最 終 報 告 書

デカヒドロナフタレンの細菌を用いる復帰突然変異試験

（試験番号：04-248-1）

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 …… 7
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 非存在下におけるデカヒドロナフタレンの
　　用量設定試験結果［直接法］ …… 11
表1－2　S9 mix 存在下におけるデカヒドロナフタレンの
　　用量設定試験結果［代謝活性化法］ …… 12

表１－３　S9 mix 非存在下におけるデカヒドロナフタレンの
用量設定試験結果［直接法：再試験］・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・13
表２－１　S9 mix 非存在下におけるデカヒドロナフタレンの
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 存在下におけるデカヒドロナフタレンの
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　S9 mix 非存在下におけるデカヒドロナフタレンの
復帰突然変異試験結果［本試験２回目－直接法］・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・16
表３－２　S9 mix 存在下におけるデカヒドロナフタレンの
復帰突然変異試験結果［本試験２回目－代謝活性化法］・・・・・・・・・・・・17

図：

図１　　デカヒドロナフタレンの
復帰突然変異試験結果－本試験１回目　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 18
図２　　デカヒドロナフタレンの
復帰突然変異試験結果－本試験２回目　・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 23

要　約

デカヒドロナフタレン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* WP2*uvrA* 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を最高用量とし，直接法では，いずれの菌株とも 0.0625～2μg/プレートの範囲（公比 2），また，代謝活性化法において，TA100，TA1535，TA1537 および WP2*uvrA* では 3.13～100μg/プレート，TA98 では 1.56～50μg/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 TA100,TA1535,TA1537 および WP2*uvrA* の 1μg/プレート以上,および TA98 では試験 1 回目は 1μg/プレート以上，試験 2 回目は 2μg/プレートで認められた。また，代謝活性化法では TA100，TA1535，TA1537 および WP2*uvrA* の 100μg/プレート，および TA98 の 50μg/プレートで認められた。

以上の成績から，本実験条件下では，デカヒドロナフタレン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，デカヒドロナフタレン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　：　デカヒドロナフタレン

別　　名　：　デカリン，ビシクロ[4,4,0]デカン，パーヒドロナフタレン

ＣＡＳ番号　：　91-17-8

ロット番号　：

純　　度　：　99.98%〔cis-デカヒドロナフタレン：52.8701%，trans-デカヒドロナフタレン：47.1138%（平成16年8月5日，新日鐵化学株式会社において分析（ＧＣ法)〕

入 手 先　：

入 手 日　：　平成17年3月16日

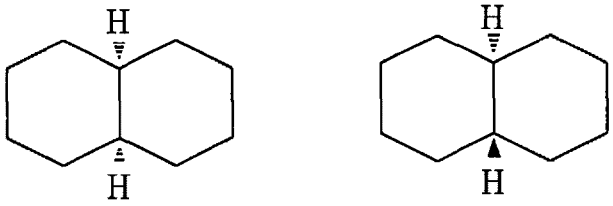
入 手 量　：　35 g

物 性 等　：

化学名　　デカヒドロナフタレン

(Naphthalene, decahydro)

構造式



cis-デカヒドロナフタレン　　trans-デカヒドロナフタレン

分子式　　$C_{10}H_{18}$

分子量　　138.25

性状(常温)　　ナフテン臭の無色透明な液体

沸点　　186℃

融点　　−45℃

引火点　　56℃（タグ密閉式）

溶解性　水に不溶，エタノール，エーテルに可溶

溶解度　　水：<0.1%

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を新日鐵化学株式会社において分析（平成18年4月3日，GC法）した結果，純度は99.99%〔cis-デカヒドロナフタレン：54.0069%，trans-デカヒドロナフタレン：45.9892%〕で，実験期間中被験物質は安定であったことを確認した。

保管条件　：　冷暗所（2～6℃），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　WP2*uvrA*
（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℃以下で保存した。この保存菌株の 25μL 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℃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（OD_{660nm}）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（$\times10^9$/mL）

指標菌株	TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
用量設定試験	1.46	1.53	1.30	1.33	1.24
用量設定試験(直接法：再試験)	1.46	1.53	1.30	1.41	1.21
本試験(1 回目)	1.46	1.53	1.21	1.19	1.17
本試験(2 回目)	1.38	1.53	1.17	1.33	1.17

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-530・2005 年 9 月 16 日製造・2005 年 11 月 2 日購入）。凍結 S9 mix は－80℃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：　212～244 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 ELL9966，100%）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 TCE7729，100%）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，局方）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*uvrA*	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）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，20～5000μg/プレートの範囲で，また，直接法の再試験では 0.2～20μg/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 1-1，1-2，1-3），直接法の場合は，TA100 の 2μg/プレート以上，TA1535，TA98，TA1537 および WP2*uvrA* の 1μg/プレート以上の用量で菌の生育阻害が認められた。なお，TA1535，TA98，TA1537 および WP2*uvrA* の 1μg/プレートの生育阻害は軽度なものであった。代謝活性化法の場合は，TA100，TA1535，TA98 および TA1537 の 50μg/プレート以上，WP2*uvrA* の 100μg/プレート以上の用量で菌の生育阻害が認められた。なお，TA100，TA1535 および TA1537 の 50 μg/プレートの生育阻害は軽度なものであった。

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，被験物質の用量は，直接法の場合は，いずれの菌株とも 2μg/プレートを最高用量とし，以下公比2で 1，0.5，0.25，0.125 および 0.0625 μg/プレートの計6用量，また，代謝活性化法の場合は，TA100，TA1535，TA1537 および WP2*uvrA* では 100μg/プレートを最高用量とし，以下公比2で 50，25，12.5，6.25 および 3.13μg/プレートのそれぞれ計6用量，TA98 では 50μg/プレートを最高用量とし，以下公比2で 25，12.5，6.25，3.13 および 1.56μg/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0.05 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℃で20分間振盪培養後，45℃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 ANI810JU・2005年10月4日製造・2005年11月2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℃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0.05mL にかわり，溶媒(アセトン)0.05mL 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℃で20分間振盪培養後，45℃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℃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）0.05mL 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 ANI810JU）に重層後，37℃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 1-1，1-2，1-3，1-4，1-5，2-1，2-2，2-3，2-4，2-5），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 TA100，TA1535，TA1537 および WP2*uvrA* の 1μg/プレート以上，および TA98 では試験 1 回目は 1μg/プレート以上，試験 2 回目は 2μg/プレートで認められた。また，代謝活性化法では TA100，TA1535，TA1537

およびWP2*uvrA*の100μg/プレート,およびTA98の50μg/プレートで認められた。

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

デカヒドロナフタレン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，本実験条件下ではデカヒドロナフタレンの遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

デカヒドロナフタレンの変異原性については，*S. typhimurium*を用いた復帰突然変異試験において陰性との報告があり[3]，*E. coli*を加えた本試験においてその陰性結果が確認された。また，マウス小核試験において雄で陽性，雌で陰性，マウスリンフォーマ試験で陰性との報告がある[3]。発がん性については，雄ラットの2年間吸入試験で陽性との報告がある[4]。

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) National Toxicology Program – Database Search Application.

4) Dill, J.A., Lee, K.M., Renne,R.A., Miller,R.A., Fuciarelli, A.F., Gideon, K.M., Chan, P.C., Burka, L.T and Roycroft, J.H. (2003). Alpha 2U–globurin

nephropathy and carcinogenicity following exposure to decarin(decahydro-naphthalene) in F344/N rats. *Toxicol. Sci.* 72(2), 223-234.

表 1-1　S9 mix 非存在下におけるデカヒドロナフタレンの用量設定試験結果〔直接法〕

用　量〔μg/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〕	134	13	14	21	11
20	90 *	6 *	29 *	9 *	4 *
50	125 *	0 *	25 *	2 *	5 *
100	0 *	0 *	27 *	0 *	3 *
200	0 *	0 *	11 *	0 *	0 *
500	0 *	0 *	13 *	0 *	0 *
1000	0 *	0 *	17 *	0 *	0 *
2000	0 *	0 *	30 *	0 *	0 *
5000	0 *	0 *	16 *	0 *	0 *
陽性対照	AF－2	SA	AF－2	AF－2	9－AA
μg/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	1005	360	1406	342	346

*　：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 存在下におけるデカヒドロナフタレンの用量設定試験結果〔代謝活性化法〕

用　量 〔μg/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〕	141	14	25	26	19
20	124	11	26	31	18
50	136 *	9 *	20	35 *	19 *
100	114 *	9 *	19 *	26 *	14 *
200	101 *	11 *	26 *	22 *	11 *
500	90 *	6 *	17 *	13 *	8 *
1000	6 *	8 *	23 *	3 *	3 *
2000	12 *	10 *	19 *	4 *	0 *
5000	2 *	9 *	23 *	3 *	1 *
陽性対照	2- AA	2- AA	2- AA	2- AA	2- AA
μg/プレート	1	2	10	1	2
復帰変異コロニー数／プレート	343	109	356	290	46

*　：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 1-3　S9 mix 非存在下におけるデカヒドロナフタレンの用量設定試験結果〔直接法：再試験〕

用　量 〔μg/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〕	109	12	19	27	7
0.2	132	8	24	21	10
0.5	131	15	28	19	7
1	106	9 *	21 *	15 *	12 *
2	123 *	9 *	24 *	21 *	6 *
5	115 *	9 *	22 *	9 *	7 *
10	102 *	5 *	20 *	7 *	8 *
20	104 *	6 *	27 *	11 *	5 *
陽性対照	AF－2	SA	AF－2	AF－2	9－AA
μg/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	868	348	540	253	238

*　：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　S9 mix 非存在下におけるデカヒドロナフタレンの復帰突然変異試験結果
〔本試験1回目：直接法〕

