厚生省生活衛生局　殿

# 試　験　報　告　書

3-ﾌｪﾉｷｼﾄﾙｴﾝの細菌を用いる復帰変異試験

（試験番号：5L553）

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 ---------- 9

3. 培　地 ---------- 9

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

5. 試験方法 ---------- 10

結果および結論 ---------- 12

参考文献 ---------- 13

表 ---------- 14

図 ---------- 17

# 要　約

3-ﾌｪﾉｷｼﾄﾙｴﾝについて，*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 ～ 1.22 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ ( 公比 4) の 7 濃度で実施した結果，TA98, TA100, TA1535, TA1537 および S9 mix 共存下の WP2*uvrA* ではいずれも抗菌性を示す濃度が得られたが，S9 mix 非共存下の WP2*uvrA* では 5000 μg/ﾌﾟﾚｰﾄまで抗菌性は確認されなかった．この結果を基に，S9 mix 非共存下の TA98, TA100, TA1535, TA1537 は 78.1 ～ 1.22 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ ( 公比 2) の 7 濃度を，WP2*uvrA* は 5000 ～ 313 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ ( 公比 2) の 5 濃度を，S9 mix 共存下の TA98, TA100, TA1535, TA1537 は 313 ～ 4.88 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ ( 公比 2) の 7 濃度を，WP2*uvrA* は 2500 ～ 39.1 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ ( 公比 2) の 7 濃度を設定し，本試験を 2 回実施した．2 回の本試験ともに，S9 mix の有無によらず，いずれの菌株においても陰性対照値の 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，3-ﾌｪﾉｷｼﾄﾙｴﾝは本試験条件下では変異原性を有さないと結論した．

# 材料および方法

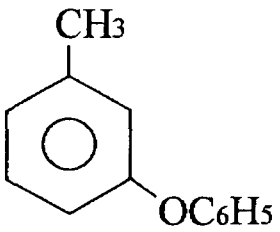
## 1. 試験物質

### 1.1 被験物質

から購入した 3- ﾌｪﾉｷｼﾄﾙｴﾝ (CAS No. 3586-14-9, ロット番号：純度 99.0%) を冷蔵，暗所で保管し，使用した．被験物質は下記の化学名，構造式，分子量および不純物を有する水に不溶の無色透明液体である．試験に使用したロットの安定性は，被験物質供給者が実験開始前および実験終了後に分析し，確認した．

化学名：ﾌｪﾆﾙ m- ﾄﾘﾙｴｰﾃﾙ

構造式：




分子量： 184.24

不純物：水分 0.02%

### 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㈱ | 708S1611 | 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 | 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

より 1983 年 5 月 27 日に入手した *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 および 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 | | | 突然変異型 |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 修復 | 膜 | 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

液体完全培地中で 37 ℃で 8 時間振盪培養した各菌懸濁液 4 ml に対し，0.35 ml の割合でジメチルスルホキシド (DMSO と略す；関東化学㈱，ﾛｯﾄ番号 610E1229) を加える．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，超低温槽に -80 ℃以下で凍結保存したものを使用した.

### 2.4 菌懸濁液

凍結保存した各菌懸濁液を解凍後，各々 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．菌懸濁液は，濁度計を用いて菌濃度を測定した.

## 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 067 54134) 20 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 AN020IK) 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 37430AJA) 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, 予め調製しておいた 0.5 mM D- ビオチン, L- ヒスチジンおよび L- トリプトファン混合水溶液を 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 回反復腹腔内投与 ) および 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-337) 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 1ml 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 | |

5. 試験方法 [3)]

5.1 被験物質溶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 の濃度で水に不溶, 約 1000 mg/ml の濃度で DMSO に溶解したため, 溶媒には DMSO を用いた.

被験物質を 50 mg/ml の濃度で DMSO に溶解し, これを希釈して各濃度の被験物質溶液を調製した.

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 K5A81) に, その他は

DMSO に溶解した.

5.2 被験物質濃度

予備試験を 5000, 1250, 313, 78.1, 19.5, 4.88, 1.22 μg/プレートで実施した結果, S9 mix 非共存下では TA98, TA100, TA1535, TA1537 の 78.1 μg/プレート以上で抗菌性が認められたが, WP2*uvrA* では 5000 μg/プレートまで抗菌性は確認されなかった. S9 mix 共存下では TA98, TA100, TA1535, TA1537 の 313 μg/プレート以上, WP2*uvrA* の 1250 μg/プレート以上で抗菌性が認められた. この結果を基に, S9 mix 非共存下の TA98, TA100, TA1535, TA1537 は 78.1, 39.1, 19.5, 9.77, 4.88, 2.44, 1.22 μg/プレートの 7 濃度を, WP2*uvrA* は 5000, 2500, 1250, 625, 313 μg/プレートの 5 濃度を, S9 mix 共存下の TA98, TA100, TA1535, TA1537 は 313, 156, 78.1, 39.1, 19.5, 9.77, 4.88 μg/プレートの 7 濃度を, WP2*uvrA* は 2500, 1250, 625, 313, 156, 78.1, 39.1 μg/プレートの 7 濃度を設定し, 本試験を 2 回実施した.

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溶液を 0.1 ml, 0.1 Mナトリウム－リン酸緩衝液 (pH7.4) 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－リン酸緩衝液の代わりに S9 mix を 0.5 ml 添加した. 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, 被験物質による抗菌性の有無を調べた後, 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で計測した. 予備試験は各濃度あたり 1 枚のプレートを使用した. 本試験は各濃度あたり 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.

