

報告証明書

1. 試験番号

19567

2. 試験の種類

細菌を用いる復帰突然変異試験

3. 被験物質の名称

α -ヒドロキシイソラク酸メチル

本試験は『OECD PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE 1997』及び『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について（平成23年3月31日 薬食発0331第8号、平成23・03・29製局第6号及び環保企発第110331010号）』を遵守して行われました。

最終報告書には、試験で使用方法及び手順が正確に記載されており、報告結果は試験の生データを正確に反映していることを認めます。

なお、本報告書は、(株)ビー・エム・エル GLP資料保管室にて保管される最終報告書(原本)の写しに相違ありません。

2018年 / 月 30 日

株式会社 ビー・エム・エル

GLP施設 試験責任者

氏名



最 終 報 告 書

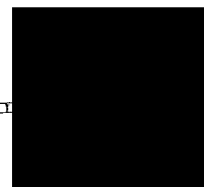
α -ヒドロキシイソラク酸メチル

の

細菌を用いる復帰突然変異試験

(試験番号 19567)

株式会社 ビー・エム・コ



試験番号 19567

表題 α -ヒドロキシイソラク酸メチルの細菌を用いる復帰突然変異試験

試験目的 本被験物質の細菌に対する突然変異誘発能の有無を検索した。
なお、試験は下記GLP及びガイドラインに従って実施した。

GLP

『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について（平成23年3月31日薬食発0331第8号、平成23・03・29製局第6号及び環境企発第110331010号）』

『OECD PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE 1997』

ガイドライン

『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 薬食発0331第7号、平成23・03・29製局第5号及び環境企発第110331009号、一部改正：平成27年12月21日薬生発1221第1号、20151209製局第1号、環境企発第1512211号）』

『OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS 471 (Adopted:21st July, 1997)』

試験委託者

名称 厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課化学物質安全対策室
所在地 東京都千代田区霞が関1-2-2

試験モニター

名称 株式会社化合物安全性研究所
所在地 北海道札幌市清田区真栄363番24 札幌ハイテクヒル真栄

試験施設等

名称 株式会社ビー・エム・エル 総合研究所
所在地 埼玉県川越市の場1361-1

試験開始日 2017年10月30日 ～ 試験終了日 2018年1月30日

試験従事者

試験責任者	氏名	
	所属	第二検査部 安全性試験課
試験担当者	氏名	
	所属	第二検査部 安全性試験課

報告書作成年月日

2018年1月30日

試験責任者

1 要約

ネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, TA1537 及び大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* を使用して、 α -ヒドロキシイソラク酸メチルの突然変異誘発能の有無を検索した。

その結果、本被験物質処理による復帰変異コロニー数は、代謝活性化の有無にかかわらず塩基対置換型、フレームシフト型のいずれの菌株においても陰性対照と比較して2倍以上には増加せず、用量反応性も認められなかった。

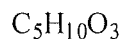
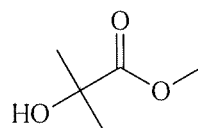
従って、 α -ヒドロキシイソラク酸メチルは、本試験条件下において突然変異誘発能を有しないと判断した。

2 試験実施期間

予備試験開始日（実験開始日）	2017 年 11 月 7 日
本試験開始日	2017 年 11 月 14 日
本試験終了日（実験終了日）	2017 年 11 月 24 日

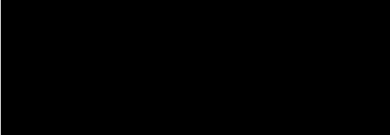
3 被験物質

- | | |
|--------------|--|
| (1) 名称 {別名} | α -ヒドロキシイソラク酸メチル {2-ヒドロキシイソ酪酸メチル} |
| (2) BML登録番号 | BML-17885 |
| (3) ロット番号 | H3XDK |
| (4) 構造式及び分子式 | |



- | | |
|----------------|----------------------------------|
| (5) 純度 | 99.9 wt% |
| (6) 不純物の名称及び濃度 | 不明成分：0.1 wt% |
| (7) CAS番号 | 2110-78-3 |
| (8) 化審法官報整理番号 | 2-1404 |
| (9) 分子量 | 118.13 |
| (10) 融点 | 情報提供なし |
| (11) 沸点 | 137℃ |
| (12) 蒸気圧 | 情報提供なし |
| (13) 分配係数 | 情報提供なし |
| (14) 常温における性状 | 透明液体（比重：1.03） |
| (15) 安定性 | 適切な条件下においては安定。（光反応性なし、空気による影響なし） |

同一ロットの被験物質の同一保存条件下における実験開始前および実験終了後の分析結果（IR分析）を試験委託者より入手し、被験物質は試験期間中安定であったことを確認した。
(別紙)

(16) 溶解度	水, DMSO : 50 mg/mL以上 アセトン : 100 mg/mL以上
(17) 溶媒中での安定性	水, DMSO, アセトン : 発熱, ガスの発生等の反応性なし
(18) 保存条件	冷蔵・暗所 (3.3~6.6℃ (2017年10月13日~2017年11月21日))
(19) 製造者	
(20) 購入先	
(21) 提供者	
(22) 提供量	
	10 g

