



3-メチル-1, 5-ペンタンジオール
の細菌を用いる
復帰突然変異試験

厚生省生活衛生局 委託

財団法人食品薬品安全センター

秦野研究 所

【目 次】

	頁
要 約	1
緒 言	2
材 料 お よ び 方 法	3
結 果 お よ び 考 察	7
結 論	8
特 記 事 項	9
文 献	9
Tables 1~5	

【要 約】

3-メチル-1,5-ペンタンジオールの変異原性の有無を、細菌を用いる復帰突然変異試験により検討し、陰性の結果を得た。

検定菌として、*Salmonella typhimurium* TA100、TA1535、TA98、TA1537 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* の5菌株を用い、S9 mix 無添加および添加の条件でプレインキュベーション法により用量設定試験、2回の本試験、再現性試験および追加試験を行った。用量設定試験を 50.0~5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の用量で行ったところ、すべての検定菌において S9 mix 無添加試験および添加試験のいずれも抗菌性は認められなかった。したがって、本試験では S9 mix 無添加試験および添加試験を 313~5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の範囲で用量を設定して実施した。また、TA1537 の S9 mix 無添加試験では、本試験 I の最高用量の 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ と、本試験 II の 313 と 625 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ において、変異コロニー数が溶媒対照値の2倍以上となったため、本試験と同一の用量で再現性試験 I を実施した。その結果、2500 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上で変異コロニー数が溶媒対照値の2倍以上となった。しかし、2回の本試験、再現性試験とも、その溶媒対照値はいずれも10以下であり、2回の本試験では用量依存性もみられなかったことから、変異コロニー数の偶発的な増加の可能性が考えられた。そこで、本試験 I と再現性試験で、ともに変異コロニー数が溶媒対照値の2倍以上となった 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ を最高用量とし、公差 1000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ で5用量を設定して追加試験を実施した。

その結果、TA1537 の S9 mix 無添加試験においては、変異コロニー数が増加する傾向は全く認められなかったことから、2回の本試験と再現性試験で認められた変異コロニー数の増加は偶発的なものと判断された。TA1537の S9 mix 添加試験およびその他の検定菌においては、溶媒対照値の2倍以上となる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、3-メチル-1,5-ペンタンジオールは、用いた試験系において変異原性を有しない（陰性）と判定された。

【緒 言】

既存化学物質安全性点検に係る毒性調査事業の一環として、3-メチル-1,5-ペンタンジオールの細菌を用いる復帰突然変異試験をプレインキュベーション法¹⁾により実施した。

この試験は、サルモネラ（ネズミチフス菌）におけるヒスチジン要求性から非要求性への復帰突然変異²⁾、ならびに大腸菌におけるトリプトファン要求性から非要求性への復帰突然変異^{3, 4)}を指標とした変異原性の検出系である。

試験は、哺乳動物のもつ薬物代謝酵素（S9 mix）によって産生される被験物質の代謝物の変異原性を試験する S9 mix 添加試験と、被験物質をそのまま検定菌に作用させる S9 mix 無添加試験とからなっている。

本試験は、「新規化学物質に係る試験の方法について」（昭和62年3月31日、環保業第237号、薬発第306号、62基局第303号）および「OECD毒性試験ガイドライン：471、472」に準拠し、「化学物質GLP基準」（昭和59年3月31日、環保業第39号、薬発第229号、59基局第85号、改訂昭和63年11月18日、環企研第233号、衛生第38号、63基局第823号）に基づいて実施した。

【材料および方法】

〔検 定 菌〕

Salmonella typhimurium TA100
Salmonella typhimurium TA1535
Escherichia coli WP2 *uvrA*
Salmonella typhimurium TA98
Salmonella typhimurium TA1537

S. typhimurium の4菌株は1975年10月31日に
から分与を受けた。

E. coli WP2 *uvrA* 株は1979年5月9日に
から分与
を受けた。

検定菌は -80°C 以下で凍結保存したものを用い、各菌株の特性確認は、凍結保存菌の調製時に、アミノ酸要求性、UV感受性、および膜変異 (*rfa*) とアンピシリン耐性因子 pKM 101 (プラスミド) の有無について調べ、特性が維持されていることを確認した。

