最 終 報 告 書

臭化リチウムの細菌を用いる復帰突然変異試験

（試験番号：00-251）

財団法人 畜産生物科学安全研究所

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 …… 5
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 …… 7
13．結果の判定 …… 7
結果 …… 8
結論および参考事項 …… 8
参考文献 …… 9

表：

表1－1　S9 mix 非存在下における臭化リチウムの
用量設定試験結果［直接法］ …… 11
表1－2　S9 mix 非存在下における臭化リチウムの
用量設定試験結果［代謝活性化法］ …… 12

表２－１　S9 mix 非存在下における臭化リチウムの復帰突然変異
試験結果［本試験１回目－直接法］ ····· 13
表２－２　S9 mix 存在下における臭化リチ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］ ····· 14
表３－１　S9 mix 非存在下における臭化リチウムの復帰突然変異
試験結果［本試験２回目－直接法］ ····· 15
表３－２　S9 mix 存在下における臭化リチ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］ ····· 16

図：

図１　臭化リチウムの復帰突然変異試験結果－本試験１回目 ····· 17
図２　臭化リチウムの復帰突然変異試験結果－本試験２回目 ····· 20

要 約

臭化リチウム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* WP2*uvr*A 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，5 用量を設定した。

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，代謝活性化の有無にかかわらず，全ての菌株において認められなかった。

以上の成績から，本実験条件下では，臭化リチ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，臭化リチ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　：　臭化リチウム

ＣＡＳ番号　：　7550-35-8

ロット番号　：

濃　　度　：　55.6％（平成 13 年 2 月 8 日分析）

不純物：LiOH 0.049％，Na 122ppm，K 18ppm，Ca 7ppm，Mg 0.1ppm 以下，Fe 1ppm 以下，Cu 0.5ppm，NH_4 0.7ppm，B 3ppm，Cl 160ppm，SO_4 50ppm，Si 2ppm，残分は水

入 手 先　：

入 手 日　：　平成 13 年 2 月 19 日

入 手 量　：　250 g

物 性 等　：

化学名　　Lithium bromide

示性式　　LiBr

分子量　　86.85

性状(常温)　水溶液

沸点　　140℃（54％水溶液，濃度により変わる。）

溶解性　　水：61.3％（25℃，LiBr として）

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　　において分析（平成 14 年 1 月 21 日，容量法）した結果，濃度は 55.4％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，TPK7807，99.9%）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 25μL 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 15mL 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（×10^9/mL）

指標菌株	TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
用量設定試験	1.46	1.62	1.47	1.41	1.21
本試験(1 回目)	1.38	1.53	1.30	1.33	1.21
本試験(2 回目)	1.46	1.53	1.38	1.33	1.14

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（用量設定試験，本試験（1 回目）：ロット番号 FSM-445・2001 年 5 月 25 日製造・2001 年 6 月 14 日購入，本試験（2 回目）：ロット番号 FSM-449・2001 年 8 月 10 日製造・2001 年 8 月 28 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 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：　213～242 g（FSM-445），203～246 g（FSM-449）
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(9000×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

被験物質は水溶液であるため，溶媒には蒸留水（株式会社大塚製薬工場，ロット番号K0G81，局方）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。なお，供試液作製の際は，純度換算を行った。

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 ELE7866，99.9%）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 K0G81，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)
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 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 132695XA）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 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 39H0679）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，20～5000μg/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），いずれの菌株とも代謝活性化の有無にかかわらず，菌の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，5000μg/プレートを最高用量とし，以下公比 2 で 2500，1250，625 および 313μg/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，用量設定試験：ロット番号 ANI220DQ・2001 年 4 月 5 日製造・2001 年 6 月 13 日購入，本試験：ロット番号 ANI460GQ・2001 年 7 月 17 日製造・2001 年 8 月 27 日購入）は，Vogel·Bonner E 培地（0.2w/v%クエン酸・一水塩，1w/v%リン酸二カリウム，0.192w/v%リン酸一アンモニウム，0.066w/v%水酸化ナトリウム，0.02w/v%硫酸マグネシウム・七水塩）に寒天粉末を 1.5w/v%およびグルコースを 2w/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（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 0.6w/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，用量設定試験：ロット番号 ANI220DQ，本試験：ロット番号 ANI460GQ）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。また，菌の生育阻害も認められなかった。

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。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

臭化リチウムの変異原性に関する報告は見当たらない。リチウム化合物の変異原性について，炭酸リチウムは，V79 細胞を用いた 6 - チオグアニン抵抗性突然変異試験で陽性と報告されている [3]。硫酸リチウムは，麦酒酵母菌を用いた復帰突然変異試験および体細胞組み換え試験でともに陽性と報告されている [4]。塩化リチウムは，猿アデノウィルス SA7 とシリアンハムスター胚細胞を用いた形質転換試験で陰性と報告さ

れている[5]。次亜塩素酸リチウムについては，*S. typhimurium* を用いた復帰突然変異試験およびラット骨髄細胞を用いた染色体異常試験でともに陰性，CHO 細胞を用いた染色異常試験では陽性と報告されている[6]。また，クエン酸三リチウム塩は，*S. typhimurium* および *E. coli* を用いた復帰突然変異試験並びにショウジョウバエを用いた伴性劣性致死試験でいずれも陰性，NMRI マウスを用いた骨髄小核試験では陽性と報告されている[7]。

今回，臭化リチ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，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，本実験条件下では臭化リチ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., Nicols, W. and Ramel, C., Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, pp. 161-187.

3) D. Slamenova, E. Budayova, A. Gsbelovs, A. Moravkova and L. Panikova (1986). Results of genotoxicity testing of mazindol (degonan), lithium carbonicum (contemnol) and dropropizine (ditustat) in Chinese hamster V79 and human EUE cells, *Mutation Research*, **169**, 171-177.

4) Indira Singh (1983). Induction of reverse mutation and mitotic gene conversion by some metal compounds in *Saccharomyces cerevisiae*, *Mutation Research*, **117**, 149-152.