前記被験物質の情報は、試験委託者より入手した情報及び株式会社ビー・エム・エルで実施した溶解性試験（2017年10月16日実施）の結果による。

なお、前記溶解度及び溶媒中での安定性は、株式会社ビー・エム・エルで実施した溶解性試験の結果による。

4 試験に用いた菌株

(1) テスト菌株 ^{1), 2), 3)}

次の5種類の菌株を用いた。

塩基対置換型

Salmonella typhimurium TA100, TA1535
Escherichia coli WP2 *uvrA*

フレームシフト型

Salmonella typhimurium TA98, TA1537

(2) 入手先及び入手年月日

<i>S. typhimurium</i> TA100	: 国立衛生試験所変異原性部 (現: 国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 変異遺伝部) 1982 年 4 月 15 日 入手
他の <i>S. typhimurium</i> TA株	: U. C. Berkeley, Ames教授 1988 年 1 月 20 日 入手
<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	: 東京大学医科学研究所癌生物学研究部 1987 年 11 月 24 日 入手

(3) 菌株の選択理由

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ている。

(4) 菌株の保存

菌懸濁液0.8 mLに対して、DMSO（紫外吸収スペクトル用）0.07 mLの割合で加え、0.3 mLずつ分注した後-85~-80℃にて凍結保存した。

(5) 使用菌株の保存年月日

<i>S. typhimurium</i> TA100	: 2017 年 7 月 27 日
<i>S. typhimurium</i> TA1535	: 2017 年 7 月 27 日
<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	: 2017 年 7 月 27 日
<i>S. typhimurium</i> TA98	: 2017 年 7 月 27 日
<i>S. typhimurium</i> TA1537	: 2017 年 7 月 27 日

(6) 特性検査

特性検査として、生菌数，アミノ酸要求性，紫外線感受性，膜変異*rfa*特性，薬剤耐性因子R-factorプラスミドの有無，陽性対照試験(用量反応性)を確認し、良好なものをテスト菌株として使用した。

5 対照物質

(1) 陰性対照

被験物質の調製に用いた注射用水を使用した。

(2) 陽性対照

菌株	代謝活性化を必要としないもの (μg/プレート)		代謝活性化を必要とするもの (μg/プレート)	
TA100	AF-2	(0.01)	B[a]P	(5.0)
TA1535	NaN ₃	(0.5)	2AA	(2.0)
WP2 <i>uvrA</i>	AF-2	(0.01)	2AA	(10.0)
TA98	AF-2	(0.1)	B[a]P	(5.0)
TA1537	ICR-191	(1.0)	B[a]P	(5.0)

AF-2 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

(和光純薬工業株式会社 ; 和光特級 純度 98.0%以上, Lot No. SAE0315)

NaN₃ Sodium azide

(和光純薬工業株式会社 ; JIS規格 試薬特級 純度 95%以上, Lot No. RCL7798)

ICR-191 2-Methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine·2HCl
(Polysciences, Inc. ; Lot No. 690128)

2AA 2-Aminoanthracene

(和光純薬工業株式会社 ; 純度 95%以上, Lot No. CTK0326)

B[a]P Benzo[a]pyrene

(Sigma-Aldrich Co. ; 純度 99%(HPLC), Lot No. SLBS0038V)

1) 陽性対照物質の調製

AF-2, ICR-191, 2AA, B[a]P は、DMSO (和光純薬工業株式会社, Lot No. DSK6284) を溶媒として溶解した。NaN₃は、注射用水 (光製薬株式会社, Lot No. C62TC0) を溶媒として溶解した。なお、調製溶液は分注した後-35~-25℃で凍結保存し、使用時に解凍して使用した。

2) 陽性対照物質の選択理由

「新規化学物質等に係る試験の方法について」及び「OECD GUIDELINE FOR TESTING OF CHEMICALS 471」に準じて選定した。

6 試験材料

(1) S9 mix

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	17090106
製造日	2017 年 9 月 1 日
購入日	2017 年 10 月 26 日
種・系統	ラット・SD系
性	雄
週齢	7 週齢
体重	211.0±9.2 g
誘導物質	フェノバルビタール(PB)及び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 (mg/kg体重)	PB 4 日間 30+60+60+60 mg/kg BF 1 日間 80 mg/kg (3日目)
保存方法	冷凍保存 (-80℃以下)

2) Cofactor

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	999702
保存方法	冷蔵保存 (4℃以下)

3) S9 mixの組成 (1 mL中)

水	0.9 mL
S9	0.1 mL
MgCl ₂	8.0 μ mol
KCl	33.0 μ mol
グルコース-6-リン酸	5.0 μ mol
NADPH	4.0 μ mol
NADH	4.0 μ mol
ナトリウム-リン酸緩衝液(pH7.4)	100.0 μ mol

(2) トップアガー

使用寒天	
名称	BACTO-AGAR
製造元	DIFCO LABORATORIES
ロット番号	5054861

(3) 最少グルコース寒天平板培地

名称	テスメディアAN培地
製造元	オリエンタル酵母工業株式会社
ロット番号	ANI080HG
使用寒天	
名称	伊那寒天 BA-30A
製造元	伊那食品工業株式会社
ロット番号	60607
製造日	2017 年 8 月 24 日
購入日	2017 年 9 月 21 日
保存方法	室温保存

