

最 終 報 告 書

ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）の
細菌を用いる復帰突然変異試験
（試験番号：06-116）

財団法人 畜産生物科学安全研究所

試験表題：ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）の細菌を用いる復帰
突然変異試験

試験番号： 06-116

試験委託者：

名 称 厚生労働省 医薬食品局 審査管理課
所 在 地 東京都千代田区霞が関 1 - 2 - 2
委託担当者 化学物質安全対策室

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

試験成績の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態および試験計画書からの逸脱

本試験に関し、予見することが出来なかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある
事態および試験計画書からの逸脱はなかった。

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。

1. 試験計画書
2. 被験物質に関する記録
3. 試験結果に関する記録
4. 信頼性保証に関する記録
5. 最終報告書

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	4
4. 指標菌株の保存と前培養	4
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	8
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 非存在下におけるビスフェノール A-PO 付加物（平均付加 モル数 5 モル）の用量設定試験結果〔直接法〕	11
表 1-2 S9 mix 存在下におけるビスフェノール A-PO 付加物（平均付加 モル数 5 モル）の用量設定試験結果〔代謝活性化法〕	12

表 2-1	S9 mix 非存在下におけるビスフェノール A-PO 付加物（平均付加 モル数 5 モル）の復帰突然変異試験結果〔本試験 1 回目－直接法〕……	13
表 2-2	S9 mix 存在下におけるビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）の復帰突然変異試験結果〔本試験 1 回目－代謝活性化法〕……	14
表 3-1	S9 mix 非存在下におけるビスフェノール A-PO 付加物（平均付加 モル数 5 モル）の復帰突然変異試験結果〔本試験 2 回目－直接法〕……	15
表 3-2	S9 mix 存在下におけるビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）の復帰突然変異試験結果〔本試験 2 回目－代謝活性化法〕……	16

図：

図 1	ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加 モル数 5 モル）の 復帰突然変異試験結果－本試験 1 回目 ……………	17
図 2	ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加 モル数 5 モル）の 復帰突然変異試験結果－本試験 2 回目 ……………	20

要 約

ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）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、いずれの菌株とも生育阻害が認められなかったため、直接法および代謝活性化法ともに 156～5000 μ g/プレート（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も、いずれの菌株とも認められなかった。

以上の成績から、本実験条件下では、ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）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。

目 的

この試験は、ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）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： ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）

（英名： 4,4'-isopropylidenediphenol propoxylated）

CAS 番号： 37353-75-6

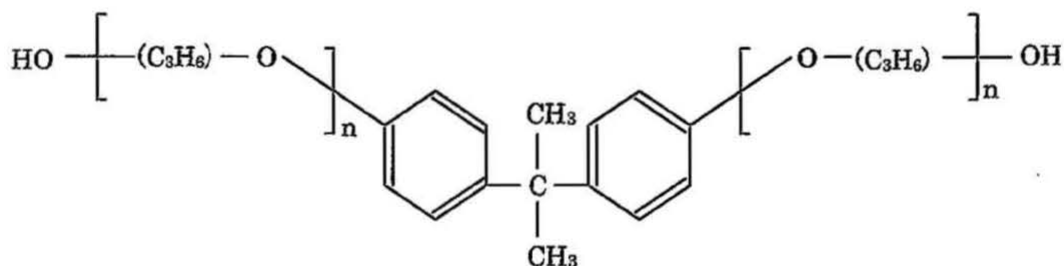
ロット番号：

純 度： 99%以上（水分：0.03%）

付加モル分布： 1 モル：0.0%、2 モル：5.7%、3 モル：11.4%、4 モル：22.1%、
5 モル：24.9%、6 モル：18.1%、7 モル：10.2%、8 モル以上：
7.6%（分析日：平成 18 年 10 月 19 日）

示 性 式： $(C_3H_6O)_n(C_3H_6O)_nC_{15}H_{16}O_2$

構 造 式：



入手日・量： 平成 19 年 3 月 14 日・25g

物 性 等：

化学名 ビスフェノール A-PO 付加物（平均付加モル数 5 モル）

分子量 502（付加モル数 5 モルと仮定した場合）

性状(常温) 無色透明液体

酸価 0.001 mgKOH/g

水酸基価 208 mgKOH/g
 pH 値 6.7 (トリオール法)
 動粘度(100℃) 25.1 mm²/s
 溶解性 水に不溶

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の純度、付加モル分布、酸価、水酸基価、pH 値を測定した結果、実験開始前の分析値と比べて変化はなく、実験期間中被験物質は安定であったことを確認した(下表)。分析は、三洋化成工業株式会社に委託して実施した。〕

測定日	2008-7-1	2006-10-19
純 度	99%以上	99%以上
水分, %	0.10	0.03
酸 化	0.001	0.001
水酸基価	211	208
pH (トリオール法)	6.8	6.7
動粘度 (100℃), mm ² /s	24.7	25.1
付加モル分布, %		
1 モル	0.1	0.0
2 モル	5.7	5.7
3 モル	11.4	11.4
4 モル	22.2	22.1
5 モル	25.1	24.9
6 モル	18.1	18.1
7 モル	10.2	10.2
8 モル以上	7.2	7.6

保管条件 : 冷暗所 (2~6℃)、密栓

2. 指標菌株

指標菌株は、国立保健医療科学院 生活環境部 (元: 国立公衆衛生院 地域環境衛生学部) 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 DPH0023、100%) を 0.07 mL の割合で加えて -80°C 以下で保存した。この保存菌株の 25 μL をニュートリエントブロス (Bacto nutrient broth dehydrated、Difco Laboratories、ロット番号 6044607、6338974) 液体培地 15mL に接種し、 37°C 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 ($\text{OD}_{660\text{nm}}$) 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 ($\times 10^9/\text{mL}$)

指標菌株	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
用量設定試験	1.95	2.10	1.84	1.71	1.14
本試験(1回目)	1.82	2.10	1.74	1.41	1.06
本試験(2回目)	1.78	2.20	1.84	1.79	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-564・2007 年 8 月 3 日製造・2007 年 9 月 28 日購入)。凍結 S9 mix は -80°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 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: 201~239 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 日目: PB 30 mg/kg、2 日目: 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、DMSO に可溶であったことから、溶媒には DMSO (和光純薬工業株式会社、ロット番号 TSQ4964、100%) 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作製した。

