

最終報告書

4-メチル安息香酸の細菌を用いる復帰突然変異試験

(試験番号：B020081)

2004年 6月 16日

株式会社三菱化学安全科学研究所

目次

要約	5
材料および方法	6
1. 試験物質	6
2. テスト菌株	7
3. 培地	8
4. S9 mix	9
5. 試験方法	9
結果	12
考察および結論	13
参考文献	14
表 1 試験結果表 (予備試験)	16
表 2 試験結果表 (本試験 1)	17
表 3 試験結果表 (本試験 2)	18
図 1-1 用量-反応曲線 (本試験 1 ; -S9 mix)	19
図 1-2 用量-反応曲線 (本試験 1 ; +S9 mix)	19
図 2-1 用量-反応曲線 (本試験 2 ; -S9 mix)	20
図 2-2 用量-反応曲線 (本試験 2 ; +S9 mix)	20

要約

Salmonella typhimurium TA100, TA1535, TA98, TA1537 および *Escherichia coli* WP2uvrA/pKM101 の 5 菌株を用いる復帰突然変異試験で 4-メチル安息香酸の変異原性を調べた。

予備試験を 5000, 1250, 313, 78.1, 19.5, 4.88 および 1.22 μg /プレートで実施した結果, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性 (溶媒) 対照値の 2 倍以下であった。また, S9 mix 存在下のすべての菌株では 5000 μg /プレートで菌の生育阻害が認められた。なお, S9 mix の有無にかかわらず, プレート上に沈殿物は認められなかった。

これらの結果をもとに本試験では, S9 mix 非存在下のすべての菌株については 5000, 2500, 1250, 625, 313 μg /プレートの 5 用量を, S9 mix 存在下のすべての菌株については 5000, 2500, 1250, 625, 313, 156 μg /プレートの 6 用量をそれぞれ設定した。

2 回の本試験の結果, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性 (溶媒) 対照値の 2 倍以下であった。また, S9 mix 存在下のすべての菌株では 5000 μg /プレートで菌の生育阻害が認められた。なお, S9 mix の有無にかかわらず, プレート上に沈殿物は認められなかった。

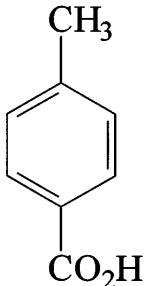
以上の結果から, 4-メチル安息香酸は細菌を用いる復帰突然変異試験において変異原性を有さない (陰性) と結論した。

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 4-メチル安息香酸を室温に保存し、使用した。被験物質の純度，組成および物理化学的性質等は以下の通りである。

新規化学物質の名称 (IUPAC 命名法による)	Benzoic acid, 4-methyl-		
別 名	4-メチル安息香酸, パラトルイル酸 (PTLA)		
構造式又は示性式 (いずれも不明の場合は, その製法の概要)			
試験に供した新規化学物質の純度	98.85%	試験に供した新規化学物質の Lot No.	
不純物の名称及び濃度	水分 0.01% 灰分 0.01%		
CAS 番号	99-94-5	蒸 気 圧	—
分 子 量	136.15	分配係数	—
融 点	180°C~181°C	常温における性状	白色結晶性粉末
沸 点	274°C~275°C		
安 定 性	—		
溶媒に対する溶解度等	溶 媒	溶 解 度	溶媒中の安定性
	水	0.055% (30°C)	—
	DMSO	50 mg/mL で溶解 *1	安定 *2
	アセトン	—	—
	アルコール, エタノール メタノール	易溶	—

