

最終報告書

4-メトキシベンズアルデヒドの細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：4175（115-093）

平成12年7月13日

試験委託者
厚生省 生活衛生局

財団法人
食品農医薬品安全性評価センター

目次

1. 要約.....	2
2. 表題.....	3
3. 試験目的.....	3
11. 被験物質.....	5
12. 試験材料および方法.....	7
13. 試験結果.....	14
14. 考察および結論.....	15
15. 参考文献.....	16

Figures		F-1~5
Figure 1	Bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde in strain TA100	F-1
Figure 2	Bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde in strain TA1535	F-2
Figure 3	Bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde in strain WP2 <i>uvrA</i>	F-3
Figure 4	Bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde in strain TA98	F-4
Figure 5	Bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde in strain TA1537	F-5
Tables		T-1~4
Table 1	Results of the bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde (1st trial) [direct method : -S9]	T-1
Table 2	Results of the bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde (1st trial) [activation method : +S9]	T-2
Table 3	Results of the bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde (2nd trial) [direct method : -S9]	T-3
Table 4	Results of the bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde (2nd trial) [activation method : +S9]	T-4

1. 要約

本試験条件下において、4-メトキシベンズアルデヒドには遺伝子突然変異を誘起する作用がないものと判断した。

4-メトキシベンズアルデヒドの変異原性について、遺伝子突然変異誘発性を検討するため、ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) TA100, TA98, TA1535 および TA1537 株ならびに大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2 *uvrA* 株を用いた復帰突然変異試験を行った。

その結果、4-メトキシベンズアルデヒド処理では 39.1~5000 μg /プレートのいずれの試験用量においても、ラット肝マイクロソーム (S9) 添加の有無にかかわらず、陰性対照に比べ復帰突然変異コロニー数の明確な増加は認められなかった。

一方、直接法および代謝活性化法での陽性対照物質は、それぞれの試験菌株に対し明確な突然変異誘発作用を示した。

2. 表題

4-メトキシベンズアルデヒドの細菌を用いる復帰突然変異試験

3. 試験目的

被験物質の *in vitro* における遺伝子突然変異誘発性を検討した。

11. 被験物質**11.1. 被験物質名**

4-メトキシベンズアルデヒド
(4-Methoxy-benzaldehyde)

11.2. ロット番号**11.3. 純度**

99.9 wt%

11.4. 保管条件

密封, 遮光, 室温保存

11.5. 別名

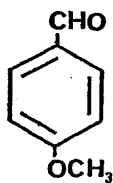
p-アニスアルデヒド

11.6. 化学名

4-メトキシベンズアルデヒド

11.7. CAS 番号

123-11-5

11.8. 構造式または示性式**11.9. 分子量**

136.15

11.10. 常温における性状

無色～淡黄色透明液体

11.11. 融点/沸点

融点: 0°C (凝固点)

沸点: 248°C (0.1 MPa)

11.12. 溶媒に対する溶解度等

水に難溶 (0.2 g/100 mL, 20°C)

アルコールおよび一般有機溶剤に可溶.

11.13. 安定性

空気に触れると酸化する.

11.14. 蒸気圧

<133.3 Pa (20°C)

11.15. 取り扱い上の注意

保護具を着用し, 目, 皮膚, 粘膜等へ直接触れないようにした. おがくずあ
るいは布きれに染み込ませ, 少しずつ焼却処理した.

揮発性物質の可能性があるため, 秤量, 希釈操作ならびに処理の際には十分
に配慮した.

11.16. 残余被験物質料の処理

被験物質の残余は, 染色体異常試験 (試験番号 4176) 終了後, 被験物質提供
元に返却する.

12. 試験材料および方法

12.1. 試験菌株

細菌を用いる復帰突然変異試験において広く使用されていることから、試験菌株として次の5種類の菌株を使用した。

- | | | | |
|----|---------|-----------------|---------------------|
| a. | ネズミチフス菌 | TA100 | (ヒスチジン要求性の塩基対置換型) |
| b. | ネズミチフス菌 | TA98 | (ヒスチジン要求性のフレームシフト型) |
| c. | ネズミチフス菌 | TA1535 | (ヒスチジン要求性の塩基対置換型) |
| d. | ネズミチフス菌 | TA1537 | (ヒスチジン要求性のフレームシフト型) |
| e. | 大腸菌 | WP2 <i>uvrA</i> | (トリプトファン要求性の塩基対置換型) |

ネズミチフス菌は昭和58年9月9日にカリフォルニア大学から、また、大腸菌については昭和58年3月16日に国立医薬品食品衛生研究所から分与を受けた。

平成11年1月5日に菌株の特性検査を実施し、規定の特性を保持している菌株を試験に使用した。各菌株の菌懸濁液にジメチルスルホキシド (DMSO: GC用; Merck KGaA; 純度99.7%以上, LotNo.K24605778 803) を容量比80:7の割合で添加した後、凍結保存用チューブに0.2 mLずつ分注した。これを液体窒素を用いて凍結した後、超低温フリーザー (MDF-390AT; 三洋電機メディカシステム株式会社) に保存 (-80°C) した。

12.2. 培地の調製

12.2.1. 最少グルコース寒天平板培地（プレート）

テスメディア AN 培地（オリエンタル酵母工業株式会社：平成 10 年 9 月 22 日製造，Lot No. AN620IN）を試験に使用した。本プレートは，Vogel-Bonner 最少培地 E を含む下記の組成の溶液 30 mL を無菌的にシャーレに分注したものである。

硫酸マグネシウム・7水塩	0.2	g
クエン酸・1水塩	2	g
リン酸二カリウム・無水塩	10	g
リン酸一アンモニウム	1.92	g
水酸化ナトリウム	0.66	g
精製水	200	mL
<hr/>		
グルコース	20	g
精製水	100	mL
<hr/>		
寒天（No.1；Oxoid Limited；Lot No. 60297）	15	g
精製水	700	mL

