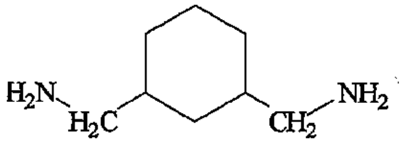
細菌を用いる復帰突然変異試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質等の名称(IUPAC 命名法による)	1, 3-ビス（アミノメチル）シクロヘキサン		
別　　名	−		
CAS 番号	2579-20-6		
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)			
分　子　量	142.24		
試験に供した新規化学物質の純度（%）	99.98%		
試験に供した新規化学物質のロット番号	50303		
不純物の名称及び含有率	−		
蒸　気　圧	1866 Pa，14 mmHg（120°C）		
対水溶解度	50 mg/mL で溶解		
1-オクタノール/水分配係数	−		
融　　点	−70°C 以下		
沸　　点	244°C		
常温における性状	無色液体		
安　定　性	所定の取扱い，保管条件では安定		
溶媒に対する溶解度等	溶　媒	溶　解　度	溶媒中の安定性
	DMSO	50 mg/mL で溶解 *1	−
	水	50 mg/mL で溶解*1	安定 *2
	アセトン	−	−
	生理食塩水	50 mg/mL で溶解*1	−

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．

2. 試験に用いた菌株

菌株名	入手先	入手年月日
TA100	カリフォルニア大学 [redacted]	1983年5月27日
TA1535		
TA98		
TA1537		
WP2*uvrA*/pKM101	日本バイオアッセイ研究センター	1997年9月18日

3. S9 mix

(1) S9の入手方法等（該当する番号を○で囲み，必要事項を記入すること．）

自製・購入の別	1. 自製　　(2.) 購入（製造元　：キッコーマン株式会社）
製造年月日	2005年2月25日　製造
購入の場合のLot No.	RAA-517
保存温度	−85°C ～ −80°C

(2) S9の調製方法

使用動物		誘導物質	
種・系統	SD系ラット	名称	ﾌｪﾉﾊﾞﾙﾋﾞﾀｰﾙ (PB), 5,6-ﾍﾞﾝｿﾞﾌﾗﾎﾞﾝ (BF)
性	雄	投与方法	腹腔内投与
週齢	7週齢	投与期間及び投与量(g/kg体重)	PB; 1日目：0.03 2～4日目：0.06 BF; PB投与3日目：0.08
体重	210－249 g		

(3) S9 mix の組成

成分	S9 mix 1 mL中の量	成分	S9 mix 1mL中の量
S9	0.1 mL	β-NADPH	4 μmol
$MgCl_2$	8 μmol	β-NADH	4 μmol
KCl	33 μmol	Na-ﾘﾝ酸緩衝液 (pH 7.4)	100 μmol
D-ｸﾞﾙｺｰｽ 6-ﾘﾝ酸	5 μmol	滅菌精製水	残量

4. 被験物質溶液の調製（被験物質溶液の性状及び純度換算の有無は該当するものを○で囲むこと．）

使用溶媒	名　称	製　造　元	Lot No.	グレード	純度(%)
	注射用水	株式会社大塚製薬工場	K4C80	−	−
溶媒選択の理由	溶媒検討の結果，被験物質は 50 mg/mL で注射用水に溶解した．また，注射用水を加えた際に発熱，発泡，変色は認められなかった．この結果から，溶媒には注射用水を用いた．				
被験物質溶液の性状	(溶解)　懸濁　その他（　　）				
被験物質が難溶性の場合における懸濁等の方法					
溶液の調製から使用までの保存時間と温度	10 分～45 分　室温				
純度換算の有無	有　(無)				

5. 前培養の条件等

(1) 条件

ニュートリエントブロス	名　称	製 造 元	Lot No.
	Oxoid Nutrient Broth No.2	Oxoid 社	261002
前培養時間	8 時間		
培養容器（形状・容量）	L 型試験管　22 mL		
培養液量	10 mL	接種菌量	20 µL

(2) 前培養終了時の生菌数等

菌　株　名		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2*uvrA*/pKM101	TA98	TA1537
生菌数 ($\times 10^9$/mL)	予備試験	2.51	2.05	6.42	3.71	2.09
	本試験 1	2.53	2.03	5.99	3.40	2.12
	本試験 2	2.55	1.99	6.11	3.51	2.13
測　定　方　法（いずれかを○で囲むこと）		1. O.D.値よりの換算　2. 段階希釈法　(3.) 濁度よりの換算				

6. 最少グルコース寒天平板培地（該当する番号を○で囲み，必要事項を記入すること．）

自製・購入の別	1. 自製 2. 購入（製造元：オリエンタル酵母工業株式会社）
製造年月日	2005 年 3 月 5 日　製造
購入の場合の Lot No.	クリメディア AM-N 培地　　ANI190CU
使用寒天の名称・製造元・Lot No.	名　称：伊那寒天（BA-30A） 製造元：伊那食品工業株式会社　Lot No.：40721

7. 試験の方法（該当する番号を○で囲み，必要事項を記入すること．）

(1) 試験方法とその選定理由

採用した試験方法	1. プレインキュベーション法　　2. プレート法 3. その他（　　　　　　）
その他の場合はその選定理由	

(2) 試験条件

組　成	菌 懸 濁 液	0.1 mL
	被験物質溶液	0.1 mL
	Na-リン酸緩衝液（直接法による場合）	0.5 mL
	S9 mix（代謝活性化法による場合）	0.5 mL
	トップアガー	2 mL
	その他（　　　　）	—
プレインキュベーション	温　度	37°C
	時　間	20 分
インキュベーション	温　度	37°C
	時　間	48 時間

8. コロニー計測の方法

計測方法	1. マニュアル（目視）計測　2. 機器（自動コロニーカウンター）計測
補正の有無	1. 無　2. 有（補正の方法：面積および数え落とし補正）

9. 試験の結果

(1) 試験結果は別表 1～3 および図 1-1～2-2 による.