用　量	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	
〔μg/プレート〕	TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
陰性対照	137	8	25	36	12
〔アセトン〕	147	6	17	32	11
	165	6	23	30	14
	(150 ± 14)	(7 ± 1)	(22 ± 4)	(33 ± 3)	(12 ± 2)
	135	9	24	34	14
0 .0625	112	14	26	39	12
	139	9	14	27	12
	(129 ± 15)	(11 ± 3)	(21 ± 6)	(33 ± 6)	(13 ± 1)
	143	5	17	38	12
0 .125	118	11	21	31	14
	145	6	28	38	7
	(135 ± 15)	(7 ± 3)	(22 ± 6)	(36 ± 4)	(11 ± 4)
	132	7	16	37	15
0 .25	147	9	22	36	14
	162	14	22	34	16
	(147 ± 15)	(10 ± 4)	(20 ± 3)	(36 ± 2)	(15 ± 1)
	180	5	18	27	12
0 .5	122	9	16	31	13
	121	6	18	37	14
	(141 ± 34)	(7 ± 2)	(17 ± 1)	(32 ± 5)	(13 ± 1)
	109 *	4 *	10 *	27 *	16 *
1	90 *	8 *	22 *	31 *	11 *
	99 *	4 *	11 *	44 *	20 *
	(99 ± 10)	(5 ± 2)	(14 ± 7)	(34 ± 9)	(16 ± 5)
	113 *	6 *	20 *	33 *	12 *
2	102 *	7 *	15 *	32 *	10 *
	130 *	9 *	12 *	30 *	13 *
	(115 ± 14)	(7 ± 2)	(16 ± 4)	(32 ± 2)	(12 ± 2)
陽性対照	AF－2	SA	AF－2	AF－2	9－AA
μg/プレート	0.01	0.5	0.04	0.1	80
復帰変異	1053	348	554	308	352
コロニー数	978	322	470	297	292
／プレート	941	392	627	343	357
	(991 ± 57)	(354 ± 35)	(550 ± 79)	(316 ± 24)	(334 ± 36)

(　)：平均値±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 2-2　S9 mix 存在下におけるデカヒドロナフタレン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	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	
〔μg/プレート〕	TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
陰性対照	126	6	12	30	8
〔アセトン〕	132	7	28	42	16
	152	12	16	28	18
	(137 ± 14)	(8 ± 3)	(19 ± 8)	(33 ± 8)	(14 ± 5)
	--	--	--	28	--
1.56	--	--	--	32	--
	--	--	--	27	--
	--	--	--	(29 ± 3)	--
	137	10	14	23	15
3.13	131	7	19	23	15
	137	6	27	35	13
	(135 ± 3)	(8 ± 2)	(20 ± 7)	(27 ± 7)	(14 ± 1)
	137	6	24	28	17
6.25	129	11	28	40	12
	141	8	24	28	14
	(136 ± 6)	(8 ± 3)	(25 ± 2)	(32 ± 7)	(14 ± 3)
	140	7	17	32	15
12.5	127	4	26	30	13
	125	9	25	29	12
	(131 ± 8)	(7 ± 3)	(23 ± 5)	(30 ± 2)	(13 ± 2)
	138	12	25	28	12
25	132	10	26	26	8
	128	12	19	21	11
	(133 ± 5)	(11 ± 1)	(23 ± 4)	(25 ± 4)	(10 ± 2)
	113	10	21	34 *	8
50	116	8	27	22 *	13
	126	9	18	30 *	10
	(118 ± 7)	(9 ± 1)	(22 ± 5)	(29 ± 6)	(10 ± 3)
	119 *	3 *	16 *	--	12 *
100	93 *	9 *	18 *	--	5 *
	113 *	10 *	23 *	--	6 *
	(108 ± 14)	(7 ± 4)	(19 ± 4)	--	(8 ± 4)
陽性対照	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
μg/プレート	1	2	10	1	2
復帰変異	384	137	393	216	55
コロニー数	358	143	431	214	65
／プレート	315	150	420	208	70
	(352 ± 35)	(143 ± 7)	(415 ± 20)	(213 ± 4)	(63 ± 8)

(　)：平均値±標準偏差
*　：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 3-1　S9 mix 非存在下におけるデカヒドロナフタレンの復帰突然変異試験結果
〔本試験2回目：直接法〕

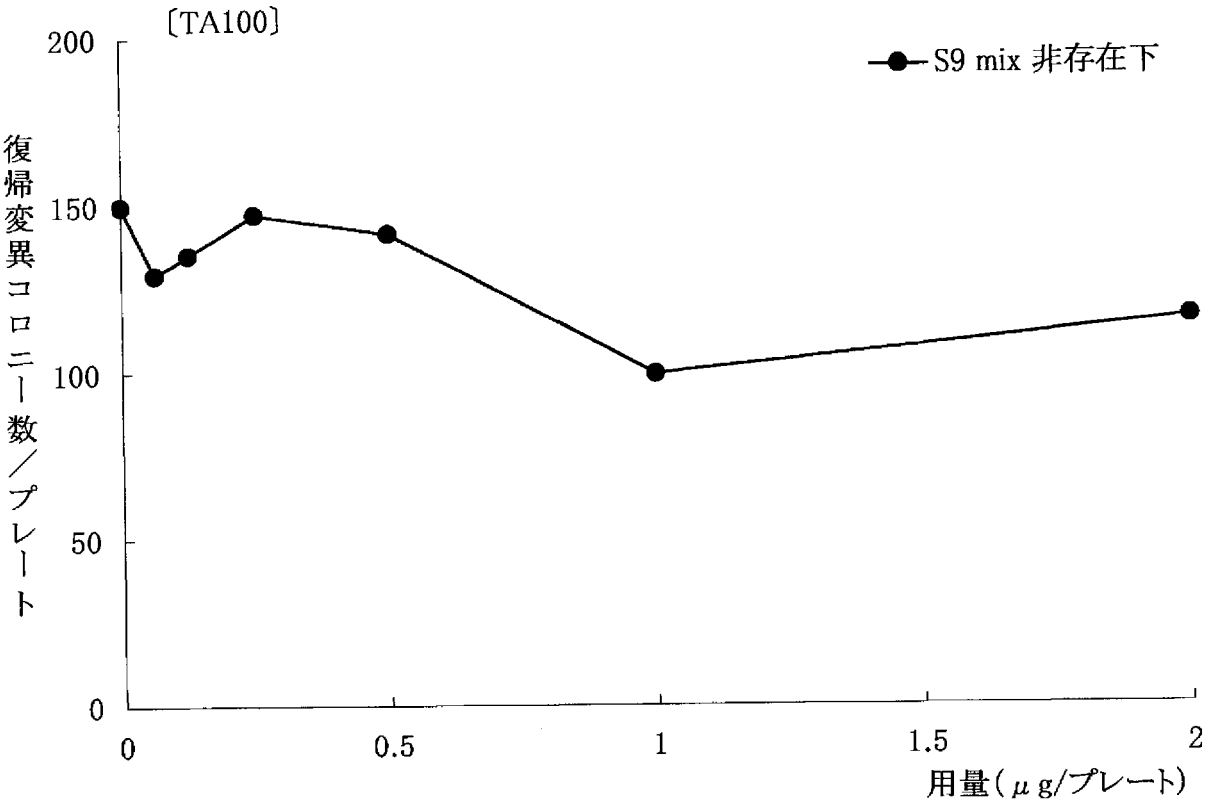
用　量	復帰変異コロニー数／プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
〔μg/プレート〕	TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
陰性対照	110	9	14	30	9
〔アセトン〕	123	10	33	28	11
	114	7	23	35	14
	(116 ± 7)	(9 ± 2)	(23 ± 10)	(31 ± 4)	(11 ± 3)
	122	9	18	35	16
0.0625	125	9	25	33	13
	134	17	16	37	14
	(127 ± 6)	(12 ± 5)	(20 ± 5)	(35 ± 2)	(14 ± 2)
	136	5	22	35	16
0.125	134	10	31	39	17
	110	5	22	28	8
	(127 ± 14)	(7 ± 3)	(25 ± 5)	(34 ± 6)	(14 ± 5)
	107	12	21	32	12
0.25	112	8	20	30	17
	128	5	26	27	5
	(116 ± 11)	(8 ± 4)	(22 ± 3)	(30 ± 3)	(11 ± 6)
	114	12	17	35	19
0.5	111	4	22	25	14
	96	11	23	38	9
	(107 ± 10)	(9 ± 4)	(21 ± 3)	(33 ± 7)	(14 ± 5)
	95 *	5 *	17 *	26	9 *
1	92 *	7 *	22 *	33	17 *
	105 *	7 *	22 *	15	15 *
	(97 ± 7)	(6 ± 1)	(20 ± 3)	(25 ± 9)	(14 ± 4)
	109 *	17 *	15 *	31 *	11 *
2	103 *	3 *	12 *	35 *	10 *
	125 *	3 *	22 *	18 *	8 *
	(112 ± 11)	(8 ± 8)	(16 ± 5)	(28 ± 9)	(10 ± 2)
陽性対照	AF−2	SA	AF−2	AF−2	9−AA
μg/プレート	0.01	0.5	0.04	0.1	80
復帰変異	1152	378	522	336	362
コロニー数	1113	352	506	327	359
／プレート	1023	300	549	317	369
	(1096 ± 66)	(343 ± 40)	(526 ± 22)	(327 ± 10)	(363 ± 5)

(　)：平均値±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 3-2　S9 mix 存在下におけるデカヒドロナフタレン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	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	
〔μg/プレート〕	TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
陰性対照	116	8	19	25	10
〔アセトン〕	117	8	17	26	15
	113	8	18	33	16
	(115 ± 2)	(8 ± 0)	(18 ± 1)	(28 ± 4)	(14 ± 3)
	--	--	--	49	--
1.56	--	--	--	24	--
	--	--	--	34	--
	--	--	--	(36 ± 13)	--
	89	11	25	29	17
3.13	118	5	18	29	15
	129	8	19	24	18
	(112 ± 21)	(8 ± 3)	(21 ± 4)	(27 ± 3)	(17 ± 2)
	201	8	21	29	17
6.25	103	11	23	29	13
	102	6	16	31	12
	(135 ± 57)	(8 ± 3)	(20 ± 4)	(30 ± 1)	(14 ± 3)
	90	7	24	19	12
12.5	104	7	20	37	7
	110	17	32	32	12
	(101 ± 10)	(10 ± 6)	(25 ± 6)	(29 ± 9)	(10 ± 3)
	105	10	21	20	14
25	115	4	25	31	15
	123	9	15	32	17
	(114 ± 9)	(8 ± 3)	(20 ± 5)	(28 ± 7)	(15 ± 2)
	106	10	22	36 *	12
50	90	8	18	28 *	15
	116	8	26	36 *	13
	(104 ± 13)	(9 ± 1)	(22 ± 4)	(33 ± 5)	(13 ± 2)
	96 *	5 *	17 *	--	19 *
100	101 *	5 *	22 *	--	11 *
	99 *	8 *	22 *	--	14 *
	(99 ± 3)	(6 ± 2)	(20 ± 3)	--	(15 ± 4)
陽性対照	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
μg/プレート	1	2	10	1	2
復帰変異	346	105	421	227	62
コロニー数	392	106	432	210	55
／プレート	358	113	440	247	44
	(365 ± 24)	(108 ± 4)	(431 ± 10)	(228 ± 19)	(54 ± 9)