12.2.2. トップアガー（軟寒天）

塩化ナトリウム 0.5% を含む 0.6% 寒天（Bacto-agar：Difco Laboratories；Lot No. 120535JD）水溶液をオートクレーブで滅菌した後，ネズミチフス菌を用いる試験の場合，0.5 mmol/L L-ヒスチジン（関東化学株式会社；Lot No. 412E1389）－0.5 mmol/L D-ビオチン（関東化学株式会社；Lot No. 811S2086）水溶液を寒天溶液 10 容量に対し 1 容量加え，大腸菌を用いる試験の場合，0.5 mmol/L L-トリプトファン（関東化学株式会社；Lot No. 608E1385）水溶液を同じく 1 容量加えた。

12.3. 試験菌株の前培養

内容量 200 mL のバッフル付三角フラスコに 2.5%ニュートリエントブロス (Nutrient Broth No.2 : Oxoid Limited ; Lot No. 028 59365) 培養液を 25 mL 分注し、これに融解した菌懸濁液を 50 μ L 接種した。培養開始までの間冷却ユニット (ECS-1 : 東京理化器械株式会社) を用いて 4°C に保存し、その後ウォーターバスシェーカー (MM-10 : タイテック株式会社) を用い、37°C で 8 時間振盪 (100 回/分) 培養した。試験毎に菌株の培養を実施し、菌懸濁液は培養終了後直ちに使用した。

ATP フォトメーター (ルミテスター K-100 : キッコーマン株式会社) を用いて計測した生菌数を以下に示した。

試験	試験生菌数 ($\times 10^9$ /mL)				
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
本試験 1 回目	3.69	3.33	3.89	3.03	2.03
本試験 2 回目	3.77	3.45	3.67	3.25	2.35

12.4. S9 mix

製造後 6 ヶ月以内の S9 mix (キッコーマン株式会社 ; Lot No. FSM-396) を試験に使用した。

12.4.1. S9 の調製方法

S9 調製の際の動物種、性、臓器、誘導物質ならびに誘導方法を以下に示した。

- a. ロット番号 RAA-396
- b. 調製日 平成 11 年 1 月 22 日 (誘導物質投与開始後 5 日目)
- c. 使用動物 ラット : Sprague-Dawley 系
- d. 性/週齢 雄/7 週齢
- e. 体重 207~252 g
- f. 臓器 肝臓
- g. 誘導物質 Phenobarbital(PB)および 5,6-Benzoflavone(BF)
- h. 投与量 PB : 30 mg/kg 1 回 (1 日目),
および 60 mg/kg 3 回 (2~4 日目)
投与回数 BF : 80 mg/kg 1 回 (3 日目)
- i. 投与方法 腹腔内投与
- j. 蛋白含量 26.5 mg/mL

12.4.2. S9 mix の組成

S9 mix 1 mL 中の量を以下に示す.

S9	0.1	mL
KCl	33	μmol
MgCl ₂	8	μmol
G-6-P	5	μmol
NADPH	4	μmol
NADH	4	μmol
Na-リン酸緩衝液 (pH 7.4)	100	μmol

12.5. 被験物質液の調製

本被験物質は DMSO に易溶であり、かつ、溶液中で安定であったことから被験物質を DMSO (Lot No. K24605778 803) に溶解させ調製原液とした。この調製原液を使用溶媒を用いて所定濃度に希釈した後、直ちに処理を行った。モレキュラーシーブを用いて脱水処理を行った DMSO を被験物質の調製に使用した。

12.6. 対照群

12.6.1. 陰性 (溶媒) 対照

使用溶媒のみで試験した。

12.6.2. 陽性対照

陽性対照として以下の物質を使用した。各陽性対照物質は DMSO (Lot No. K24605778 803) を用いて溶解し、500 あるいは 1000 μL ずつ小分けした後、凍結保存 (-20°C) したものを試験に使用した。

AF-2	2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル) アクリルアミド (和光純薬工業株式会社; 純度 98.0~102.0%; Lot No. PAN0050)
NaN ₃	アジ化ナトリウム (和光純薬工業株式会社; 純度 99.0%以上; Lot No. TPR1596)
9-AA	9-アミノアクリジン塩酸塩 (Aldrich Chemical Co., Inc.; 純度 98.0%; Lot No. AQ08326HN)
2-AA	2-アミノアントラセン (和光純薬工業株式会社; 純度 90.0%以上; Lot No. DLH6052)

《直接法》

a. AF-2	0.01	μg/プレート	(ネズミチフス菌：TA100)
b. AF-2	0.1	〃	(ネズミチフス菌：TA98)
c. NaN ₃	0.5	〃	(ネズミチフス菌：TA1535)
d. 9-AA	80	〃	(ネズミチフス菌：TA1537)
e. AF-2	0.01	〃	(大腸菌：WP2 <i>uvrA</i>)

《代謝活性化法》

a. 2-AA	1.0	μg/プレート	(ネズミチフス菌：TA100)
b. 2-AA	0.5	〃	(ネズミチフス菌：TA98)
c. 2-AA	2.0	〃	(ネズミチフス菌：TA1535)
d. 2-AA	2.0	〃	(ネズミチフス菌：TA1537)
e. 2-AA	10.0	〃	(大腸菌：WP2 <i>uvrA</i>)

なお、これらの試験用量は労働省安全衛生部化学物質調査課編「安衛法における変異原性試験—テストガイドラインとGLP」に準じて設定した。

12.6.3. 無菌試験

被験物質液（調製原液）ならびに S9 mix について無菌試験を実施した。すなわち、調製原液 100 μL あるいは S9 mix 500 μL にトッパアガーをそれぞれ 2 mL 添加し、プレート上に注いだ。37°C の条件で 48 時間培養した後、雑菌汚染の有無を確認した。