(2) 結果の判定

判　定 （いずれかを○で囲むこと．）	陽 性　　（陰 性）

判定の理由

予備試験の結果に基づいて，菌の生育阻害の認められる用量を最高用量として本試験を2 回実施した結果，S9 mix の有無にかかわらず，いずれの試験菌株においても被験物質処理群における復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の 2 倍未満であった.

以上の結果から，被験物質は本試験条件下において変異原性を有さない（陰性）と結論した.

(3) 参考事項

・予備試験を 1.22, 4.88, 19.5, 78.1, 313, 1250, 5000 μg/プレートの7用量で実施した結果，S9 mix 非存在下では TA100, TA1535, TA98, TA1537 の 1250 μg/プレート以上の用量，WP2*uvrA*/pKM101 の 5000 μg/プレートの用量で，S9 mix 存在下ではすべての菌株の 1250 μg/プレート以上の用量で菌の生育阻害が認められた．また，S9 mix の有無にかかわらず，いずれの被験物質処理群においてもプレート上に沈殿物は認められなかった．なお，S9 mix 存在下の TA1535 において，陰性（溶媒）対照値の 2 倍を超える復帰変異コロニー数の増加が認められた.

予備試験の結果から本試験は明らかな生育阻害を示す用量を最高用量として，S9 mix 非存在下の TA100, TA1535, TA98, TA1537 は 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 μg/プレートの 6 用量，WP2*uvrA*/pKM101 は 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 μg/プレートの 6 用量で，S9 mix 存在下の TA100, WP2*uvrA*/pKM101, TA98, TA1537 は 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 μg/プレートの 6 用量，TA1535 は 9.77, 19.5, 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 μg/プレートの 8 用量で実施した.

- 1プレートを用いた予備試験におけるS9 mix存在下のTA1535において，陰性（溶媒）対照値の2倍を超える復帰変異コロニー数の増加が認められていたが，本試験では復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の2倍未満であり，2回の本試験で再現性が認められたことから，本復帰変異コロニー数の増加は偶発的なものであると判断した．

- S9 mix非存在下および存在下のすべての菌株で菌の生育阻害が認められた．

- S9 mixの有無にかかわらず，いずれの用量においてもプレート上に沈殿物は認められなかった．

- 試験結果には統計学的検定を実施しなかった．

別表1

試験結果表（予備試験）

試験期間		2005年5月23日 ～ 2005年5月26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 (コロニー数/プレート)				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2*uvrA*/pKM101	TA98	TA1537
S9 mix (−)	陰性対照	122	14	86	24	15
	1.22	110	18	81	17	10
	4.88	135	10	76	22	10
	19.5	132	17	90	16	14
	78.1	123	21	74	23	16
	313	119	14	85	22	10
	1250	101 *	12 *	91	11 *	15 *
	5000	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *
S9 mix (+)	陰性対照	117	11	93	28	23
	1.22	134	18	112	32	28
	4.88	154	17	116	30	22
	19.5	146	19	119	22	23
	78.1	118	21	104	27	23
	313	153	32	104	29	19
	1250	127 *	9 *	104 *	29 *	18 *
	5000	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *
陽性対照 S9 mix (−)	名称	AF-2	NaN_3	AF-2	AF-2	9-AA
	用量 (μg/プレート)	0.01	0.5	0.005	0.1	80
	(コロニー数/プレート)	577	548	616	768	298
陽性対照 S9 mix (+)	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
	(コロニー数/プレート)	1218	192	615	408	175

(備考)　*: 菌の生育阻害が認められた.
陰性対照：注射用水(DW)

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, NaN_3: アジ化ナトリウム, 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

