

# 最終報告書

2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの細菌を用いた復帰突然変異試験

(試験番号：96-072)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

Study No. 96-072

## 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液の調製 .....	5
9. 濃度設定試験（予備試験） .....	6
10. 本試験 .....	6
1) 濃度設定 .....	6
2) 実験方法 .....	6
(1) プレインキュベーション法（直接法） .....	6
(2) プレインキュベーション法（代謝活性化法） .....	6
11. 無菌試験 .....	7
12. 試験の有効性 .....	7
13. 結果の判定 .....	7
結果 .....	8
1. 濃度設定試験 .....	8
2. 本試験 .....	8
結論および参考事項 .....	8
参考文献 .....	9

表：

表 1-1	S9 mix 非存在下における 2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸 ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔濃度設定試験-直接法〕	.....	10
表 1-2	S9 mix 存在下における 2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸 ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔濃度設定試験-代謝活性 化法〕	.....	11
表 2-1	S9 mix 非存在下における 2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸 ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験-直接法〕	.....	12
表 2-2	S9 mix 存在下における 2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸 ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験-代謝活性化法〕	.....	13

図：

図 1-1	2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの 復帰突然変異試験結果-濃度設定試験	.....	14
図 1-2	2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの 復帰突然変異試験結果-濃度設定試験	.....	15
図 1-3	2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの 復帰突然変異試験結果-濃度設定試験	.....	16
図 2-1	2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの 復帰突然変異試験結果-本試験	.....	17
図 2-2	2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの 復帰突然変異試験結果-本試験	.....	18
図 2-3	2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの 復帰突然変異試験結果-本試験	.....	19

## 要 約

2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの突然変異誘発性の有無を検討するため、細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した。

試験は、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。156, 313, 625, 1250, 2500 および 5000  $\mu\text{g}$ /プレート濃度を設定して行った濃度設定試験では、代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの菌株においても菌の生育阻害は認められず、いずれの濃度においても陰性対照（溶媒対照）と比較して2倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。したがって、本試験は、濃度設定試験と同じ濃度を用いて同様に行った。その結果、濃度設定試験と同様、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、2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの細菌に対する突然変異誘発性は陰性と判定した。

## 試験目的

この試験は、2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの細菌に対する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<sup>1), 2)</sup>

#### 1. 被験物質

名称(別名): 2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウム

(R酸ジナトリウム塩, 2,7-ナフトレンジスルホン酸,  
3-ヒドロキシジナトリウム塩)

CAS番号: 135-51-3

ロット番号:

純度: 96.4 % (平成8年11月6日分析)

(不純物 水: 約3%; 無機分: 0.1%以下; 微量の異性体)

入手先(製造元):

入手日:

入手量: 5 g

物性等:

化学名 2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウム  
(Sodium 2-naphthol-3,6-disulfonate)

示性式  $C_{10}H_5OH(SO_3Na)_2$

分子式  $C_{10}H_6O_7S_2Na_2$

分子量 348.26

性状(常温) 緑がかった灰色の粉末

溶解性 水: 可溶; アセトン, DMSO, メタノール: 不溶

安定性: 安定〔実験終了後, 残余被験物質を試験委託者において分析(平成9年2月27日)した結果, 純度は96.0%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(4℃), 密栓

## 2. 指標菌株

以下の5種類の菌株を用いた。

(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

指標菌株は、より入手（平成6年12月19日）したものを用いた。

## 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, 株式会社同仁化学研究所, ロット番号 B805086, >99%) 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) 液体培地に接種し, 37°C で 12 時間振盪培養した。培養後の菌懸濁液については, 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より 1 ml あたり  $1 \times 10^9$  以上の生菌数が得られていることを確認した。

生菌数 ( $\times 10^9$  個/ml)

指標菌株	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
濃度設定試験	1.38	1.44	1.47	1.44	1.21
本試験	1.58	1.76	1.56	1.48	1.30

## 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-356, 1996年12月13日製造, 1997年1月8日購入)。凍結 S9 mix は  $-80^{\circ}\text{C}$  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 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: 190~226g

#### B. 誘導法

- 誘導物質: phenobarbital (PB), 5,6-benzoflavone (BF)
- 投与経路: 腹腔内投与
- 投与方法 (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 <sub>2</sub>	8	$\mu\text{mol}$
KCl	33	$\mu\text{mol}$
G-6-P	5	$\mu\text{mol}$
NADH	4	$\mu\text{mol}$
NADPH	4	$\mu\text{mol}$
ナトリウムーリン酸緩衝液 (pH 7.4)	100	$\mu\text{mol}$
S9	0.1	ml

## 6. 被験物質の供試液の調製

被験物質は水に可溶であることから、溶媒には蒸留水（株式会社大塚製薬工場，ロット番号 K6G94）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。溶媒を用いて最高濃度の供試液（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濃度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）は、被験物質の溶媒である蒸留水を用いた。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 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	代謝活性化法 ( $\mu\text{g}$ /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 077 21MZ)

AF-2 および 2-AA は DMSO (株式会社同仁化学研究所, ロット番号 B805086, >99%) 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 K3D77) 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-ビオチンおよび 0.5 mM L-ヒスチジン溶液、*E. coli* 用には 0.5 mM L-トリプトファン溶液を 1/10 容加え、アミノ酸添加軟寒天培地とした。



## 9. 濃度設定試験（予備試験）

本試験における被験物質の適切な濃度を把握するために、156, 313, 625, 1250, 2500 および 5000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  の 6 濃度を用いて、本試験と同様の実験方法で試験を行った。

## 10. 本試験

### 1) 濃度設定

濃度設定試験の結果に基づき、最高濃度は 5000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  とし、以下公比 2 で計 6 段階の濃度を設定した。

### 2) 実験方法

#### (1) プレインキューベーション法（直接法）

滅菌小試験管に前培養した菌懸濁液 0.1 ml, 被験物質の供試液 0.1 ml および 100 mM ナトリウムリン酸緩衝液 (pH 7.4) 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。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 AN790JL，1996年10月16日製造，1996年12月10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（蒸留水）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。試験は各濃度 3 枚のプレートで行った。