調製原液および S9 mix のいずれについても 2 枚のプレートを用いて無菌試験を実施した。

4-メトキシベンズアルデヒド調製原液ならびに S9 mix の無菌試験において、菌の増殖は認められなかった。

12.7. 復帰突然変異試験

12.7.1. 試験用量

1枚のプレートを用いて実施した予備的な試験の結果を以下に示す。

試験用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 Mix	復帰突然変異コロニー数				
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
0	-	90	14	21	16	9
19.5	-	123	8	29	14	6
78.1	-	134	5	18	10	6
313	-	95	11	48	11	7
1250	-	75*	6*	26	12	5*
0	+	104	14	17	22	10
19.5	+	95	10	24	20	14
78.1	+	89	9	33	19	12
313	+	80	9	33	22	14
1250	+	80	6	22	16	12

*：生育阻害作用

直接法の3菌株については1250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ において試験菌株に対する生育阻害作用が観察された。しかしながら、いずれの試験菌株とも復帰突然変異コロニー数の明確な増加傾向は認められなかった。本結果を基に、本試験においては以下に示した用量を最高用量とし、それぞれ6~8用量（公比2）を設定した。

復帰突然変異試験で用量当たり3枚のプレートを用いた。

試験系	最高用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)				
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
直接法	1250	1250	5000	5000	1250
代謝活性化法	5000	5000	5000	5000	5000

12.7.2. 被験物質あるいは対照物質の処理および培養時間

蓋付き試験管に、使用溶媒、被験物質液あるいは陽性対照物質溶液を 100 μ L、次いで直接法の場合、0.1 mol/L ナトリウム・リン酸緩衝液 (pH 7.4) を 500 μ L、代謝活性化法の場合、S9 mix を 500 μ L 分注した。さらに前培養した試験菌株の懸濁液 100 μ L を加えた後、振盪恒温器 (M-100^N:タイテック株式会社) を用いて 37°C で 20 分間振盪 (プレインキュベーション) した。振盪終了後、トップアガーを 2 mL 添加し、内容物を混合した。その後、混合液をプレート上に注ぎ一様に広げた。各プレートをビニールテープで密封した後、恒温器を用いて 37°C の条件で 48 時間各プレートを培養した。再現性を確認するため、本試験を独立して 2 回実施した。

12.7.3. コロニー数計測

被験物質の生育阻害作用を確認するため、プレート上の試験菌株の生育状態について実体顕微鏡 ($\times 60$) を用いて観察した。さらに被験物質の沈殿状態を肉眼で観察した。次いで、復帰突然変異により生じたコロニーを計測した。計測に際しては、コロニーアナライザー (CA-11; システムサイエンス株式会社) を用い、面積補正ならびに数え落とし補正を実施してコロニー数を算出した。

12.8. 結果の解析

復帰突然変異コロニー数が溶媒対照のほぼ 2 倍以上の増加を示し、かつ再現性あるいは被験物質の用量に依存性が認められた場合に陽性と判定した。統計学的手法を用いた検定は実施しなかった。

13. 試験結果

13.1. 試験結果 (1回目)

結果を Figure 1~5 および Table 1, 2 に示した.

4-メトキシベンズアルデヒド処理群の場合, 直接法, 代謝活性化法ともすべての菌株の高用量群において試験菌株に対する生育阻害作用が観察された.

しかしながら, 復帰突然変異コロニー数は, 各試験菌株のいずれの用量においても陰性対照と同等の値であり, 明確な増加傾向は認められなかった.

一方, 陽性対照物質はそれぞれの菌株において, 陰性対照の2倍以上の復帰突然変異コロニーを誘発した.

なお, コロニー計数時に析出等の特筆すべき変化は観察されなかった.

13.2. 試験結果 (2回目)

試験結果を Figure 1~5 および Table 3, 4 に示した.

被験物質処理群の場合, 直接法, 代謝活性化法ともすべての菌株の高用量群において試験菌株に対する生育阻害作用が観察されたが, いずれの菌株においても復帰突然変異コロニー数の明確な増加傾向は認められなかった.

一方, 陽性対照物質は各試験菌株に対し, 復帰突然変異を顕著に誘発した.

なお, コロニー計数時に析出等の特筆すべき変化は観察されなかった.

以上, 2回繰り返し実施した本試験において, 直接法および代謝活性化法の両試験系とも再現性が確認された.

14. 考察および結論

4-メトキシベンズアルデヒドの変異原性，すなわち遺伝子突然変異誘発性の有無を検討するため，微生物（ネズミチフス菌・大腸菌）を用いたプレインキュベーション法による復帰突然変異試験を実施した。

最高用量として 5000 μg /プレートあるいは試験菌株に生育阻害を示す用量まで検討した。その結果，4-メトキシベンズアルデヒド処理群では直接法および代謝活性化法のいずれにおいても，陰性対照と比較し復帰突然変異コロニー数の明確な増加は認められなかった。また，本被験物質（4-メトキシベンズアルデヒド）についてはすでに Ames 試験で陰性との報告がある¹⁾。類縁体である *o*-Anisaldehyde, *m*-Anisaldehyde ならびに Phenylacetaldehyde の変異原性に関する報告はなかった。

なお，陰性対照群あるいは陽性対照群でのコロニー数はいずれも当施設での背景データの範囲内であり，本試験は適切な条件でなされたと判断された。

以上の試験結果から，本試験条件下において 4-メトキシベンズアルデヒドの微生物に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

15. 参考文献

- 1) 労働省労働基準局安全衛生部化学物質調査課 監修：労働安全衛生法有害性調査制度に基づく既存化学物質変異原性試験データ集, 社団法人 日本化学物質安全・情報センター, 1996.