別表2

試験結果表（本試験1）

試験期間		2005年6月14日 ～ 2005年6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 (コロニー数/プレート)				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2*uvrA*/pKM101	TA98	TA1537
S9 mix (−)	陰性対照	101 119 (108) 104 (10)	14 11 (13) 13 (2)	92 88 (89) 88 (2)	24 15 (21) 24 (5)	16 11 (14) 15 (3)
	39.1	107 109 (113) 123 (9)	15 17 (15) 14 (2)		18 27 (22) 21 (5)	10 16 (15) 18 (4)
	78.1	101 115 (113) 122 (11)	10 11 (11) 11 (1)		22 26 (22) 19 (4)	19 17 (17) 15 (2)
	156	108 109 (110) 113 (3)	11 11 (11) 12 (1)	85 85 (84) 81 (2)	19 23 (20) 17 (3)	14 10 (12) 11 (2)
	313	119 131 (120) 110 (11)	10 9 (11) 15 (3)	76 84 (82) 87 (6)	18 23 (21) 21 (3)	14 16 (15) 14 (1)
	625	107 116 (119) 135 (14)	12 14 (12) 11 (2)	88 80 (81) 76 (6)	18 22 (21) 24 (3)	10 11 (11) 11 (1)
	1250	86 * 85 *(87) 91 *(3)	9 * 7 *(10) 14 *(4)	78 72 (74) 72 (3)	15 * 9 *(11) 10 *(3)	8 * 8 *(8) 7 *(1)
	2500			0 * 0 *(0) 0 *(0)		
	5000			0 * 0 *(0) 0 *(0)		
S9 mix (+)	陰性対照	125 134 (127) 123 (6)	14 10 (11) 9 (3)	95 89 (94) 99 (5)	30 29 (29) 27 (2)	20 17 (17) 14 (3)
	9.77		11 8 (10) 10 (2)			
	19.5		9 10 (10) 10 (1)			
	39.1	105 121 (119) 130 (13)	12 9 (10) 8 (2)	98 85 (97) 107 (11)	25 30 (26) 24 (3)	21 21 (19) 16 (3)
	78.1	133 113 (131) 148 (18)	10 13 (12) 13 (2)	103 112 (106) 103 (5)	24 23 (24) 24 (1)	19 14 (17) 19 (3)
	156	128 129 (133) 141 (7)	9 8 (9) 10 (1)	87 106 (98) 100 (10)	25 23 (24) 23 (1)	23 18 (21) 22 (3)
	313	119 121 (117) 112 (5)	11 11 (11) 10 (1)	98 89 (92) 89 (5)	26 21 (24) 24 (3)	18 15 (17) 18 (2)
	625	117 101 (116) 129 (14)	14 9 (11) 10 (3)	95 123 (114) 125 (17)	25 24 (24) 24 (1)	23 17 (19) 18 (3)
	1250	165 * 169 *(173) 186 *(11)	9 * 7 *(6) 3 *(3)	111 * 100 *(109) 117 *(9)	9 * 13 *(10) 9 *(2)	7 * 11 *(9) 10 *(2)
陽性対照 S9 mix (−)	名称	AF-2	NaN_3	AF-2	AF-2	9-AA
	用量 (μg/プレート)	0.01	0.5	0.005	0.1	80
	(コロニー数/プレート)	888 801 (853) 870 (46)	551 534 (557) 586 (27)	1138 1161 (1056) 870 (162)	825 897 (869) 886 (39)	323 325 (330) 341 (10)
陽性対照 S9 mix (+)	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
	(コロニー数/プレート)	1377 1543 (1444) 1411 (88)	245 198 (231) 250 (29)	564 577 (560) 539 (19)	432 420 (425) 422 (6)	216 191 (202) 199 (13)

(備考)　*: 菌の生育阻害が認められた.　　(平均値)(±標準偏差)

陰性対照：注射用水(DW)

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, NaN_3: アジ化ナトリウム, 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

別表3

試験結果表（本試験2）

試験期間		2005年6月21日 ～ 2005年6月24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 (コロニー数/プレート)				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2*uvrA*/pKM101	TA98	TA1537
S9 mix (−)	陰性対照	116 121 (122) 130 (7)	14 8 (11) 11 (3)	79 84 (85) 91 (6)	18 16 (17) 17 (1)	10 15 (12) 10 (3)
	39.1	136 103 (124) 132 (18)	8 10 (9) 10 (1)		24 15 (17) 13 (6)	10 10 (11) 14 (2)
	78.1	112 137 (128) 136 (14)	9 8 (9) 9 (1)		22 17 (19) 18 (3)	13 13 (14) 15 (1)
	156	138 164 (148) 142 (14)	7 10 (10) 14 (4)	74 77 (80) 90 (9)	18 24 (22) 24 (3)	12 13 (14) 16 (2)
	313	127 121 (129) 140 (10)	14 13 (14) 16 (2)	83 95 (87) 83 (7)	24 25 (22) 18 (4)	15 13 (13) 12 (2)
	625	132 115 (130) 142 (14)	10 10 (10) 10 (0)	80 77 (84) 94 (9)	25 24 (24) 24 (1)	15 16 (14) 12 (2)
	1250	92 * 58 * (77) 82 * (17)	7 * 10 * (7) 5 * (3)	89 61 (76) 77 (14)	11 * 13 * (12) 11 * (1)	5 * 4 * (4) 3 * (1)
	2500			0 * 0 * (0) 0 * (0)		
	5000			0 * 0 * (0) 0 * (0)		
S9 mix (+)	陰性対照	128 135 (135) 143 (8)	9 8 (11) 17 (5)	119 108 (111) 105 (7)	25 33 (28) 26 (4)	14 16 (16) 17 (2)
	9.77		12 14 (12) 10 (2)			
	19.5		15 11 (12) 9 (3)			
	39.1	132 138 (131) 124 (7)	13 9 (12) 15 (3)	99 125 (114) 118 (13)	21 34 (26) 24 (7)	18 16 (16) 14 (2)
	78.1	138 132 (130) 119 (10)	8 9 (11) 17 (5)	115 121 (114) 105 (8)	24 29 (27) 27 (3)	16 16 (16) 16 (0)
	156	120 127 (123) 121 (4)	9 10 (11) 14 (3)	129 123 (118) 103 (14)	27 24 (27) 29 (3)	15 14 (17) 21 (4)
	313	135 120 (131) 138 (10)	11 9 (13) 18 (5)	127 105 (116) 115 (11)	24 30 (29) 34 (5)	17 18 (17) 16 (1)
	625	126 119 (125) 129 (5)	13 12 (13) 15 (2)	145 114 (128) 126 (16)	26 31 (27) 24 (4)	15 16 (15) 13 (2)
	1250	108 * 93 * (115) 143 * (26)	13 * 6 * (8) 4 * (5)	120 * 166 * (136) 123 * (26)	14 * 12 * (12) 11 * (2)	9 * 10 * (9) 7 * (2)
陽性対照 S9 mix (−)	名称	AF-2	NaN_3	AF-2	AF-2	9-AA
	用量 (μg/プレート)	0.01	0.5	0.005	0.1	80
	(コロニー数/プレート)	744 640 (723) 785 (75)	590 601 (603) 618 (14)	1189 1102 (1108) 1032 (79)	931 959 (934) 913 (23)	434 341 (371) 337 (55)
陽性対照 S9 mix (+)	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
	(コロニー数/プレート)	1461 1473 (1502) 1573 (61)	236 201 (241) 287 (43)	998 938 (966) 963 (30)	432 430 (435) 443 (7)	194 197 (189) 177 (11)

