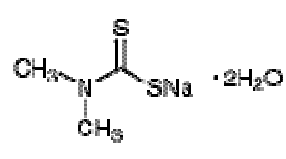


微生物を用いる変異原性試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質の名称 (IUPAC 命名法による)	ナトリウム=N,N-ジメチルジチオカルバマート		
別 名	Sodium Dimethyldithiocarbamate Dihydrate		
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	98.4%	試験に供した新規化学物質の Lot No.	G6HUO
不純物の名称及び濃度	/		
CAS 番号	128-04-1	蒸気圧	4.17×10^{-9} mmHg (25°C) *
分子量	143.20	分配係数	-0.71*
融 点	121°C*	常温における性状	固体
沸 点	/		
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	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10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	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	K5F99	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、水に 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.	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 ($\times 10^9$ /mL)	用量設定試験	4.44	4.74	8.50	6.29	3.70
	本試験	4.43	4.77	8.58	6.20	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19日製造
購入の場合の Lot No.	DZLH2J01
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)	49時間
	時間 (本試験)	48.5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、3 に、比活性を別表 4 に示した。なお、図 1~10 は別表 2、3 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 <i>S. typhimurium</i> TA100 及び TA1535 において復帰変異コロニー数の用量依存性を伴う増加が認められ、代謝活性化の有無にかかわらず <i>S. typhimurium</i> TA1535 においては陰性対照値の 2 倍以上となる増加を示した。なお、最大比活性値は、代謝活性化した場合の 2.87×10^3 (Rev/mg) であった。</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ナトリウム=N,N-ジメチルジチオカルバマートは、微生物に対する遺伝子突然変異誘発能を有する（陽性）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。菌に対する生育阻害は、代謝活性化の有無にかかわらず *S. typhimurium* TA98、TA100、TA1537 及び、*E. coli* WP2 *uvrA* の 625 µg/plate 以上、代謝活性化の有無にかかわらず *S. typhimurium* TA1535 の 1250 µg/plate 以上の用量で認められた。

本試験の用量設定において、代謝活性化の有無にかかわらず *S. typhimurium* TA1535 においては、最大比活性値を参考に 313 µg/plate を最高用量として、以下公比 2 で 7 段階希釈した計 8 用量を設定した。

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：ナトリウム≡N-N-ジメチルジチオカルバマート

No. T-2018

試験実施期間		2016年3月4日 より 2016年3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)	112 112 (112)	7 11 (9)	25 19 (22)	22 13 (18)	10 10 (10)
	1.22	149 130 (140)	12 9 (11)	19 16 (18)	21 16 (19)	6 7 (7)
	4.88	133 132 (133)	11 8 (10)	19 17 (18)	13 15 (14)	5 7 (6)
	19.5	169 157 (163)	22 30 (26)	23 16 (20)	17 17 (17)	8 5 (7)
	78.1	216 189 (203)	65 54 (60)	27 15 (21)	24 18 (21)	7 10 (9)
	313	192 227 (210)	61 48 (55)	30 28 (29)	14 11 (13)	7 8 (8)
	1250	105 * 132 * (119)	10 * 8 * (9)	39 * 32 * (36)	5 * 8 * (7)	4 * 6 * (5)
	5000	30 * 38 * (34)	0 * 0 * (0)	11 * 11 * (11)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)
	S9Mix (+)	陰性対照(注射用水)	156 133 (145)	9 10 (10)	28 33 (31)	24 24 (24)
1.22		145 114 (130)	11 8 (10)	24 26 (25)	28 25 (27)	9 10 (10)
4.88		108 138 (123)	22 25 (24)	21 26 (24)	22 22 (22)	14 12 (13)
19.5		160 179 (170)	17 15 (16)	29 26 (28)	29 29 (29)	16 10 (13)
78.1		188 191 (190)	61 45 (53)	32 29 (31)	40 33 (37)	15 12 (14)
313		216 193 (205)	77 53 (65)	30 25 (28)	33 33 (33)	11 10 (11)
1250		132 * 135 * (134)	7 * 10 * (9)	33 * 34 * (34)	19 * 17 * (18)	5 * 7 * (6)
5000		29 * 49 * (39)	0 * 0 * (0)	15 * 14 * (15)	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
	コロニー数/プレート	502 528 (515)	222 232 (227)	67 70 (69)	287 252 (270)	888 883 (886)
	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	799 812 (806)	263 243 (253)	555 571 (563)	374 330 (352)	108 111 (110)

