最 終 報 告 書

テトラフェニルすず（Ⅳ）の細菌を用いる復帰突然変異試験

T-0060

2008 年 12 月 17 日

株式会社ボゾリサーチセンター
〒151-0065　東京都渋谷区大山町 36-7

頁

目　次 ……1

要　約 ……6

被験物質及び被験液の調製 ……7
1. 被験物質及び溶媒 ……7
(1) 被験物質 ……7
(2) 溶媒 ……7
(3) 溶媒の選択理由 ……7
2. 被験液の調製方法 ……8
(1) 予備試験用被験液の調製 ……8
(2) 本試験 1 回目用被験液の調製 ……8
(3) 本試験 2 回目用被験液の調製 ……8
(4) 被験液の保存条件 ……8

試験材料及び試験方法 ……8
1. 試験菌株 ……8
(1) 菌株の種類 ……8
(2) 菌株の選択理由 ……9
(3) 菌株の保存及び解凍 ……9
(4) 菌株の特性検査 ……9
2. 対照物質 ……9
(1) 陰性対照物質 ……9
(2) 陽性対照物質 ……9
(3) 調製方法 ……10
3. 試薬 ……10
(1) S9Mix の調製方法 ……10
(2) 最少グルコース寒天平板培地 ……11
(3) ニュートリエントブロス No.2 培養液 ……12
(4) 0.1 mol/L リン酸緩衝液（pH 7.4） ……12
(5) トップアガー ……12
4. 試験方法 ……13
(1) 識別方法 ……13
(2) 前培養 ……13
(3) 本試験用量の設定 ……14
(4) プレート数 ……14
(5) 試験操作 ……14
5. 判定基準 ……15

試験結果及び考察 ……15
1. 試験結果 ……15
(1) 培養終了後の観察結果 ……15
(2) 復帰突然変異コロニー数 ……15
(3) 試験系の成立条件 ……15
2. 考察 ……15

参考文献 ……16

Tables

・別表 1 試験結果表(予備試験)
・別表 2 試験結果表(本試験 1 回目)
・別表 3 試験結果表(本試験 2 回目)

Figures

・図 1 用量反応曲線(-S9Mix)
・図 2 用量反応曲線(+S9Mix)

要　約

テトラフェニルすず（IV）の遺伝子突然変異誘発能の有無を検討するため、ネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium*（以下、*S. typhimurium* と略した）TA100、TA1535、TA98、TA1537 及び大腸菌 *Escherichia coli*（以下、*E. coli* と略した）WP2 *uvrA* を用いて、代謝活性化する場合及び代謝活性化しない場合の条件下で、プレインキュベーション法により実施した。なお、被験物質の溶媒にはジメチルスルホキシド（以下、DMSO と略す）を用いた。

試験は、1.22～5000 μg/plate の範囲の被験物質処理用量で予備試験を実施した。その結果より本試験は、代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの菌株についても 19.5～313 μg/plate の範囲の 5 用量で実施した。

1. 被験物質による沈殿及び着色

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、313 μg/plate 以上で認められた。また、本被験物質による着色は、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。

2. 生育阻害

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生育阻害は認められなかった。

3. 復帰突然変異コロニー数

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、復帰突然変異コロニー数は陰性対照の 2 倍以上には増加せず、用量反応性も認められなかった。

以上の試験結果より、本試験条件下において、テトラフェニルすず（IV）は、細菌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。

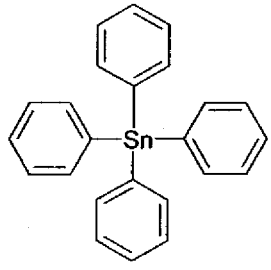
被験物質及び被験液の調製

1. 被験物質及び溶媒

(1) 被験物質

名　　称	テトラフェニルすず（Ⅳ）
CAS 番号	595-90-4

構造式



純　　度	99.0%
不純物の名称及び濃度	情報提供なし
分子量	427.13
融　　点	227.7℃
沸　　点	420℃以上
蒸気圧	データなし
分配係数	データなし
常温における性状	ほとんど白色の粉末
安定性	試験終了後の被験物質の含量分析を実施した結果、含量に変化がないことが確認された。光に敏感。
溶解性	水：不溶
保存方法	室温
保存温度	保存期間(2007.3.20～2007.7.11)中の実測温度：16～28℃
保存場所	東京研究所　被験物質調製保存室
廃棄方法	試験終了後の残量は焼却後、廃棄した。

(2) 溶媒

名　　称	DMSO
製造元	和光純薬工業株式会社
ロット番号	WKP5050
規　　格	JIS 規格 試薬特級　99%以上
保存方法	室温保存
保存場所	東京研究所　被験物質調製保存室

(3) 溶媒の選択理由

本被験物質は水に不溶のため、DMSO、アセトン、N,N-ジメチルホルムアミド、1,4-ジオキサン、テトラヒドロフランについて溶解性試験を実施した。その結果、いずれの溶媒にも溶解しなかったため、最も懸濁状態がよく、試験菌株に対して比較的毒性の低いDMSO を溶媒として試験を実施した。

2. 被験液の調製方法

(1) 予備試験用被験液の調製

滅菌した調製用試験管に被験物質を 212.5 mg 秤取し、これに 4.250 mL の DMSO を添加して超音波処理で懸濁し、最高調製濃度の 50 mg/mL の被験液を調製した。次いで、50 mg/mL 被験液を公比 4 で順次 6 段階希釈し、50、12.5、3.13、0.781、0.195、0.0488 及び 0.0122 mg/mL の計 7 濃度の被験液を調製した。なお、被験液の調製において、発熱、ガスの発生等の反応性は認められなかった。また、被験液は、紫外線吸収膜付蛍光灯下で用時調製した。