陰性対照物質および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

最高濃度の被験物質溶液または S9 mix のみを，トップアガーとともに最少グルコース寒天平板培地上に播き，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，被験物質濃度の増加にともなって復帰変異コロニー数（平均値）が陰性対照値の 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，その他の場合はすべて陰性と判定した．試験結果の判定には統計学的手法は用いなかった．

# 結果および結論

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, 1.22 μg/ﾌﾟﾚｰﾄで実施した結果，S9 mix 非共存下では TA98, TA100, TA1535, TA1537 の 78.1 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ以上で抗菌性が認められたが，WP2*uvrA* では 5000 μg/ﾌﾟﾚｰﾄまで抗菌性は確認されなかった．S9 mix 共存下では TA98, TA100, TA1535, TA1537 の 313 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ以上，WP2*uvrA* の 1250 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ以上で抗菌性が認められた．この結果を基に，S9 mix 非共存下の TA98, TA100, TA1535, TA1537 は 78.1 ～ 1.22 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ（公比 2）の 7 濃度を，WP2*uvrA* は 5000 ～ 313 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ（公比 2）の 5 濃度を，S9 mix 共存下の TA98, TA100, TA1535, TA1537 は 313 ～ 4.88 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ（公比 2）の 7 濃度を，WP2*uvrA* は 2500 ～ 39.1 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ（公比 2）の 7 濃度を設定し，本試験を 2 回実施した．2 回の本試験ともに，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．

S9 mix 共存下の 2500 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ以上の濃度で沈殿物が認められた．

以上の結果から，3-ﾌｪﾉｷｼﾄﾙｴﾝは本試験条件下では変異原性を有さない（陰性）と結論した．

# 参 考 文 献

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

2) Green, M.H.L., Muriel, W.J.; Mutagen testing using trp $^{+}$ reversion in *Escherichia coli*, *Mutat. Res.*, **38**,3-32. (1976)

3) 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", 中央労働災害防止協会, 東京. (1991)

表　1

# 予備試験結果表

被験物質の名称　：　3-フェノキシトルエン　(No. 5L553)

| 代謝活性化系の有無 | 被験物質濃度 (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 | WP2uvrA | TA98 | TA1537 |
| S9mix (−) | 溶媒対照 | 110 | 16 | 24 | 26 | 8 |
| | 1.22 | 119 | 18 | 22 | 22 | 11 |
| | 4.88 | 119 | 13 | 21 | 19 | 11 |
| | 19.5 | 82 | 13 | 15 | 19 | 13 |
| | 78.1 | 77* | 0* | 22 | 0* | 0* |
| | 313 | 0* | 0* | 14 | 0* | 0* |
| | 1250 | 0* | 0* | 16 | 0* | 0* |
| | 5000 | 0*C | 0*C | 15 C | 0*C | 0*C |
| S9mix (+) | 溶媒対照 | 119 | 17 | 29 | 28 | 7 |
| | 1.22 | 124 | 23 | 24 | 25 | 13 |
| | 4.88 | 137 | 19 | 20 | 33 | 13 |
| | 19.5 | 126 | 17 | 21 | 41 | 10 |
| | 78.1 | 126 | 9 | 30 | 35 | 12 |
| | 313 | 0* | 0* | 23 | 0* | 0* |
| | 1250 | 0* | 0* | 28* | 0* | 0* |
| | 5000 | 0* | 0* | 23* | 0* | 0* |

(備考) *：抗菌性が認められた.
C：沈殿物が認められた.

表 2

# 試験結果表（本試験 1）

被験物質の名称 ： 3-フェノキシトルエン　　(No. 5L553)

