

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 2月 5日製造
購 入 の 場 合 の L o t N o .	ANI090BU
使用寒天の名称・製造元・Lot No.	伊那寒天 BA-30A 伊那食品工業（株） 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	約48 時間

8. コロニー計測の方法

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 面積補正＋数え落とし補正）

9. 試験結果

(1) 試験の結果は別表1-1～1-5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 本被験物質は、S9 mix無添加及びS9 mix添加の場合とも、いずれの菌株においても、復帰変異コロニー数は陰性対照の2倍以上に増加しなかった。 2回実施した本試験には再現性が認められた。 本試験で用いた陽性対照物質は明らかな復帰変異コロニー数の増加を示した。また、陰性対照及び陽性対照における復帰変異コロニー数は背景データの範囲内にあり、試験条件を満たすものであったことから、試験系に影響した他の要因がなく、試験は適切に実施されたことが確認された。 以上の結果より、本被験物質は陰性と判定した。		

(陽性と判定した場合には、別表2比活性の表を添付すること。)

(3) 参考事項

[用量設定理由]

本試験の実施に先駆けて、試験濃度設定のために用量設定試験を実施した。用量設定試験の試験濃度は、「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）に従い、いずれの菌株も5000 µg/plateを最高濃度として、以下公比4で1250, 312.5, 78.1, 19.5, 4.88, 1.22及び0.305 µg/plateの計8濃度を設定した。対照として、全菌株に対し陰性対照及び陽性対照を設けた。

用量設定試験の結果から本試験(I)及び本試験(II)の濃度は、S9 mix無添加及びS9 mix添加の場合とも、菌の生育阻害を示さないと考えられる濃度が4濃度以上含まれるように、以下公比2で6濃度を設定した。すなわち、S9 mix無添加の場合、TA100では9.77, 19.5, 39.1, 78.1, 156.3及び312.5 µg/plate, TA1535及びWP2uvrAでは39.1, 78.1, 156.3, 312.5, 625及び1250 µg/plate, TA98及びTA1537では0.61, 1.22, 2.44, 4.88, 9.77及び19.5 µg/plateとした。S9 mix添加の場合、TA100, TA1535, TA98及びTA1537では9.77, 19.5, 39.1, 78.1, 156.3及び312.5 µg/plate, WP2uvrAでは39.1, 78.1, 156.3, 312.5, 625及び1250 µg/plateとした。対照として、全菌株に対し陰性対照及び陽性対照を設けた。

[被験物質の析出]

プレート上の析出物は、S9 mix無添加の場合、培養開始時には39.1 µg/plate以上（用量設定試験では78.1 µg/plate以上）の濃度において、培養終了時には19.5 µg/plate以上の濃度において白色の油膜状析出物及び白色の微細な析出物が認められた。S9 mix添加の場合、培養開始時には156.3 µg/plate以上（用量設定試験では312.5 µg/plate以上）の濃度において、培養終了時には78.1 µg/plate以上の濃度において白色の微細な析出物が認められた。

(別表 1 - 1)

試 験 結 果 表

被験物質の名称： ブメトリゾール (用量設定試験)

試験実施期間		2005年 5月 10日 より 2005年 5月 13日						
代謝活性化系の有無	被験物質の用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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	153 (153)	10 (10)	43 (43)	10 (10)	10 (10)		
	0.305	121 (121)	5 (5)	54 (54)	14 (14)	12 (12)		
	1.22	126 (126)	5 (5)	41 (41)	19 (19)	9 (9)		
	4.88	130 (130)	12 (12)	38 (38)	14 (14)	12 (12)		
	19.5#	137 (137)	8 (8)	37 (37)	17* (17)	6* (6)		
	78.1#	118 (118)	10 (10)	51 (51)	19* (19)	11* (11)		
	312.5#	147* (147)	13 (13)	47 (47)	13* (13)	8* (8)		
	1250#	116* (116)	8* (8)	39* (39)	12* (12)	9* (9)		
	5000#	144* (144)	9* (9)	43* (43)	12* (12)	7* (7)		
+S9 mix	陰性対照	142 (142)	11 (11)	45 (45)	19 (19)	13 (13)		
	0.305	137 (137)	9 (9)	37 (37)	23 (23)	20 (20)		
	1.22	130 (130)	7 (7)	29 (29)	20 (20)	14 (14)		
	4.88	131 (131)	7 (7)	39 (39)	18 (18)	14 (14)		
	19.5	114 (114)	9 (9)	50 (50)	13 (13)	17 (17)		
	78.1#	123 (123)	5 (5)	45 (45)	19 (19)	14 (14)		
	312.5#	136* (136)	9* (9)	35 (35)	21* (21)	17* (17)		
	1250#	113* (113)	5* (5)	46* (46)	24* (24)	12* (12)		
	5000#	139* (139)	6* (6)	39* (39)	20* (20)	12* (12)		
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	9AA	
		用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	80	
		コロニー数/プレート	556 (556)	573 (573)	159 (159)	517 (517)	516 (516)	
	S9 mixを必要とするもの	名 称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA	
		用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	1	2	10	0.5	2	
		コロニー数/プレート	903 (903)	363 (363)	990 (990)	400 (400)	155 (155)	

