

最終報告書

N-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミンの
細菌を用いる復帰突然変異試験

(試験番号：B010046)

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 WP2uvrA/pKM101)	20
図 3-2 用量-反応曲線 (本試験 1 ; S9 mix 存在下の WP2uvrA/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 <i>uvrA</i> /pKM101)	25
図 8-2	用量—反応曲線 (本試験 2 ; S9 mix 存在下の WP2 <i>uvrA</i> /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* WP2uvrA/pKM101 の 5 菌株を用いる復帰突然変異試験で *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン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 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 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 非存在下では TA100, TA1535, TA98, TA1537 については 78.1 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上, WP2uvrA/pKM101 については 313 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上で, 存在下ではすべての菌株の 313 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上で菌の生育阻害が認められた。なお, S9 mix 非存在下および存在下の 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ でプレート上に沈殿物が認められた。

これらの結果をもとに本試験では, S9 mix 非存在下の TA100, TA1535, TA98 については 78.1, 39.1, 19.5, 9.77, 4.88, 2.44 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の 6 用量, WP2uvrA/pKM101 については 313, 156, 78.1, 39.1, 19.5, 9.77 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の 6 用量, TA1537 については 156, 78.1, 39.1, 19.5, 9.77, 4.88, 2.44 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の 7 用量を, 存在下のすべての菌株については 313, 156, 78.1, 39.1, 19.5, 9.77 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の 6 用量をそれぞれ設定した。

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において, 高用量域で菌の生育阻害が認められた。

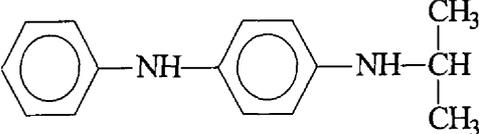
以上の結果から, *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミンは細菌を用いる復帰突然変異試験において変異原性を有さない (陰性) と判定した。

材料および方法

1. 試験物質

1.1 被験物質

から2001年2月8日に提供された*N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミンを冷蔵，暗所で保存した。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)	<i>N</i> -フェニル- <i>N'</i> -イソプロピル- <i>p</i> -フェニレンジアミン		
別 名	1-フェニルアミノ-4-イソプロピルアミンベンゼン		
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)			
試験に供した新規 化学物質の純度	99.5%	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	<i>N</i> -フェニル- <i>N'</i> -ジイソプロピル- <i>p</i> -フェニレンジアミン：0.34% 4-アミノジフェニルアミン：0.04%		
CAS 番号	101-72-4	蒸 気 圧	0.00343 mmHg (90°C)
分 子 量	226.32	分配係数	—
融 点	76.5°C~78.5°C	常温における性状	紫褐色粉末
沸 点	220°C (10 mmHg)		
安 定 性	通常の取扱いにおいては安定。 長期間，光にさらすと変色する。		
溶媒に対する溶解度等	溶 媒	溶 解 度	溶媒中の安定性
	水	1 mg/mL (18°C)	—
	DMSO	1~10 mg/mL (18°C)	*1
	アセトン	10~50 mg/mL (20°C)	—
	95%エタノール	1~10 mg/mL (18°C)	—

DMSO：ジメチルスルホキシド

*1：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 (%)
ジメチルスルホキシド	DMSO	関東化学(株)	210G1441	99.7 以上
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)アクリルアミド	AF-2	和光純薬工業(株)	CAP0185	98.9
アジ化ナトリウム	NaN ₃	和光純薬工業(株)	KWE6685	96.5
N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロゲンアゼジン	ENNG	Sigma Chemical Company	56F-3651	99.0
9-アミノアクリジン塩酸塩	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(株)	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* WP2uvrA/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	<i>hisG</i>	<i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	pKM101	塩基対置換
TA1535	<i>hisG</i>	<i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	—	塩基対置換
WP2uvrA/pKM101	<i>trpE</i>	<i>uvrA</i>	+	pKM101	塩基対置換
TA98	<i>hisD</i>	<i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	pKM101	フレームシフト
TA1537	<i>hisC</i>	<i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	—	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 (関東化学株, ロット番号 104G1307) を加え, これを 200 μ L 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 μ L) 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 <i>uvrA</i> /pKM101	TA98	TA1537
生菌数 ($\times 10^9$ /mL)	予備試験	2.67	2.62	4.25	2.00	2.13
	本試験 1	2.62	2.55	3.97	2.11	2.07
	本試験 2	2.71	2.72	4.33	2.38	2.35

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株, ロット番号 ANI180CQ: 2001 年 3 月 22 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°C 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°C 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 212 - 242 g) 肝由来 S9 (キッコーマン(株), 2001 年 3 月 9 日製造; ロット番号 RAA-441) 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°C ~ -88°C) 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 μ mol
塩化カリウム	33 μ mol
D-グルコース 6-リン酸	5 μ mol
β -NADPH	4 μ mol
β -NADH	4 μ mol
ナトリウム-リン酸緩衝液 (pH 7.4)	100 μ mol

5. 試験方法

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, 被験物質は 50 mg/mL で注射用水 (DW と略す) に不溶, DMSO に溶解した. また, DMSO 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 DMSO を用いた.

被験物質を 50 mg/mL で DMSO に溶解して, これを同じ溶媒で希釈して各用量の被験物質溶液を調製した. 被験物質溶液は用時調製し, 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。NaN₃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非存在下ではTA100, TA1535, TA98, TA1537については78.1 µg/プレート以上，WP2uvrA/pKM101については313 µg/プレート以上で，存在下ではすべての菌株の313 µg/プレート以上で菌の生育阻害が認められた。なお，S9 mix非存在下および存在下の5000 µg/プレートでプレート上に沈殿物が認められた。

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 TA98	78.1, 39.1, 19.5, 9.77, 4.88, 2.44	313, 156, 78.1, 39.1, 19.5, 9.77
TA1537	156, 78.1, 39.1, 19.5, 9.77, 4.88, 2.44	
WP2uvrA/pKM101	313, 156, 78.1, 39.1, 19.5, 9.77	

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溶液または陰性（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 <i>uvrA</i> /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°C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 非存在下では TA100, TA1535, TA98, TA1537 については 78.1 μg /プレート以上, WP2*uvrA*/pKM101 については 313 μg /プレート以上で, 存在下ではすべての菌株の 313 μg /プレート以上で菌の生育阻害が認められた。なお, S9 mix 非存在下および存在下の 5000 μg /プレートでプレート上に沈殿物が認められた。

これらの結果をもとに本試験では, S9 mix 非存在下の TA100, TA1535, TA98 については 78.1, 39.1, 19.5, 9.77, 4.88, 2.44 μg /プレートの 6 用量, WP2*uvrA*/pKM101 については 313, 156, 78.1, 39.1, 19.5, 9.77 μg /プレートの 6 用量, TA1537 については 156, 78.1, 39.1, 19.5, 9.77, 4.88, 2.44 μg /プレートの 7 用量を, 存在下のすべての菌株については 313, 156, 78.1, 39.1, 19.5, 9.77 μg /プレートの 6 用量をそれぞれ設定した。