(2) 本試験 1 回目用被験液の調製

滅菌した調製用試験管に被験物質を 54.4 mg 秤取し、これに 4.352 mL の DMSO を添加して懸濁し、最高調製濃度の 12.5 mg/mL の懸濁液を調製した。次いで、12.5 mg/mL 懸濁液を 4 倍希釈して 3.13 mg/mL の被験液を調製した。これをさらに公比 2 で順次 4 段階希釈し、3.13、1.56、0.781、0.391 及び 0.195 mg/mL の計 5 濃度の被験液を調製した。なお、被験液の調製において、発熱、ガスの発生等の反応性は認められなかった。また、被験液は、紫外線吸収膜付蛍光灯下で用時調製した。

(3) 本試験 2 回目用被験液の調製

滅菌した調製用試験管に被験物質を 43.1 mg 秤取し、これに 3.448 mL の DMSO を添加して懸濁し、最高調製濃度の 12.5 mg/mL の懸濁液を調製した。次いで、12.5 mg/mL 懸濁液を 4 倍希釈して 3.13 mg/mL の被験液を調製した。これをさらに公比 2 で順次 4 段階希釈し、3.13、1.56、0.781、0.391 及び 0.195 mg/mL の計 5 濃度の被験液を調製した。なお、被験液の調製において、発熱、ガスの発生等の反応性は認められなかった。また、被験液は、紫外線吸収膜付蛍光灯下で用時調製した。

(4) 被験液の保存条件

被験液は用時調製とし、保存はしなかった。

試験材料及び試験方法

1. 試験菌株

(1) 菌株の種類

次の 5 種類の菌株を用いた。

塩基対置換型

S. typhimurium TA100

S. typhimurium TA1535

E. coli WP2 *uvrA*

フレームシフト型

S. typhimurium TA98

S. typhimurium TA1537

なお、菌株は国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部より 1997 年 10 月 9 日に株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所で入手したものから、2005 年 7 月 21 日に分与された。

(2) 菌株の選択理由

試験委託者からの依頼により選択した。また、当該菌株は変異原性物質に対する感受性が高く、細菌を用いる変異原性試験に最も一般的に使用され、毒性試験法ガイドラインで指定されている。

(3) 菌株の保存及び解凍

入手した菌株から継代して凍結保存した菌懸濁液を培養し、得られた菌懸濁液 8.0 mL に対して、DMSO（和光純薬工業株式会社、JIS 規格試薬特級、ロット番号 LTH4791、WKP5050）を 0.7 mL の割合で添加して、滅菌チューブに 300 μL ずつ分注し、-70℃以下の超低温フリーザ（三洋電機バイオメディカ株式会社：MDF-192）で保存した（保存期間中の実測温度 2007 年 2 月 23 日～2007 年 7 月 10 日：-81～-73℃）。なお、使用する際は室温で解凍し、使用後の残液は廃棄した。

	使用した菌株の凍結保存日
S. typhimurium TA98	2007 年 2 月 23 日
S. typhimurium TA100	2007 年 5 月 11 日
S. typhimurium TA1535	2007 年 6 月 1 日
S. typhimurium TA1537	2007 年 6 月 1 日
E. coli WP2 *uvrA*	2007 年 3 月 2 日

(4) 菌株の特性検査

凍結保存した菌株について、アミノ酸要求性、膜変異 *rfa* 特性、薬剤耐性因子 R-factor プラスミド、紫外線感受性、菌増殖率、陰性対照値及び陽性対照値等の特性を検査し、それぞれの菌株に特有の性質が保持されていることを確認して使用した。

	使用した菌株の特性検査実施日
S. typhimurium TA98	2007 年 2 月 23 日～2007 年 2 月 26 日
S. typhimurium TA100	2007 年 5 月 11 日～2007 年 5 月 14 日
S. typhimurium TA1535	2007 年 6 月 1 日～2007 年 6 月 4 日
S. typhimurium TA1537	2007 年 6 月 1 日～2007 年 6 月 4 日
E. coli WP2 *uvrA*	2007 年 3 月 2 日～2007 年 3 月 5 日

2. 対照物質

(1) 陰性対照物質

被験物質の調製に用いた DMSO を陰性対照物質とした。

(2) 陽性対照物質

毒性試験法ガイドラインに準じて、以下の変異原物質を陽性対照物質とした。

表 1　陽性対照物質一覧

陽性対照物質（略称）	ロット番号	純度(%)	保存方法
2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)	PKE1831	99.5%	室温、遮光
Sodium azide（SAZ）	SDL2565	99.8%	室温、遮光
2-Methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)-aminopropylamino]acridine・2HCl (ICR-191)	534652		室温、遮光
2-Aminoanthracene（2AA）	KLH1059	96.6%	室温、遮光
Benzo[*a*]pyrene（B[*a*]P）	KLG2702	101.0%	冷蔵、遮光

保存場所：　東京研究所　微生物試験室の室温保存庫
製 造 元：　AF-2、SAZ、B[*a*]P 及び 2AA：和光純薬工業株式会社
　　ICR-191：Polysciences, Inc.

