

Table 3 Food consumption of monkeys treated intravenously with AcPepA for 3 days

Test substance	Sex	Dose (mg/kg)		Animal No.	Day of treatment			
		rapid (2min)	infusion (3h)		0-1	1-2	2-3	3-3*
AcPepA	Male	20	60	111	70	70	70	70
				112	70	70	70	70
				113	70	70	70	70
		Mean	70	70	70	70	70	
				SD	0	0	0	0

Unit: g. * Fast for blood sampling.

Table 4 Hematology in monkeys treated intravenously with AcPepA for 3 days

Test substance	Sex	Dose (mg/kg) rapid (2min)	Dose (mg/kg) infusion (3h)	Animal No.	RBC ($10^9/\mu\text{L}$)		WBC ($10^3/\mu\text{L}$)		Ht (%)		Hb (g/dL)		MCH (pg)		MCV (fL)	
					pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post
AcPepA	Male	20	60	111	674	631	70.8	82.9	49.0	46.9	15.3	14.3	22.7	22.7	72.7	74.3
				112	634	587	113.9	88.2	47.5	44.6	14.7	13.8	23.2	23.5	74.9	76.0
				113	642	587	116.8	111.8	46.7	44.4	14.4	13.3	22.4	22.7	72.7	75.6
				Mean	650	602	100.5	94.3	47.7	45.3	14.8	13.8	22.8	23.0	73.4	75.3
SD			21	25	25.8	15.4	1.4	1.4	0.5	0.5	0.4	0.5	1.3	0.9		

Test substance	Sex	Dose (mg/kg) rapid (2min)	Dose (mg/kg) infusion (3h)	Animal No.	MCHC (g/dL)		Ret (%)		Ret ($10^9/\mu\text{L}$)		Plt ($10^9/\mu\text{L}$)		PT (sec)		APTT (sec)	
					pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post
AcPepA	Male	20	60	111	31.2	30.5	0.89	0.99	6.00	6.25	40.5	40.6	9.2	8.7	20.7	21.2
				112	30.9	30.9	0.87	1.22	5.52	7.16	32.3	25.1	9.4	9.0	24.3	23.5
				113	30.8	30.0	1.42	1.71	9.12	10.04	31.0	34.1	9.2	8.9	22.5	22.4
				Mean	31.0	30.5	1.06	1.31	6.88	7.82	34.6	33.3	9.3	8.9	22.5	22.4
SD			0.2	0.5	0.31	0.37	1.95	1.98	5.2	7.8	0.1	0.2	1.8	1.2		

Test substance	Sex	Dose (mg/kg) rapid (2min)	Dose (mg/kg) infusion (3h)	Animal No.	Differential leukocyte counts ratio (%)														
					Bas			Eos			Neu			Lym			Mon		
					pre	post		pre	post		pre	post		pre	post		pre	post	
AcPepA	Male	20	60	111	0.4	0.2	1.1	0.7	26.9	38.6	68.2	56.0	3.4	4.5					
				112	0.1	0.1	4.6	1.4	43.1	46.6	49.0	48.8	3.2	3.1					
				113	0.1	0.1	1.3	1.9	47.8	50.4	46.6	44.0	4.2	3.6					
				Mean	0.2	0.1	2.3	1.3	39.3	45.2	54.6	49.6	3.6	3.7					
SD			0.2	0.1	2.0	0.6	11.0	6.0	11.8	6.0	0.5	0.7							

Test substance	Sex	Dose (mg/kg) rapid (2min)	Dose (mg/kg) infusion (3h)	Animal No.	Differential leukocyte counts ($10^7/\mu\text{L}$)														
					Bas			Eos			Neu			Lym			Mon		
					pre	post		pre	post		pre	post		pre	post		pre	post	
AcPepA	Male	20	60	111	0.3	0.2	0.8	0.6	19.0	32.0	48.3	46.4	2.4	3.7					
				112	0.1	0.1	5.2	1.2	49.2	41.2	55.8	43.0	3.6	2.7					
				113	0.1	0.1	1.5	2.1	55.9	56.4	54.4	49.2	4.9	4.0					
				Mean	0.2	0.1	2.5	1.3	41.4	43.2	52.8	46.2	3.6	3.5					
SD			0.1	0.1	2.4	0.8	19.7	12.3	4.0	3.1	1.3	0.7							

pre: pre-administration (during quarantine period), post: post-administration (necropsy day).

