

最終報告書

Undecanal の 細菌を用いる復帰突然変異試験

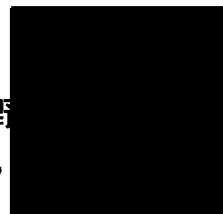
厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室 委託

試験施設

一般財団法人食品薬品安全センター 秦野

〒257-8523 神奈川県秦野市落合 729 番地の

TEL 0463-82-4751



試験委託者 厚生労働省医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室
(東京都千代田区霞が関 1-2-2)

試験番号 M-13-040

被験物質 Undecanal

試験項目 細菌を用いる復帰突然変異試験

試験開始日 2013 年 8 月 27 日

実験開始日 2013 年 9 月 17 日

実験終了日 2013 年 10 月 10 日

試験終了日 試験責任者の捺印日

試資料保管場所 資料保存施設

保管期間 試験終了後 10 年間
その後の保管については試験委託者と協議する。

運営管理者 一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所
所長 

この試験は、「新規化学物質等に係る試験の方法について」(平成 23 年 3 月 31 日付け、薬食発 0331 第 7 号厚生労働省医薬食品局長、平成 23・03・29 製局第 5 号経済産業省製造産業局長、環境企発 第 110331009 号環境省総合環境政策局長通知)に準拠し、「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」(平成 23 年 3 月 31 日付け、薬食発 0331 第 8 号厚生労働省医薬食品局長、平成 23・03・29 製局第 6 号経済産業省製造産業局長、環境企発 第 110331010 号環境省総合環境政策局長通知)を遵守して実施したものである。

2014 年 03 月 26 日

試験責任者 

試験従事者

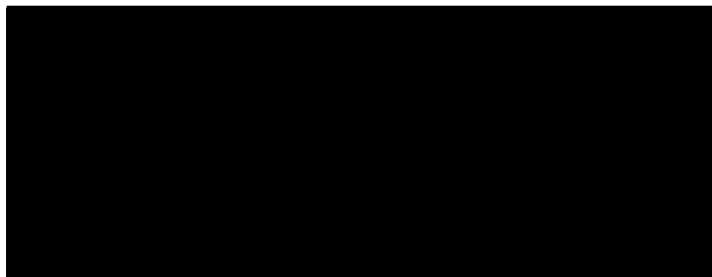
試験責任者

試験担当者

検体調製

試験操作

被験物質管理



目次

要約.....	5
試験目的	6
試験ガイドラインと GLP	6
材料と方法	6
1. 被験物質	6
2. 陽性対照物質	6
3. 検定菌	7
4. 試験材料	8
5. 被験物質調製液の調製	9
6. 試験操作	10
7. 結果の表示	12
8. 判定	12
予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わな かったこと	12
試験成績と考察	12
1. 用量設定試験	12
2. 本試験	13
参考文献	14
表	15
図	18
資料	22

(最終ページ:24 ページ)

信頼性保証書

要約

Undecanal の遺伝子突然変異誘発性の有無を調べるため、細菌を用いる復帰突然変異試験を実施し、陰性の結果を得た。

検定菌として、*Salmonella typhimurium* TA100、TA1535、TA98、TA1537 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* を用い、プレインキュベーション法により、S9 mix 非存在下および存在下で試験を行った。

1.50、5.00、15.0、50.0、150、500、1500 および 5000 µg/plate の 8 用量を設定して用量設定試験を行ったところ、以下の用量で生育阻害が認められた。

S9 mix 非存在下

TA100 および TA1535: 5.00 µg/plate 以上

WP2 *uvrA*、TA98 および TA1537: 15.0 µg/plate 以上

S9 mix 存在下

TA100: 50.0 µg/plate 以上

TA1535、WP2 *uvrA*、TA98 および TA1537: 150 µg/plate 以上

用量設定試験の結果に基づき、以下の用量を設定して、2 回の本試験（本試験 I および II）を行った。

S9 mix 非存在下

TA100 および TA1535: 0.147、0.293、0.586、1.17、2.34、4.69 および 9.38 µg/plate

WP2 *uvrA*、TA98 および TA1537: 0.586、1.17、2.34、4.69、9.38 および 18.8 µg/plate

S9 mix 存在下

TA100: 1.17、2.34、4.69、9.38、18.8、37.5 および 75.0 µg/plate

TA1535、WP2 *uvrA*、TA98 および TA1537: 4.69、9.38、18.8、37.5、75.0 および 150 µg/plate

その結果、2 回の本試験ともに、以下の用量で生育阻害が認められた。

S9 mix 非存在下

TA100 および TA1535: 4.69 µg/plate 以上

WP2 *uvrA*、TA98 および TA1537: 9.38 µg/plate 以上

S9 mix 存在下

TA100: 75.0 µg/plate

TA1535、WP2 *uvrA*、TA98 および TA1537: 150 µg/plate

また、2 回の本試験ともに、用いたいずれの検定菌においても、S9 mix の有無にかかわらず、陰性対照値の 2 倍以上となる変異コロニー数の増加は認められなかった。

以上の結果に基づき、undecanal は、用いた試験系において遺伝子突然変異誘発性を有しない（陰性）と判定した。

試験目的

Undecanal の遺伝子突然変異誘発性(変異原性)の有無を検討し、安全性評価の資料とするために、細菌を用いる復帰突然変異試験をプレインキュベーション法¹⁾により実施した。

試験ガイドラインと GLP

この試験は、「新規化学物質等に係る試験の方法について」(平成 23 年 3 月 31 日付け、薬食発 0331 第 7 号厚生労働省医薬食品局長、平成 23・03・29 製局第 5 号経済産業省製造産業局長、環保企発第 110331009 号環境省総合環境政策局長通知)に準拠し、「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」(平成 23 年 3 月 31 日付け、薬食発 0331 第 8 号厚生労働省医薬食品局長、平成 23・03・29 製局第 6 号経済産業省製造産業局長、環保企発第 110331010 号環境省総合環境政策局長通知)を遵守して実施した。

材料と方法

1. 被験物質

被験物質である undecanal[化学名(IUPAC 名):ウンデカナル、略称:Und、CAS 番号:112-44-7、分子式: $C_{11}H_{22}O$ 、分子量:170.30、ロット番号:N633K、純度:98.8%(GC)、不純物:購入元からのデータなし、資料 1]は、無色〜わずかにうすい黄色の透明な液体である。被験物質の物理化学的性状等を資料 2に示す。被験物質は東京化成工業株式会社から購入し、使用時まで密閉容器で冷蔵(実測値:4〜7℃)、暗所で保管し、開封後は窒素充填して保管した。

被験物質原体の安定性については、製品安全データシート中に、適切な条件下においては安定であることが記載されている。また、当試験施設において、本被験物質を用いる各種毒性試験の実験開始前と実験終了後に、被験物質の性状の確認および赤外吸収スペクトルを測定し、色調や性状、スペクトルに変化がないことを確認した(試験番号:Q-13-011)。

