

最 終 報 告 書

4-クロロフェノールの細菌を用いる復帰突然変異試験

(試験番号: 98-102)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目 次

要約 1 頁

試験目的 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 3

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

結論および参考事項 9

参考文献 10

表：

表 1-1	S9 mix 非存在下における 4-クロロフェノールの 復帰突然変異試験結果〔本試験 1 回目－直接法〕		12
表 1-2	S9 mix 存在下における 4-クロロフェノールの 復帰突然変異試験結果〔本試験 1 回目－代謝活性化法〕		13
表 2-1	S9 mix 非存在下における 4-クロロフェノールの 復帰突然変異試験結果〔本試験 2 回目－直接法〕		14
表 2-2	S9 mix 存在下における 4-クロロフェノールの 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 1-1	4-クロロフェノールの復帰突然変異試験結果－本試験 1 回目		16
図 1-2	4-クロロフェノールの復帰突然変異試験結果－本試験 1 回目		17
図 1-3	4-クロロフェノールの復帰突然変異試験結果－本試験 1 回目		18
図 2-1	4-クロロフェノールの復帰突然変異試験結果－本試験 2 回目		19
図 2-2	4-クロロフェノールの復帰突然変異試験結果－本試験 2 回目		20
図 2-3	4-クロロフェノールの復帰突然変異試験結果－本試験 2 回目		21

要 約

4-クロロフェノール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）の結果から菌の生育阻害が認められる用量を最高用量とし、直接法および代謝活性化法ともに 62.5～2000 μ g/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、直接法の場合、*S. typhimurium* では 1000 μ g/プレート以上で、また、WP2uvrA では 2000 μ g/プレートで認められ、代謝活性化法の場合は TA100 および TA1535 では 1000 μ g/プレート以上で、また、TA98, TA1537 および WP2uvrA では 2000 μ g/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、4-クロロフェノール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。

試験目的

この試験は、4-クロロフェノール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(略号): 4-クロロフェノール (4CP)

別名 パラクロロフェノール

CAS番号: 106-48-9

ロット番号:

純度: 99.29% (平成10年12月18日分析) [不純物: 2,6-ジクロロフェノール 0.37%, 2,4-ジクロロフェノール 0.34%]

入手先(製造元):

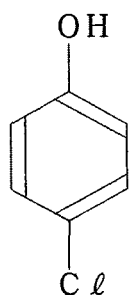
入手日: 平成10年12月21日

入手量: 250 g

物性等:

化学名 4-Chlorophenol

構造式



分子式 C_6H_5ClO

分子量 128.56

性状(常温) 白色～淡褐色結晶

融点 $43.2 \sim 43.7^\circ\text{C}$

沸点 220°C

蒸気圧 133 Pa 以下

溶解性 水：2.71%，アセトン，ジメチルスルホキシド（DMSO）：易溶

安定性：安定〔実験終了後，残余被験物質を において分析（平成11年6月16日）した結果，純度は99.32%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：室温・暗所，密栓

2. 指標菌株

指標菌株は，国立公衆衛生院より入手（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

TPK7807, 99.9%) 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 25 μ L をニュートリエントブロス (Bacto nutrient broth dehydrated, Difco Laboratories, ロット番号 44077JK) 液体培地 15 mL 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, 懸濁と生菌数の換算式より 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 ($\times 10^9$ /mL)

指標菌株	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
用量設定試験	1.54	1.72	1.56	1.44	1.24
本試験 (1 回目)	1.54	1.67	1.43	1.41	1.24
本試験 (2 回目)	1.50	1.72	1.34	1.41	1.28

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-399・1999年3月19日製造・1999年4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 当たりの組成は, 次のとおりである。

S9 製造法

A. 使用動物

- 種・系統: Sprague-Dawley系ラット (日本エスエルシー株式会社)
- 性・週齢: 雄・7 週齢
- 体 重: 198~231g

B. 誘導法

- 誘導物質: phenobarbital (PB), 5,6-benzoflavone (BF)
- 投与経路: 腹腔内投与
- 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 ($9,000 \times g$) し, その上清を採取

S9 mix 1 mL 当たりの組成

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

6. 被験物質の供試液の調製

被験物質は水に微溶であり、DMSO には易溶であるため、溶媒には DMSO (和光純薬工業株式会社, ロット番号 ACH7185, 99.9%) 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調製した。

7. 陰性対照および陽性対照

陰性対照 (溶媒対照) には、被験物質の溶媒である DMSO を用いた。陽性対照としては、以下の既知変異原性物質を用いた。

指標菌株	直接法 (μ g/プレート)	代謝活性化法 (μ g/プレート)
TA100	AF-2 (0.01)	2-AA (1)
TA1535	SA (0.5)	2-AA (2)
WP2uvrA	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 KCM 2259)

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)

AF-2 および 2-AA は DMSO (和光純薬工業株式会社, ロット番号 ACH7185, 99.9 %) 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 K7B87) に溶解した。

8. アミノ酸添加軟寒天培地の調製

0.6%寒天粉末 (Difco laboratories, ロット番号 42101JG) および 0.5%塩化ナトリウム (和光純薬工業株式会社, ロット番号 6314, 7001) 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 126H0568) 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, 全指標菌株について, 100, 200, 500, 1000, 2000 および 5000 μg /プレートの6用量を用いて, 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, 直接法の場合は, *S. typhimurium* では 1000 μg /プレート以上, WP2uvrA では 2000 μg /プレート以上で菌の生育阻害が認められたが, TA98, TA100 および TA1537 の 1000 μg /プレートにおける生育阻害は軽度であった。代謝活性化法の場合は, 全ての菌株において 2000 μg /プレート以上で生育阻害が認められ, TA1535 では 1000 μg /プレートでも軽度な生育阻害が認められた。

10. 本試験

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最高用量を 2000 μg /プレートとし, 以下公比 2 で 1000, 500, 250, 125 および 62.5 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）

滅菌小試験管に前培養した懸濁菌液 0.1 mL, 被験物質の供試液 0.1 mL および 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 CAH3075, リン酸二水素ナトリウム・二水塩: ロット番号 CAJ2723) 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 (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 AN080B0・1999年2月4日製造・1999年3月19日購入) は, Vogel-Bonner E 培地 (0.2%クエン酸・一水塩, 1%リン酸二カリウム, 0.192%リン酸一アンモニウム, 0.066%水酸化ナトリウム, 0.02%硫酸マグネシウム・七水塩) に 1.5%寒天粉末および2%グルコースを加え, 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 0.1 mL にかわり, 溶媒 (DMSO) 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）

