

最終報告書

ビス(1-メチルエチル)ナフタレンの細菌を用いた復帰突然変異試験

(試験番号: 97-085)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

Study No. 97-085

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. 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）	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	9

表：

表 1-1	S9 mix 非存在下における ビス(1-メチルエチル)ナフタレン の復帰突然変異試験結果〔本試験 1 回目-直接法〕	11
表 1-2	S9 mix 存在下における ビス(1-メチルエチル)ナフタレン の復帰突然変異試験結果〔本試験 1 回目-代謝活性化法〕	12
表 2-1	S9 mix 非存在下における ビス(1-メチルエチル)ナフタレン の復帰突然変異試験結果〔本試験 2 回目-直接法〕	13
表 2-2	S9 mix 存在下における ビス(1-メチルエチル)ナフタレン の復帰突然変異試験結果〔本試験 2 回目-代謝活性化法〕	14

図：

図 1-1	ビス(1-メチルエチル)ナフタレンの復帰突然変異 試験結果-本試験 1 回目	15
図 1-2	ビス(1-メチルエチル)ナフタレンの復帰突然変異 試験結果-本試験 1 回目	16
図 1-3	ビス(1-メチルエチル)ナフタレンの復帰突然変異 試験結果-本試験 1 回目	17
図 2-1	ビス(1-メチルエチル)ナフタレンの復帰突然変異 試験結果-本試験 2 回目	18
図 2-2	ビス(1-メチルエチル)ナフタレンの復帰突然変異 試験結果-本試験 2 回目	19
図 2-3	ビス(1-メチルエチル)ナフタレンの復帰突然変異 試験結果-本試験 2 回目	20

要 約

ビス(1-メチルエチル)ナフタレン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。

濃度設定試験（予備試験）は、20～5000 μg /プレートの範囲で濃度を設定して行った。その結果、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全ての濃度において、菌の生育阻害は認められなかった。

したがって、本試験は、312.5～5000 μg /プレートの範囲の濃度（公比2）を用いて行った。本試験を2回実施した結果、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ず、また、菌の生育阻害について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(1-メチルエチル)ナフタレン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、ビス(1-メチルエチル)ナフタレン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^{1, 2)}

1. 被験物質

名称(略号): ビス(1-メチルエチル)ナフタレン (BMBN)

別名 ジイソプロピルナフタレン ; Naphthalene, bis(1-methylethyl)-

CAS番号: 38640-62-9

ロット番号:

純度: 98.44% (平成9年11月25日分析)

[不純物 ビス(1-メチルエチル)テトラリン: 1.10%;

トリス(1-メチルエチル)ナフタレン: 0.43%]

入手先(製造元):

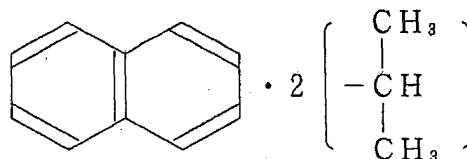
入手日:

入手量: 25 g

物性等:

化学名 Bis(1-methylethyl)naphthalene

構造式



分子式 $\text{C}_{10}\text{H}_8(\text{CH}(\text{CH}_3)_2)_2$

分子量 212.34

性状(常温) 殆ど無臭の低粘度の無色透明な液体

沸点 300°C

溶解性 水, DMSO: 不溶; アセトン: 可溶

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10年4月13日) した結果, 純度は, 98.30%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

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 DLH7740, 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 30 μL 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。培養後の菌懸濁液については、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
濃度設定試験 (予備試験)	1.52	1.67	1.47	1.41	1.21
本試験 (1回目)	1.54	1.67	1.52	1.44	1.24
本試験 (2回目)	1.50	1.62	1.43	1.44	1.24

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 (予備試験：ロット番号 FSM-375・1998年1月9日製造・1998年1月29日購入、本試験：ロット番号 FSM-378・1998年2月20日製造・1998年3月17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 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： 183~245g (FSM-375), 215~240g (FSM-378)

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

6. 被験物質の供試液の調製

被験物質は水および DMSO に不溶であり、アセトンには可溶であるため、溶媒にはアセトン（和光純薬工業株式会社，ロット番号 ESE3934，99.5%）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）には、被験物質の溶媒であるアセトンを用いた。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 (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 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 DLH7740, TPR7212, 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 K6G94, 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) 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. 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, 全指標菌株について, 20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000 および 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の 8 濃度を用いて, 本試験と同様の実験方法で試験を行った。試験は各濃度 1 枚のプレートで行った。

その結果, 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全ての濃度において, 菌の生育阻害は認められなかった。

10. 本試験

1) 濃度設定

予備試験の結果から, 被験物質の処理濃度は, 直接法および代謝活性化法ともに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 および 312.5 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の計 5 濃度とした。

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菌懸濁液 0.1 mL, 被験物質の供試液 0.05 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, 予備試験：ロット番号 AN770LM・1997年12月26日製造・1998年1月29日購入, 本試験：ロット番号 AN100BN・1998年2月10日製造・1998年3月5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 0.05 mL にかわり, 溶媒 (アセトン) 0.05 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 0.05 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 0.05 mL にかわり, 溶媒 (アセトン) 0.05 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。試験は各濃度3枚のプレートで行った。

11. 無菌試験

予備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倍以上の復帰変異コロニー数が出現する。
- 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) 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。

結 果

本試験を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く、また、菌の生育阻害も認められなかった。

なお、代謝活性化法における 312.5 μg /プレート以上の濃度の供試混合液（菌液、被験物質供試液および S9 mix）は、プレインキュベーション終了時に白濁していた。また、代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの濃度においてもアミノ酸添加軟寒天培地を加えた供試混合液を最少グルコース寒天平板培地上に広げた際、被験物質と思われる油膜および油滴様物が認められた。この油膜および油滴様物は培養終了時には 625 μg /プレート以上の濃度で認められ、312.5 μg /プレートでは明らかでなかった。

