

最終報告書

ビスフェノール A・EO 付加物（平均付加モル数 5 モル）の
細菌を用いる復帰突然変異試験
（試験番号：06-120）

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目 次

要 約	1 頁
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	4
4. 指標菌株の保存と前培養	4
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	6
9. 用量設定試験(予備試験)	6
10. 本試験	7
1) 用量設定	7
2) 実験方法	7
(1) プレインキュベーション法 (直接法)	7
(2) プレインキュベーション法 (代謝活性化法)	7
11. 無菌試験	8
12. 試験の有効性	8
13. 結果の判定	8
結 果	9
結 論	9
文 献	10

表：

表 1-1 S9 mix 非存在下におけるビスフェノール A-EO 付加物 (平均付加 モル数 5 モル) の用量設定試験結果 [直接法]	11
表 1-2 S9 mix 存在下におけるビスフェノール A-EO 付加物 (平均付加 モル数 5 モル) の用量設定試験結果 [代謝活性化法]	12

表 2-1-1	S9 mix 非存在下におけるビスフェノール A-EO 付加物 (平均付加 の復帰突然変異試験結果 [本試験 1 回目-直接法]	13
表 2-1-2	S9 mix 非存在下におけるビスフェノール A-EO 付加物 (平均付加 の復帰突然変異試験結果 [本試験 1 回目-直接法]	14
表 2-2	S9 mix 存在下におけるビスフェノール A-EO 付加物 (平均付加 の復帰突然変異試験結果 [本試験 1 回目-代謝活性化法]	15
表 3-1-1	S9 mix 非存在下におけるビスフェノール A-EO 付加物 (平均付加 の復帰突然変異試験結果 [本試験 2 回目-直接法]	16
表 3-1-2	S9 mix 非存在下におけるビスフェノール A-EO 付加物 (平均付加 の復帰突然変異試験結果 [本試験 2 回目-直接法]	17
表 3-2	S9 mix 存在下におけるビスフェノール A-EO 付加物 (平均付加 の復帰突然変異試験結果 [本試験 2 回目-代謝活性化法]	18

図 :

図 1	ビスフェノール A-EO 付加物 (平均付加モル数 5 モル) の 復帰突然変異試験結果-本試験 1 回目	19
図 2	ビスフェノール A-EO 付加物 (平均付加モル数 5 モル) の 復帰突然変異試験結果-本試験 2 回目	24

要 約

ビスフェノール A-EO 付加物（平均付加モル数 5 モル）の遺伝子突然変異誘発性の有無を検討するため、復帰突然変異試験を指標菌株として *Salmonella typhimurium* TA100、TA1535、TA98、TA1537 および *Escherichia coli* WP2uvrA 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。

用量は、用量設定試験（予備試験）の結果、菌の生育阻害が認められる用量または 5000 μ g/プレート を最高用量とし、直接法においては、TA98、TA100、TA1535 および TA1537 では 62.5～2000 μ g/プレートの範囲（公比 2）、WP2uvrA では 156～5000 μ g/プレートの範囲（公比 2）、代謝活性化法では、いずれの菌株とも 156～5000 μ g/プレートの範囲（公比 2）で設定した。

試験は 2 回実施した。その結果、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なかった。菌の生育阻害については、直接法では、TA1535 の 1000 μ g/プレート以上、TA98、TA100 および TA1537 の 2000 μ g/プレート、代謝活性化法においては、試験 1 回目では TA1535 の 2500 μ g/プレート以上、TA100 の 5000 μ g/プレート、試験 2 回目では TA1535 の 2500 μ g/プレート以上の用量で認められた。

以上の成績から、本実験条件下では、ビスフェノール A-EO 付加物（平均付加モル数 5 モル）の細菌に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

目 的

この試験は、ビスフェノール A-EO 付加物（平均付加モル数 5 モル）の細菌に対する遺伝子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： ビスフェノール A-EO 付加物（平均付加モル数 5 モル）

（英名： 4,4'-isopropylidenediphenol ethoxylated）

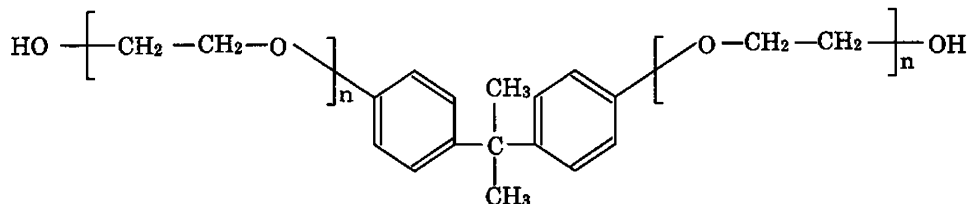
CAS 番号： 32492-61-8

純 度： 99%以上（水分：0.04%）

付加モル分布： 1 モル：0.0%、2 モル：5.6%、3 モル：16.9%、4 モル：23.3%、
5 モル：21.1%、6 モル：15.8%、7 モル：8.2%、8 モル：4.0%
9 モル以上：5.1%（分析日：平成 18 年 10 月 19 日）

示 性 式： $(C_2H_4O)_n(C_2H_4O)_nC_{15}H_{16}O_2$

構 造 式：



入手日・量： 平成 19 年 3 月 14 日・25 g

物 性 等：

化学名 ビスフェノール A-EO 付加物（平均付加モル数 5 モル）

分子量 432（付加モル数 5 モルと仮定した場合）

性状(常温) 無色透明液体

酸価 0.013 mgKOH/g

水酸基価 239 mgKOH/g

pH 値 6.5 (トリオール法)

動粘度(100°C) 29.8 mm²/s

溶解性 水に不溶

安定性 : 安定 [実験終了後、(財)畜産生物科学安全研究所において保管した残余被験物質の純度、付加モル分布、酸価、水酸基価、pH 値を測定した結果、実験開始前の分析値と比べて変化はなく、実験期間中被験物質は安定であったことを確認した (下表)。分析は、委託して実施した。]

測定日	2008-10-2	2006-10-19
純度	99%以上	99%以上
水分, %	0.05	0.04
酸化	0.062	0.013
水酸基価	231	239
pH (トリオール法)	6.4	6.5
動粘度 (100°C), mm ² /s	29.4	29.8
付加モル分布, %		
1 モル	0.0	0.0
2 モル	5.5	5.6
3 モル	16.6	16.9
4 モル	23.2	23.3
5 モル	20.6	21.1
6 モル	15.1	15.8
7 モル	9.3	8.2
8 モル以上	9.7	9.1

保管条件 : 冷暗所 (2~6°C)、密栓

2. 指標菌株

指標菌株は、国立保健医療科学院 生活環境部 (元: 国立公衆衛生院 地域環境衛生学部) より入手 (平成 6 年 12 月 19 日) した以下の 5 種類を用いた。

(塩基対置換型)

Salmonella typhimurium TA100、TA1535

Escherichia coli WP2uvrA

(フレームシフト型)

Salmonella typhimurium TA98、TA1537

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、和光純薬工業株式会社、ロット番号 DPH0023、100%) を 0.07 mL の割合で加えて -80°C 以下で保存した。この保存菌株の 25 μL をニュートリエントブロス (Bacto nutrient broth dehydrated、Difco Laboratories、ロット番号 6044607、6338974) 液体培地 15mL に接種し、 37°C で 12 時間振盪培養した。培養後の懸濁菌液については、分光光度計で吸光度 ($\text{OD}_{660\text{nm}}$) を測定し、濁度と生菌数の換算式により 1 mL あたり 1×10^9 以上の生菌数が得られていることを確認した。

生菌数 ($\times 10^9/\text{mL}$)

指標菌株	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
用量設定試験	1.95	2.10	1.84	1.71	1.14
本試験(1回目)	1.86	2.10	1.84	1.67	1.17
本試験(2回目)	1.78	2.10	1.56	1.56	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-564・2007年8月3日製造・2007年9月28日購入)。凍結 S9 mix は -80°C 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 1 mL あたりの組成は、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： 201~239 g

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 日目：PB 60 mg/kg
 - 3 日目：PB 60 mg/kg +BF 80 mg/kg、 4 日目：PB 60 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(9000×g)し、その上清を採取

S9 mix 1 mL 当たりの組成

MgCl ₂	8	μ mol
KCl	33	μ mol
G-6-P	5	μ mol
NADH	4	μ mol
NADPH	4	μ mol
リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.4)	100	μ mol
S9	0.1	mL

6. 被験物質の供試液の調製

被験物質は水に不溶であり、予備的検討の結果、DMSO に可溶であったことから、溶媒には DMSO (和光純薬工業株式会社、ロット番号 TSQ4964、100%) 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。溶媒を用いて最高用量の供試液（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用量の被験物質供試液を作製した。

7. 陰性対照および陽性対照

陰性対照（溶媒対照）には、被験物質用の溶媒である DMSO を用いた。陽性対照としては、以下の既知変異原物質を用いた。

AF-2 および 2-AA は DMSO (和光純薬工業株式会社、ロット番号 DPH0023、100%) 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 K6K75、局方) に溶解した。

指標菌株	直接法		代謝活性化法	
	($\mu\text{g}/\text{プレート}$)		($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	
TA100	AF-2	(0.01)	2-AA	(1)
TA1535	SA	(0.5)	2-AA	(2)
WP2uvrA	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 KCM2259)

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 07721MZ)

8. アミノ酸添加軟寒天培地の調製

0.6w/v%粉末寒天 (Difco Laboratories、ロット番号 5200601) および 0.5w/v% 塩化ナトリウム (和光純薬工業株式会社、ロット番号 8251) 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 (Sigma Chemical Company、ロット番号 AASXB) および 0.5 mM L-ヒスチジン (和光純薬工業株式会社、ロット番号 DLJ5479) 水溶液、*E. coli* 用には 0.5 mM L-トリプトファン (和光純薬工業株式会社、ロット番号 EWP0420) 水溶液を 1/10 容加え、アミノ酸添加軟寒天培地とした。

9. 用量設定試験 (予備試験)

本試験における被験物質の適切な用量を把握するために、20~5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の範囲で用量を設定し、本試験と同様の実験方法で試験を行った。試験は各用量 1 枚のプレートで行った。

その結果 (表 1-1、1-2)、直接法の場合は、TA 98、TA100、TA1535 および TA1537 では 2000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上の用量で菌の生育阻害が認められ、WP2uvrA では菌の生育阻害は認められなかった。また、代謝活性化法の場合は、TA100、TA1535 および TA1537 では 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ で菌の生育阻害が認められ、TA 98 および WP2uvrA では菌の生育阻害は認められなかった。