| 代謝活性化系の有無 | 被験物質濃度 (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 TA100 | TA1535 | WP2uvrA | フレームシフト型 TA98 | TA1537 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| S9mix (−) | 溶媒対照 | 93<br>119 (107)<br>109 (±13) | 10<br>6 (10)<br>14 (± 4) | 46<br>48 (47)<br>46 (± 1) | 19<br>24 (21)<br>21 (± 3) | 14<br>13 (12)<br>10 (± 2) |
| | 1.22 | 106<br>116 (110)<br>109 (± 5) | 4<br>8 (7)<br>10 (± 3) | (± ) | 24<br>24 (25)<br>26 (± 1) | 13<br>14 (14)<br>16 (± 2) |
| | 2.44 | 99<br>104 (98)<br>90 (± 7) | 9<br>14 (10)<br>6 (± 4) | (± ) | 22<br>22 (22)<br>21 (± 1) | 14<br>14 (14)<br>14 (± 0) |
| | 4.88 | 102<br>111 (104)<br>99 (± 6) | 7<br>7 (8)<br>9 (± 1) | (± ) | 26<br>24 (24)<br>21 (± 3) | 10<br>16 (11)<br>7 (± 5) |
| | 9.77 | 91<br>82 (90)<br>96 (± 7) | 9<br>8 (9)<br>9 (1) | (± ) | 18<br>20 (21)<br>25 (± 4) | 7<br>9 (9)<br>12 (± 3) |
| | 19.5 | 97<br>74 (86)<br>86 (±12) | 7<br>11 (7)<br>4 (± 4) | (± ) | 12<br>16 (15)<br>18 (± 3) | 12<br>12 (14)<br>18 (± 3) |
| | 39.1 | 57*<br>81* (68)<br>66* (±12) | 5*<br>5* (4)<br>3* (± 1) | (± ) | 11*<br>16* (11)<br>5* (± 6) | 3*<br>5* (5)<br>8* (± 3) |
| | 78.1 | 71*<br>68* (63)<br>49* (±12) | 0*<br>0* (0)<br>0* (± 0) | (± ) | 0*<br>0* (0)<br>0* (± 0) | 0*<br>0* (0)<br>0* (± 0) |
| | 313 | (± ) | (± ) | 24<br>19 (22)<br>24 (± 3) | (± ) | (± ) |
| | 625 | (± ) | (± ) | 20<br>23 (20)<br>16 (± 4) | (± ) | (± ) |
| | 1250 | (± ) | (± ) | 21<br>21 (19)<br>15 (± 3) | (± ) | (± ) |
| | 2500 | (± ) | (± ) | 22 C<br>18 C (20)<br>21 C (± 2) | (± ) | (± ) |
| | 5000 | (± ) | (± ) | 21*C<br>23*C (21)<br>19*C (± 2) | (± ) | (± ) |
| S9mix (+) | 溶媒対照 | 109<br>119 (117)<br>122 (± 7) | 14<br>16 (15)<br>15 (± 1) | 52<br>51 (48)<br>42 (± 6) | 32<br>22 (27)<br>26 (± 5) | 22<br>13 (14)<br>8 (± 7) |
| | 4.88 | 123<br>136 (132)<br>137 (± 8) | 12<br>15 (15)<br>19 (± 4) | (± ) | 18<br>20 (23)<br>32 (± 8) | 11<br>17 (13)<br>10 (± 4) |
| | 9.77 | 132<br>121 (133)<br>146 (±13) | 13<br>7 (10)<br>9 (± 3) | (± ) | 33<br>34 (36)<br>41 (± 4) | 13<br>19 (14)<br>9 (± 5) |
| | 19.5 | 128<br>139 (128)<br>117 (±11) | 5<br>16 (10)<br>9 (± 6) | (± ) | 28<br>27 (26)<br>24 (± 2) | 26<br>20 (21)<br>16 (± 5) |
| | 39.1 | 136<br>121 (130)<br>134 (± 8) | 8<br>11 (10)<br>12 (± 2) | 45<br>31 (40)<br>43 (± 8) | 22<br>36 (29)<br>29 (± 7) | 21<br>20 (21)<br>23 (± 2) |
| | 78.1 | 132<br>113 (115)<br>100 (±16) | 13<br>10 (11)<br>10 (± 2) | 53<br>40 (48)<br>50 (± 7) | 36<br>25 (30)<br>30 (± 6) | 14<br>19 (15)<br>12 (± 4) |
| | 156 | 106*<br>85* (94)<br>90* (±11) | 15*<br>9* (9)<br>4* (± 6) | 46<br>28 (38)<br>39 (± 9) | 21*<br>29* (22)<br>15* (± 7) | 9*<br>8* (7)<br>4* (± 3) |
| | 313 | 0*<br>0* (0)<br>0* (± 0) | 0*<br>0* (0)<br>0* (± 0) | 29<br>28 (30)<br>34 (± 3) | 0*<br>0* (0)<br>0* (± 0) | 0*<br>0* (0)<br>0* (± 0) |
| | 625 | (± ) | (± ) | 37*<br>35* (33)<br>28* (± 5) | (± ) | (± ) |
| | 1250 | (± ) | (± ) | 30*<br>22* (25)<br>22* (± 5) | (± ) | (± ) |
| | 2500 | (± ) | (± ) | 22*<br>22* (20)<br>16* (± 3) | (± ) | (± ) |
| 陽性対照 S9mixを必要としないもの | 名称 | AF-2 | $NaN_3$ | ENNG | AF-2 | 9-AA |
| | 濃度 (μg/プレート) | 0.01 | 0.5 | 2 | 0.1 | 80 |
| | コロニー数 / プレート | 586<br>558 (562)<br>543 (±22) | 325<br>286 (323)<br>358 (±36) | 474<br>507 (498)<br>513 (±21) | 430<br>452 (463)<br>506 (±39) | 309<br>400 (377)<br>422 (±60) |
| 陽性対照 S9mixを必要とするもの | 名称 | 2-AA | 2-AA | 2-AA | 2-AA | 2-AA |