2. 陽性対照物質

用いた陽性対照物質および調製法は以下のとおりである。

名称	略称	ロット番号(購入日)	製造者	純度
2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド	AF-2	STQ3987 (2010 年 8 月 6 日)	和光純薬工業	99.7%
アジ化ナトリウム	SA	HLP7075 (2010 年 8 月 3 日)	和光純薬工業	100.2%
9-アミノアクリジン	9AA	4785KA (2010 年 8 月 24 日)	MP Biomedicals	98.6%
ベンゾ[a]ピレン	B[a]P	L16T027 (2010 年 8 月 6 日)	Alfa Aesar	97.6%
2-アミノアントラセン	2AA	EPM0250 (2010 年 8 月 3 日)	和光純薬工業	96.3%

AF-2、9AA、B[a]P および 2AA はジメチルスルホキシド(DMSO、ロット番号: WEF4001 および PDR5321、和光純薬工業)に、SA は日局注射用水(製造番号: K2F95、大塚製薬工場)に溶解して所定の濃度に調製したのち、冷凍保存(設定温度: -20℃)し、調製後 6 か月以内に用時解凍して用いた。各陽性対照物質調製液の調製濃度および添加量を以下に示す。

菌 株	S9 mix 非存在下				S9 mix 存在下			
	物質名	調製濃度 (μg/mL)	添加量 (μL/plate)	用量 (μg/plate)	物質名	調製濃度 (μg/mL)	添加量 (μL/plate)	用量 (μg/plate)
<i>Salmonella typhimurium</i>								
TA100	AF-2	0.1	100	0.01	B[a]P	50	100	5
TA1535	SA	5	100	0.5	2AA	100	20	2
TA98	AF-2	1	100	0.1	B[a]P	50	100	5
TA1537	9AA	800	100	80	B[a]P	50	100	5
<i>Escherichia coli</i>								
WP2 <i>uvrA</i>	AF-2	0.1	100	0.01	2AA	100	100	10

各検定菌に用いた陽性対照物質は、当試験施設で十分な蓄積データが得られている物質および用量とした。

3. 検定菌

「新規化学物質等に係る試験の方法について」に従い、試験には、ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) TA100、TA1535、TA98、TA1537 および大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2 *uvrA* を用いた。

S. typhimurium TA100、TA1535、TA98、TA1537 の 4 菌株は 1997 年 8 月 7 日に、*E. coli* WP2 *uvrA* 株は 1997 年 4 月 9 日に、いずれも日本バイオアッセイ研究センターの松島泰次郎博士より分与された。*S. typhimurium* の 4 菌株を用いる試験は、ヒスチジン要求性から非要求性への復帰突然変異²⁾、*E. coli* WP2 *uvrA* 株を用いる試験は、トリプトファン要求性から非要求性への復帰突然変異³⁾を指標とした遺伝子突然変異誘発性の検出系である。

検定菌は冷凍保存(設定温度: -80℃)したもの(凍結保存菌)を、調製後 6 か月以内に用時解凍して

試験に用いた。凍結保存菌は、液体培地にて37℃で静止期の初期まで培養した菌液0.8 mLに対し、滅菌DMSOを0.07 mLの割合で加えて混合したものをプラスチックチューブに分注し、急速凍結して調製したものであり、調製時に、アミノ酸要求性、UV感受性、膜変異(*rfa*)、アンピシリン耐性因子 pKM101(プラスミド)の有無および陰性対照と陽性対照の変異コロニー数について調べ、特性が適正であることが確認されている。

4. 試験材料

1) 最少グルコース寒天平板培地

最少グルコース寒天平板培地(ロット番号:DZAE7C01、2013年7月12日製造、極東製薬工業)を購入して用いた。なお、培地1 Lあたりの組成は以下のとおりで、径90 mmのシャーレ1枚あたり30 mLを流して固めたものである。

硫酸マグネシウム・七水和物	0.2	g
クエン酸・一水和物	2	g
リン酸水素二カリウム	10	g
リン酸二水素アンモニウム	1.92	g
水酸化ナトリウム	0.66	g
グルコース	20	g
大洋寒天(ロット番号:BM-M5-252、SSK セールス)	15	g

2) トップアガー

①の水溶液をオートクレーブ滅菌後、フィルター滅菌した②または③を容量比10:1の割合で混合して用いた。

①	バクトアガー(Difco)	0.6 w/v%
	塩化ナトリウム	0.5 w/v%
②	<i>S. typhimurium</i> 用	
	L-ヒスチジン	0.5 mmol/L
	D-ビオチン	0.5 mmol/L
③	<i>E. coli</i> 用	
	L-トリプトファン	0.5 mmol/L

3) S9 mix の組成および調製

S9 mix 1 mLあたりの組成は以下のとおりで、用時氷冷下で混合して調製した。

成 分	S9 mix 1 mL 中の量	濃度
S9 ^{*1}	0.1 mL	10 vol%
0.2 mol/L ナトリウム-リン酸緩衝液(pH 7.4)	0.5 mL	100 µmol/mL
補酵素溶液 ^{*2}	0.38 mL	—
塩化カルウム	—	33 µmol/mL
グルコース-6-リン酸	—	5 µmol/mL
NADH	—	4 µmol/mL
NADPH	—	4 µmol/mL
0.4 mol/L 塩化マグネシウム溶液	0.02 mL	8 µmol/mL

NADH: Nicotinamide-adenine dinucleotide, reduced form, disodium salt

NADPH: Nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate, reduced form, tetrasodium salt

^{*1}: S9 (ロット番号: RAA20130802、2013 年 8 月 2 日製造、キッコーマンバイオケミファ) は、フェノバルビタール (PB) および 5,6-ベンゾフラボン (BF) を腹腔内投与 (1 日目 PB 30 mg/kg、2 日目 PB 60 mg/kg、3 日目 PB 60 mg/kg + BF 80 mg/kg、4 日目 PB 60 mg/kg) した 7 週齢の雄 Sprague-Dawley 系ラット (体重: 189~237 g) の肝臓から調製したものを購入後、冷凍保存 (設定温度: -80℃) して、製造後 6 か月以内に用時解凍して試験に用いた。

^{*2}: 補酵素溶液は、上記の成分を混合してフィルター滅菌したのち、冷凍保存 (設定温度: -80℃) し、調製後 6 か月以内に用時解凍して試験に用いた。

5. 被験物質調製液の調製

溶解性の予備検討の結果、被験物質は試験に必要な濃度 (50.0 mg/mL) で水および DMSO に不溶であったが、アセトンには 170.3 mg/mL で溶解した。したがって、媒体にはアセトンを用いた。

試験に際しては、秤量した被験物質を、アセトン (ロット番号: TLE3244、和光純薬工業、試薬特級、純度 99.5% 以上) に溶解して最高濃度 (100 mg/mL) の被験物質調製液を調製し [調製量: (用量設定試験) 2.0 mL 以上、(本試験 I および II) 1.0 mL 以上]、以下同媒体で段階希釈した。被験物質調製液は用時調製し、媒体添加後 22 分以内 (室温: 25℃、用量設定試験)、34 分以内 (室温: 25℃、本試験 I) および 31 分以内 (室温: 25℃、本試験 II) に使用した。被験物質調製液の調製濃度を以下に示す。