Table 5 Blood chemistry in monkeys treated intravenously with AcPepA for 3 days

Test substance	Sex	Dose (mg/kg)	Animal No.	AST (IU/L)		ALT (IU/L)		ALP (IU/L)		LDH (IU/L)		CK (IU/L)		γ -GTP (IU/L)		Glu. (mg/dL)		
				pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre
AcPepA	Male	20	60	111	30.3	57.3	48.8	76.0	351.4	347.4	582.9	1182.2	44.4	204.1	58.26	55.51	92	86
				112	36.2	76.7	21.9	53.6	489.1	450.9	599.4	1168.3	53.8	218.9	58.09	56.18	105	120
				113	27.2	24.0	61.5	38.5	310.9	378.1	431.4	780.0	82.8	62.2	41.98	42.89	85	81
				Mean	31.2	52.7	44.1	56.0	383.8	392.1	537.9	1043.5	60.3	161.7	52.78	51.53	94	96
				SD	4.6	26.7	20.2	18.9	93.4	53.2	92.6	228.3	20.0	86.5	9.35	7.49	10	21

Test substance	Sex	Dose (mg/kg)	Animal No.	T.Cho. (mg/dL)		TG (mg/dL)		PL (mg/dL)		TP (g/dL)		Alb. (g/dL)		A/G		BUN (mg/dL)		
				pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	
AcPepA	Male	20	60	111	155	135	17	19	218	213	6.9	6.5	4.1	3.8	1.46	1.41	24	21
				112	150	131	37	23	240	216	7.3	7.2	4.0	4.0	1.21	1.25	21	19
				113	133	120	24	26	207	210	7.6	7.2	4.1	3.8	1.17	1.12	32	28
				Mean	146	129	26	23	222	213	7.3	7.0	4.1	3.9	1.28	1.26	26	23
				SD	12	8	10	4	17	3	0.4	0.4	0.1	0.1	0.16	0.15	6	5

Test substance	Sex	Dose (mg/kg)	Animal No.	Crea. (mg/dL)		T.Bil. (mg/dL)		Na (mEq/L)		K (mEq/L)		Cl (mEq/L)		P (mg/dL)		Ca (mg/dL)		
				pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	
AcPepA	Male	20	60	111	1.18	1.08	0.35	0.40	150	150	4.5	5.1	116	116	4.3	3.7	10.3	10.2
				112	1.09	1.01	0.32	0.41	148	148	5.3	4.5	119	112	5.2	4.1	10.0	9.6
				113	1.23	1.28	0.19	0.39	154	152	4.9	4.4	116	115	4.3	3.2	10.4	9.8
				Mean	1.17	1.12	0.29	0.40	151	150	4.9	4.7	117	114	4.6	3.7	10.2	9.9
				SD	0.07	0.14	0.09	0.01	3	2	0.4	0.4	2	2	0.5	0.5	0.2	0.3

pre: pre-administration (during quarantine period), post: post-administration (necropsy day).

Table 6 Gross pathological findings in monkeys treated intravenously with AcPepA for 3 days

Test substance	Sex	Dose (mg/kg) rapid (2min) infusion (3h)	Animal No.	Findings
AcPepA	Male	20	60	Thymus: Small size
			111	Injection site: Dark red coloration, subcutaneous, hindlimbs (R,L)
			112	Injection site: Dark red coloration, subcutaneous, hindlimb (L)
			113	Injection site: Dark red coloration, subcutaneous, hindlimbs (R,L)