| | 濃度 (μg/プレート) | 1 | 2 | 10 | 0.5 | 2 |
| | コロニー数 / プレート | 792<br>853 (829)<br>842 (±33) | 309<br>336 (322)<br>321 (±14) | 886<br>841 (857)<br>844 (±25) | 266<br>232 (246)<br>240 (±18) | 198<br>159 (175)<br>168 (±20) |

（備考）*：抗菌性が認められた.
C：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，　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 ： 3-フェノキシトルエン (No. 5L553)

| 代謝活性化系の有無 | 被験物質濃度 (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 TA100 | TA1535 | WP2uvrA | フレームシフト型 TA98 | TA1537 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| S9mix (−) | 溶媒対照 | 94 95 97 (95) (±2) | 7 8 10 (8) (±2) | 49 38 31 (39) (±9) | 18 15 20 (18) (±3) | 14 14 12 (13) (±1) |
| | 1.22 | 111 108 90 (103) (±11) | 5 14 7 (9) (±5) | (±) | 24 18 18 (20) (±3) | 15 14 11 (13) (±2) |
| | 2.44 | 123 108 108 (113) (±9) | 11 7 10 (9) (±2) | (±) | 15 16 24 (18) (±5) | 10 18 19 (16) (±5) |
| | 4.88 | 100 90 91 (94) (±6) | 11 8 10 (10) (±2) | (±) | 15 11 24 (17) (±7) | 13 11 20 (15) (±5) |
| | 9.77 | 92 105 89 (95) (±9) | 9 6 10 (8) (±2) | (±) | 15 18 22 (18) (±4) | 21 16 20 (19) (±3) |
| | 19.5 | 80 100 75 (85) (±13) | 8 9 7 (8) (±1) | (±) | 10 27 16 (18) (±9) | 13 7 10 (10) (±3) |
| | 39.1 | 45* 56* 63* (55) (±9) | 9* 7* 3* (6) (±3) | (±) | 16* 17* 8* (14) (±5) | 7* 9* 5* (7) (±2) |
| | 78.1 | 0* 0* 0* (0) (±0) | 0* 0* 0* (0) (±0) | (±) | 0* 0* 0* (0) (±0) | 0* 0* 0* (0) (±0) |
| | 313 | (±) | (±) | 23 29 27 (26) (±3) | (±) | (±) |
| | 625 | (±) | (±) | 26 20 22 (23) (±3) | (±) | (±) |
| | 1250 | (±) | (±) | 22 25 26 (24) (±2) | (±) | (±) |
| | 2500 | (±) | (±) | 21 C 28 C 29 C (26) (±4) | (±) | (±) |
| | 5000 | (±) | (±) | 26*C 23*C 21*C (23) (±3) | (±) | (±) |
| S9mix (+) | 溶媒対照 | 127 109 120 (119) (±9) | 15 8 8 (10) (±4) | 46 43 46 (45) (±2) | 36 22 33 (30) (±7) | 14 11 21 (15) (±5) |
| | 4.88 | 119 139 98 (119) (±21) | 8 15 12 (12) (±4) | (±) | 36 30 26 (31) (±5) | 19 7 14 (13) (±6) |
| | 9.77 | 134 107 113 (118) (±14) | 9 5 11 (8) (±3) | (±) | 28 36 35 (33) (±4) | 25 20 16 (20) (±5) |
| | 19.5 | 146 144 147 (146) (±2) | 10 15 15 (13) (±3) | (±) | 30 31 30 (30) (±1) | 22 26 16 (21) (±5) |
| | 39.1 | 164 159 144 (156) (±10) | 20 10 7 (12) (±7) | 55 58 51 (55) (±4) | 26 38 37 (34) (±7) | 22 22 15 (20) (±4) |
| | 78.1 | 139 122 113 (125) (±13) | 5 15 14 (11) (±6) | 55 46 44 (48) (±6) | 26 24 31 (27) (±4) | 20 16 20 (19) (±2) |
| | 156 | 62* 64* 72* (66) (±5) | 7* 16* 8* (10) (±5) | 45 45 33 (41) (±7) | 21* 24* 26* (24) (±3) | 9* 15* 10* (11) (±3) |
| | 313 | 0* 0* 0* (0) (±0) | 0* 0* 0* (0) (±0) | 45 33 34 (37) (±7) | 0* 0* 0* (0) (±0) | 0* 0* 0* (0) (±0) |
| | 625 | (±) | (±) | 26* 27* 19* (24) (±4) | (±) | (±) |
| | 1250 | (±) | (±) | 18* 20* 22* (20) (±2) | (±) | (±) |
| | 2500 | (±) | (±) | 14* 18* 16* (16) (±2) | (±) | (±) |
| 陽性対照 S9mixを必要としないもの | 名称 | AF-2 | $NaN_3$ | ENNG | AF-2 | 9-AA |
| | 濃度 (μg/プレート) | 0.01 | 0.5 | 2 | 0.1 | 80 |
| | コロニー数/プレート | 684 779 649 (704) (±67) | 414 382 382 (393) (±18) | 622 486 470 (526) (±84) | 524 569 473 (522) (±48) | 412 484 508 (468) (±50) |
| 陽性対照 S9mixを必要とするもの | 名称 | 2-AA | 2-AA | 2-AA | 2-AA | 2-AA |
| | 濃度 (μg/プレート) | 1 | 2 | 10 | 0.5 | 2 |
| | コロニー数/プレート | 1075 986 1073 (1045) (±51) | 346 359 347 (351) (±7) | 1197 1037 1019 (1084) (±98) | 289 295 237 (274) (±32) | 193 196 200 (196) (±4) |