10. 本試験

本試験は、同一菌株、同一用量で2回行った。

1) 用量設定

用量設定試験の結果から、被験物質の用量については、直接法の場合、TA 98、TA100、TA1535 および TA1537 では 2000 μ g/プレート を最高用量とし、以下公比 2 で 1000、500、250、125 および 62.5 μ g/プレート、WP2 *uvrA* では 5000 μ g/プレート を最高用量とし、以下公比 2 で 2500、1250、625、313 および 156 μ g/プレート、また、代謝活性化法の場合は、いずれの菌株とも 5000 μ g/プレート を最高用量とし、以下公比 2 で 2500、1250、625、313 および 156 μ g/プレートの各計 6 用量とした。

2) 実験方法

(1) プレインキュベーション法（直接法）

滅菌小試験管に被験物質の供試液 0.1 mL、0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.4) 0.5 mL (和光純薬工業株式会社、リン酸水素二ナトリウム・十二水塩：ロット番号 WAF3531、リン酸二水素ナトリウム・二水塩：ロット番号 CAJ2723) および前培養した懸濁菌液 0.1 mL を分注し、37°C で 20 分間振盪培養後、45°C 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 (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、ロット番号 ANI420FW・2007 年 6 月 5 日製造・2007 年 8 月 10 日購入；ロット番号 ANI730IW・2007 年 9 月 11 日製造・2007 年 11 月 12 日購入) は、Vogel-Bonner E 培地 (0.2 w/v% クエン酸・一水塩、1w/v% リン酸二カリウム・無水塩、0.192 w/v% リン酸一アンモニウム、0.066 w/v% 水酸化ナトリウム、0.02 w/v% 硫酸マグネシウム・七水塩) に寒天粉末を 1.5 w/v% およびグルコースを 2 w/v% となるように加え、30 mL ずつ分注したものである。37°C 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 (DMSO) 0.1 mL 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。試験は各用量 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）

滅菌小試験管に被験物質の供試液 0.1 mL、S9 mix 0.5 mL および前培養した懸

濁菌液 0.1 mL を分注し、37°C で 20 分間振盪培養後、45°C 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°C 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 (DMSO) 0.1 mL 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。試験は各用量 3 枚のプレートで行った。

11. 無菌試験

用量設定試験および本試験において、用いた溶媒、S9 mix および最高用量の被験物質の供試液について、それぞれ 0.1 mL に 0.6 w/v% 軟寒天培地 2 mL を加え、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 ANI730IW) に重層後、37°C 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、試験は有効であると判定した。

- (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、当研究所における陽性対照値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、各用量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、原則的に以下の 3 基準を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 倍以上の復帰変異コロニー数が出現する。
- (2) 被験物質用量の増加とともに復帰変異コロニー数が増加する (用量依存性)。
- (3) 2 回にわたる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。

但し、明確な用量依存性が認められない場合においても、陽性値を示す試験結果に再現性が認められれば陽性と判定する。

結 果

試験を2回実施した結果（表 2-1-1、2-1-2、2-2、3-1-1、3-1-2、3-2 および図 1-1、1-2、1-3、1-4、1-5、2-1、2-2、2-3、2-4、2-5）、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いて復帰変異コロニー数は、陰性対照値の2倍を超えることはなかった。菌の生育阻害については、直接法では、TA1535の1000 μ g/プレート以上、TA98、TA100 および TA1537 の2000 μ g/プレート、代謝活性化法においては、試験1回目ではTA1535の2500 μ g/プレート以上、TA100の5000 μ g/プレート、試験2回目ではTA1535の2500 μ g/プレート以上の用量で認められた。

陰性対照群では背景データ（添付資料）の範囲内の復帰変異コロニー数が認められた。陽性対照群においては明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められ、その程度は、それぞれ背景データ（添付資料）の範囲内またはその近くの陽性値を示すものであった。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。その他、実験中被験物質の析出等、特記すべき変化は認められなかった。

結 論

ビスフェノール A-EO 付加物（平均付加モル数5モル）について遺伝子突然変異誘発性の有無を調べるため、細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した。その結果、代謝活性化の有無にかかわらず、全ての指標菌株で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、2回にわたる本試験ともに有効であることが確認された。

したがって、本実験条件下ではビスフェノール A-EO 付加物（平均付加モル数5モル）の遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

ビスフェノール A の変異原性については、*S. typhimurium* TA97、TA98、TA100、TA102、TA1535 または *E. coli* WP2uvrA を用いた復帰突然変異試験^{3,4,5)} で陰性との報告がある。また、CHO 細胞を用いた染色体異常試験で陽性⁶⁾ および陰性⁷⁾、V-79 細胞を用いた細胞遺伝子突然変異試験で陰性³⁾ との報告がある。

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. , Nicols, W. and Ramel, C. , Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, pp. 161-187.
- 3) Schweikl, H, et., al. The mutagenic activity of unpolymerized resin monomers in *salmonella typhimurium* and V79 cells. *Mutation Research*, 415(1-2):119-130, 1998.
- 4) Japan chemical industry ecology- toxicology and information center, Japan; Mutagenicity test data of existing chemical substances based on the toxicity investigation of the industrial safety and health law, 1996.
- 5) Masuda, et., al. Changes in the mutagenic and estrogenic activities of bisphenol A upon treatment with nitrite. *Mutation Research*, 585(1-2):137-1146, 2005.
- 6) Hilliard, CA, et., al. Chromosome aberration in vitro related to cytotoxicity of nonmutagenic chemicals and metabolic poisons. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 31(4), 316-326, 1998.
- 7) Ivett, JT, et., al. Chromosomal aberrations and sister chromatid exchange tests in Chinese hamster ovary cells in vitro. IV. Results with 15 chemicals. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 14(3), 165-187, 1989.

表 1-1 S9 mix 非存在下におけるビスフェノールA-EO (平均付加モル数5モル) の
 用量設定試験結果 [直接法]

用 量 [μ g/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 [ジメチルスルホキシド]	153	14	19	29	14
20	121	10	18	28	9
50	107	5	18	38	16
100	104	13	30	34	14
200	108	8	21	32	10
500	123	10	24	26	15
1000	93	5	21	45	14
2000	90 *	6 *	18	34 *	6 *
5000	109 *	6 *	13	33 *	6 *
陽性対照	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9-AA
μ g/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	759	384	771	369	388

* : 菌の生育阻害が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

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 存在下におけるビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の
用量設定試験結果〔代謝活性化法〕

用 量 〔 μ g/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〔ジメチルスルホキシド〕	86	9	29	37	13
20	88	7	36	31	13
50	105	6	14	27	13
100	102	8	33	26	8
200	79	10	20	27	12
500	101	6	19	28	10
1000	83	3	23	26	19
2000	107	5	27	19	16
5000	103 *	5 *	19	24	3 *
陽性対照	2- AA	2- AA	2- AA	2- AA	2- AA
μ g/プレート	1	2	10	1	2
復帰変異コロニー数 /プレート	603	302	505	369	138

* : 菌の生育阻害が認められた。

2-AA: 2-アミノアントラセン

表 2-1-1 S9 mix 非存在下におけるビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の
 復帰変異試験結果〔本試験1回目-直接法〕

用 量 〔 μ g/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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
陰性対照	117	10	--	28	13
[ジメチルスルホキシド]	114	6	--	28	6
	110	4	--	16	13
	(114 \pm 4)	(7 \pm 3)	--	(24 \pm 7)	(11 \pm 4)
62.5	99	14	--	31	11
	107	10	--	18	11
	112	6	--	28	12
	(106 \pm 7)	(10 \pm 4)	--	(26 \pm 7)	(11 \pm 1)
125	95	9	--	23	10
	118	6	--	21	10
	111	8	--	17	9
	(108 \pm 12)	(8 \pm 2)	--	(20 \pm 3)	(10 \pm 1)
250	108	5	--	19	6
	118	9	--	17	5
	96	4	--	24	8
	(107 \pm 11)	(6 \pm 3)	--	(20 \pm 4)	(6 \pm 2)
500	93	9	--	25	12
	107	6	--	21	11
	111	5	--	22	4
	(104 \pm 9)	(7 \pm 2)	--	(23 \pm 2)	(9 \pm 4)
1000	91	12*	--	27	10
	95	6*	--	17	11
	126	6*	--	15	11
	(104 \pm 19)	(8 \pm 3)	--	(20 \pm 6)	(11 \pm 1)
2000	84*	0*	--	18*	2*
	104*	0*	--	14*	3*
	96*	0*	--	18*	4*
	(95 \pm 10)	(0 \pm 0)	--	(17 \pm 2)	(3 \pm 1)
陽性対照	AF-2	SA	--	AF-2	9-AA
μ g/プレート	0.01	0.5	--	0.1	80
復帰変異	828	420	--	499	334
コロニー数	845	474	--	530	472
/プレート	892	454	--	525	432
	(855 \pm 33)	(449 \pm 27)	--	(518 \pm 17)	(413 \pm 71)

(): 平均値 \pm 標準偏差

* : 菌の生育阻害が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

SA : アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン

表 2-1-2 S9 mix 非存在下におけるビスフェノールA-EO (平均付加モル数5モル)の
 復帰変異試験結果〔本試験1回目-直接法〕

用 量 〔 μ g/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	--	--	20	--	--
[ジメチルスルホキシド]	--	--	23	--	--
	--	--	15	--	--
	--	--	(19 \pm 4)	--	--
156	--	--	25	--	--
	--	--	15	--	--
	--	--	18	--	--
	--	--	(19 \pm 5)	--	--
313	--	--	19	--	--
	--	--	19	--	--
	--	--	18	--	--
	--	--	(19 \pm 1)	--	--
625	--	--	31	--	--
	--	--	17	--	--
	--	--	18	--	--
	--	--	(22 \pm 8)	--	--
1250	--	--	26	--	--
	--	--	26	--	--
	--	--	16	--	--
	--	--	(23 \pm 6)	--	--
2500	--	--	22	--	--
	--	--	26	--	--
	--	--	21	--	--
	--	--	(23 \pm 3)	--	--
5000	--	--	18	--	--
	--	--	18	--	--
	--	--	20	--	--
	--	--	(19 \pm 1)	--	--
陽性対照	--	--	AF-2	--	--
μ g/プレート	--	--	0.04	--	--
復帰変異	--	--	988	--	--
コロニー数	--	--	1005	--	--
/プレート	--	--	941	--	--
	--	--	(978 \pm 33)	--	--

