

1-フェニル-1-キシリルエタンの細菌を用いる復帰突然変異試験

最終報告書  
(報告日: 2001 年 3 月 14 日)

長野県 〇〇〇〇 〇〇〇 番地  
株式会社 〇〇〇 ナーチ

1 表題および試験番号

表題 : 1-フェニル-1-キシリルエタンの細菌を用いる復帰突然変異試験  
試験番号 : 2000TT279

2 試験目的

1-フェニル-1-キシリルエタンの遺伝子突然変異誘発性について細菌を用いて検討する。

3 試験委託者

所在地 : 東京都渋谷区西原 2-49-10  
名称 : 経済産業省製品評価技術センター 化学物質安全管理センター

4 試験施設

所在地 : 長野県伊那市西箕輪 8047 番地  
名称 : 株式会社 イナ リサーチ

5 試験実施場所

本社研究所(長野県伊那市西箕輪 8047 番地)  
指標菌株の前培養, 陽性対照物質の調製, 濃度設定試験, 復帰突然変異試験,  
プレートの観察および資料の保存

第2研究所(長野県伊那市西箕輪 2148 番地)  
被験物質調製, 分析(安定性試験・濃度確認)およびデータの解析

6 試験期間

試験開始日:	2001 年 1 月 24 日
実験開始日(濃度設定試験開始日):	2001 年 1 月 29 日
本試験開始日:	2001 年 2 月 13 日
実験終了日(本試験観察日):	2001 年 2 月 16 日
試験終了日:	2001 年 3 月 14 日

7 試験責任者

所属: 株式会社 イナ リサーチ  
[Redacted Signature]

8 試験従事者

業務分担	担当者
被験物質調製	
復帰突然変異試験	
投与液分析	

a) 担当責任者

9 試験計画書, 被験物質のサンプル, 生データおよび最終報告書の保存

保存機関: 株式会社 イナ リサーチ

保存番号: 2000279

保存期間: 最終報告書提出後 10 年間

目 次

	ページ
I 要約.....	1
II 緒言.....	1
III 材料および方法.....	1
1 被験物質.....	1
2 陽性対照物質 .....	1
3 陰性対照物質 .....	2
4 指標菌株.....	2
5 培地.....	2
5.1 指標菌株の前培養培地 .....	2
5.2 検定用培地 .....	3
5.3 重層用培地 .....	3
6 薬物代謝活性化酵素系(S9 mix) .....	3
7 添加量の設定 .....	3
8 被験物質および陽性対照物質の調製, 添加条件下における被験物質の 安定性ならびに接種液の分析 .....	4
8.1 被験物質の調製, 添加条件下における被験物質の安定性ならびに 接種液の分析 .....	4
8.2 陽性対照物質の調製 .....	4
9 試験方法.....	5
9.1 復帰突然変異試験 .....	5
9.2 無菌試験.....	5
9.3 観察および測定方法 .....	5
9.4 統計学的解析方法 .....	5
9.5 結果の表示および判定 .....	5
9.5.1 結果の表示 .....	5
9.5.2 結果の判定 .....	5
9.6 追加試験の基準 .....	5
IV 成績.....	7
1 濃度設定試験 .....	7
2 本試験.....	7
3 無菌試験.....	7
V 考察.....	7
文献.....	8
その他の事項.....	8
1 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態 および試験計画書に従わなかったこと .....	8

添付資料

付表 : Supplement 1~5

総括表 : Table 1~2

## I 要 約

1-フェニル-1-キシリルエタンの細菌を用いる復帰突然変異試験を実施し、その遺伝子突然変異誘発性を検討した。

塩基対置換型の遺伝子突然変異を検出する *Salmonella typhimurium* TA100, TA1535 および *Escherichia coli* WP2uvrA の 3 菌株と, Frameshift 型の遺伝子突然変異を検出する *Salmonella typhimurium* TA98 ならびに TA1537 の 2 菌株を使用し, プレインキューベーション法により実施した。

その結果, 代謝活性化の有無に関わらず, 陰性対照群の復帰変異コロニー数の 2 倍以上の増加は認められなかった。

以上の結果より, 本試験条件下では 1-フェニル-1-キシリルエタンは, 用いた細菌に対する遺伝子突然変異誘発作用はないものと判定された。

## II 緒 言

1-フェニル-1-キシリルエタンの遺伝毒性試験の一環として, 遺伝子突然変異誘発能を指標とする細菌を用いる復帰突然変異試験を実施し, その結果が得られたので報告する。なお, 本試験は OECD GLP(1997)ならびに OECD ガイドライン「Bacterial Reverse Mutation Test 471」(1997)に基づいて実施した。

## III 材料および方法

### 1 被験物質

1-フェニル-1-キシリルエタン(以下, スチリルキシレンと略)は無色透明の液体である。本試験に用いたスチリルキシレンは[REDACTED]より提供され, その品質は Supplement 1 に示すとおりである。入手時から返却時まで, 本剤を室温で保存した。なお, 試験終了後に[REDACTED]を実施した分析結果から, 本剤の試験期間中の安定性が確認されている (Supplement 2)。

### 2 陽性対照物質

本試験には下記の陽性対照物質を使用した。

物質名	Lot No.	製造元
AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide	CAP1296	和光純薬工業株式会社
NaN <sub>3</sub> : Sodium azide	ESM2896	和光純薬工業株式会社
9AA : 9-Aminoacridine hydrochloride monohydrate	07721MZ	Aldrich Chemical Company, Inc.
2AA : 2-Aminoanthracene	KCM2259	和光純薬工業株式会社

また、これらの物質の純度、性状等を以下に記載した。

AF-2	純度(含量)	: 98.8%
	不純物	: 塩化物(Cl) 0.05%以下
	性状	: N,N-ジメチルホルムアミド溶状 橙色澄明
	外観	: 橙赤色結晶性粉末
NaN <sub>3</sub>	純度(含量)	: 91.5%
	性状	: 水溶状, 澄明
	外観	: 白色結晶性粉末
9AA	純度(含量)	: 98%
	性状	: 1%溶液(1N HCl in MeOH), 黄色澄明
	外観	: 黄色粉末
	薄層クロマトグラフィー	: 1つの主要なスポットと1つの小さなスポット
2AA	純度(含量)	: 98.8%
	性状	: エタノール溶状 僅微濁
	外観	: 黄緑褐色粉末
	融点	: 237.7℃

### 3 陰性対照物質

Dimethyl Sulfoxide(以下, DMSO と略)を使用した。本試験に使用した DMSO(ロット番号 ELH7677)は和光純薬工業株式会社より購入し、入手時から使用時まで室温で保存した。

