



最 終 報 告 書

イソヘキサンの細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：T-1886

試験期間：2015 年 11 月 26 日-2016 年 2 月 2 日

試験施設

株式会社ボゾリサーチセンター 東京研究所
〒156-0042 東京都世田谷区羽根木 1-3-11

試験委託者

厚生労働省 医薬・生活衛生局 審査管理課 化学物質安全対策室
〒100-8916 東京都千代田区霞が関 1-2-2

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

1. 目次

1.	目次	2
2.	試験実施概要	5
2.1	試験番号	5
2.2	試験表題	5
2.3	試験目的	5
2.4	試験委託者	5
2.5	試験受託者	5
2.6	試験実施施設	5
2.7	試験日程	5
2.8	試験責任者	5
2.9	試験担当者	6
2.10	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	6
2.11	資料の保存	6
2.12	試験責任者の署名又は記名・押印	6
3.	要約	7
4.	緒言	8
5.	被験物質及び被験液の調製	9
5.1	被験物質及び溶媒	9
5.1.1	被験物質	9
5.1.2	溶媒	10
5.1.3	溶媒の選択理由	10
5.2	被験液の調製方法	10
5.2.1	用量設定試験用被験液の調製	10
5.2.2	本試験 1 回目用被験液の調製	10
5.2.3	本試験 2 回目用被験液の調製	11
6.	試験材料及び方法	11
6.1	試験菌株	11
6.1.1	菌株の種類	11
6.1.2	菌株の選択理由	11
6.1.3	菌株の保存及び解凍	11
6.1.4	菌株の特性検査	12
6.2	対照物質	12
6.2.1	陰性対照物質	12
6.2.2	陽性対照物質	12
6.2.3	調製方法	13

6.3	試薬	13
6.3.1	S9 Mix の調製方法	13
6.3.2	培地	15
6.3.3	ニュートリエントブロス No.2 培養液	15
6.3.4	0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.4)	15
6.3.5	トップアガー	15
6.4	試験方法	16
6.4.1	前培養	16
6.4.2	プレート数	17
6.4.3	試験操作 (プレーンキュベーション法)	17
6.5	判定基準	18
7.	試験結果	19
7.1	用量設定試験の観察結果及び本試験用量の設定	19
7.2	本試験 1 回目の観察結果	19
7.3	本試験 2 回目の観察結果	19
7.4	試験の成立条件	20
8.	考察	21
9.	参考文献	22

Tables

別表 1	試験結果表 (用量設定試験)	23
別表 2	試験結果表 (本試験 1 回目)	24
別表 3	試験結果表 (本試験 2 回目)	25

Figures

図 1	用量反応曲線 (本試験 1 回目 TA100 : -S9Mix)	26
図 2	用量反応曲線 (本試験 1 回目 TA100 : +S9Mix)	26
図 3	用量反応曲線 (本試験 1 回目 TA1535 : -S9Mix)	27
図 4	用量反応曲線 (本試験 1 回目 TA1535 : +S9Mix)	27
図 5	用量反応曲線 (本試験 1 回目 WP2 <i>uvrA</i> : -S9Mix)	28
図 6	用量反応曲線 (本試験 1 回目 WP2 <i>uvrA</i> : +S9Mix)	28
図 7	用量反応曲線 (本試験 1 回目 TA98 : -S9Mix)	29
図 8	用量反応曲線 (本試験 1 回目 TA98 : +S9Mix)	29
図 9	用量反応曲線 (本試験 1 回目 TA1537 : -S9Mix)	30
図 10	用量反応曲線 (本試験 1 回目 TA1537 : +S9Mix)	30

T-1886

添付資料

Attached Data 1	CERTIFICATE OF ANALYSIS (Stability of Test Article).....	31
Attached Data 2	背景データ（151111）	33
信頼性保証書		34

T-1886

2. 試験実施概要

2.1 試験番号

T-1886

2.2 試験表題

イソヘキサンの細菌を用いる復帰突然変異試験

2.3 試験目的

細菌を用い、イソヘキサンの遺伝子突然変異誘発能の有無を明らかにすることを目的とした。

2.4 試験委託者

厚生労働省 医薬・生活衛生局 審査管理課 化学物質安全対策室
〒100-8916 東京都千代田区霞が関 1-2-2

2.5 試験受託者

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

2.6 試験実施施設

株式会社ボゾリサーチセンター 東京研究所
〒156-0042 東京都世田谷区羽根木 1-3-11

2.7 試験日程

試験開始日	: 2015 年 11 月 26 日
用量設定試験開始日	: 2015 年 12 月 1 日
用量設定試験終了日	: 2015 年 12 月 4 日
本試験 1 回目開始日	: 2015 年 12 月 10 日
本試験 1 回目終了日	: 2015 年 12 月 14 日
本試験 2 回目開始日	: 2015 年 12 月 14 日
本試験 2 回目終了日	: 2015 年 12 月 17 日
試験終了日	: 2016 年 2 月 2 日

2.8 試験責任者

株式会社ボゾリサーチセンター 東京研究所 研究部 第 1 研究室



2.9 試験担当者

用量設定試験

使用菌株の前培養 :
被験液の調製 :
試験操作 :

コロニーの計数 :

本試験 1 回目

使用菌株の前培養 :
被験液の調製 :
試験操作 :
コロニーの計数 :

本試験 2 回目

使用菌株の前培養 :
被験液の調製 :
試験操作 :

コロニーの計数 :

2.10 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

本試験において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はなかった。試験計画書に従わなかったこととして、本被験物質の水中での安定性の情報がなかったため、脱水したアセトンを使用して被験液の調製を行った。

2.11 資料の保存

試験計画書（試験計画書変更書を含む）、記録文書、生データ及び報告書類（最終報告書の原本を含む）は、株式会社ボゾリサーチセンター御殿場研究所の資料保存施設に保存する。なお、その期間は最終報告書提出後 10 年間とする。期間終了後の保存については、厚生労働省 医薬・生活衛生局 審査管理課 化学物質安全対策室と株式会社ボゾリサーチセンター間で協議し、その処置を決定する。

2.12 試験責任者の署名又は記名・押印

 2016 年 2 月 2 日 

株式会社ボゾリサーチセンター 東京研究所

3. 要約

イソヘキサンの遺伝子突然変異誘発能の有無を明らかにするため、ネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium*（以下、*S. typhimurium* と略す）TA100、TA1535、TA98、TA1537 及び大腸菌 *Escherichia coli*（以下、*E. coli* と略す）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アセトンを用いた。

本試験用量を設定するため、1.22~5000 µg/plate の範囲の被験物質処理用量で用量設定試験を実施した。その結果、いずれの菌株においても代謝活性化しない場合の 78.1 µg/plate 以上、代謝活性化した場合の 313 µg/plate 以上の用量で生育阻害が認められたため、いずれの菌株についても生育阻害を示した最低用量を最高用量として、代謝活性化しない場合は 2.44~78.1 µg/plate の範囲の 6 用量、代謝活性化する場合は 9.77~313 µg/plate の範囲の 6 用量で実施した。なお、代謝活性化しない場合のいずれの菌株についても生育阻害を示さない用量数が 4 用量以上得られなかったため、同一用量で本試験を 2 回実施し、生育阻害のない用量域での再現性を確認した。

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及び着色の有無を観察した結果、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

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 39.1 µg/plate 以上、代謝活性化しない場合の *E. coli* WP2 *uvrA* の 78.1 µg/plate 以上、代謝活性化した場合のすべての菌株の 156 µg/plate 以上の用量で認められた。

3) 復帰変異コロニー数

用量設定試験及び 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。

以上の試験結果より、本試験条件下においてイソヘキサンは、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。

4. 緒言

本試験は、厚生労働省 医薬・生活衛生局 審査管理課 化学物質安全対策室の委託により、株式会社ボゾリサーチセンターで実施した。なお、試験は以下の基準を遵守し、ガイドラインに準拠して行った。

