最 終 報 告 書

1－ナフトール－4－スルホン酸ナトリウムの細菌を用いる復帰突然変異試験

（試験番号：99-180）

財団法人　畜産生物科学安全研究所

Study No. 99-180

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 …… 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 …… 6

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） …… 7

10. 本試験 …… 7

1）用量設定 …… 7

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） …… 8

11. 無菌試験 …… 8

12. 試験の有効性 …… 8

13. 結果の判定 …… 8

結果 …… 9

結論および参考事項 …… 9

参考文献 …… 10

表：

表 1-1　S9 mix 非存在下における１－ナフトール－４－スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔用量設定試験－直接法〕 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 12

表 1-2　S9 mix 存在下における１－ナフトール－４－スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔用量設定試験－代謝活性化法〕 ・・・・・・・・・・・ 13

表 2-1　S9 mix 非存在下における１－ナフトール－４－スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験１回目－直接法〕 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 14

表 2-2　S9 mix 存在下における１－ナフトール－４－スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験１回目－代謝活性化法〕 ・・・・・・・・・・・ 15

表 3-1　S9 mix 非存在下における１－ナフトール－４－スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験２回目－直接法〕 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 16

表 3-2　S9 mix 存在下における１－ナフトール－４－スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔本試験２回目－代謝活性化法〕 ・・・・・・・・・・・ 17

図：

図 1-1　１－ナフトール－４－スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験１回目 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 18

図 1-2　１－ナフトール－４－スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験１回目 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 19

図 1-3　１－ナフトール－４－スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験１回目 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 20

図 2-1　１－ナフトール－４－スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験２回目 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 21

図 2-2　１－ナフトール－４－スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験２回目 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 22

図 2-3　１－ナフトール－４－スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験２回目 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 23

要　約

1－ナフトール－4－スルホン酸ナトリウムの遺伝子突然変異誘発性の有無を調べるため，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* WP2*uvrA*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，5000μg/プレートまでの用量で代謝活性化の有無にかかわらず，全ての菌株において生育阻害が認められなかったため，313～5000μg/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，1－ナフトール－4－スルホン酸ナトリウム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。

試験目的

この試験は，１－ナフトール－４－スルホン酸ナトリウム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(略号)：　１－ナフトール－４－スルホン酸ナトリウム（NSA）

別名　Nevile-Winther's acid sodium salt

ＣＡＳ番号：　6099-57-6

ロット番号：

純　　度：　95.7 ％（平成11年11月10日分析）

不純物　水：3.2 ％，塩化ナトリウム：1.0 ％

入手先(製造元)：

入　手　日：　平成11年12月20日

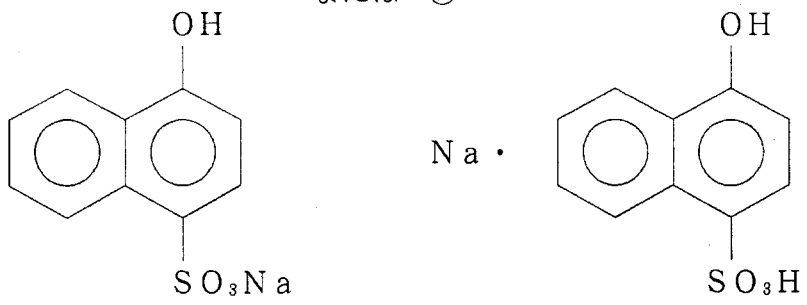
入　手　量：　250 g

物　性　等：

化 学 名　1-Naphthol-4-sulfonic acid sodium salt

構 造 式

①　　または　②



分 子 式　①$C_{10}H_7O_4SNa$　または　②$C_{10}H_8O_4SNa$

分 子 量　①246.21　または　②247.21

性状(常温)　白色粉末

溶 解 性　水に可溶

安　定　性：　安定〔実験終了後，残余被験物質を　　:において分析（平成12年3月29日）した結果，純度は 95.6%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　WP2*uvrA*

（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 ACH7185，99.9%）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 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 44077JK）液体培地 15 mL に接種し，37℃で 12 時間振盪培養した。培養後の懸濁菌液については，分光光度計で吸光度（OD_{660nm}）を測定し，濁度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（$\times10^9$/mL）

指標菌株	TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
用量設定試験	1.38	1.53	1.30	1.33	1.14
本試験（1回目）	1.50	1.72	1.47	1.33	1.17
本試験（2回目）	1.46	1.72	1.43	1.44	1.17

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-417，1999年12月24日製造，2000年1月21日購入）。凍結 S9 mix は－80℃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

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： 206～247g

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, 2，3，4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×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

被験物質は水に可溶であるため，溶媒には蒸留水（株式会社大塚製薬工場，ロット番号 K9G84）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蒸留水を用いた。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)
WP2*uvrA*	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 ACH7185，TPE7144，99.9%）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K7B87，K9G84）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 7001）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 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．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，全指標菌株について，156, 313, 625, 1250, 2500 および 5000 μg/プレートの 6 用量を用いて，本試験と同様の実験方法で試験を行った。試験は各用量 1 枚のプレートで行った。

その結果（表 1-1, 1-2），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用量において，菌の生育阻害は認められなかった。

10. 本試験

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ともに最高用量を試験法ガイドラインで規定されている上限量の 5000 μg/プレートとし，以下公比 2 で 2500, 1250, 625 および 313 μg/プレートの計 5 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）

滅菌小試験管に前培養した懸濁菌液 0.1 mL，被験物質の供試液 0.1 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℃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（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 ANI620KO 1999年11月30日製造，2000年 1 月13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）に寒天粉末を 1.5%およびグルコースを 2 %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（蒸留水）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）

滅菌小試験管に前培養した懸濁菌液 0.1 mL，被験物質の供試液 0.1 mL および S9 mix 0.5 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（蒸留水）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 0.6%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℃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，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も，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。その他，実験中，被験物質の析出等，特記すべき変化は認められなかった。