滅菌小試験管に前培養した懸濁菌液 0.1 mL, 被験物質の供試液 0.1 mL および S9 mix 0.5 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 0.1 mL にかわり, 溶媒 (DMSO) 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 0.6%軟寒天 2 mL を加え, 最少グルコース寒天平板培地に重層後, 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した。

結 果

試験を2回実施した結果（表 1-1, 1-2, 2-1, 2-2 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倍を越えることはなかった。菌の生育阻害については、直接法の場合、*S. typhimurium* では 1000 μ g/プレート以上で、また、WP2uvrA では 2000 μ g/プレートで認められ、代謝活性化法の場合は TA100 および TA1535 では 1000 μ g/プレート以上で、また、TA98, TA1537 および WP2uvrA

では 2000 μ g/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、陽性対照群においては、それぞれ背景データ（添付資料）の範囲内の陽性を示す復帰変異コロニー数の増加が認められた。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。

結論および参考事項

4-クロロフェノールの細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した結果、代謝活性化の有無にかかわらず、すべ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、4-クロロフェノールの遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

4-クロロフェノールの変異原性については、*S. typhimurium* を用いた復帰突然変異試験で陰性³⁾ および陽性⁴⁾ の異なる結果が報告されており、WP2uvrA を加えた今回の試験においては陰性結果が確認された。また、CHL 細胞を用いた染色体異常試験では陽性⁵⁾ と報告されている。

4-クロロフェノールの異性体である 2-クロロフェノールについては、*S. typhimurium* を用いた復帰突然変異試験で陰性³⁾、3-クロロフェノールは、同じく復帰突然変異試験で陰性³⁾ および陽性⁴⁾ の報告がある。

4-クロロフェノールのその他の類縁化合物については、2,3-ジクロロフェノールは、*S. typhimurium* を用いた復帰突然変異試験で陰性³⁾、2,4-ジクロロフェノールは、マウスリンホーマ L5187Y 細胞を用いた突然変異試験および CHO 細胞を用いた姉妹染色分体交換試験で陽性⁶⁾、CHL 細胞を用いた染色体異常試験で疑陽性⁷⁾、CHO 細胞を用いた染色体異常試験⁶⁾ および V79 細胞を用いた 6-チオグアニン (6TG) 抵抗性突然変異試験⁸⁾ でともに陰性と報告され、発ガン性に関してマウスおよびラットで陰性⁶⁾ と報告されている。2,5-ジクロロフェノールは、*S. typhimurium* を用いた復帰突然変異試験で

陰性³⁾，2,6-ジクロロフェノールは，復帰突然変異試験³⁾，6TG 抵抗性突然変異試験⁸⁾ および酵母を用いた遺伝子突然変異試験⁹⁾ でいずれも陰性と報告され，3,4-ジクロロフェノールについても復帰突然変異試験で陰性³⁾ と報告されている。2,3,4-トリクロロフェノール，2,3,5-トリクロロフェノールおよび 2,3,6-トリクロロフェノールは，いずれも CHL 細胞を用いた染色体異常試験で陽性¹⁰⁾，2,4,5-トリクロロフェノールは，復帰突然変異試験で陰性³⁾ と陽性⁴⁾ の報告があり，CHL 細胞を用いた染色体異常試験で陽性¹¹⁾，6TG 抵抗性突然変異試験⁸⁾ および酵母を用いた遺伝子突然変異試験⁹⁾ ではともに陰性と報告されている。2,4,6-トリクロロフェノールは，復帰突然変異試験で陰性³⁾ と陽性⁴⁾ の報告があり，また，V79 細胞を用いた染色体異常試験¹²⁾ および CHL 細胞を用いた染色体異常試験¹³⁾ で陽性，V79 細胞を用いた 6TG 抵抗性突然変異試験では陰性^{8, 12)} と報告されている。また，3,4,5-トリクロロフェノールは，CHL 細胞を用いた染色体異常試験で疑陽性¹⁴⁾ と報告されている。さらに，4-クロロ-3-メチルフェノールおよび 4-クロロ-2-メチルフェノールは，ともに復帰突然変異試験で陰性⁴⁾ と報告されている。

参考文献

- 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., Nichols, W. and Ramel, C., Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, pp.161-187.
- 3) Haworth, S., Lawler, T., Mortelmans, K., Speck, W. and Zeiger, E. (1983). *Salmonella* mutagenicity test results for 250 chemicals. *Environmental Mutagenesis*, **5**(Supplement 1), 3-142.
- 4) Strobel, K. and Grummt, T. (1987). Aliphatic and aromatic halocarbons as potential mutagens in drinking water. *Toxicological and Environmental chemistry*, **14**, 143-156.

- 5) 祖父尼俊雄 監修, “染色体異常試験データ集 改定 1998 年版” エル・アイ・シー, 東京, 1999, pp.132-133.
- 6) Zeiger, E., Haseman, J.K., Shelby, M.D., Margolin, B.H. and Tennant, R.W. (1990). Evaluation of four *in vitro* genetic toxicity tests for predicting rodent , carcinogenicity : Confirmation of earlier results with 41 additional chemicals. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, **16**(Supplement 18), 1-14.
- 7) 祖父尼俊雄 監修, “染色体異常試験データ集 改定 1998 年版” エル・アイ・シー, 東京, 1999, pp.175-176.
- 8) Jansson, K. and Jansson, V. (1986). Inability of chlorophenols to induce 6-thioguanine-resistant mutations in V79 chinese hamster cells. *Mutation Research*, **171**, 165-168.
- 9) Nestmann, E.R. and Lee, E.G.-H. (1983). Mutagenicity of constituents of pulp and paper mill effluent in growing cells of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutation Research*, **119**, 273-280.
- 10) 祖父尼俊雄 監修, “染色体異常試験データ集 改定 1998 年版” エル・アイ・シー, 東京, 1999, pp.508-513.
- 11) 祖父尼俊雄 監修, “染色体異常試験データ集 改定 1998 年版” エル・アイ・シー, 東京, 1999, p.513.
- 12) Jansson, K. and Jansson, V. (1992). Genotoxicity of 2,4,6-trichlorophenol in V79 chinese hamster cells. *Mutation Research*, **280**, 175-179.
- 13) 祖父尼俊雄 監修, “染色体異常試験データ集 改定 1998 年版” エル・アイ・シー, 東京, 1999, p.514.
- 14) 祖父尼俊雄 監修, “染色体異常試験データ集 改定 1998 年版” エル・アイ・シー, 東京, 1999, pp.514-515.