1) 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」（平成 23 年 3 月 31 日：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）

2) 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）

5. 被験物質及び被験液の調製

5.1 被験物質及び溶媒

5.1.1 被験物質

製造元	:	
入手量	:	25 mL
入手年月日	:	2015 年 9 月 15 日
名称	:	イソヘキサン
ロット番号	:	AG01
CAS 番号	:	73513-42-5
官報公示整理番号	:	化審法 ; (2)-6
化学式	:	C ₆ H ₁₄
純度	:	98.9 % (GC%)
不純物の名称及び濃度	:	情報提供なし
分子量	:	86.18
常温における性状	:	無色~ほとんど無色透明液体 (比重 ; 0.6668(20/20°C))
安定性	:	適切な条件下においては安定。実験終了後に残余被験物質を用いて株式会社ボゾリサーチセンター 御殿場研究所で実験期間中の安定性を確認した結果、安定であることが確認された (Attached Data 1 参照)。
溶解性	:	水 ; 不溶 ジメチルスルホキシド (以下、DMSO と略す) ; 不溶 アセトン ; 100 mg/mL で溶解 有機溶剤 ; 可溶
溶媒中での安定性	:	DMSO、アセトン ; 発熱、ガスの発生等の反応性なし
保存条件	:	冷暗所・密栓
保存場所	:	東京研究所 被験物質保存室
保存温度	:	保存期間中の実測温度 2015 年 9 月 15 日~2015 年 12 月 15 日 ; 2.8~5.7°C
残余の処置	:	実験終了後の残量はすべて廃棄した。

上記被験物質情報は、製造元発行の MSDS 及び試験成績書からの情報による。なお、DMSO、アセトンの溶解性及び溶媒中での安定性は、株式会社ボゾリサーチセンターで実施した被験液の調製時に得られた情報であり、DMSO の溶解性については 50 mg/mL で溶解しなかったため不溶とした。

5.1.2 溶媒

名称	:	アセトン
製造元	:	和光純薬工業株式会社
ロット番号	:	ECR1399
規格	:	JIS 規格 試薬特級 99.5%以上
保存方法	:	室温保存
保存場所	:	東京研究所 被験物質調製室

5.1.3 溶媒の選択理由

被験物質情報より、本被験物質は有機溶剤に可溶のため DMSO を溶媒として用量設定試験用被験液の調製を行ったが、50 mg/mL で溶解しなかった。このため、溶媒をアセトンに変更して 100 mg/mL の被験液を調製したところ、溶解することが確認されたため、アセトンを溶媒として試験を実施した。なお、本被験物質の水中での安定性の情報がないため、モレキュラシーブス 4A 1/16（和光純薬工業株式会社；Lot No. YSF7403）で脱水したアセトンを使用した。

5.2 被験液の調製方法

5.2.1 用量設定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 0.400 mL 分取し、電子天秤（株式会社エー・アンド・ディ：GR-120）を用いて秤量した。その秤量値 274.0 mg から最高調製濃度の 100 mg/mL となるように溶媒量を計算し、この溶媒量から分取した際の液量 0.400 mL を差し引いた 2.340 mL のアセトンを添加して溶解し、100 mg/mL の被験液を調製した。次いで、これを以下公比 4 で順次 6 段階希釈し、100、25、6.25、1.56、0.391、0.0977 及び 0.0244 mg/mL の計 7 濃度の被験液を調製した。なお、被験液の調製は、紫外線吸収膜付蛍光灯下で使用時に行い、その過程において発熱、ガスの発生等の反応性は認められなかった。

5.2.2 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 0.050 mL 分取し、電子天秤（株式会社エー・アンド・ディ：GR-120）を用いて秤量した。その秤量値 32.4 mg から最高調製濃度の 6.25 mg/mL となるように溶媒量を計算し、この溶媒量から分取した際の液量 0.050 mL を差し引いた 5.134 mL のアセトンを添加して溶解し、6.25 mg/mL の被験液を調製した。次いで、これを以下公比 2 で順次 7 段階希釈し、6.25、3.13、1.56、0.781、0.391、0.195、0.0977 及び 0.0488 mg/mL の計 8 濃度の被験液を調製した。なお、被験液の調製は、紫外線吸収膜付蛍光灯下で使用時に行い、その過程において発熱、ガスの発生等の反応性は認められなかった。

5.2.3 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 0.050 mL 分取し、電子天秤（株式会社エー・アンド・ディ：GR-120）を用いて秤量した。その秤量値 31.5 mg から最高調製濃度の 6.25 mg/mL となるように溶媒量を計算し、この溶媒量から分取した際の液量 0.050 mL を差し引いた 4.990 mL のアセトンを追加して溶解し、6.25 mg/mL 溶液を調製した。次いで、これを 4 倍希釈して 1.56 mg/mL の被験液を調製した。これをさらに以下公比 2 で順次 5 段階希釈し、1.56、0.781、0.391、0.195、0.0977 及び 0.0488 mg/mL の計 6 濃度の被験液を調製した。なお、被験液の調製は、紫外線吸収膜付蛍光灯下で使用時に行い、その過程において発熱、ガスの発生等の反応性は認められなかった。

6. 試験材料及び方法

6.1 試験菌株^{1), 2), 3), 4), 5)}

6.1.1 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、*S. typhimurium* TA 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 [REDACTED] で入手したものから、2005 年 7 月 21 日に東京研究所に分与された。また、*E. coli* WP2 *uvrA* は、独立行政法人 製品評価技術基盤機構より 2011 年 10 月 20 日に入手した。

6.1.2 菌株の選択理由

当該菌株は変異原性物質に対する感受性が高く、細菌を用いる復帰突然変異試験に最も一般的に使用されている。

6.1.3 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 KPR3450）を 0.7 mL の割合で添加した。これを滅菌セラムチューブに 0.3 mL ずつ分注し、ドライアイス-アセトンで急速凍結した後、-70°C 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 2015 年 10 月 1 日

T-1886

~2015 年 12 月 14 日 : -86.7 ~ -78.6°C)。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
<i>S. typhimurium</i> TA98	2015 年 10 月 1 日
<i>S. typhimurium</i> TA100	2015 年 10 月 1 日
<i>S. typhimurium</i> TA1535	2015 年 10 月 1 日
<i>S. typhimurium</i> TA1537	2015 年 10 月 1 日
<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	2015 年 10 月 1 日

6.1.4 菌株の特性検査

6.1.3 の凍結保存菌株を用いて、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
<i>S. typhimurium</i> TA98	2015 年 10 月 1 日~2015 年 10 月 5 日
<i>S. typhimurium</i> TA100	2015 年 10 月 1 日~2015 年 10 月 5 日
<i>S. typhimurium</i> TA1535	2015 年 10 月 1 日~2015 年 10 月 5 日
<i>S. typhimurium</i> TA1537	2015 年 10 月 1 日~2015 年 10 月 5 日
<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	2015 年 10 月 1 日~2015 年 10 月 5 日

6.2 対照物質 ^{6), 7)}

6.2.1 陰性対照物質

被験液の調製に用いたアセトン陰性対照物質とした。

6.2.2 陽性対照物質

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

陽性対照物質（略称）	ロット番号	純度(%)	保存方法	製造元
2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)	STQ3987	99.7%	室温、遮光	和光純薬工業株式会社
Sodium azide (SAZ)	YSF7467	99.9%	室温、遮光	和光純薬工業株式会社
2-Methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)-aminopropylamino]acridine・2HCl (ICR-191)	562079	—	室温、遮光	Polysciences, Inc.
2-Aminoanthracene (2AA)	CTK0326	96.7%	室温、遮光	和光純薬工業株式会社
Benzo[a]pyrene (B[a]P)	KPK3371	99.8%	冷蔵、遮光	和光純薬工業株式会社

保存場所 東京研究所 微生物試験室

6.2.3 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 KPR3450）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 K2L86）に溶解し、約 1 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