(3) 調製方法

AF-2、ICR-191、2AA 及び B[*a*]P は DMSO（和光純薬工業株式会社、JIS 規格 試薬特級、ロット番号 LTH4791、WKP5050）に溶解し、SAZ は注射用水（株式会社大塚製薬工場、日本薬局方、ロット番号 K6F75）に溶解し、1.0 mL ずつ小分けして-20℃以下で凍結保存した。なお、試験実施時に解凍して使用した。それぞれの調製濃度を表 2 に示した。

表 2　陽性対照物質調製濃度一覧

使用菌株	代謝活性化しない場合		代謝活性化する場合	
	陽性対照物質	調製濃度 (μg/mL)	陽性対照物質	調製濃度 (μg/mL)
S. typhimurium TA100	AF-2	0.1 (0.01)	B[*a*]P	50 (5.0)
S. typhimurium TA1535	SAZ	5 (0.5)	2AA	20 (2.0)
E. coli WP2 *uvrA*	AF-2	0.1 (0.01)	2AA	100(10.0)
S. typhimurium TA98	AF-2	1 (0.1)	B[*a*]P	50 (5.0)
S. typhimurium TA1537	ICR-191	10 (1.0)	B[*a*]P	50 (5.0)

（ ）内の数値は、プレートに処理したときの処理用量（μg/plate）を示す。

3.　試薬

(1) S9Mix の調製方法

Cofactor-I の 1 バイアルに滅菌精製水を 9.0 mL 加え、完全に溶解した後ろ過（Nalge Nunc Int. 0.45μM：Lot No.600845）滅菌し、Cofactor-I の 1 バイアルに対して 1.0 mL の S9 を加えて S9 Mix とした。調製後、使用時まで冷蔵下で保存し、使用後の残液は廃棄した。

1) S9

名　　称　　S9
製 造 元　　オリエンタル酵母工業株式会社
ロット番号　　07042001
製 造 日　　2007 年 4 月 20 日

購　入　日	2007年6月19日
種・系統	ラット・SD系
週齢・性	7週齢・雄
体　　重	204.7±9.2g
誘導物質	フェノバルビタール(PB)& 5,6-ベンゾフラボン(BF)
投与方法	腹腔内投与
投与期間及び投与量	PB 4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）
保存場所	東京研究所　被験物質調製保存室内超低温フリーザ（三洋電機バイオメディカ株式会社：MDF-192）
保存期間中の実測温度	2007年6月19日～2007年7月11日：-80～-74℃

2) コファクター

名　　称	Cofactor-I
製造元	オリエンタル酵母工業株式会社
ロット番号	999701
製造日	2007年2月19日
購入日	2007年6月19日
保存場所	東京研究所　微生物試験室内冷蔵庫（冷凍・冷蔵庫 MPR-211F：三洋電機バイオメディカ株式会社）
保存期間中の実測温度	2007年6月19日～2007年7月11日：4～10℃

3) S9Mixの組成（1mL中）

水	0.9	mL
S9	0.1	mL
$MgCl_2$	8.0	μmol/mL
KCl	33.0	μmol/mL
グルコース-6-リン酸	5.0	μmol/mL
還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸(NADPH)	4.0	μmol/mL
還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NADH)	4.0	μmol/mL
リン酸ナトリウム緩衝液(pH7.4)	100.0	μmol/mL

(2) 最少グルコース寒天平板培地

1)

名　　称	バイタルメディアAMT-O培地
製造元	極東製薬工業株式会社
ロット番号	DZL84601(予備試験)、DZL86F01(本試験1回目、2回目)
製造日	DZL84601：2007年4月6日 DZL86F01：2007年6月15日
購入日	DZL84601：2007年5月15日 DZL86F01：2007年6月29日
保存方法	常温保存
保存場所	東京研究所　変異原性試験室

2) 使用寒天

名　　称	OXOID　AGAR No.1
製造元	OXOID LTD.
ロット番号	946458-02

(3) ニュートリエントブロス No.2 培養液

ニュートリエントブロス No.2 を 2.5wt%となるよう精製水で溶解し、オートクレーブにより滅菌処理（121℃、20 分）を行い、調製した。調製後は使用時まで冷蔵で保存した。

名　　称	ニュートリエントブロス No.2 (Nutrient Broth No.2)
ロット番号	349915
製 造 元	OXOID LTD.
保 存 方 法	室温保存
保 存 場 所	東京研究所　微生物試験室

(4) 0.1 mol/L リン酸緩衝液（pH 7.4）

0.1mol/L リン酸水素二ナトリウム水溶液に、0.1mol/L リン酸二水素ナトリウム二水和物水溶液を加えながら pH 7.4 に調製し、0.1mol/L リン酸緩衝液とした。これをオートクレーブにより滅菌処理(121℃、20 分)を行った。調製後は使用時まで冷蔵で保存した。

1)

名　　称	リン酸二水素ナトリウム二水和物（$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$）
製 造 元	和光純薬工業株式会社
ロット番号	SDM1133
保 存 方 法	室温保存
保 存 場 所	東京研究所　微生物試験室

2)

名　　称	リン酸水素二ナトリウム（Na_2HPO_4）
製 造 元	和光純薬工業株式会社
ロット番号	EWM2400
保 存 方 法	室温保存
保 存 場 所	東京研究所　微生物試験室

(5) トップアガー

以下に示す寒天を用いて、調製した軟寒天液（0.6 % Agar, 0.6 % NaCl）をオートクレーブにより滅菌（121℃、20 分処理）した後、*S. typhimurium* TA 株では 0.5 mmol/L *D*-ビオチン－0.5 mmol/L *L*-ヒスチジン溶液、*E. coli* 株では 0.5 mmol/L *L*-トリプトファン溶液をそれぞれ 1/10 容量となるように加え、調製した。調製後は室温で保存し、使用時は電子レンジで溶解後、固化を防ぐため 45℃の恒温槽で保温した。