### 4 指標菌株

塩基対置換型の遺伝子突然変異を検出する系として *Salmonella typhimurium* TA100 および TA1535 ならびに *Escherichia coli* WP2uvrA の 3 菌株を、また、Frameshift 型の遺伝子突然変異を検出する系として *Salmonella typhimurium* TA98 および TA1537 の 2 菌株を使用した。これらの菌株は国立衛生試験所(現 国立医薬品食品衛生研究所)変異遺伝部より 1995 年 5 月 19 日にそれぞれ分与されたものである。

試験の際には、-80℃以下で凍結保存していた菌懸濁液を解凍し、ニュートリエントブロス(液体栄養培地)10 mL に 20 μL を接種した後、37℃で濃度設定試験(予備試験)時は 8 時間 38 分、本試験時は 8 時間 47 分振盪培養<sup>1)</sup>したものを指標菌液とした。

また、各指標菌液の生菌濃度は濃度設定試験(予備試験)、本試験時とも約 1.2~1.4×10<sup>9</sup>/mL であった。

### 5 培地

#### 5.1 指標菌株の前培養培地: ニュートリエントブロス(液体栄養培地)

NUTRIENT BROTH No. 2(ロット番号 028 59365, OXOID 社)を自家製の蒸留水に溶解後、

L字型試験管に10 mLずつ分注して121℃で15分間高圧蒸気滅菌を行い、使用時まで冷蔵(約4℃)で保存した。

## 5.2 検定用培地：最少グルコース寒天平板培地

クリメディア® AM-N培地(ロット番号 ANI620JP, オリエンタル酵母工業株式会社)を購入し、使用時まで室温、遮光で保存した。

## 5.3 重層用培地：軟寒天(トップアガー)

NaCl 0.5 w/v%, 粉末寒天 0.6 w/v%を含む水溶液を121℃で15分間高圧蒸気滅菌し、*S. typhimurium*の4菌株に用いるものには0.5 mmol/L ヒスチジン-0.5 mmol/L ビオチン溶液を、また、*E. coli* WP2uvrA株に用いるものには0.5 mmol/L トリプトファン溶液をそれぞれ1/10 用量加え、試験操作終了時まで約45℃で保温した。

## 6 薬物代謝活性化酵素系(S9 mix)

ラット肝ホモジネート上清分画(ロット番号 00092907, オリエンタル酵母工業株式会社, 以下, S9 と略)およびCofactor-I (ロット番号 999001, 999003, オリエンタル酵母工業株式会社)を購入し、S9 mixを調製した。本試験に使用したS9は誘導剤としてphenobarbitalと5,6-benzoflavoneで前処理した生後7週齢のSprague-Dawley系雄ラット由来のものであり、使用時まで-80℃以下で凍結保存した。また、Cofactor-Iは使用時まで冷蔵(約4℃)で保存した。S9 mixは用時調製し、試験操作終了時まで氷水中で保存した。S9 mix 1 mL中の組成を下表に要約して示した。

成分	S9 mix 1mL中の量	成分	S9 mix 1mL中の量
S9	0.1 mL	NADPH <sup>a)</sup>	4 μmol
MgCl <sub>2</sub>	8 μmol	NADH <sup>b)</sup>	4 μmol
KCl	33 μmol	Na-リン酸緩衝液(pH7.4)	100 μmol
G-6-P <sup>c)</sup>	5 μmol	滅菌蒸留水 <sup>d)</sup>	0.275 mL

a) 還元型ニコチンアミド-アデニンジヌクレオチドリン酸

b) 還元型ニコチンアミド-アデニンジヌクレオチド

c) グルコース-6-リン酸

d) 日本薬局方注射用水(ロット番号 9A85, 株式会社 大塚製薬工場)

## 7 添加量の設定

濃度設定試験の被験物質の添加量は、OECDガイドラインに従い、復帰突然変異試験の最高用量として用いられる5000 μg/plateを最高用量として、公比3, 計7用量(7, 21, 62, 185, 556, 1667および5000 μg/plate)で実施した。

本試験の被験物質の添加量は、濃度設定試験の結果をもとに、5000 μg/plateを最高用量に、以下公比2で計6用量(156, 313, 625, 1250, 2500および5000 μg/plate)を設定した。

また、陽性対照物質の添加量は、「安衛法における変異原性試験 - テストガイドライ



ンと GLP -」<sup>2)</sup>を参考に設定した。

以上の被験物質および陽性対照物質添加群に加え、陰性対照群として媒体(DMSO)を添加する1群を設けた。

さらに、無菌試験群を設定し、本試験に使用した被験物質溶液、DMSO および S9 mix への雑菌の有無の混入を確認した。

各指標菌株の陽性対照群については、以下のとおり設定した。

菌株	直接法 <sup>a)</sup>			代謝活性化法 <sup>a)</sup>		
	物質名	添加量 ( $\mu$ g/plate)	濃度 ( $\mu$ g/mL)	物質名	添加量 ( $\mu$ g/plate)	濃度 ( $\mu$ g/mL)
TA100	AF-2	0.01	0.1	2AA	1	10
TA1535	NaN <sub>3</sub>	0.5	5.0	2AA	2	20
WP2uvrA	AF-2	0.01	0.1	2AA	10	100
TA98	AF-2	0.1	1.0	2AA	0.5	5
TA1537	9AA	80	800	2AA	2	20

<sup>a)</sup> 添加液量はすべて 0.1 mL/plate とした。

8 被験物質および陽性対照物質の調製、添加条件下における被験物質の安定性ならびに接種液の分析

8.1 被験物質の調製、添加条件下における被験物質の安定性ならびに接種液の分析

(1) 被験物質の調製

調製は添加当日に行った。所定量を純度換算(換算係数:1.093)して秤量し、DMSO に溶解して、50 mg/mL 溶液を調製した。これを順次 DMSO で希釈して、各濃度の接種液を調製した。

(2) 添加条件下における被験物質の安定性

1-フェニル-1-キシリルエタンを DMSO に溶解して 10  $\mu$ g/mL および 420 mg/mL とした場合、室温で 6 時間安定であることが確認されている(Supplement 3)。

(3) 接種液の分析(濃度確認)

本試験の調製時に、被験物質群の投与液(1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25 および 50 mg/mL)について濃度確認を行った結果、いずれも調製濃度範囲の $\pm 10\%$ の範囲内であった(Supplement 4)。

8.2 陽性対照物質の調製

NaN<sub>3</sub> は日本薬局方注射用水に、AF-2, 9AA および 2AA は Dimethyl Sulfoxide にそれぞれ溶解し、7 項に示した濃度に調製した後、NaN<sub>3</sub> についてはフィルター(ポアサイズ 0.20  $\mu$ m, 21062FNY 25-20, CORNING®, 岩城硝子株式会社)でろ過した。試験には、凍結保存したものを解凍して使用した。