(　)：平均値±標準偏差
*　：菌の生育阻害が認められた。
2-AA：2-アミノアントラセン



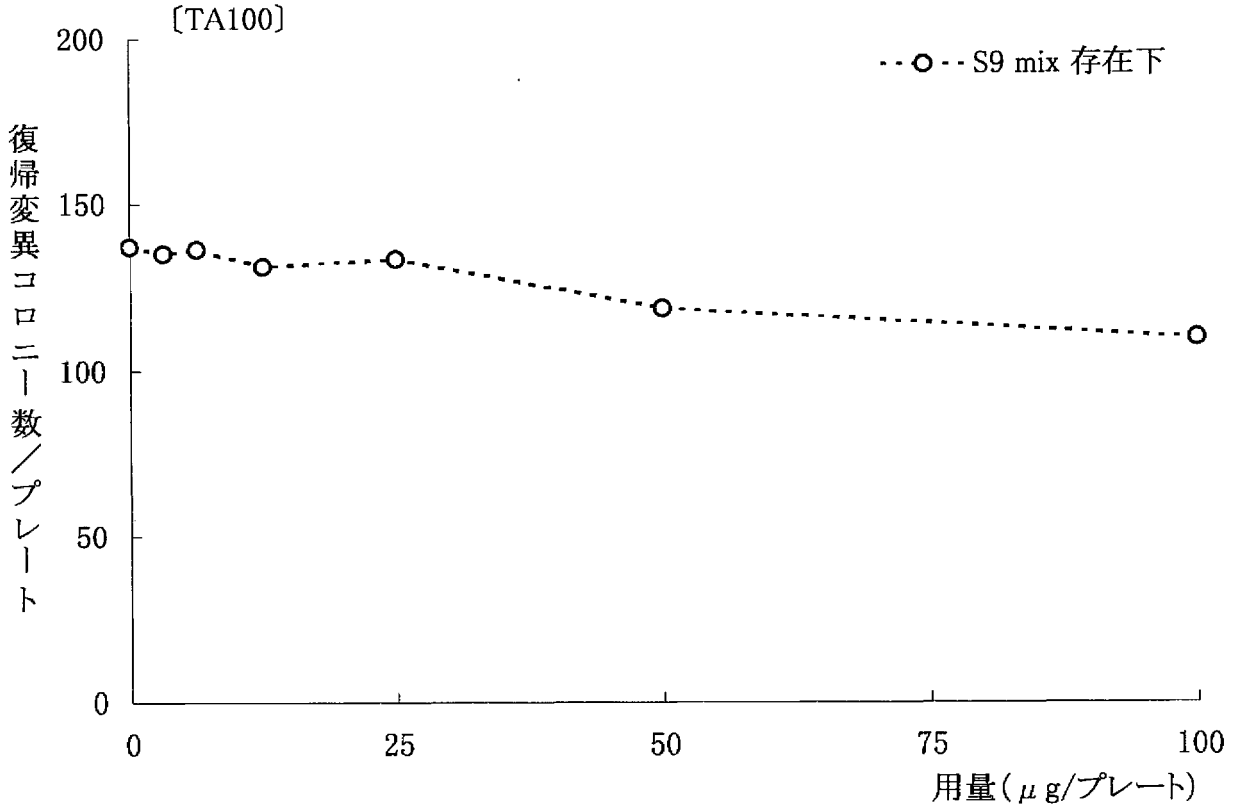
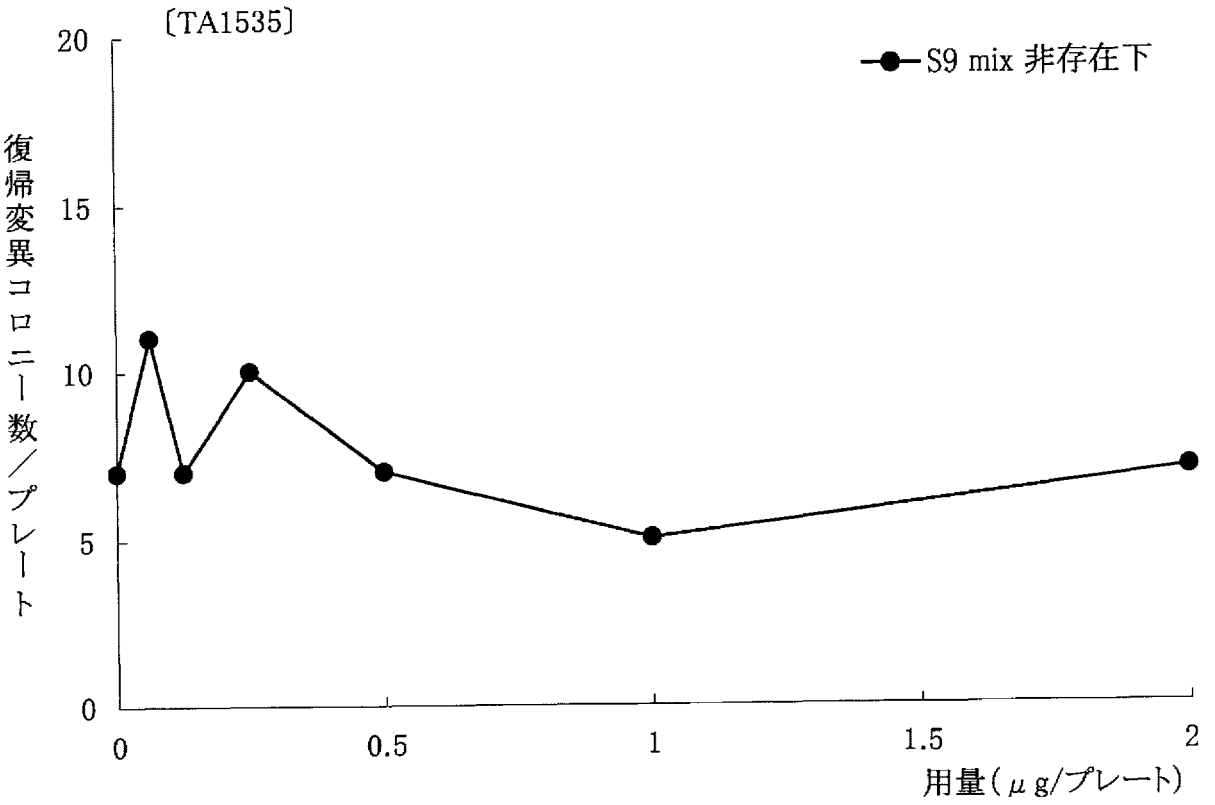


図 1-1　デカヒドロナフタレンの復帰突然変異試験結果－本試験1回目



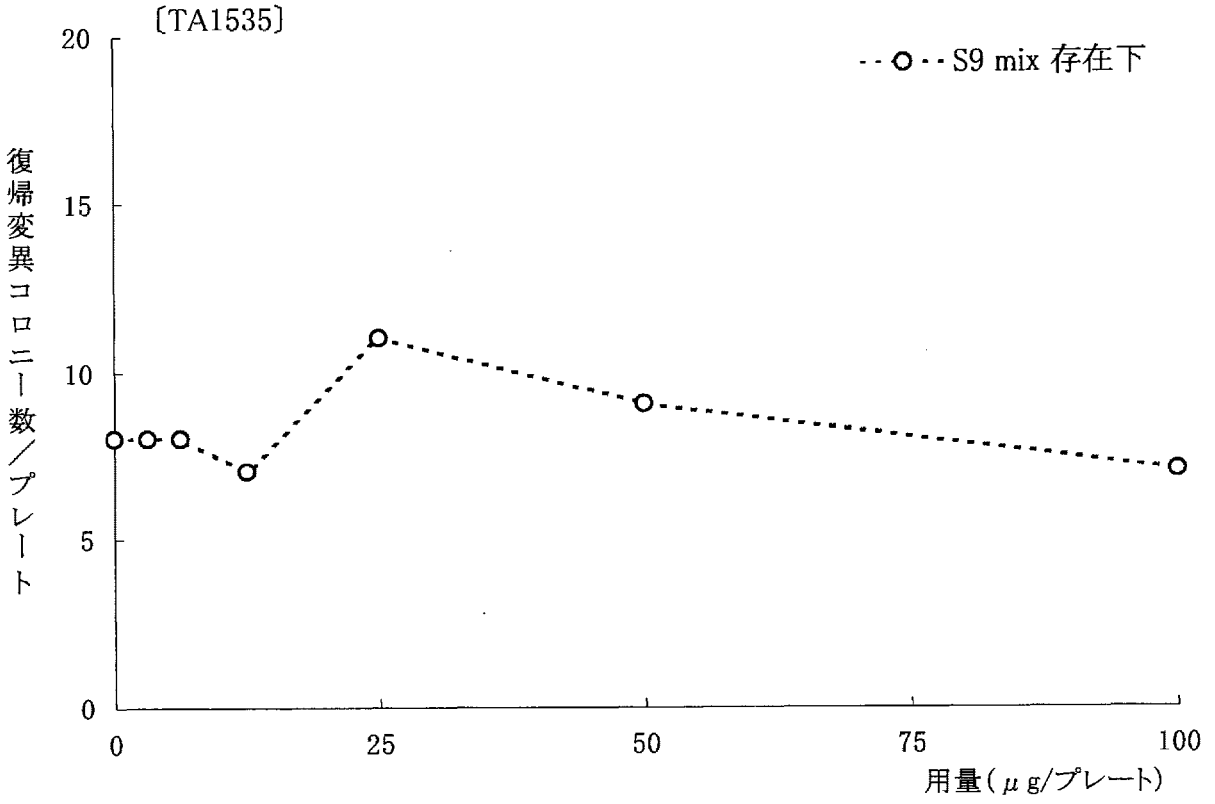
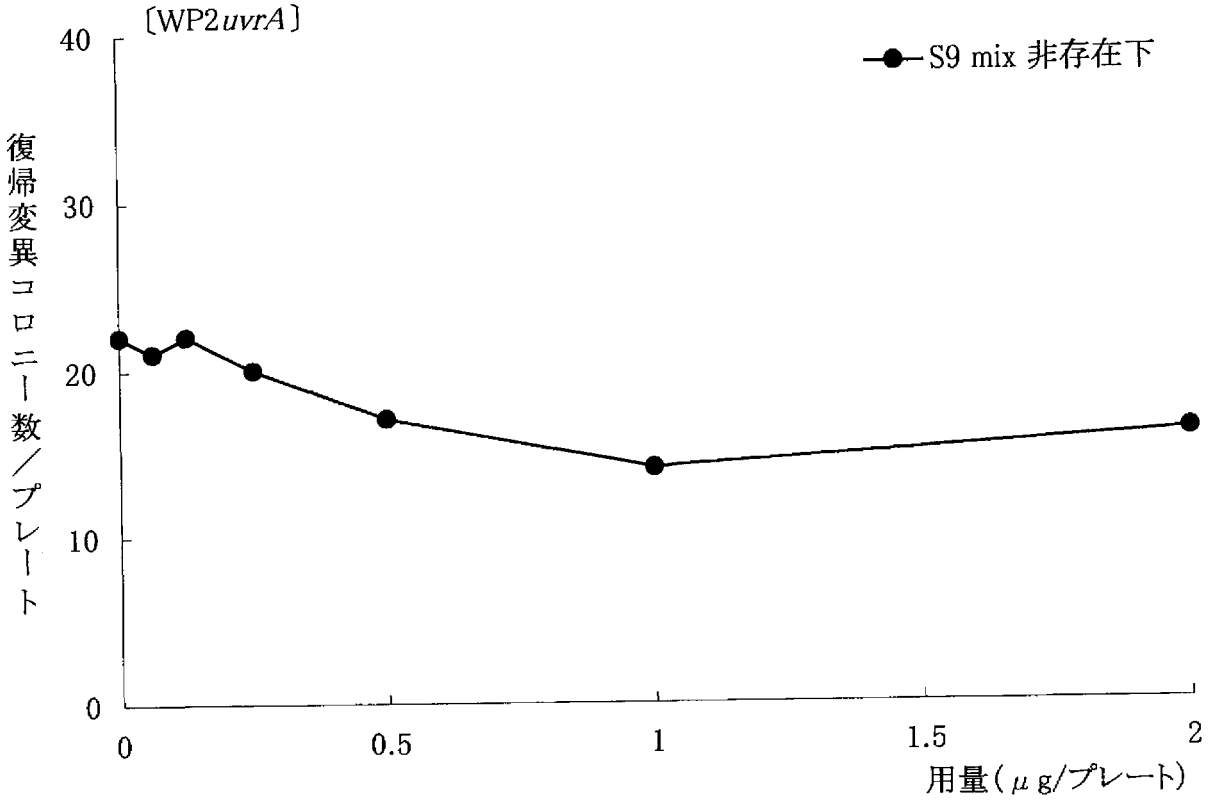


