会社	ECH3050	JIS規格 試薬特級	99.0%以上
溶媒選択の理由	水、DMSOについて溶解性試験を実施した。その結果、水に50 mg/mLで溶解せず、DMSOに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DMSO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DMSOを使用した。				
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	<input checked="" type="radio"/> 有 <input 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.	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 <sup>9</sup> /mL)	用量設定試験	4.30	4.80	8.50	6.02	3.70
	本試験	4.37	4.80	8.52	5.69	3.70
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	0.1 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 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 <b>Attached Data</b> 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アミノトルエンスルホン酸は、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

<p>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。</p> <p>菌に対する生育阻害は、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。</p>
---

(別表1)

## 試験結果表 (用量設定試験)

被験物質の名称: アミノトルエンスルホン酸

No. T-1999

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 (DMSO)	119 122 ( 121 )	7 15 ( 11 )	26 24 ( 25 )	18 11 ( 15 )	8 5 ( 7 )
	1.22	120 108 ( 114 )	12 5 ( 9 )	21 27 ( 24 )	16 13 ( 15 )	8 13 ( 11 )
	4.88	123 127 ( 125 )	12 13 ( 13 )	30 36 ( 33 )	18 18 ( 18 )	7 11 ( 9 )
	19.5	127 128 ( 128 )	8 12 ( 10 )	27 35 ( 31 )	11 17 ( 14 )	10 11 ( 11 )
	78.1	129 124 ( 127 )	5 7 ( 6 )	28 38 ( 33 )	22 13 ( 18 )	7 4 ( 6 )
	313	107 125 ( 116 )	14 10 ( 12 )	38 39 ( 39 )	20 13 ( 17 )	5 7 ( 6 )
	1250	128 111 ( 120 )	10 8 ( 9 )	23 33 ( 28 )	15 19 ( 17 )	10 10 ( 10 )
	5000	108 97 ( 103 )	11 14 ( 13 )	34 36 ( 35 )	10 21 ( 16 )	10 7 ( 9 )
	S9Mix (+)	陰性対照 (DMSO)	116 106 ( 111 )	13 10 ( 12 )	35 23 ( 29 )	30 38 ( 34 )
1.22		112 148 ( 130 )	7 13 ( 10 )	26 23 ( 25 )	37 30 ( 34 )	15 6 ( 11 )
4.88		140 140 ( 140 )	14 13 ( 14 )	24 31 ( 28 )	30 31 ( 31 )	11 10 ( 11 )
19.5		148 129 ( 139 )	17 10 ( 14 )	31 27 ( 29 )	36 38 ( 37 )	13 11 ( 12 )
78.1		124 123 ( 124 )	14 12 ( 13 )	31 28 ( 30 )	35 24 ( 30 )	7 8 ( 8 )
313		114 123 ( 119 )	13 15 ( 14 )	21 25 ( 23 )	26 25 ( 26 )	10 5 ( 8 )
1250		141 134 ( 138 )	11 8 ( 10 )	28 30 ( 29 )	28 25 ( 27 )	9 7 ( 8 )
5000		140 100 ( 120 )	13 16 ( 15 )	32 26 ( 29 )	26 23 ( 25 )	10 5 ( 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-数/プレート	585 517 ( 551 )	215 250 ( 233 )	67 69 ( 68 )	396 339 ( 368 )	1410 1091 ( 1251 )
	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-数/プレート	1047 814 ( 931 )	319 281 ( 300 )	606 629 ( 618 )	422 330 ( 376 )	93 103 ( 98 )

