



Japan  
Food  
Research  
Laboratories

## 試 験 報 告 書

第 205090546-001 号

2005年(平成17年)11月02日

依 頼 者           ニチリンケミカル株式会社  
                      株式会社 サンワード商会

検 体            空気触媒 セルフィール

表 題            変異原性試験

2005年(平成17年)09月28日当センターに提出された  
上記検体について試験した結果は次のとおりです。

財団法人

日本食品分析センター

東京本部 〒151-0062 東京都渋谷区元代々木町52番1号  
大阪支所 〒564-0051 大阪府吹田市豊津町3番1号  
名古屋支所 〒460-0011 名古屋市中区大須4丁目5番13号  
九州支所 〒812-0034 福岡市博多区下呉服町1番12号  
多摩研究所 〒206-0025 東京都多摩市永山6丁目11番10号  
千歳研究所 〒066-0052 北海道千歳市文京2丁目3番

## 変異原性試験

### 要 約

空気触媒 セルフィールの突然変異誘起性を調べる目的で労働省告示第77号(昭和63年9月1日)に準じ試験を実施した。

検体について、*Escherichia coli* WP2uvrA及び*Salmonella typhimurium* TA系4菌株を用いて代謝活性化を含む復帰突然変異試験を100~500  $\mu$ L/プレートの用量で行ったところ、いずれの場合においても復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。以上のことから、本試験条件下における検体の突然変異誘起性は陰性と結論した。

### 依 頼 者

ニチリンケミカル株式会社  
株式会社 サンワード商会

### 検 体

空気触媒 セルフィール

### 試験実施期間

平成17年9月30日~平成17年11月02日

### 試験実施場所

財団法人 日本食品分析センター 千歳研究所  
北海道千歳市文京2丁目3番

### 試験責任者

財団法人 日本食品分析センター 千歳研究所  
安全性試験部 生物科学課  
前田 貴宣

### 試験実施者

宮北 春香 , 秋山 尚子

## 1 試験目的

検体の突然変異誘起性を調べるため、労働省告示第77号(昭和63年9月1日)に準じ、*Escherichia coli* WP2uvrA及び*Salmonella typhimurium* TA系4菌株を用いて、代謝活性化を含む復帰突然変異試験を行う。なお、試験方法は依頼者の指定による。

## 2 検 体

空気触媒 セルフィーール

性状：無色透明液体

## 3 試験方法

### 1) 試験液の調製

用量設定試験及び本試験ともに、検体を孔径0.45  $\mu\text{m}$ のフィルター[倉敷紡績株式会社]でろ過したものを試験原液とした。注射用水の100  $\mu\text{L}$ を陰性対照とした。

### 2) 試験用量

用量設定試験

500, 400, 300, 200及び100  $\mu\text{L}$ /プレート

本試験

500, 400, 300, 200及び100  $\mu\text{L}$ /プレート

### 3) 陽性対照物質及び陽性対照物質を溶解する溶媒

#### ① 陽性対照物質と用量

S9(-)			S9(+)		
菌株	陽性対照物質	用量 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	菌株	陽性対照物質	用量 ( $\mu\text{g}$ /プレート)
TA100	AF-2	0.01	TA100	2-AA	1
TA98	AF-2	0.1	TA98	2-AA	0.5
TA1535	$\text{NaN}_3$	0.5	TA1535	2-AA	2
TA1537	9-AA	80	TA1537	2-AA	2
WP2uvrA	AF-2	0.01	WP2uvrA	2-AA	10

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

$\text{NaN}_3$  : Sodium Azide

9-AA : 9-aminoacridine hydrochloride

2-AA : 2-aminoanthracene

② 陽性対照物質及び陽性対照物質を溶解する溶媒

物質名		製造元	溶媒名
陽性 対照	AF-2	和光純薬工業株式会社	DMSO
	NaN <sub>3</sub>	和光純薬工業株式会社	注射用水
	9-AA	ICN Biomedicals	DMSO
	2-AA	和光純薬工業株式会社	DMSO
溶媒	DMSO	株式会社 同仁化学研究所	—
	注射用水	株式会社 大塚製薬工場	—

陽性対照物質溶液の調製保存等；分注保存(保存温度-80℃)

DMSO：ジメチルスルホキシド

4) 使用菌株

① 入手先

菌株	入手先
TA100	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター
TA98	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター
TA1535	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター
TA1537	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター
WP2 <i>uvrA</i>	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター

② 保存方法

保存方法	分注凍結	保存液組成	菌懸濁液	0.8 mL
保存温度	-80℃		DMSO	0.07 mL
保存機器名及び型式名		超低温フリーザー	サンヨー	MDF-293AT