図 1-2　デカヒドロナフタレンの復帰突然変異試験結果－本試験1回目



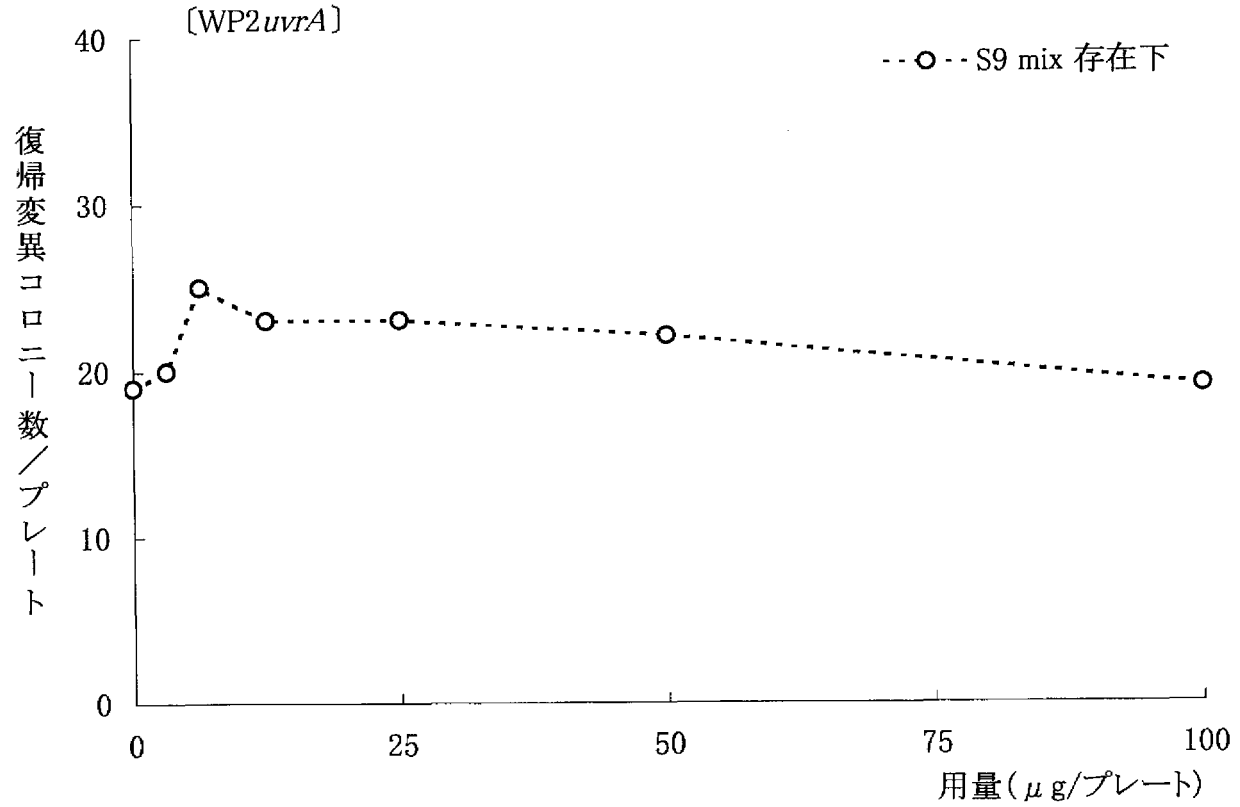
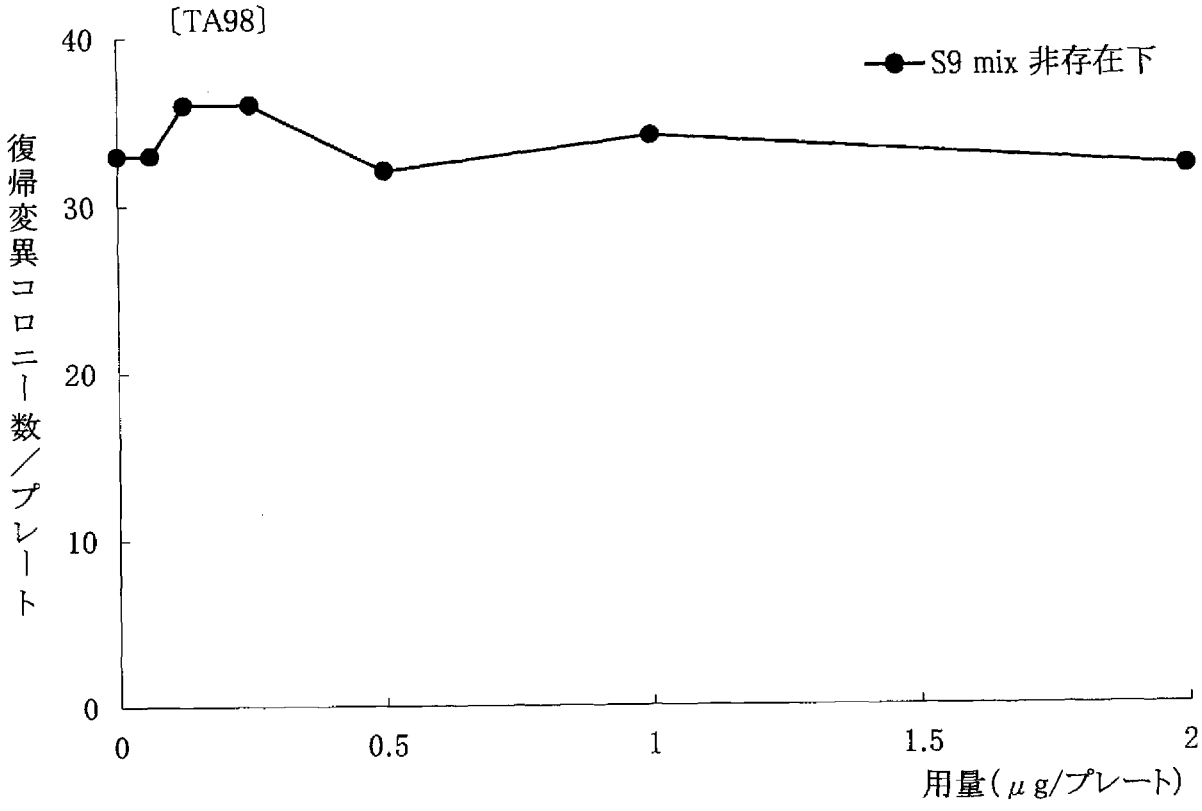