結論および参考事項

1－ナフトール－4－スルホン酸ナトリウムの変異原性に関する報告は見当たらない。本物質の類縁化合物について，2－ナフトール－3，6－ジスルホン酸ナトリウムは，*S. typhimurium* および *E. coli*を用いた復帰突然変異試験[3]並びに CHL/IU 細胞を用いた染色体異常試験[4]でいずれも陰性と報告されている。2－アミノ－5－ナフトール－7－スルホン酸は，*S. typhimurium*および *E. coli*を用いた復帰突然変異試験で陽性[5]，CHL/IU 細胞を用いた染色体異常試験では陰性[6]と報告されている。また，1－ナフトールは，*S. typhimurium* を用いた復帰突然変異試験およびシリアンハムスター由来の BHK21C113 細胞を用いたトランスフォーメーション試験でともに陰性[7]，2－ナフトールは，*S. typhimurium* を用いた復帰突然変異試験で陰性，ＤＮＡ修復試験では枯草菌を用

いた場合は陰性，大腸菌を用いた場合は陽性[8]で，シリアンハムスター由来の BHK21C113 細胞を用いたトランスフォーメーション試験では陰性[7]，がん原性については陰性と報告されている[8]。

今回，１－ナフトール－４－スルホン酸ナトリウム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，すべ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，１－ナフトール－４－スルホン酸ナトリウムの遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

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） 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室　監修，“化学物質毒性試験報告 Vol.6” 化学物質点検推進連絡協議会，東京，1998，pp.372-375.

4） 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室　監修，“化学物質毒性試験報告 Vol.6” 化学物質点検推進連絡協議会，東京，1998，pp.376-379.

5） 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室　監修，“化学物質毒性試験報告 Vol.4” 化学物質点検推進連絡協議会，東京，1996，pp.69-72.

6） 厚生省生活衛生局企画課生活化学安全対策室　監修，“化学物質毒性試験報告 Vol.4” 化学物質点検推進連絡協議会，東京，1996，pp.73-76.

7） 賀田恒夫，石館　基　監修，“環境変異原データ集１” サイエンティスト社，東京，1980，p.289.

8) Suter, W. and Iaeger I. (1982). Comparative evaluation of different pairs of DNA repair-deficient and DNA repair-proficient bacterial tester strains for rapid detection of chemical mutagens and carcinogens, *Mutation Research*, **97**, 1-18.

表 1-1　S9 mix 非存在下における1-ナフトール-4-スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔用量設定試験－直接法〕

用　量	復帰変異コロニー数／プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
〔μg/プレート〕	TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
陰性対照〔D.W.〕	113	10	20	28	8
156	106	11	24	33	9
313	114	8	27	29	7
625	116	11	17	34	8
1250	104	8	28	38	9
2500	121	5	28	30	9
5000	117	8	20	29	5
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	805	430	1032	254	450

(　): 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
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1-ナフトール-4-スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果〔用量設定試験－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*uvrA*	TA98	TA1537
陰性対照〔D.W.〕	110	10	31	38	17
156	142	14	31	43	9
313	119	8	30	46	13
625	135	8	31	44	11
1250	118	11	32	46	7
2500	137	11	23	36	13
5000	135	12	27	36	12
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	357	171	767	269	122

(　): 平均値±標準偏差
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1-ナフトール-4-スルホン酸ナトリウムの
復帰突然変異試験結果〔本試験1回目－直接法〕

用　量	復帰変異コロニー数／プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
〔μg/プレート〕	TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
陰性対照	119	10	27	26	9
〔D.W.〕	128	11	19	23	6
	104	10	20	28	10
	〔 117 ±12 〕	〔 10 ± 1 〕	〔 22 ± 4 〕	〔 26 ± 3 〕	〔 8 ± 2 〕
	109	12	22	22	6
313	117	12	16	17	7
	127	9	19	20	8
	〔 118 ± 9 〕	〔 11 ± 2 〕	〔 19 ± 3 〕	〔 20 ± 3 〕	〔 7 ± 1 〕
	126	7	20	25	11
625	119	5	29	32	12
	119	7	26	27	6
	〔 121 ± 4 〕	〔 6 ± 1 〕	〔 25 ± 5 〕	〔 28 ± 4 〕	〔 10 ± 3 〕
	134	8	20	23	10
1250	120	8	10	25	5
	121	7	22	21	8
	〔 125 ± 8 〕	〔 8 ± 1 〕	〔 17 ± 6 〕	〔 23 ± 2 〕	〔 8 ± 3 〕
	121	7	20	31	10
2500	111	9	13	24	7
	120	8	23	32	9
	〔 117 ± 6 〕	〔 8 ± 1 〕	〔 19 ± 5 〕	〔 29 ± 4 〕	〔 9 ± 2 〕
	134	10	23	27	9
5000	95	14	23	31	5
	107	8	17	24	6
	〔 112 ±20 〕	〔 11 ± 3 〕	〔 21 ± 3 〕	〔 27 ± 4 〕	〔 7 ± 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	742	394	1029	310	618
コロニー数	774	455	1025	313	539
／プレート	740	429	1032	286	780
	〔 752 ±19 〕	〔 426 ±31 〕	〔1029 ± 4 〕	〔 303 ±15 〕	〔 646 ±123 〕

(　)：平均値±標準偏差
＊　：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 2-2　S9 mix 存在下における1-ナフトール-4-スルホン酸ナトリウムの
復帰突然変異試験結果〔本試験1回目－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*uvrA*	TA98	TA1537
陰性対照	114	7	28	43	17
〔D.W.〕	115	11	32	41	18
	119	14	24	33	14
	〔116 ± 3〕	〔11 ± 4〕	〔28 ± 4〕	〔39 ± 5〕	〔16 ± 2〕
	127	9	33	39	18
313	117	10	21	38	18
	136	11	18	38	13
	〔127 ±10〕	〔10 ± 1〕	〔24 ± 8〕	〔38 ± 1〕	〔16 ± 3〕
	136	10	31	32	13
625	129	7	20	43	21
	135	19	22	46	16
	〔133 ± 4〕	〔12 ± 6〕	〔24 ± 6〕	〔40 ± 7〕	〔17 ± 4〕
	130	8	25	38	21
1250	98	13	26	47	11
	134	9	31	37	20
	〔121 ±20〕	〔10 ± 3〕	〔27 ± 3〕	〔41 ± 6〕	〔17 ± 6〕
	121	6	21	36	14
2500	141	12	15	49	16
	132	8	26	30	18
	〔131 ±10〕	〔9 ± 3〕	〔21 ± 6〕	〔38 ±10〕	〔16 ± 2〕
	146	8	18	41	15
5000	110	15	16	47	19
	133	9	25	33	13
	〔130 ±18〕	〔11 ± 4〕	〔20 ± 5〕	〔40 ± 7〕	〔16 ± 3〕
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	521	199	662	245	79
コロニー数	511	211	695	235	76
／プレート	458	194	795	228	69
	〔497 ±34〕	〔201 ± 9〕	〔717 ±69〕	〔236 ± 9〕	〔75 ± 5〕

