

表1

試験結果表 (用量設定試験)

被験物質の名称: スギ木酢液

試験実施期間		2004年 10月 19日より			2004年 10月 21日		
代謝活性化系の有無	被験物質の用量 (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 <i>uvrA</i> / pKM101	TA98	TA1537	
-S9 Mix	陰性対照 (滅菌水)	136 145 (141)	12 5 (9)	103 95 (99)	20 20 (20)	6 14 (10)	
	24.4	145 125 (135)	5 4 (5)	111 118 (115)	13 9 (11)	7 9 (8)	
	97.7	103 118 (111)	8 13 (11)	117 104 (111)	15 13 (14)	10 15 (13)	
	391	88 123 (106)	13 10 (12)	135 125 (130)	16 19 (18)	10 8 (9)	
	1563	132 137 (135)	2 9 (6)	142 113 (128)	26 20 (23)	6 8 (7)	
	6250	213 187 (200)	11 11 (11)	188 209 (199)	25 24 (25)	11 6 (9)	
	25000	747 668 (708)	26 23 (25)	744 779 (762)	48 76 (62)	7 11 (9)	
	100000	0* 0* (0)	0* 0* (0)	22* 25* (24)	0* 0* (0)	0* 0* (0)	
+S9 Mix	陰性対照 (滅菌水)	116 133 (125)	6 4 (5)	146 153 (150)	28 22 (25)	10 11 (11)	
	24.4	132 128 (130)	7 9 (8)	145 152 (149)	20 32 (26)	13 15 (14)	
	97.7	128 124 (126)	9 8 (9)	157 169 (163)	19 33 (26)	9 17 (13)	
	391	113 131 (122)	4 6 (5)	178 182 (180)	26 18 (22)	10 10 (10)	
	1563	121 137 (129)	8 10 (9)	168 161 (165)	23 20 (22)	17 22 (20)	
	6250	163 191 (177)	16 6 (11)	236 263 (250)	32 36 (34)	14 8 (11)	
	25000	368 382 (375)	7 19 (13)	793 769 (781)	70 68 (69)	19 13 (16)	
	100000†	130* 100* (115)	12* 4* (8)	803* 839* (821)	9* 5* (7)	4* 5* (5)	
陽性対照	S9 Mixを必要としないもの	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
	S9 Mixを必要とするもの	コロニー数/プレート	455 498 (477)	439 469 (454)	1205 1165 (1185)	379 396 (388)	824 688 (756)
		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	596 615 (606)	124 98 (111)	527 508 (518)	246 238 (242)	105 117 (111)

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

2-AA: 2-アミノアントレン

NaN₃: 7ジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン塩酸塩

(): 内の数値は平均値

*: 菌株の生育阻害を認める

†: 被験物質の析出を認める

表2

試験結果表 (本試験)

被験物質の名称: スギ木酢液

試験実施期間		2004年 11月 16日より			2004年 11月 18日		
代謝活性化系の有無	被験物質の用量 (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 <i>uvrA</i> /pKM101	TA98	TA1537	
-S9 Mix	陰性対照 (滅菌水)	119 121 (120)	8 8 (8)	79 89 (84)	19 14 (17)	10 7 (9)	
	3125	167 164 (166)	11 16 (14)	126 120 (123)	14 20 (17)	9 5 (7)	
	6250	197 203 (200)	14 13 (14)	215 211 (213)	26 28 (27)	4 9 (7)	
	12500	340 367 (354)	14 13 (14)	370 332 (351)	43 44 (44)	16 16 (16)	
	25000	785 819 (802)	22 26 (24)	556 657 (607)	46 52 (49)	11 14 (13)	
	50000	1117 967 (1042)	19 20 (20)	1034 1073 (1054)	19* 12* (16)	7* 7* (7)	
	100000	0* 0* (0)	0* 0* (0)	7* 16* (12)	0* 0* (0)	0* 0* (0)	
+S9 Mix	陰性対照 (滅菌水)	138 134 (136)	10 3 (7)	121 142 (132)	19 26 (23)	12 14 (13)	
	3125	140 170 (155)	8 7 (8)	195 175 (185)	23 20 (22)	13 16 (15)	
	6250	184 181 (183)	7 7 (7)	220 229 (225)	30 29 (30)	14 17 (16)	
	12500	221 210 (216)	12 6 (9)	375 401 (388)	28 27 (28)	14 20 (17)	
	25000	316 385 (351)	22 22 (22)	640 655 (648)	43 52 (48)	18 14 (16)	
	50000	742 679 (711)	22 29 (26)	1001 1043 (1022)	52 55 (54)	12 19 (16)	
	100000†	151* 147* (149)	6* 11* (9)	727* 815* (771)	14* 10* (12)	3* 7* (5)	
陽性対照	S9 Mixを必要としないもの	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	515 520 (518)	497 474 (486)	1061 983 (1022)	400 404 (402)	770 640 (705)
	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
		コロニー数/プレート	586 523 (555)	124 114 (119)	584 542 (563)	169 195 (182)	112 109 (111)

