厚生省生活衛生局　殿

最 終 報 告 書

ジイソシアナトトルエンの細菌を用いる復帰突然変異試験

（試験番号：8L666）

2000 年 7 月 6 日

株式会社三菱化学安全科学研究所

目　次

要　約 ---------- 7

材料および方法 ---------- 8

1. 試験物質 ---------- 8

2. テスト菌株 ---------- 8

3. 培　地 ---------- 9

4. S9 mix ---------- 10

5. 試験方法 ---------- 11

結　果 ---------- 14

考察および結論 ---------- 15

参考文献 ---------- 16

表 ---------- 17

図 ---------- 28

要　約

ジイソシアナトトルエンについて，*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 および *Escherichia coli* WP2*uvrA* の 5 菌株を指標とする復帰変異試験を実施した．

予備試験を 5000 ~ 1.22 μg/プレート(公比 4)の 7 用量で実施した結果，TA100, TA1535, WP2*uvrA* の 5000 μg/プレートで菌の生育阻害が認められたため，本試験では 5000 ~ 78.1 μg/プレート(公比 2)の範囲で 5 ~ 7 用量を設定した．

本試験 1 では S9 mix の有無によらず，いずれの菌株においても陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかったが，本試験 2 では S9 mix 共存下の TA100, TA98 で陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加が認められた．従って，結果の再現性が得られなかった S9 mix 共存下の TA100, TA98 ついて，5000 ~ 9.77 μg/プレート(公比 2)の 10 用量を設定し，確認試験を実施した．その結果，TA100, TA98 のいずれにおいても陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．

これらの結果からは明確な結論が得られなかったため，S9 mix 中の S9 濃度を 30 %にして，5000 ~ 78.1 μg/プレート(公比 2)の 7 用量を設定し，追加試験を実施した．その結果，追加試験 1 では TA98 で陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加が認められたが，追加試験 2 では TA100, TA98 のいずれにおいても陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．従って，結果の再現性が得られなかった TA98 ついて同じ用量で追加試験 3 を実施した．その結果，追加試験 2 と同様に陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．

追加試験 1 ~ 3 においても明確な結論が得られなかったが，これらの追加試験で TA100, TA98 が示した復帰変異コロニー数は，陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示さない場合においても常に 2 倍近くまで増加していた．このため，さらに等差により 1000 ~ 100 μg/プレートの 10 用量を設定して追加試験 4 を実施し，この結果をもとに 1000 ~ 100 μg/プレートの 10 用量で追加試験 5, 6 を実施した．追加試験 5 の結果，TA100 で陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加が認められ，追加試験 6 においても TA100 で陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加が認められた．なお，追加試験 5, 6 では通常の 10 %濃度の S9 mix についても同用量で試験を実施したが，TA100, TA98 のいずれにおいても陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．

以上の結果から，ジイソシアナトトルエンは細菌を用いる復帰突然変異試験において，S9 mix 中の S9 濃度を 30 %にした条件下で変異原性を有する(陽性)と結論した．

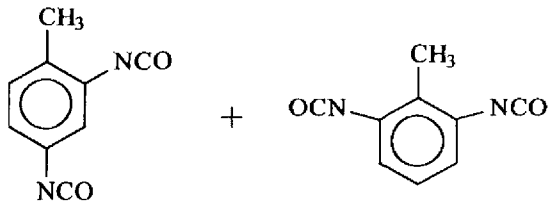
材料および方法

1. 試験物質

1.1 被験物質

から提供されたジイソシアナトトルエン(CAS 番号 26471-62-5, ロット番号　　純度 99.8 %)は使用時まで室温に保存した．被験物質は下記の構造式および分子量を有する水に難溶でジメチルスルホキシド，アセトンに可溶の無色または淡黄色液体である．水と反応して CO_2 を発生し，紫外線で黄変する．

構造式：



80 : 20

分子量：174.16

1.2 対照物質

陰性(溶媒)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．

対照物質名	略称	入　手　先	ﾛｯﾄ番号	純度(%)
陰性対照				
*ｼﾞﾒﾁﾙｽﾙﾎｷｼﾄﾞ	DMSO	関東化学㈱	912S1784	99.7
陽性対照				
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㈱	PTQ1296	98.8
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

＊：ﾓﾚｷｭﾗｰｼｰﾌﾞ 0.4 nm(MERCK 社)を用いて脱水したもの．(以下脱水 DMSO と略す)

2. テスト菌株 [1) 2)]

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 および東京大学医科学研究所　　より 1985 年 10 月 14 日に入手した *Escherichia coli* WP2*uvrA* の 5 菌株を用いた．

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

2.2　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.

2.3 保存方法

液体完全培地中に 37 ℃で 8 時間振盪培養した各菌懸濁液 4 ml に対し，0.35 ml の割合で DMSO(関東化学㈱，ﾛｯﾄ番号 912S1784) を加えた．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，超低温槽で -80 ℃以下に凍結保存したものを使用した.

2.4 菌懸濁液

凍結保存した菌懸濁液を解凍後，20 μl を液体完全培地 10 ml に接種し，37 ℃で 8 時間振盪培養した．培養終了後の菌懸濁液は，濁度計を用いて菌濃度を測定し，各菌株共に生菌数が 1×10^9/ml 以上であることを確認した.

3.　培　地

3.1 液体完全培地

精製水 1 *l* に対し，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) 25 g の割合で溶解し，オートクレーブ滅菌 (121 ℃，15 分間，以下同様) 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 AN770KN (予備試験，本試験 1,2 および確認試験)，AN270EO (追加試験 1 ～ 6)] を購入し，使用した.

3.3 トップアガー

精製水 100 ml に対して，粉末寒天(Bacto-Agar，Difco 社，ﾛｯﾄ番号 80050AJB) 0.6 g，塩化ナトリウム 0.5 g の割合で加え，オートクレーブ滅菌し完全に溶解した．その後，あらかじめ調製しておいた 0.5 mM D- ビオチン，0.5 mM L- ヒスチジン混合水溶液(サルモネラ用)または 0.5 mM L- トリプトファン水溶液(大腸菌用)をそれぞれ 1/10 量添加した．使用時まで約 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，2 日目以降 60 mg/kg を 3 回腹腔内投与)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 系雄ラット肝由来 S9(キッコーマン㈱，ﾛｯﾄ番号 RAA-395：1998 年 12 月 11 日製造(予備試験，本試験 1,2 および確認試験)，RAA-405：1999 年 5 月 21 日製造(追加試験 1 ～ 6)]を購入し，使用した．使用時まで -80 ℃以下で保存した．

4.2 S9 mix

S9 mix 1 ml あたり以下の組成で調製した(以下，10 % S9 mix と言う)．

S9	0.1 ml
塩化マグネシウム六水塩	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
滅菌精製水	残量

追加試験では S9 mix 1 ml あたり以下の組成で調製した S9 mix(以下，30 % S9 mix と言う)を併せて用いた．

S9	0.3 ml
塩化マグネシウム六水塩	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
滅菌精製水	残量

いずれの S9 mix も，使用時まで氷中に保存した．

5. 試験方法 [3)]

5.1 被験物質溶液および陽性対照物質溶液の調製

被験物質は水と反応して CO_2 を発生するとの情報をもとに溶媒検討を実施した結果，50 mg/mL の濃度で脱水 DMSO に溶解したため，溶媒には脱水 DMSO を用いた．被験物質を所定濃度で脱水 DMSO に溶解し，これを同じ溶媒を用いて希釈して各用量の被験物質溶液を調製した．

陽性対照物質の NaN_3 は注射用水(㈱大塚製薬工場，ﾛｯﾄ番号 K7C82)に，その他は DMSO(関東化学㈱，ﾛｯﾄ番号 912S1784)に溶解した．

5.2 被験物質用量

［予備試験］

予備試験を 5000, 1250, 313, 78.1, 19.5, 4.88, 1.22 μg/ﾌﾟﾚｰﾄの 7 用量で実施した結果，TA100, TA1535, WP2*uvrA* の 5000 μg/ﾌﾟﾚｰﾄで菌の生育阻害が認められた．この結果をもとに本試験では，S9 mix 非共存下および共存下の TA100, TA1535 は 5000, 2500, 1250, 625, 313, 156, 78.1 μg/ﾌﾟﾚｰﾄの 7 用量，WP2*uvrA* は 5000, 2500, 1250, 625, 313, 156 μg/ﾌﾟﾚｰﾄの 6 用量，TA98, TA1537 は 5000, 2500, 1250, 625, 313 μg/ﾌﾟﾚｰの 5 用量をそれぞれ設定した．

［本試験］

本試験 1 を実施した結果，S9 mix の有無によらず，いずれの菌株においても陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．さらに本試験 2 を実施した結果，S9 mix 共存下の TA100, TA98 で陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加が認められた．

［確認試験］

S9 mix 共存下の TA100, TA98 は，2 回の本試験で結果に再現性が得られなかったことから，5000, 2500, 1250, 625, 313, 156, 78.1, 39.1, 19.5, 9.77 μg/ﾌﾟﾚｰﾄの 10 用量を設定し，確認試験を実施した．その結果，TA100, TA98 のいずれにおいても陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．

［追加試験 1～3］

本試験条件下では陰性結果となったが，文献では本被験物質は試験条件を変えることで陽性を示す事が報告されているため，文献をもとに検討試験を行った．その結果，S9 mix 中の S9 濃度を増すことで復帰変異コロニー数が増加する傾向にあった．この

結果をもとに，S9 mix 中の S9 濃度を通常の 10 %から 30 %にして S9 mix 共存下の TA100, TA98 について 5000, 2500, 1250, 625, 313, 156, 78.1 μg/ﾌﾟﾚｰﾄの 7 用量を設定し，追加試験を実施した．

追加試験 1 では TA98 で陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加が認められたが，追加試験 2 では TA100, TA98 のいずれにおいても陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．従って，再現性の得られなかった TA98 について 5000, 2500, 1250, 625, 313, 156, 78.1 μg/ﾌﾟﾚｰﾄの 7 用量を設定し，追加試験 3 を実施した．その結果，追加試験 2 と同様に陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．

[追加試験 4 ~ 6]

追加試験 1 ~ 3 で TA100, TA98 が示した復帰変異コロニー数は，陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示さない場合においても常に 2 倍近くまで増加していた．このため，さらに用量間隔を狭めた条件で追加試験を実施した．はじめに，用量の設定を目的として 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100 μg/ﾌﾟﾚｰﾄの 10 用量を設定し，追加試験 4 を実施した．なお，通常の S9 mix(10 % S9 mix)では用量間隔を狭めた条件で試験を実施していなかったため，10 % S9 mix についても併せて実施した．その結果をもとに 1000, 900, 800, 700, 600, 500, 400, 300, 200, 100 μg/ﾌﾟﾚｰﾄの 10 用量を設定し，追加試験 5, 6 を実施した．

5.3 復帰変異試験

試験はプレインキュベーション法で実施した．

滅菌した試験管に被験物質溶液を 0.1 ml，0.1 M ナトリウム－リン酸緩衝液(pH 7.4)を 0.5 ml および菌懸濁液を 0.1 ml 加え，37 ℃で 20 分間振盪培養した．S9 mix を共存させる場合には，0.1 M ナトリウム－リン酸緩衝液の代わりに S9 mix を 0.5 ml 添加した．プレインキュベーション後，トップアガー 2 ml を上記の混合液に加え混和し，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有無を調べた後，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または目視で計測した．予備試験および追加試験 4 は各用量につき 1 枚のプレートを使用した．なお，追加試験 4 は陰性対照のみ 2 枚

のプレートを使用した．その他の試験は各用量につき 3 枚のプレートを使用した．試験は予備試験および本試験 1,2 を実施した後，試験条件を変えて追加試験を 6 回実施した．また，追加試験実施時は菌株の調子を確認するため S9 mix を共存させない場合の陰性対照および陽性対照試験を同時に実施した．さらに追加試験では，30 % S9 mix が試験系に影響を与えていないことを確認するため，10 % S9 mix を用いた陰性対照試験を同時に実施した．

以下の陽性対照物質についても同様の方法により実施した．なお，S9 mix を共存させる場合の陽性対照試験は，30 % S9 mix を用いて行った追加試験においても，通常の 10 % S9 mix で実施した．

菌　株	S9 mix 非共存下 (μg/プレート)		S9 mix 共存下 (μg/プレート)		添 加 量 (mL/プレート)
TA98	AF-2	0.1	2-AA	0.5	0.1
TA100	AF-2	0.01	2-AA	1	0.1
TA1535	NaN_3	0.5	2-AA	2	0.1
TA1537	9-AA	80	2-AA	2	0.1
WP2*uvrA*	ENNG	2	2-AA	10	0.1

5.4 無菌試験

最高用量の被験物質溶液または S9 mix をトップアガーと混和し，最少グルコース寒天平板培地上に重層し，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 の有無によらず，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．被験物質が陽性と判定された場合は，比活性(被験物質 1 mg あたりの誘発復帰変異コロニー数)を算出した．試験結果の判定には統計学的手法は用いなかった．

結　果

試験の結果を表 1 ~ 11 および図 1 ~ 21 に示す.

