厚生省生活衛生局　殿

最 終 報 告 書

2, 4, 6-トリニトロフェノールの細菌を用いる復帰突然変異試験

(試験番号：8L670)

2000 年 7 月 6 日

株式会社三菱化学安全科学研究所

目　次

要　約 ---------- 7

材料および方法 ---------- 8

1. 試験物質 ---------- 8

2. テスト菌株 ---------- 8

3. 培　地 ---------- 9

4. S9 mix ---------- 10

5. 試験方法 ---------- 10

結　果 ---------- 13

考察および結論 ---------- 13

参考文献 ---------- 14

表 ---------- 15

図 ---------- 19

要　約

2, 4, 6-トリニトロフェノールについて，*Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 および *Escherichia coli* WP2*uvrA* の 5 菌株を指標とする復帰変異試験を実施した．

予備試験を 5000, 1250, 313, 78.1, 19.5, 4.88, 1.22 μg/プレートの 7 用量で実施した結果，S9 mix 非共存下の TA98, TA1537 および共存下の TA100, TA1535, TA98, TA1537 で復帰変異コロニー数の増加が認められた．また，S9 mix 非共存下では TA100, TA1535, TA98, TA1537 の 5000 μg/プレートで，共存下では TA100, TA1535, TA98 の 5000 μg/プレートで菌の生育阻害が認められた．この結果をもとに本試験では，S9 mix 非共存下および共存下の TA100, TA1535, TA98 は 5000 ~ 156 μg/プレート(公比 2)の 6 用量，WP2*uvrA* は 5000 ~ 313 μg/プレート(公比 2)の 5 用量，TA1537 は 5000 ~ 78.1 μg/プレート(公比 2)の 7 用量をそれぞれ設定した．

2 回の本試験の結果，S9 mix 非共存下の TA98, TA1537 および共存下の TA100, TA1535, TA98, TA1537 で陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加が認められた．また，S9 mix 非共存下の TA100, TA1535, WP2*uvrA* および共存下の WP2*uvrA* では，いずれの試験においても陰性(溶媒)対照値の 2 倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．

以上の結果から，2, 4, 6-トリニトロフェノールは細菌を用いる復帰突然変異試験において変異原性を有する(陽性)と結論した．

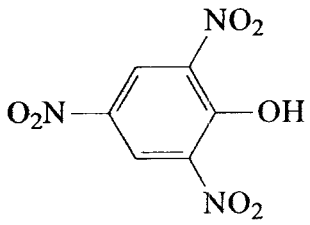
材 料 お よ び 方 法

1. 試験物質

1.1 被験物質

から提供された 2, 4, 6-トリニトロフェノール(CAS 番号 88-89-1, ロット番号　　純度 81.4 %)は，使用時まで換気(通風)が可能な冷所に遮光して保存した．被験物質は下記の構造式および分子量を有する冷水に 1/100，沸騰水に 7/100 溶解する黄色結晶である．

構造式：



分子量：229.05

不純物：水　18.5 %
　　不明物　0.1 %

1.2 対照物質

陰性(溶媒)対照物質および陽性対照物質として，以下のものを用いた．

対照物質名	略称	入　手　先	ロット番号	純度(%)
陰性対照				
ｼﾞﾒﾁﾙｽﾙﾎｷｼﾄﾞ	DMSO	関東化学㈱	912S1784	99.7
陽性対照				
2-(2-ﾌﾘﾙ)-3-(5-ﾆﾄﾛ-2-ﾌﾘﾙ)ｱｸﾘﾙｱﾐﾄﾞ	AF-2	和光純薬工業㈱	PTQ1296	98.8
ｱｼﾞ化ﾅﾄﾘｳﾑ	NaN_3	和光純薬工業㈱	KWE6685	96.5
N-ｴﾁﾙ-*N'*-ﾆﾄﾛ-*N*-ﾆﾄﾛｿｸﾞｱﾆｼﾞﾝ	ENNG	Sigma Chemical Company	56F-3651	99.0
9-ｱﾐﾉｱｸﾘｼﾞﾝ塩酸塩	9-AA	Sigma Chemical Company	80F-0186	99
2-ｱﾐﾉｱﾝﾄﾗｾﾝ	2-AA	和光純薬工業㈱	TWH2355	98.0

2. テスト菌株 [1) 2)]

2.1 テスト菌株

カリフォルニア大学　　より 1983 年 5 月 27 日に入手した *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA1535, TA1537 および東京大学医科学研究所　　より 1985 年 10 月 14 日に入手した *Escherichia coli* WP2*uvrA* の 5 菌株を用いた．

これら菌株の遺伝的特性は以下のとおりである.

菌　株	変異遺伝子	付帯突然変異			検出可能な突然変異型
		DNA 修復	膜変異	R 因子	
TA98	*hisD*	*uvrB*	*rfa*	pKM101	フレームシフト
TA100	*hisG*	*uvrB*	*rfa*	pKM101	塩基対置換
TA1535	*hisG*	*uvrB*	*rfa*	——	塩基対置換
TA1537	*hisC*	*uvrB*	*rfa*	——	フレームシフト
WP2*uvrA*	*trpE*	*uvrA*	+	——	塩基対置換

2.2 特性検査

各テスト菌株のアミノ酸要求性，紫外線感受性，膜変異，薬剤耐性などの遺伝的特徴を事前に調べ，これらの特性を備えた菌株を用いた.

2.3 保存方法

液体完全培地中に 37 ℃で 8 時間振盪培養した各菌懸濁液 4 ml に対し，0.35 ml の割合で DMSO(関東化学㈱，ﾛｯﾄ番号 912S1784)を加えた．これを 200 μl ずつ小分けしてドライアイス・アセトン中で急速凍結し，超低温槽で -80 ℃以下に凍結保存したものを使用した.

2.4 菌懸濁液

凍結保存した菌懸濁液を解凍後，20 μl を液体完全培地 10 ml に接種し，37 ℃で 8 時間振盪培養した．培養終了後の菌懸濁液は，濁度計を用いて菌濃度を測定し，各菌株共に生菌数が 1×10^9/ml 以上であることを確認した.

3. 培　地

3.1 液体完全培地

精製水 1 *l* に対し，ニュートリエントブロス(Oxoid Nutrient Broth No.2, Unipath 社，ﾛｯﾄ番号 028 59365) 25 g の割合で溶解し，オートクレーブ滅菌(121 ℃，15 分間，以下同様)した.

3.2 最少グルコース寒天平板培地

クリメディア AM-N 培地(オリエンタル酵母工業㈱，ﾛｯﾄ番号 AN100BO)を購入し，使用した.

