厚生省生活衛生局　殿

最 終 報 告 書

ピグメントグリーン７の細菌を用いる復帰突然変異試験

（試験番号：8L667）

2000年 7月 6日

株式会社三菱化学安全科学研究所

目　次

要　約 ---------- 7

材料および方法 ---------- 8

1. 試験物質 ---------- 8

2. テスト菌株 ---------- 8

3. 培　地 ---------- 9

4. S9 mix ---------- 10

5. 試験方法 ---------- 10

結　果 ---------- 13

考察および結論 ---------- 13

参考文献 ---------- 14

表 ---------- 15

図 ---------- 18

要　約

ピグメントグリーン7について，*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537および*Escherichia coli* WP2*uvrA*の5菌株を指標とする復帰変異試験を実施した．

予備試験を5000, 1250, 313, 78.1, 19.5, 4.88, 1.22 μg/ﾌﾟﾚｰﾄの7用量で実施した結果，S9 mixの有無によらず，いずれの菌株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．また，S9 mix非共存下ではTA100, TA1535, TA98, TA1537の313 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ以上で，共存下ではTA100, TA1535, TA98, TA1537の5000 μg/ﾌﾟﾚｰﾄで菌の生育阻害が認められた．この結果をもとに本試験では，S9 mix非共存下のTA100, TA1535, TA98, TA1537は625～9.77 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ(公比2)の7用量，WP2*uvrA*は5000～313 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ(公比2)の5用量を，共存下のTA100, TA1535, TA98, TA1537は5000～156 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ(公比2)の6用量，WP2*uvrA*は5000～313 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ(公比2)の5用量をそれぞれ設定した．

2回の本試験の結果，S9 mixの有無によらず，いずれの菌株においても陰性(溶媒)対照値の2倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．

以上の結果から，ピグメントグリーン7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)と結論した．

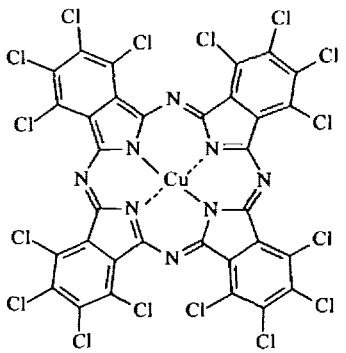
材料および方法

1. 試験物質

1.1 被験物質

から提供されたピグメントグリーン7(CAS番号1328-53-6, ロット番号 純度99.1 %)は，使用時まで室温に保存した．被験物質は下記の構造式および分子量を有する水，ジメチルスルホキシドおよびアセトンに不溶の緑色粉末である．

構造式：



分子量：1127.15

不純物：水分0.1 %

1.2 対照物質

陰性(溶媒)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．

対照物質名	略称	入手先	ﾛｯﾄ番号	純度(%)
陰性対照				
ｼﾞﾒﾁﾙｽﾙﾎｷｼﾄﾞ	DMSO	関東化学㈱	912S1784	99.7
陽性対照				
2-(2-ﾌﾘﾙ)-3-(5-ﾆﾄﾛ-2-ﾌﾘﾙ)ｱｸﾘﾙｱﾐﾄﾞ	AF-2	和光純薬工業㈱	PTQ1296	98.8
ｱｼﾞ化ﾅﾄﾘｳﾑ	NaN_3	和光純薬工業㈱	KWE6685	96.5
N-ｴﾁﾙ-*N'*-ﾆﾄﾛ-*N*-ﾆﾄﾛｿｸﾞｱﾆｼﾞﾝ	ENNG	Sigma Chemical Company	56F-3651	99.0
9-ｱﾐﾉｱｸﾘｼﾞﾝ塩酸塩	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㈱	TWH2355	98.0

2. テスト菌株 [1) 2)]

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* TA98, TA100, TA1535, TA1537および東京大学医科学研究所 より1985年10月14日に入手した *Escherichia coli* WP2*uvrA* の5菌株を用いた．

これら菌株の遺伝的特性は以下のとおりである.

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	
TA98	*hisD*	*uvrB*	*rfa*	pKM101	フレームシフト
TA100	*hisG*	*uvrB*	*rfa*	pKM101	塩基対置換
TA1535	*hisG*	*uvrB*	*rfa*	——	塩基対置換
TA1537	*hisC*	*uvrB*	*rfa*	——	フレームシフト
WP2*uvrA*	*trpE*	*uvrA*	+	——	塩基対置換

2.2 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.

2.3 保存方法

液体完全培地中に 37 ℃で 8 時間振盪培養した各菌懸濁液 4 ml に対し，0.35 ml の割合で DMSO(関東化学㈱，ﾛｯﾄ番号 912S1784)を加えた．これを 200 μl ずつ小分けしてドライアイス・アセトン中で急速凍結し，超低温槽で -80 ℃以下に凍結保存したものを使用した.

2.4 菌懸濁液

凍結保存した菌懸濁液を解凍後，20 μl を液体完全培地 10 ml に接種し，37 ℃で 8 時間振盪培養した．培養終了後の菌懸濁液は，濁度計を用いて菌濃度を測定し，各菌株共に生菌数が 1×10^9/ml 以上であることを確認した.

3. 培　地

3.1 液体完全培地

精製水 1 *l* に対し，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)25 g の割合で溶解し，オートクレーブ滅菌(121 ℃，15 分間，以下同様)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 AN100BO)を購入し，使用した.