7 試験方法

(1) 溶媒

名称	注射用水(日本薬局方)
製造元	光製薬株式会社
ロット番号	C62TC0

(2) 溶媒の選択理由

溶解性試験を実施した結果、本被験物質は水、DMSOに50 mg/mL、アセトンに100 mg/mLで溶解し、いずれも発熱、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た。

(3) 被験液の調製

必要量の被験物質を秤量し、メスフラスコ中で注射用水を加え充分攪拌し溶解した。さらに注射用水を加えて定容し、最高調製濃度被験液を調製した。低用量の被験液は、最高調製濃度被験液から段階希釈し、所定の濃度に調製した。調製液は使用まで室温で保存し、被験物質の出庫からプレインキュベーション終了まで、最大で2時間25分であった。

本被験液は紫外線吸収膜付蛍光ランプ下で使用時に調製した。

各試験の最高調製濃度被験液の調製に使用した被験物質質量及び溶媒量を以下に示した。

予備試験 [最高調製濃度 : 50 mg/mL]
被験物質質量 : 250.0 mg
メスフラスコの容量 : 5 mL

本試験(1回目) [最高調製濃度 : 50 mg/mL]
被験物質質量 : 500.0 mg
メスフラスコの容量 : 10 mL

本試験(2回目) [最高調製濃度 : 50 mg/mL]
被験物質質量 : 500.0 mg
メスフラスコの容量 : 10 mL

(4) 前培養条件

1) ニュートリエントブロス

名称 Nutrient Broth No.2
製造元 OXOID LIMITED
ロット番号 1617339

2) 振盪培養装置

型式 COOL BATH SHAKER ML-10F
製造元 タイテック株式会社

3) 前培養方法

ニュートリエントブロス10 mLの入ったガラス製L字管 (容量35 mL) に、*S. typhimurium* TA株については20 μ L、*E. coli*株については5 μ L接種し、前培養開始まで4℃水浴中で放置した。37℃で8時間往復振盪培養 (100回/分) した後、吸光度 (O. D. 値) を測定し、生育曲線より菌数を算出した。前培養後の菌液は使用まで室温にて放置した。

4) 前培養終了時の生菌数

テスト菌株の生菌数は、前培養終了時に測定したO. D. 値より換算した。

	予備試験	本試験(1回目)	本試験(2回目)
<i>S. typhimurium</i> TA100	2.03×10^9 /mL	2.08×10^9 /mL	2.20×10^9 /mL
<i>S. typhimurium</i> TA1535	2.40×10^9 /mL	2.86×10^9 /mL	2.58×10^9 /mL
<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	5.50×10^9 /mL	6.07×10^9 /mL	5.74×10^9 /mL
<i>S. typhimurium</i> TA98	2.28×10^9 /mL	2.46×10^9 /mL	3.17×10^9 /mL
<i>S. typhimurium</i> TA1537	2.04×10^9 /mL	2.24×10^9 /mL	2.00×10^9 /mL

(5) 被験物質用量の設定

本試験における用量段階を設定するために、7用量 (1.2, 4.9, 20, 78, 313, 1250, 5000 μ g/プレート) の予備試験を実施した。

予備試験の結果を別表1に示した。

その結果、本被験物質による生育阻害は、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、プレート上における被験物質の沈澱も代謝活性化の有無にかかわらず認められなかった。

このため、本試験における被験物質用量は、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5000 μg /プレートを最高用量として、以下公比2で4段階希釈した計5用量とした。

(6) 操作方法 (プレインキュベーション法) ^{4), 5), 6), 7)}

陰性対照及び被験液0.1 mLを分注した試験管に、代謝活性化しない場合においては0.1 M ナトリウム-リン酸緩衝液 (pH 7.4) を0.5 mL、代謝活性化する場合においてはS9 mixを0.5 mL 加え、さらに各菌液を0.1 mL加えた。37℃で20分間振盪しながらプレインキュベーションし、これにトップアガーを2.0 mL加えた後に最少グルコース寒天平板培地に重層した。陽性対照0.1 mLについても同様に実施した。

最少グルコース寒天平板培地は、予備試験では各用量につき1枚設け、本試験では各用量につき3枚設け同一用量で2回実施した。

無菌試験として調製した被験液の最高調製濃度0.1 mL及び調製したS9 mix 0.5 mLをそれぞれ試験管に取り、これにトップアガーを2.0 mL加えた後に最少グルコース寒天平板培地に重層した。

これら一連の操作は紫外線吸収膜付蛍光灯下で実施した。

なお、トップアガーは、*S. typhimurium* TA株を用いる場合には0.5 mMビオチン-0.5 mM ヒスチジン溶液を1/10容、*E. coli*株を用いる場合には0.5 mMトリプトファン溶液を同割合で軟寒天液 (0.6% Agar, 0.5% NaCl) に加えたものを用いた。

37℃で48時間培養した後、出現した復帰変異コロニー数を計数し、テスト菌株の生育阻害の有無も実体顕微鏡を用いて観察した。

(7) 測定方法

復帰変異コロニー数の計測は、自動コロニーカウンターを用いて行った。

1) 測定機器

型式	自動コロニーカウンター CA-11
製造元	システム・サイエンス株式会社

2) 補正方法

数え落とし補正

3) 補正係数	1 ～ 100コロニー	: 1.11倍
	101 ～ 400コロニー	: 1.16倍
	401 ～ コロニー	: 1.25倍

8 判定基準⁶⁾

結果の判定は、2回の本試験の結果より原則として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に対して顕著な増加が認められ（陰性対照の2倍を目安とする）、用量反応性及び再現性が認められた場合に陽性と判定した。なお、測定結果については、平均値±標準偏差も併せて記載した。