DMSO: ジメチルスルホキシド

*1: 当研究所での溶媒検討の結果による。

*2: 被験物質溶液調製時に, 発熱, 発泡, 変色は認められなかった。

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。

陰性対照	略称	入手先	ロット番号	含量 (%)
ジメチルスルホキシド ^{*)}	DMSO	関東化学(株)	210G1441	99.7 以上
陽性対照	略称	入手先	ロット番号	含量 (%)
2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド ^{*)}	AF-2	和光純薬工業(株)	CAP0185	98.9
アジ化ナトリウム	NaN ₃	和光純薬工業(株)	KWE6685	96.5
N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン	ENNG	Sigma Chemical Company	56F-3651	99.0
9-アミノアクリジン塩酸塩	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(株)	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* TA100, TA1535, TA98, TA1537 および日本バイオアッセイ研究センターより 1997 年 9 月 18 日に入手した *Escherichia coli* WP2uvrA/pKM101 の 5 菌株を用いた。

2.2 テスト菌株の選択理由

これらの菌株は、細菌を用いる復帰突然変異試験において広く使用され、OECD ガイドラインおよび化審法ガイドラインにおいても推奨されている。

これら菌株の遺伝的特性は以下の通りである。

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	薬剤耐性	
TA100	<i>hisG</i>	<i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	pKM101	塩基対置換
TA1535	<i>hisG</i>	<i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	—	塩基対置換
WP2uvrA/pKM101	<i>trpE</i>	<i>uvrA</i>	wild type	pKM101	塩基対置換
TA98	<i>hisD</i>	<i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	pKM101	フレームシフト
TA1537	<i>hisC</i>	<i>uvrB</i>	<i>rfa</i>	—	フレームシフト

2.3 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性を事前に調べ、これらの特性を備えた菌株を用いた。

2.4 保存方法

液体完全培地中に 37°C で 8 時間振盪培養した各菌懸濁液 24 mL に、2.1 mL の DMSO (関東化学株, ロット番号 207G1673) を加え、これを 200 μ L ずつ小分けしてドライアイス・アセトン中で急速凍結した。凍結した菌懸濁液は超低温冷凍庫 (三洋電気株, MDF-192AT) で -78°C ~ -88°C に保存した。

2.5 菌懸濁液

凍結保存された各テスト菌株を用時融解し、20 μ L を液体完全培地 10 mL に接種した。37°C で 8 時間振盪 (振盪回数: 90 回/分) 培養した。培養容器には L 字管 (容量 22 mL) を用いた。培養終了後、濁度計を用いて菌懸濁液の濁度を測定した。濁度からの換算により生菌数を算出し、適切な菌濃度 (1×10^9 /mL 以上) であることを確認した後、試験に使用した。

試験に使用した各テスト菌株の生菌数は以下の通りである。

菌 株 名		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> /pKM101	TA98	TA1537
生菌数 ($\times 10^9$ /mL)	予備試験	2.43	2.57	4.25	2.13	2.20
	本試験 1	2.49	2.55	4.13	2.29	2.27
	本試験 2	2.58	2.57	4.21	2.07	2.20

3. 培地

3.1 液体完全培地

精製水 100 mL に対して、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) を 2.5 g の割合で加えて溶解し、オートクレーブ滅菌 (121°C, 15 分間) 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株, 2002 年 2 月 15 日製造; ロット番号 ANI110BR [使用寒天; 伊那寒天 (BA-30A), 伊那食品工業株製造, ロット番号 10301]} を使用した。

3.3 トップアガー

精製水 300 mL に粉末寒天 (Bacto-agar ; Difco 社, ロット番号 136958JC) 1.8 g および塩化ナトリウム 1.5 g を加え, これを 121°C で 15 分間オートクレーブ滅菌し, 寒天溶液を調製し室温で保管した. この寒天を使用時に電子レンジで溶解して使用した. ネズミチフス菌用には 0.5 mmol/L D-ビオチンおよび 0.5 mmol/L L-ヒスチジン混合水溶液, あるいは大腸菌用には 0.5 mmol/L L-トリプトファン水溶液をそれぞれ使用直前に 1/10 量添加した. このトップアガーは使用時に約 45°C 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 を 1 回腹腔内投与, 2 日目以降 60 mg/kg を 1 日 1 回 3 日間腹腔内投与) 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 7 週齢の SD 系雄ラット (体重 214 - 239 g) 肝由来 S9 (キッコーマン株, 2002 年 2 月 22 日製造 ; ロット番号 RAA-459) を購入し, 使用した. S9 は使用時まで超低温冷凍庫 (三洋電気株, MDF-192AT : 実測値 -78°C ~ -88°C) に保存した.