予備試験を 5000 ~ 1.22 μg/プレート(公比 4)の 7 用量で実施した結果，TA100, TA1535, WP2*uvrA* の 5000 μg/プレートで菌の生育阻害が認められたため，本試験では 5000 ~ 78.1 μg/プレート(公比 2)の範囲で 5 ~ 7 用量を設定した.

本試験 1 では S9 mix の有無によらず，いずれの菌株においても陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかったが，本試験 2 では S9 mix 共存下の TA100, TA98 で陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加が認められた．従って，再現性の得られなかった S9 mix 共存下の TA100, TA98 について 5000 ~ 9.77 μg/プレート(公比 2)の 10 用量を設定し，確認試験を実施した．その結果，TA100, TA98 のいずれにおいても陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．また，本試験 1, 2 では S9 mix 非共存下および共存下の TA100, TA1535, WP2*uvrA* の 5000 μg/プレートで，確認試験では TA100 の 2500 μg/プレート以上および TA98 の 5000 μg/プレートでそれぞれ菌の生育阻害が認められた.

S9 mix 共存下の TA100, TA98 では明確な結論が得られなかったため，S9 mix 中の S9 濃度を 30 %にして，5000 ~ 78.1 μg/プレート(公比 2)の 7 用量を設定し，追加試験を実施した．その結果，追加試験 1 では TA98 で陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加が認められたが，追加試験 2 では TA100, TA98 のいずれにおいても陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．従って，再現性が得られなかった TA98 について同じ用量で追加試験 3 を実施した．その結果，追加試験 2 と同様に，陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．また，追加試験 3 の TA98 の 5000 μg/プレートで菌の生育阻害が認められた.

追加試験 1 ~ 3 においても明確な結論が得られなかったが，これらの追加試験で TA100, TA98 が示した復帰変異コロニー数は，陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示さない場合においても常に 2 倍近くまで増加していた．このため，さらに等差により 1000 ~ 100 μg/プレートの 10 用量を設定して追加試験 4 を実施し，この結果をもとに 1000 ~ 100 μg/プレートの 10 用量で追加試験 5, 6 を実施した．追加試験 5 の結果，TA100 で陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加が認められ，さらに追加試験 6 においても TA100 で

陰性(溶媒)対照値の2倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加が認められた.

なお，通常のS9 mix(10 % S9 mix)では用量間隔を狭めた条件で試験を実施していなかったため，追加試験5, 6では10 % S9 mixについても同用量で試験を実施したが，TA100, TA98のいずれにおいても陰性(溶媒)対照値の2倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．また，TA1535, WP2*uvrA*, TA1537では，いずれの試験においても陰性(溶媒)対照値の2倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった.

S9 mix非共存下では313 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ以上で，共存下ではS9濃度10 %，30 %のいずれの場合においても1250 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ以上で沈殿物が認められた.

本被験物質が示した最大比活性値は，S9 mix共存下(30 % S9 mix)のTA100が追加試験6の200 μg/ﾌﾟﾚｰﾄで示した7.30×10^2であった.

考 察 お よ び 結 論

試験施設における陰性(溶媒)対照値および陽性対照値の背景データを添付資料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背景データより算出した適正値の範囲内であったこと，またS9 mix非共存下および共存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．なお，追加試験において30 % S9 mixを用いて試験を行ったが，30 % S9 mixでの陰性(溶媒)対照値は，同時に実施した10 % S9 mixでの陰性(溶媒)対照値と比較して大きな差は認められず，適正値の範囲内であった.

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，試験の成立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.

以上の結果から，ジイソシアナトトルエンは細菌を用いる復帰突然変異試験において，S9 mix中のS9濃度を30 %にした条件下で変異原性を有する(陽性)と結論した.

なお，同物質および類似化合物の細菌を用いる復帰突然変異試験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　：　ジイソシアナトトルエン　（No.8L666）

試験実施期間		1999年　2月　23日　より　1999年　2月　26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*	TA98	TA1537
S 9 mix（－）	陰性対照	119	12	27	29	6
	1.22	116	8	22	30	8
	4.88	139	10	29	21	5
	19.5	130	7	38	22	6
	78.1	125	7	26	26	5
	313†	137	7	23	29	7
	1250†	106	6	26	28	8
	5000†	18*	0*	20*	23	7
S 9 mix（＋）	陰性対照	132	12	40	37	18
	1.22	122	11	31	32	16
	4.88	122	9	37	42	14
	19.5	152	7	20	53	14
	78.1	186	8	27	48	18
	313	193	16	28	36	12
	1250†	147	7	31	50	18
	5000†	21*	3*	21*	26	11
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	476	355	571	484	461
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	10	0.5	2
	コロニー数/プレート	738	192	1454	374	117

（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，　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　2

試験結果表（本試験１）

被験物質の名称　：　ジイソシアナトトルエン　（No.8L666）

試験実施期間		1999年　3月　1日　より　1999年　3月　4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*	TA98	TA1537
S 9 mix (－)	陰性対照	107 120 (109) 100 (± 10)	13 12 (12) 10 (± 2)	17 20 (18) 18 (± 2)	16 17 (16) 15 (± 1)	10 10 (10) 9 (± 1)
	78.1	138 137 (131) 118 (± 11)	9 8 (8) 8 (± 1)			
	156	142 124 (135) 140 (± 10)	9 9 (8) 7 (± 1)	16 23 (22) 26 (± 5)		
	313†	127 144 (123) 97 (± 24)	8 13 (9) 7 (± 3)	25 18 (19) 14 (± 6)	15 14 (16) 20 (± 3)	6 8 (7) 7 (± 1)
	625†	145 117 (126) 116 (± 16)	10 9 (9) 8 (± 1)	20 29 (23) 21 (± 5)	13 26 (19) 17 (± 7)	9 7 (8) 9 (± 1)
	1250†	135 131 (137) 144 (± 7)	6 10 (7) 4 (± 3)	15 14 (17) 22 (± 4)	18 17 (16) 13 (± 3)	7 9 (7) 4 (± 3)
	2500†	92 101 (101) 110 (± 9)	7 12 (9) 7 (± 3)	18 27 (21) 19 (± 5)	21 17 (17) 12 (± 5)	4 6 (6) 7 (± 2)
	5000†	0* 0* (0) 0* (± 0)	7* 4* (5) 5* (± 2)	13* 15* (19) 29* (± 9)	13 17 (17) 20 (± 4)	5 11 (7) 6 (± 3)
S 9 mix (＋)	陰性対照	103 106 (102) 98 (± 4)	10 9 (10) 10 (± 1)	17 26 (23) 26 (± 5)	25 29 (28) 29 (± 2)	9 16 (15) 19 (± 5)
	78.1	173 176 (173) 169 (± 4)	13 11 (11) 10 (± 2)			
	156	185 187 (179) 166 (± 12)	8 12 (9) 8 (± 2)	29 31 (29) 26 (± 3)		
	313	152 136 (158) 187 (± 26)	16 9 (11) 8 (± 4)	31 30 (28) 22 (± 5)	52 35 (38) 28 (± 12)	24 12 (17) 15 (± 6)
	625	199 189 (188) 175 (± 12)	15 8 (11) 9 (± 4)	32 26 (29) 28 (± 3)	44 32 (40) 44 (± 7)	16 10 (15) 18 (± 4)
	1250†	176 132 (151) 145 (± 23)	12 7 (8) 5 (± 4)	35 22 (32) 40 (± 9)	45 44 (41) 33 (± 7)	16 13 (14) 12 (± 2)
	2500†	168 150 (167) 183 (± 17)	8 12 (9) 6 (± 3)	34 22 (30) 33 (± 7)	27 32 (33) 41 (± 7)	8 16 (13) 16 (± 5)
	5000†	0* 0* (0) 0* (± 0)	2* 9* (5) 3* (± 4)	33* 39* (33) 26* (± 7)	21 22 (24) 30 (± 5)	9 9 (10) 13 (± 2)
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	542 582 (552) 533 (± 26)	318 336 (336) 355 (± 19)	756 740 (746) 743 (± 9)	464 446 (439) 407 (± 29)	340 336 (346) 363 (± 15)
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	10	0.5	2
	コロニー数/プレート	841 830 (836) 837 (± 6)	153 184 (167) 164 (± 16)	1377 1394 (1406) 1448 (± 37)	445 404 (430) 440 (± 22)	166 141 (150) 142 (± 14)

（備考）＊：菌の生育阻害が認められた．　（平均値）
†：沈殿物が認められた．　（±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　：　ジイソシアナトトルエン　（No.8L666）

試験実施期間		1999年 3月 15日 より 1999年 3月 18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*	TA98	TA1537
S 9 mix (−)	陰性対照	96 92 (90) 83 (±7)	11 11 (11) 10 (±1)	16 23 (22) 28 (±6)	19 15 (16) 15 (±2)	5 11 (7) 5 (±3)
	78.1	95 82 (90) 92 (±7)	6 10 (9) 11 (±3)			
	156	114 96 (98) 85 (±15)	10 6 (8) 7 (±2)	23 30 (27) 29 (±4)		
	313†	91 87 (89) 89 (±2)	9 6 (7) 6 (±2)	33 19 (26) 25 (±7)	25 16 (19) 17 (±5)	7 6 (6) 5 (±1)
	625†	97 104 (100) 98 (±4)	5 4 (6) 9 (±3)	21 21 (23) 28 (±4)	23 21 (21) 20 (±2)	9 9 (9) 9 (±0)
	1250†	98 70 (82) 77 (±15)	6 4 (6) 7 (±2)	22 22 (22) 23 (±1)	19 25 (20) 17 (±4)	6 7 (7) 8 (±1)
	2500†	76 90 (83) 83 (±7)	14 7 (11) 11 (±4)	24 22 (24) 27 (±3)	15 16 (17) 20 (±3)	9 8 (8) 7 (±1)
	5000†	71* 68* (71) 75* (±4)	9* 7* (8) 7* (±1)	15* 16* (17) 20* (±3)	15 14 (15) 17 (±2)	5 7 (6) 7 (±1)
S 9 mix (＋)	陰性対照	91 94 (90) 85 (±5)	11 8 (9) 8 (±2)	32 25 (26) 22 (±5)	34 30 (30) 25 (±5)	10 12 (10) 9 (±2)
	78.1	197 179 (199) 220 (±21)	12 10 (12) 15 (±3)			
	156	202 227 (217) 221 (±13)	13 12 (11) 9 (±2)	38 45 (41) 41 (±4)		
	313	196 204 (192) 177 (±14)	14 9 (11) 11 (±3)	30 30 (29) 26 (±2)	54 65 (60) 60 (±6)	10 22 (14) 10 (±7)
	625	152 164 (162) 171 (±10)	6 11 (8) 7 (±3)	31 27 (30) 31 (±2)	53 56 (51) 45 (±6)	14 13 (12) 9 (±3)
	1250†	140 166 (161) 176 (±19)	6 15 (9) 6 (±5)	40 38 (41) 44 (±3)	31 48 (43) 49 (±10)	10 13 (11) 11 (±2)
	2500†	161 205 (168) 137 (±34)	10 7 (8) 7 (±2)	37 28 (32) 32 (±5)	32 33 (32) 31 (±1)	9 13 (10) 9 (±2)
	5000†	193* 165* (182) 188* (±15)	11* 5* (8) 8* (±3)	25* 30* (30) 34* (±5)	34 30 (30) 25 (±5)	11 13 (12) 13 (±1)
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	458 470 (459) 449 (±11)	392 377 (378) 366 (±13)	753 751 (715) 640 (±65)	579 566 (558) 530 (±25)	305 324 (300) 271 (±27)
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	10	0.5	2
	コロニー数/プレート	755 760 (752) 741 (±10)	173 192 (180) 174 (±11)	1273 1240 (1270) 1297 (±29)	427 426 (421) 410 (±10)	271 221 (240) 229 (±27)