9 試験結果及び考察

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3より作成した。

2回の本試験ともに代謝活性化の有無にかかわらず、塩基対置換型、フレームシフト型の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、いずれの用量においても陰性対照と比較して2倍以上には増加せず、用量反応性も認められなかった。

一方、陽性対照はそれぞれの菌株に対して陰性対照の2倍以上の復帰変異コロニーを出現させ、背景データの管理限界内（平均値±3SD）であり、試験が適切に実施されたことを示した（別添）。

これらのことから、本被験物質の変異原性は陰性と判定した。

なお、本被験物質の菌に対する生育阻害は認められず、プレート上における被験物質の沈澱も代謝活性化の有無にかかわらず認められなかった。

また、被験液及びS9 mixについての無菌試験を行った結果、菌の生育は認められなかった。

10 試験計画書からの逸脱等

3頁 3 被験物質 (15) 安定性については、同一ロットの被験物質の同一保存条件下における実験開始前および実験終了後の分析結果（IR分析）を試験委託者より入手し、被験物質は試験期間中安定であったことを確認したため、情報を追記した。

なお、試験期間中にデータの信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因は全く認められなかった。

11 結論

以上の結果より、本試験条件下において、 α -ヒドロキシイソラク酸メチルは、突然変異誘発能を有しないと判断した。

12 試資料の保管

本試験に関するすべての試資料（下記に示す）は、試験終了後10年間株式会社ビー・エム・エル G L P 資料保管室で保管する。保管期間終了後の取り扱いについては試験委託者との協議の上決定する。

保管する試資料

- 1) 試験計画書
- 2) 被験物質に関する記録
- 3) 生データ
- 4) 被験物質
- 5) 最終報告書草稿
- 6) 最終報告書

13 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. Kabori, 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 *Escherichia 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) D. Maron and B. N. Ames: Revised Methods for the *Salmonella* Mutagenicity Test, Mutation Res., 113, pp. 173-215, 1983
- 6) 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
- 7) 田島，賀田，近藤，外村編：環境変異原実験法，講談社，pp. 56-68，1980

簡易報告書

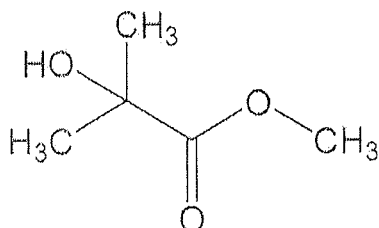
化合物名：α-ヒドロキシイソラク酸メチル

Lot No. : H3XDK

分子式： $C_5H_{10}O_3$

分子量： 118.13

構造式：



試験番号： NCAS 17-307NG

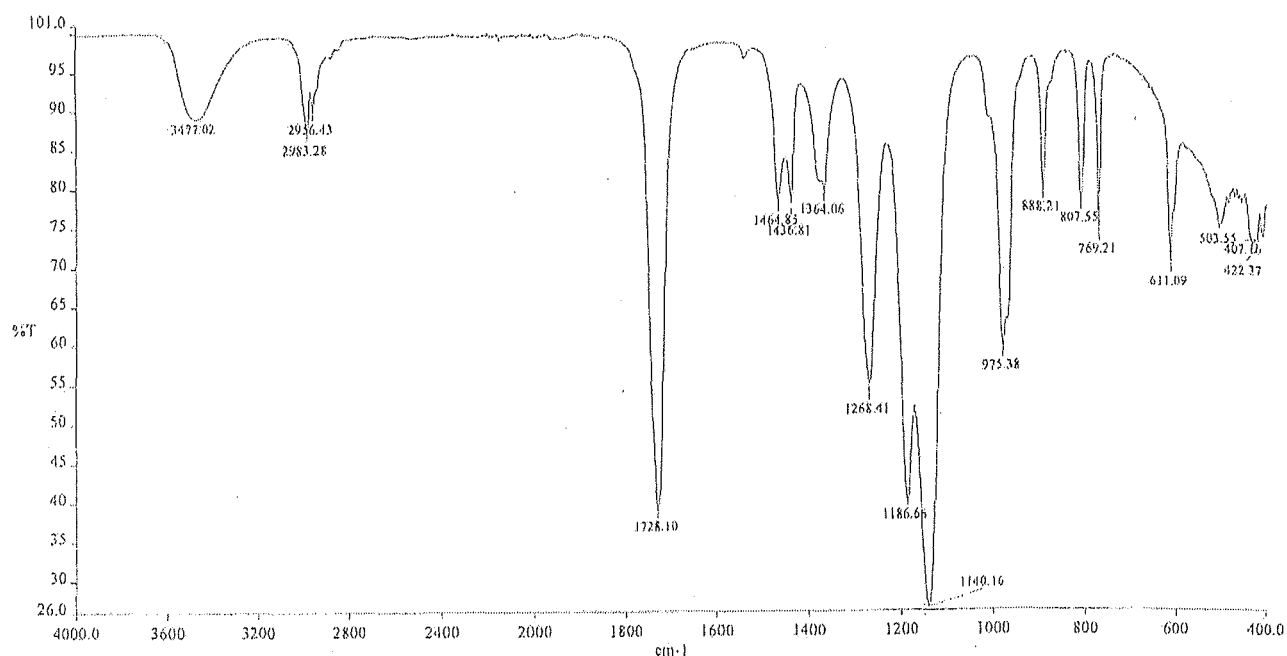
分析方法： ATR 法 (FT-IR)