(　): 平均値±標準偏差
*　: 菌の生育阻害が認められた。
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1-ナフトール-4-スルホン酸ナトリウムの
復帰突然変異試験結果〔本試験2回目－直接法〕

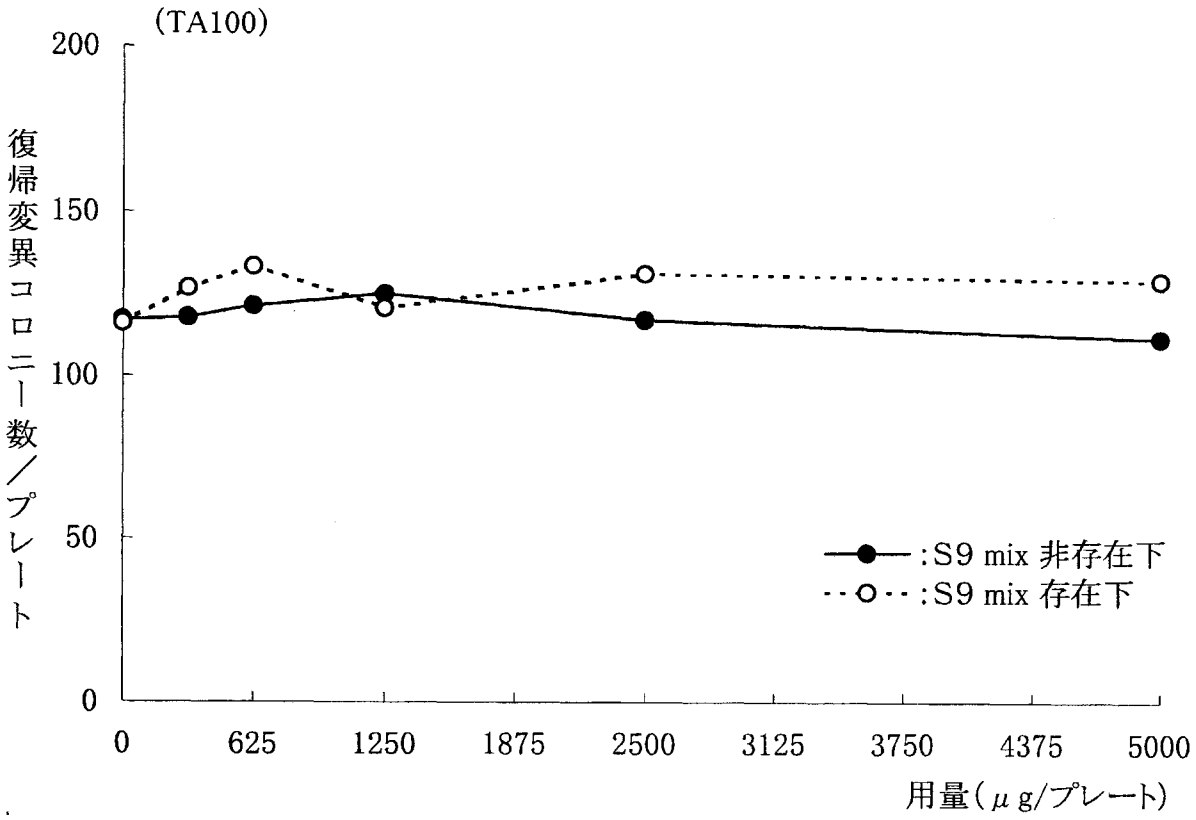
用　量	復帰変異コロニー数／プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
〔μg/プレート〕	TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
陰性対照	121	10	23	25	7
〔D.W.〕	114	6	22	19	9
	119	13	19	22	7
	〔 118 ± 4 〕	〔 10 ± 4 〕	〔 21 ± 2 〕	〔 22 ± 3 〕	〔 8 ± 1 〕
	112	8	16	18	8
313	111	13	17	30	8
	110	13	22	20	9
	〔 111 ± 1 〕	〔 11 ± 3 〕	〔 18 ± 3 〕	〔 23 ± 6 〕	〔 8 ± 1 〕
	100	15	24	24	8
625	90	11	21	30	7
	122	7	22	20	5
	〔 104 ±16 〕	〔 11 ± 4 〕	〔 22 ± 2 〕	〔 25 ± 5 〕	〔 7 ± 2 〕
	115	9	17	24	7
1250	114	9	18	14	8
	114	12	23	27	9
	〔 114 ± 1 〕	〔 10 ± 2 〕	〔 19 ± 3 〕	〔 22 ± 7 〕	〔 8 ± 1 〕
	123	12	12	18	9
2500	127	10	14	21	10
	93	9	27	20	9
	〔 114 ±19 〕	〔 10 ± 2 〕	〔 18 ± 8 〕	〔 20 ± 2 〕	〔 9 ± 1 〕
	109	6	13	29	9
5000	108	11	17	21	7
	104	9	21	28	6
	〔 107 ± 3 〕	〔 9 ± 3 〕	〔 17 ± 4 〕	〔 26 ± 4 〕	〔 7 ± 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	709	414	918	310	595
コロニー数	667	408	902	314	533
／プレート	712	402	930	302	612
	〔 696 ±25 〕	〔 408 ± 6 〕	〔 917 ±14 〕	〔 309 ± 6 〕	〔 580 ±42 〕

