最終報告書

トリシクロデカンの細菌を用いる復帰突然変異試験 (試験番号: 08-120-1)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

試験表題:トリシクロデカンの細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号: 08-120-1

試験委託者:

名 称 国立医薬品食品衛生研究所

所 在 地 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

委託担当者 安全性生物試験研究センター総合評価研究室

試験実施施設:

名 称 財団法人 畜産生物科学安全研究所

所 在 地 神奈川県相模原市緑区橋本台3-7-11

資料の保管:

本試験における下記の資料は、最終報告書作成後 10 年間、財団法人 畜産生物科学安全研究所において保管する。その後の保管については、試験委託者と協議して決める。

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 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	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 ······	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)・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	7
11. 無菌試験 · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	7.
12. 試験の有効性 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	8
13. 結果の判定 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	8
結 果	9
結 論	9
文 献	9
表:	
表 1-1 S9 mix 非存在下におけるトリシクロデカンの	
用量設定試験結果 [直接法]	1
表 1-2 S9 mix 存在下におけるトリシクロデカンの	
用量設定試験結果 [代謝活性化法]	2

表 2-1	S9 mix 非存在下におけるトリシクロデカンの復帰突然変異試験結果	
	[本試験 1回目-直接法] ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	3
表 2-2	S9 mix 存在下におけるトリシクロデカンの復帰突然変異試験結果	
	[本試験 1 回目 - 代謝活性化法] ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	4
表 3-1	S9 mix 非存在下におけるトリシクロデカンの復帰突然変異試験結果	
	[本試験 2 回目 一直接法] ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	5
表 3-2	S9 mix 存在下におけるトリシクロデカンの復帰突然変異試験結果	
	[本試験 2 回目 - 代謝活性化法] ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	6
図:		
図 1	トリシクロデカンの復帰突然変異試験結果-本試験1回目 ・・・・・・・・・	7
図 2	トリシクロデカンの復帰突然変異試験結果-本試験2回目 ・・・・・・・・・・	10

要 約

トリシクロデカ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 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、直接法における TA98 の 5000 μ g/プレートで菌の生育阻害が認められた以外に、いずれの菌株とも生育阻害は認められなかったことから、直接法および代謝活性化法ともに $156\sim5000~\mu$ 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、直接法では 1 回目の試験で TA98 および TA1537 の $5000 \mu \, \text{g}/\text{プレート}$ 、2 回目の試験では TA1537 の $5000 \, \mu \, \text{g}/\text{プレート}$ で認められ、代謝活性化法ではいずれの菌株とも生育阻害は認められなかった。

以上の成績から、本実験条件下では、トリシクロデカ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、トリシクロデカ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: トリシクロデカン

(英名: Tricyclo[3.3.1.1(3,7)]decane)

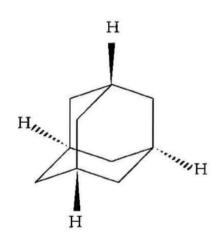
別 名: アダマンタン

CAS 番号 : 281-23-2

ロット番号:

純 度: 99.9% (GC 法、分析: 東京化成工業株式会社)

構 造 式:



入 手 先:

入手日·量: 平成 20 年 12 月 9 日 (20 g)

分 子 式: C₁₀H₁₆ 分 子 量: 136.24

物理化学的性状:

常温における性状 白色結晶性粉末

分子量 136.24

引火点 87℃

発火点 257℃

溶解性 油溶性、ベンゼン:可溶

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分析(2010年5月17日:東京化成工業株式

会社、GC法) した結果、純度は99.9%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℃) で密栓

2. 指標菌株

指標菌株は、独立行政法人製品評価技術基盤機構 バイオテクノロジー本部より入 手 (平成 20 年 9 月 12 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 TSQ4946、100%)を 0.07 mL の割合で加えて-80^{\circ}C以下で保存した。この保存菌株の $25\,\mu$ L をニュートリエントブロス(Bacto nutrient broth dehydrated、Difco Laboratories、ロット番号 6338974)液体培地 15 mL に接種し、37 \circ で 10 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(OD660nm)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 (×109/mL)