5) B. C. Casto, J. Meyers and J. A. Dipalo (1979). Enhancement of viral transformation for evaluation of the carcinogenic or mutagenic potential of

inorganic metal salts, *Cancer Research*, **39**, 193-198.

6) M. L. Weiner, K. J. Batt, D. L. Putman, R. D. Curren and Li. L. Yang (1990). Genotoxicity evaluation of litium hypochlorite, *Toxicology*, **65**, 33-43.

7) M. -T. King, H. Beikirch, K. Eckhardt, E. Gocke and D. Wild (1979). Mutagenicity studies with x-ray-contrast media, analgesics, antipyretics, antirheumatics and some other pharmaceutical drugs in bacterial, drosophila and mammalian test systems, *Mutation Research*, **66**, 33-43.

表 1-1　　S9 mix 非存在下における臭化リチウムの用量設定試験結果〔直接法〕

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	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
陰性対照〔蒸留水〕	107	12	16	27	12
20	132	5	18	29	9
50	112	8	20	26	13
100	116	7	17	22	14
200	108	7	21	29	10
500	141	5	17	24	8
1000	118	10	21	30	13
2000	127	7	18	27	15
5000	108	10	15	23	10
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	677	347	786	261	216

(　): 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 存在下における臭化リチウムの用量設定試験結果〔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	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
陰性対照〔蒸留水〕	123	6	23	37	18
20	122	8	25	32	14
50	119	9	16	30	7
100	138	8	29	31	11
200	100	12	17	40	19
500	101	10	18	27	13
1000	88	7	22	37	16
2000	133	5	15	32	17
5000	116	7	18	37	20
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	457	170	820	320	92

(　): 平均値±標準偏差
2-AA: 2-アミノアントラセン

表 2-1　S9 mix 非存在下における臭化リチ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	113	8	18	22	11
〔蒸留水〕	126	3	20	22	11
	121	19	21	28	18
	(120 ± 7)	(10 ± 8)	(20 ± 2)	(24 ± 3)	(13 ± 4)
	145	7	16	23	16
313	119	7	22	21	15
	132	10	21	24	22
	(132 ± 13)	(8 ± 2)	(20 ± 3)	(23 ± 2)	(18 ± 4)
	134	12	20	27	16
625	112	5	17	32	12
	122	14	19	25	16
	(123 ± 11)	(10 ± 5)	(19 ± 2)	(28 ± 4)	(15 ± 2)
	113	10	23	23	25
1250	107	6	19	28	11
	117	9	25	31	20
	(112 ± 5)	(8 ± 2)	(22 ± 3)	(27 ± 4)	(19 ± 7)
	104	5	15	29	17
2500	106	6	18	27	20
	111	6	22	25	17
	(107 ± 4)	(6 ± 1)	(18 ± 4)	(27 ± 2)	(18 ± 2)
	117	5	19	30	18
5000	100	7	22	28	18
	123	6	20	23	21
	(113 ± 12)	(6 ± 1)	(20 ± 2)	(27 ± 4)	(19 ± 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	820	269	792	299	239
コロニー数	760	231	779	328	275
／プレート	781	258	802	337	205
	(787 ± 30)	(253 ± 20)	(791 ± 12)	(321 ± 20)	(240 ± 35)

(　): 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 2-2　S9 mix 存在下における臭化リチ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	117	9	24	29	16
〔蒸留水〕	100	6	29	32	11
	106	3	27	28	16
	(108 ± 9)	(6 ± 3)	(27 ± 3)	(30 ± 2)	(14 ± 3)
	108	6	20	26	10
313	116	9	22	28	12
	108	6	30	18	13
	(111 ± 5)	(7 ± 2)	(24 ± 5)	(24 ± 5)	(12 ± 2)
	115	5	26	24	9
625	101	9	18	31	15
	99	8	29	26	12
	(105 ± 9)	(7 ± 2)	(24 ± 6)	(27 ± 4)	(12 ± 3)
	103	7	31	28	10
1250	111	7	23	29	8
	160	9	23	34	10
	(125 ± 31)	(8 ± 1)	(26 ± 5)	(30 ± 3)	(9 ± 1)
	108	12	28	23	18
2500	109	7	25	43	21
	118	5	25	25	17
	(112 ± 6)	(8 ± 4)	(26 ± 2)	(30 ± 11)	(19 ± 2)
	130	10	21	31	23
5000	99	10	22	38	17
	133	9	22	37	14
	(121 ± 19)	(10 ± 1)	(22 ± 1)	(35 ± 4)	(18 ± 5)
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	301	120	600	270	87
コロニー数	320	117	562	283	85
／プレート	262	117	544	244	75
	(294 ± 30)	(118 ± 2)	(569 ± 29)	(266 ± 20)	(82 ± 6)