7. 陰性対照および陽性対照

陰性対照 (溶媒対照) には、被験物質用の溶媒である 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 DPH0023、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 K6K75、局方) に溶解した。

指標菌株	直接法 (μg /プレート)	代謝活性化法 (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-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 KCM2259)

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

0.6w/v%粉末寒天 (Difco Laboratories、ロット番号 5200601) および 0.5w/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)、直接法および代謝活性化法のいずれ場合も、全ての菌株で菌の生育阻害は認められなかった。なお、2000 および 5000 μg /プレートで、培養終了時のプレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

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 μ g/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 μ 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、リン酸水素二ナトリウム・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 ANI420FW・2007 年 6 月 5 日製造・2007 年 8 月 10 日購入；ロット番号 ANI730IW・2007 年 9 月 11 日製造・2007 年 11 月 12 日購入) は、Vogel-Bonner E 培地 (0.2 w/v% クエン酸・一水塩、1w/v% リン酸二カリウム・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) に寒天粉末を 1.5 w/v% およびグルコースを 2 w/v% となるように加え、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、溶媒 (DMSO) 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、溶媒 (DMSO) 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 0.6w/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 ANI420FW、ANI730IW）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する。

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、直接法および代謝活性化法のいずれの場合にも認められなかった。なお、2500および5000 μ g/プレートでは、培養終了時のプレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

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

ビスフェノール A-PO 付加物(平均付加モル数5モル)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、本実験条件下ではビスフェノール A-PO 付加物(平均付加モル数5モル)の遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

ビスフェノール A の変異原性については、*S. typhimurium* TA97、TA98、TA100、TA102、TA1535 または *E. coli* WP2uvrA を用いた復帰突然変異試験^{8,4,5)}で陰性との報告がある。また、CHO 細胞を用いた染色体異常試験で陽性⁶⁾および陰性⁷⁾、V-79 細胞を用いた細胞遺伝子突然変異試験で陰性³⁾との報告がある。

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. , Nicols, W. and Ramel, C. , Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, pp. 161-187.
- 3) Schweikl, H, et., al. The mutagenic activity of unpolymerized resin monomers in *salmonella typhimurium* and V79 cells. *Mutation Research*, 415(1-2):119-130, 1998.
- 4) Japan chemical industry ecology- toxicology and information center, Japan: Mutagenicity test data of existing chemical substances based on the toxicity investigation of the industrial safety and health law, 1996.
- 5) Masuda, et., al. Changes in the mutagenic and estrogenic activities of bisphenol A upon treatment with nitrite. *Mutation Research*, 585(1-2):137-1146, 2005.
- 6) Hilliard, CA, et., al. Chromosome aberration in vitro related to cytotoxicity of nonmutagenic chemicals and metabolic poisons. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 31(4), 316-326, 1998.
- 7) Ivett, JT, et., al. Chromosomal aberrations and sister chromatid exchange tests in Chinese hamster ovary cells in vitro. IV . Results with 15 chemicals. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 14(3), 165-187, 1989.

表 1-1 S9 mix 非存在下におけるビスフェノールA-PO (平均付加モル数5モル)の
用量設定試験結果〔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	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
陰性対照〔局方精製水〕	126	8	14	33	18
20	120	8	13	13	16
50	91	8	25	26	16
100	99	10	26	32	19
200	110	7	22	27	19
500	106	9	20	28	13
1000	109	9	20	26	16
2000 #	117	8	20	25	6
5000 #	77	5	25	35	13
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	808	353	819	282	477

: 培養終了時のプレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

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 存在下におけるビスフェノールA-PO (平均付加モル数5モル) の
用量設定試験結果[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	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
陰性対照 [局方精製水]	100	7	22	36	9
20	91	9	20	28	9
50	95	9	30	31	13
100	105	7	25	33	7
200	113	11	25	21	8
500	111	5	19	26	10
1000	97	9	16	25	10
2000 #	126	4	24	20	9
5000 #	115	7	20	23	11
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	583	257	596	302	98

: 培養終了時のプレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

2-AA: 2-アミノアントラセン

表 2-1 S9 mix 非存在下におけるビスフェノールA-PO(平均付加モル数5モル)の
復帰変異試験結果[本試験1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	123	3	29	21	6
[局方精製水]	127	15	23	25	13
	133	11	24	31	18
	(128 $\pm$ 5)	(10 $\pm$ 6)	(25 $\pm$ 3)	(26 $\pm$ 5)	(12 $\pm$ 6)
	105	14	30	24	7
156	111	5	17	25	10
	118	8	24	33	17
	(111 $\pm$ 7)	(9 $\pm$ 5)	(24 $\pm$ 7)	(27 $\pm$ 5)	(11 $\pm$ 5)
	115	9	23	15	9
313	128	3	16	23	13
	106	11	29	22	18
	(116 $\pm$ 11)	(8 $\pm$ 4)	(23 $\pm$ 7)	(20 $\pm$ 4)	(13 $\pm$ 5)
	111	12	12	25	5
625	112	11	24	31	17
	105	9	20	29	14
	(109 $\pm$ 4)	(11 $\pm$ 2)	(19 $\pm$ 6)	(28 $\pm$ 3)	(12 $\pm$ 6)
	101	11	26	24	13
1250	109	2	18	26	11
	117	10	16	31	16
	(109 $\pm$ 8)	(8 $\pm$ 5)	(20 $\pm$ 5)	(27 $\pm$ 4)	(13 $\pm$ 3)
	99	10	19	21	13
2500 #	114	8	22	25	12
	109	12	21	30	15
	(107 $\pm$ 8)	(10 $\pm$ 2)	(21 $\pm$ 2)	(25 $\pm$ 5)	(13 $\pm$ 2)
	104	8	19	25	15
5000 #	121	6	18	22	17
	103	8	20	25	21
	(109 $\pm$ 10)	(7 $\pm$ 1)	(19 $\pm$ 1)	(24 $\pm$ 2)	(18 $\pm$ 3)
	陽性対照	AF-2	SA	AF-2	9-AA
μ g/プレート	0.01	0.5	0.04	0.1	80
復帰変異	848	420	941	382	546
コロニー数	815	444	998	404	640
/プレート	891	404	994	431	426
	(851 $\pm$ 38)	(423 $\pm$ 20)	(978 $\pm$ 32)	(406 $\pm$ 25)	(537 $\pm$ 107)