Table 7 Organ weights of monkeys treated intravenously with AcPepA for 3 days

Test substance	Sex	Dose (mg/kg) rapid (2min) infusion (3h)	Animal No.	Absolute weight										
				Brain (g)	Pituitary gland (mg)	Thyroid glands (mg)	Submaxillary glands (g)	Thymus (mg)	Heart (g)	Lung ¹⁾ (g)	Liver ¹⁾ (g)	Spleen (g)	Kidneys (g)	Adrenal glands (mg)
AcPepA	Male	20	60	66.8	55	285	2.08	692	12.5	17.4	62.5	2.40	14.0	718
			112	72.8	60	503	2.49	2385	12.7	15.5	51.6	2.59	13.6	596
			113	64.3	41	496	2.24	3163	12.7	15.3	65.8	2.61	12.0	628
			Mean	68.0	52	428	2.27	2080	12.6	16.1	60.0	2.53	13.2	647
			SD	4.4	10	124	0.21	1263	0.1	1.2	7.4	0.12	1.1	63

Test substance	Sex	Dose (mg/kg) rapid (2min) infusion (3h)	Animal No.	Testes			Epididymides			Seminal vesicles			Prostate		
				Brain (g)	Pituitary gland (mg)	Thyroid glands (mg)	Brain (g)	Pituitary gland (mg)	Thyroid glands (mg)	Brain (g)	Pituitary gland (mg)	Thyroid glands (mg)	Brain (g)	Pituitary gland (mg)	Thyroid glands (mg)
AcPepA	Male	20	60	21.86	4145	3910	911								
			112	15.87	2815	3859	683								
			113	10.36	2439	4570	642								
			Mean	16.03	3133	4113	745								
			SD	5.75	896	397	145								

Relative weight (/1kg body weight)

Test substance	Sex	Dose (mg/kg) rapid (2min) infusion (3h)	Animal No.	Relative weight (/1kg body weight)										
				Brain (g/kg)	Pituitary gland (mg/kg)	Thyroid glands (mg/kg)	Submaxillary glands (g/kg)	Thymus (mg/kg)	Heart (g/kg)	Lung ¹⁾ (g/kg)	Liver ¹⁾ (g/kg)	Spleen (g/kg)	Kidneys (g/kg)	Adrenal glands (mg/kg)
AcPepA	Male	20	60	18.5	15.2	79	0.57	191	3.5	4.8	17.3	0.66	3.9	198
			112	19.3	15.9	133	0.66	633	3.4	4.1	13.7	0.69	3.6	158
			113	17.6	11.2	136	0.61	867	3.5	4.2	18.0	0.72	3.3	172
			Mean	18.5	14.1	116	0.61	564	3.5	4.4	16.3	0.69	3.6	176
			SD	0.9	2.5	32	0.05	343	0.1	0.4	2.3	0.03	0.3	20

Test substance	Sex	Dose (mg/kg) rapid (2min) infusion (3h)	Animal No.	Testes			Epididymides			Seminal vesicles			Prostate			Body weight		
				Brain (g/kg)	Pituitary gland (mg/kg)	Thyroid glands (mg/kg)	Brain (g/kg)	Pituitary gland (mg/kg)	Thyroid glands (mg/kg)	Brain (g/kg)	Pituitary gland (mg/kg)	Thyroid glands (mg/kg)	Brain (g/kg)	Pituitary gland (mg/kg)	Thyroid glands (mg/kg)	Brain (g/kg)	Pituitary gland (mg/kg)	Thyroid glands (mg/kg)
AcPepA	Male	20	60	6.04	1145	1080	252	3.62										
			112	4.21	747	1024	181	3.77										
			113	2.84	668	1252	176	3.65										
			Mean	4.36	853	1119	203	3.68										
			SD	1.61	256	119	43	0.08										

1) with parathyroid gland. 2) with bronchus. 3) with gallbladder.

Table 8 Histopathological findings in monkeys treated intravenously with AcPepA for 3 days

Findings	Test substance		AcPepA	
	Animal No.	Dose (mg/kg)	Male	Female
Thymus	111	20 [rapid (2min)]+	0	0
Decrease in lymphocyte		60 [infusion (3h)]	0	0
Injection site (hind leg)				
Right side				
Necrosis, wall of injected vein			0	0
Hemorrhage, subcutaneous tissue			2	2
Inflammatory cell infiltration, perivascular tissue			2	1
Left side				
Necrosis, wall of injected vein			1	0
Hemorrhage, perivascular tissue			1	2
Inflammatory cell infiltration, perivascular tissue			1	1

0: No change, 1: Slight, 2: Moderate, 3: Marked.