3.3 トップアガー

精製水 100 ml に対して，粉末寒天(Bacto-Agar，Difco 社，ﾛｯﾄ番号 80050AJB)0.6 g,

塩化ナトリウム 0.5 g の割合で加え，オートクレーブ滅菌し完全に溶解した．その後，あらかじめ調製しておいた 0.5 mM D- ビオチン，0.5 mM L- ヒスチジン混合水溶液（サルモネラ用）または 0.5 mM L- トリプトファン水溶液（大腸菌用）をそれぞれ 1/10 量添加した．使用時まで約 45 ℃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，2 日目以降 60 mg/kg を 3 回腹腔内投与）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 系雄ラット肝由来 S9（キッコーマン㈱，ﾛｯﾄ番号 RAA-397：1999 年 2 月 5 日製造）を購入し，使用した．使用時まで -80 ℃以下で保存した．

4.2 S9 mix

S9 mix 1 ml あたり以下の組成で調製し，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塩	8 μmol
塩化カリウム	33 μmol
D - グルコース 6 - リン酸	5 μmol
β - NADPH	4 μmol
β - NADH	4 μmol
ナトリウム - リン酸緩衝液（pH 7.4）	100 μmol
滅菌精製水	残量

5. 試験方法 [3)]

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，50 mg/ml の濃度で水および DMSO に不溶であったが，DMSO に均一に懸濁したため，溶媒には DMSO を用いた．被験物質を所定濃度で DMSO に懸濁し，これを同じ溶媒を用いて希釈して各用量の被験物質懸濁液を調製した．

陽性対照物質の NaN_3 は注射用水（㈱大塚製薬工場，ﾛｯﾄ番号 K8G77）に，その他は DMSO（関東化学㈱，ﾛｯﾄ番号 912S1784）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, 1.22 μg/ﾌﾟﾚｰﾄの 7 用量で実施した結果，S9 mix の有無によらず，いずれの菌株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．また，S9 mix 非共存下では TA100, TA1535, TA98, TA1537 の 313 μg/

プレート以上で，共存下ではTA100, TA1535, TA98, TA1537の5000 μg/プレートで菌の生育阻害が認められた．この結果をもとに本試験では，S9 mix非共存下のTA100, TA1535, TA98, TA1537は625, 313, 156, 78.1, 39.1, 19.5, 9.77 μg/プレートの7用量，WP2*uvrA*は5000, 2500, 1250, 625, 313 μg/プレートの5用量を，共存下のTA100, TA1535, TA98, TA1537は5000, 2500, 1250, 625, 313, 156 μg/プレートの6用量，WP2*uvrA*は5000, 2500, 1250, 625, 313 μg/プレートの5用量をそれぞれ設定した．

5.3 復帰変異試験

試験はプレインキュベーション法で実施した．

滅菌した試験管に被験物質懸濁液を0.1 ml，0.1 Mナトリウムーリン酸緩衝液(pH 7.4)を0.5 mlおよび菌懸濁液を0.1 ml加え，37 ℃で20分間振盪培養した．S9 mixを共存させる場合には，0.1 Mナトリウムーリン酸緩衝液の代わりにS9 mixを0.5 ml添加した．プレインキュベーション後，トップアガー2 mlを上記の混合液に加え混和し，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 ℃で48時間培養した．

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有無を調べた後，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，再現性を確認するため2回実施した．

陰性(溶媒)対照物質および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 非共存下 (μg/プレート)		S9 mix 共存下 (μg/プレート)	
TA98	AF-2	0.1	2-AA	0.5
TA100	AF-2	0.01	2-AA	1
TA1535	NaN_3	0.5	2-AA	2
TA1537	9-AA	80	2-AA	2
WP2*uvrA*	ENNG	2	2-AA	10

5.4 無菌試験

最高用量の被験物質懸濁液またはS9 mixをトップアガーと混和し，最少グルコース寒天平板培地上に重層し，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 の有無によらず，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．試験結果の判定には統計学的手法は用いなかった．

結　果

予備試験の結果を表 1 に，本試験の結果を表 2, 3 および図 1 ~ 10 に示す.

予備試験を 5000, 1250, 313, 78.1, 19.5, 4.88, 1.22 μg/ﾌﾟﾚｰﾄの 7 用量で実施した結果，S9 mix の有無によらず，いずれの菌株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．また，S9 mix 非共存下では TA100, TA1535, TA98, TA1537 の 313 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ以上で，共存下では TA100, TA1535, TA98, TA1537 の 5000 μg/ﾌﾟﾚｰﾄで菌の生育阻害が認められた．この結果をもとに本試験では，S9 mix 非共存下の TA100, TA1535, TA98, TA1537 は 625 ~ 9.77 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ(公比 2) の 7 用量，WP2*uvrA* は 5000 ~ 313 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ(公比 2) の 5 用量を，共存下の TA100, TA1535, TA98, TA1537 は 5000 ~ 156 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ(公比 2) の 6 用量，WP2*uvrA* は 5000 ~ 313 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ(公比 2) の 5 用量をそれぞれ設定した.

2 回の本試験の結果，S9 mix の有無によらず，いずれの菌株においても陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．また，S9 mix 非共存下では TA100, TA1535 の 313 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ以上，TA98, TA1537 の 625 μg/ﾌﾟﾚｰﾄで，共存下では TA100, TA1535, TA98, TA1537 の 5000 μg/ﾌﾟﾚｰﾄで菌の生育阻害が認められた.

S9 mix 非共存下の 39.1 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ以上および共存下の 78.1 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ以上で沈殿物が認められた.

考 察 お よ び 結 論

S9 mix 非共存下および共存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は，各菌株の陰性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．また，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，試験の成立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.

以上の結果から，ピグメントグリーン 7 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)と結論した.

なお，同物質の細菌を用いる復帰突然変異試験に関する情報を添付資料にまとめた.