4.2 S9 mix

S9 mix 1 mL あたりの組成を以下の表に示す. S9 mix は試験毎に用時調製し, 使用時まで氷中に保存した.

S9	0.1 mL
塩化マグネシウム	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	全量が 1 mL となる様に加える

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

溶媒を選択するための予備的試験を実施した結果, 被験物質は 50 mg/mL で注射用水 (DW) に不溶, DMSO に溶解した. また, DMSO を添加した際に発熱, 発泡, 変色は

認められなかった。この結果から、溶媒には DMSO を用いた。

被験物質を所定濃度で DMSO に溶解して、最高用量の被験物質溶液とした。これを同じ溶媒で段階希釈して各用量の被験物質溶液を調製した。被験物質溶液は用時調製し、被験物質の秤量、希釈、分注および調製後の保存は室温、黄色灯下で行った。使用までの保存時間は予備試験では 65 分、本試験 1 では 10 分、本試験 2 では 25 分であった。

陽性対照物質溶液はあらかじめ調製し、超低温冷凍庫（三洋電気㈱，MDF-192AT）で $-78^{\circ}\text{C}\sim-88^{\circ}\text{C}$ に保存した。NaN₃ は DW（㈱大塚製薬工場，ロット番号 K0C78）に、その他の陽性対照物質は DMSO（関東化学㈱，ロット番号 210G1441）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 および 1.22 μg /プレートで実施した結果、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の 2 倍以下であった。また、S9 mix 存在下のすべての菌株では 5000 μg /プレートで菌の生育阻害が認められた。なお、S9 mix の有無にかかわらず、プレート上に沈殿物は認められなかった。

これらの結果をもとに本試験では以下の用量を設定した。

試験菌株	用量 (μg /プレート)	
	S9 mix 非存在下	S9 mix 存在下
TA100, TA1535 WP2 <i>uvrA</i> /pKM101 TA98, TA1537	5000, 2500, 1250, 625, 313	5000, 2500, 1250, 625, 313, 156

5.3 復帰突然変異試験

試験はプレインキュベーション法を用いて、S9 mix 非存在下および存在下で実施した。

各用量につき滅菌した試験管に被験物質溶液または陰性（溶媒）対照物質を 0.1 mL、S9 mix 非存在下の場合、次いで 0.1 mol/L ナトリウムリン酸緩衝液 (pH 7.4) を 0.5 mL、S9 mix 存在下の場合、S9 mix を 0.5 mL 添加し、さらに菌懸濁液を 0.1 mL 加え、 37°C で 20 分間振盪してインキュベーションした。プレインキュベーション後、この混合液にトップアガーを 2 mL 加え、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°C 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程度を調べた後、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

一数を自動コロニーカウンター（システムサイエンス㈱，CA-11，補正の方法：面積および数え落とし補正）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，2回実施した。

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 非存在下 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	S9 mix 存在下 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	添 加 量 ($\text{mL}/\text{プレート}$)
TA100	AF-2 0.01	2-AA 1	0.1
TA1535	NaN ₃ 0.5	2-AA 2	0.1
WP2 <i>uvrA</i> /pKM101	ENNG 2	2-AA 2	0.1
TA98	AF-2 0.1	2-AA 0.5	0.1
TA1537	9-AA 80	2-AA 2	0.1

5.4 無菌試験

無菌試験は被験物質溶液およびS9 mix それぞれにつき1枚のプレートを使用し，予備試験および本試験の各試験毎に実施した。最高用量の被験物質溶液0.1 mLまたはS9 mix 0.5 mLにトップアガーを2 mL加えて混和し，それぞれ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°Cで48時間培養し，雑菌の混入について確認した。