#### (2) プレインキューベーション法（代謝活性化法）

滅菌小試験管に前培養した菌懸濁液 0.1 ml, 被験物質の供試液 0.1 ml および S9 mix 0.5ml 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（蒸留水）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。試験は各濃度3枚のプレートで行った。

#### 11. 無菌試験

濃度設定試験および本試験において、用いた溶媒、S9 mix および最高濃度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基準をすべて満たす場合に、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、各濃度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、以下の3基準をすべて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倍以上の数の復帰変異コロニーが出現する。
- 2) 被験物質濃度の増加とともに復帰変異コロニー数が増加する（濃度依存性）。
- 3) 濃度設定試験および本試験の結果から、復帰変異コロニー数の増加に再現性が認められる。

## 結 果

### 1. 濃度設定試験

結果は、表 1-1, 1-2 および図 1-1, 1-2, 1-3 に示した。直接法ならびに代謝活性化法ともに、いずれの指標菌株においても陰性対照と比較して2倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。また、いずれの菌株においても被験物質による生育阻害は認められなかった。なお、陰性対照では背景データ（添付資料）の範囲内の復帰変異コロニー数が認められ、陽性対照として用いた AF-2, SA, 9-AA では S9 mix 非存在下で、2-AA では S9 mix 存在下で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。

したがって、本試験における被験物質の処理濃度は、最高濃度を試験法ガイドラインで規定されている上限量の 5000  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  とし、以下公比 2 で 2500, 1250, 625, 313 および 156  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  とした。

### 2. 本試験

結果は、表 2-1, 2-2 および図 2-1, 2-2, 2-3 に示した。濃度設定試験と同様、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ける復帰変異コロニー数は、陰性対照値の 2 倍を越えるものではなかった。また、いずれの菌株においても被験物質による生育阻害は認められなかった。なお、陰性対照では背景データ（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。

## 結論および参考事項

2-ナフトール-3, 6-ジスルホン酸ナトリウムの細菌を用いた復帰突然変異試験を実施した結果、濃度設定試験および本試験のいずれにおいても代謝活性化の有無にかか

ならず、すべての指標菌株で明らかな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、濃度設定試験および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、2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの突然変異誘発性は陰性と判定した。

なお、2-ナフト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、DNA修復試験では、*Bacillus subtilis* を用いた場合は陰性、*E. coli* を用いた場合は陽性であり、がん原性については陰性と報告されている<sup>3)</sup>。また、シリアンハムスター由来の BHK21cl13 細胞を用いたトランスフォーメーション試験では陰性と報告されている<sup>4)</sup>。

#### 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 Science Publisher, Amsterdam, New York, Oxford, pp.161-187.
- 3) Suter, W. and Jaeger, I. (1982). Comparative evaluation of different pairs of DNA repair-deficient and DNA repair-proficient bacterial tester strains for rapid detection of chemical mutagens and carcinogens, *Mutation Research*, **97**, 1-18.
- 4) 賀田恒夫, 石館 基 監修, "環境変異原データ集," サイエンティスト社, 東京, 1980, p.289.

表 1-1 S9 mix 非存在下における 2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔濃度設定試験-直接法〕

濃 度 〔 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 〕	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 〔蒸留水〕	125	8	11	10	11
	131	11	12	18	8
	123	12	19	12	4
	(126 $\pm$ 4)	(10 $\pm$ 2)	(14 $\pm$ 4)	(13 $\pm$ 4)	( 8 $\pm$ 4)
156	153	6	11	11	9
	151	10	14	28	7
	155	7	16	19	4
	(153 $\pm$ 2)	( 8 $\pm$ 2)	(14 $\pm$ 3)	(19 $\pm$ 9)	( 7 $\pm$ 3)
313	133	9	8	20	4
	127	6	12	25	4
	122	8	12	24	7
	(127 $\pm$ 6)	( 8 $\pm$ 2)	(11 $\pm$ 2)	(23 $\pm$ 3)	( 5 $\pm$ 2)
625	137	9	10	23	3
	136	6	14	17	8
	117	10	19	18	4
	(130 $\pm$ 11)	( 8 $\pm$ 2)	(14 $\pm$ 5)	(19 $\pm$ 3)	( 5 $\pm$ 3)
1250	121	11	14	25	4
	138	9	16	15	9
	122	10	16	20	5
	(127 $\pm$ 10)	(10 $\pm$ 1)	(15 $\pm$ 1)	(20 $\pm$ 5)	( 6 $\pm$ 3)
2500	159	8	19	25	4
	125	6	14	12	9
	131	9	12	24	10
	(138 $\pm$ 18)	( 8 $\pm$ 2)	(15 $\pm$ 4)	(20 $\pm$ 7)	( 8 $\pm$ 3)
5000	139	6	16	10	4
	170	8	7	24	7
	153	9	21	13	3
	(154 $\pm$ 16)	( 8 $\pm$ 2)	(15 $\pm$ 7)	(16 $\pm$ 7)	( 5 $\pm$ 2)
陽 性 対 照	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9-AA
$\mu\text{g}/\text{プレート}$	0.01	0.5	0.04	0.1	80
復 帰 変 異 コ ロ ニ ー 数 / プ レ ー ト	951	265	847	399	586
	904	289	819	402	482
	894	292	926	428	585
	(916 $\pm$ 30)	(282 $\pm$ 15)	(864 $\pm$ 55)	(410 $\pm$ 16)	(551 $\pm$ 60)

( ): 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 1-2 S9 mix 存在下における 2-ナフトール-3, 6-ジスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果 (濃度設定試験-代謝活性化法)