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、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。

結論および参考事項

ビス(1-メチルエチル)ナフタレンの細菌を用いた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、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(1-メチルエチル)ナフタレンの突然変異誘発性は陰性と判定した。

なお、ビス(1-メチルエチル)ナフタレンの変異原性については、枯草菌を用いた DNA 修復試験、TA98, TA100, TA1535, TA1537, TA1538, G46, WP2 を用いた復帰突然変異試験並びに *S. typhimurium* および宿主としてマウスを用いた宿主経路試験でいずれも陰性との報告がある（堀田鉄也，呉羽化学工業株式会社社内資料，1977）。また、本被験物質の化学構造における母核のナフタレンについては、*S. typhimurium* を用いた復帰突然変異試験³⁾、シリアンハムスター由来の BHK21cl13 細胞およびラット胚由来細胞を用いたトランスフォーメーション試験³⁾並びに *E. coli* を用いた DNA 修復試験⁴⁾でいずれも陰性、CHL 細胞を用いた染色体異常試験においては陽性⁵⁾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) 賀田恒夫, 石館 基 監修, "環境変異原データ集1" サイエнтиスト社, 東京, 1980, p.288.
- 4) Mamber, S.W., Bryson, V. and Stanley, E.K. (1983). The *Escherichia coli* WP2/WP100 rec assay for detection of potential chemical carcinogens. *Mutation Research*, **119**, 135-144.
- 5) 石館 基 監修, "染色体異常試験データ集" 株式会社エル・アイ・シー, 東京, 1987, p.290.

表 1-1 S9 mix 非存在下におけるビス(1-メチルエチル)ナフタレン
の復帰突然変異試験結果〔本試験1回目-直接法〕

濃 度 〔 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 〔アセトン〕	139	8	14	19	12
	116	6	15	28	13
	114	13	17	21	13
	(123 \pm 14)	(9 \pm 4)	(15 \pm 2)	(23 \pm 5)	(13 \pm 1)
312.5	125	9	13	21	18
	122	9	22	19	10
	109	9	21	33	12
	(119 \pm 9)	(9 \pm 0)	(19 \pm 5)	(24 \pm 8)	(13 \pm 4)
625#	114	6	13	24	9
	136	6	17	28	17
	126	4	18	12	7
	(125 \pm 11)	(5 \pm 1)	(16 \pm 3)	(21 \pm 8)	(11 \pm 5)
1250#	130	10	23	20	7
	127	10	22	12	12
	141	5	18	25	12
	(133 \pm 7)	(8 \pm 3)	(21 \pm 3)	(19 \pm 7)	(10 \pm 3)
2500#	128	11	20	15	15
	126	11	16	22	8
	122	10	11	17	5
	(125 \pm 3)	(11 \pm 1)	(16 \pm 5)	(18 \pm 4)	(9 \pm 5)
5000#	135	9	11	25	10
	127	7	16	13	8
	116	12	11	13	14
	(126 \pm 10)	(9 \pm 3)	(13 \pm 3)	(17 \pm 7)	(11 \pm 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 コロニー数 /プレート	853	256	932	350	516
	943	300	892	435	520
	830	279	895	358	596
	(875 \pm 60)	(278 \pm 22)	(906 \pm 22)	(381 \pm 47)	(544 \pm 45)

() : 平均値 \pm 標準偏差

: プレート上に被験物質と思われる油膜および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(1-メチルエチル)ナフタレン
の復帰突然変異試験結果〔本試験1回目-代謝活性化法〕

濃 度 〔 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 〔アセトン〕	123	8	15	37	18
	133	11	25	40	18
	146	10	24	41	12
	(134 \pm 12)	(10 \pm 2)	(21 \pm 6)	(39 \pm 2)	(16 \pm 3)
312.5	113	6	20	24	13
	116	10	20	35	11
	116	8	30	25	15
	(115 \pm 2)	(8 \pm 2)	(23 \pm 6)	(28 \pm 6)	(13 \pm 2)
625#	110	7	23	25	10
	126	8	19	22	13
	107	7	16	36	10
	(114 \pm 10)	(7 \pm 1)	(19 \pm 4)	(28 \pm 7)	(11 \pm 2)
1250#	112	9	21	23	17
	125	6	20	34	14
	109	6	23	30	14
	(115 \pm 9)	(7 \pm 2)	(21 \pm 2)	(29 \pm 6)	(15 \pm 2)
2500#	120	5	22	29	13
	122	15	20	15	16
	123	8	12	19	14
	(122 \pm 2)	(9 \pm 5)	(18 \pm 5)	(21 \pm 7)	(14 \pm 2)
5000#	100	7	17	24	7
	121	8	18	22	17
	130	9	25	29	8
	(117 \pm 15)	(8 \pm 1)	(20 \pm 4)	(25 \pm 4)	(11 \pm 6)
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	589	192	1275	342	174
	605	195	1302	352	172
	593	201	1308	370	196
	(596 \pm 8)	(196 \pm 5)	(1295 \pm 18)	(355 \pm 14)	(181 \pm 13)

() : 平均値 \pm 標準偏差

: プレート上に被験物質と思われる油膜および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(1-メチルエチル)ナフタレン
の復帰突然変異試験結果〔本試験2回目-直接法〕

