

新規化学物質の有害性の調査の具体的な方法等に関する Q&A

【ガスばく露法に関する追加 Q&A】

Q 「被験物質が気体又は試験管若しくはプレートからの散出のおそれのある揮発性の液体であって、プレート法又はプレインキュベーション法による試験が困難である場合」の具体的な試験手法にはどのようなものがあるか教えてください。

A 被験物質が気体又は試験管若しくはプレートからの散出のおそれのある揮発性の液体であって、プレート法又はプレインキュベーション法による試験が困難である場合、ガスばく露法を採用することが考えられます。ガスばく露法については、「微生物を用いる変異原性試験の具体的手法及び試験結果の評価方法」を基本としつつ、以下の各点を反映するようにしてください。

I 試験の手法

1 試験に用いる器具、試薬等

被験物質は、その性状に応じて下記のとおり調製したものをを用いる。

- ① 被験物質が気体又は揮発性で、空気中で安定である場合
…空気を用いて被験物質を希釈又は空気中で気化
- ② 被験物質が気体又は揮発性で、空気中の酸素と反応し不安定な場合
…窒素、ヘリウム等の不活性な気体を用いて被験物質希釈又はこれらの不活性な気体中で気化

2 試験の流れ

試験における標準最高用量は、ガスばく露法の場合は 50%（体積%）又は調整可能な最大濃度とする。

3 具体的な試験の方法

試験は、以下の流れにより実施する。

① 【代謝活性化系を用いない場合】

滅菌された試験管に 0.1M ナトリウム-リン酸緩衝液 (pH7.4) を 0.5 ml 添加し、続いて前培養液を 0.1ml 加えてよく混合する。

【代謝活性化系を用いる場合】

滅菌された試験管に S9 mix を 0.5ml 添加し、続いて前培養液を 0.1ml 加えてよく混合する。

② ①にトップアガーを 2ml 加えてよく混合する。

③ ②をプレートの上に注ぎ一様に広げる。

④ ③のプレートの蓋を外し、上下転倒させてプレートホルダーに固定し、適当な容器に用量別に入れる。

⑤ ④の容器を密封した後、プレート当たり 500ml の濃度に調整した被験物質ガスを充填し、ばく露させる。

⑥ ⑤の容器を恒温培養器に入れ、37℃で 24 時間（窒素、ヘリウム等を希釈気体として使用した場合には、2～12 時間程度）ばく露させる。

⑦ ⑥の容器についてばく露気体を空気で置換した後、プレートホルダーを取り出し、蓋をした後、用量別にビニル袋に上下を転倒して収容し、37℃で 24 時間以上培養する。

⑧ 全てのプレートについてテスト菌株の生育阻害の有無を実体顕微鏡を用いて調べる。

⑨ 復帰突然変異により生じたコロニー数を数える。

4 報告書

(1) 最終報告書

最終報告書における記載項目のうち溶媒に係るものについては、希釈用ガスに置き換えて記載する。

II 結果の評価

被験物質の変異原性の強さについては、陽性を示す最小用量（体積%）により相対的比較を行う。