F-1

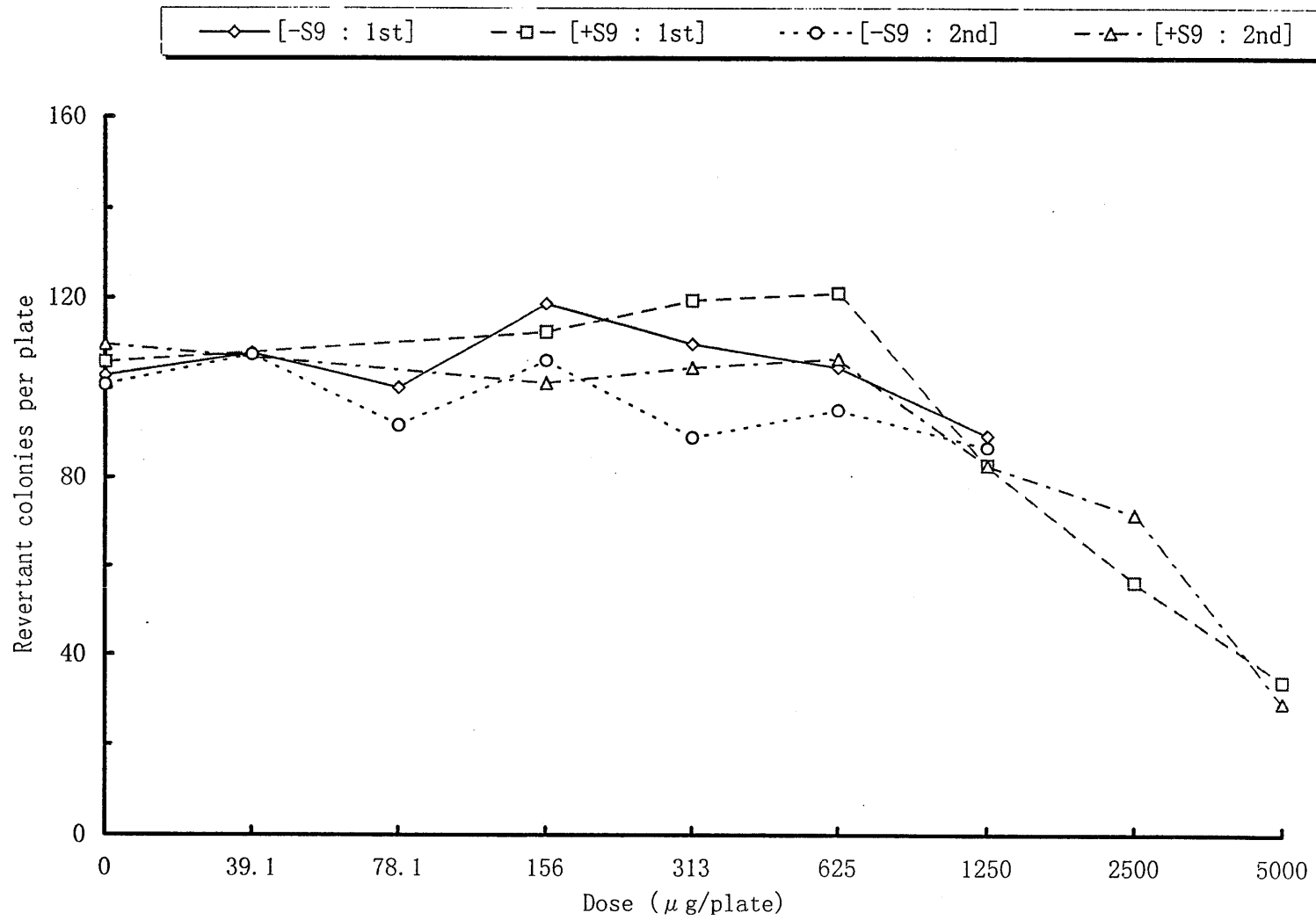


Figure 1. Bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde in strain TA100