(　): 平均値±標準偏差
2-AA: 2-アミノアントラセン

表 3-1　S9 mix 非存在下における臭化リチウムの復帰突然変異試験結果
〔本試験2回目－直接法〕

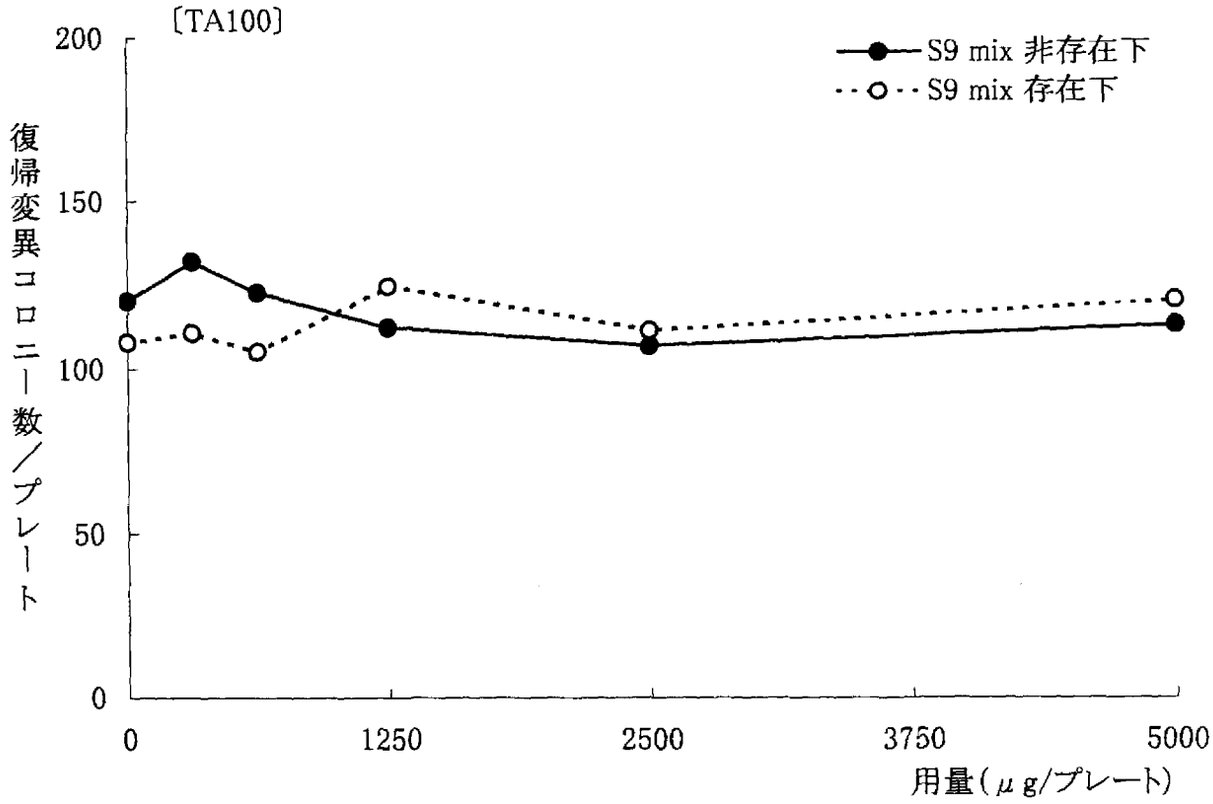
用　量 〔μg/プレート〕	復帰変異コロニー数／プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
	TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
陰性対照	136	10	16	28	14
〔蒸留水〕	111	8	19	24	12
	119	11	15	25	10
	(122 ± 13)	(10 ± 2)	(17 ± 2)	(26 ± 2)	(12 ± 2)
	105	7	16	27	18
313	96	6	21	20	17
	108	10	11	24	19
	(103 ± 6)	(8 ± 2)	(16 ± 5)	(24 ± 4)	(18 ± 1)
	116	12	20	28	13
625	100	10	14	29	20
	105	6	19	19	14
	(107 ± 8)	(9 ± 3)	(18 ± 3)	(25 ± 6)	(16 ± 4)
	104	15	20	23	15
1250	130	9	19	27	13
	128	7	23	21	19
	(121 ± 14)	(10 ± 4)	(21 ± 2)	(24 ± 3)	(16 ± 3)
	127	10	14	21	16
2500	140	9	12	29	14
	127	6	18	20	17
	(131 ± 8)	(8 ± 2)	(15 ± 3)	(23 ± 5)	(16 ± 2)
	112	5	29	18	11
5000	120	10	19	29	16
	122	7	10	23	13
	(118 ± 5)	(7 ± 3)	(19 ± 10)	(23 ± 6)	(13 ± 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	783	351	883	357	369
コロニー数	742	329	749	364	304
／プレート	698	312	923	349	344
	(741 ± 43)	(331 ± 20)	(852 ± 91)	(357 ± 8)	(339 ± 33)

(　): 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 3-2　S9 mix 存在下における臭化リチ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	105	10	18	26	15
〔蒸留水〕	111	8	19	26	17
	100	11	22	35	16
	(105 ± 6)	(10 ± 2)	(20 ± 2)	(29 ± 5)	(16 ± 1)
	110	4	17	32	18
313	99	7	12	44	12
	103	10	17	30	12
	(104 ± 6)	(7 ± 3)	(15 ± 3)	(35 ± 8)	(14 ± 3)
	109	9	23	39	16
625	103	7	17	35	20
	116	8	15	35	15
	(109 ± 7)	(8 ± 1)	(18 ± 4)	(36 ± 2)	(17 ± 3)
	99	7	26	30	13
1250	112	8	17	32	8
	120	11	19	35	18
	(110 ± 11)	(9 ± 2)	(21 ± 5)	(32 ± 3)	(13 ± 5)
	118	9	21	33	21
2500	105	13	24	21	12
	124	7	16	21	14
	(116 ± 10)	(10 ± 3)	(20 ± 4)	(25 ± 7)	(16 ± 5)
	119	5	22	27	15
5000	129	10	15	24	19
	92	10	19	26	16
	(113 ± 19)	(8 ± 3)	(19 ± 4)	(26 ± 2)	(17 ± 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	417	146	552	205	77
コロニー数	290	131	466	250	80
／プレート	327	135	608	202	69
	(345 ± 65)	(137 ± 8)	(542 ± 72)	(219 ± 27)	(75 ± 6)