(　)：平均値±標準偏差
＊　：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 3-2　S9 mix 存在下における1-ナフトール-4-スルホン酸ナトリウムの
復帰突然変異試験結果〔本試験2回目－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*uvrA*	TA98	TA1537
陰性対照	100	18	31	27	11
〔D.W.〕	104	7	21	37	12
	104	18	22	35	15
	〔103 ± 2〕	〔14 ± 6〕	〔25 ± 6〕	〔33 ± 5〕	〔13 ± 2〕
	139	10	17	28	15
313	133	17	23	38	14
	94	13	18	31	9
	〔122 ±24〕	〔13 ± 4〕	〔19 ± 3〕	〔32 ± 5〕	〔13 ± 3〕
	134	10	21	33	15
625	119	17	22	41	14
	143	15	22	32	7
	〔132 ±12〕	〔14 ± 4〕	〔22 ± 1〕	〔35 ± 5〕	〔12 ± 4〕
	114	10	26	31	13
1250	117	16	27	41	10
	138	16	20	31	14
	〔123 ±13〕	〔14 ± 3〕	〔24 ± 4〕	〔34 ± 6〕	〔12 ± 2〕
	122	14	24	35	11
2500	129	14	18	30	14
	123	14	16	38	11
	〔125 ± 4〕	〔14 ± 0〕	〔19 ± 4〕	〔34 ± 4〕	〔12 ± 2〕
	152	9	24	36	11
5000	128	7	22	32	14
	127	7	21	37	11
	〔136 ±14〕	〔8 ± 1〕	〔22 ± 2〕	〔35 ± 3〕	〔12 ± 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	435	129	707	305	88
コロニー数	441	116	669	279	92
／プレート	470	131	628	312	85
	〔449 ±19〕	〔125 ± 8〕	〔668 ±40〕	〔299 ±17〕	〔88 ± 4〕

（　）：平均値±標準偏差
＊　：菌の生育阻害が認められた。
2-AA：2-アミノアントラセン



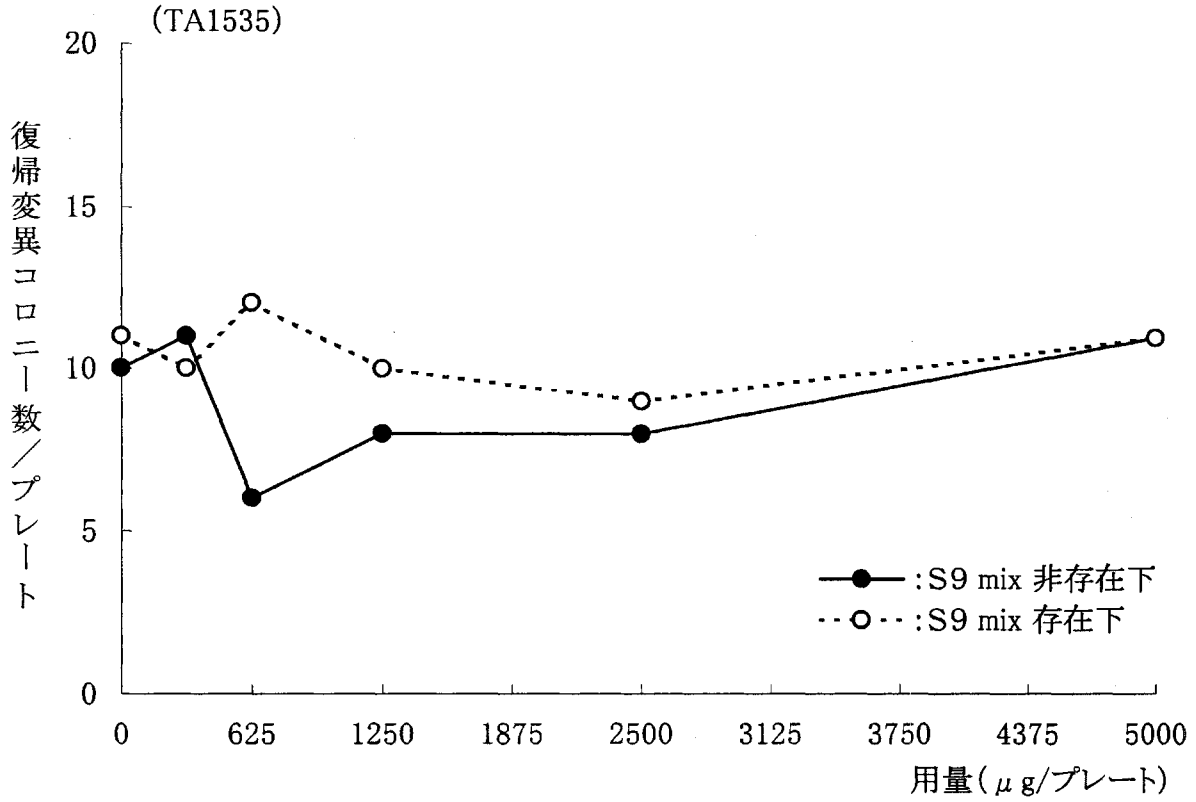
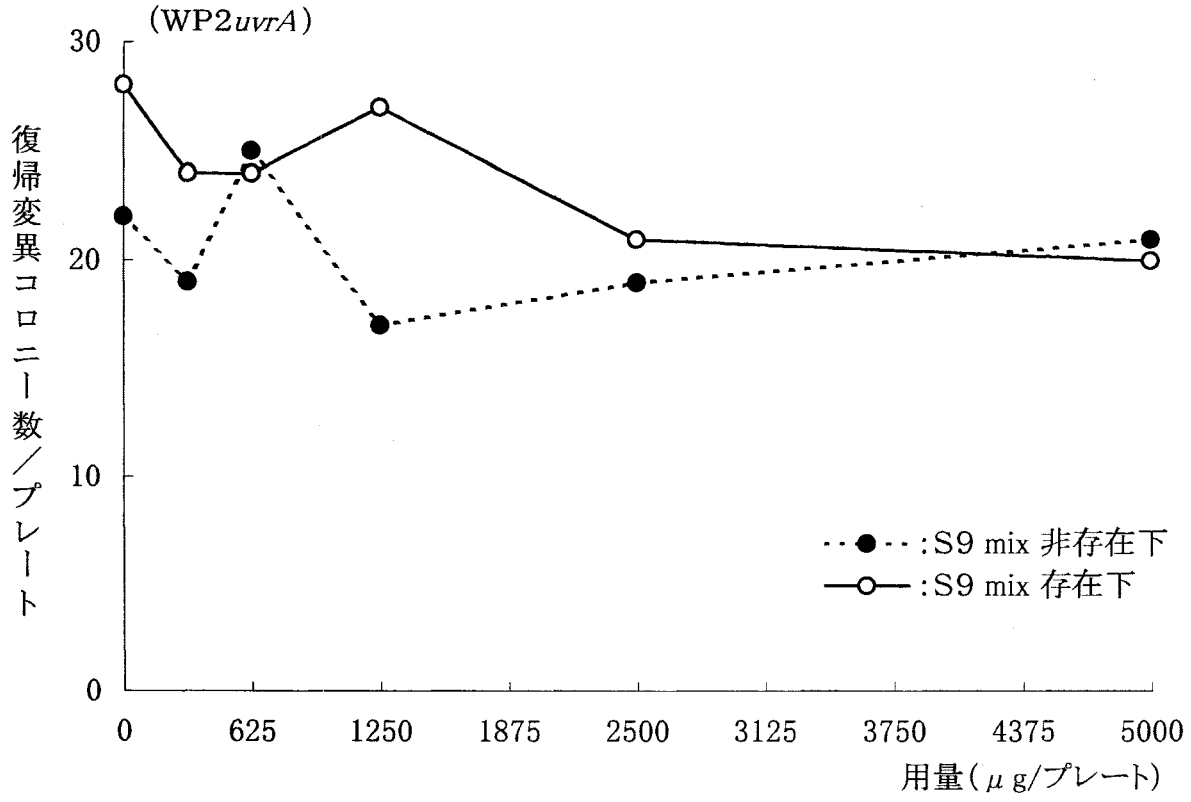