(備考)　*: 菌の生育阻害が認められた.　　(平均値)(±標準偏差)

陰性対照：注射用水(DW)

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, NaN_3: アジ化ナトリウム, 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

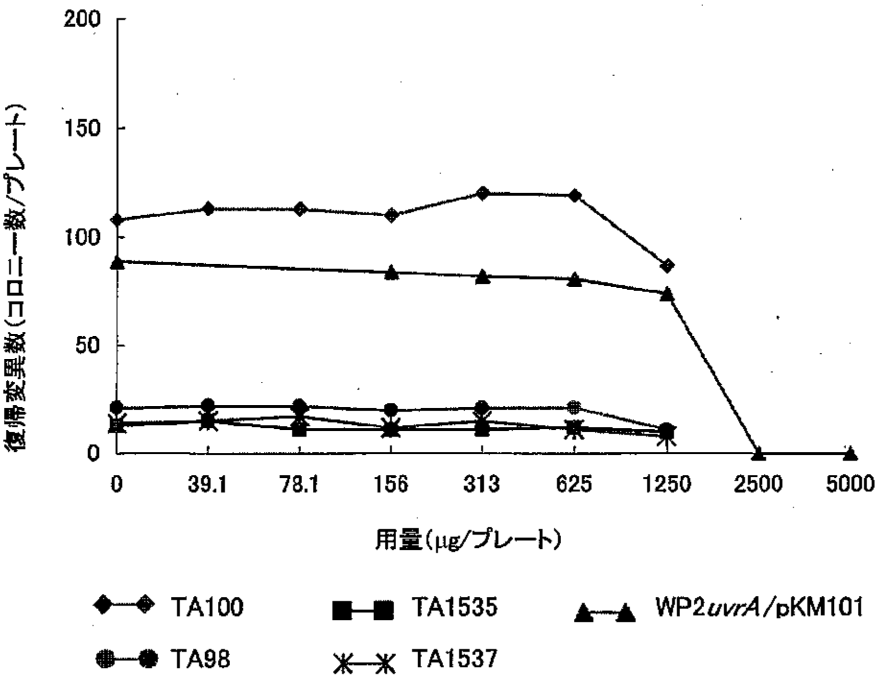


図 1-1　　用量－反応曲線　　(本試験 1;-S9 mix)

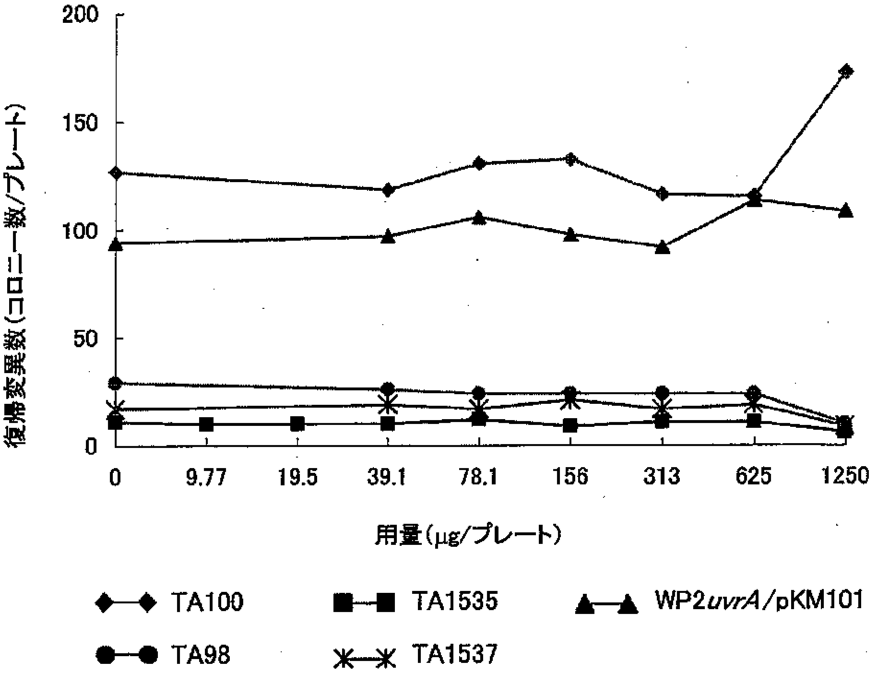


図 1-2　　用量－反応曲線　　(本試験 1;+S9 mix)

