

最終報告書

プロピレンテトラマーの細菌を用いる復帰突然変異試験
(試験番号：04-249-2)

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	3
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	6
1) 用量設定	6
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	8
結 論	9
文 献	9

表：

表 1-1 S9 mix 非存在下におけるプロピレンテトラマー の用量設定試験結果 [直接法]	10
表 1-2 S9 mix 存在下におけるプロピレンテトラマー の用量設定試験結果 [代謝活性化法]	11

表 2-1	S9 mix 非存在下におけるプロピレンテトラマー の復帰突然変異試験結果 [本試験 1 回目-直接法]	12
表 2-2	S9 mix 存在下におけるプロピレンテトラマー の復帰突然変異試験結果 [本試験 1 回目-代謝活性化法]	13
表 3-1	S9 mix 非存在下におけるプロピレンテトラマー の復帰突然変異試験結果 [本試験 2 回目-直接法]	14
表 3-2	S9 mix 存在下におけるプロピレンテトラマー の復帰突然変異試験結果 [本試験 2 回目-代謝活性化法]	15

図 :

図 1	プロピレンテトラマーの復帰突然変異試験結果-本試験 1 回目	… 16
図 2	プロピレンテトラマーの復帰突然変異試験結果-本試験 2 回目	… 19

要約

プロピレンテトラマー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)において、いずれの菌株とも生育阻害が認められなかったので、直接法および代謝活性化法ともに、156~5000 μg /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、プロピレンテトラマー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、プロピレンテトラマー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 : プロピレンテトラマー
別 名 : ライトテトラマー, プロピレンオリゴマー
CAS 番号 : 6842-15-5
ロット番号 :
含 有 量 : 炭化水素混合物 99.9%

分析結果 (2006 年 3 月 17 日分析, 結果は:
より入手)

炭素数	二重結合 の数	分子量	含有量 (%)
11	2	152	0.9
11	1	154	11.8
12	2	166	2.0
12	1	168	71.1
13	2	180	0.7
13	1	182	11.6
14	2	194	0.1
14	1	196	1.7

C8~10, 15, 16 (二重結合数 1, 2, 3) および
C11~14 二重結合数 3 のオレフィンは検出され
なかった。

入 手 先 :

入手日・量 : 平成 18 年 2 月 15 日 (50 g)

物 性 等 :

化学名 プロピレンテトラマー

(1-Propene, tetramer)

性状 無色透明液体, 石油エーテル臭あり

溶解性	水に不溶
沸点	180~205 °C
融点	-30 °C以下
密度	0.7751 (g/cm ³ , 15 °C)
引火点	64.0 °C (PMCC)
常圧蒸留 初留点	182.0 °C
常圧蒸留 終点	202.5 °C
常圧蒸留 留出量	98.5 容量%
常圧蒸留 残油量	1.0 容量%
常圧蒸留 5~95%	10.5 °C
臭素価	99.9 g·Br ₂ /100g

安定性 : 常温で安定。提供元である において、製
造後 8 ヶ月までの安定性が確認されている。

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 TCQ7669, 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 149018) 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 $uvrA$	TA98	TA1537
用量設定試験	1.46	1.53	1.25	1.33	1.21
本試験(1回目)	1.46	1.72	1.30	1.33	1.24
本試験(2回目)	1.50	1.62	1.30	1.41	1.21

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-539・2006年3月10日製造・2006年4月7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： 215~272 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, 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(9000×g)し、その上清を採取

S9 mix 1 mL 当たりの組成

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

6. 被験物質の供試液の調製

被験物質は水に不溶であり、予備的検討の結果、DMSO に不溶、アセトンに可溶であったため、溶媒にはアセトン（和光純薬工業株式会社、ロット番号 EWM6387, 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アセトンを用いた。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 TCE7729, EWP7032, 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 K2K77；田辺製薬株式会社、ロット番号 53004）に溶解した。

指標菌株	直接法 (μg /プレート)	代謝活性化法 (μg /プレート)
TA100	AF-2 (0.01)	2-AA (1)
TA1535	SA (0.5)	2-AA (2)
WP2 <i>uvrA</i>	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 132695XA, 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 TCK7637) 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 KCK3898) 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 μg /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), 直接法および代謝活性化法ともに, いずれの菌株とも生育阻害は認められなかった。なお, 1000 μg /プレート以上の用量で培養終了時, プレート上に油滴様の析出物が認められた。

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、被験物質の用量は、直接法および代謝活性化法ともに、いずれの菌株とも 5000 μg /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 μg /プレートの計 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 0.05mL, 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 ANI240CV・2006 年 3 月 7 日製造・2006 年 4 月 5 日購入; ANI260CV・2006 年 3 月 14 日製造・2006 年 4 月 6 日購入) は, Vogel-Bonner E 培地 (0.2w/v% クエン酸・一水塩, 1w/v% リン酸二カリウム, 0.192w/v% リン酸一アンモニウム, 0.066w/v% 水酸化ナトリウム, 0.02w/v% 硫酸マグネシウム・七水塩) に寒天粉末を 1.5w/v% およびグルコースを 2w/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 0.05 mL にかわり, 溶媒 (アセトン) 0.05 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 0.05 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 0.05 mL にかわり, 溶媒 (アセトン) 0.05 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0.6w/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 ANI240CV ; ANI260CV）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, 2-2, 3-1, 3-2 および図 1-1, 1-2, 1-3, 2-1, 2-2, 2-3）、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。また、菌の生育

阻害も認められなかった。なお、1250 μ g/プレート以上の用量で培養終了時、プレート上に油滴様の析出物が認められた。

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。

結 論

プロピレンテトラマー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、本実験条件下ではプロピレンテトラマーの遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

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.