用量設定試験: 0.0300、0.100、0.300、1.00、3.00、10.0、30.0 および 100 mg/mL

本試験 I および II: 0.00293、0.00586、0.0117、0.0234、0.0469、0.0938、0.188、0.375、0.750、1.50、3.00 および 100* mg/mL

*: 本試験 I および II における 100 mg/mL 調製液は、被験物質調製液の調製にのみ使用し、試験には用いなかった。

媒体中での被験物質の安定性については、当試験施設において室温、遮光下で保管した 0.01 mg/mL および 200 mg/mL の濃度の試験液について、調製後 4 時間以上の安定性が確認されている (試験番号: Q-13-011)。また、被験物質調製液 (原液) の調製時に目視により、発熱、発泡などの変化がないことを確認した。

含量試験については、「医薬品・化学物質 GLP 解説 (2002)、薬事日報社」に基づき実施しなかった。

6. 試験操作

1) 試験菌液の作製

ニュートリエントブロス No. 2(ロット番号:941971、Oxoid)を 12 mL 入れた L 字型試験管(容積:29 mL)に、解凍した凍結保存菌 24 μ L(TA100、TA1535、TA98、TA1537 および WP2 *uvrA*)をすみやかに接種し、4℃で保冷後、37℃で 10 時間、往復振とう培養したものを試験菌液とした。振とうには DOUBLE SHAKER NR-3(TAITEC)を用い、振幅は 25 mm、振とう回数は毎分 100 回とした。検定菌の増殖の確認のため、レシオビーム分光光度計(日立 U-1900 形)(HITACHI)により、試験菌液の吸光度を 660 nm で測定した。また、段階希釈法により生菌数を求めた。660 nm の吸光度の測定値および生菌数を以下に示す。

試験の種類		検定菌				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
用量設定試験	OD ₆₆₀	1.812	1.818	1.847	1.856	1.818
	生菌数 ($\times 10^9$ cells/mL)	1.28	2.68	3.73	2.50	1.19
本試験 I	OD ₆₆₀	1.781	1.800	1.841	1.866	1.825
	生菌数 ($\times 10^9$ cells/mL)	2.31	2.93	3.84	2.67	1.18
本試験 II	OD ₆₆₀	1.818	1.904	1.892	1.896	1.839
	生菌数 ($\times 10^9$ cells/mL)	2.31	2.81	3.68	2.51	1.42

各試験菌液の 660 nm の吸光度の測定値は、2012 年度の背景データ(当試験施設)の平均値の 90% 以上であった。また、各試験菌液の生菌数は 1×10^9 cells/mL 以上であった。

2) 試験法

Ames らの標準法²⁾を参考にして、プレインキュベーション法¹⁾により、1 回の用量設定試験と 2 回の本試験を実施した。試験は、被験物質をそのまま検定菌に作用させる S9 mix 非存在下、および哺乳動物(ラット)のもつ薬物代謝酵素によって産生される被験物質の代謝物の遺伝子突然変異誘発性を試験する S9 mix 存在下で行った。

小試験管中に、被験物質調製液 0.05 mL、S9 mix 非存在下では 0.1 mol/L ナトリウム-リン酸緩衝液(pH 7.4)0.5 mL、S9 mix 存在下では S9 mix 0.5 mL、試験菌液 0.1 mL を混合し、37℃で 20 分間プレインキュベーションしたのち、2 mL のトップアガーを加えて混和し、最少グルコース寒天平板培地上に流して固めた。また、被験物質調製液のかわりに使用媒体 0.05 mL または陽性対照物質溶液を加えて、それぞれ陰性対照および陽性対照とした。

培養は 37℃で 48 時間行い、出現した変異コロニー数を、コロニーアナライザー(CA-11、システムサイエンス、面積補正有り)または目視により計測した。被験物質に由来する沈殿の有無は、目視により観察

した。また、生育阻害の有無については、目視あるいは実体顕微鏡下で、寒天表面の菌叢の状態から判断した。平板は各用量につき用量設定試験では 1 枚、本試験では 2 枚を使用し、陰性および陽性対照では、各試験とも 2 枚を使用した。陰性および陽性対照の変異コロニー数の平均値を、それぞれ陰性対照値および陽性対照値とした。

3) 試験用量

用量設定試験においては、「新規化学物質等に係る試験の方法について」に従い、すべての検定菌で最高用量を 5000 µg/plate とし、1.50、5.00、15.0、50.0、150、500、1500 および 5000 µg/plate の 8 用量を設定した。

本試験 I および II においては、用量設定試験に基づき、以下の用量を設定した。

S9 mix 非存在下

TA100 および TA1535:0.147、0.293、0.586、1.17、2.34、4.69 および 9.38 µg/plate

WP2 *uvrA*、TA98 および TA1537:0.586、1.17、2.34、4.69、9.38 および 18.8 µg/plate

S9 mix 存在下

TA100:1.17、2.34、4.69、9.38、18.8、37.5 および 75.0 µg/plate

TA1535、WP2 *uvrA*、TA98 および TA1537:4.69、9.38、18.8、37.5、75.0 および 150 µg/plate

4) 無菌試験

小試験管中に、最高用量の被験物質調製液 0.05 mL と 0.1 mol/L ナトリウムリン酸緩衝液 (pH 7.4) 0.5 mL、あるいは S9 mix 0.5 mL のみを入れ、37℃で 20 分間プレインキュベーションしたのち、2 mL のトッパアガー (*S. typhimurium* 用)を加えて混合し、それぞれ最少グルコース寒天平板培地上に流して固めた。37℃で 48 時間培養後、雑菌の混入の有無を調べた。

5) 識別法

平板側面に識別番号を記載した。S9 mix 非存在下は黒、S9 mix 存在下は赤の色で識別した。菌の識別は、TA100 は 0、TA1535 は 5、TA98 は 9、TA1537 は 7、WP2 *uvrA* は W とした。用量の識別は、菌の識別番号の右に用量の低いものから 1、2、3、・・・と記入した。陰性対照および陽性対照は、菌の識別番号の右に各々 0 および P と記入して識別した。試験の識別は、試験番号のかわりに菌の識別番号の左に 1 と記入した。生菌数測定における平板の識別は、菌の識別番号の左に VC と記入した。無菌試験における平板の識別は、被験物質については 1 のみを記入し、S9 mix については S9 と記入した。

6) 背景データによる管理

陰性対照値および陽性対照値が、当試験施設における背景データの変動範囲内 (平均値 $\pm 3 \times$ 標準偏差) から外れた場合には、該当する検定菌について再度、同一用量を用いて試験を実施し、再試験のデータを採用することとした。なお、2012 年度に実施した各試験の陰性対照値および陽性対照値を背景データとした (資料 3)。

当該試験において、再試験は実施しなかった。

7. 結果の表示

結果の表示は、各々の平板における変異コロニー数の実測値とその平均値(小数点以下第一位を四捨五入)を示し、用量－反応曲線の図を添付した。また、被験物質に由来する沈殿および生育阻害が認められた場合は、その旨表示することとした。

