# 最 終 報 告 書

m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの細菌を用いた復帰突然変異試験

（試験番号： 96-070）

財団法人　畜産生物科学安全研究所

Study No. 96-070

# 目　次


要約 …… 1頁

試験目的 …… 2

材料および方法 …… 2

1．被験物質 …… 2

2．指標菌株 …… 3

3．指標菌株の検査 …… 3

4．指標菌株の保存と前培養 …… 3

5．S9 mix …… 4

6．被験物質の供試液の調製 …… 5

7．陰性対照および陽性対照 …… 5

8．アミノ酸添加軟寒天培地の調製 …… 5

9．濃度設定試験（予備試験） …… 6

10．本試験 …… 6

1）濃度設定 …… 6

2）実験方法 …… 6

(1) プレインキュベーション法（直接法） …… 6

(2) プレインキュベーション法（代謝活性化法） …… 6

11．無菌試験 …… 7

12．試験の有効性 …… 7

13．結果の判定 …… 7

結果 …… 8

1．濃度設定試験 …… 8

2．本試験 …… 8

結論および参考事項 …… 8

参考文献 …… 9

表：

表 1-1　S9 mix 非存在下におけるm－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔濃度設定試験－直接法〕 …… 10

表 1-2　S9 mix 存在下におけるm－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔濃度設定試験－代謝活性化法〕 …… 11

表 2-1　S9 mix 非存在下におけるm－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験－直接法〕 …… 12

表 2-2　S9 mix 存在下におけるm－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験－代謝活性化法〕 …… 13

図：

図 1-1　m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－濃度設定試験 …… 14

図 1-2　m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－濃度設定試験 …… 15

図 1-3　m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－濃度設定試験 …… 16

図 2-1　m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験 …… 17

図 2-2　m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験 …… 18

図 2-3　m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験 …… 19

# 要 約

m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの突然変異誘発性の有無を検討するため，細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した。

試験は，指標菌株として *Salmonella typhimurium* TA100，TA1535，TA98，TA1537 および *Escherichia coli* WP2*uvrA* を用い，S9 mix 非存在（直接法）および存在（代謝活性化法）下でプレインキュベーション法により行った。156，313，625，1250，2500 および 5000μg/プレート濃度を設定して行った濃度設定試験では，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菌の生育阻害は認められず，いずれの濃度においても陰性対照（溶媒対照）と比較して 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。したがって，本試験は，濃度設定試験と同じ濃度を用いて同様に行った。その結果，濃度設定試験と同様，全ての菌株において代謝活性化の有無にかかわらず，復帰変異コロニー数の増加は認められず，また，菌の生育阻害も認められなかった。

以上の成績から，本実験条件下では，m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの細菌に対する突然変異誘発性は陰性と判定した。

## 試験目的

この試験は，m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの細菌に対する突然変異誘発性の有無を明らかにするために実施した。

## 材料および方法[1),2)]

1．被験物質

名　　称：　m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウム

ＣＡＳ番号：　127-68-4

ロット番号：

純　　度：　98.8 %（平成８年１月29日分析）
〔不純物（平成８年10月21日分析）芒硝：0.63%；食塩：0.04%；水分：0.86%；3,3'－ジニトロジフェニルスルホン：0.04%〕

入手先(製造元)：

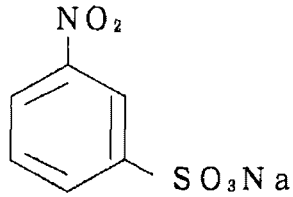
入 手 日：　平成８年９月12日

入 手 量：　25g

物 性 等：

化 学 名　m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウム
(Sodium m-nitrobenzenesulfonate)

構 造 式




分 子 式　$C_6H_4NO_5SNa$

分 子 量　225.15

性状(常温)　淡黄色の粉末

溶 解 性　水：20%（20℃），アセトン：難溶，DMSO：可溶

安 定 性：　安定〔実験終了後，残余被験物質を試験委託者において分析した結果，純度は 98.8 %（平成９年２月27日分析）で，実験期間中被験物質は安定であったことを確認した。〕

保管条件：　冷暗所（４℃），密栓

2．指標菌株

以下の５種類の菌株を用いた。

（塩基対置換型）

*Salmonella typhimurium* TA100, TA1535

*Escherichia coli* WP2*uvrA*

（フレームシフト型）

*Salmonella typhimurium* TA98, TA1537

指標菌株は,　　より入手（平成６年12月19日）したものを用いた。

3．指標菌株の検査

次に示す指標菌株の遺伝的特性およびその他の諸性質に関する項目について検査し，本来の特性を有することを確認した。

1）*S. typhimurium* におけるヒスチジンおよびビオチン要求性

*E. coli* におけるトリプトファン要求性

2）紫外線感受性（ *uvrA*, *uvrB* ）

3）*S. typhimurium* におけるクリスタルバイオレット感受性（ *rfa* ）

4）*S. typhimurium* TA100 および TA98 におけるアンピシリン耐性（ pKM101 ）

5）自然突然変異体数

6）陽性対照物質に対する反応性

4．指標菌株の保存と前培養

菌液 0.8 ml にジメチルスルホキシド（DMSO, 株式会社同仁化学研究所, ロット番号 B805086, >99%）を 0.07 ml の割合で加えて－80℃以下で保存した。この保存菌株をニュートリエントブロス（Bacto nutrient broth dehydrated, Difco laboratories, ロット番号 44077JK）液体培地に接種し，37℃で 12 時間振盪培養した。培養後の菌懸濁液については，分光光度計で吸光度（$OD_{660nm}$ ）を測定し，濁度と生菌数の換算式より 1 ml あたり $1\times10^{9}$ 以上の生菌数が得られていることを確認した。

生菌数（×$10^9$個/ml）

| 指標菌株 | TA100 | TA1535 | WP2*uvrA* | TA98 | TA1537 |
|---|---|---|---|---|---|
| 濃度設定試験 | 1.38 | 1.53 | 1.38 | 1.33 | 1.21 |
| 本試験 | 1.54 | 1.72 | 1.43 | 1.41 | 1.24 |

5．S9 mix

代謝活性化法に用いた S9 mix は，ラット肝臓のホモジネートの薬物代謝酵素分画（S9）にコファクターを加えて凍結された市販品をキッコーマン株式会社から購入し，使用した（ロット番号：FSM-356，1996年12月13日製造，1997年1月8日購入）。凍結 S9 mix は－80℃以下で保存し，使用時に冷水中で解凍して用いた。使用した S9 の製造法および S9 mix の1ml当たりの組成は，次のとおりである。

S9 製造法

A．使用動物
- a） 種・系統： Sprague-Dawley系ラット（日本エスエルシー株式会社）
- b） 性・週齢： 雄・7週齢
- c） 体　　重： 190～226g

B．誘導法
- a） 誘導物質： phenobarbital （PB），5,6-benzoflavone（BF）
- b） 投与経路： 腹腔内投与
- c） 投与法（投与開始日起算）：
  - 1日目－PB 30 mg/kg，　2，3，4日目－PB 60 mg/kg
  - 3日目－BF 80 mg/kg

C．調製法

最終投与の翌日に肝臓ホモジネートを遠心分離（9,000×g）し，その上清を採取

S9 mix 1ml当たりの組成

| | |
|---|---|
| $MgCl_2$ | 8 μmol |
| KCl | 33 μmol |
| G-6-P | 5 μmol |
| NADH | 4 μmol |
| NADPH | 4 μmol |
| ナトリウム－リン酸緩衝液（pH 7.4） | 100 μmol |
| S9 | 0.1 ml |