濃 度 〔 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 〕	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 〔蒸留水〕	121	8	13	33	11
	140	8	12	47	16
	139	9	20	36	14
	(133 $\pm$ 11)	( 8 $\pm$ 1)	(15 $\pm$ 4)	(39 $\pm$ 7)	(14 $\pm$ 3)
156	130	7	12	43	15
	164	7	14	30	14
	145	12	12	24	10
	(146 $\pm$ 17)	( 9 $\pm$ 3)	(13 $\pm$ 1)	(32 $\pm$ 10)	(13 $\pm$ 3)
313	142	17	15	31	9
	135	11	22	34	12
	117	14	15	47	15
	(131 $\pm$ 13)	(14 $\pm$ 3)	(17 $\pm$ 4)	(37 $\pm$ 9)	(12 $\pm$ 3)
625	119	12	15	36	13
	165	8	14	21	13
	148	12	12	32	10
	(144 $\pm$ 23)	(11 $\pm$ 2)	(14 $\pm$ 2)	(30 $\pm$ 8)	(12 $\pm$ 2)
1250	131	9	22	42	6
	167	7	18	31	7
	146	11	14	23	15
	(148 $\pm$ 18)	( 9 $\pm$ 2)	(18 $\pm$ 4)	(32 $\pm$ 10)	( 9 $\pm$ 5)
2500	134	10	15	42	10
	170	7	17	33	12
	154	13	16	30	15
	(153 $\pm$ 18)	(10 $\pm$ 3)	(16 $\pm$ 1)	(35 $\pm$ 6)	(12 $\pm$ 3)
5000	140	9	15	30	10
	157	11	20	35	7
	171	11	7	48	12
	(156 $\pm$ 16)	(10 $\pm$ 1)	(14 $\pm$ 7)	(38 $\pm$ 9)	(10 $\pm$ 3)
陽 性 対 照	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
$\mu\text{g}/\text{プレート}$	1	2	10	1	2
復 帰 変 異 コ ロ ニ ー 数 / プ レ ー ト	361	129	981	244	98
	324	137	954	266	102
	349	149	972	249	100
	(345 $\pm$ 19)	(138 $\pm$ 10)	(969 $\pm$ 14)	(253 $\pm$ 12)	(100 $\pm$ 2)

( ): 平均値 $\pm$ 標準偏差

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 2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験-直接法〕

濃 度 〔 $\mu\text{g}$ /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 〔蒸留水〕	152	9	20	20	6
	154	15	11	16	7
	155	18	17	16	4
	(154 $\pm$ 2)	(14 $\pm$ 5)	(16 $\pm$ 5)	(17 $\pm$ 2)	(6 $\pm$ 2)
156	163	13	11	21	9
	166	9	14	10	5
	153	7	17	23	5
	(161 $\pm$ 7)	(10 $\pm$ 3)	(14 $\pm$ 3)	(18 $\pm$ 7)	(6 $\pm$ 2)
313	137	14	12	19	3
	153	13	15	24	4
	168	11	14	13	5
	(153 $\pm$ 16)	(13 $\pm$ 2)	(14 $\pm$ 2)	(19 $\pm$ 6)	(4 $\pm$ 1)
625	142	14	11	12	5
	147	10	17	15	4
	146	13	14	28	4
	(145 $\pm$ 3)	(12 $\pm$ 2)	(14 $\pm$ 3)	(18 $\pm$ 9)	(4 $\pm$ 1)
1250	149	11	14	13	6
	134	8	10	21	5
	153	12	17	20	3
	(145 $\pm$ 10)	(10 $\pm$ 2)	(14 $\pm$ 4)	(18 $\pm$ 4)	(5 $\pm$ 2)
2500	122	18	13	12	4
	126	9	9	16	6
	137	12	15	19	3
	(128 $\pm$ 8)	(13 $\pm$ 5)	(12 $\pm$ 3)	(16 $\pm$ 4)	(4 $\pm$ 2)
5000	129	13	10	22	3
	146	7	13	12	4
	134	11	8	13	3
	(136 $\pm$ 9)	(10 $\pm$ 3)	(10 $\pm$ 3)	(16 $\pm$ 6)	(3 $\pm$ 1)
陽 性 対 照	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9-AA
$\mu\text{g}$ /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	759	373	815	385	763
	827	347	763	417	821
	721	359	795	403	950
	(769 $\pm$ 54)	(360 $\pm$ 13)	(791 $\pm$ 26)	(402 $\pm$ 16)	(845 $\pm$ 96)

( ): 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 2-2 S9 mix 存在下における 2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験-代謝活性化法〕

濃 度 〔 $\mu\text{g}$ /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 〔蒸留水〕	156	10	16	30	13
	156	10	15	30	8
	140	17	14	34	12
	(151 $\pm$ 9)	(12 $\pm$ 4)	(15 $\pm$ 1)	(31 $\pm$ 2)	(11 $\pm$ 3)
156	150	15	18	38	8
	141	14	13	25	16
	158	10	16	30	13
	(150 $\pm$ 9)	(13 $\pm$ 3)	(16 $\pm$ 3)	(31 $\pm$ 7)	(12 $\pm$ 4)
313	153	12	17	19	15
	151	13	22	29	15
	153	15	18	36	8
	(152 $\pm$ 1)	(13 $\pm$ 2)	(19 $\pm$ 3)	(28 $\pm$ 9)	(13 $\pm$ 4)
625	173	14	16	33	11
	158	13	18	22	6
	160	10	20	27	6
	(164 $\pm$ 8)	(12 $\pm$ 2)	(18 $\pm$ 2)	(27 $\pm$ 6)	( 8 $\pm$ 3)
1250	176	11	13	37	9
	153	12	19	28	16
	167	11	17	29	5
	(165 $\pm$ 12)	(11 $\pm$ 1)	(16 $\pm$ 3)	(31 $\pm$ 5)	(10 $\pm$ 6)
2500	181	9	20	35	11
	179	15	13	34	14
	188	10	17	37	10
	(183 $\pm$ 5)	(11 $\pm$ 3)	(17 $\pm$ 4)	(35 $\pm$ 2)	(12 $\pm$ 2)
5000	178	14	21	24	9
	160	12	23	18	8
	185	8	23	20	9
	(174 $\pm$ 13)	(11 $\pm$ 3)	(22 $\pm$ 1)	(21 $\pm$ 3)	( 9 $\pm$ 1)
陽 性 対 照	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
$\mu\text{g}$ /プレート	1	2	10	1	2
復 帰 変 異 コロニー数 /プレート	503 479 483 (488 $\pm$ 13)	272 219 260 (250 $\pm$ 28)	1003 965 1068 (1012 $\pm$ 52)	285 279 293 (286 $\pm$ 7)	112 104 92 (103 $\pm$ 10)