表 1-1 S9 mix 非存在下におけるプロピレンテトラマー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〔アセトン〕	133	16	18	31	9
20	127	7	20	25	4
50	138	10	26	21	3
100	107	4	14	23	6
200	140	9	18	21	12
500	119	11	16	15	7
1000 #	106	8	19	22	7
2000 #	135	8	16	16	9
5000 #	127	12	16	17	5
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	941	316	524	368	271

: プレート上に油滴様の析出物が認められた。

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 存在下におけるプロピレンテトラマー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〔アセトン〕	116	9	18	33	11
20	111	6	23	34	13
50	121	9	22	39	18
100	131	8	31	37	8
200	113	11	22	27	11
500	120	9	23	34	8
1000 #	118	5	16	31	8
2000 #	106	9	28	34	6
5000 #	106	7	24	30	9
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	451	193	368	282	48

: プレート上に油滴様の析出物が認められた。
2-AA: 2-アミノアントラセン

表 2-1 S9 mix 非存在下におけるプロピレンテトラマーの復帰突然変異試験結果
〔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	WP2uvrA	TA98	TA1537
陰性対照	94	10	24	13	18
〔アセトン〕	115	3	14	24	10
	116	12	15	19	19
	(108 ± 12)	(8 ± 5)	(18 ± 6)	(19 ± 6)	(16 ± 5)
156	100	12	15	21	12
	112	11	13	26	18
	107	8	21	22	24
	(106 ± 6)	(10 ± 2)	(16 ± 4)	(23 ± 3)	(18 ± 6)
313	87	11	14	23	15
	103	10	16	18	15
	111	6	19	15	12
	(100 ± 12)	(9 ± 3)	(16 ± 3)	(19 ± 4)	(14 ± 2)
625	99	6	20	21	21
	109	11	20	21	23
	91	7	19	17	13
	(100 ± 9)	(8 ± 3)	(20 ± 1)	(20 ± 2)	(19 ± 5)
1250 #	111	9	11	18	22
	116	13	20	15	11
	143	5	15	19	15
	(123 ± 17)	(9 ± 4)	(15 ± 5)	(17 ± 2)	(16 ± 6)
2500 #	88	13	26	19	21
	93	5	25	19	16
	108	7	13	22	16
	(96 ± 10)	(8 ± 4)	(21 ± 7)	(20 ± 2)	(18 ± 3)
5000 #	113	11	21	17	10
	123	12	15	18	13
	115	9	14	11	9
	(117 ± 5)	(11 ± 2)	(17 ± 4)	(15 ± 4)	(11 ± 2)
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	813	402	416	472	346
コロニー数	887	392	482	517	341
/プレート	844	334	456	531	289
	(848 ± 37)	(376 ± 37)	(451 ± 33)	(507 ± 31)	(325 ± 32)

: プレート上に油滴様の析出物が認められた。

(): 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

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 存在下におけるプロピレンテトラマーの復帰突然変異試験結果
〔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 $uvrA$	TA98	TA1537
陰性対照	98	7	23	31	17
[アセトン]	105	6	17	22	17
	108	11	16	30	14
	(104 \pm 5)	(8 \pm 3)	(19 \pm 4)	(28 \pm 5)	(16 \pm 2)
156	134	9	23	43	11
	104	13	22	26	18
	126	8	17	30	20
	(121 \pm 16)	(10 \pm 3)	(21 \pm 3)	(33 \pm 9)	(16 \pm 5)
313	100	7	24	24	16
	93	5	27	24	16
	97	6	22	20	22
	(97 \pm 4)	(6 \pm 1)	(24 \pm 3)	(23 \pm 2)	(18 \pm 3)
625	102	7	23	27	12
	94	9	13	22	13
	104	8	25	34	17
	(100 \pm 5)	(8 \pm 1)	(20 \pm 6)	(28 \pm 6)	(14 \pm 3)
1250 #	93	3	27	35	24
	102	14	20	21	23
	98	9	27	31	15
	(98 \pm 5)	(9 \pm 6)	(25 \pm 4)	(29 \pm 7)	(21 \pm 5)
2500 #	107	8	18	34	16
	114	7	18	24	17
	124	5	21	42	15
	(115 \pm 9)	(7 \pm 2)	(19 \pm 2)	(33 \pm 9)	(16 \pm 1)
5000 #	108	10	28	36	13
	103	9	19	24	10
	121	9	21	28	18
	(111 \pm 9)	(9 \pm 1)	(23 \pm 5)	(29 \pm 6)	(14 \pm 4)
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	440	183	415	259	91
コロニー数	438	186	371	249	108
/プレート	419	173	351	253	79
	(432 \pm 12)	(181 \pm 7)	(379 \pm 33)	(254 \pm 5)	(93 \pm 15)

: プレート上に油滴様の析出物が認められた。

(): 平均値 \pm 標準偏差

2-AA: 2-アミノアントラセン

表 3-1 S9 mix 非存在下におけるプロピレンテトラマーの復帰突然変異試験結果
 [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	120	9	22	16	6
[アセトン]	100	12	17	15	7
	122	8	18	23	13
	(114 \pm 12)	(10 \pm 2)	(19 \pm 3)	(18 \pm 4)	(9 \pm 4)
156	109	10	17	25	3
	113	9	20	24	7
	102	7	13	15	7
	(108 \pm 6)	(9 \pm 2)	(17 \pm 4)	(21 \pm 6)	(6 \pm 2)
313	110	10	16	19	5
	100	7	14	21	8
	94	11	29	21	8
	(101 \pm 8)	(9 \pm 2)	(20 \pm 8)	(20 \pm 1)	(7 \pm 2)
625	113	5	23	11	14
	96	10	17	17	10
	98	9	22	20	11
	(102 \pm 9)	(8 \pm 3)	(21 \pm 3)	(16 \pm 5)	(12 \pm 2)
1250 #	106	7	20	16	2
	90	14	18	16	10
	109	7	16	12	6
	(102 \pm 10)	(9 \pm 4)	(18 \pm 2)	(15 \pm 2)	(6 \pm 4)
2500 #	101	5	18	14	6
	103	8	19	16	9
	116	11	30	16	3
	(107 \pm 8)	(8 \pm 3)	(22 \pm 7)	(15 \pm 1)	(6 \pm 3)
5000 #	118	12	20	18	4
	105	11	20	16	6
	112	9	14	25	3
	(112 \pm 7)	(11 \pm 2)	(18 \pm 3)	(20 \pm 5)	(4 \pm 2)
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	880	388	433	465	322
コロニー数	844	301	474	488	314
/プレート	818	331	519	512	393
375	(847 \pm 31)	(340 \pm 44)	(475 \pm 43)	(488 \pm 24)	(343 \pm 43)