3.3 トップアガー

精製水 100 ml に対して，粉末寒天(Bacto-Agar，Difco 社，ロット番号 80050AJB) 0.6 g，塩化ナトリウム 0.5 g の割合で加え，オートクレーブ滅菌し完全に溶解した．その後，あらかじめ調製しておいた 0.5 mM D- ビオチン，0.5 mM L- ヒスチジン混合水溶液(サルモネラ用)または 0.5 mM L- トリプトファン水溶液(大腸菌用)をそれぞれ 1/10 量添加した．使用時まで約 45 ℃に保温した．

4. S9 mix

4.1 S9

フェノバルビタール(1 日目 30 mg/kg，2 日目以降 60 mg/kg を 3 回腹腔内投与)と 5,6- ベンゾフラボン(3 日目に 80 mg/kg を 1 回腹腔内投与)で酵素誘導した SD 系雄ラット肝由来 S9(キッコーマン㈱，ロット番号 RAA-397：1999 年 2 月 5 日製造)を購入し，使用した．使用時まで -80 ℃以下で保存した．

4.2 S9 mix

S9 mix 1 ml あたり以下の組成で調製し，使用時まで氷中に保存した．

S9	0.1 ml
塩化マグネシウム六水塩	8 μmol
塩化カリウム	33 μmol
D - グルコース 6 - リン酸	5 μmol
β - NADPH	4 μmol
β - NADH	4 μmol
ナトリウム - リン酸緩衝液(pH 7.4)	100 μmol
滅菌精製水	残量

5. 試験方法 [3)]

5.1 被験物質溶液および陽性対照物質溶液の調製

溶媒検討の結果，50 mg/ml の濃度で水に不溶，DMSO に溶解したため，溶媒には DMSO を用いた．被験物質を所定濃度で DMSO に溶解し，これを同じ溶媒を用いて希釈して各用量の被験物質溶液を調製した．被験物質の秤量に際しては純度換算(81.4 %)を実施した．

陽性対照物質の NaN_3 は注射用水(㈱大塚製薬工場，ロット番号 K8G77)に，その他は DMSO(関東化学㈱，ロット番号 912S1784)に溶解した．

5.2 被験物質用量

予備試験を 5000, 1250, 313, 78.1, 19.5, 4.88, 1.22 μg/ﾌﾟﾚｰﾄの 7 用量で実施した結果, S9 mix 非共存下の TA98, TA1537 および共存下の TA100, TA1535, TA98, TA1537 で復帰変異コロニー数の増加が認められた．また，S9 mix 非共存下では TA100, TA1535, TA98, TA1537 の 5000 μg/ﾌﾟﾚｰﾄで，共存下では TA100, TA1535, TA98 の 5000 μg/ﾌﾟﾚｰﾄで菌の生育阻害が認められた．この結果をもとに本試験では，S9 mix 非共存下および共存下の TA100, TA1535, TA98 は 5000, 2500, 1250, 625, 313, 156 μg/ﾌﾟﾚｰﾄの 6 用量，WP2*uvrA* は 5000, 2500, 1250, 625, 313 μg/ﾌﾟﾚｰﾄの 5 用量，TA1537 は 5000, 2500, 1250, 625, 313, 156, 78.1 μg/ﾌﾟﾚｰﾄの 7 用量をそれぞれ設定した．

5.3 復帰変異試験

試験はプレインキュベーション法で実施した．

滅菌した試験管に被験物質溶液を 0.1 ml，0.1 M ナトリウムーリン酸緩衝液(pH 7.4)を 0.5 ml および菌懸濁液を 0.1 ml 加え，37 ℃で 20 分間振盪培養した．S9 mix を共存させる場合には，0.1 M ナトリウムーリン酸緩衝液の代わりに S9 mix を 0.5 ml 添加した．プレインキュベーション後，トップアガー 2 ml を上記の混合液に加え混和し，最少グルコース寒天平板培地上に重層した．重層したトップアガーが凝固した後，37 ℃で 48 時間培養した．

実体顕微鏡を用いて菌叢の生育状態を観察し，被験物質による菌の生育阻害の有無を調べた後，目視により被験物質の沈殿の有無を確認した．プレート上の復帰変異コロニー数を自動コロニーカウンターまたは目視で計測した．予備試験は各用量につき 1 枚のプレートを使用した．本試験は各用量につき 3 枚のプレートを使用し，再現性を確認するため 2 回実施した．

陰性(溶媒)対照物質および以下の陽性対照物質についても同様に実施した．

菌　株	S9 mix 非共存下 (μg/ﾌﾟﾚｰﾄ)		S9 mix 共存下 (μg/ﾌﾟﾚｰﾄ)	
TA98	AF-2	0.1	2-AA	0.5
TA100	AF-2	0.01	2-AA	1
TA1535	NaN_3	0.5	2-AA	2
TA1537	9-AA	80	2-AA	2
WP2*uvrA*	ENNG	2	2-AA	10

5.4 無菌試験

最高用量の被験物質溶液またはS9 mixをトップアガーと混和し，最少グルコース寒天平板培地上に重層し，雑菌の混入がないことを確認した．

5.5 試験結果の判定

いずれかの試験菌株で，S9 mixの有無によらず，被験物質用量の増加にともなって復帰変異コロニー数(平均値)が陰性(溶媒)対照値の2倍以上に増加し，さらにその増加に再現性が認められる場合に，当該被験物質は変異原性を有する(陽性)と判定した．その他の場合は陰性と判定した．被験物質が陽性と判定された場合は，比活性(被験物質1 mgあたりの誘発復帰変異コロニー数)を算出した．試験結果の判定には統計学的手法は用いなかった．

結　果

予備試験の結果を表1に，本試験の結果を表2～4および図1～10に示す．

予備試験を5000, 1250, 313, 78.1, 19.5, 4.88, 1.22 μg/ﾌﾟﾚｰﾄの7用量で実施した結果，S9 mix非共存下のTA98, TA1537および共存下のTA100, TA1535, TA98, TA1537で復帰変異コロニー数の増加が認められた．また，S9 mix非共存下ではTA100, TA1535, TA98, TA1537の5000 μg/ﾌﾟﾚｰﾄで，共存下ではTA100, TA1535, TA98の5000 μg/ﾌﾟﾚｰﾄで菌の生育阻害が認められた．この結果をもとに本試験では，S9 mix非共存下および共存下のTA100, TA1535, TA98は5000～156 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ(公比2)の6用量，WP2*uvrA*は5000～313 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ(公比2)の5用量，TA1537は5000～78.1 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ(公比2)の7用量をそれぞれ設定した．

2回の本試験の結果，S9 mix非共存下のTA98, TA1537および共存下のTA100, TA1535, TA98, TA1537で陰性(溶媒)対照値の2倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加が認められた．また，S9 mix非共存下のTA100, TA1535, WP2*uvrA*および共存下のWP2*uvrA*では，いずれの試験においても陰性(溶媒)対照値の2倍以上を示す復帰変異コロニー数の増加は認められなかった．なお，S9 mix非共存下ではTA100, TA1535, TA98の5000 μg/ﾌﾟﾚｰﾄで，共存下では本試験1においてはTA1535の5000 μg/ﾌﾟﾚｰﾄで，本試験2ではTA100, TA1535の5000 μg/ﾌﾟﾚｰﾄで菌の生育阻害が認められた．

