

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)	硫酸アルミニウム		
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)	$\begin{array}{c} \text{Al}^{3+} \\ \\ \text{O}^- \\ \\ \text{O}=\text{S}-\text{O}^- \\ \\ \text{O} \end{array} \quad \text{Al}^{3+} \quad \begin{array}{c} \text{O}^- \\ \\ \text{O}=\text{S}-\text{O}^- \\ \\ \text{O} \end{array}$		
試験に供した新規化学物質の純度	99.99%	試験に供した新規化学物質の Lot No.	MKBL3811V
不純物の名称及び濃度	/		
CAS 番号	10043-01-3	蒸気圧	/
分子量	342.15	分配係数	/
融点	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 で不溶	発熱、ガスの発生等の反応性なし
	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 で不溶	発熱、ガスの発生等の反応性なし
	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19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、DMSO、アセトンについて溶解性試験を実施した。その結果、水、DMSOに50 mg/mL、アセトンに100 mg/mLで溶解しなかったがすべての溶媒において懸濁可能で、発熱、ガスの発生等の反応性も認められなかったため、試験菌株への影響の一番少ない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	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	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	5.44	6.12	8.80	6.71	4.98
	本試験	5.40	6.44	8.71	6.41	5.17
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10月16日製造
購入の場合の Lot No.	DZLEAG01
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)	48.5 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、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硫酸アルミニウムは、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 5000 µg/plate 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。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、代謝活性化しない場合の *S. typhimurium* TA 株の 2500 µg/plate 以上の用量で認められた。

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。

10. その他

試験実施施設	名 称	株式会社ポゾリサーチセンター 東京研究所
	所在地	東京都世田谷区羽根木 1-3-11 電話 03(3327)2114 FAX03(3327)2115
試験責任者	職 氏 名	■■■■■■■■■■
	経 験 年 数	■■■
試験番号	T-1462	
試験期間	2013年12月25日より2014年3月14日	

(別表1)

試験結果表(用量設定試験)

被験物質の名称： 硫酸アルミニウム

No. T-1462

試験実施期間		2014年1月22日 より 2014年1月25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)	126 96 (111)	9 16 (13)	16 14 (15)	24 24 (24)	8 5 (7)	
	1.22	114 146 (130)	15 15 (15)	24 24 (24)	25 28 (27)	6 11 (9)	
	4.88	99 102 (101)	13 9 (11)	19 14 (17)	22 20 (21)	7 6 (7)	
	19.5	87 125 (106)	11 13 (12)	21 22 (22)	20 21 (21)	7 4 (6)	
	78.1	117 122 (120)	9 10 (10)	19 18 (19)	24 28 (26)	7 12 (10)	
	313	103 92 (98)	18 11 (15)	15 17 (16)	25 27 (26)	7 7 (7)	
	1250	106 106 (106)	10 8 (9)	18 19 (19)	21 27 (24)	7 9 (8)	
	5000 #	8 * 15 * (12)	10 * 4 * (7)	20 18 (19)	6 * 7 * (7)	4 * 5 * (5)	
	S9Mix (+)	陰性対照 (注射用水)	137 125 (131)	16 12 (14)	22 12 (17)	33 39 (36)	12 8 (10)
		1.22	130 148 (139)	9 9 (9)	24 18 (21)	46 48 (47)	7 8 (8)
4.88		140 113 (127)	15 18 (17)	21 18 (20)	44 33 (39)	8 8 (8)	
19.5		129 126 (128)	8 12 (10)	17 25 (21)	45 38 (42)	10 6 (8)	
78.1		131 142 (137)	16 17 (17)	16 13 (15)	36 40 (38)	11 7 (9)	
313		117 130 (124)	10 15 (13)	20 14 (17)	32 37 (35)	8 4 (6)	
1250		123 143 (133)	8 12 (10)	15 22 (19)	39 34 (37)	5 4 (5)	
5000 #		105 118 (112)	13 10 (12)	15 20 (18)	47 33 (40)	9 4 (7)	
陽性対照		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	597 613 (605)	248 257 (253)	66 84 (75)	397 280 (339)	1221 1283 (1252)	
	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	881 883 (882)	335 319 (327)	972 1041 (1007)	339 319 (329)	122 93 (108)	