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)
<i>S. typhimurium</i> TA100	AF-2	0.1 (0.01)	B[a]P	50 (5.0)
<i>S. typhimurium</i> TA1535	SAZ	5 (0.5)	2AA	20 (2.0)
<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	AF-2	0.1 (0.01)	2AA	100 (10.0)
<i>S. typhimurium</i> TA98	AF-2	1 (0.1)	B[a]P	50 (5.0)
<i>S. typhimurium</i> 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。

6.3 試薬^{5), 6)}

6.3.1 S9 Mix 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 (NALGENE 0.45 µm : Lot No. 1152192、1158370) 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

T-1886

製造元 : キッコーマンバイオケミファ株式会社
ロット番号 : RAA201511A
製造日 : 2015 年 11 月 6 日
購入日 : 2015 年 11 月 27 日
種・系統 : ラット・SD 系
週齢・性 : 7 週齢・雄
体重 : 191–255 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 : 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 : 2015 年 11 月 27 日~2015 年 12 月 11 日 : -86.7~-78.9°C

2) 補酵素

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 : 999502
製造日 : 2015 年 8 月 24 日
購入日 : 2015 年 11 月 13 日、2015 年 11 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-411FR : 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 : 2015 年 11 月 13 日~2015 年 12 月 11 日 : 4.2~4.9°C

3) S9 Mix の組成 (1mL 中)

水 : 0.9 mL
S9 : 0.1 mL
MgCl₂ : 8 µmol/mL
KCl : 33 µmol/mL
グルコース-6-リン酸 : 5 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 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 µmol/mL
リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.4) : 100 µmol/mL

6.3.2 培地

1) 最小グルコース寒天平板培地

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	:	DZLGAK01
製造日	:	2015 年 10 月 20 日
購入日	:	2015 年 11 月 10 日
保存方法	:	室温保存
保存場所	:	東京研究所 寒天培地保存室

2) 使用寒天

名称	:	OXOID AGAR No.1
製造元	:	OXOID LTD.
ロット番号	:	1309432

6.3.3 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 2.5 wt% 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	:	1239615
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

6.3.4 0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 7.4)

りん酸緩衝剤粉末 3 包に対して 2L の精製水を加えて溶解し、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	:	りん酸緩衝剤粉末 (1/15 mol/L pH 7.4)
製造元	:	和光純薬工業株式会社
ロット番号	:	SAM0022
保存方法	:	室温保存
保存場所	:	東京研究所 微生物試験室

6.3.5 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 wt% Agar、0.6 wt% NaCl）をオートクレーブにより滅菌処理（121℃、20 分）した後、0.5 mmol/L D-ビオチン-L-ヒスチジン-L-トリプトファン溶液を軟寒天液 10 に対して 1 の割合で加えて調製し、

S. typhimurium TA 株と *E. coli* 株で共通で使用した。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) 寒天

名称 : Bacto Agar
 製造元 : Becton, Dickinson and Company
 ロット番号 : 4045079
 保存方法 : 室温保存
 保存場所 : 東京研究所 微生物試験室

2) 塩化ナトリウム

製造元 : 和光純薬工業株式会社
 ロット番号 : KPN0068
 保存方法 : 室温保存
 保存場所 : 東京研究所 微生物試験室

3) D-ビオチン

製造元 : 和光純薬工業株式会社
 ロット番号 : SAL6212
 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) L-ヒスチジン塩酸塩一水和物

製造元 : 和光純薬工業株式会社
 ロット番号 : CTK0488
 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) L-トリプトファン

製造元 : 和光純薬工業株式会社
 ロット番号 : CTH2695
 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

6.4 試験方法 ^{6), 7)}

6.4.1 前培養

- 1) ニュートリエントブロス No.2 培養液 10 mL を滅菌済み L 字型試験管 (容量 48 mL) に入れ、凍結保存菌株を解凍して得た菌懸濁液を *S. typhimurium* TA 株は各 20 μ L、*E. coli* WP2 *uvrA* は 10 μ L 植菌し、振盪恒温槽 (COOL BATH SHAKER ML-10 PU-6 接続型、タイテック株式会社) にセットした。なお、使用後の菌懸濁液は廃棄した。
- 2) これをプログラム制御により前培養開始まで 4℃ の水浴中に放置 (6 時間 30 分) した後、振盪 (100 回/分) しながらか 37℃ に上昇後 9 時間前培養した。

- 3) 前培養終了時に培養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、生菌数が 1×10^9 個/mL 以上あることを確認した。なお、培養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

菌 株	菌 数(個/mL)		
	用量設定試験	本試験 1 回目	本試験
<i>S. typhimurium</i> TA100	4.52×10^9	3.34×10^9	4.53×10^9
<i>S. typhimurium</i> TA1535	4.78×10^9	4.65×10^9	4.79×10^9
<i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	7.53×10^9	8.96×10^9	8.48×10^9
<i>S. typhimurium</i> TA98	6.06×10^9	5.68×10^9	6.23×10^9
<i>S. typhimurium</i> TA1537	3.69×10^9	3.60×10^9	3.70×10^9

6.4.2 プレート数

被験物質処理群、陰性対照群及び陽性対照群について、用量設定試験及び 2 回の本試験ともに用量ごとに 2 枚のプレートを用いた。

6.4.3 試験操作 (プレインキュベーション法)

- 1) 滅菌した小試験管に被験液又は溶媒を 0.05 mL、陽性対照溶液を 0.1 mL 入れ、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 S9 Mix 0.5 mL を加えた後、それぞれの小試験管に各菌株の培養液 0.1 mL を加えた。
- 2) 攪拌後 37°C で 20 分間振盪 (80 回/分) しながらプレインキュベーションした。
- 3) プレインキュベーション終了後、あらかじめ電子レンジを用いて溶解し、ユニット恒温槽で 45°C に保温されたトッパガーを小試験管に 2.0 mL 加えて攪拌後、最小グルコース寒天平板培地に均一に重層した。
- 4) 無菌試験として、調製した最高用量の被験液 0.05 mL 及び調製した S9 Mix 0.5 mL をそれぞれ小試験管に取り、これにトッパガーを 2.0 mL 加えた後に最小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)~4) の一連の操作は、紫外線吸収膜付蛍光灯下で実施した。
- 5) 最小グルコース寒天平板培地に重層したトッパガーが固化したことを確認し、最小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°C で用量設定試験では 49 時間、本試験 1 回目では 48 時間、本試験 2 回目では 48.5 時間培養した。
- 6) 培養後、プレート上の被験物質による沈殿及び着色の有無を確認した結果、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ため、自

動コロニーカウンタ（コロニーアナライザーCA-11D systems、システムサイエンス株式会社）を用いて計数（面積補正、補正值：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。

6.5 判定基準^{6), 7), 8)}

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倍以上となる増加を示し、再現性が認められた場合に陽性と判定することとした。なお、判定に際して統計学的手法は用いなかった。

7. 試験結果

用量設定試験の結果を別表 1、本試験 1 回目の結果を別表 2、本試験 2 回目の結果を別表 3 に示した。なお、図 1~10 は別表 2 より作成した。

7.1 用量設定試験の観察結果及び本試験用量の設定

本試験の試験用量を設定するため、100 mg/mL の被験液を公比 4 で 6 段階希釈した計 7 用量（1.22、4.88、19.5、78.1、313、1250、5000 µg/plate）を用い、用量設定試験を実施した。

その結果、本被験物質によるプレート上の沈殿及び着色は、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本被験物質処理による菌に対する生育阻害を観察した結果、いずれの菌株においても代謝活性化しない場合の 78.1 µg/plate 以上、代謝活性化した場合の 313 µg/plate 以上の用量で認められた。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、いずれの菌株においても陰性対照値の 2 倍以上となる増加は認められず、用量反応性も認められなかった。

