

B010042

12033-89-5

## 最終報告書

窒化ケイ素の細菌を用いる復帰突然変異試験

(試験番号 : B010042)

2002年2月28日

株式会社三菱化学安全科学研究所

## 目次

要約	4
材料および方法	5
1. 試験物質	5
2. テスト菌株	6
3. 培地	7
4. S9 mix	8
5. 試験方法	8
結果	11
考察および結論	12
参考文献	13
表 1 試験結果表 (予備試験)	15
表 2 試験結果表 (本試験 1)	16
表 3 試験結果表 (本試験 2)	17
図 1-1 用量-反応曲線 (本試験 1 ; S9 mix 非共存下の TA100)	18
図 1-2 用量-反応曲線 (本試験 1 ; S9 mix 共存下の TA100)	18
図 2-1 用量-反応曲線 (本試験 1 ; S9 mix 非共存下の TA1535)	19
図 2-2 用量-反応曲線 (本試験 1 ; S9 mix 共存下の TA1535)	19
図 3-1 用量-反応曲線 (本試験 1 ; S9 mix 非共存下の WP2uvrA/pKM101)	20
図 3-2 用量-反応曲線 (本試験 1 ; S9 mix 共存下の WP2uvrA/pKM101)	20
図 4-1 用量-反応曲線 (本試験 1 ; S9 mix 非共存下の TA98)	21
図 4-2 用量-反応曲線 (本試験 1 ; S9 mix 共存下の TA98)	21
図 5-1 用量-反応曲線 (本試験 1 ; S9 mix 非共存下の TA1537)	22
図 5-2 用量-反応曲線 (本試験 1 ; S9 mix 共存下の TA1537)	22

図 6-1	用量—反応曲線 (本試験 2 ; S9 mix 非共存下の TA100)	23
図 6-2	用量—反応曲線 (本試験 2 ; S9 mix 共存下の TA100)	23
図 7-1	用量—反応曲線 (本試験 2 ; S9 mix 非共存下の TA1535)	24
図 7-2	用量—反応曲線 (本試験 2 ; S9 mix 共存下の TA1535)	24
図 8-1	用量—反応曲線 (本試験 2 ; S9 mix 非共存下の WP2 <i>uvrA</i> /pKM101)	25
図 8-2	用量—反応曲線 (本試験 2 ; S9 mix 共存下の WP2 <i>uvrA</i> /pKM101)	25
図 9-1	用量—反応曲線 (本試験 2 ; S9 mix 非共存下の TA98)	26
図 9-2	用量—反応曲線 (本試験 2 ; S9 mix 共存下の TA98)	26
図 10-1	用量—反応曲線 (本試験 2 ; S9 mix 非共存下の TA1537)	27
図 10-2	用量—反応曲線 (本試験 2 ; S9 mix 共存下の TA1537)	27

## 要約

*Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, TA1537 および *Escherichia coli* WP2uvrA/pKM101 の 5 菌株を用いる復帰突然変異試験で窒化ケイ素の変異原性を調べた。

予備試験を 5000, 1250, 313, 78.1, 19.5, 4.88 および 1.22  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  で実施した結果, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性 (溶媒) 対照値の 2 倍以下であった。また, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの菌株においても菌の生育阻害は認められなかった。なお, S9 mix 非存在下の 1250  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  以上および存在下の 313  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  以上でプレート上に沈殿物が認められた。

これらの結果をもとに本試験では, すべての菌株について 5000, 2500, 1250, 625, 313  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  の 5 用量を設定した。

2 回の本試験の結果, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性 (溶媒) 対照値の 2 倍以下であった。また, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの菌株においても菌の生育阻害は認められなかった。なお, S9 mix 非存在下では 625  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  以上で, S9 mix 存在下では 313  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  以上でプレート上に沈殿物が認められた。

以上の結果から, 窒化ケイ素は細菌を用いる復帰突然変異試験において変異原性を有さない (陰性) と判定した。

## 材料および方法

## 1. 試験物質

## 1.1 被験物質

から2001年2月19日に提供された窒化ケイ素を室温、気密で保存した。被験物質の純度、組成および物理化学的性質等は以下の通りである。

新規化学物質の名称 (IUPAC 命名法による)	Silicone nitride		
別 名	窒化ケイ素		
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)	$\text{Si}_3\text{N}_4$		
試験に供した新規 化学物質の純度	約 97%	試験に供した新規 化学物質の Lot No.	
不純物の名称及び濃度	Fe : 520 ppm, Al : 820 ppm, Ca : 110 ppm, O : 1.7%		
C A S 番号	12033-89-5	蒸 気 圧	—
分 子 量	140.28	分配係数	—
融 点	—	常温における性状	灰白色系粉末
沸 点	約 1900°C で昇華		
安 定 性	水と混合すると僅かにアンモニアが生ずる場合もある。		
溶媒に対する溶解度等	溶 媒	溶 解 度	溶媒中の安定性
	水	*1 50 mg/mL で不溶	—
	DMSO	*1 50 mg/mL で不溶	*2
	アセトン	不溶	—
	その他	—	—

DMSO : ジメチルスルホキシド

\*1 : 当研究所での溶媒検討の結果による。

\*2 : 被験物質溶液調製時に、発熱、発泡、変色は認められなかった。

## 1.2 対照物質

陰性対照物質および陽性対照物質として、以下のものを用いた。

陰性対照	略称	入手先	ロット番号	純度 (%)
ジメチルスルホキシド	DMSO	関東化学(株)	210G1441	99.7 以上
陽性対照	略称	入手先	ロット番号	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	和光純薬工業(株)	CAP0185	98.9
アジ化ナトリウム	NaN <sub>3</sub>	和光純薬工業(株)	KWE6685	96.5
N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン	ENNG	Sigma Chemical Company	56F-3651	99.0
9-アミノアクリジン塩酸塩	9-AA	Sigma Chemical Company	80F-0186	99
2-アミノアントラセン	2-AA	和光純薬工業(株)	TWH2355	98.0

## 2. テスト菌株

## 2.1 テスト菌株

カリフォルニア大学より 1983 年 5 月 27 日に入手した *Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, TA1537 および日本バイオアッセイ研究センターより 1997 年 9 月 18 日に入手した *Escherichia coli* WP2uvrA/pKM101 の 5 菌株を用いた。

## 2.2 テスト菌株の選択理由

これらの菌株は、細菌を用いる復帰突然変異試験において広く使用され、化審法ガイドラインおよび OECD ガイドラインにおいても推奨されている。

これら菌株の遺伝的特性は以下の通りである。

菌株	変異遺伝子	付帯突然変異			検出可能な突然変異型
		DNA 修復	膜変異	R 因子	
TA100	<i>hisG</i>	<i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	pKM101	塩基対置換
TA1535	<i>hisG</i>	<i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	—	塩基対置換
WP2uvrA/pKM101	<i>trpE</i>	<i>uvrA</i>	+	pKM101	塩基対置換
TA98	<i>hisD</i>	<i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	pKM101	フレームシフト
TA1537	<i>hisC</i>	<i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	—	フレームシフト

### 2.3 特性検査

各テスト菌株のアミノ酸要求性、紫外線感受性、膜変異、薬剤耐性などの遺伝的特徴を事前に調べ、これらの特性を備えた菌株を用いた。

### 2.4 保存方法

液体完全培地中に 37°C で 8 時間振盪培養した各菌懸濁液 24 mL に、2.1 mL の DMSO (関東化学㈱, ロット番号 104G1307) を加え、これを 200  $\mu$ L ずつ小分けしてドライアイス・アセトン中で急速凍結した。凍結した菌懸濁液は超低温冷凍庫で -80°C 以下に保存した。

### 2.5 菌懸濁液

各試験菌の凍結保存液 (20  $\mu$ L) を液体完全培地 10 mL に接種し、37°C で 8 時間振盪 (振盪回数: 90 回/分) 培養した。培養容器には L 字管を用いた。培養終了後、濁度計を用いて菌懸濁液の濁度を測定した。濁度からの換算により菌数を算出し、適切な菌濃度であることを確認した後、試験に使用した。

試験に使用した各テスト菌株の生菌数は以下の通りである。

菌株名		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> /pKM101	TA98	TA1537
生菌数 ( $\times 10^9$ /mL)	予備試験	2.67	2.62	4.25	2.00	2.13
	本試験 1	2.60	2.70	4.33	2.52	2.46
	本試験 2	2.41	2.51	4.05	2.46	2.29

## 3 培地

### 3.1 液体完全培地

精製水 100 mL に対して、ニュートリエントブロス (Oxoid Nutrient Broth No.2; Unipath 社, ロット番号 028 59365) を 2.5 g の割合で加えて溶解し、オートクレーブ滅菌 (121°C, 15 分間) した。