(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。

()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:-S9Mix)

被験物質の名称： ナトリウム=N,N-ジメチルジチオカルバマート

No. T-2018

試験実施期間		2016年3月9日 より 2016年3月12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 (一)	陰性対照 (注射用水)	126 135 (131)	16 13 (15)	31 28 (30)	24 23 (24)	5 8 (7)
	2.44	NT	15 12 (14)	NT	NT	NT
	4.88	NT	22 27 (25)	NT	NT	NT
	9.77	NT	36 33 (35)	NT	NT	NT
	19.5	NT	48 39 (44)	NT	NT	NT
	39.1	191 173 (182)	78 65 (72)	23 24 (24)	23 19 (21)	8 11 (10)
	78.1	241 220 (231)	87 86 (87)	39 22 (31)	33 15 (24)	8 13 (11)
	156	249 236 (243)	54 68 (61)	27 37 (32)	23 22 (23)	10 6 (8)
	313	220 229 (225)	47 52 (50)	33 28 (31)	16 11 (14)	13 5 (9)
	625	173 * 196 * (185)	NT	36 * 33 * (35)	21 * 21 * (21)	8 * 7 * (8)
	1250	143 * 160 * (152)	NT	31 * 36 * (34)	11 * 4 * (8)	7 * 4 * (6)
	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		406 481 (444)	198 201 (200)	78 74 (76)	483 399 (441)	1022 1121 (1072)

(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・2HC1

* : 被験物質による生育阻害が認められたことを示す。

NT : 試験せず。

()内は、2枚のプレートの平均値を示す。

(別表3)

試験結果表 (本試験:+S9Mix)

被験物質の名称： ナトリウム=N,N-ジメチルジチオカルバマート

No. T-2018

試験実施期間		2016年3月9日 より 2016年3月12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)	145 148 (147)	11 12 (12)	31 35 (33)	33 35 (34)	12 10 (11)	
	2.44	NT	17 14 (16)	NT	NT	NT	
	4.88	NT	20 15 (18)	NT	NT	NT	
	9.77	NT	34 21 (28)	NT	NT	NT	
	19.5	NT	47 37 (42)	NT	NT	NT	
	39.1	211 224 (218)	48 64 (56)	35 35 (35)	45 37 (41)	8 11 (10)	
	78.1	249 231 (240)	67 73 (70)	33 24 (29)	41 38 (40)	14 10 (12)	
	156	250 267 (259)	58 75 (67)	38 30 (34)	40 31 (36)	15 13 (14)	
	313	249 235 (242)	65 66 (66)	39 45 (42)	33 45 (39)	10 13 (12)	
	625	232 * 201 * (217)	NT	41 * 36 * (39)	31 * 24 * (28)	9 * 7 * (8)	
	1250	139 * 166 * (153)	NT	23 * 36 * (30)	5 * 12 * (9)	7 * 2 * (5)	
	陽性対照	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		950 1087 (1019)	283 296 (290)	656 625 (641)	407 402 (405)	101 93 (97)	

(備考)

B[a]P : ベンゾ[a]ピレン
2AA : 2-アミノアントラセン

* : 被験物質による生育阻害が認められたことを示す。
NT : 試験せず。
()内は、2枚のプレートの平均値を示す。

(別表4)

比 活 性

被験物質の名称： ナトリウム=N,N-ジメチルジチオカルバマート

No. T-2018

	菌株名	-S9Mix		+S9Mix	
		比活性	計算に使用した用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	比活性	計算に使用した用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)
用量 設定 試験	TA100				
	TA1535	8.72×10^2	19.5	2.87×10^3	4.88
	WP2 <i>uvrA</i>				
	TA98				
	TA1537				
本 試 験	TA100				
	TA1535	2.05×10^3	9.77	1.64×10^3	9.77
	WP2 <i>uvrA</i>				
	TA98				
	TA1537				