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 ⁺ 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　：　ピグメントグリーン７　（No.8L667）

試験実施期間		1999年　3月　16日　より　1999年　3月　19日				
代謝活性化系の有無	被験物質用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）	復帰変異数（ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ）				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
S 9 mix（－）	陰性対照	90	10	21	26	11
	1.22	85	10	18	19	12
	4.88	80	10	29	30	10
	19.5	84	8	27	20	11
	78.1†	91	5	18	17	18
	313†	91*	7*	26	18*	9*
	1250†	81*	9*	23	17*	3*
	5000†	68*	17*	18	14*	14*
S 9 mix（＋）	陰性対照	91	12	40	27	15
	1.22	83	8	34	25	16
	4.88	84	11	24	28	12
	19.5	83	12	23	34	18
	78.1†	91	8	23	29	23
	313†	93	8	33	22	22
	1250†	97	9	22	30	19
	5000†	88*	5*	19	21*	16*
陽性対照　S9 mix を必要としないもの	名称	AF-2	NaN_3	ENNG	AF-2	9-AA
	用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）	0.01	0.5	2	0.1	80
	ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	472	389	720	516	387
陽性対照　S9 mix を必要とするもの	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）	1	2	10	0.5	2
	ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	933	232	1566	428	170

（備考）＊：菌の生育阻害が認められた．
†：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)ｱｸﾘﾙｱﾐﾄﾞ，　NaN_3：ｱｼﾞ化ﾅﾄﾘｳﾑ
ENNG：*N*-ｴﾁﾙ-*N*'-ﾆﾄﾛ-*N*-ﾆﾄﾛｿｸﾞｱﾆｼﾞﾝ，　9-AA：9-ｱﾐﾉｱｸﾘｼﾞﾝ塩酸塩，　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 ： ピグメントグリーン7　　（No.8L667）

試験実施期間		1999年 3月 29日 より 1999年 4月 1日				
代謝活性化系の有無	被験物質用量 (μg/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	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
S9 mix (−)	陰性対照	101 95 (97) 94 (±4)	8 9 (9) 9 (±1)	30 20 (23) 19 (±6)	14 17 (15) 15 (±2)	10 10 (9) 8 (±1)
	9.77	105 104 (101) 93 (±7)	15 11 (11) 7 (±4)		28 15 (20) 18 (±7)	5 10 (8) 10 (±3)
	19.5	81 91 (93) 108 (±14)	9 11 (10) 9 (±1)		24 21 (22) 20 (±2)	12 11 (11) 9 (±2)
	39.1†	92 93 (93) 95 (±2)	6 9 (7) 5 (±2)		24 14 (19) 19 (±5)	7 10 (10) 13 (±3)
	78.1†	85 85 (86) 88 (±2)	6 6 (7) 10 (±2)		22 20 (19) 14 (±4)	5 10 (7) 5 (±3)
	156†	111 87 (105) 117 (±16)	4 9 (7) 9 (±3)		18 20 (18) 17 (±2)	8 6 (7) 7 (±1)
	313†	96* 94* (98) 103* (±5)	5* 8* (8) 11* (±3)	21 31 (25) 23 (±5)	16 17 (15) 11 (±3)	7 7 (6) 5 (±1)
	625†	108* 102* (101) 92* (±8)	6* 9* (9) 12* (±3)	23 23 (24) 27 (±2)	17* 12* (18) 25* (±7)	9* 8* (10) 12* (±2)
	1250†			25 28 (25) 23 (±3)		
	2500†			20 28 (24) 24 (±4)		
	5000†			26 27 (25) 22 (±3)		
S9 mix (+)	陰性対照	93 97 (97) 101 (±4)	16 9 (11) 8 (±4)	38 23 (31) 31 (±8)	26 29 (28) 30 (±2)	23 20 (21) 20 (±2)
	156†	94 107 (97) 89 (±9)	7 7 (7) 8 (±1)		30 29 (32) 36 (±4)	18 19 (18) 16 (±2)
	313†	102 100 (100) 97 (±3)	8 9 (9) 10 (±1)	20 23 (24) 30 (±5)	30 22 (28) 31 (±5)	15 10 (13) 14 (±3)
	625†	77 115 (95) 92 (±19)	9 8 (8) 8 (±1)	30 25 (27) 27 (±3)	31 28 (32) 38 (±5)	20 17 (20) 22 (±3)
	1250†	91 83 (88) 90 (±4)	8 10 (9) 10 (±1)	31 27 (33) 40 (±7)	22 25 (27) 33 (±6)	24 20 (20) 16 (±4)
	2500†	95 95 (98) 105 (±6)	9 8 (11) 15 (±4)	24 23 (26) 30 (±4)	23 35 (29) 30 (±6)	18 23 (21) 23 (±3)
	5000†	97* 102* (94) 84* (±9)	9* 9* (8) 7* (±1)	27 32 (30) 31 (±3)	35* 26* (28) 23* (±6)	14* 16* (15) 14* (±1)
陽性対照 S9 mix を必要としないもの	名称	AF-2	NaN_3	ENNG	AF-2	9-AA
	用量 (μg/プレート)	0.01	0.5	2	0.1	80
	コロニー数/プレート	480 450 (478) 503 (±27)	433 452 (440) 436 (±10)	678 655 (682) 714 (±30)	516 455 (467) 430 (±44)	488 334 (387) 338 (±88)
陽性対照 S9 mix を必要とするもの	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
	コロニー数/プレート	1210 1166 (1154) 1087 (±62)	206 196 (222) 264 (±37)	1449 1364 (1435) 1493 (±66)	514 504 (526) 560 (±30)	203 154 (177) 175 (±25)

（備考）＊：菌の生育阻害が認められた．　　（平均値）
†：沈殿物が認められた．　　（±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_3：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 ： ピグメントグリーン 7　　（No.8L667）