## 9 試験方法

### 9.1 復帰突然変異試験

試験はプレインキュベーション法<sup>3)</sup>を用いて、S9 mix を添加しない場合(直接法)と S9 mix を添加する場合(代謝活性化法)で実施した。滅菌試験管に陰性対照物質、被験物質調製液あるいは陽性対照物質調製液 0.1 mL を入れ、これに直接法では 0.1 mol/L Na-リン酸緩衝液(pH7.4) 0.5 mL を、代謝活性化法では S9 mix 0.5 mL を加え、さらにこれらに菌懸濁液 0.1 mL を加えて混合し、被験物質等の析出の有無を肉眼で観察した後、37℃で 20 分間振盪(振盪速度 100 回/分)した。次いで、約 45℃に保温したトッパアガー 2 mL を添加混和して速やかに最少グルコース寒天平板培地上に重層し、プレートを裏返して 37℃の恒温槽中で 48 時間以上培養した。

### 9.2 無菌試験

無菌試験はプレート法<sup>2)</sup>により実施した。滅菌試験管に陰性対照物質、被験物質調製液 0.1 mL あるいは S9 mix 0.5 mL をとり、トッパアガー 2 mL を添加混和して速やかに最少グルコース寒天平板培地に重層し、プレートを裏返して 37℃の恒温槽中で 48 時間以上培養した。

### 9.3 観察および測定方法

- (1) 各平板について、被験物質等の析出の有無を肉眼で観察し、被験物質等の指標菌株に対する生育阻害の有無を倒立顕微鏡を用いて観察した。
- (2) 復帰突然変異により平板上に生じたコロニーを、コロニーカウンターを用いて計数した。
- (3) 無菌試験群について、平板上に菌が生育しているかを肉眼的に観察した。

### 9.4 統計学的解析方法

データの統計学的解析は行わなかった。

### 9.5 結果の表示および判定

#### 9.5.1 結果の表示

各平板の復帰変異コロニー数の実測値ならびに各用量 3 枚におけるコロニー数の平均値を表示した。

#### 9.5.2 結果の判定

被験物質添加群における復帰変異コロニー数が陰性対照群の 2 倍以上に増加し、かつ、用量依存性が認められた場合、または少なくとも 1 用量群において予備試験と本試験の結果に定性的および定量的な再現性が認められた場合に陽性と判定した。

### 9.6 追加試験の基準

以下に示す基準から結果の確認が必要と判断される場合は本試験の内容に準じた追加試験を実施することとした。

- ・ 無菌試験においてコロニーの生育が見られた場合。
- ・ 被験物質の析出、菌の生育阻害などによりコロニー数の計測可能な群が5用量以上ない場合。
- ・ 用量依存性のない復帰変異コロニー数の増加が認められた場合。
- ・ 陽性対照群において陽性反応がみられない場合。
- ・ 陰性対照値が背景データ(管理値)を逸脱した場合。

## IV 成績

### 1 濃度設定試験 (Table 1)

濃度設定試験の結果を Table 1 に示した。

その結果、直接法、代謝活性化法とも生育阻害は認められなかった。被験物質(検体)の析出については、検体と思われる油滴状の物質が直接法 1667 および 5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  で認められたが、コロニー計測は可能であった。代謝活性化法では、検体とは異なる不定形の析出物質が TA100 ならびに TA98 で 185~5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$ , TA1535, TA1537 および WP2uvrA で 62~5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  で認められたが、コロニー計測は可能であった。また、すべての菌株で陰性対照(DMSO)の2倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。この結果から、生育阻害の認められない、かつコロニー計測の可能な 5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  を最高用量に、公比 2 で 6 用量を設定した。

### 2 本試験 (Table 2)

試験結果を Table 2 に示した。濃度設定試験同様、直接法・代謝活性化法とも生育阻害は認められなかった。検体と思われる油滴状の物質が直接法 1250~5000  $\mu\text{g}/\text{plate}$  で認められたが、コロニー計測は可能であった。代謝活性化法では検体と異なる不定形の析出物質が全用量で認められたが、コロニー計測は可能であった。また、すべての菌株で陰性対照の2倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

### 3 無菌試験

陰性対照、被験物質群および S9mix 溶液に雑菌の混入は認められなかった。

## V 考察

1-フェニル-1-キシリルエタンの遺伝毒性試験の一環として細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した。塩基対置換型の遺伝子突然変異を検出する *Salmonella typhimurium* TA100, TA1535 および *Escherichia coli* WP2uvrA の3菌株と、フレームシフト型の遺伝子突然変異を検出する *Salmonella typhimurium* TA98 ならびに TA1537 の2菌株を使用した。薬物代謝活性化酵素系(S9 mix)の存在下、非存在下で、ブレインキュベーション法により行った。

予備試験・本試験での陰性対照ならびに陽性対照の復帰変異コロニー数は当試験実施施設の背景値(1998~2000年)と比較して、 $\pm 3$  S.D. の範囲内であった(Supplement 5-1, 5-2)。また、無菌試験では雑菌の混入は認められなかった。したがって、この試験成績は評価できるものと考えられた。

その結果、濃度設定試験・本試験とも生育阻害は認められず、直接法では被験物質と思われる油滴状物質、代謝活性化法では被験物質とは異なる不定形の析出物質が認められたが、コロニー計測は5群以上で可能であった。いずれの菌株でも溶媒対照の2倍以上のコロニー数の増加は認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下では用いた菌株に対して、1-フェニル-1-キシリルエタンは遺伝子突然変異誘発作用はないものと判定された。

#### 文 献

- 1) 株式会社 イナ リサーチ 社内資料.
- 2) 労働省安全衛生部化学物質調査課編：安衛法における変異原性試験  
ー テストガイドラインと GLP ー，中央労働災害防止協会，東京，1991.
- 3) 矢作 多貴江：環境中の発ガン物質を微生物を使ってスクリーニングする実験法について，蛋白質・核酸・酵素，20，1178～1189，1975.