(　): 平均値±標準偏差
2-AA: 2-アミノアントラセン



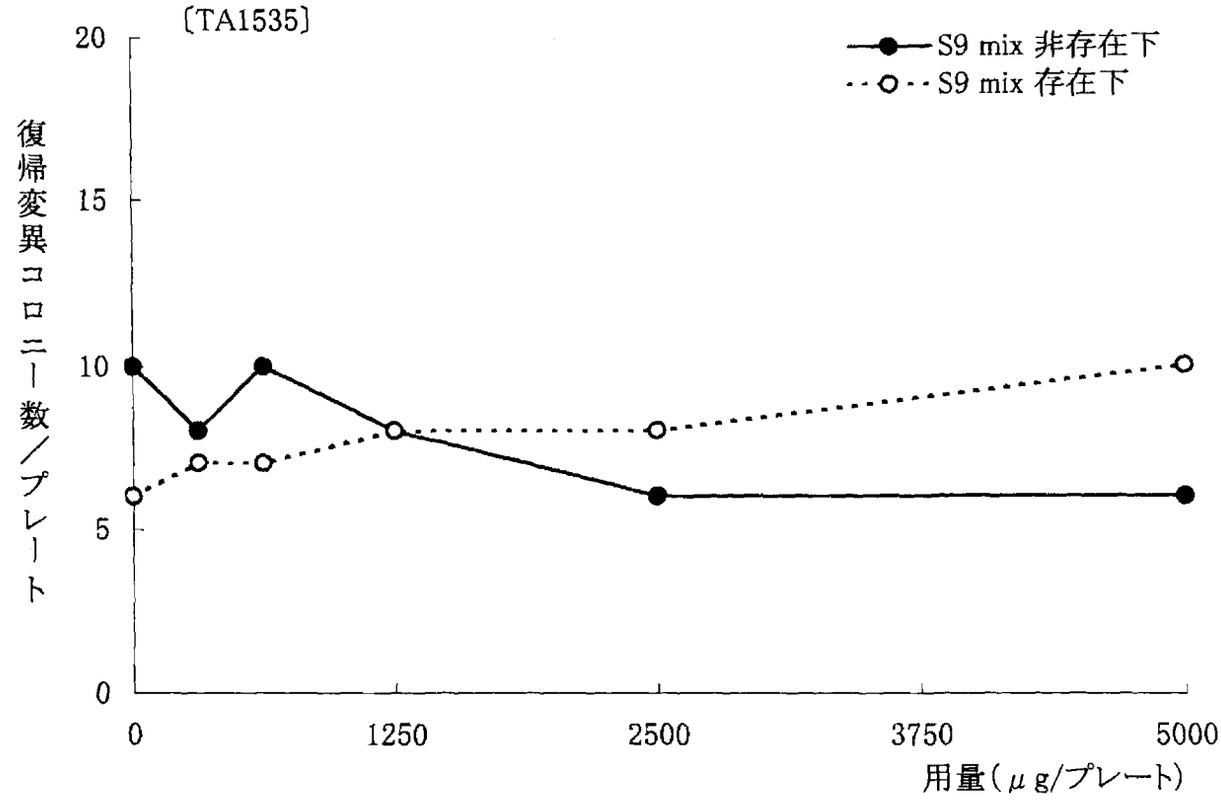
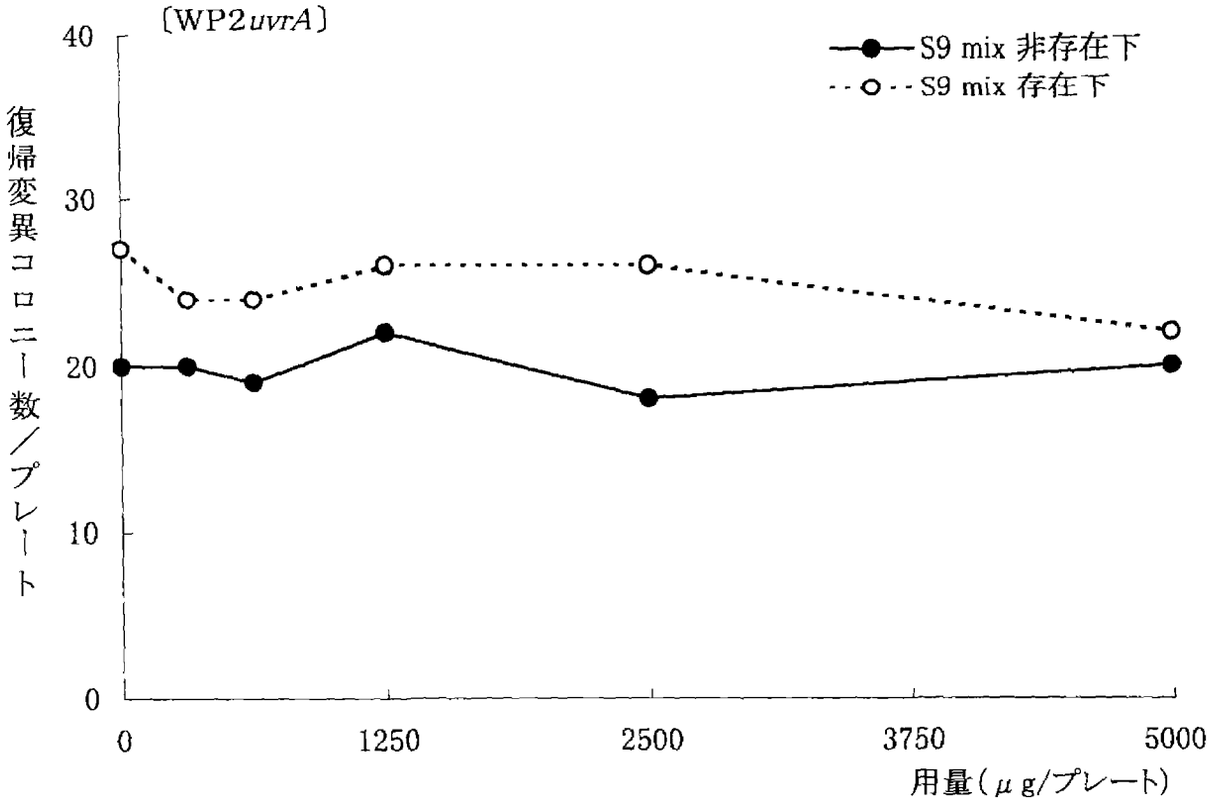