試験に際して、ニュートリエントブロスNo.2 (Oxoid) を入れたL字型試験管に解凍した種菌を一定量接種し、 37°C で10時間往復振とう培養したものを検定菌液とした。

〔被 験 物 質〕

3-メチル-1,5-ペンタンジオール (略称:MPD、CAS No. 4457-71-0) は、分子量 118.18 の無色透明液体である。構造式等は Appendix に示した。用いた被験物質は、ロット番号
純度 99.18 wt% (不純物:0.019% 水分) であり、
から供与された。
被験物質は、使用時まで乾燥窒素でシールし、室温で保管した。なお、試験終了後に(株)クラレにおいて、被験物質の化学分析を行った結果、純度は 99.25 wt% であった。

MPDは、局方注射用水 (ロット番号:K5A80、(株)大塚製薬工場) に溶解して最高濃度の調製液を調製した後、同溶媒で公比約3ないし2で希釈し、速やかに試験に用いた。ただし、追加試験では等差になるように希釈を行った。

〔陽性対照物質〕

用いた陽性対照物質およびその溶媒は以下のとおりである。

AF2	: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド (上野製薬(株))	ロット番号 46,	純度99.9%
SA	: アジ化ナトリウム (和光純薬工業(株))	ロット番号 TWR3330,	純度90%以上)
9AA	: 9-アミノアクリン (Sigma Chem. Co.)	ロット番号 96F05641,	純度98%以上)
2AA	: 2-アミノアントラセン (和光純薬工業(株))	ロット番号 DSF2950,	純度90%以上)

AF2 および 2AA はジメチルスルホキシド (DMSO、和光純薬工業(株)) に溶解したものを -20°C で凍結保存し、用時解凍した。9AA は DMSO に、SA は純水に溶解し、速やかに試験に用いた。

〔培地および S9 mix の組成〕

1) トップアガー (TA菌株用)

下記の水溶液 (A) および (B) を容量比 10:1 の割合で混合した。

(A) バクアガー (Difco)	0.6%	(B)* L-ヒスチジン	0.5 mM
塩化ナトリウム	0.5%	D-ビオチン	0.5 mM

* : WP2 *uvrA* 用には、0.5 mM L-トリプトファン水溶液を用いた。

2) 合成培地

培地は、極東製薬工業(株)製の最少寒天培地 (ロット番号: HY0302、1995年9月29日製造および HY0603、同年12月15日製造) を用いた。なお、培地 1 l あたりの組成は下記のとおりである。

硫酸マグネシウム・7水和物	0.2 g	水酸化ナトリウム	0.66 g
クエン酸・1水和物	2 g	グルコース	20 g
リン酸水素二カルシウム	10 g	バクアガー (Difco)	15 g
リン酸一アンモニウム	1.92 g		

径 90 mm のシャーレ 1 枚あたり 30 ml を流して固めてある。

3) S9 mix (1 ml中下記の成分を含む)

S9**	0.1 ml	NADH	4 μ mol
塩化マグネシウム	8 μ mol	NADPH	4 μ mol
塩化カリウム	33 μ mol	ナトリウム-リン酸緩衝液 (pH 7.4)	100 μ mol
グルコース-6-リン酸	5 μ mol		

** : 7週齢の Sprague-Dawley 系雄ラットをフェノバルビタール(PB)および 5, 6-ベンゾフラボン(BF)の併用投与で酵素誘導して作製した S9 (キッコーマン株、ロット番号 RAA-333、1995年9月8日製造および RAA-338、同年12月15日製造)を用いた。PB および BF の投与量は1日目 PB 30 mg/kg、2日目 PB 60 mg/kg、3日目 PB 60 mg/kg および BF 80 mg/kg、4日目 PB 60 mg/kg であり、いずれも腹腔内投与したもので、ラットの解剖および S9 の調製は5日目であった。

(試験方法)