#### その他の事項

- 1 予見することができなかった試験の信頼性に影響を及ぼす疑いのある事態および試験計画書に従わなかったこと

被験物質の析出の有無の観察は，肉眼で行った。しかしながら，試験評価に影響を及ぼすものではなかった。

## 一般的事項

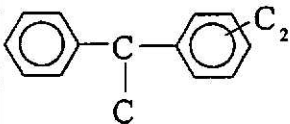
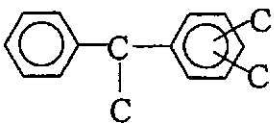
サンプルの名称	1-フェニル-1-キシリルエタン					
別 名	ステリルキシレン					
構造式又は示性式 (いずれも不明の場合 は、その製法の概要)						
サンプルの純度	91.5 wt%		サンプルのLot No.	[REDACTED]		
不純物の名称及び濃度	1,1-Diphenyethane:0.2mass%, Indan, 1-methyl-3-phenyl:5.6mass% その他 一成分1mass%未満の構造不明炭化水素類合計:2.7mass% wt%					
C A S 番 号	40766-31-2		蒸 気 圧	0.1Pa以下		
分 子 量	210		分 配 係 数	-		
融 点	流動点: -47.5℃ ℃		常温における性状	無色透明液体		
沸 点	蒸留範囲 初留点: 291.5℃ 95% : 297.0℃ 終点 : 303.5℃ ℃					
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	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	水	不溶	安定	DMSO	溶解	安定
	アセトン	溶解	安定	その他 ( )	炭化水素系 溶剤等によ く溶ける	安定

## 〔備考〕

1. 「安定性」の欄には、温度、光等に対する安定性を記入して下さい。
2. 「蒸気圧」の欄には、サンプルの蒸気圧を記入して下さい。
3. 「分配係数」の欄には、分配係数、測定温度及び分配係数の測定に用いた溶媒名を記入して下さい。
4. 「溶媒に対する溶解度等」の欄には、サンプルの溶媒に対する溶解度及びその溶媒中での安定性を記入して下さい。



## 一般的事項

サンプルの名称	1-フェニル-1-キシリルエタン (試験終了後の試料)					
別 名	スチリルキシレン					
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)	 					
サンプルの純度*1	90.9 mass%		サンプルのLot No.		●	
不純物の名称及び濃度*1	1,1-Diphenylethane:0.2mass%, Indan, 1-methyl-3-phenyl:5.6mass% その他 一成分1mass%未満の構造不明炭化水素類合計:3.3mass%					
C A S 番 号	40766-31-2		蒸 気 圧		-	
分 子 量	210		分 配 係 数		-	
融 点	流動点:- °C		常温における性状		無色透明液体	
沸 点	-					
● 定 性						
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	水	-	-	DMSO	-	-
	アセトン	-	-	その他 ( )	-	-

## 【備考】

1. 「安定性」の欄には、温度、光等に対する安定性を記入して下さい。
2. 「蒸気圧」の欄には、サンプルの蒸気圧を記入して下さい。
3. 「分配係数」の欄には、分配係数、測定温度及び分配係数の測定に用いた溶媒名を記入して下さい。
4. 「溶媒に対する溶解度等」の欄には、サンプルの溶媒に対する溶解度及びその溶媒中での安定性を記入して下さい。

注1 サンプル純度および不純物濃度: ガスクロマトグラフ測定

測定条件 カラム; OV-1701

カラム温度; 200°C一定

注入口温度; 300°C

検出器温度; 300°C

CERTIFICATE OF ANALYSIS  
(STABILITY)

Study No.: 2000TT279  
Test article: 1-phenyl-1-xylylethane [REDACTED]  
Vehicle: Dimethyl Sulfoxide  
Storage container: Glass container  
Storage conditions: A; at preparation  
B; for 6-hour storage at room temperature  
Date of preparation: February 9, 2001  
Dates of determination: A; February 9, 2001  
B; February 9, 2001  
Analyst: [REDACTED]

## Results:

Nominal conc.		Conc.	Mean conc.	Remaining (%)	Judgement
10 ( $\mu$ g/mL)	A	9.468 ( $\mu$ g/mL)	9.468 ( $\mu$ g/mL)	-	-
		9.468 ( $\mu$ g/mL)			
	B	9.607 ( $\mu$ g/mL)	9.484 ( $\mu$ g/mL)	100.2	Conforms
		9.361 ( $\mu$ g/mL)			
420 (mg/mL)	A	410.1 (mg/mL)	403.9 (mg/mL)	-	-
		397.7 (mg/mL)			
	B	413.9 (mg/mL)	408.7 (mg/mL)	101.2	Conforms
		403.5 (mg/mL)			

Judgment criterion: The remaining percentages to the values at preparation ranging from 90-110 % are acceptable.

Conclusion: 1-phenyl-1-xylylethane solutions in dimethyl sulfoxide at 10  $\mu$ g/mL and 420 mg/mL are stable for 6-hour storage at room temperature.

Chief investigator:

[REDACTED]

Analytical Services Dept.  
Ina Research Inc.



CERTIFICATE OF ANALYSIS  
(CONCENTRATIONS)

Study No.: 2000TT279  
Test article: 1-phenyl-1-xylylethane  
Vehicle: Dimethyl Sulfoxide  
Date of preparation: February 14, 2001  
Date of determination: February 14, 2001  
Analyst:

## Result

Nominal Conc. (mg/mL)	Conc. (mg/mL)	Mean conc. (mg/mL)	Percentage to nominal conc.	Judgement
1.56	1.434	1.438	92.2	Conforms
	1.442			
3.13	2.900	2.884	92.1	Conforms
	2.867			
6.25	5.735	5.784	92.5	Conforms
	5.832			
12.5	11.73	11.68	93.4	Conforms
	11.63			
25	24.05	24.15	96.6	Conforms
	24.24			
50	47.18	47.38	94.8	Conforms
	47.57			

Judgment criterion: The percentages to nominal concentrations ranging from 90-110% are acceptable.

Chief investigator:

Analytical Services Dept.  
Ina Research Inc.

Reversion Test with Bacteria - Historical Background Data  
1998 ~ 2000

<Negative Control>

	S9mix	Total Number of the Test	Number of Revertant Colonies (Mean $\pm$ SD)	Min - Max
TA100	-	14	144 $\pm$ 25.1	104 - 197
TA98	-	14	20 $\pm$ 5.3	11 - 35
TA1535	-	11	10 $\pm$ 3.4	5 - 20
TA1537	-	11	8 $\pm$ 4.5	2 - 21
WP2uvrA	-	11	24 $\pm$ 8.3	8 - 44
	S9mix	Total Number of the Test	Number of Revertant Colonies (Mean $\pm$ SD)	Min - Max
TA100	+	14	146 $\pm$ 25.4	93 - 210
TA98	+	14	30 $\pm$ 5.8	19 - 45
TA1535	+	11	11 $\pm$ 3.6	3 - 19
TA1537	+	11	14 $\pm$ 6.6	5 - 35
WP2uvrA	+	11	24 $\pm$ 7.3	11 - 41