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

2-AA: 2-アミノアントレン

NaN₃: 7ジ 化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン塩酸塩

(): 内の数値は平均値

*: 菌株の生育阻害を認める

†: 被験物質の析出を認める

表 3

比 活 性

被験物質名：スギ木酢液

	菌 株 名	-S9 Mix		+S9 Mix	
		比活性	計算に用いた 用量 (μg /プレート)	比活性	計算に用いた 用量 (μg /プレート)
用 量 設 定 試 験	TA100	22.7	25000	10.0	25000
	TA1535	0.6	25000	1.0	6250
	WP2 <i>uvrA</i> /pKM101	26.5	25000	25.2	25000
	TA98	1.7	25000	1.7	25000
	TA1537	—	—	—	—
本 試 験	TA100	27.3	25000	11.5	50000
	TA1535	0.6	25000	0.6	25000
	WP2 <i>uvrA</i> /pKM101	21.4	12500	20.6	25000
	TA98	2.2	12500	1.0	25000
	TA1537	—	—	—	—

比活性：被験物質 1mg 当たりの誘発復帰変異コロニー数。すなわち溶媒対照値の 2 倍以上の復帰変異コロニー数を示す用量において、下式より計算して得た値の最大値。

$$\frac{(\text{被験物質群の復帰変異コロニー数}) - (\text{溶媒対照群の復帰変異コロニー数})}{\text{用量 (mg/プレート)}}$$

用量 (mg/プレート)