8. 判定

用いた 5 種の検定菌のうち、1 種以上の検定菌の S9 mix 非存在下あるいは S9 mix 存在下において、被験物質を含有する平板上における変異コロニー数の平均値が、陰性対照値の 2 倍以上に増加し、かつ、その増加に用量依存性あるいは再現性が認められた場合に、当該試験系において遺伝子突然変異誘発性を有する(陽性)と判定することとした。なお、結果の判定に統計学的手法は用いなかった。

予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと

試験期間中に、「予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態及び試験計画書に従わなかったこと」はなかった。

試験成績と考察

1. 用量設定試験

Undecanal について、1.50、5.00、15.0、50.0、150、500、1500 および 5000 µg/plate の 8 用量を設定して用量設定試験を行った(表 1)。その結果、以下の用量で生育阻害が認められた。

S9 mix 非存在下

TA100 および TA1535: 5.00 µg/plate 以上

WP2 *uvrA*、TA98 および TA1537: 15.0 µg/plate 以上

S9 mix 存在下

TA100: 50.0 µg/plate 以上

TA1535、WP2 *uvrA*、TA98 および TA1537: 150 µg/plate 以上

被験物質に由来する沈殿は、S9 mix 非存在下においては 1500 µg/plate 以上の用量で、S9 mix 存在下においては 5000 µg/plate の用量で認められた。

以上の結果から、2 回の本試験(本試験 I および II)における最高用量を、S9 mix 非存在下における TA100 および TA1535 においては 9.38 µg/plate、WP2 *uvrA*、TA98 および TA1537 においては 18.8 µg/plate、S9 mix 存在下における TA100 においては 75.0 µg/plate、TA1535、WP2 *uvrA*、TA98 および TA1537 においては 150 µg/plate とした。

2. 本試験

用量設定試験の結果に基づき、以下の用量を設定して、本試験ⅠおよびⅡを行った(本試験Ⅰ:表 2、図 1および図 2、本試験Ⅱ:表 3、図 3および図 4)。

S9 mix 非存在下

TA100 および TA1535:0.147、0.293、0.586、1.17、2.34、4.69 および 9.38 µg/plate

WP2 *uvrA*、TA98 および TA1537:0.586、1.17、2.34、4.69、9.38 および 18.8 µg/plate

S9 mix 存在下

TA100:1.17、2.34、4.69、9.38、18.8、37.5 および 75.0 µg/plate

TA1535、WP2 *uvrA*、TA98 および TA1537:4.69、9.38、18.8、37.5、75.0 および 150 µg/plate

2 回の本試験の結果、以下の用量で生育阻害が認められた。

S9 mix 非存在下

TA100 および TA1535:4.69 µg/plate 以上

WP2 *uvrA*、TA98 および TA1537:9.38 µg/plate 以上

S9 mix 存在下

TA100:75.0 µg/plate

TA1535、WP2 *uvrA*、TA98 および TA1537:150 µg/plate

被験物質に由来する沈殿は、S9 mix 非存在下および存在下ともに、いずれの用量においても認められなかった。また、2 回の本試験ともに、用いたいずれの検定菌においても、S9 mix の有無にかかわらず、陰性対照値の 2 倍以上となる変異コロニー数の増加は認められなかった。

すべての試験において、用いた最高用量の被験物質調製液および S9 mix への雑菌の混入は認められなかった。また、いずれの検定菌においても陽性対照物質の遺伝子突然変異誘発性が検出され、陽性対照値および陰性対照値は、ともに背景データの変動範囲内(平均値±3×標準偏差)であったことから、当該試験系の妥当性が確認された。

Undecanal については、当試験施設で実施したチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験(試験番号:G-13-020)で、陽性の結果が得られている。なお、当該物質は、復帰突然変異試験で陰性、V79 細胞を用いた遺伝子突然変異試験で陰性、ヒトリンパ球を用いた *in vitro* 小核試験で陰性の結果が報告されている⁴⁾。また、関連物質である undecane および *n*-pentadecane に関しては、復帰突然変異試験で陰性、チャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験で陰性の結果が報告されている⁵⁾⁶⁾。

以上の結果から、undecanal は、用いた試験系において遺伝子突然変異誘発性を有しない(陰性)と判定した。

参考文献

- 1) Matsushima, T., Sugimura, T., Nagao, M., Yahagi, T., Shirai, A., Sawamura, M.: Factors modulating mutagenicity in microbial tests. in “Short-term Test Systems for Detecting Carcinogens” Norpoth, K. H., Garner, R. C. eds, Springer, Berlin-Heidelberg-New York (1980) pp. 273-285
- 2) Maron, D. M., Ames, B. N.: Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutation Research 113: 173-215 (1983)
- 3) Green, M. H. L.: Mutagen testing using Trp⁺ reversion in *Escherichia coli*. in “Handbook of Mutagenicity Test Procedures” Kilbey, B. J., Legator, M., Nichols, W., Ramel, C. eds, Elsevier, Amsterdam (1984) pp. 161-187
- 4) European Chemicals Agency website:
http://apps.echa.europa.eu/registered/data/dossiers/DISS-9d84f5d2-6b83-52c9-e044-00144f67d249/DISS-9d84f5d2-6b83-52c9-e044-00144f67d249_DISS-9d84f5d2-6b83-52c9-e044-00144f67d249.html
- 5) 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室 監修、化学物質毒性試験報告 Vol. 4、化学物質点検推進連絡協議会、東京(1996)、p.587-614
- 6) 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室 監修、化学物質毒性試験報告 Vol. 1、化学物質点検推進連絡協議会、東京(1994)、p.433-455

表 1 Undecanal の細菌を用いる復帰突然変異試験(用量設定試験)

代謝活性化 系の有無	被験物質用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	試験実施期間: 2013年9月17日より2013年9月20日					
		復帰突然変異数 コロニー数/plate (平均)					
		塩基対置換型			フレームシフト型		
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
S9 mix (-)	0 (陰性対照)	90 80 (85)	6 10 (8)	30 35 (33)	16 11 (14)	3 6 (5)	
	1.50	97	7	34	20	8	
	5.00	81 *	12 *	27	9	6	
	15.0	0 *	0 *	10 *	0 *	0 *	
	50.0	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	
	150	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	
	500	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	
	1500 †	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	
	5000 †	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	
S9 mix (+)	0 (陰性対照)	102 102 (102)	9 8 (9)	27 28 (28)	31 30 (31)	14 12 (13)	
	1.50	99	5	31	22	9	
	5.00	73	13	30	33	11	
	15.0	94	8	36	26	12	
	50.0	86 *	11	25	38	16	
	150	0 *	0 *	29 *	0 *	0 *	
	500	0 *	0 *	21 *	0 *	0 *	
	1500	0 *	0 *	13 *	0 *	0 *	
	5000 †	0 *	0 *	10 *	0 *	0 *	
陽性 対照	S9 mixを 必要と しないもの	名称	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9AA
		用量($\mu\text{g}/\text{plate}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
		コロニー数/plate	307 352 (330)	475 478 (477)	103 104 (104)	463 477 (470)	514 401 (458)
	S9 mixを 必要と するもの	名称	B[a]P	2AA	2AA	B[a]P	B[a]P
		用量($\mu\text{g}/\text{plate}$)	5	2	10	5	5
		コロニー数/plate	1006 940 (973)	382 418 (400)	561 468 (515)	324 351 (338)	167 152 (160)

