最終報告書

硫酸第一鉄・七水塩の細菌を用いる復帰突然変異試験

（試験番号：B010044）

2002 年 2 月 28 日

株式会社三菱化学安全科学研究所

目次

要約 …………………………………………………………… 4
材料および方法……………………………………………………… 5
1. 試験物質 ……………………………………………………… 5
2. テスト菌株 …………………………………………………… 6
3. 培地 …………………………………………………………… 7
4. S9 mix ………………………………………………………… 8
5. 試験方法 ……………………………………………………… 8
結果 …………………………………………………………………… 11
考察および結論………………………………………………………… 12
参考文献 ……………………………………………………………… 13

表 1　試験結果表（予備試験） ………………………………… 15
表 2　試験結果表（本試験 1） ………………………………… 16
表 3　試験結果表（本試験 2） ………………………………… 17
図 1－1　用量－反応曲線（本試験 1；S9 mix 非存在下の TA100） ………… 18
図 1－2　用量－反応曲線（本試験 1；S9 mix 存在下の TA100） ………… 18
図 2－1　用量－反応曲線（本試験 1；S9 mix 非存在下の TA1535） ………… 19
図 2－2　用量－反応曲線（本試験 1；S9 mix 存在下の TA1535） ………… 19
図 3－1　用量－反応曲線（本試験 1；S9 mix 非存在下の WP2*uvrA*/pKM101） ………… 20
図 3－2　用量－反応曲線（本試験 1；S9 mix 存在下の WP2*uvrA*/pKM101） ………… 20
図 4－1　用量－反応曲線（本試験 1；S9 mix 非存在下の TA98） ………… 21
図 4－2　用量－反応曲線（本試験 1；S9 mix 存在下の TA98） ………… 21
図 5－1　用量－反応曲線（本試験 1；S9 mix 非存在下の TA1537） ………… 22
図 5－2　用量－反応曲線（本試験 1；S9 mix 存在下の TA1537） ………… 22

図 6－1　用量―反応曲線（本試験 2；S9 mix 非存在下の TA100）　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・23
図 6－2　用量―反応曲線（本試験 2；S9 mix 存在下の TA100）　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・23
図 7－1　用量―反応曲線（本試験 2；S9 mix 非存在下の TA1535）・・・・・・・・・・・・・・・・・・・24
図 7－2　用量―反応曲線（本試験 2；S9 mix 存在下の TA1535）　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・24
図 8－1　用量―反応曲線（本試験 2；S9 mix 非存在下の WP2*uvrA*/pKM101）・・・・・・・・・25
図 8－2　用量―反応曲線（本試験 2；S9 mix 存在下の WP2*uvrA*/pKM101）・・・・・・・・・・・25
図 9－1　用量―反応曲線（本試験 2；S9 mix 非存在下の TA98）　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・26
図 9－2　用量―反応曲線（本試験 2；S9 mix 存在下の TA98）　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・26
図 10－1 用量―反応曲線（本試験 2；S9 mix 非存在下の TA1537）・・・・・・・・・・・・・・・・・・27
図 10－2 用量―反応曲線（本試験 2；S9 mix 存在下の TA1537）　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・27

要約

Salmonella typhimurium TA100, TA1535, TA98, TA1537 および *Escherichia coli* WP2*uvrA*/pKM101 の 5 菌株を用いる復帰突然変異試験で硫酸第一鉄・七水塩の変異原性を調べた.

予備試験を 5000, 1250, 313, 78.1, 19.5, 4.88 および 1.22 μg/プレートで実施した結果, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の 2 倍以下であった. また, S9 mix 非存在下および存在下のすべての菌株では, 5000 μg/プレートで菌の生育阻害が認められた. なお, S9 mix の有無にかかわらず, プレート上に沈殿物は認められなかった.

これらの結果をもとに本試験では, すべての菌株について 5000, 2500, 1250, 625, 313, 156 μg/プレートの 6 用量を設定した.

2 回の本試験の結果, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の 2 倍以下であった. また, S9 mix 非存在下および存在下のすべての菌株では, 2500 μg/プレート以上で菌の生育阻害が認められた. なお, S9 mix の有無にかかわらず, プレート上に沈殿物は認められなかった.

以上の結果から, 硫酸第一鉄・七水塩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）と判定した.

材料および方法

1. 試験物質

1.1 被験物質

から2001年2月13日に提供された硫酸第一鉄・七水塩を室温に窒素封入して保存した．被験物質の純度，組成および物理化学的性質等は以下の通りである．

新規化学物質の名称 (IUPAC 命名法による)	Sulfuric acid, iron（2+）salt（1:1）, heptahydrate		
別　　名	硫酸第一鉄・七水塩		
構造式又は示性式 (いずれも不明の場合は，その製法の概要)	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$		
試験に供した新規化学物質の純度	91.6%	試験に供した新規化学物質の Lot No.	
不純物の名称及び濃度	Mg：0.22%，Mn：0.20%，Zn：87 ppm		
CAS 番号	7782-63-0	蒸　気　圧	－
分　子　量	278.03	分配係数	－
融　　点	64℃	常温における性状	青緑色粉末
沸　　点	－		
安　定　性	空気中で徐々に酸化して表面が黄褐色の硫酸鉄（Ⅲ）$Fe(OH)SO_4$ となる．この塩基性塩は酸性を示す．又はアルカリと反応して鉄の水和物と塩を生じる．		
溶媒に対する溶解度等	溶　媒	溶　解　度	溶媒中の安定性
	水	32.8 g/100 g（0℃）	*2
	DMSO	*1　50 mg/mL で不溶	－
	ｱｾﾄﾝ	－	－
	その他	－	－

DMSO：ｼﾞﾒﾁﾙｽﾙﾎｷｼﾄﾞ

*1：当研究所での溶媒検討の結果による．

*2：被験物質溶液調製時に，発熱，発泡，変色は認められなかった．

1.2 対照物質

陰性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．

陰性対照	略称	入　手　先	ロット番号	純度（%）
注射用水	DW	㈱大塚製薬工場	K9J78	－
陽性対照	略称	入　手　先	ロット番号	純度（%）
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㈱	CAP0185	98.9
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

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* TA100, TA1535, TA98, TA1537 および日本バイオアッセイ研究センターより 1997 年 9 月 18 日に入手した *Escherichia coli* WP2*uvrA*/pKM101 の 5 菌株を用いた．

2.2 テスト菌株の選択理由

これらの菌株は，細菌を用いる復帰突然変異試験において広く使用され，化審法ガイドラインおよび OECD ガイドラインにおいても推奨されている．

これら菌株の遺伝的特性は以下の通りである．

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

2.3 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．

2.4 保存方法

液体完全培地中に 37°C で 8 時間振盪培養した各菌懸濁液 24 mL に，2.1 mL の DMSO（関東化学㈱，ﾛｯﾄ番号 104G1307）を加え，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た．凍結した菌懸濁液は超低温冷凍庫で-80°C 以下に保存した．

2.5 菌懸濁液

各試験菌の凍結保存液（20 μL）を液体完全培地 10 mL に接種し，37°C で 8 時間振盪（振盪回数：90 回/分）培養した．培養容器には L 字管を用いた．培養終了後，濁度計を用いて菌懸濁液の濁度を測定した．濁度からの換算により菌数を算出し，適切な菌濃度であることを確認した後，試験に使用した．

試験に使用した各テスト菌株の生菌数は以下の通りである．

菌株名		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2*uvrA*/pKM101	TA98	TA1537
生菌数（$\times 10^9$/mL）	予備試験	2.62	2.70	4.01	2.13	2.41
	本試験 1	2.54	2.51	3.57	2.16	2.11
	本試験 2	2.62	2.68	4.21	2.22	2.49

3 培地

3.1 液体完全培地

精製水 100 mL に対して，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）を 2.5 g の割合で加えて溶解し，オートクレーブ滅菌（121°C，15 分間）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 ANI310EQ：2001 年 5 月 17 日製造）を使用した．