S9 mix非共存下および共存下の625 μg/ﾌﾟﾚｰﾄ以上で沈殿物が認められた．

本被験物質が示した最大比活性値はS9 mix共存下のTA100の2500 μg/ﾌﾟﾚｰﾄで2.09×10^{2}であった．

考察および結論

S9 mix非共存下および共存下において陽性対照が各菌株に誘発した復帰変異コロニー数は，各菌株の陰性対照の復帰変異コロニー数と比較して，明らかに2倍を超えて増加し，陽性の結果を示した．また，最高用量の被験物質溶液およびS9 mixについて行った無菌試験の結果，試験の成立に影響を及ぼすような菌，カビ等の発育は認められなかった．

以上の結果から，2, 4, 6-トリニトロフェノールは細菌を用いる復帰突然変異試験において変異原性を有する(陽性)と結論した．

なお，同物質および類似化合物の細菌を用いる復帰突然変異試験に関する情報を添付資料にまとめた．

参 考 文 献

1) Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test, *Mutat. Res.*, **113**, 173-215

2) Green, M.H.L. and Muriel, W.J.(1976): Mutagen testing using trp $^{+}$ reversion in *Escherichia coli, Mutat. Res.*, **38**, 3-32

3) 労働省安全衛生部化学物質調査課編(1991):安衛法における変異原性試験，中央労働災害防止協会，東京

表　1

試 験 結 果 表（予備試験）

被験物質の名称 ： 2,4,6-トリニトロフェノール　(No.8L670)

試験実施期間		1999年 3月 16日 より 1999年 3月 19日				
代謝活性化系の有無	被験物質用量 (μg/ﾌﾟﾚｰﾄ)	復帰変異数(ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ)				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
S9 mix (−)	陰性対照	92	11	19	15	9
	1.22	96	11	21	13	10
	4.88	94	10	26	17	6
	19.5	104	10	18	15	5
	78.1	106	8	27	18	9
	313	110	9	32	24	13
	1250†	120	18	25	23	27
	5000†	55*	6*	20	40*	89*
S9 mix (+)	陰性対照	93	10	37	23	18
	1.22	84	8	37	29	15
	4.88	83	9	35	28	17
	19.5	84	17	27	21	20
	78.1	105	11	36	34	17
	313	142	14	29	30	37
	1250†	288	16	28	98	146
	5000†	769*	31*	48	381*	534
陽性対照 S9 mixを必要としないもの	名称	AF-2	NaN_3	ENNG	AF-2	9-AA
	用量 (μg/ﾌﾟﾚｰﾄ)	0.01	0.5	2	0.1	80
	ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	404	441	661	414	275
陽性対照 S9 mixを必要とするもの	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	用量 (μg/ﾌﾟﾚｰﾄ)	1	2	10	0.5	2
	ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	1124	178	1585	480	160

（備　考）＊：菌の生育阻害が認められた．
†：沈殿物が認められた．

AF-2 ：2-(2-ﾌﾘﾙ)-3-(5-ﾆﾄﾛ-2-ﾌﾘﾙ)ｱｸﾘﾙｱﾐﾄﾞ， NaN_3：ｱｼﾞ化ﾅﾄﾘｳﾑ
ENNG：*N*-ｴﾁﾙ-*N*'-ﾆﾄﾛ-*N*-ﾆﾄﾛｿｸﾞｱﾆｼﾞﾝ， 9-AA：9-ｱﾐﾉｱｸﾘｼﾞﾝ塩酸塩， 2-AA：2-ｱﾐﾉｱﾝﾄﾗｾﾝ

表　2

試 験 結 果 表（本 試 験 1）

被験物質の名称 ： 2,4,6-トリニトロフェノール　(No.8L670)

試験実施期間		1999年 3月 29日 より 1999年 4月 1日				
代謝活性化系の有無	被験物質用量 (μg/ﾌﾟﾚｰﾄ)	復帰変異数 (ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ)				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
S9 mix (−)	陰性対照	97 107 (112) (± 17) 131	10 16 (11) (± 4) 8	25 26 (23) (± 5) 17	29 21 (24) (± 4) 22	10 4 (9) (± 4) 12
	78.1					15 9 (10) (± 5) 6
	156	120 103 (107) (± 12) 98	9 9 (8) (± 2) 6		20 29 (24) (± 5) 23	12 10 (11) (± 1) 10
	313	90 101 (96) (± 6) 97	7 8 (10) (± 5) 16	24 26 (24) (± 2) 22	16 23 (21) (± 5) 25	13 13 (13) (± 1) 12
	625†	109 86 (92) (± 15) 82	9 6 (8) (± 2) 9	22 20 (24) (± 5) 30	32 34 (30) (± 5) 25	16 12 (12) (± 4) 8
	1250†	111 121 (116) (± 5) 115	6 8 (9) (± 3) 12	25 24 (26) (± 2) 28	27 35 (36) (± 9) 45	32 41 (37) (± 5) 38
	2500†	138 132 (133) (± 5) 129	10 11 (12) (± 2) 14	21 18 (19) (± 2) 17	65 40 (45) (± 18) 29	122 137 (121) (± 16) 105
	5000†	86* 83* (86) (± 3) 89*	11* 8* (9) (± 2) 9*	28 20 (23) (± 4) 22	49* 61* (57) (± 7) 62*	110 136 (116) (± 18) 101
S9 mix (+)	陰性対照	100 105 (100) (± 5) 95	10 9 (10) (± 2) 12	30 35 (31) (± 4) 28	23 23 (24) (± 1) 25	18 19 (18) (± 2) 16
	78.1					16 19 (15) (± 4) 11
	156	148 143 (137) (± 15) 120	11 8 (10) (± 2) 12		29 28 (30) (± 3) 33	18 23 (20) (± 3) 19
	313	121 122 (123) (± 3) 126	6 7 (9) (± 4) 14	36 27 (30) (± 5) 27	50 22 (40) (± 16) 49	24 28 (26) (± 2) 27
	625†	175 166 (169) (± 6) 165	8 14 (10) (± 3) 9	35 33 (34) (± 1) 35	58 71 (63) (± 7) 60	48 50 (48) (± 2) 47
	1250†	266 239 (248) (± 16) 239	21 10 (16) (± 6) 16	25 36 (30) (± 6) 30	99 45 (77) (± 29) 88	102 187 (135) (± 46) 115
	2500†	591 538 (567) (± 27) 571	28 39 (36) (± 7) 41	34 29 (36) (± 9) 46	223 231 (218) (± 17) 199	383 336 (344) (± 36) 312
	5000†	834 766 (815) (± 43) 845	48* 35* (46) (± 10) 54*	53 40 (50) (± 9) 58	347 348 (342) (± 9) 332	590 650 (562) (±105) 445
陽性対照 S9 mix を必要としないもの	名称	AF-2	NaN_3	ENNG	AF-2	9-AA
	用量 (μg/ﾌﾟﾚｰﾄ)	0.01	0.5	2	0.1	80
	ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	609 564 (574) (± 32) 548	410 409 (404) (± 10) 393	589 588 (561) (± 48) 506	488 446 (466) (± 21) 465	267 217 (228) (± 35) 199
陽性対照 S9 mix を必要とするもの	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	用量 (μg/ﾌﾟﾚｰﾄ)	1	2	10	0.5	2
	ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	1261 1237 (1245) (± 14) 1238	230 233 (224) (± 14) 208	1381 1359 (1405) (± 61) 1474	544 559 (571) (± 35) 611	148 179 (170) (± 20) 184

(備 考) *：菌の生育阻害が認められた.
†：沈殿物が認められた.