ブレインキューベーション法により、S9 mix 無添加試験および S9 mix 添加試験を行った。

小試験管中に、被験物質調製液 0.1 ml、リン酸緩衝液 0.5 ml (S9 mix 添加試験においては S9 mix 0.5 ml)、検定菌液 0.1 ml を混合し、37°Cで20分間往復振とう培養したのち、トップアガー 2 mlを加えて混和し、合成培地平板上に流して固めた。また、対照群として被験物質調製液の代わりに使用溶媒、または数種の陽性対照物質溶液を用いた。各検定菌ごとの陽性対照物質の名称および用量は各Table 中に示した。溶媒および陽性対照群は、同時に実施した他の試験と共通とした。培養は37°Cで48時間行い、生じた変異コロニー数を算定した。抗菌性の有無については、肉眼的あるいは実体顕微鏡下で、寒天表面の菌膜の状態から判断した。用いた平板は用量設定試験においては、溶媒および陽性対照群では3枚ずつ、各用量については1枚ずつとした。また、本試験、再現性試験および追加試験においては、両対照群および各用量につき、3枚ずつを用い、それぞれその平均値と標準偏差を求めた。用量設定試験は1回、本試験は同一用量について2回実施し、結果の再現性の確認を行った。また、TA1537 の S9 mix 無添加試験については、結果の再現性を更に確認するために、再現性試験および追加試験を実施した。

〔判定基準〕

用いた5種の検定菌のうち、1種以上の検定菌の S9 mix 無添加あるいは S9 mix 添加条件において、被験物質を含有する平板上における変異コロニー数の平均値が、溶媒対照のそれに比べて2倍以上に増加し、かつ、その増加に再現性あるいは用量依存性が認められた場合に、当該被験物質は本試験系において変異原性を有する（陽性）と判定することとした。ただし、2回の本試験の一方でのみ変異コロニー数の平均値が溶媒対照値の2倍以上となる用量が認められた場合において、その溶媒対照値が10以下であり、変異コロニー数の増加に用量依存性が認められない場合は陰性とする事とした。

【結果および考察】

〔用量設定試験〕

MPDについて 50.0～5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の範囲で公比を約 3 として、試験を実施した (Table 1)。その結果、すべての検定菌の S9 mix 無添加試験および添加試験のいずれにおいても抗菌性は認められなかった。

したがって、本試験における最高用量は、S9 mix 無添加試験および添加試験とも 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ とした。

〔本試験〕

S9 mix 無添加試験および添加試験とともに、313～5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の範囲で公比を 2 として 2 回の本試験を実施した (Table 2、3)。その結果、TA1537 の S9 mix 無添加試験においては、本試験 I の最高用量の 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ および本試験 II の 313 と 625 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ で、溶媒対照値の 2 倍以上となる変異コロニー数を示したが、用量依存性は認められなかった。また、TA1537 の S9 mix 添加試験と、その他の検定菌においては、2 回の本試験とも溶媒対照値の 2 倍以上となる変異コロニー数の増加は認められなかった。

〔再現性試験〕

TA1537 の S9 mix 無添加試験では、本試験 I と本試験 II で、変異コロニー数が溶媒対照値の 2 倍以上となる用量が異なるため、本試験と同一の用量で再現性試験を行った (Table 4)。その結果、2500 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上で溶媒対照値の 2 倍以上となる変異コロニー数の増加が認められ、用量依存性もみられた。

〔追加試験〕

以上の結果から、判定基準に従えば陽性と判定される。しかし、2 回の本試験と再現性試験を通して、溶媒対照値はいずれも 10 以下で、認められた変異コロニー数は、1995 年 10 月から 1996 年 2 月の溶媒対照値の蓄積データの範囲内 (サンプル数: 77、平均値 \pm 3 標準偏差: 11 ± 15) であり、また、2 回の本試験では用量依存性もみられなかったことから、変異コロニー数の偶発的な増加の可能性が考えられた。そこで、確認のために本試験 I と

再現性試験でともに変異コロニー数が溶媒対照値の2倍以上となった、5000 µg/プレート
を最高用量とし、公差 1000 µg/プレート で5用量を設定して追加試験を実施した (Table 5)。
その結果、変異コロニー数が増加する傾向は全く認められなかった。TA1537 の S9
mix 無添加試験では、溶媒対照値が10以下の場合に、偶発的に変異コロニー数が溶媒対照
値の2倍を越える例が時々生じている。したがって、2回の本試験と再現性試験で認めら
れた変異コロニー数の増加は、溶媒対照値が低かったことによる偶発的なものと判断され
た。