( ): 平均値 $\pm$ 標準偏差

2-AA: 2-アミノアントラセン



図 1-1 2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果-濃度設定試験

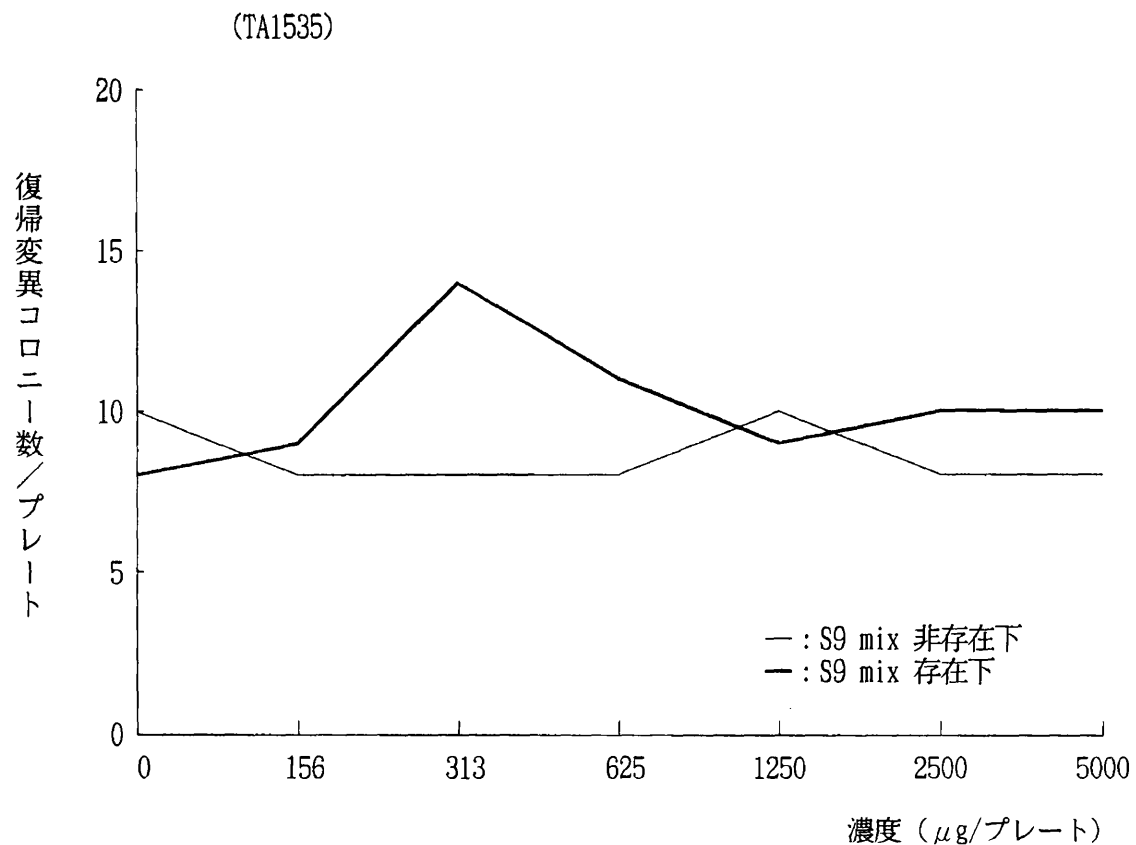
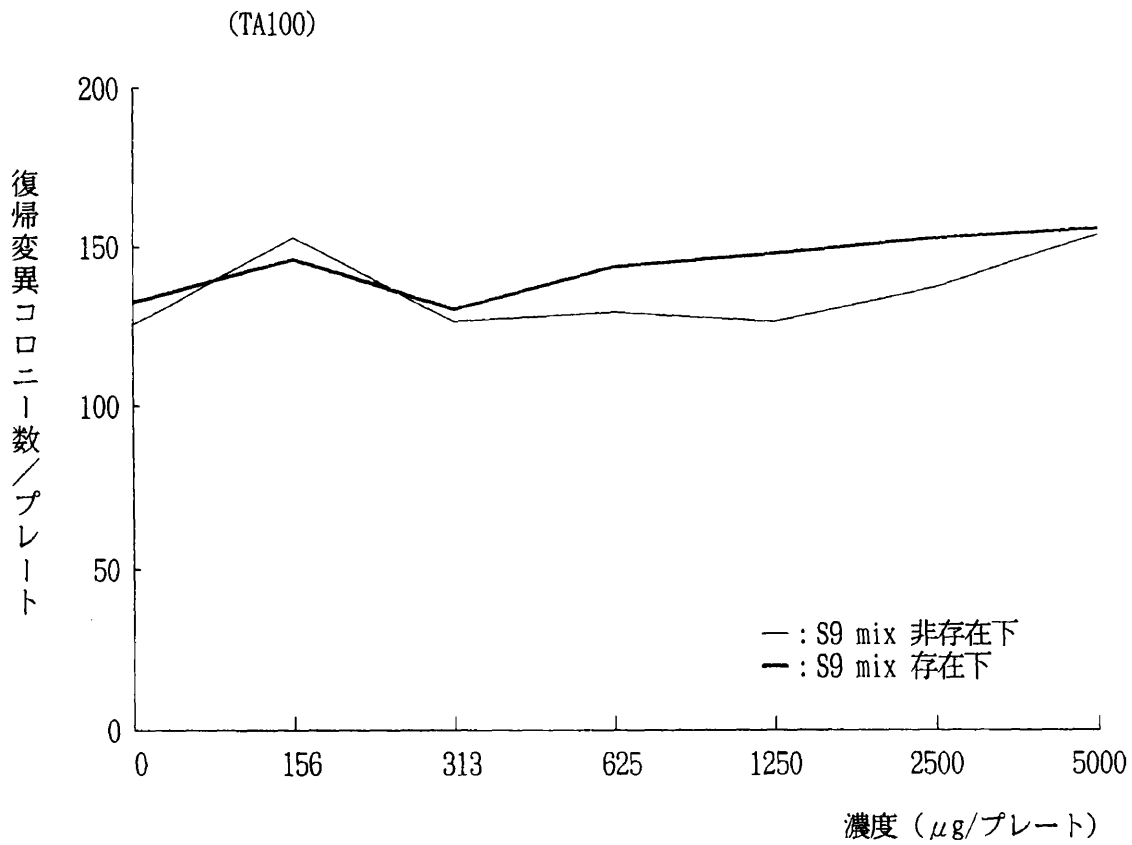