3.3 トップアガー

精製水 300 mL に Bacto-agar（Difco 社，ロット番号 136958JC）1.8 g および塩化ナトリウム 1.5 g を加え，これを 121℃で 15 分間オートクレーブ滅菌し，寒天溶液を調製した．寒天はあらかじめ調製したものを，使用時に電子レンジで溶解して使用した．サルモネラ菌用には 0.5 mmol/L D-ビオチンおよび 0.5 mmol/L L-ヒスチジンの混合水溶液，あるいは大腸菌用には 0.5 mmol/L L-トリプトファン水溶液をそれぞれ使用直前に 1/10 量添加した．使用時に約 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 を 1 回腹腔内投与，2 日目以降 60 mg/kg を 1 日 1 回 3 日間腹腔内投与）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（体重 195 - 239 g）肝由来 S9（キッコーマン㈱，2001 年 4 月 5 日製造；ロット番号 RAA-443）を購入し，使用した．S9 は使用時まで超低温冷凍庫（実測値-81℃～-88℃）で保存した．

4.2 S9 mix

S9 mix 1 mL あたりの組成を以下の表に示す．S9 mix は試験毎に用時調製し，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和物	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

5. 試験方法

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，被験物質は 50 mg/mL で注射用水（DW と略す）および DMSO に不溶であったが，DW に均一に懸濁した．また，DW を加えた際に発熱，発泡，変色は認

められなかった．この結果から，溶媒にはDWを用いた．

被験物質を所定濃度でDWに懸濁して，最高用量の被験物質懸濁液とした．これを同じ溶媒で段階希釈して各用量の被験物質懸濁液を調製した．被験物質の秤量に際しては純度換算（91.6%）を実施した．被験物質懸濁液は用時調製し，被験物質の秤量，希釈，分注および調製後の保存は，黄色灯下で行った．

陽性対照物質溶液はあらかじめ調製し，超低温冷凍庫で-80°C以下に保存した．NaN_3はDW（㈱大塚製薬工場，ロット番号K9J78）に，その他の陽性対照物質はDMSO（関東化学㈱，ロット番号207G1673）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および1.22 μg/プレートで実施した結果，S9 mixの有無にかかわらず，いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の2倍以下であった．また，S9 mix非存在下および存在下のすべての菌株ついては5000 μg/プレートで菌の生育阻害が認められた．なお，S9 mixの有無にかかわらず，プレート上に沈殿物は認められなかった．

これらの結果をもとに本試験では以下の用量を設定した．

試験菌株	用量 （μg/プレート）	
	S9 mix 非存在下	S9 mix 存在下
TA100, TA1535 WP2*uvrA*/pKM101 TA98, TA1537	5000, 2500, 1250, 625, 313, 156	5000, 2500, 1250, 625, 313, 156

5.3 復帰突然変異試験

試験はプレインキュベーション法を用いて，S9 mix非存在下および存在下で実施した．

滅菌した試験管に被験物質懸濁液または陰性（溶媒）対照物質0.1 mL，S9 mix非存在下の場合，次いで0.1 mol/Lナトリウムーリン酸緩衝液（pH 7.4）を0.5 mL，S9 mix存在下の場合，S9 mixを0.5 mL添加し，さらに菌懸濁液を0.1 mL加え，37°Cで20分間振盪してインキュベーションした（プレインキュベーション）．トップアガー2 mLをこの混合液に加え，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°Cで48時間以上培養した．

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程度を調べた後，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

一数を自動コロニーカウンターで計測した.

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, 2 回実施した.

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 非存在下 (μg/プレート)	S9 mix 存在下 (μg/プレート)	添 加 量 (mL/プレート)
TA100	AF-2　0.01	2-AA　1	0.1
TA1535	NaN_3　0.5	2-AA　2	0.1
WP2*uvrA*/pKM101	ENNG　2	2-AA　2	0.1
TA98	AF-2　0.1	2-AA　0.5	0.1
TA1537	9-AA　80	2-AA　2	0.1

5.4 無菌試験

無菌試験にはそれぞれ 1 枚のプレートを用いた. 最高用量の被験物質溶液または S9 mix をトップアガー2 mL と混和し, それぞれ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, 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 の有無にかかわらず, 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. 試験結果の判定に統計学的手法は用いなかった.

結果

試験の結果を表 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 および 1.22 μg/プレートで実施した結果, S9 mix の有無にかかわらず，いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の 2 倍以下であった．また，S9 mix 非存在下および存在下のすべての菌株では，5000 μg/プレートで菌の生育阻害が認められた．なお，S9 mix の有無にかかわらず，プレート上に沈殿物は認められなかった.

これらの結果をもとに本試験では，すべての菌株について 5000, 2500, 1250, 625, 313, 156 μg/プレートの 6 用量を設定した.

2 回の本試験の結果，S9 mix の有無にかかわらず，いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の 2 倍以下であった．また，S9 mix 非存在下および存在下のすべての菌株では，2500 μg/プレート以上で菌の生育阻害が認められた．なお，S9 mix の有無にかかわらず，プレート上に沈殿物は認められなかった.

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.

考察および結論

予備試験の結果を基に，本試験を 5000 μg/プレートを最高用量として実施したが，S9 mix の有無にかかわらず，いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の 2 倍以下であった．

試験施設における背景データおよび背景データより算出した適正値を添付資料 1 に示した．本試験の陰性（溶媒）対照値および陽性対照値が適正値の範囲内であったこと，また S9 mix 非存在下および存在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が，各菌株の陰性（溶媒）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ことから，試験が適切に実施されたことが示唆された．

以上の結果から，硫酸第一鉄・七水塩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）と判定した．

なお，同一物質あるいは類似化合物の変異原性に関する情報を添付資料 2 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　：　硫酸第一鉄・七水塩

試験実施期間		2001 年　7 月　16 日　より　2001 年　7 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*/pKM101	TA98	TA1537
S 9 mix (－)	陰性対照	120	12	66	15	9
	1．2 2	107	12	65	13	7
	4．8 8	116	17	70	14	12
	1 9．5	100	10	75	13	7
	7 8．1	111	11	83	17	11
	3 1 3	115	12	82	23	6
	1 2 5 0	105	13	56	13	7
	5 0 0 0	110*	13*	80*	16*	8*
S 9 mix (＋)	陰性対照	138	12	88	28	18
	1．2 2	136	15	97	26	15
	4．8 8	132	12	93	33	15
	1 9．5	135	18	81	30	12
	7 8．1	107	16	89	26	19
	3 1 3	128	16	117	21	11
	1 2 5 0	142	12	101	21	12
	5 0 0 0	129*	14*	86*	24*	17*
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	594	419	2665	623	195
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	2	0．5	2
	ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	1505	196	728	462	198