試験実施期間		1999年 4月 5日 より 1999年 4月 8日				
代謝活性化系の有無	被験物質用量 (μg/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	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
S 9 mix (−)	陰性対照	91 98 (100) 110 (± 10)	8 5 (7) 8 (± 2)	29 28 (28) 27 (± 1)	20 13 (17) 17 (± 4)	11 12 (11) 9 (± 2)
	9.77	107 117 (109) 104 (± 7)	6 9 (7) 5 (± 2)		18 20 (21) 24 (± 3)	8 9 (8) 8 (± 1)
	19.5	108 90 (100) 101 (± 9)	5 7 (8) 11 (± 3)		20 17 (20) 23 (± 3)	12 8 (10) 9 (± 2)
	39.1†	112 101 (115) 133 (± 16)	11 11 (9) 4 (± 4)		13 15 (15) 16 (± 2)	10 9 (9) 8 (± 1)
	78.1†	101 102 (99) 95 (± 4)	10 8 (9) 9 (± 1)		20 26 (20) 14 (± 6)	15 9 (15) 22 (± 7)
	156†	112 82 (102) 111 (± 17)	8 7 (8) 8 (± 1)		17 15 (19) 24 (± 5)	18 16 (16) 13 (± 3)
	313†	87* 113* (103) 110* (± 14)	7* 6* (6) 5* (± 1)	22 27 (25) 26 (± 3)	23 20 (24) 29 (± 5)	11 15 (14) 15 (± 2)
	625†	98* 106* (111) 129* (± 16)	15* 10* (11) 7* (± 4)	28 25 (28) 30 (± 3)	15* 28* (23) 26* (± 7)	12* 13* (13) 14* (± 1)
	1250†			19 22 (21) 23 (± 2)		
	2500†			24 25 (23) 20 (± 3)		
	5000†			26 29 (25) 21 (± 4)		
S 9 mix (+)	陰性対照	96 104 (97) 91 (± 7)	9 11 (9) 8 (± 2)	35 28 (33) 35 (± 4)	33 38 (36) 36 (± 3)	11 11 (11) 10 (± 1)
	156†	95 91 (92) 89 (± 3)	10 6 (9) 10 (± 2)		28 26 (28) 29 (± 2)	11 11 (10) 9 (± 1)
	313†	109 97 (99) 92 (± 9)	10 11 (9) 5 (± 3)	40 25 (29) 22 (± 10)	34 19 (26) 26 (± 8)	8 10 (11) 16 (± 4)
	625†	103 102 (99) 93 (± 6)	11 13 (11) 8 (± 3)	30 35 (31) 27 (± 4)	22 25 (26) 32 (± 5)	12 13 (13) 14 (± 1)
	1250†	92 85 (90) 94 (± 5)	9 5 (7) 7 (± 2)	23 29 (26) 25 (± 3)	19 26 (23) 24 (± 4)	11 14 (13) 14 (± 2)
	2500†	107 96 (103) 105 (± 6)	6 9 (8) 10 (± 2)	25 23 (24) 24 (± 1)	27 19 (21) 18 (± 5)	7 8 (7) 5 (± 2)
	5000†	94* 98* (94) 90* (± 4)	8* 14* (10) 8* (± 3)	26 25 (26) 27 (± 1)	26* 24* (25) 25* (± 1)	5* 9* (8) 9* (± 2)
陽性対照 S9 mix を必要としないもの	名称	AF-2	NaN_3	ENNG	AF-2	9-AA
	用量 (μg/プレート)	0.01	0.5	2	0.1	80
	コロニー数/プレート	731 689 (690) 649 (+ 41)	340 432 (411) 461 (± 63)	937 833 (861) 813 (± 67)	590 595 (579) 552 (± 24)	671 576 (545) 387 (±145)
陽性対照 S9 mix を必要とするもの	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
	コロニー数/プレート	1459 1481 (1480) 1499 (± 20)	253 253 (262) 281 (± 16)	1265 1481 (1313) 1194 (±149)	574 599 (579) 563 (± 18)	239 224 (224) 210 (± 15)

（備考）＊：菌の生育阻害が認められた．
†：沈殿物が認められた．

（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， NaN_3：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　　（本試験　1）