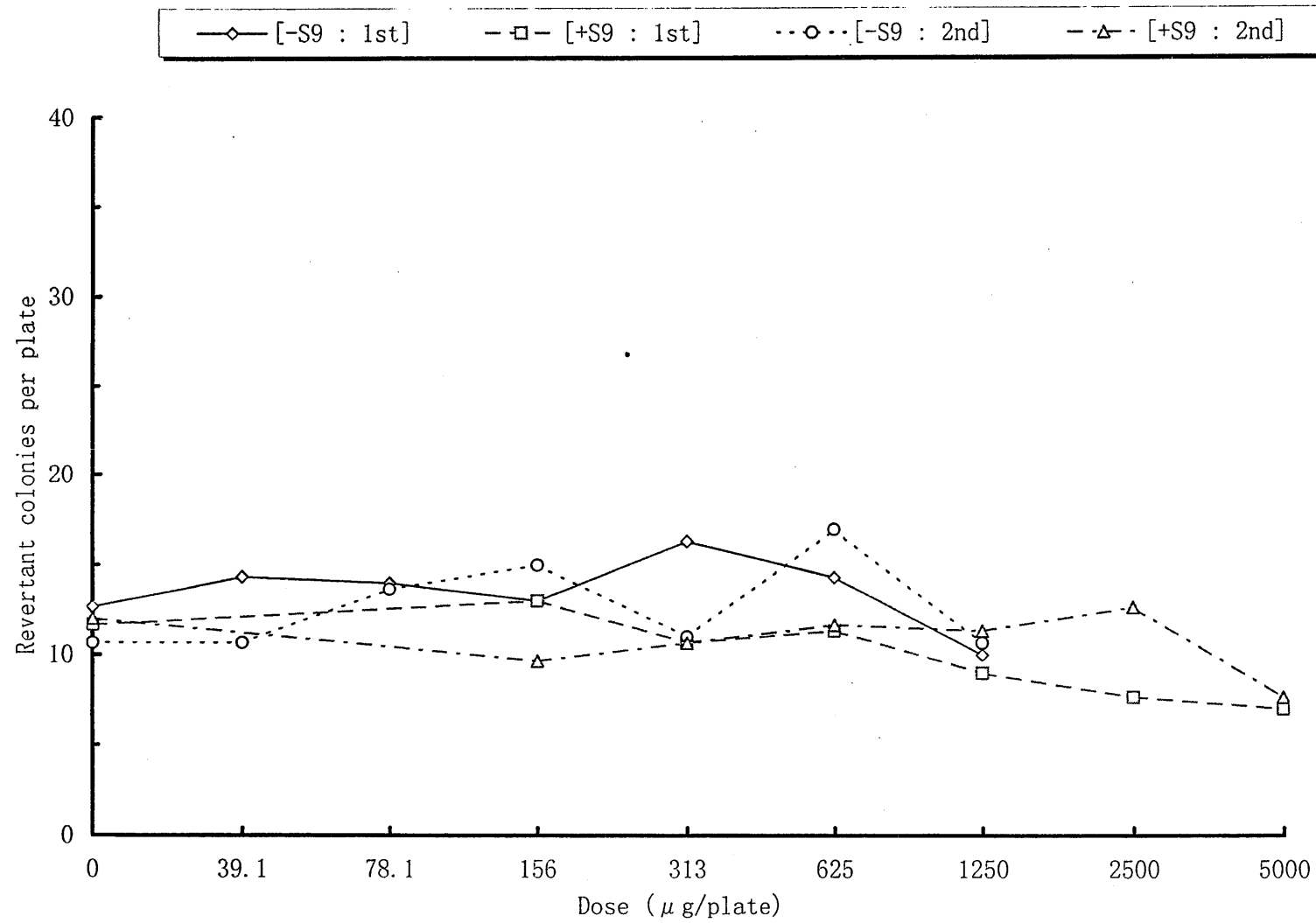


Figure 2. Bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde in strain TA1535

F - 3

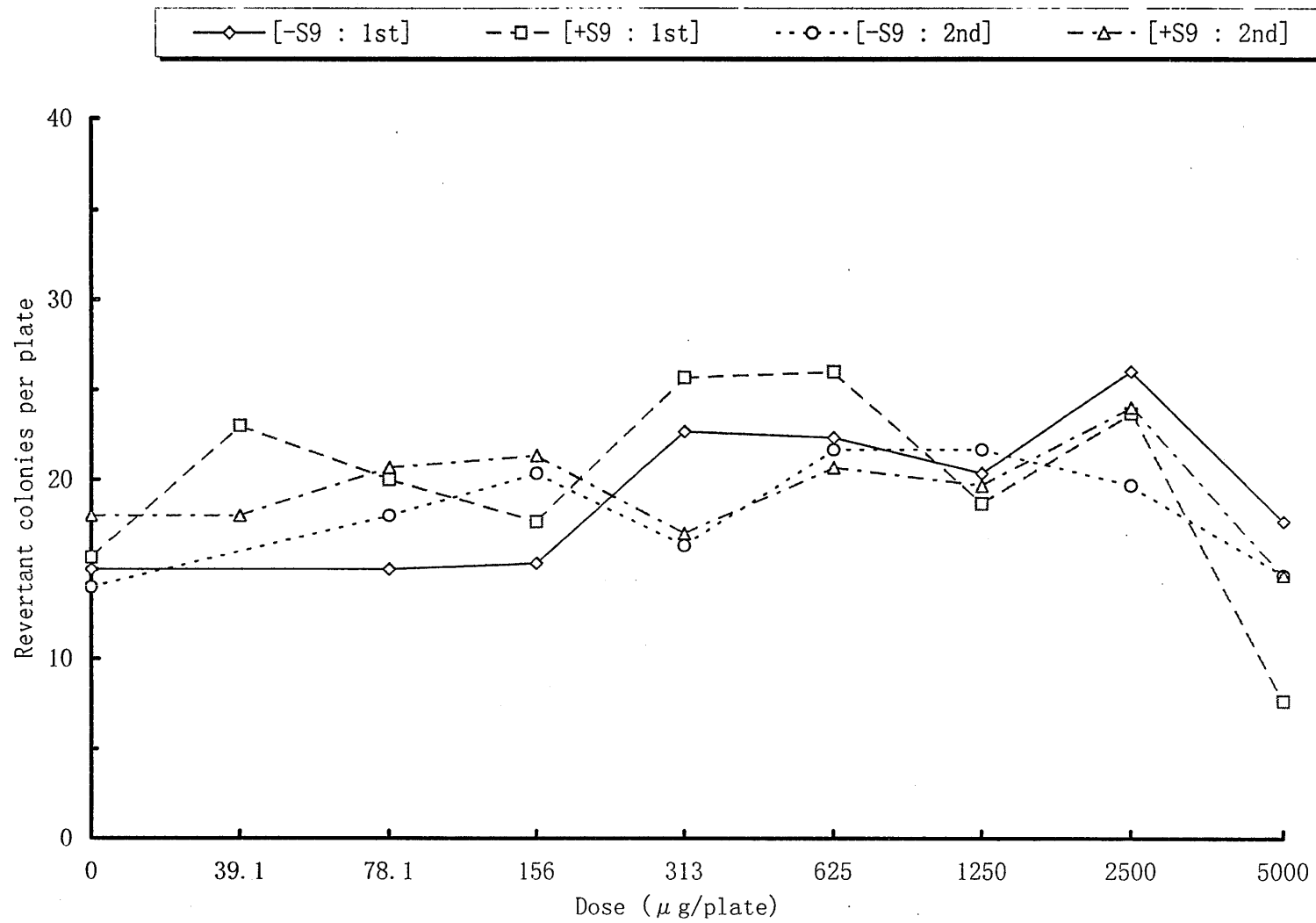


Figure 3. Bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde in strain WP2uvrA