（備　考）＊：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　：　硫酸第一鉄・七水塩

試験実施期間		2001 年　8 月　6 日　より　2001 年　8 月　9 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*/pKM101	TA98	TA1537
S 9 mix（－）	陰性対照	107 97　(104) 109　(± 6)	13 10　(10) 8　(± 3)	78 81　(77) 71　(± 5)	27 22　(25) 26　(± 3)	5 6　(6) 7　(± 1)
	156	112 118　(110) 100　(± 9)	8 8　(8) 9　(± 1)	86 83　(81) 73　(± 7)	24 18　(20) 17　(± 4)	5 9　(7) 6　(± 2)
	313	100 106　(103) 102　(± 3)	10 13　(12) 12　(± 2)	81 85　(82) 80　(± 3)	17 17　(18) 20　(± 2)	6 9　(8) 9　(± 2)
	625	106 106　(108) 112　(± 3)	16 10　(13) 12　(± 3)	86 78　(78) 71　(± 8)	23 16　(19) 18　(± 4)	9 6　(8) 10　(± 2)
	1250	109 110　(114) 122　(± 7)	12 8　(10) 10　(± 2)	84 93　(87) 84　(± 5)	19 18　(17) 14　(± 3)	8 10　(8) 6　(± 2)
	2500	108* 99*　(106) 112*　(± 7)	8* 13*　(12) 16*　(± 4)	84* 94*　(92) 98*　(± 7)	21* 18*　(18) 14*　(± 4)	6* 8*　(8) 9*　(± 2)
	5000	110* 121*　(113) 108*　(± 7)	8* 2*　(7) 12*　(± 5)	77* 87*　(77) 67*　(± 10)	19* 6*　(14) 16*　(± 7)	8* 7*　(7) 6*　(± 1)
S 9 mix（＋）	陰性対照	93 107　(101) 104　(± 7)	8 13　(11) 13　(± 3)	102 95　(96) 92　(± 5)	26 27　(25) 22　(± 3)	11 10　(10) 10　(± 1)
	156	127 120　(118) 107　(± 10)	10 12　(11) 12　(± 1)	88 107　(98) 98　(± 10)	25 24　(24) 23　(± 1)	10 13　(12) 12　(± 2)
	313	107 100　(107) 113　(± 7)	11 20　(13) 8　(± 6)	101 97　(98) 97　(± 2)	27 24　(26) 27　(± 2)	14 12　(13) 13　(± 1)
	625	132 116　(120) 111　(± 11)	12 11　(11) 9　(± 2)	102 96　(97) 94　(± 4)	23 27　(24) 23　(± 2)	15 14　(15) 16　(± 1)
	1250	104 108　(107) 108　(± 2)	10 9　(10) 12　(± 2)	100 104　(100) 95　(± 5)	28 23　(26) 26　(± 3)	13 11　(13) 16　(± 3)
	2500	124* 119*　(120) 118*　(± 3)	17* 7*　(11) 8*　(± 6)	100* 109*　(102) 96*　(± 7)	22* 20*　(21) 20*　(± 1)	11* 12*　(12) 13*　(± 1)
	5000	152* 117*　(136) 138*　(± 18)	7* 8*　(10) 15*　(± 4)	106* 106*　(106) 105*　(± 1)	24* 19*　(22) 22*　(± 3)	13* 11*　(11) 8*　(± 3)
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	680 675　(698) 739　(± 36)	432 424　(432) 440　(± 8)	3324 3152　(3244) 3255　(± 87)	580 628　(579) 529　(± 50)	222 236　(216) 189　(± 24)
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	2	0.5	2
	コロニー数/プレート	1809 1801　(1852) 1947　(± 82)	288 262　(273) 270　(± 13)	916 869　(923) 983　(± 57)	487 486　(506) 545　(± 34)	273 228　(255) 263　(± 24)

（備　考）＊：菌の生育阻害が認められた．

（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

表3 試験結果表（本試験2）

被験物質の名称 ： 硫酸第一鉄・七水塩

試験実施期間		2001年 8月 21日 より 2001年 8月 24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	WP2uvrA/pKM101	TA98	TA1537
S 9 mix (−)	陰性対照	97 94 (98) 103 (± 5)	10 11 (9) 7 (± 2)	69 72 (72) 74 (± 3)	18 17 (17) 15 (± 2)	10 9 (9) 7 (± 2)
	156	95 93 (92) 87 (± 4)	10 19 (13) 11 (± 5)	84 89 (89) 94 (± 5)	16 16 (17) 19 (± 2)	11 12 (10) 7 (± 3)
	313	98 100 (106) 120 (± 12)	16 11 (13) 11 (± 3)	82 85 (85) 88 (± 3)	15 15 (16) 17 (± 1)	11 12 (11) 10 (± 1)
	625	122 97 (104) 94 (± 15)	7 11 (9) 8 (± 2)	67 70 (72) 78 (± 6)	16 18 (17) 17 (± 1)	8 10 (11) 14 (± 3)
	1250	101 123 (108) 100 (± 13)	8 9 (8) 6 (± 2)	81 63 (73) 74 (± 9)	21 13 (17) 17 (± 4)	9 12 (11) 11 (± 2)
	2500	93* 96* (101) 114* (± 11)	11* 9* (11) 14* (± 3)	76* 84* (78) 74* (± 5)	23* 16* (19) 18* (± 4)	19* 8* (13) 12* (± 6)
	5000	85* 118* (100) 98* (± 17)	10* 8* (8) 5* (± 3)	74* 66* (74) 81* (± 8)	17* 18* (17) 17* (± 1)	8* 10* (9) 8* (± 1)
S 9 mix (+)	陰性対照	110 107 (106) 101 (± 5)	12 7 (10) 12 (± 3)	99 96 (96) 92 (± 4)	26 35 (28) 24 (± 6)	16 11 (16) 21 (± 5)
	156	98 104 (106) 116 (± 9)	9 7 (11) 16 (± 5)	104 81 (91) 87 (± 12)	22 23 (25) 31 (± 5)	17 10 (14) 14 (± 4)
	313	123 107 (112) 105 (± 10)	12 11 (11) 10 (± 1)	92 86 (91) 95 (± 5)	25 31 (29) 31 (± 3)	14 9 (11) 11 (± 3)
	625	106 93 (101) 105 (± 7)	11 13 (11) 10 (± 2)	86 96 (92) 93 (± 5)	23 35 (27) 23 (± 7)	16 10 (12) 10 (± 3)
	1250	105 110 (111) 117 (± 6)	12 9 (13) 18 (± 5)	111 101 (101) 92 (± 10)	26 22 (26) 31 (± 5)	19 22 (21) 21 (± 2)
	2500	116* 136* (122) 113* (± 13)	17* 16* (14) 8* (± 5)	101* 90* (94) 91* (± 6)	36* 21* (28) 28* (± 8)	10* 10* (12) 15* (± 3)
	5000	102* 114* (106) 103* (± 7)	2* 7* (5) 6* (± 3)	100* 93* (97) 98* (± 4)	24* 22* (23) 24* (± 1)	7* 13* (11) 13* (± 3)
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	575 576 (563) 537 (± 22)	402 466 (440) 453 (± 34)	3069 3250 (3211) 3313 (±127)	620 638 (629) 628 (± 9)	213 172 (206) 233 (± 31)
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	2	0.5	2
	コロニー数/プレート	1580 2195 (1941) 2047 (±321)	189 205 (208) 229 (± 20)	821 747 (739) 650 (± 86)	477 455 (453) 428 (± 25)	192 209 (200) 200 (± 9)