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において, 高用量域で菌の生育阻害が認められた。

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、本試験を明らかな菌の生育阻害を示す用量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、*N*-フェニル-*N*'-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン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 : *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

試験実施期間		2001年 7月 2日 より 2001年 7月 5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	105	9	73	18	11	
	1.22	124	13	87	17	9	
	4.88	107	10	72	13	7	
	19.5	123	11	76	17	7	
	78.1	0*	0*	81	9*	18*	
	313	0*	0*	0*	0*	0*	
	1250	0*	0*	0*	0*	0*	
	5000†	0*	0*	0*	0*	0*	
S 9 mix (+)	陰性対照	106	10	95	28	11	
	1.22	131	10	81	30	13	
	4.88	147	10	117	23	11	
	19.5	141	13	122	26	7	
	78.1	108	7	111	22	11	
	313	0*	0*	49*	10*	5*	
	1250	0*	0*	0*	0*	0*	
	5000†	0*	0*	0*	0*	0*	
陽性	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	
対照	S9 mixを必要とするもの	コロニー数/プレート	571	366	2719	573	157
		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	1823	184	1400	459	217

(備考) *: 菌の生育阻害が認められた.

†: 沈殿物が認められた.

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, NaN₃ : 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 2 試験結果表 (本試験 1)

被験物質の名称 : *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

試験実施期間		2001年 7月 30日 より 2001年 8月 2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	95 119 101 (± 12)	11 7 (± 8) 7 (± 2)	77 73 (± 76) 77 (± 2)	21 14 (± 17) 15 (± 4)	12 11 (± 12) 14 (± 2)	
	2.44	97 94 (± 99) 107 (± 7)	6 10 (± 8) 7 (± 2)	/	14 13 (± 15) 18 (± 3)	12 13 (± 12) 12 (± 1)	
	4.88	103 103 (± 108) 118 (± 9)	12 12 (± 11) 8 (± 2)	/	17 14 (± 15) 14 (± 2)	10 7 (± 9) 10 (± 2)	
	9.77	113 108 (± 108) 102 (± 6)	8 11 (± 8) 6 (± 3)	82 82 (± 84) 88 (± 3)	21 14 (± 17) 16 (± 4)	12 9 (± 10) 8 (± 2)	
	19.5	111 123 (± 115) 112 (± 7)	8 7 (± 7) 7 (± 1)	104 89 (± 93) 85 (± 10)	15 17 (± 16) 16 (± 1)	7 12 (± 9) 7 (± 3)	
	39.1	123* 133* (± 116) 93* (± 21)	7* 2* (± 6) 8* (± 3)	88 94 (± 88) 83 (± 6)	21 16 (± 17) 15 (± 3)	12 7 (± 10) 12 (± 3)	
	78.1	0* 0* (± 0) 0* (± 0)	0* 0* (± 0) 0* (± 0)	76 91 (± 87) 93 (± 9)	20* 23* (± 19) 15* (± 4)	7* 12* (± 11) 15* (± 4)	
	156	/	/	22* 34* (± 28) 29* (± 6)	/	0* 0* (± 0) 0* (± 0)	
	313	/	/	0* 0* (± 0) 0* (± 0)	/	/	
	S 9 mix (+)	陰性対照	106 107 (± 103) 97 (± 6)	7 11 (± 11) 15 (± 4)	97 103 (± 98) 95 (± 4)	28 27 (± 27) 26 (± 1)	13 10 (± 11) 10 (± 2)
9.77		121 115 (± 114) 107 (± 7)	7 9 (± 9) 12 (± 3)	119 112 (± 112) 104 (± 8)	26 42 (± 32) 28 (± 9)	8 14 (± 14) 20 (± 6)	
19.5		101 99 (± 104) 113 (± 8)	16 12 (± 12) 8 (± 4)	113 115 (± 119) 128 (± 8)	22 27 (± 26) 28 (± 3)	15 12 (± 13) 12 (± 2)	
39.1		113 114 (± 111) 106 (± 4)	10 10 (± 11) 13 (± 2)	102 99 (± 102) 104 (± 3)	20 27 (± 26) 31 (± 6)	11 12 (± 13) 16 (± 3)	
78.1		120 109 (± 113) 111 (± 6)	11 8 (± 10) 10 (± 2)	107 117 (± 109) 103 (± 7)	27 26 (± 27) 28 (± 1)	13 9 (± 11) 11 (± 2)	
156		77* 56* (± 73) 85* (± 15)	6* 5* (± 6) 6* (± 1)	96 87 (± 99) 115 (± 14)	21* 31* (± 25) 22* (± 6)	7* 8* (± 8) 8* (± 1)	
313		0* 0* (± 0) 0* (± 0)	0* 0* (± 0) 0* (± 0)	31* 54* (± 47) 56* (± 14)	0* 0* (± 0) 0* (± 0)	0* 0* (± 0) 0* (± 0)	
陽性	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	
対照	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	642 628 (± 595) 515 (± 70)	491 370 (± 424) 411 (± 62)	3371 2995 (± 3211) 3268 (± 194)	753 831 (± 760) 697 (± 67)	235 187 (± 217) 230 (± 26)
		コロニー数 / プレート	1990 1822 (± 1951) 2040 (± 114)	184 194 (± 205) 238 (± 29)	1146 1283 (± 1207) 1191 (± 70)	447 498 (± 479) 492 (± 28)	255 237 (± 237) 220 (± 18)

(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, NaN₃: 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 : *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