(): 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

表 2-2 S9 mix 存在下におけるビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の
 復帰変異試験結果[本試験1回目-代謝活性化法]

用 量 [μ g/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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
陰性対照	100	8	28	24	9
[ジメチルスルホキシド]	121	6	29	19	9
	109	11	17	26	14
	(110 \pm 11)	(8 \pm 3)	(25 \pm 7)	(23 \pm 4)	(11 \pm 3)
156	88	9	20	30	14
	102	8	21	32	14
	88	6	21	33	6
	(93 \pm 8)	(8 \pm 2)	(21 \pm 1)	(32 \pm 2)	(11 \pm 5)
313	111	2	19	21	13
	109	10	23	33	14
	96	10	25	35	12
	(105 \pm 8)	(7 \pm 5)	(22 \pm 3)	(30 \pm 8)	(13 \pm 1)
625	95	8	17	27	10
	104	3	26	47	18
	100	9	27	37	11
	(100 \pm 5)	(7 \pm 3)	(23 \pm 6)	(37 \pm 10)	(13 \pm 4)
1250	106	3	21	18	4
	96	7	34	24	13
	81	7	42	26	18
	(94 \pm 13)	(6 \pm 2)	(32 \pm 11)	(23 \pm 4)	(12 \pm 7)
2500	81	9*	31	30	5
	96	6*	29	34	10
	88	10*	18	24	15
	(88 \pm 8)	(8 \pm 2)	(26 \pm 7)	(29 \pm 5)	(10 \pm 5)
5000	86*	9*	31	28	11
	108*	7*	28	18	8
	106*	6*	23	35	7
	(100 \pm 12)	(7 \pm 2)	(27 \pm 4)	(27 \pm 9)	(9 \pm 2)
陽性対照	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
μ g/プレート	1	2	10	1	2
復帰変異	577	226	664	332	108
コロニー数	503	176	624	313	112
/プレート	496	187	577	333	106
	(525 \pm 45)	(196 \pm 26)	(622 \pm 44)	(326 \pm 11)	(109 \pm 3)

* : 菌の生育阻害が認められた。

(): 平均値 \pm 標準偏差

2-AA: 2-アミノアントラセン

表 3-1-1 S9 mix 非存在下におけるビスフェノールA-EO (平均付加モル数5モル)の
 復帰変異試験結果〔本試験2回目-直接法〕

用 量 〔 μ g/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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
陰性対照	122	9	--	21	5
[ジメチルスルホキシド]	113	10	--	17	9
	96	7	--	25	5
	(110 \pm 13)	(9 \pm 2)	--	(21 \pm 4)	(6 \pm 2)
62.5	117	5	--	22	7
	122	13	--	22	6
	137	7	--	24	7
	(125 \pm 10)	(8 \pm 4)	--	(23 \pm 1)	(7 \pm 1)
125	116	9	--	20	4
	115	9	--	27	7
	109	10	--	25	5
	(113 \pm 4)	(9 \pm 1)	--	(24 \pm 4)	(5 \pm 2)
250	111	5	--	24	6
	109	7	--	12	9
	123	12	--	33	4
	(114 \pm 8)	(8 \pm 4)	--	(23 \pm 11)	(6 \pm 3)
500	101	13	--	20	9
	109	6	--	20	6
	109	7	--	24	6
	(106 \pm 5)	(9 \pm 4)	--	(21 \pm 2)	(7 \pm 2)
1000	100	8*	--	20	5
	102	6*	--	21	2
	90	8*	--	22	11
	(97 \pm 6)	(7 \pm 1)	--	(21 \pm 1)	(6 \pm 5)
2000	96*	0*	--	16*	5*
	68*	0*	--	27*	6*
	74*	0*	--	24*	4*
	(79 \pm 15)	(0 \pm 0)	--	(22 \pm 6)	(5 \pm 1)
陽性対照	AF-2	SA	--	AF-2	9-AA
μ g/プレート	0.01	0.5	--	0.1	80
復帰変異	928	491	--	461	747
コロニー数	892	469	--	482	953
/プレート	882	457	--	459	837
	(901 \pm 24)	(472 \pm 17)	--	(467 \pm 13)	(846 \pm 103)

(): 平均値 \pm 標準偏差

* : 菌の生育阻害が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

SA : アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン

表 3-1-2 S9 mix 非存在下におけるビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の
 復帰変異試験結果〔本試験2回目-直接法〕

用 量 〔 μ g/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	--	--	13	--	--
[ジメチルスルホキシド]	--	--	19	--	--
	--	--	16	--	--
	--	--	(16 \pm 3)	--	--
156	--	--	22	--	--
	--	--	26	--	--
	--	--	17	--	--
	--	--	(22 \pm 5)	--	--
313	--	--	14	--	--
	--	--	13	--	--
	--	--	21	--	--
	--	--	(16 \pm 4)	--	--
625	--	--	30	--	--
	--	--	19	--	--
	--	--	24	--	--
	--	--	(24 \pm 6)	--	--
1250	--	--	16	--	--
	--	--	16	--	--
	--	--	17	--	--
	--	--	(16 \pm 1)	--	--
2500	--	--	23	--	--
	--	--	21	--	--
	--	--	25	--	--
	--	--	(23 \pm 2)	--	--
5000	--	--	22	--	--
	--	--	12	--	--
	--	--	13	--	--
	--	--	(16 \pm 6)	--	--
陽性対照	--	--	AF-2	--	--
μ g/プレート	--	--	0.04	--	--
復帰変異	--	--	1264	--	--
コロニー数	--	--	1235	--	--
/プレート	--	--	1220	--	--
	--	--	(1240 \pm 22)	--	--

(): 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

表 3-2 S9 mix 存在下におけるビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の
 復帰変異試験結果〔本試験2回目-代謝活性化法〕

用 量 〔 μ g/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	88	6	21	34	10
[ジメチルスルホキシド]	99	7	20	18	16
	91	6	22	23	2
	(93 \pm 6)	(6 \pm 1)	(21 \pm 1)	(25 \pm 8)	(9 \pm 7)
156	103	10	22	34	17
	114	10	25	30	10
	91	6	20	25	16
	(103 \pm 12)	(9 \pm 2)	(22 \pm 3)	(30 \pm 5)	(14 \pm 4)
313	88	12	33	22	7
	86	5	18	31	12
	111	8	32	21	7
	(95 \pm 14)	(8 \pm 4)	(28 \pm 8)	(25 \pm 6)	(9 \pm 3)
625	81	11	20	33	8
	98	4	20	23	15
	92	6	32	33	9
	(90 \pm 9)	(7 \pm 4)	(24 \pm 7)	(30 \pm 6)	(11 \pm 4)
1250	111	9	23	27	14
	69	10	22	31	9
	85	6	19	26	13
	(88 \pm 21)	(8 \pm 2)	(21 \pm 2)	(28 \pm 3)	(12 \pm 3)
2500	95	8 *	17	26	12
	92	4 *	16	30	11
	92	12 *	21	27	15
	(93 \pm 2)	(8 \pm 4)	(18 \pm 3)	(28 \pm 2)	(13 \pm 2)
5000	91	9 *	17	25	12
	88	2 *	25	35	2
	72	0 *	15	28	5
	(84 \pm 10)	(4 \pm 5)	(19 \pm 5)	(29 \pm 5)	(6 \pm 5)
陽性対照	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
μ g/プレート	1	2	10	1	2
復帰変異	483	204	462	244	112
コロニー数	438	196	458	254	103
/プレート	612	199	453	210	105
	(511 \pm 90)	(200 \pm 4)	(458 \pm 5)	(236 \pm 23)	(107 \pm 5)