(平均値)
(±標準偏差)

AF-2 ：2-(2-ﾌﾘﾙ)-3-(5-ﾆﾄﾛ-2-ﾌﾘﾙ)ｱｸﾘﾙｱﾐﾄﾞ, NaN_3：ｱｼﾞ化ﾅﾄﾘｳﾑ
ENNG：*N*-ｴﾁﾙ-*N'*-ﾆﾄﾛ-*N*-ﾆﾄﾛｿｸﾞｱﾆｼﾞﾝ, 9-AA：9-ｱﾐﾉｱｸﾘｼﾞﾝ塩酸塩, 2-AA：2-ｱﾐﾉｱﾝﾄﾗｾﾝ

表　3

試 験 結 果 表（本 試 験 2）

被験物質の名称 ： 2,4,6-トリニトロフェノール　(No.8L670)

試験実施期間		1999年 4月 5日 より 1999年 4月 8日				
代謝活性化系の有無	被験物質用量 (μg/ﾌﾟﾚｰﾄ)	復帰変異数(ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ)				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
S9 mix (−)	陰性対照	84 87 93 (88 ± 5)	9 10 5 (8 ± 3)	37 32 35 (35 ± 3)	24 16 23 (21 ± 4)	9 7 11 (9 ± 2)
	78.1					8 6 9 (8 ± 2)
	156	82 83 83 (83 ± 1)	9 10 9 (9 ± 1)		24 23 30 (26 ± 4)	8 6 6 (7 ± 1)
	313	86 88 103 (92 ± 9)	9 8 7 (8 ± 1)	23 28 25 (25 ± 3)	39 21 23 (28 ± 10)	9 5 12 (9 ± 4)
	625†	94 94 95 (94 ± 1)	8 6 9 (8 ± 2)	27 19 26 (24 ± 4)	27 28 27 (27 ± 1)	12 18 15 (15 ± 3)
	1250†	106 102 89 (99 ± 9)	12 11 5 (9 ± 4)	30 30 31 (30 ± 1)	42 35 30 (36 ± 6)	31 33 24 (29 ± 5)
	2500†	99 96 108 (101 ± 6)	12 8 9 (10 ± 2)	23 23 18 (21 ± 3)	53 46 41 (47 ± 6)	92 76 80 (83 ± 8)
	5000†	63* 83* 61* (69 ± 12)	3* 7* 3* (4 ± 2)	20 19 23 (21 ± 2)	34* 43* 42* (40 ± 5)	72 62 75 (70 ± 7)
S9 mix (+)	陰性対照	82 87 96 (88 ± 7)	8 9 10 (9 ± 1)	35 32 32 (33 ± 2)	30 29 35 (31 ± 3)	16 13 12 (14 ± 2)
	78.1					16 15 12 (14 ± 2)
	156	135 120 128 (128 ± 8)	15 15 12 (14 ± 2)		28 34 34 (32 ± 3)	22 15 24 (20 ± 5)
	313	99 127 128 (118 ± 16)	13 13 12 (13 ± 1)	40 38 24 (34 ± 9)	32 50 45 (42 ± 9)	17 27 23 (22 ± 5)
	625†	201 169 154 (175 ± 24)	9 20 9 (13 ± 6)	37 33 34 (35 ± 2)	56 63 55 (58 ± 4)	55 49 52 (52 ± 3)
	1250†	280 266 259 (268 ± 11)	19 28 16 (21 ± 6)	28 25 37 (30 ± 6)	114 82 87 (94 ± 17)	83 124 117 (108 ± 22)
	2500†	595 644 591 (610 ± 30)	32 23 37 (31 ± 7)	32 31 35 (33 ± 2)	219 203 203 (208 ± 9)	313 255 304 (291 ± 31)
	5000†	861* 730* 932* (841 ±102)	43* 45* 36* (41 ± 5)	39 40 43 (41 ± 2)	394 348 304 (349 ± 45)	448 625 594 (556 ± 95)
陽性対照 S9 mix を必要としないもの	名称	AF-2	NaN_3	ENNG	AF-2	9-AA
	用量 (μg/ﾌﾟﾚｰﾄ)	0.01	0.5	2	0.1	80
	ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	511 484 419 (471 ± 47)	458 453 451 (454 ± 4)	1058 906 981 (982 ± 76)	581 555 588 (575 ± 17)	504 507 351 (454 ± 89)
陽性対照 S9 mix を必要とするもの	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	用量 (μg/ﾌﾟﾚｰﾄ)	1	2	10	0.5	2
	ｺﾛﾆｰ数/ﾌﾟﾚｰﾄ	1219 1258 1285 (1254 ± 33)	259 238 270 (256 ± 16)	1311 1338 1459 (1369 ± 79)	540 558 514 (537 ± 22)	206 238 199 (214 ± 21)

(備 考) *：菌の生育阻害が認められた.　　(平均値)
†：沈殿物が認められた.　　(±標準偏差)

AF-2 ：2-(2-ﾌﾘﾙ)-3-(5-ﾆﾄﾛ-2-ﾌﾘﾙ)ｱｸﾘﾙｱﾐﾄﾞ, NaN_3：ｱｼﾞ化ﾅﾄﾘｳﾑ
ENNG：*N*-ｴﾁﾙ-*N*'-ﾆﾄﾛ-*N*-ﾆﾄﾛｿｸﾞｱﾆｼﾞﾝ, 9-AA：9-ｱﾐﾉｱｸﾘｼﾞﾝ塩酸塩, 2-AA：2-ｱﾐﾉｱﾝﾄﾗｾﾝ

表　4

比活性

	菌株名	− S9 mix		+ S9 mix	
		比活性 [1]	計算に用いた用量[2] (μg/ﾌﾟﾚｰﾄ)	比活性 [1]	計算に用いた用量[2] (μg/ﾌﾟﾚｰﾄ)
本試験1	TA100	——	——	1.87×10^2	2500
	TA1535	——	——	1.04×10	2500
	WP2*uvrA*	——	——	——	——
	TA98	6.6	5000	7.76×10	2500
	TA1537	4.48×10	2500	1.30×10^2	2500
本試験2	TA100	——	——	2.09×10^2	2500
	TA1535	——	——	9.6	1250
	WP2*uvrA*	——	——	——	——
	TA98	1.04×10	2500	7.08×10	2500
	TA1537	2.96×10	2500	1.11×10^2	2500

1)：被験物質 1 mg あたりの誘発コロニー数

2)：本試験 1, 2 のいずれも最大値の用量を採用した.