指標菌株	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
用量設定試験	1.99	2.40	1.88	1.95	1.39
本試験(1回目)	1.95	2.40	1.93	1.95	1.43
本試験(2回目)	1.99	2.22	1.84	1.95	1.43

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-603・2009 年 10 月 2 日製造・2009 年 11 月 6 日購入)。凍結 S9 mix は-80^{\circ} \circ \circ \circ \circ 00 年 10 月 2 日製造・2009 年 11 月 6 日 開入)。凍結 S9 mix は-80^{\circ} \circ \circ \circ \circ \circ \circ 00 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: 193~226 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 日日: PB 30 mg/kg、 2 日日: PB 60 mg/kg

3 日目: PB 60 mg/kg +BF 80 mg/kg、4 日目: PB 60 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	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

被験物質は水に不溶であり、予備的検討の結果、ジメチルスルホキシド(DMSO)、 アセトン、メタノールおよびエタノールにも不溶であったことから、媒体にはカル ボキシメチルセルロースナトリウム(CMC、和光純薬工業株式会社、ロット番号 SDE1990) の 0.5%水溶液を用いた。被験物質の供試液の調製は、実験の直前に行 った。媒体を用いて最高用量の供試液(原液)を調製し、ついで、この原液を媒体 で順次希釈して所定の用量の被験物質供試液(懸濁液)を作製した。なお、原液を 作製する際には、約15分間の超音波破砕を行った。

7. 陰性対照および陽性対照

陰性対照(溶媒対照)には、被験物質用の媒体である CMC の 0.5%水溶液を用い 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 TSQ4946、 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 K8A90、 局方) に溶解した。

指標菌株	直接法	代謝活性化法
	(μg/プレート)	(μg/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·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 EWL3616) 2-AA :

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

0.6 w/v%粉末寒天 (Difco Laboratories、ロット番号 8107256) および 0.5 w/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 AASXB) 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 EWP0420) 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、20~5000 μg/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)、直接法では、TA98 の 5000 μ g/プレートで菌の生育阻害 が認められたが、他の菌株では認められなかった。代謝活性化法では、いずれの菌 株とも生育阻害は認められなかった。

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、直接法および代謝活性化法のいず れの場合も、5000 μg/プレートを最高用量とし、以下公比 2 で 2500、1250、625、 313 および $156\mu g/プレートの計 6 用量とした。$

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 0.1 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、リン酸水素ニナトリウム・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 ANI600IY・2009 年 9 月 1 日製造・2009年 11 月 10 日購入)は、Vogel・Bonner E 培地(0.2 w/v%クエン酸・一水塩、1 w/v%リン酸ニカリウム・無水塩、0.192 w/v%リン酸一アンモニウム、0.066 w/v%水酸化ナトリウム、0.02 w/v%硫酸マグネシウム・七水塩)に寒天粉末 1.5 w/v%およびグルコース 2 w/v%を含み、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 0.1 mL にかわり、媒体(CMC の 0.5%水溶液)0.1 mL 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 0.1 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 0.1 mL にかわり、媒体(CMC の 0.5%水溶液)0.1 mL 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、用いた媒体(CMCの0.5%水溶液)、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 ANI600IY)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した。

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、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 1 回目の試験で TA98 および TA1537 の $5000 \mu g/プレート、2$ 回目の試験では TA1537 の $5000 \mu g/プレートで認められ、代謝活性化法ではいずれの菌株とも生育阻害は認められなかった。$

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)の範囲内またはその近く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。

結 論

トリシクロデカ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、本実験条件下ではトリシクロデカンの遺伝子突然変異誘発性は陰性と 判定した。

なお、トリシクロデカンの変異原性に関する報告は見当たらなかった。

文 献

- Maron, D. M. and Ames, B. N. (1983). Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutation Research, 113, 173-215.
- 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.