5.5 試験結果の判定

いずれかの試験菌株で，S9 mixの有無にかかわらず，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。試験結果の判定に統計学的手法は用いなかった。

結果

試験の結果を表 1~3 および図 1, 2 に示す。

予備試験を 5000, 1250, 313, 78.1, 19.5, 4.88 および 1.22 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ で実施した結果, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性 (溶媒) 対照値の 2 倍以下であった。また, S9 mix 存在下のすべての菌株では 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ で菌の生育阻害が認められた。なお, S9 mix の有無にかかわらず, プレート上に沈殿物は認められなかった。

これらの結果をもとに本試験では, S9 mix 非存在下のすべての菌株については 5000, 2500, 1250, 625, 313 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の 5 用量を, S9 mix 存在下のすべての菌株については 5000, 2500, 1250, 625, 313, 156 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の 6 用量をそれぞれ設定した。

2 回の本試験の結果, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性 (溶媒) 対照値の 2 倍以下であった。また, S9 mix 存在下のすべての菌株では 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ で菌の生育阻害が認められた。なお, S9 mix の有無にかかわらず, プレート上に沈殿物は認められなかった。

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, 試験に影響を及ぼすような菌, カビ等の混入は認められなかった。

考察および結論

予備試験の結果を基に、本試験を 5000 μg /プレートを最高用量として実施したが、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの菌株においても復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の 2 倍以下であった。

試験施設における背景データおよび背景データより算出した適正範囲を添付資料 1 に示した。本試験の陰性（溶媒）対照値および陽性対照値が適正範囲の範囲内であったこと、また S9 mix 非存在下および存在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が、各菌株の陰性（溶媒）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ことから、試験が適切に実施されたことが確認された。

以上の結果から、4-メチル安息香酸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さない（陰性）と結論した。

なお、同一物質あるいは類似化合物の変異原性に関する情報を添付資料 2 にまとめた。

参考文献

1. Maron, D.M. and Ames, B.N. (1983) : 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 : 4-メチル安息香酸

試験実施期間		2002年5月14日より2002年5月17日					
代謝活性化系の有無	被験物質用量 (μg/プレート)	復帰変異数(コロニ数/プレート)					
		塩基対置換型			フレームシフト型		
		TA100	TA1535	WP2ar4/pKM101	TA98	TA1537	
S9 mix (-)	陰性対照	109	13	88	22	16	
	1.22	110	14	85	29	21	
	4.88	96	18	85	29	19	
	19.5	104	10	83	24	24	
	78.1	108	13	76	30	24	
	313	101	9	89	31	19	
	1250	94	10	86	24	25	
	5000	61	6	59	24	15	
S9 mix (+)	陰性対照	118	13	107	25	22	
	1.22	125	9	111	39	17	
	4.88	108	9	105	32	23	
	19.5	114	14	119	38	21	
	78.1	103	12	117	32	17	
	313	119	9	132	29	22	
	1250	120	10	100	28	16	
	5000	71*	6*	59*	30*	15*	
陽性	S9 mixを必要としないもの	名称	AF-2	NaNs	ENNG	AF-2	9-AA
		用量 (μg/プレート)	0.01	0.5	2	0.1	80
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/プレート)	1	2	2	0.5	2
		コロニ数/プレート	504	494	3326	643	174
		コロニ数/プレート	1341	182	655	428	172

(備考)*: 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, NaNs : ナジウム

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩, 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 : 4-メチル安息香酸