: 培養終了時のプレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

(): 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 存在下におけるビスフェノールA-PO(平均付加モル数5モル)の
復帰変異試験結果[本試験1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	108	10	15	29	12
〔局方精製水〕	83	7	13	37	18
	85	9	23	27	16
	(92 ± 14)	(9 ± 2)	(17 ± 5)	(31 ± 5)	(15 ± 3)
156	111	8	18	30	21
	150	9	21	25	16
	94	5	17	40	15
	(118 ± 29)	(7 ± 2)	(19 ± 2)	(32 ± 8)	(17 ± 3)
313	110	2	23	28	15
	121	10	20	21	23
	110	12	23	35	20
	(114 ± 6)	(8 ± 5)	(22 ± 2)	(28 ± 7)	(19 ± 4)
625	104	9	20	33	13
	124	4	27	25	12
	136	6	25	29	15
	(121 ± 16)	(6 ± 3)	(24 ± 4)	(29 ± 4)	(13 ± 2)
1250	100	7	16	28	14
	122	15	34	31	22
	106	8	30	30	20
	(109 ± 11)	(10 ± 4)	(27 ± 9)	(30 ± 2)	(19 ± 4)
2500 #	107	3	20	34	13
	99	12	31	38	9
	113	8	28	27	16
	(106 ± 7)	(8 ± 5)	(26 ± 6)	(33 ± 6)	(13 ± 4)
5000 #	112	4	24	26	16
	125	8	22	30	12
	114	9	20	24	14
	(117 ± 7)	(7 ± 3)	(22 ± 2)	(27 ± 3)	(14 ± 2)
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	529	281	487	303	131
コロニー数	601	247	530	266	112
／プレート	611	240	489	283	117
	(580 ± 45)	(256 ± 22)	(502 ± 24)	(284 ± 19)	(120 ± 10)

: 培養終了時のプレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

(): 平均値±標準偏差

2-AA: 2-アミノアントラセン

表 3-1 S9 mix 非存在下におけるビスフェノールA-PO(平均付加モル数5モル)の
復帰変異試験結果[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	100	9	19	33	4
〔局方精製水〕	129	13	19	24	9
	118	7	21	25	4
	(116 $\pm$ 15)	(10 $\pm$ 3)	(20 $\pm$ 1)	(27 $\pm$ 5)	(6 $\pm$ 3)
156	101	12	19	29	13
	98	17	18	25	3
	90	7	20	20	6
	(96 $\pm$ 6)	(12 $\pm$ 5)	(19 $\pm$ 1)	(25 $\pm$ 5)	(7 $\pm$ 5)
313	87	15	19	24	12
	97	6	29	24	5
	95	10	12	33	4
	(93 $\pm$ 5)	(10 $\pm$ 5)	(20 $\pm$ 9)	(27 $\pm$ 5)	(7 $\pm$ 4)
625	103	8	17	24	9
	98	9	24	21	12
	107	9	26	20	4
	(103 $\pm$ 5)	(9 $\pm$ 1)	(22 $\pm$ 5)	(22 $\pm$ 2)	(8 $\pm$ 4)
1250	93	8	15	20	9
	100	4	15	18	6
	95	8	23	31	2
	(96 $\pm$ 4)	(7 $\pm$ 2)	(18 $\pm$ 5)	(23 $\pm$ 7)	(6 $\pm$ 4)
2500 #	104	7	11	25	5
	77	5	24	15	3
	83	7	21	19	5
	(88 $\pm$ 14)	(6 $\pm$ 1)	(19 $\pm$ 7)	(20 $\pm$ 5)	(4 $\pm$ 1)
5000 #	113	5	21	14	8
	94	9	20	14	7
	87	6	20	34	3
	(98 $\pm$ 13)	(7 $\pm$ 2)	(20 $\pm$ 1)	(21 $\pm$ 12)	(6 $\pm$ 3)
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	769	445	983	493	777
コロニー数	786	436	998	566	371
/プレート	815	482	993	537	799
	(790 $\pm$ 23)	(454 $\pm$ 24)	(991 $\pm$ 8)	(532 $\pm$ 37)	(649 $\pm$ 241)

: 培養終了時のプレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

(): 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 3-2 S9 mix 存在下におけるビスフェノールA-PO (平均付加モル数5モル)の
復帰変異試験結果[本試験2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	101	12	21	24	11
[局方精製水]	92	9	24	23	9
	107	7	25	37	10
	(100 $\pm$ 8)	(9 $\pm$ 3)	(23 $\pm$ 2)	(28 $\pm$ 8)	(10 $\pm$ 1)
156	107	8	22	13	17
	94	6	15	23	11
	101	9	26	26	17
	(101 $\pm$ 7)	(8 $\pm$ 2)	(21 $\pm$ 6)	(21 $\pm$ 7)	(15 $\pm$ 3)
313	110	7	18	31	13
	107	9	25	35	12
	110	14	17	22	11
	(109 $\pm$ 2)	(10 $\pm$ 4)	(20 $\pm$ 4)	(29 $\pm$ 7)	(12 $\pm$ 1)
625	114	7	31	31	11
	116	11	21	21	20
	106	11	23	32	11
	(112 $\pm$ 5)	(10 $\pm$ 2)	(25 $\pm$ 5)	(28 $\pm$ 6)	(14 $\pm$ 5)
1250	113	6	21	32	5
	99	10	29	25	11
	110	8	22	28	9
	(107 $\pm$ 7)	(8 $\pm$ 2)	(24 $\pm$ 4)	(28 $\pm$ 4)	(8 $\pm$ 3)
2500 #	104	11	21	29	7
	101	12	18	26	11
	112	6	24	30	13
	(106 $\pm$ 6)	(10 $\pm$ 3)	(21 $\pm$ 3)	(28 $\pm$ 2)	(10 $\pm$ 3)
5000 #	98	8	21	21	9
	99	11	15	26	6
	105	8	28	21	5
	(101 $\pm$ 4)	(9 $\pm$ 2)	(21 $\pm$ 7)	(23 $\pm$ 3)	(7 $\pm$ 2)
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	557	251	530	249	45
コロニー数	436	234	559	270	98
/プレート	536	225	594	229	116
	(510 $\pm$ 65)	(237 $\pm$ 13)	(561 $\pm$ 32)	(249 $\pm$ 21)	(86 $\pm$ 37)