* : 菌の生育阻害が認められた。

(): 平均値 \pm 標準偏差

2-AA: 2-アミノアントラセン

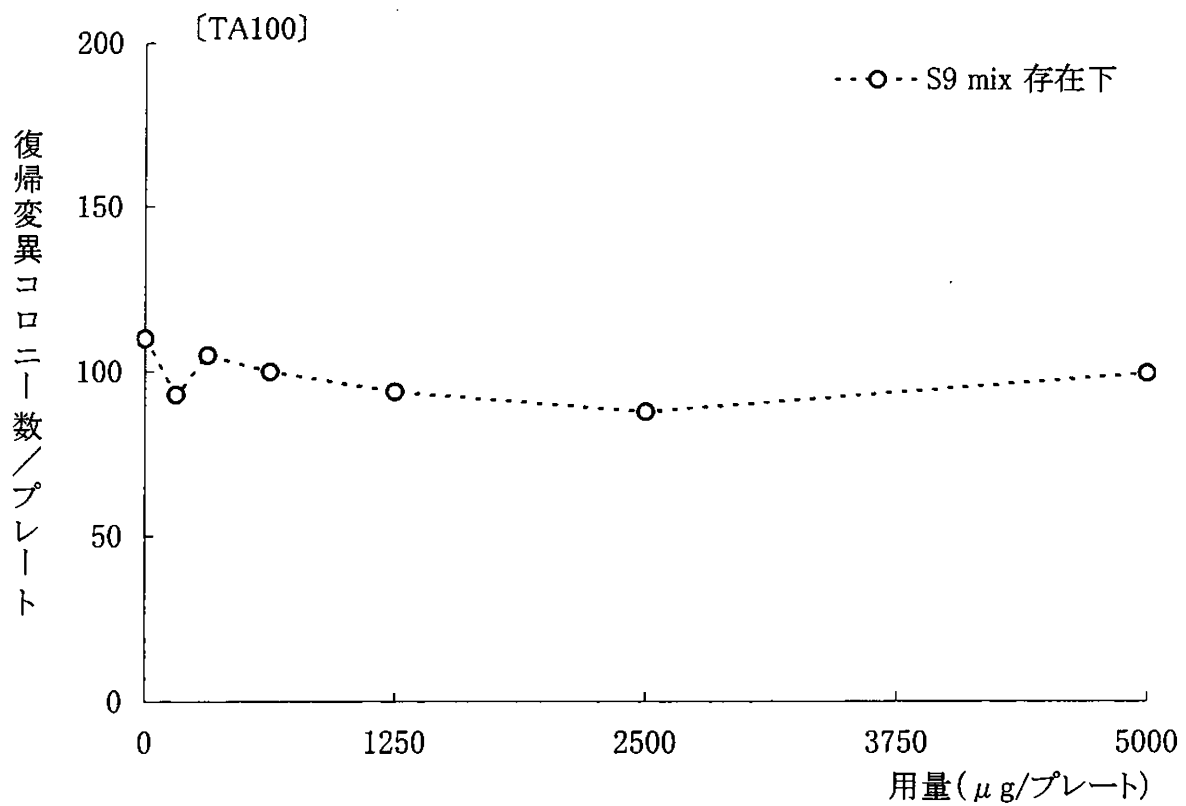
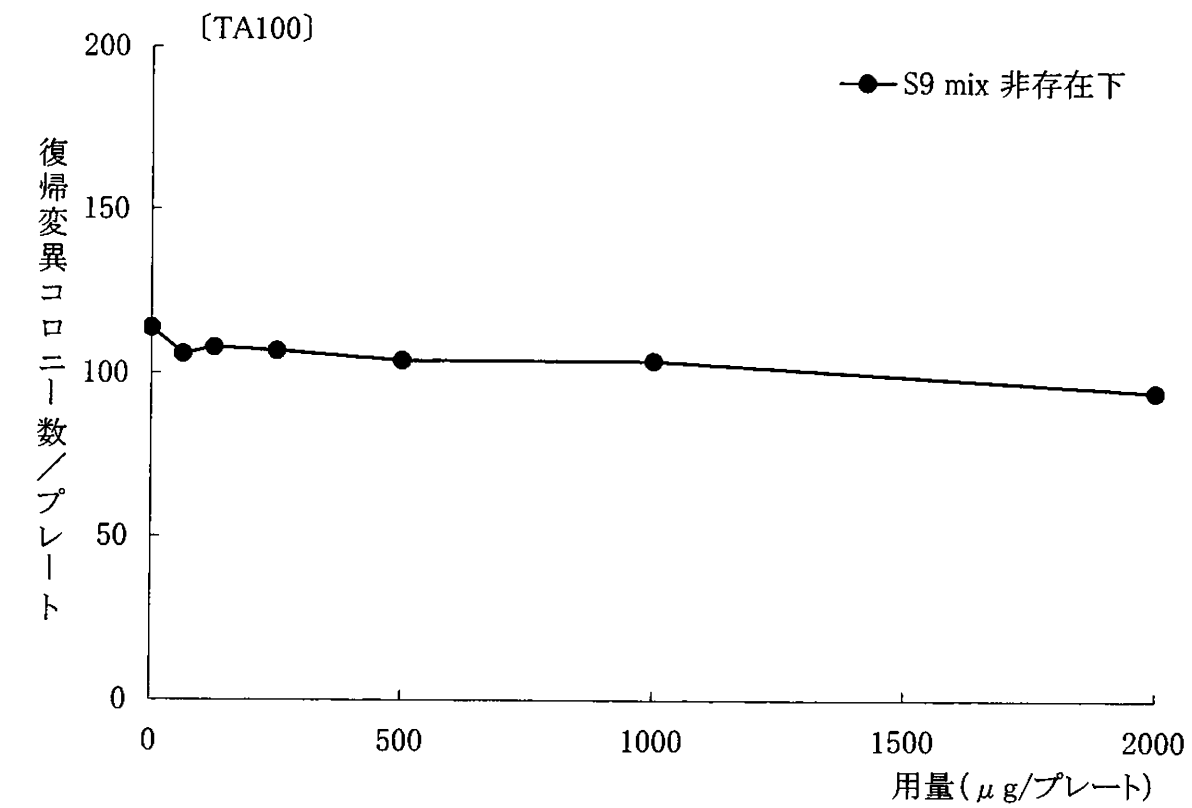


図 1-1 ビスフェノールA-EO (平均付加モル数5モル) の復帰変異試験結果—本試験1回目

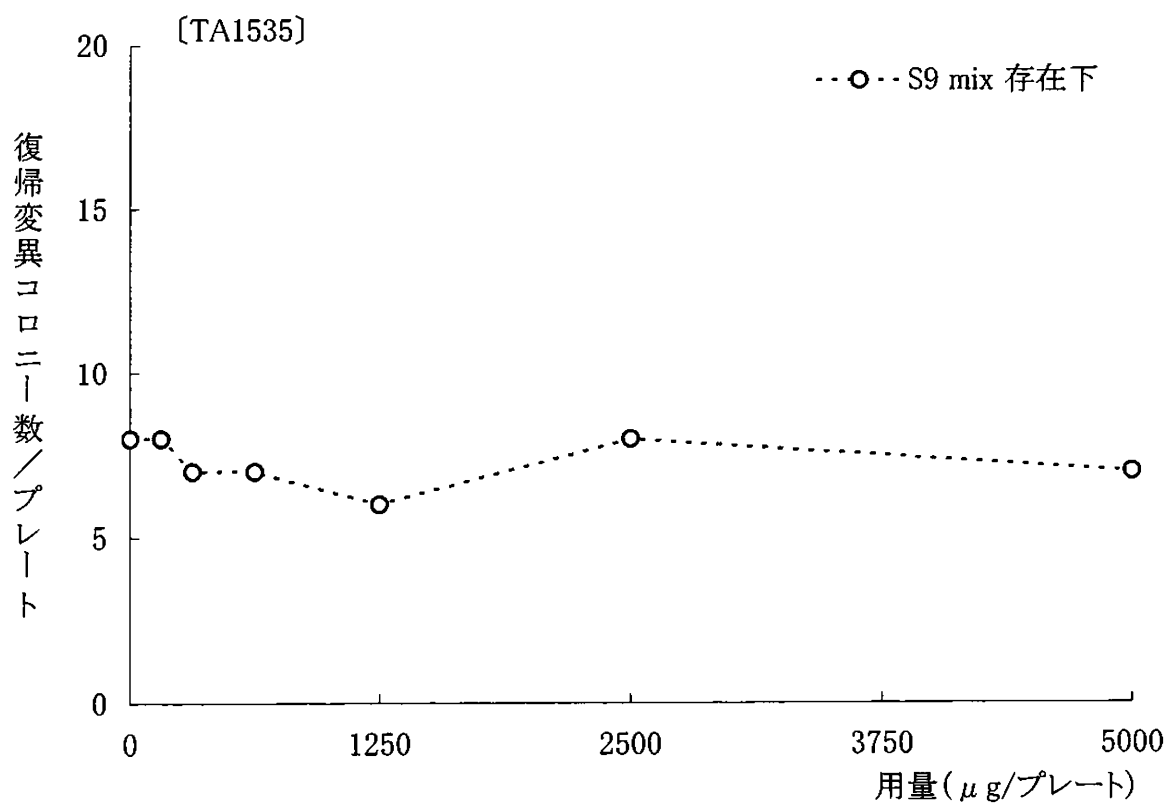
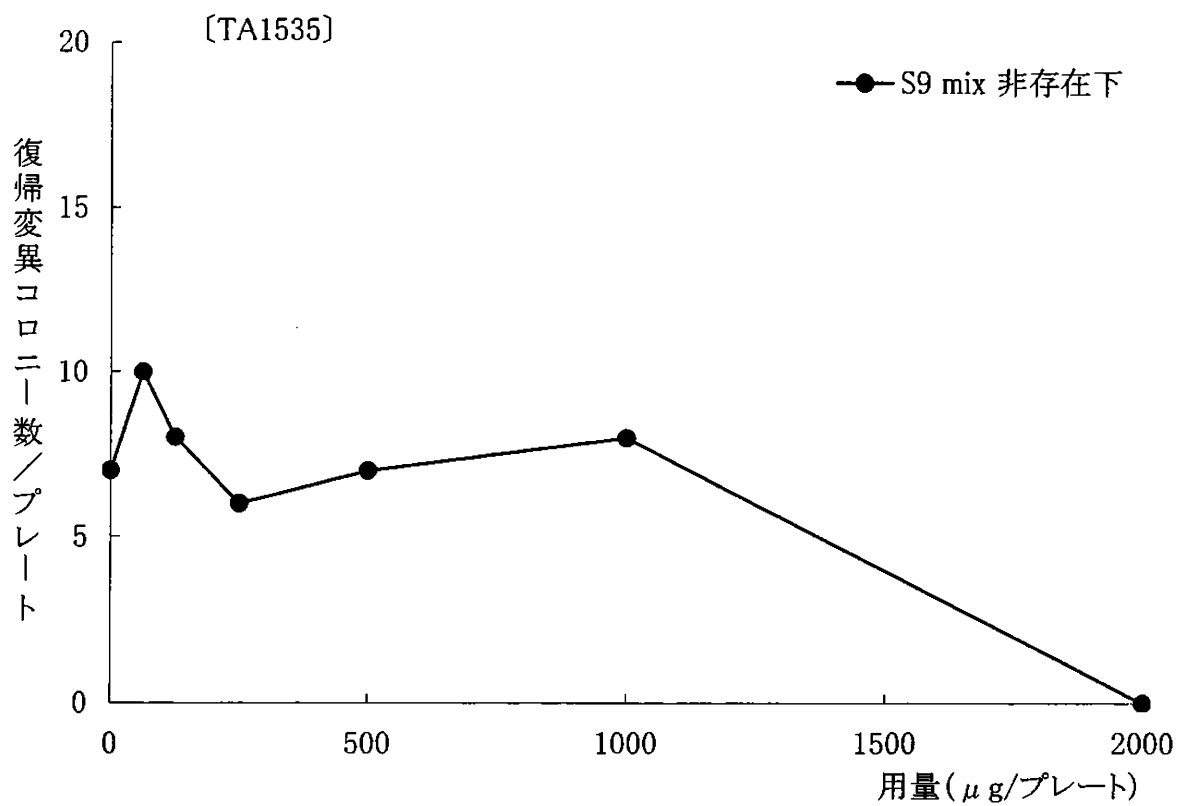