6．被験物質の供試液の調製

被験物質は水に 20%（20℃）溶解することから，溶媒には蒸留水（株式会社大塚製薬工場，ロット番号 K6G94）を用いた。被験物質の供試液の調製は，実験の直前に行った。溶媒を用いて最高濃度の供試液（原液）を調製し，ついで，この原液を溶媒で順次希釈して所定の濃度の被験物質供試液を調製した。

7．陰性対照および陽性対照

陰性対照（溶媒対照）は，被験物質の溶媒である蒸留水を用いた。陽性対照としては，以下の既知変異原性物質を用いた。

| 指標菌株 | 直接法<br>（μg/プレート） | 代謝活性化法<br>（μg/プレート） |
|---|---|---|
| TA100 | AF-2 (0.01) | 2-AA (1) |
| TA1535 | SA (0.5) | 2-AA (2) |
| WP2*uvrA* | AF-2 (0.04) | 2-AA (10) |
| TA98 | AF-2 (0.1) | 2-AA (1) |
| TA1537 | 9-AA (80) | 2-AA (2) |

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，98%，ロット番号 PTQ1296）

2-AA： 2-アミノアントラセン（和光純薬工業株式会社，>90%，ロット番号 KCM 2259）

SA ： アジ化ナトリウム（和光純薬工業株式会社，90%，ロット番号 KCG5232）

9-AA： 9-アミノアクリジン（Aldrich Chemical Company，98%，ロット番号 077 21MZ）

AF-2 および 2-AA は DMSO（株式会社同仁化学研究所，ロット番号 B805086，>99%）に，SA および 9-AA は蒸留水（株式会社大塚製薬工場，ロット番号 K3D77）に溶解した。

8．アミノ酸添加軟寒天培地の調製

0.6%寒天粉末（Difco laboratories，ロット番号 42101JG）および 0.5%塩化ナトリウムの組成の軟寒天を調製した。溶解した軟寒天に，*S. typhimurium* 用には 0.5 mM D-ビオチンおよび 0.5 mM L-ヒスチジン溶液，*E. coli* 用には 0.5 mM L-トリプトファン溶液を 1/10 容加え，アミノ酸添加軟寒天培地とした。

9．濃度設定試験（予備試験）

本試験における被験物質の適切な濃度を把握するために，156，313，625，1250，2500および5000μg/プレートの6濃度を用いて，本試験と同様の実験方法で試験を行った。

10．本試験

1）濃度設定

濃度設定試験の結果に基づき，最高濃度は5000μg/プレートとし，以下公比2で計6段階の濃度を設定した。

2）実験方法

(1) プレインキュベーション法（直接法）

滅菌小試験管に前培養した菌懸濁液 0.1 ml，被験物質の供試液 0.1 ml および100 mM ナトリウムーリン酸緩衝液（pH 7.4）0.5 ml を分注し，37℃で20分間振盪培養後，45℃に保温したアミノ酸添加軟寒天培地 2 ml を加え，最少グルコース寒天平板培地上に広げた。最少グルコース寒天平板培地（テスメディアAN培地，オリエンタル酵母工業株式会社，ロット番号 AN790JL，1996年10月16日製造，1996年12月10日購入）は，Vogel-Bonner E 培地（0.2 %クエン酸・一水塩，1 %リン酸二カリウム，0.192%リン酸一アンモニウム，0.066%水酸化ナトリウム，0.02%硫酸マグネシウム・七水塩）に 1.5%寒天粉末および2 %グルコースを加え，30 ml ずつ分注したものである。37℃で48時間培養後，復帰変異コロニーを計数し，同時に指標菌株の生育阻害の有無を実体顕微鏡を用いて観察した。陰性対照および陽性対照群においては，上記の被験物質の供試液 0.1 ml にかわり，溶媒（蒸留水）および陽性対照物質溶液 0.1 ml を用いて同様に実施した。試験は各濃度3枚のプレートで行った。

(2) プレインキュベーション法（代謝活性化法）

滅菌小試験管に前培養した菌懸濁液 0.1 ml，被験物質の供試液 0.1 ml および S9 mix 0.5ml を分注し，37℃で20分間振盪培養後，45℃に保温したアミノ酸添加軟寒天培地 2 ml を加え，最少グルコース寒天平板培地上に広げた。37℃で48時間培養後，復帰変異コロニーを計数し，同時に指標菌株の生育阻害の有無を実体顕微鏡を用いて観察した。陰性対照および陽性対照群においては，上記の被験物質の供試液 0.1 ml にかわり，溶媒（蒸留水）および陽性対照物質溶液 0.1 ml を用いて同様

に実施した。試験は各濃度3枚のプレートで行った。

11. 無菌試験

濃度設定試験および本試験において，用いた溶媒，S9 mix および最高濃度の被験物質の供試液について，それぞれ 0.1 ml に 0.6%軟寒天 2 ml を加え，最少グルコース寒天平板培地に重層後，37℃で48時間培養し，菌の生育の有無を調べた。最少グルコース寒天平板培地は，それぞれ3枚ずつ使用した。

12. 試験の有効性

以下の3基準をすべて満たす場合に，試験は適切な条件下で実施され，試験は有効と判定した。

1）試験に用いた菌液，溶媒，被験物質の供試液およびS9 mixに雑菌の混入がない。

2）各指標菌株の陰性対照における復帰変異コロニー数が，当研究所における背景データの範囲内の値を示す（自然復帰変異体数）。

3）各指標菌株の陽性対照における復帰変異コロニー数が，当研究所の背景データの範囲あるいはその近くの値を示す。

13. 結果の判定

結果の判定は，各濃度におけるプレートでの復帰変異コロニー数の平均値を基に，以下の3基準をすべて満たす場合を陽性とした。

1）被験物質処理群において陰性対照値の2倍以上の数の復帰変異コロニーが出現する。

2）被験物質濃度の増加とともに復帰変異コロニー数が増加する（濃度依存性）。

3）濃度設定試験および本試験の結果から，復帰変異コロニー数の増加に再現性が認められる。

## 結　果

1．濃度設定試験

結果は，表 1-1，1-2 および図 1-1，1-2，1-3 に示した。直接法ならびに代謝活性化法ともに，いずれの指標菌株においても陰性対照と比較して 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。また，いずれの菌株においても被験物質による生育阻害は認められなかった。なお，陰性対照では背景データ（添付資料）の範囲内の復帰変異コロニー数が認められ，陽性対照として用いた AF-2，SA，9-AA では S9 mix 非存在下で，2-AAでは S9 mix 存在下でそれぞれ背景データ（添付資料）の範囲内の陽性を示す復帰変異コロニー数の増加が認められた。また，試験に用いた菌液，溶媒，被験物質の供試液および S9 mix などには雑菌の混入は認められなかった。

したがって，本試験における被験物質の処理濃度は，最高濃度を試験法ガイドラインで規定されている上限量の 5000μg/プレートとし，以下公比 2 で 2500，1250，625，313 および 156μg/プレートとした。