(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： アミノトルエンスルホン酸

No. T-1999

試験実施期間		2016年3月8日 より 2016年3月11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	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
S9Mix (-)	陰性対照 (DMSO)	124 140 ( 132 )	14 7 ( 11 )	28 24 ( 26 )	21 20 ( 21 )	8 4 ( 6 )
	313	127 97 ( 112 )	8 13 ( 11 )	24 23 ( 24 )	15 19 ( 17 )	7 4 ( 6 )
	625	128 132 ( 130 )	15 10 ( 13 )	26 28 ( 27 )	19 23 ( 21 )	11 5 ( 8 )
	1250	117 105 ( 111 )	11 11 ( 11 )	35 31 ( 33 )	13 16 ( 15 )	4 4 ( 4 )
	2500	166 120 ( 143 )	13 14 ( 14 )	19 24 ( 22 )	15 20 ( 18 )	4 3 ( 4 )
	5000	131 149 ( 140 )	12 16 ( 14 )	30 27 ( 29 )	15 16 ( 16 )	7 5 ( 6 )
	S9Mix (+)	陰性対照 (DMSO)	147 148 ( 148 )	11 11 ( 11 )	33 31 ( 32 )	34 29 ( 32 )
313		146 140 ( 143 )	7 7 ( 7 )	33 30 ( 32 )	36 31 ( 34 )	5 11 ( 8 )
625		122 156 ( 139 )	8 7 ( 8 )	23 25 ( 24 )	33 22 ( 28 )	8 9 ( 9 )
1250		120 145 ( 133 )	16 11 ( 14 )	32 27 ( 30 )	27 30 ( 29 )	7 8 ( 8 )
2500		134 167 ( 151 )	15 7 ( 11 )	31 24 ( 28 )	31 34 ( 33 )	5 10 ( 8 )
5000		160 149 ( 155 )	11 13 ( 12 )	26 29 ( 28 )	26 30 ( 28 )	4 7 ( 6 )
陽性対照		名称	AF-2	SAZ	AF-2	AF-2
	S9Mixを必要としないもの 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	620 540 ( 580 )	262 244 ( 253 )	77 62 ( 70 )	330 287 ( 309 )	1031 1298 ( 1165 )
	名称	B[a]P	2AA	2AA	B[a]P	B[a]P
	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	5.0
	コロニー数/プレート	937 892 ( 915 )	240 281 ( 261 )	506 633 ( 570 )	425 332 ( 379 )	126 103 ( 115 )