図 1-2 ビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の復帰変異試験結果—本試験1回目

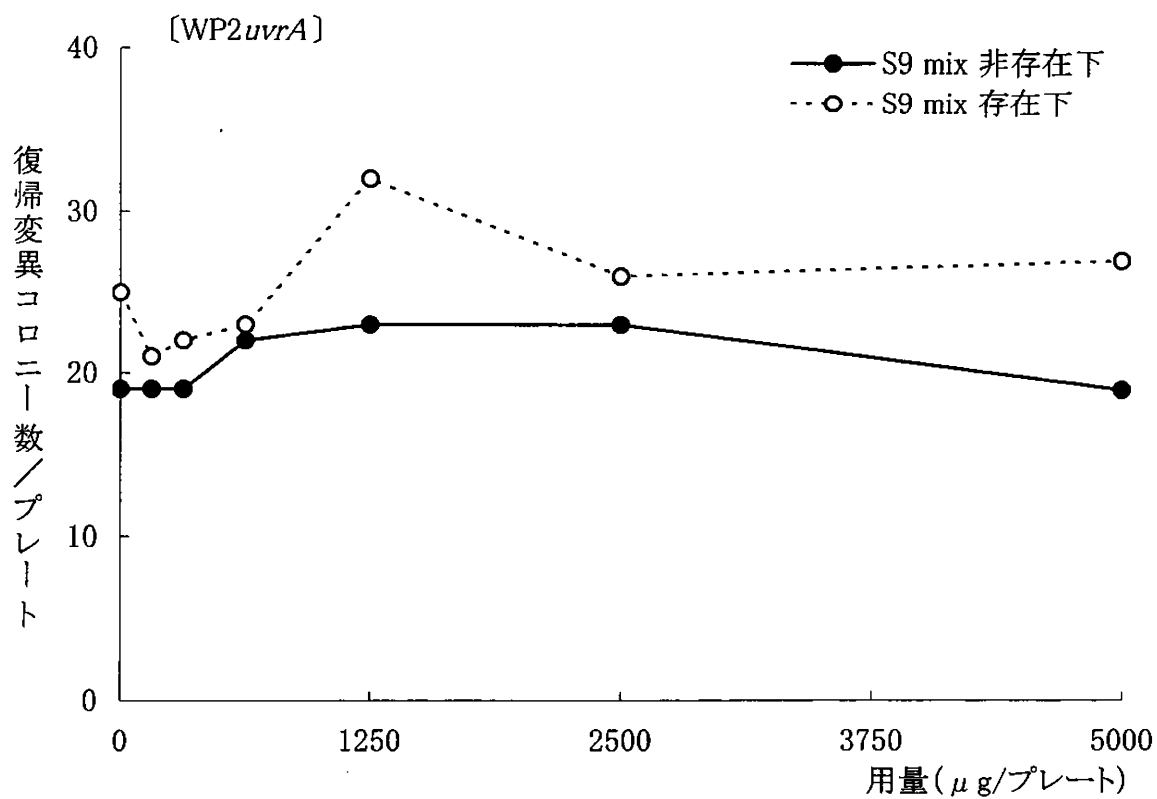


図 1-3 ビスフェノールA-EO (平均付加モル数5モル) の復帰変異試験結果—本試験1回目

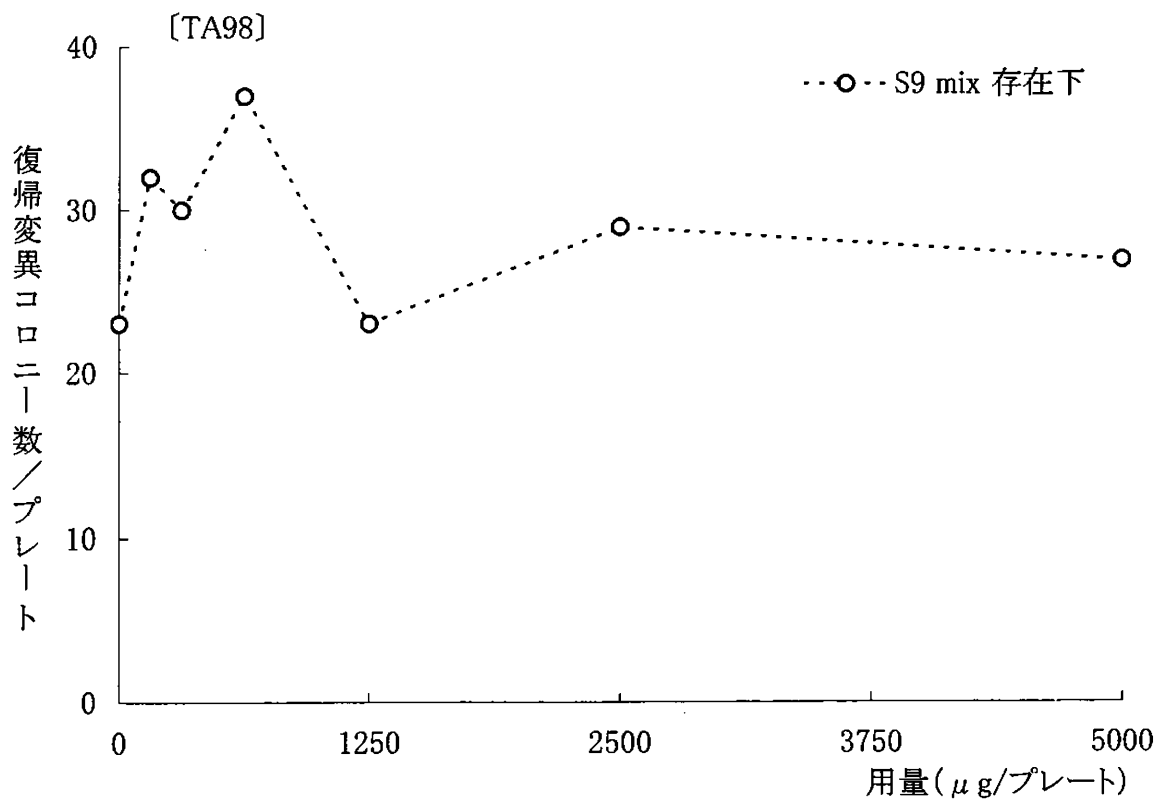
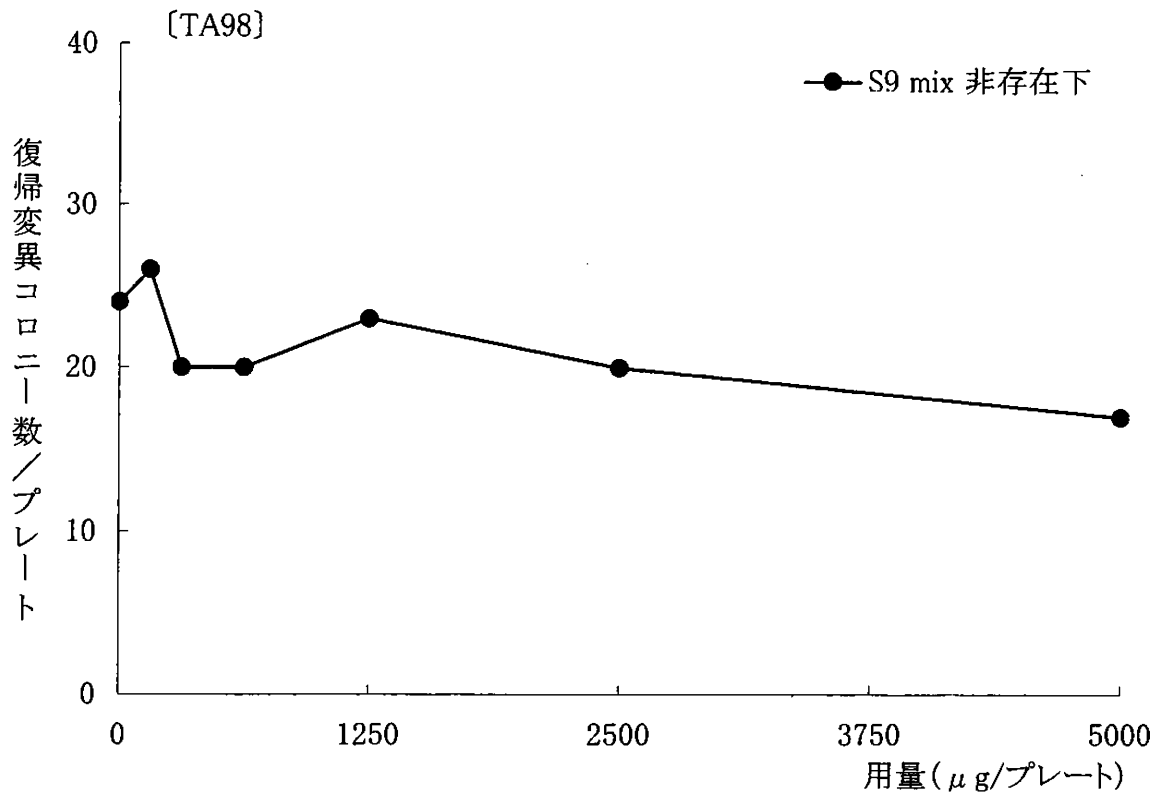