(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。

: 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：硫酸アルミニウム

No. T-1462

試験実施期間		2014年2月18日 より 2014年2月21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)	125 128 (127)	8 6 (7)	25 20 (23)	18 19 (19)	6 8 (7)
	156	113 94 (104)	7 9 (8)	NT	14 14 (14)	7 9 (8)
	313	128 116 (122)	9 7 (8)	23 18 (21)	17 15 (16)	7 8 (8)
	625	106 121 (114)	9 6 (8)	18 12 (15)	18 15 (17)	5 6 (6)
	1250	108 95 (102)	11 8 (10)	17 14 (16)	12 10 (11)	7 6 (7)
	2500	76 * 78 * (77)	6 * 7 * (7)	19 16 (18)	6 * 6 * (6)	8 * 4 * (6)
	5000 #	29 * 25 * (27)	4 * 6 * (5)	10 9 (10)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)
	S9Mix (+)	陰性対照 (注射用水)	152 143 (148)	9 5 (7)	15 20 (18)	37 31 (34)
313		157 133 (145)	8 4 (6)	15 12 (14)	27 31 (29)	9 5 (7)
625		122 146 (134)	9 10 (10)	11 13 (12)	31 32 (32)	6 7 (7)
1250		141 127 (134)	10 8 (9)	17 17 (17)	29 32 (31)	9 8 (9)
2500		123 124 (124)	12 12 (12)	18 21 (20)	36 34 (35)	12 9 (11)
5000 #		123 73 (98)	5 5 (5)	13 21 (17)	22 18 (20)	8 10 (9)
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	573 562 (568)	197 284 (241)	59 64 (62)	466 474 (470)	1328 1135 (1232)
	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	1015 967 (991)	282 343 (313)	836 907 (872)	403 385 (394)	100 126 (113)