陰性対照, アセトン

AF-2, 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide; SA, Sodium azide; 9AA, 9-Aminoacridine; B[a]P, Benzo[a]pyrene; 2AA, 2-Aminoanthracene

†, 沈殿が認められた。

*, 生育阻害が認められた。

表 2 Undecanal の細菌を用いる復帰突然変異試験(本試験 I)

代謝活性化 系の有無	被験物質用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	試験実施期間:2013年10月1日より2013年10月4日					
		復帰突然変異数 コロニー数/plate(平均)					
		塩基対置換型			フレームシフト型		
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
S9 mix (-)	0 (陰性対照)	101 120 (111)	17 17 (17)	21 22 (22)	23 33 (28)	7 6 (7)	
	0.147	135 123 (129)	18 20 (19)	NT	NT	NT	
	0.293	129 95 (112)	20 13 (17)	NT	NT	NT	
	0.586	103 109 (106)	15 17 (16)	19 17 (18)	24 25 (25)	9 6 (8)	
	1.17	96 119 (108)	15 19 (17)	21 24 (23)	18 26 (22)	7 6 (7)	
	2.34	112 107 (110)	18 15 (17)	22 24 (23)	21 25 (23)	5 8 (7)	
	4.69	114 * 134 * (124)	13 * 15 * (14)	22 25 (24)	29 30 (30)	8 4 (6)	
	9.38	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	18 * 16 * (17)	9 * 14 * (12)	6 * 7 * (7)	
	18.8	NT	NT	9 * 1 * (5)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	
S9 mix (+)	0 (陰性対照)	105 143 (124)	15 13 (14)	36 29 (33)	38 33 (36)	20 14 (17)	
	1.17	116 115 (116)	NT	NT	NT	NT	
	2.34	107 107 (107)	NT	NT	NT	NT	
	4.69	134 109 (122)	16 18 (17)	26 23 (25)	34 29 (32)	13 14 (14)	
	9.38	120 128 (124)	15 13 (14)	26 28 (27)	25 36 (31)	14 19 (17)	
	18.8	128 126 (127)	12 13 (13)	18 22 (20)	37 38 (38)	15 17 (16)	
	37.5	128 119 (124)	17 19 (18)	33 19 (26)	32 37 (35)	20 18 (19)	
	75.0	94 * 90 * (92)	15 14 (15)	29 32 (31)	46 30 (38)	14 13 (14)	
	150	NT	0 * 0 * (0)	30 * 29 * (30)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	
陽性 対照	S9 mixを 必要とし ないもの	名称	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9AA
		用量($\mu\text{g}/\text{plate}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
		コロニー数/plate	454 457 (456)	502 484 (493)	109 116 (113)	492 486 (489)	349 393 (371)
	S9 mixを 必要とす るもの	名称	B[a]P	2AA	2AA	B[a]P	B[a]P
		用量($\mu\text{g}/\text{plate}$)	5	2	10	5	5
		コロニー数/plate	1180 1335 (1258)	371 436 (404)	440 376 (408)	308 344 (326)	166 160 (163)

陰性対照, アセトン

AF-2, 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide; SA, Sodium azide; 9AA, 9-Aminoacridine; B[a]P, Benzo[a]pyrene; 2AA, 2-Aminoanthracene

*, 生育阻害が認められた。

NT, 実施せず。

表 3 Undecanal の細菌を用いる復帰突然変異試験(本試験 II)

代謝活性化 系の有無	被験物質用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	試験実施期間: 2013年10月7日より2013年10月10日					
		復 帰 変 異 数 コロニー数/plate (平均)					
		塩 基 対 置 換 型			フ レ ー ム シ フ ト 型		
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
S9 mix (-)	0 (陰性対照)	109 116 (113)	11 7 (9)	26 18 (22)	22 21 (22)	11 8 (10)	
	0.147	126 103 (115)	12 8 (10)	NT	NT	NT	
	0.293	127 82 (105)	7 4 (6)	NT	NT	NT	
	0.586	113 108 (111)	12 8 (10)	24 21 (23)	27 20 (24)	8 15 (12)	
	1.17	93 114 (104)	10 12 (11)	28 23 (26)	25 23 (24)	7 12 (10)	
	2.34	97 115 (106)	5 11 (8)	18 30 (24)	14 20 (17)	11 13 (12)	
	4.69	103 * 88 * (96)	3 * 7 * (5)	13 16 (15)	33 21 (27)	7 13 (10)	
	9.38	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	19 * 19 * (19)	15 * 11 * (13)	1 * 1 * (1)	
	18.8	NT	NT	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	
S9 mix (+)	0 (陰性対照)	110 99 (105)	6 9 (8)	22 25 (24)	28 22 (25)	24 20 (22)	
	1.17	122 101 (112)	NT	NT	NT	NT	
	2.34	115 136 (126)	NT	NT	NT	NT	
	4.69	127 98 (113)	12 6 (9)	27 22 (25)	25 28 (27)	17 14 (16)	
	9.38	118 146 (132)	6 7 (7)	27 26 (27)	30 28 (29)	16 14 (15)	
	18.8	118 115 (117)	11 9 (10)	23 22 (23)	25 38 (32)	16 13 (15)	
	37.5	130 119 (125)	7 6 (7)	24 22 (23)	34 29 (32)	17 15 (16)	
	75.0	68 * 86 * (77)	7 7 (7)	13 30 (22)	29 24 (27)	18 17 (18)	
	150	NT	0 * 0 * (0)	31 * 20 * (26)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	
陽 性 対 照	S9 mixを 必要とし ないもの	名称	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9AA
		用量($\mu\text{g}/\text{plate}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
		コロニー数/plate	503 500 (502)	435 430 (433)	112 128 (120)	506 501 (504)	442 341 (392)
	S9 mixを 必要とす るもの	名称	B[a]P	2AA	2AA	B[a]P	B[a]P
		用量($\mu\text{g}/\text{plate}$)	5	2	10	5	5
		コロニー数/plate	1283 1269 (1276)	414 397 (406)	403 504 (454)	343 306 (325)	145 156 (151)

陰性対照, アセトン

AF-2, 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide; SA, Sodium azide; 9AA, 9-Aminoacridine; B[a]P, Benzo[a]pyrene; 2AA, 2-Aminoanthracene