: プレート上に油滴様の析出物が認められた。

() : 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

SA : アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン

表 3-2 S9 mix 存在下におけるプロピレンテトラマーの復帰突然変異試験結果
 [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	104	6	13	35	17
[アセトン]	91	9	20	27	13
	101	14	19	33	11
	(99 \pm 7)	(10 \pm 4)	(17 \pm 4)	(32 \pm 4)	(14 \pm 3)
156	123	8	25	33	12
	112	10	26	36	11
	108	6	15	28	12
	(114 \pm 8)	(8 \pm 2)	(22 \pm 6)	(32 \pm 4)	(12 \pm 1)
313	101	3	18	20	10
	112	12	17	29	12
	84	10	18	27	9
	(99 \pm 14)	(8 \pm 5)	(18 \pm 1)	(25 \pm 5)	(10 \pm 2)
625	92	11	11	30	11
	96	7	25	34	11
	118	7	20	23	7
	(102 \pm 14)	(8 \pm 2)	(19 \pm 7)	(29 \pm 6)	(10 \pm 2)
1250 #	107	6	25	35	10
	110	8	15	24	11
	100	8	16	24	13
	(106 \pm 5)	(7 \pm 1)	(19 \pm 6)	(28 \pm 6)	(11 \pm 2)
2500 #	91	10	18	32	9
	92	8	20	26	6
	89	8	24	28	8
	(91 \pm 2)	(9 \pm 1)	(21 \pm 3)	(29 \pm 3)	(8 \pm 2)
5000 #	88	16	19	32	13
	93	12	15	36	8
	115	8	14	29	8
	(99 \pm 14)	(12 \pm 4)	(16 \pm 3)	(32 \pm 4)	(10 \pm 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	401	160	365	241	68
コロニー数	410	177	377	238	63
/プレート	423	201	391	247	65
	(411 \pm 11)	(179 \pm 21)	(378 \pm 13)	(242 \pm 5)	(65 \pm 3)