試験実施期間		2001年 8月 7日 より 2001年 8月 10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	103 107 (± 104) 103 (± 2)	9 10 (± 11) 13 (± 2)	74 81 (± 77) 77 (± 4)	16 20 (± 18) 19 (± 2)	11 9 (± 10) 9 (± 1)	
	2.44	106 97 (± 102) 102 (± 5)	12 8 (± 9) 8 (± 2)	/	17 21 (± 18) 16 (± 3)	11 8 (± 11) 13 (± 3)	
	4.88	101 103 (± 102) 101 (± 1)	9 11 (± 9) 7 (± 2)	/	22 17 (± 20) 21 (± 3)	13 12 (± 12) 10 (± 2)	
	9.77	98 97 (± 100) 106 (± 5)	8 10 (± 10) 11 (± 2)	82 74 (± 79) 80 (± 4)	16 20 (± 18) 19 (± 2)	12 9 (± 11) 11 (± 2)	
	19.5	100 105 (± 104) 107 (± 4)	9 12 (± 9) 7 (± 3)	76 75 (± 75) 75 (± 1)	16 17 (± 18) 21 (± 3)	12 9 (± 11) 12 (± 2)	
	39.1	81* 80* (± 80) 79* (± 1)	7* 2* (± 5) 5* (± 3)	73 78 (± 74) 72 (± 3)	20 17 (± 17) 15 (± 3)	8 10 (± 9) 10 (± 1)	
	78.1	0* 0* (± 0) 0* (± 0)	0* 0* (± 0) 0* (± 0)	83 74 (± 76) 72 (± 6)	10* 9* (± 11) 15* (± 3)	9* 7* (± 9) 10* (± 2)	
	156	/	/	60* 69* (± 60) 52* (± 9)	/	0* 0* (± 0) 0* (± 0)	
	313	/	/	0* 0* (± 0) 0* (± 0)	/	/	
	S 9 mix (+)	陰性対照	97 101 (± 103) 110 (± 7)	10 12 (± 11) 12 (± 1)	91 99 (± 95) 95 (± 4)	23 27 (± 26) 28 (± 3)	16 10 (± 13) 13 (± 3)
9.77		115 122 (± 119) 119 (± 4)	11 11 (± 11) 11 (± 0)	98 95 (± 98) 102 (± 4)	24 27 (± 25) 25 (± 2)	16 13 (± 14) 13 (± 2)	
19.5		117 114 (± 118) 124 (± 5)	12 10 (± 13) 16 (± 3)	101 94 (± 99) 102 (± 4)	33 27 (± 30) 29 (± 3)	16 15 (± 15) 13 (± 2)	
39.1		128 118 (± 121) 116 (± 6)	10 10 (± 10) 10 (± 0)	97 101 (± 99) 98 (± 2)	24 27 (± 25) 24 (± 2)	12 14 (± 13) 12 (± 1)	
78.1		127 108 (± 111) 99 (± 14)	11 9 (± 10) 11 (± 1)	119 103 (± 111) 111 (± 8)	27 31 (± 32) 37 (± 5)	10 14 (± 12) 12 (± 2)	
156		85* 82* (± 86) 90* (± 4)	6* 8* (± 8) 9* (± 2)	113 99 (± 106) 107 (± 7)	21* 18* (± 21) 23* (± 3)	8* 7* (± 7) 7* (± 1)	
313		0* 0* (± 0) 0* (± 0)	0* 0* (± 0) 0* (± 0)	58* 58* (± 57) 54* (± 2)	0* 0* (± 0) 0* (± 0)	0* 0* (± 0) 0* (± 0)	
陽性	S9 mixを必要としな いもの	名称	AF-2	NaN3	ENNG	AF-2	9-AA
		用量 (μg/プレート)	0.01	0.5	2	0.1	80
対照	S9 mixを必要とする もの	コロニー数 / プレート	580 610 (± 599) 608 (± 17)	437 466 (± 452) 452 (± 15)	2861 2876 (± 2810) 2692 (± 102)	644 711 (± 695) 731 (± 46)	202 197 (± 200) 200 (± 3)
		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	1988 1711 (± 1854) 1864 (± 139)	213 203 (± 208) 209 (± 5)	1016 891 (± 958) 966 (± 63)	439 493 (± 475) 494 (± 31)	228 267 (± 237) 217 (± 26)

(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, NaN3 : 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

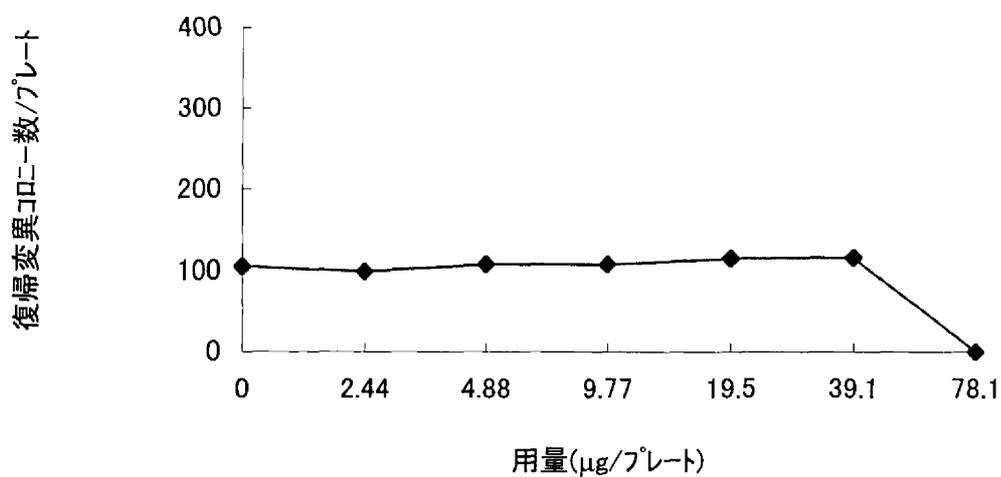


図 1-1 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix非存在下のTA100)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

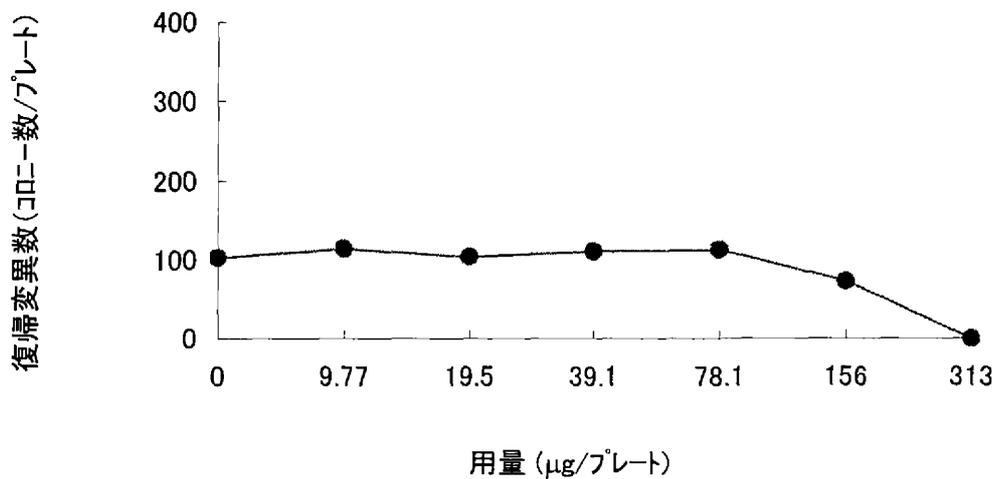


図 1-2 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix存在下のTA100)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

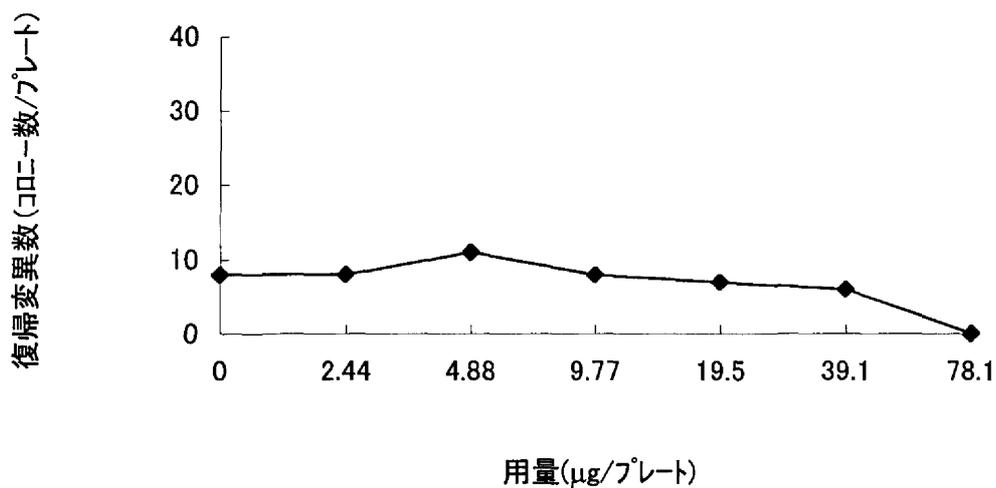


図 2-1 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix非存在下のTA1535)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