(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。

: 被験物質による沈殿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。

図 1

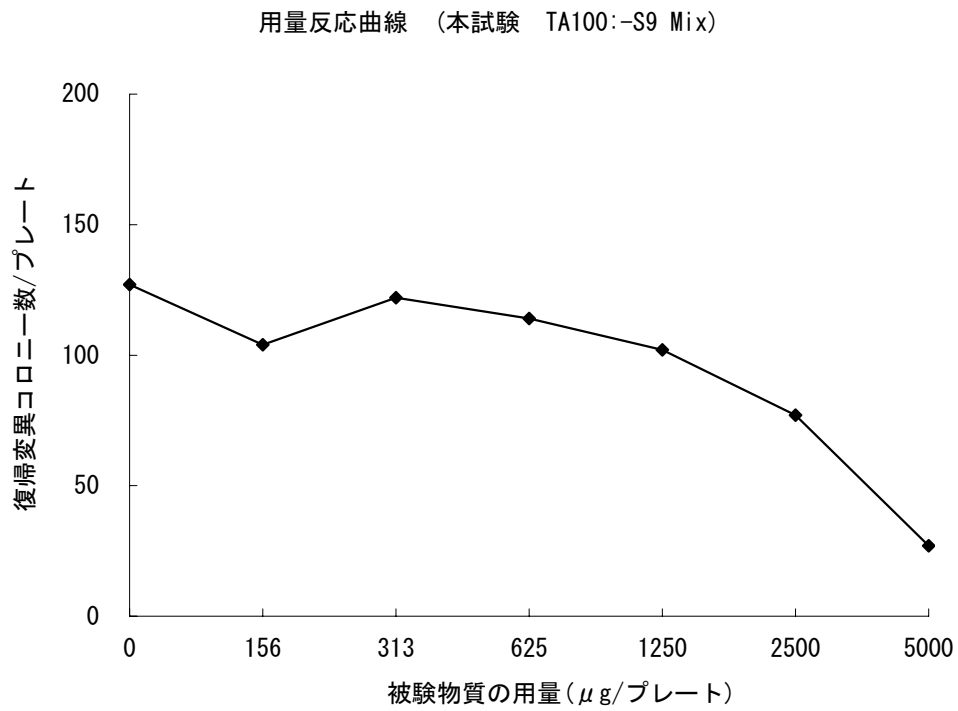


図 2

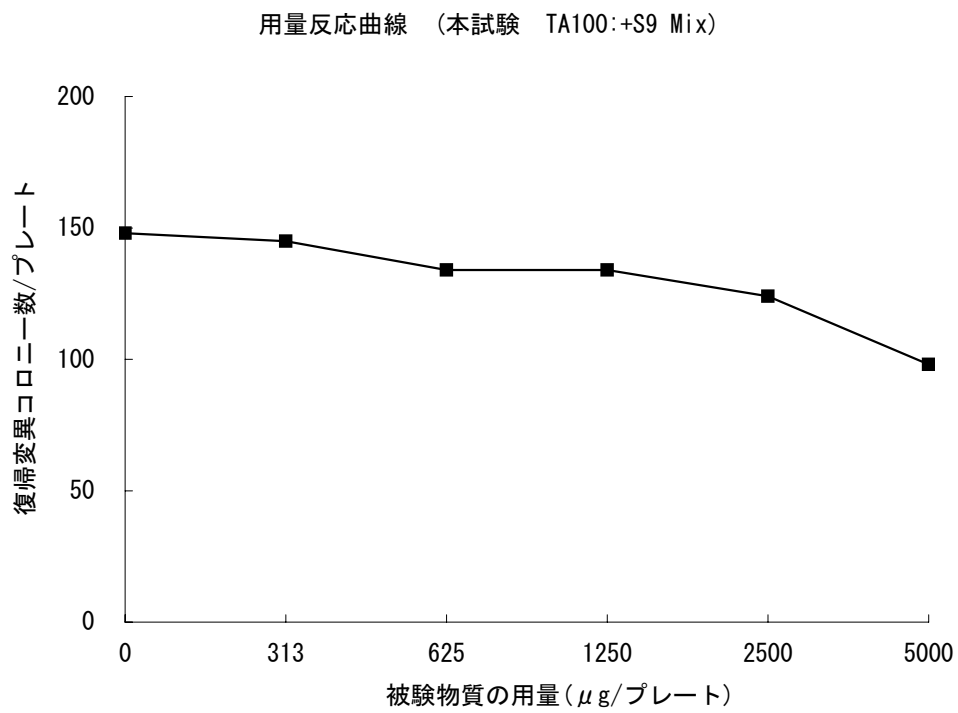


図 3

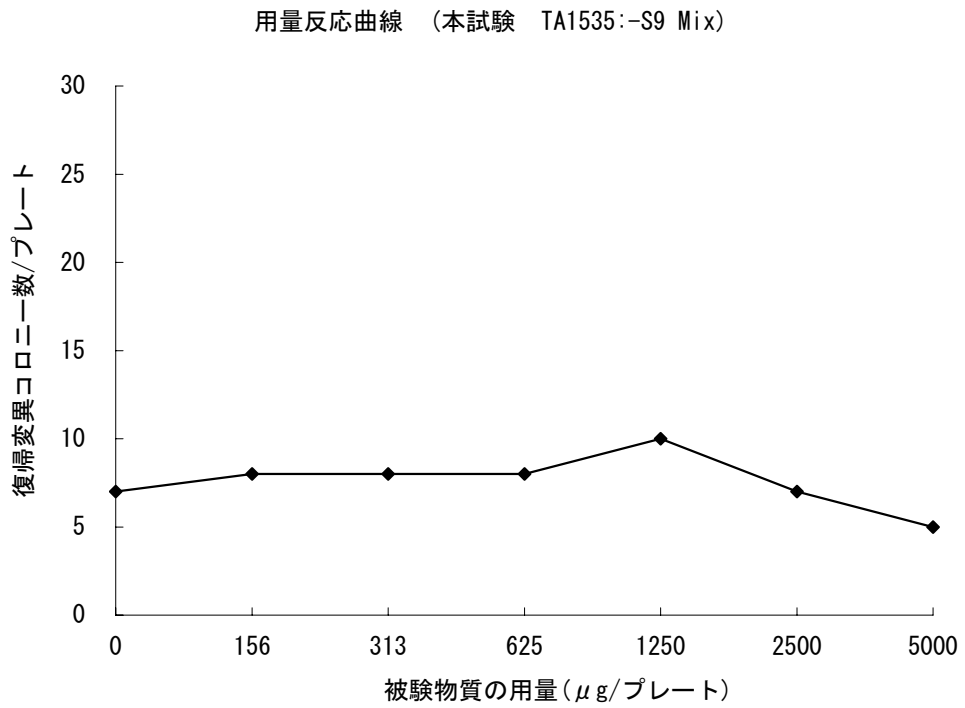


図 4