2．本試験

結果は，表 2-1，2-2 および図 2-1，2-2，2-3 に示した。濃度設定試験と同様，直接法および代謝活性化法のいずれの場合も，供試したすべての菌株における復帰変異コロニー数は，陰性対照値の 2 倍を越えるものではなかった。また，いずれの菌株においても被験物質による生育阻害は認められなかった。なお，陰性対照では背景データ（添付資料）の範囲内の復帰変異コロニー数が認められ，陽性対照においてはそれぞれ背景データ（添付資料）の範囲内の陽性を示す復帰変異コロニー数の増加が認められた。また，試験に用いた菌液，溶媒，被験物質の供試液および S9 mix などには雑菌の混入は認められなかった。

## 結論および参考事項

m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの細菌を用いた復帰突然変異試験を実施した結果，濃度設定試験および本試験のいずれにおいても代謝活性化の有無にかかわらず，す

べての指標菌株で明らかな復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

試験の有効性については，濃度設定試験および本試験ともに有効であることが確認された。

したがって，本実験条件下では，m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの突然変異誘発性は陰性と判定した。

なお，類縁化合物である2－ニトロベンゼンスルホン酸，3－ニトロベンゼンスルホン酸および4－ニトロベンゼンスルホン酸の変異原性については，いずれも *S. typhimurium* TA98，TA100 を用いた復帰突然変異試験で陰性と報告されている[3]。

## 参考文献


1) Maron, D.M. and Ames, B.N. (1983). Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test, *Mutation Research*, **113**, 173-215.

2) Green, M.H. (1984). " Handbook of Mutagenicity Test Procedures ", 1, Vol.3, eds. by Kilbey, B.J., Legator, M., Nichols, W. and Ramel, C., Elsevier Science Publisher, Amsterdam, New York, Oxford, pp.161-187.

3) 河合昭宏，後藤純雄，松本由美子，松下秀鶴．(1987)．脂肪酸および芳香族ニトロ化合物の変異原性－工業材料およびその関連物質，産業医学，**29**，34-54.

表 1-1　S9 mix 非存在下におけるm－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔濃度設定試験－直接法〕

| 濃　度〔μg/プレート〕 | 復帰変異コロニー数／プレート | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | |
| | TA100 | TA1535 | WP2*uvrA* | TA98 | TA1537 |
| 陰性対照〔蒸留水〕 | 139<br>128<br>151<br>(139±12) | 9<br>14<br>13<br>(12±3) | 27<br>23<br>14<br>(21±7) | 28<br>28<br>20<br>(25±5) | 5<br>7<br>7<br>( 6±1) |
| 156 | 150<br>114<br>138<br>(134±18) | 11<br>13<br>10<br>(11±2) | 14<br>22<br>21<br>(19±4) | 29<br>20<br>17<br>(22±6) | 9<br>4<br>6<br>( 6±3) |
| 313 | 133<br>140<br>156<br>(143±12) | 15<br>23<br>10<br>(16±7) | 19<br>10<br>15<br>(15±5) | 31<br>17<br>15<br>(21±9) | 5<br>5<br>7<br>( 6±1) |
| 625 | 127<br>147<br>158<br>(144±16) | 12<br>16<br>8<br>(12±4) | 16<br>16<br>25<br>(19±5) | 19<br>16<br>7<br>(14±6) | 5<br>5<br>5<br>( 5±0) |
| 1250 | 143<br>131<br>134<br>(136±6) | 12<br>8<br>13<br>(11±3) | 17<br>12<br>22<br>(17±5) | 19<br>11<br>14<br>(15±4) | 6<br>5<br>9<br>( 7±2) |
| 2500 | 123<br>128<br>139<br>(130±8) | 13<br>9<br>13<br>(12±2) | 13<br>16<br>22<br>(17±5) | 21<br>10<br>7<br>(13±7) | 4<br>8<br>9<br>( 7±3) |
| 5000 | 115<br>141<br>131<br>(129±13) | 12<br>12<br>14<br>(13±1) | 21<br>15<br>13<br>(16±4) | 22<br>19<br>13<br>(18±5) | 6<br>7<br>8<br>( 7±1) |
| 陽性対照 | AF-2 | SA | AF-2 | AF-2 | 9-AA |
| μg/プレート | 0.01 | 0.5 | 0.04 | 0.1 | 80 |
| 復帰変異コロニー数／プレート | 735<br>722<br>721<br>(726±8) | 357<br>371<br>339<br>(356±16) | 768<br>814<br>737<br>(773±39) | 356<br>383<br>361<br>(367±14) | 534<br>673<br>704<br>(637±91) |

(　): 平均値±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
SA　: アジ化ナトリウム
9-AA: 9-アミノアクリジン

表 1-2　S9 mix 存在下におけるm－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔濃度設定試験－代謝活性化法〕

| 濃　度〔μg/プレート〕 | 復帰変異コロニー数／プレート | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | |
| | TA100 | TA1535 | WP2*uvrA* | TA98 | TA1537 |
| 陰性対照〔蒸留水〕 | 136<br>125<br>142<br>(134±9) | 11<br>7<br>10<br>( 9±2) | 27<br>27<br>26<br>(27±1) | 42<br>27<br>41<br>(37±8) | 14<br>12<br>12<br>(13±1) |
| 156 | 141<br>134<br>136<br>(137±4) | 14<br>14<br>4<br>(11±6) | 25<br>18<br>14<br>(19±6) | 39<br>26<br>43<br>(36±9) | 18<br>17<br>16<br>(17±1) |
| 313 | 133<br>110<br>140<br>(128±16) | 8<br>6<br>14<br>( 9±4) | 17<br>16<br>23<br>(19±4) | 37<br>40<br>40<br>(39±2) | 16<br>8<br>10<br>(11±4) |
| 625 | 141<br>141<br>113<br>(132±16) | 10<br>9<br>15<br>(11±3) | 27<br>18<br>14<br>(20±7) | 38<br>46<br>32<br>(39±7) | 17<br>16<br>15<br>(16±1) |
| 1250 | 144<br>130<br>118<br>(131±13) | 10<br>12<br>18<br>(13±4) | 24<br>26<br>21<br>(24±3) | 40<br>35<br>28<br>(34±6) | 17<br>8<br>13<br>(13±5) |
| 2500 | 125<br>114<br>114<br>(118±6) | 14<br>13<br>15<br>(14±1) | 17<br>15<br>25<br>(19±5) | 44<br>28<br>38<br>(37±8) | 11<br>10<br>5<br>( 9±3) |
| 5000 | 123<br>114<br>126<br>(121±6) | 18<br>11<br>8<br>(12±5) | 26<br>28<br>21<br>(25±4) | 33<br>44<br>26<br>(34±9) | 11<br>17<br>9<br>(12±4) |
| 陽性対照 | 2-AA | 2-AA | 2-AA | 2-AA | 2-AA |
| μg/プレート | 1 | 2 | 10 | 1 | 2 |
| 復帰変異コロニー数／プレート | 316<br>358<br>338<br>(337±21) | 148<br>160<br>157<br>(155±6) | 858<br>733<br>930<br>(840±100) | 334<br>325<br>333<br>(331±5) | 69<br>73<br>103<br>(82±19) |