### 3.2 最少グルコース寒天平板培地

クリメディア AM-N 培地 (オリエンタル酵母工業㈱, ロット番号 ANI180CQ : 2001 年 3 月 22 日製造) を使用した。

### 3.3 トップアガー

精製水 300 mL に Bacto-agar (Difco 社, ロット番号 136958JC) 1.8 g および塩化ナトリウム 1.5 g を加え、これを 121°C で 15 分間オートクレーブ滅菌し、寒天溶液を調製し

た。寒天はあらかじめ調製したものを、使用時に電子レンジで溶解して使用した。サルモネラ菌用には 0.5 mmol/L D-ビオチンおよび 0.5 mmol/L L-ヒスチジンの混合水溶液, あるいは大腸菌用には 0.5 mmol/L L-トリプトファン水溶液をそれぞれ使用直前に 1/10 量添加した。使用時に約 45°C に保温した。

#### 4. S9 mix

##### 4.1 S9

フェノバルビタール (1 日目 30 mg/kg を 1 回腹腔内投与, 2 日目以降 60 mg/kg を 1 日 1 回 3 日間腹腔内投与) と 5, 6-ベンゾフラボン (3 日目に 80 mg/kg を 1 回腹腔内投与) で酵素誘導した SD 系雄ラット (体重 212 - 242 g) 肝由来 S9 (キッコーマン株, 2001 年 3 月 9 日製造; ロット番号 RAA-441) を購入し, 使用した。S9 は使用時まで超低温冷凍庫 (実測値 -81°C ~ -88°C) で保存した。

##### 4.2 S9 mix

S9 mix 1 mL あたりの組成を以下の表に示す。S9 mix は試験毎に用時調製し, 使用時まで氷中に保存した。

S9	0.1 mL
塩化マグネシウム六水和物	8 $\mu$ mol
塩化カリウム	33 $\mu$ mol
D-グルコース 6-リン酸	5 $\mu$ mol
$\beta$ -NADPH	4 $\mu$ mol
$\beta$ -NADH	4 $\mu$ mol
ナトリウム-リン酸緩衝液 (pH 7.4)	100 $\mu$ mol

#### 5. 試験方法

##### 5.1 被験物質懸濁液および陽性対照物質溶液の調製

溶媒検討の結果, 被験物質は 50 mg/mL で注射用水 (DW と略す) および DMSO に不溶であったが, DMSO に均一に懸濁した。また, DMSO を加えた際に発熱, 発泡, 変色は認められなかった。この結果から, 溶媒には DMSO を用いた。

被験物質を所定濃度で DMSO に懸濁して, 最高用量の被験物質懸濁液とした。これを同じ溶媒で段階希釈して各用量の被験物質懸濁液を調製した。被験物質懸濁液は用時



調製し、被験物質の秤量、希釈、分注および調製後の保存は、黄色灯下で行った。

陽性対照物質溶液はあらかじめ調製し、超低温冷凍庫で-80°C以下に保存した。NaN<sub>3</sub>はDW（㈱大塚製薬工場、ロット番号K9J78）に、その他の陽性対照物質はDMSO（関東化学㈱、ロット番号207G1673）に溶解した。

## 5.2 被験物質用量

予備試験を5000, 1250, 313, 78.1, 19.5, 4.88 および 1.22 µg/プレートで実施した結果、S9 mixの有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の2倍以下であった。また、S9 mixの有無にかかわらず、いずれの菌株においても菌の生育阻害は認められなかった。なお、S9 mix非存在下の1250 µg/プレート以上およびS9 mix存在下の313 µg/プレート以上でプレート上に沈殿物が認められた。

これらの結果をもとに本試験1,2では以下の用量を設定した。

試験菌株	用量 (µg/プレート)	
	S9 mix 非存在下	S9 mix 存在下
TA100, TA1535 WP2uvrA/pKM101 TA98, TA1537	5000, 2500, 1250, 625, 313	5000, 2500, 1250, 625, 313

## 5.3 復帰突然変異試験

試験はプレインキュベーション法を用いて、S9 mix非存在下および存在下で実施した。

滅菌した試験管に被験物質懸濁液または陰性（溶媒）対照物質0.1 mL、S9 mix非存在下の場合、次いで0.1 mol/Lナトリウムリン酸緩衝液（pH 7.4）を0.5 mL、S9 mix存在下の場合、S9 mixを0.5 mL添加し、さらに菌懸濁液を0.1 mL加え、37°Cで20分間振盪してインキュベーションした（プレインキュベーション）。トップアガー2 mLをこの混合液に加え、最少グルコース寒天平板培地上に重層した。重層したトップアガーが凝固した後、37°Cで48時間以上培養した。

実体顕微鏡を用いて菌叢の生育状態を観察し、被験物質による菌の生育阻害の程度を調べた後、目視により被験物質の沈殿の有無を確認した。プレート上の復帰変異コロニー数を自動コロニーカウンターまたは目視で計測した。

予備試験は各用量につき1枚のプレートを使用した。本試験は各用量につき3枚のプレートを使用し、2回実施した。

以下の陽性対照物質についても同様に実施した。

菌 株	S9 mix 非存在下 ( $\mu\text{g}$ /プレート)		S9 mix 存在下 ( $\mu\text{g}$ /プレート)		添 加 量 (mL/プレート)
TA100	AF-2	0.01	2-AA	1	0.1
TA1535	NaN <sub>3</sub>	0.5	2-AA	2	0.1
WP2 <i>uvrA</i> /pKM101	ENNG	2	2-AA	2	0.1
TA98	AF-2	0.1	2-AA	0.5	0.1
TA1537	9-AA	80	2-AA	2	0.1

#### 5.4 無菌試験

無菌試験にはそれぞれ1枚のプレートを用いた。最高用量の被験物質懸濁液またはS9 mixをトップアガー2 mLと混和し、それぞれ最少グルコース寒天平板培地上に重層した。重層したトップアガーが凝固した後、37°Cで48時間培養し、雑菌の混入がないことを確認した。

#### 5.5 試験結果の判定

いずれかの試験菌株で、S9 mixの有無にかかわらず、被験物質用量の増加にともなって復帰変異コロニー数（平均値）が陰性（溶媒）対照値の2倍以上に増加し、さらにその増加に再現性が認められる場合に、当該被験物質は変異原性を有する（陽性）と判定した。その他の場合は陰性と判定した。試験結果の判定に統計学的手法は用いなかった。

## 結果

試験の結果を表 1～3 および図 1～10 に示す。

予備試験を 5000, 1250, 313, 78.1, 19.5, 4.88 および 1.22  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  で実施した結果, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性 (溶媒) 対照値の 2 倍以下であった。また, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの菌株においても菌の生育阻害は認められなかった。なお, S9 mix 非存在下の 1250  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  以上および S9 mix 存在下の 313  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  以上でプレート上に沈殿物が認められた。

これらの結果をもとに本試験では, すべての菌株について 5000, 2500, 1250, 625, 313  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  の 5 用量を設定した。

2 回の本試験の結果, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性 (溶媒) 対照値の 2 倍以下であった。また, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの菌株においても菌の生育阻害は認められなかった。なお, S9 mix 非存在下では 625  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  以上で, S9 mix 存在下では 313  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  以上でプレート上に沈殿物が認められた。

最高用量の被験物質溶液および S9 mix について行った無菌試験の結果, 試験に影響を及ぼすような菌, カビ等の発育は認められなかった。

## 考察および結論

予備試験の結果を基に、本試験を 5000 µg/プレート を最高用量として実施したが、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の 2 倍以下であった。

試験施設における背景データおよび背景データより算出した適正値を添付資料 1 に示した。本試験の陰性（溶媒）対照値および陽性対照値が適正値の範囲内であったこと、また S9 mix 非存在下および存在下において陽性対照が各菌株に誘発した復帰変異コロニー数が、各菌株の陰性（溶媒）対照の復帰変異コロニー数と比較して明らかに 2 倍を超えて増加し陽性の結果を示したことから、試験が適切に実施されたことが示唆された。

以上の結果から、窒化ケイ素は細菌を用いる復帰突然変異試験において変異原性を有さない（陰性）と判定した。

なお、同一物質あるいは類似化合物の変異原性に関する情報を添付資料 2 にまとめた。

## 参考文献

1. Maron, D.M. and Ames, B.N. (1983) : Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test, *Mutat. Res.*, **113**, 173-215
2. Green, M.H.L. and Muriel, W.J. (1976) : Mutagen testing using *Trp*<sup>+</sup> reversion in *Escherichia coli*, *Mutat. Res.*, **38**, 3-32
3. 労働省安全衛生部化学物質調査課編 (1991) : 安衛法における変異原性試験, 中央労働災害防止協会, 東京

表 1 試験結果表 (予備試験)

被験物質の名称 : 窒化ケイ素

試験実施期間		2001年 7月 2日 より 2001年 7月 5日				
代謝活性化系の有無	被験物質 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/pKM101	TA98	TA1537
S 9 mix (-)	陰性対照	104	12	73	16	11
	1.22	106	11	87	16	16
	4.88	93	12	85	15	8
	19.5	102	17	65	16	10
	78.1	95	12	84	14	11
	313	93	15	88	18	8
	1250†	110	9	84	15	7
	5000†	98	10	87	17	9
S 9 mix (+)	陰性対照	102	14	99	23	12
	1.22	103	9	101	22	10
	4.88	103	13	94	23	10
	19.5	106	16	100	32	17
	78.1	93	11	87	24	13
	313†	103	11	106	21	13
	1250†	102	16	80	19	10
	5000†	110	15	92	21	12
陽性	名称	AF-2	NaN <sub>3</sub>	ENNG	AF-2	9-AA
	用量 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	0.01	0.5	2	0.1	80
	コロニー数 /プレート	594	341	2627	533	161
対照	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	用量 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	1	2	2	0.5	2
	コロニー数 /プレート	1714	233	1397	531	151

(備考) † : 沈殿物が認められた.