図 1-3　デカヒドロナフタレンの復帰突然変異試験結果－本試験1回目



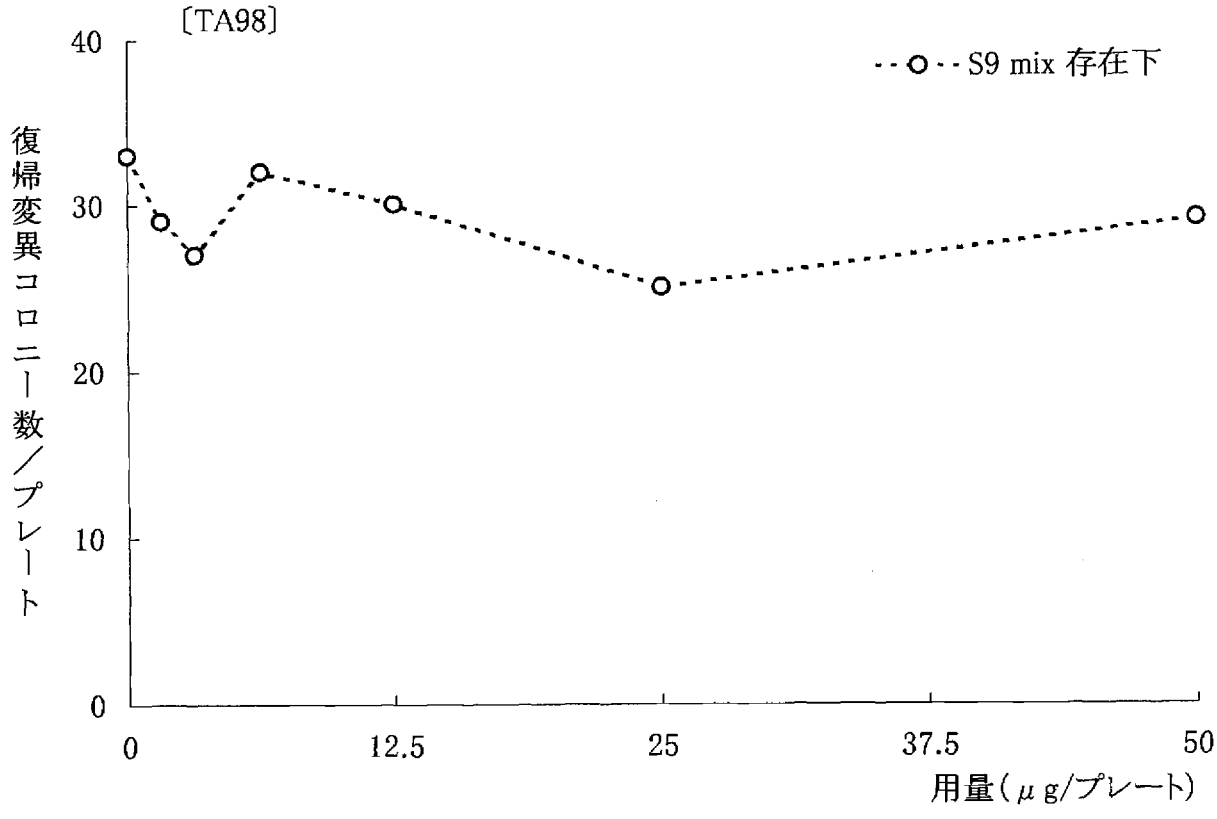
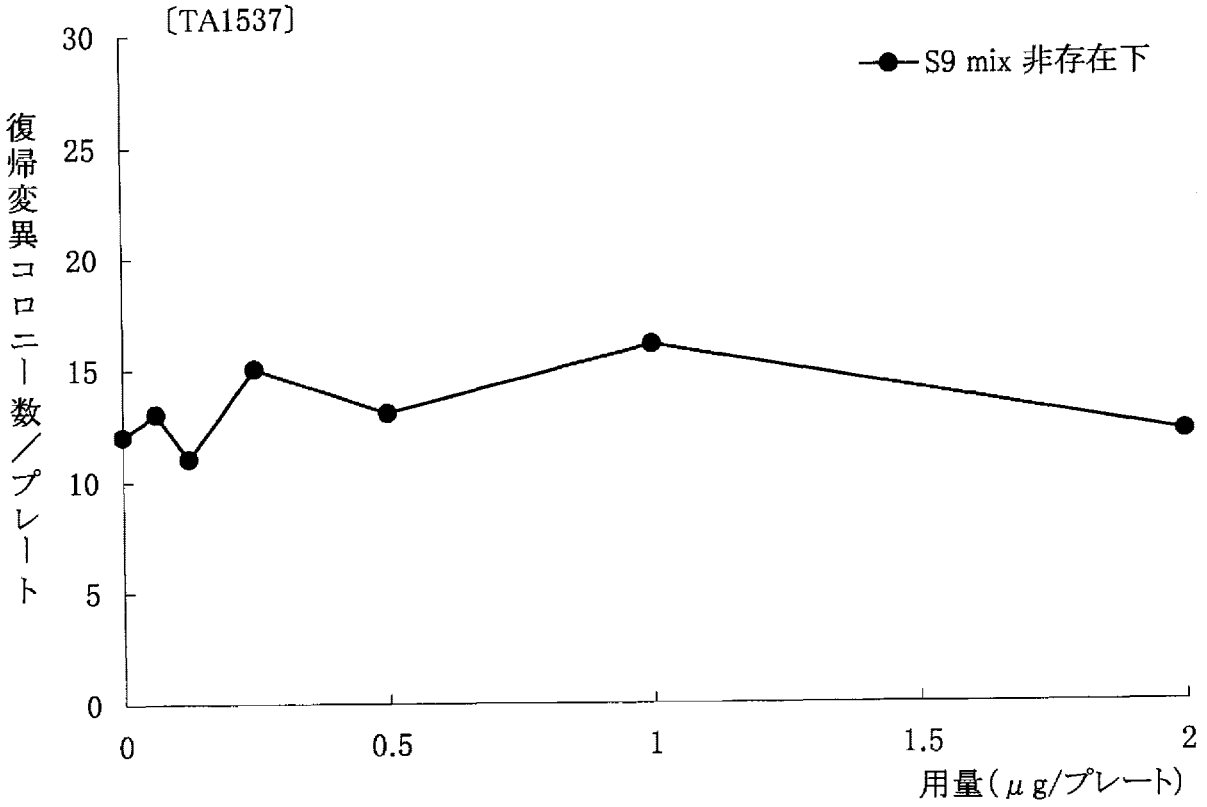


図 1-4　デカヒドロナフタレンの復帰突然変異試験結果－本試験1回目



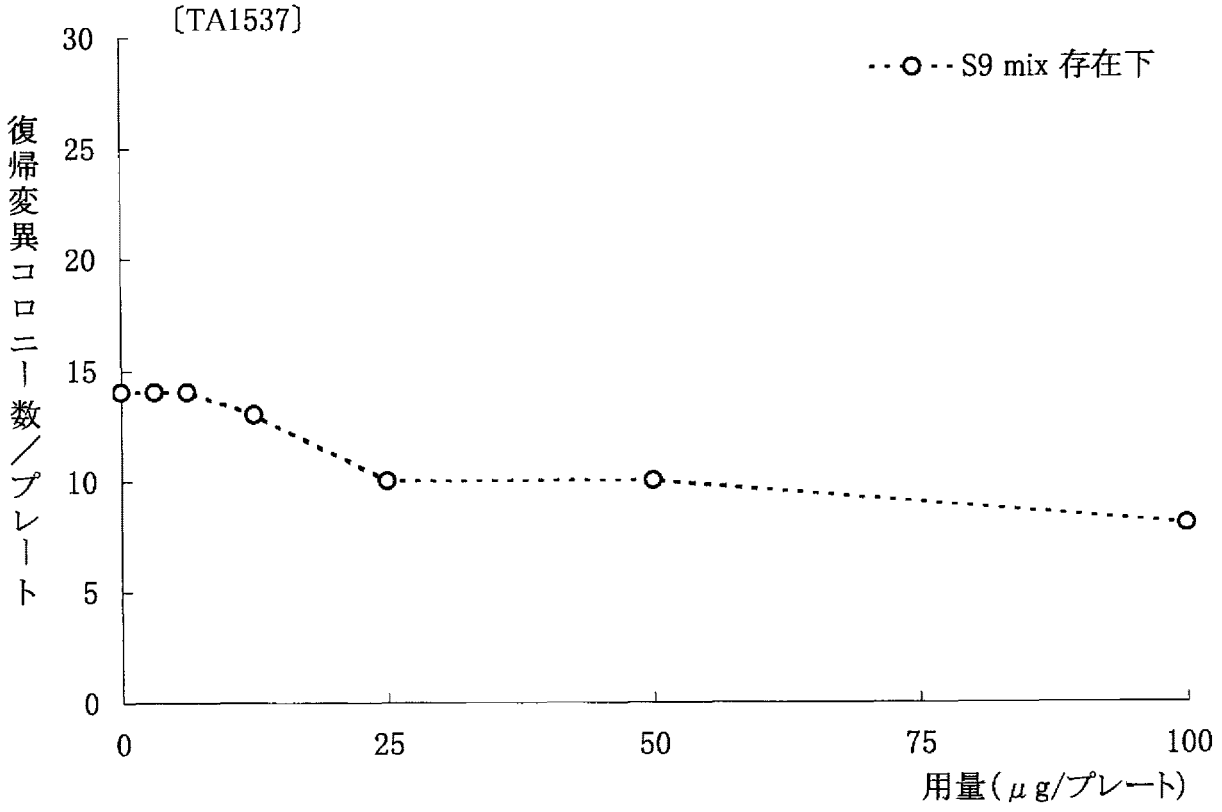
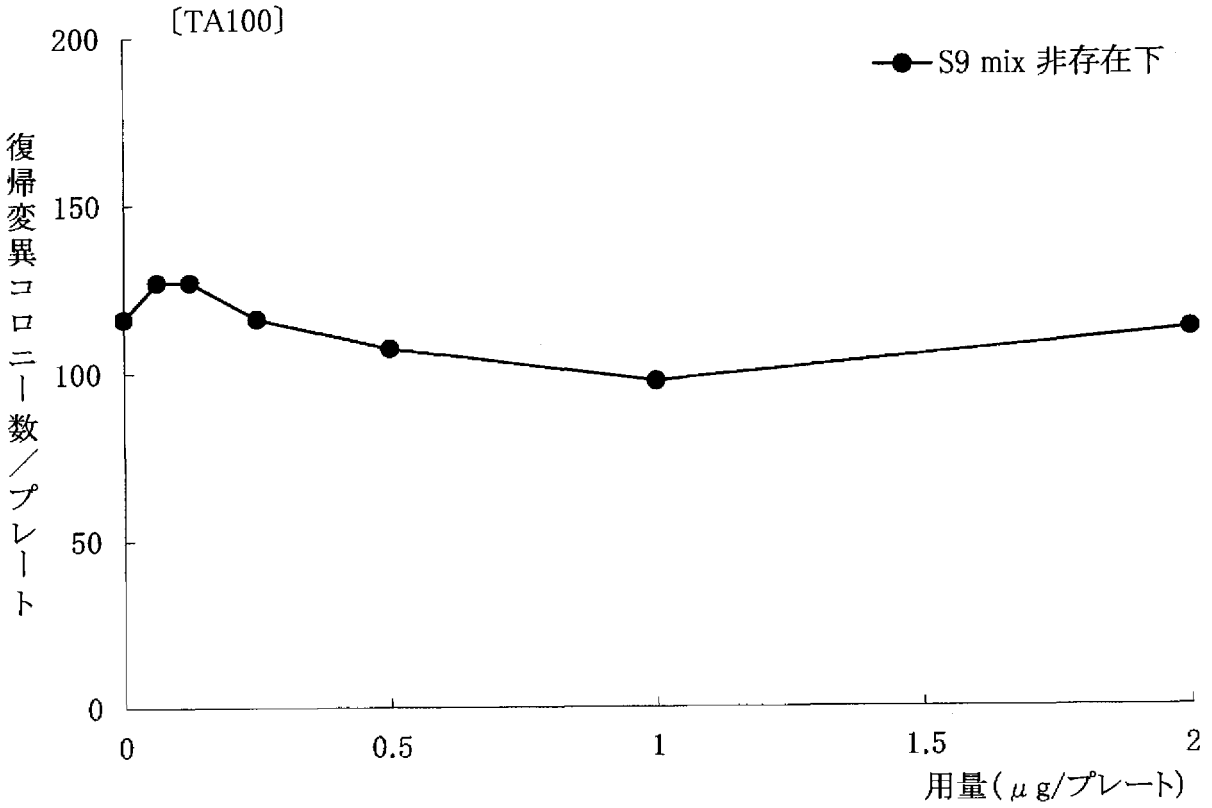