1)

名　　称	Bacto Agar
製 造 元	Becton, Dickinson and Company
ロット番号	6275177
保 存 方 法	室温保存
保 存 場 所	東京研究所　微生物試験室

2)

名　　称	NaCl
製 造 元	和光純薬工業株式会社
ロット番号	DPK1032
保 存 方 法	室温保存
保 存 場 所	東京研究所　微生物試験室

3)

名　　称	*D*-ビオチン ((+)-Biotin、Vitamin H)
製 造 元	ICN Biomedicals, Inc.
ロット番号	3559H(予備試験)、3558H(本試験 1 回目、2 回目)
保 存 方 法	冷蔵保存、遮光
保 存 場 所	東京研究所　微生物試験室

4) 名　　称　　*L*-ヒスチジン塩酸塩一水和物
(*L*-Histidine Hydrochloride Monohydrate)
製 造 元　　和光純薬工業株式会社
ロット番号　　EWQ6361
保存方法　　室温保存、遮光
保存場所　　東京研究所　微生物試験室

5) 名　　称　　*L*-トリプトファン(*L*-Tryptophan)
製 造 元　　和光純薬工業株式会社
ロット番号　　EWP0422
保存方法　　室温保存、遮光
保存場所　　東京研究所　微生物試験室

4. 試験方法

(1) 識別方法

1) 菌株の識別

以下に示す色のマーカーで識別した。

S. typhimurium TA100	青
S. typhimurium TA1535	桃
E. coli WP2 *uvrA*	茶
S. typhimurium TA98	赤
S. typhimurium TA1537	緑

2) 濃度の識別

代謝活性化しない場合は「－」、代謝活性化する場合は「＋」とし、これに続けて陰性対照(Solvent Control)を「SC」、陽性対照(Positive Control)を「PC」、被験物質処理群を濃度の低い方から「1」、「2」、「3」･･･の番号を各菌の色のマーカーで記載し、識別した。

(2) 前培養

1) ニュートリエントブロス No.2 培養液 10mL を入れた滅菌済み L 字型試験管に凍結保存菌株を解凍した菌懸濁液を *S. typhimurium* TA 株は各 20 μL、*E. coli* 株は 10 μL 植菌した。なお、使用後の菌懸濁液は廃棄した。

2) これを振盪恒温槽（COOL BATH SHAKER ML-10 PU-6 接続型、タイテック株式会社）にセットし、プログラム制御により前培養開始まで 4℃水浴中で放置(6 時間 30 分)した後、37℃に上昇後 9 時間前培養した。

3) 前培養終了時に菌懸濁液の吸光度をデジタル比色計（Mini photo 518R、タイテック株式会社）で測定した。なお、菌懸濁液は使用まで室温下に維持した。それぞれの菌株の換算生菌数を表 3 に示した。

表 3　菌株の換算生菌数一覧

菌　株	菌　数(cells/mL)		
	予備試験	本試験 1 回目	本試験 2 回目
S. typhimurium TA100	5.58×10^9	5.37×10^9	5.55×10^9
S. typhimurium TA1535	4.75×10^9	4.71×10^9	4.74×10^9
E. coli WP2 *uvrA*	7.11×10^9	7.11×10^9	7.08×10^9
S. typhimurium TA98	5.04×10^9	4.89×10^9	5.02×10^9
S. typhimurium TA1537	4.18×10^9	4.15×10^9	4.22×10^9

(3) 本試験用量の設定

本試験の試験用量を設定するため、50 mg/mL の被験液を公比 4 で 6 段階希釈した 7 用量（1.22, 4.88, 19.5, 78.1, 313, 1250, 5000 μg/plate）を用い、予備試験を実施した。なお、予備試験の結果を別表 1 に示した。

予備試験の結果、本被験物質処理による生育阻害は、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。また、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、313 μg/plate 以上の用量において認められた。なお、本被験物質による着色は、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。

このため本試験の試験用量は、代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの菌株についても 313 μg/plate を最高用量として、以下公比 2 で 4 段階希釈した計 5 用量を設定した。

(4) プレート数

被験物質処理群、陰性対照及び陽性対照処理群について、予備試験ではそれぞれ 2 枚、本試験ではそれぞれ 3 枚のプレートを用いた。

(5) 試験操作

1) 滅菌した小試験管に調製した被験液、溶媒及び陽性対照溶液を 0.1mL 入れ、これに代謝活性化しない場合は 0.1 mol/L リン酸緩衝液（pH 7.4）0.5 mL を、代謝活性化する場合は S9 Mix 0.5 mL を加えた後、それぞれの小試験管に各菌懸濁液 0.1 mL を加えた。
2) 小試験管を攪拌後すぐに 37℃で 20 分間振盪しながらプレインキュベーションし、これに 45℃に維持されているトップアガーを 2.0 mL 加え攪拌後、最少グルコース寒天平板培地に均一に重層した。
3) 無菌試験として、調製した最高用量の被験液 0.1 mL 及び調製した S9Mix 0.5mL をそれぞれ小試験管に取り、これにトップアガーを 2.0mL 加えた後に最少グルコース寒天平板培地に均一に重層した。なお、これら 1)～3)の一連の操作は、紫外線吸収膜付蛍光灯下で実施した。
4) 最少グルコース寒天平板培地に重層したトップアガーが固化したことを確認し、最少グルコース寒天平板培地を逆さにしてインキュベータに入れ、37℃で 48 時間以上（予備試験：48.5 時間、本試験 1 回目：49.5 時間、本試験 2 回目：49 時間）培養した。