（備考）＊：菌の生育阻害が認められた．

（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

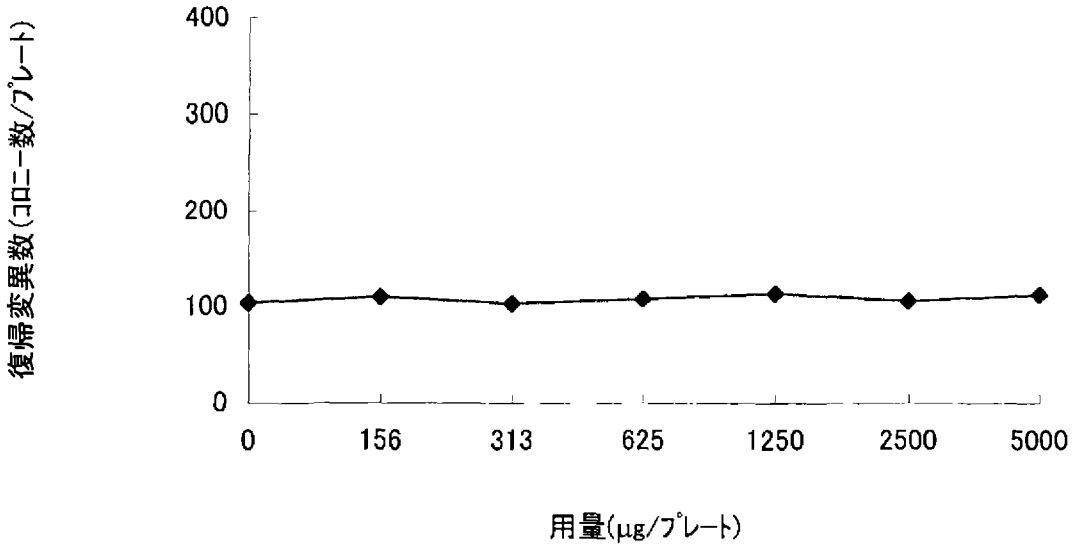

図 1−1　用量−反応曲線　（本試験1; S9 mix非存在下のTA100）

被験物質名:硫酸第一鉄・七水塩

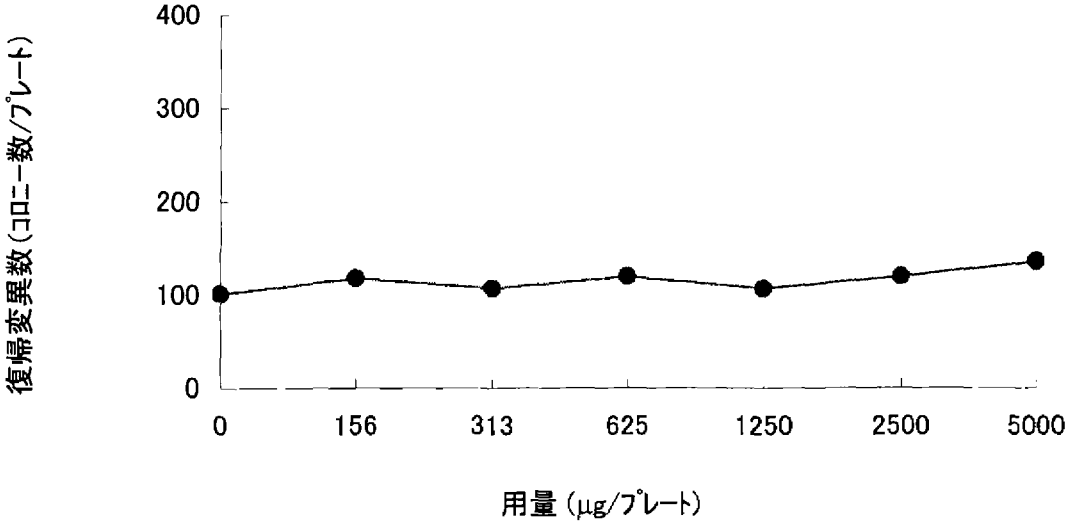

図 1−2　用量−反応曲線　（本試験1;S9 mix存在下のTA100）

被験物質名:硫酸第一鉄・七水塩

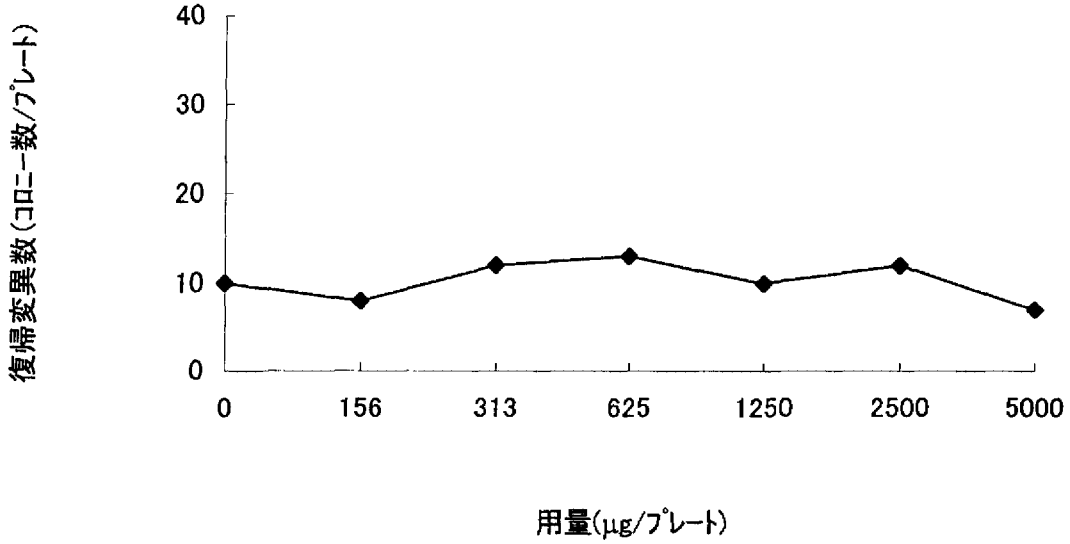

図 2－1　用量－反応曲線　（本試験1; S9 mix非存在下のTA1535）

被験物質名:硫酸第一鉄・七水塩

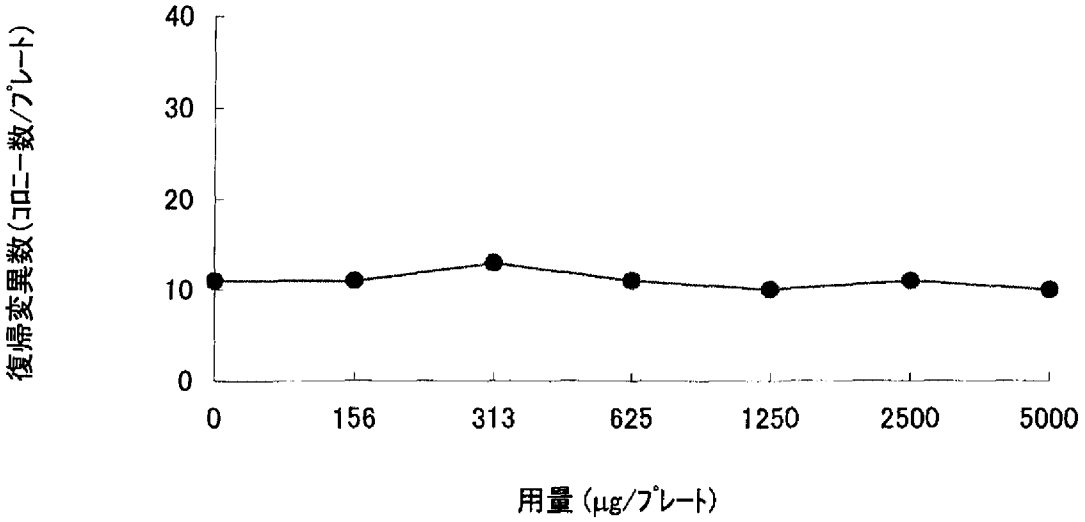