図 1-1　1-ナフトール-4-スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験1回目



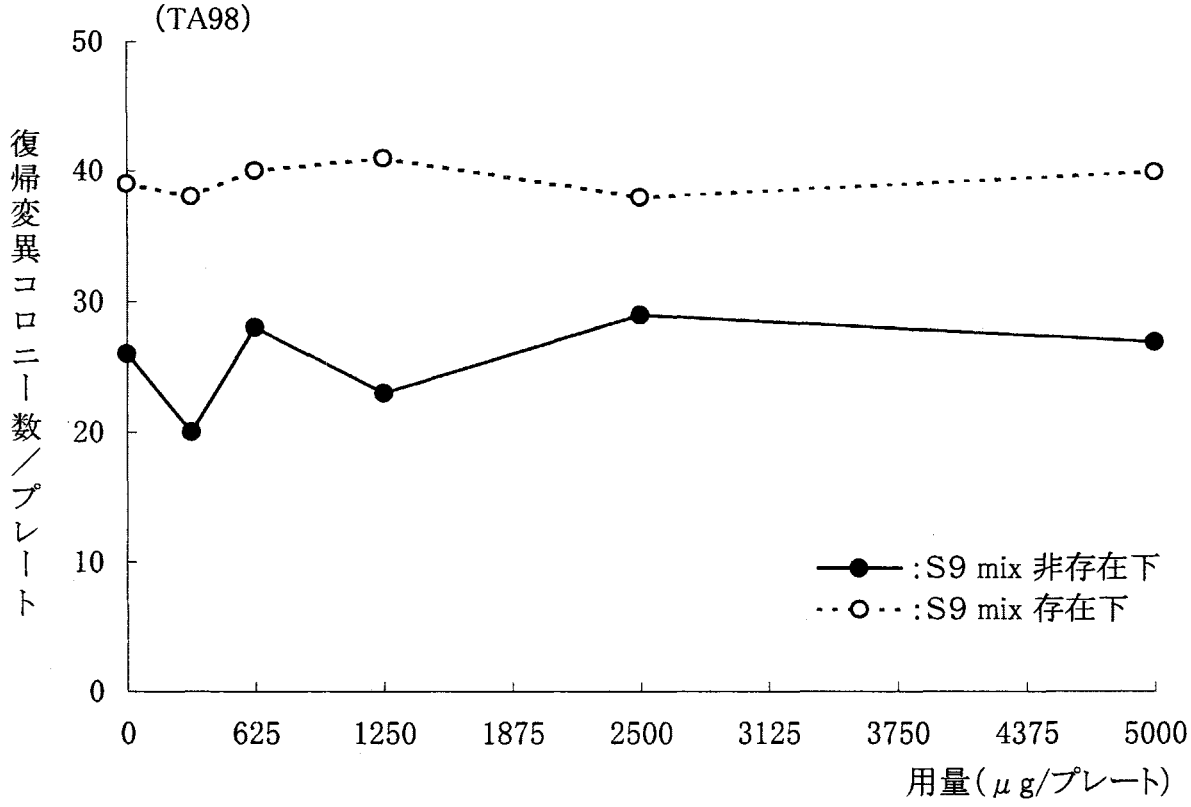