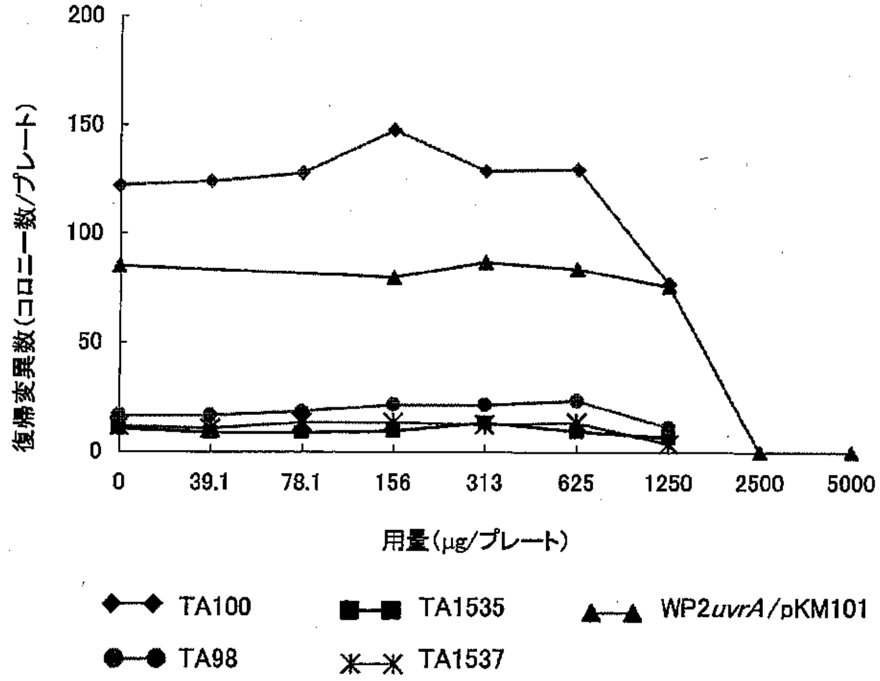


図 2-1　　　用量ー反応曲線　　(本試験 2; -S9 mix)

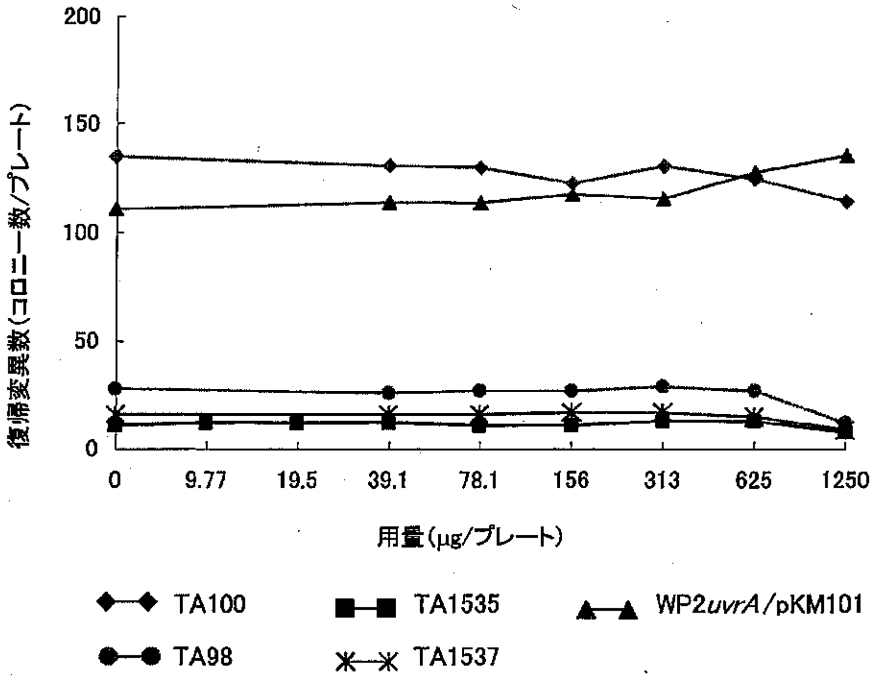


図 2-2　　　用量ー反応曲線　　(本試験 2; +S9 mix)

3. 試験実施概要

3.1 表題
1, 3-ビス（アミノメチル）シクロヘキサンの細菌を用いる復帰突然変異試験

3.2 試験番号
B041799

3.3 試験目的
ネズミチフス菌株および大腸菌株を用いる復帰突然変異試験を実施し，1, 3-ビス（アミノメチル）シクロヘキサンの変異原性を検討する.

3.4 適用ガイドライン
(1) 新規化学物質等に係る試験の方法について
（平成 15 年 11 月 21 日　薬食発第 1121002 号　厚生労働省医薬食品局長, 平成 15・11・13 製局第 2 号　経済産業省製造産業局長，環保企発第 031121002 号　環境省総合環境政策局長連名通知）
(2) OECD Guideline for the Testing of Chemicals (No.471, 1997)

3.5 適用 GLP
(1) 新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について
（厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名基準，薬食発第 1121003 号，平成 15・11・17 製局第 3 号，環保企発第 031121004 号，平成 15 年 11 月 21 日）
(2) OECD Principles of Good Laboratory Practice (as revised in 1997)

3.6 試験委託者
厚生労働省医薬食品局審査管理課　化学物質安全対策室
東京都千代田区霞ヶ関一丁目 2 番 2 号

3.7 試験受託者
株式会社三菱化学安全科学研究所
東京都港区芝二丁目 1 番 30 号

3.8 試験施設
株式会社三菱化学安全科学研究所　鹿島研究所
茨城県神栖市砂山 14 番地
（2005 年 7 月 31 日までは茨城県鹿島郡波崎町砂山 14 番地）

5. 要約

ネズミチフス菌株 TA100, TA1535, TA98 および TA1537 ならびに大腸菌株 WP2*uvrA*/pKM101 の5菌株を用いる復帰突然変異試験で1, 3-ビス(アミノメチル)シクロヘキサンの変異原性を調べた. 試験はS9 mix 非存在下および存在下でプレインキュベーション法により実施した.

予備試験を 1.22, 4.88, 19.5, 78.1, 313, 1250, 5000 µg/プレートの7用量で実施した結果, S9 mix 非存在下では TA100, TA1535, TA98, TA1537 の 1250 µg/プレート以上の用量, WP2*uvrA*/pKM101 の 5000 µg/プレートの用量で, S9 mix 存在下ではすべての菌株の 1250 µg/プレート以上の用量で菌の生育阻害が認められた. また, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの用量においてもプレート上に沈殿物は認められなかった. なお, S9 mix 存在下の TA1535 において, 陰性（溶媒）対照値の2倍を超える復帰変異コロニー数の増加が認められた.