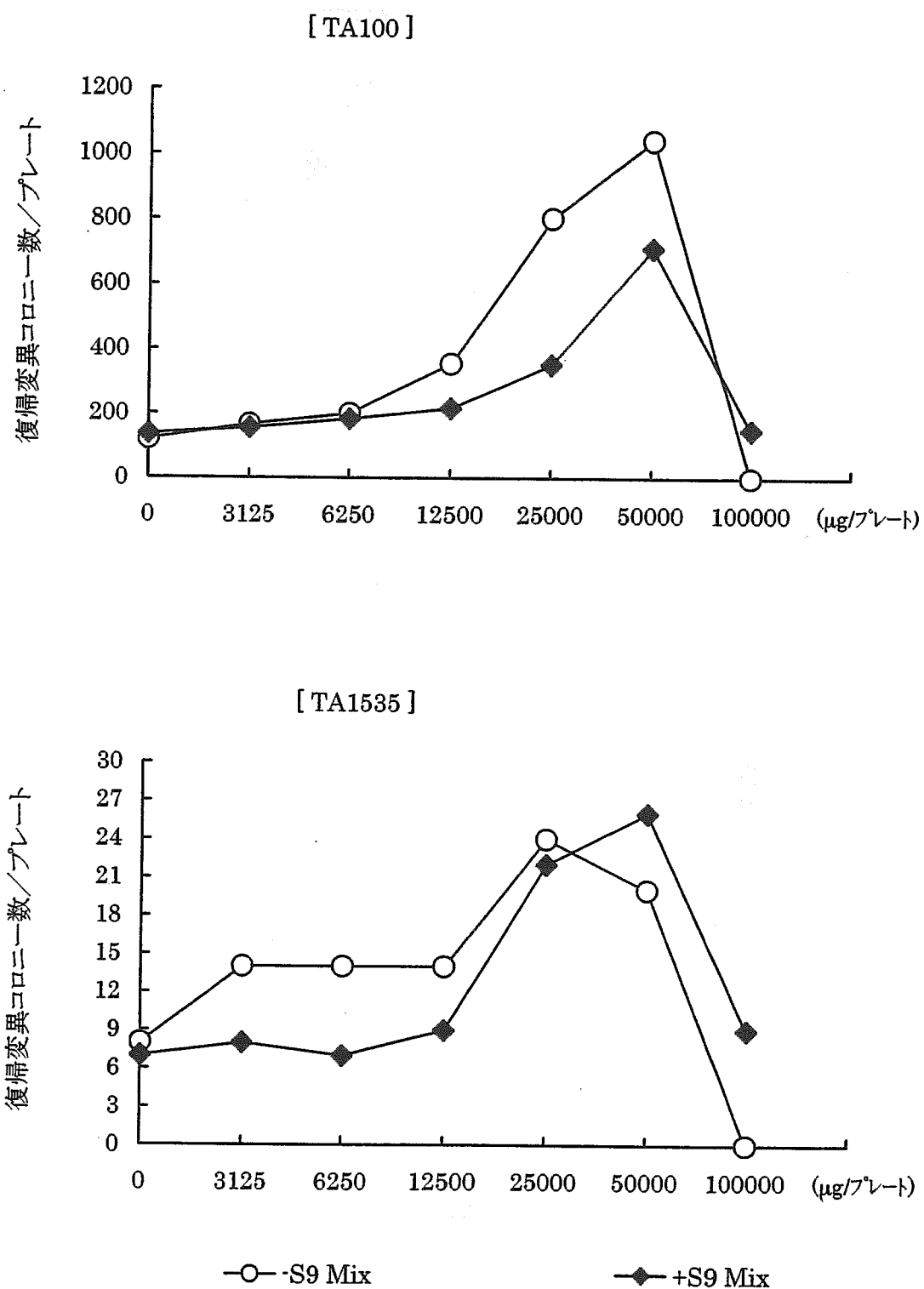


図1 用量-反応曲線 (本試験, TA100およびTA1535株)

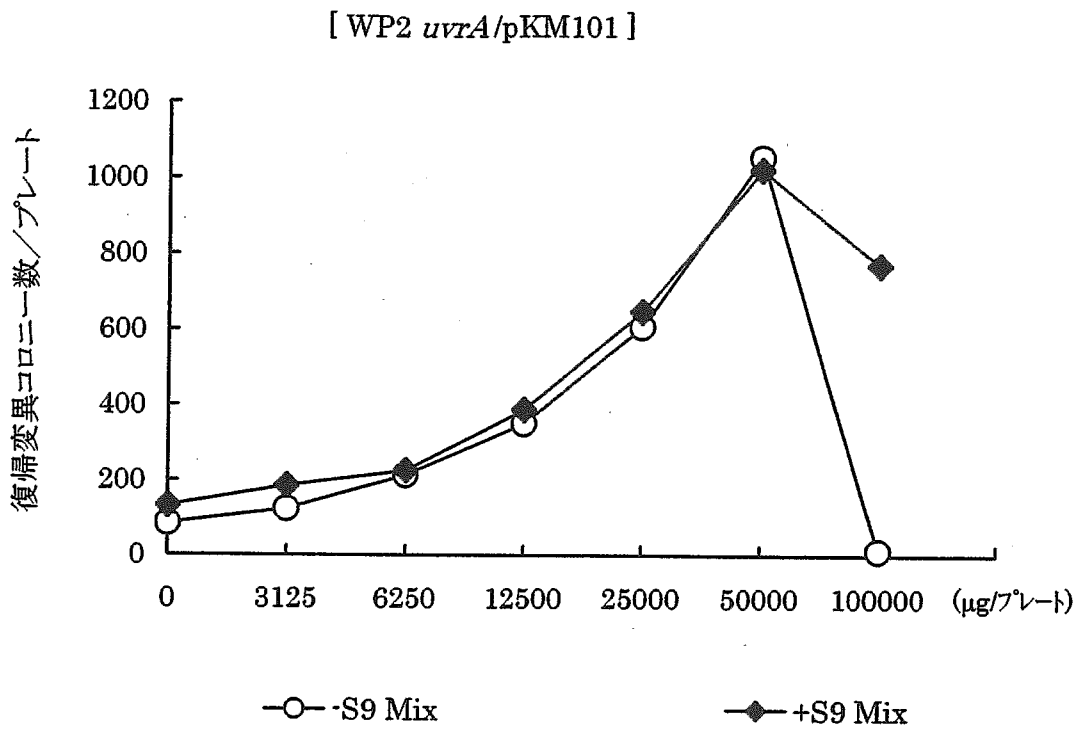


図3 用量-反応曲線 (本試験, WP2 *uvrA*/pKM101株)

付表 1

キッコーマン株式会社
 研究本部 第2研究部
 〒278-0037 千葉県野田市野田399
 04(7123)5574

S-9 品質保証書

製造番号 RAA-508
 製造年月日 2004年08月26日

ラット肝ホモジネート 9,000×g 上清

使用動物 : Sprague-Dawley Rat (Slc:SD)
 性別 : 雄
 週令 : 7週令
 体重 : 196-232g
 誘導物質 : フェバルピタール (PB: 和光純薬工業(株)製) & 5,6-ベンゾフラボン (BF: 和光純薬工業(株)製) 腹腔内投与
 投与用量 : 1日目PB30mg/kg, 2日目PB60mg/kg, 3日目PB60mg/kg+BF80mg/kg, 4日目PB60mg/kg, 5日目S-9調製
 S-9調製法 : 断頭 → 灌流 (生理食塩水) → 灌流肝10gに0.15M KCl溶液を30ml加え
 ホモジナイズ → 9,000Gで10分間遠沈 → 上清分画 → 直ちに凍結