測定波数： 4000~400 cm^{-1} 分解能： 4 cm^{-1}

測定日： December 12, 2017

安定性評価：

試験番号 NCAS 17-211 において 2017 年 9 月 15 日に測定された IR スペクトルと比較した結果、本被験物質における 2017 年 9 月 15 日から 2017 年 12 月 12 日までの安定性が確認された。



α-ヒドロキシイソラク酸メチル (Lot No. H3XDK) の IR スペクトル

測定日： 2017 年 12 月 12 日

株式会社日曹分析センター (NCAS) 小田原事業所

〒250-0216 神奈川県小田原市高田 345 番地

署名：

2017 年 12 月 13 日

TRUE COPY OF ORIGINAL

2017 年 12 月 13 日

署名

試験結果表(予備試験)

被験物質の名称: α -ヒドロキシソラク酸メチル

No.19567

試験実施期間		2017年11月7日 より 2017年11月10日				
代謝活性化系の有無	被験物質の用量 (μ g/プレート)	復帰変異コロニー数/プレート				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
-S9mix	陰性対照 (注射用水)	105	13	33	33	11
	1.2	125	11	29	31	7
	4.9	111	8	30	26	9
	20	121	14	31	32	10
	78	123	13	22	33	10
	313	103	12	30	37	7
	1250	86	12	34	24	10
	5000	124	13	32	26	7
+S9mix	陰性対照 (注射用水)	120	10	24	34	14
	1.2	131	11	26	39	15
	4.9	138	8	24	30	14
	20	130	13	24	33	18
	78	130	14	26	32	13
	313	99	9	33	49	13
	1250	112	10	30	48	14
	5000	107	10	29	38	17
陽性対照	S9mix を必要としないもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	ICR-191
		用量(μ g/プレート)	0.01	0.5	0.01	1.0
		コロニー数/プレート	499	439	183	507
	S9mix を必要とするもの	名称	B[a]P	2AA	B[a]P	B[a]P
		用量(μ g/プレート)	5.0	2.0	10.0	5.0
		コロニー数/プレート	791	286	312	214

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド
 NaN₃ : アジ化ナトリウム
 ICR-191 : 2-メキシ-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
 B[a]P : ベンゾ[a]ピレン
 2AA : 2-アミノアントラセン

試験結果表(本試験(1回目))

被験物質の名称: α -ヒドロキシソラク酸メチル

No.19567

試験実施期間		2017年11月14日 より 2017年11月17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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
-S9mix	陰性対照 (注射用水)	84	16	24	24	9		
		103	13	33	28	12		
		88 (92 ± 10.0)	11 (13 ± 2.5)	23 (27 ± 5.5)	28 (27 ± 2.3)	10 (10 ± 1.5)		
	313	85	17	29	23	10		
		95	9	22	29	9		
		78 (86 ± 8.5)	16 (14 ± 4.4)	30 (27 ± 4.4)	30 (27 ± 3.8)	9 (9 ± 0.6)		
	625	82	12	22	29	7		
		79	13	21	25	7		
		103 (88 ± 13.1)	12 (12 ± 0.6)	27 (23 ± 3.2)	19 (24 ± 5.0)	10 (8 ± 1.7)		
	1250	86	15	23	33	7		
		80	13	30	32	11		
		91 (86 ± 5.5)	8 (12 ± 3.6)	21 (25 ± 4.7)	28 (31 ± 2.6)	7 (8 ± 2.3)		
	2500	101	11	23	28	11		
		78	11	26	19	12		
		100 (93 ± 13.0)	14 (12 ± 1.7)	24 (24 ± 1.5)	20 (22 ± 4.9)	12 (12 ± 0.6)		
	5000	105	14	24	20	13		
		96	17	21	26	10		
		98 (100 ± 4.7)	13 (15 ± 2.1)	30 (25 ± 4.6)	18 (21 ± 4.2)	7 (10 ± 3.0)		
+S9mix	陰性対照 (注射用水)	139	13	34	35	21		
		110	13	32	35	20		
		124 (124 ± 14.5)	10 (12 ± 1.7)	29 (32 ± 2.5)	32 (34 ± 1.7)	16 (19 ± 2.6)		
	313	119	8	30	29	18		
		100	10	32	29	13		
		117 (112 ± 10.4)	8 (9 ± 1.2)	34 (32 ± 2.0)	39 (32 ± 5.8)	21 (17 ± 4.0)		
	625	113	10	23	37	18		
		112	11	26	34	13		
		98 (108 ± 8.4)	9 (10 ± 1.0)	27 (25 ± 2.1)	25 (32 ± 6.2)	14 (15 ± 2.6)		
	1250	104	9	26	27	13		
		94	14	24	39	21		
		109 (102 ± 7.6)	8 (10 ± 3.2)	27 (26 ± 1.5)	34 (33 ± 6.0)	13 (16 ± 4.6)		
	2500	110	14	32	30	18		
		129	14	37	26	22		
		97 (112 ± 16.1)	8 (12 ± 3.5)	34 (34 ± 2.5)	32 (29 ± 3.1)	17 (19 ± 2.6)		
	5000	95	10	23	39	18		
		101	9	24	33	17		
		128 (108 ± 17.6)	13 (11 ± 2.1)	37 (28 ± 7.8)	33 (35 ± 3.5)	16 (17 ± 1.0)		
陽性対照	S9mixを必要としないもの	名称	AF-2	NaN ₃	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	494 493 521 (503 ± 15.9)	358 368 405 (377 ± 24.8)	142 181 143 (155 ± 22.2)	561 547 491 (533 ± 37.0)	1460 1408 1380 (1416 ± 40.6)	
	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	10.0	5.0	5.0	
		コロニー数/プレート	808 763 699 (757 ± 54.8)	276 249 246 (257 ± 16.5)	356 377 387 (373 ± 15.8)	180 175 174 (176 ± 3.2)	67 60 66 (64 ± 3.8)	