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム  
 ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩, 2-AA : 2-アミノアントラセン

表 2 試験結果表 (本試験 1)

被験物質の名称 : 窒化ケイ素

試験実施期間		2001年 7月 10日 より 2001年 7月 13日				
代謝活性化系の有無	被験物質用量 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	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/pKM101	TA98	TA1537
S 9 mix (-)	陰性対照	115 114 ( $\pm 110$ ) 101 ( $\pm 8$ )	8 16 ( $\pm 12$ ) 11 ( $\pm 4$ )	87 71 ( $\pm 75$ ) 66 ( $\pm 11$ )	18 17 ( $\pm 18$ ) 19 ( $\pm 1$ )	7 13 ( $\pm 10$ ) 11 ( $\pm 3$ )
	3 1 3	88 100 ( $\pm 92$ ) 88 ( $\pm 7$ )	11 8 ( $\pm 8$ ) 6 ( $\pm 3$ )	89 80 ( $\pm 78$ ) 66 ( $\pm 12$ )	16 21 ( $\pm 18$ ) 17 ( $\pm 3$ )	10 10 ( $\pm 9$ ) 7 ( $\pm 2$ )
	6 2 5 †	92 104 ( $\pm 100$ ) 103 ( $\pm 7$ )	6 6 ( $\pm 7$ ) 8 ( $\pm 1$ )	78 90 ( $\pm 81$ ) 75 ( $\pm 8$ )	21 18 ( $\pm 19$ ) 17 ( $\pm 2$ )	8 11 ( $\pm 11$ ) 13 ( $\pm 3$ )
	1 2 5 0 †	82 103 ( $\pm 92$ ) 91 ( $\pm 11$ )	7 5 ( $\pm 7$ ) 8 ( $\pm 2$ )	83 76 ( $\pm 83$ ) 89 ( $\pm 7$ )	24 17 ( $\pm 22$ ) 24 ( $\pm 4$ )	12 8 ( $\pm 10$ ) 11 ( $\pm 2$ )
	2 5 0 0 †	85 104 ( $\pm 104$ ) 122 ( $\pm 19$ )	6 13 ( $\pm 10$ ) 10 ( $\pm 4$ )	79 80 ( $\pm 82$ ) 87 ( $\pm 4$ )	17 28 ( $\pm 21$ ) 17 ( $\pm 6$ )	5 8 ( $\pm 8$ ) 11 ( $\pm 3$ )
	5 0 0 0 †	127 97 ( $\pm 113$ ) 115 ( $\pm 15$ )	8 6 ( $\pm 7$ ) 7 ( $\pm 1$ )	80 68 ( $\pm 78$ ) 86 ( $\pm 9$ )	19 20 ( $\pm 18$ ) 14 ( $\pm 3$ )	7 5 ( $\pm 7$ ) 9 ( $\pm 2$ )
S 9 mix (+)	陰性対照	112 105 ( $\pm 112$ ) 118 ( $\pm 7$ )	11 8 ( $\pm 9$ ) 8 ( $\pm 2$ )	101 93 ( $\pm 97$ ) 97 ( $\pm 4$ )	20 28 ( $\pm 24$ ) 23 ( $\pm 4$ )	10 15 ( $\pm 12$ ) 12 ( $\pm 3$ )
	3 1 3 †	111 96 ( $\pm 110$ ) 122 ( $\pm 13$ )	13 11 ( $\pm 10$ ) 7 ( $\pm 3$ )	92 82 ( $\pm 85$ ) 81 ( $\pm 6$ )	25 27 ( $\pm 31$ ) 42 ( $\pm 9$ )	14 17 ( $\pm 17$ ) 19 ( $\pm 3$ )
	6 2 5 †	110 116 ( $\pm 123$ ) 143 ( $\pm 18$ )	13 12 ( $\pm 11$ ) 7 ( $\pm 3$ )	103 101 ( $\pm 95$ ) 82 ( $\pm 12$ )	23 31 ( $\pm 26$ ) 25 ( $\pm 4$ )	13 14 ( $\pm 15$ ) 19 ( $\pm 3$ )
	1 2 5 0 †	99 119 ( $\pm 109$ ) 108 ( $\pm 10$ )	8 9 ( $\pm 9$ ) 10 ( $\pm 1$ )	102 94 ( $\pm 99$ ) 102 ( $\pm 5$ )	22 33 ( $\pm 27$ ) 25 ( $\pm 6$ )	18 11 ( $\pm 15$ ) 15 ( $\pm 4$ )
	2 5 0 0 †	113 125 ( $\pm 111$ ) 96 ( $\pm 15$ )	7 8 ( $\pm 9$ ) 11 ( $\pm 2$ )	96 90 ( $\pm 96$ ) 102 ( $\pm 6$ )	20 25 ( $\pm 24$ ) 26 ( $\pm 3$ )	17 14 ( $\pm 15$ ) 15 ( $\pm 2$ )
	5 0 0 0 †	99 111 ( $\pm 107$ ) 111 ( $\pm 7$ )	14 9 ( $\pm 12$ ) 14 ( $\pm 3$ )	96 90 ( $\pm 93$ ) 93 ( $\pm 3$ )	25 20 ( $\pm 24$ ) 28 ( $\pm 4$ )	9 14 ( $\pm 10$ ) 8 ( $\pm 3$ )
陽性対照	名称	AF-2	NaN <sub>3</sub>	ENNG	AF-2	9-AA
	用量 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	0.01	0.5	2	0.1	80
S9 mixを必要とするもの	コロニー数 / プレート	667 553 ( $\pm 612$ ) 616 ( $\pm 57$ )	362 378 ( $\pm 382$ ) 407 ( $\pm 23$ )	3030 2853 ( $\pm 2927$ ) 2899 ( $\pm 92$ )	710 624 ( $\pm 653$ ) 626 ( $\pm 49$ )	157 142 ( $\pm 163$ ) 191 ( $\pm 25$ )
	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
S9 mixを必要とするもの	用量 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	1	2	2	0.5	2
	コロニー数 / プレート	1630 1695 ( $\pm 1680$ ) 1716 ( $\pm 45$ )	196 195 ( $\pm 201$ ) 211 ( $\pm 9$ )	1203 1189 ( $\pm 1176$ ) 1137 ( $\pm 35$ )	555 554 ( $\pm 549$ ) 539 ( $\pm 9$ )	249 206 ( $\pm 220$ ) 206 ( $\pm 25$ )

(備考) † : 沈殿物が認められた。

(平均値)  
( $\pm$ 標準偏差)AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩, 2-AA : 2-アミノアントラセン

表 3 試験結果表 (本試験 2)