濃 度 〔 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 〔アセトン〕	123	8	14	17	6
	125	8	10	17	10
	133	7	14	23	7
	(127 \pm 5)	(8 \pm 1)	(13 \pm 2)	(19 \pm 3)	(8 \pm 2)
312.5	116	6	15	16	5
	129	12	18	15	4
	118	12	17	26	7
	(121 \pm 7)	(10 \pm 3)	(17 \pm 2)	(19 \pm 6)	(5 \pm 2)
625#	122	12	18	22	6
	128	5	15	22	3
	128	12	13	14	2
	(126 \pm 3)	(10 \pm 4)	(15 \pm 3)	(19 \pm 5)	(4 \pm 2)
1250#	122	4	15	16	5
	129	6	22	20	6
	129	11	17	18	3
	(127 \pm 4)	(7 \pm 4)	(18 \pm 4)	(18 \pm 2)	(5 \pm 2)
2500#	104	8	16	11	6
	134	8	18	24	3
	125	6	14	21	8
	(121 \pm 15)	(7 \pm 1)	(16 \pm 2)	(19 \pm 7)	(6 \pm 3)
5000#	103	6	17	18	5
	114	3	11	17	4
	106	6	16	14	9
	(108 \pm 6)	(5 \pm 2)	(15 \pm 3)	(16 \pm 2)	(6 \pm 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 コ ロ ニ ー 数 / プ レ ー ト	767	253	936	370	509
	766	256	934	381	549
	791	292	881	335	638
	(775 \pm 14)	(267 \pm 22)	(917 \pm 31)	(362 \pm 24)	(565 \pm 66)

() : 平均値 \pm 標準偏差

: プレート上に被験物質と思われる油膜および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 2-2 S9 mix 存在下におけるビス(1-メチルエチル)ナフタレン
の復帰突然変異試験結果〔本試験 2 回目-代謝活性化法〕

濃 度 〔 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 〔アセトン〕	113	8	21	37	13
	133	10	13	38	10
	133	7	20	45	11
	(126 \pm 12)	(8 \pm 2)	(18 \pm 4)	(40 \pm 4)	(11 \pm 2)
312.5	120	7	12	32	8
	116	7	17	38	9
	118	9	23	31	8
	(118 \pm 2)	(8 \pm 1)	(17 \pm 6)	(34 \pm 4)	(8 \pm 1)
625#	137	12	16	33	8
	114	5	28	32	11
	109	12	16	32	11
	(120 \pm 15)	(10 \pm 4)	(20 \pm 7)	(32 \pm 1)	(10 \pm 2)
1250#	128	6	18	27	8
	113	9	16	27	4
	110	5	19	22	13
	(117 \pm 10)	(7 \pm 2)	(18 \pm 2)	(25 \pm 3)	(8 \pm 5)
2500#	100	9	19	52	9
	126	14	14	23	3
	94	6	24	26	10
	(107 \pm 17)	(10 \pm 4)	(19 \pm 5)	(34 \pm 16)	(7 \pm 4)
5000#	133	5	11	27	4
	103	15	28	29	4
	114	6	12	24	6
	(117 \pm 15)	(9 \pm 6)	(17 \pm 10)	(27 \pm 3)	(5 \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	591	198	1257	388	139
	602	178	1181	375	141
	504	166	1042	350	135
	(566 \pm 54)	(181 \pm 16)	(1160 \pm 109)	(371 \pm 19)	(138 \pm 3)