No significant changes were detected: Cerebrum, Cerebellum, Meddulla oblongata, Pituitary gland, Adrenal gland, Thyroid gland, Parathyroid gland, Lung, Heart, Spleen, Submandibular gland, Mesenteric lymph node, Axillary lymph node, Submandibular lymph node, Liver, Gall bladder, Kidney, Urinary bladder, Testis, Epididymis, Prostate, Sternal vesicle, Sternum.

Table 9 Plasma concentration of AcPepA in intravenous administration of monkeys

Test substance	Sex	Dose (mg/kg)		Animal No.	Plasma concentration of AcPepA ($\mu\text{g/mL}$)			
		rapid (2min)	infusion (3h)		just after end of lipid (2min) dosing	1 hour after start of infusion (3h) dosing	just after end of infusion (3h) dosing	1, 2 and 4hour after end of infusion (3h) dosing
AcPepA	Male	20	60	111	26.2	1.62	1.49	Bid
				112	62.7	2.10	0.789	Bid
				113	40.0	1.15	1.54	Bid
				Mean	43.0	1.62	1.27	-
				SD	18.4	0.48	0.42	

Bid: Below the limited of detection ($<0.15 \mu\text{g/mL}$).

Appendix 1 Clinical signs during acclimation

Sex	Individual No.	Animal ¹⁾ No.	Day of acclimation							
			1	2	3	4	5	6	7	
Male	0123	111	-	-	-	-	-	-	-	-
	1203	112	-	-	-	-	-	-	-	-
	1301	113	-	-	-	-	-	-	-	Ss+
	1899	(reserve)	-	-	-	-	-	-	-	-

1) Identification numbers after allocation to treatment groups.

Signs -: No abnormalities, Ss: Soft stool (+: small amount).

Appendix 2 Body weights during acclimation

Sex	Individual No.	Animal ¹⁾ No.	Day 7
Male	0123	111	3.70
	1203	112	3.77
	1301	113	3.66
	1899	(reserve)	3.85

Unit: kg.

1) Identification numbers after allocation to treatment groups.

Appendix 3 Food consumption during acclimation

Sex	Individual No.	Animal ¹⁾ No.	Day 7-8
Male	0123	111	70
	1203	112	70
	1301	113	70
	1899	(reserve)	70

Unit: g.

1) Identification numbers after allocation to treatment groups.

Appendix 4 Hematology

Period	Sex	Individual No.	Animal ¹⁾ No.	RBC (10 ⁶ /μL)	WBC (10 ³ /μL)	Ht (%)	Hb (g/dL)	MCH (pg)	MCV (fL)	MCHC (g/dL)	Ret (%)	Plt (10 ³ /μL)	PT (sec)	APTT (sec)	
pre	Male	0123	111	674	70.8	49.0	15.3	22.7	72.7	31.2	0.89	6.00	40.5	9.2	20.7
		1203	112	634	113.9	47.5	14.7	23.2	74.9	30.9	0.87	5.52	32.3	9.4	24.3
		1301	113	642	116.8	46.7	14.4	22.4	72.7	30.8	1.42	9.12	31.0	9.2	22.5
		1899 (reserve)		582	123.9	45.7	14.5	24.9	78.5	31.7	0.91	5.30	24.5	9.5	22.1

Period	Sex	Individual No.	Animal ¹⁾ No.	Differential leukocyte counts ratio (%)				Differential leukocyte counts (10 ³ /μL)					
				Baso	Eosi	Lym	Mono	Baso	Eosi	Lym	Mono		
pre	Male	0123	111	0.4	1.1	26.9	68.2	3.4	0.3	0.8	19.0	48.3	2.4
		1203	112	0.1	4.6	43.1	49.0	3.2	0.1	5.2	49.2	55.8	3.6
		1301	113	0.1	1.3	47.8	46.6	4.2	0.1	1.5	55.9	54.4	4.9
		1899 (reserve)		0.1	1.5	36.0	59.6	2.8	0.1	1.9	44.6	73.8	3.5

1) Identification numbers after allocation to treatment groups.