図 1

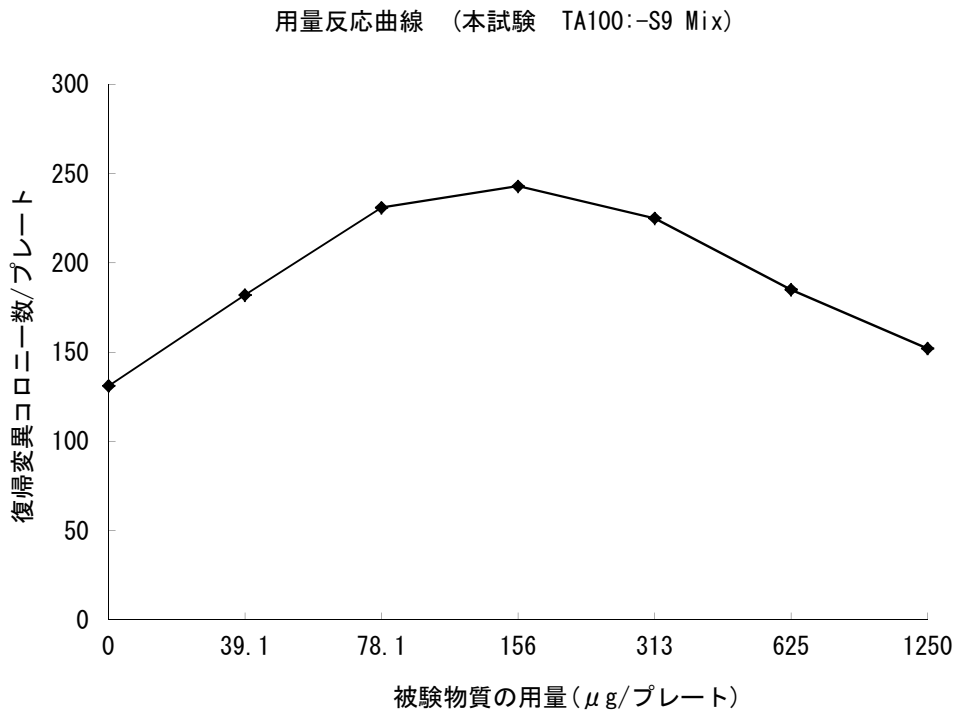


図 2

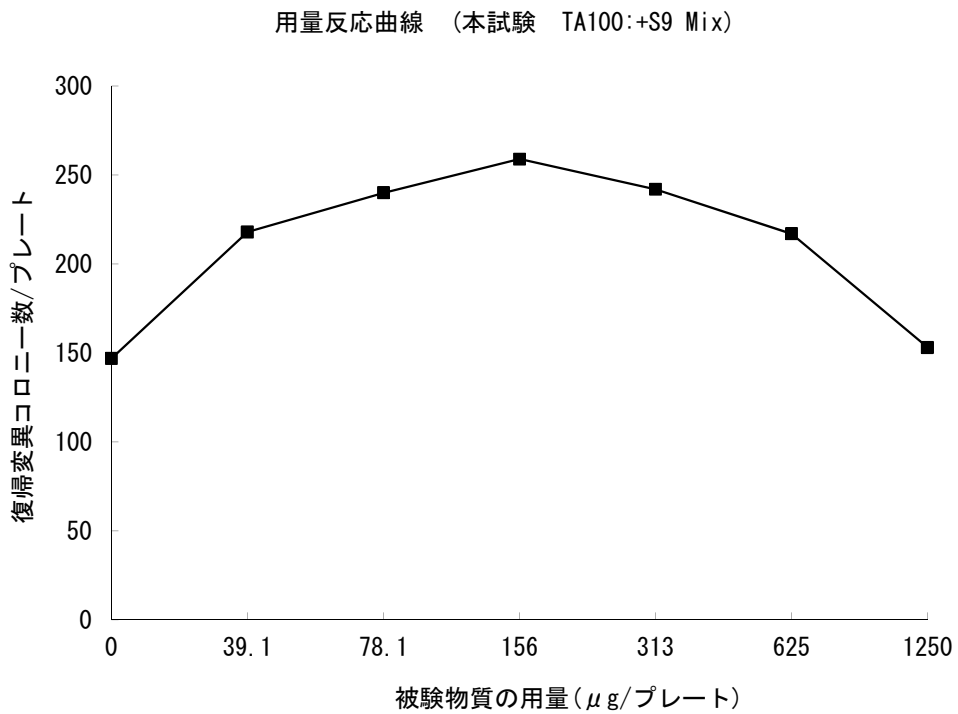