生化学活性:

S-9 画分

1) 蛋白含量 27.24 mg/ml
 2) フトケ-ム P-450含量 1.14 nmol/mg protein
 3) シメチルニトロソアミン脱メチル酵素活性 5.33 nmol HCHO formed/mg protein/min
 4) アニン水酸化酵素活性 24.33 nmol p-aminophenol formed/mg protein/hour
 5) ベンゾ [a] ピレン酵素活性 23.78 無誘導の活性を1.00とした相対活性

ミクロソーム (105,000×g) 画分

1) 蛋白含量 16.78 mg/ml
 2) フトケ-ム P-450含量 3.46 nmol/mg protein

生物学活性: 最少グルコース寒天平板培地にはクリメディアAM-N (三光純薬(株)) を使用し、
 プレインキュベーション法 (37℃、20分) にて試験。

変異原物質	濃度 (* ¹ : μg, * ² : μl/plate)	菌株	Hist+/plate
ベンゾ [a] ピレン (和光純薬製) 溶媒: DMSO	5.0 * ¹ (50 μl S-9/p)	TA100	1,050 ± 101
	5.0 * ¹ (50 μl S-9/p)	TA98	272 ± 21
	5.0 * ¹ (50 μl S-9/p)	TA1537	84 ± 3
2-アミノアントラセン (和光純薬製) 溶媒: DMSO	1.0 * ¹ (50 μl S-9/p)	TA100	496 ± 50
	0.5 * ¹ (50 μl S-9/p)	TA98	194 ± 4
	2.0 * ¹ (50 μl S-9/p)	TA1537	77 ± 4
9,10-ジメチルアントラセン (アルドリッチ社製) 溶媒: DMSO	50.0 * ¹ (100 μl S-9/p)	TA100	1,172 ± 71
	50.0 * ¹ (100 μl S-9/p)	TA98	468 ± 10
	50.0 * ¹ (100 μl S-9/p)	TA1537	230 ± 3
	50.0 * ¹ (50 μl S-9/p)	TA100	742 ± 57
	50.0 * ¹ (50 μl S-9/p)	TA98	184 ± 18
	50.0 * ¹ (50 μl S-9/p)	TA1537	110 ± 7
ジメチルニトロソアミン (和光純薬製) 溶媒: リン酸緩衝液 (pH5.5)	10.0 * ² (50 μl S-9/p)	TA100	1,622 ± 64
自然復帰コロニー	プレインキュベーション → 30℃、35分		
	(50 μl S-9/p)	TA100	99 ± 2
	(50 μl S-9/p)	TA98	22 ± 1
	(50 μl S-9/p)	TA1537	10 ± 1

無菌試験 (500 μl S-9/plate): 合格

保存上の注意: 直ちに-80℃で保存して下さい。

使用期限: 製造日より6ヵ月以内にご使用下さい。

担当者: 永野、斉藤

付表 2

復帰突然変異試験における対照群の背景データ

1. 陰性対照群（溶媒対照群）の背景データ

S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート（平均±S.D.）				
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> /pKM101	TA98	TA1537
-	124±18	8±3	109±18	17±5	8±3
+	130±22	8±3	135±22	24±6	14±5

データ蓄積期間：2003年1月～2003年12月

2. 陰性対照群（溶媒対照群）の管理範囲

S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート				
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> /pKM101	TA98	TA1537
-	70～178	4～17	55～163	10～32	4～17
+	64～196	4～17	69～201	10～42	6～29

3. 陽性対照群の背景データ

S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート（平均±S.D.）				
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> /pKM101	TA98	TA1537
-	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	9-AA
	0.01 µg/7°レ-ト	0.5 µg/7°レ-ト	0.005 µg/7°レ-ト	0.1 µg/7°レ-ト	80 µg/7°レ-ト
	434±75	510±69	1094±121	342±81	590±218
+	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	1 µg/7°レ-ト	2 µg/7°レ-ト	2 µg/7°レ-ト	0.5 µg/7°レ-ト	2 µg/7°レ-ト
	755±109	139±35	478±96	258±54	104±27

データ蓄積期間：2003年1月～2003年12月

陽性対照物質の略名は報告書本文を参照

4. 陽性対照群の管理範囲

S9 Mix	復帰変異コロニー数/プレート				
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i> /pKM101	TA98	TA1537
-	360～660	300～720	730～1460	90～590	150～1240
+	420～1080	40～240	410～770	90～420	60～190