表 1-1 S9 mix 非存在下における 4-クロロフェノールの復帰突然変異試験結果〔本試験 1 回目-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	WP2uvrA	TA98	TA1537
陰 性 対 照 〔ジメチルスルホキシド〕	99	8	14	30	12
	104	14	16	29	6
	120	12	15	25	10
	(108 $\pm$ 11)	(11 $\pm$ 3)	(15 $\pm$ 1)	(28 $\pm$ 3)	(9 $\pm$ 3)
62.5	110	13	9	34	12
	102	13	16	38	11
	121	18	14	34	5
	(111 $\pm$ 10)	(15 $\pm$ 3)	(13 $\pm$ 4)	(35 $\pm$ 2)	(9 $\pm$ 4)
125	92	9	12	34	9
	107	13	19	36	15
	113	9	16	28	12
	(104 $\pm$ 11)	(10 $\pm$ 2)	(16 $\pm$ 4)	(33 $\pm$ 4)	(12 $\pm$ 3)
250	111	12	15	27	10
	100	9	9	30	13
	89	7	14	19	7
	(100 $\pm$ 11)	(9 $\pm$ 3)	(13 $\pm$ 3)	(25 $\pm$ 6)	(10 $\pm$ 3)
500	102	9	15	16	7
	120	10	16	28	10
	87	4	7	31	9
	(103 $\pm$ 17)	(8 $\pm$ 3)	(13 $\pm$ 5)	(25 $\pm$ 8)	(9 $\pm$ 2)
1000	81*	10*	13	20*	6*
	79*	6*	19	17*	4*
	78*	11*	14	13*	7*
	(79 $\pm$ 2)	(9 $\pm$ 3)	(15 $\pm$ 3)	(17 $\pm$ 4)	(6 $\pm$ 2)
2000	0*	1*	0*	0*	0*
	0*	0*	0*	4*	0*
	0*	2*	4*	0*	0*
	(0 $\pm$ 0)	(1 $\pm$ 1)	(1 $\pm$ 2)	(1 $\pm$ 2)	(0 $\pm$ 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	1056	493	808	368	496
	970	402	843	384	485
	1045	425	823	351	592
	(1024 $\pm$ 47)	(440 $\pm$ 47)	(825 $\pm$ 18)	(368 $\pm$ 17)	(524 $\pm$ 59)

() : 平均値 $\pm$ 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 1-2 S9 mix 存在下における 4-クロロフェノール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	WP2uvrA	TA98	TA1537
陰 性 対 照 〔ジメチルスルホキシド〕	94	9	22	34	12
	109	11	23	36	12
	107	11	14	25	13
	(103 $\pm$ 8)	(10 $\pm$ 1)	(20 $\pm$ 5)	(32 $\pm$ 6)	(12 $\pm$ 1)
62.5	123	10	26	41	18
	126	12	19	41	10
	111	7	8	38	13
	(120 $\pm$ 8)	(10 $\pm$ 3)	(18 $\pm$ 9)	(40 $\pm$ 2)	(14 $\pm$ 4)
125	138	8	18	52	8
	130	14	15	51	12
	137	11	11	53	12
	(135 $\pm$ 4)	(11 $\pm$ 3)	(15 $\pm$ 4)	(52 $\pm$ 1)	(11 $\pm$ 2)
250	118	11	16	35	9
	146	7	13	34	12
	114	12	19	37	10
	(126 $\pm$ 17)	(10 $\pm$ 3)	(16 $\pm$ 3)	(35 $\pm$ 2)	(10 $\pm$ 2)
500	113	7	12	40	12
	112	12	12	41	8
	96	11	10	32	10
	(107 $\pm$ 10)	(10 $\pm$ 3)	(11 $\pm$ 1)	(38 $\pm$ 5)	(10 $\pm$ 2)
1000	87*	7*	18	20	11
	72*	9*	16	28	11
	109*	8*	17	24	8
	(89 $\pm$ 19)	(8 $\pm$ 1)	(17 $\pm$ 1)	(24 $\pm$ 4)	(10 $\pm$ 2)
2000	0*	0*	3*	0*	0*
	42*	3*	10*	0*	0*
	0*	0*	0*	0*	0*
	(14 $\pm$ 24)	(1 $\pm$ 2)	(4 $\pm$ 5)	(0 $\pm$ 0)	(0 $\pm$ 0)
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	602	148	798	355	89
	561	150	751	315	72
	546	166	846	347	70
	(570 $\pm$ 29)	(155 $\pm$ 10)	(798 $\pm$ 48)	(339 $\pm$ 21)	(77 $\pm$ 10)

() : 平均値 $\pm$ 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 2-1 S9 mix 非存在下における 4-クロロフェノール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	WP2uvrA	TA98	TA1537
陰 性 対 照 〔ジメチルスルホキシド〕	116	12	15	29	10
	96	9	14	37	9
	118	6	22	22	8
	(110 $\pm$ 12)	(9 $\pm$ 3)	(17 $\pm$ 4)	(29 $\pm$ 8)	(9 $\pm$ 1)
62.5	113	9	23	27	7
	96	10	22	32	11
	83	11	18	34	14
	(97 $\pm$ 15)	(10 $\pm$ 1)	(21 $\pm$ 3)	(31 $\pm$ 4)	(11 $\pm$ 4)
125	108	13	21	34	17
	109	8	20	36	12
	72	7	18	24	10
	(96 $\pm$ 21)	(9 $\pm$ 3)	(20 $\pm$ 2)	(31 $\pm$ 6)	(13 $\pm$ 4)
250	109	11	15	19	11
	115	7	16	19	5
	88	8	9	32	7
	(104 $\pm$ 14)	(9 $\pm$ 2)	(13 $\pm$ 4)	(23 $\pm$ 8)	(8 $\pm$ 3)
500	105	12	13	23	8
	106	6	13	29	10
	106	6	17	20	7
	(106 $\pm$ 1)	(8 $\pm$ 3)	(14 $\pm$ 2)	(24 $\pm$ 5)	(8 $\pm$ 2)
1000	89*	11*	9	13*	10*
	95*	11*	14	14*	6*
	97*	6*	14	16*	7*
	(94 $\pm$ 4)	(9 $\pm$ 3)	(12 $\pm$ 3)	(14 $\pm$ 2)	(8 $\pm$ 2)
2000	1*	1*	11*	0*	0*
	0*	0*	1*	0*	0*
	0*	0*	6*	0*	0*
	(0 $\pm$ 1)	(0 $\pm$ 1)	(6 $\pm$ 5)	(0 $\pm$ 0)	(0 $\pm$ 0)
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	862	411	1061	316	504
	861	430	851	301	406
	937	425	843	327	640
	(887 $\pm$ 44)	(422 $\pm$ 10)	(918 $\pm$ 124)	(315 $\pm$ 13)	(517 $\pm$ 118)