図 1-5　デカヒドロナフタレンの復帰突然変異試験結果－本試験1回目



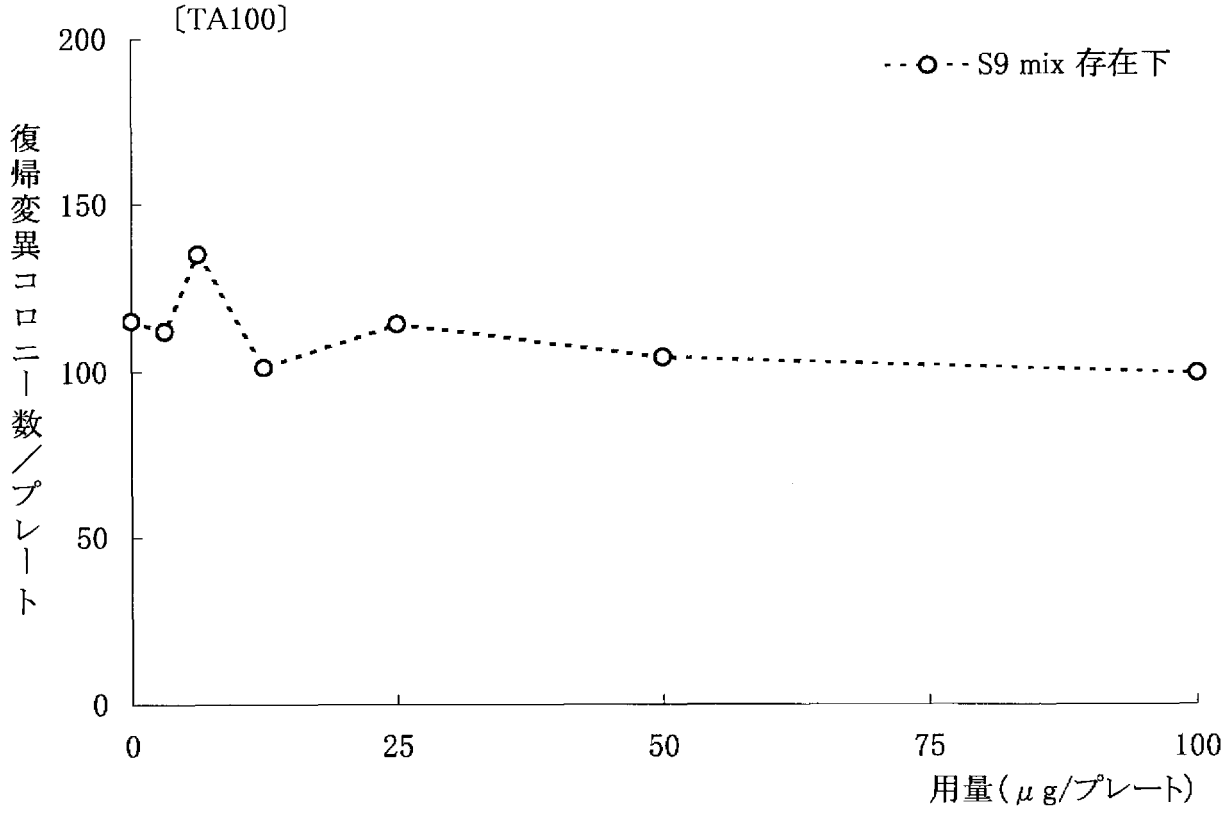
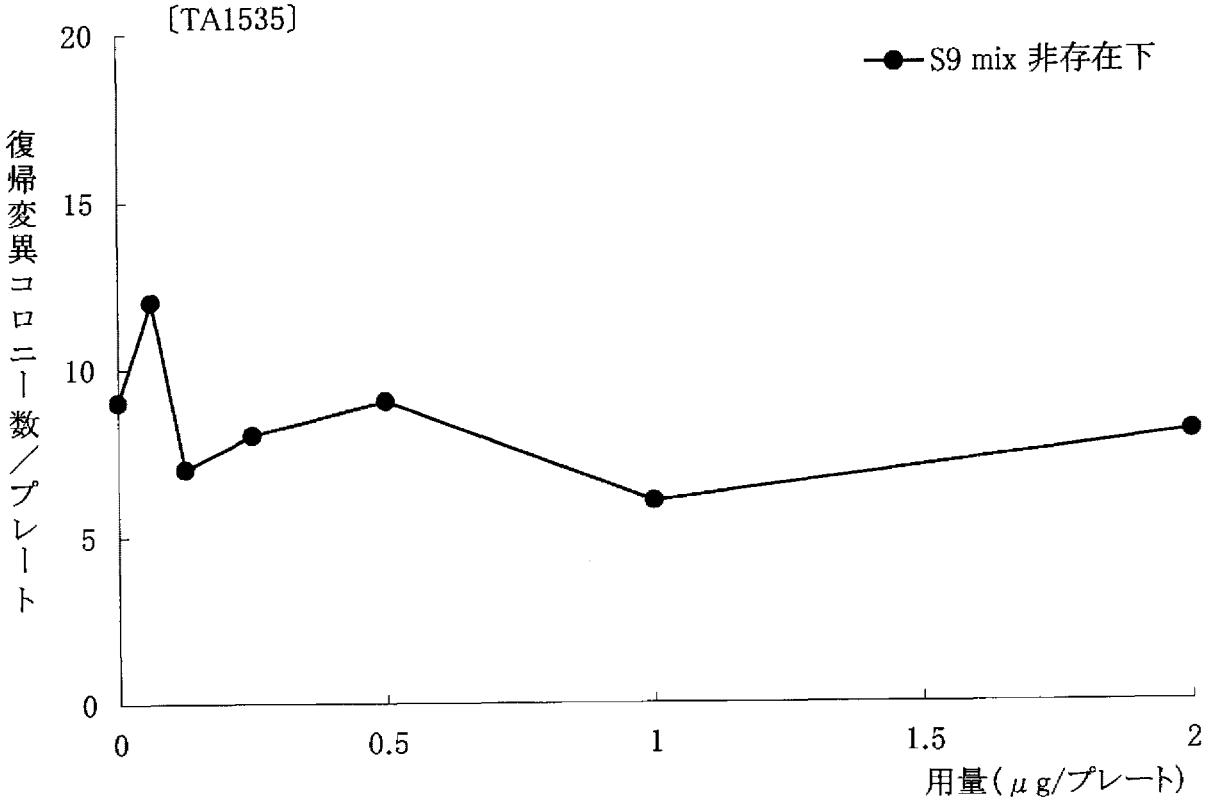