: プレート上に油滴様の析出物が認められた。

(): 平均値 \pm 標準偏差

2-AA: 2-アミノアントラセン

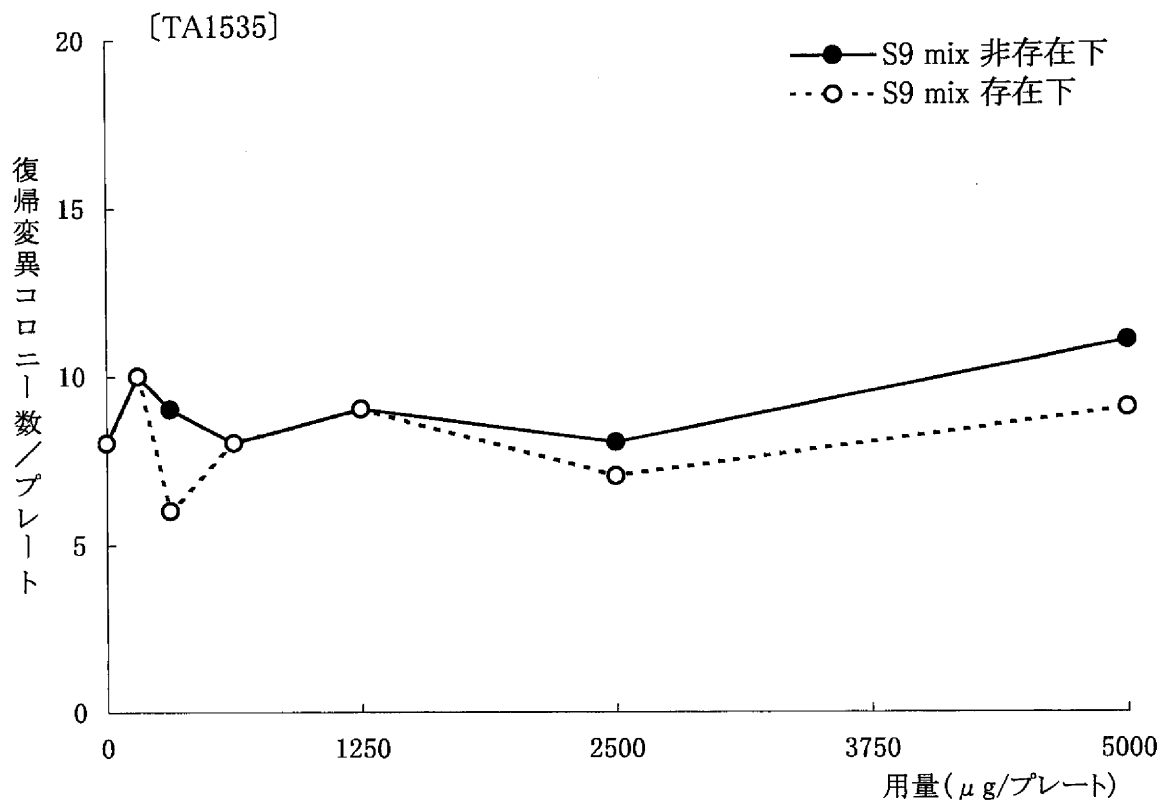
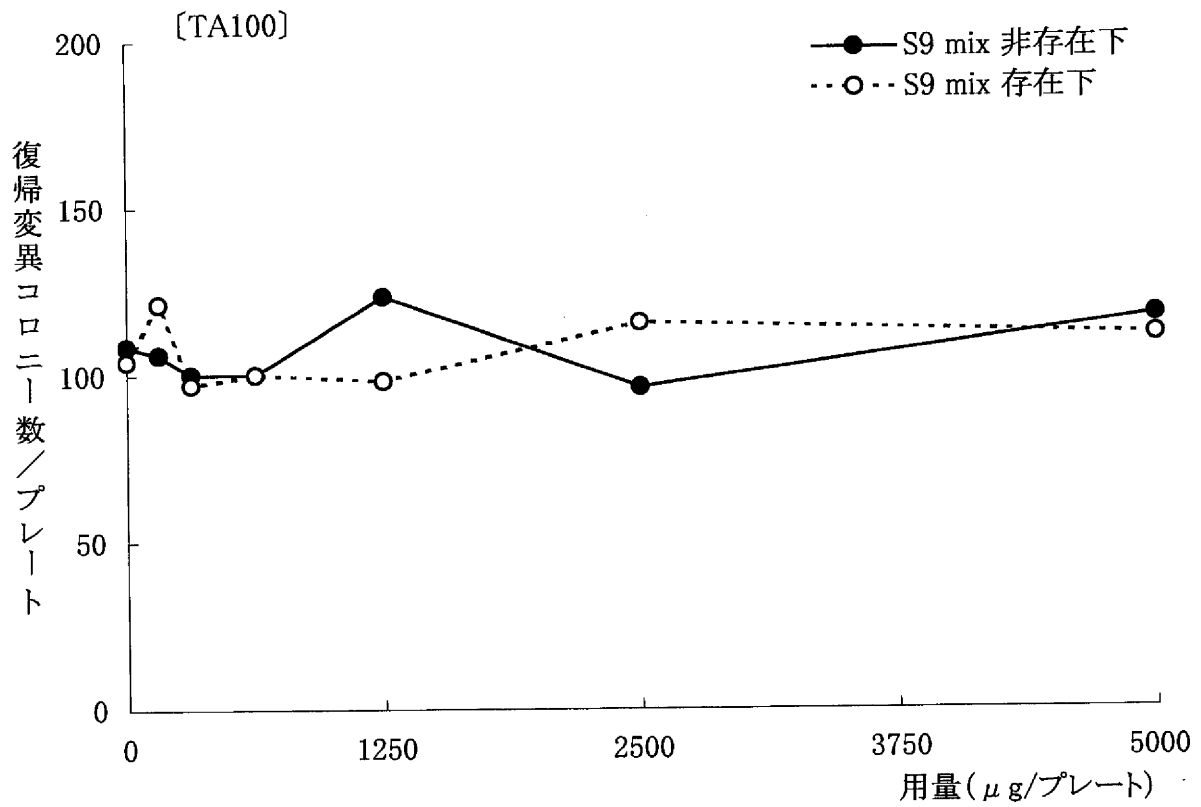