F-4

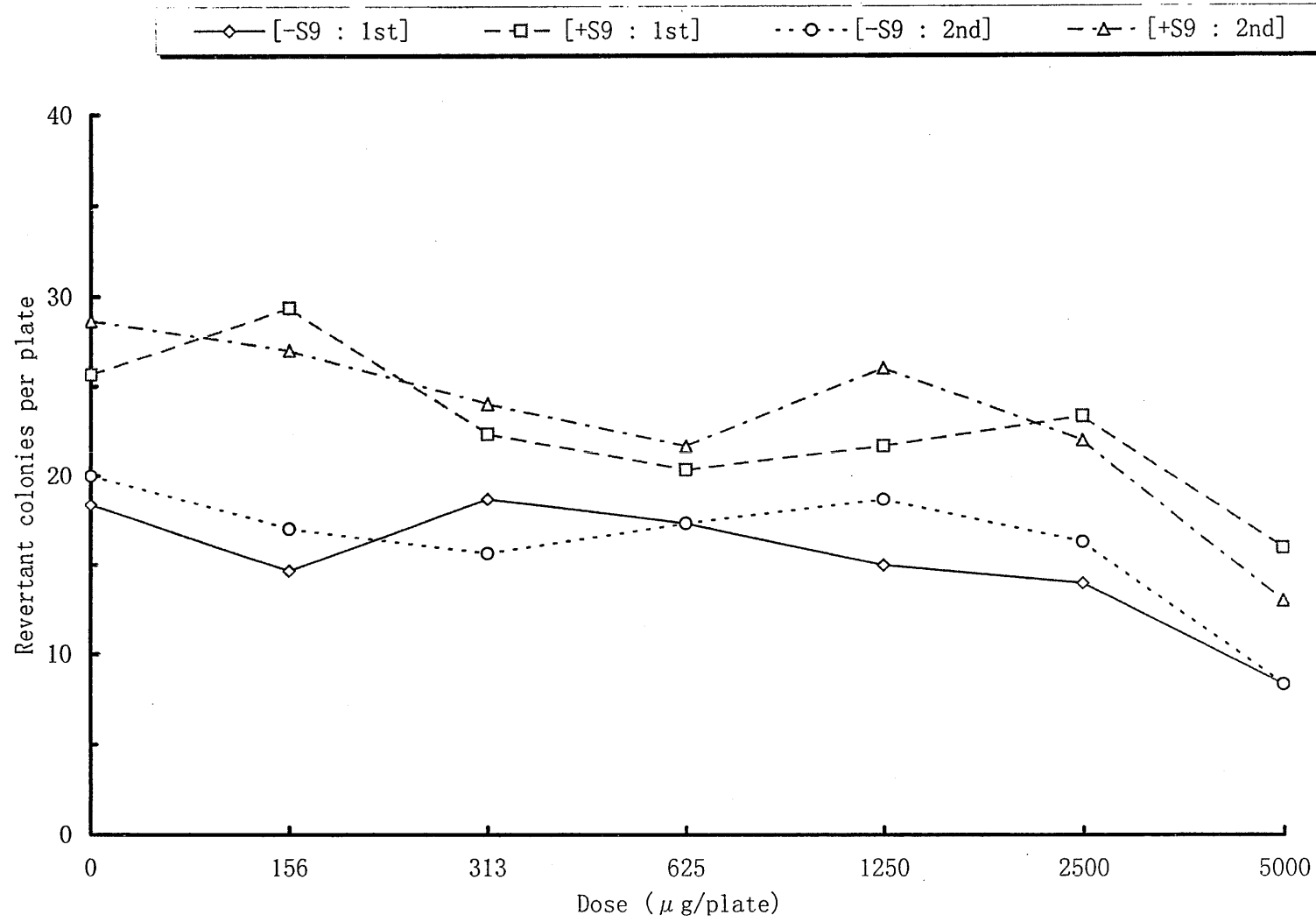


Figure 4. Bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde in strain TA98