() : 平均値 $\pm$ 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 4-クロロフェノール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 〔 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	WP2uvrA	TA98	TA1537
陰 性 対 照 〔ジメチルスルホキシド〕	105	10	26	42	9
	95	7	24	36	14
	106	8	19	40	13
	(102 $\pm$ 6)	(8 $\pm$ 2)	(23 $\pm$ 4)	(39 $\pm$ 3)	(12 $\pm$ 3)
62.5	105	11	19	39	15
	105	8	23	33	13
	105	13	22	46	12
	(105 $\pm$ 0)	(11 $\pm$ 3)	(21 $\pm$ 2)	(39 $\pm$ 7)	(13 $\pm$ 2)
125	103	10	22	45	14
	119	10	26	60	11
	82	12	21	35	16
	(101 $\pm$ 19)	(11 $\pm$ 1)	(23 $\pm$ 3)	(47 $\pm$ 13)	(14 $\pm$ 3)
250	133	7	21	36	19
	115	6	30	39	11
	107	10	26	30	16
	(118 $\pm$ 13)	(8 $\pm$ 2)	(26 $\pm$ 5)	(35 $\pm$ 5)	(15 $\pm$ 4)
500	105	9	21	38	11
	103	11	28	42	9
	114	8	22	48	12
	(107 $\pm$ 6)	(9 $\pm$ 2)	(24 $\pm$ 4)	(43 $\pm$ 5)	(11 $\pm$ 2)
1000	106*	7*	20	25	10
	99*	11*	17	35	11
	90*	10*	23	27	7
	(98 $\pm$ 8)	(9 $\pm$ 2)	(20 $\pm$ 3)	(29 $\pm$ 5)	(9 $\pm$ 2)
2000	54*	0*	1*	0*	1*
	0*	4*	6*	3*	0*
	0*	1*	5*	2*	0*
	(18 $\pm$ 31)	(2 $\pm$ 2)	(4 $\pm$ 3)	(2 $\pm$ 2)	(0 $\pm$ 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	721	139	729	389	134
	710	141	741	413	81
	655	149	778	387	81
	(695 $\pm$ 35)	(143 $\pm$ 5)	(749 $\pm$ 26)	(396 $\pm$ 14)	(99 $\pm$ 31)

() : 平均値 $\pm$ 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 4-クロロフェノールの復帰突然変異試験結果—本試験1回目

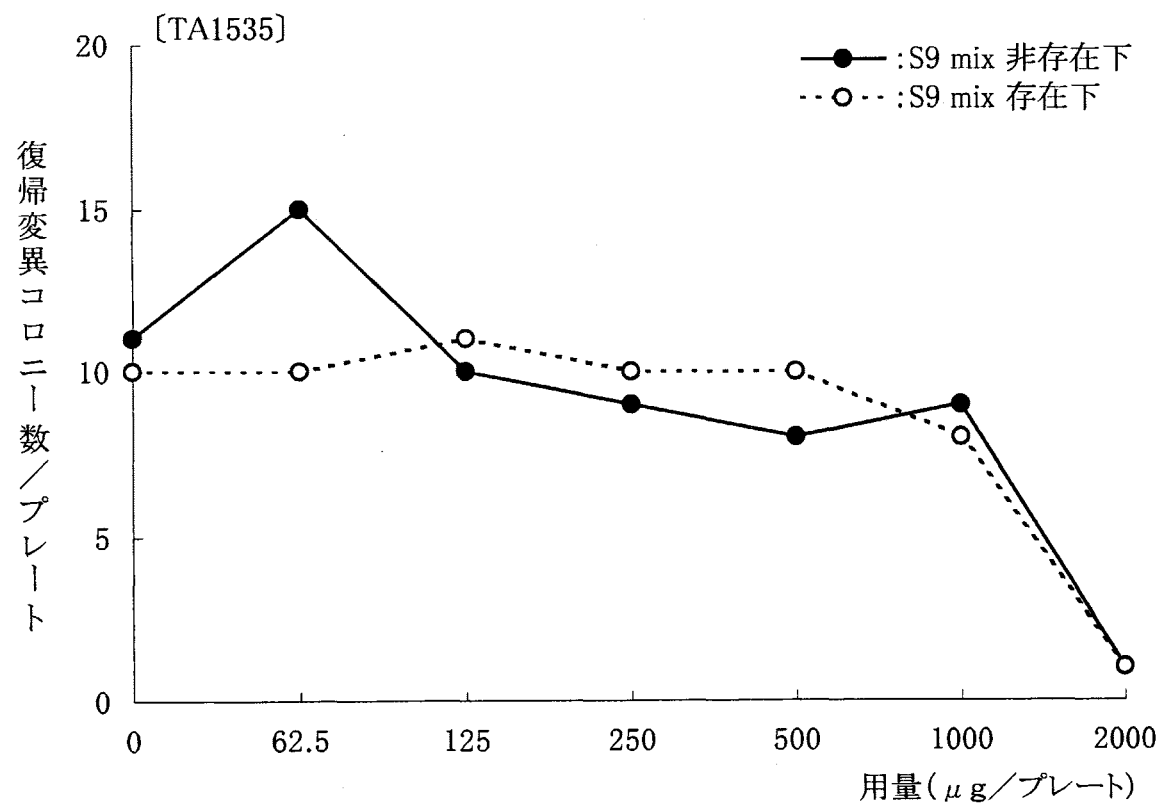
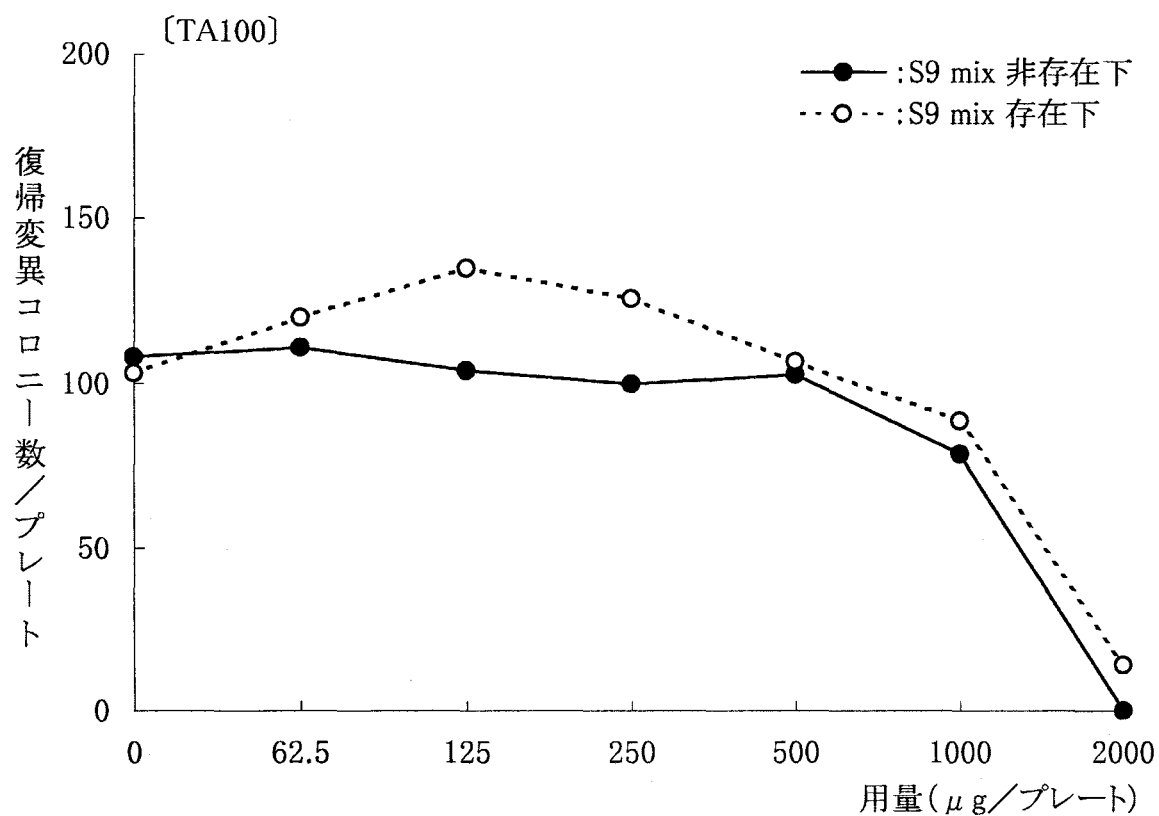