図 1-2　1-ナフトール-4-スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験1回目

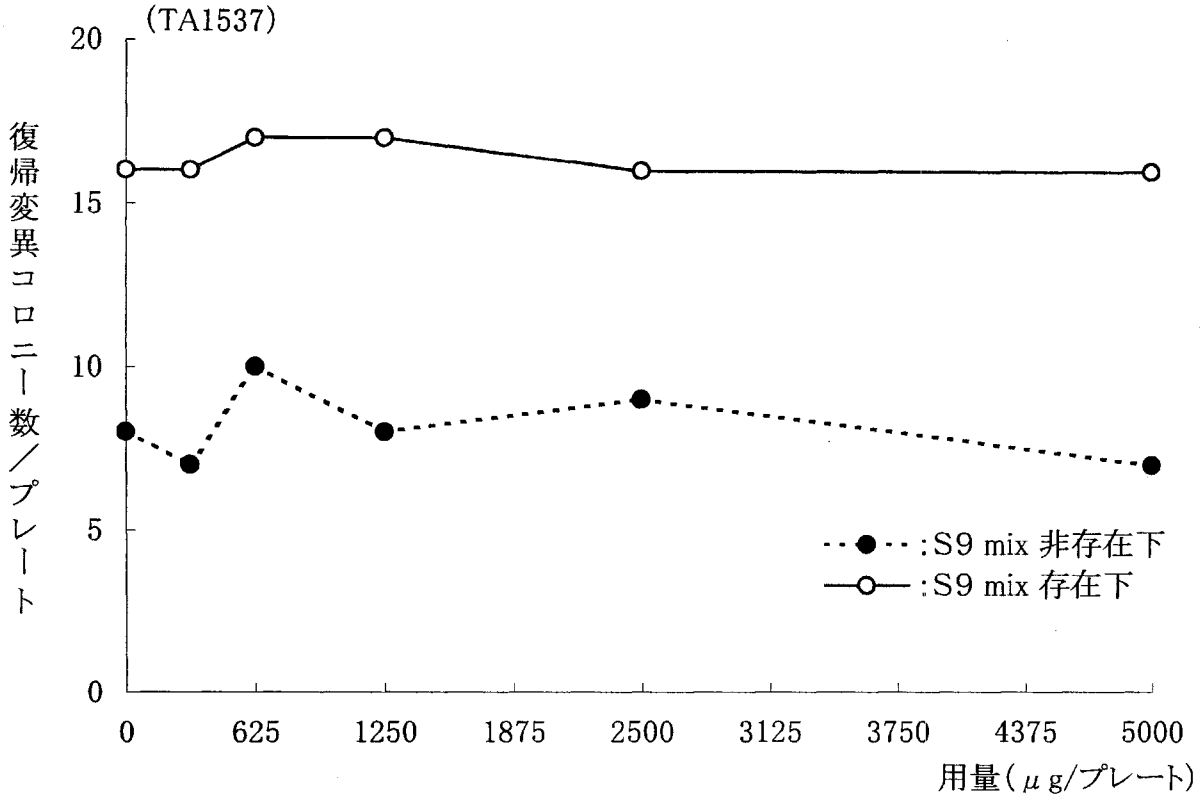
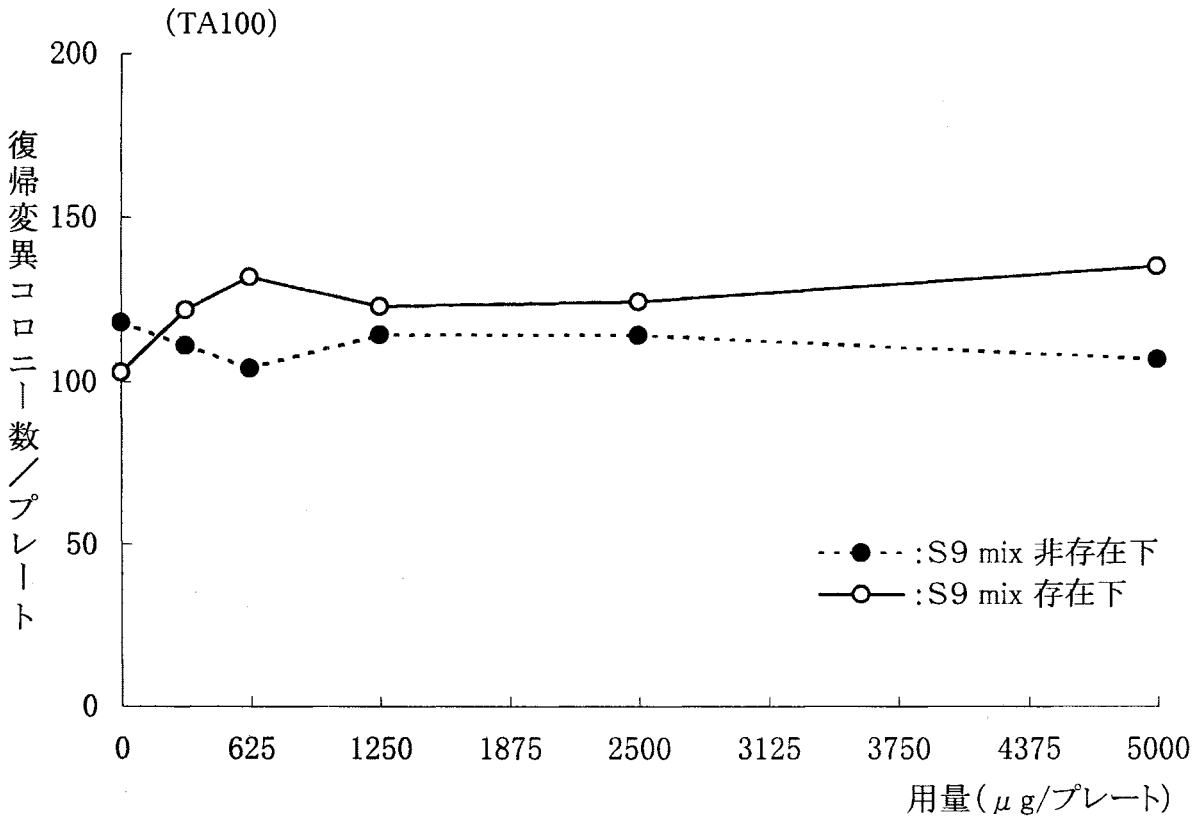