（備考）*：抗菌性が認められた.
C：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, 2-AA ： 2-アミノアントラセン

図　1　　（本試験　1）

被験物質名：3-ﾌｪﾉｷｼﾄﾙｴﾝ　　No.5L553

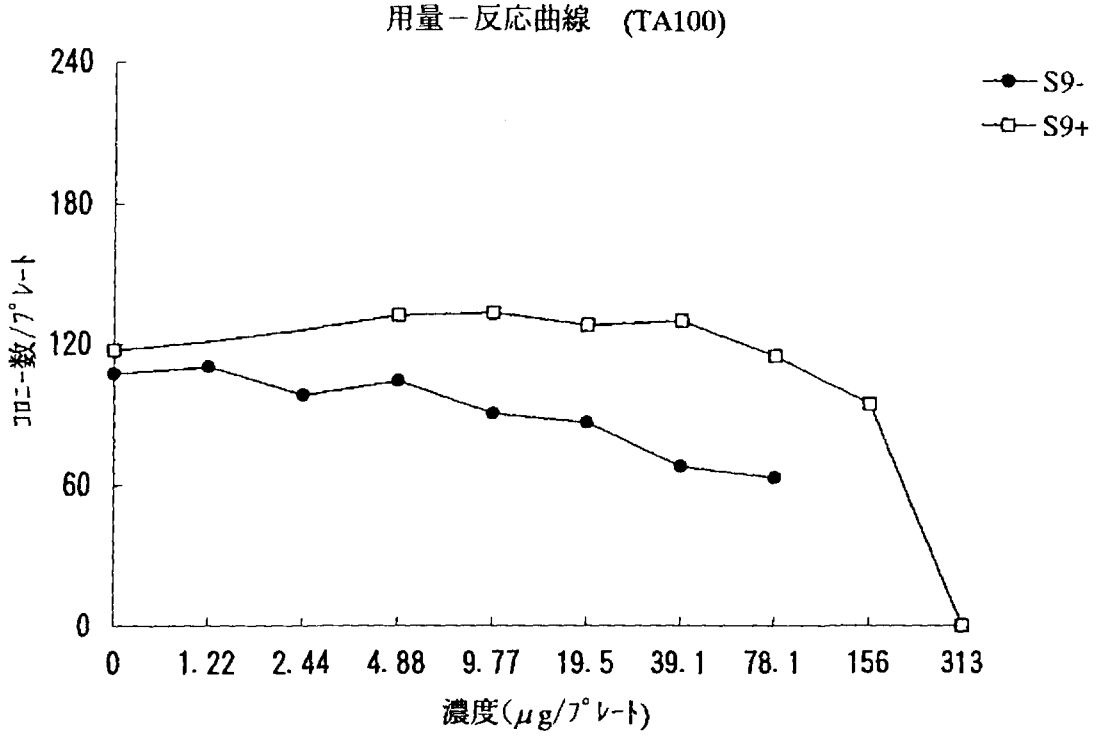



図　2　　（本試験　1）

被験物質名：3-ﾌｪﾉｷｼﾄﾙｴﾝ　　No.5L553