被験物質の名称 : 窒化ケイ素

試験実施期間		2001年 7月 24日 より 2001年 7月 27日				
代謝活性化系の有無	被験物質用量 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	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/pKM101	TA98	TA1537
S 9 mix (-)	陰性対照	99 107 (100) 95 ( $\pm 6$ )	8 6 ( $\pm 8$ ) 10 ( $\pm 2$ )	88 64 ( $\pm 77$ ) 78 ( $\pm 12$ )	17 12 ( $\pm 15$ ) 15 ( $\pm 3$ )	7 12 ( $\pm 8$ ) 5 ( $\pm 4$ )
	3 1 3	120 117 (109) 91 ( $\pm 16$ )	6 9 ( $\pm 8$ ) 10 ( $\pm 2$ )	86 79 ( $\pm 84$ ) 86 ( $\pm 4$ )	16 13 ( $\pm 16$ ) 18 ( $\pm 3$ )	7 11 ( $\pm 9$ ) 10 ( $\pm 2$ )
	6 2 5 †	94 96 ( $\pm 98$ ) 103 ( $\pm 5$ )	5 4 ( $\pm 6$ ) 10 ( $\pm 3$ )	78 86 ( $\pm 82$ ) 81 ( $\pm 4$ )	17 18 ( $\pm 17$ ) 15 ( $\pm 2$ )	9 8 ( $\pm 9$ ) 10 ( $\pm 1$ )
	1 2 5 0 †	98 107 ( $\pm 99$ ) 93 ( $\pm 7$ )	6 7 ( $\pm 6$ ) 6 ( $\pm 1$ )	88 92 ( $\pm 88$ ) 83 ( $\pm 5$ )	14 16 ( $\pm 16$ ) 17 ( $\pm 2$ )	7 8 ( $\pm 8$ ) 10 ( $\pm 2$ )
	2 5 0 0 †	95 97 ( $\pm 94$ ) 91 ( $\pm 3$ )	4 7 ( $\pm 5$ ) 5 ( $\pm 2$ )	77 92 ( $\pm 84$ ) 84 ( $\pm 8$ )	14 13 ( $\pm 15$ ) 18 ( $\pm 3$ )	10 8 ( $\pm 8$ ) 7 ( $\pm 2$ )
	5 0 0 0 †	97 93 ( $\pm 99$ ) 108 ( $\pm 8$ )	10 4 ( $\pm 7$ ) 7 ( $\pm 3$ )	91 71 ( $\pm 77$ ) 70 ( $\pm 12$ )	14 18 ( $\pm 16$ ) 15 ( $\pm 2$ )	11 10 ( $\pm 10$ ) 10 ( $\pm 1$ )
S 9 mix (+)	陰性対照	98 94 ( $\pm 102$ ) 114 ( $\pm 11$ )	11 7 ( $\pm 8$ ) 7 ( $\pm 2$ )	96 97 ( $\pm 96$ ) 94 ( $\pm 2$ )	29 35 ( $\pm 28$ ) 20 ( $\pm 8$ )	16 17 ( $\pm 18$ ) 20 ( $\pm 2$ )
	3 1 3 †	99 127 ( $\pm 110$ ) 103 ( $\pm 15$ )	9 7 ( $\pm 8$ ) 9 ( $\pm 1$ )	104 98 ( $\pm 100$ ) 98 ( $\pm 3$ )	24 26 ( $\pm 25$ ) 25 ( $\pm 1$ )	19 16 ( $\pm 18$ ) 18 ( $\pm 2$ )
	6 2 5 †	98 95 ( $\pm 95$ ) 93 ( $\pm 3$ )	11 10 ( $\pm 9$ ) 7 ( $\pm 2$ )	100 84 ( $\pm 92$ ) 93 ( $\pm 8$ )	28 29 ( $\pm 27$ ) 23 ( $\pm 3$ )	18 18 ( $\pm 17$ ) 15 ( $\pm 2$ )
	1 2 5 0 †	97 98 ( $\pm 97$ ) 97 ( $\pm 1$ )	9 8 ( $\pm 8$ ) 7 ( $\pm 1$ )	96 98 ( $\pm 94$ ) 87 ( $\pm 6$ )	23 22 ( $\pm 22$ ) 22 ( $\pm 1$ )	17 15 ( $\pm 17$ ) 18 ( $\pm 2$ )
	2 5 0 0 †	105 98 ( $\pm 99$ ) 94 ( $\pm 6$ )	11 10 ( $\pm 9$ ) 7 ( $\pm 2$ )	100 110 ( $\pm 105$ ) 106 ( $\pm 5$ )	27 23 ( $\pm 25$ ) 24 ( $\pm 2$ )	15 14 ( $\pm 15$ ) 16 ( $\pm 1$ )
	5 0 0 0 †	113 96 ( $\pm 103$ ) 99 ( $\pm 9$ )	9 13 ( $\pm 9$ ) 6 ( $\pm 4$ )	108 98 ( $\pm 103$ ) 104 ( $\pm 5$ )	25 17 ( $\pm 22$ ) 23 ( $\pm 4$ )	14 12 ( $\pm 12$ ) 10 ( $\pm 2$ )
陽性対照	S9 mixを必要としな いもの	名称 AF-2 用量 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ ) 0.01 コロニー数 /プレート 530 577 (557) 563 ( $\pm 24$ )	名称 NaN <sub>3</sub> 用量 0.5 コロニー数 /プレート 445 423 (426) 411 ( $\pm 17$ )	名称 ENNG 用量 2 コロニー数 /プレート 3303 3209 (3205) 3104 ( $\pm 100$ )	名称 AF-2 用量 0.1 コロニー数 /プレート 834 736 (733) 630 ( $\pm 102$ )	名称 9-AA 用量 80 コロニー数 /プレート 168 236 (206) 213 ( $\pm 35$ )
	S9 mixを必要とするもの	名称 2-AA 用量 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ ) 1 コロニー数 /プレート 1787 1787 (1757) 1697 ( $\pm 52$ )	名称 2-AA 用量 2 コロニー数 /プレート 213 205 (206) 200 ( $\pm 7$ )	名称 2-AA 用量 2 コロニー数 /プレート 880 840 (864) 871 ( $\pm 21$ )	名称 2-AA 用量 0.5 コロニー数 /プレート 519 463 (486) 476 ( $\pm 29$ )	名称 2-AA 用量 2 コロニー数 /プレート 209 212 (212) 214 ( $\pm 3$ )

(備考) † : 沈殿物が認められた。

(平均値)  
( $\pm$ 標準偏差)AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, NaN<sub>3</sub> : アジ化ナトリウム

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩, 2-AA : 2-アミノアントラセン



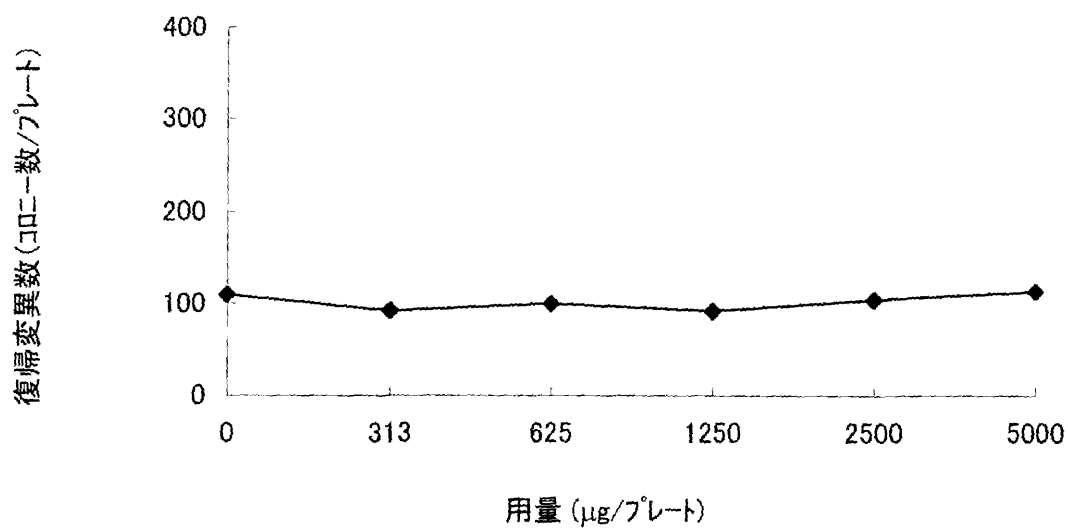


図 1-1 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix非存在下のTA100)

被験物質名: 窒化ケイ素

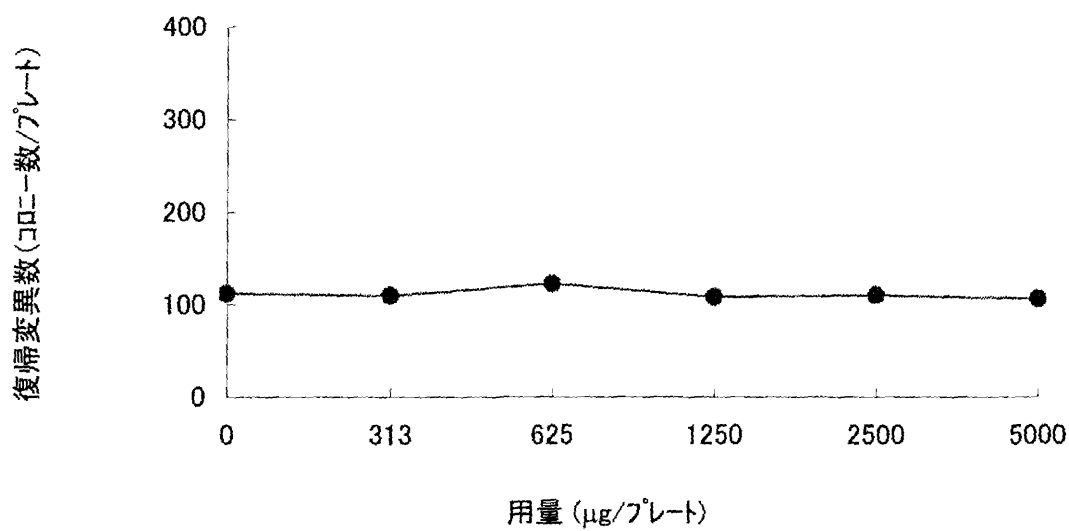


図 1-2 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix存在下のTA100)