図 2-1　デカヒドロナフタレンの復帰突然変異試験結果－本試験2回目



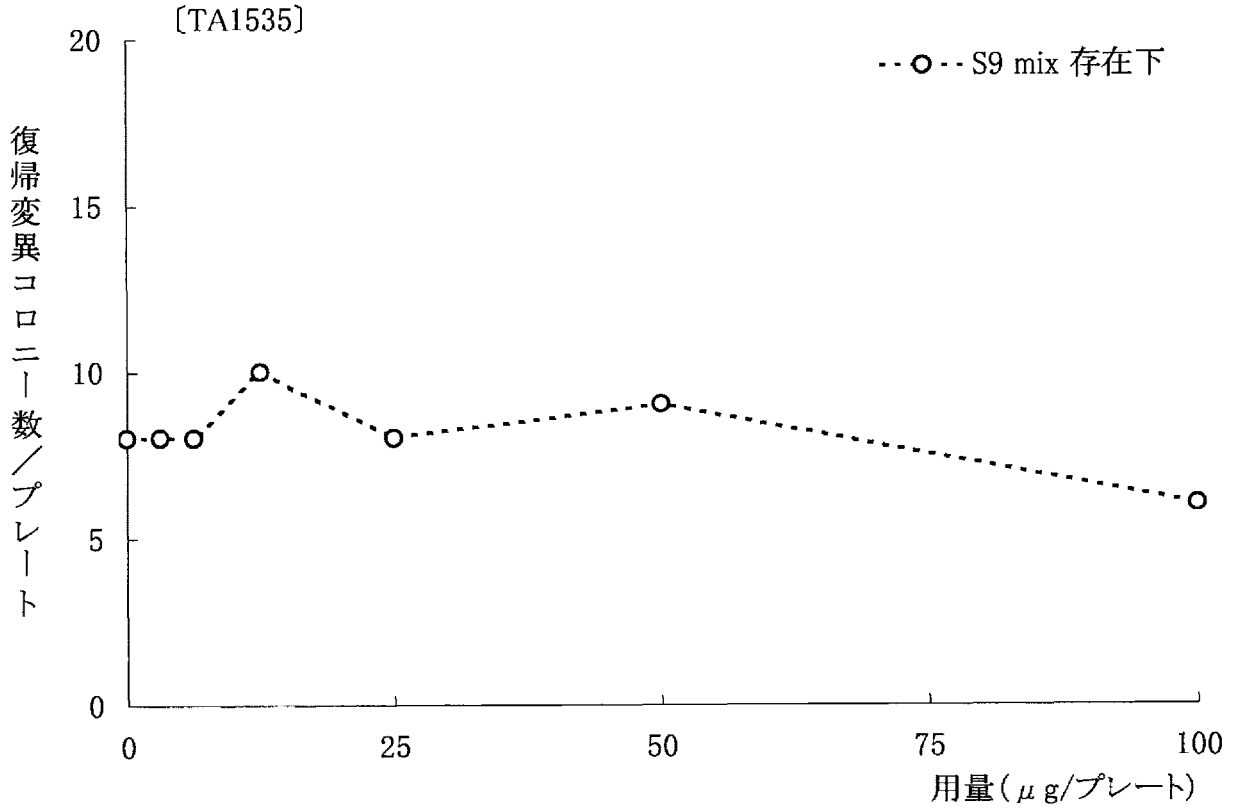
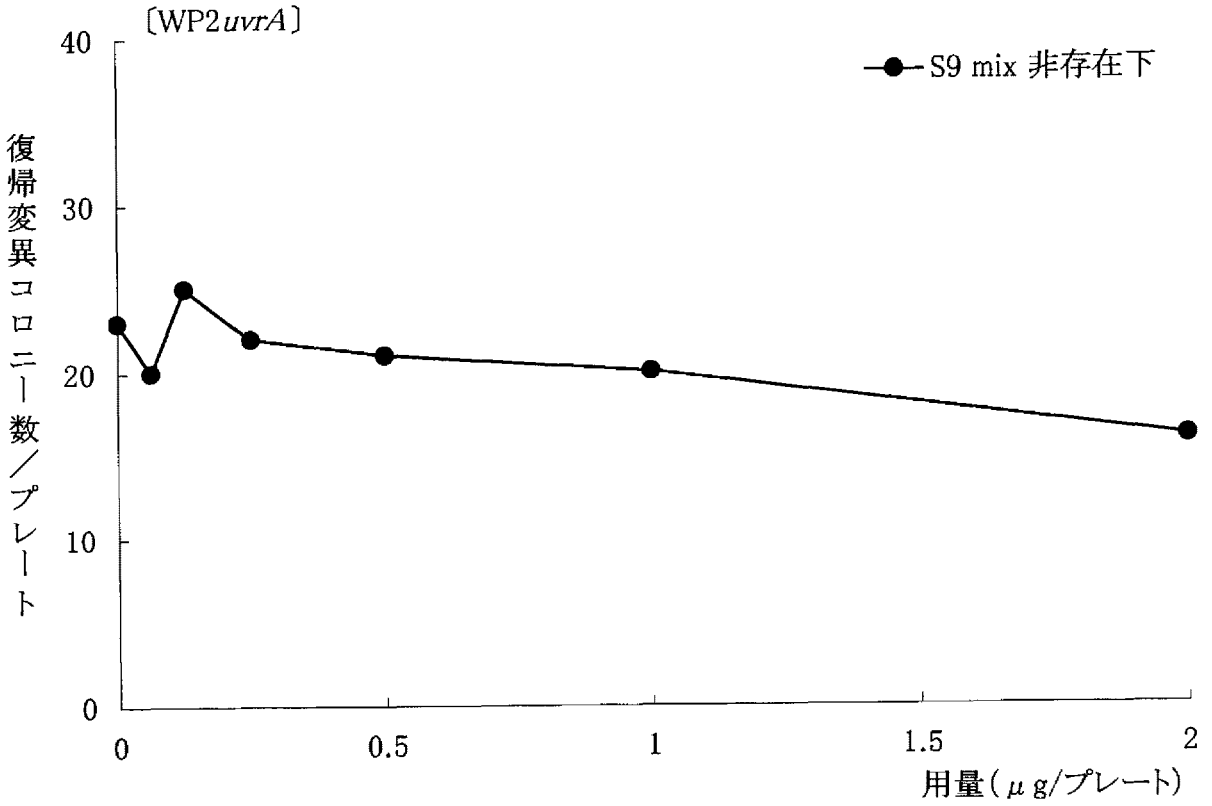


図 2-2　デカヒドロナフタレンの復帰突然変異試験結果－本試験2回目



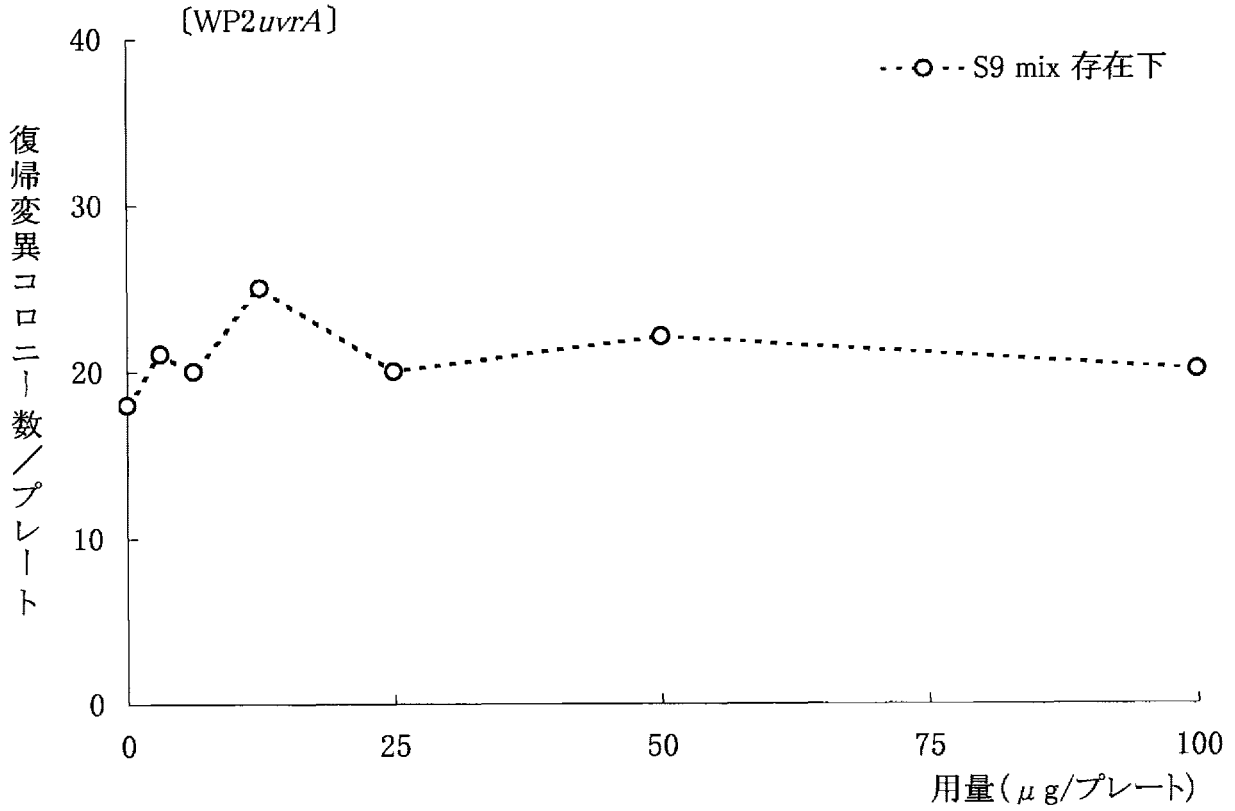
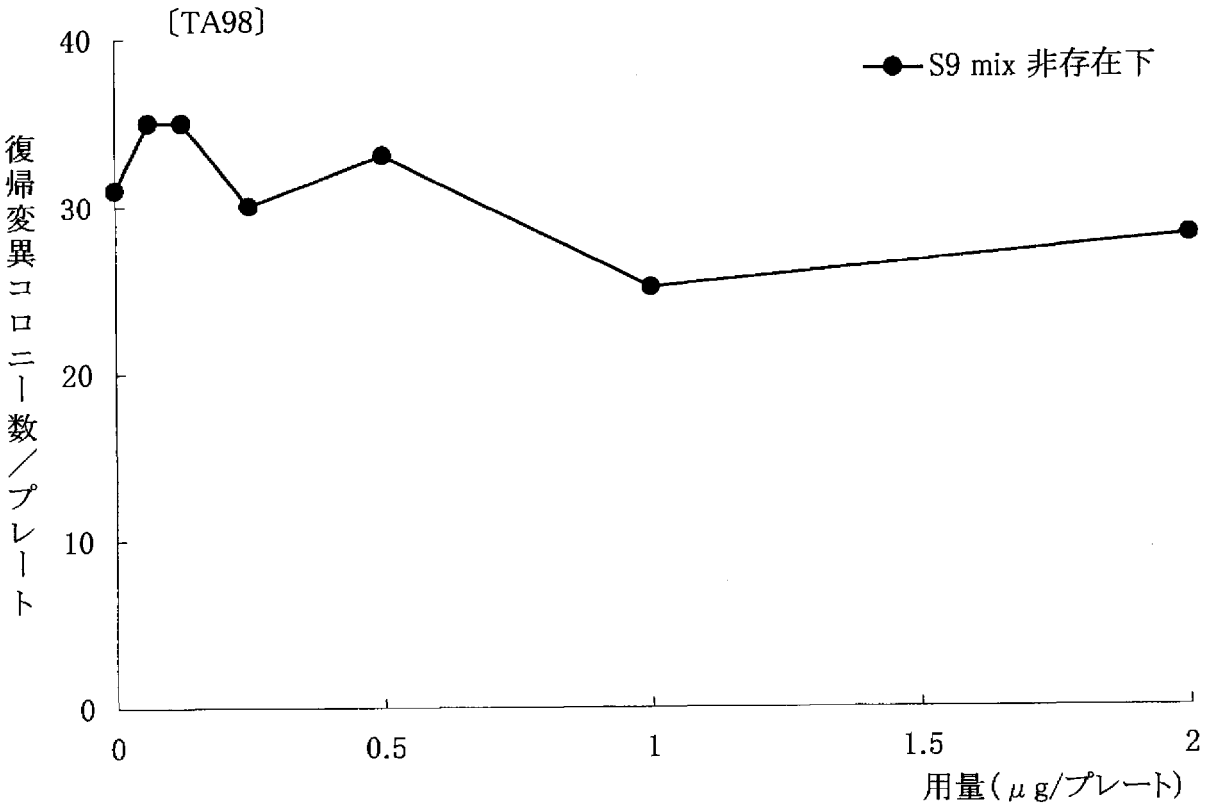