予備試験の結果から本試験は, S9 mix 非存在下の TA100, TA1535, TA98, TA1537 は 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 µg/プレートの6用量, WP2*uvrA*/pKM101 は 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 µg/プレートの 6 用量で, S9 mix 存在下の TA100, WP2*uvrA*/pKM101, TA98, TA1537 は 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 µg/プレートの6用量, TA1535 は 9.77, 19.5, 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 µg/プレートの8用量で実施した.

2回の本試験の結果, S9 mix の有無にかかわらず, いずれの試験菌株においても被験物質処理群における復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の2倍未満であった. また, S9 mix 非存在下では TA100, TA1535, TA98, TA1537 の 1250 µg/プレートの用量, WP2*uvrA*/pKM101 の 2500 µg/プレート以上の用量で, S9 mix 存在下ではすべての菌株の 1250 µg/プレートの用量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, いずれの用量においてもプレート上に沈殿物は認められなかった.

当該試験の陰性（溶媒）対照値および陽性対照値は, 当研究所の適正範囲内であった. また, 陽性対照により誘発された復帰変異コロニー数は, S9 mix 非存在下および存在下のいずれの試験菌株においても陰性（溶媒）対照値の2倍を超えて増加し, 明らかな陽性結果を示した. 従って, 本試験の妥当性が確認された.

以上の結果から, 1, 3-ビス（アミノメチル）シクロヘキサンは本試験条件下において変異原性を有さないと結論した.

表1　試験結果表（予備試験）

試験期間		2005年 5月23日 ～ 2005年 5月26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 (コロニー数 / プレート)				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2*uvrA* /pKM101	TA98	TA1537
S9 mix (-)	陰性対照	122	14	86	24	15
	1.22	110	18	81	17	10
	4.88	135	10	76	22	10
	19.5	132	17	90	16	14
	78.1	123	21	74	23	16
	313	119	14	85	22	10
	1250	101 *	12 *	91	11 *	15 *
	5000	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *
S9 mix (+)	陰性対照	117	11	93	28	23
	1.22	134	18	112	32	28
	4.88	154	17	116	30	22
	19.5	146	19	119	22	23
	78.1	118	21	104	27	23
	313	153	32	104	29	19
	1250	127 *	9 *	104 *	29 *	18 *
	5000	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *
陽性対照 S9 mix (-)	名称	AF-2	NaN_3	AF-2	AF-2	9-AA
	用量 (μg/プレート)	0.01	0.5	0.005	0.1	80
	(コロニー数/プレート)	577	548	616	768	298
陽性対照 S9 mix (+)	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
	(コロニー数/プレート)	1218	192	615	408	175

(備考)　*: 菌の生育阻害が認められた.
陰性対照：注射用水(DW)

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, NaN_3: アジ化ナトリウム, 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）

試験期間		2005年6月14日 ～ 2005年6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 (コロニー数 / プレート)				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2*uvrA* /pKM101	TA98	TA1537
S9 mix (−)	陰性対照	101 119 (108) 104 (10)	14 11 (13) 13 (2)	92 88 (89) 88 (2)	24 15 (21) 24 (5)	16 11 (14) 15 (3)
	39.1	107 109 (113) 123 (9)	15 17 (15) 14 (2)		18 27 (22) 21 (5)	10 16 (15) 18 (4)
	78.1	101 115 (113) 122 (11)	10 11 (11) 11 (1)		22 26 (22) 19 (4)	19 17 (17) 15 (2)
	156	108 109 (110) 113 (3)	11 11 (11) 12 (1)	85 85 (84) 81 (2)	19 23 (20) 17 (3)	14 10 (12) 11 (2)
	313	119 131 (120) 110 (11)	10 9 (11) 15 (3)	76 84 (82) 87 (6)	18 23 (21) 21 (3)	14 16 (15) 14 (1)
	625	107 116 (119) 135 (14)	12 14 (12) 11 (2)	88 80 (81) 76 (6)	18 22 (21) 24 (3)	10 11 (11) 11 (1)
	1250	86 * 85 * (87) 91 * (3)	9 * 7 * (10) 14 * (4)	78 72 (74) 72 (3)	15 * 9 * (11) 10 * (3)	8 * 8 * (8) 7 * (1)
	2500			0 * 0 * (0) 0 * (0)		
	5000			0 * 0 * (0) 0 * (0)		
S9 mix (+)	陰性対照	125 134 (127) 123 (6)	14 10 (11) 9 (3)	95 89 (94) 99 (5)	30 29 (29) 27 (2)	20 17 (17) 14 (3)
	9.77		11 8 (10) 10 (2)			
	19.5		9 10 (10) 10 (1)			
	39.1	105 121 (119) 130 (13)	12 9 (10) 8 (2)	98 85 (97) 107 (11)	25 30 (26) 24 (3)	21 21 (19) 16 (3)
	78.1	133 113 (131) 148 (18)	10 13 (12) 13 (2)	103 112 (106) 103 (5)	24 23 (24) 24 (1)	19 14 (17) 19 (3)
	156	128 129 (133) 141 (7)	9 8 (9) 10 (1)	87 106 (98) 100 (10)	25 23 (24) 23 (1)	23 18 (21) 22 (3)
	313	119 121 (117) 112 (5)	11 11 (11) 10 (1)	98 89 (92) 89 (5)	26 21 (24) 24 (3)	18 15 (17) 18 (2)
	625	117 101 (116) 129 (14)	14 9 (11) 10 (3)	95 123 (114) 125 (17)	25 24 (24) 24 (1)	23 17 (19) 18 (3)
	1250	165 * 169 * (173) 186 * (11)	9 * 7 * (6) 3 * (3)	111 * 100 * (109) 117 * (9)	9 * 13 * (10) 9 * (2)	7 * 11 * (9) 10 * (2)
陽性対照 S9 mix (−)	名称	AF-2	NaN_3	AF-2	AF-2	9-AA
	用量 (μg/プレート)	0.01	0.5	0.005	0.1	80
	(コロニー数/プレート)	888 801 (853) 870 (46)	551 534 (557) 586 (27)	1138 1161 (1056) 870 (162)	825 897 (869) 886 (39)	323 325 (330) 341 (10)
陽性対照 S9 mix (+)	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
	(コロニー数/プレート)	1377 1543 (1444) 1411 (88)	245 198 (231) 250 (29)	564 577 (560) 539 (19)	432 420 (425) 422 (6)	216 191 (202) 199 (13)