(　): 平均値±標準偏差
2-AA: 2-アミノアントラセン

表 2-1　S9 mix 非存在下におけるm－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験－直接法〕

| 濃　度〔μg/プレート〕 | 復帰変異コロニー数／プレート | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | |
| | TA100 | TA1535 | WP2*uvrA* | TA98 | TA1537 |
| 陰性対照〔蒸留水〕 | 137<br>121<br>140<br>(133±10) | 9<br>9<br>8<br>( 9±1) | 16<br>14<br>14<br>(15±1) | 27<br>22<br>14<br>(21±7) | 9<br>8<br>9<br>( 9±1) |
| 156 | 154<br>131<br>162<br>(149±16) | 8<br>13<br>13<br>(11±3) | 14<br>18<br>10<br>(14±4) | 16<br>20<br>17<br>(18±2) | 9<br>15<br>11<br>(12±3) |
| 313 | 123<br>148<br>132<br>(134±13) | 8<br>6<br>12<br>( 9±3) | 13<br>17<br>13<br>(14±2) | 19<br>23<br>26<br>(23±4) | 10<br>8<br>9<br>( 9±1) |
| 625 | 154<br>147<br>150<br>(150±4) | 9<br>8<br>12<br>(10±2) | 15<br>18<br>13<br>(15±3) | 14<br>22<br>15<br>(17±4) | 12<br>7<br>10<br>(10±3) |
| 1250 | 159<br>147<br>131<br>(146±14) | 9<br>11<br>12<br>(11±2) | 13<br>13<br>9<br>(12±2) | 19<br>23<br>25<br>(22±3) | 11<br>5<br>8<br>( 8±3) |
| 2500 | 156<br>139<br>132<br>(142±12) | 16<br>12<br>7<br>(12±5) | 14<br>10<br>10<br>(11±2) | 21<br>20<br>16<br>(19±3) | 8<br>11<br>10<br>(10±2) |
| 5000 | 143<br>158<br>158<br>(153±9) | 6<br>9<br>11<br>( 9±3) | 16<br>15<br>11<br>(14±3) | 16<br>22<br>21<br>(20±3) | 4<br>7<br>11<br>( 7±4) |
| 陽性対照 | AF-2 | SA | AF-2 | AF-2 | 9-A |
| μg/プレート | 0.01 | 0.5 | 0.04 | 0.1 | 80 |
| 復帰変異コロニー数／プレート | 976<br>934<br>1045<br>(985±56) | 428<br>452<br>410<br>(430±21) | 905<br>866<br>926<br>(899±30) | 372<br>358<br>379<br>(370±11) | 549<br>758<br>692<br>(666±107) |

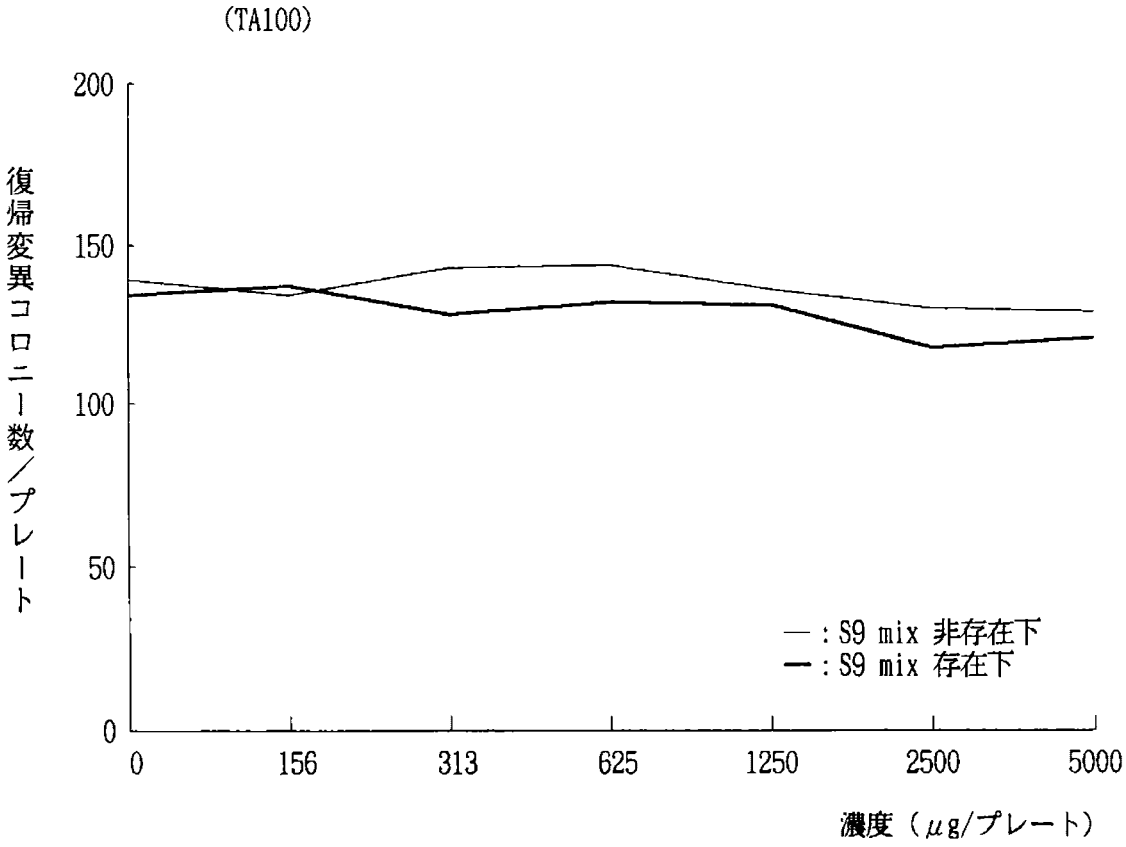
( ): 平均値±標準偏差
AF-2: 2-( 2-フリル )-3-( 5-ニトロ-2-フリル )アクリルアミド
SA : アジ化ナトリウム
9-AA: 9-アミノアクリジン

表 2-2　S9 mix 存在下におけるm－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験－代謝活性化法〕

| 濃　度〔μg/プレート〕 | 復帰変異コロニー数／プレート | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 塩基対置換型 | | | フレームシフト型 | |
| | TA100 | TA1535 | WP2*uvrA* | TA98 | TA1537 |
| 陰性対照〔蒸留水〕 | 131<br>131<br>134<br>(132±2) | 17<br>19<br>14<br>(17±3) | 23<br>15<br>15<br>(18±5) | 32<br>34<br>38<br>(35±3) | 14<br>17<br>27<br>(19±7) |
| 156 | 161<br>163<br>141<br>(155±12) | 16<br>20<br>15<br>(17±3) | 20<br>16<br>14<br>(17±3) | 40<br>37<br>38<br>(38±2) | 25<br>22<br>23<br>(23±2) |
| 313 | 156<br>139<br>149<br>(148±9) | 18<br>14<br>14<br>(15±2) | 16<br>14<br>13<br>(14±2) | 44<br>40<br>28<br>(37±8) | 18<br>19<br>16<br>(18±2) |
| 625 | 165<br>155<br>160<br>(160±5) | 10<br>15<br>19<br>(15±5) | 13<br>10<br>14<br>(12±2) | 30<br>42<br>29<br>(34±7) | 18<br>15<br>13<br>(15±3) |
| 1250 | 157<br>155<br>173<br>(162±10) | 10<br>15<br>23<br>(16±7) | 18<br>20<br>12<br>(17±4) | 28<br>31<br>38<br>(32±5) | 16<br>15<br>17<br>(16±1) |
| 2500 | 139<br>179<br>155<br>(158±20) | 25<br>16<br>21<br>(21±5) | 22<br>9<br>12<br>(14±7) | 43<br>37<br>43<br>(41±3) | 14<br>24<br>18<br>(19±5) |
| 5000 | 168<br>165<br>185<br>(173±11) | 16<br>16<br>12<br>(15±2) | 19<br>11<br>16<br>(15±4) | 43<br>31<br>37<br>(37±6) | 17<br>9<br>20<br>(15±6) |
| 陽性対照 | 2-A | 2-AA | 2-AA | 2-AA | 2-AA |
| μg/プレート | 1 | 2 | 10 | 1 | 2 |
| 復帰変異コロニー数／プレート | 423<br>451<br>427<br>(434±15) | 236<br>251<br>267<br>(251±16) | 899<br>908<br>969<br>(925±38) | 205<br>262<br>283<br>(250±40) | 95<br>94<br>98<br>(96±2) |