図 1-3　1-ナフトール-4-スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験1回目



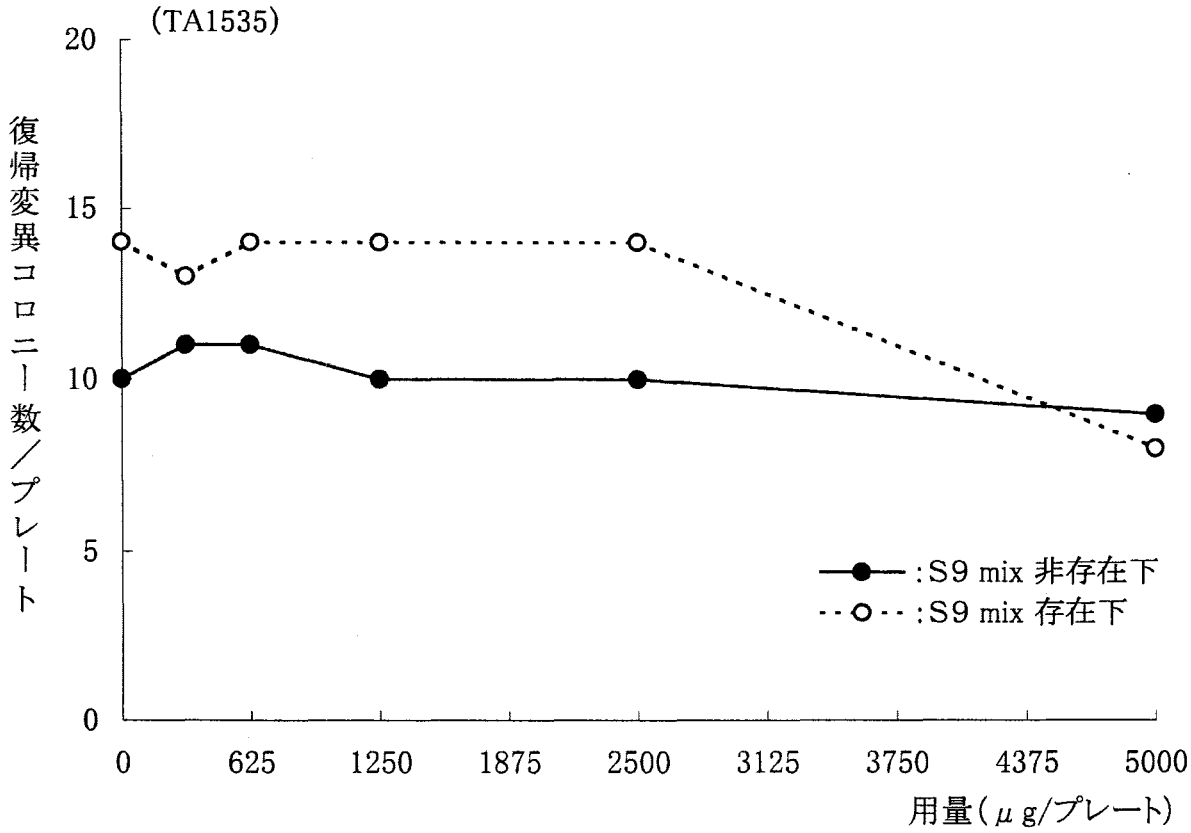
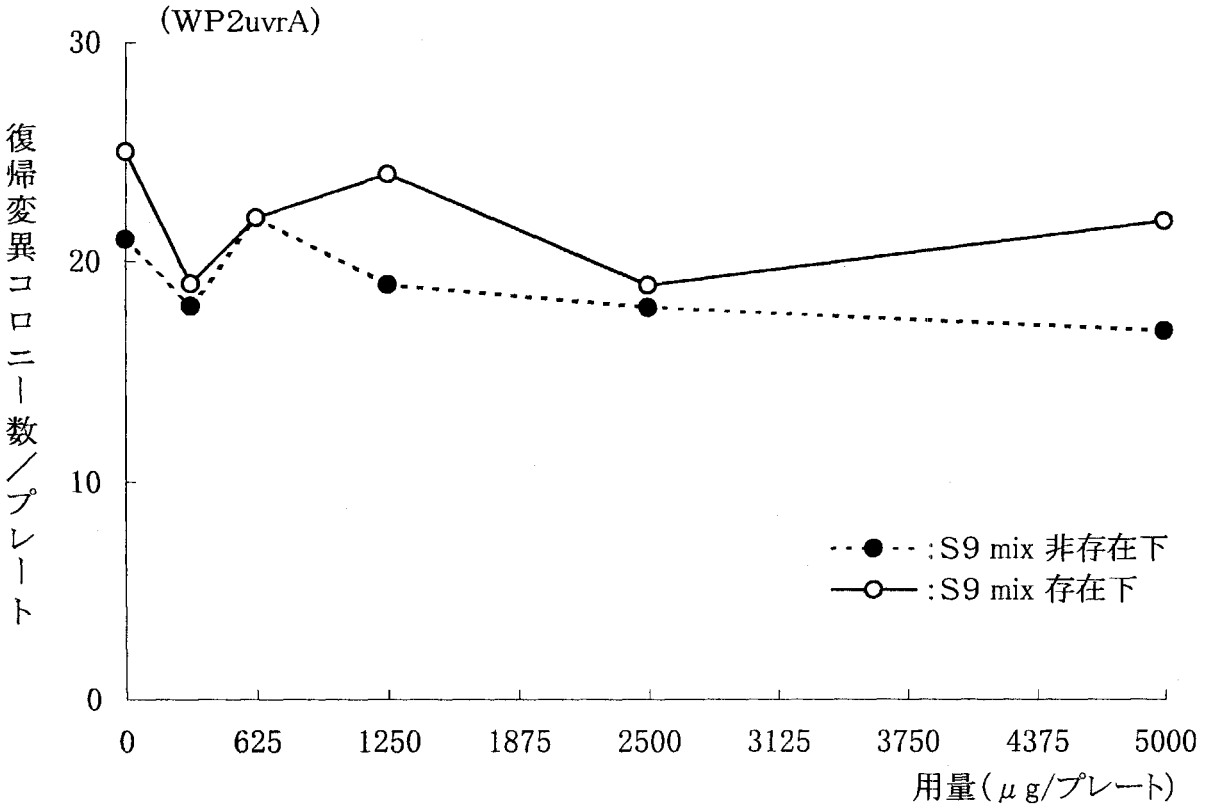