() : 平均値 \pm 標準偏差

: プレート上に被験物質と思われる油膜および油滴様物が認められた。

2-AA : 2-アミノアントラセン

図 1-1 ビス(1-メチルエチル)ナフタレンの復帰突然変異試験結果—本試験1回目

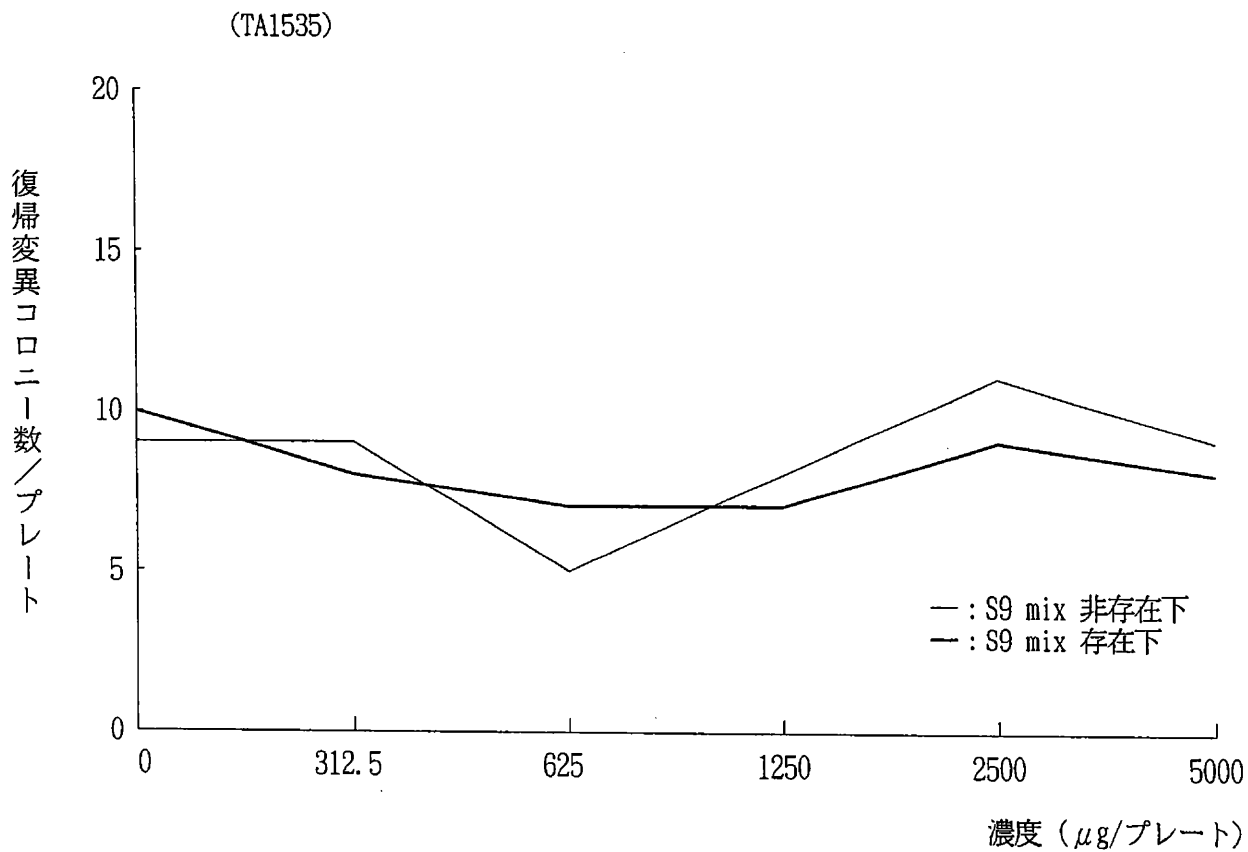
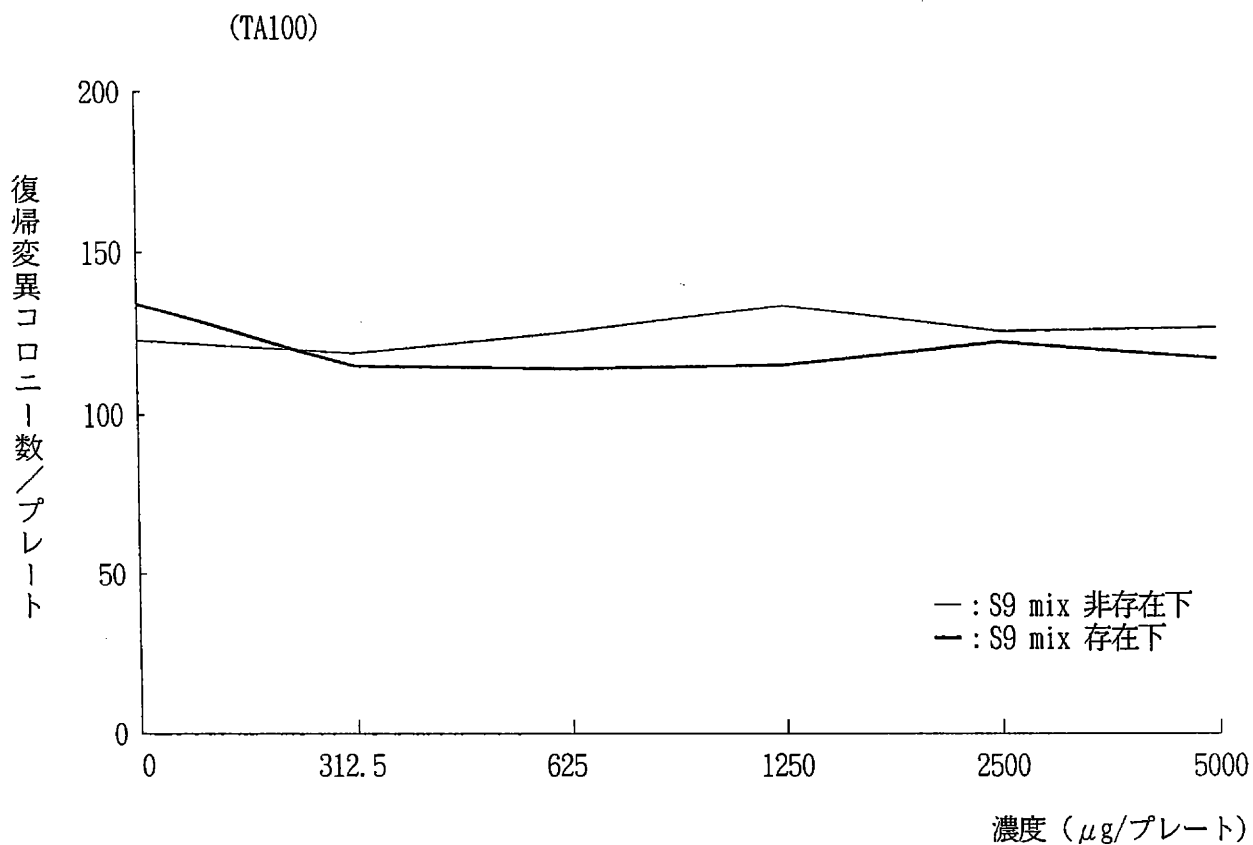