図 2-3　デカヒドロナフタレンの復帰突然変異試験結果－本試験2回目



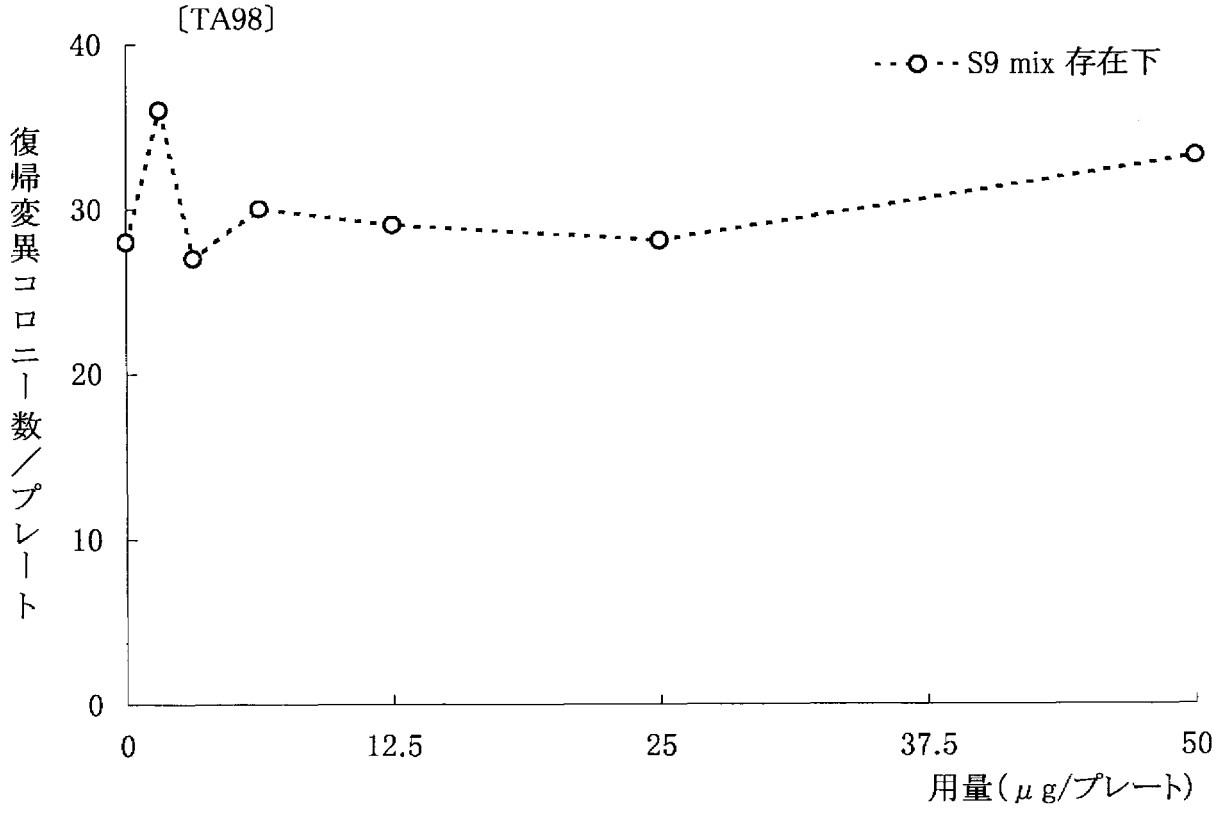
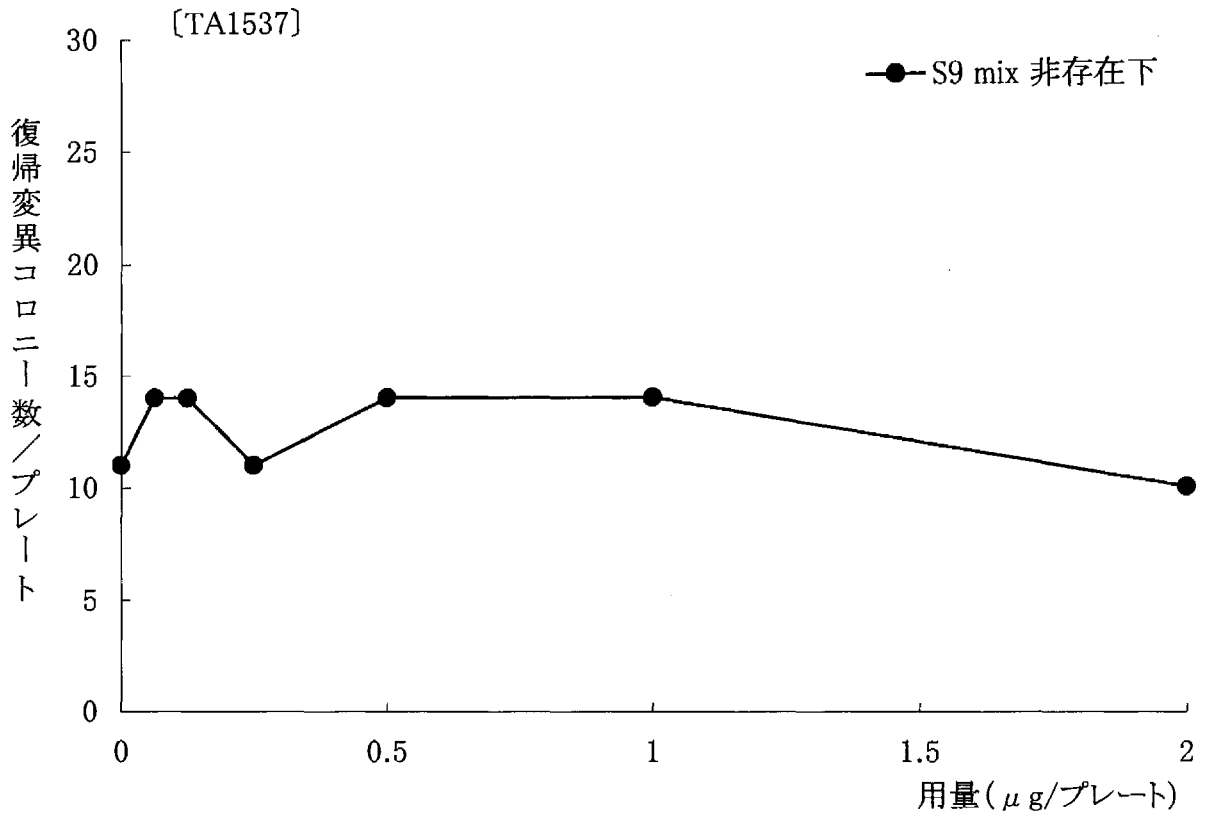


図 2-4　デカヒドロナフタレンの復帰突然変異試験結果－本試験2回目



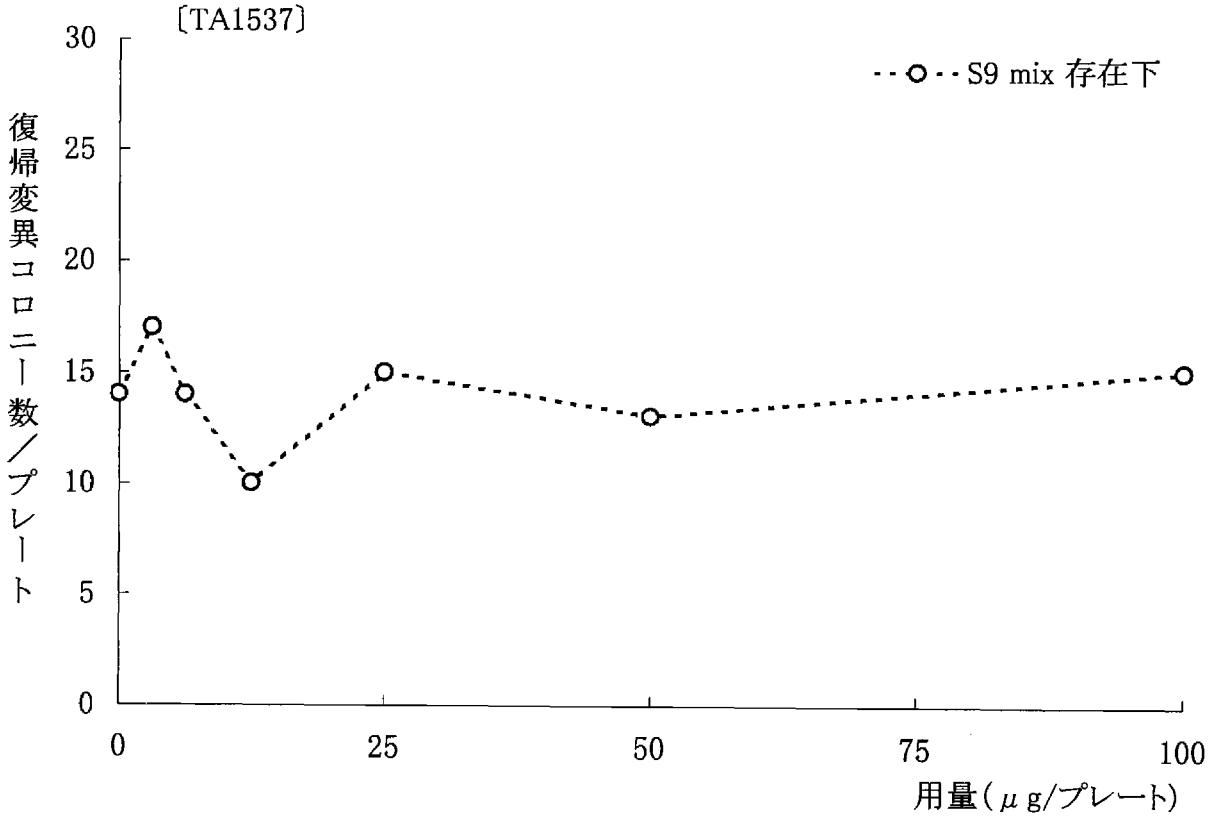


図 2-5　デカヒドロナフタレンの復帰突然変異試験結果－本試験2回目