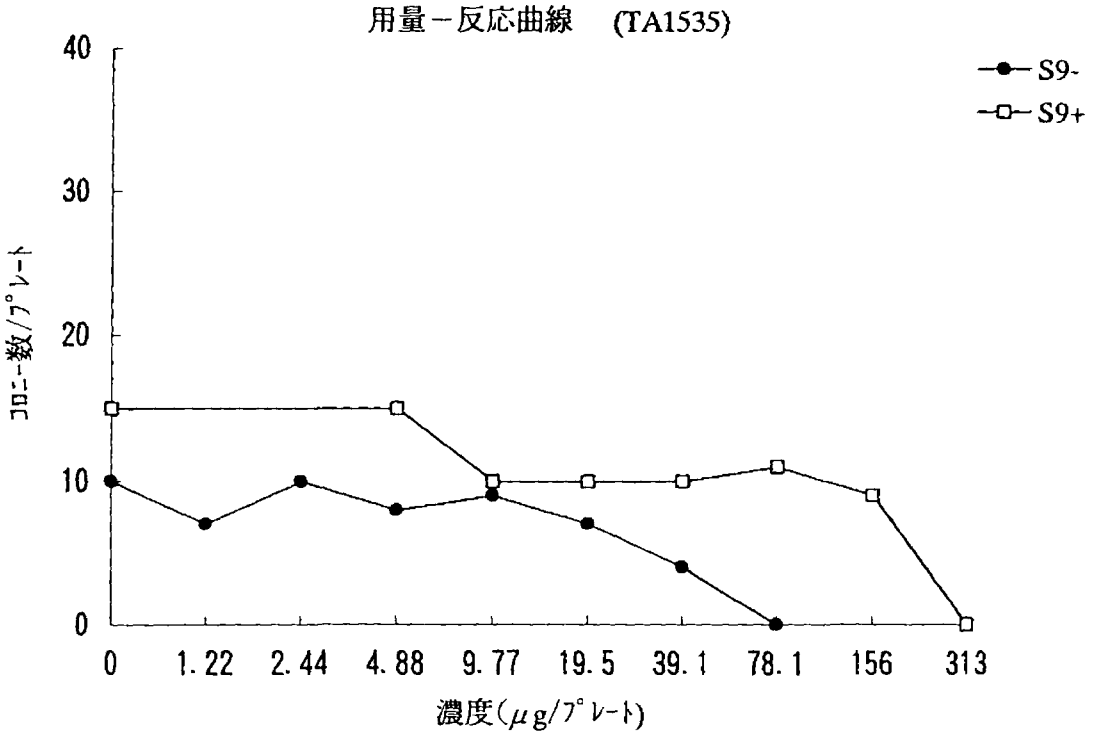


図　3　　（本試験　1）

被験物質名：3-ﾌｪﾉｷｼﾄﾙｴﾝ　　No.5L553

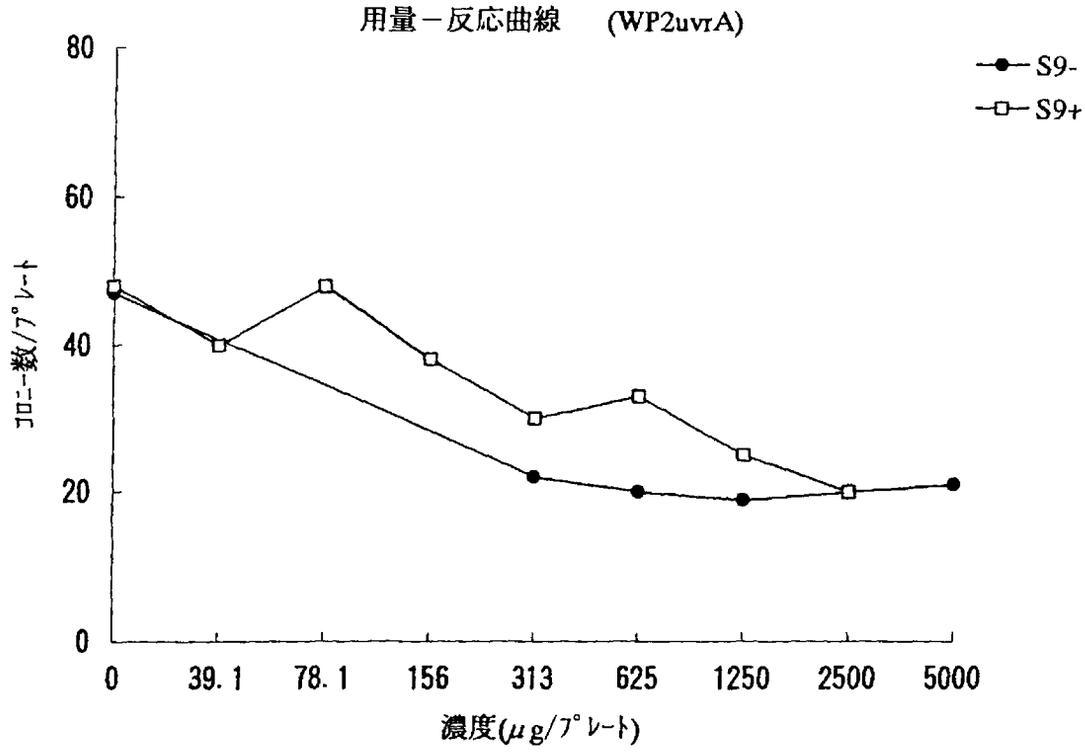



図　4　　（本試験　1）

被験物質名：3-ﾌｪﾉｷｼﾄﾙｴﾝ　　No.5L553

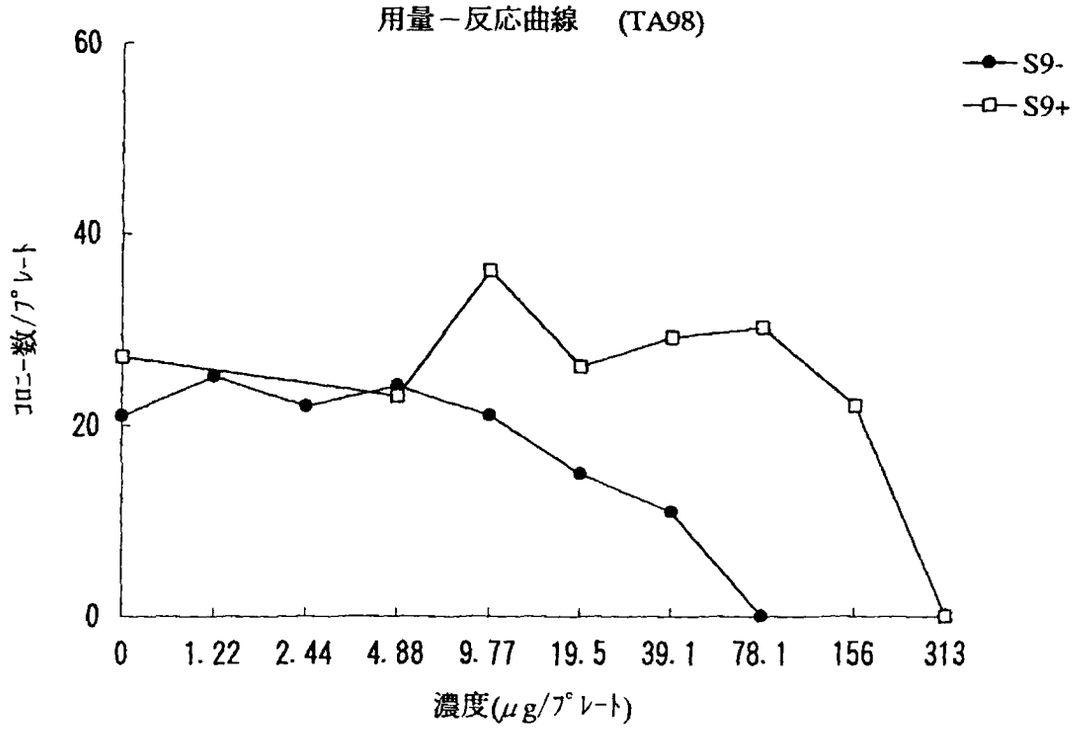


図　5　　（本試験　1）

被験物質名：3-ﾌｪﾉｷｼﾄﾙｴﾝ　　No.5L553