図 1-2 ビス(1-メチルエチル)ナフタレンの復帰突然変異試験結果—本試験 1 回目

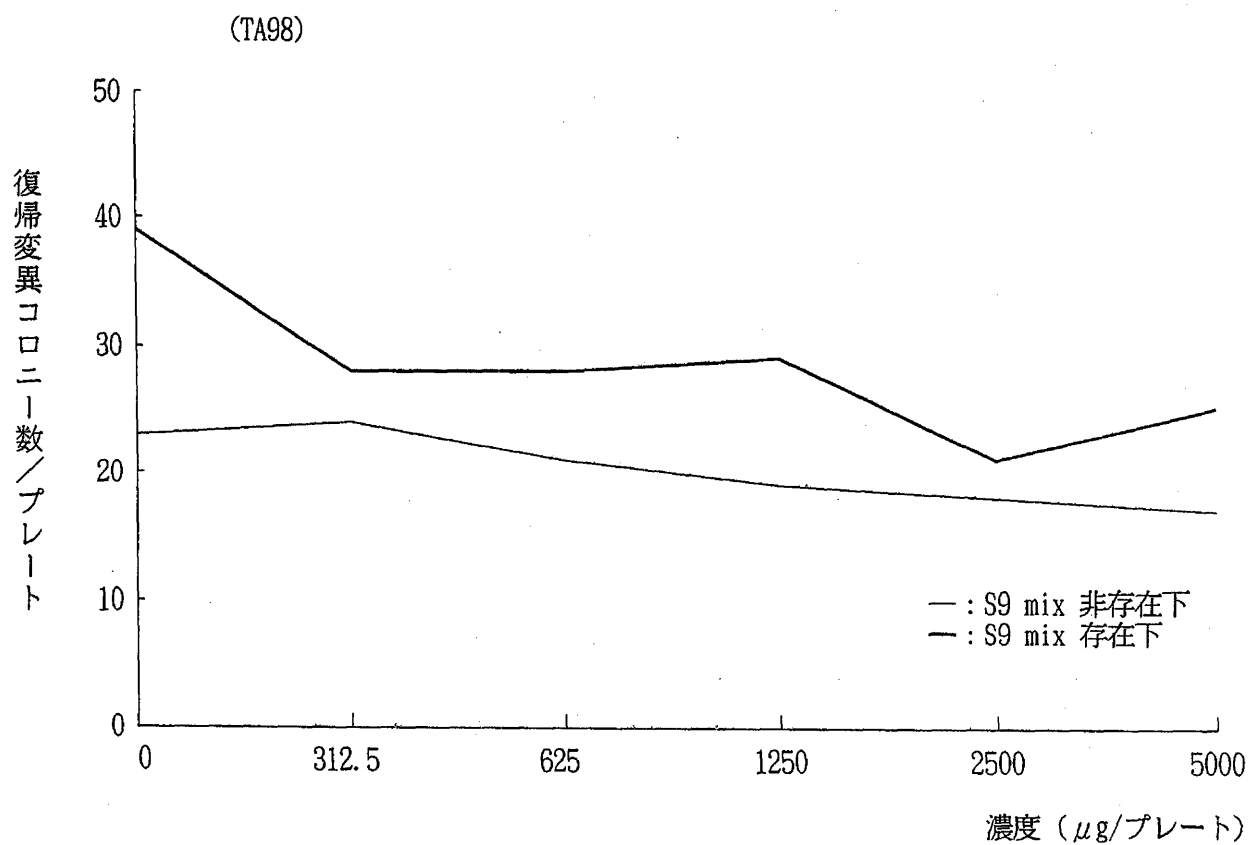
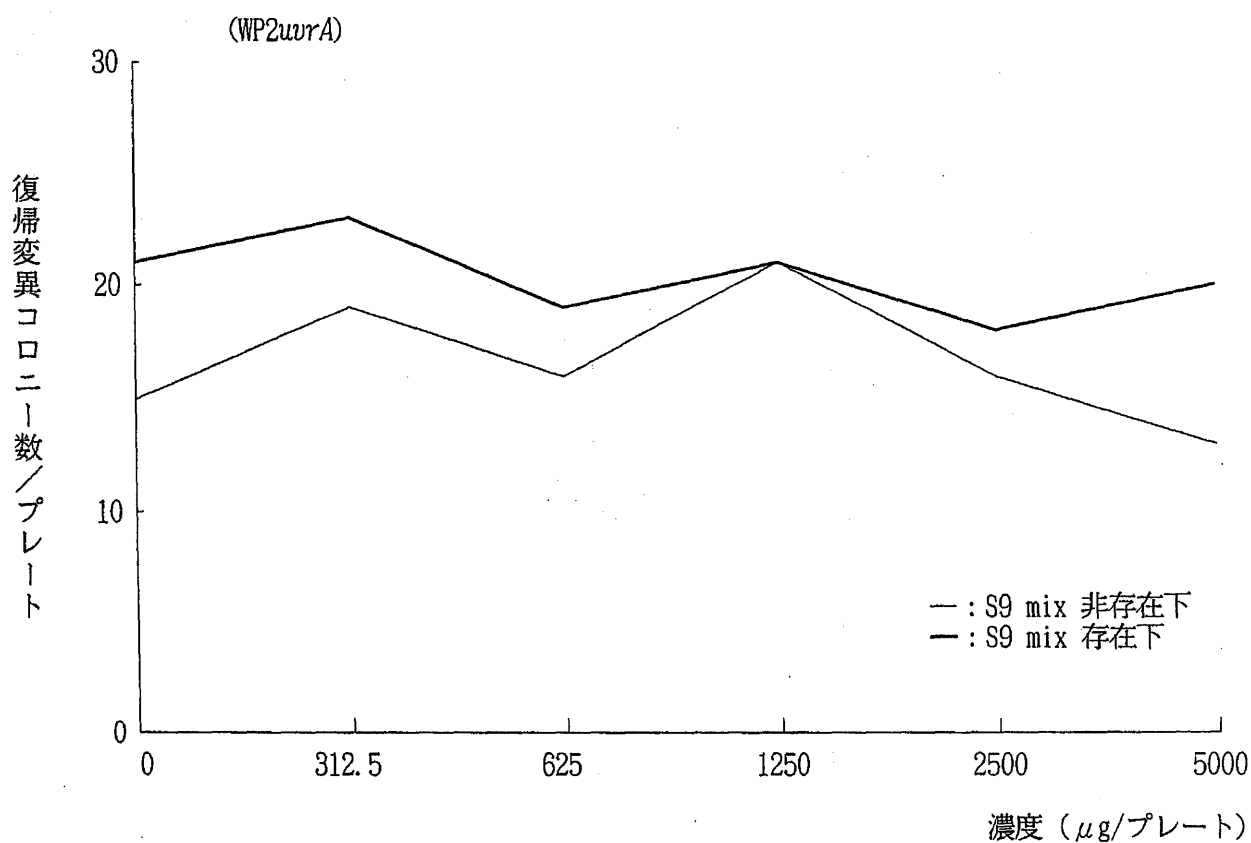