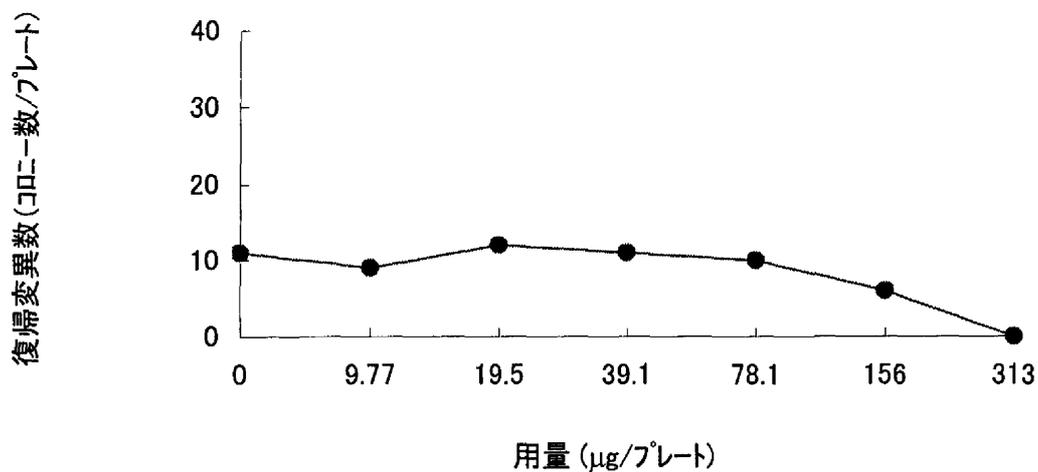


図 2-2 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix存在下のTA1535)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

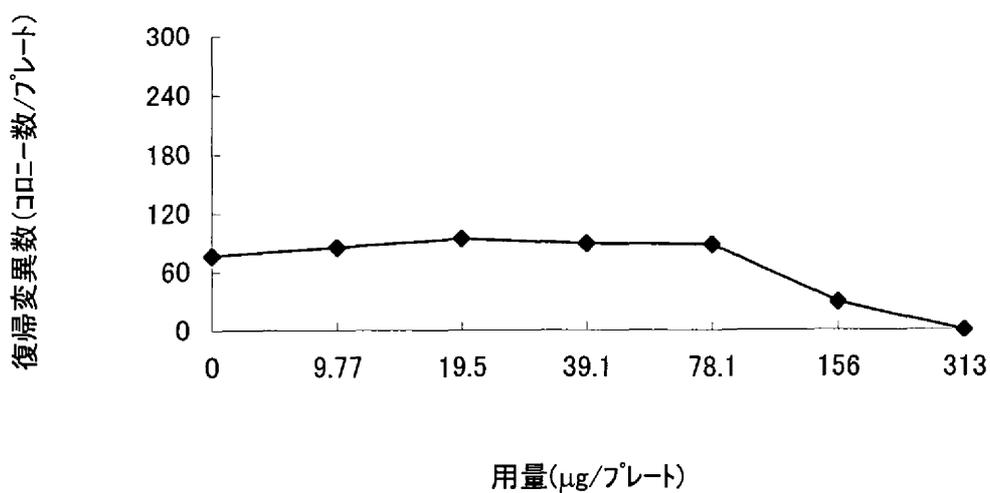


図 3-1 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix非存在下のWP2uvrA/pKM101)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

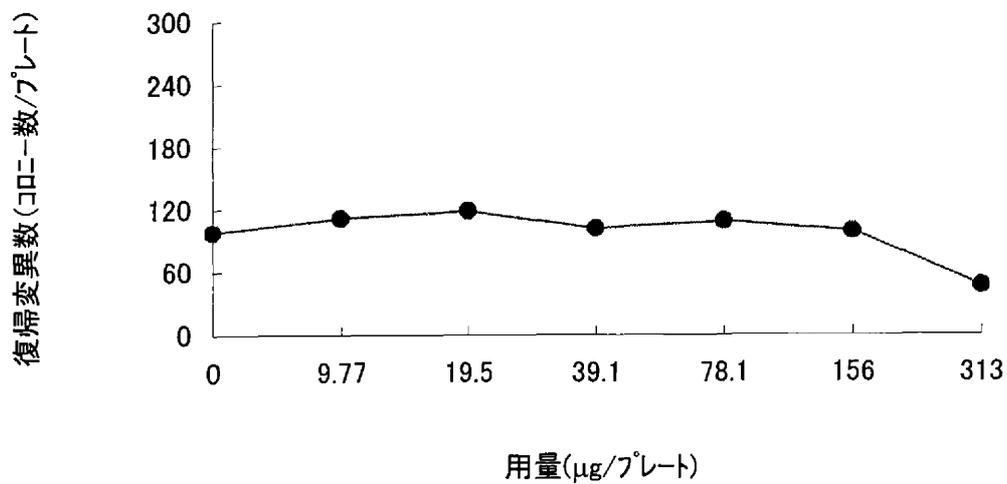


図 3-2 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix存在下のWP2uvrA/pKM101)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

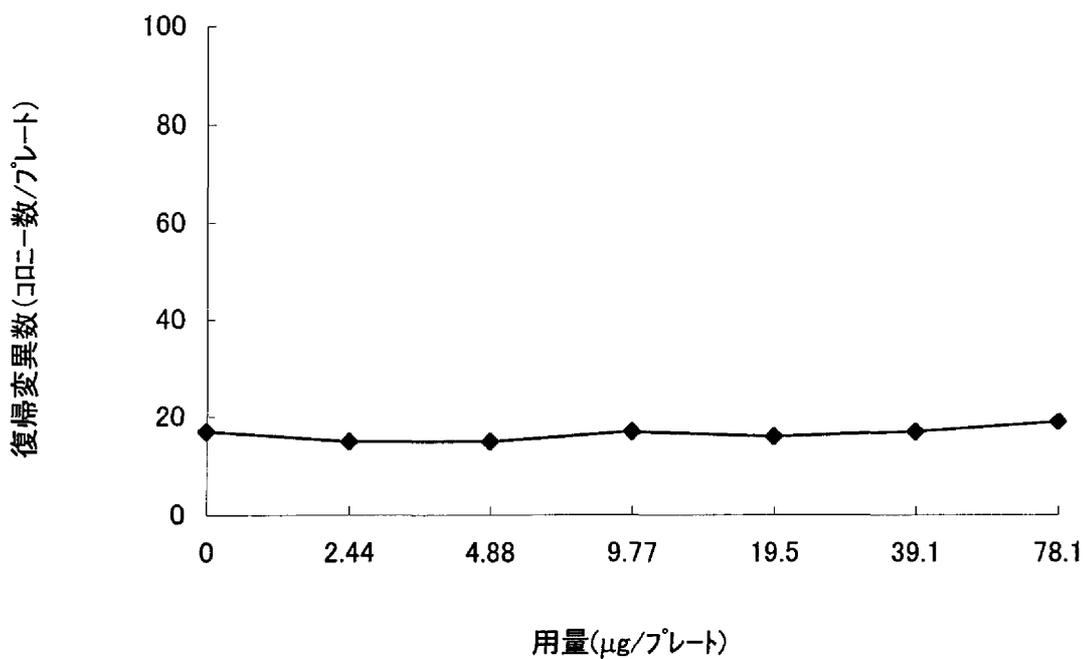


図 4-1 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix非存在下のTA98)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