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド
 NaN₃ : アジ化ナトリウム
 ICR-191 : 2-メキシ-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
 B[a]P : ベンゾ[a]ピレン
 2AA : 2-アミノアントラセン

(備考)

()内は、平均値及び標準偏差を示す。

試験結果表(本試験(2回目))

被験物質の名称: α -ヒドロキシイソラク酸メチル

No.19567

試験実施期間		2017年11月20日 より 2017年11月24日					
代謝活性化系の有無	被験物質の用量 (μ g/プレート)	復帰変異コロニー数/プレート					
		塩基対置換型			フレームシフト型		
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
-S9mix	陰性対照 (注射用水)	118	12	23	23	14	
		111	10	24	21	12	
		119 (116 $\pm$ 4.4)	11 (11 $\pm$ 1.0)	31 (26 $\pm$ 4.4)	23 (22 $\pm$ 1.2)	12 (13 $\pm$ 1.2)	
	313	107	10	27	23	14	
		118	10	30	24	11	
		129 (118 $\pm$ 11.0)	12 (11 $\pm$ 1.2)	22 (26 $\pm$ 4.0)	26 (24 $\pm$ 1.5)	12 (12 $\pm$ 1.5)	
	625	111	11	23	22	13	
		99	12	33	20	8	
		122 (111 $\pm$ 11.5)	13 (12 $\pm$ 1.0)	26 (27 $\pm$ 5.1)	23 (22 $\pm$ 1.5)	12 (11 $\pm$ 2.6)	
	1250	132	13	25	23	11	
		111	11	24	24	12	
		108 (117 $\pm$ 13.1)	16 (13 $\pm$ 2.5)	22 (24 $\pm$ 1.5)	26 (24 $\pm$ 1.5)	9 (11 $\pm$ 1.5)	
	2500	104	12	33	22	16	
		122	13	24	24	12	
		143 (123 $\pm$ 19.5)	16 (14 $\pm$ 2.1)	27 (28 $\pm$ 4.6)	19 (22 $\pm$ 2.5)	16 (15 $\pm$ 2.3)	
	5000	95	14	31	22	7	
		104	8	30	26	11	
		99 (99 $\pm$ 4.5)	12 (11 $\pm$ 3.1)	26 (29 $\pm$ 2.6)	24 (24 $\pm$ 2.0)	9 (9 $\pm$ 2.0)	
+S9mix	陰性対照 (注射用水)	146	10	29	28	19	
		125	13	28	34	18	
		130 (134 $\pm$ 11.0)	11 (11 $\pm$ 1.5)	31 (29 $\pm$ 1.5)	31 (31 $\pm$ 3.0)	21 (19 $\pm$ 1.5)	
	313	128	10	26	28	20	
		144	10	30	32	19	
		142 (138 $\pm$ 8.7)	14 (11 $\pm$ 2.3)	24 (27 $\pm$ 3.1)	32 (31 $\pm$ 2.3)	14 (18 $\pm$ 3.2)	
	625	144	12	27	29	19	
		125	13	20	38	17	
		131 (133 $\pm$ 9.7)	11 (12 $\pm$ 1.0)	26 (24 $\pm$ 3.8)	34 (34 $\pm$ 4.5)	22 (19 $\pm$ 2.5)	
	1250	128	9	23	36	19	
		105	9	31	30	24	
		124 (119 $\pm$ 12.3)	12 (10 $\pm$ 1.7)	29 (28 $\pm$ 4.2)	27 (31 $\pm$ 4.6)	18 (20 $\pm$ 3.2)	
	2500	140	9	30	37	24	
		130	11	32	28	21	
		144 (138 $\pm$ 7.2)	12 (11 $\pm$ 1.5)	37 (33 $\pm$ 3.6)	32 (32 $\pm$ 4.5)	17 (21 $\pm$ 3.5)	
	5000	108	10	30	39	17	
		128	9	29	39	18	
		129 (122 $\pm$ 11.8)	14 (11 $\pm$ 2.6)	25 (28 $\pm$ 2.6)	30 (36 $\pm$ 5.2)	18 (18 $\pm$ 0.6)	
陽性対照	S9mix を必要としないもの	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	ICR-191
		用量(μ g/プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
		530	343	152	530	1354	
	S9mix を必要とするもの	コロニー数/プレート	539	405	129	551	1192
		527 (532 $\pm$ 6.2)	418 (389 $\pm$ 40.1)	146 (142 $\pm$ 11.9)	541 (541 $\pm$ 10.5)	1213 (1253 $\pm$ 88.1)	
		名称	B[a]P	2AA	2AA	B[a]P	B[a]P
	S9mix を必要とするもの	用量(μ g/プレート)	5.0	2.0	10.0	5.0	5.0
		741	259	316	196	61	
		749	277	358	193	77	
		790 (760 $\pm$ 26.3)	284 (273 $\pm$ 12.9)	395 (356 $\pm$ 39.5)	184 (191 $\pm$ 6.2)	71 (70 $\pm$ 8.1)	