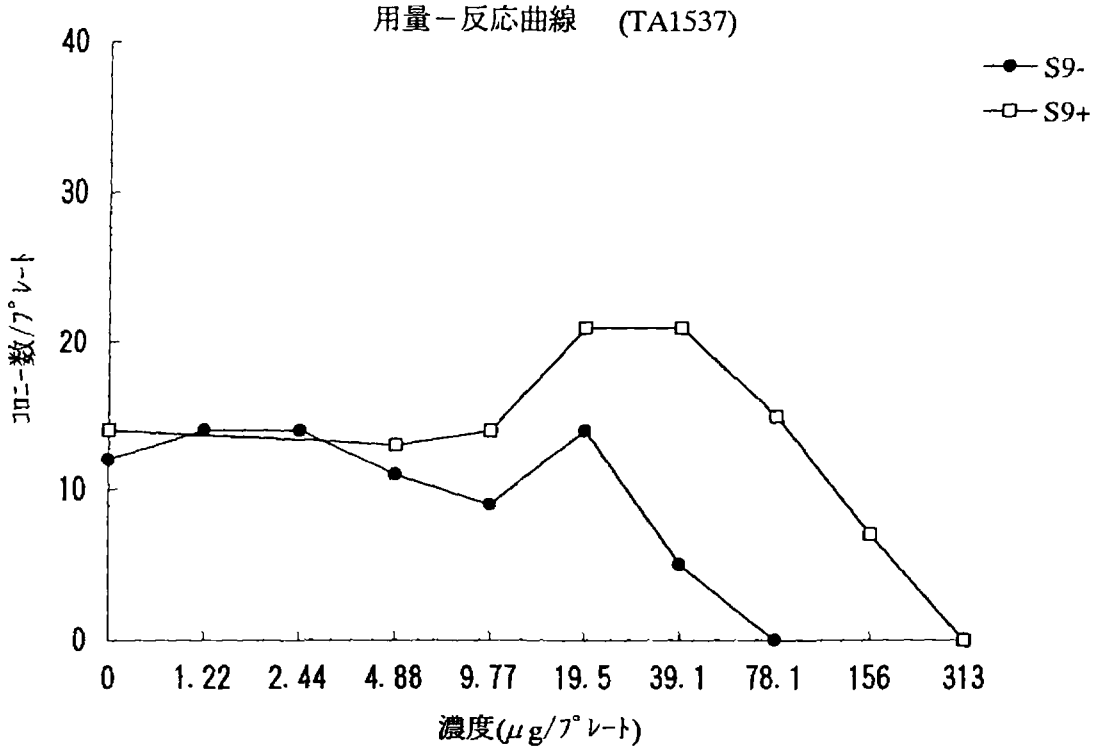


図　6　　（本試験　2）

被験物質名：3-ﾌｪﾉｷｼﾄﾙｴﾝ　　No.5L553

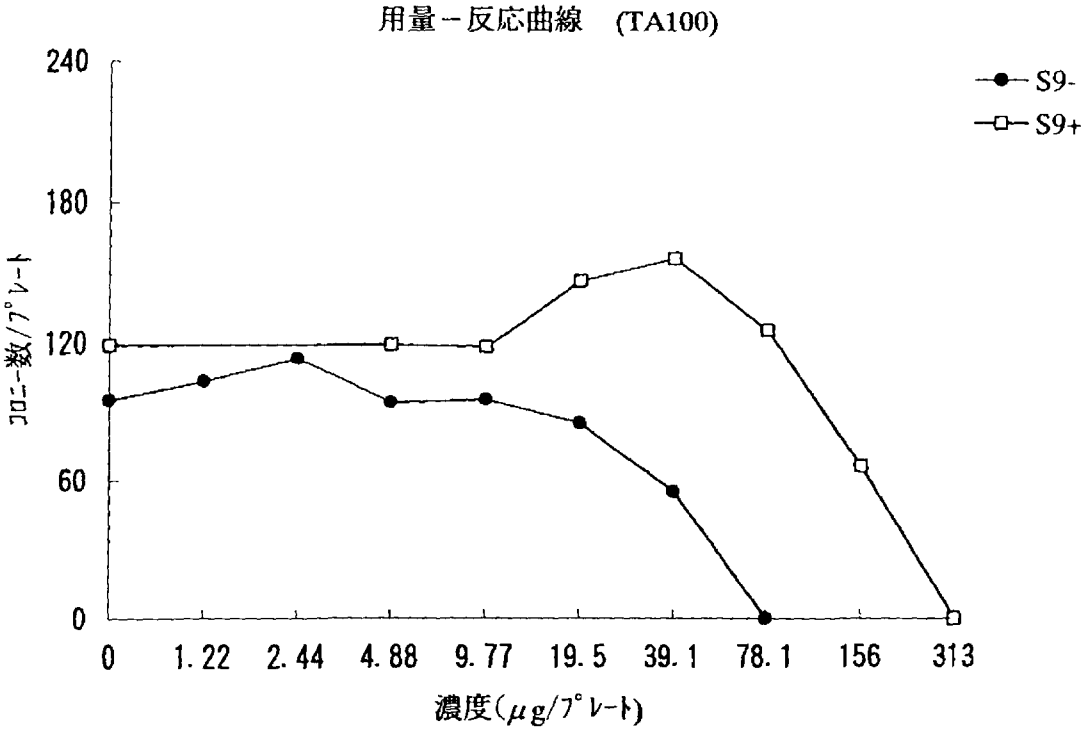



図　7　　（本試験　2）

被験物質名：3-ﾌｪﾉｷｼﾄﾙｴﾝ　　No.5L553

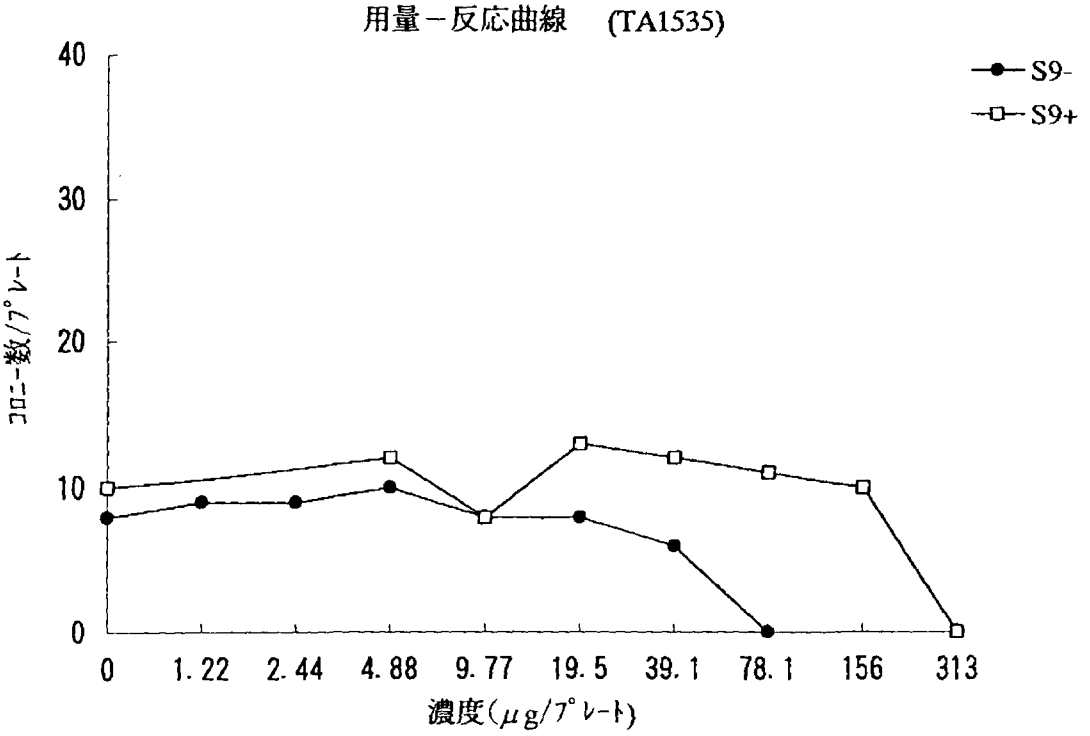


図　8　　（本試験　2）