このため本試験の試験用量は、生育阻害を示した最低用量を最高用量として、いずれの菌株についても代謝活性化しない場合は 78.1 µg/plate、代謝活性化する場合は 313 µg/plate をそれぞれ最高用量として、以下公比 2 で 5 段階希釈した計 6 用量を設定した。なお、代謝活性化しない場合のいずれの菌株についても生育阻害を示さない用量数が 4 用量以上得られなかったため、同一用量で本試験を 2 回実施し、生育阻害のない用量域での再現性を確認した。

7.2 本試験 1 回目の観察結果

本被験物質によるプレート上の沈殿及び着色は、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本被験物質処理による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 39.1 µg/plate 以上、代謝活性化しない場合の *E. coli* WP2 *uvrA* の 78.1 µg/plate、代謝活性化した場合のすべての菌株の 156 µg/plate 以上の用量で認められた。

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、いずれの菌株においても陰性対照値の 2 倍以上となる増加は認められず、用量反応性も認められなかった。

7.3 本試験 2 回目の観察結果

本被験物質によるプレート上の沈殿及び着色は、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本被験物質処理による菌に対する生育阻害を観察した結果、*S. typhimurium* TA 株の 39.1 µg/plate 以上、*E. coli* WP2 *uvrA* の 78.1 µg/plate の用量で認められた。

本被験物質処理による復帰変異コロニー数は、いずれの菌株においても陰性対照値の 2 倍以上となる増加は認められず、用量反応性も認められなかった。

7.4 試験の成立条件

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の増加を示し、陰性対照値及び陽性対照値の復帰変異コロニー数の平均値が背景データの管理値（Attached Data 2 参照）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。

8. 考察

用量設定試験及び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。

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イソヘキサンは、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。

9. 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 *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.M.Maron and B.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(用量設定試験)

被験物質の名称: イソヘキサン

No. T-1886

試験実施期間		2015年12月1日 より 2015年12月4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 (アセトン)	90 88 (89)	6 5 (6)	31 27 (29)	11 17 (14)	9 8 (9)
	1.22	108 113 (111)	7 6 (7)	23 27 (25)	19 13 (16)	7 6 (7)
	4.88	97 93 (95)	11 8 (10)	28 31 (30)	14 11 (13)	6 3 (5)
	19.5	114 98 (106)	4 10 (7)	15 27 (21)	10 11 (11)	4 5 (5)
	78.1	73 * 55 * (64)	7 * 5 * (6)	10 * 18 * (14)	11 * 7 * (9)	3 * 2 * (3)
	313	56 * 57 * (57)	5 * 4 * (5)	12 * 7 * (10)	9 * 5 * (7)	3 * 2 * (3)
	1250	65 * 33 * (49)	1 * 2 * (2)	8 * 13 * (11)	8 * 4 * (6)	2 * 3 * (3)
	5000	40 * 53 * (47)	0 * 0 * (0)	7 * 7 * (7)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)
S9Mix (+)	陰性対照 (アセトン)	120 114 (117)	8 5 (7)	25 18 (22)	41 33 (37)	4 9 (7)
	1.22	111 117 (114)	7 6 (7)	32 22 (27)	41 34 (38)	6 8 (7)
	4.88	121 98 (110)	8 11 (10)	25 21 (23)	27 42 (35)	8 5 (7)
	19.5	117 145 (131)	7 9 (8)	24 28 (26)	34 33 (34)	8 7 (8)
	78.1	96 106 (101)	5 8 (7)	28 32 (30)	34 41 (38)	5 9 (7)
	313	74 * 77 * (76)	8 * 4 * (6)	9 * 12 * (11)	21 * 29 * (25)	8 * 5 * (7)
	1250	54 * 53 * (54)	6 * 2 * (4)	8 * 6 * (7)	20 * 16 * (18)	4 * 5 * (5)
	5000	53 * 59 * (56)	0 * 0 * (0)	14 * 16 * (15)	15 * 17 * (16)	4 * 4 * (4)
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	490 468 (479)	223 204 (214)	67 68 (68)	342 367 (355)	1038 1149 (1094)
	名 称	B[a]P	2AA	2AA	B[a]P	B[a]P
	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	1145 1009 (1077)	259 267 (263)	667 774 (721)	437 420 (429)	115 127 (121)

(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。

()内は、2枚のプレートの平均値を示す。

T-1886

(別表2)

試験結果表(本試験1回目)

被験物質の名称: イソヘキサン

No. T-1886

試験実施期間		2015年12月10日 より 2015年12月14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 (アセトン)	87 80 (84)	10 6 (8)	24 32 (28)	13 19 (16)	5 5 (5)
	2.44	74 74 (74)	4 4 (4)	30 28 (29)	10 16 (13)	7 5 (6)
	4.88	71 72 (72)	14 8 (11)	38 25 (32)	22 25 (24)	7 7 (7)
	9.77	78 79 (79)	9 7 (8)	36 28 (32)	25 18 (22)	3 4 (4)
	19.5	74 70 (72)	11 7 (9)	27 40 (34)	18 13 (16)	4 5 (5)
	39.1	32 * 38 * (35)	7 * 5 * (6)	23 21 (22)	10 * 11 * (11)	4 * 3 * (4)
	78.1	31 * 24 * (28)	5 * 7 * (6)	21 * 12 * (17)	8 * 6 * (7)	3 * 2 * (3)
S9Mix (+)	陰性対照 (アセトン)	87 98 (93)	8 11 (10)	30 40 (35)	40 36 (38)	9 6 (8)
	9.77	94 98 (96)	7 8 (8)	41 27 (34)	45 29 (37)	7 19 (13)
	19.5	96 90 (93)	10 8 (9)	29 33 (31)	28 32 (30)	11 13 (12)
	39.1	109 84 (97)	11 7 (9)	30 34 (32)	30 30 (30)	8 7 (8)
	78.1	107 91 (99)	13 10 (12)	36 18 (27)	49 27 (38)	8 12 (10)
	156	63 * 67 * (65)	9 * 13 * (11)	16 * 16 * (16)	22 * 30 * (26)	10 * 7 * (9)
	313	66 * 65 * (66)	4 * 7 * (6)	5 * 9 * (7)	30 * 22 * (26)	11 * 5 * (8)
陽性対照	S9Mixを必要としないもの	名 称	AF-2	SAZ	AF-2	ICR-191
		用量 (μ g/プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1
		コロニー数/プレート	576 448 (512)	219 264 (242)	65 74 (70)	404 435 (420)
	S9Mixを必要とするもの	名 称	B[a]P	2AA	2AA	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	618 708 (663)	318 253 (286)	512 495 (504)	427 446 (437)

(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。

()内は、2枚のプレートの平均値を示す。

T-1886

(別表3)

試験結果表(本試験2回目)

被験物質の名称: イソヘキサン

No. T-1886

試験実施期間		2015年12月14日 より 2015年12月17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 (アセトン)	92 95 (94)	6 7 (7)	28 21 (25)	19 15 (17)	4 6 (5)
	2.44	97 97 (97)	9 9 (9)	24 21 (23)	13 14 (14)	4 4 (4)
	4.88	99 116 (108)	4 7 (6)	26 24 (25)	10 12 (11)	4 6 (5)
	9.77	135 111 (123)	9 7 (8)	20 28 (24)	12 10 (11)	7 5 (6)
	19.5	112 93 (103)	7 4 (6)	23 29 (26)	10 19 (15)	4 4 (4)
	39.1	117 * 100 * (109)	8 * 13 * (11)	24 21 (23)	10 * 13 * (12)	4 * 9 * (7)
	78.1	47 * 33 * (40)	6 * 4 * (5)	15 * 21 * (18)	7 * 6 * (7)	1 * 2 * (2)
	名 称	AF-2	SAZ	AF-2	AF-2	ICR-191
	用量 (μ g/プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1	1.0
	コロニー数/プレート	633 618 (626)	282 290 (286)	70 62 (66)	322 309 (316)	820 734 (777)