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

NaN₃ : アジ化ナトリウム

ICR-191 : 2-メキシロ-6-クロロ-9-[3-(2-クロロエチル)アミノプロピル]アクリジン・2HCl

B[a]P : ベンゾ[a]ピレン

2AA : 2-アミノアントラセン

(備考)

() 内は、平均値及び標準偏差を示す。

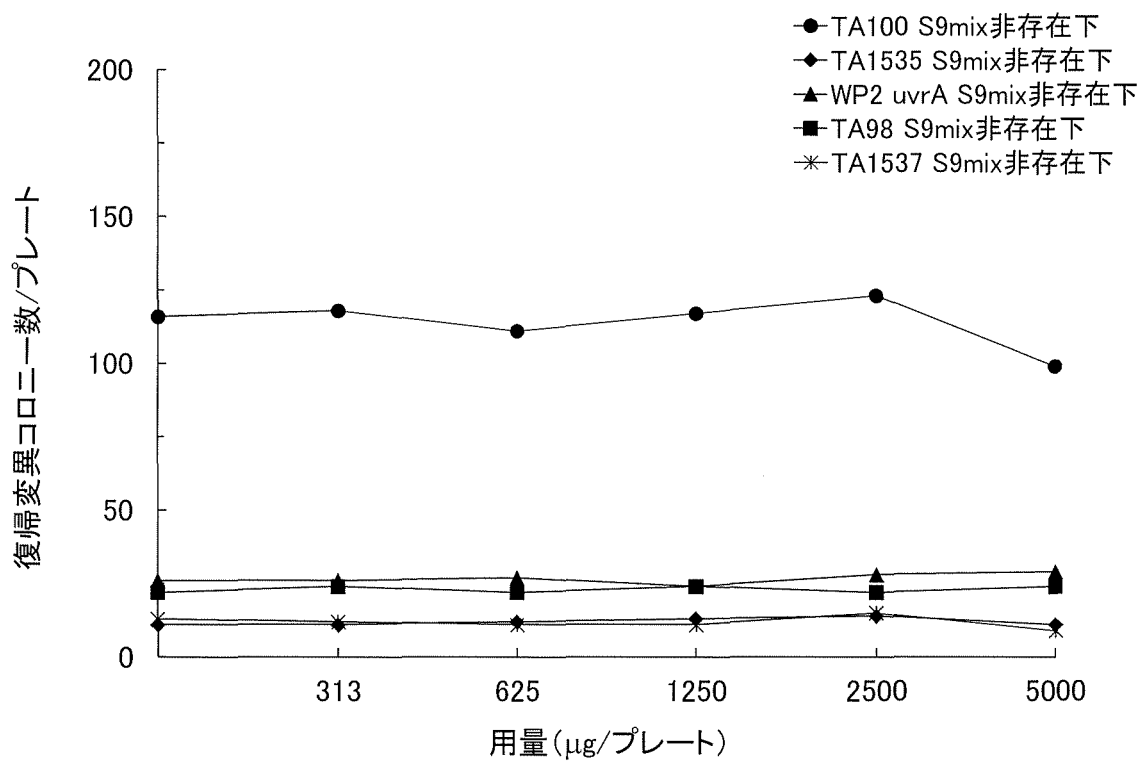


図 1 用量－反応曲線(本試験(2回目))
被験物質: α -ヒドロキシイソラク酸メチル

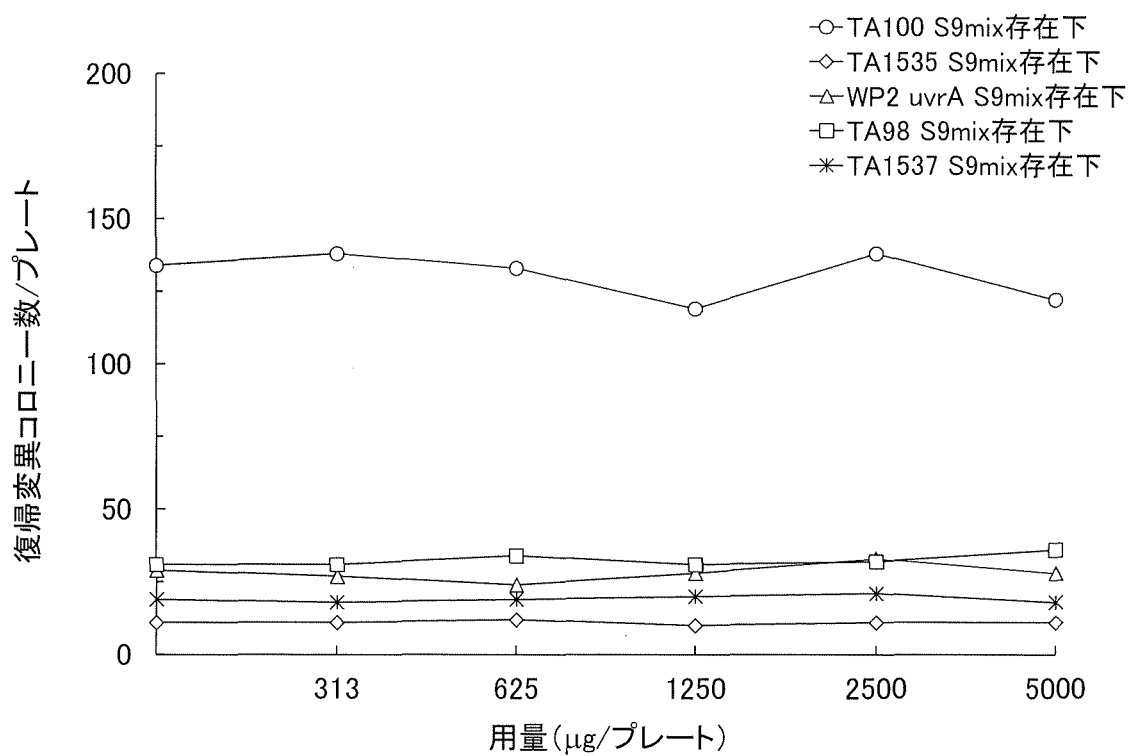


図 2 用量－反応曲線(本試験(2回目))
被験物質: α -ヒドロキシイソラク酸メチル

別添

当該試験実施時における背景データ
(プレインキュベーション法)

管理番号 170911

(平均値-3SD) ~ (平均値-2SD) ~ 平均値 ~ (平均値+2SD) ~ (平均値+3SD)

菌株		代謝活性化しない場合						代謝活性化した場合					
TA100	S.C.	68 ~	78 ~	100 ~	121 ~	132	n= 245	73 ~	87 ~	113 ~	140 ~	153	n= 235
	P.C.	457 ~	480 ~	525 ~	570 ~	592	n= 245	596 ~	668 ~	813 ~	958 ~	1031	n= 235
TA1535	S.C.	5 ~	8 ~	12 ~	17 ~	20	n= 241	4 ~	7 ~	12 ~	17 ~	19	n= 227
	P.C.	327 ~	355 ~	411 ~	468 ~	496	n= 241	203 ~	233 ~	291 ~	350 ~	379	n= 227
WP2 <i>uvrA</i>	S.C.	17 ~	21 ~	28 ~	35 ~	39	n= 227	18 ~	23 ~	31 ~	39 ~	44	n= 217
	P.C.	93 ~	111 ~	147 ~	183 ~	201	n= 227	255 ~	291 ~	361 ~	432 ~	467	n= 217
TA98	S.C.	14 ~	18 ~	26 ~	33 ~	37	n= 245	19 ~	24 ~	32 ~	41 ~	45	n= 229