（備考）＊：菌の生育阻害が認められた．　（平均値）
†：沈殿物が認められた．　（±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　4

試験結果表（確認試験）

被験物質の名称　：　ジイソシアナトトルエン　(No.8L666)

試験実施期間		1999年 3月 23日 より 1999年 3月 26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			TA98	
S 9 mix (−)	陰性対照	103 106 (101) 95 (± 6)			27 25 (26) 27 (± 1)	
S 9 mix (+)	陰性対照	135 108 (113) 96 (± 20)			37 28 (34) 37 (± 5)	
	9.77	138 158 (146) 142 (± 11)			31 34 (32) 32 (± 2)	
	19.5	170 137 (152) 149 (± 17)			39 41 (38) 35 (± 3)	
	39.1	177 165 (168) 163 (± 8)			33 30 (31) 30 (± 2)	
	78.1	175 201 (183) 172 (± 16)			33 37 (36) 37 (± 2)	
	156	184 174 (186) 199 (± 13)			38 38 (39) 41 (± 2)	
	313	162 140 (155) 162 (± 13)			43 49 (43) 38 (± 6)	
	625	150 154 (147) 137 (± 9)			38 37 (32) 22 (± 9)	
	1250†	127 86 (111) 119 (± 22)			36 27 (30) 28 (± 5)	
	2500†	0* 0* (0) 0* (± 0)			22 26 (25) 28 (± 3)	
	5000†	0* 0* (0) 0* (± 0)			0* 0* (0) 0* (± 0)	
陽性対照 S9 mix を必要としないもの	名称	AF-2			AF-2	
	用量 (μg/プレート)	0.01			0.1	
	コロニー数/プレート	455 463 (443) 412 (± 27)			365 374 (373) 380 (± 8)	
陽性対照 S9 mix を必要とするもの	名称	2-AA			2-AA	
	用量 (μg/プレート)	1			0.5	
	コロニー数/プレート	833 818 (819) 806 (± 14)			415 410 (401) 379 (± 20)	

(備考) *：菌の生育阻害が認められた.　　(平均値)
†：沈殿物が認められた.　　(±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　5

試験結果表（追加試験１）

被験物質の名称　：　ジイソシアナトトルエン　（No.8L666）

試験実施期間			1999年　7月　20日　より　1999年　7月　23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			TA98		
S9 mix（－）		陰性対照	106 119　（119） 131　（± 13）			23 17　（19） 16　（± 4）		
S9 mix（＋）		*1 陰性対照	110 123　（112） 104　（± 10）			30 23　（27） 28　（± 4）		
*2 S9 mix（＋）		陰性対照	138 111　（125） 126　（± 14）			31 27　（27） 24　（± 4）		
		78.1	204 189　（184） 160　（± 22）			42 38　（42） 47　（± 5）		
		156	187 168　（185） 199　（± 16）			39 40　（41） 44　（± 3）		
		313	237 219　（227） 225　（± 9）			47 43　（48） 55　（± 6）		
		625	225 240　（234） 238　（± 8）			56 48　（52） 52　（± 4）		
		1250†	194 215　（206） 208　（± 11）			37 40　（41） 45　（± 4）		
		2500†	193 154　（175） 179　（± 20）			42 42　（43） 45　（± 2）		
		5000†	138 118　（124） 116　（± 12）			44 26　（33） 30　（± 9）		
陽性対照	S9 mixを必要としないもの	名称	AF-2			AF-2		
		用量（μg/プレート）	0.01			0.1		
		コロニー数/プレート	485 499　（488） 480　（± 10）			474 443　（451） 436　（± 20）		
	S9 mixを必要とするもの	名称	*3 2-AA			*3 2-AA		
		用量（μg/プレート）	1			0.5		
		コロニー数/プレート	1345 1401　（1379） 1391　（± 30）			569 638　（610） 623　（± 36）		

（備考）†：沈殿物が認められた．

（平均値）
（±標準偏差）

AF-2　：2-(2-ﾌﾘﾙ)-3-(5-ﾆﾄﾛ-2-ﾌﾘﾙ)ｱｸﾘﾙｱﾐﾄﾞ，　2-AA：2-ｱﾐﾉｱﾝﾄﾗｾﾝ

＊1：参考データとしてS9 mix (10%)での陰性（溶媒）対照値を記載した．

＊2：S9 mix (30%)を用いた試験結果．

＊3：S9 mix共存下の陽性対照試験はS9 mix (10%)で実施した．

表　6

試験結果表（追加試験２）

被験物質の名称　：　ジイソシアナトトルエン　（No.8L666）

試験実施期間		1999年　7月　27日　より　1999年　7月　30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			TA98	
S 9 mix（－）	陰性対照	125 109　(118) 120　(± 8)			18 20　(18) 17　(± 2)	
S 9 mix（＋）	*1 陰性対照	146 126　(138) 142　(± 11)			26 27　(27) 29　(± 2)	
*2 S 9 mix（＋）	陰性対照	127 109　(116) 111　(± 10)			25 21　(23) 24　(± 2)	
	78.1	184 204　(185) 166　(± 19)			45 40　(42) 41　(± 3)	
	156	178 174　(183) 198　(± 13)			40 44　(41) 39　(± 3)	
	313	200 189　(208) 236　(± 25)			49 64　(56) 55　(± 8)	
	625	227 219　(224) 225　(± 4)			51 36　(45) 47　(± 8)	
	1250†	215 172　(186) 170　(± 25)			49 41　(44) 41　(± 5)	
	2500†	134 142　(143) 153　(± 10)			34 57　(41) 32　(± 14)	
	5000†	124 99　(103) 85　(± 20)			33 47　(40) 41　(± 7)	
陽性対照 S9 mix を必要としないもの	名称	AF-2			AF-2	
	用量（μg/プレート）	0.01			0.1	
	コロニー数/プレート	595 623　(598) 577　(± 23)			433 462　(432) 401　(± 31)	
陽性対照 S9 mix を必要とするもの	名称	*3 2-AA			*3 2-AA	
	用量（μg/プレート）	1			0.5	
	コロニー数/プレート	1428 1470　(1487) 1564　(± 70)			654 624　(637) 633　(± 15)	

（備考）†：沈殿物が認められた．

（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，　2-AA：2-アミノアントラセン

＊１：参考データとして S9 mix (10%)での陰性（溶媒）対照値を記載した．

＊２：S9 mix (30%)を用いた試験結果．

＊３：S9 mix 共存下の陽性対照試験は S9 mix (10%)で実施した．

表　7

試験結果表（追加試験３）

被験物質の名称　：　ジイソシアナトトルエン　（No.8L666）

試験実施期間		1999年　8月　2日　より　1999年　8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	
					TA98	
S 9 mix（－）	陰性対照				25 28　（　25） 21　（± 4）	
S 9 mix（＋）	*1 陰性対照				22 24　（　24） 26　（± 2）	
*2 S 9 mix（＋）	陰性対照				28 27　（　31） 37　（± 6）	
	78.1				30 37　（　34） 35　（± 4）	
	156				40 39　（　39） 37　（± 2）	
	313				44 50　（　45） 41　（± 5）	
	625				40 35　（　41） 49　（± 7）	
	1250†				39 41　（　39） 38　（± 2）	
	2500†				15 21　（　19） 22　（± 4）	
	5000†				12* 10*　（　12） 13*　（± 2）	
陽性対照　S9 mix を必要としないもの	名称				AF-2	
	用量（μg/プレート）				0.1	
	コロニー数/プレート				415 402　（426） 460　（± 30）	
陽性対照　S9 mix を必要とするもの	名称				*3 2-AA	
	用量（μg/プレート）				0.5	
	コロニー数/プレート				614 650　（639） 653　（± 22）	

（備考）＊：菌の生育阻害が認められた．　（平均値）
†：沈殿物が認められた．　（±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，　2-AA：2-アミノアントラセン

＊１：参考データとして S9 mix (10%)での陰性（溶媒）対照値を記載した．

＊２：S9 mix (30%)を用いた試験結果．

＊３：S9 mix 共存下の陽性対照試験は S9 mix (10%)で実施した．

表　8

試験結果表（追加試験４）

被験物質の名称　：　ジイソシアナトトルエン　　(No.8L666)

試験実施期間		1999年　8月　23日　より　1999年　8月　26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			TA98		
			S9(10%)	S9(30%)		S9(10%)	S9(30%)
S 9 mix (－)	陰性対照	101 105　(103)			19 15　(17)		
S 9 mix (＋)	陰性対照		108 106　(107)	100 105　(103)		22 18　(20)	34 29　(32)
	１００		144	144		35	35
	２００		146	189		37	51
	３００		129	211		24	38
	４００		114	202		30	51
	５００		125	194		22	47
	６００		101	242		30	30
	７００		144	212		31	34
	８００		108	210		26	41
	９００		123	253		26	41
	１０００		134	223		25	49
陽性対照 S9 mix を必要としないもの	名称	AF-2			AF-2		
	用量 (μg/ﾌﾟﾚｰﾄ)	0.01			0.1		
	ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	524			484		
陽性対照 S9 mix を必要とするもの	名称		* 2-AA			* 2-AA	
	用量 (μg/ﾌﾟﾚｰﾄ)		1			0.5	
	ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ		1145			575	

（備　考）

AF-2　：2-(2-ﾌﾘﾙ)-3-(5-ﾆﾄﾛ-2-ﾌﾘﾙ)ｱｸﾘﾙｱﾐﾄﾞ，　2-AA：2-ｱﾐﾉｱﾝﾄﾗｾﾝ

＊：S9 mix 共存下の陽性対照試験は S9 mix (10%)で実施したものを共通で使用した．

表　9

試験結果表（追加試験5）

被験物質の名称　：　ジイソシアナトトルエン　(No.8L666)