トリシクロデカンの細菌を用いる復帰突然変異試験 (試験番号:08·120·1)

最終報告書 添付資料

(表・図)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

S9 mix 非存在下におけるトリシクロデカンの用量設定試験結果 表 1-1 [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』	フレームシフト型		
[μg/プレート]	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537		
陰性対照〔0.5%CMC〕	114	15	17	23	16		
20	122	7	25	27	17		
50	132	5	28	35	11		
100	130	6	17	25	18		
200	122	2	13	30	15		
500	107	4	22	30	9		
1000	86	8	16	33	9		
2000	104	8	18	31	14		
5000	136	6	18	30 *	13		
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	778	275	973	451	828		

* :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 存在下におけるトリシクロデカンの用量設定試験結果 〔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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537		
陰性対照〔0.5%CMC〕	108	12	26	33	8		
20	112	8	18	33	11		
50	127	7	22	27	17		
100	108	8	23	28	15		
200	109	5	21	38	10		
500	111	13	18	30	16		
1000	96	13	19	32	11		
2000	95	2	21	29	9		
5000	105	9	27	26	17		
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	474	243	550	214	75		

2-AA : 2-アミノアントラセン

表 1-1 S9 mix 非存在下におけるトリシクロデカンの復帰突然変異試験結果 [本試験1回目ー直接法]

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	ムシフト型					
[μg/プレート]	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537				
陰性対照	117	6	25	33	8				
(0.5%CMC)	97	6	28	32	7				
	121	5	24	25	10				
	(112 ± 13)	(6 ± 1)	(26 ± 2)	(30 ± 4)	(8 ± 2)				
****	97	2	28	35	17				
156	132	6	18	38	8				
	118	10	33	25	9				
	(116 ± 18)	(6 ± 4)	(26 ± 8)	(33 ± 7)	(11 ± 5)				
	119	8	34	36	15				
313	113	6	21	22	17				
	113	12	21	34	8				
E 0 3 2 59232	(115 ± 3)	(9 ± 3)	(25 ± 8)	(31 ± 8)	(13 ± 5)				
,	108	6	29	37	8				
625	109	7	29	42	13				
	92	5	33	29	8				
	(103 ± 10)	(6 ± 1)	(30 ± 2)	(36 ± 7)	(10 ± 3)				
	122	4	38	37	11				
1250	86	7	27	35	15				
	93	8	34	23	16				
	(100 ± 19)	(6 ± 2)	(33 ± 6)	(32 ± 8)	(14 ± 3)				
	101	3	30	38	9				
2500	94	2	29	37	9				
	92	6	31	23	6				
	(96 ± 5)	(4 ± 2)	(30 ± 1)	(33 ± 8)	(8 ± 2)				
	98	9	17	39 *	13 *				
5000	94	8	29	22 *	9 *				
	96	7	28	27 *	12 *				
	(96 ± 2)	(8 ± 1)	(25 ± 7)	(29 ± 9)	(11 ± 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	775	348	969	478	752				
コロニー数	793	377	893	473	629				
/プレート	654	369	949	403	714				
	<u>(741 ± 76)</u>	(365 ± 15)	(937 ± 39)	(451 ± 42)	(698 ± 63)				

* :菌の生育阻害が認められた。

() : 平均值±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 存在下におけるトリシクロデカンの復帰突然変異試験結果 [本試験1回目ー代謝活性化法]