被験物質名：ピグメントグリーン 7　　No. 8L667

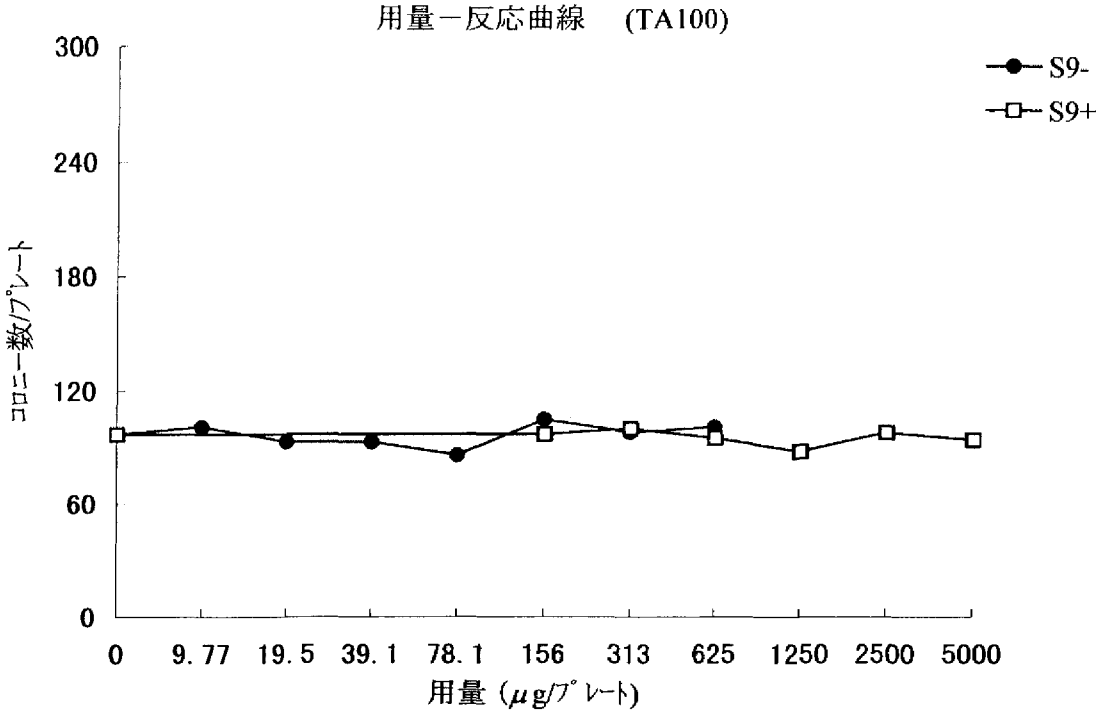


図　2　　（本試験　1）

被験物質名：ピグメントグリーン 7　　No. 8L667

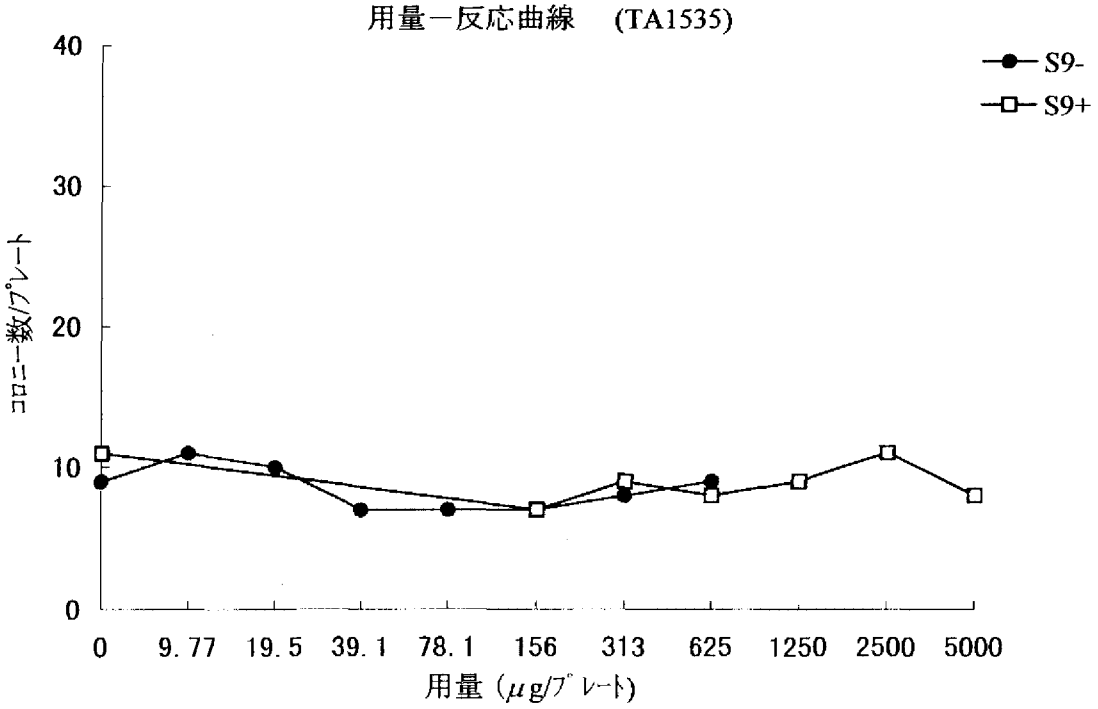


図　3　　（本試験　1）

被験物質名：ピグメントグリーン 7　　No. 8L667