(　): 平均値±標準偏差
2-AA: 2-アミノアントラセン

図 1-1　m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－濃度設定試験



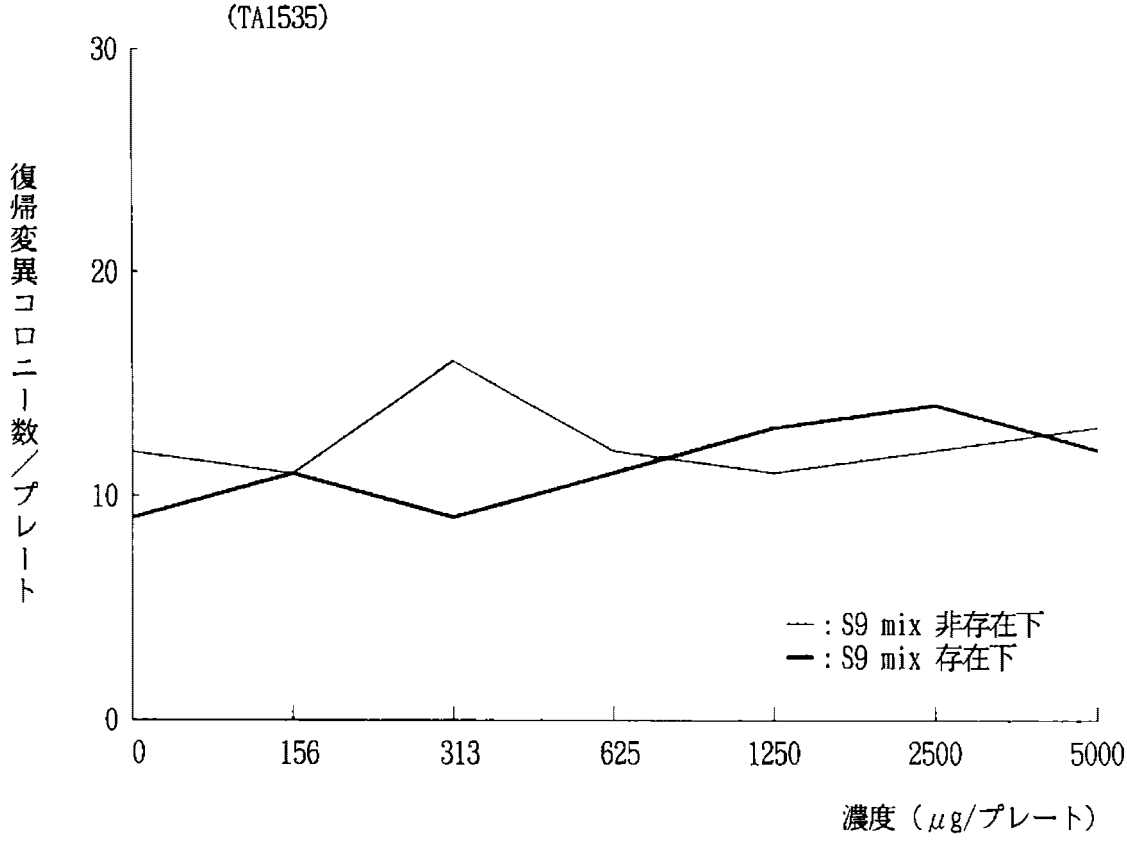
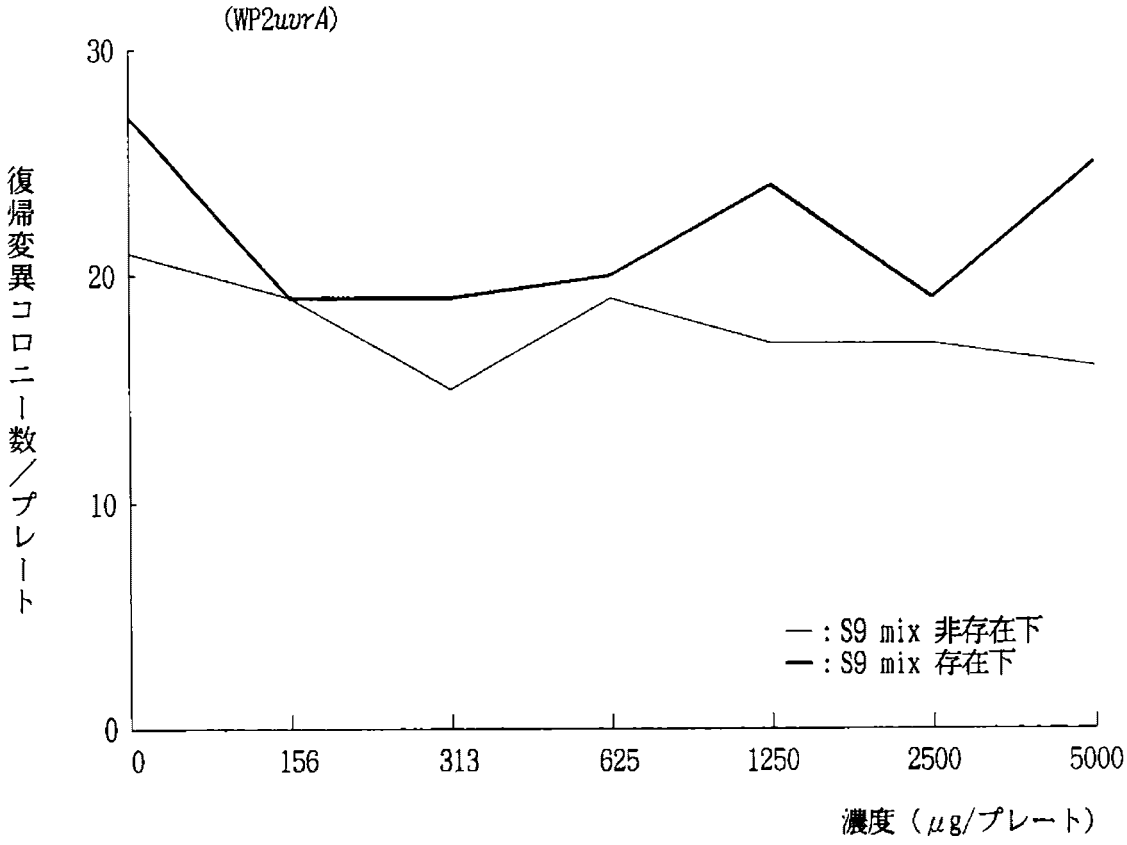