被験物質名: 窒化ケイ素

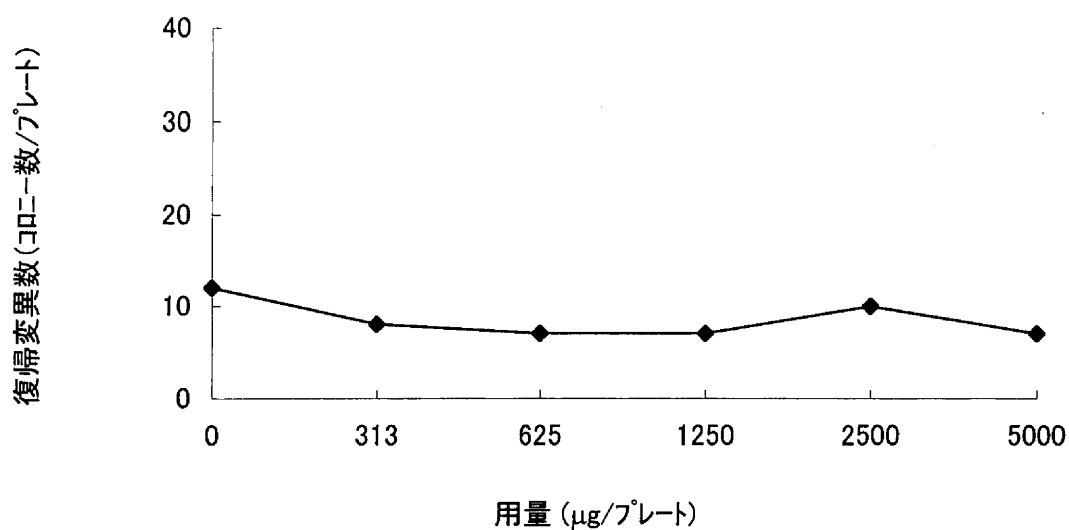


図 2-1 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix非存在下のTA1535)

被験物質名: 窒化ケイ素

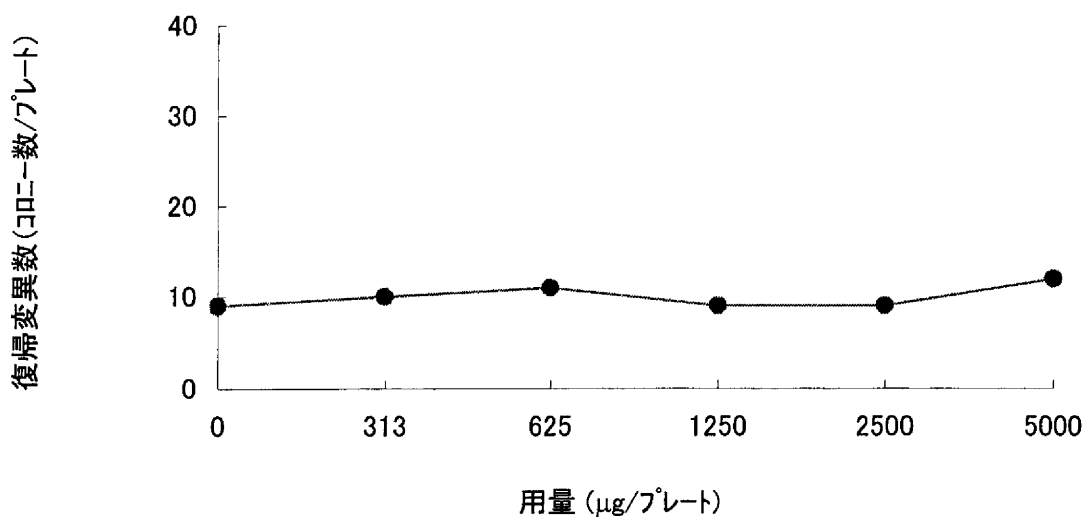


図 2-2 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix存在下のTA1535)

被験物質名: 窒化ケイ素

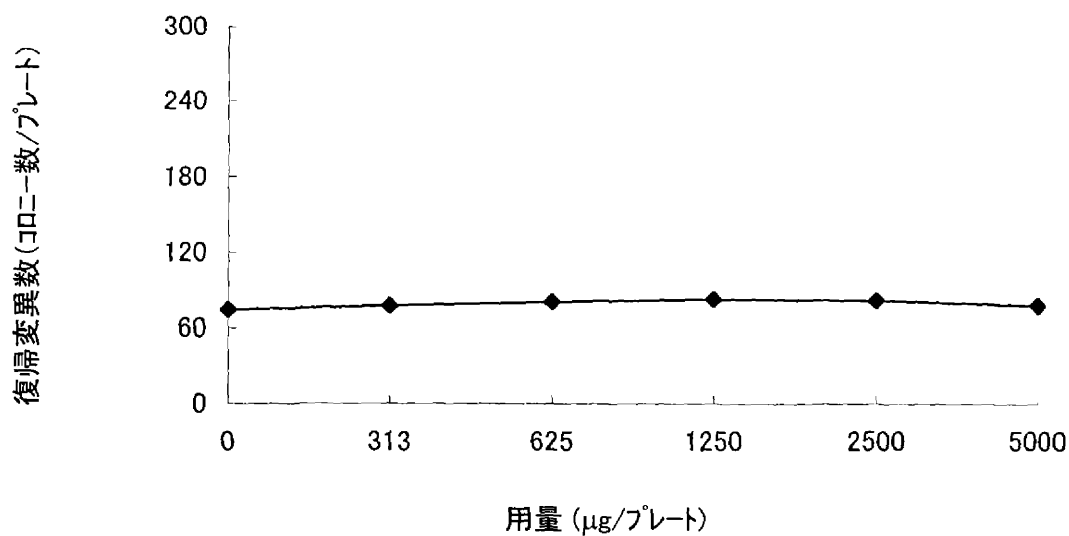


図 3-1 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix非存在下のWP2uvrA/pKM101)

被験物質名: 窒化ケイ素

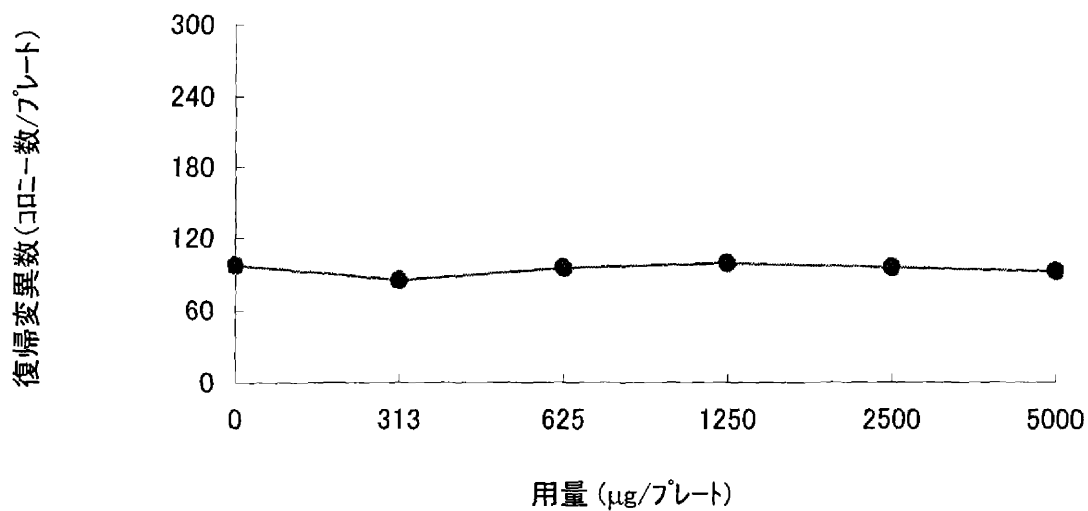


図 3-2 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix存在下のWP2uvrA/pKM101)

被験物質名: 窒化ケイ素

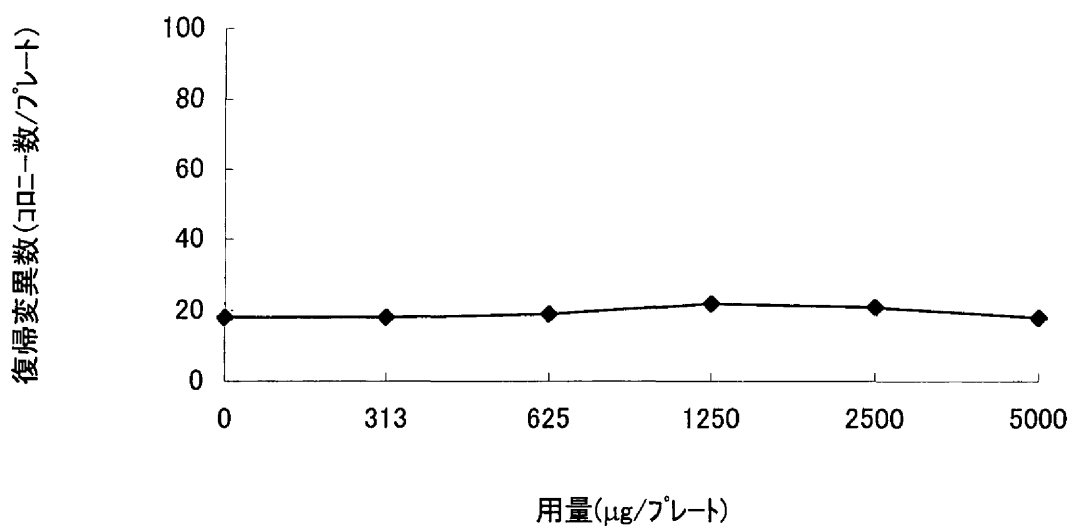


図 4-1 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix非存在下のTA98)