Period	Test substance	Sex	Dose (mg/kg) rapid (2min) infusion (3h)	Animal No.	RBC (10 ⁶ /μL)	WBC (10 ³ /μL)	Ht (%)	Hb (g/dL)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCV (fL)	MCHC (g/dL)	Ret (%)	Plt (10 ³ /μL)	PT (sec)	APTT (sec)	
																	Baso
post	AcPepA	Male	20	60	111	631	82.9	46.9	14.3	22.7	74.3	30.5	0.99	6.25	40.6	8.7	21.2
					112	587	88.2	44.6	13.8	23.5	76.0	30.9	1.22	7.16	25.1	9.0	23.5
					113	587	111.8	44.4	13.3	22.7	75.6	30.0	1.71	10.04	34.1	8.9	22.4

Period	Test substance	Sex	Dose (mg/kg) rapid (2min) infusion (3h)	Animal No.	Differential leukocyte counts ratio (%)				Differential leukocyte counts (10 ³ /μL)						
					Baso	Eosi	Lym	Mono	Baso	Eosi	Lym	Mono			
post	AcPepA	Male	20	60	111	0.2	0.7	38.6	56.0	4.5	0.2	0.6	32.0	46.4	3.7
					112	0.1	1.4	46.6	48.8	3.1	0.1	1.2	41.2	43.0	2.7
					113	0.1	1.9	50.4	44.0	3.6	0.1	2.1	56.4	49.2	4.0

Period pre: pre-administration (during quarantine period), post: post-administration (necropsy day).

Appendix 5 Blood chemistry

Period	Sex	Individual No.	Animal ¹⁾ No.	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	LDH (IU/L)	CK (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	Glu. (mg/dL)	T.Chol. (mg/dL)	TG (mg/dL)	PL (mg/dL)	TP (g/dL)	Alb. (g/dL)	A/G
pre	Male	0123	111	30.3	48.8	351.4	582.9	44.4	58.26	92	155	17	218	6.9	4.1	1.46
		1203	112	36.2	21.9	489.1	599.4	53.8	58.09	105	150	37	240	7.3	4.0	1.21
		1301	113	27.2	61.5	310.9	431.4	82.8	41.98	85	133	24	207	7.6	4.1	1.17
		1899	(reserve)	35.1	32.6	458.7	741.7	113.6	51.40	92	165	15	265	7.4	4.0	1.18

Period	Sex	Individual No.	Animal ¹⁾ No.	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T.Bil. (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	P (mg/dL)	Ca (mg/dL)
pre	Male	0123	111	24	1.18	0.35	150	4.5	116	4.3	10.3
		1203	112	21	1.09	0.32	148	5.3	119	5.2	10.0
		1301	113	32	1.23	0.19	154	4.9	116	4.3	10.4
		1899	(reserve)	22	1.04	0.28	147	4.9	115	5.1	10.2

1) Identification numbers after allocation to treatment groups.

Period	Test substance	Sex	Dose (mg/kg)	Animal No.	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	ALP (IU/L)	LDH (IU/L)	CK (IU/L)	γ -GTP (IU/L)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	P (mg/dL)	Ca (mg/dL)	A/G		
post	AcPepA	Male	20	60	111	57.3	76.0	347.4	1182.2	204.1	55.51	86	135	19	213	6.5	3.8	1.41
				60	112	76.7	53.6	450.9	1168.3	218.9	56.18	120	131	23	216	7.2	4.0	1.25
				60	113	24.0	38.5	378.1	780.0	62.2	42.89	81	120	26	210	7.2	3.8	1.12

Period	Test substance	Sex	Dose (mg/kg)	Animal No.	BUN (mg/dL)	Crea. (mg/dL)	T.Bil. (mg/dL)	Na (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)	P (mg/dL)	Ca (mg/dL)	
post	AcPepA	Male	20	60	111	21	1.08	0.40	150	5.1	116	3.7	10.2
				60	112	19	1.01	0.41	148	4.5	112	4.1	9.6
				60	113	28	1.28	0.39	152	4.4	115	3.2	9.8

Period pre: pre-administration (during quarantine period), post: post-administration (necropsy day).