図 1-2 4-クロロフェノールの復帰突然変異試験結果一本試験1回目

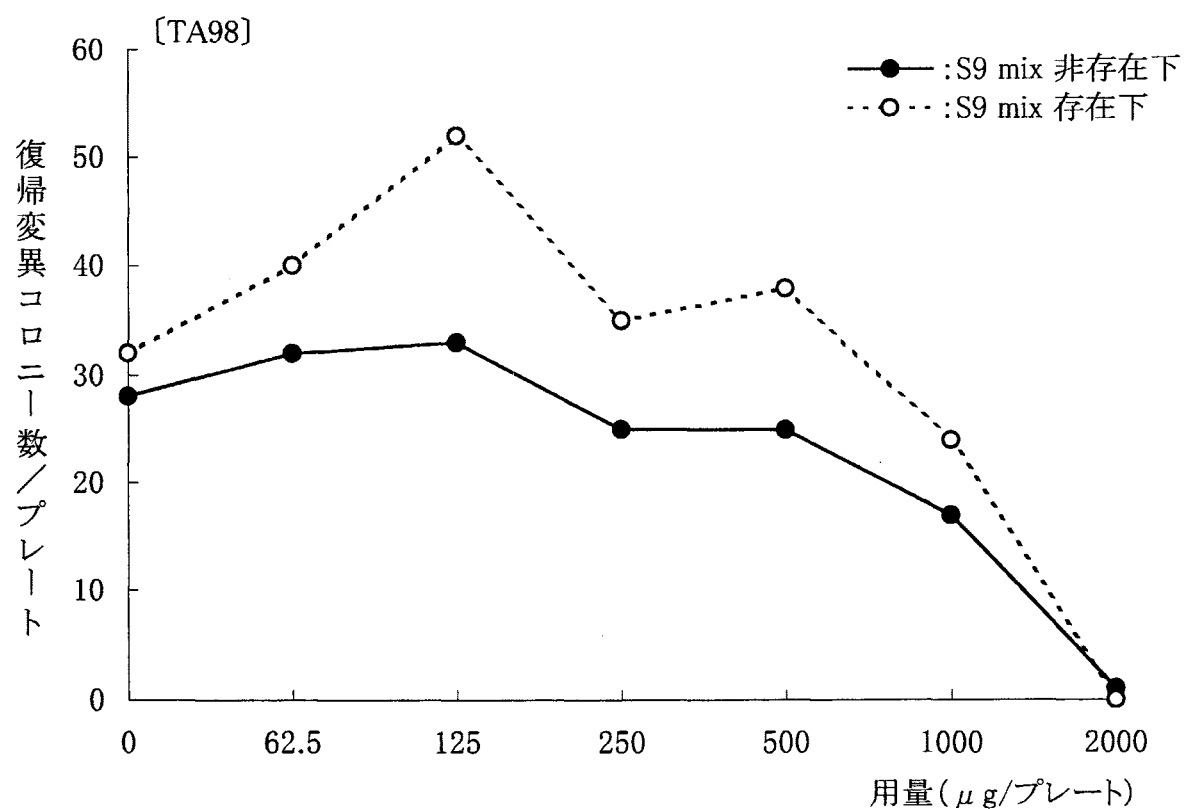
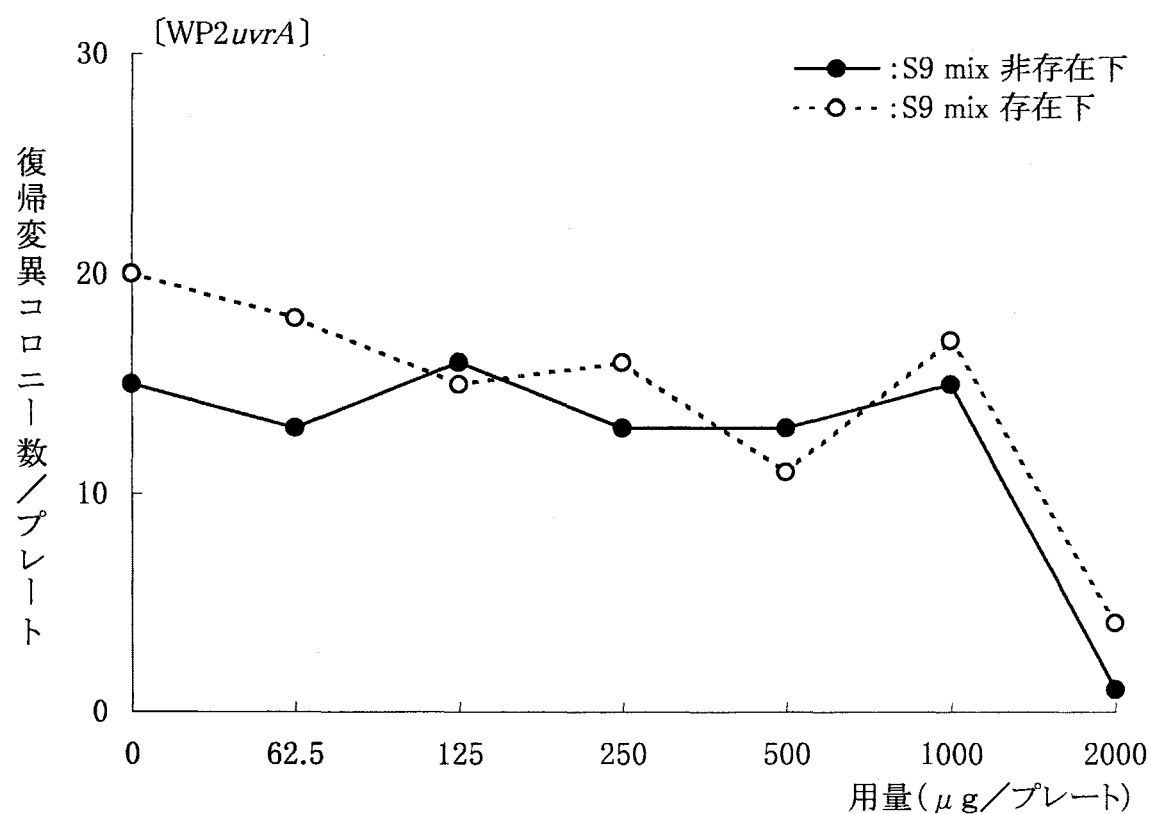