図 2－2　用量－反応曲線　（本試験1;S9 mix存在下のTA1535）

被験物質名:硫酸第一鉄・七水塩

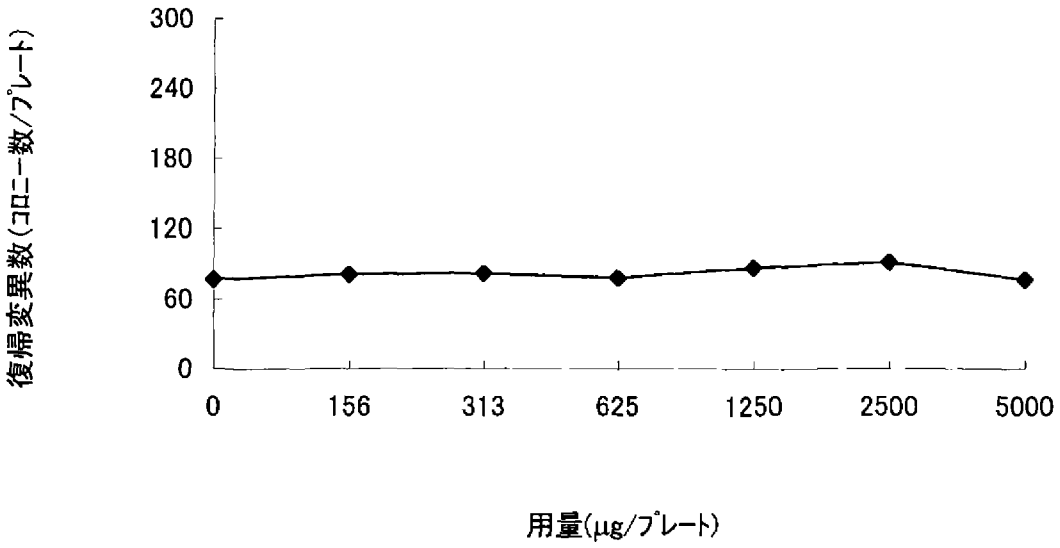

図 3−1　用量−反応曲線　（本試験1; S9 mix非存在下のWP2uvrA/pKM101 ）

被験物質名:硫酸第一鉄・七水塩

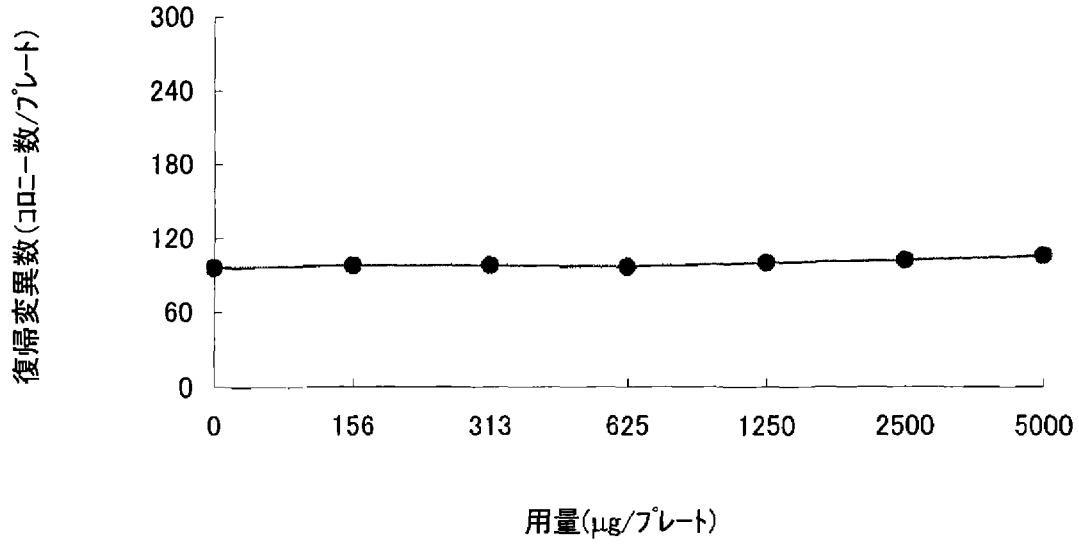

図 3−2　用量−反応曲線　（本試験1;S9 mix存在下のWP2uvrA/pKM101 ）

被験物質名:硫酸第一鉄・七水塩

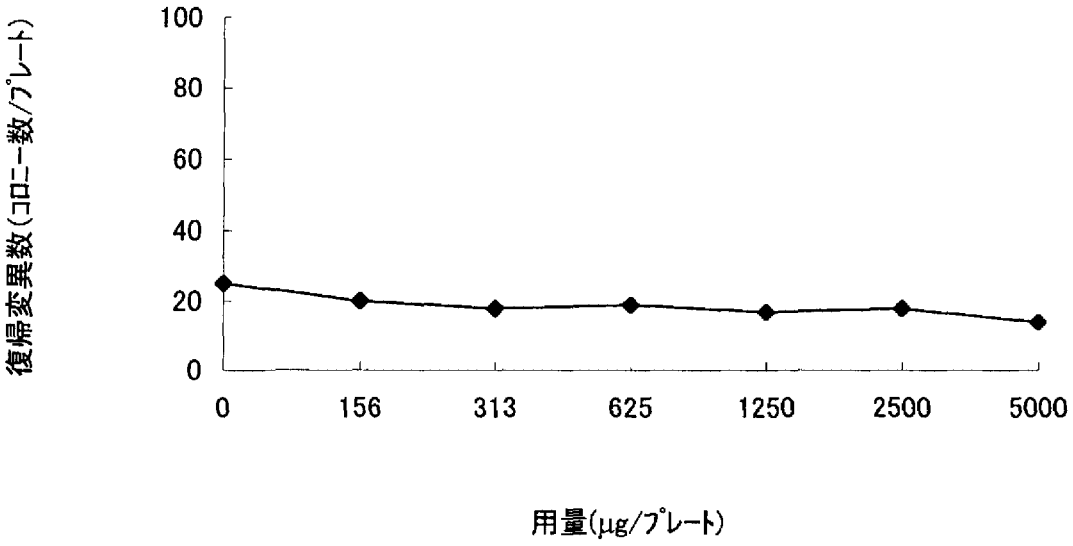

図 4－1　用量－反応曲線　（本試験1；S9 mix非存在下のTA98 ）

被験物質名：硫酸第一鉄・七水塩

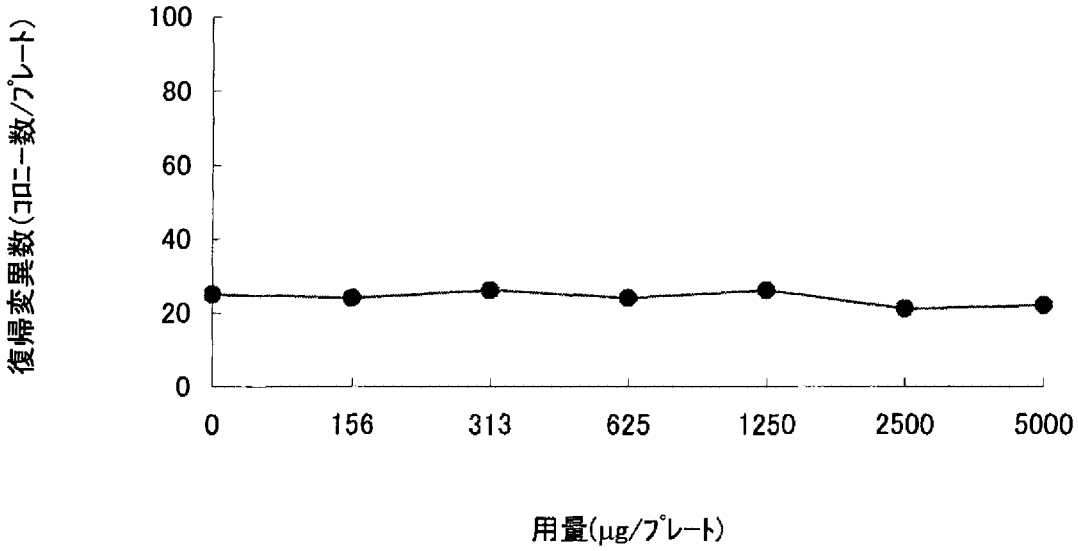