(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

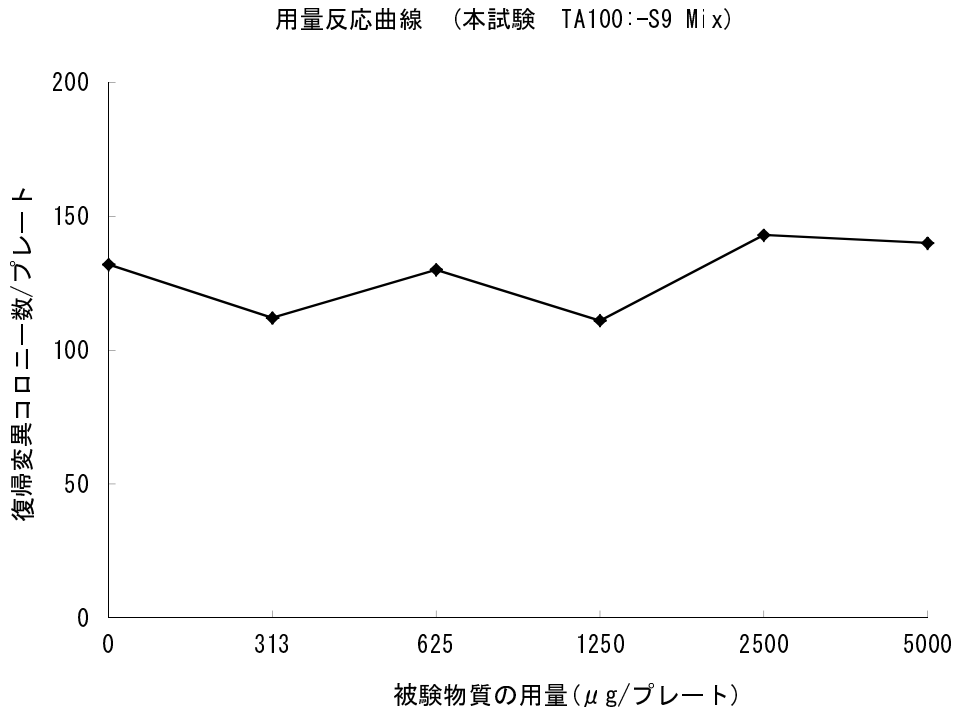


図 2