	7-2-5	復帰來	[異コロニー数/	プレート	
用 量		塩基対置換型		ムシフト型	
[μ g/プレート]	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
陰性対照	95	4	23	30	7
(0.5%CMC)	96	4	36	35	8
	76	6	24	29	17
	(89 ± 11)	(5 ± 1)	(28 ± 7)	(31 ± 3)	(11 ± 6)
	103	3	30	27	. 11
156	95	7	21	20	8
	98	4	27	25	14
	(99 ± 4)	(5 ± 2)	(26 ± 5)	(24 ± 4)	(11 ± 3)
	85	3	30	27	7
313	93	6	13	31	11
	94	9	20	30	13
	(91 ± 5)	(6 ± 3)	(21 ± 9)	(29 ± 2)	(10 ± 3)
	106	6	18	31	5
625	88	7	37	32	6
	92	7	29	28	4
	(95 ± 9)	(7 ± 1)	(28 ± 10)	(30 ± 2)	(5 ± 1)
S	83	7	25	26	14
1250	90	2	25	26	16
	86	9	25	19	10
	(86 ± 4)	(6 ± 4)	(25 ± 0)	(24 ± 4)	(13 ± 3)
	92	10	20	32	9
2500	92	9	27	22	7
	83	4	32	24	6
	(89 ± 5)	(8 ± 3)	(26 ± 6)	(26 ± 5)	(7 ± 2)
	78	12	26	26	8
5000	71	8	18	29	5
	90	5	17	35	13
	(80 ± 10)	(8 ± 4)	(20 ± 5)	(30 ± 5)	(9 ± 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	447	199	462	185	98
コロニー数	452	211	316	182	110
ノプレート	356	202	423	194	68
	(418 ± 54)	(204 ± 6)	(400 ± 76)	(187 ± 6)	(92 ± 22)

-4-

() : 平均値±標準偏差2-AA : 2-アミノアントラセン

S9 mix 非存在下におけるトリシクロデカンの復帰突然変異試験結果 表 2-1 〔本試験2回目一直接法〕

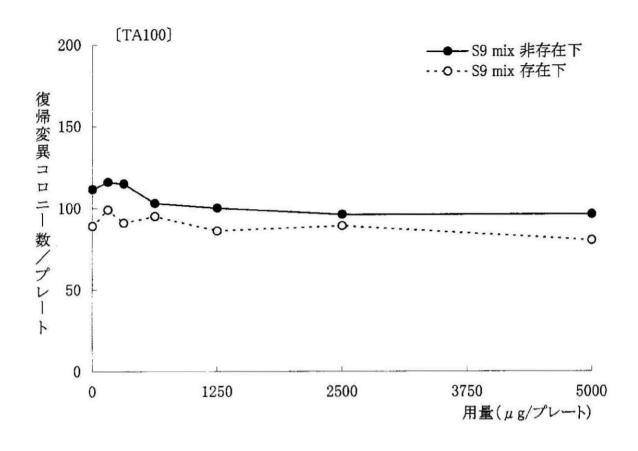
用量		復帰変異コロニー数/プレート						
	(塩基対置換型	フレール	ムシフト型				
〔μg/プレート〕	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537			
陰性対照	120	9	19	39	9			
(0.5%CMC)	118	5	19	20	10			
	109	5	23	30	12			
	(116 ± 6)	(6 ± 2)	(20 ± 2)	(30 ± 10)	(10 ± 2)			
	137	7	15	41	5			
156	126	11	22	37	5			
	122	12	27	32	7			
S - 2 - 8 - 18 - 18 - 18 - 18 - 18 - 18 -	(128 ± 8)	(10 ± 3)	(21 ± 6)	$(37_{\pm} 5)$	(6 ± 1)			
	122	8	20	40	10			
313	123	1	16	29	10			
	110	6	15	24	9			
	(118 ± 7)	(5 ± 4)	(17 ± 3)	(31 ± 8)	(10 ± 1)			
	104	5	18	22	11			
625	107	6	19	34	5			
	112	8	35	35	4			
	(108 ± 4)	(6 ± 2)	(24 ± 10)	(30 ± 7)	<u>(7 ± 4)</u>			
	113	9	27	31	9			
1250	107	7	15	20	5			
	101	7	25	34	6			
¥	(107 ± 6)	(8 ± 1)	(22 ± 6)	(28 ± 7)	(7 ± 2)			
	98	6	31	27	4			
2500	114	8	28	30	6			
	96	4	24	25	6			
	(103 ± 10)	(6 ± 2)	(28 ± 4)	(27 ± 3)	(5 ± 1)			
	98	5	32	40	11 *			
5000	94	13	18	46	13 *			
	110	2	15	30	8 *			
	(101 ± 8)	(7 ± 6)	(22 ± 9)	(39 ± 8)	(11 ± 3)			
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	875	244	1153	418	899			
コロニー数	813	281	1111	496	463			
/プレート	761	281	878	501	694			
0.50010	(816 ± 57)	(269 ± 21) ((472 ± 47)	(685 ± 218)			