図 1-1 プロピレンテトラマーの復帰突然変異試験結果—本試験1回目

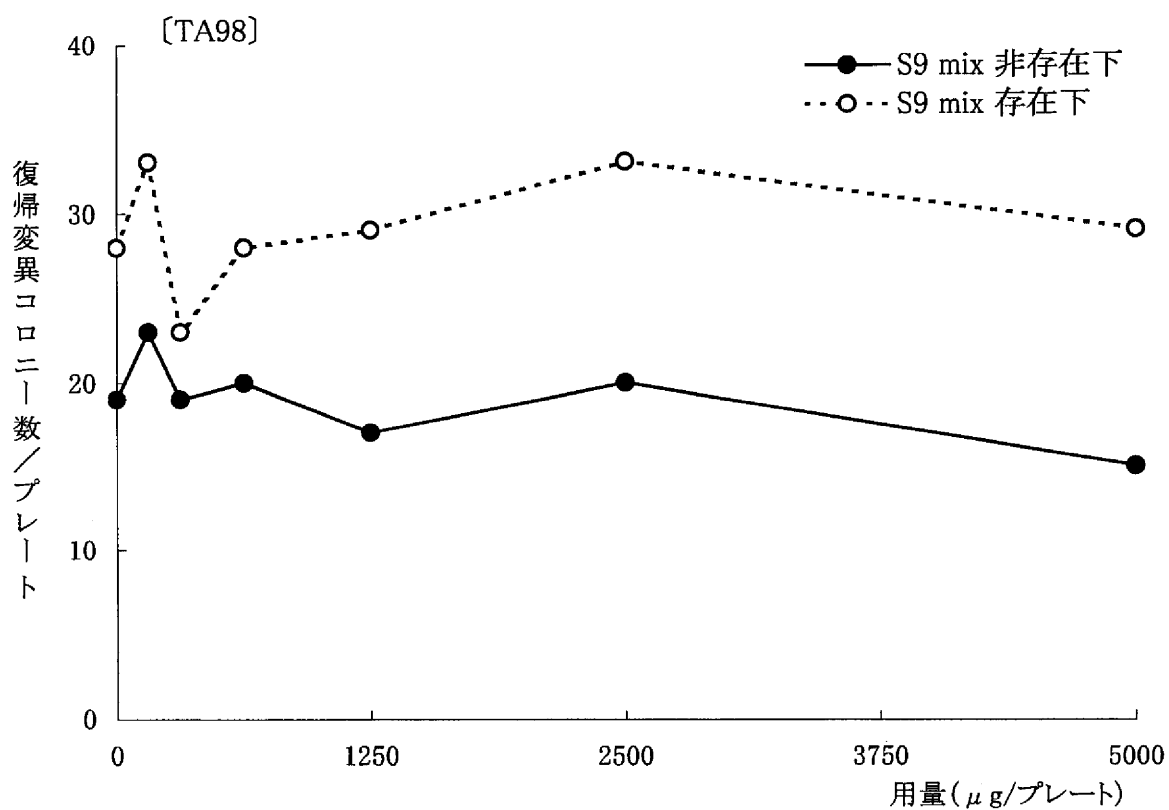
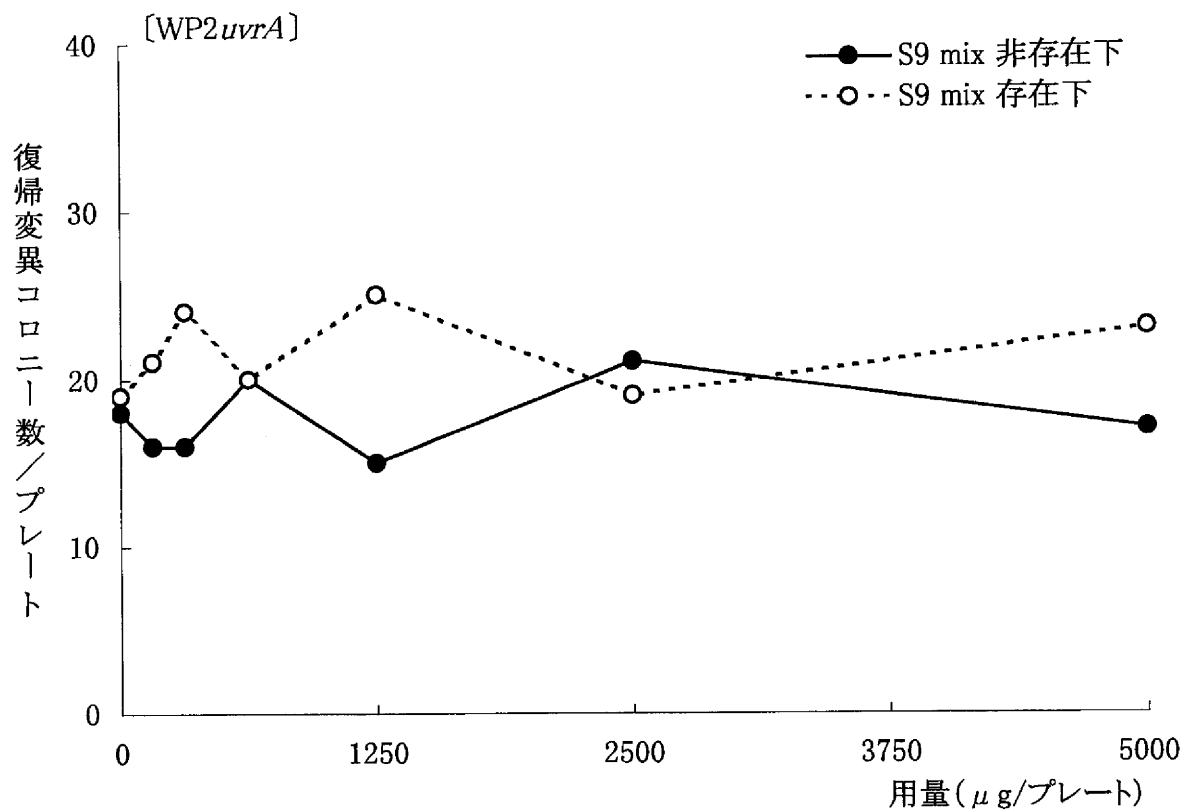