図 3

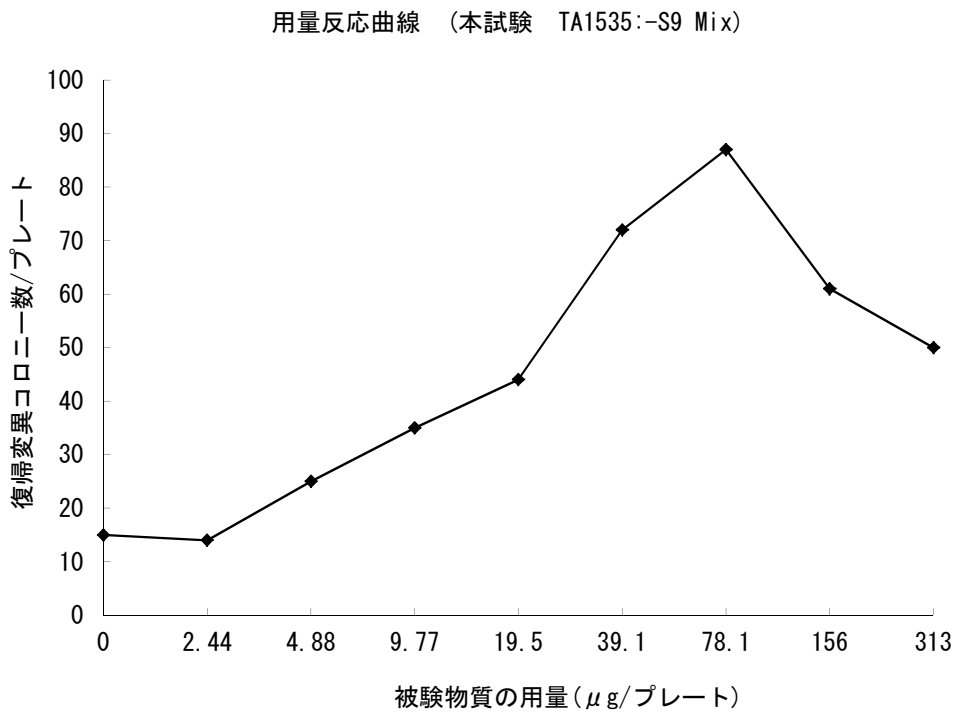


図 4

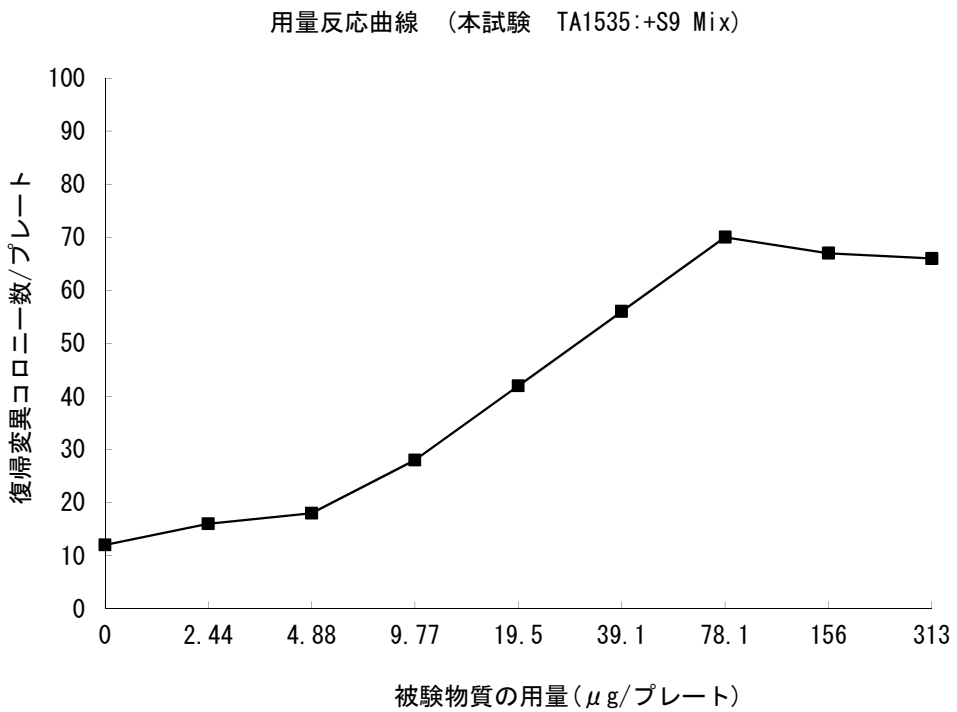