	P.C.	455 ~	479 ~	528 ~	577 ~	601	n= 245	141 ~	161 ~	200 ~	238 ~	258	n= 229
TA1537	S.C.	5 ~	7 ~	11 ~	14 ~	16	n= 245	10 ~	13 ~	18 ~	22 ~	25	n= 235
	P.C.	914 ~	1036 ~	1281 ~	1525 ~	1647	n= 245	42 ~	51 ~	69 ~	86 ~	95	n= 235

(備考) S.C. : 溶媒対照値

P.C. : 陽性対照値

採取データ期間 : 2017.06.01 ~ 2017.08.31

使用試薬類のロット番号

最少グルコース寒天培地 : Lot No. ANI730AG, ANI810CG, ANI860DG, ANI920EG

ニュートリエントブロス : Lot No. 1617339

S9 : Lot No. 17031713, 17060903

信頼性保証証明書

1. 試験番号

19567

2. 試験の種類

細菌を用いる復帰突然変異試験

3. 被験物質の名称

α -ヒドロキシイソラク酸メチル

本試験は『OECD PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE 1997』及び『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について（平成23年3月31日 薬食発0331第8号、平成23・03・29製局第6号及び環保企発第110331010号）』を遵守して行われました。

最終報告書には、試験で使用方法及び手順が正確に記載されており、報告結果は試験の生データを正確に反映していることを認めます。

なお、監査、査察等の状況は下記のとおりです。

記

対象	実施年月日	運営管理者及び試験責任者への報告日
試験計画書	2017年10月30日	2017年10月30日
本試験(1回目)実施状況	2017年11月15日	2017年11月15日
生データと最終報告書(案)	2017年11月30日	2017年11月30日
最終報告書	2018年1月30日	2018年1月30日

2018 年 / 月 30 日

株式会社 ビー・エム・エル
GLP施設 信頼性保証責任者

氏名