図 1-4 ビスフェノールA-EO (平均付加モル数5モル) の復帰変異試験結果—本試験1回目

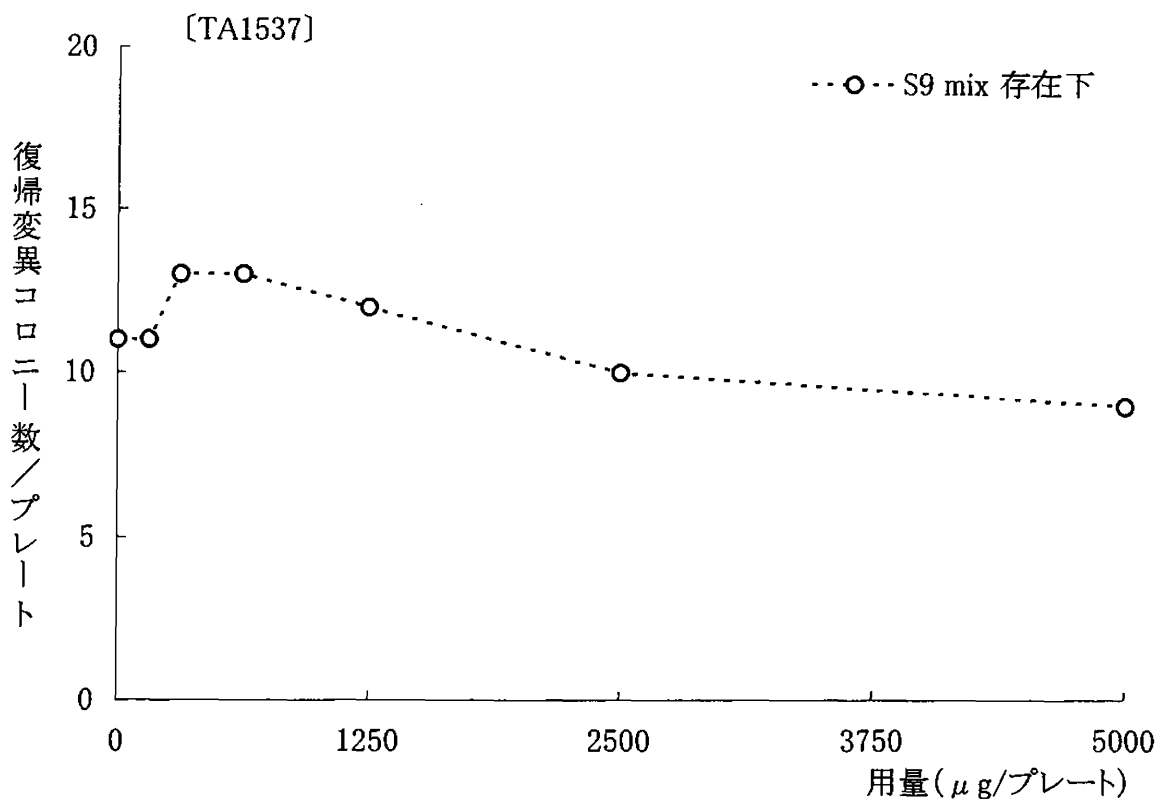
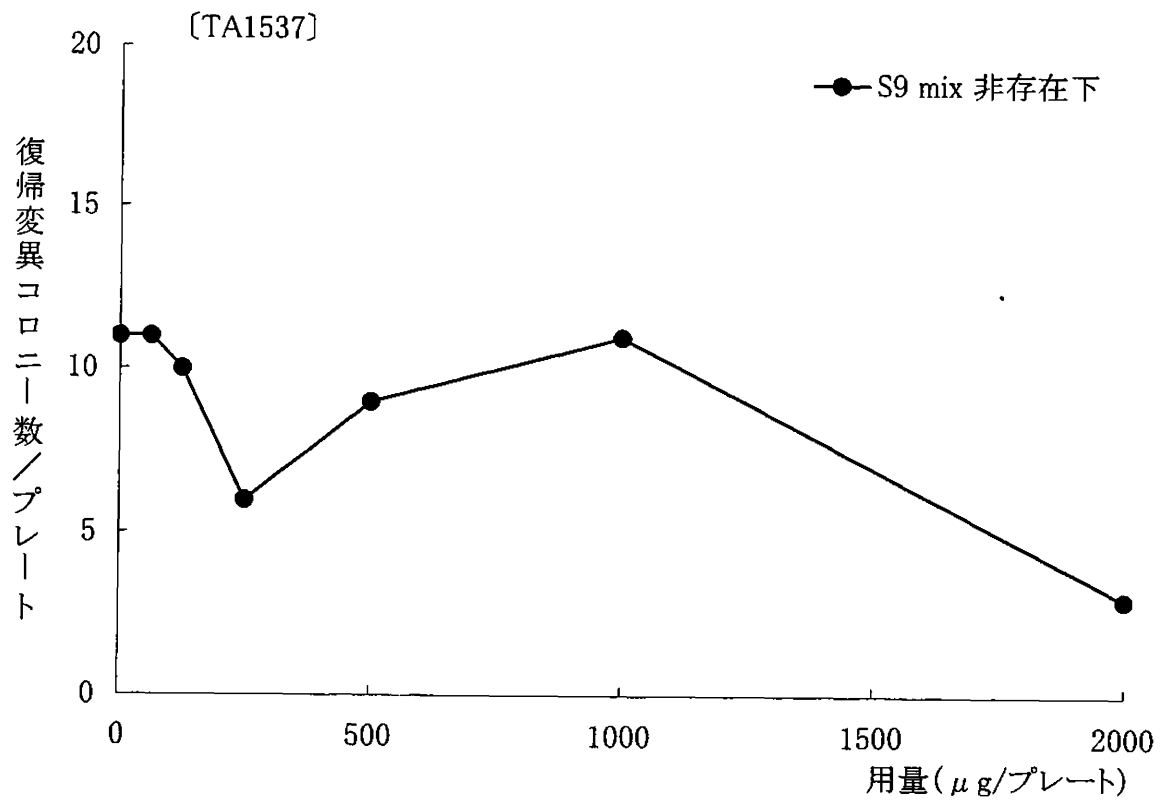


図 1-5 ビスフェノールA-EO (平均付加モル数5モル)の復帰変異試験結果—本試験1回目

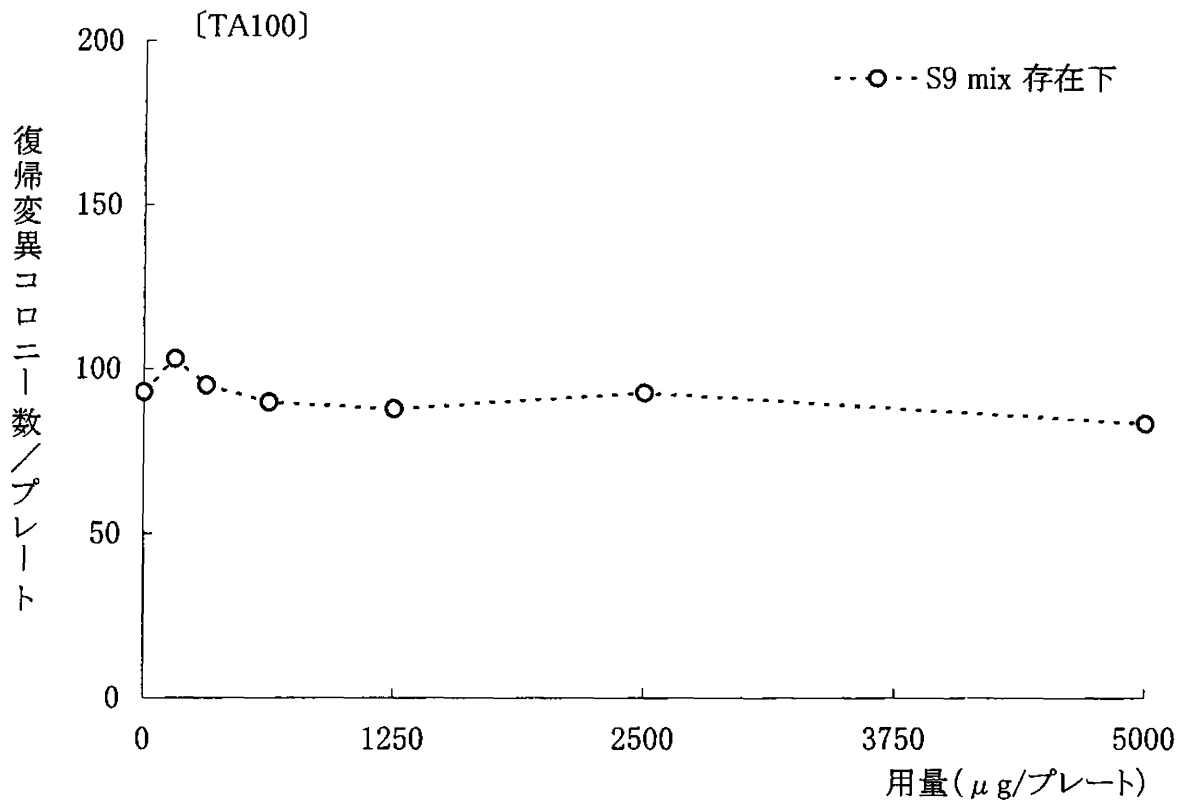
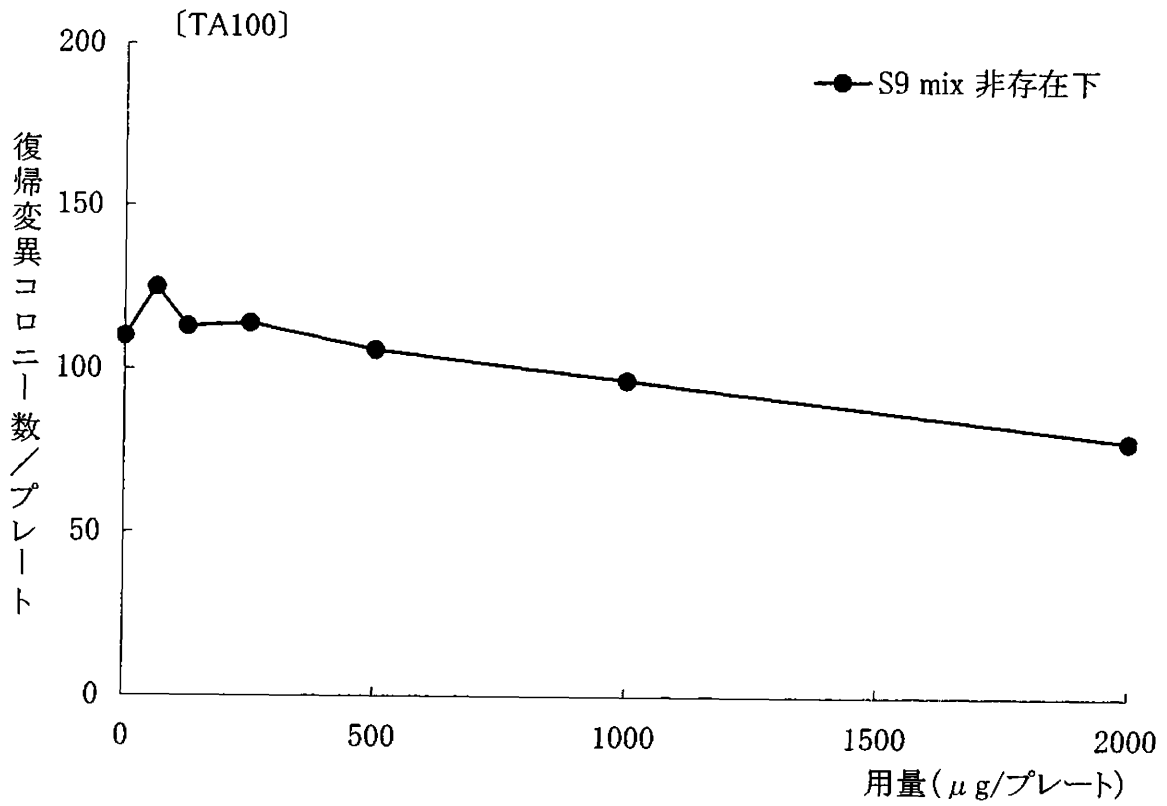