図 4－2　用量－反応曲線　（本試験1；S9 mix存在下のTA98 ）

被験物質名：硫酸第一鉄・七水塩

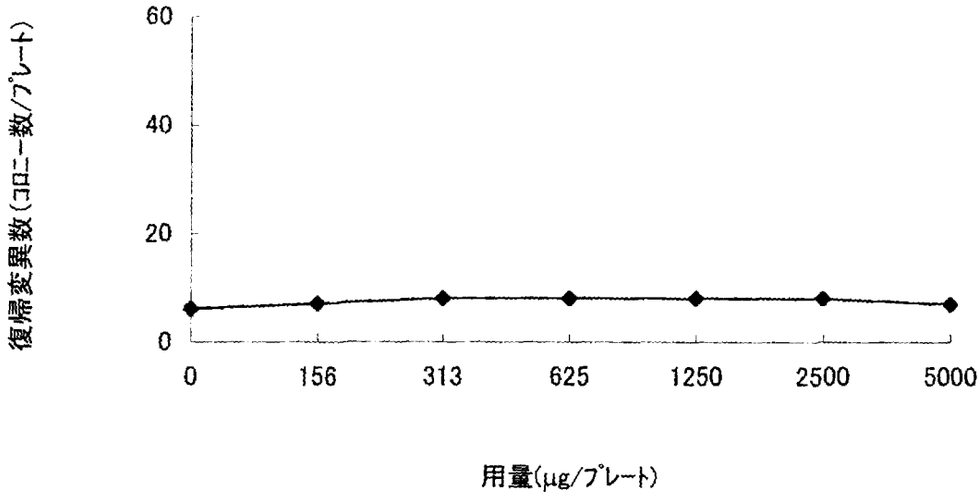

図 5−1　用量−反応曲線　（本試験1; S9 mix非存在下のTA1537 ）

被験物質名:硫酸第一鉄・七水塩

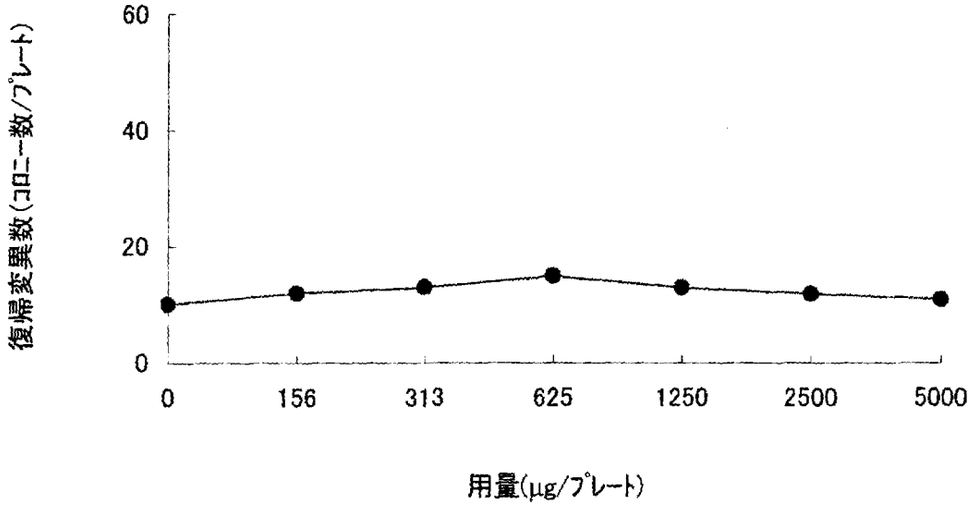

図 5−2　用量−反応曲線　（本試験1;S9 mix存在下のTA1537 ）

被験物質名:硫酸第一鉄・七水塩

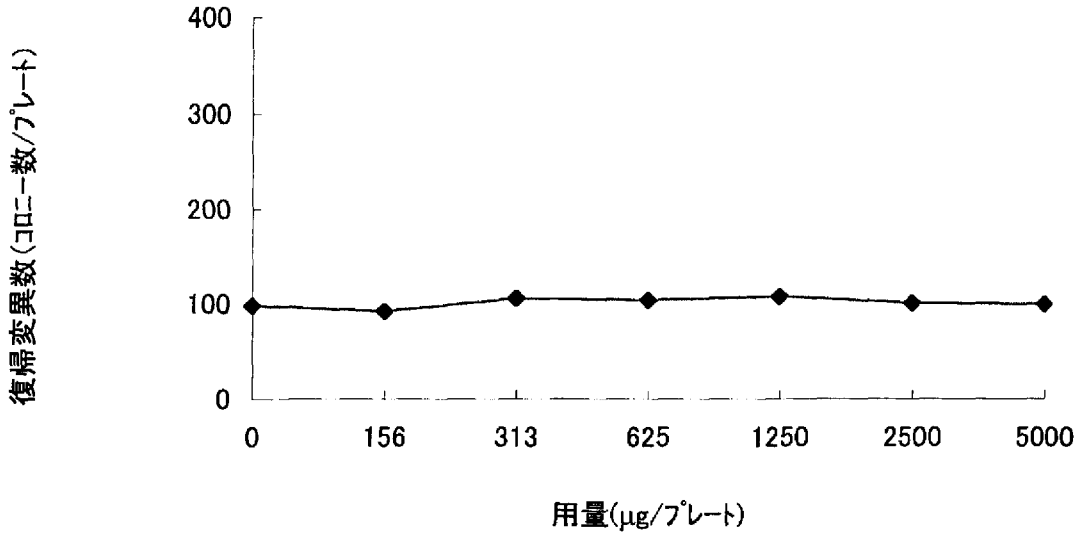

図 6－1　用量－反応曲線　（本試験2；S9 mix非存在下のTA100 ）

被験物質名：硫酸第一鉄・七水塩

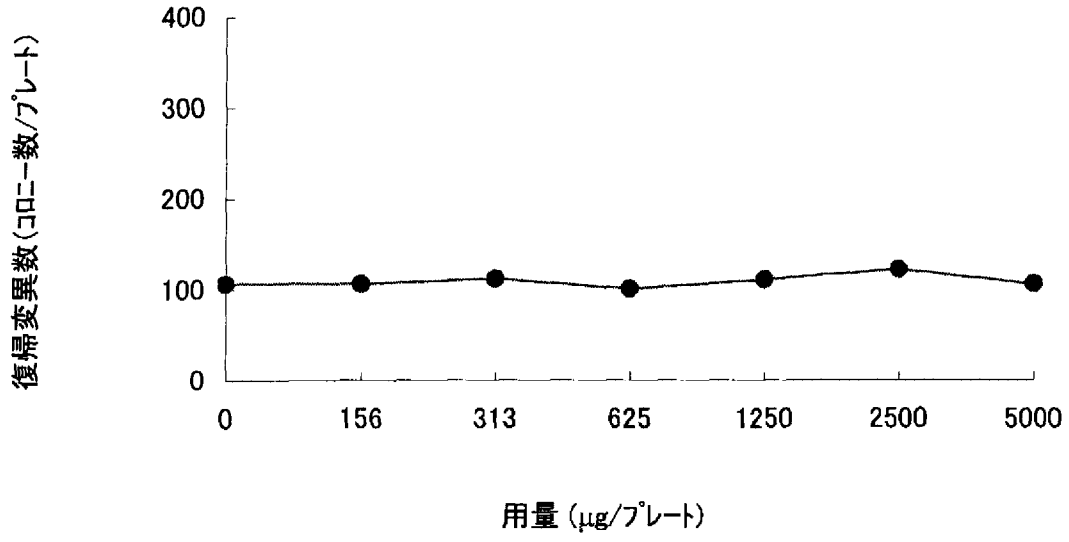

図 6－2　用量－反応曲線　（本試験2；S9 mix存在下のTA100 ）