: 培養終了時のプレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

(): 平均値 $\pm$ 標準偏差

2-AA: 2-アミノアントラセン

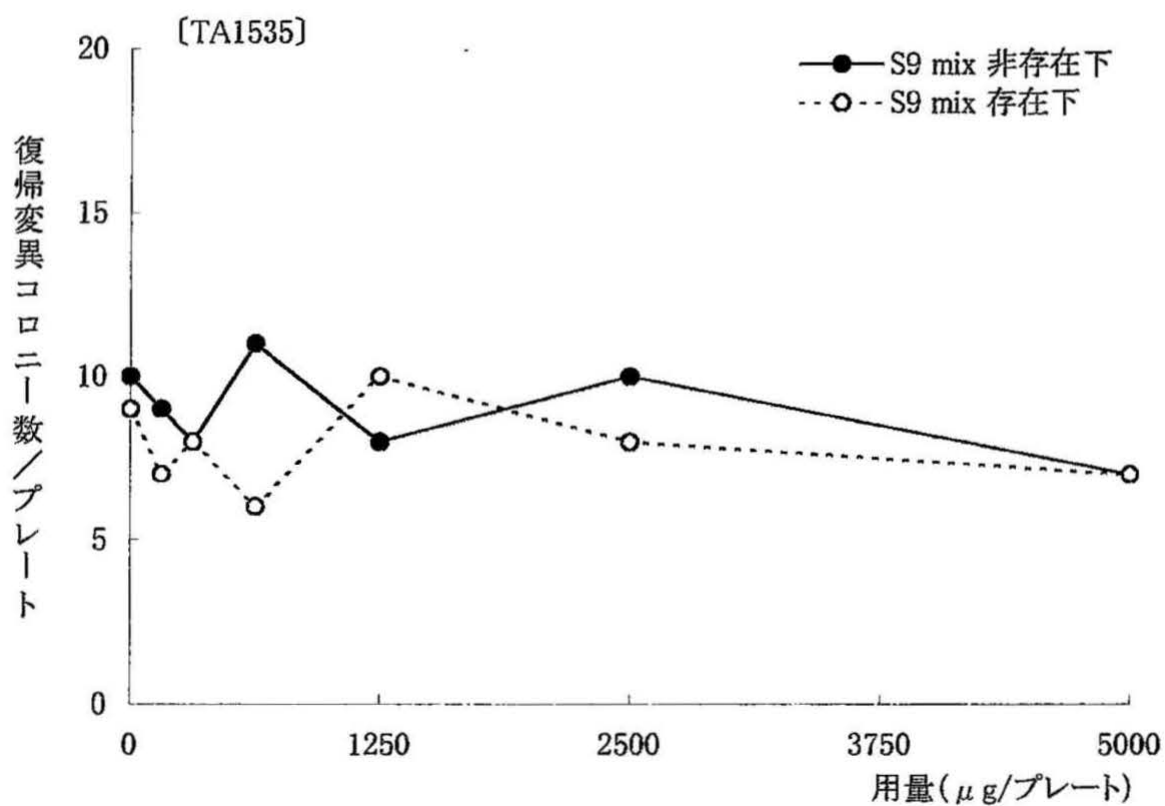
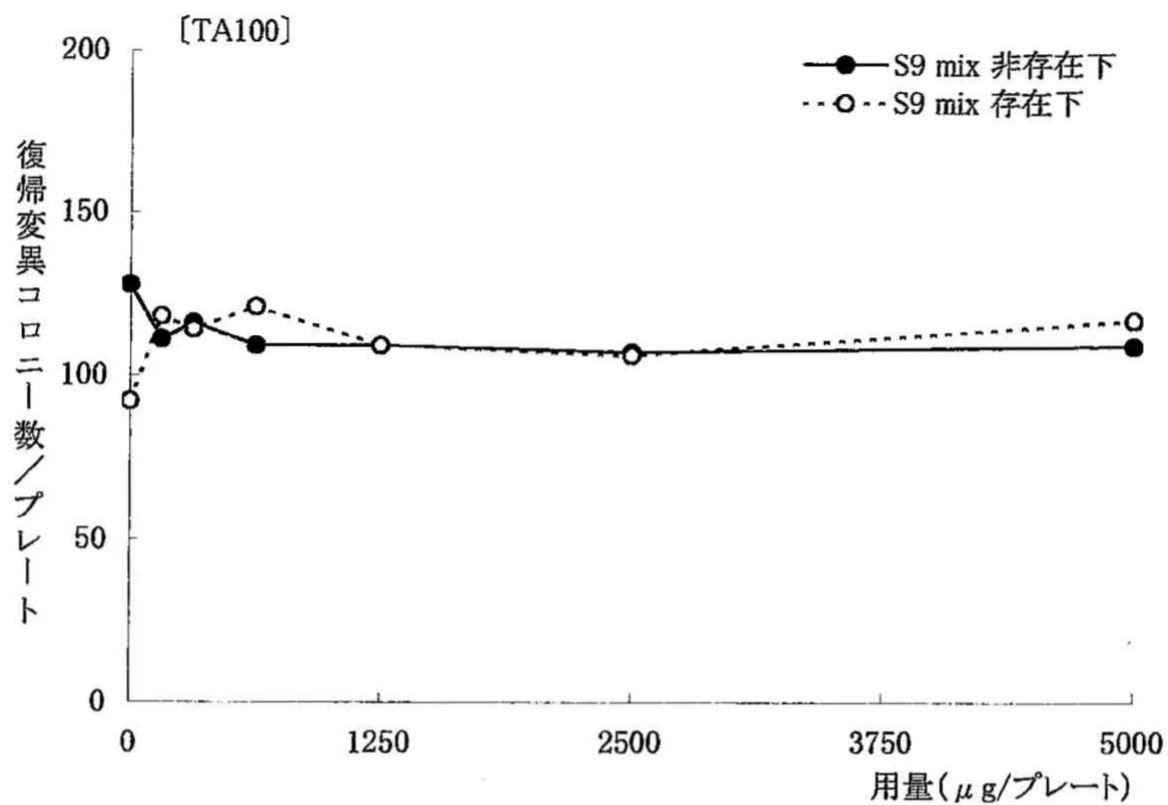