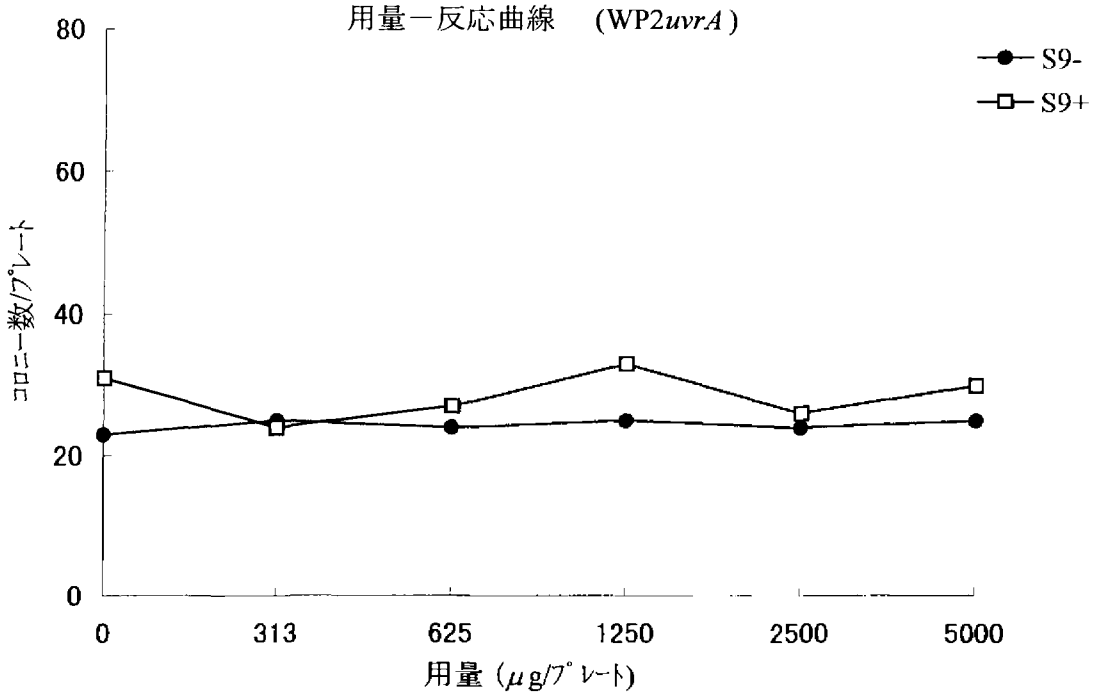


図　4　　（本試験　1）

被験物質名：ピグメントグリーン 7　　No. 8L667

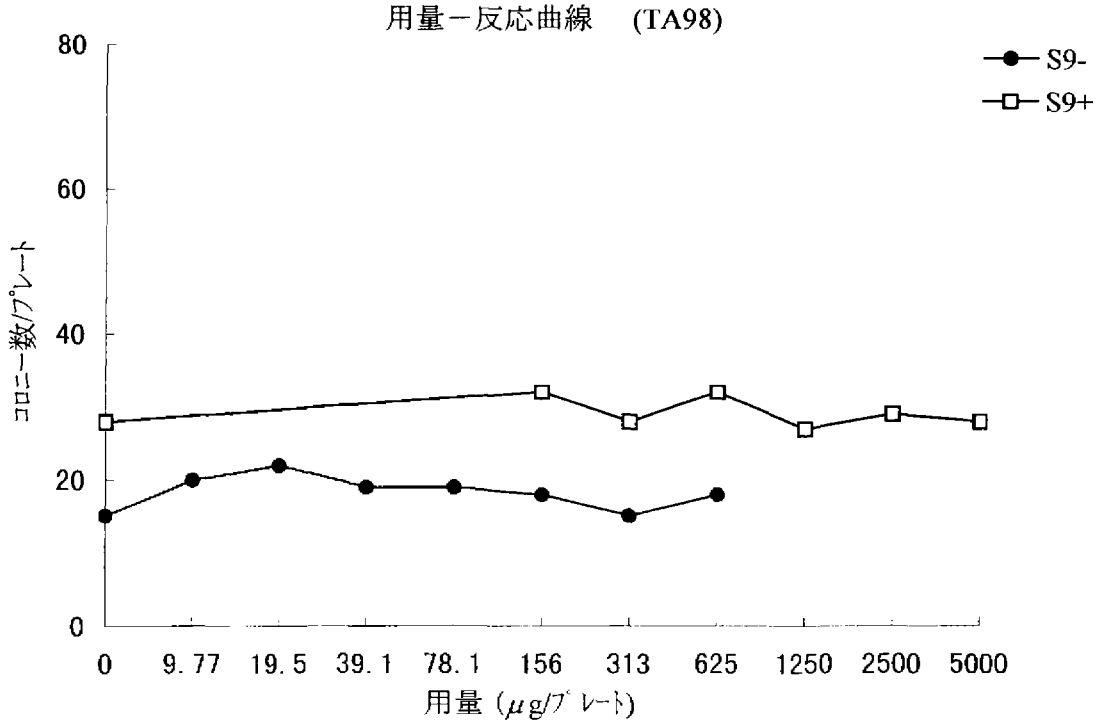


図 5　　（本試験　1）

被験物質名：ピグメントグリーン 7　　No. 8L667

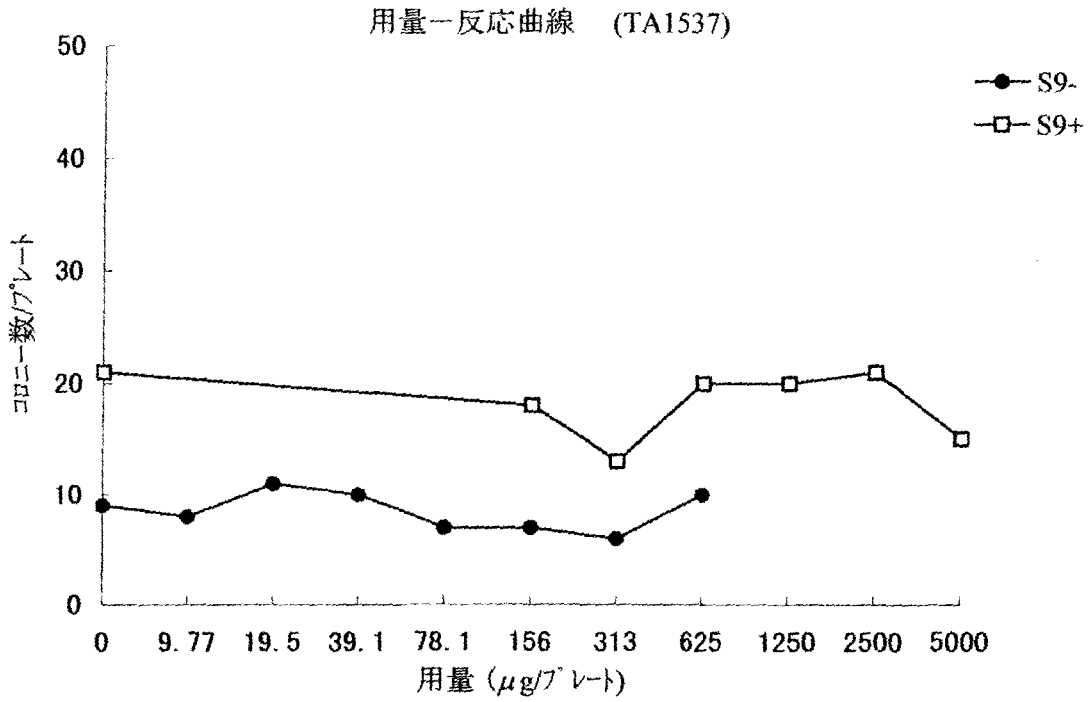


図　6　　（本試験　2）