MPDについて実施したすべての試験において、陽性対照群ではいずれの検定菌におい
ても変異コロニー数の増加が認められ、溶媒対照群とともに計測された変異コロニー数は
ヒストリカルコントロール値の範囲内であったことから、本試験系の有効性が確認された。

【結 論】

以上の結果に基づき、3-メチル-1,5-ペンタンジオールは、用いた試験系において変
異原性を有しないもの（陰性）と判定した。

【特 記 事 項】

TA1537 の S9 mix 無添加試験においては、2 回の本試験と再現性試験で認められた変異コロニー数の増加が、偶発的なものと判断されたため、試験計画書の判定基準に従わなかった。この他には、試験の全過程を通して、予期し得なかった事態、および試験計画書からの逸脱はなかった。

【文 献】

- 1) Matsushima, T., Sugimura, T., Nagao, M., Yahagi, T., Shirai, A., Sawamura, M.: in "Short-Term Test Systems for Detecting Carcinogens" Norpoth, K.H., Garner, R.C. eds. Springer, Berlin-Heidelberg-New York (1980) pp. 273-285
- 2) Maron, D.M., Ames, B.N.: *Mutat. Res.* 113: 173-215 (1983)
- 3) Venitt, S., Crofton-Sleigh, C.: in "Evaluation of Short-Term Tests for Carcinogens" de Serres, F.J., Ashby, J. eds. Elsevier/North-Holland, New York (1981) pp. 351-360
- 4) Green, M.H.L.: in "Handbook of Mutagenicity Test Procedures" Kilbey, B.J., Legator, M., Nichols, W., Ramel, C. eds. Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford (1984) pp. 161-187

Table 1. Results of preliminary cytotoxicity test in reverse mutation test of 3-methyl-1,5-pentanediol on bacteria

With (+) or without (-) S9 mix	Test substance dose (μg /plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, mean \pm S.D.)															
		Base - pair substitution type									Frameshift type						
		TA100			TA1535			WP2 <i>uvrA</i>			TA98			TA1537			
S9mix (-)	0	127	143	131	18	8	14	30	13	25	27	44	23	22	18	22	
		(134 \pm 8.3)			(13 \pm 5.0)			(23 \pm 8.7)			(31 \pm 11.2)			(21 \pm 2.3)			
	50.0	149			3			27			29			20			
	150	144			5			21			21			18			
	500	137			22			24			38			17			
	1500	157			14			32			22			23			
	5000	157			10			28			34			17			
S9mix (+)	0	123	114	138	13	14	8	26	24	22	25	29	30	8	11	5	
		(125 \pm 12.1)			(12 \pm 3.2)			(24 \pm 2.0)			(28 \pm 2.6)			(8 \pm 3.0)			
	50.0	165			10			26			26			26			
	150	151			10			23			28			14			
	500	160			10			25			40			9			
	1500	137			30			35			28			8			
	5000	155			19			27			34			9			
Positive control S9 mix (-)	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2			9AA			
	Dose (μg /plate)	0.01			0.5			0.01			0.1			80			
Positive control S9 mix (+)	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA			2AA			
	Dose (μg /plate)	1			2			10			0.5			2			
	Number of colonies / plate	318	398	446	348	344	325	119	108	108	620	649	622	601	527	776	
		(387 \pm 64.7)			(339 \pm 12.3)			(112 \pm 6.4)			(630 \pm 16.2)			(635 \pm 127.9)			
	Number of colonies / plate	696	742	802	256	259	277	619	624	548	276	275	284	297	264	233	
		(747 \pm 53.2)			(264 \pm 11.4)			(597 \pm 42.5)			(278 \pm 4.9)			(265 \pm 32.0)			

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene
Purity was 99.18 wt% and 0.019 % water was contained as impurity.