信頼性保証部門陳述書

試験表題：AcPepA のサルを用いた 3 日間反復静脈内投与による用量設定試験

試験番号：FBM 08-6523

報告書に記載された内容と生データとの整合性について、以下の調査を実施した。
その結果、最終報告書には生データが正確に反映されていることを確認した。

調査日および報告日は下記のとおりです。

項目	調査日	試験責任者への 報告日	運営管理者への 報告日
報告書第 1 稿・生データ	2009 年 月 日	2009 年 月 日	2009 年 月 日
最終報告書	2009 年 月 日	2009 年 月 日	2009 年 月 日

株式会社富士バイオメディックス 小淵沢総合研究所
信頼性保証部門責任者

年 月 日

DRAFT

FBM 09-8540

最終報告書

(第1稿)

試験表題：AcPepA の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：FBM 09-8540

スギ生物科学研究所株式会社

試験責任者署名：

小宮山芳幸

年 月 日

本報告書は表紙を含む18枚

目 次

	(頁)
1. 試験表題	4
2. 試験番号	4
3. 試験目的	4
4. 試験施設	4
5. 試験委託者	4
6. 試験実施期間	4
7. 試験責任者	5
8. 担当責任者	5
9. 業務分担及び試験従事者の氏名	5
10. GLP 及びガイドライン	5
11. 試験関係資料の保存	5
12. 要約	6
13. 試験材料及び方法	7
13.1. 被験物質	7
13.2. 被験物質の調製	7
13.3. 対照物質	7
13.4. 使用菌株	8
13.5. 最少グルコース寒天平板培地 (プレート)	9
13.6. トップアガー	9
13.7. S9 mix	9
13.8. 試験方法	10
13.9. コロニーの計数及び観察	11
13.10. 試験系の識別方法	11
13.11. 試験の成立条件	12
13.12. 統計学的処理	12
13.13. 結果の判定	12
14. 試験結果	12
14.1. 用量設定試験	12
14.2. 本試験	12
15. 考察及び結論	12
16. 予見することができなかつた試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事象及び試験	

計画書に従わなかったこと..... 13

Figure 1	Dose-response Curves of Bacterial Reverse Mutation Test of AcPepA in Dose-finding study
Figure 2	Dose-response Curves of Bacterial Reverse Mutation Test of AcPepA in Main study
Table 1	Results of the Bacterial Reverse Mutation Test of AcPepA in Dose-finding study
Table 2	Results of the Bacterial Reverse Mutation Test of AcPepA in Main study
添付資料	陰性対照値及び陽性対照値の背景データから算出した基準値

1. 試験表題

AcPepA の細菌を用いる復帰突然変異試験

2. 試験番号

FBM 09-8540

3. 試験目的

AcPepA の安全性評価の一環として、細菌を用いる復帰突然変異試験をネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) TA98, TA1537, TA100, TA1535 及び大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2*uvrA* の計 5 菌株を用いて、ブレインキュベーション法により遺伝子突然変異誘発性を検討した。

4. 試験施設

スギ生物科学研究所株式会社

(旧：株式会社富士バイオメディックス 小淵沢総合研究所)