図 1-2 プロピレンテトラマーの復帰突然変異試験結果—本試験1回目

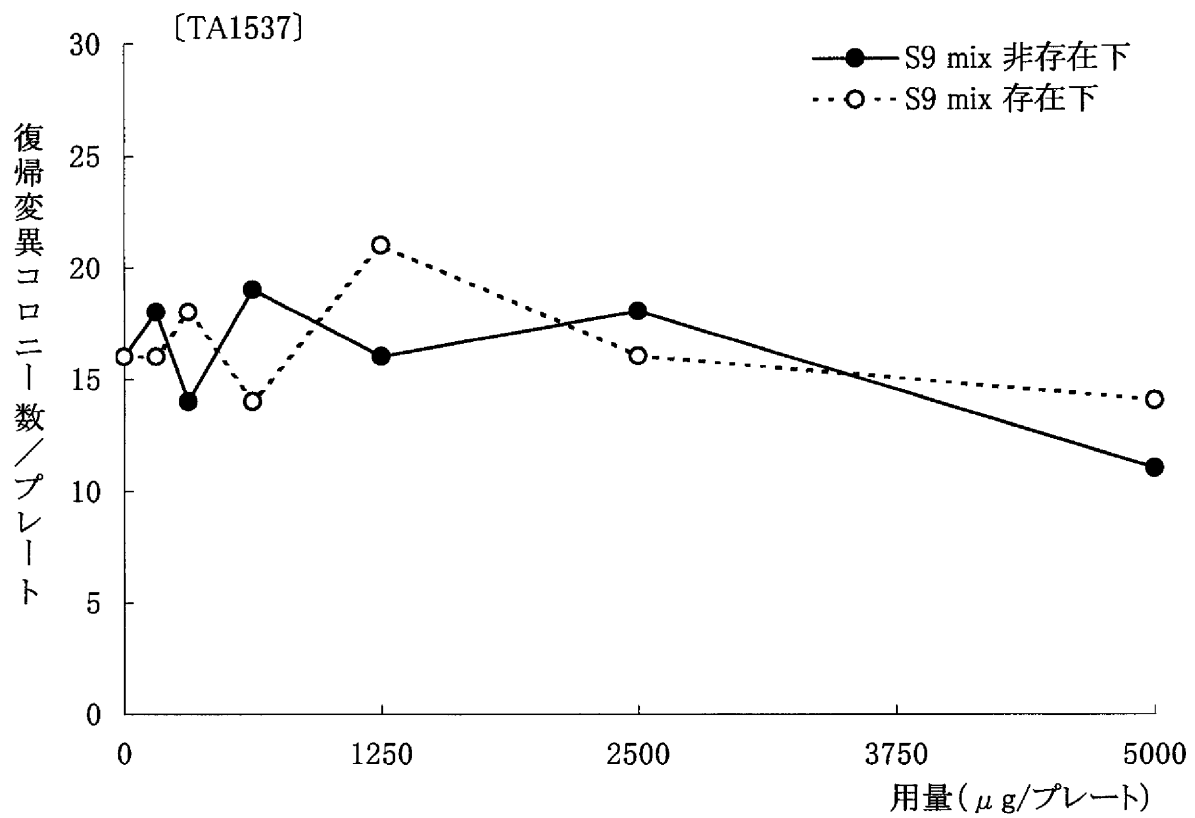


図 1-3 プロピレンテトラマーの復帰突然変異試験結果—本試験1回目

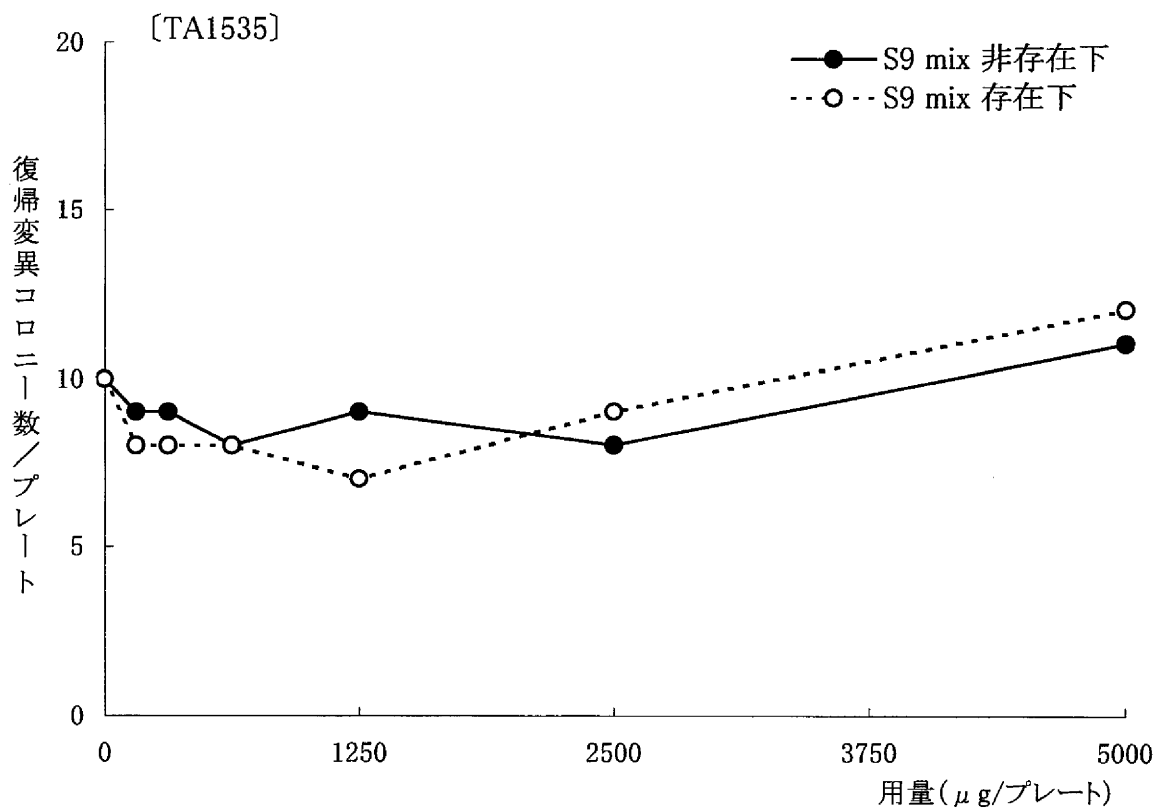
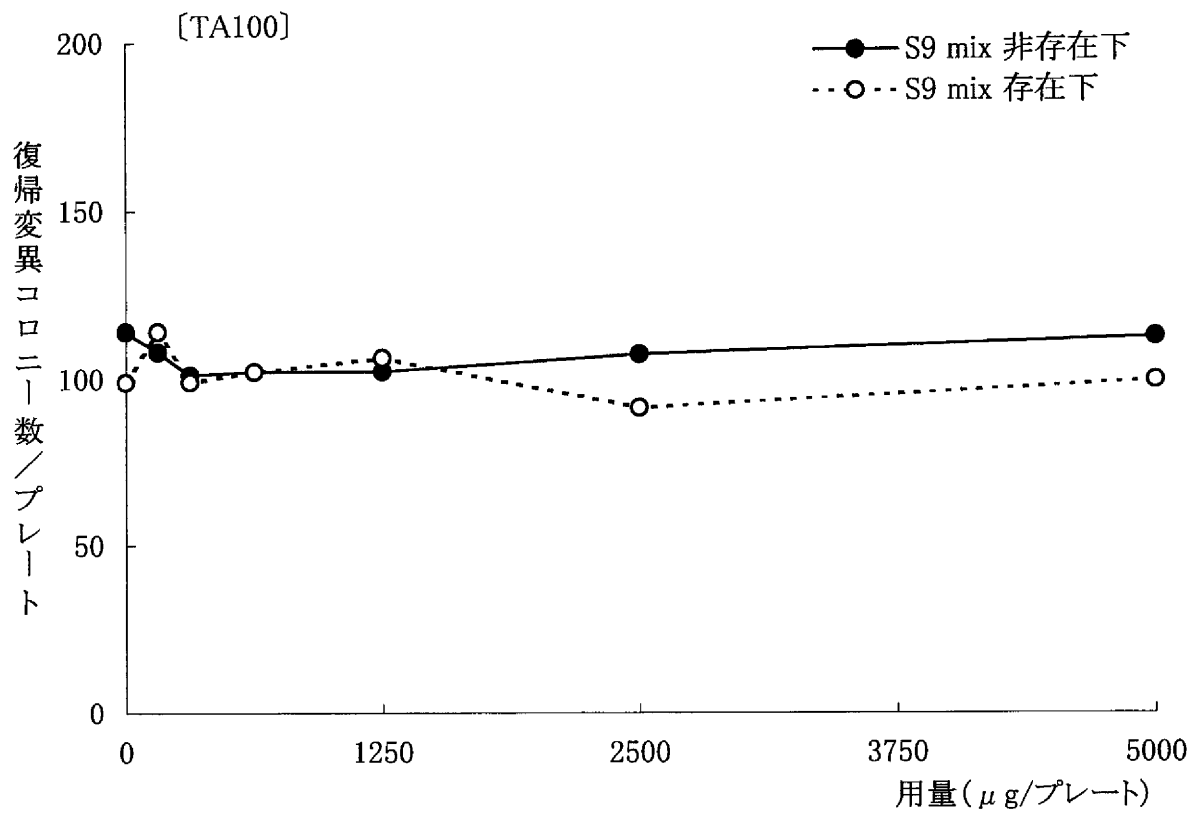