図 1-1 ビスフェノールA-PO (平均付加モル数5モル) の復帰変異試験結果一本試験1回目

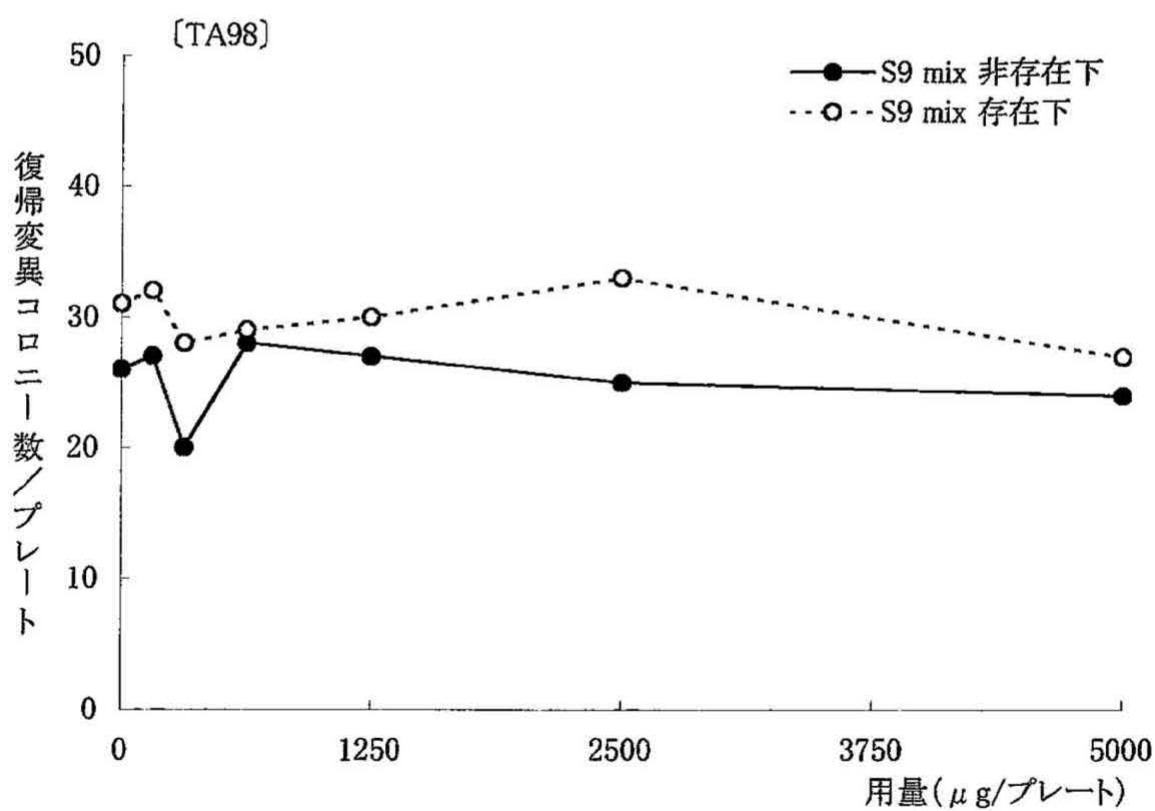
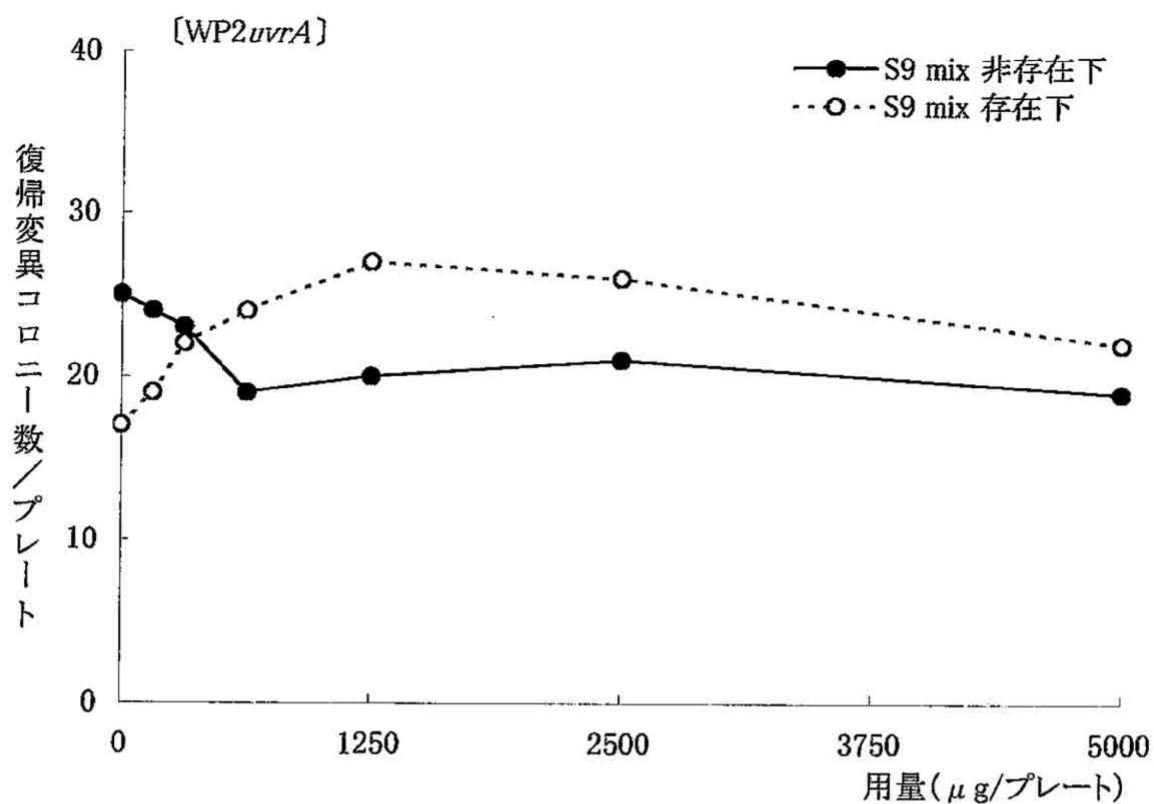