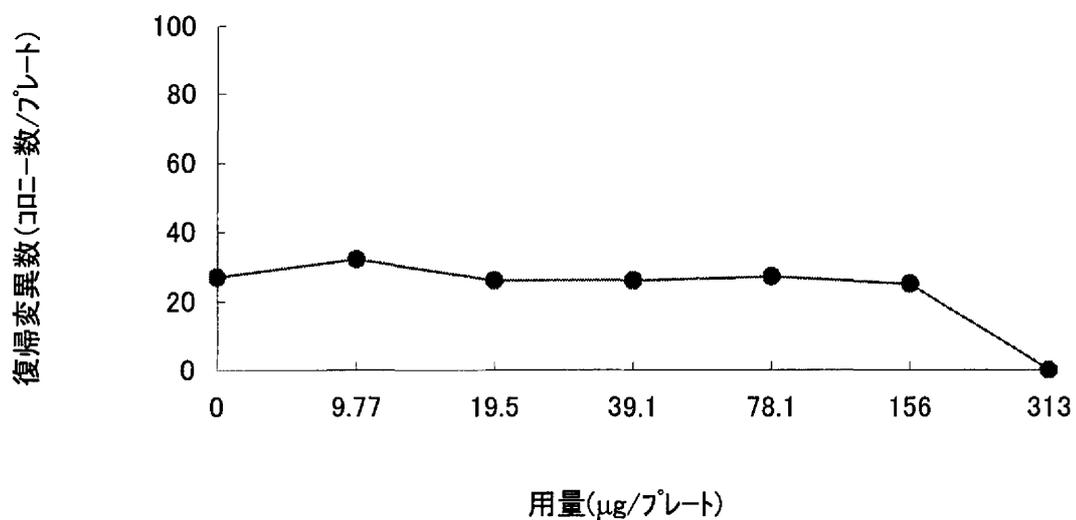


図 4-2 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix存在下のTA98)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

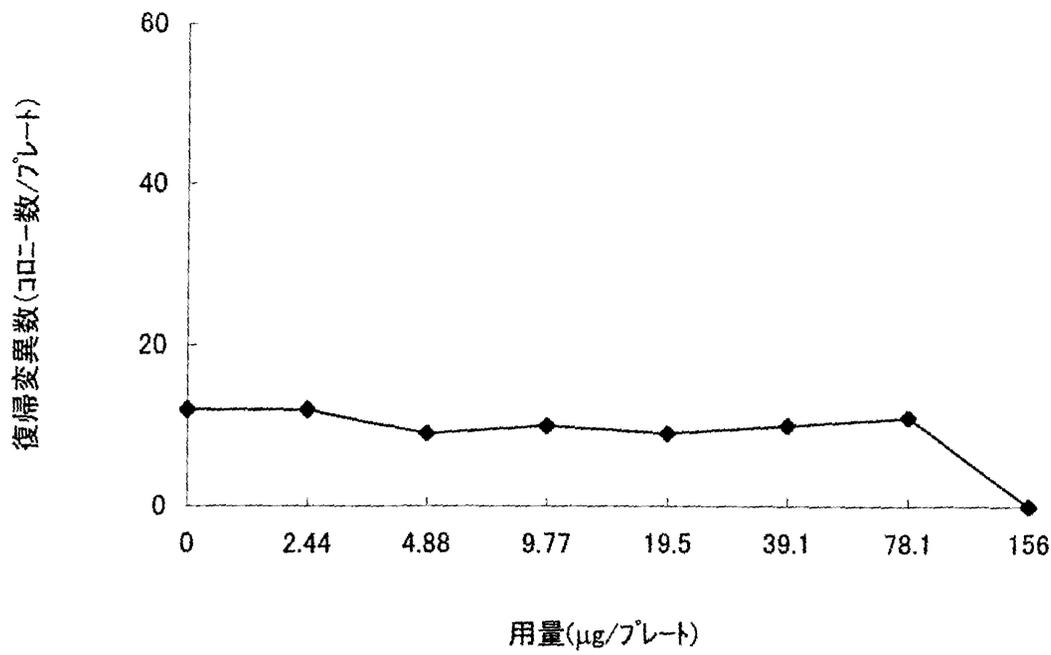


図 5-1 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix非存在下のTA1537)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

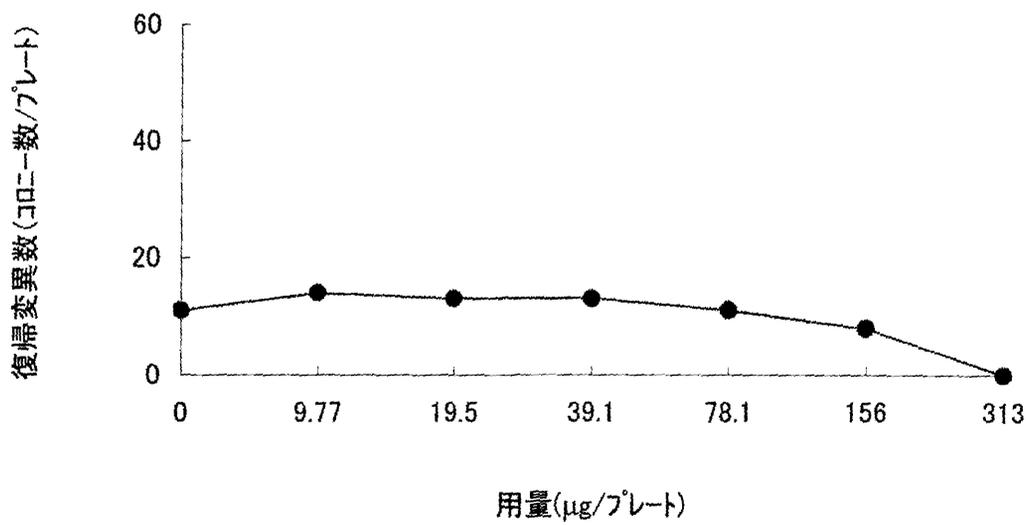


図 5-2 用量-反応曲線 (本試験1; S9 mix存在下のTA1537)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