図 1-2 2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果-濃度設定試験

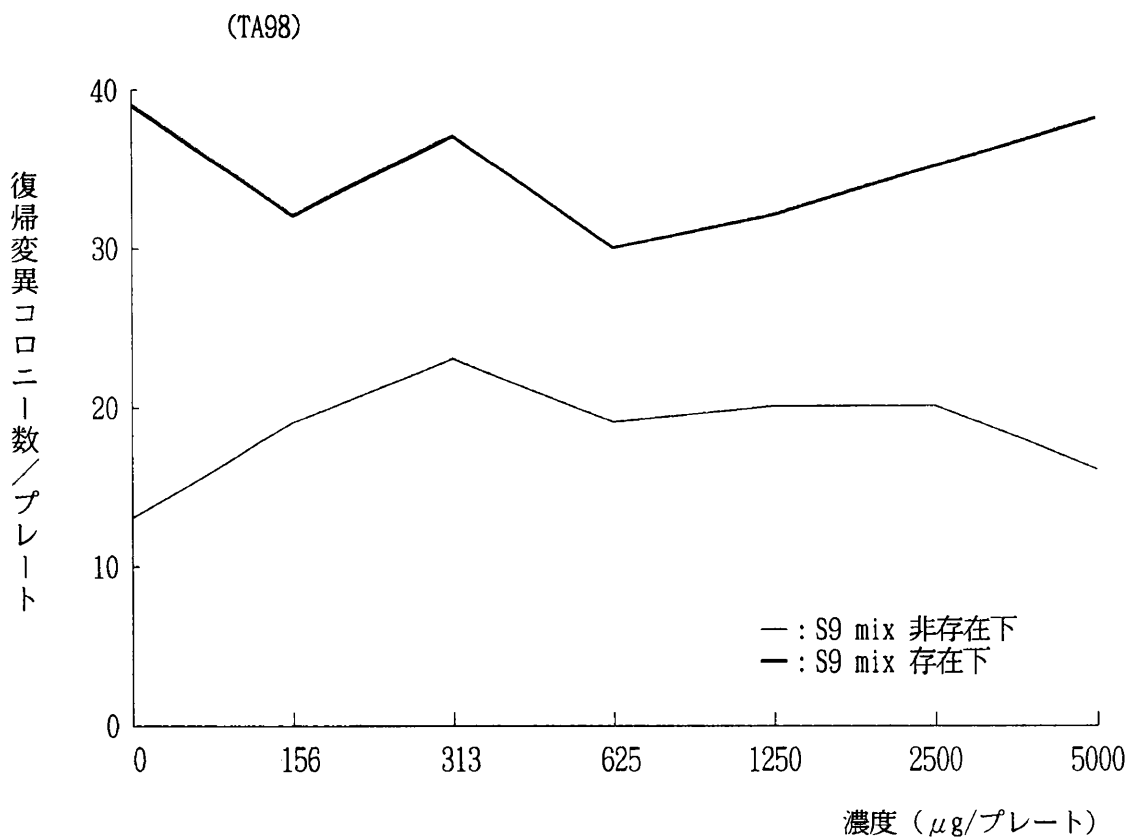
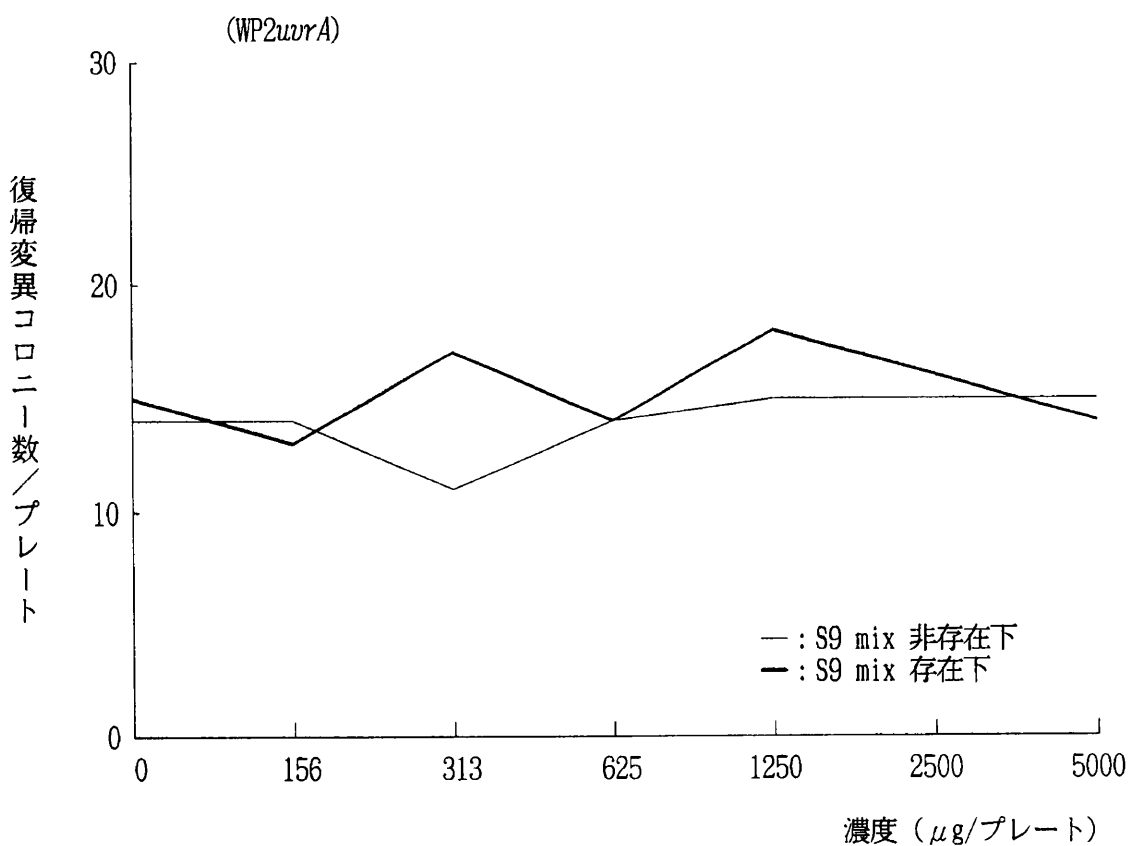