図 1-2 ビスフェノールA-PO(平均付加モル数5モル)の復帰変異試験結果—本試験1回目

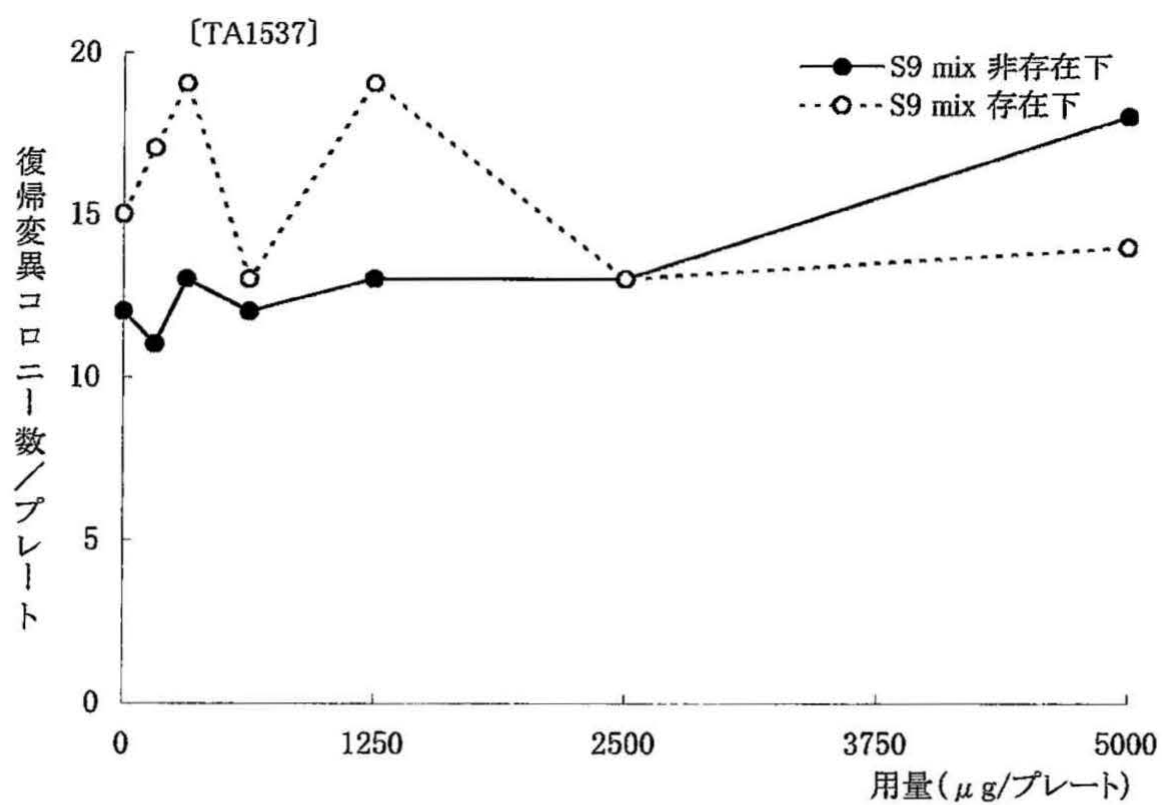


図 1-3 ビスフェノールA-PO (平均付加モル数5モル) の復帰変異試験結果一本試験1回目

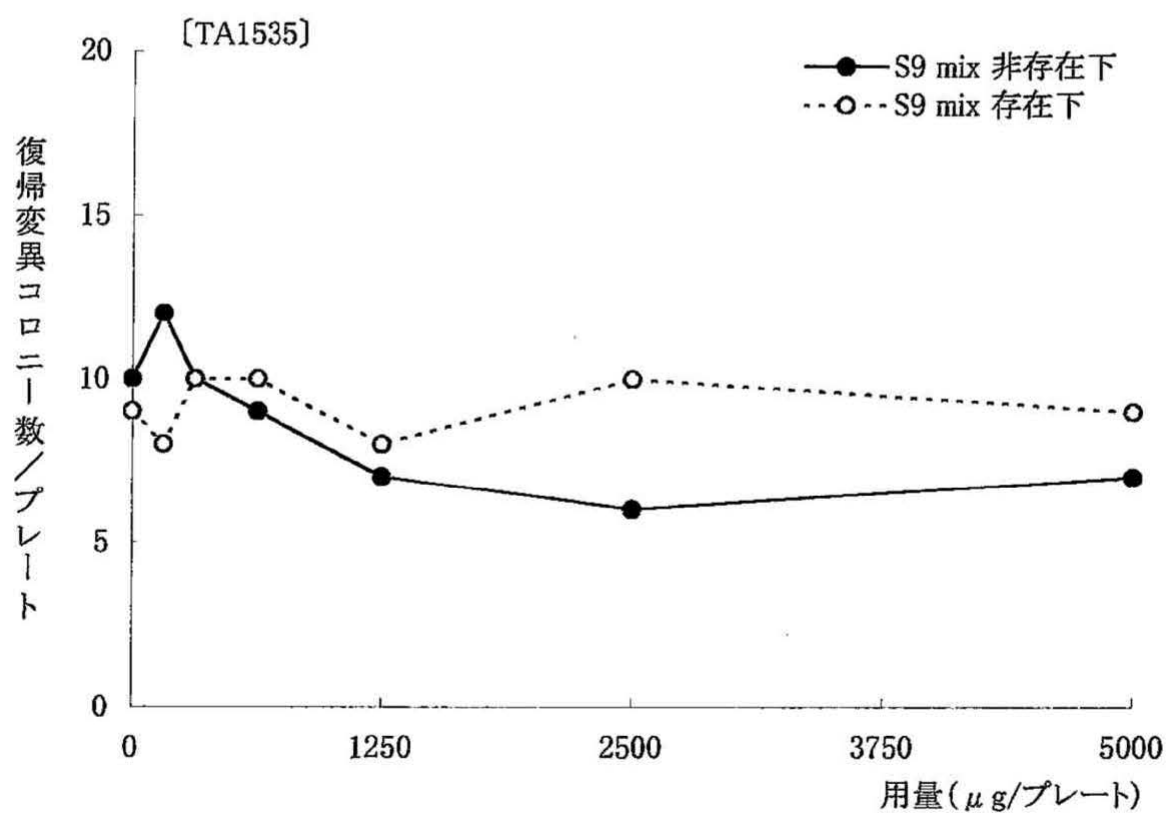