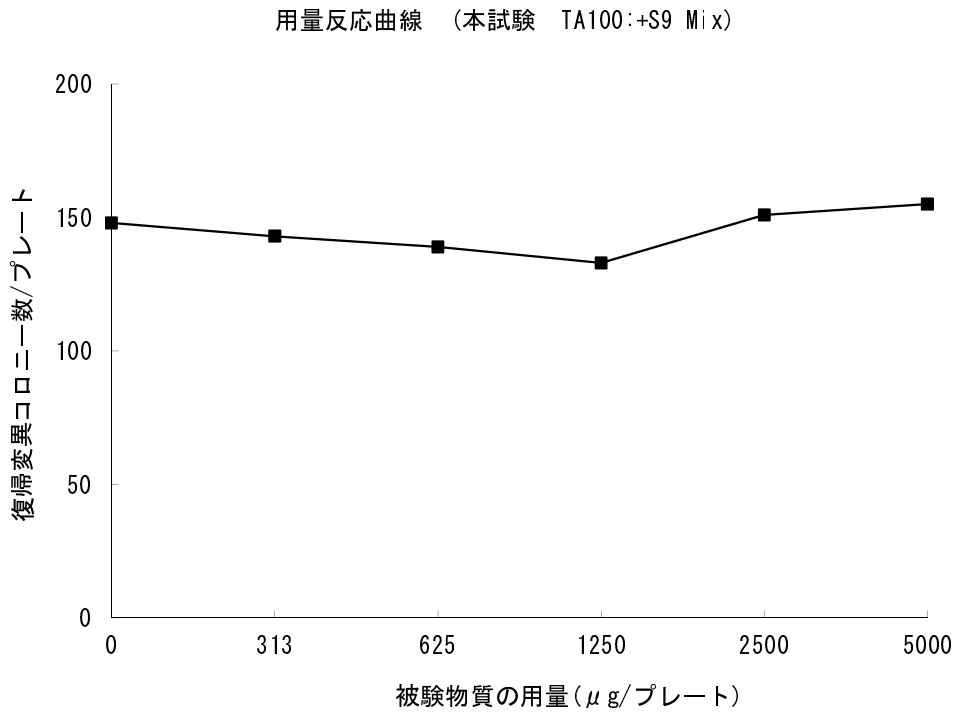




図 3

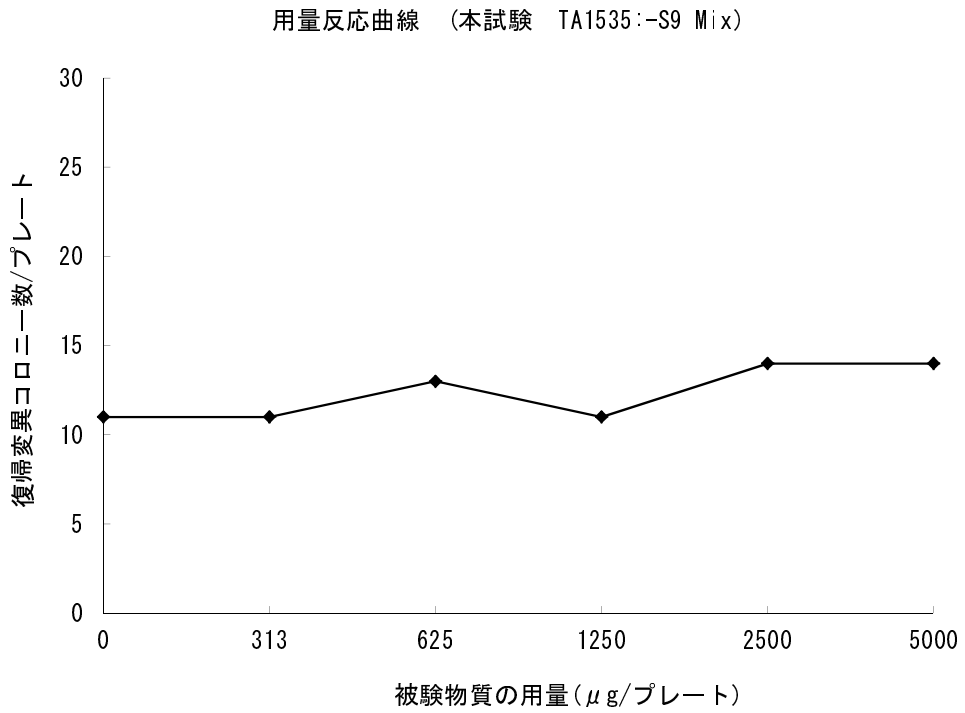


図 4

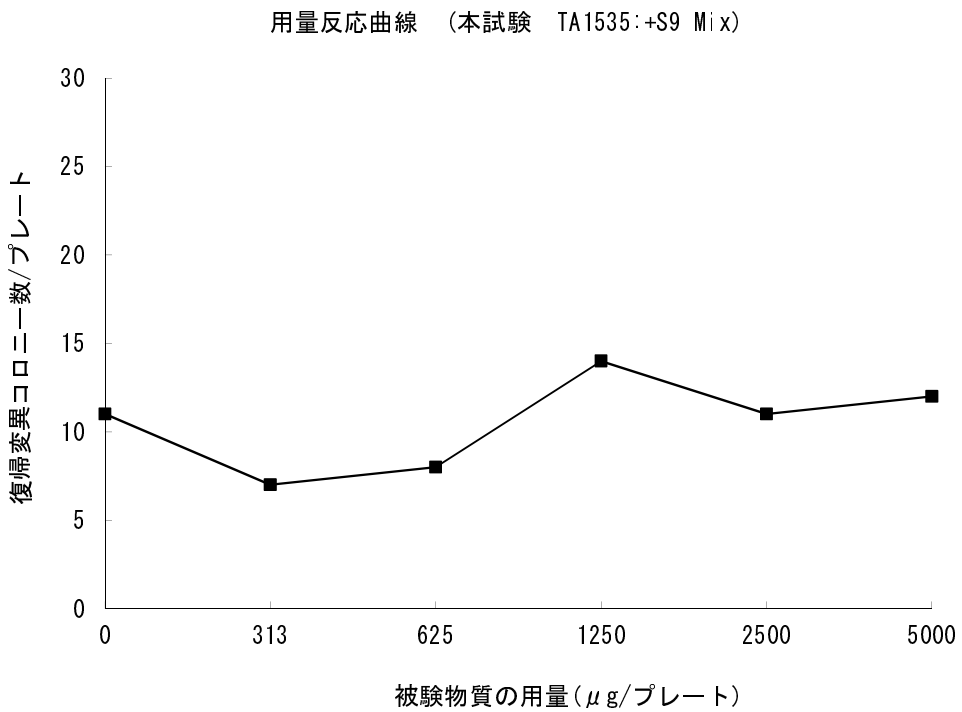