図 1-1　　臭化リチウムの復帰突然変異試験結果－本試験1回目



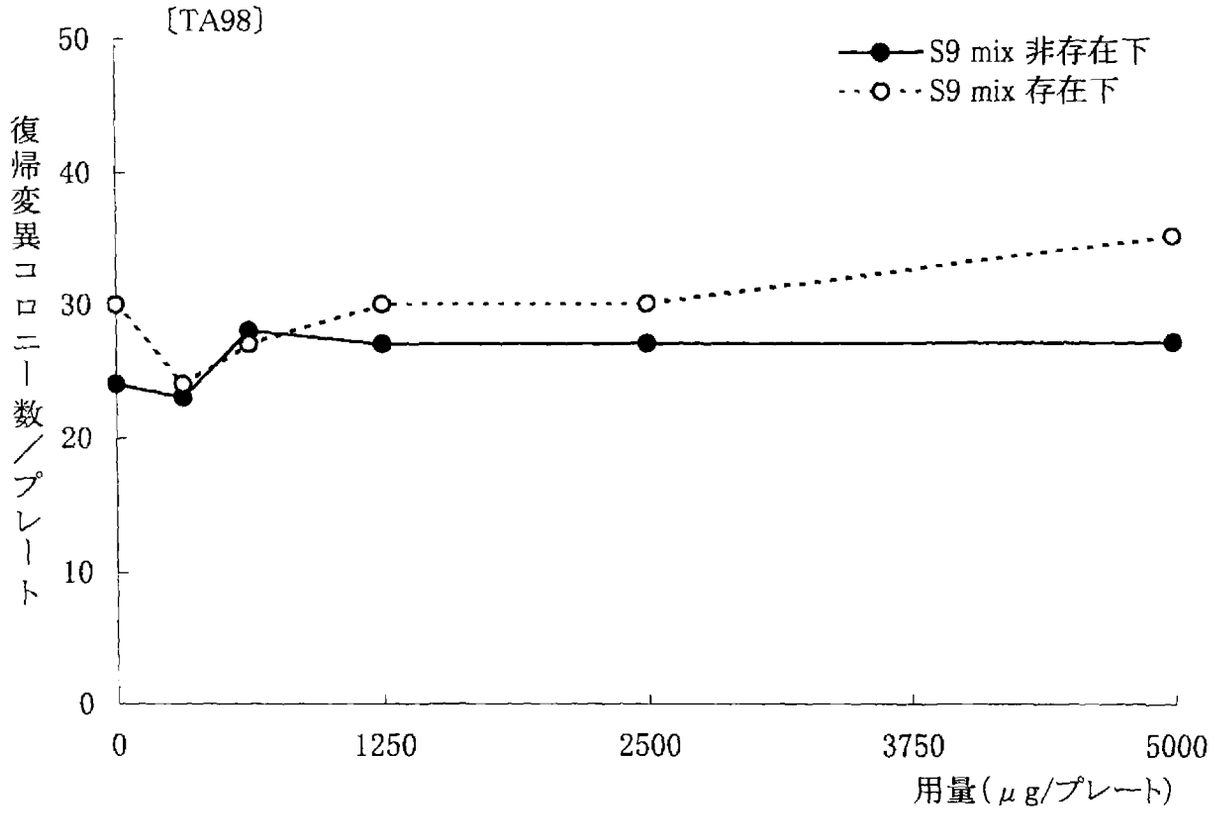


図 1-2　　臭化リチウムの復帰突然変異試験結果－本試験1回目