Reversion Test with Bacteria - Historical Background Data  
2000

<Positive Control>

	Compound ( $\mu$ g / plate)		S9mix	Total Number of the Test	Number of Revertant Colonies (Mean $\pm$ SD)	Min - Max
TA100	AF-2	0.01	-	3	841 $\pm$ 151.3	668 - 1052
TA98	AF-2	0.1	-	3	376 $\pm$ 32.4	332 - 436
TA1535	NaN <sub>3</sub>	0.5	-	1	415 $\pm$ 33.5	368 - 449
TA1537	9AA	80	-	1	445 $\pm$ 161.9	282 - 672
WP2uvrA	AF-2	0.01	-	1	99 $\pm$ 3.6	96 - 103
	Compound ( $\mu$ g / plate)		S9mix	Total Number of the Test	Number of Revertant Colonies (Mean $\pm$ SD)	Min - Max
TA100	2AA	1	+	3	1072 $\pm$ 265.3	600 - 1447
TA98	2AA	0.5	+	3	359 $\pm$ 56.0	278 - 434
TA1535	2AA	2	+	1	101 $\pm$ 8.9	92 - 115
TA1537	2AA	2	+	1	210 $\pm$ 17.7	190 - 235
WP2uvrA	2AA	10	+	1	317 $\pm$ 193.3	170 - 566

Table 1 Bacterial reverse mutation test of 1-phenyl-1-xylylethane

S9 mix	Dose ( $\mu$ g/plate)	Number of revertant colonies / plate [Mean]				
		Base-pair substitution			Frameshifts	
		TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
-	0 <sup>a)</sup>	115 120 139 [ 125 ]	12 1 6 [ 6 ]	38 34 16 [ 29 ]	20 18 22 [ 20 ]	5 7 6 [ 6 ]
	7	116 110 103 [ 110 ]	6 4 5 [ 5 ]	34 43 36 [ 38 ]	24 17 19 [ 20 ]	4 3 6 [ 4 ]
	21	102 78 112 [ 97 ]	7 4 6 [ 6 ]	22 39 31 [ 31 ]	10 19 14 [ 14 ]	3 4 4 [ 4 ]
	62	94 98 88 [ 93 ]	9 4 4 [ 6 ]	43 24 35 [ 34 ]	17 15 18 [ 17 ]	4 5 2 [ 4 ]
	185	73 97 68 [ 79 ]	5 7 4 [ 5 ]	26 25 35 [ 29 ]	20 19 14 [ 18 ]	1 5 0 [ 2 ]
	556	71 68 74 [ 71 ]	8 6 6 [ 7 ]	32 24 23 [ 26 ]	22 15 18 [ 18 ]	4 6 2 [ 4 ]
	1667	80 ○ 68 ○ 76 ○ [ 75 ]	6 ○ 6 ○ 9 ○ [ 7 ]	45 ○ 32 ○ 39 ○ [ 39 ]	14 ○ 19 ○ 17 ○ [ 17 ]	6 ○ 2 ○ 3 ○ [ 4 ]
	5000	66 ○ 81 ○ 66 ○ [ 71 ]	4 ○ 8 ○ 6 ○ [ 6 ]	27 ○ 23 ○ 25 ○ [ 25 ]	15 ○ 18 ○ 29 ○ [ 21 ]	4 ○ 1 ○ 9 ○ [ 5 ]
	0 <sup>a)</sup>	127 136 118 [ 127 ]	14 12 9 [ 12 ]	30 23 39 [ 31 ]	29 26 29 [ 28 ]	10 12 10 [ 11 ]
	7	140 109 132 [ 127 ]	12 5 13 [ 10 ]	30 33 36 [ 33 ]	35 31 29 [ 32 ]	16 18 11 [ 15 ]
	21	151 155 166 [ 157 ]	12 10 10 [ 11 ]	31 23 39 [ 31 ]	33 41 32 [ 35 ]	12 13 16 [ 14 ]
	62	118 118 124 [ 120 ]	11 † 7 † 7 † [ 8 ]	27 † 41 † 36 † [ 35 ]	21 31 24 [ 25 ]	8 † 10 † 16 † [ 11 ]
	185	77 † 104 † 104 † [ 95 ]	2 † 5 † 6 † [ 4 ]	27 † 29 † 24 † [ 27 ]	31 † 31 † 28 † [ 30 ]	12 † 7 † 11 † [ 10 ]
	556	99 † 79 † 76 † [ 85 ]	5 † 6 † 8 † [ 6 ]	30 † 31 † 31 † [ 31 ]	33 † 19 † 26 † [ 26 ]	13 † 13 † 8 † [ 11 ]
	1667	84 † 85 † 108 † [ 92 ]	6 † 7 † 7 † [ 7 ]	34 † 28 † 26 † [ 29 ]	26 † 26 † 29 † [ 27 ]	16 † 9 † 9 † [ 11 ]
	5000	105 † 76 † 82 † [ 88 ]	5 † 8 † 6 † [ 6 ]	25 † 33 † 33 † [ 30 ]	35 † 25 † 21 † [ 27 ]	5 † 7 † 8 † [ 7 ]
Positive control	Compound	AF-2 <sup>b)</sup>	NaN <sub>3</sub> <sup>c)</sup>	AF-2	AF-2	9AA <sup>d)</sup>
	Dose ( $\mu$ g/plate)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
	-	590 518 564 [ 557 ]	324 314 308 [ 315 ]	147 123 142 [ 137 ]	438 428 486 [ 451 ]	652 532 398 [ 527 ]
		Compound	2AA <sup>e)</sup>	2AA	2AA	2AA
		Dose ( $\mu$ g/plate)	1	2	10	0.5
	+	1148 1166 1066 [ 1127 ]	225 238 201 [ 221 ]	430 353 388 [ 390 ]	216 403 247 [ 289 ]	214 222 216 [ 217 ]

<sup>a)</sup> Negative control, Dimethyl Sulfoxide<sup>b)</sup> 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide<sup>c)</sup> Sodium azide<sup>d)</sup> 9-Aminoacridine hydrochloride monohydrate<sup>e)</sup> 2-Aminoanthracene