図 1-3 ビス(1-メチルエチル)ナフタレンの復帰突然変異試験結果—本試験1回目

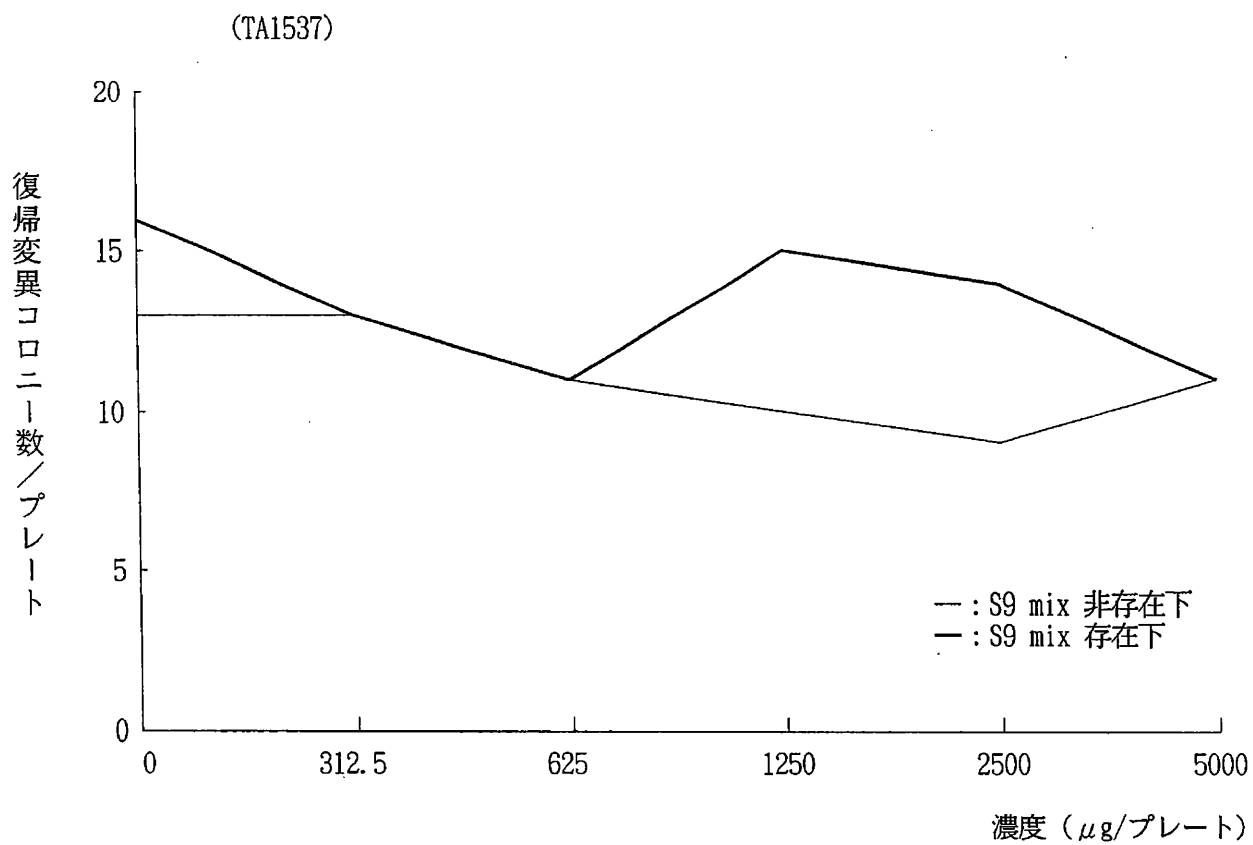


図 2-1 