*, 生育阻害が認められた。

NT, 実施せず。

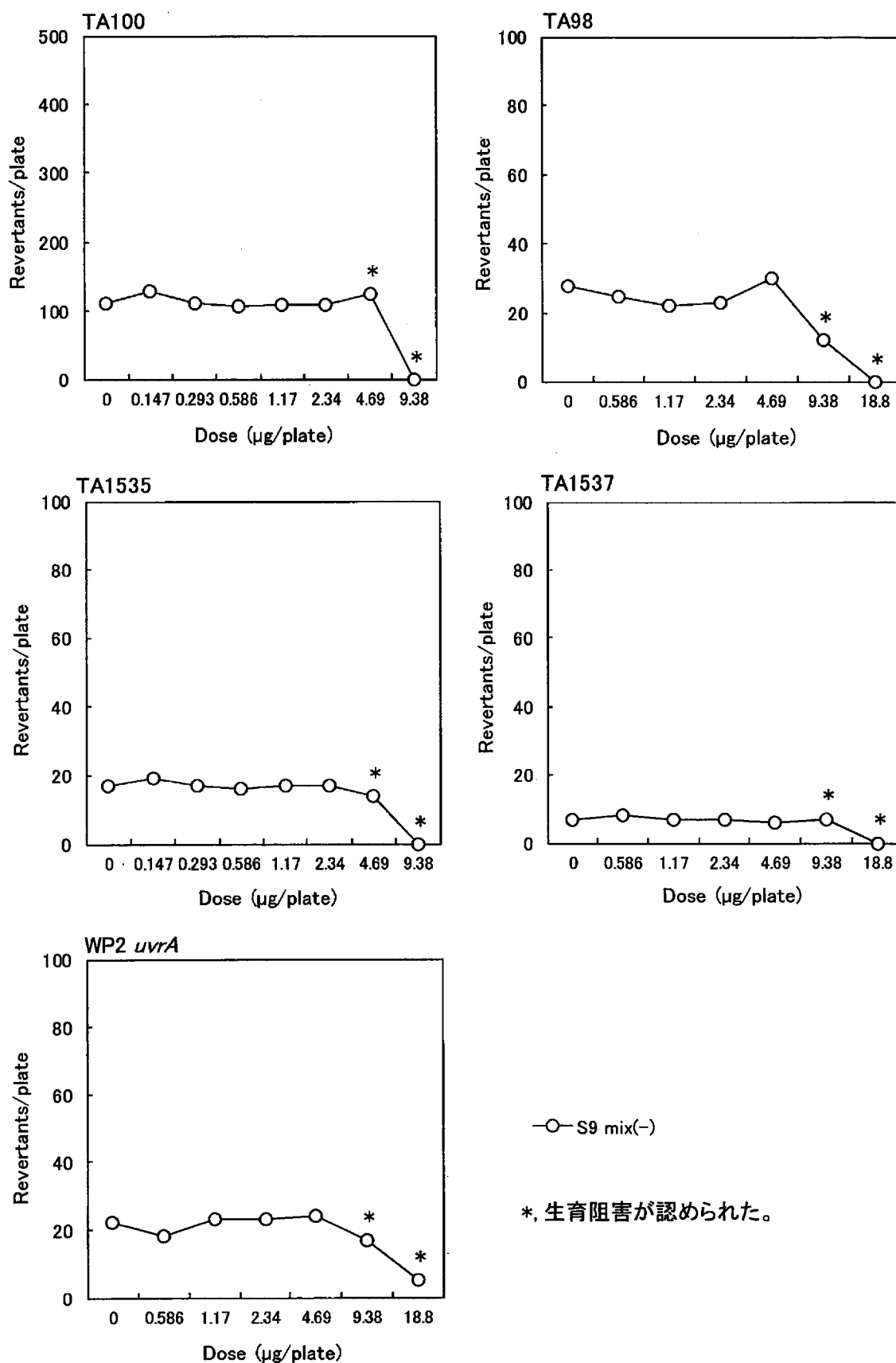


図 1 Undecanal の細菌を用いる復帰突然変異試験(本試験 I、S9 mix 非存在下)

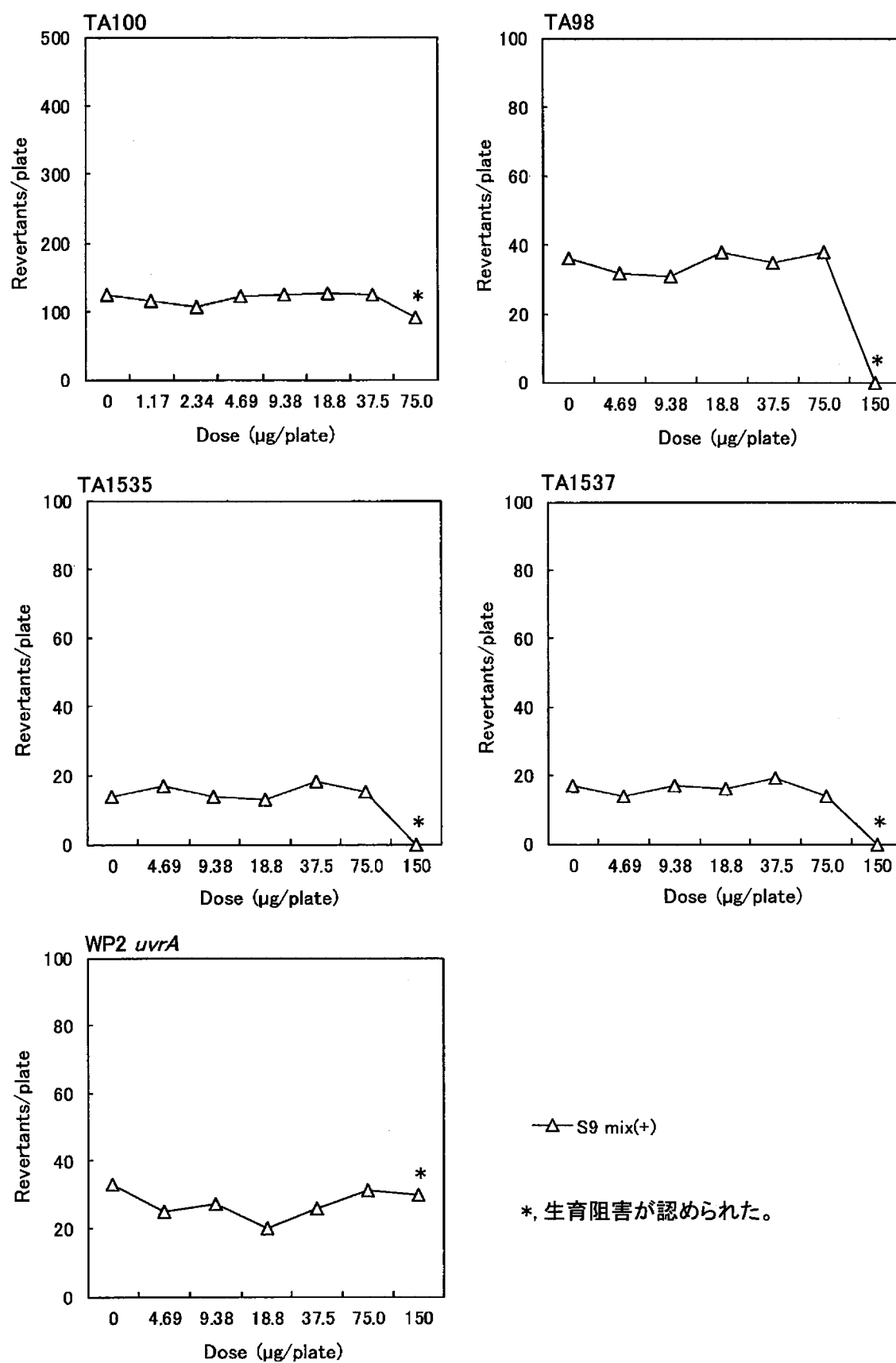


図 2 Undecanal の細菌を用いる復帰突然変異試験(本試験 I、S9 mix 存在下)