被験物質名: 窒化ケイ素

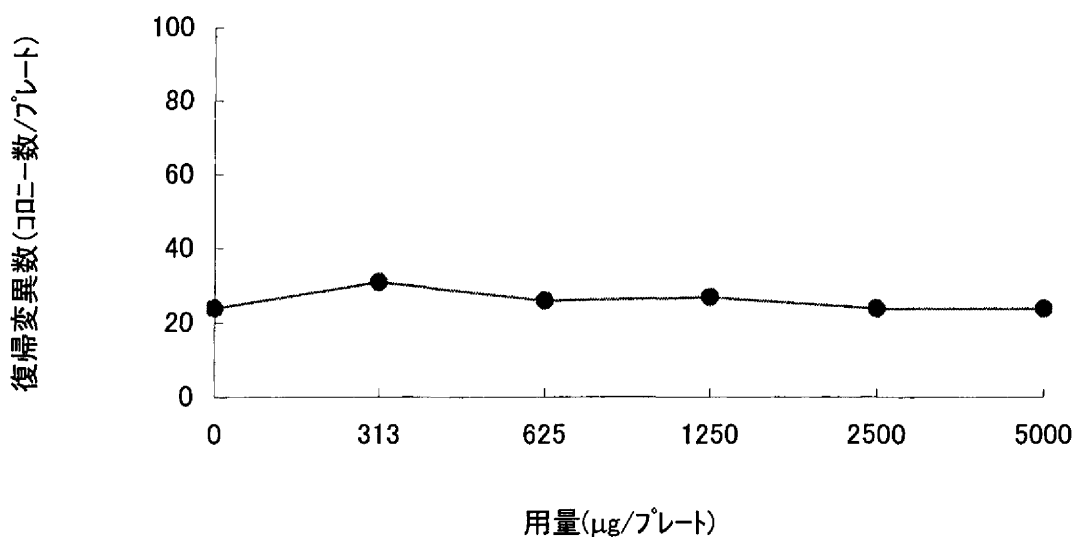


図 4-2 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix存在下のTA98)

被験物質名: 窒化ケイ素

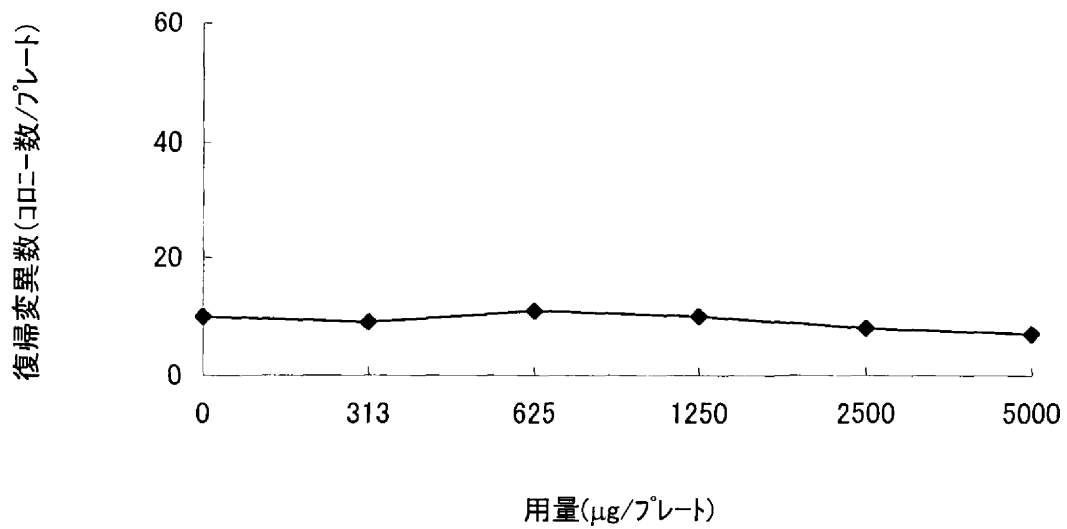


図 5-1 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix非存在下のTA1537)

被験物質名:窒化ケイ素

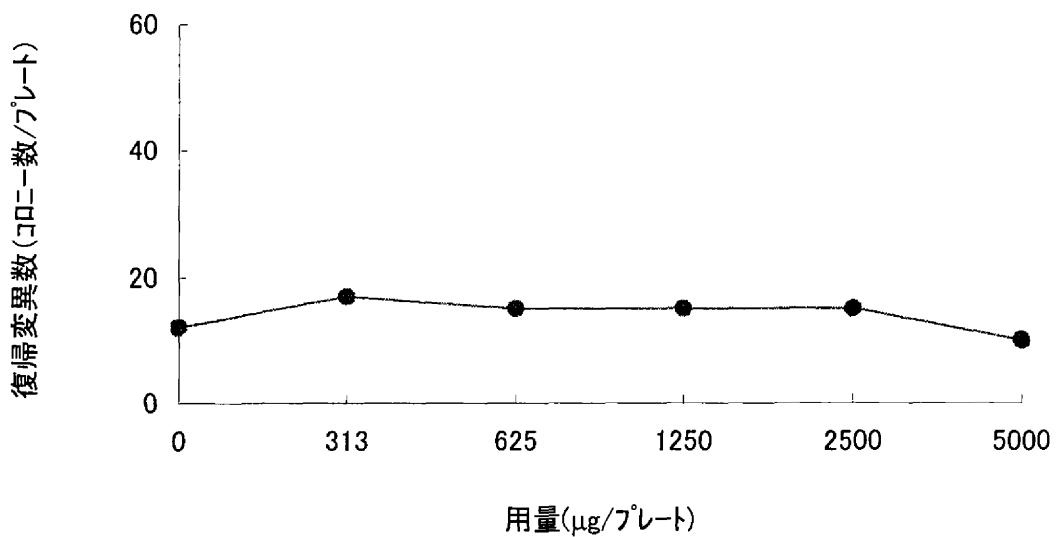


図 5-2 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix存在下のTA1537)

被験物質名:窒化ケイ素

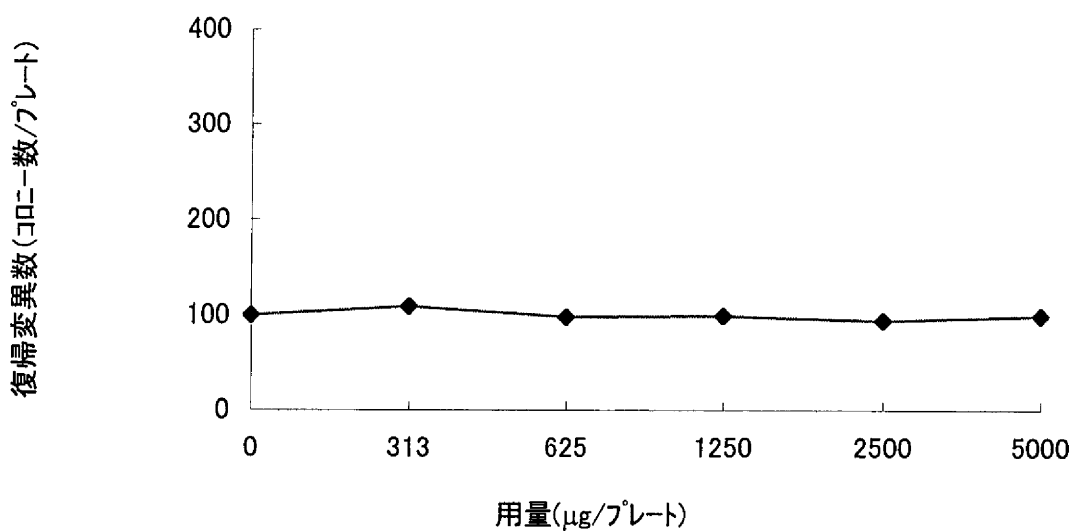


図 6-1 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix非存在下のTA100)