5) 培養後、寒天培地上の被験物質による沈殿及び着色を確認した結果、代謝活性化の有無にかかわらず 313 μg/plate 以上で沈殿が認められたため、目視による計数を行った。なお、陽性対照のみ自動コロニーカウンタ（コロニーアナライザーCA-11DSystems、システムサイエンス株式会社）を用いて計数（面積補正、補正値：1.21）した。また、実体顕微鏡を用いて生育阻害の有無を観察した。

5. 判定基準

被験物質処理群の復帰変異コロニー数が自然復帰変異コロニー数（陰性対照値）に対して 2 倍以上となる増加を示し、用量反応性及び再現性が認められた場合あるいは明確な用量反応性を示さない場合であっても自然復帰変異コロニー数の 2 倍以上に増加し、2 回の本試験で再現性が認められた場合に陽性と判定した。なお、本試験の測定結果については、平均値±標準偏差も併せて記載した。

試験結果及び考察

1. 試験結果

試験の結果を別表 1～3 及び図 1、2 に示した。なお、図は別表 2 より作成した。

(1) 培養終了後の観察結果

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、いずれの菌株においても 313 μg/plate 以上で認められた。また、被験物質による着色は、代謝活性化の有無にかかわらず認められなかった。なお、生育阻害の有無について実体顕微鏡を用いて観察した結果、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菌の生育阻害は認められなかった。

(2) 復帰突然変異コロニー数

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、陰性対照群と比較して 2 倍以上には増加せず、用量反応性も認められなかった。

(3) 試験系の成立条件

陽性対照値がそれぞれの菌株の陰性対照値に比較して 2 倍以上となる復帰変異コロニー数を示し、陰性対照値及び陽性対照値の復帰変異コロニー数が背景データの管理限界（平均値±3SD：別添）内であり、無菌試験及び試験操作において雑菌の混入などの異常も認められなかったため、試験が適切に実施されたものと判断した。

2. 考察

2 回の本試験ともに、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、本被験物質処理による復帰変異コロニー数は、いずれの試験用量においても陰性対照と比較して 2 倍以上となる再現性のある増加は認められず、用量反応性も認められなかった。

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。

以上の試験結果より、本試験条件下において代謝活性化の有無にかかわらず、テトラフェニルすず（IV）は、細菌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。

参考文献

(1) B.N.Ames, F.D.Lee and W.E.Durston: An Improved Bacterial Test System for the Detection and Classification of Mutagens and Carcinogens, Proc.Natl Acad.Sci.,USA, 70, No.3, pp.782-786, March 1973.

(2) J.McCann, N.E.Spingarn, J.Kobori and B.N.Ames: Detection of Carcinogens as Mutagens: Bacterial Tester Strains with R Factor Plasmids, Proc.Natl Acad.Sci., USA, 72, No.3, pp.979-983, March 1975.

(3) M.H.L.Green and W.J.Muriel: Mutagen Testing using Trp^+ Reversion in *Eschericha coli*, Mutation Res., 38, pp.3-32, 1976.

(4) T.Yahagi, M.Nagao, Y.Seino, T.Matsushima, T.Sugimura and M.Okada: Mutagenicities of *N*-nitrosamines on *Salmonella*, Mutation Res., 48, pp.121-130, 1977.

(5) Dorothy M. Maron and Bruce N. Ames: Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test, Mutation Res., 113, pp.173-215, 1983.

(6) 田島彌太郎，賀田恒夫，近藤宗平，外村晶（編）：環境変異原実験法，講談社，pp.56-68, 1980.

(7) 労働省安全衛生部化学物質調査課編：新・微生物を用いる変異原性試験ガイドブック，中央労働災害防止協会，1986.

(8) 石館 基（監修）：微生物を用いる変異原性試験データ集（能美健彦，松井道子編集），株式会社エル・アイ・シー，東京，1991.

（別表1）

試 験 結 果 表（予備試験）

被験物質の名称：テトラフェニルすず(Ⅳ)　　No. T-0060

試験実施期間		2007年6月22日 より 2007年6月25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	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
S9Mix (−)	陰性対照 (DMSO)	139 108 (124)	7 4 (6)	15 21 (18)	27 32 (30)	8 11 (10)
	1.22	115 93 (104)	5 8 (7)	17 16 (17)	18 27 (23)	16 8 (12)
	4.88	99 80 (90)	4 6 (5)	23 18 (21)	33 19 (26)	14 9 (12)
	19.5	120 110 (115)	5 2 (4)	22 14 (18)	21 21 (21)	9 6 (8)
	78.1	99 115 (107)	5 11 (8)	25 17 (21)	27 22 (25)	15 15 (15)
	313 #	109 103 (106)	6 8 (7)	10 17 (14)	28 18 (23)	8 14 (11)
	1250 #	110 125 (118)	4 7 (6)	12 16 (14)	24 16 (20)	11 11 (11)
	5000 #	101 101 (101)	7 4 (6)	8 23 (16)	13 14 (14)	9 7 (8)
S9Mix (＋)	陰性対照 (DMSO)	132 120 (126)	14 4 (9)	19 8 (14)	35 26 (31)	10 16 (13)
	1.22	131 134 (133)	8 12 (10)	19 11 (15)	35 34 (35)	13 16 (15)
	4.88	141 141 (141)	10 10 (10)	19 12 (16)	31 40 (36)	10 13 (12)
	19.5	138 98 (118)	6 11 (9)	13 19 (16)	44 30 (37)	13 12 (13)
	78.1	129 134 (132)	8 6 (7)	22 14 (18)	37 30 (34)	15 11 (13)
	313 #	75 108 (92)	7 6 (7)	12 11 (12)	37 37 (37)	12 6 (9)
	1250 #	119 136 (128)	8 8 (8)	16 17 (17)	30 50 (40)	14 9 (12)
	5000 #	114 141 (128)	4 6 (5)	17 20 (19)	38 41 (40)	12 14 (13)
陽性対照 S9Mixを必要としないもの	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	541 565 (553)	342 404 (373)	72 59 (66)	439 405 (422)	1934 1906 (1920)
陽性対照 S9Mixを必要とするもの	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	5.0	5.0
	コロニー数/プレート	1073 1113 (1093)	393 374 (384)	860 988 (924)	314 353 (334)	110 89 (100)