図 5

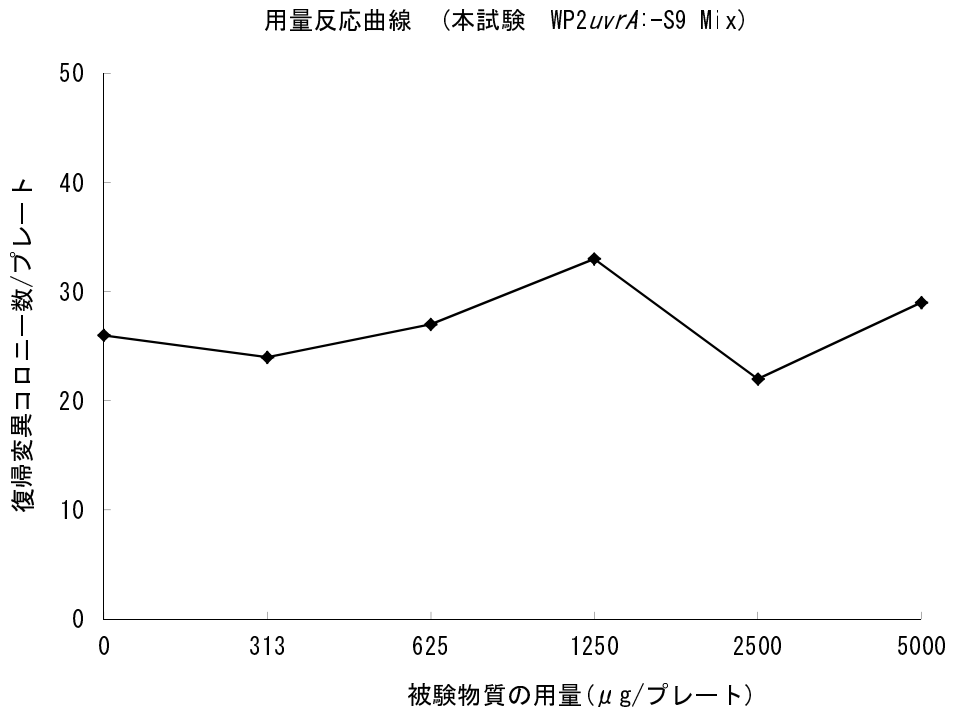


図 6

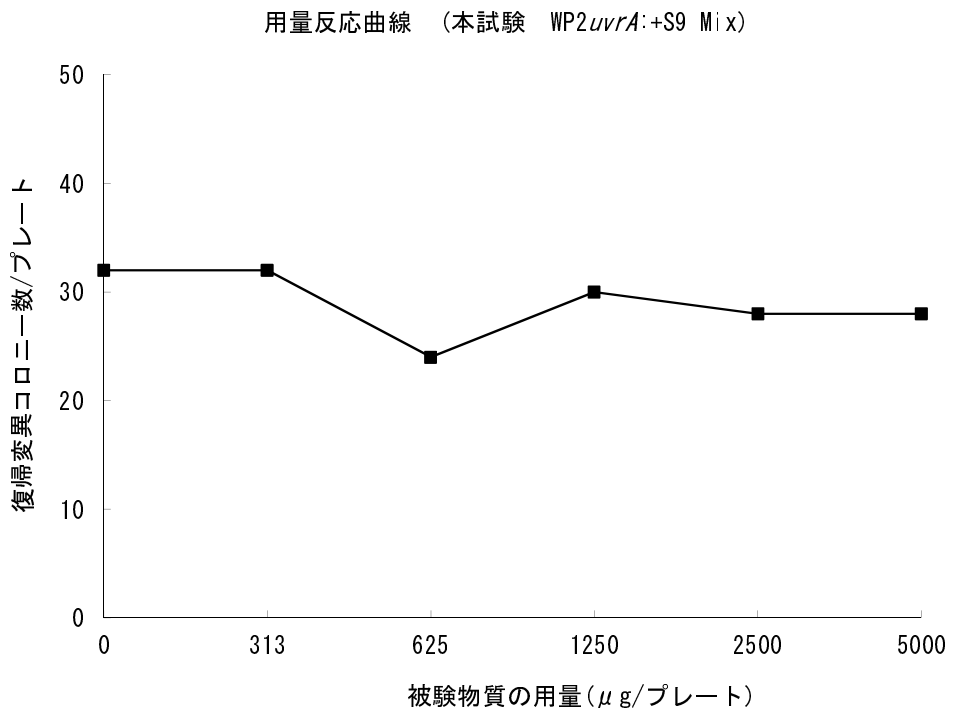


図 7

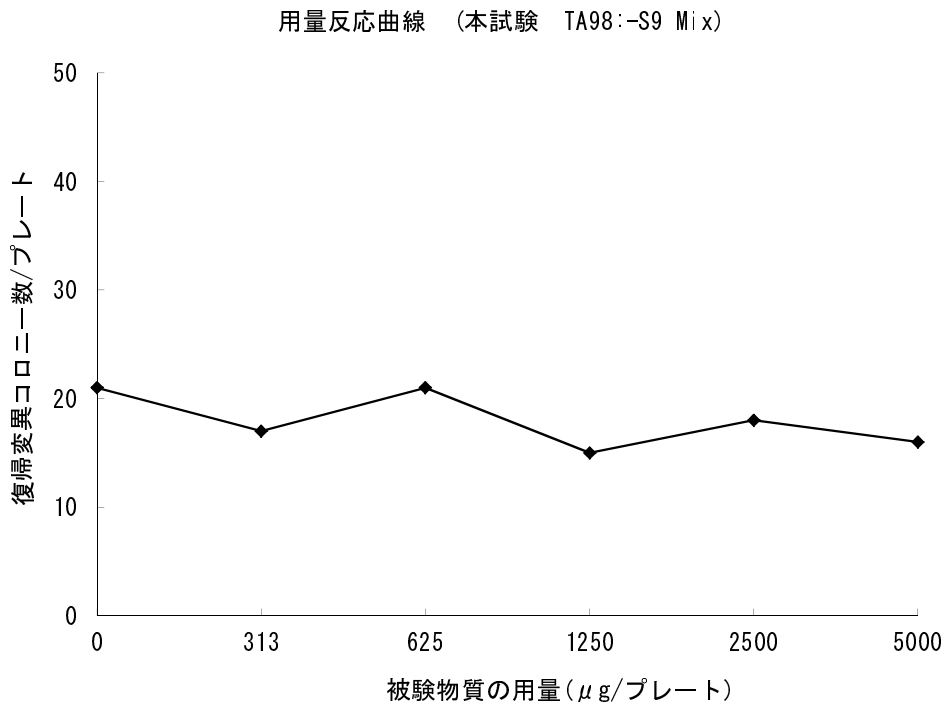