被験物質名：ピグメントグリーン７　　No. 8L667

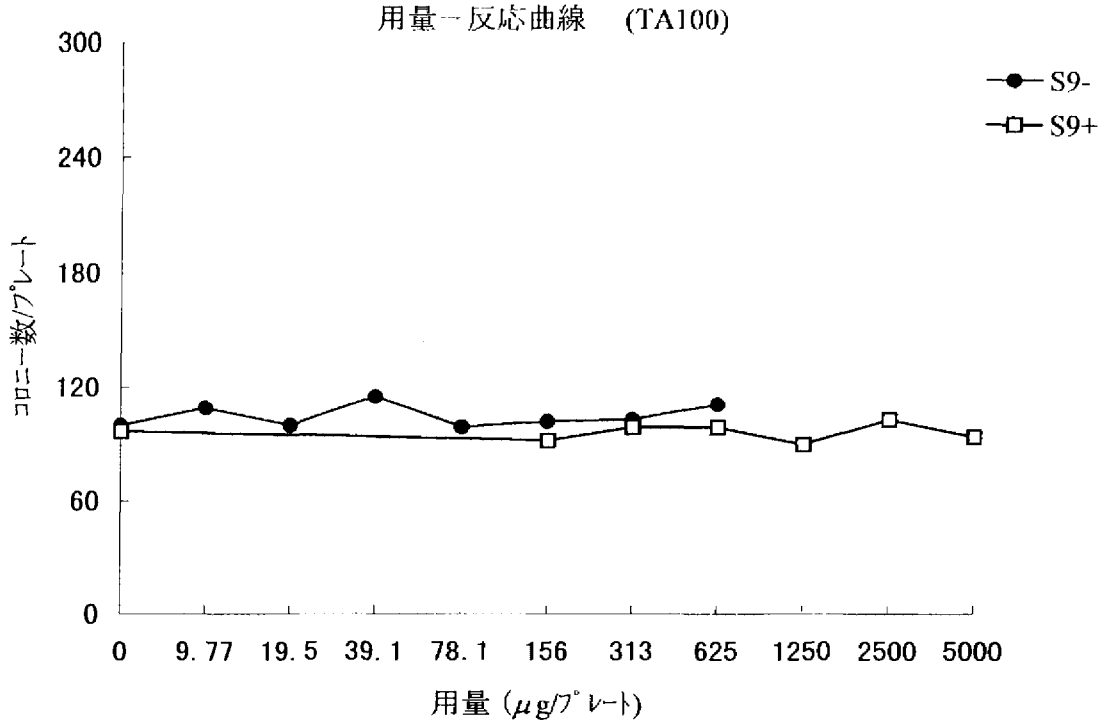


図　7　　（本試験　2）
被験物質名：ピグメントグリーン７　　No. 8L667

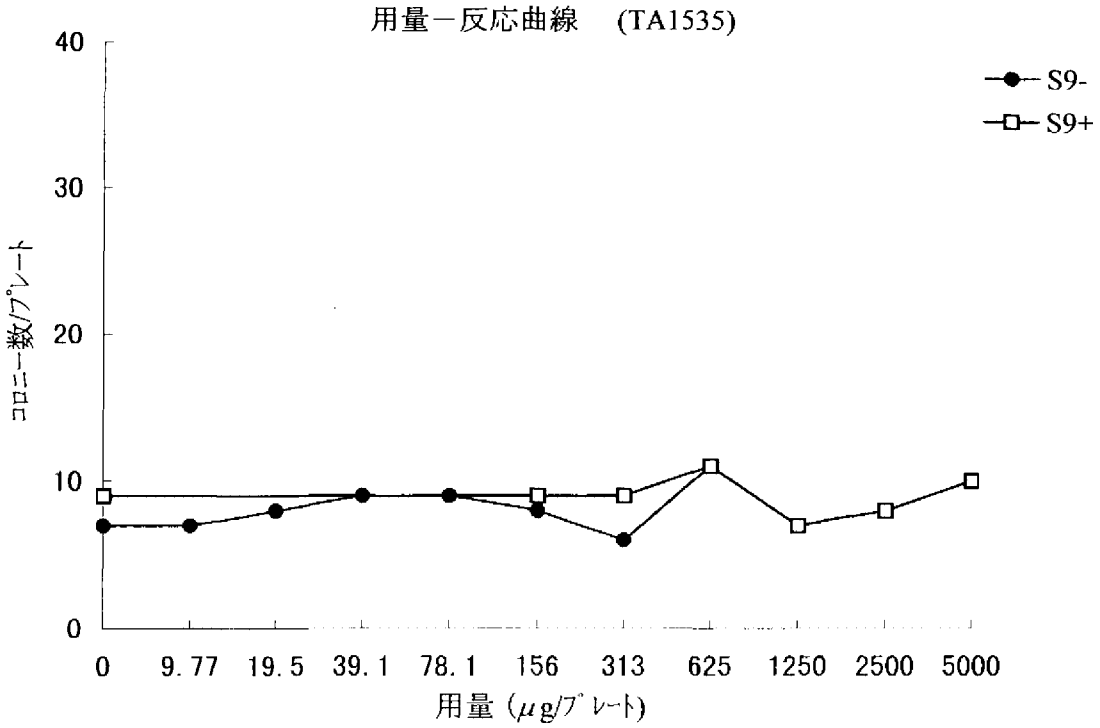


図　8　　（本試験　2）

被験物質名：ピグメントグリーン 7　　No. 8L667