図 2-1 ビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の復帰変異試験結果—本試験2回目

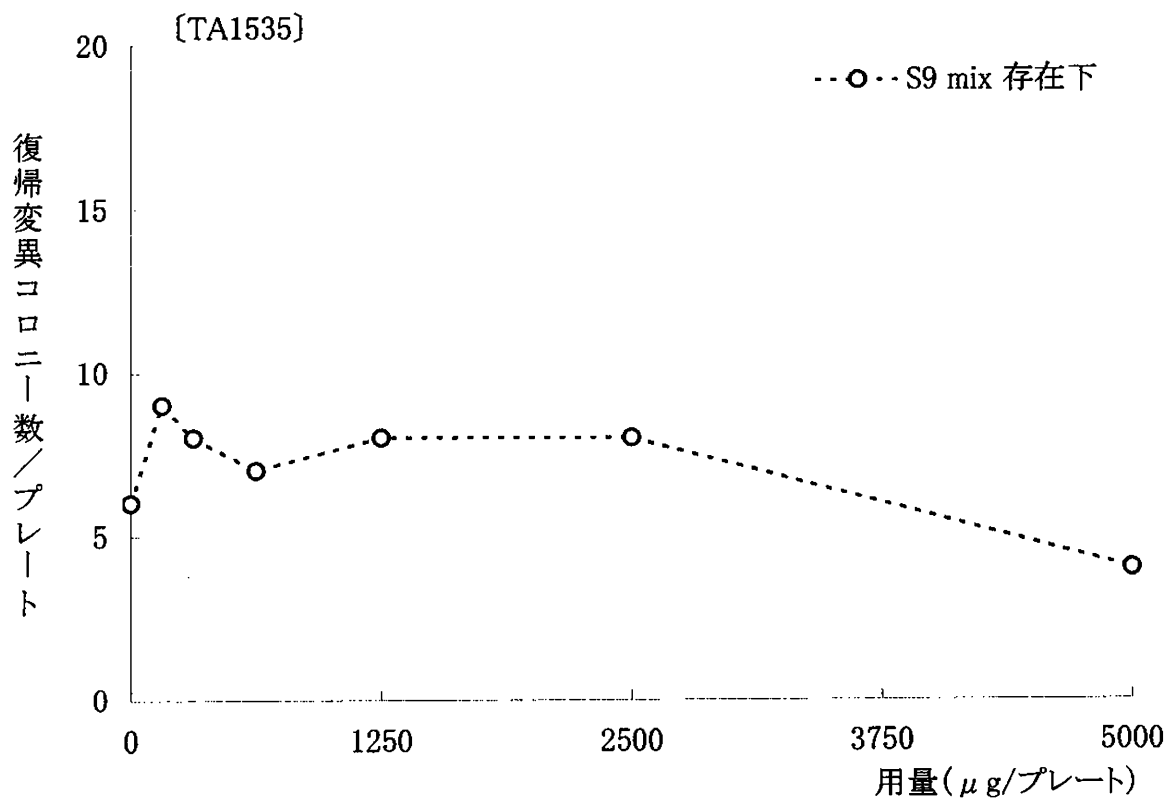
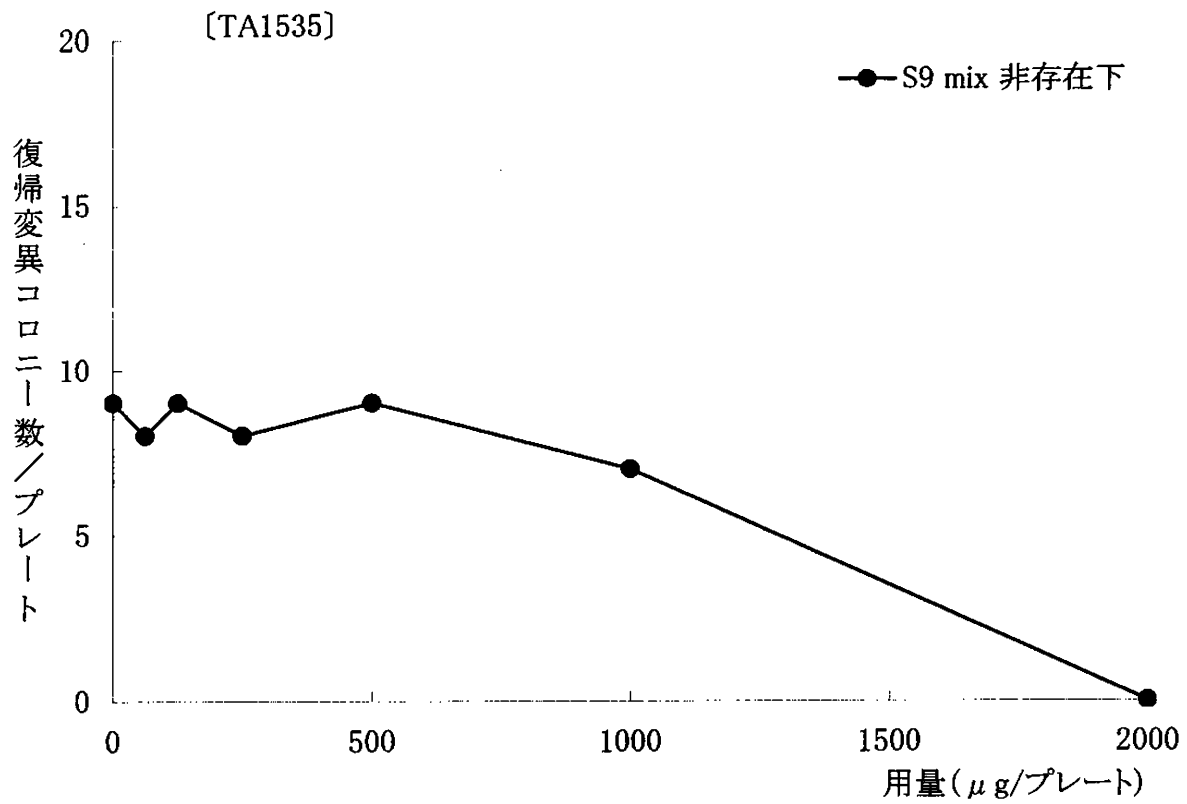