Table 2. Results of reverse mutation test (I) of 3-methyl-1,5-pentenediol on bacteria

With (+) or without (-) S9 mix	Test substance dose (µg /plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, mean ± S.D.)																				
		Base - pair substitution type									Frameshift type											
		TA100			TA1535			WP2 <i>uvrA</i>			TA98			TA1537								
S9mix (-)	0	95	90	95	7	7	11	21	24	30	23	20	14	8	6	7	(93 ± 2.9)	(8 ± 2.3)	(25 ± 4.6)	(19 ± 4.6)	(7 ± 1.0)	
	313	95	96	97	12	6	8	41	22	17	22	15	20	14	11	8	(96 ± 1.0)	(9 ± 3.1)	(27 ± 12.7)	(19 ± 3.6)	(11 ± 3.0)	
	625	79	92	92	7	5	8	26	17	20	27	23	20	15	9	6	(88 ± 7.5)	(7 ± 1.5)	(21 ± 4.6)	(23 ± 3.5)	(10 ± 4.6)	
	1250	103	122	96	9	10	11	20	17	22	30	22	26	11	6	6	(107 ± 13.5)	(10 ± 1.0)	(20 ± 2.5)	(26 ± 4.0)	(8 ± 2.9)	
	2500	100	108	102	11	9	11	22	18	22	20	32	24	14	10	11	(103 ± 4.2)	(10 ± 1.2)	(21 ± 2.3)	(25 ± 6.1)	(12 ± 2.1)	
	5000	90	103	108	6	7	10	18	25	20	25	26	26	17	10	15	(100 ± 9.3)	(8 ± 2.1)	(21 ± 3.6)	(26 ± 0.6)	(14 ± 3.6)	
S9mix (+)	0	116	93	102	11	8	9	20	30	27	19	14	18	4	11	9	(104 ± 11.6)	(9 ± 1.5)	(26 ± 5.1)	(17 ± 2.6)	(8 ± 3.6)	
	313	101	99	126	22	7	10	27	27	25	11	28	21	10	10	8	(109 ± 15.0)	(13 ± 7.9)	(26 ± 1.2)	(20 ± 8.5)	(9 ± 1.2)	
	625	100	127	144	12	13	11	24	24	32	26	20	21	8	4	15	(124 ± 22.2)	(12 ± 1.0)	(27 ± 4.6)	(22 ± 3.2)	(9 ± 5.6)	
	1250	103	106	99	7	9	12	30	33	29	16	18	25	8	9	4	(103 ± 3.5)	(9 ± 2.5)	(31 ± 2.1)	(20 ± 4.7)	(7 ± 2.6)	
	2500	115	102	106	10	12	7	36	45	37	21	25	16	11	5	11	(108 ± 6.7)	(10 ± 2.5)	(39 ± 4.9)	(21 ± 4.5)	(9 ± 3.5)	
	5000	104	90	126	9	5	10	28	31	25	18	19	24	9	10	7	(107 ± 18.1)	(8 ± 2.6)	(28 ± 3.0)	(20 ± 3.2)	(9 ± 1.5)	
Positive control S9 mix (-)	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2			9AA								
	Dose (µg /plate)	0.01			0.5			0.01			0.1			80								
Positive control S9 mix (+)	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA			2AA								
	Dose (µg /plate)	1			2			10			0.5			2								
S9 mix (+)	Number of colonies / plate	536	591	648	266	288	260	432	413	414	656	641	677	558	1059	1013	(592 ± 56.0)	(271 ± 14.7)	(420 ± 10.7)	(658 ± 18.1)	(877 ± 276.9)	
		751	634	786	279	269	235	517	543	554	327	327	357	264	322	324	(724 ± 79.6)	(261 ± 23.1)	(538 ± 19.0)	(337 ± 17.3)	(303 ± 34.1)	

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene
Purity was 99.18 wt% and 0.019 % water was contained as impurity.