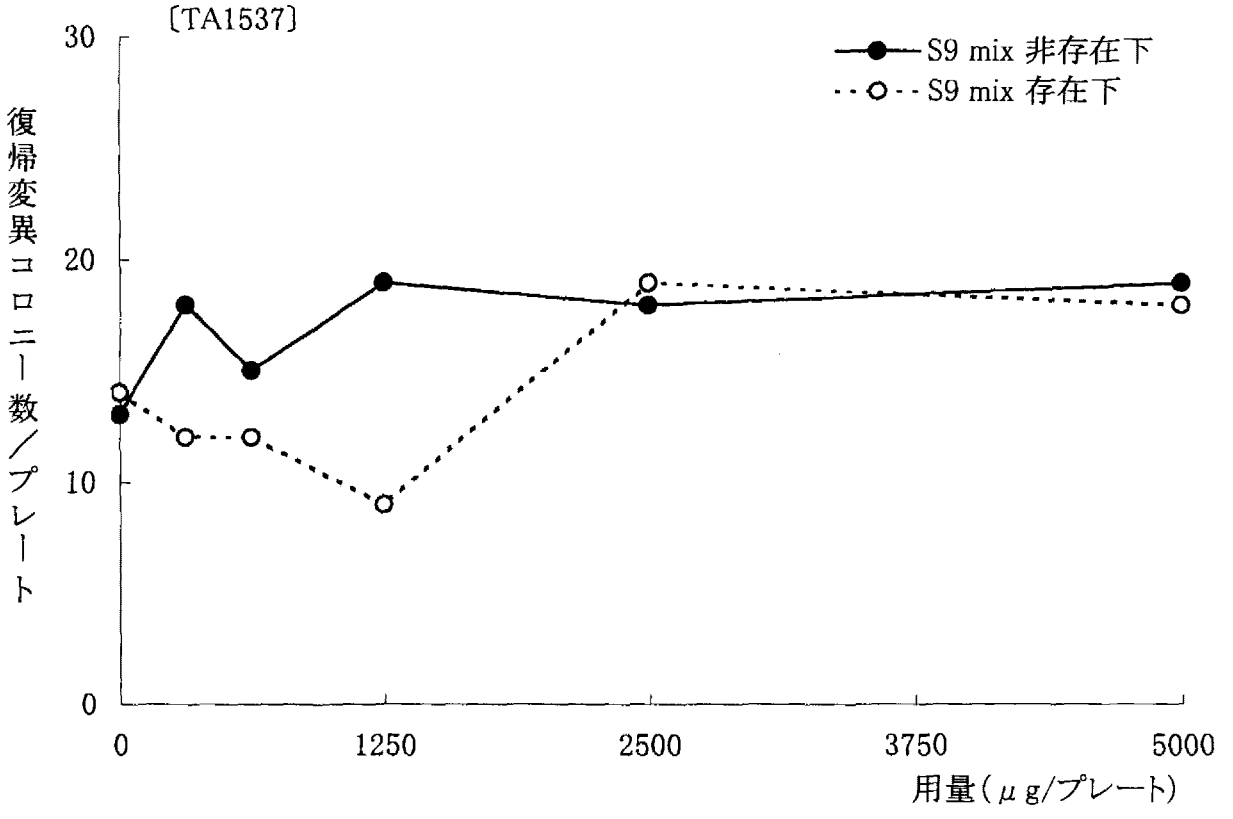
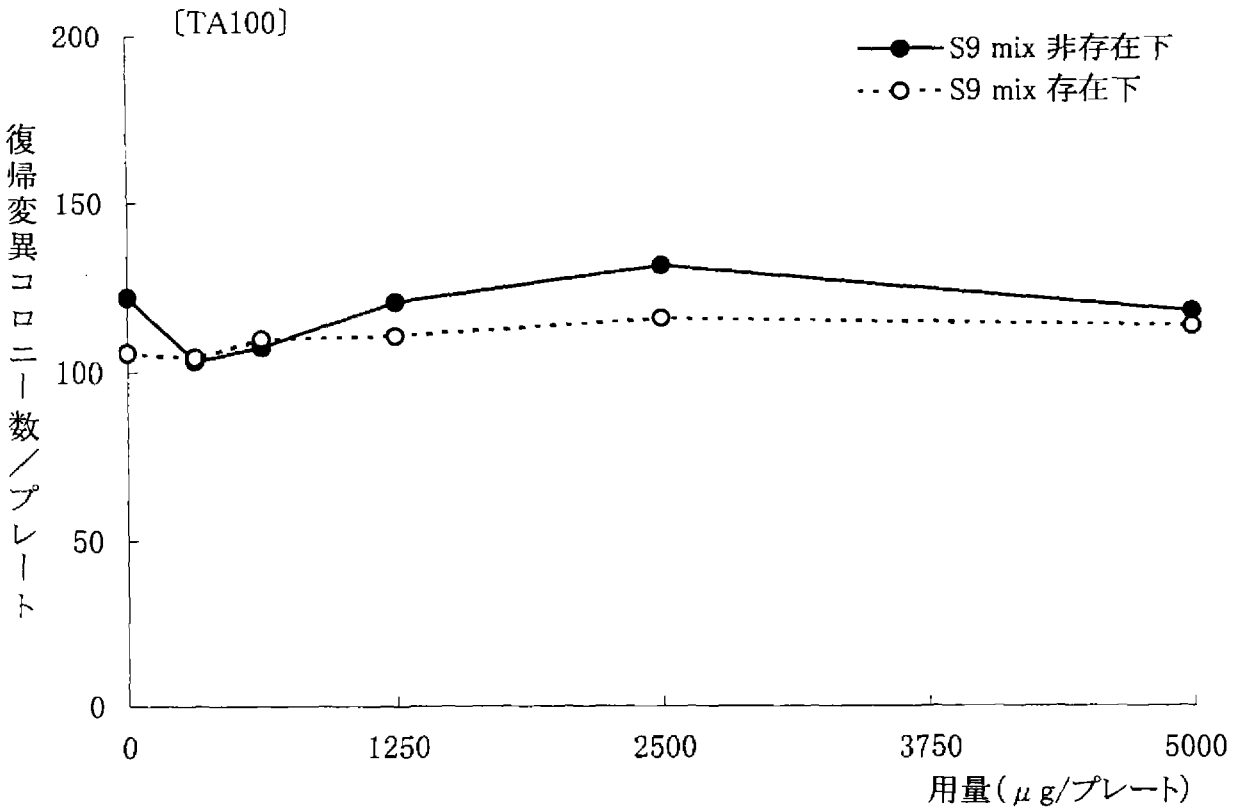