図 1-3 4-クロロフェノールの復帰突然変異試験結果—本試験1回目

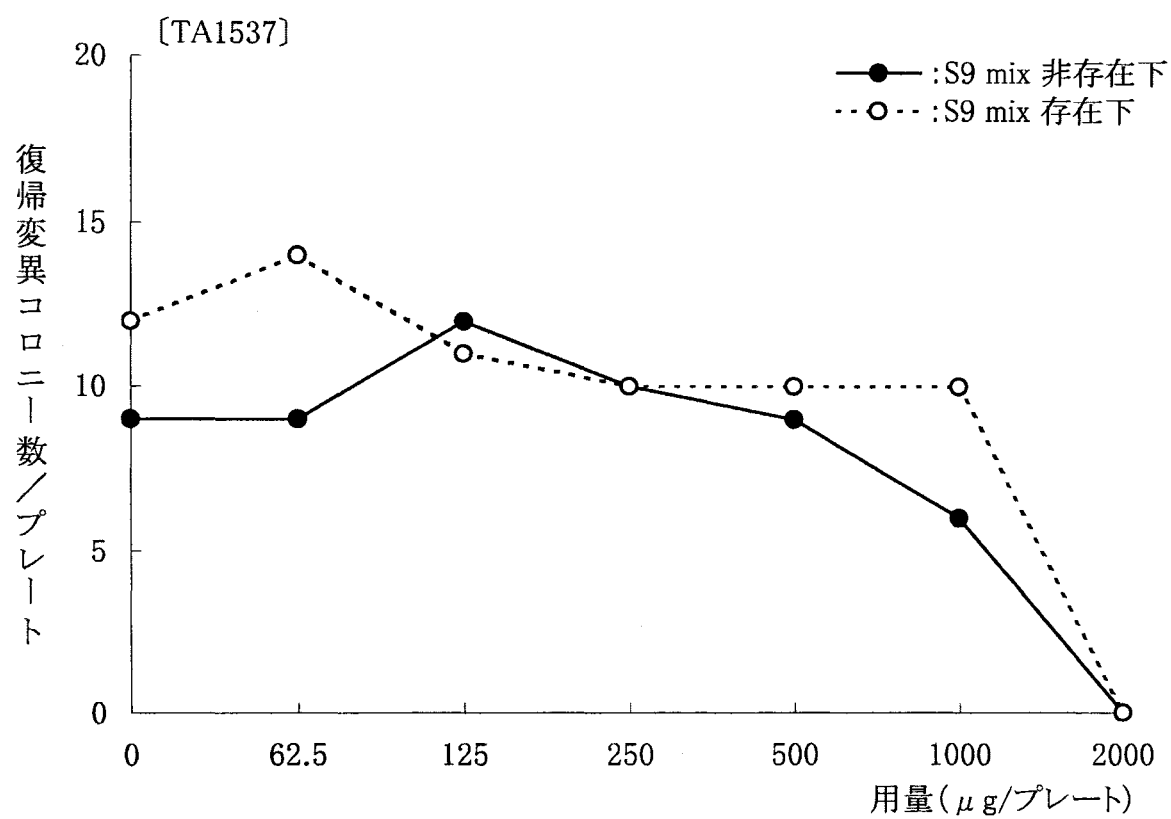


図 2-1 