図 2-1 プロピレンテトラマーの復帰突然変異試験結果—本試験2回目

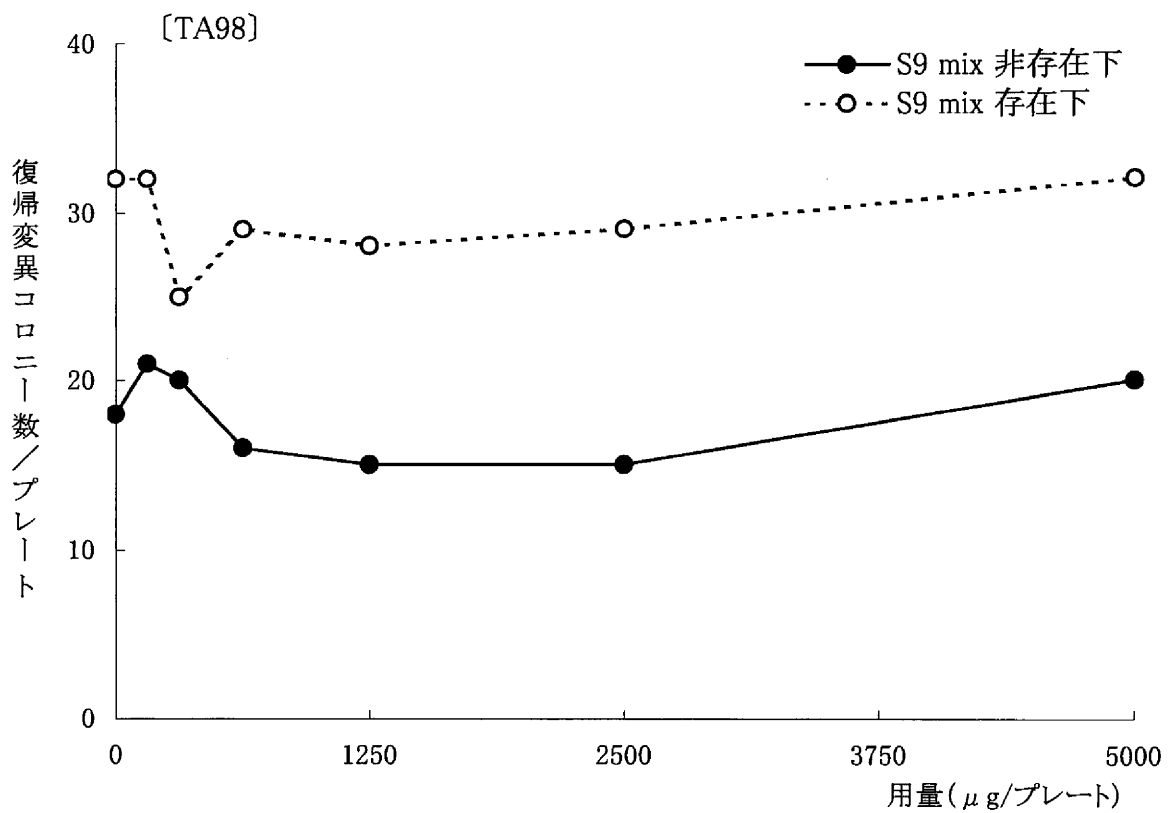
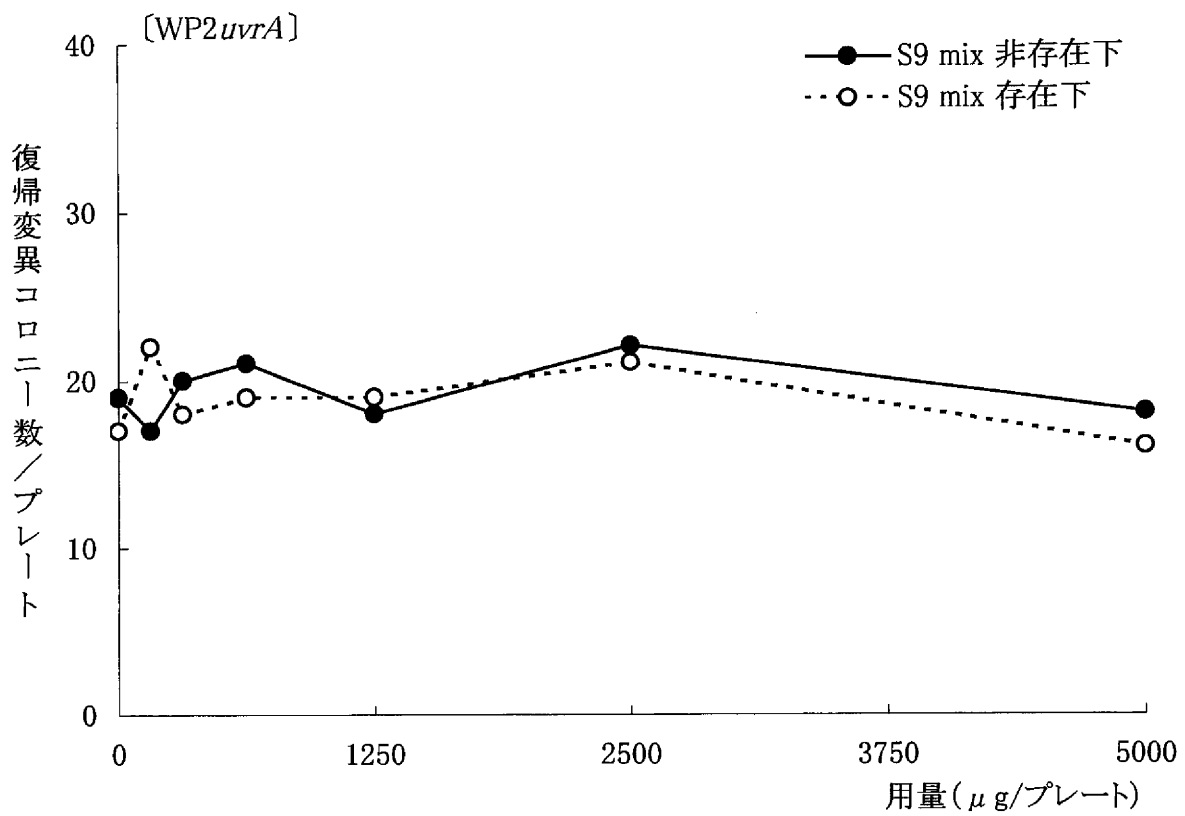