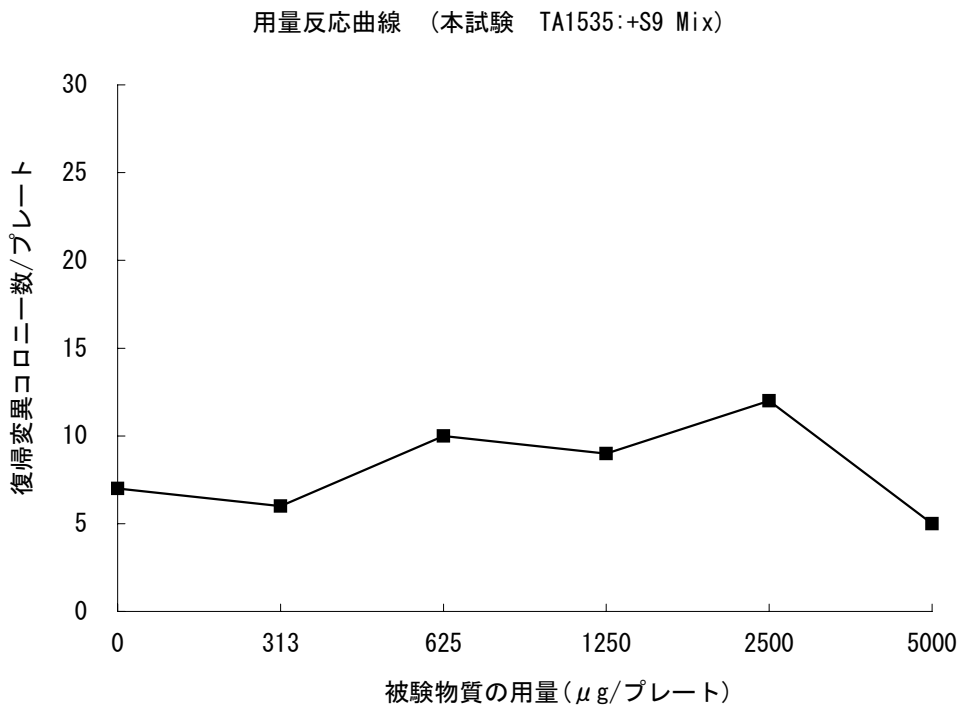


図 5

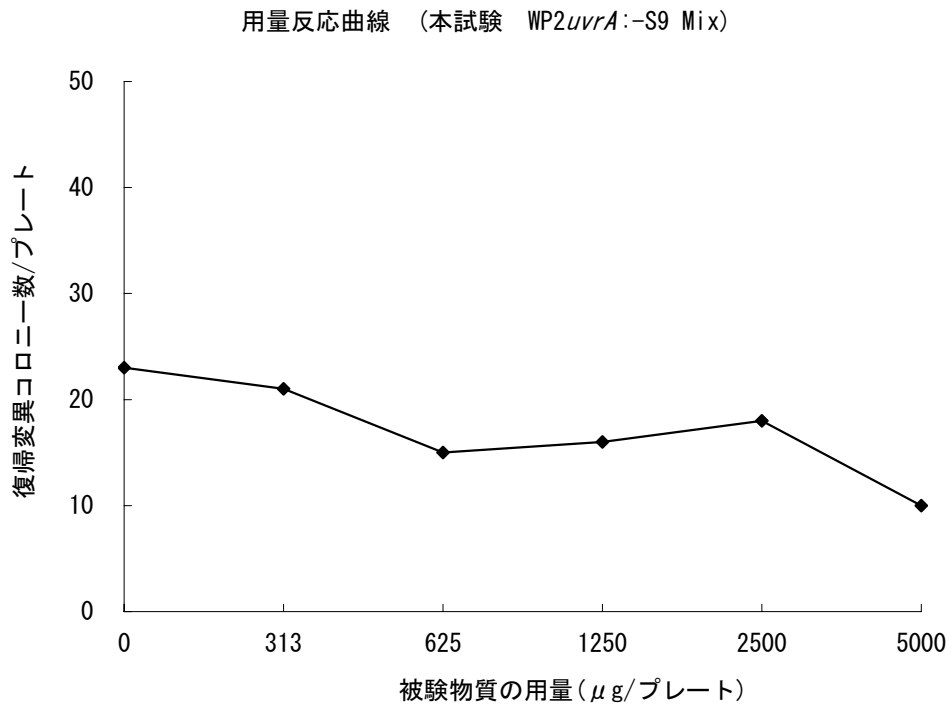


図 6

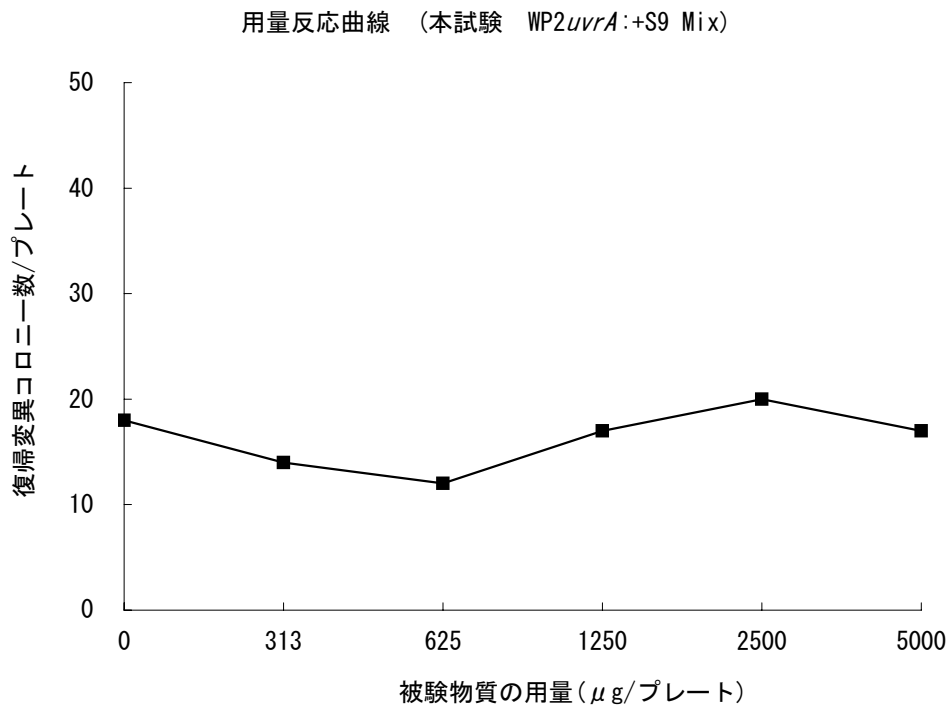


図 7