○ : Oil drop

† : Precipitates

試験結果報告書の内容に関するお問い合わせには応じかねますので御了承下さい。

Table 2 Bacterial reverse mutation test of 1-phenyl-1-xylylethane

S9 mix	Dose ( $\mu$ g/plate)	Number of revertant colonies / plate [Mean]				
		Base-pair substitution			Frameshifts	
		TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
-	0 <sup>a)</sup>	161 131 154 [ 149 ]	8 9 7 [ 8 ]	20 22 16 [ 19 ]	17 13 15 [ 15 ]	10 7 8 [ 8 ]
	156	66 76 87 [ 76 ]	6 4 3 [ 4 ]	18 21 28 [ 22 ]	16 14 19 [ 16 ]	5 2 4 [ 4 ]
	313	63 76 57 [ 65 ]	3 6 3 [ 4 ]	25 21 19 [ 22 ]	14 14 28 [ 19 ]	5 2 2 [ 3 ]
	625	57 53 47 [ 52 ]	4 1 6 [ 4 ]	17 15 24 [ 19 ]	22 18 23 [ 21 ]	3 9 5 [ 6 ]
	1250	64 ○ 63 ○ 62 ○ [ 63 ]	6 ○ 1 ○ 5 ○ [ 4 ]	13 ○ 22 ○ 14 ○ [ 16 ]	18 ○ 10 ○ 14 ○ [ 14 ]	2 ○ 5 ○ 2 ○ [ 3 ]
	2500	66 ○ 62 ○ 61 ○ [ 63 ]	0 ○ 1 ○ 5 ○ [ 2 ]	19 ○ 15 ○ 18 ○ [ 17 ]	13 ○ 12 ○ 19 ○ [ 15 ]	7 ○ 5 ○ 5 ○ [ 6 ]
	5000	53 ○ 61 ○ 57 ○ [ 57 ]	2 ○ 6 ○ 6 ○ [ 5 ]	22 ○ 12 ○ 20 ○ [ 18 ]	17 ○ 25 ○ 28 ○ [ 23 ]	4 ○ 2 ○ 3 ○ [ 3 ]
	0 <sup>a)</sup>	129 137 140 [ 135 ]	8 8 10 [ 9 ]	28 31 25 [ 28 ]	29 34 36 [ 33 ]	13 22 19 [ 18 ]
	156	97 † 92 † 132 † [ 107 ]	12 † 7 † 11 † [ 10 ]	20 † 33 † 25 † [ 26 ]	30 † 32 † 36 † [ 33 ]	11 9 † 8 [ 9 ]
	313	93 † 105 † 84 † [ 94 ]	3 † 9 † 7 † [ 6 ]	29 † 32 † 21 † [ 27 ]	22 † 24 † 37 † [ 28 ]	11 † 11 † 6 † [ 9 ]
	625	90 † 92 † 103 † [ 95 ]	5 † 4 † 8 † [ 6 ]	19 † 20 † 24 † [ 21 ]	28 † 28 † 23 † [ 26 ]	13 † 9 † 12 † [ 11 ]
	1250	74 † 77 † 86 † [ 79 ]	7 † 9 † 5 † [ 7 ]	19 † 24 † 21 † [ 21 ]	28 † 26 † 23 † [ 26 ]	8 † 7 † 5 † [ 7 ]
	2500	81 † 77 † 86 † [ 81 ]	10 † 10 † 5 † [ 8 ]	27 † 16 † 22 † [ 22 ]	28 † 32 † 24 † [ 28 ]	5 † 7 † 8 † [ 7 ]
	5000	90 † 71 † 74 † [ 78 ]	9 † 2 † 6 † [ 6 ]	23 † 21 † 18 † [ 21 ]	19 † 33 † 32 † [ 28 ]	6 † 8 † 8 † [ 7 ]
+	0 <sup>a)</sup>	129 137 140 [ 135 ]	8 8 10 [ 9 ]	28 31 25 [ 28 ]	29 34 36 [ 33 ]	13 22 19 [ 18 ]
	156	97 † 92 † 132 † [ 107 ]	12 † 7 † 11 † [ 10 ]	20 † 33 † 25 † [ 26 ]	30 † 32 † 36 † [ 33 ]	11 9 † 8 [ 9 ]
	313	93 † 105 † 84 † [ 94 ]	3 † 9 † 7 † [ 6 ]	29 † 32 † 21 † [ 27 ]	22 † 24 † 37 † [ 28 ]	11 † 11 † 6 † [ 9 ]
	625	90 † 92 † 103 † [ 95 ]	5 † 4 † 8 † [ 6 ]	19 † 20 † 24 † [ 21 ]	28 † 28 † 23 † [ 26 ]	13 † 9 † 12 † [ 11 ]
	1250	74 † 77 † 86 † [ 79 ]	7 † 9 † 5 † [ 7 ]	19 † 24 † 21 † [ 21 ]	28 † 26 † 23 † [ 26 ]	8 † 7 † 5 † [ 7 ]
	2500	81 † 77 † 86 † [ 81 ]	10 † 10 † 5 † [ 8 ]	27 † 16 † 22 † [ 22 ]	28 † 32 † 24 † [ 28 ]	5 † 7 † 8 † [ 7 ]
	5000	90 † 71 † 74 † [ 78 ]	9 † 2 † 6 † [ 6 ]	23 † 21 † 18 † [ 21 ]	19 † 33 † 32 † [ 28 ]	6 † 8 † 8 † [ 7 ]
	Compound	AF-2 <sup>b)</sup>	NaN <sub>3</sub> <sup>c)</sup>	AF-2	AF-2	9AA <sup>d)</sup>
	Dose ( $\mu$ g/plate)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
	620	267	174	457	515	
	542	301	147	470	786	
	620 [ 594 ]	286 [ 285 ]	147 [ 156 ]	448 [ 458 ]	572 [ 624 ]	
	Compound	2AA <sup>e)</sup>	2AA	2AA	2AA	2AA
	Dose ( $\mu$ g/plate)	1	2	10	0.5	2
	1308	231	321	254	216	
	1134	211	278	239	214	
	1248 [ 1230 ]	254 [ 232 ]	307 [ 302 ]	227 [ 240 ]	207 [ 212 ]	

<sup>a)</sup> Negative control, Dimethyl Sulfoxide<sup>b)</sup> 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide<sup>c)</sup> Sodium azide<sup>d)</sup> 9-Aminoacridine hydrochloride monohydrate<sup>e)</sup> 2-Aminoanthracene

○ : Oil drop

† : Precipitates

## 役務提供試験日本語要約(届出様式)

2001 年 3 月 14 日

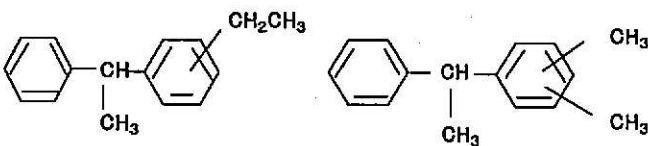
株式会



サーチ

# 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

新規化学物質の名称		1-フェニル-1-キシリルエタン				
別名	名	スチリルキシレン				
構造式又は示性式						
試験に供した新規化学物質の純度		91.5wt%	試験に供した新規化学物質のロット番号	<div></div>		
不純物の名称及び濃度		① 1,1-Diphenylethane: 0.2mass% ② Indan, 1-methyl-3-phenyl: 5.6mass% ③ その他一成分1mass%未満の構造不明炭化水素類合計: 2.7mass%				
CAS番号		40766-31-2	蒸気圧	0.1Pa以下		
分子量		210	分配係数	—		
融点		流動点: -47.5℃	常温における性状	無色透明液体		
沸点		蒸留範囲 初留点 : 291.5℃ 95% : 297.0℃ 終点 : 303.5℃				
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	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	水	不溶	安定	DMSO	溶解	安定
	アセトン	溶解	安定	その他 (炭化水素系溶剤等)	溶解	安定