被験物質名: 窒化ケイ素

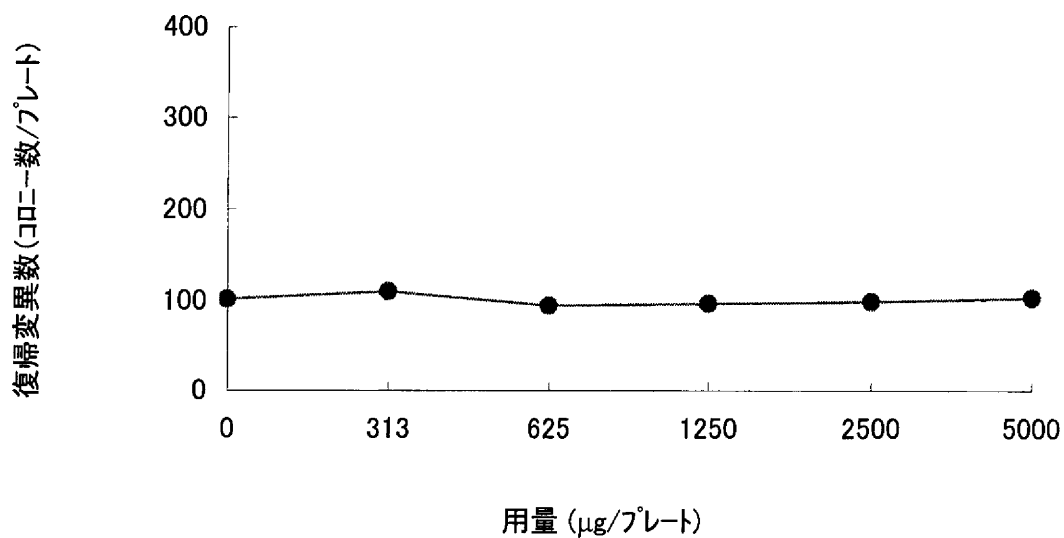


図 6-2 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix存在下のTA100)

被験物質名: 窒化ケイ素

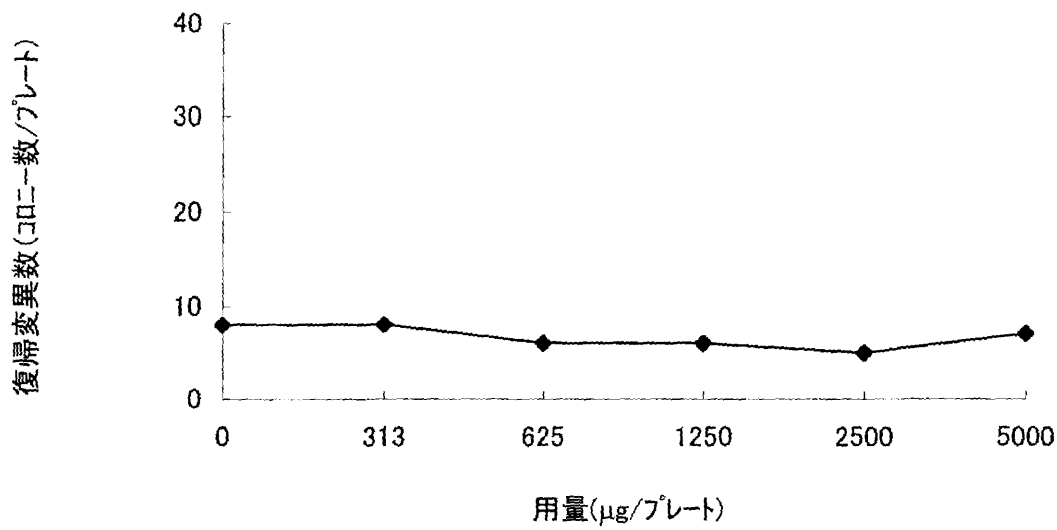


図 7-1 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix非存在下のTA1535)

被験物質名: 窒化ケイ素

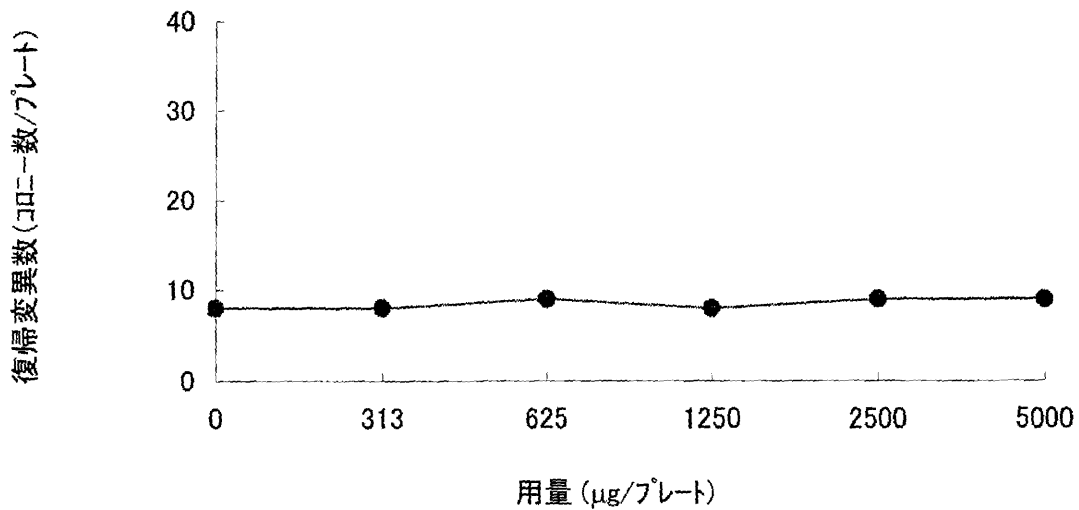


図 7-2 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix存在下のTA1535)

被験物質名: 窒化ケイ素

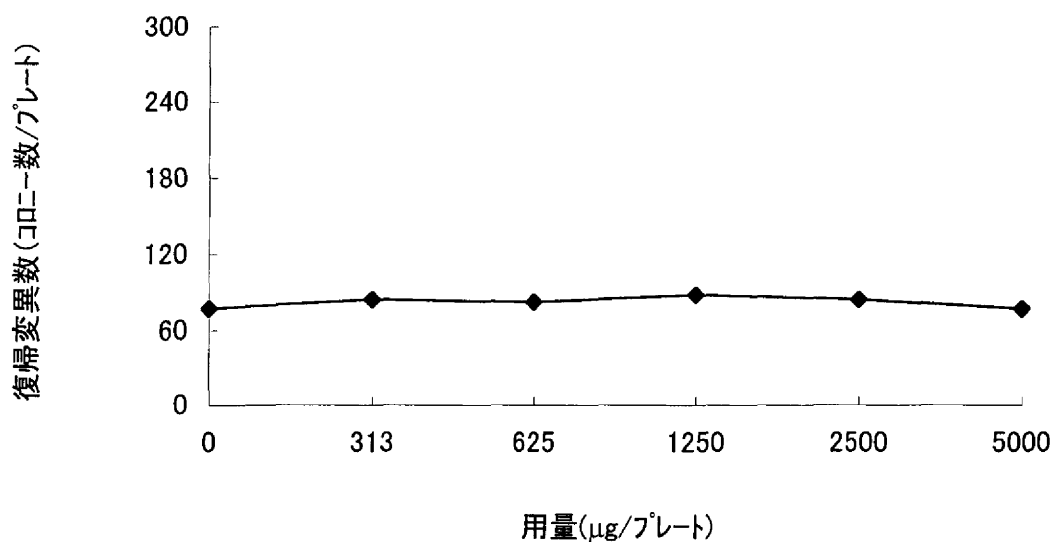


図 8-1 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix非存在下のWP2uvrA/pKM101)

被験物質名: 窒化ケイ素

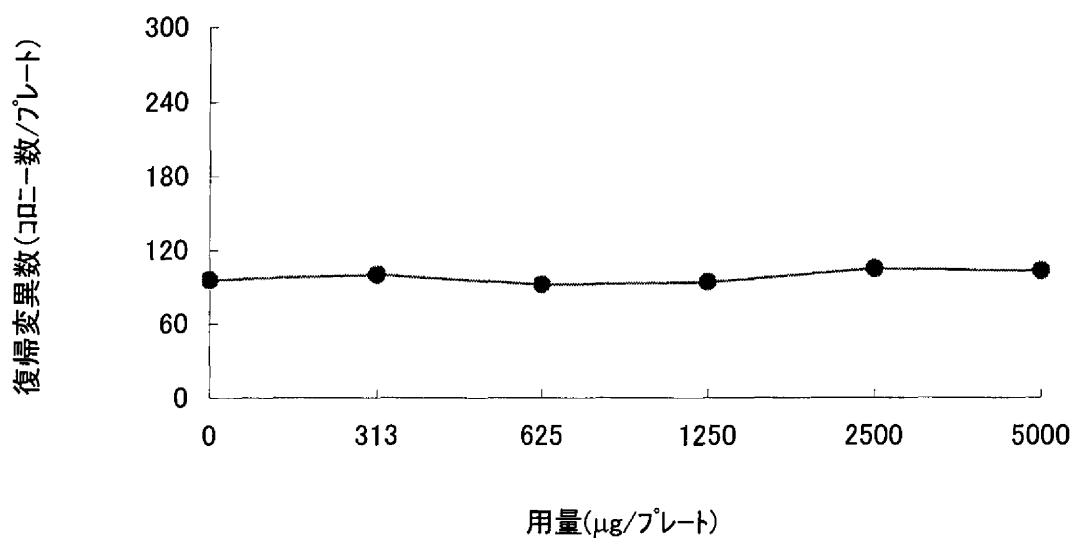


図 8-2 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix存在下のWP2uvrA/pKM101)