図 2-2 プロピレンテトラマーの復帰突然変異試験結果—本試験2回目

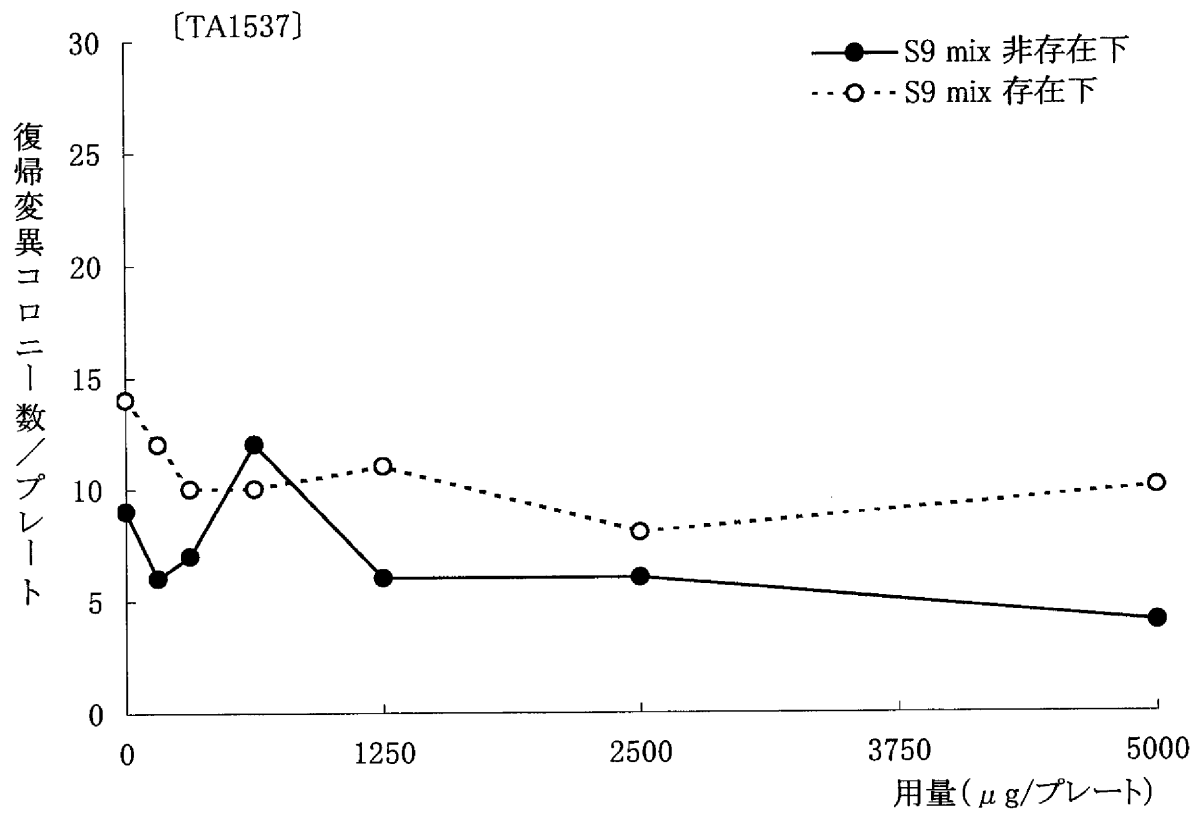


図 2-3 プロピレンテトラマーの復帰突然変異試験結果一本試験2回目