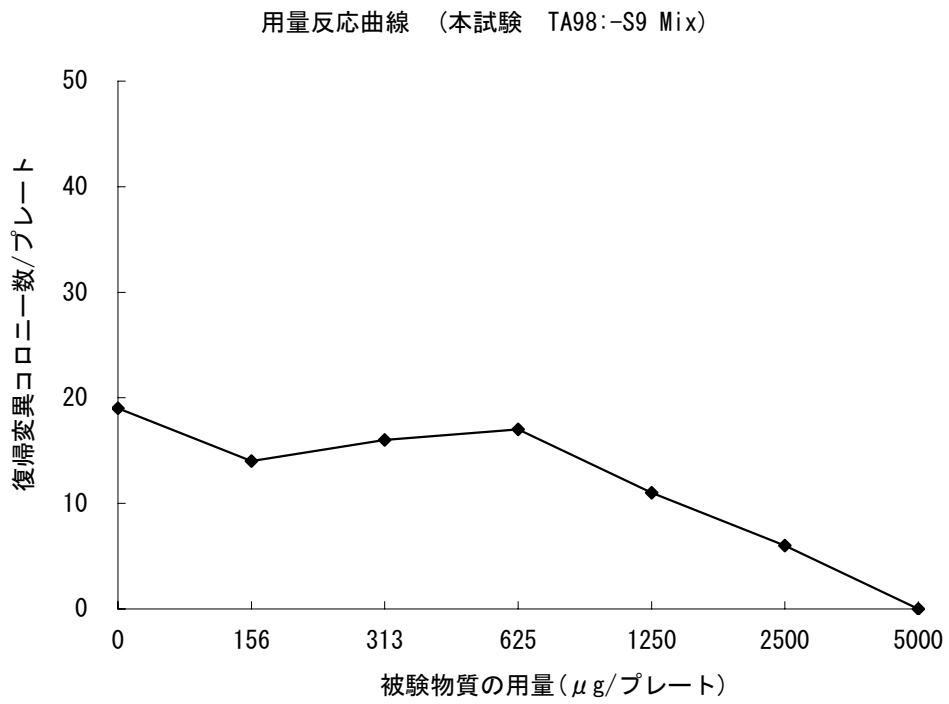


図 8

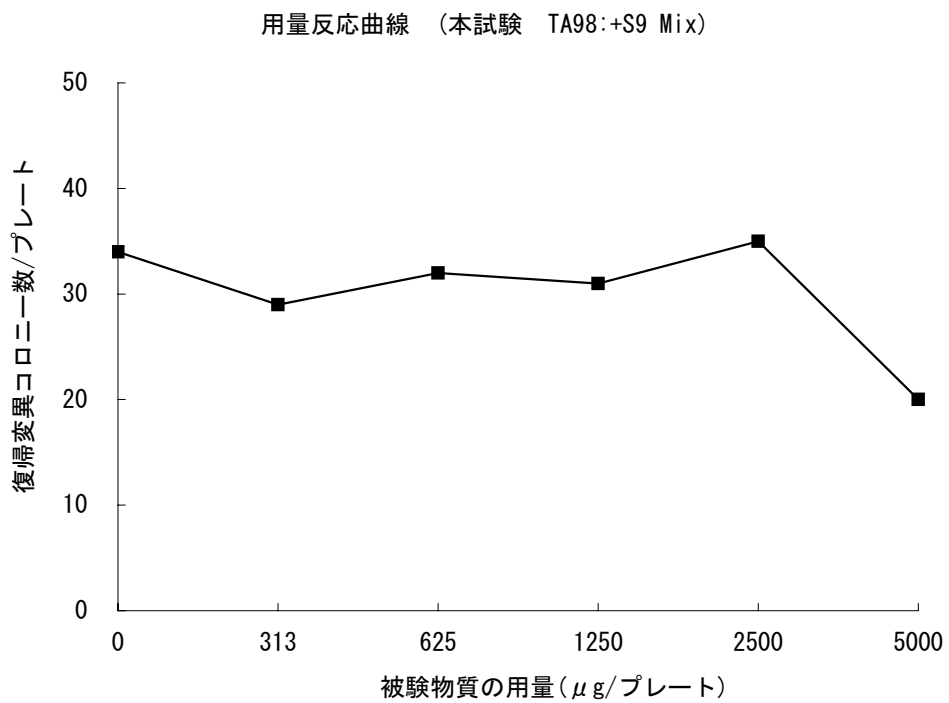


図 9

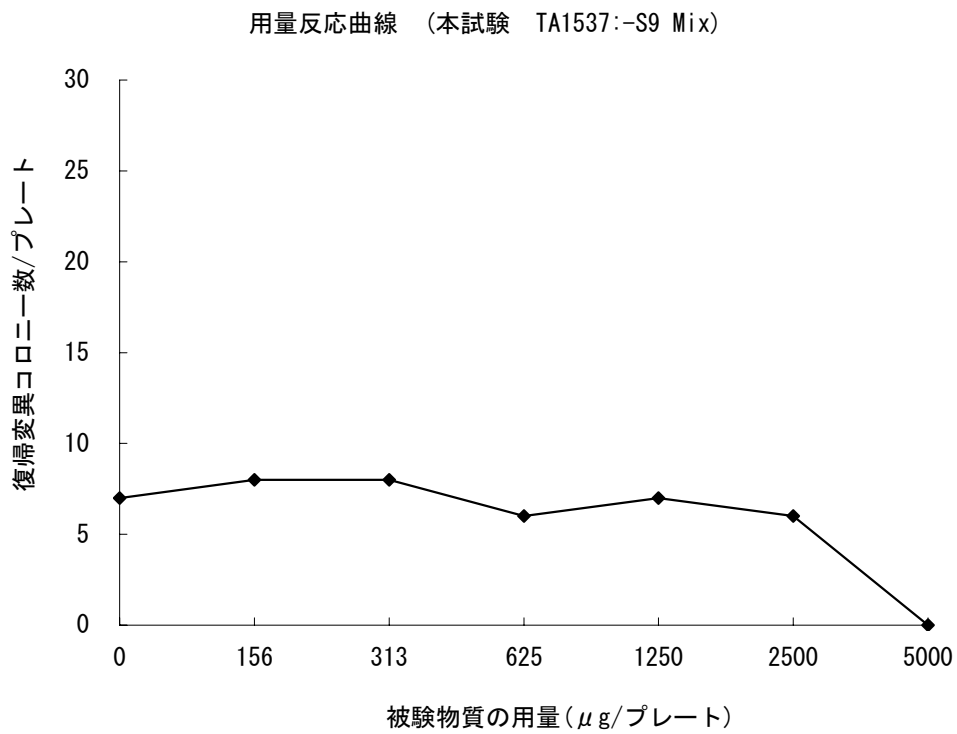


図 10