図　1　　（本試験　1）

被験物質名：　2, 4, 6-トリニトロフェノール　　No. 8L670

用量－反応曲線　(TA100)

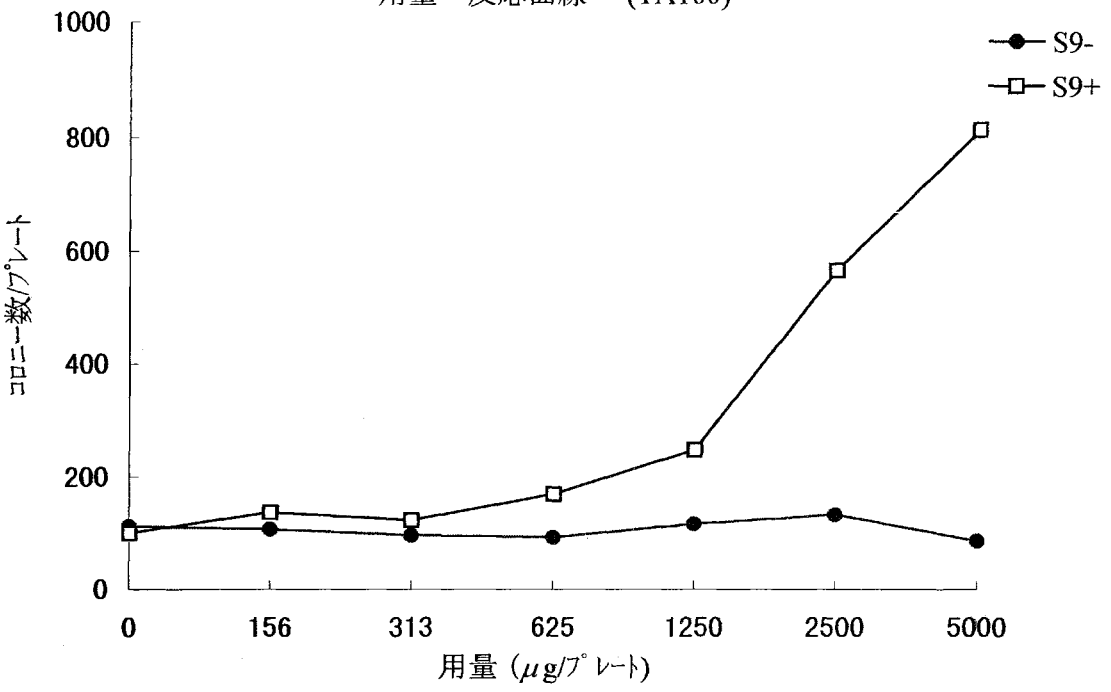


図　2　　（本試験　1）

被験物質名：　2, 4, 6-トリニトロフェノール　　No. 8L670

用量－反応曲線　(TA1535)