図 8

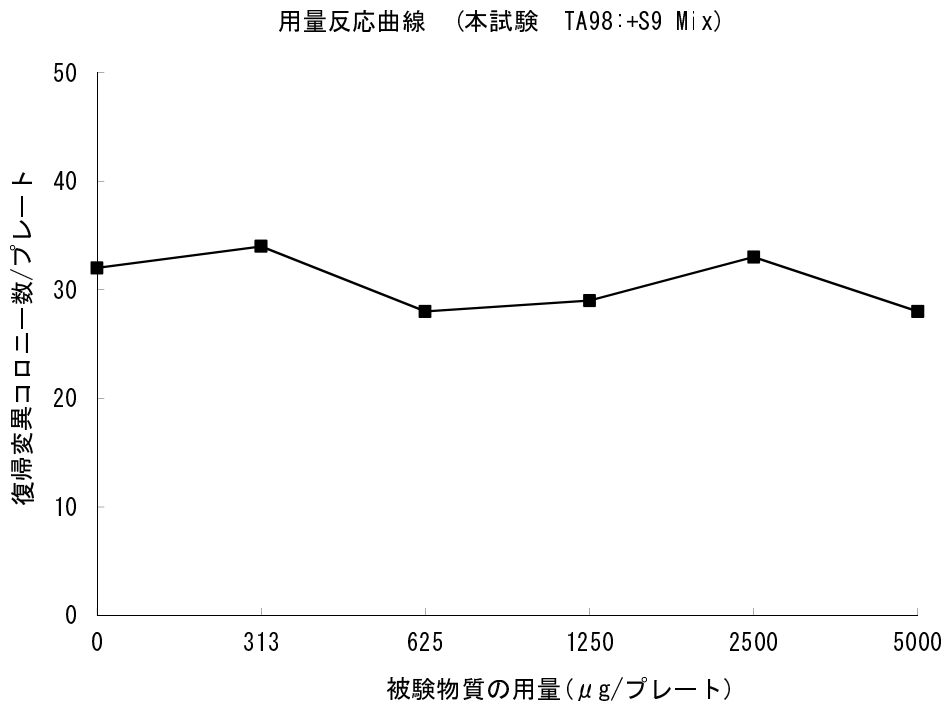


図 9

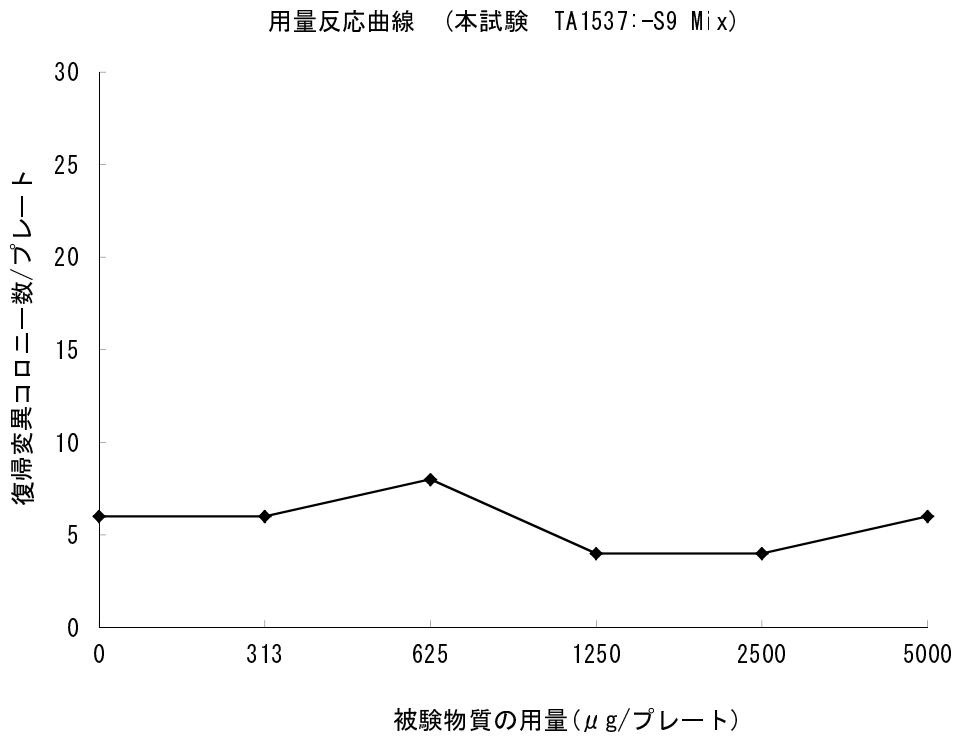


図 10