被験物質名：3-ﾌｪﾉｷｼﾄﾙｴﾝ　　No.5L553

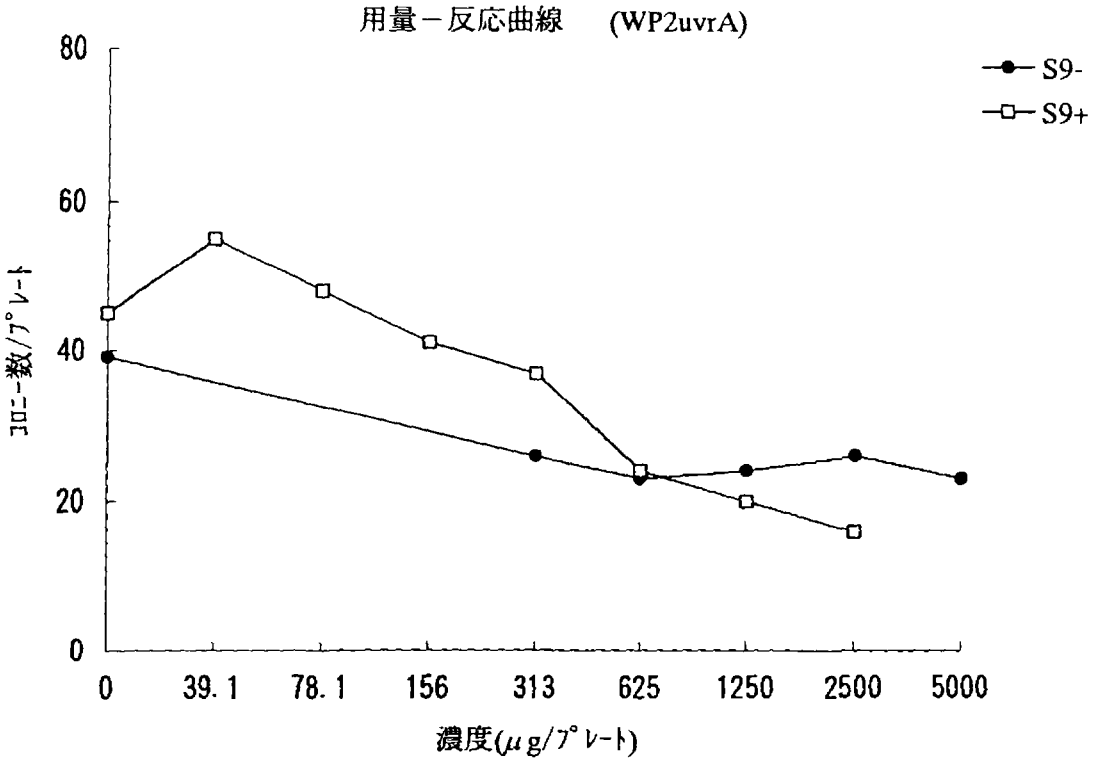



図　9　　（本試験　2）

被験物質名：3-ﾌｪﾉｷｼﾄﾙｴﾝ　　No.5L553

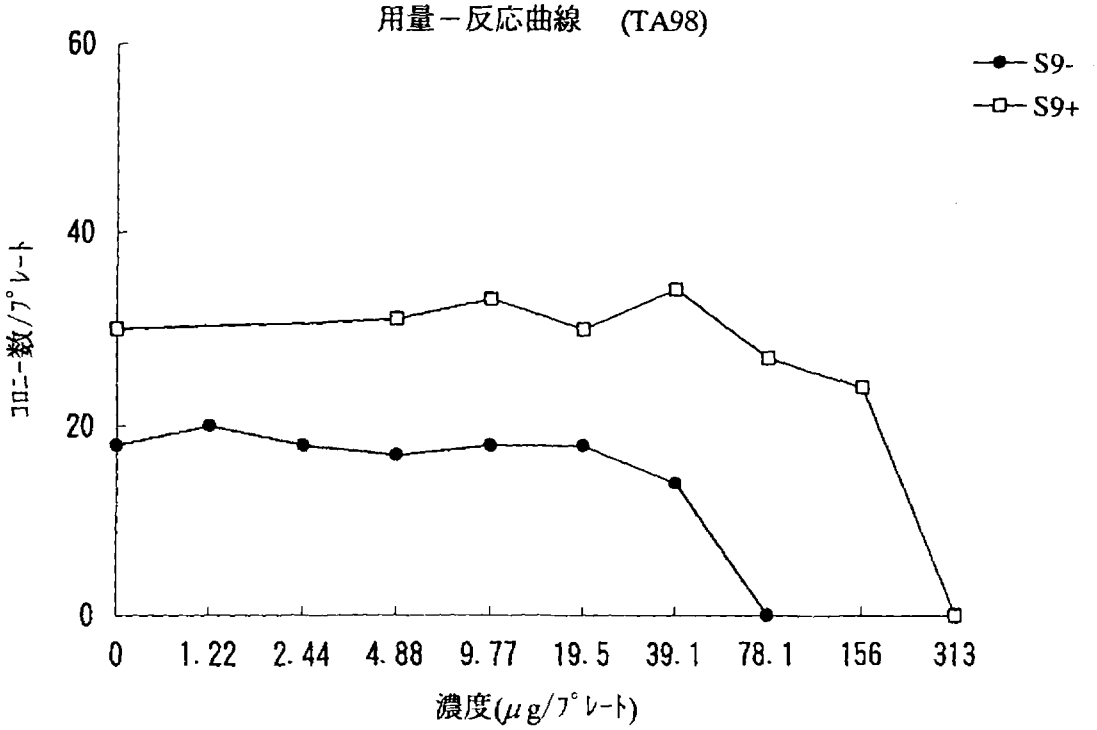
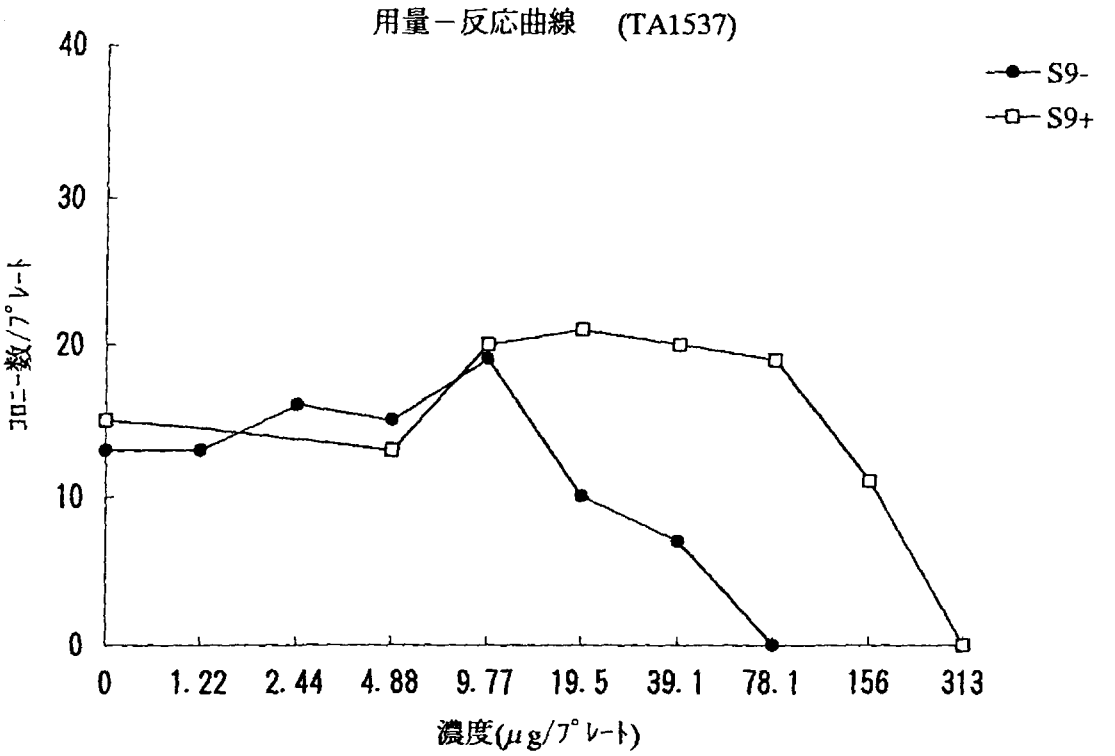


図　１０　　（本試験　２）

被験物質名：3-ﾌｪﾉｷｼﾄﾙｴﾝ　　No.5L553