図 1-2　m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－濃度設定試験



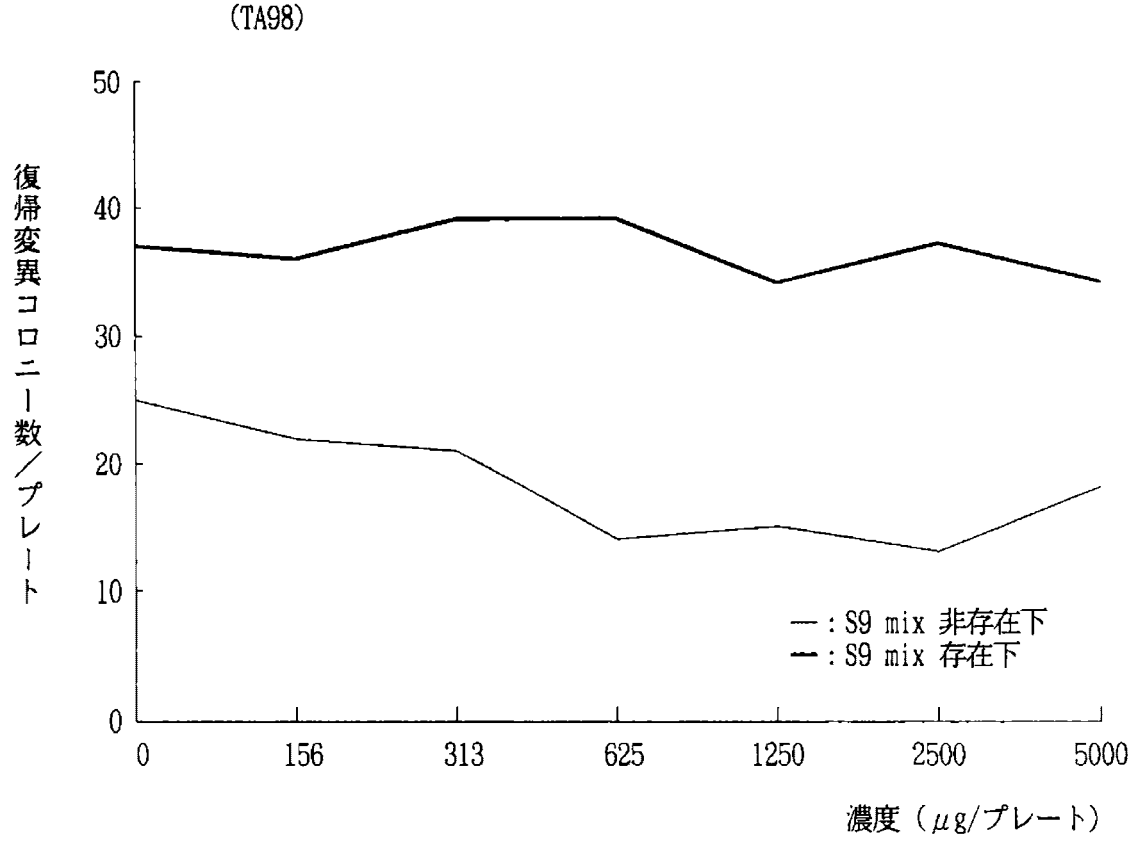



図 1-3　m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然試験結果－濃度設定試験

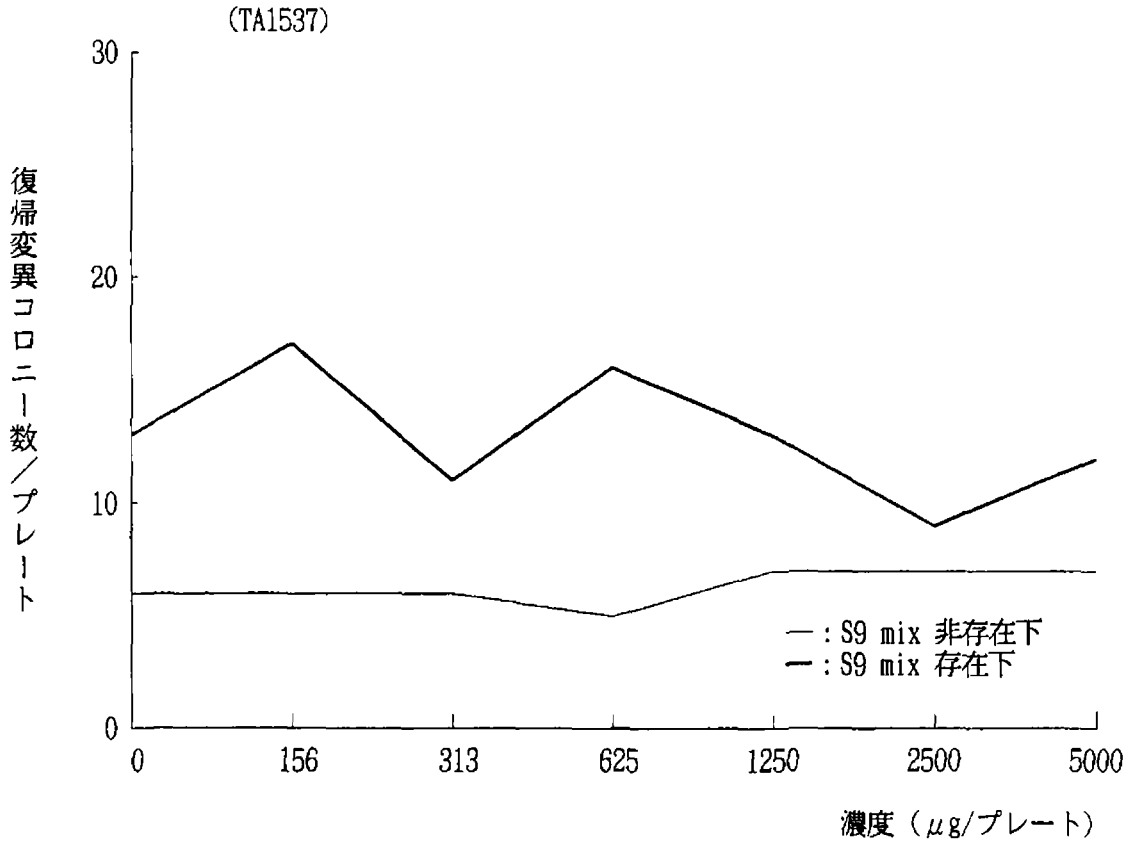
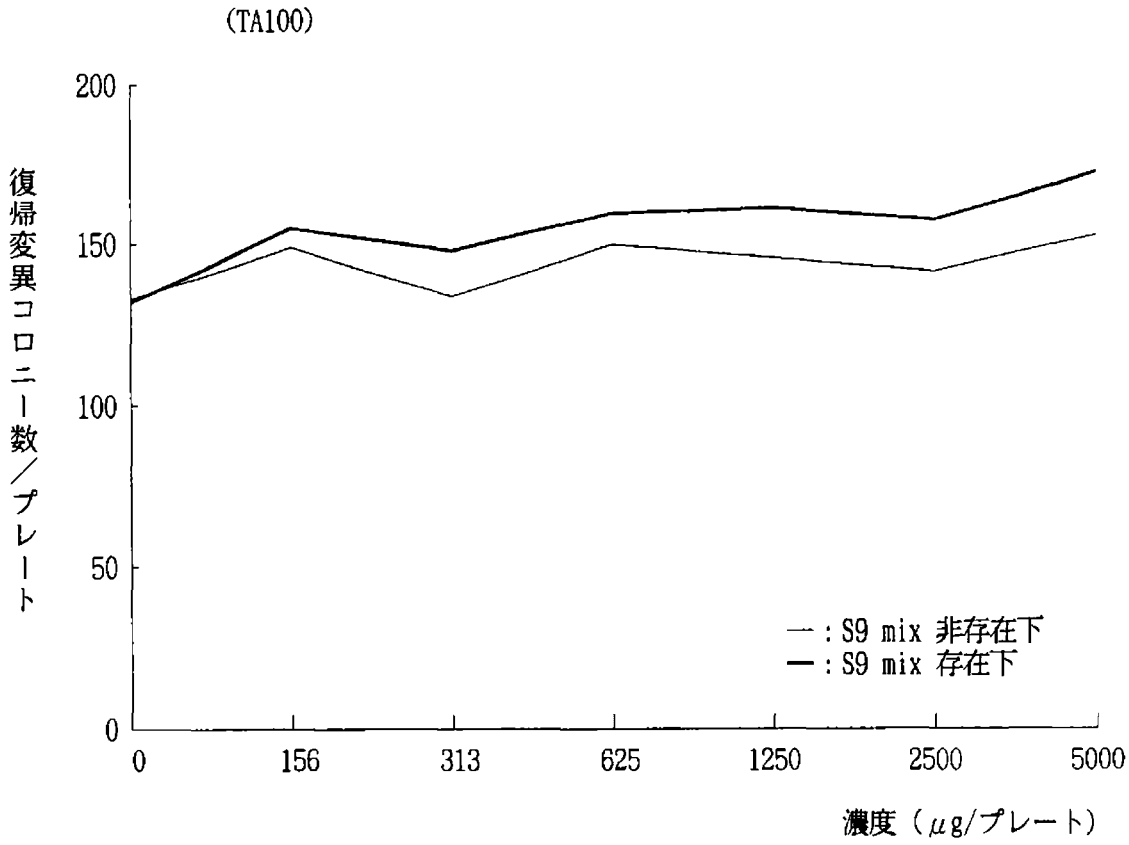