F - 5

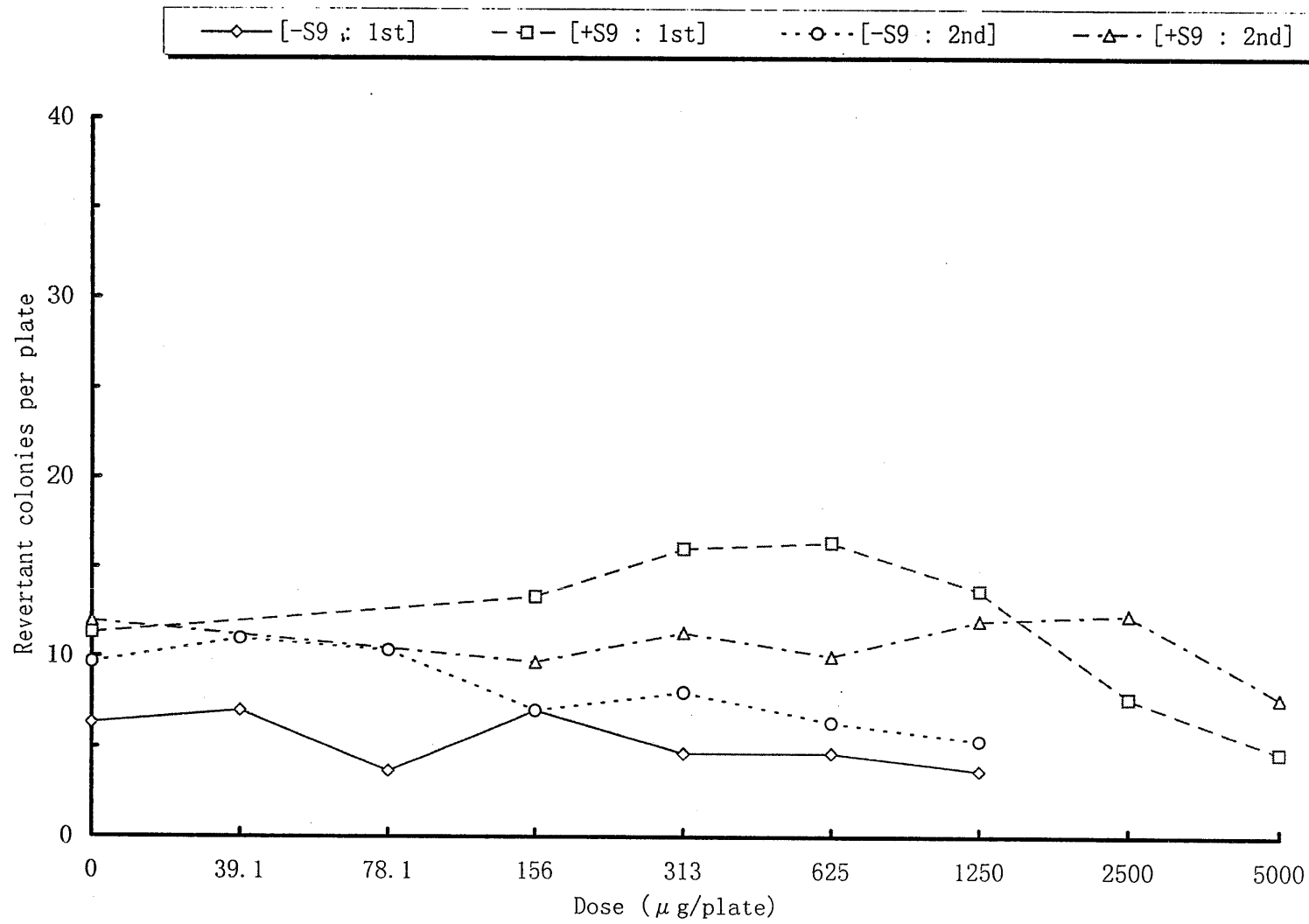


Figure 5. Bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde in strain TA1537

Table 1. Results of the bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde (1st trial)
[direct method : -S9]

Compound	Dose (μ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean \pm S.D.]															
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98			TA1537			
Test substance	0	106	108	94	14	12	12	15	14	16	17	19	19	4	8	7	
		[103 \pm	8]	[13 \pm	1]	[15 \pm	1]	[18 \pm	1]	[6 \pm	2]						
	39.1	118	120	85	18	12	13							9	5	7	
		[108 \pm	20]	[14 \pm	3]										[7 \pm	2]	
	78.1	97	109	94	18	11	13	14	15	16				4	3	4	
		[100 \pm	8]	[14 \pm	4]	[15 \pm	1]							[4 \pm	1]		
	156	120	132	104	11	14	14	16	19	11	15	14	15	8	7	6	
		[119 \pm	14]	[13 \pm	2]	[15 \pm	4]	[15 \pm	1]	[7 \pm	1]						
313	109	119	101	16	17	16	18	25	25	18	14	24	4	5	5		
	[110 \pm	9]	[16 \pm	1]	[23 \pm	4]	[19 \pm	5]	[5 \pm	1]							
625	119	89	105	14	13	16	18	25	24	19	18	15	3	5	6		
	[104 \pm	15]	[14 \pm	2]	[22 \pm	4]	[17 \pm	2]	[5 \pm	2]							
1250	96 *	89 *	83 *	9 *	9 *	12 *	19	19	23	14	16	15	4 *	3 *	4 *		
	[89 \pm	7]	[10 \pm	2]	[20 \pm	2]	[15 \pm	1]	[4 \pm	1]							
2500							28	27	23	13	15	14					
							[26 \pm	3]	[14 \pm	1]							
5000							16 *	20 *	17 *	8 *	8 *	9 *					
							[18 \pm	2]	[8 \pm	1]							
Positive control		415	390	395 ^{a)}	357	332	335 ^{b)}	152	144	144 ^{a)}	602	624	591 ^{c)}	344	339	321 ^{d)}	
		[400 \pm	13]	[341 \pm	14]	[147 \pm	5]	[606 \pm	17]	[335 \pm	12]						

a): AF-2; 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 0.01 μ g/plate b): NaN₃; Sodium azide, 0.5 μ g/platec): AF-2, 0.1 μ g/plate d): 9-AA; 9-Aminoacridine hydrochloride, 80 μ g/plate

* : Growth inhibition was observed

Table 2. Results of the bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde (1st trial)
[activation method : +S9]

Compound	Dose (μ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean \pm S.D.]														
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98			TA1537		
Test substance	0	104	101	112	11	13	11	15	16	16	25	27	25	9	14	11
		[106 \pm		6]	[12 \pm		1]	[16 \pm		1]	[26 \pm		1]	[11 \pm		3]
	39.1							21	25	23						
								[23 \pm		2]						
	78.1							20	19	21						
								[20 \pm		1]						
	156	120	106	111	13	14	12	20	16	17	30	27	31	11	14	15
		[112 \pm		7]	[13 \pm		1]	[18 \pm		2]	[29 \pm		2]	[13 \pm		2]
313	117	127	114	10	10	12	27	24	26	26	18	23	15	19	14	
	[119 \pm		7]	[11 \pm		1]	[26 \pm		2]	[22 \pm		4]	[16 \pm		3]	
625	110	140	113	12	12	10	26	27	25	20	21	20	16	16	17	
	[121 \pm		17]	[11 \pm		1]	[26 \pm		1]	[20 \pm		1]	[16 \pm		1]	
1250	71	87	90	8	9	10	22	17	17	23	19	23	15	14	12	
	[83 \pm		10]	[9 \pm		1]	[19 \pm		3]	[22 \pm		2]	[14 \pm		2]	
2500	58 *	67 *	44 *	6 *	8 *	9 *	25	24	22	20	24	26	8 *	9 *	6 *	
	[56 \pm		12]	[8 \pm		2]	[24 \pm		2]	[23 \pm		3]	[8 \pm		2]	
5000	34 *	41 *	27 *	6 *	8 *	7 *	7 *	7 *	9 *	14 *	15 *	19 *	5 *	5 *	4 *	
	[34 \pm		7]	[7 \pm		1]	[8 \pm		1]	[16 \pm		3]	[5 \pm		1]	
Positive control		547	521	543 ^{a)}	290	316	334 ^{b)}	844	813	877 ^{c)}	500	495	499 ^{d)}	145	155	148 ^{b)}
		[537 \pm		14]	[313 \pm		22]	[845 \pm		32]	[498 \pm		3]	[149 \pm		5]