* : 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

表 2-2 S9 mix 存在下におけるトリシクロデカンの復帰突然変異試験結果 [本試験2回目ー代謝活性化法]

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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537		
陰性対照	118	7	26	31	9		
(0.5%CMC)	114	5	22	29	17		
	118	7	20	45	17		
	(117 ± 2)	(6 ± 1)	(23 ± 3)	(35 ± 9)	(14 ± 5)		
	128	8	22	26	15		
156	110	10	30	39	13		
	109	5	29	38	11		
//	(116 ± 11)	(8 ± 3)	(27 ± 4)	(34 ± 7)	(13 ± 2)		
	126	14	20	24	12		
313	95	7	15	33	14		
	125	11	34	31	15		
	(115 ± 18)	(11 ± 4)	(23 ± 10)	(29 ± 5)	(14 ± 2)		
(.t. r. 180 3 3	114	12	18	19	17		
625	104	9	26	38	20		
	119	9	17	42	14		
	(112 ± 8)	(10 ± 2)	(20 ± 5)	(33 ± 12)	(17 ± 3)		
	108	6	27	34	5		
1250	110	13	19	25	7		
	102	12	23	34	3		
	(107 ± 4)	(10 ± 4)	(23 ± 4)	(31 ± 5)	(5 ± 2)		
	104	8	25	25	6		
2500	102	5	15	29	5		
	104	12	24	26	9		
	(103 ± 1)	(8 ± 4)	(21 ± 6)	(27 ± 2)	(7 ± 2)		
	103	7	20	27	10		
5000	123	11	23	18	10		
	149	5	20	31	11		
788	(125 ± 23)	(8 ± 3)	(21 ± 2)	(25 ± 7)	(10 ± 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	449	237	470	257	106		
コロニー数	335	238	495	226	91		
/プレート	441	225	441	221	76		
-	(408 ± 64)	<u>(233 ± 7)</u> アルロースナトリウ.	(469 ± 27)	(235 ± 20)	(91 ± 15)		

() : 平均値±標準偏差2-AA : 2-アミノアントラセン



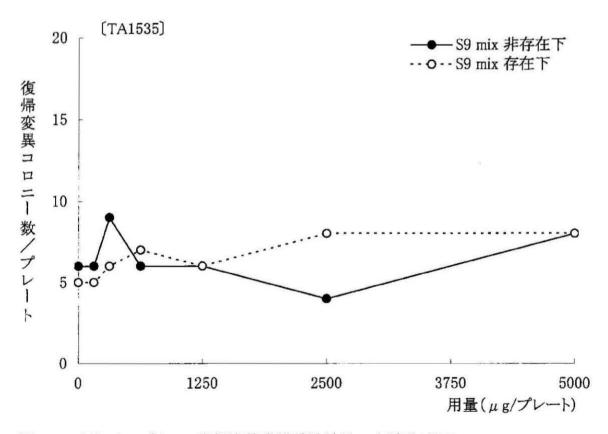
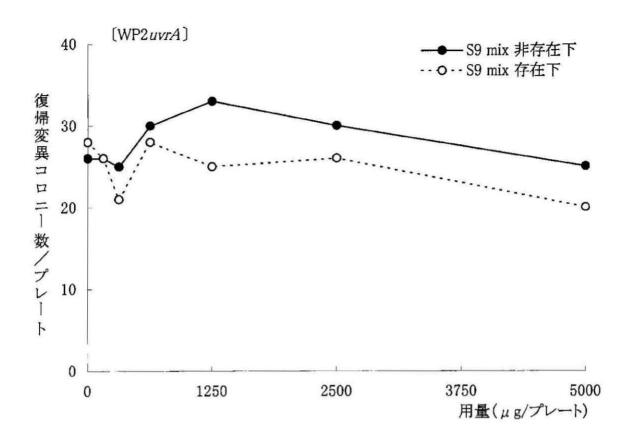