試験実施期間		2002年5月28日より2002年5月31日				
代謝活性化系の有無	被験物質用量 (μg/プレート)	復帰変異数(コロニ数/プレート)				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2uvr4/pKM101	TA98	TA1537
S9 mix (-)	陰性対照	102 108 (±104)	8 10 (±9)	69 74 (±74)	15 24 (±21)	10 15 (±12)
	313	103 100 (±100)	10 10 (±10)	92 73 (±78)	17 22 (±19)	14 16 (±13)
	625	96 104 (±101)	15 11 (±12)	75 87 (±82)	24 24 (±22)	11 19 (±14)
	1250	96 101 (±97)	9 9 (±10)	69 76 (±71)	23 24 (±24)	16 11 (±15)
	2500	99 104 (±104)	9 10 (±10)	71 67 (±77)	23 19 (±22)	12 10 (±11)
	5000	69 57 (±59)	9 10 (±10)	61 59 (±57)	15 16 (±16)	7 10 (±11)
S9 mix (+)	陰性対照	103 121 (±118)	9 11 (±10)	92 105 (±98)	25 24 (±24)	25 19 (±23)
	156	119 107 (±113)	9 13 (±11)	109 88 (±98)	22 24 (±27)	21 22 (±22)
	313	97 100 (±102)	8 16 (±11)	96 94 (±97)	24 30 (±27)	28 30 (±29)
	625	104 100 (±102)	10 13 (±11)	93 83 (±93)	33 23 (±28)	26 28 (±29)
	1250	105 101 (±104)	11 10 (±11)	75 83 (±84)	26 22 (±26)	24 31 (±27)
	2500	100 94 (±99)	9 9 (±10)	100 75 (±86)	22 24 (±25)	27 21 (±24)
5000	61* 70* (±71)	6* 7* (±6)	48* 63* (±59)	18* 21* (±16)	13* 22* (±18)	
陽性対照	名称	AF-2	NaN ₃	ENNG	AF-2	9-AA
	用量 (μg/プレート)	0.01	0.5	2	0.1	80
S9 mixを必要とするもの	コロニ数 / プレート	568 541 (±561) 573	485 469 (±491) 520 (±26)	4251 4070 (±4071) 3891 (±180)	651 638 (±655) 675	294 238 (±253) 227 (±36)
	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
S9 mixを必要とするもの	用量 (μg/プレート)	1	2	2	0.5	2
	コロニ数 / プレート	1556 1342 (±1428) 1386 (±113)	164 158 (±170) 188 (±16)	1302 1208 (±1176) 1017 (±145)	503 456 (±470) 450 (±29)	238 203 (±214) 201 (±21)

(備考)*: 菌の生育阻害が認められた。

(平均値)
(±標準偏差)

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, NaN₃ : アジ化ナトリウム
ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩, 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 : 4-メチル安息香酸