図 5

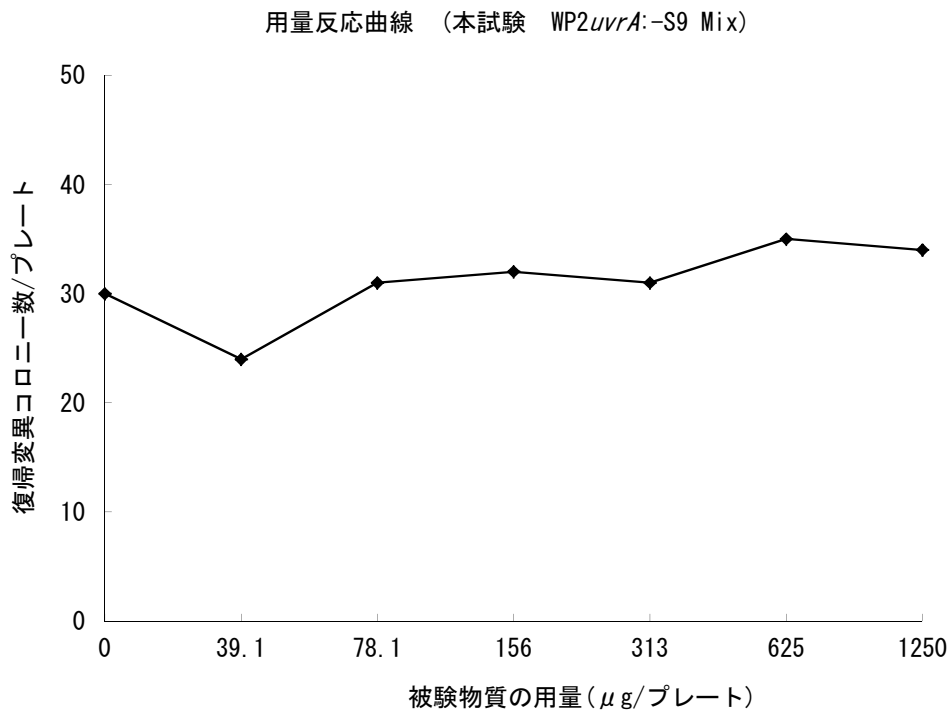


図 6