図 1-1 トリシクロデカンの復帰突然変異試験結果-本試験1回目



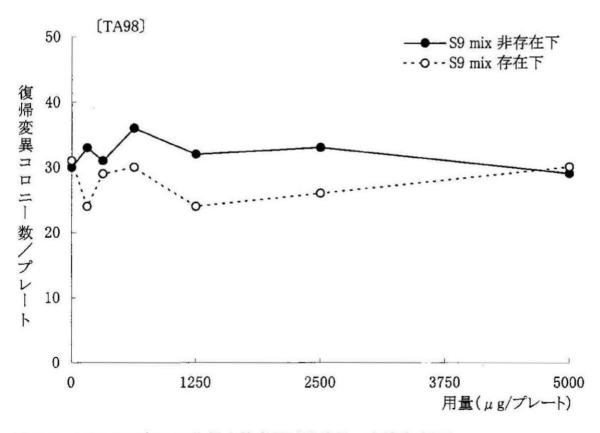


図 1-2 トリシクロデカンの復帰突然変異試験結果-本試験1回目

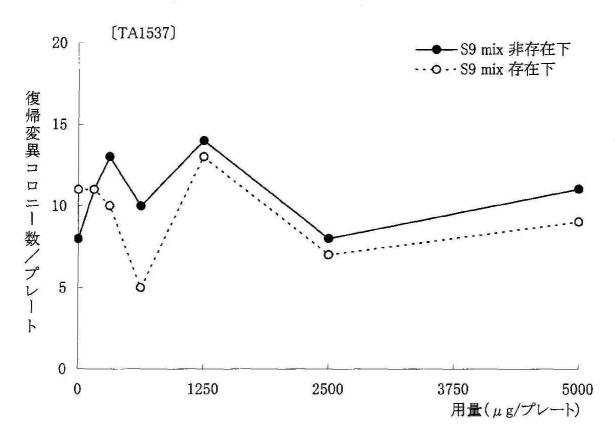
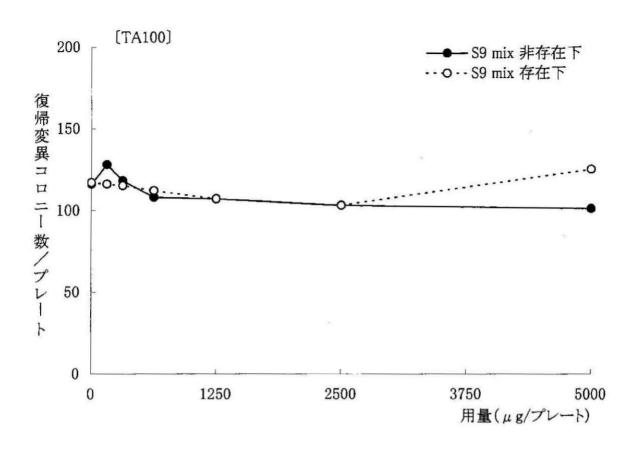