Table 3. Results of reverse mutation test (II) of 3-methyl-1,5-pentanediol on bacteria

With (+) or without (-) S9 mix	Test substance dose (µg /plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, mean ± S.D.)																				
		Base - pair substitution type						Frameshift type														
		TA100			TA1535			WP2 <i>uvrA</i>			TA98			TA1537								
S9mix (-)	0	122	125	114	14	10	12	27	29	28	16	27	23	11	11	8	(120 ± 5.7)	(12 ± 2.0)	(28 ± 1.0)	(22 ± 5.6)	(10 ± 1.7)	
	313	111	108	118	11	6	8	25	35	25	16	15	20	24	17	22	(112 ± 5.1)	(8 ± 2.5)	(28 ± 5.8)	(17 ± 2.6)	(21 ± 3.6)	
	625	111	124	123	13	9	15	32	38	30	24	27	22	22	19	20	(119 ± 7.2)	(12 ± 3.1)	(33 ± 4.2)	(24 ± 2.5)	(20 ± 1.5)	
	1250	105	104	117	8	15	10	25	31	37	25	30	30	13	16	14	(109 ± 7.2)	(11 ± 3.6)	(31 ± 6.0)	(28 ± 2.9)	(14 ± 1.5)	
	2500	127	117	91	11	10	10	37	21	37	32	39	31	13	14	21	(112 ± 18.6)	(10 ± 0.6)	(32 ± 9.2)	(34 ± 4.4)	(16 ± 4.4)	
	5000	112	103	117	10	8	15	31	31	22	36	30	23	17	18	15	(111 ± 7.1)	(11 ± 3.6)	(28 ± 5.2)	(30 ± 6.5)	(17 ± 1.5)	
S9mix (+)	0	126	153	140	13	13	12	34	14	27	25	30	29	24	18	8	(140 ± 13.5)	(13 ± 0.6)	(25 ± 10.1)	(28 ± 2.6)	(17 ± 8.1)	
	313	110	116	92	13	8	8	27	18	16	32	24	26	8	2	6	(106 ± 12.5)	(10 ± 2.9)	(20 ± 5.9)	(27 ± 4.2)	(5 ± 3.1)	
	625	141	107	127	13	7	10	14	19	21	27	27	25	5	6	13	(125 ± 17.1)	(10 ± 3.0)	(18 ± 3.6)	(26 ± 1.2)	(8 ± 4.4)	
	1250	128	115	135	12	14	11	20	26	27	20	32	24	5	13	6	(126 ± 10.1)	(12 ± 1.5)	(24 ± 3.8)	(25 ± 6.1)	(8 ± 4.4)	
	2500	134	122	130	4	10	9	21	16	26	35	34	28	5	13	7	(129 ± 6.1)	(8 ± 3.2)	(21 ± 5.0)	(32 ± 3.8)	(8 ± 4.2)	
	5000	117	101	115	11	7	12	24	27	31	27	24	28	9	9	8	(111 ± 8.7)	(10 ± 2.6)	(27 ± 3.5)	(26 ± 2.1)	(9 ± 0.6)	
Positive control S9 mix (-)	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2			9AA								
	Dose (µg /plate)	0.01			0.5			0.01			0.1			80								
Positive control S9 mix (+)	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA			2AA								
	Dose (µg /plate)	1			2			10			0.5			2								
S9 mix (-)	Number of colonies / plate	545	640	645	322	347	336	278	232	248	690	635	630	813	857	709	(610 ± 56.3)	(335 ± 12.5)	(253 ± 23.4)	(652 ± 33.3)	(793 ± 76.0)	
	Number of colonies / plate	685	788	840	323	317	353	833	833	804	488	261	338	310	323	278	(771 ± 78.9)	(331 ± 19.3)	(823 ± 16.7)	(362 ± 115.4)	(304 ± 23.2)	

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene
Purity was 99.18 wt% and 0.019 % water was contained as impurity.

Table 4. Results of confirmation test in reverse mutation test of 3-methyl-1,5-pentanediol on bacteria

With (+) or without (-)	Test substance dose (µg /plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, mean ± S.D.)					
		Frameshift type					
S9 mix		TA1537					
S9 mix (-)	0					5 4 13 (7 ± 4.9)	
	313					8 7 8 (8 ± 0.6)	
	625					1 8 13 (7 ± 6.0)	
	1250					16 14 7 (12 ± 4.7)	
	2500					10 15 17 (14 ± 3.6)	
	5000					18 16 11 (15 ± 3.6)	
Positive control	Chemical					9AA	
	Dose (µg /plate)					80	
S9 mix (-)	Number of colonies / plate					1607 1393 1388 (1463 ± 125.0)	

9AA: 9-Aminoacridine
Purity was 99.18 wt% and 0.019 % water was contained as impurity.