図 2-2 ビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の復帰変異試験結果一本試験2回目

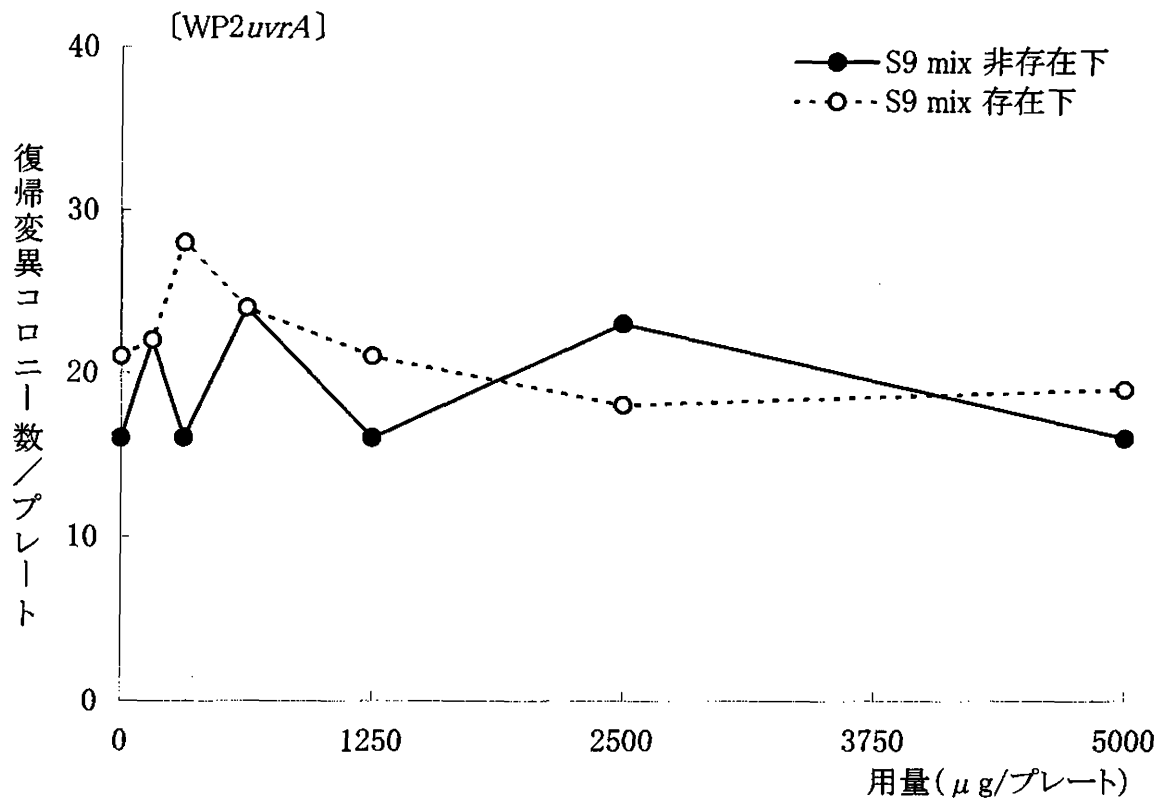


図 2-3 ビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の復帰変異試験結果一本試験2回目

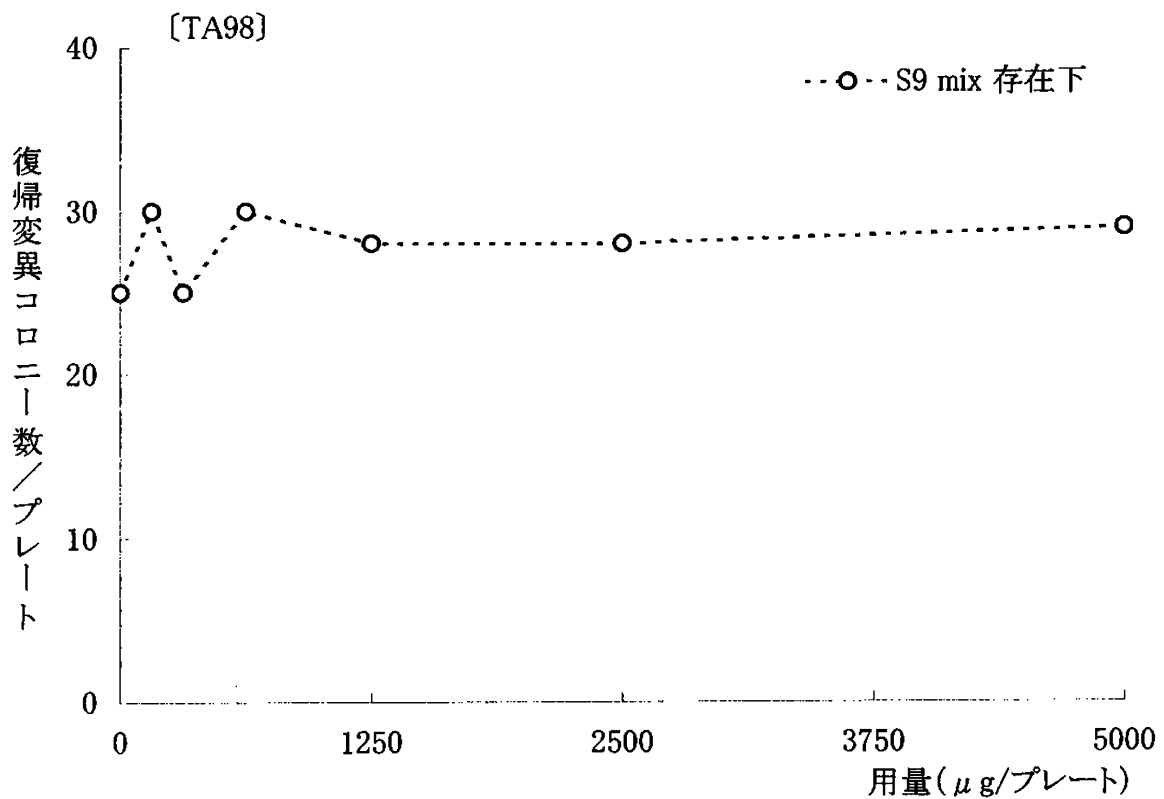
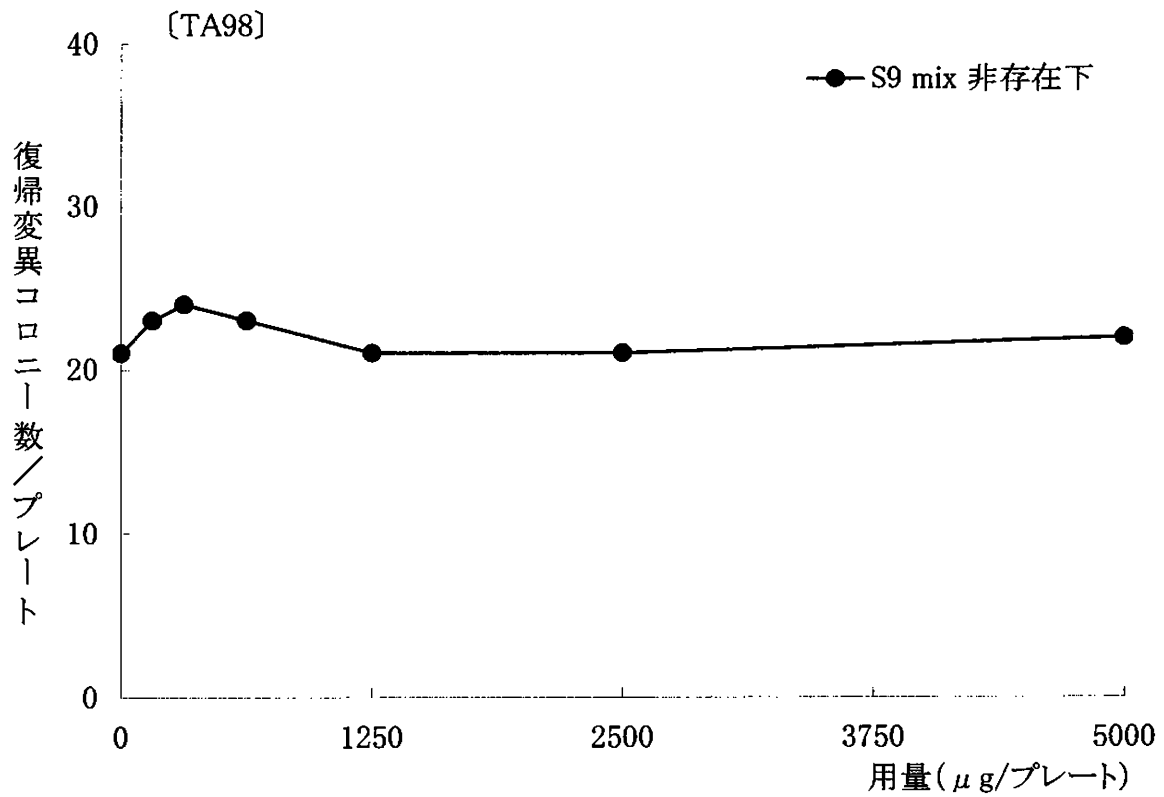


図 2-4 ビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の復帰変異試験結果—本試験2回目

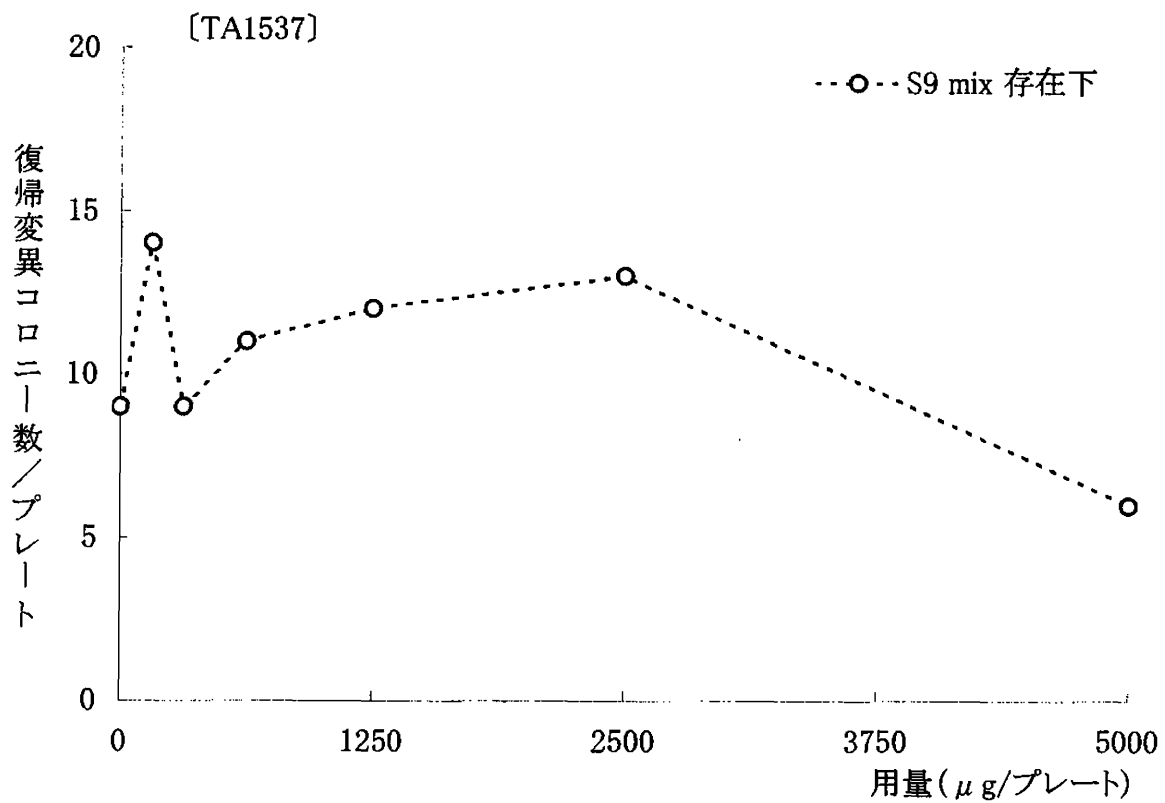
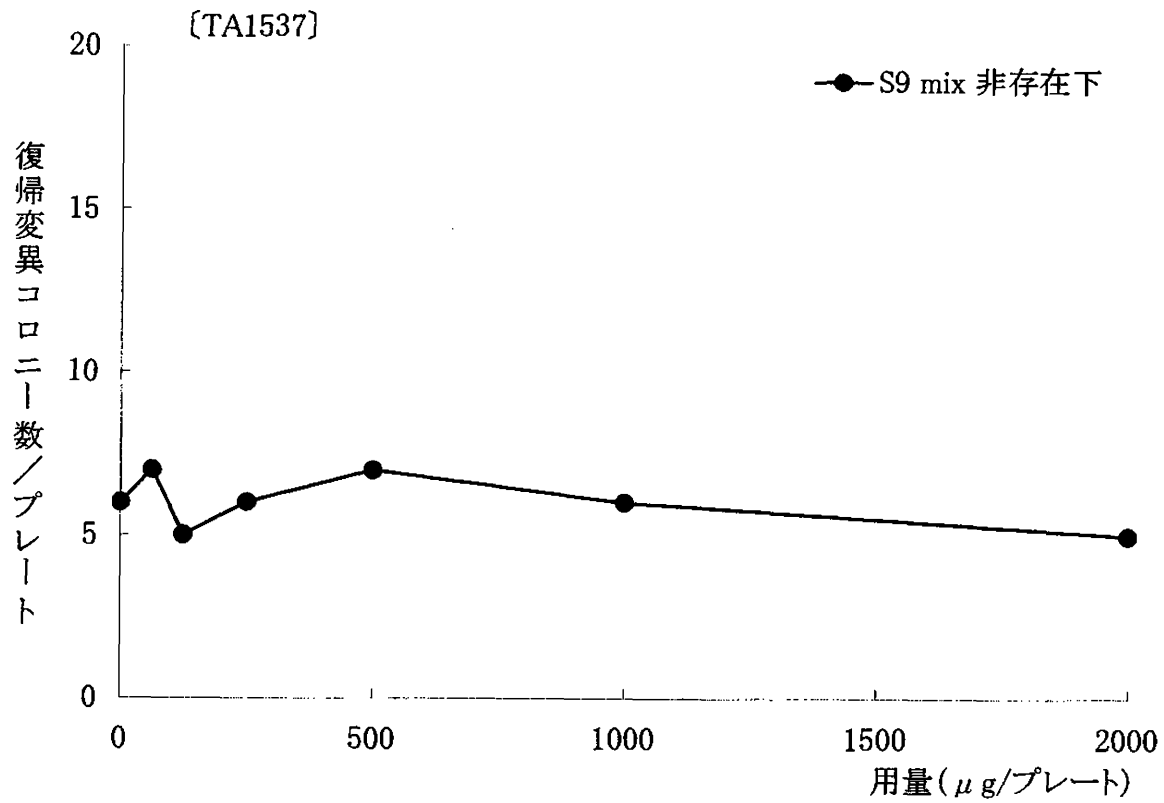


図 2-5 ビスフェノールA-EO(平均付加モル数5モル)の復帰変異試験結果—本試験2回目