（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

#：被験物質の沈澱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 1回目）

被験物質の名称：テトラフェニルすず(VI)　　No. T-0060

試験実施期間		2007年7月2日 より 2007年7月5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	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
S9Mix (−)	陰性対照 (DMSO)	108 113 104 (108 ± 4.5)	13 14 10 (12 ± 2.1)	38 39 39 (39 ± 0.6)	20 16 20 (19 ± 2.3)	14 21 9 (15 ± 6.0)
	19.5	110 108 94 (104 ± 8.7)	11 17 12 (13 ± 3.2)	32 36 40 (36 ± 4.0)	16 20 17 (18 ± 2.1)	11 16 8 (12 ± 4.0)
	39.1	128 98 97 (108 ± 17.6)	8 11 12 (10 ± 2.1)	43 43 40 (42 ± 1.7)	18 11 17 (15 ± 3.8)	24 14 14 (17 ± 5.8)
	78.1	112 105 116 (111 ± 5.6)	6 15 6 (9 ± 5.2)	27 32 42 (34 ± 7.6)	17 16 8 (14 ± 4.9)	11 14 13 (13 ± 1.5)
	156	100 126 114 (113 ± 13.0)	15 13 12 (13 ± 1.5)	32 39 39 (37 ± 4.0)	20 25 20 (22 ± 2.9)	15 16 19 (17 ± 2.1)
	313 #	111 133 94 (113 ± 19.6)	8 10 11 (10 ± 1.5)	43 54 42 (46 ± 6.7)	16 17 17 (17 ± 0.6)	13 12 18 (14 ± 3.2)
S9Mix (＋)	陰性対照 (DMSO)	115 124 136 (125 ± 10.5)	15 17 9 (14 ± 4.2)	36 37 46 (40 ± 5.5)	19 15 20 (18 ± 2.6)	21 14 16 (17 ± 3.6)
	19.5	126 128 127 (127 ± 1.0)	14 16 9 (13 ± 3.6)	53 35 49 (46 ± 9.5)	16 15 19 (17 ± 2.1)	12 10 17 (13 ± 3.6)
	39.1	124 141 130 (132 ± 8.6)	7 12 9 (9 ± 2.5)	47 44 45 (45 ± 1.5)	26 22 8 (19 ± 9.5)	8 13 17 (13 ± 4.5)
	78.1	133 112 114 (120 ± 11.6)	14 12 17 (14 ± 2.5)	42 41 41 (41 ± 0.6)	12 15 13 (13 ± 1.5)	23 13 13 (16 ± 5.8)
	156	112 123 129 (121 ± 8.6)	11 22 17 (17 ± 5.5)	42 50 28 (40 ± 11.1)	13 15 21 (16 ± 4.2)	18 13 17 (16 ± 2.6)
	313 #	156 133 119 (136 ± 18.7)	10 15 8 (11 ± 3.6)	48 33 38 (40 ± 7.6)	15 13 10 (13 ± 2.5)	12 15 19 (15 ± 3.5)
陽性対照 S9Mixを必要としないもの	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	579 554 540 (558 ± 19.8)	305 330 369 (335 ± 32.3)	105 83 86 (91 ± 11.9)	458 433 381 (424 ± 39.3)	1522 1506 1620 (1549 ± 61.7)
陽性対照 S9Mixを必要とするもの	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	5.0	5.0
	コロニー数/プレート	929 946 927 (934 ± 10.4)	316 341 359 (339 ± 21.6)	1143 1011 979 (1044 ± 86.9)	322 333 358 (338 ± 18.4)	105 85 91 (94 ± 10.3)

(備考)

AF-2　：2-(2-ﾌﾘﾙ)-3-(5-ﾆﾄﾛ-2-ﾌﾘﾙ)ｱｸﾘﾙｱﾐﾄﾞ
SAZ　：ｱｼﾞ化ﾅﾄﾘｳﾑ
ICR-191　：2-ﾒﾄｷｼ-6-ｸﾛﾛ-9-[3-(2-ｸﾛﾛｴﾁﾙ)ｱﾐﾉﾌﾟﾛﾋﾟﾙｱﾐﾉ]ｱｸﾘｼﾞﾝ･2HCl
2AA　：2-ｱﾐﾉｱﾝﾄﾗｾﾝ
B[*a*]P　：ﾍﾞﾝｿﾞ[*a*]ﾋﾟﾚﾝ

#：被験物質による沈殿が認められたことを示す。
(　)内は、3枚のプレートの平均値及び標準偏差を示す。

(別表3)