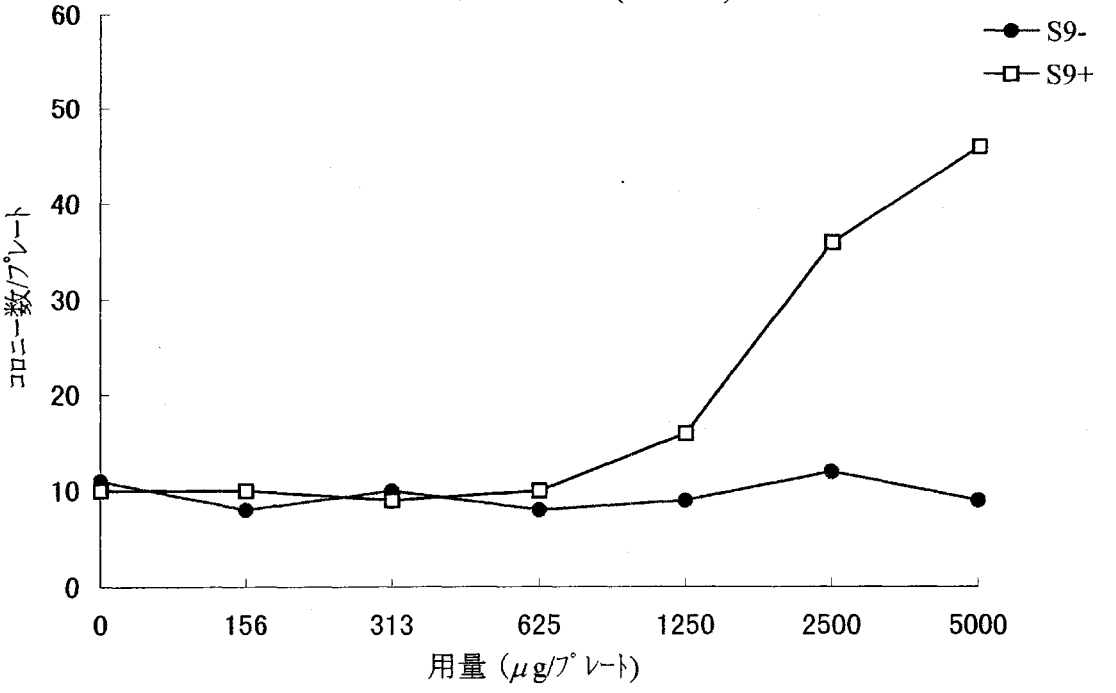


図　3　　（本試験　1）

被験物質名：　2, 4, 6-トリニトロフェノール　　No. 8L670

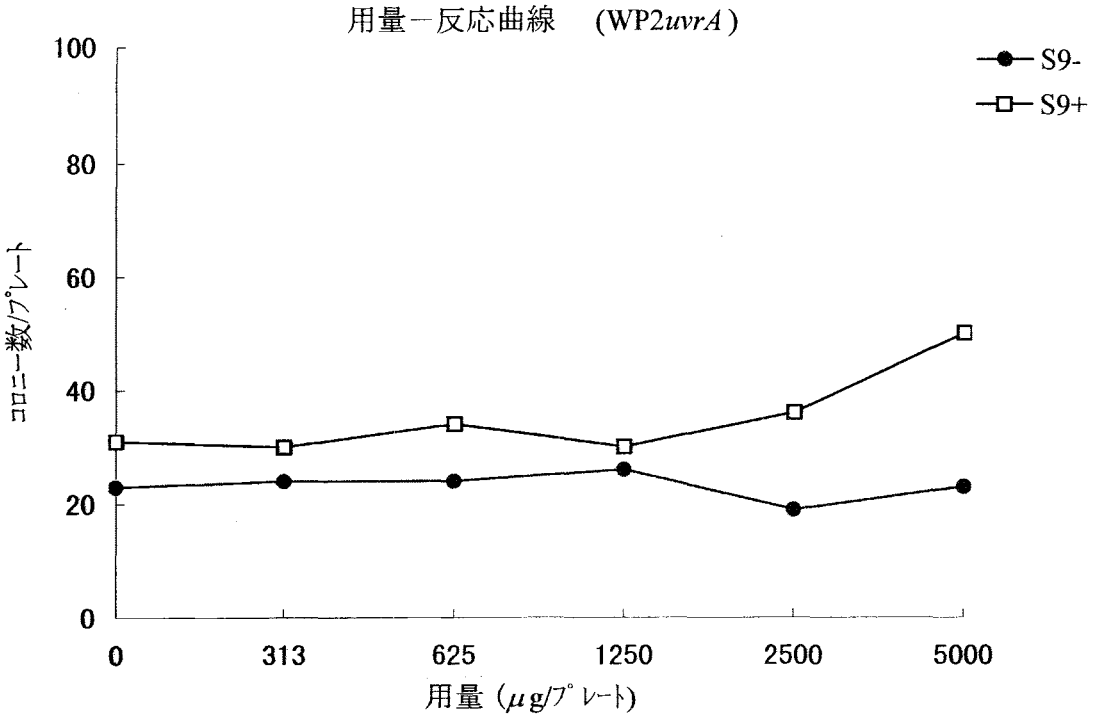


図　4　　（本試験　1）

被験物質名：　2, 4, 6-トリニトロフェノール　　No. 8L670

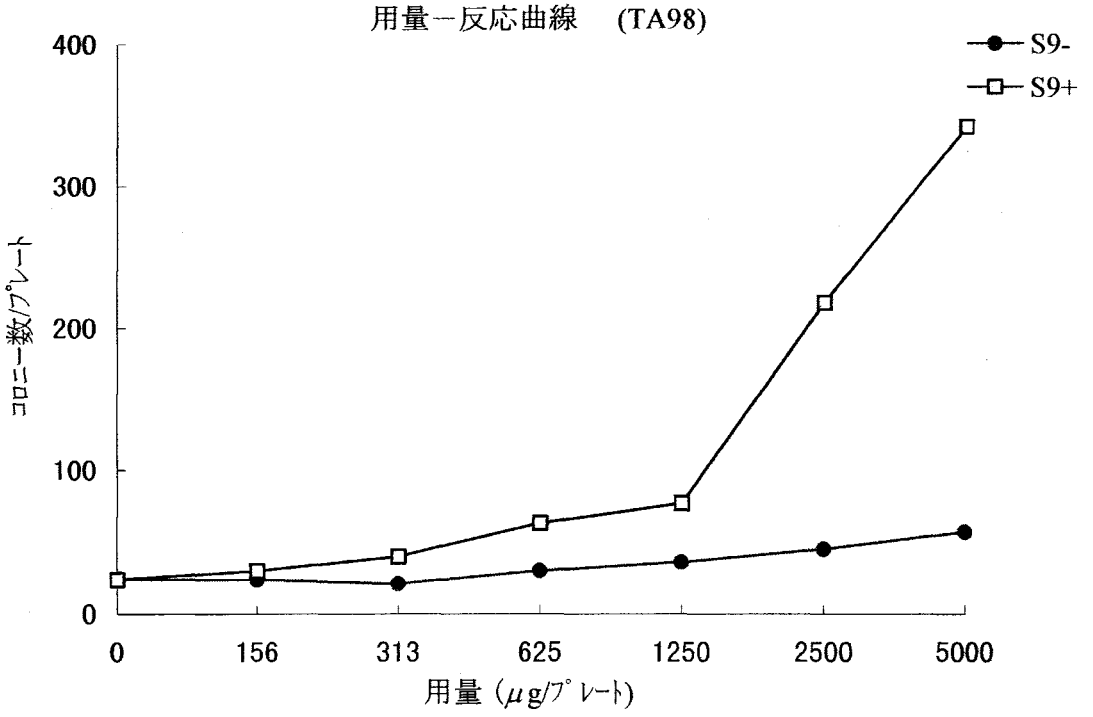


図　5　　（本試験　1）

被験物質名：　2, 4, 6-トリニトロフェノール　　No. 8L670