(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

*: 被験物質による生育阻害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。

図 1

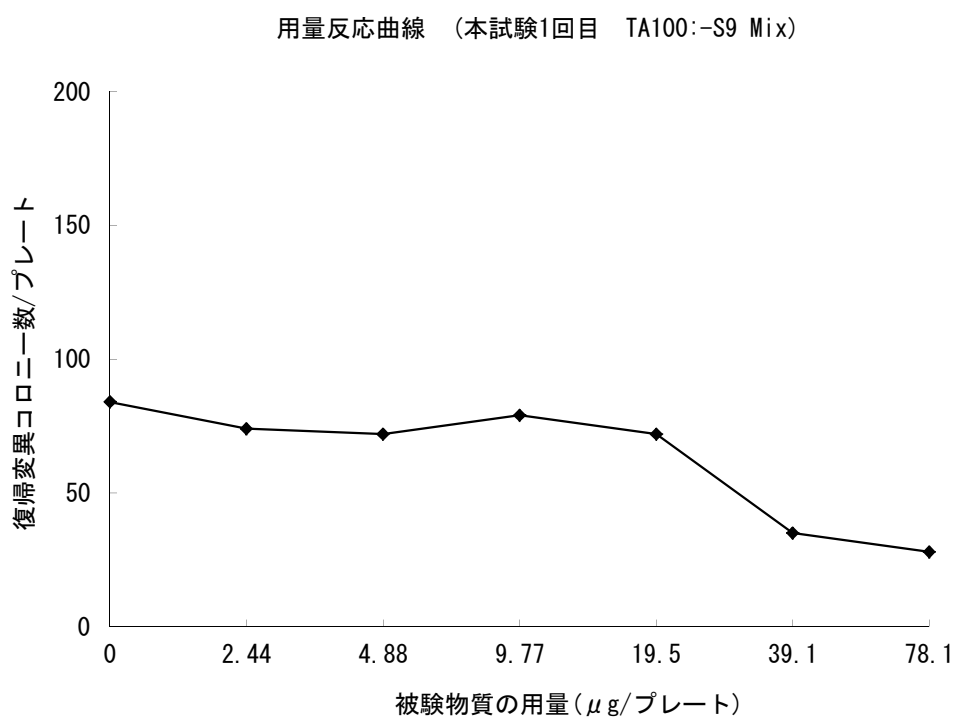


図 2

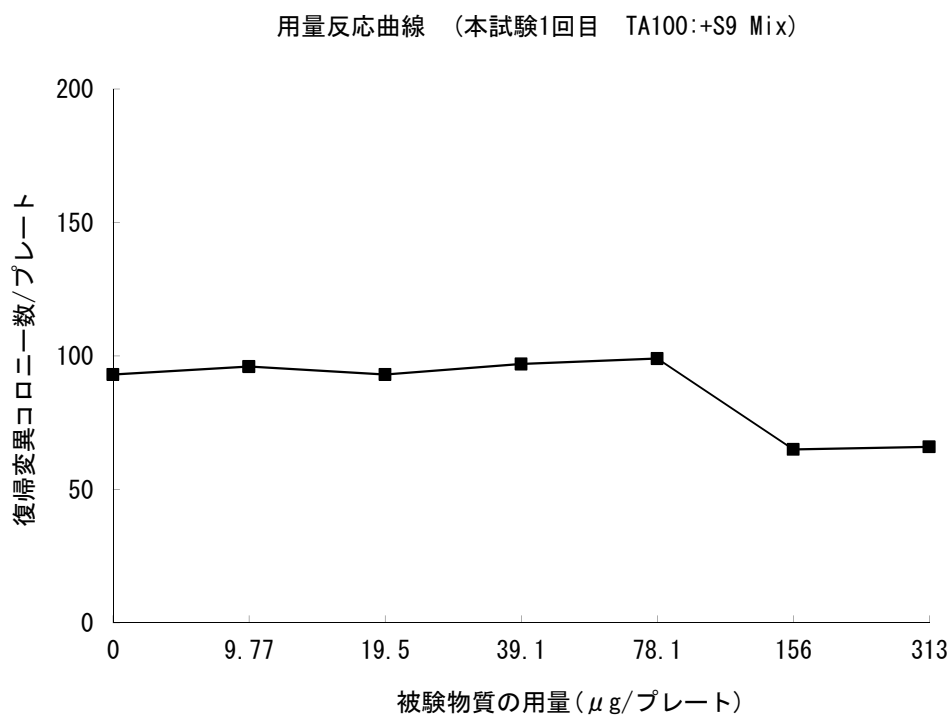