図 1-3　　臭化リチウムの復帰突然変異試験結果－本試験1回目



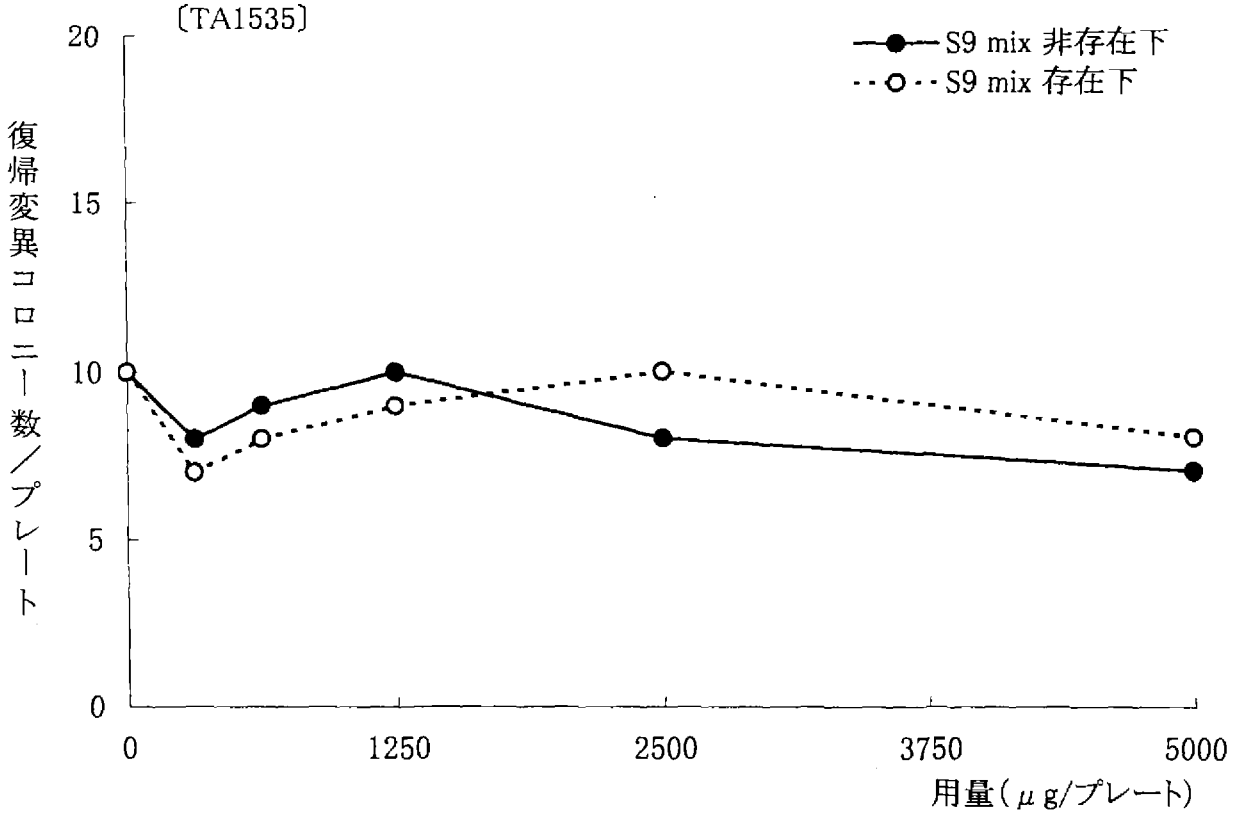
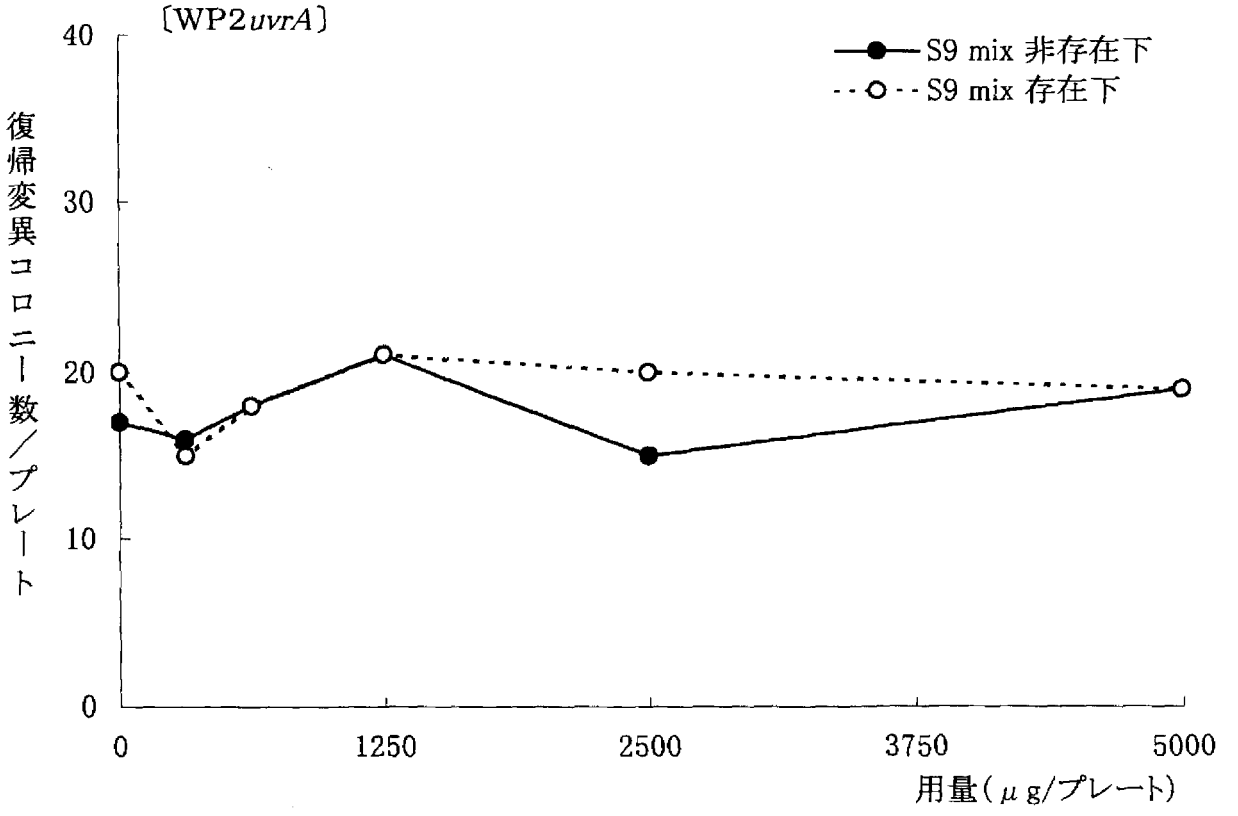