〒408-0044 山梨県北杜市小淵沢町 10221 番地

TEL 0551-36-2455 FAX 0551-36-3895

5. 試験委託者

医療法人さわらび会福祉村病院 長寿医学研究所

〒441-8124 愛知県豊橋市野依町山中 19-14

TEL 0532-46-7501 FAX 0532-46-8940

委託担当者：岡田秀親

6. 試験実施期間

試験期間 2009年2月16日 ～ 2009年 月 日

試験開始日 2009年2月16日

用量設定試験

前培養開始日 2009年2月16日

処理日 2009年2月17日

コロニー計測 2009年2月19日

本試験

前培養開始日 2009年2月24日

処理日 2009年2月25日

コロニー計測	2009年2月27日
試験終了日	2009年 月 日

7. 試験責任者

小宮山芳幸

8. 担当責任者

実験操作 佐藤福弘

9. 業務分担及び試験従事者の氏名

実験操作	小宮山芳幸, 佐藤福弘
試験物質の調製	小宮山芳幸, 山中妙子
コロニー計測	小宮山芳幸, 佐藤福弘, 川口恵未
試験物質の管理	高橋善康

10. GLP及びガイドライン

本試験は、GLP非適用とした。

参考ガイドライン：厚生労働省の「遺伝毒性試験ガイドライン」（平成11年11月1日医薬審第1604号）

11. 試験関係資料の保存

保存場所：スギ生物科学研究所株式会社 資料保存施設

保存資料：最終報告書（原本），試験計画書（原本），被験物質及び細菌に関する記録，生データ，試験操作記録，その他記録文書

保存期間：本試験終了後5年間保存。その後の措置については試験委託者と協議の上決定する。

12. 要約

AcPepAについて、ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) TA98, TA1537, TA100, TA1535 及び大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2*uvrA* の計5菌株を用いて、プレインキュベーション法により代謝活性化系非存在下と代謝活性化系存在下で復帰突然変異試験を行った。

用量設定試験では、最高用量を 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ として、ジメチルスルホキシド (DMSO) を用いて公比 $\sqrt{10}$ で 5000~15.8 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の計6用量を設定した。その結果、S9 mixの有無にかかわらず、全菌株において、いずれの用量でも陰性対照値の2倍を超える復帰変異コロニー数は認められなかった。また、被験物質の析出及び菌の生育阻害は認められなかった。

本試験では、用量設定試験の結果、復帰変異コロニー数の増加及び菌の生育阻害が認められなかったため、最高用量を 5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ として、DMSOを用いて公比2で 5000~313 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の計5用量を設定した。その結果、S9 mixの有無にかかわらず、全菌株において、いずれの用量でも陰性対照値の2倍を超える復帰変異コロニー数は認められなかった。また、被験物質の析出及び菌の生育阻害は認められなかった。

以上の結果より、用量設定試験と本試験の結果に再現性が認められたことから、AcPepAの遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

13. 試験材料及び方法

13.1. 被験物質

名称：AcPepA

ロット番号：2K08045

供給元：株式会社バイオロジカ（NeoMPS）

性状：凍結乾燥品（in compliance with Good Manufacturing Practices）白色粉末

含量：97.7%（100%として使用する）

溶解性：4 mg/mL in saline

保存条件：冷凍（-20°C以下）、遮光、気密

保存場所：研究本館 検体調製室 メディカルフリーザー（設定温度：-30°C，許容範囲：-40～-20°C）

温度実測値：-32～-28°C（2009年1月30日～2009年2月25日）

取扱い上の注意：マスク，プラスチック手袋及び白衣を着用した。

残余被験物質の処理：実験終了後，被験物質管理責任者に移管した。

13.2. 被験物質の調製

13.2.1. 媒体

名称：ジメチルスルホキシド（以下，DMSO）

製造元：和光純薬工業株式会社

ロット番号：PEQ4800

13.2.2. 調製方法

用量設定試験では，被験物質を 250.35 mg 秤量し，DMSO を媒体として公比 $\sqrt{10}$ で計6段階の濃度液（50.0，15.8，5.00，1.58，0.500，0.158 mg/mL）を調製した。

本試験では，用量設定試験の結果，復帰変異コロニー数の増加及び菌の生育阻害が認められなかったので，被験物質を 250.3 mg 秤量し，DMSO を媒体として公比2で計5段階の濃度液（50.0，25.0，12.5，6.25，3.13 mg/mL）を調製した。

13.3. 対照物質

13.3.1. 陰性対照物質

DMSO を用いた。