4-クロロフェノールの復帰突然変異試験結果一本試験2回目

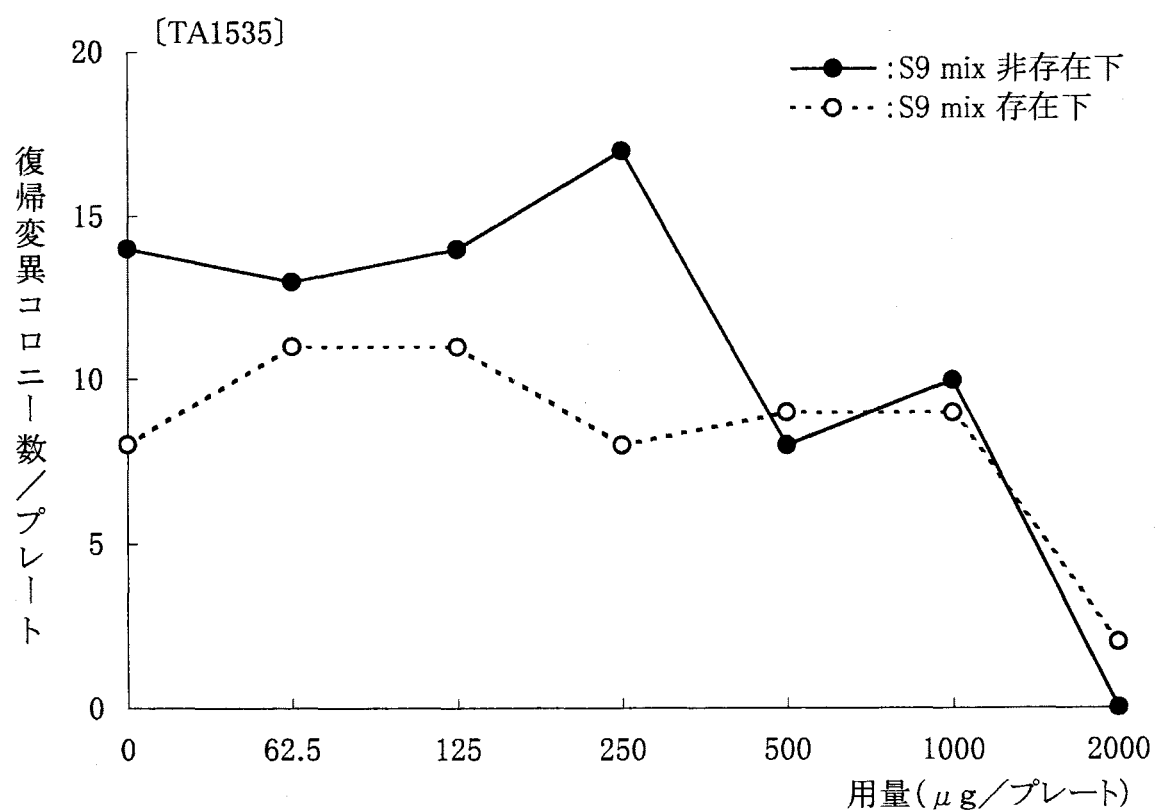
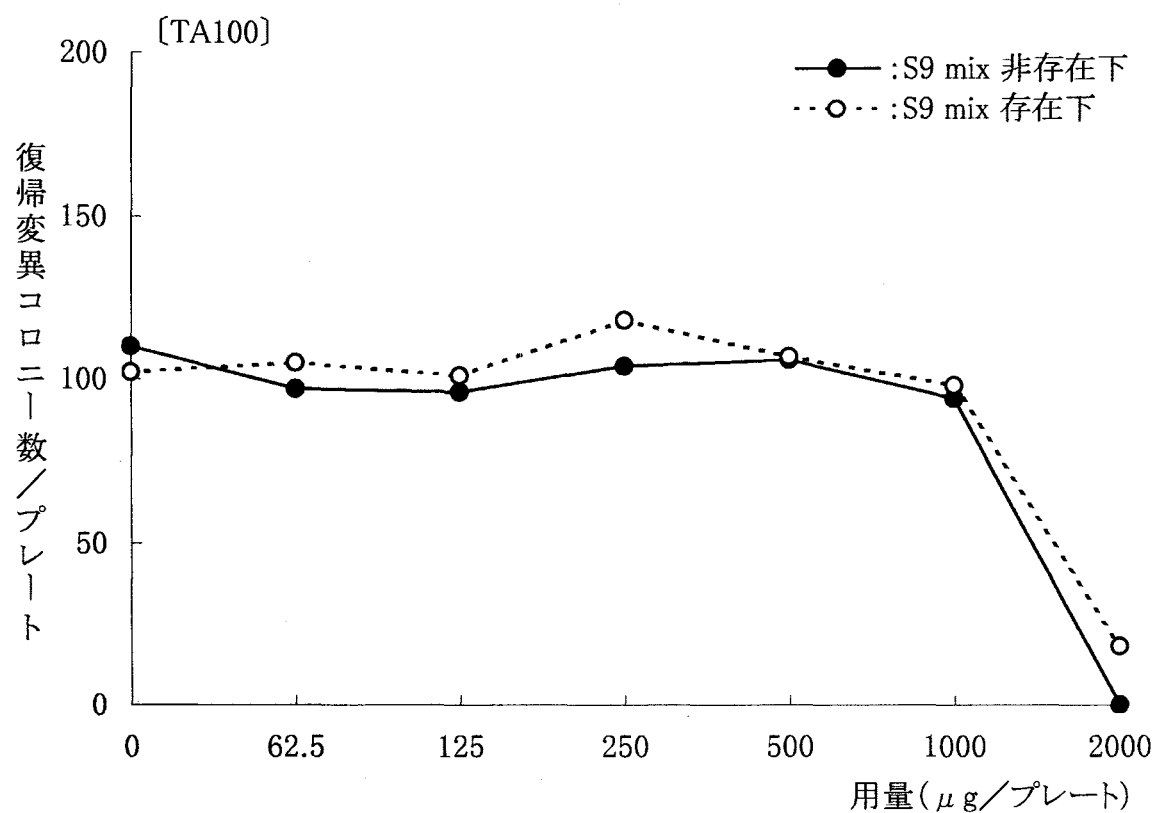