5) 菌の前培養

Nutrient broth No.2[OXOID]を15 mL分注したバツフル付三角フラスコに、菌分注凍結保存液を解凍し、TA100、TA1535及びTA98は10 μL、TA1537は3 μL並びにWP2*uvrA*は10,000倍希釈した後、10 μL接種した。菌を接種したバツフル付三角フラスコは旋回を始めるまで冷蔵し、試験開始までに37℃で10時間旋回培養した。菌懸濁液は濁度計で吸光度を計測した。

振とう培養装置の型式及び製造元	バイオシェーカー BR-40LF タイテック株式会社
振とう方法(振とう型式・振とう数等)	旋回式・100回/分
培養容器(形状・容量・栓)	バツフル付三角フラスコ・100 mL・シリコン栓

6) S9及びS9Mix

① S9の製造元, 保存方法

製造元	オリエンタル酵母工業株式会社	保存温度	-80 °C
保存機器名及び型式名	超低温フリーザー サンヨー MDF-293AT		

② S9の調製方法

使用動物の種・系統性	ラット・SD系 雄	投与方法	腹腔内投与
誘導物質の名称	フェノバルビタール(PB) 5,6-ベンゾフラボン(5,6-BF)		
投与期間及び投与量 (mg/kg体重)	1日目: PB30 mg/kg, 2日目: PB60 mg/kg 3日目: PB60 mg/kg+5,6-BF80 mg/kg 4日目: PB60 mg/kg		

③ S9Mixの組成

成分	S9Mix(1 mL)中の量	成分	S9Mix(1 mL)中の量
S9	0.1 mL	NADH	4 $\mu$ mol
MgCl <sub>2</sub>	8 $\mu$ mol	NADPH	4 $\mu$ mol
KCl	33 $\mu$ mol	Na-リン酸緩衝液 (pH7.4)	100 $\mu$ mol
G-6-P	5 $\mu$ mol		

7) 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
備考: 直径100 mmの滅菌平板1枚当たり30 mLを分注して固化させたもの			
組成(培地1 L当たり)			
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.2 g	クエン酸·H <sub>2</sub> O	2 g
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	10 g	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1.92 g
NaOH	0.66 g	グルコース	20 g
寒天	15 g		

8) ソフトアガーの組成

Bacto agar (DIFCO)	0.6 %
NaCl	0.5 %

#### 9) 試験操作法

プレインキュベーション法(代謝活性化法によらない場合及び代謝活性化法による場合の両条件)により試験を行った。

所定量の試験液, S9Mix又は0.1 mol/L Na-リン酸緩衝液(pH7.4)0.5 mL及び菌懸濁液0.1 mLを順次滅菌小試験管に加えた。37 °Cの恒温槽中で20分間振とう(プレインキュベーション)した後, これにトップアガー2 mL(ソフトアガーに別に滅菌した0.5 mmol/L L-ヒスチジン-0.5 mmol/L D-ピオチン-0.5 mmol/L L-トリプトファン溶液を1/10容量加えたもの。)を加え混合して, 最少グルコース寒天平板培地上に一様に広げ固化させた。37 °Cの恒温器中で48時間培養し, 復帰突然変異により出現したコロニーを計数した。

菌の生育阻害のチェック方法

- ① 復帰変異コロニー数の減少の有無
- ② 目視によるバックグラウンドの観察
- ③ 実体顕微鏡によるバックグラウンドの観察

#### 10) 無菌試験

試験液及びS9Mixの0.5 mLを滅菌小試験管にそれぞれ2本分注し, トップアガー2 mLを加え混合して, 最少グルコース寒天平板培地上に一様に広げ固化させた。37 °Cの恒温器中で48時間培養し, 菌の発育の有無を観察した。

#### 11) 統計処理

実施しなかった。

#### 12) 判定基準

コロニー数の平均値が, 陰性対照と比較して試験区で2倍以上に増加し, かつ, その増加に用量依存性が認められた場合に陽性と判定する。

### 4 試験結果

試験結果を試験結果表1及び2に示した。検体は, 用量設定試験及び本試験のいずれの場合においても, 陰性対照に比べ復帰変異コロニー数を増加させなかった。以上のことから, 本試験条件下における検体の突然変異誘起性は陰性であると結論した。

無菌試験では試験液及びS9Mixともに菌の発育は観察されなかった。

陽性対照として用いた2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, Sodium Azide及び9-aminoacridine hydrochlorideでは, 陰性対照と比較して著明な復帰変異コロニー数の増加を認めた。また, 2-aminoanthraceneはS9Mix存在下で, 著明な復帰変異を誘起した。

試験結果表1(用量設定試験)