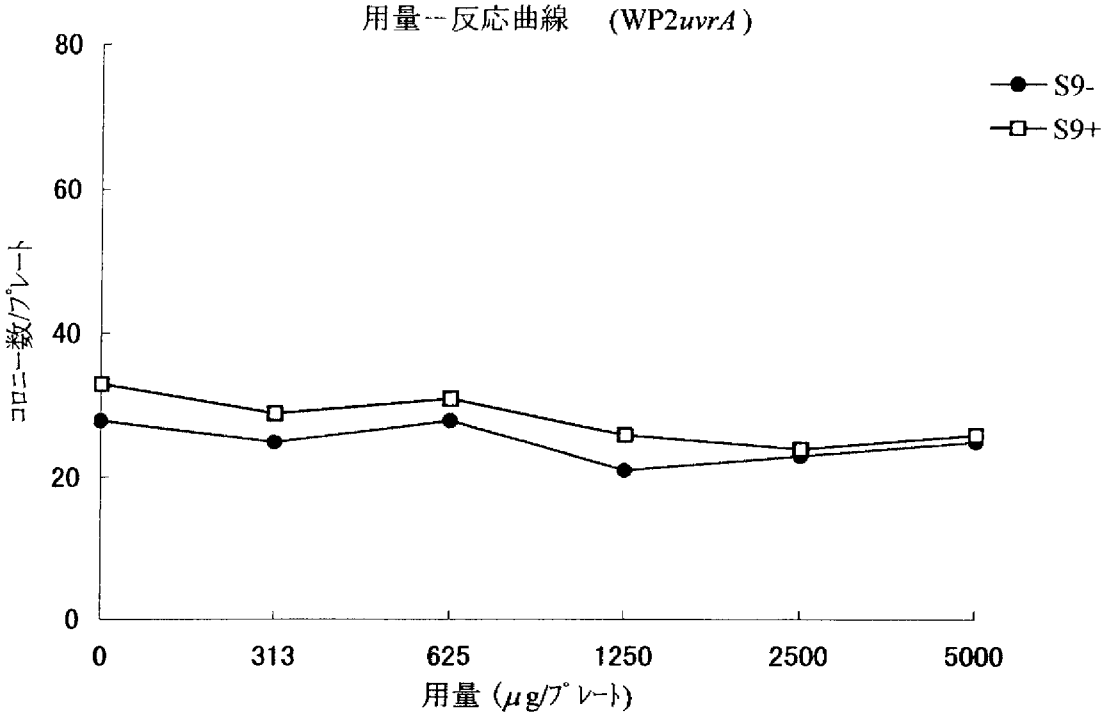


図　9　　（本試験　2）

被験物質名：ピグメントグリーン 7　　No. 8L667

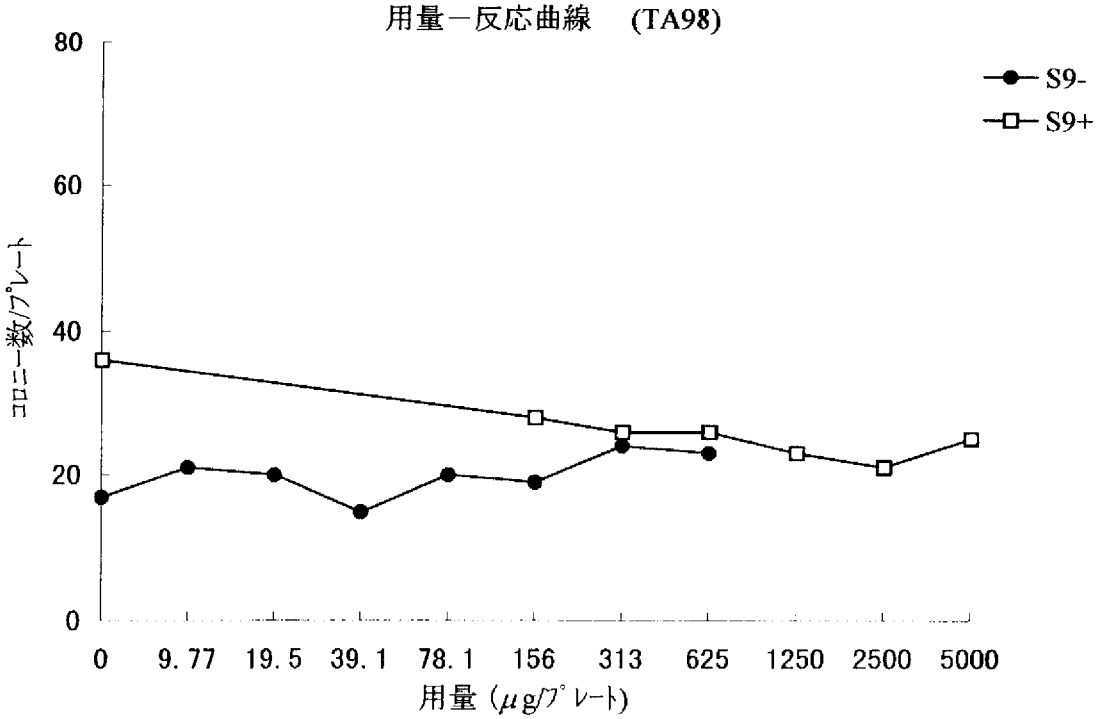
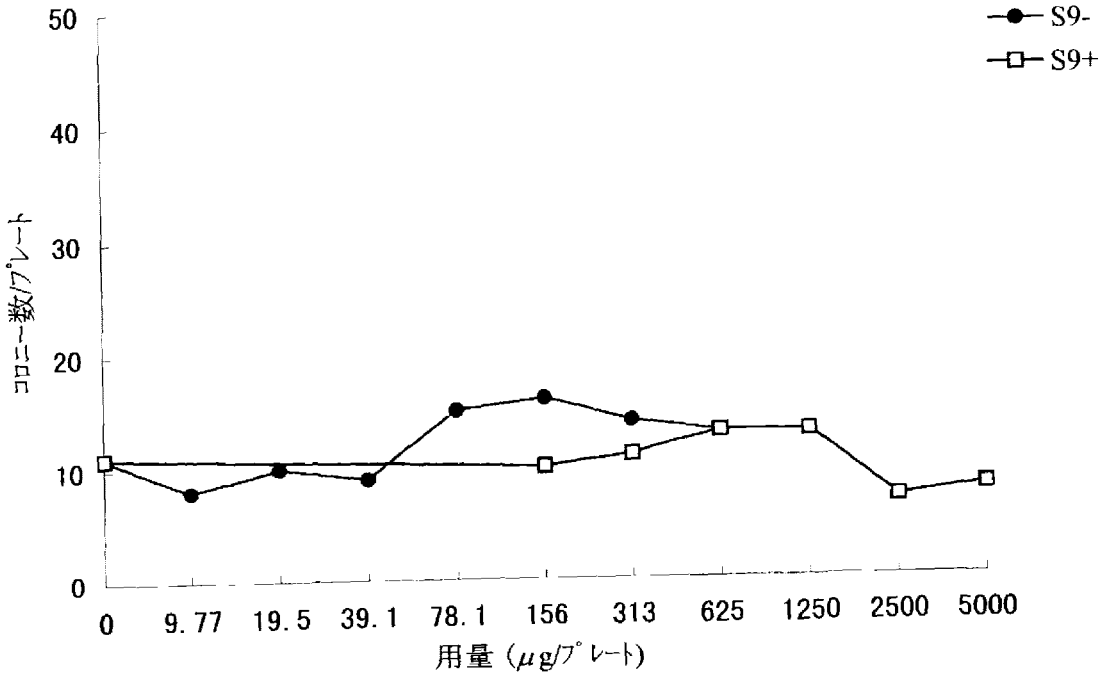


図　１０　　（本試験　２）
被験物質名：ピグメントグリーン７

No. 8L667

用量－反応曲線　(TA1537)