## 2. 試験に用いた菌株

菌 株 名	入 手 先	入 手 年 月 日
TA100	国立衛生試験所(現国立医薬品食品衛生研究所)変異遺伝部	1995年5月19日
TA1535		
WP2uvrA		
TA98		
TA1537		

## 3. S9 mix

(1) S9の入手方法等(該当する番号を○で囲み, 必要事項を記入した。)

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	2000年9月29日
購 入 の 場 合 の Lot No.	00092907
保 存 温 度	約-80℃以下

## (2) S9の調製方法

使 用 動 物	誘 導 物 質
種 ・ 系 統	名 称 Phenobarbital(PB) 5,6-Benzoflavone(BF)
性	投 与 方 法 腹腔内投与
週 令	投与期間及び投与量(g/kg体重)
体 重	218.0±9.6g (Mean±S.D.)
	PB:4日間 0.03+0.06+0.06 +0.06g/kg BF:1日間 0.08g/kg

## (3) S9 mixの組成

成 分	S9mix 1ml中の量	成 分	S9mix 1ml中の量
S9	0.1ml	NADPH	4 $\mu$ mol
MgCl <sub>2</sub>	8 $\mu$ mol	NADH	4 $\mu$ mol
KCl	33 $\mu$ mol	Na-リン酸緩衝液	100 $\mu$ mol
グルコース-6-リン酸	5 $\mu$ mol	その他(滅菌蒸留水)	0.275ml



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○で囲んだ。)

使 用 溶 媒	名 称	製 造 元	Lot No.	グレード	純度(%)
	Dimethyl sulfoxide	和光純薬工業株式会社	ELH7677	インフィニティビューア	99.9
溶 媒 選 択 の 理 由	被験物質は水に不溶である。従って、被験物質の性状を考慮し、かつ、水に不溶の場合に最も汎用される溶媒であるDimethyl sulfoxideを選択した。				
被験物質溶液の性状	無色の液体				
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	用量設定試験:5時間5分, 室温 本試験:4時間43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.
	NUTRIENT BROTH No.2	OXOID	028 59365
前 培 養 時 間	用量設定試験:8時間38分, 本試験:8時間47分		
培養容器 (形状・用量)	L字型試験管, 24ml		
培 養 液 量	10ml	接 種 液 量	0.02ml

(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	WP2uvrA	TA98	TA1537
生菌数 ( $\times 10^9$ /ml)	用 量 設 定 試 験	1.4	1.3	1.4	1.2	1.2
	本 試 験	1.4	1.4	1.3	1.4	1.2
測 定 方 法 (いずれかを○で囲むこと。)		①. O.D.値より換算 2. 段階希釈法 3. その他( )				

6. 最小グルコース寒天平板培地(該当する番号を○で囲み, 必要事項を記入した。)

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	2000年10月24日 製造
購入の場合の名称およびLot No.	クリメディアAM-N培地, ANI620JP
使用寒天の名称・製造元・Lot No.	

7. 試験の方法(該当する番号を○で囲み, 必要事項を記入した。)

(1)試験方法とその選定理由

採用した試験方法	①. プレインキューベーション法 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	0.1ml
	被 験 物 質 溶 液	0.1ml
	Na-リン酸緩衝液(直接法による場合)	0.5ml
	S9 mix (代謝活性化法による場合)	0.5ml
	ト ッ プ ア ガ ー	2ml
	そ の 他 ( )	
プレインキューベーション	温 度	37℃
	時 間	20分
インキューベーション	温 度	37℃
	時 間	48時間以上

8. コロニー計測の方法(該当する番号を○で囲み, 必要事項を記入した。)

計 測 方 法	①. マニュアル計測 2. 機器計測
補 正 の 有 無	①. 無 2. 有(補正の方法)

## 9. 試験の結果

(1)試験の結果は別表1による。

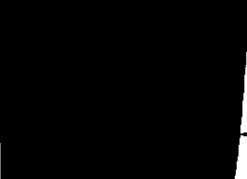
(2)結果の判定

判 定 (いずれかを○で囲むこと。)	陽性	陰性
<p>判定の理由</p> <p>1-フェニル-1-キシリルエタンは、TA100, TA98, TA1535, TA1537及びWP2uvrAにおいて、代謝活性化の有無に関わらず、陰性対照の2倍以上の復帰変異コロニー数の増加を認めなかった。また、この結果は、用量設定試験と本試験で再現性が認められた。なお、陰性対照及び陽性対照は当試験実施施設の背景値の範囲内であったことから、試験が適切に実施されたことを示した。</p> <p>以上の結果から、本試験条件下では用いた菌株に対して、1-フェニル-1-キシリルエタンは遺伝子突然変異誘発作用はないものと判定した。</p>		

(3)参考事項

用量設定試験および本試験とも菌の生育阻害は認められなかった。また、用量設定試験および本試験ともに、直接法では被験物質と思われる油滴状物質、代謝活性化法では被験物質とは異なる不定形の析出物質が認められたが、コロニー計測は可能であった。

## 10. その他

試験実施施設	名 称	株式会社 イナリサーチ		
	所 在 地	長野県伊那市西箕輪8047番地(〒399-4501)	TEL:0265-72-6616	FAX:0265-72-6657
試験責任者	職 氏 名	試験管理部 試験管理グループ		
	経験年数	10年		
	連絡先	長野県伊那市西箕輪2148番地(〒399-4501) 株式会社 イナリサーチ 第2研究所	TEL:0265-73-8611	FAX:0265-73-8612
試験番号	2000TT279			
試験期間	2001年 1月 24日 より 2001年 3月 14日			

(別表1-1)