試験実施期間		1999年 8月 31日 より 1999年 9月 3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			TA98		
			S9(10%)	S9(30%)		S9(10%)	S9(30%)
S 9 mix (－)	陰性対照	106 100 (103) 102 (± 3)			26 24 (26) 29 (± 3)		
S 9 mix (＋)	陰性対照		118 111 (111) 105 (± 7)	100 106 (104) 107 (± 4)		38 28 (35) 40 (± 6)	37 39 (38) 39 (± 1)
	100		161 151 (157) 158 (± 5)	185 167 (170) 159 (± 13)		39 49 (45) 48 (± 6)	47 52 (46) 40 (± 6)
	200		175 126 (148) 143 (± 25)	185 226 (212) 224 (± 23)		42 40 (44) 50 (± 5)	47 60 (57) 63 (± 9)
	300		132 153 (147) 156 (± 13)	215 214 (214) 213 (± 1)		39 42 (42) 46 (± 4)	55 62 (59) 60 (± 4)
	400		141 131 (129) 115 (± 13)	224 211 (233) 264 (± 28)		28 41 (36) 40 (± 7)	62 57 (58) 55 (± 4)
	500		142 143 (139) 131 (± 7)	234 226 (237) 251 (± 13)		35 31 (37) 45 (± 7)	40 43 (44) 49 (± 5)
	600		126 133 (139) 159 (± 17)	243 270 (252) 244 (± 15)		29 56 (44) 47 (± 14)	50 50 (46) 38 (± 7)
	700		140 135 (139) 141 (± 3)	222 243 (242) 260 (± 19)		42 51 (44) 39 (± 6)	50 49 (51) 54 (± 3)
	800		125 129 (136) 154 (± 16)	230 240 (236) 239 (± 6)		42 27 (33) 31 (± 8)	63 40 (56) 65 (+ 14)
	900		133 127 (133) 139 (± 6)	211 224 (223) 234 (± 12)		40 27 (36) 40 (± 8)	61 56 (58) 57 (± 3)
	1000		148 145 (146) 144 (± 2)	243 254 (243) 233 (± 11)		34 44 (42) 48 (± 7)	53 70 (55) 43 (± 14)
陽性対照 S9 mix を必要としないもの	名称	AF-2			AF-2		
	用量 (μg/プレート)	0.01			0.1		
	コロニー数/プレート	528 526 (539) 562 (± 20)			588 519 (531) 485 (± 52)		
陽性対照 S9 mix を必要とするもの	名称		* 2-AA			* 2-AA	
	用量 (μg/プレート)		1			0.5	
	コロニー数/プレート		1444 1518 (1471) 1451 (± 41)			527 578 (552) 551 (± 26)	

(備考)　(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，　2-AA：2-アミノアントラセン

＊：S9 mix 共存下の陽性対照試験は S9 mix (10%)で実施したものを共通で使用した．

表　１０

試験結果表（追加試験６）

被験物質の名称　：　ジイソシアナトトルエン　（No.8L666）

試験実施期間		1999年　9月　6日　より　1999年　9月　9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			TA98		
			S9(10%)	S9(30%)		S9(10%)	S9(30%)
S 9 mix（－）	陰性対照	103 103 (110) 125 (± 13)			27 24 (23) 18 (± 5)		
S 9 mix（＋）	陰性対照		108 97 (105) 110 (± 7)	111 106 (107) 104 (± 4)		31 23 (25) 20 (± 6)	31 36 (34) 34 (± 3)
	１００		196 164 (176) 167 (± 18)	194 207 (202) 204 (± 7)		29 37 (32) 29 (± 5)	43 49 (46) 46 (± 3)
	２００		168 176 (169) 164 (± 6)	287 246 (253) 225 (± 32)		45 37 (44) 49 (± 6)	58 57 (59) 61 (± 2)
	３００		164 153 (161) 166 (± 7)	298 293 (297) 301 (± 4)		43 49 (44) 39 (± 5)	62 78 (66) 59 (± 10)
	４００		175 145 (165) 174 (± 17)	267 316 (299) 315 (± 28)		26 47 (41) 51 (± 13)	62 59 (59) 57 (± 3)
	５００		170 157 (164) 166 (± 7)	286 297 (308) 341 (± 29)		30 29 (32) 37 (± 4)	56 66 (58) 52 (± 7)
	６００		187 181 (192) 207 (± 14)	305 308 (311) 320 (± 8)		22 28 (33) 48 (± 14)	42 51 (53) 65 (± 12)
	７００		174 202 (177) 156 (± 23)	295 284 (279) 257 (± 20)		42 34 (38) 39 (± 4)	58 57 (58) 59 (± 1)
	８００		177 193 (194) 211 (± 17)	349 383 (361) 352 (± 19)		28 37 (39) 53 (± 13)	59 51 (57) 60 (± 5)
	９００		195 189 (184) 168 (± 14)	317 299 (323) 352 (± 27)		37 30 (35) 39 (± 5)	60 51 (54) 51 (± 5)
	１０００		171 166 (179) 199 (± 18)	366 364 (355) 335 (± 17)		41 30((36) 37 (± 6)	66 46((55) 54 (± 10)
陽性対照 S9 mix を必要としないもの	名称	AF-2			AF-2		
	用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）	0.01			0.1		
	ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	459 518 (477) 455 (± 35)			404 444 (415) 398 (± 25)		
陽性対照 S9 mix を必要とするもの	名称		* 2-AA			* 2-AA	
	用量（μg/ﾌﾟﾚｰﾄ）		1			0.5	
	ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ		1368 1351 (1381) 1423 (± 38)			485 473 (484) 493 (± 10)	

（備考）　（平均値）
（±標準偏差）

AF-2　：2-(2-ﾌﾘﾙ)-3-(5-ﾆﾄﾛ-2-ﾌﾘﾙ)ｱｸﾘﾙｱﾐﾄﾞ，　2-AA：2-ｱﾐﾉｱﾝﾄﾗｾﾝ

＊：S9 mix 共存下の陽性対照試験は S9 mix (10%)で実施したものを共通で使用した．

表　１１

比活性

	菌株名	− S9 mix		+ S9 mix	
		比活性 1)	計算に用いた用量2) (μg/プレート)	比活性 1)	計算に用いた用量2) (μg/プレート)
本試験1	TA100	—	—	—	—
	TA1535	—	—	—	—
	WP2*uvrA*	—	—	—	—
	TA98	—	—	—	—
	TA1537	—	—	—	—
本試験2	TA100	—	—	1.40×10^3	78.1
	TA1535	—	—	—	—
	WP2*uvrA*	—	—	—	—
	TA98	—	—	9.58×10	313
	TA1537	—	—	—	—
確認試験	TA100			—	—
	TA98			—	—
追加1	TA100			—	—
	TA98			1.05×10^2	313
追加2	TA100			—	—
	TA98			—	—
追加3	TA98			—	—
追加5	TA100			5.40×10^2	200
	TA98			—	—
追加6	TA100			7.30×10^2	200
	TA98			—	—