試験実施期間		2002年7月8日より2002年7月11日				
代謝活性化系の有無	被験物質用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	復帰変異数(コロニ-数/プレート)				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2uvr4/pKM101	TA98	TA1537
S9 mix (-)	陰性対照	107 95 (± 10) 102	11 9 (± 10)	74 76 (± 7) 80	21 23 (± 2) 23	13 15 (± 13) 12
	313	93 99 (± 9) 102	10 8 (± 11) 8	89 80 (± 8) 92	20 22 (± 2) 26	12 14 (± 13) 13
	625	90 113 (± 10) 96	9 13 (± 2)	76 86 (± 7) 74	20 17 (± 2) 24	17 14 (± 15) 14
	1250	96 100 (± 10) 107	10 13 (± 10) 13	90 76 (± 7) 76	18 21 (± 19) 21	11 12 (± 12) 12
	2500	98 89 (± 9) 90	11 8 (± 10) 10	75 65 (± 7) 73	19 21 (± 19) 17	15 13 (± 14) 14
	5000	64 78 (± 7) 77	8 8 (± 8)	54 60 (± 5) 60	15 18 (± 16) 15	13 11 (± 12) 11
S9 mix (+)	陰性対照	120 96 (± 10) 107	11 9 (± 10)	92 104 (± 9) 99	26 33 (± 28) 24	23 22 (± 22) 21
	156	103 94 (± 10) 116	12 11 (± 11)	98 103 (± 10) 103	23 25 (± 26) 29	19 24 (± 21) 24
	313	93 106 (± 10) 107	15 10 (± 12)	95 104 (± 9) 95	25 23 (± 24) 25	25 30 (± 26) 24
	625	98 99 (± 9) 100	12 12 (± 12)	103 83 (± 9) 89	30 24 (± 29) 33	22 24 (± 24) 25
	1250	104 100 (± 10) 104	12 12 (± 11)	100 87 (± 9) 87	26 27 (± 28) 32	25 25 (± 26) 27
	2500	93 101 (± 10) 107	11 9 (± 11) 12	73 88 (± 8) 83	27 31 (± 29) 30	26 28 (± 26) 28
5000	65* 83* (± 7) 78*	7* 8* (± 8)	50* 67* (± 5) 61*	14* 19* (± 17) 19*	21* 17* (± 18) 16*	
陽性対照	名称	AF-2	NaNb	ENNG	AF-2	9-AA
	用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.5	2	0.1	80
S9 mixを必要とするもの	コロニ-数 / プレート	502 496 (± 5) 538	426 498 (± 4) 465	4226 3768 (± 4) 4387	669 683 (± 6) 674	223 232 (± 2) 304
	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
S9 mixを必要とするもの	用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	1	2	2	0.5	2
	コロニ-数 / プレート	1282 1487 (± 13) 1269	182 197 (± 17) 170	1129 942 (± 9) 895	407 424 (± 4) 411	209 217 (± 2) 224

(備考)*: 菌の生育阻害が認められた。

(平均値)
(\pm 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, NaNb : ナトリウム

ENNG : N-エチル-N'-ニトロ-N-ニトロソグアニジン, 9-AA : 9-アミノアクリジン塩酸塩, 2-AA : 2-アミノアントラセン

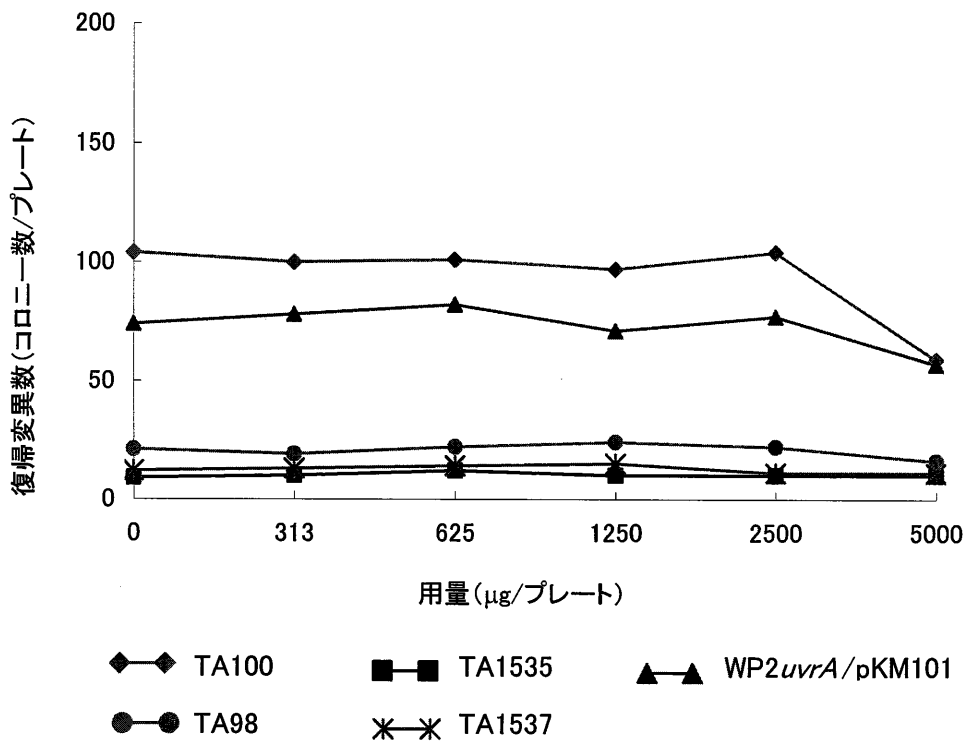


図 1-1 用量-反応曲線 (本試験 1; -S9 mix)