## 試 験 結 果 表

被 験 物 質 の 名 称	1-フェニル-1-キシリルエタン
試 験 実 施 期 間	2001年1月29日 より 2001年2月16日

## ・用量設定試験

代謝活性化 系の有無	被験物質の 用量 ( $\mu$ g/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	WP2uvrA	TA98	TA1537
- S9 mix	陰性対照	115 120 (125) 139	12 1 (6) 6	38 34 (29) 16	20 18 (20) 22	5 7 (6) 6
	7	116 110 (110) 103	6 4 (5) 5	34 43 (38) 36	24 17 (20) 19	4 3 (4) 6
	21	102 78 (97) 112	7 4 (6) 6	22 39 (31) 31	10 19 (14) 14	3 4 (4) 4
	62	94 98 (93) 88	9 4 (6) 4	43 24 (34) 35	17 15 (17) 18	4 5 (4) 2
	185	73 97 (79) 68	5 7 (5) 4	26 25 (29) 35	20 19 (18) 14	1 5 (2) 0
	556	71 68 (71) 74	8 6 (7) 6	32 24 (26) 23	22 15 (18) 18	4 6 (4) 2
	1667 †	80 68 (75) 76	6 6 (7) 9	45 32 (39) 39	14 19 (17) 17	6 2 (4) 3
	5000 †	66 81 (71) 66	4 8 (6) 6	27 23 (25) 25	15 18 (21) 29	4 1 (5) 9
+ S9 mix	陰性対照	127 136 (127) 118	14 12 (12) 9	30 23 (31) 39	29 26 (28) 29	10 12 (11) 10
	7	140 109 (127) 132	12 5 (10) 13	30 33 (33) 36	35 31 (32) 29	16 18 (15) 11
	21	151 155 (157) 166	12 10 (11) 10	31 23 (31) 39	33 41 (35) 32	12 13 (14) 16
	62 †	118 118 (120) 124	11 7 (8) 7	27 41 (35) 36	21 31 (25) 24	8 10 (11) 16
	185 †	77 104 (95) 104	2 5 (4) 6	27 29 (27) 24	31 31 (30) 28	12 7 (10) 11
	556 †	99 79 (85) 76	5 6 (6) 8	30 31 (31) 31	33 19 (26) 26	13 13 (11) 8
	1667 †	84 85 (92) 108	6 7 (7) 7	34 28 (29) 26	26 26 (27) 29	16 9 (11) 9
	5000 †	105 76 (88) 82	5 8 (6) 6	25 33 (30) 33	35 25 (27) 21	5 7 (7) 8

1 : ( )内には各プレートのコロニー数の平均値を記入した。

2 : なお、代謝活性化の有無にかかわらず、すべての菌株の処理系列で菌の生育阻害は認められなかった。

3 : 直接法においては、被験物質と思われる油滴状の物質がプレート上に認められたため、その用量に†印を付した。一方、代謝活性化法においては、被験物質とは異なる不定形の析出物質がプレート上に認められたため、その用量に†印を付した。なお、代謝活性化法における62  $\mu$ g/プレート群で認められた析出は、TA1535、TA1537およびWP2uvrAの処理系列のみで認められ、その他の用量群で認められた析出は、すべての菌株の処理系列で認められた。

(別表1-2)

## ・用量設定試験(続き)

代謝活性化系の有無			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	WP2uvrA	TA98	TA1537
陽性対照	S9 mixを必要としないもの	名 称	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9AA
		用量(μg/プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
		コロニー数/プレート	590 518 (557) 564	324 314 (315) 308	147 123 (137) 142	438 428 (451) 486	652 532 (527) 398
	S9 mixを必要とするもの	名 称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
		用量(μg/プレート)	1	2	10	0.5	2
		コロニー数/プレート	1148 1166 (1127) 1066	225 238 (221) 201	430 353 (390) 388	216 403 (289) 247	214 222 (217) 216

1 : ( ) 内には各プレートのコロニー数の平均値を記入した。

2 : 陽性対照の名称は、以下の通りの略称を用いた。

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

NaN<sub>3</sub> : Sodium azide

9AA : 9-Aminoacridine hydrochloride monohydrate

2AA : 2-Aminoanthracene

(別表1-3)

・本試験

代謝活性化系の有無	被験物質の 用量 ( $\mu$ g/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	WP2uvrA	TA98	TA1537
- S9 mix	陰性対照	161	8	20	17	10
		131 (149)	9 (8)	22 (19)	13 (15)	7 (8)
		154	7	16	15	8
	156	66	6	18	16	5
		76 (76)	4 (4)	21 (22)	14 (16)	2 (4)
		87	3	28	19	4
	313	63	3	25	14	5
		76 (65)	6 (4)	21 (22)	14 (19)	2 (3)
		57	3	19	28	2
	625	57	4	17	22	3
		53 (52)	1 (4)	15 (19)	18 (21)	9 (6)
		47	6	24	23	5
+ S9 mix	陰性対照	129	8	28	29	13
		137 (135)	8 (9)	31 (28)	34 (33)	22 (18)
		140	10	25	36	19
	156 †	97	12	20	30	11
		92 (107)	7 (10)	33 (26)	32 (33)	9 (9)
		132	11	25	36	8
	313 †	93	3	29	22	11
		105 (94)	9 (6)	32 (27)	24 (28)	11 (9)
		84	7	21	37	6
	625 †	90	5	19	28	13
		92 (95)	4 (6)	20 (21)	28 (26)	9 (11)
		103	8	24	23	12
	1250 †	74	7	19	28	8
		77 (79)	9 (7)	24 (21)	26 (26)	7 (7)
		86	5	21	23	5
	2500 †	81	10	27	28	5
		77 (81)	10 (8)	16 (22)	32 (28)	7 (7)
		86	5	22	24	8
	5000 †	90	9	23	19	6
		71 (78)	2 (6)	21 (21)	33 (28)	8 (7)
		74	6	18	32	8

1 : ( ) 内には各プレートのコロニー数の平均値を記入した。

2 : なお、代謝活性化の有無にかかわらず、すべての菌株の処理系列で菌の生育阻害は認められなかった。

3 : 直接法においては、被験物質と思われる油滴状の物質がプレート上に認められたため、その用量に†印を付した。一方、代謝活性化法においては、被験物質とは異なる不定形の析出物質がプレート上に認められたため、その用量に†印を付した。

(別表1-4)

・本試験(続き)

代謝活性化 系の有無			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	WP2uvrA	TA98	TA1537
陽 性 対 照	S9 mix を必要 としない もの	名 称	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9AA
		用量(μg/プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
		コロニー数/プレート	620 542 (594) 620	267 301 (285) 286	174 147 (156) 147	457 470 (458) 448	515 786 (624) 572
	S9 mix を必要 とするも の	名 称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
		用量(μg/プレート)	1	2	10	0.5	2
		コロニー数/プレート	1308 1134 (1230) 1248	231 211 (232) 254	321 278 (302) 307	254 239 (240) 227	216 214 (212) 207

1 : ( )内には各プレートのコロニー数の平均値を記入した。

2 : 陽性対照の名称は、以下の通りの略称を用いた。

AF-2 : 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide

NaN<sub>3</sub> : Sodium azide

9AA : 9-Aminoacridine hydrochloride monohydrate

2AA : 2-Aminoanthracene