1)：被験物質 1 mg あたりの誘発コロニー数

2)：本試験 1, 2，確認試験および追加試験のいずれも最大値の用量を採用した．

図　1　　（本試験　1）

被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

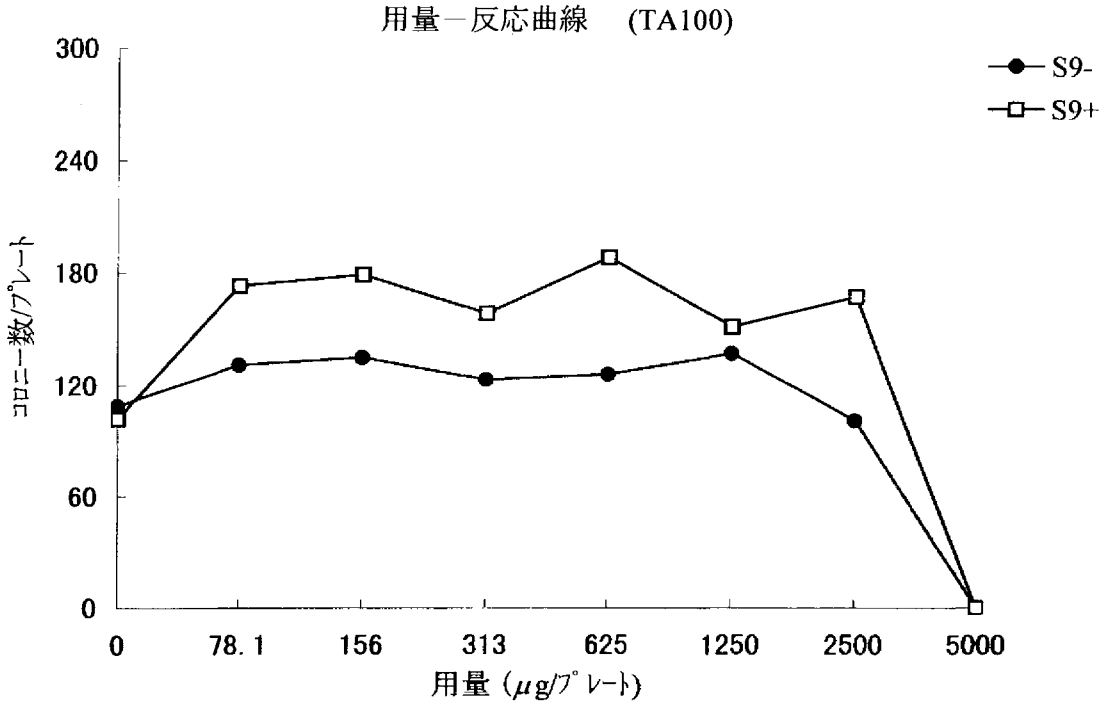


図　2　　（本試験　1）

被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

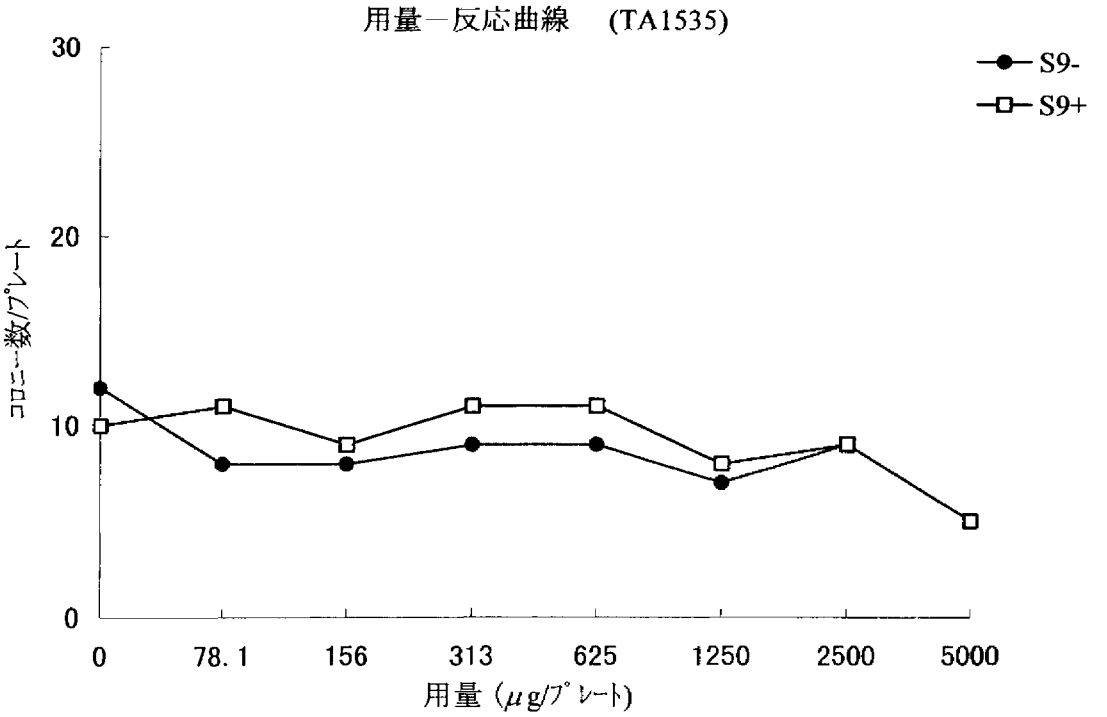


図　3　　（本試験　1）

被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

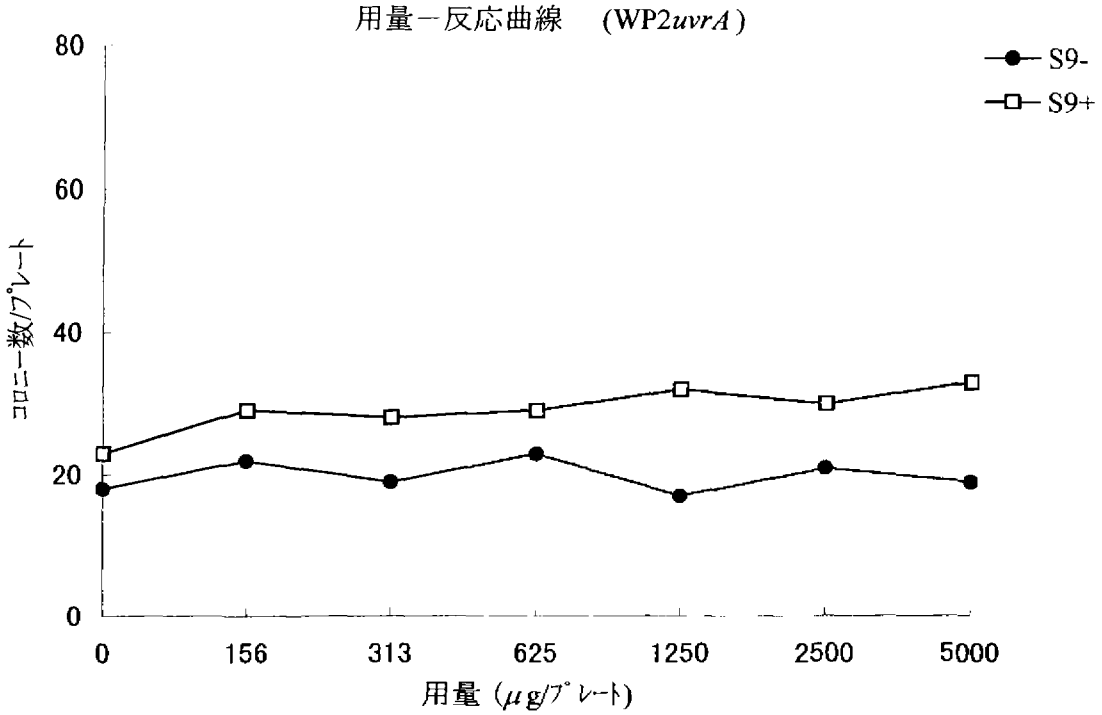


図　4　　（本試験　1）

被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

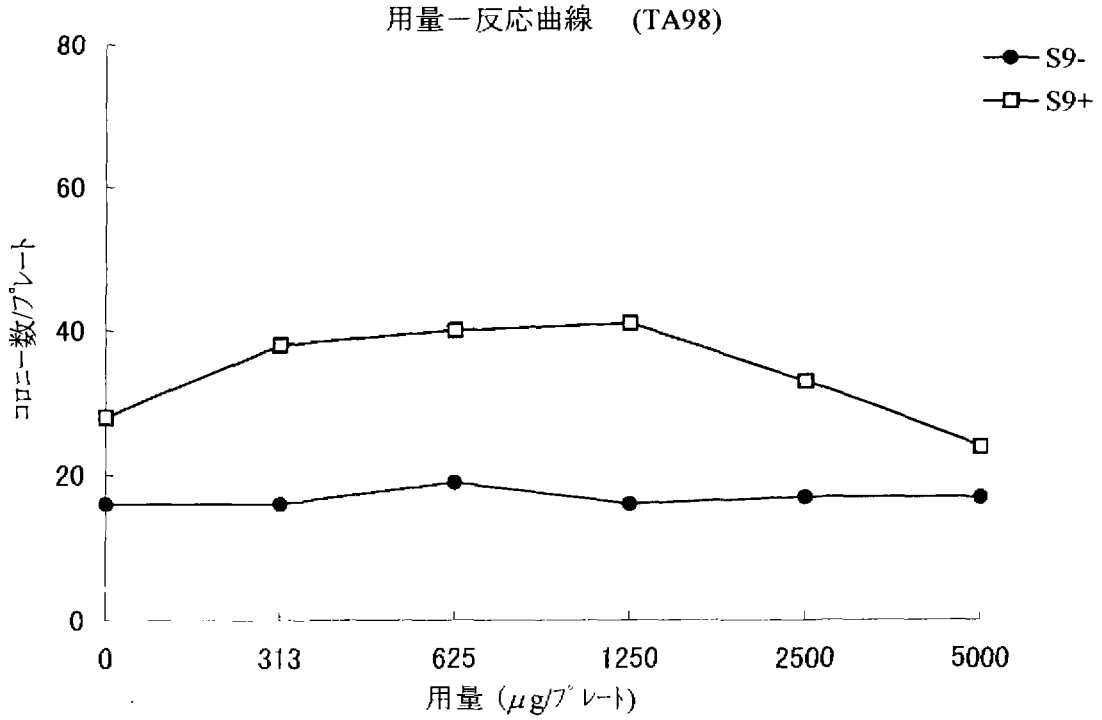


図　5　　（本試験　1）

被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

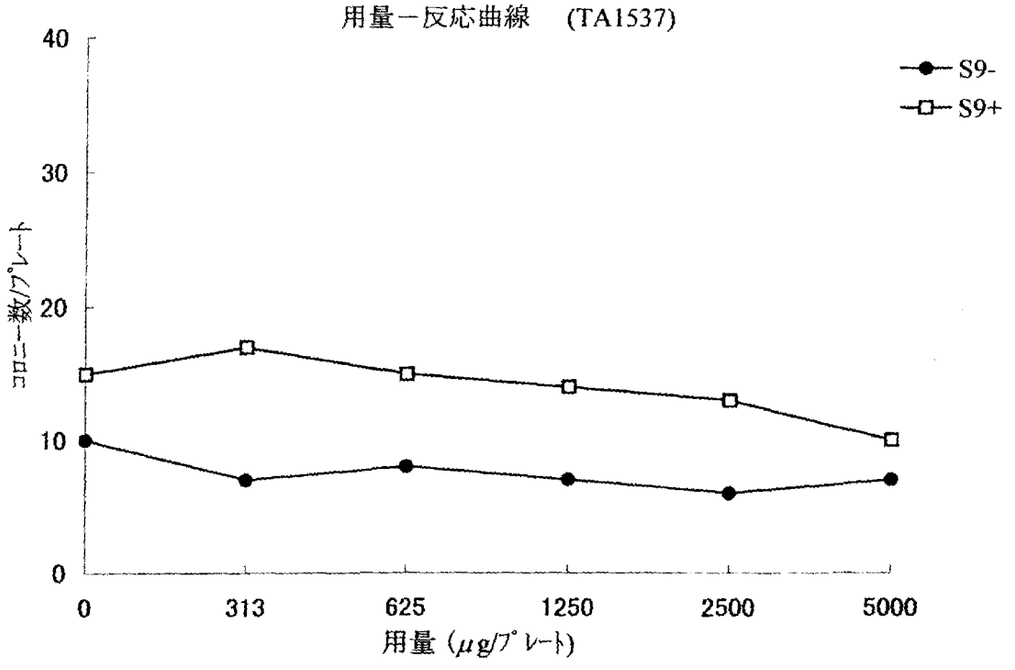


図　6　　（本試験　2）

被験物質名：　ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