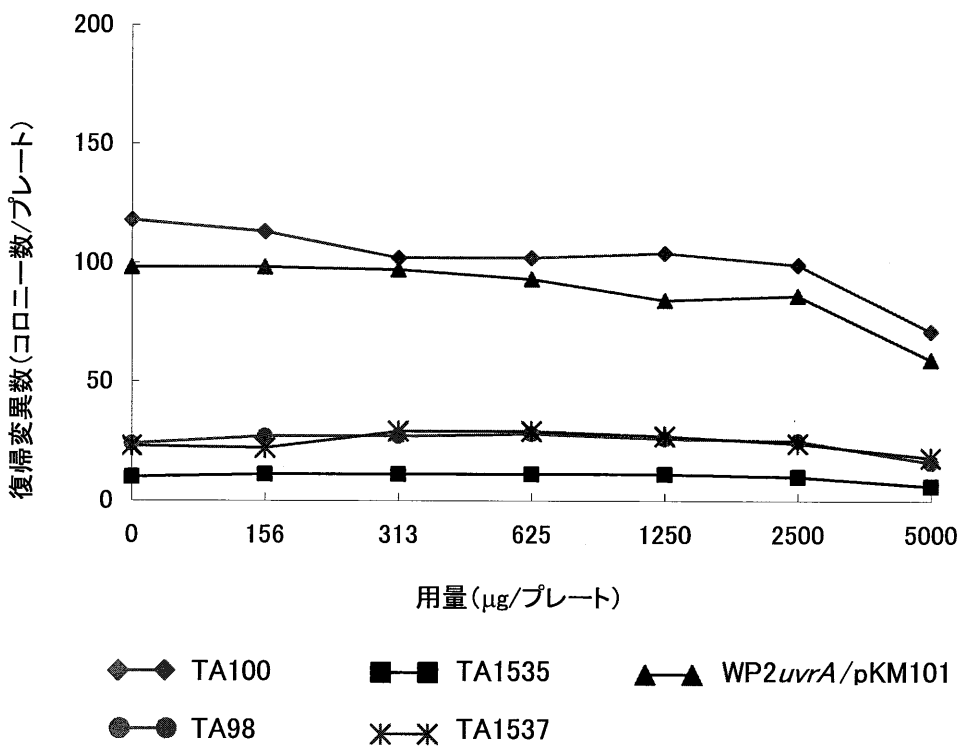


図 1-2 用量-反応曲線 (本試験 1; +S9 mix)