a) : 2-AA; 2-Aminoanthracene, 1 μ g/plate b) : 2-AA, 2 μ g/plate c) : 2-AA, 10 μ g/plate d) : 2-AA, 0.5 μ g/plate

* : Growth inhibition was observed

Table 3. Results of the bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde (2nd trial)
[direct method : -S9]

Compound	Dose (μ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean \pm S.D.]														
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98			TA1537		
Test substance	0	106	99	97	10	11	11	14	15	13	21	21	18	11	10	8
		[101 \pm 5]		[11 \pm 1]		[14 \pm 1]		[20 \pm 2]		[10 \pm 2]						
	39.1	103	108	111	11	10	11							9	13	11
		[107 \pm 4]		[11 \pm 1]										[11 \pm 2]		
	78.1	89	98	88	13	12	16	16	20	18				9	11	11
		[92 \pm 6]		[14 \pm 2]				[18 \pm 2]						[10 \pm 1]		
	156	95	107	116	11	17	17	20	22	19	19	14	18	7	7	7
		[106 \pm 11]		[15 \pm 3]				[20 \pm 2]		[17 \pm 3]				[7 \pm 0]		
	313	83	100	84	12	11	10	17	16	16	17	13	17	7	8	9
	[89 \pm 10]		[11 \pm 1]				[16 \pm 1]		[16 \pm 2]				[8 \pm 1]			
625	95	96	94	20	13	18	22	19	24	14	20	18	6	5	8	
	[95 \pm 1]		[17 \pm 4]				[22 \pm 3]		[17 \pm 3]				[6 \pm 2]			
1250	89 *	84 *	87 *	7 *	11 *	14 *	18	24	23	19	20	17	6 *	4 *	6 *	
	[87 \pm 3]		[11 \pm 4]				[22 \pm 3]		[19 \pm 2]				[5 \pm 1]			
2500							18	21	20	17	19	13				
							[20 \pm 2]		[16 \pm 3]							
5000							20 *	11 *	13 *	8 *	11 *	6 *				
							[15 \pm 5]		[8 \pm 3]							
Positive control		449	459	434 ^{a)}	344	379	372 ^{b)}	143	151	154 ^{a)}	688	642	648 ^{c)}	445	439	511 ^{d)}
		[447 \pm 13]		[365 \pm 19]			[149 \pm 6]		[659 \pm 25]				[465 \pm 40]			

a): AF-2; 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 0.01 μ g/plate b): NaN₃; Sodium azide, 0.5 μ g/plate

c): AF-2, 0.1 μ g/plate d): 9-AA; 9-Aminoacridine hydrochloride, 80 μ g/plate

* : Growth inhibition was observed

Table 4. Results of the bacterial reversion test of 4-Methoxy-benzaldehyde (2nd trial)
[activation method : +S9]

Compound	Dose (μ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean \pm S.D.]																																	
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98			TA1537																					
Test substance	0	111	104	114	12	12	12	19	17	18	26	29	31	9	13	14	[110 \pm 5]	[12 \pm 0]	[18 \pm 1]	[29 \pm 3]	[12 \pm 3]														
	39.1							14	24	16																									
	78.1							20	19	23																									
	156	100	103	100	10	10	9	17	24	23	28	30	23	12	8	9	[101 \pm 2]	[10 \pm 1]	[21 \pm 4]	[27 \pm 4]	[10 \pm 2]														
	313	101	107	105	12	10	10	15	17	19	25	23	24	9	14	11	[104 \pm 3]	[11 \pm 1]	[17 \pm 2]	[24 \pm 1]	[11 \pm 3]														
	625	109	109	101	11	10	14	23	19	20	23	21	21	9	10	11	[106 \pm 5]	[12 \pm 2]	[21 \pm 2]	[22 \pm 1]	[10 \pm 1]														
	1250	95	74	79	12	10	12	24	18	17	24	23	31	11	13	12	[83 \pm 11]	[11 \pm 1]	[20 \pm 4]	[26 \pm 4]	[12 \pm 1]														
	2500	75 *	66 *	74 *	14 *	13 *	11 *	29	24	19	24 *	21 *	21 *	14 *	10 *	13 *	[72 \pm 5]	[13 \pm 2]	[24 \pm 5]	[22 \pm 2]	[12 \pm 2]														
	5000	37 *	26 *	25 *	9 *	5 *	9 *	18 *	16 *	10 *	15 *	13 *	11 *	7 *	7 *	9 *	[29 \pm 7]	[8 \pm 2]	[15 \pm 4]	[13 \pm 2]	[8 \pm 1]														
Positive control																565	561	528 ^{a)}	303	332	320 ^{b)}	823	854	842 ^{c)}	501	512	509 ^{d)}	159	180	176 ^{b)}	[551 \pm 20]	[318 \pm 15]	[840 \pm 16]	[507 \pm 6]	[172 \pm 11]

a) : 2-AA; 2-Aminoanthracene, 1 μ g/plate b) : 2-AA, 2 μ g/plate c) : 2-AA, 10 μ g/plate d) : 2-AA, 0.5 μ g/plate

* : Growth inhibition was observed