図 1-3 トリシクロデカンの復帰突然変異試験結果-本試験1回目



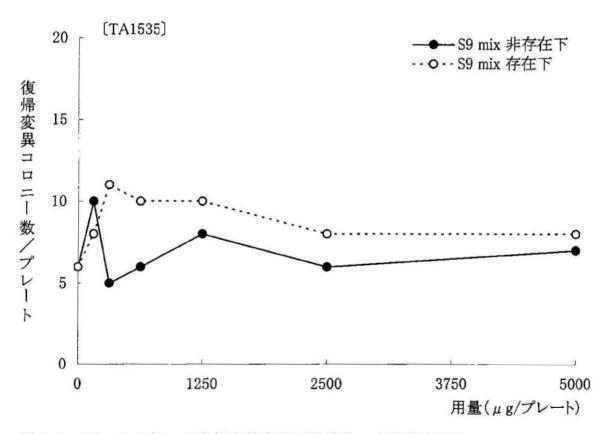
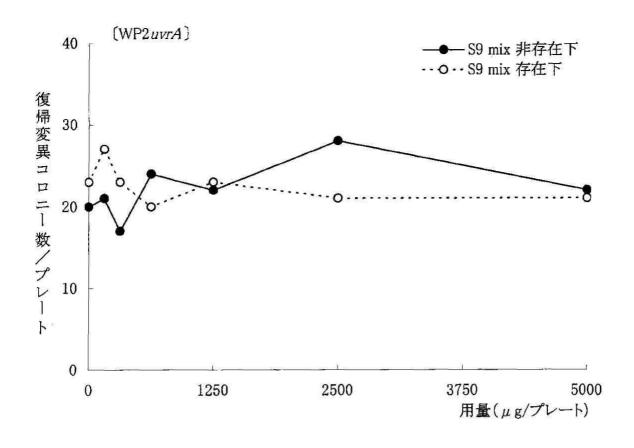
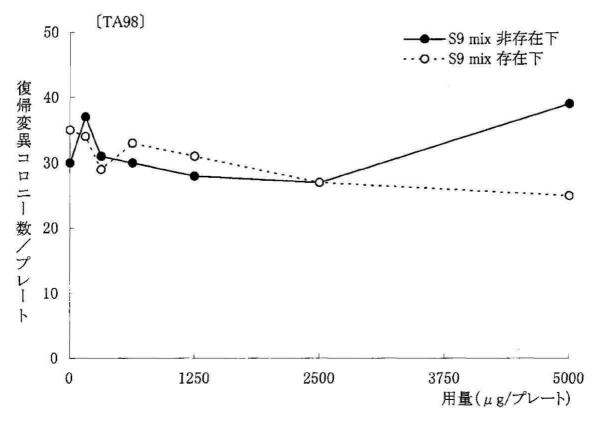


図 2-1 トリシクロデカンの復帰突然変異試験結果-本試験2回目





-11-

図 2-2 トリシクロデカンの復帰突然変異試験結果-本試験2回目

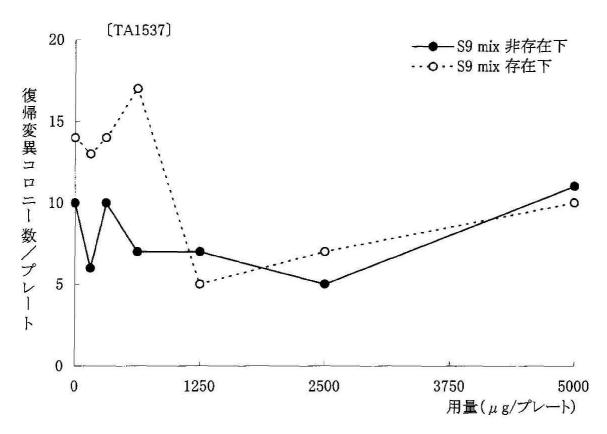


図 2-3 トリシクロデカンの復帰突然変異試験結果-本試験2回目