図 1-3 2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果-濃度設定試験

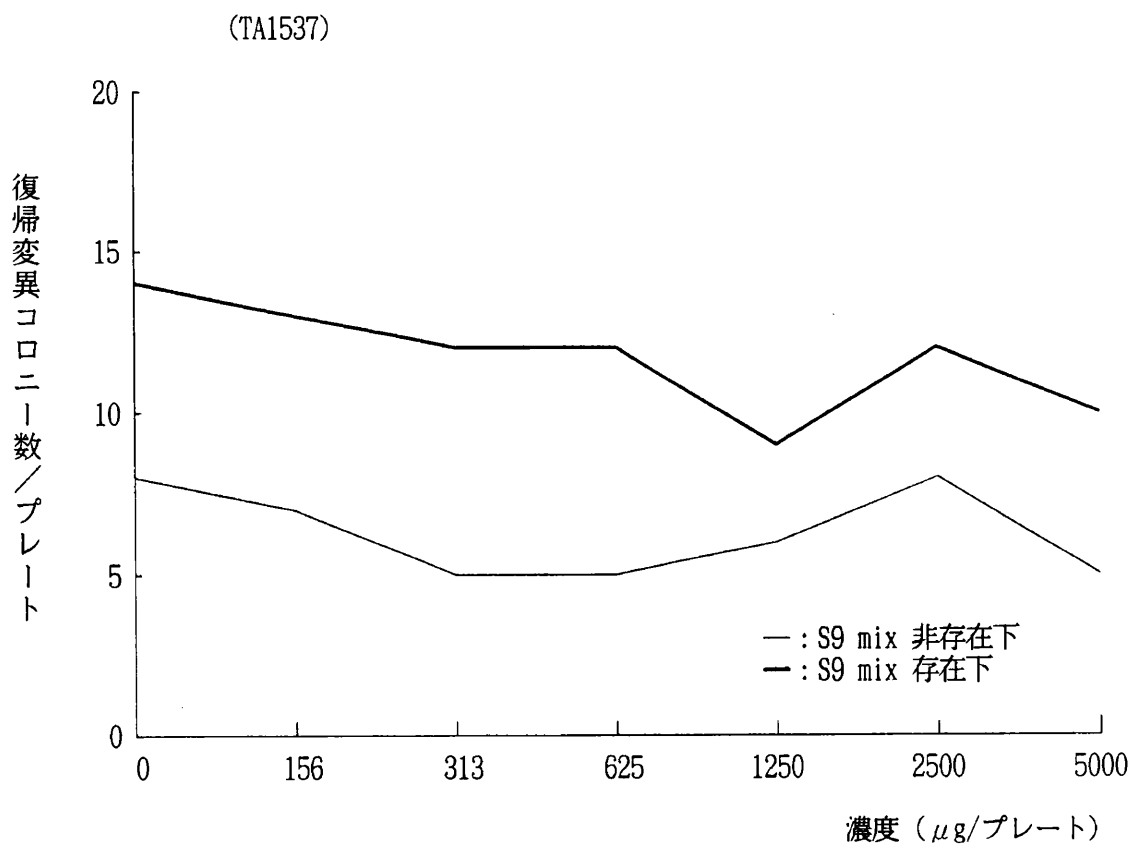