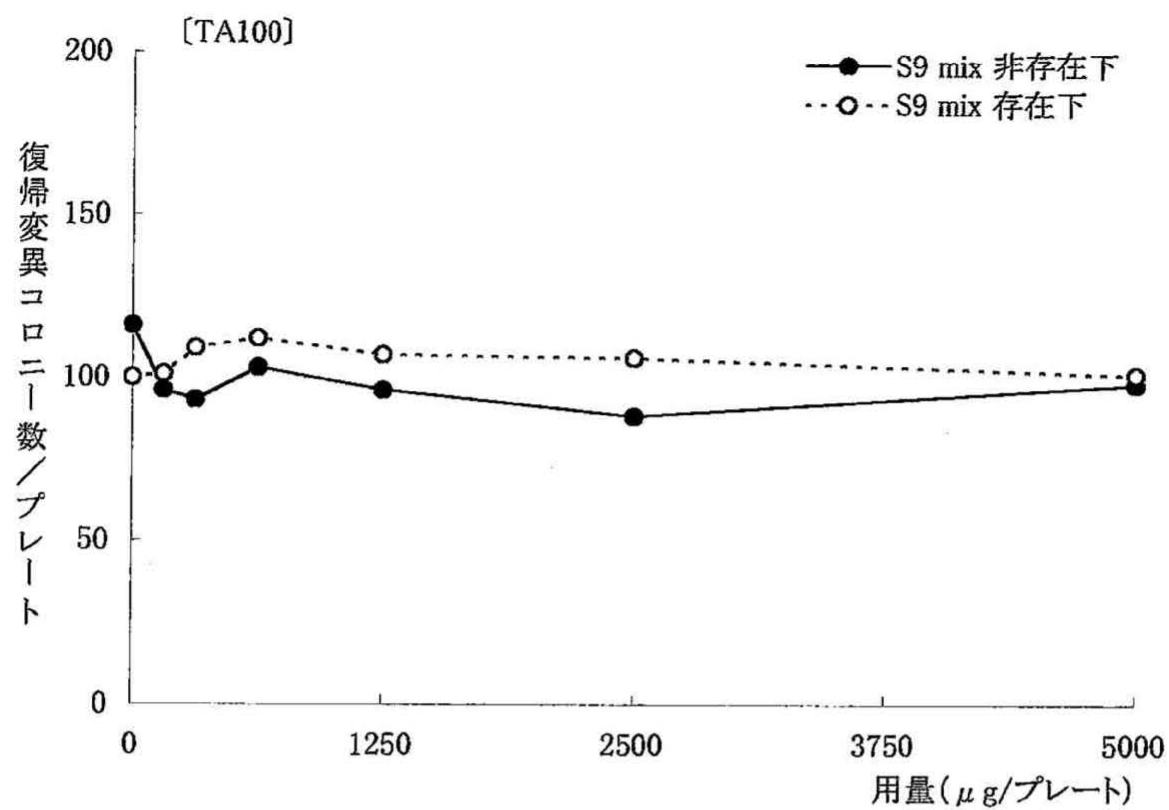


図 2-1 ビスフェノールA-PO(平均付加モル数5モル)の復帰変異試験結果—本試験2回目

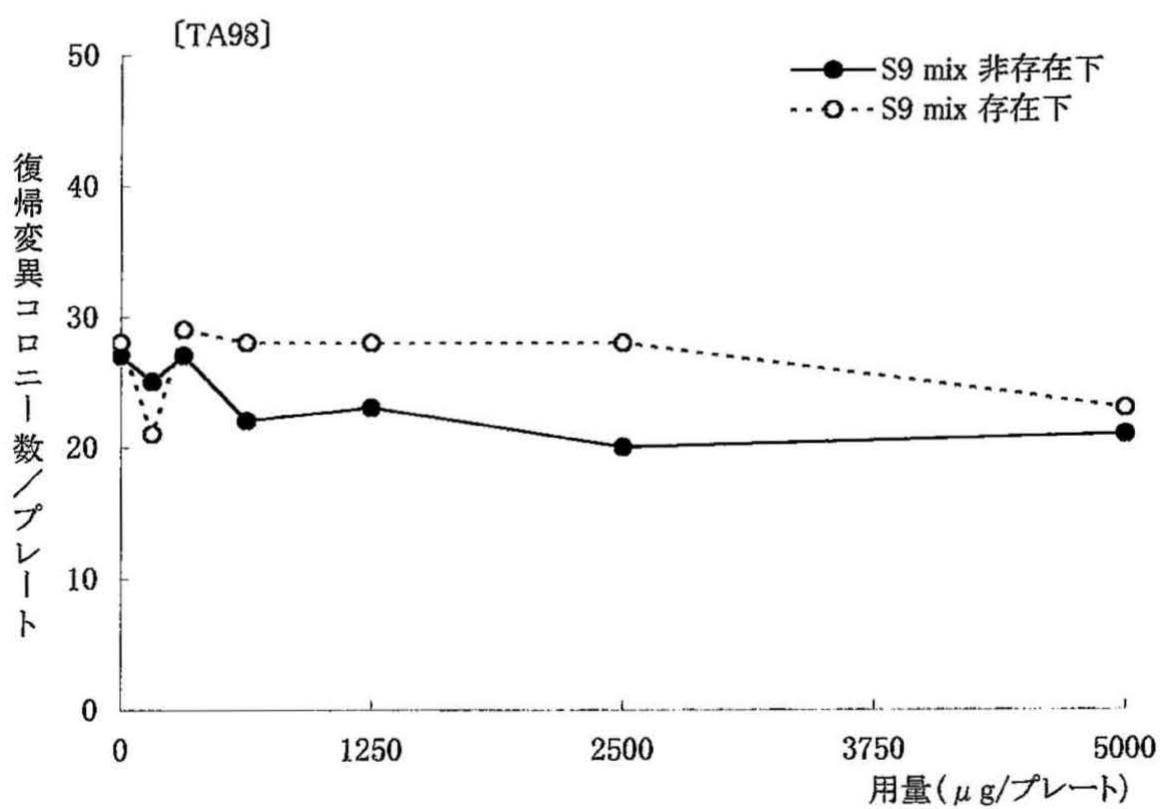
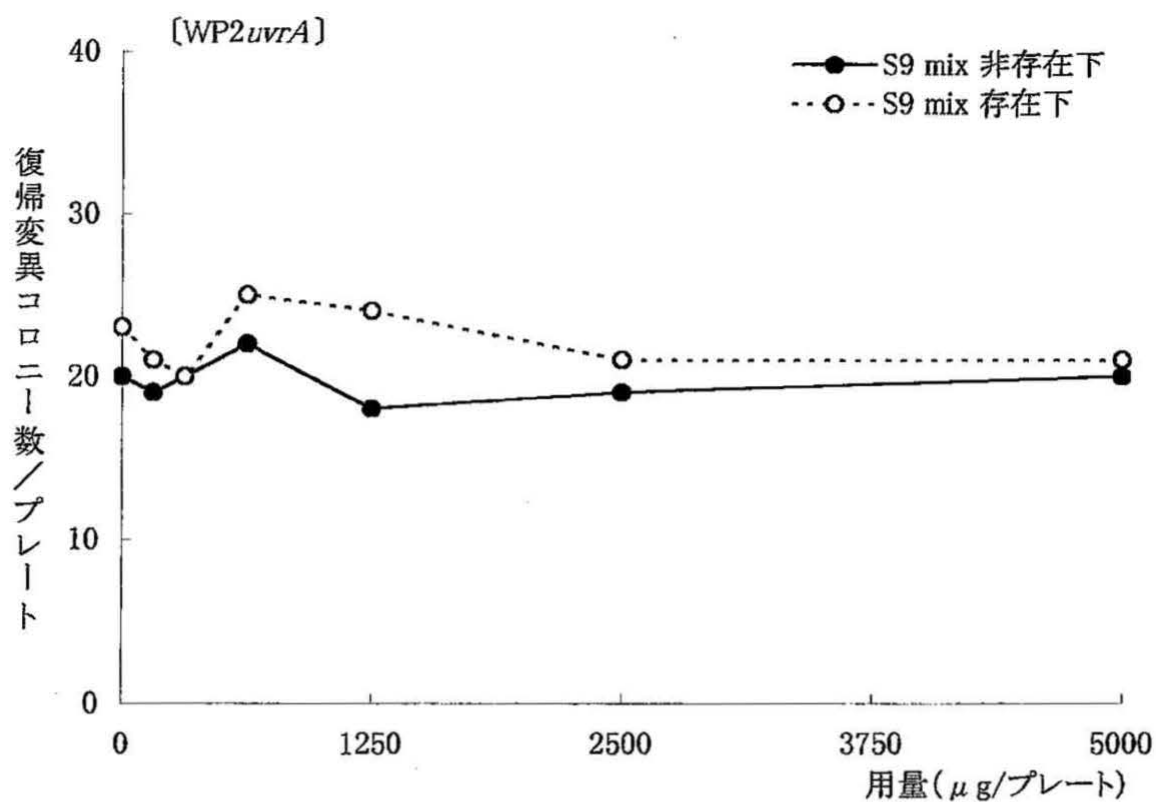