試 験 結 果 表（本試験 2回目）

被験物質の名称：テトラフェニルすず(Ⅳ)　　No. T-0060

試験実施期間		2007年7月10日 より 2007年7月13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			WP2*uvrA*			TA98			TA1537		
S9Mix (−)	陰性対照 (DMSO)	109			12			35			36			9		
		94			11			28			40			13		
		114	(	106 ± 10.4)	10	(	11 ± 1.0)	30	(	31 ± 3.6)	32	(	36 ± 4.0)	22	(	15 ± 6.7)
	19.5	89			11			43			28			15		
		82			12			34			35			17		
		82	(	84 ± 4.0)	9	(	11 ± 1.5)	34	(	37 ± 5.2)	39	(	34 ± 5.6)	13	(	15 ± 2.0)
	39.1	113			8			28			23			18		
		88			8			28			33			17		
		92	(	98 ± 13.4)	13	(	10 ± 2.9)	31	(	29 ± 1.7)	33	(	30 ± 5.8)	15	(	17 ± 1.5)
	78.1	86			10			29			35			16		
		88			10			43			24			16		
		89	(	88 ± 1.5)	10	(	10 ± 0.0)	41	(	38 ± 7.6)	32	(	30 ± 5.7)	14	(	15 ± 1.2)
	156	91			9			35			26			9		
		89			12			38			24			16		
		89	(	90 ± 1.2)	10	(	10 ± 1.5)	32	(	35 ± 3.0)	28	(	26 ± 2.0)	17	(	14 ± 4.4)
	313 #	97			3			39			25			12		
		98			12			46			31			9		
		94	(	96 ± 2.1)	9	(	8 ± 4.6)	39	(	41 ± 4.0)	35	(	30 ± 5.0)	9	(	10 ± 1.7)
S9Mix (＋)	陰性対照 (DMSO)	105			8			37			63			12		
		93			9			32			56			21		
		71	(	90 ± 17.2)	9	(	9 ± 0.6)	35	(	35 ± 2.5)	19	(	46 ± 23.6)	15	(	16 ± 4.6)
	19.5	99			16			27			58			20		
		107			6			29			60			17		
		110	(	105 ± 5.7)	7	(	10 ± 5.5)	27	(	28 ± 1.2)	45	(	54 ± 8.1)	21	(	19 ± 2.1)
	39.1	80			9			39			47			21		
		91			8			32			54			17		
		97	(	89 ± 8.6)	7	(	8 ± 0.6)	42	(	38 ± 5.1)	50	(	50 ± 3.5)	15	(	18 ± 3.1)
	78.1	95			7			39			41			14		
		106			11			39			49			17		
		103	(	101 ± 5.7)	13	(	10 ± 3.1)	31	(	36 ± 4.6)	51	(	47 ± 5.3)	13	(	15 ± 2.1)
	156	102			4			30			47			16		
		88			6			33			51			19		
		100	(	97 ± 7.6)	7	(	6 ± 1.5)	34	(	32 ± 2.1)	54	(	51 ± 3.5)	17	(	17 ± 1.5)
	313 #	93			2			45			43			16		
		105			5			39			35			20		
		87	(	95 ± 9.2)	8	(	5 ± 3.0)	37	(	40 ± 4.2)	34	(	37 ± 4.9)	20	(	19 ± 2.3)
陽性対照 S9Mixを必要としないもの	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	499			320			110			440			1672		
		483			325			99			460			1413		
		481	(	488 ± 9.9)	318	(	321 ± 3.6)	114	(	108 ± 7.8)	511	(	470 ± 36.6)	1319	(	1468 ± 182.8)
陽性対照 S9Mixを必要とするもの	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			5.0			5.0		
	コロニー数/プレート	833			391			1109			278			106		
		863			401			1168			310			91		
		800	(	832 ± 31.5)	371	(	388 ± 15.3)	1148	(	1142 ± 30.0)	321	(	303 ± 22.3)	114	(	104 ± 11.7)

(備考)

AF-2　：2-(2-ﾌﾘﾙ)-3-(5-ﾆﾄﾛ-2-ﾌﾘﾙ)ｱｸﾘﾙｱﾐﾄﾞ
SAZ　：ｱｼﾞ化ﾅﾄﾘｳﾑ
ICR-191　：2-ﾒﾄｷｼ-6-ｸﾛﾛ-9-[3-(2-ｸﾛﾛｴﾁﾙ)ｱﾐﾉﾌﾟﾛﾋﾟﾙｱﾐﾉ]ｱｸﾘｼﾞﾝ･2HCl
2AA　：2-ｱﾐﾉｱﾝﾄﾗｾﾝ
B[*a*]P　：ﾍﾞﾝｿﾞ[*a*]ﾋﾟﾚﾝ