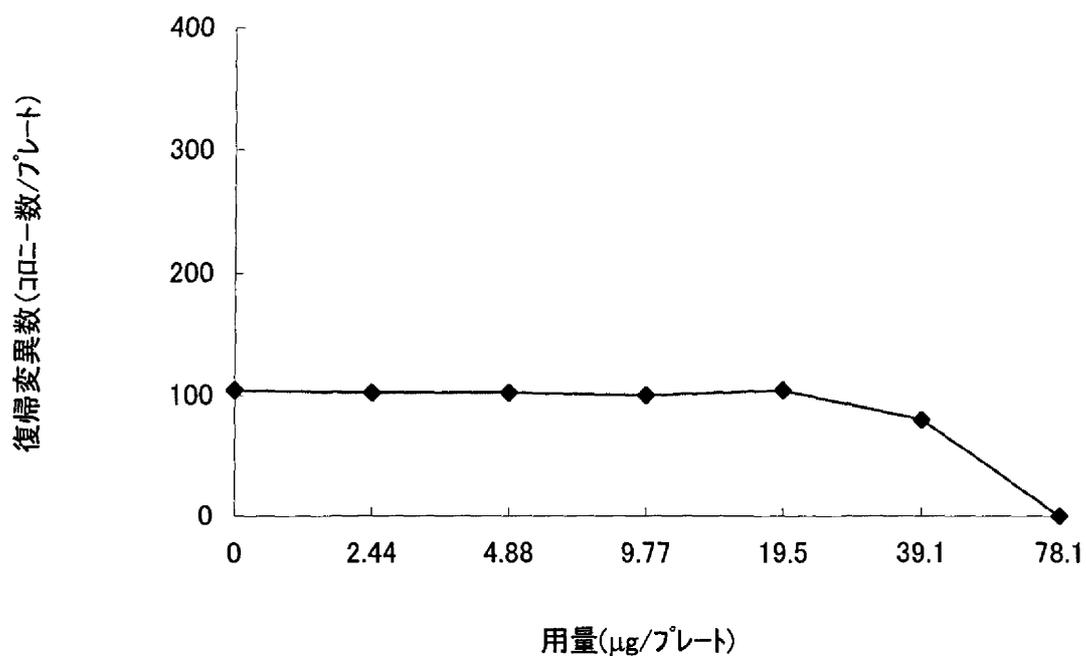


図 6-1 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix非存在下のTA100)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

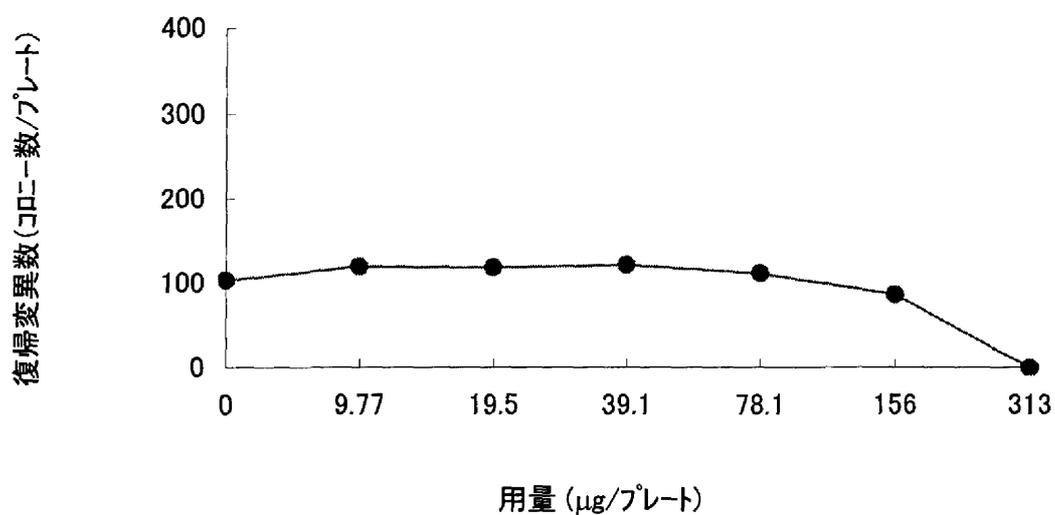


図 6-2 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix存在下のTA100)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

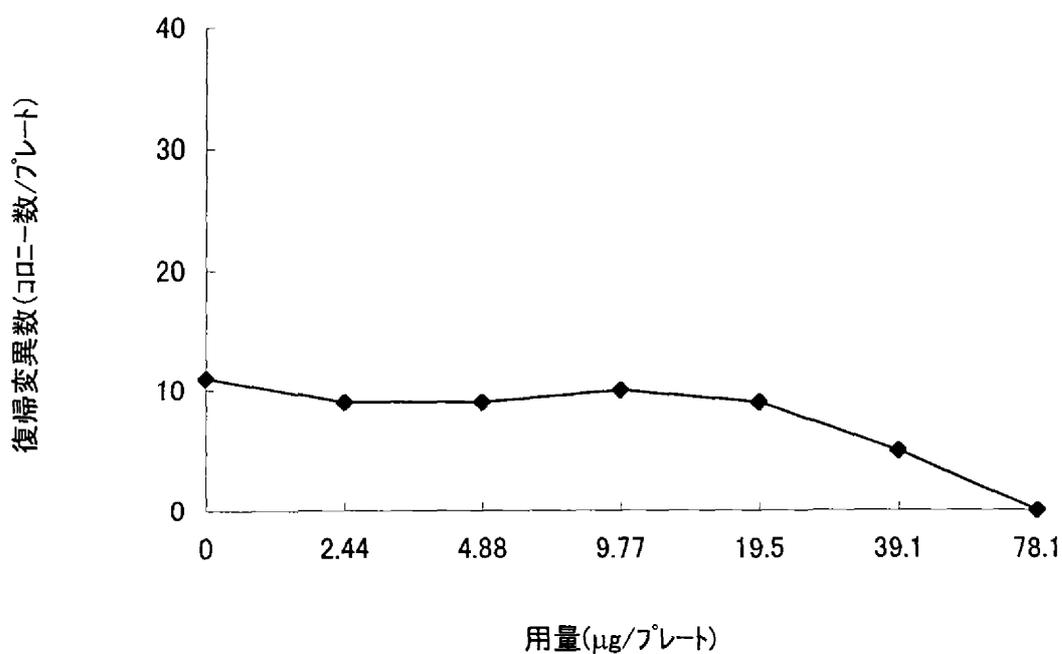


図 7-1 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix非存在下のTA1535)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

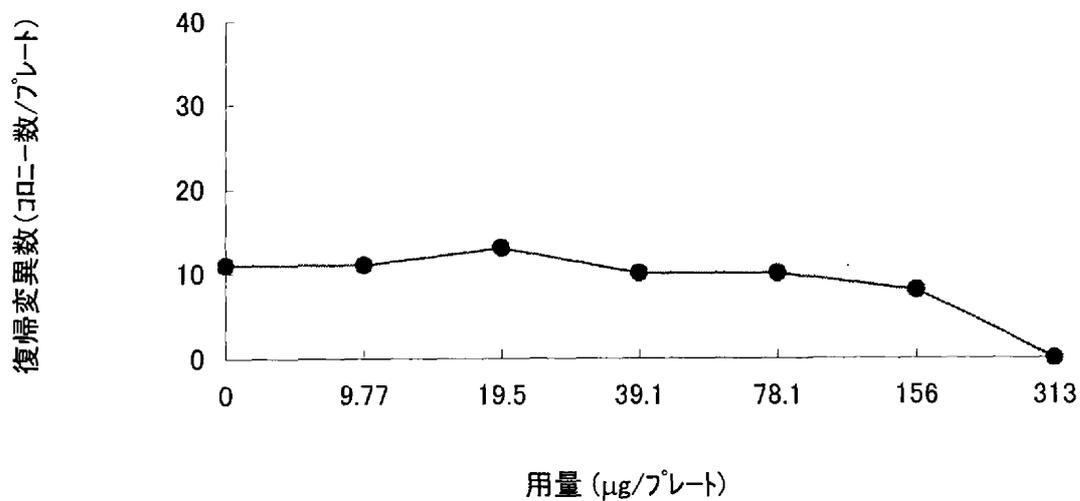


図 7-2 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix存在下のTA1535)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