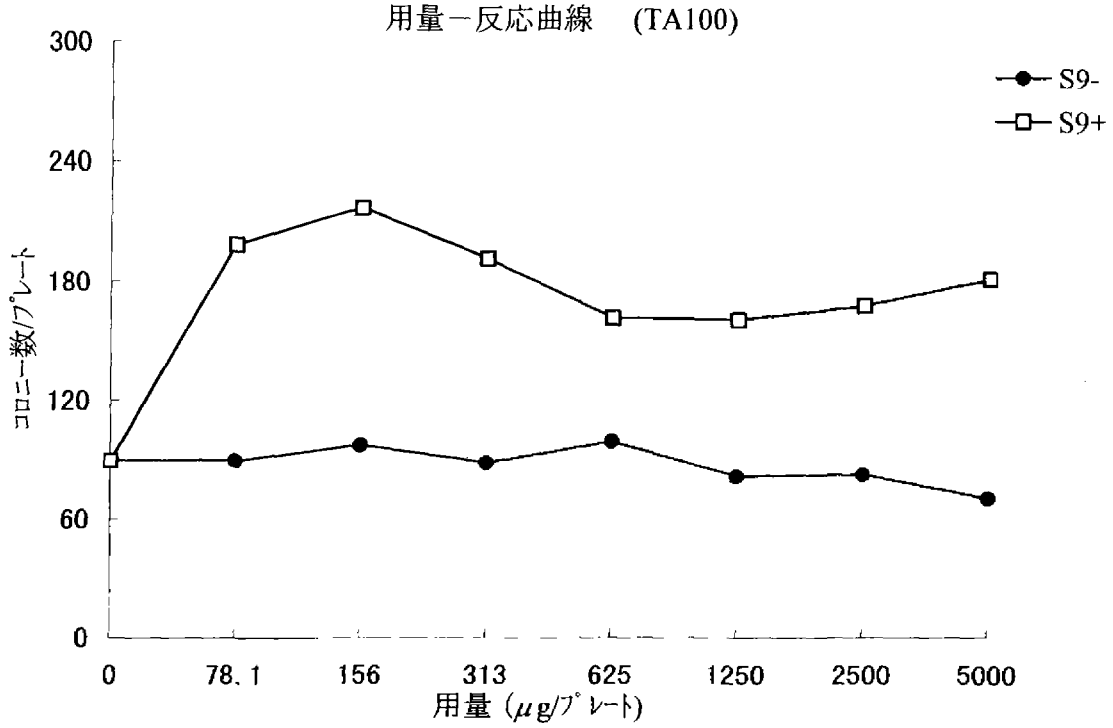


図　7　　（本試験　2）

被験物質名：　ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

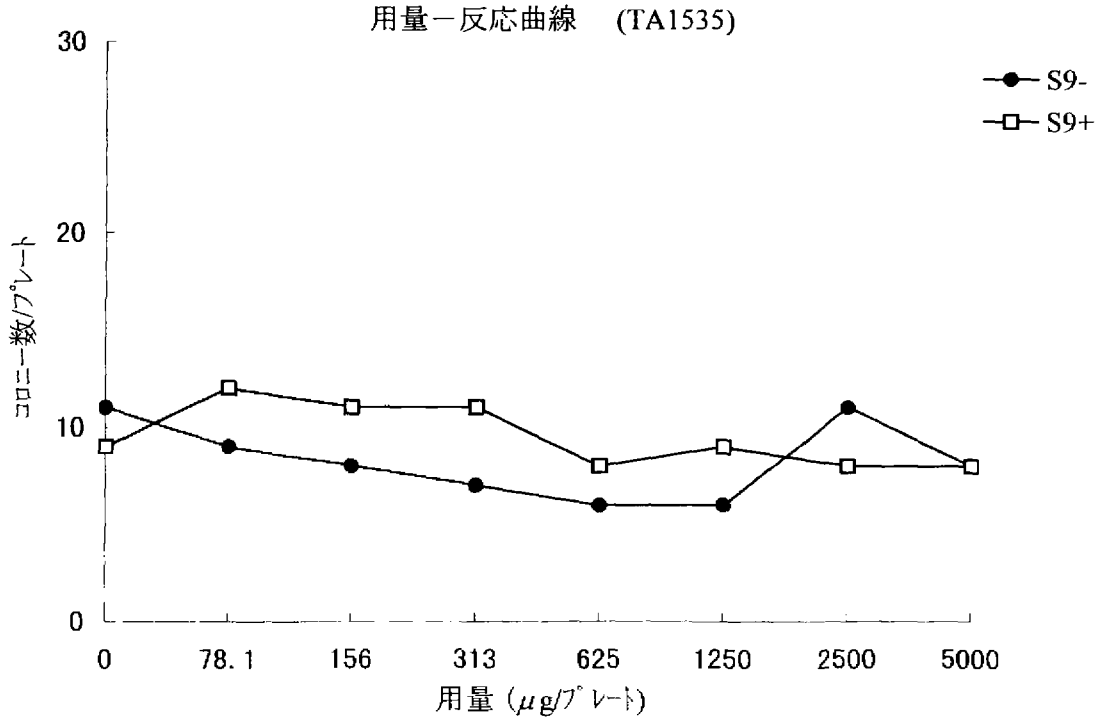


図　8　　（本試験　2）

被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

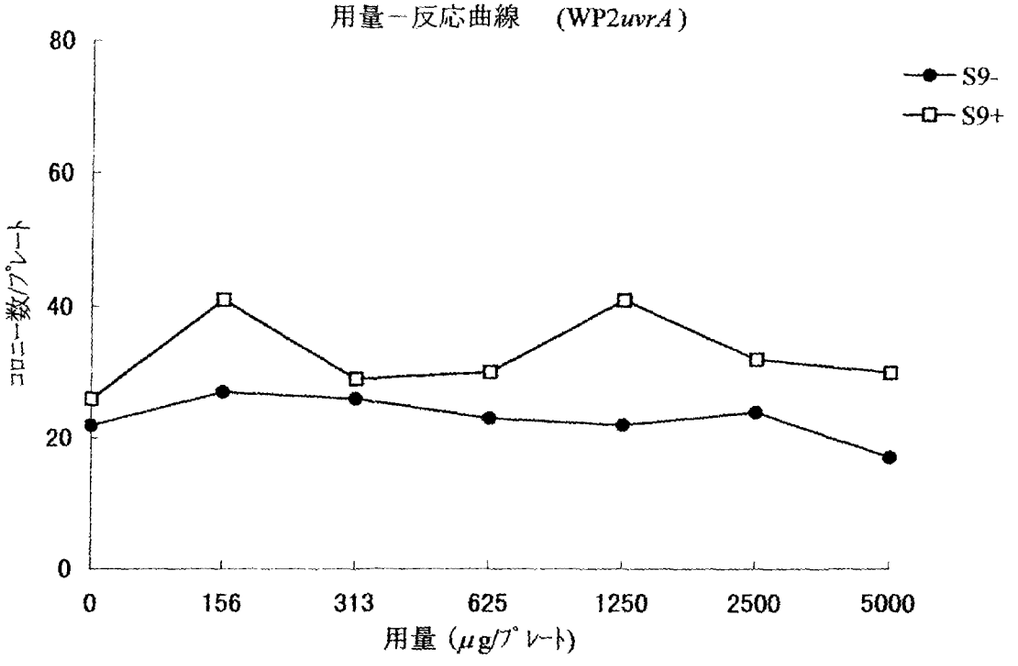


図　9　　（本試験　2）

被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

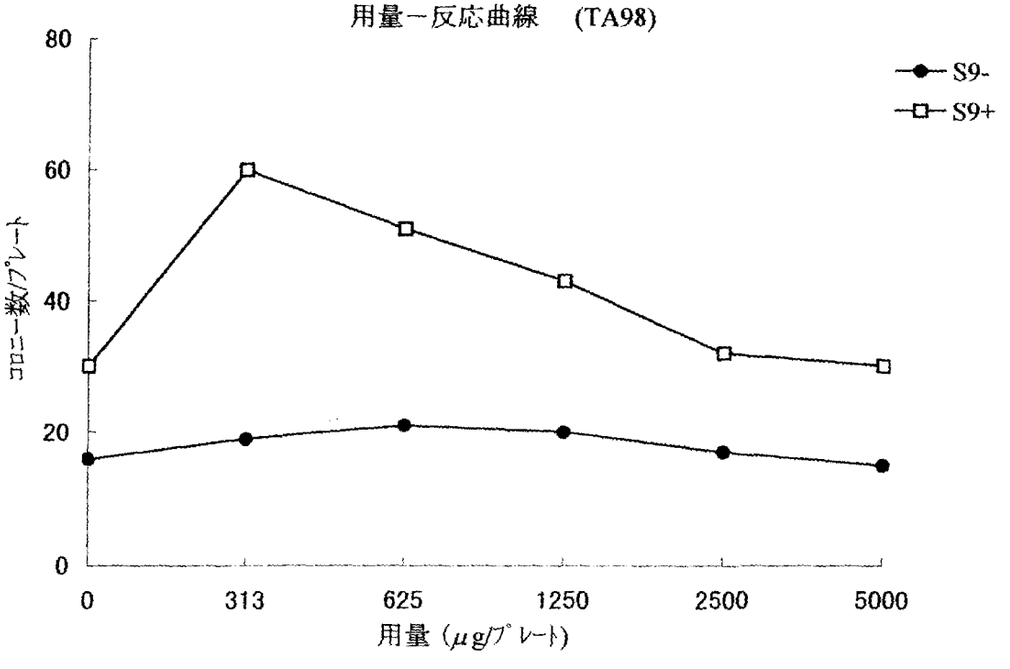


図　１０　　（本試験　２）

被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

用量－反応曲線　(TA1537)

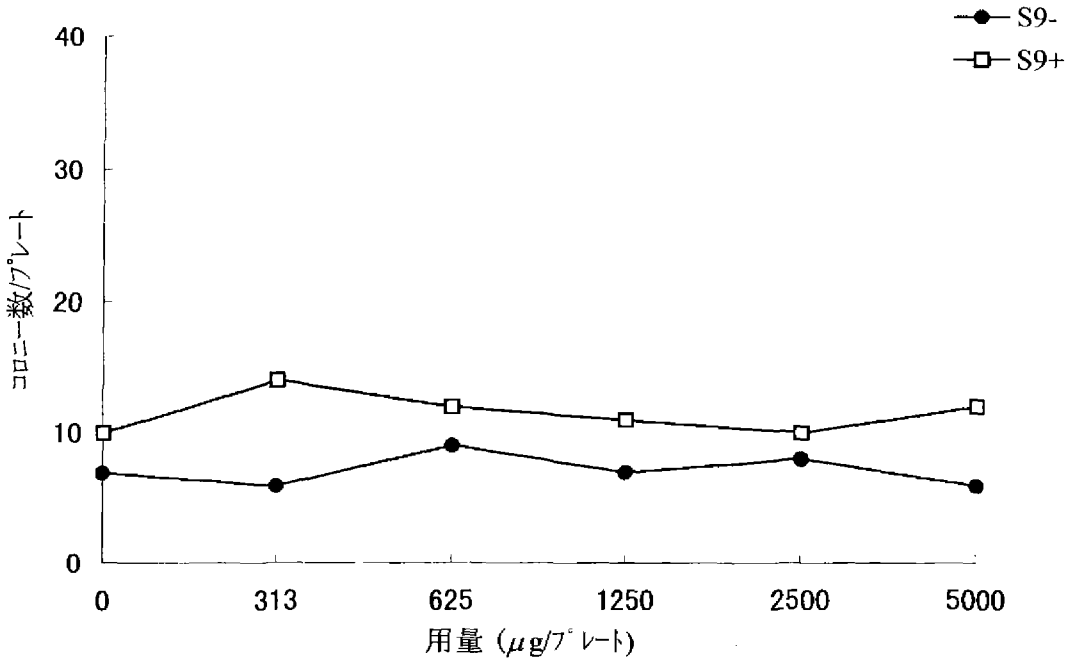


図　１１　　（確認試験）

被験物質名：　ジイソシアナトトルエン　No. 8L666

用量－反応曲線　(TA100)

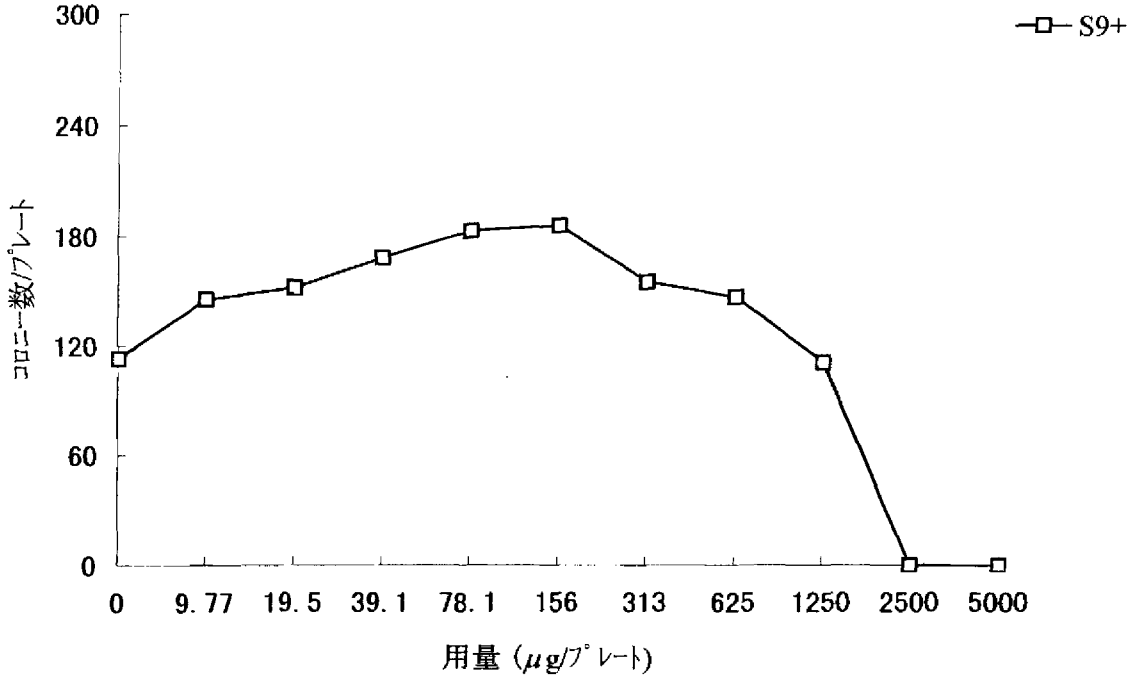


図　１２　　（確認試験）

被験物質名：　ジイソシアナトトルエン　No. 8L666

用量－反応曲線　(TA98)