図 3

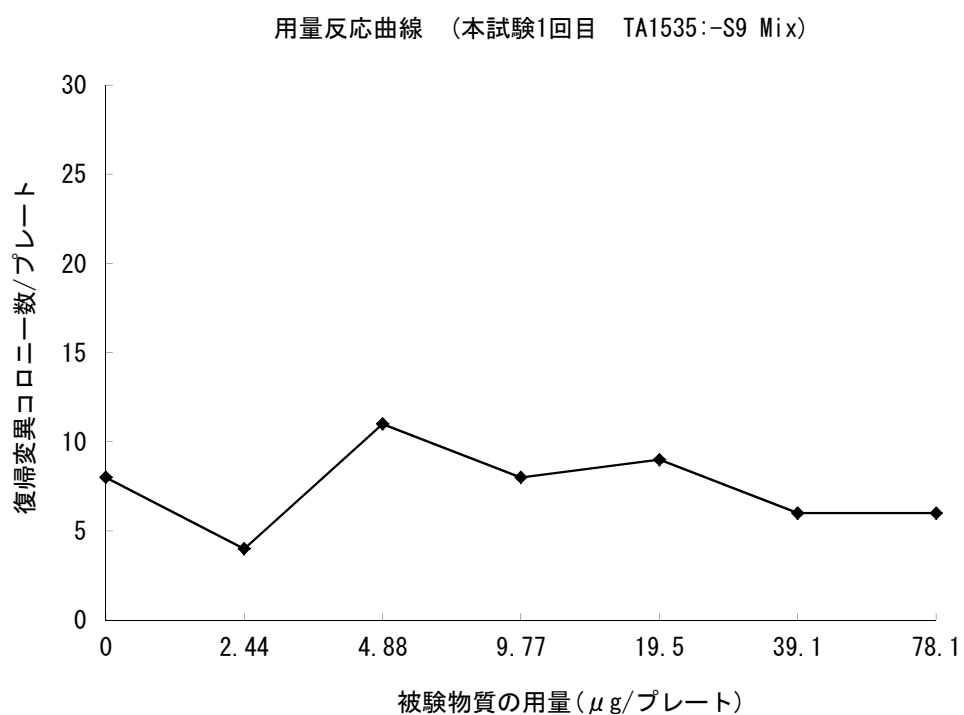


図 4

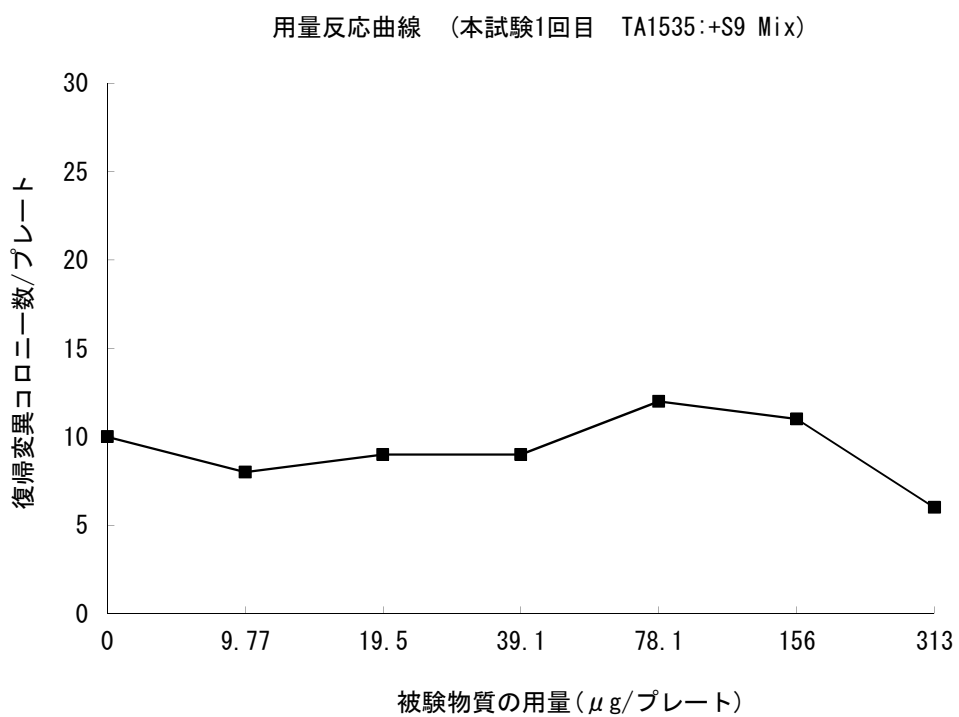


図 5

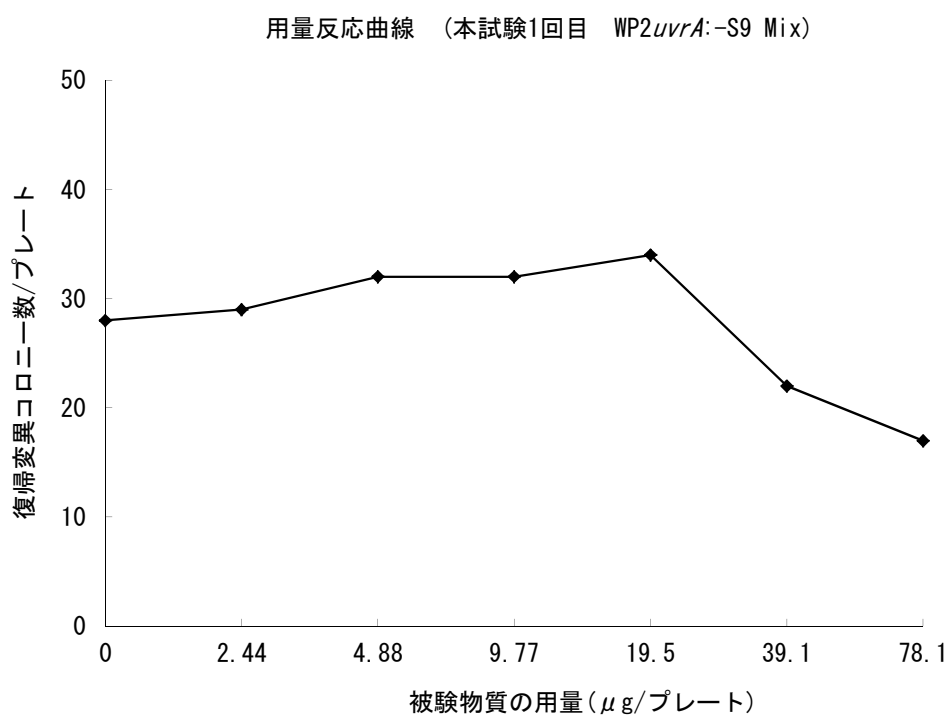
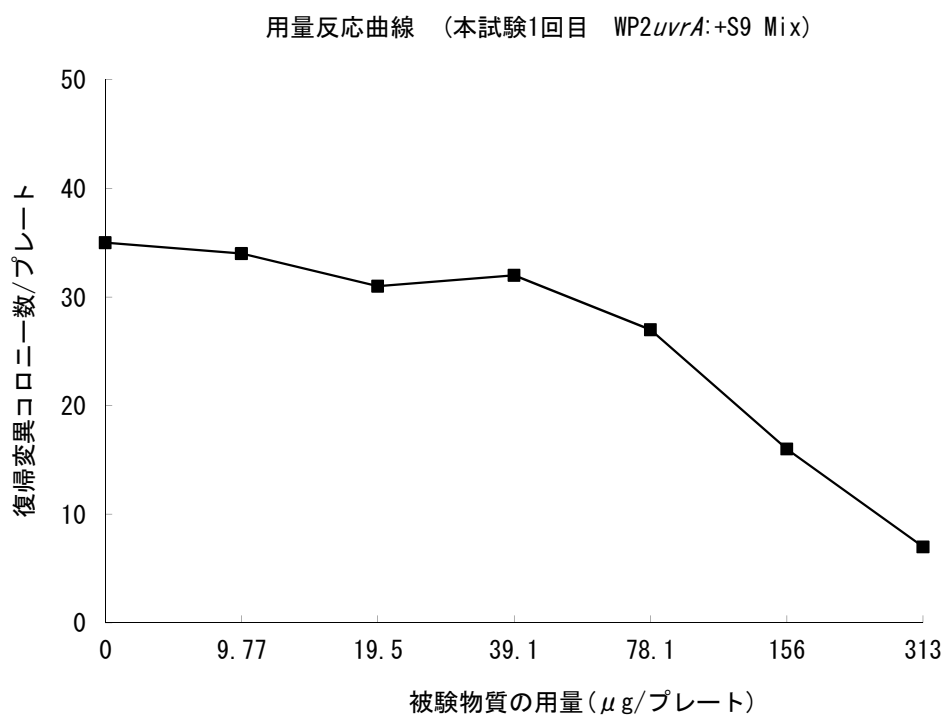