図 2-1 2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果-本試験

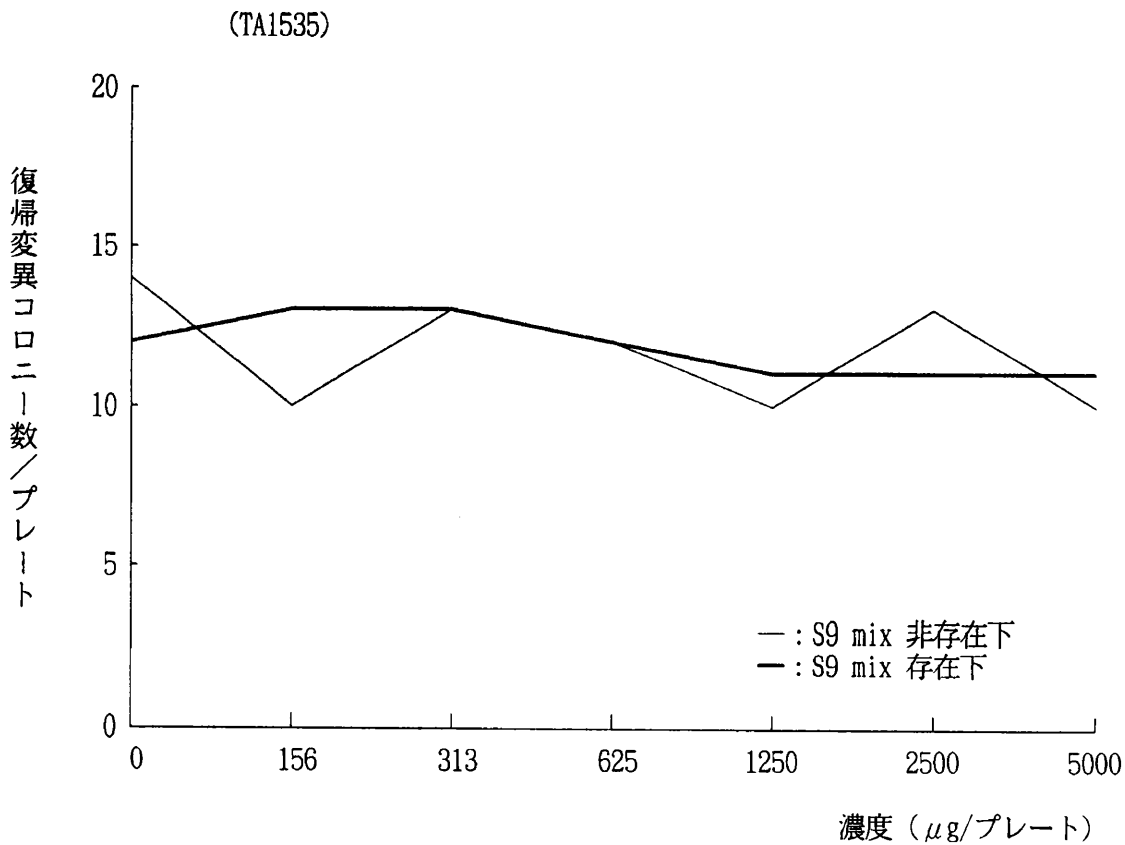
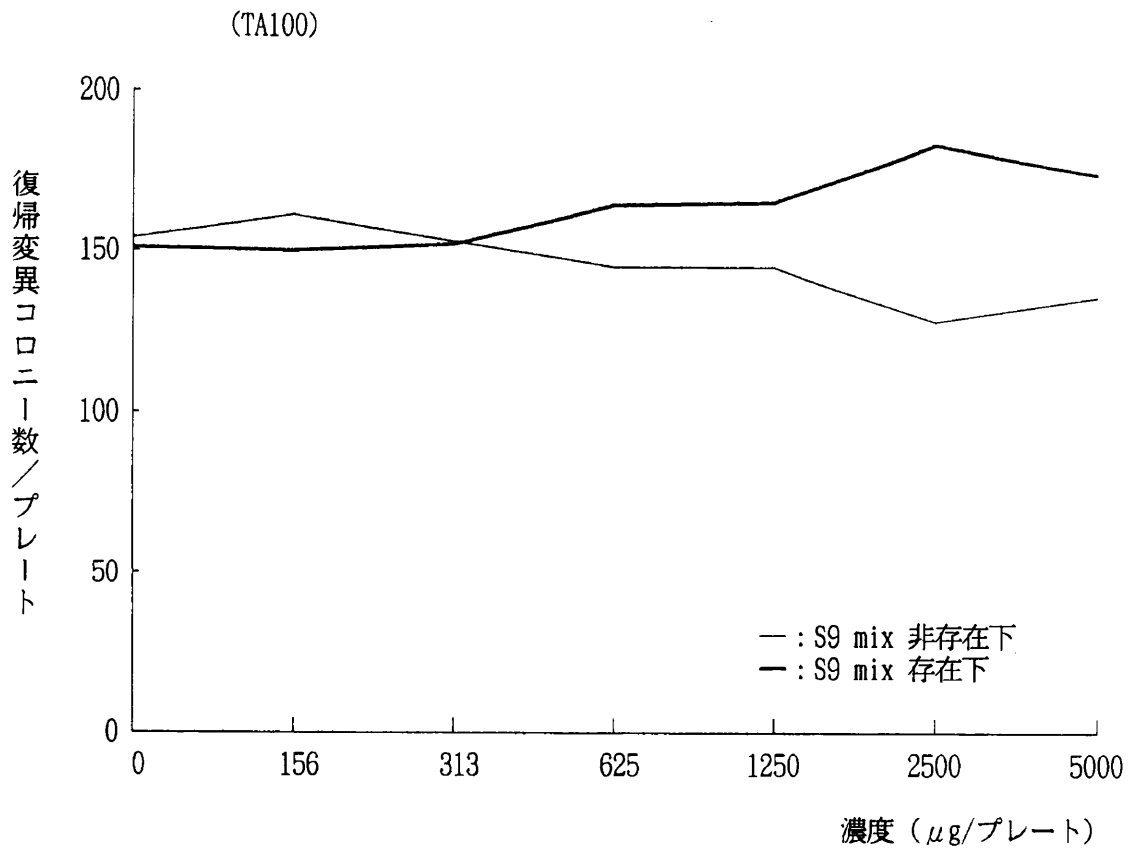