図 2-1　1-ナフトール-4-スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験2回目



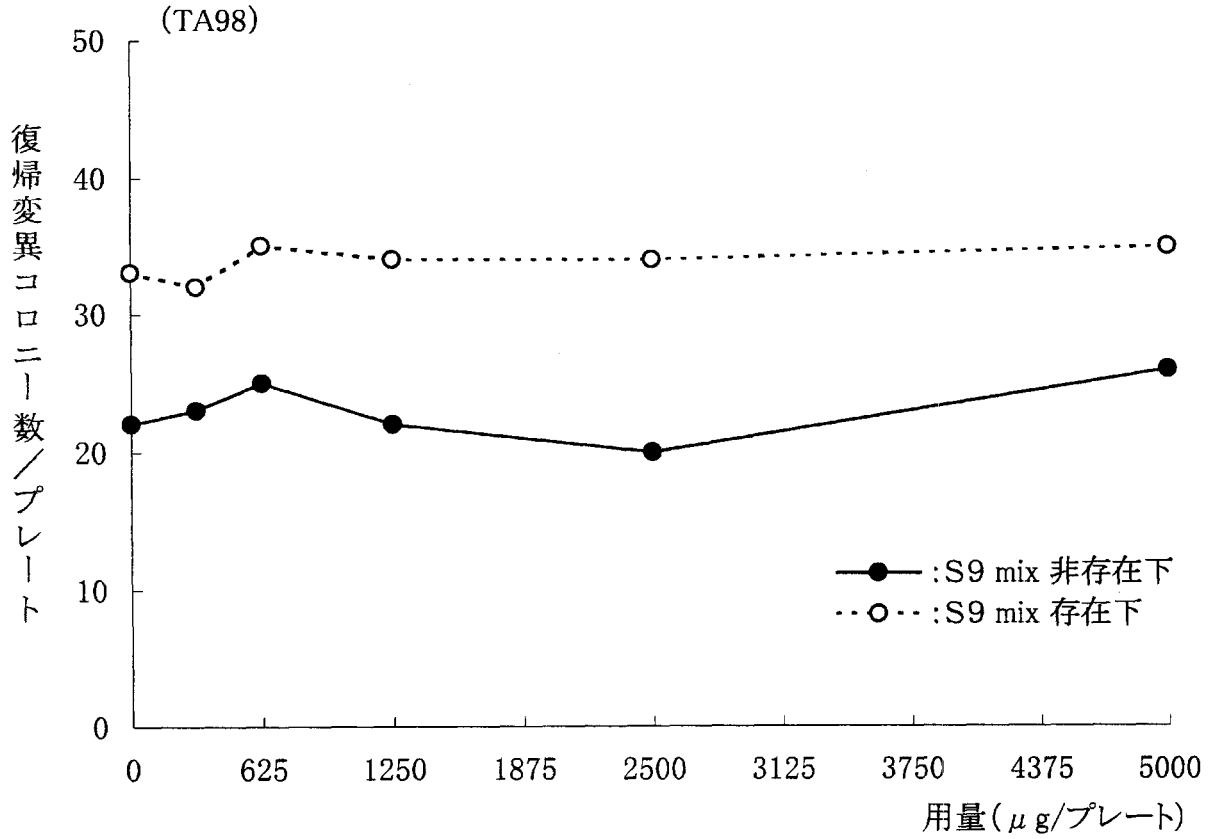


図 2-2　1-ナフトール-4-スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験2回目

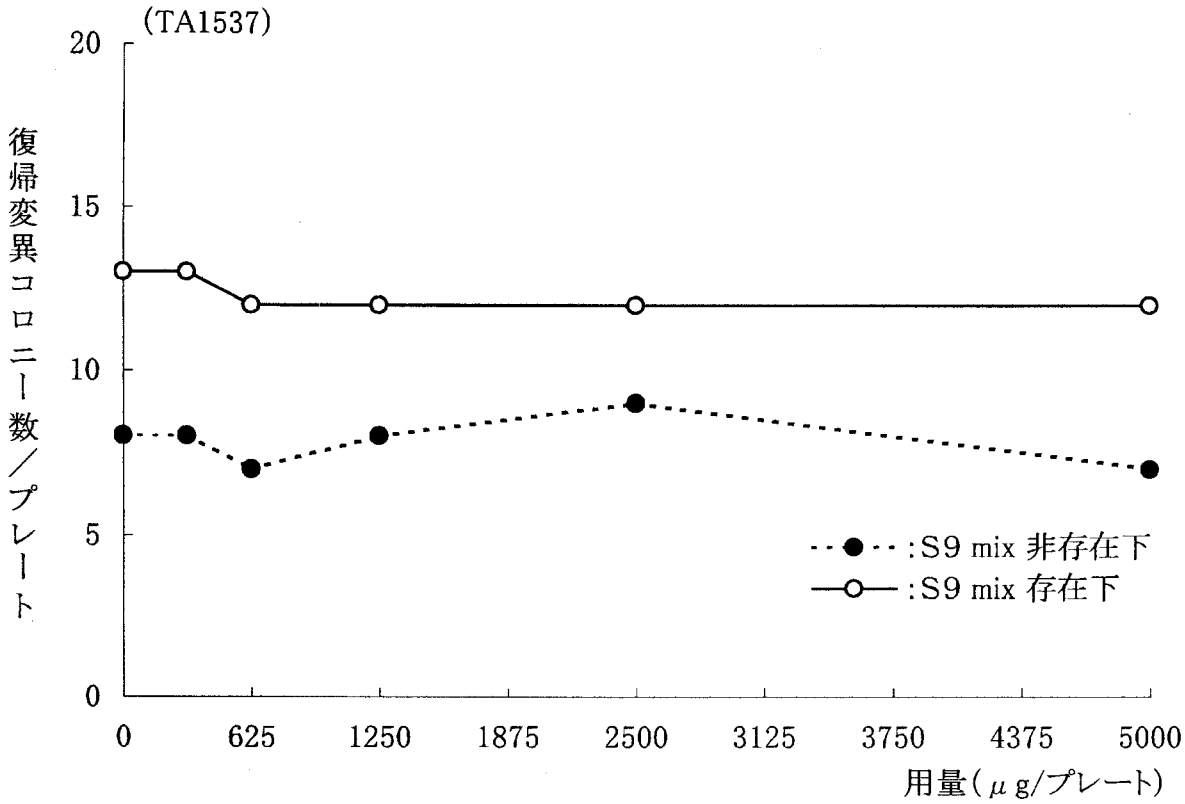


図 2-3　1-ナフトール-4-スルホン酸ナトリウムの復帰突然変異試験結果－本試験2回目