検体の名称：空気触媒 セルフィール

代謝活性化系の有無	検体の用量(μL/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	97	10	37	16	8	
		110	15	28	32	13	
		116 (108)	13 (13)	42 (36)	24 (24)	10 (10)	
	100	93	13	38	19	8	
		110 (102)	11 (12)	26 (32)	26 (23)	19 (14)	
	200	125	17	34	16	10	
		102 (114)	6 (12)	32 (33)	22 (19)	11 (11)	
	300	98	18	35	17	13	
		103 (101)	13 (16)	36 (36)	24 (21)	5 (9)	
	400	107	8	24	33	9	
		102 (105)	8 (8)	36 (30)	19 (26)	12 (11)	
	500	102	10	32	16	10	
		99 (101)	12 (11)	35 (34)	19 (18)	9 (10)	
	S9Mix (+)	陰性対照	124	15	41	37	17
			105	5	32	36	30
			120 (116)	11 (10)	34 (36)	33 (35)	13 (20)
		100	115	10	35	24	14
			118 (117)	8 (9)	37 (36)	37 (31)	18 (16)
200		98	15	38	19	17	
		104 (101)	9 (12)	41 (40)	17 (18)	13 (15)	
300		101	7	41	23	19	
		122 (112)	11 (9)	28 (35)	26 (25)	9 (14)	
400		101	5	40	35	20	
		89 (95)	10 (8)	31 (36)	21 (28)	15 (18)	
500		116	13	47	39	13	
	107 (112)	8 (11)	35 (41)	35 (37)	20 (17)		
陽性	名称	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA	
	用量(μg/プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1	80	
	S9Mixを必要としないもの	コロニー数	271	498	96	230	183
			252	493	100	258	146
		/プレート	293 (272)	525 (505)	93 (96)	218 (235)	207 (179)
	対照	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
用量(μg/プレート)		1	2	10	0.5	2	
S9Mixを必要とするもの		コロニー数	1182	289	160	637	318
			1086	378	167	609	312
		/プレート	1170 (1146)	352 (340)	189 (172)	642 (629)	282 (304)

2-AA: 2-aminoanthracene

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

NaN<sub>3</sub>: Sodium Azide

9-AA: 9-aminoacridine hydrochloride

括弧内は各プレートのコロニー数の平均値を示す。

陰性対照：日本薬局方注射用水

試験結果表2(本試験)

検体の名称：空気触媒 セルフィール

代謝活性化系 の有無	検体の 用量 ( $\mu$ L/プレート)	復帰変異数(コロニー数/プレート)					
		塩基置換型			フレームシフト型		
		TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537	
S9Mix (-)	陰性対照	106	14	33	26	7	
		101	15	40	14	5	
		115 (107)	10 (13)	33 (35)	21 (20)	9 (7)	
	100	116	12	23	16	9	
		113 (115)	14 (13)	27 (25)	14 (15)	11 (10)	
	200	108	15	33	15	10	
		113 (111)	18 (17)	30 (32)	20 (18)	5 (8)	
	300	113	13	28	23	13	
		110 (112)	14 (14)	26 (27)	14 (19)	7 (10)	
	400	106	11	32	14	12	
		107 (107)	16 (14)	27 (30)	23 (19)	13 (13)	
	500	109	14	22	25	11	
		109 (109)	10 (12)	23 (23)	13 (19)	7 (9)	
	S9Mix (+)	陰性対照	116	12	28	29	17
			123	10	31	38	14
			119 (119)	14 (12)	33 (31)	26 (31)	18 (16)
		100	123	15	32	26	19
			115 (119)	9 (12)	39 (36)	27 (27)	21 (20)
200		122	20	20	29	22	
		145 (134)	19 (20)	34 (27)	24 (27)	18 (20)	
300		108	6	29	34	22	
		119 (114)	13 (10)	35 (32)	20 (27)	27 (25)	
400		106	19	36	28	22	
		105 (106)	18 (19)	43 (40)	30 (29)	15 (19)	
500		127	18	26	26	23	
		106 (117)	17 (18)	37 (32)	31 (29)	13 (18)	
陽 性		名 称	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9-AA
		用量( $\mu$ g/プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
		コロニー数 /プレート	297 266 266 (276)	459 451 459 (456)	109 110 102 (107)	262 215 220 (232)	170 151 144 (155)
対 照		名 称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
		用量( $\mu$ g/プレート)	1	2	10	0.5	2
	コロニー数 /プレート	1275 1254 1251 (1260)	319 303 326 (316)	122 125 154 (134)	612 614 577 (601)	325 326 333 (328)	

2-AA : 2-aminoanthracene  
 AF-2 : 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide  
 NaN<sub>3</sub> : Sodium Azide  
 9-AA : 9-aminoacridine hydrochloride

括弧内は各プレートのコロニー数の平均値を示す。  
 陰性対照：日本薬局方注射用水

## 5 参考文献

- Yahagi, T., Degawa, M., Seino, Y., Matsushima, T., Nagao, M., Sugimura, T. and Hashimoto, Y. : *Cancer Lett.*, 1, 91-96 (1975).
- Maron, D.M. and Ames, B.N. : *Mutat. Res.*, 113, 173-215 (1983).
- 労働省化学物質調査課編：“安衛法における変異原性試験” (1991) 中央労働災害防止協会.

以 上