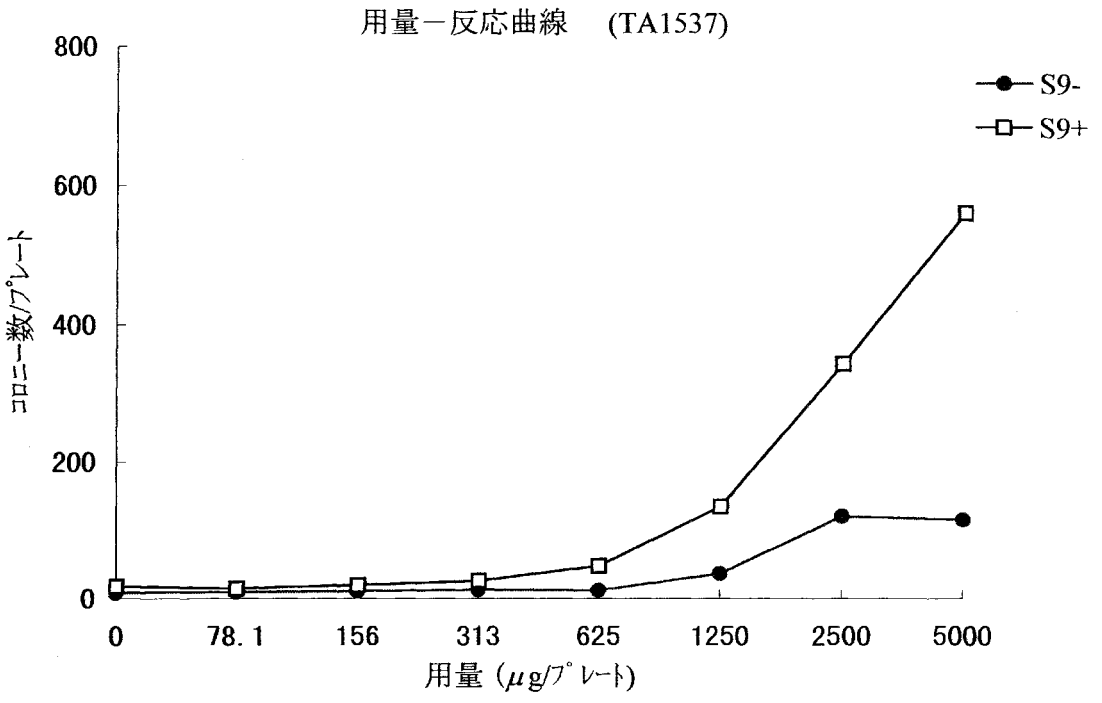


図　6　　（本試験　2）

被験物質名：　2, 4, 6-トリニトロフェノール　　No. 8L670

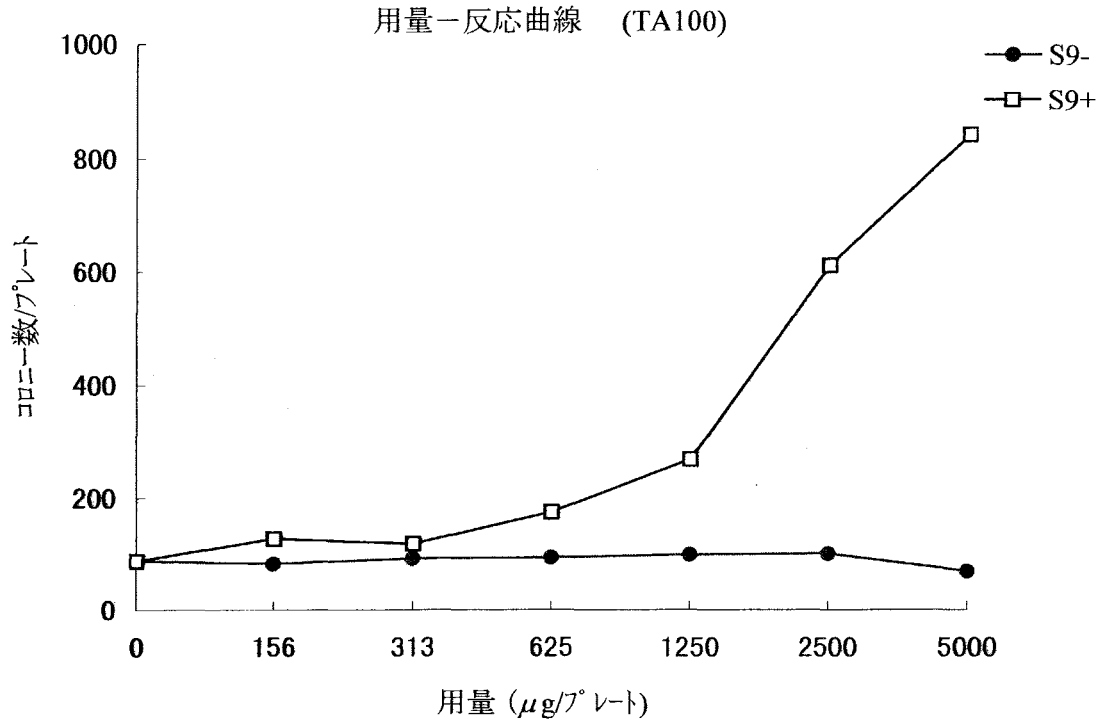


図　7　　（本試験　2）

被験物質名：　2, 4, 6-トリニトロフェノール　　No. 8L670

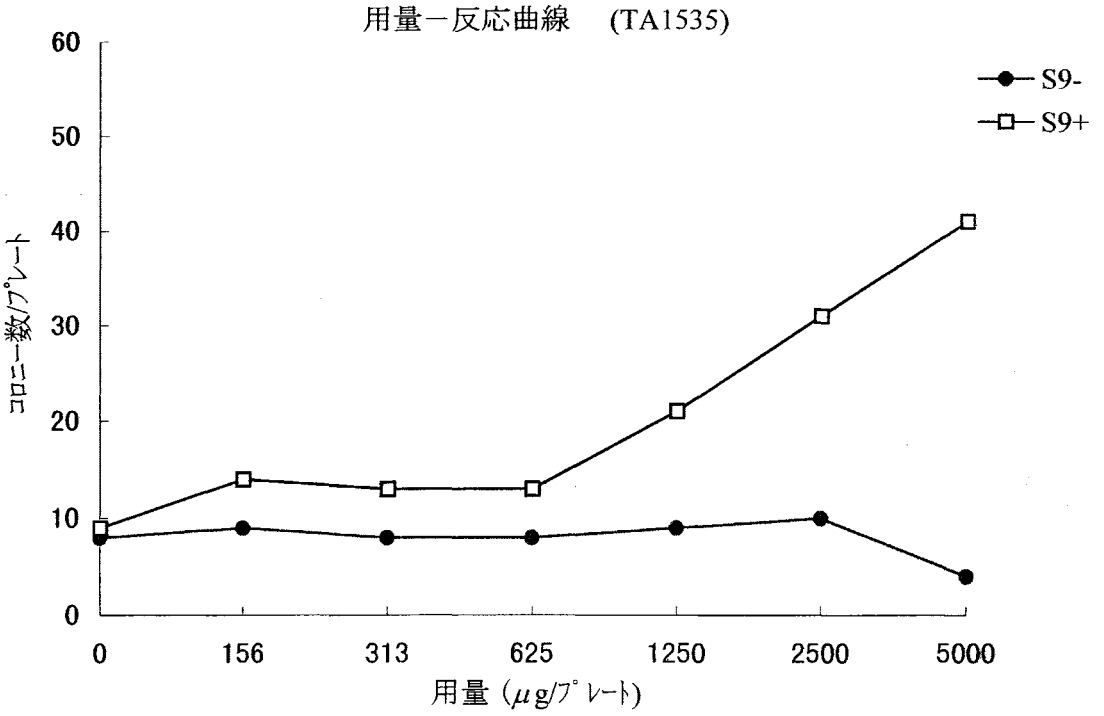


図　8　　（本試験　2）