図 6



T-1886

図 7

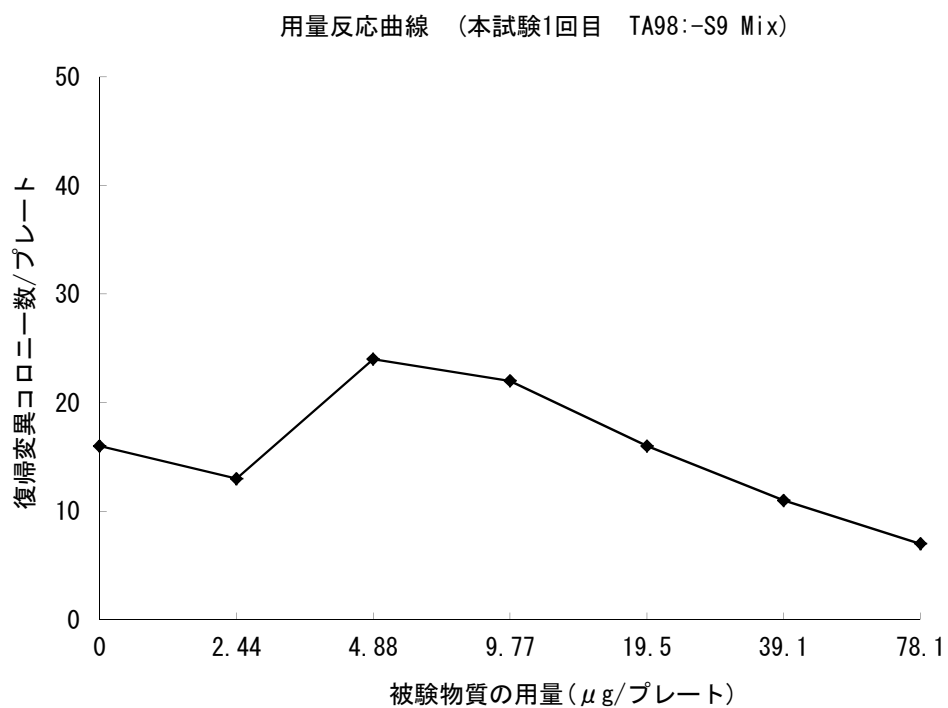


図 8

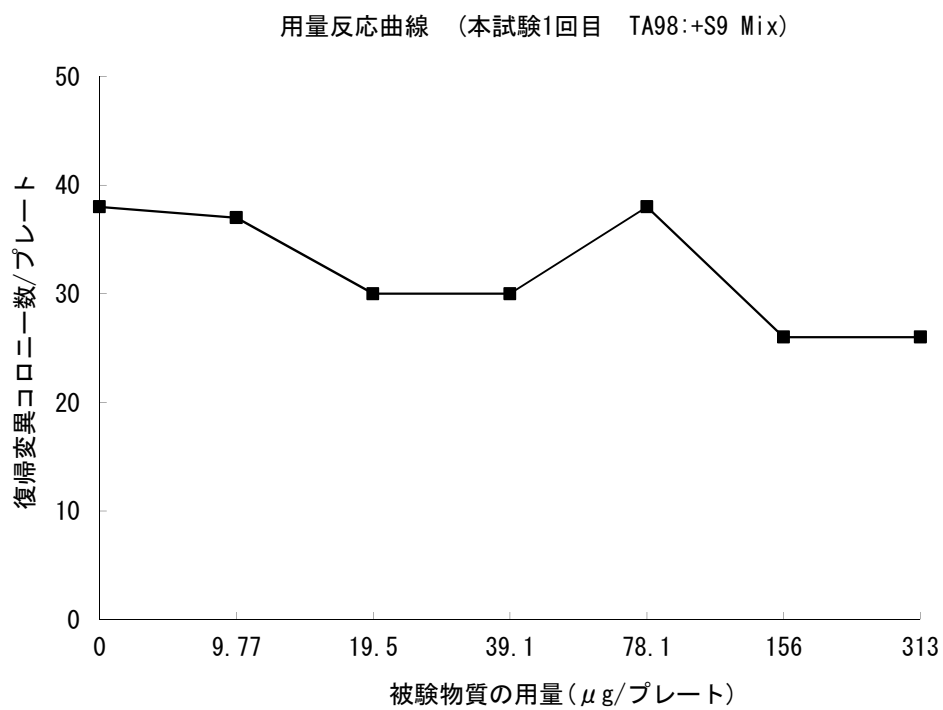


図 9

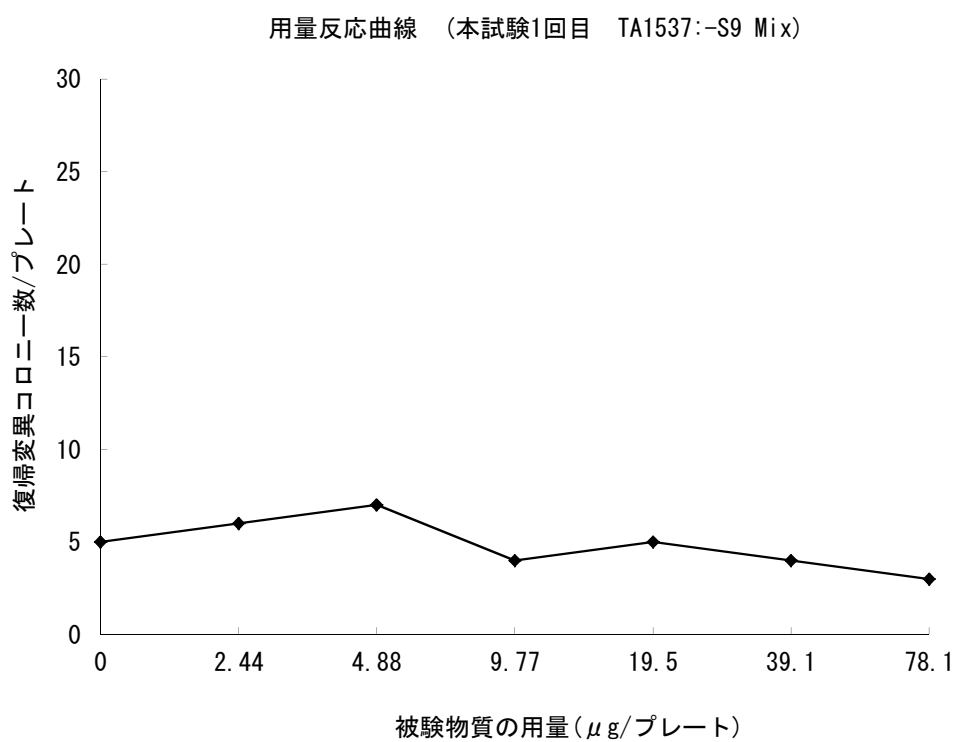
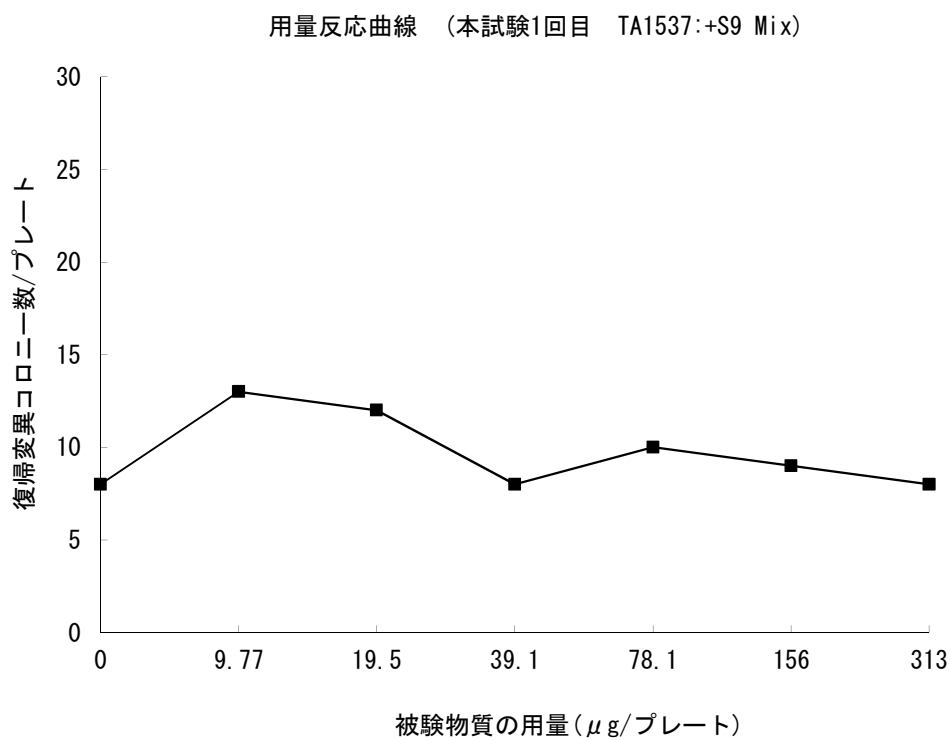


図 10



CERTIFICATE OF ANALYSIS
(Stability of Test Article)

Stage: After the end of experiment

Date of Analysis: December 18, 2015
October 19, 2015 (The spectrum of the characteristic test)

Test Article: Isohexane
(Lot number: AG01)

Test Item: Infrared absorption spectrum
(Liquid film method)

Acceptance Criteria: The spectrum of the stability test is compared to the spectrum of the characteristic test¹⁾: both spectra exhibit similar intensities of absorption at the same wave numbers.

1) [REDACTED] Characteristic study of Isohexane (Study number: A-2783, Gotemba Laboratory, BoZo Research Center Inc.)

Results: The spectrum of the stability test was compared to the spectrum of the characteristic test: both spectra exhibited similar intensities of absorption at the same wave numbers.
The spectra are shown on the next page.