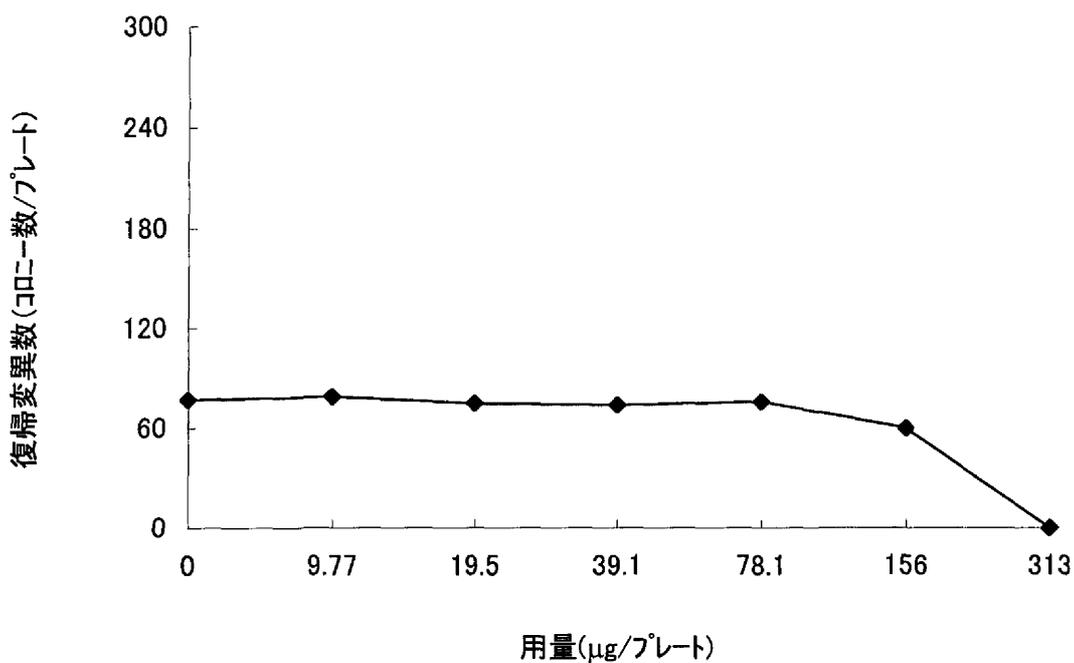


図 8-1 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix非存在下のWP2uvrA/pKM101)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

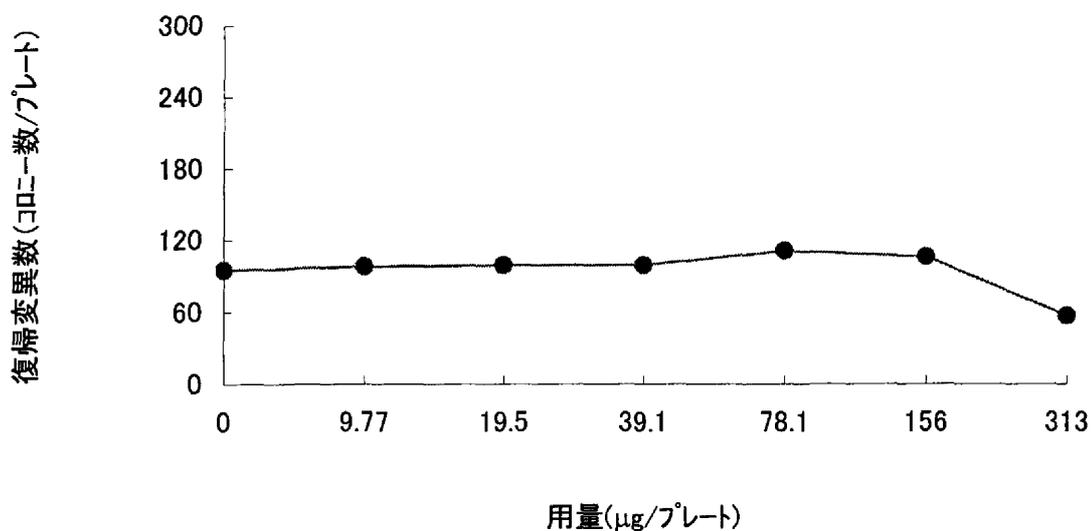


図 8-2 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix存在下のWP2uvrA/pKM101)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

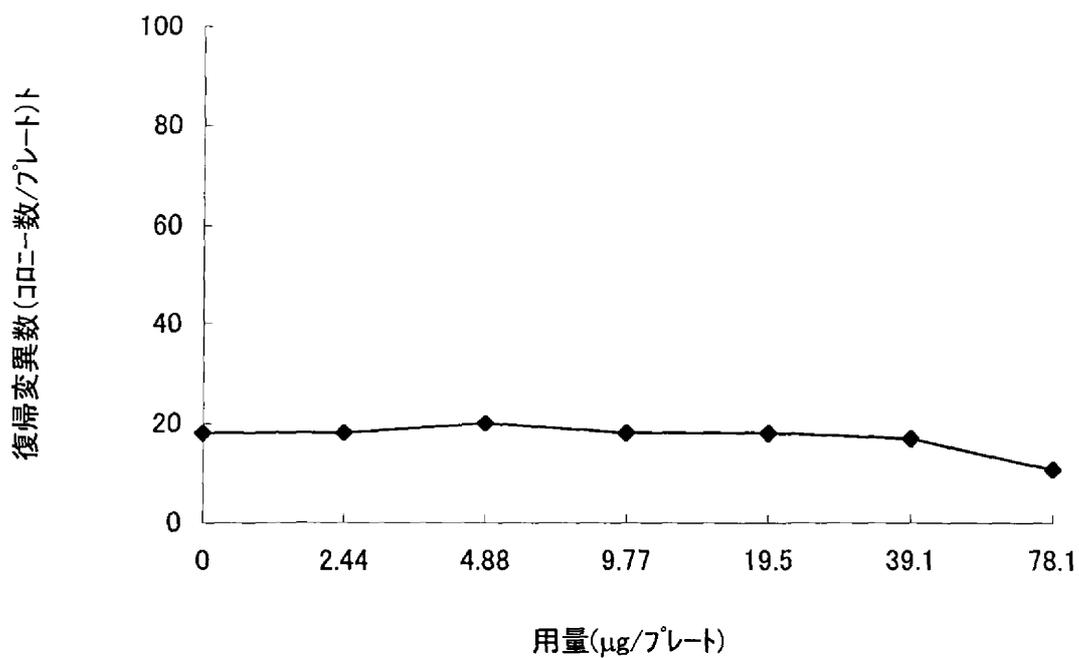


図 9-1 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix非存在下のTA98)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