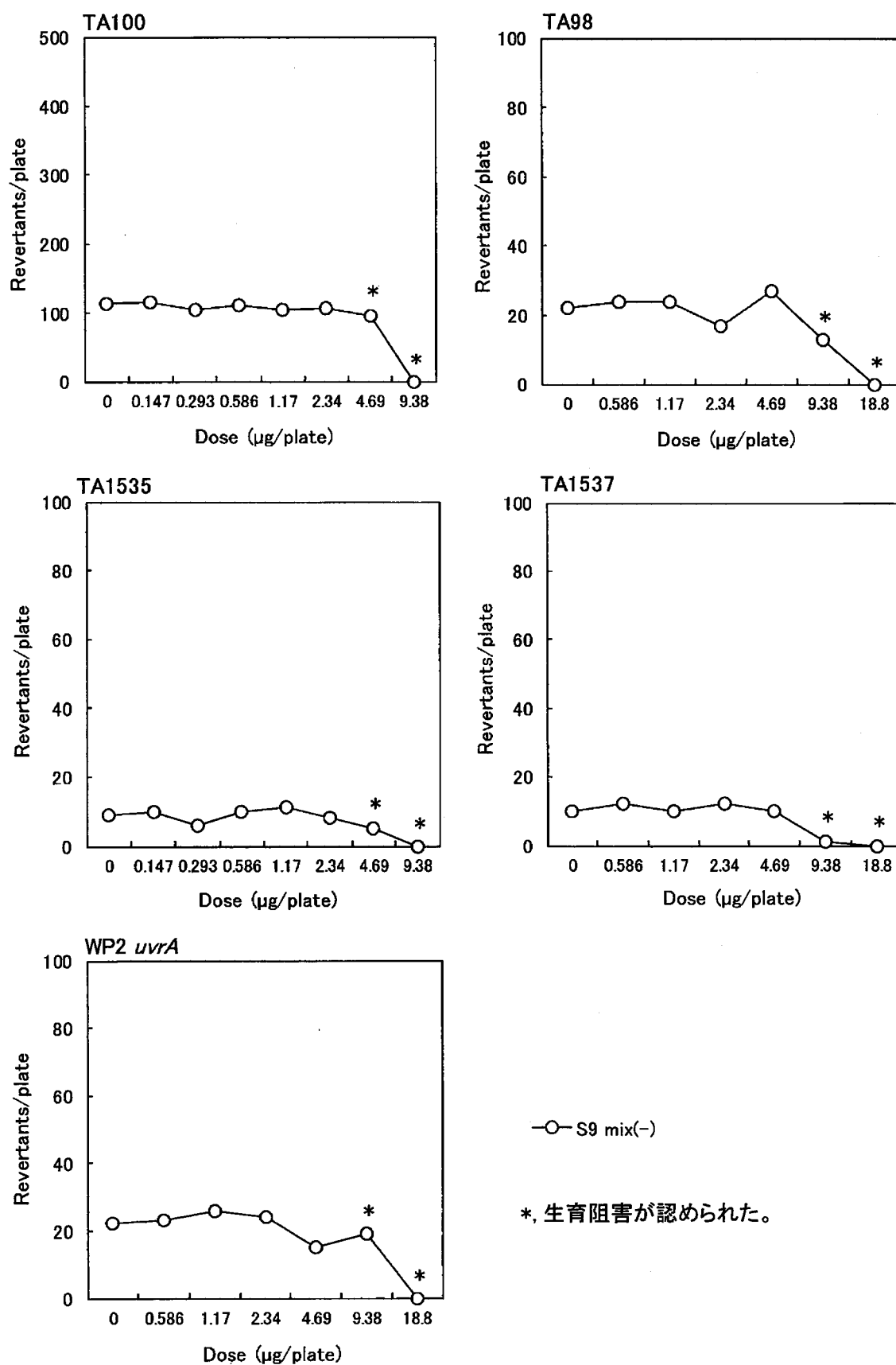


図 3 Undecanal の細菌を用いる復帰突然変異試験(本試験 II、S9 mix 非存在下)