被験物質名：硫酸第一鉄・七水塩

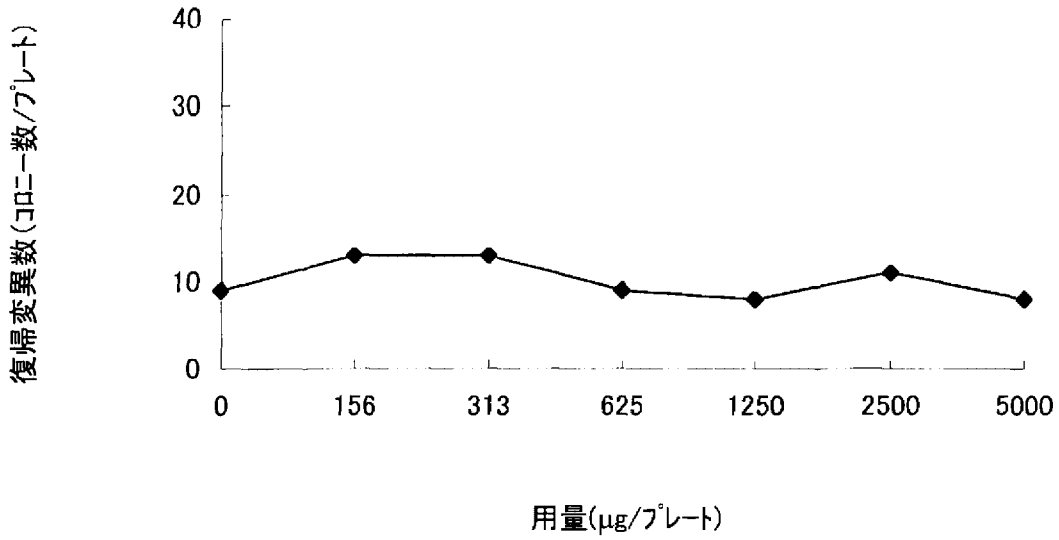

図 7−1　用量−反応曲線　（本試験2;S9 mix非存在下のTA1535）

被験物質名:硫酸第一鉄・七水塩

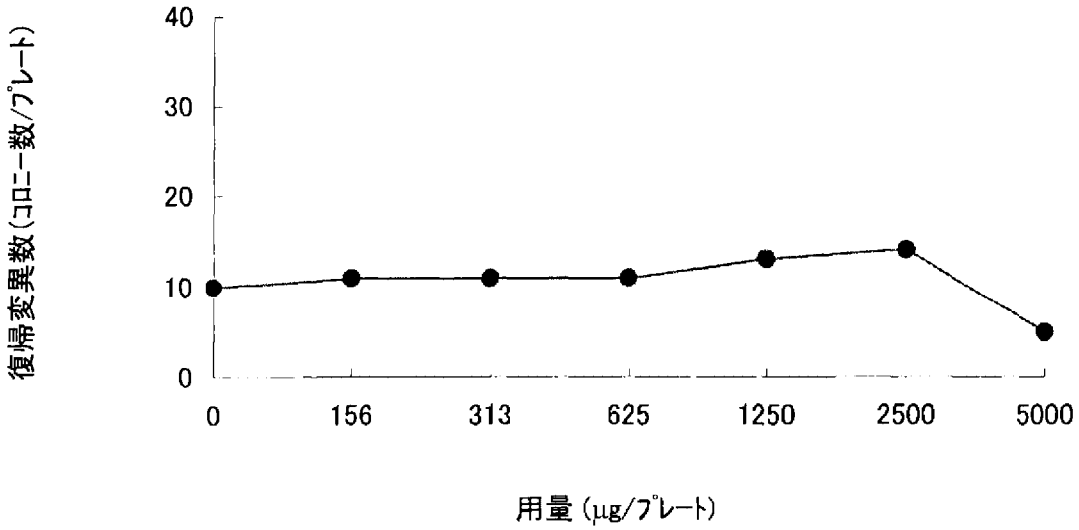

図 7−2　用量−反応曲線　（本試験2;S9 mix存在下のTA1535）

被験物質名:硫酸第一鉄・七水塩

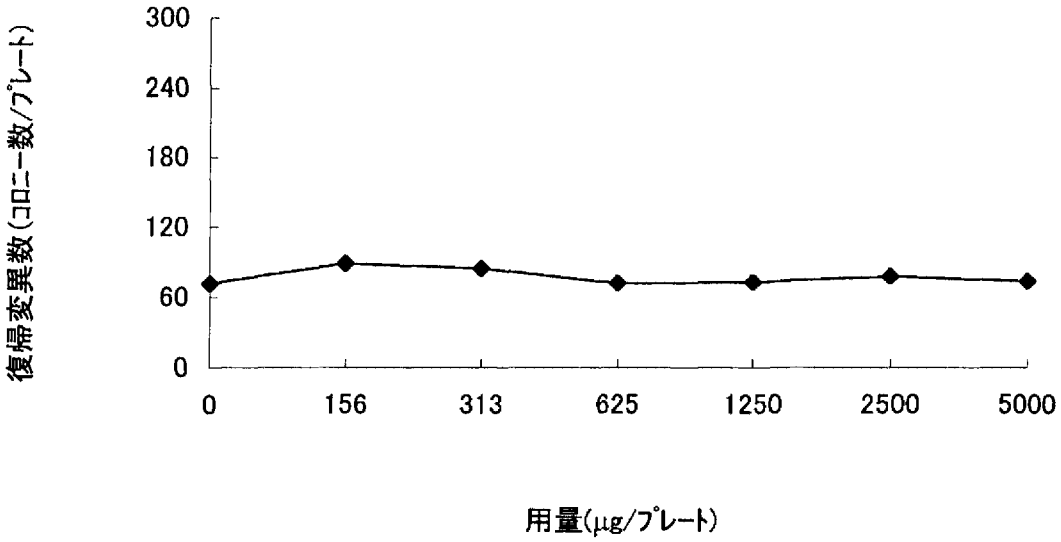

図 8－1　用量－反応曲線　（本試験2;S9 mix非存在下のWP2uvrA/pKM101 ）

被験物質名:硫酸第一鉄・七水塩

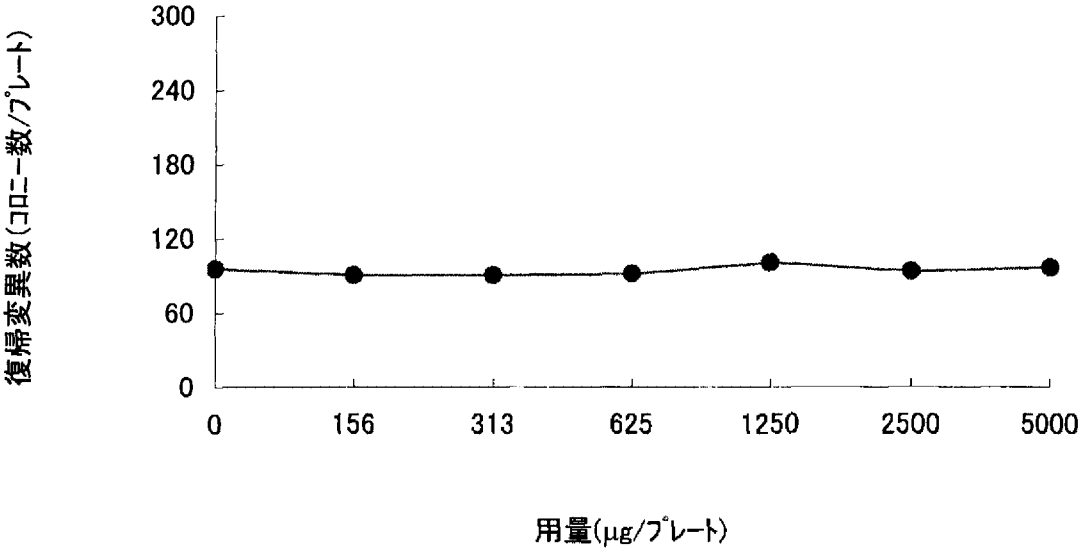

図 8－2　用量－反応曲線　（本試験2;S9 mix存在下のWP2uvrA/pKM101 ）