被験物質名: 窒化ケイ素



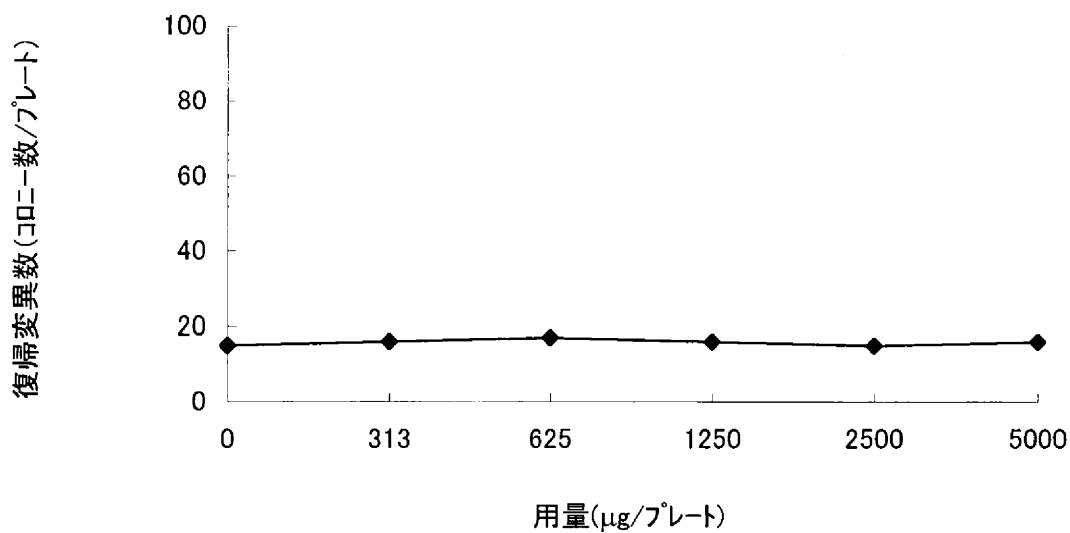


図 9-1 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix非存在下のTA98)

被験物質名: 窒化ケイ素

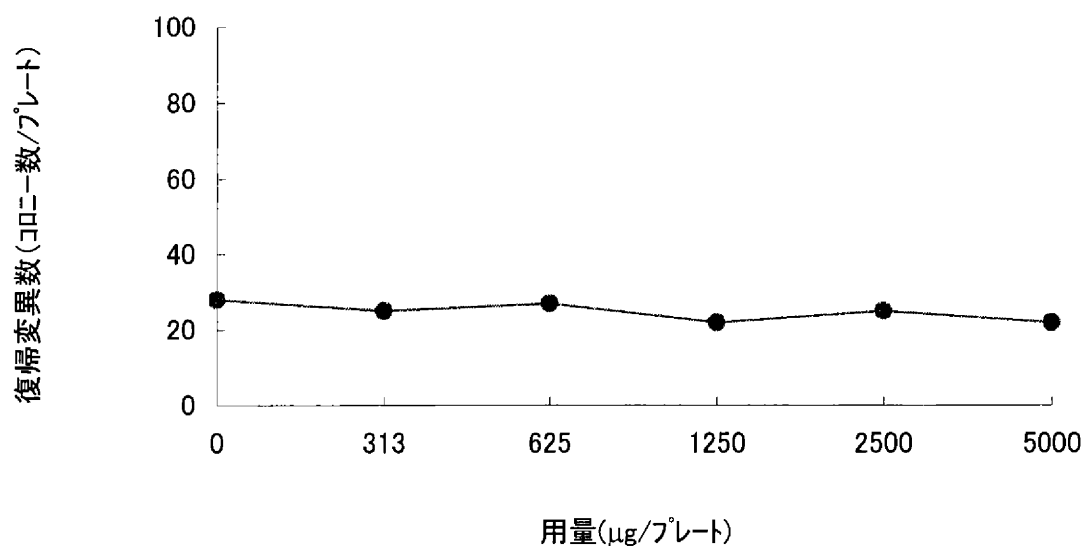


図 9-2 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix存在下のTA98)

被験物質名: 窒化ケイ素

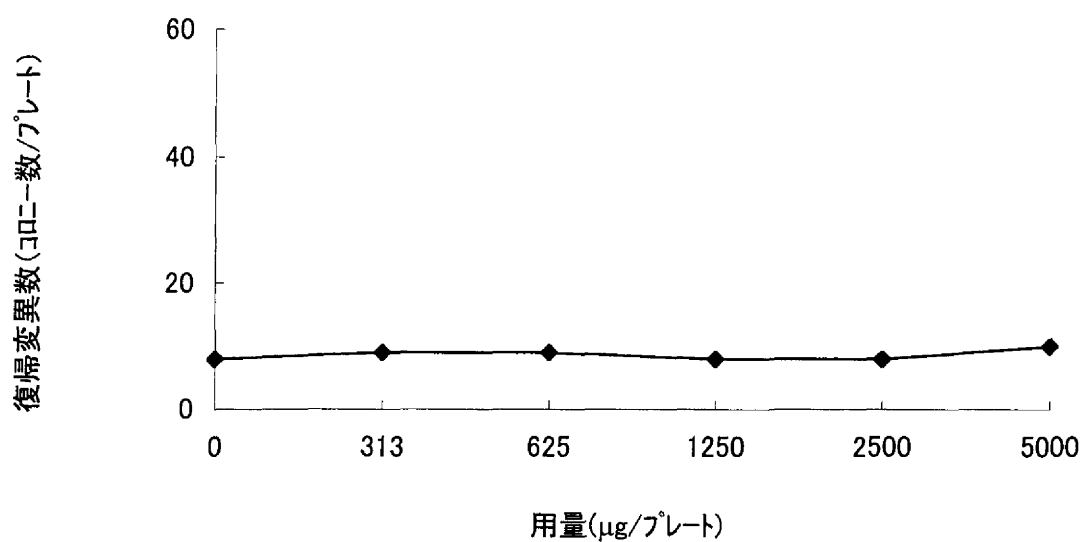


図 10-1 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix非存在下のTA1537)

被験物質名: 窒化ケイ素

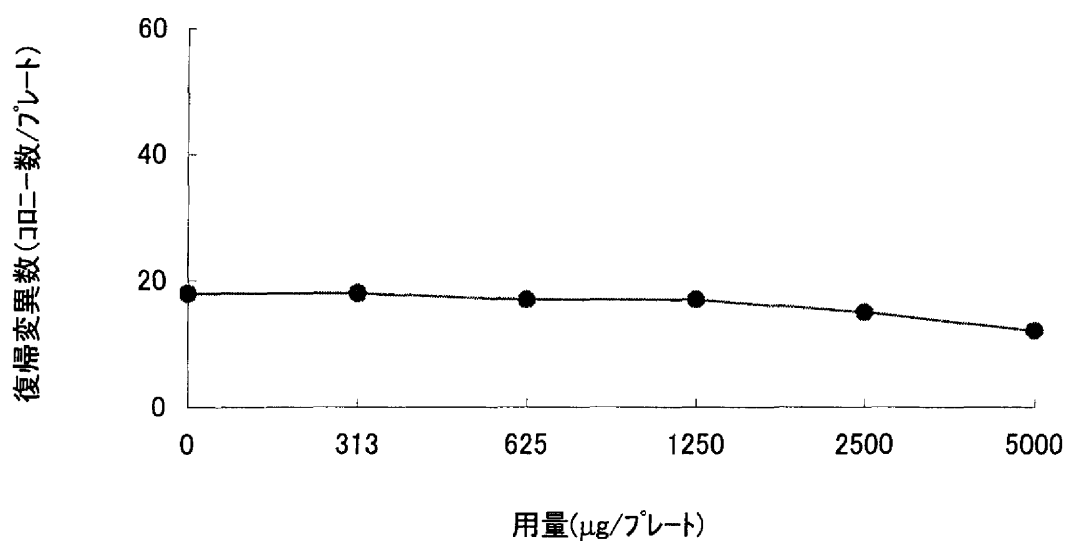


図 10-2 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix存在下のTA1537)

被験物質名: 窒化ケイ素