図 2-2 4-クロロフェノールの復帰突然変異試験結果—本試験2回目

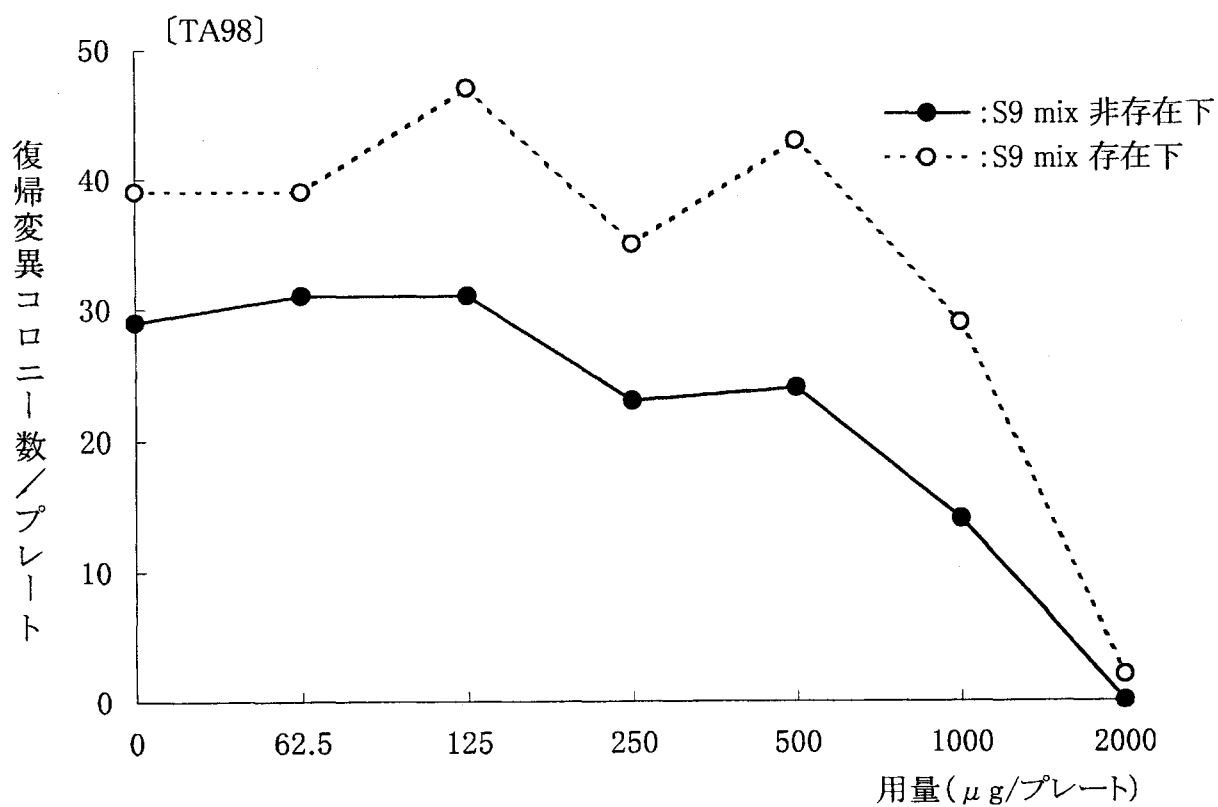
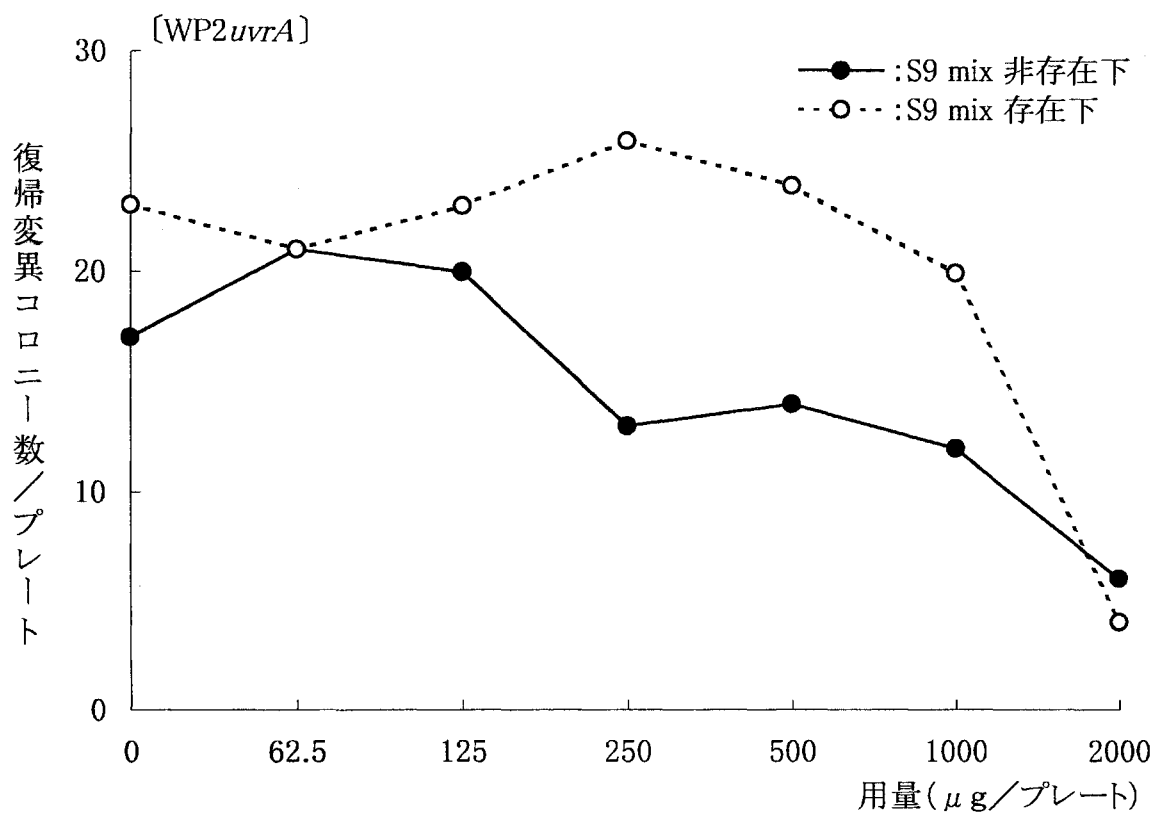


図 2-3 4-クロロフェノールの復帰突然変異試験結果一本試験2回目