図 2-1　　臭化リチウムの復帰突然変異試験結果－本試験2回目



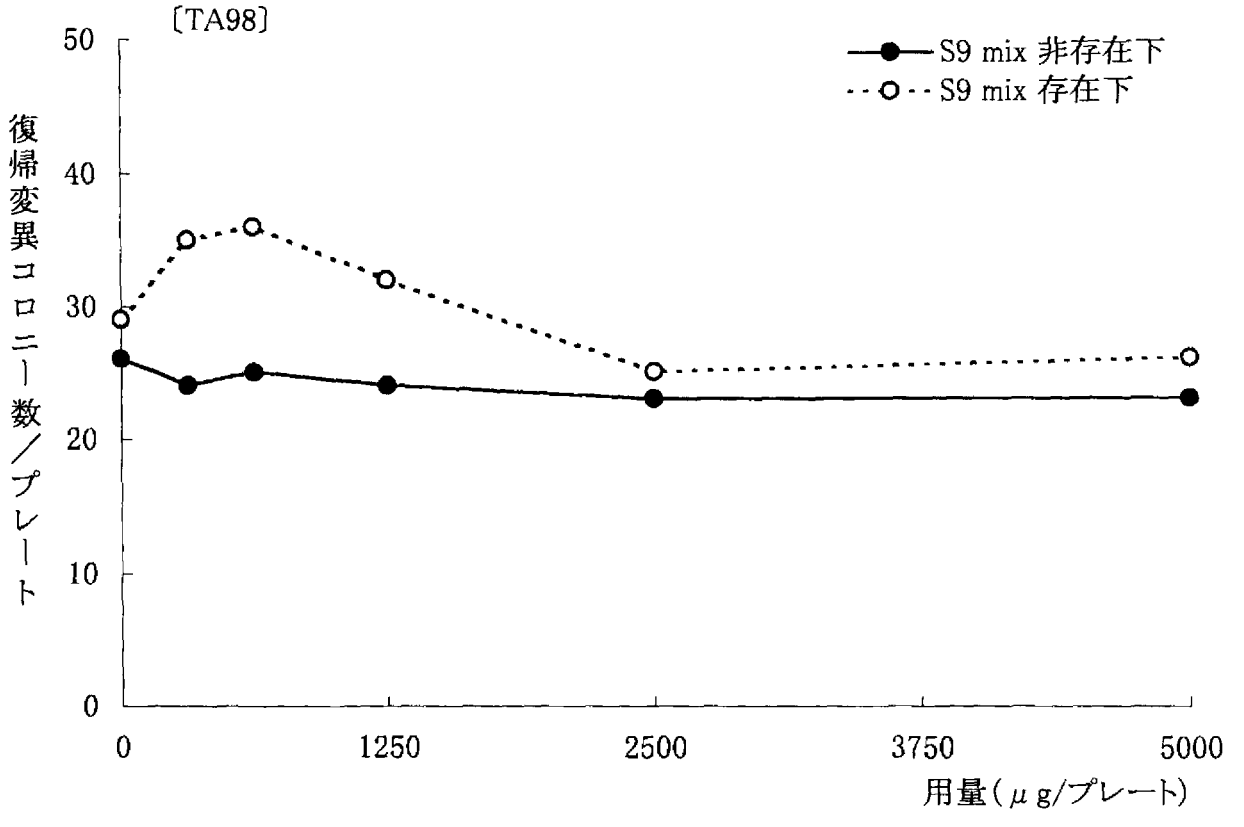


図 2-2　　臭化リチウムの復帰突然変異試験結果－本試験2回目

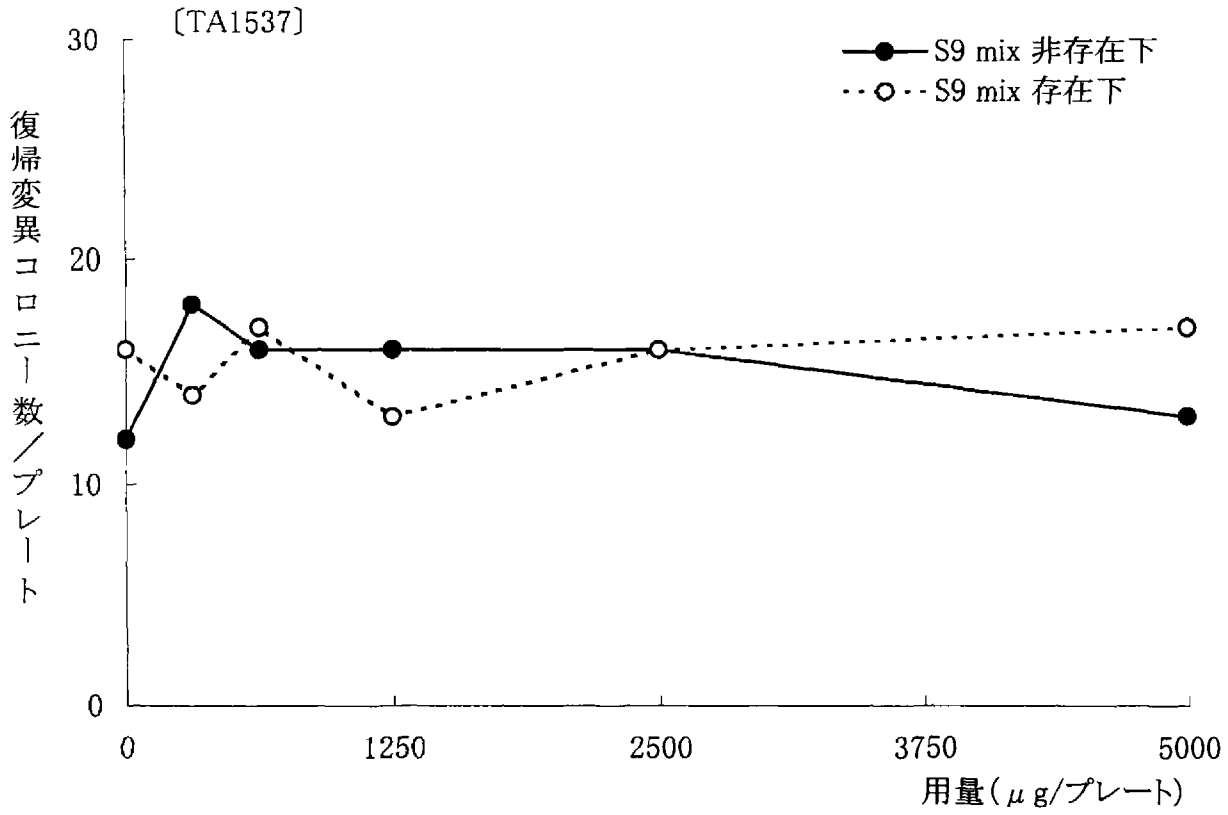


図 2-3　　臭化リチウムの復帰突然変異試験結果-本試験2回目