(備考)　*: 菌の生育阻害が認められた.　(平均値)(±標準偏差)

陰性対照：注射用水(DW)

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, NaN_3: アジ化ナトリウム, 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）

試験期間		2005年6月21日 ～ 2005年6月24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 (コロニー数 / プレート)				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2*uvrA*/pKM101	TA98	TA1537
S9 mix (-)	陰性対照	116 121 (122) 130 (7)	14 8 (11) 11 (3)	79 84 (85) 91 (6)	18 16 (17) 17 (1)	10 15 (12) 10 (3)
	39.1	136 103 (124) 132 (18)	8 10 (9) 10 (1)		24 15 (17) 13 (6)	10 10 (11) 14 (2)
	78.1	112 137 (128) 136 (14)	9 8 (9) 9 (1)		22 17 (19) 18 (3)	13 13 (14) 15 (1)
	156	138 164 (148) 142 (14)	7 10 (10) 14 (4)	74 77 (80) 90 (9)	18 24 (22) 24 (3)	12 13 (14) 16 (2)
	313	127 121 (129) 140 (10)	14 13 (14) 16 (2)	83 95 (87) 83 (7)	24 25 (22) 18 (4)	15 13 (13) 12 (2)
	625	132 115 (130) 142 (14)	10 10 (10) 10 (0)	80 77 (84) 94 (9)	25 24 (24) 24 (1)	15 16 (14) 12 (2)
	1250	92 * 58 *(77) 82 *(17)	7 * 10 *(7) 5 *(3)	89 61 (76) 77 (14)	11 * 13 *(12) 11 *(1)	5 * 4 *(4) 3 *(1)
	2500			0 * 0 *(0) 0 *(0)		
	5000			0 * 0 *(0) 0 *(0)		
S9 mix (+)	陰性対照	128 135 (135) 143 (8)	9 8 (11) 17 (5)	119 108 (111) 105 (7)	25 33 (28) 26 (4)	14 16 (16) 17 (2)
	9.77		12 14 (12) 10 (2)			
	19.5		15 11 (12) 9 (3)			
	39.1	132 138 (131) 124 (7)	13 9 (12) 15 (3)	99 125 (114) 118 (13)	21 34 (26) 24 (7)	18 16 (16) 14 (2)
	78.1	138 132 (130) 119 (10)	8 9 (11) 17 (5)	115 121 (114) 105 (8)	24 29 (27) 27 (3)	16 16 (16) 16 (0)
	156	120 127 (123) 121 (4)	9 10 (11) 14 (3)	129 123 (118) 103 (14)	27 24 (27) 29 (3)	15 14 (17) 21 (4)
	313	135 120 (131) 138 (10)	11 9 (13) 18 (5)	127 105 (116) 115 (11)	24 30 (29) 34 (5)	17 18 (17) 16 (1)
	625	126 119 (125) 129 (5)	13 12 (13) 15 (2)	145 114 (128) 126 (16)	26 31 (27) 24 (4)	15 16 (15) 13 (2)
	1250	108 * 93 *(115) 143 *(26)	13 * 6 *(8) 4 *(5)	120 * 166 *(136) 123 *(26)	14 * 12 *(12) 11 *(2)	9 * 10 *(9) 7 *(2)
陽性対照 S9 mix (−)	名称	AF-2	NaN_3	AF-2	AF-2	9-AA
	用量 (μg/プレート)	0.01	0.5	0.005	0.1	80
	(コロニー数/プレート)	744 640 (723) 785 (75)	590 601 (603) 618 (14)	1189 1102 (1108) 1032 (79)	931 959 (934) 913 (23)	434 341 (371) 337 (55)
陽性対照 S9 mix (+)	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
	(コロニー数/プレート)	1461 1473 (1502) 1573 (61)	236 201 (241) 287 (43)	998 938 (966) 963 (30)	432 430 (435) 443 (7)	194 197 (189) 177 (11)

(備考)　*: 菌の生育阻害が認められた.　　(平均値)(±標準偏差)

陰性対照：注射用水(DW)

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド, NaN_3: アジ化ナトリウム, 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