図 2-1　m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験



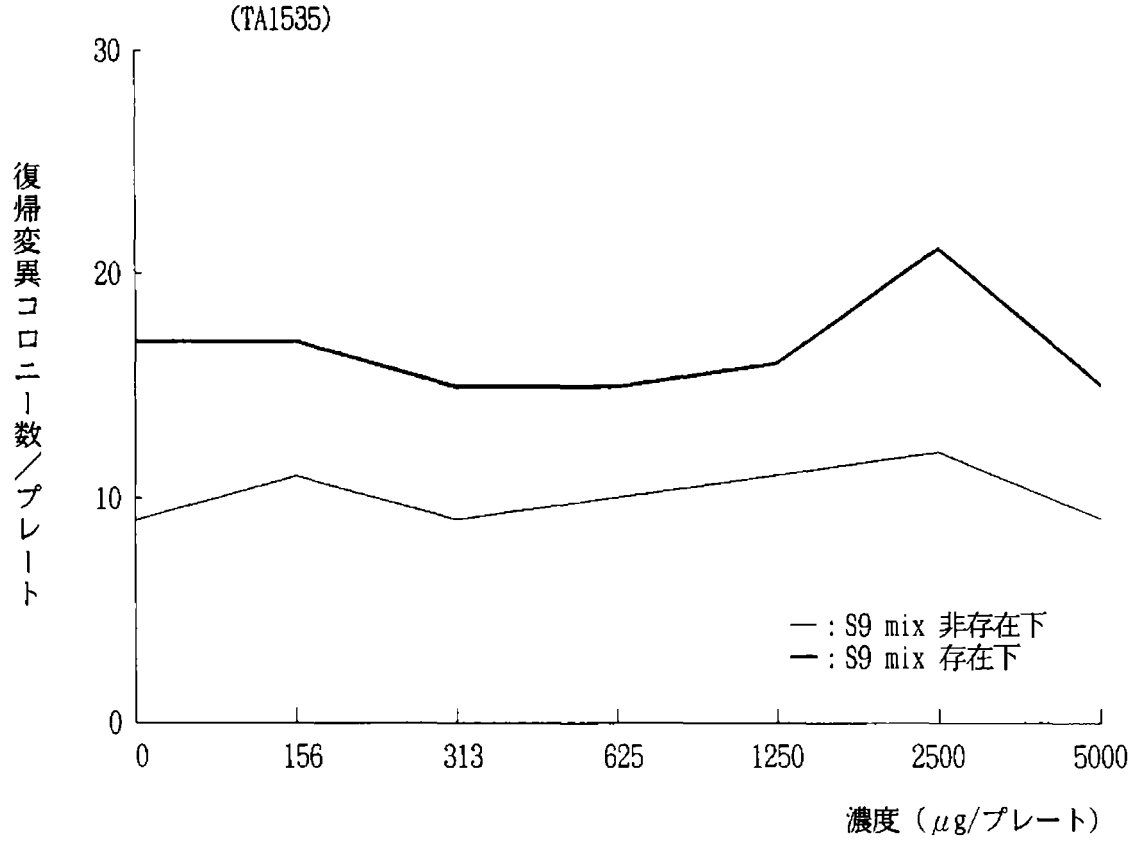
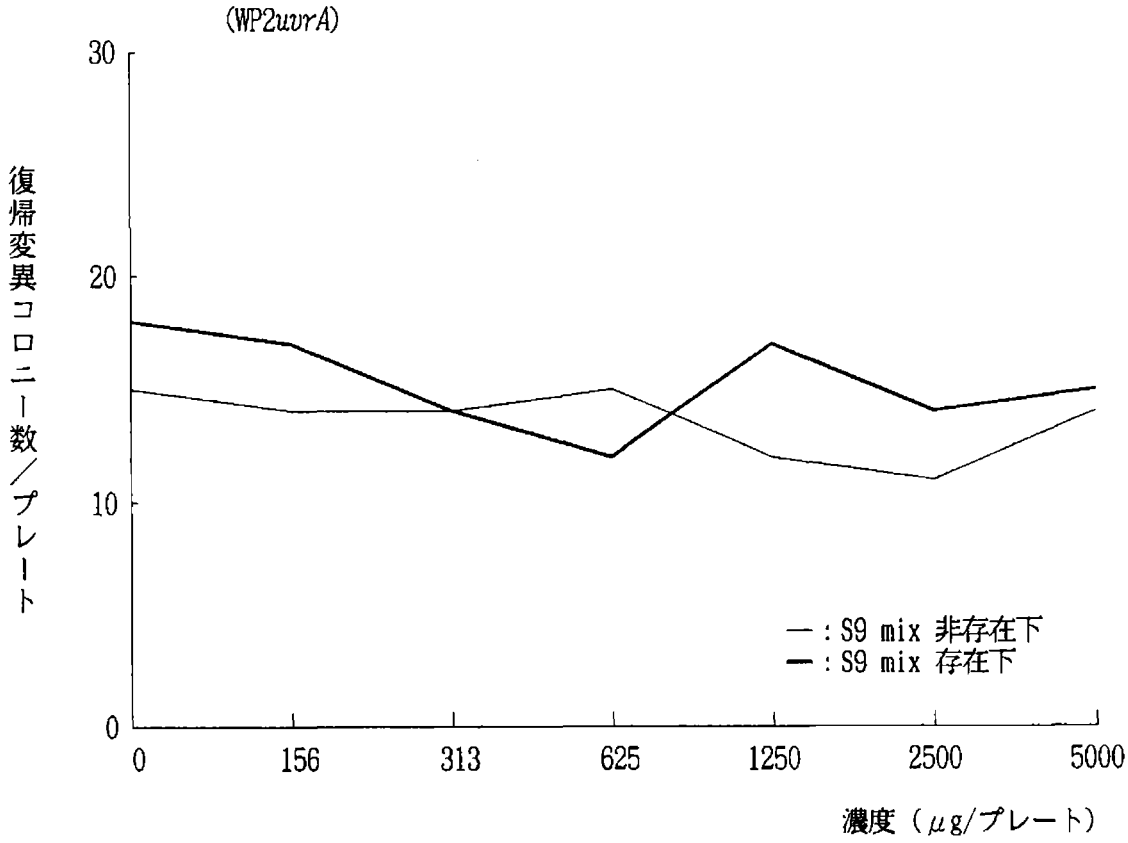