ビス(1-メチルエチル)ナフタレンの復帰突然変異試験結果—本試験 2 回目

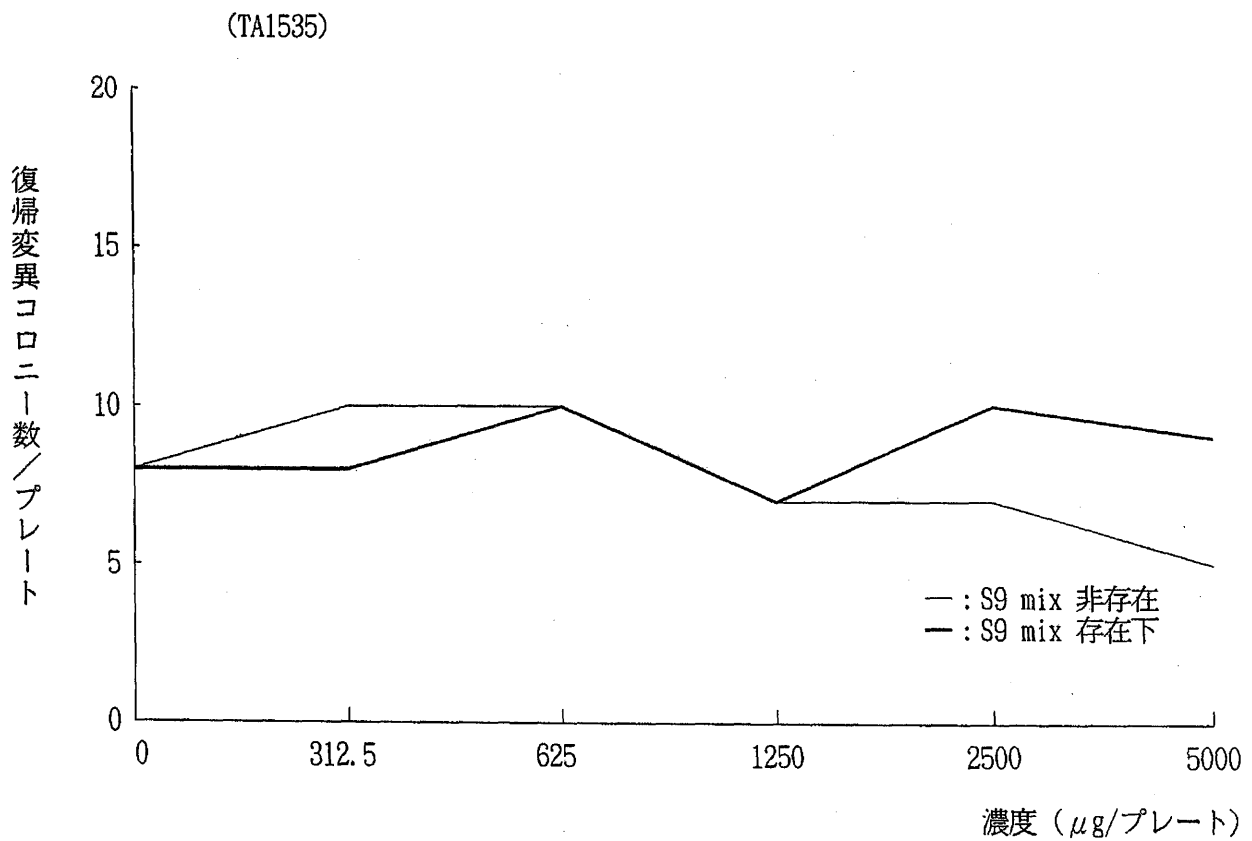
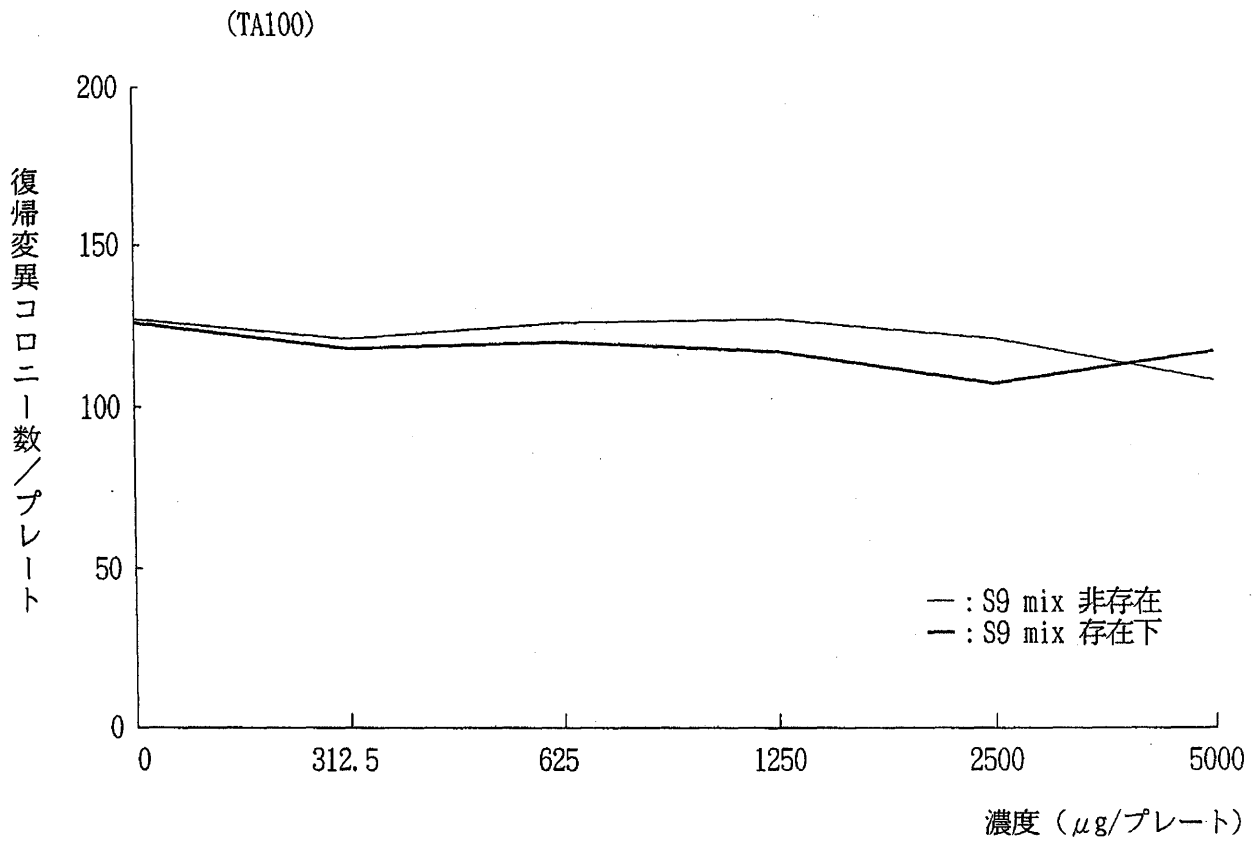