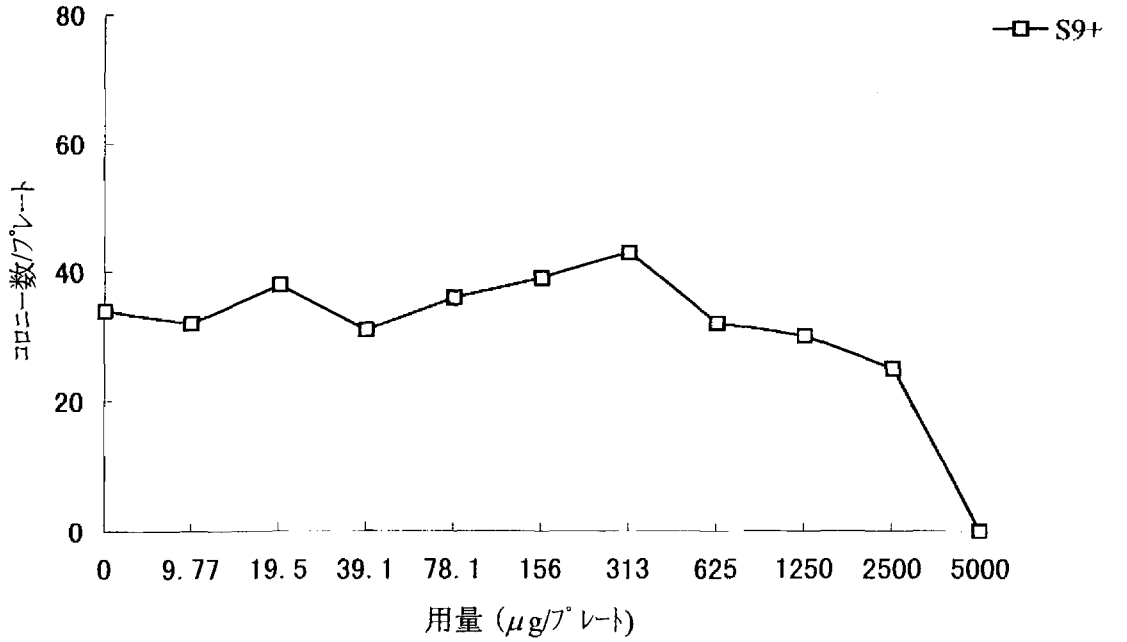


図　１３　　（追加試験　１）
被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

用量－反応曲線　(TA100)

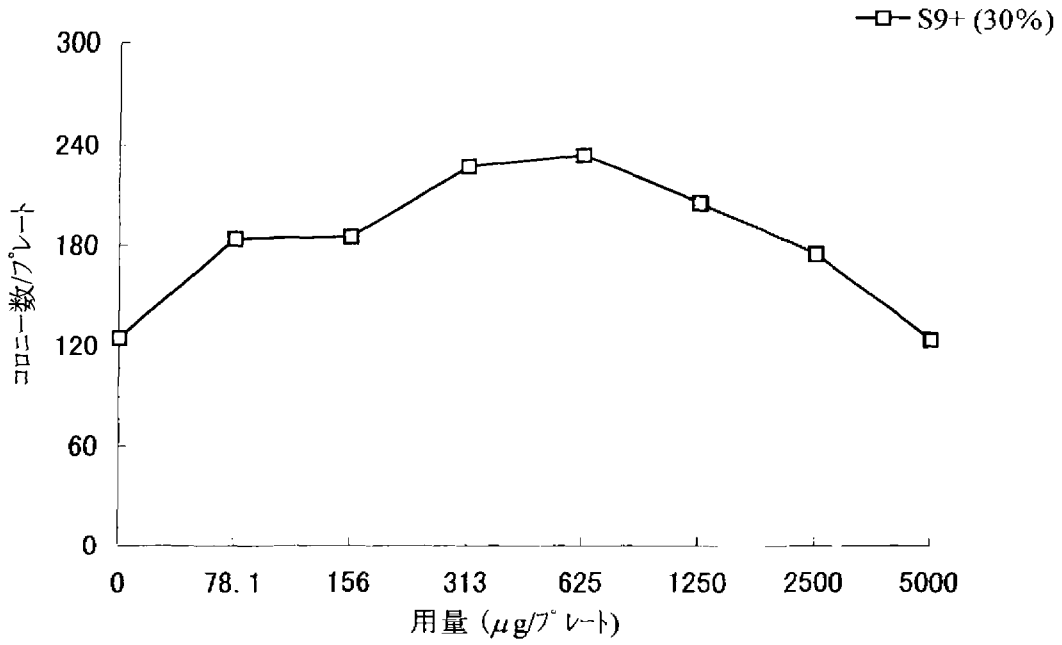


図　１４　　（追加試験　１）
被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

用量－反応曲線　(TA98)

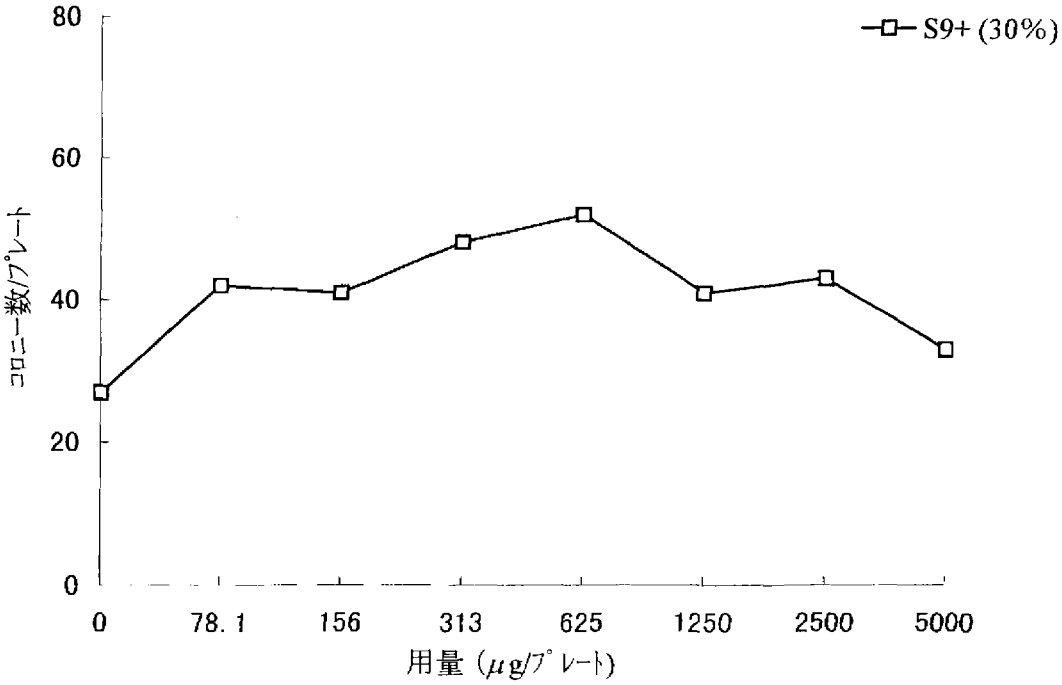


図　１５　　（追加試験　２）
被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

用量－反応曲線　(TA100)

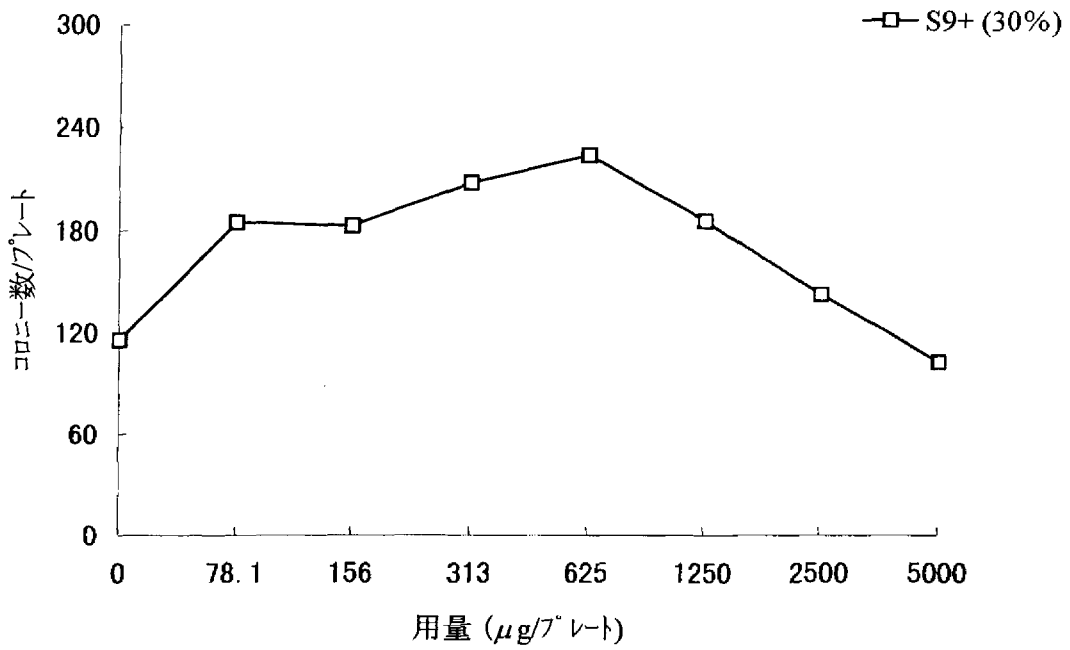


図　１６　　（追加試験　２）
被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

用量－反応曲線　(TA98)

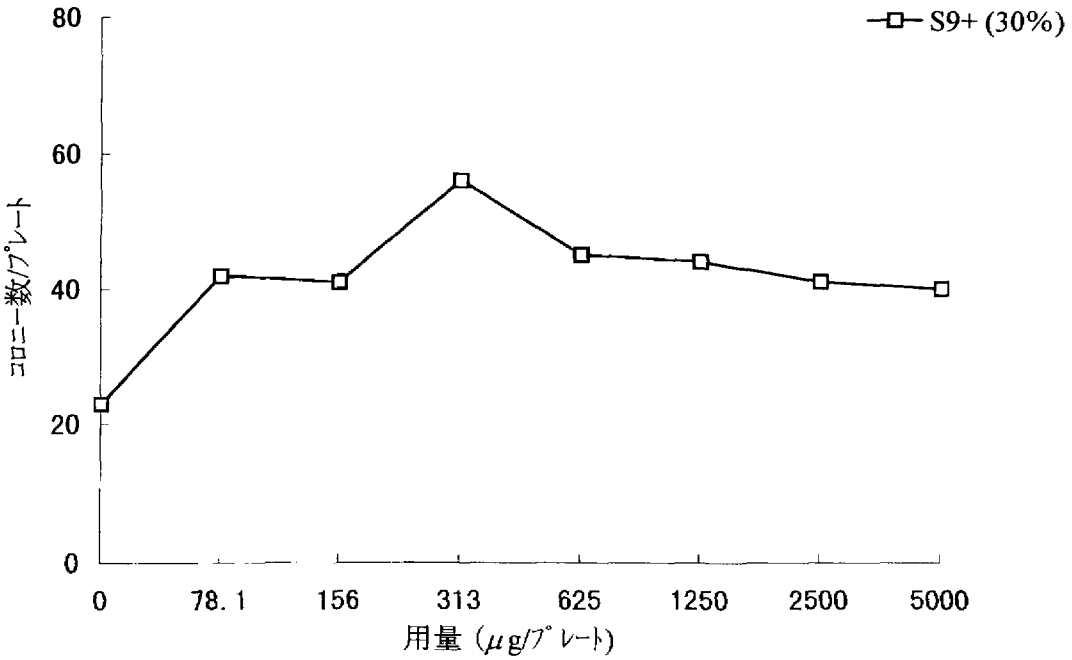


図　１７　　（追加試験　３）

被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

用量－反応曲線　(TA98)