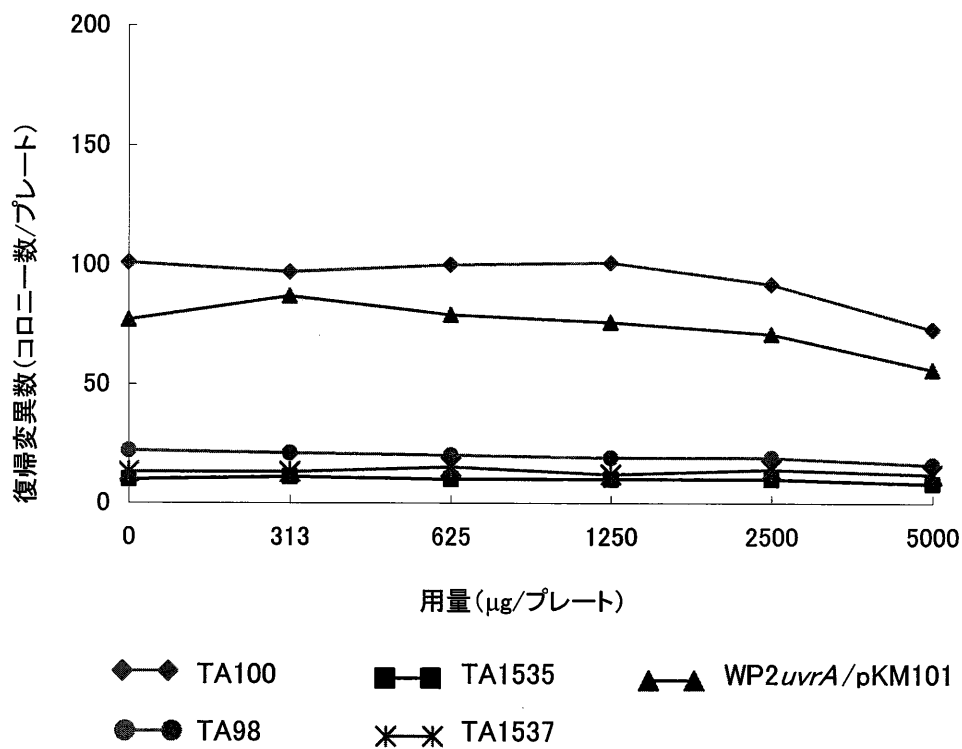


図 2-1 用量-反応曲線 (本試験 2; -S9 mix)

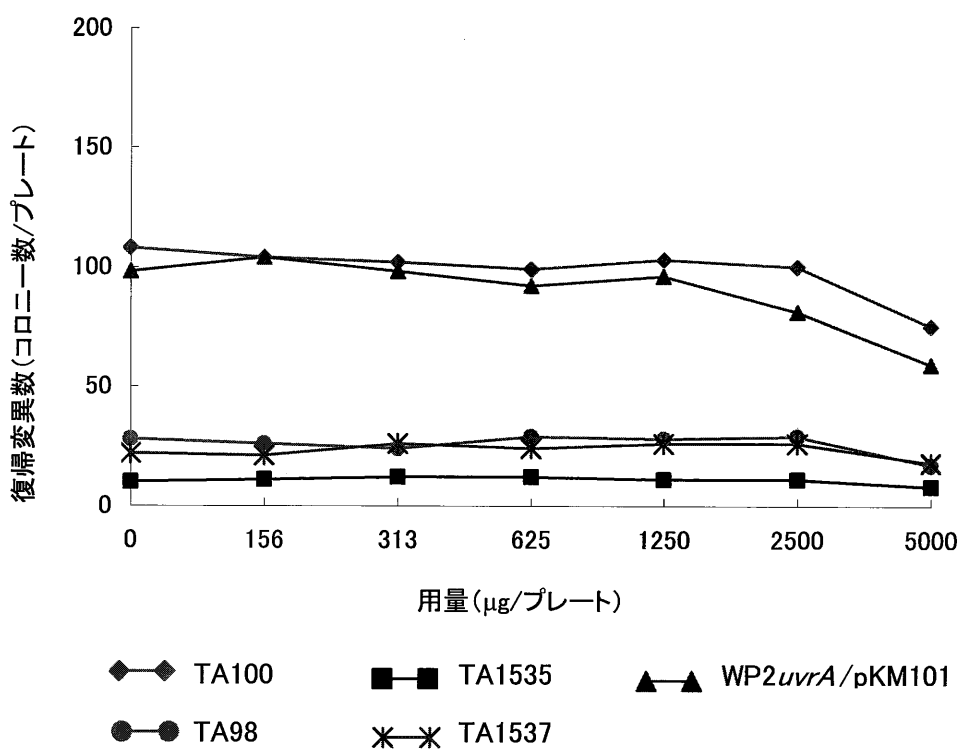


図 2-2 用量-反応曲線 (本試験 2; +S9 mix)