被験物質名：　2, 4, 6-トリニトロフェノール　　No. 8L670

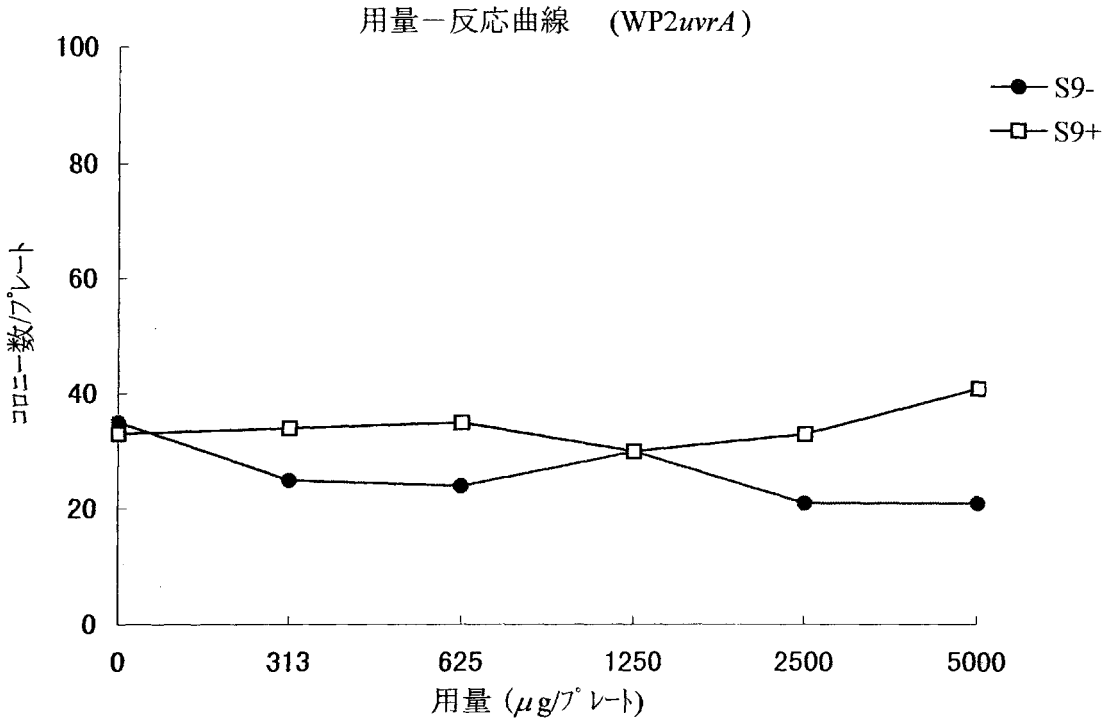


図　9　　（本試験　2）

被験物質名：　2, 4, 6-トリニトロフェノール　　No. 8L670

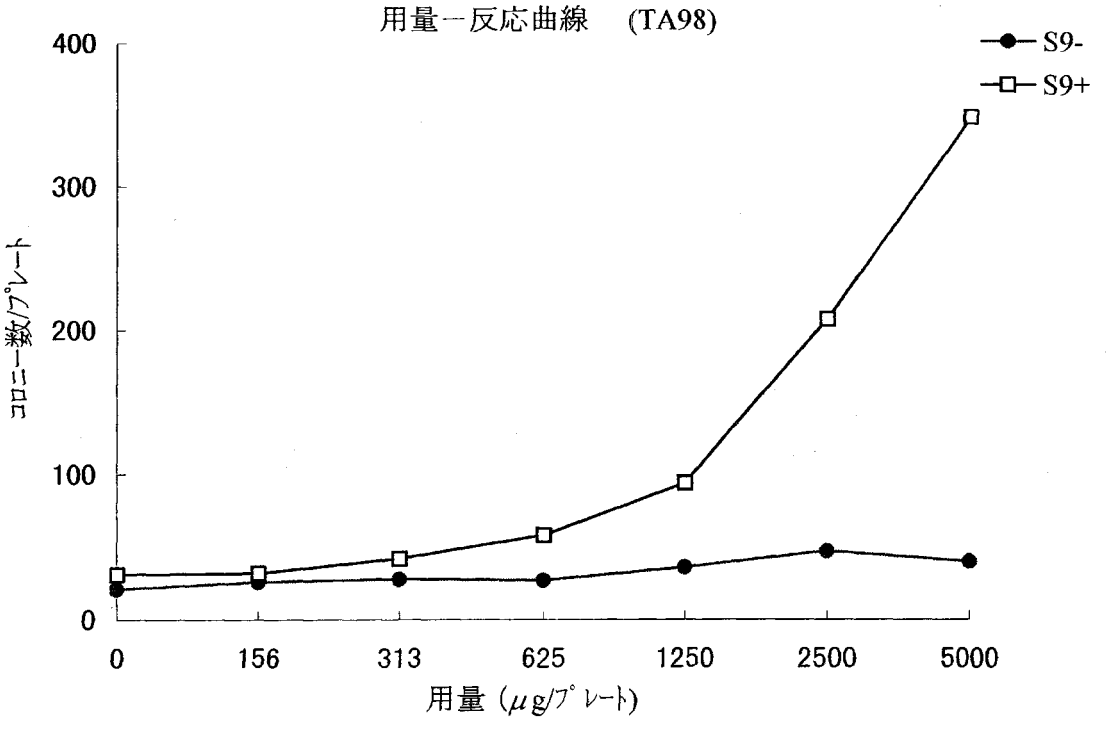
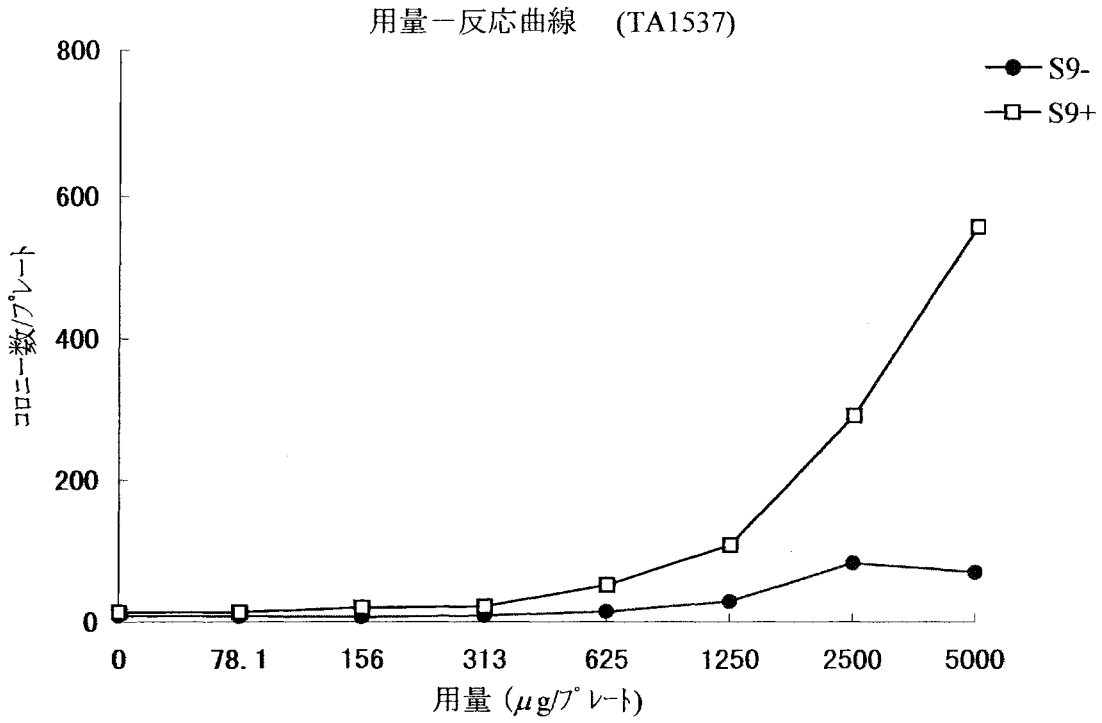


図　１０　　（本試験　２）

被験物質名：　2, 4, 6-トリニトロフェノール　　No. 8L670