#：被験物質による沈殿が認められたことを示す。
(　)内は、3枚のプレートの平均値及び標準偏差を示す。

図 1

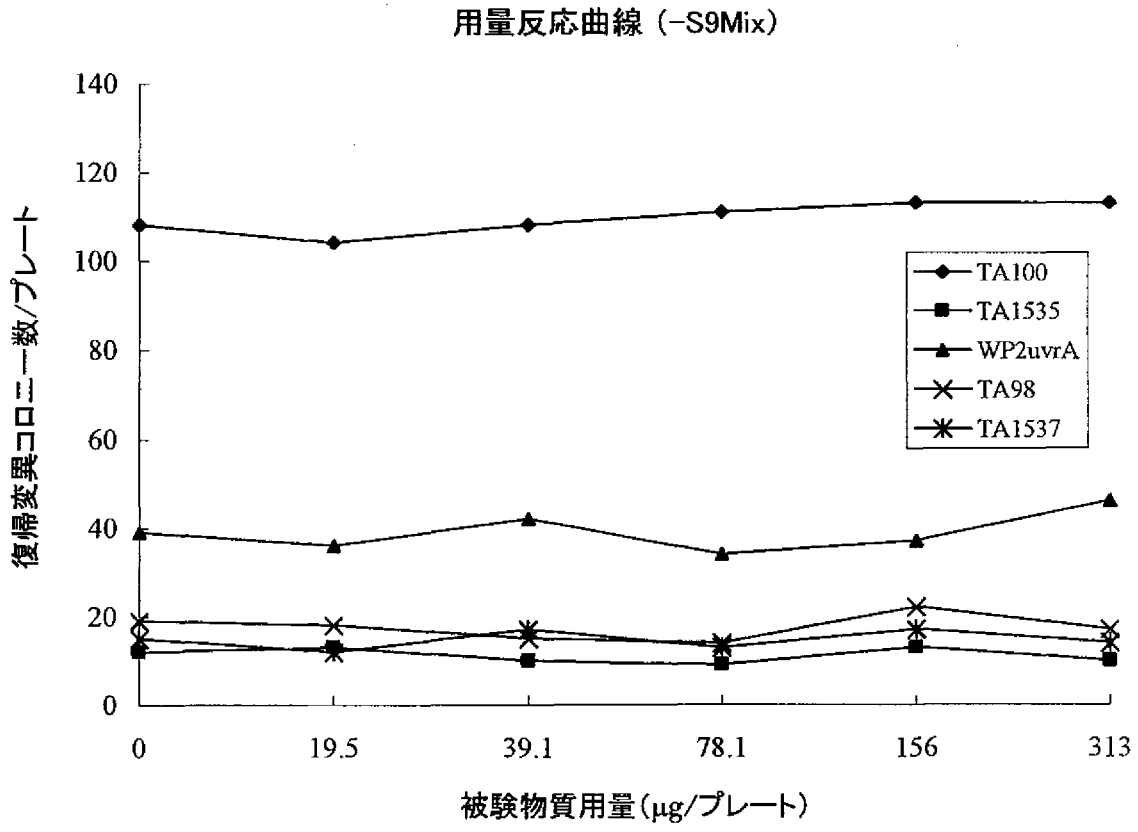
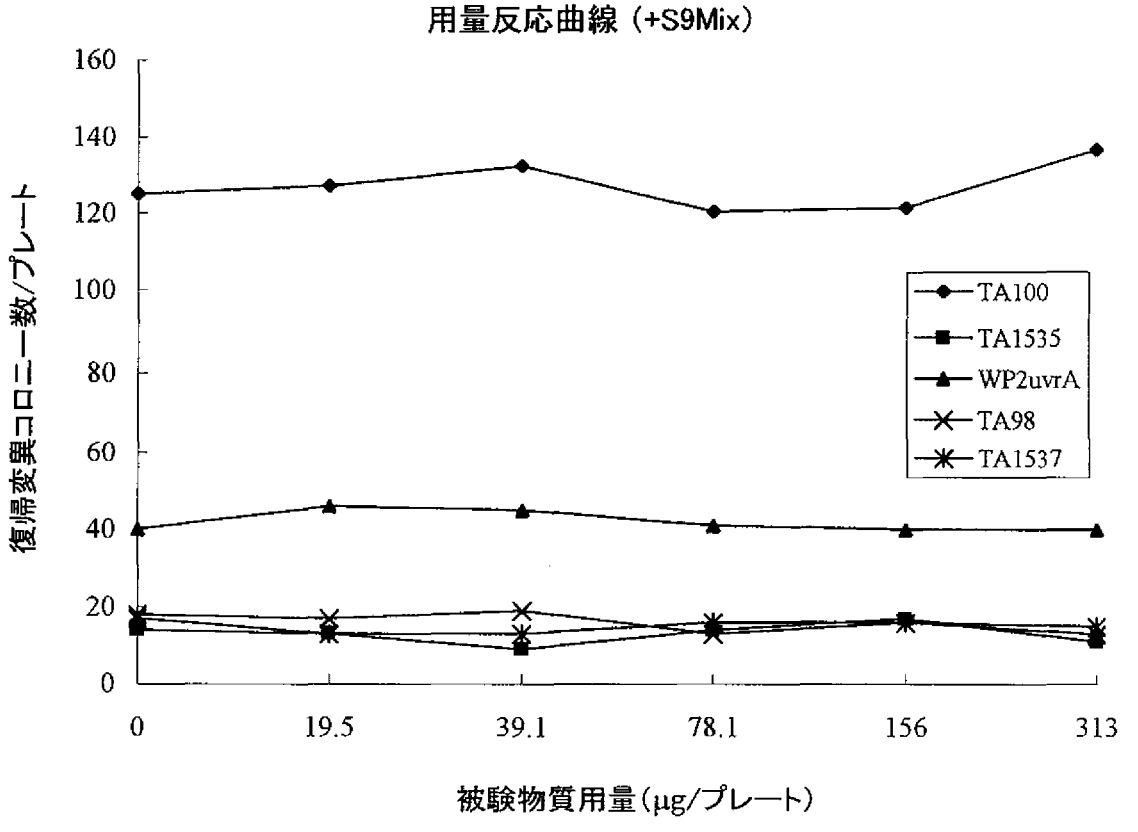

用量反応曲線（−S9Mix）
復帰変異コロニー数/プレート
140
120
100
80
60
40
20
0
0
19.5
39.1
78.1
156
313
被験物質用量(μg/プレート)
TA100
TA1535
WP2uvrA
TA98
TA1537

図 2


用量反応曲線（+S9Mix）
復帰変異コロニー数/プレート
160
140
120
100
80
60
40
20
0
0
19.5
39.1
78.1
156
313
被験物質用量(μg/プレート)
TA100
TA1535
WP2uvrA
TA98
TA1537