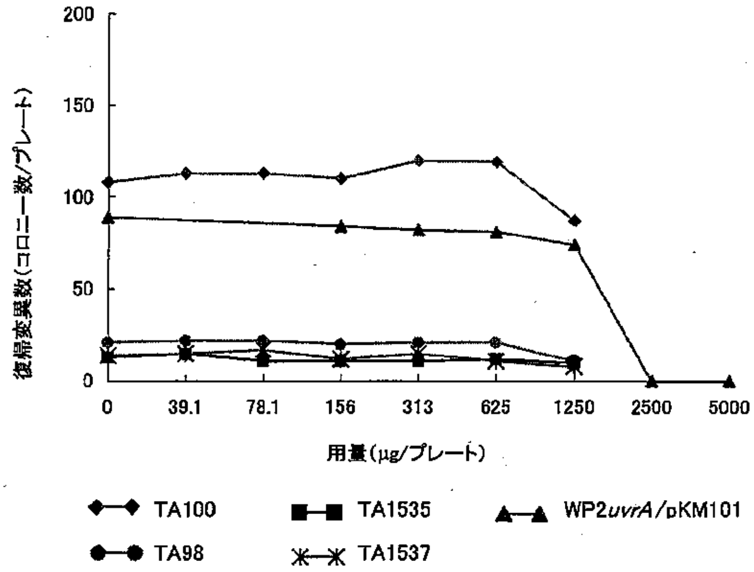


図 1-1　　用量ー反応曲線　(本試験 1;-S9 mix)

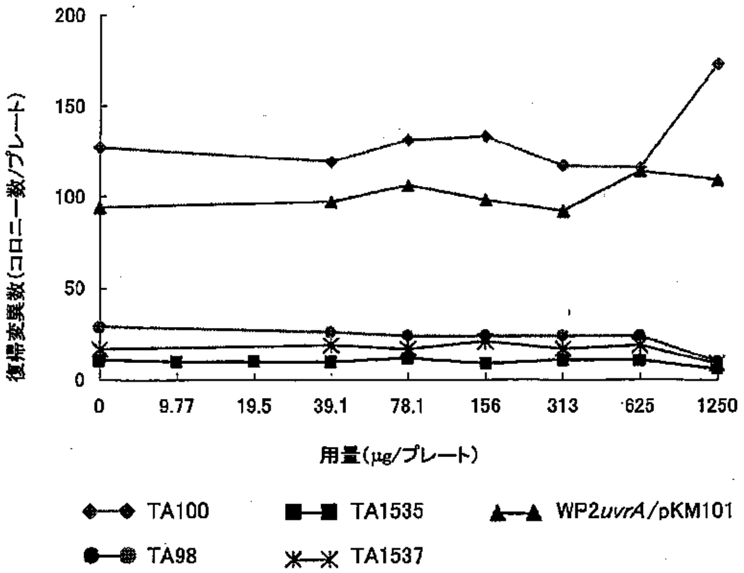


図 1-2　　用量ー反応曲線　(本試験 1;+S9 mix)

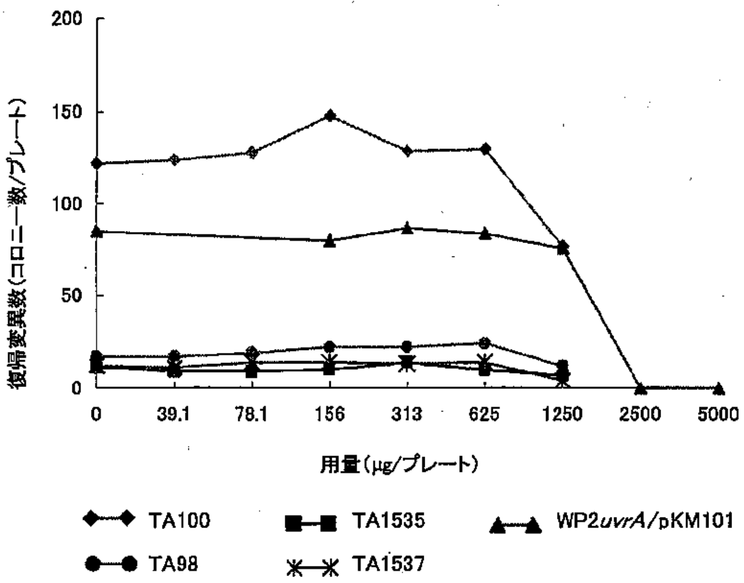


図 2-1　　　　　用量ー反応曲線　　(本試験 2; -S9 mix)

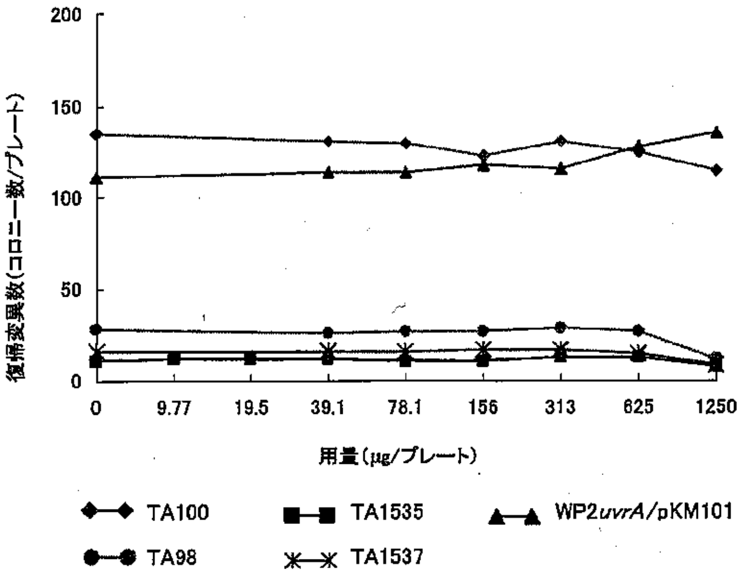


図 2-2　　　　　用量ー反応曲線　　(本試験 2; +S9 mix)