図 2-2 2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果-本試験

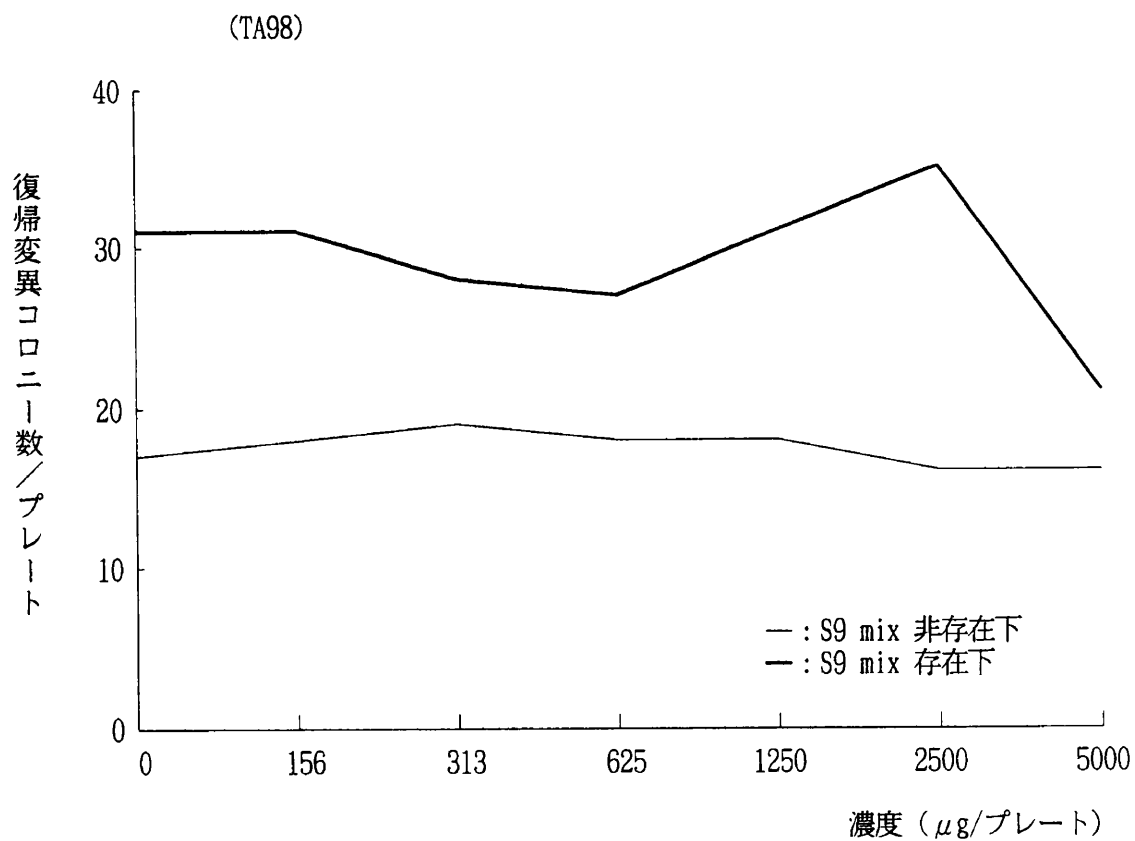
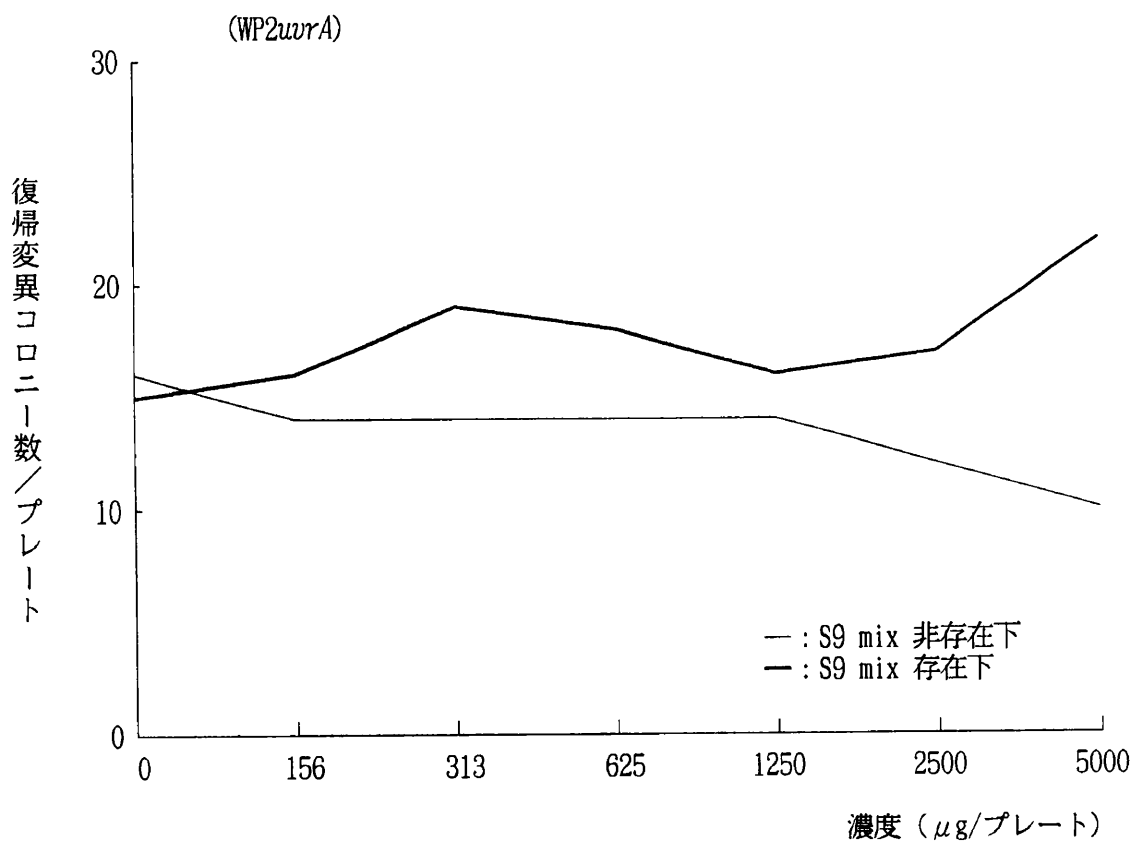


図 2-3 2-ナフトール-3,6-ジスルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果-本試験