被験物質名:硫酸第一鉄・七水塩

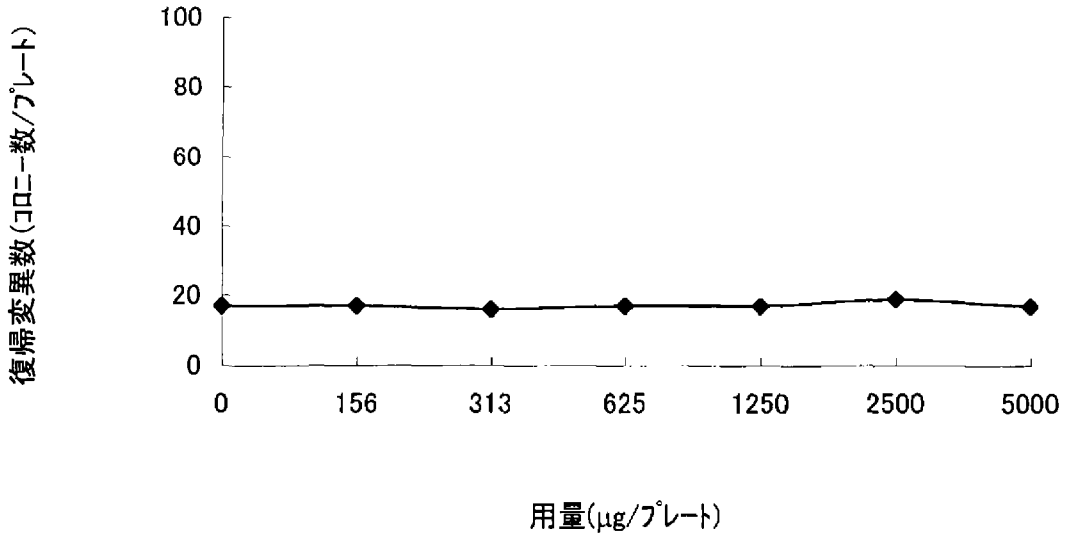

図 9－1　用量－反応曲線　（本試験2;S9 mix非存在下のTA98 ）

被験物質名:硫酸第一鉄・七水塩

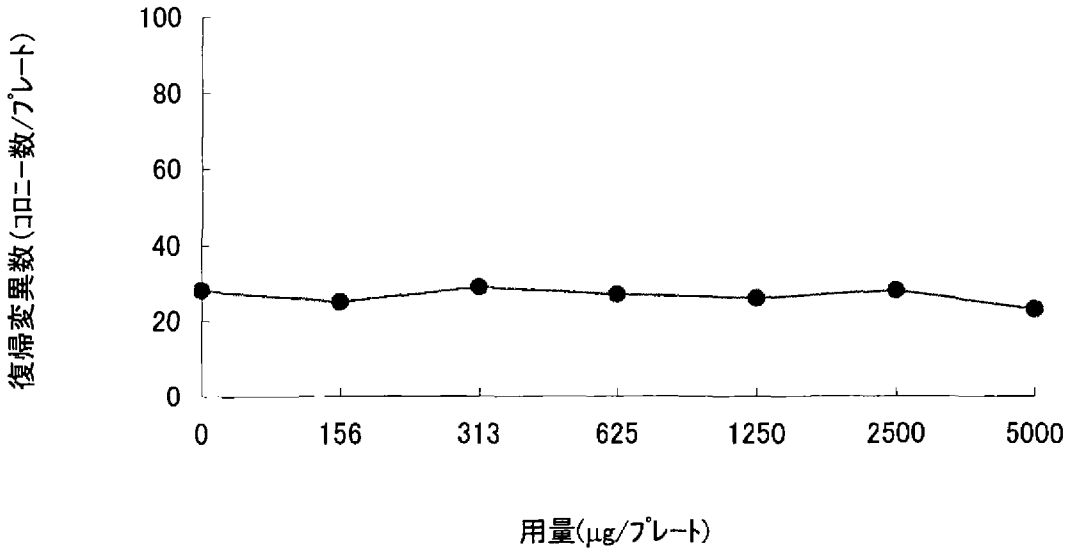

図 9－2　用量－反応曲線　（本試験2;S9 mix存在下のTA98 ）

被験物質名:硫酸第一鉄・七水塩

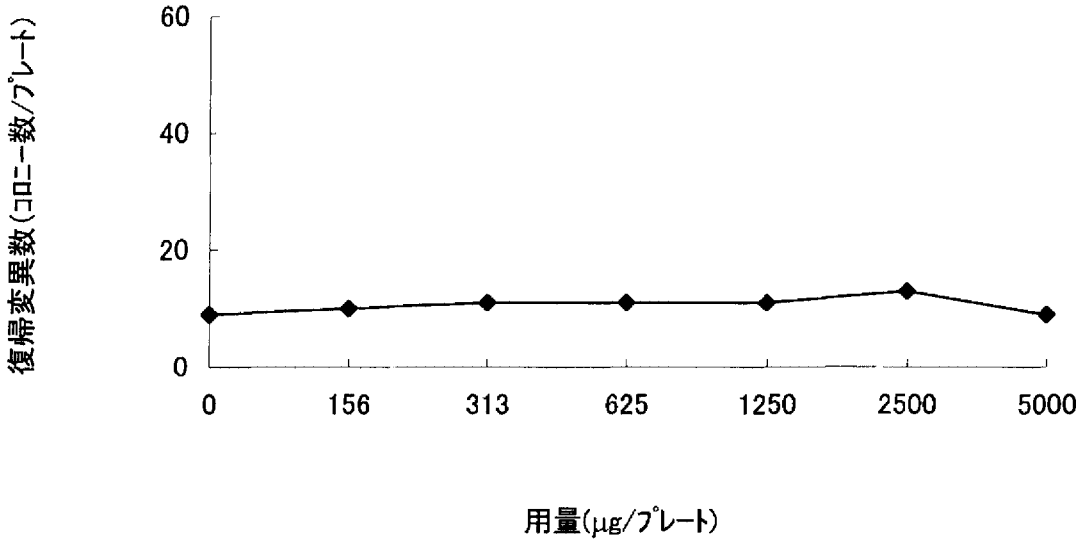

図 10－1　用量－反応曲線　（本試験2；S9 mix非存在下のTA1537 ）

被験物質名：硫酸第一鉄・七水塩

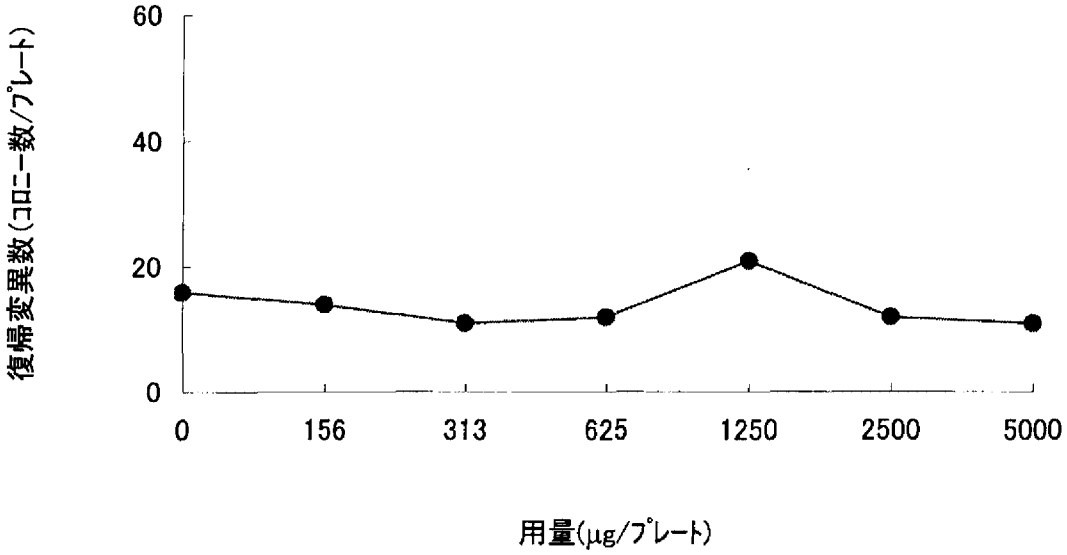

図 10－2　用量－反応曲線　（本試験2；S9 mix存在下のTA1537 ）

被験物質名：硫酸第一鉄・七水塩