図 2-2　m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験



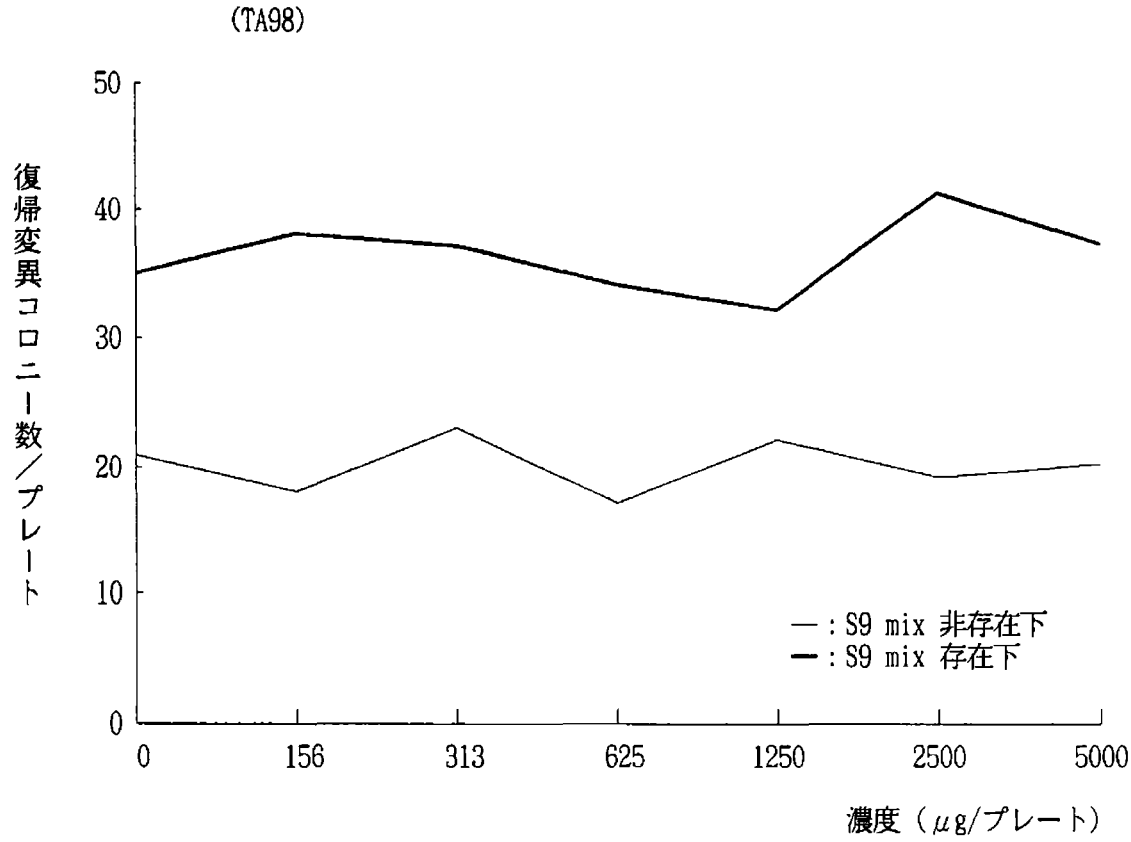
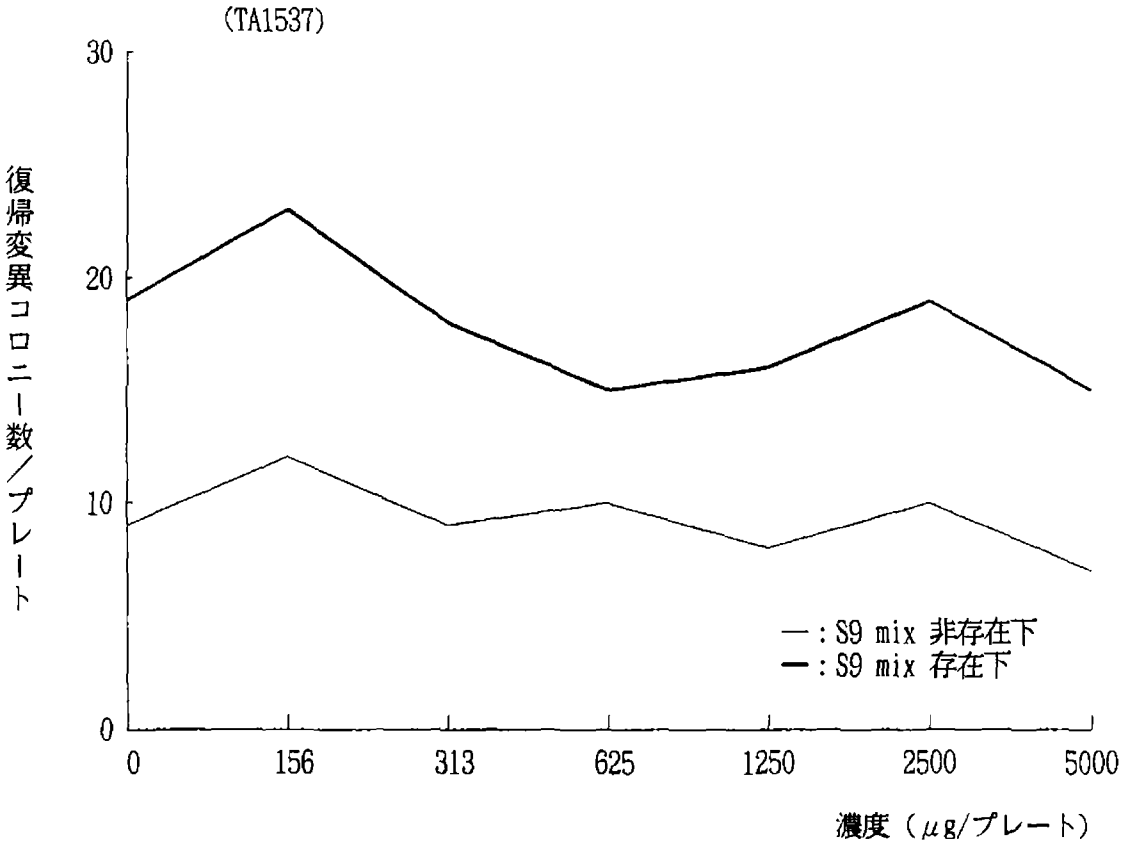




図 2-3　m－ニトロベンゼンスルホン酸ナトリウムの復帰突然試験結果－本試験