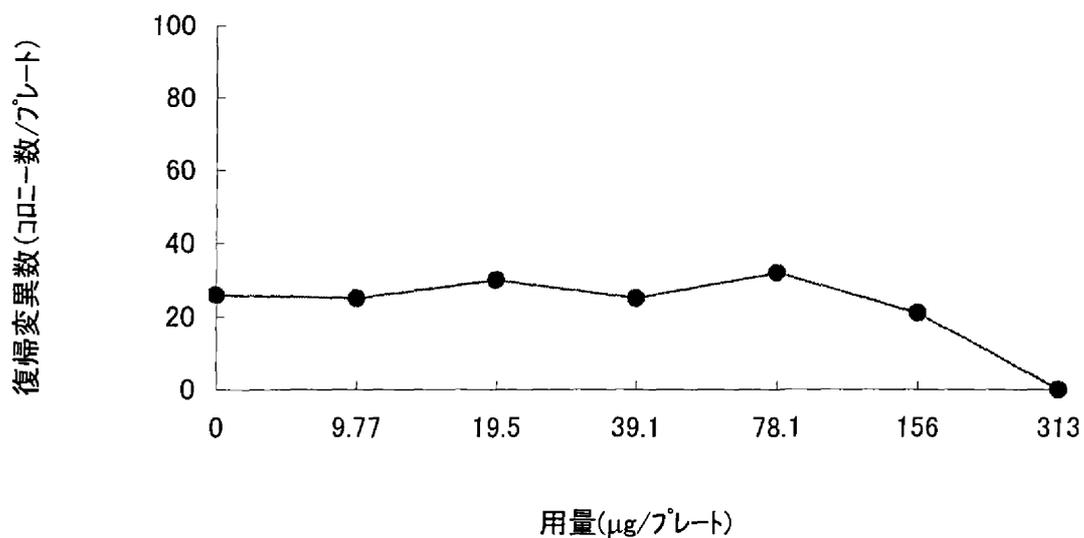


図 9-2 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix存在下のTA98)

被験物質名: *N*-フェニル-*N'*-イソプロピル-*p*-フェニレンジアミン

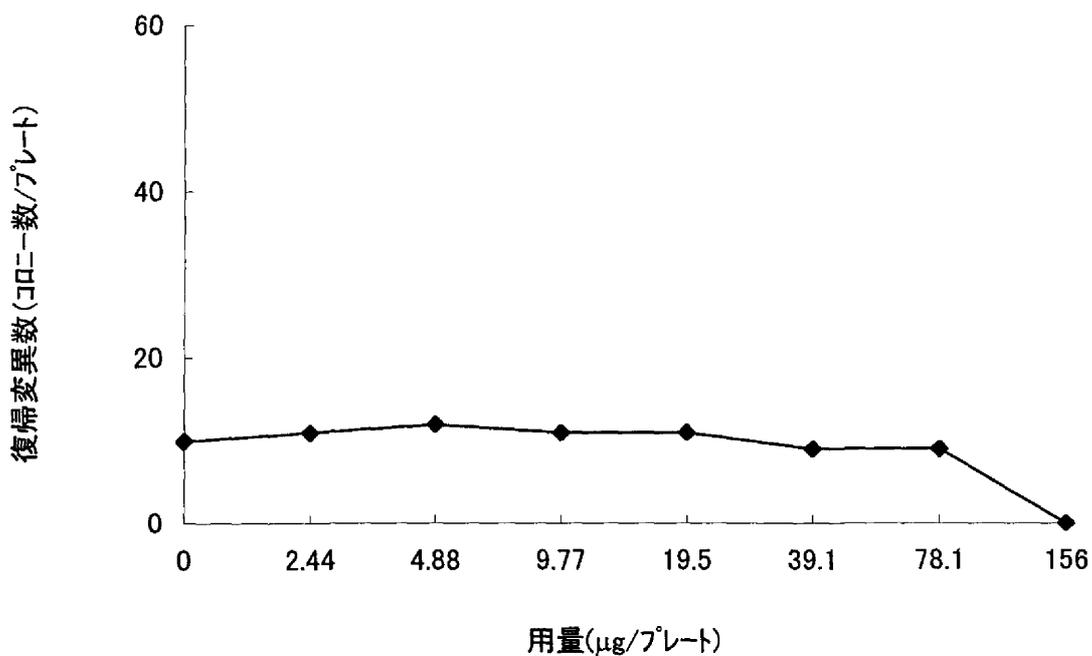


図 10-1 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix非存在下のTA1537)

被験物質名: N-フェニル-N'-イソプロピル-p-フェニレンジアミン

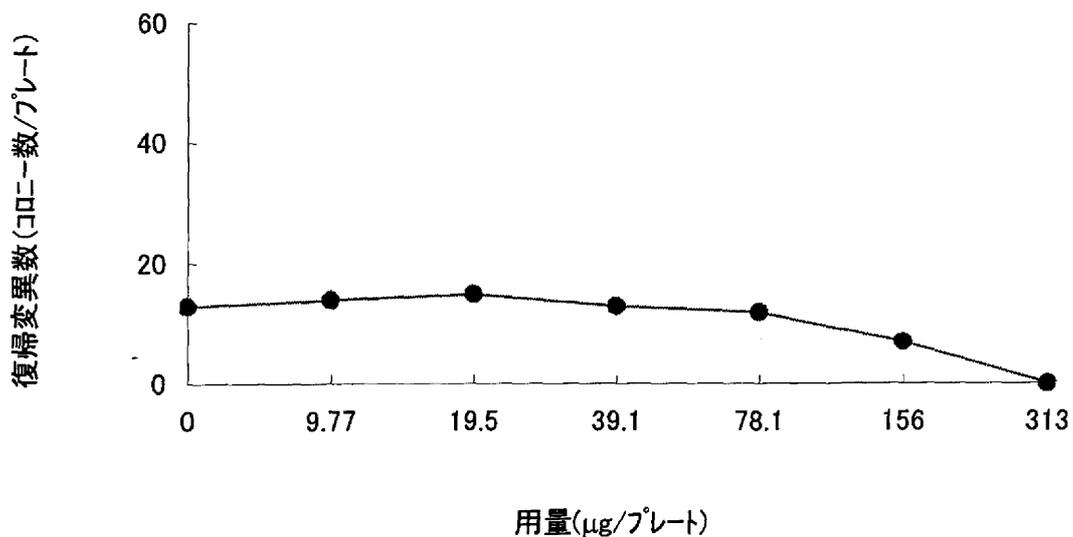


図 10-2 用量-反応曲線 (本試験2; S9 mix存在下のTA1537)

被験物質名: N-フェニル-N'-イソプロピル-p-フェニレンジアミン