図 2-2 ビスフェノールA-PO(平均付加モル数5モル)の復帰変異試験結果—本試験2回目

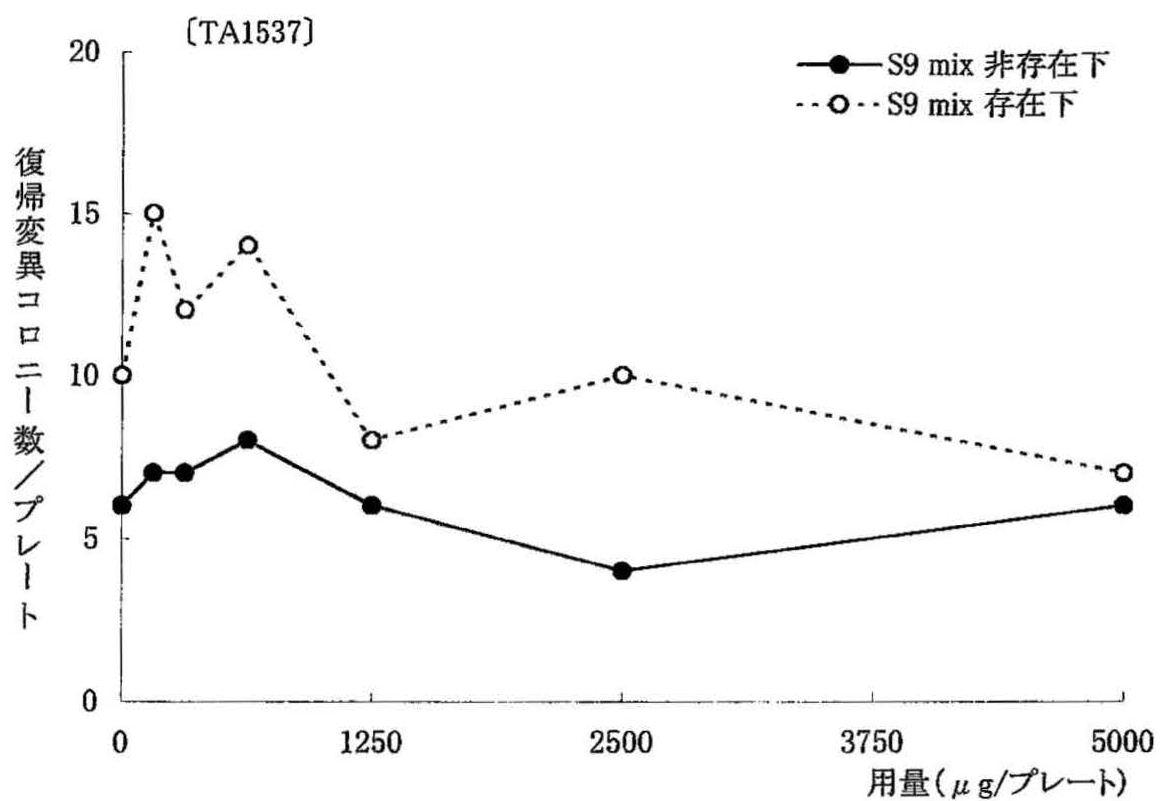


図 2-3 ビスフェノールA-PO (平均付加モル数5モル) の復帰変異試験結果—本試験2回目