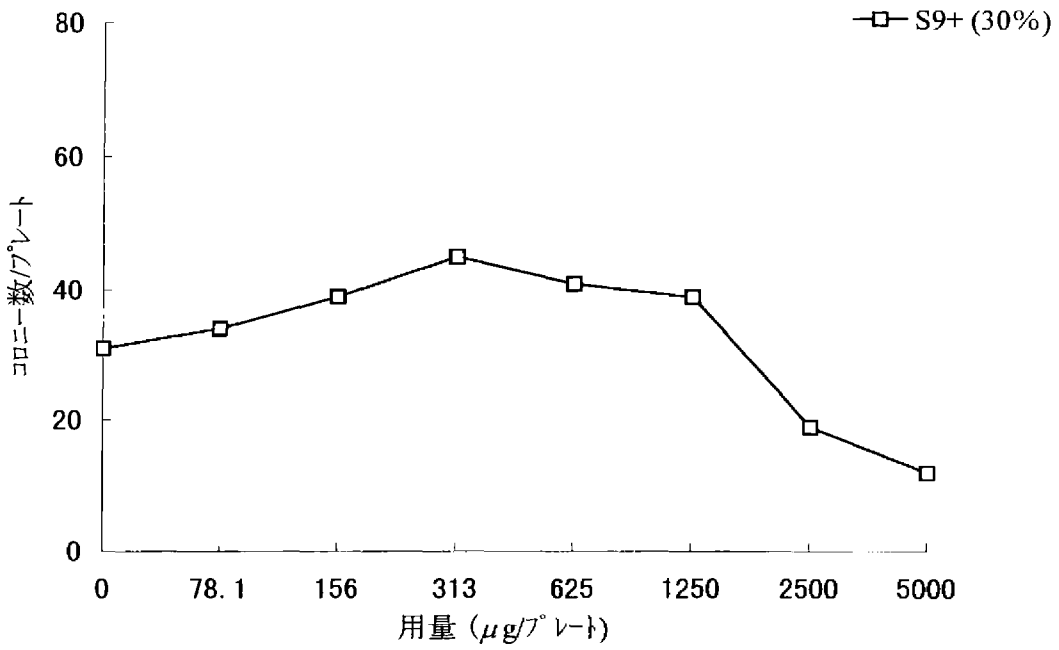


図　１８　　（追加試験　５）

被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

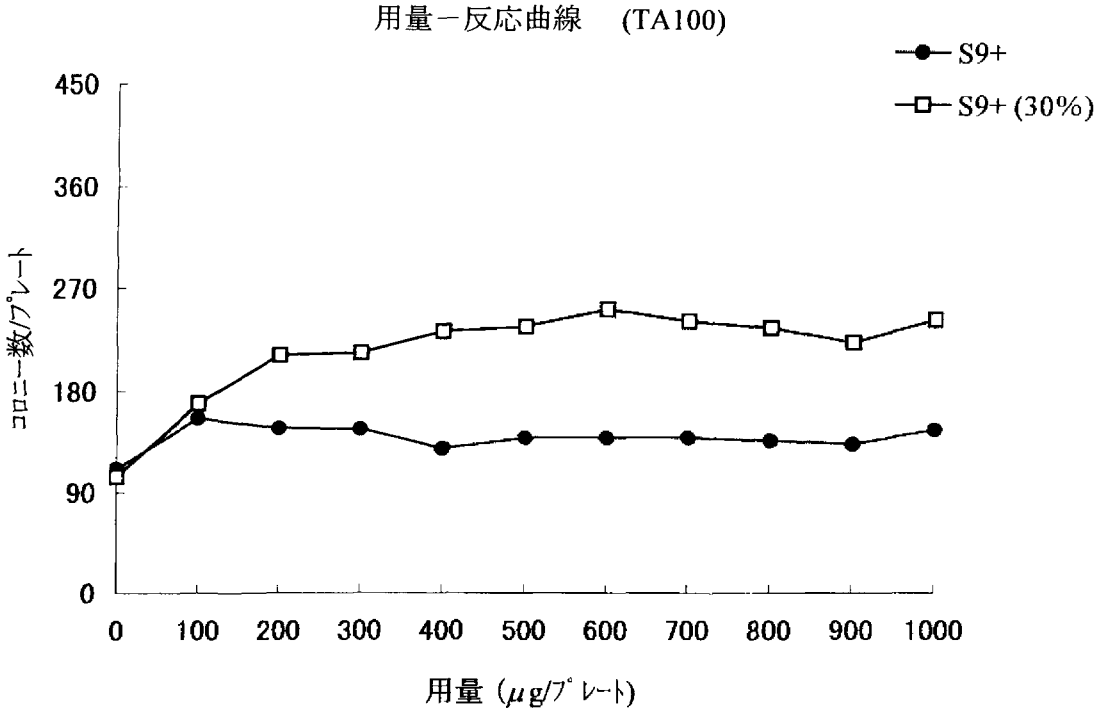


図　１９　　（追加試験　５）

被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

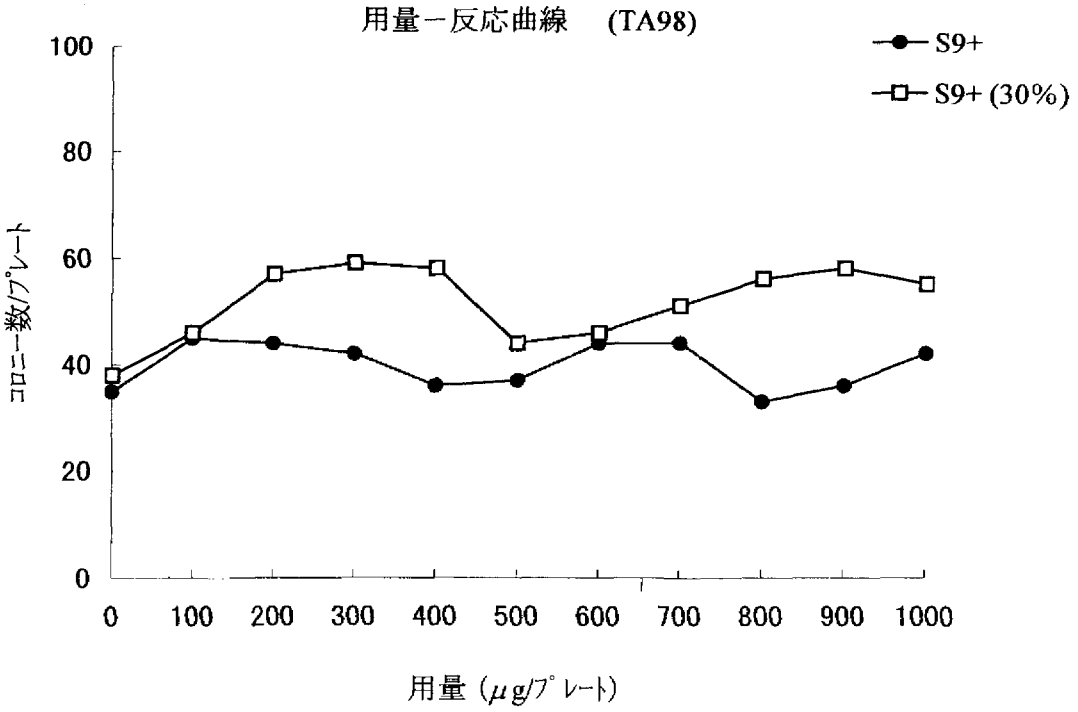


図　２０　　（追加試験　６）

被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

用量－反応曲線　(TA100)

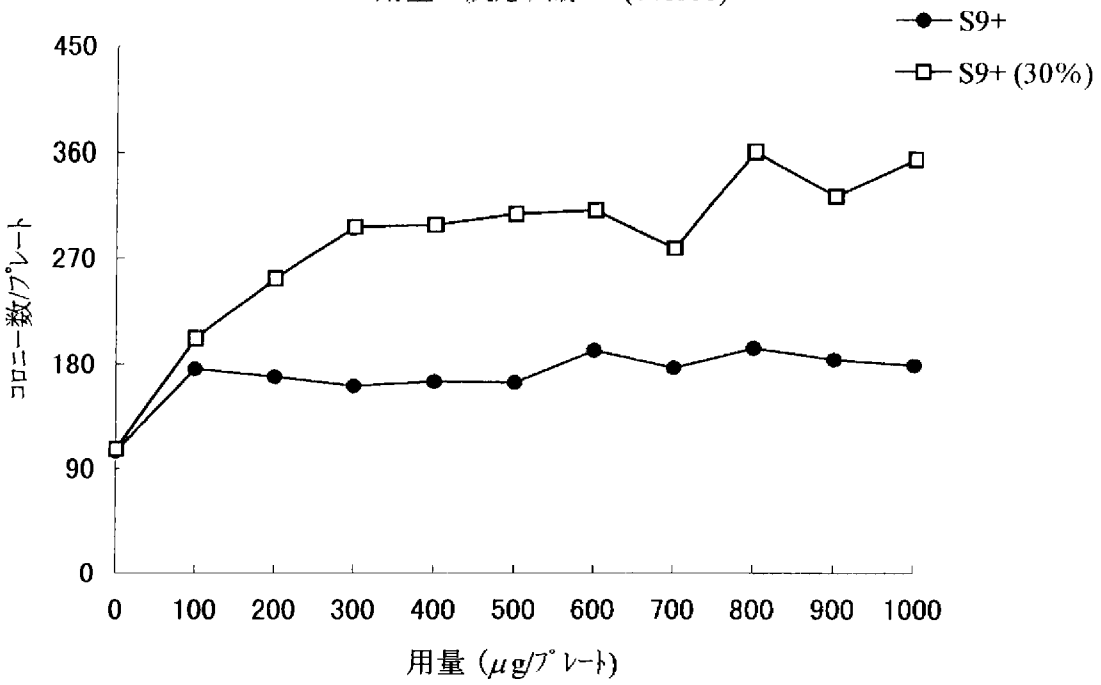
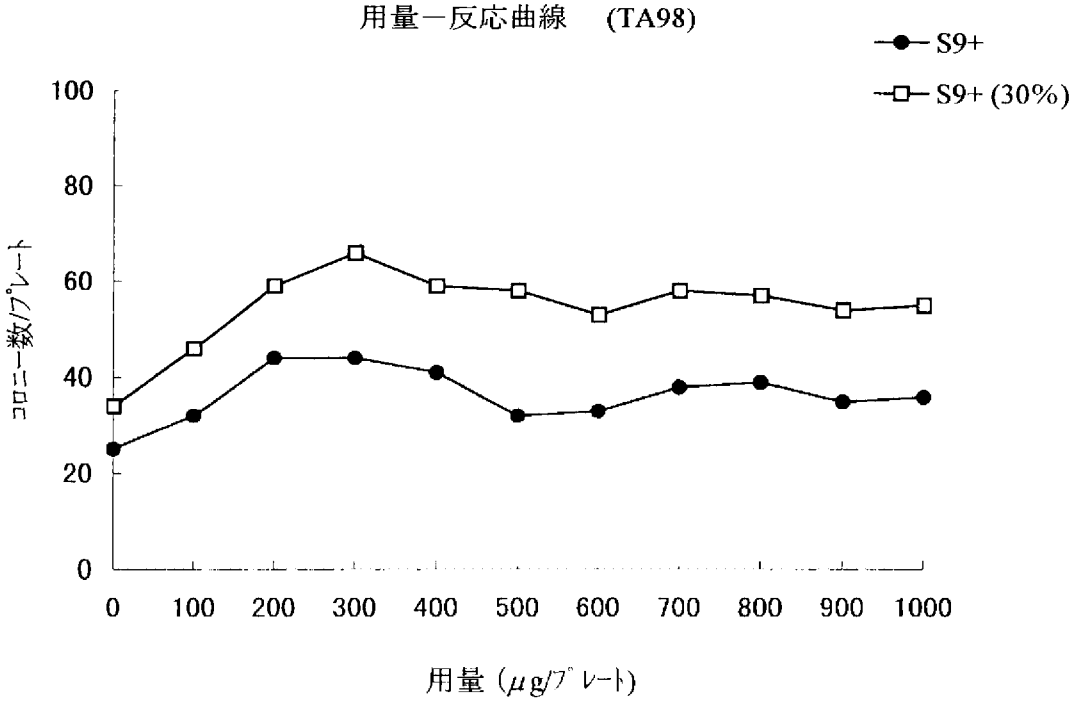


図　２１　　（追加試験　６）

被験物質名：ジイソシアナトトルエン　　No. 8L666

用量－反応曲線　(TA98)