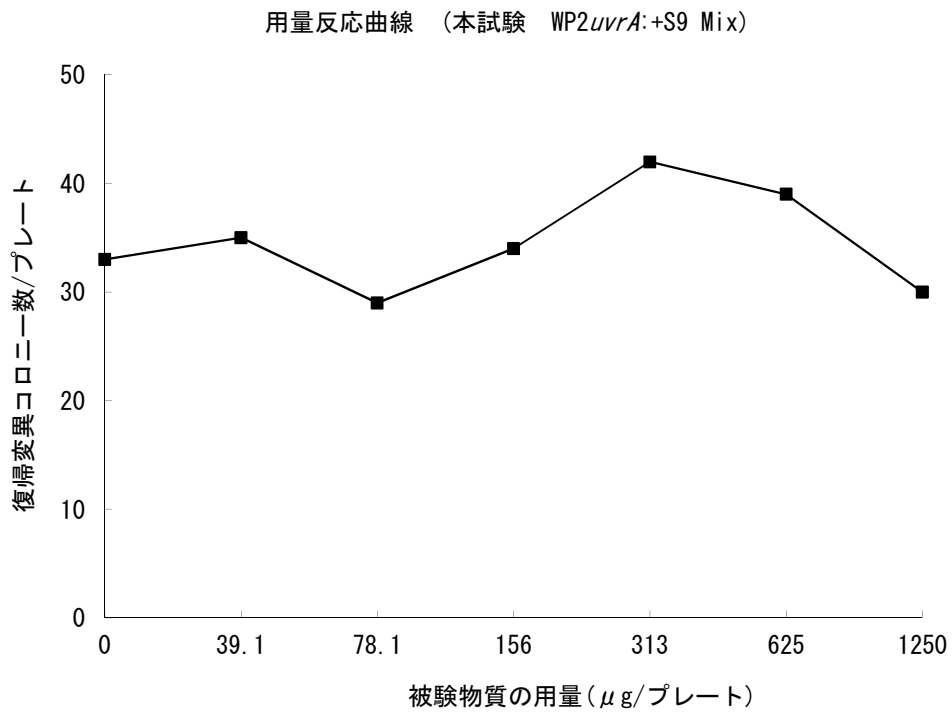


図 7

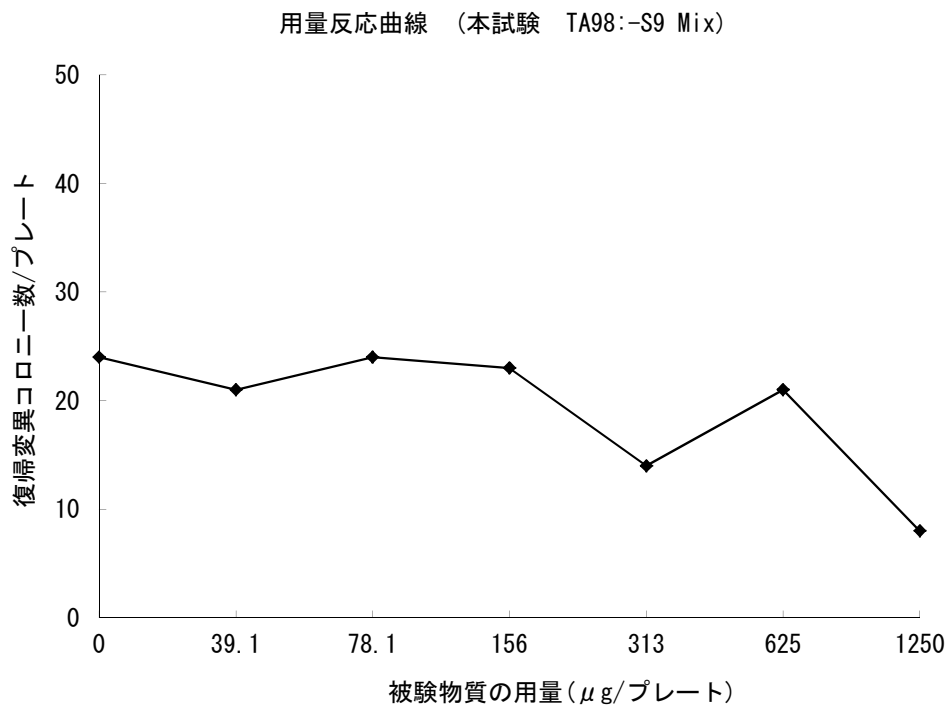


図 8