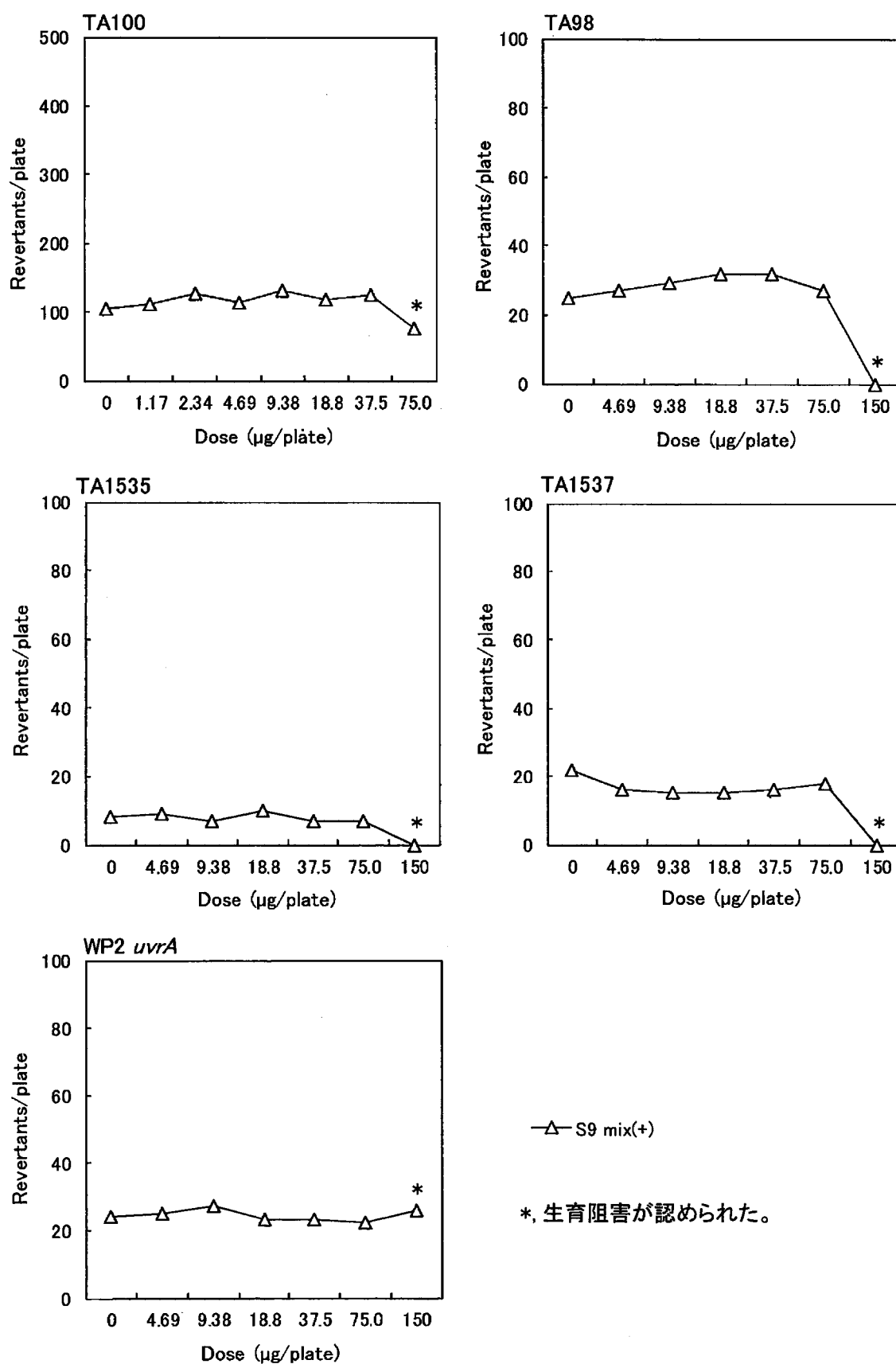


図 4 Undecanal の細菌を用いる復帰突然変異試験(本試験 II、S9 mix 存在下)

資料 1



試験成績書

2013年06月19日

東京化成工業株式会社 品質保証部
〒103-0023
東京都中央区日本橋本町4丁目10
TEL: 03(5640)8860 FAX: 03(5640)8861

製品名: Undecanal					
製品コード: U0009	等級:	製品ロット: N633K	判定: 合格		
項目		結果		規格値	
純度(GC)		98.8 %		97.0 %以上	
比重 (20/20)		0.8302		0.8280 ~ 0.8330	
屈折率 n _D 20/D		1.4318		1.4300 ~ 1.4340	

資料 2

被験物質の一般的事項

新規化学物質等の名称 (IUPAC 命名法による)	ウンデカナール		
別 名	Undecanal		
C A S 番 号	112-44-7		
構 造 式 又 は 示 性 式 (いずれも不明の場合 は、その製法の概要)			
分 子 量	170.30		
試 験 に 供 し た 新 規 化学物質の純度(%)	98.8%(GC)		
試 験 に 供 し た 新 規 化学物質のロット番号	N633K		
不 純 物 の 名 称 及び含有率	_____		
蒸 気 圧	_____		
対 水 溶 解 度	_____		
1-オクタノール／水分配係数	_____		
融 点	-2℃		
沸 点	80℃/0.1 kPa		
常 温 に お け る 性 状	無色～わずかにうすい黄色の透明な液体		
安 定 性	適切な条件下においては安定(製品安全データシートより)。		
溶媒に対する溶解度等	溶 媒	溶 解 度 *	溶 媒 中 の 安 定 性 *
	水	17.0 mg/mL で不溶	17.0 mg/mL の濃度では、調製時に発熱、発泡および変色は認められなかった。
	D M S O	50.0 mg/mL で不溶	50.0 mg/mL の濃度では、調製時に発熱、発泡および変色は認められなかった。
	アセトン	170.3 mg/mL で溶解	170.3 mg/mL の濃度では、調製時に発熱、発泡および変色は認められなかった。調製後 4 時間以上の安定性(0.01 mg/mL および 200 mg/mL、室温、遮光保管)を確認した(試験番号:Q-13-011)。

[備考] 物理化学的性状は、可能な限り記入すること。

1. 「蒸気圧」の欄には、被験物質の蒸気圧を記入すること。
2. 「安定性」の欄には、温度、光等に対する安定性を記入すること。
3. 「溶媒に対する溶解度等」の欄には、被験物質の溶媒に対する溶解度及びその溶媒中での安定性を記入すること。

*: 一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所において確認した。

資料 3

試験に用いた検定菌の復帰変異コロニー数の
背景データ(プレインキュベーション法)

(2012年4月~2013年3月)

	陰性対照値		陽性対照値	
	(- S9 mix)	(+ S9 mix)	(- S9 mix)	(+ S9 mix)
TA100	103 ± 12* (n=182)	110 ± 15 (n=186)	388 ± 46 (AF-2, 0.01 µg/plate) (n=169)	984 ± 118 (B[a]P, 5 µg/plate) (n=88)
TA1535	11 ± 3 (n=162)	11 ± 2 (n=161)	548 ± 43 (SA, 0.5 µg/plate) (n=154)	383 ± 46 (2AA, 2 µg/plate) (n=153)
WP2 <i>uvrA</i>	29 ± 5 (n=156)	33 ± 6 (n=161)	99 ± 13 (AF-2, 0.01 µg/plate) (n=148)	613 ± 111 (2AA, 10 µg/plate) (n=153)
TA98	20 ± 4 (n=184)	30 ± 4 (n=190)	445 ± 54 (AF-2, 0.1 µg/plate) (n=168)	297 ± 38 (B[a]P, 5 µg/plate) (n=87)
TA1537	8 ± 2 (n=179)	17 ± 3 (n=185)	301 ± 121 (9AA, 80 µg/plate) (n=165)	139 ± 21 (B[a]P, 5 µg/plate) (n=85)

*: 平均値の平均 ± 標準偏差
n: 試験数

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide
SA : Sodium azide
9AA : 9-Aminoacridine
B[a]P : Benzo[a]pyrene
2AA : 2-Aminoanthracene

信頼性保証書

表題 Undecanal の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号 M-13-040

この試験に関する信頼性保証部門による査察および監査状況等は下記のとおりであった。

査察・監査項目	査察・監査年月日	運営管理者および試験責任者への報告年月日
試験計画書	2013 年 8 月 27 日	2013 年 8 月 27 日
試験計画書変更書 M-13-040-No.1	2013 年 9 月 27 日	2013 年 9 月 27 日
被験物質調製液の調製および検定菌処理	2013 年 10 月 2 日	2013 年 10 月 2 日
コロニー数の計測	2013 年 10 月 4 日	2013 年 10 月 4 日
報告書草案および生データ	2014 年 1 月 8、9 日	2014 年 1 月 9 日
最終報告書	2014 年 3 月 26 日	2014 年 3 月 26 日

試験は、「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準」(平成 23 年 3 月 31 日、薬食発 0331 第 8 号、平成 23・03・29 製局第 6 号、環保企発第 110331010 号)を遵守して実施され、また、この報告書は試験に使用された方法および手順を正確に記載し、記載された結果は試験の生データを正確に反映していることを保証する。

2014 年 3 月 26 日

一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所
信頼性保証部門責任者 