Judgment: Passed

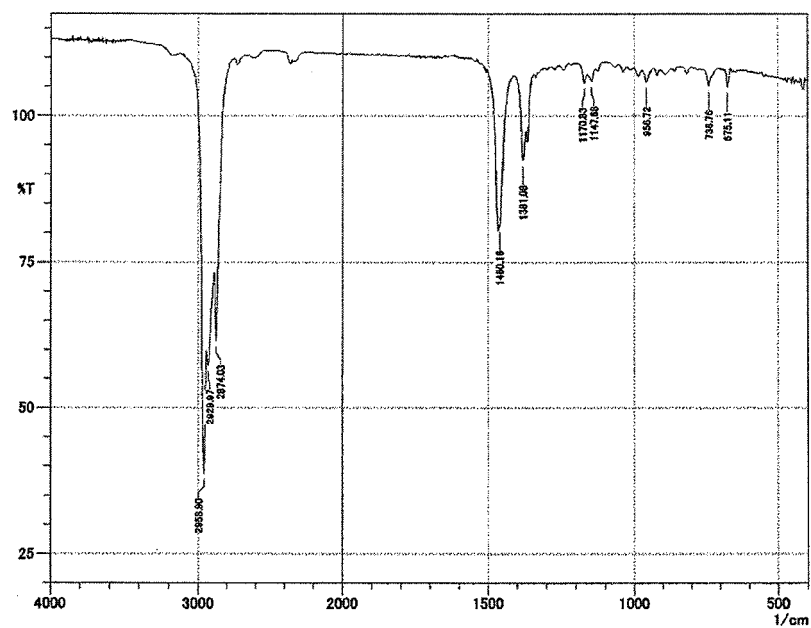
Regulation: "GLP Standards for Test Facilities on the Testing of New Chemical Articles", (Notification 0331 No.8 of Pharmaceutical and Food Safety Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare, Heisei 23-03-29 No.6 of Manufacturing Industries Bureau, Ministry of Economy, Trade and Industry, & No.110331010 of Environmental Policy Bureau, Ministry of the Environment, Japan, March 31, 2011)

[REDACTED]
Date: January 26, 2016

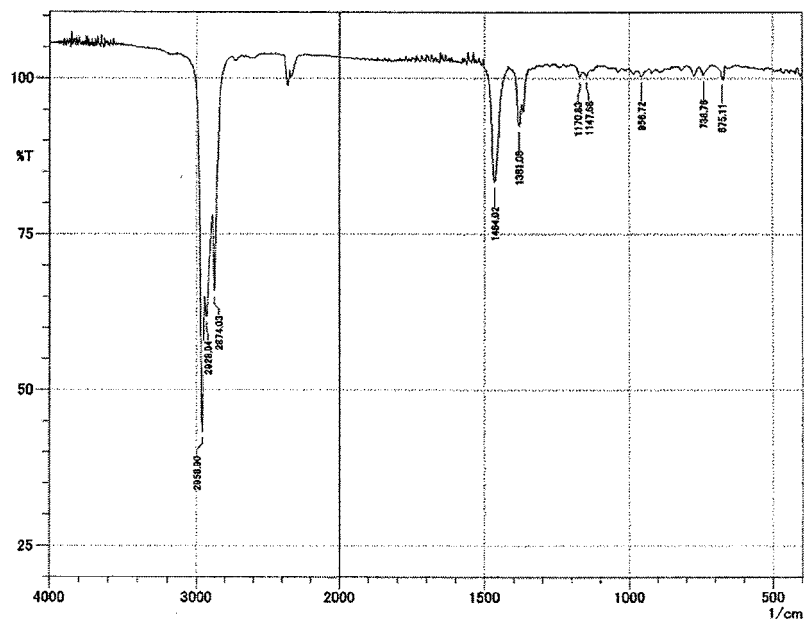
[REDACTED]
Person Responsible for Analysis
Gotemba Laboratory, BoZo Research Center Inc.

Results: Infrared absorption spectra

(Characteristic)



(Stability)



**Background Data of the reverse mutation tests in bacteria
at the Tokyo Laboratory of the BoZo Research Center Inc.**

CODE No. :151111

(Pre-incubation Method)

Tester Strains	S9 Mix (-) or (+)	Classification	Mean	S.D.	Management ranges		Number of plates
					Lower limit	Upper limit	
TA100	-	Solvent control	103	16.5	56	149	451
		Positive control AF-2(0.01µg/plate)	556	59.0	390	723	451
	+	Solvent control	130	17.0	83	176	451
		Positive control B[a]P(5.0µg/plate)	839	91	587	1090	451
TA1535	-	Solvent control	8	2.70	1	15	451
		Positive control SAZ(0.5µg/plate)	251	45.2	115	386	451
	+	Solvent control	10	2.96	1	18	451
		Positive control 2AA(2.0µg/plate)	222	29.3	142	302	451
WP2uvrA	-	Solvent control	19	5.37	8	31	451
		Positive control AF-2(0.01µg/plate)	63	8.9	44	82	451
	+	Solvent control	23	5.72	9	36	451
		Positive control 2AA(10.0µg/plate)	651	80	456	846	451
TA98	-	Solvent control	15	3.43	6	24	451
		Positive control AF-2(0.1µg/plate)	345	53.7	190	500	451
	+	Solvent control	29	5.98	11	46	451
		Positive control B[a]P(5.0µg/plate)	339	34.3	238	441	451
TA1537	-	Solvent control	7	2.38	1	13	451
		Positive control ICR-191(1.0µg/plate)	921	135	534	1307	451
	+	Solvent control	9	2.87	1	17	451
		Positive control B[a]P(5.0µg/plate)	87	13.0	50	123	451

(Notice)

Solvent controls Water, Dimethylsulfoxide(DMSO), Acetone, *N,N*-dimethylformamide (DMF) and 1,4-Dioxane

Positive controls AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

SAZ : Sodium azide

ICR-191 : 2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)aminopropylamino]acridine·2HCl

B[a]P : Benzo[a]pyrene

2AA : 2-aminoanthracene

S9Mix

(-) : without metabolic activation

(+) : with metabolic activation

T-1886

信頼性保証書 (1/2)

試験番号 : T-1886

試験表題 : イソヘキサンの細菌を用いる復帰突然変異試験

本試験は以下に示す基準を遵守して実施されたことを保証致します。

- 「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 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、環企発第 110331010 号 環境省総合環境政策局長通知)

なお、調査は下記の通り実施致しました。

2016年2月2日
株式会社ボゾリサーチセンター
信頼性保証部門

試験における調査

項 目	担当者	調 査 日	試験責任者及び 運営管理者への 報告日
試験計画書		2015 年 11 月 26 日	2015 年 11 月 26 日
試験計画書変更書 (1)		2015 年 12 月 2 日	2015 年 12 月 2 日
調製・保存 (被験物質)、 被験物質の処理		2015 年 12 月 11 日	2015 年 12 月 14 日
改善確認		2015 年 12 月 16 日	2015 年 12 月 17 日
計数		2015 年 12 月 14 日	2015 年 12 月 14 日
被験物質の安定性測定		2015 年 12 月 18 日	2015 年 12 月 18 日
生データ		2015 年 12 月 29 日	2016 年 1 月 4 日
改善確認		2016 年 1 月 12 日	2016 年 1 月 12 日
最終報告書草案・図・表		2015 年 12 月 29 日	2016 年 1 月 4 日
改善確認		2016 年 1 月 12 日	2016 年 1 月 12 日
生データ (安定性測定)		2016 年 1 月 15 日	2016 年 1 月 15 日
最終報告書		2016 年 2 月 2 日	2016 年 2 月 2 日

信頼性保証書 (2/2)

施設調査

項 目	担当者	調 査 日	部門責任者及び 運営管理者への 報告日
菌株の特性検査		2015 年 10 月 1 日	
		2015 年 10 月 5 日	
		2015 年 10 月 8 日	2015 年 10 月 8 日
改善確認		2015 年 10 月 8 日	2015 年 10 月 13 日
陽性対照物質の管理		2015 年 9 月 29 日	2015 年 10 月 1 日
		2015 年 10 月 20 日	2015 年 10 月 22 日
		2015 年 10 月 21 日	2015 年 10 月 22 日
		2015 年 11 月 13 日	2015 年 11 月 16 日

T-1886

試験責任者陳述書

試験番号 : T-1886

試験標題 : イソヘキサンの細菌を用いる復帰突然変異試験

当該試験は、「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）を満たす試験施設において、「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）に準拠して実施されたものに相違ありません。

2016年 2月 2日
株式会社ボゾリサーチセンター

試験責任者