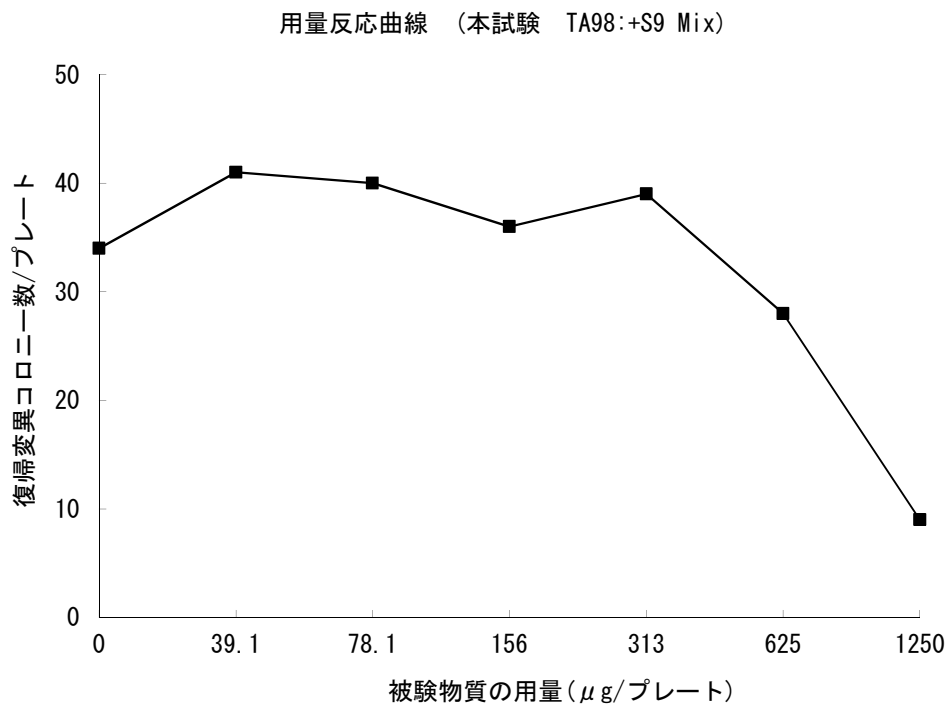


図 9

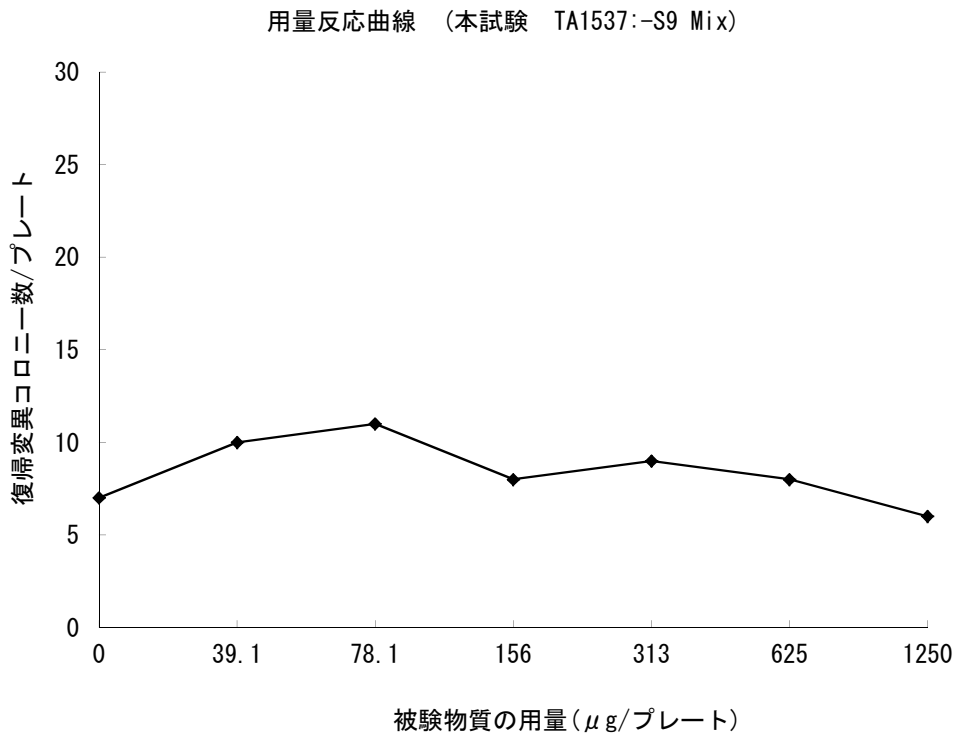


図 10