図 2-2 ビス(1-メチルエチル)ナフタレンの復帰突然変異試験結果—本試験2回目

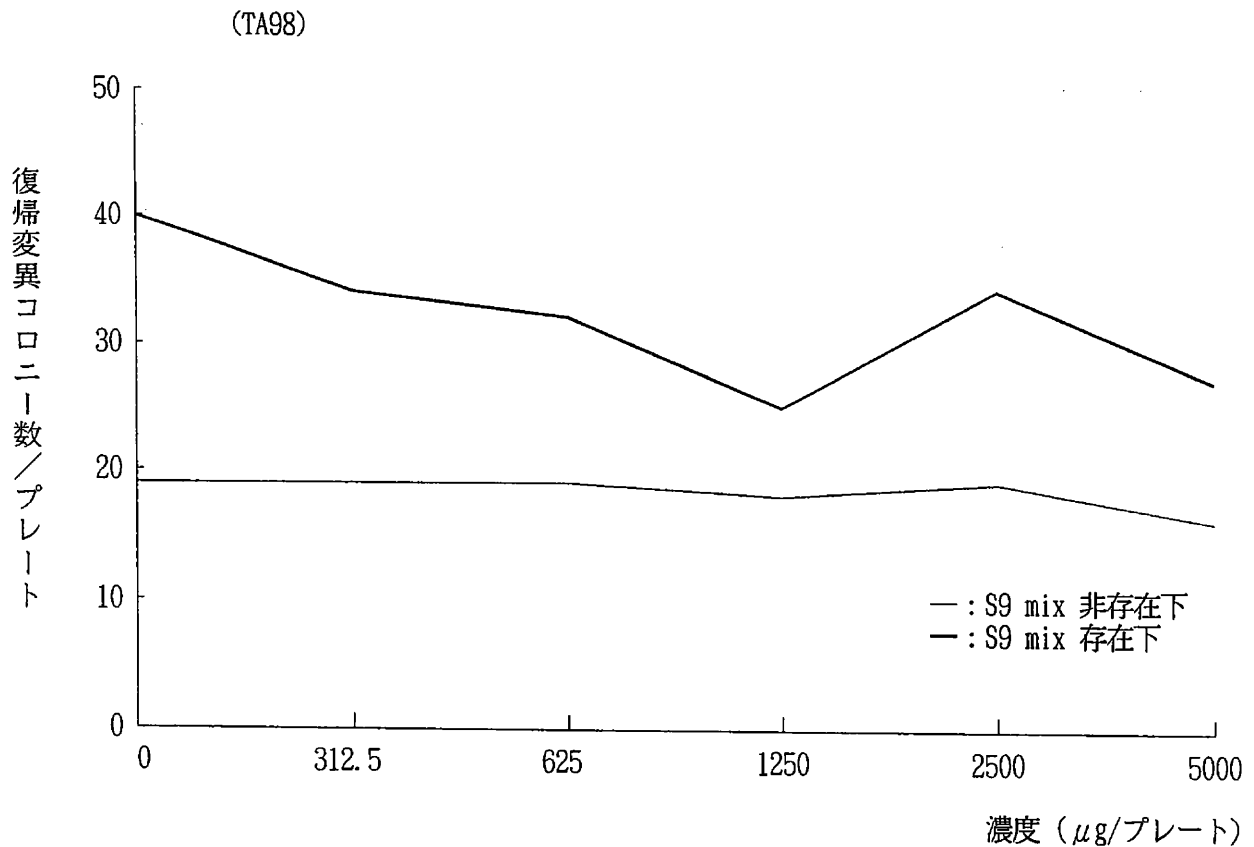
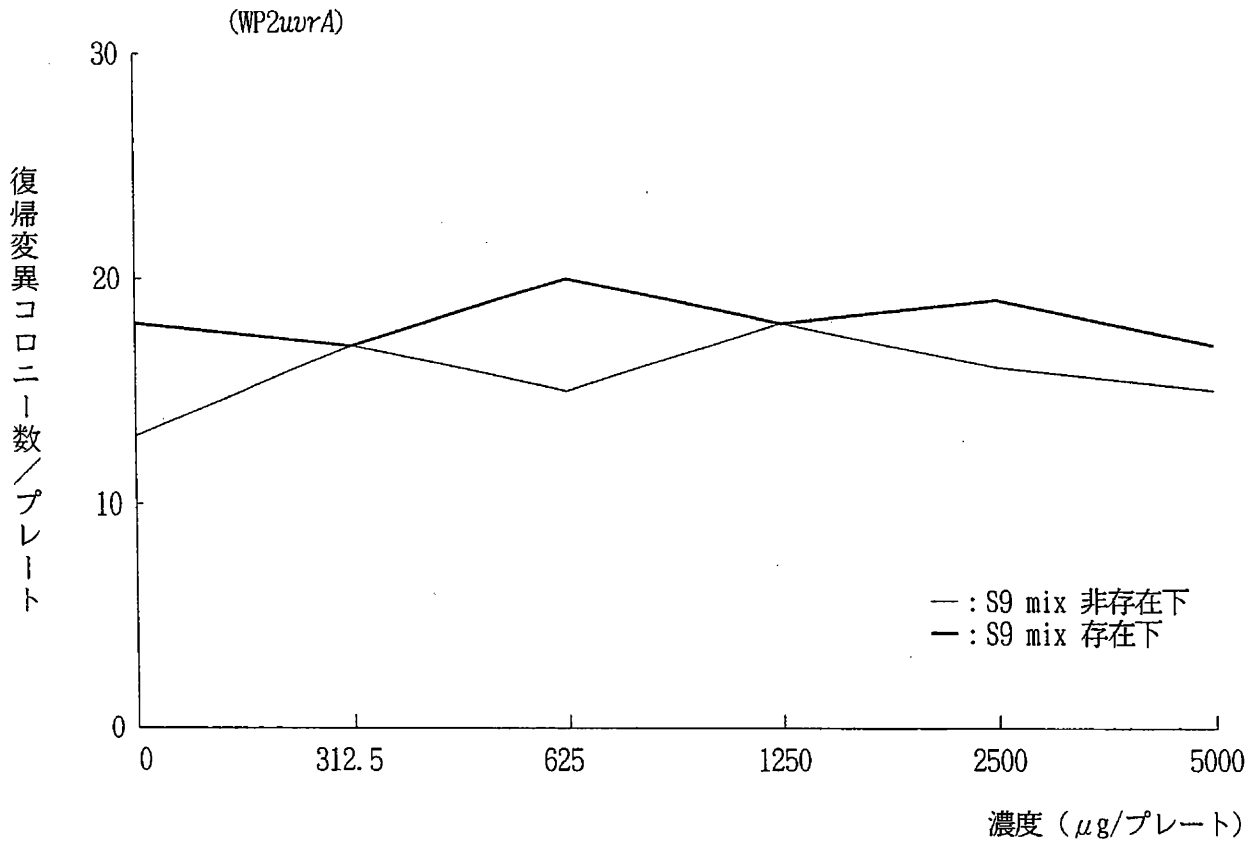


図 2-3 ビス(1-メチルエチル)ナフタレンの復帰突然変異試験結果—本試験 2 回目