[備考]

1. 菌の生育阻害が認められる場合は、該当する数値の右上に*印を付すること。
2. 括弧内には各プレートのコロニー数の平均値を記入すること。
3. 復帰変異数は、被験物質用量の低い順に実測値及び平均値を記入すること。
4. プレート上で沈殿が析出した場合は、その用量に#印を付すること。
5. 略称で示された陽性物質の名称を欄外に記入すること。

AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide; NaN₃: sodium azide; 9AA: 9-aminoacridine hydrochloride;
2AA: 2-aminoanthracene.

(別表 1-2)

試験結果表

被験物質の名称： ブメトリゾール (本試験 I)

試験実施期間		2005年 5月 23日 より			2005年 5月 26日			
代謝活性化系の有無		被験物質の用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	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 $uvrA$	TA98	TA1537	
-S9 mix	陰性対照	86 107 123 (105 $\pm$ 18.6)	11 13 15 (13 $\pm$ 2.0)	17 27 28 (24 $\pm$ 6.1)	13 15 15 (14 $\pm$ 1.2)	7 9 16 (11 $\pm$ 4.7)		
	0.61				17 17 19 (18 $\pm$ 1.2)	2 7 9 (6 $\pm$ 3.6)		
	1.22				13 22 25 (20 $\pm$ 6.2)	9 10 11 (10 $\pm$ 1.0)		
	2.44				19 19 26 (21 $\pm$ 4.0)	10 10 11 (10 $\pm$ 0.6)		
	4.88				18 20 28 (22 $\pm$ 5.3)	8 11 13 (11 $\pm$ 2.5)		
	9.77	90 96 112 (99 $\pm$ 11.4)			19* 22* 23* (21 $\pm$ 2.1)	7* 11* 13* (10 $\pm$ 3.1)		
	19.5#	90 115 115 (107 $\pm$ 14.4)			17* 22* 23* (21 $\pm$ 3.2)	7* 7* 15* (10 $\pm$ 4.6)		
	39.1#	91 96 97 (95 $\pm$ 3.2)	9 9 12 (10 $\pm$ 1.7)	19 27 37 (28 $\pm$ 9.0)				
	78.1#	98 103 108 (103 $\pm$ 5.0)	13 13 13 (13 $\pm$ 0.0)	23 27 30 (27 $\pm$ 3.5)				
	156.3#	97* 98* 116* (104 $\pm$ 10.7)	10 17 20 (16 $\pm$ 5.1)	25 34 34 (31 $\pm$ 5.2)				
	312.5#	80* 95* 96* (90 $\pm$ 9.0)	10 10 22 (14 $\pm$ 6.9)	24 30 37 (30 $\pm$ 6.5)				
	625#		13* 16* 17* (15 $\pm$ 2.1)	26 29 37 (31 $\pm$ 5.7)				
	1250#		6* 7* 13* (9 $\pm$ 3.8)	20* 28* 32* (27 $\pm$ 6.1)				
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	9AA	
		用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	80	
		コロニー数/プレート	414 459 474 (449 $\pm$ 31.2)	573 635 646 (618 $\pm$ 39.4)	103 132 137 (124 $\pm$ 18.4)	365 374 375 (371 $\pm$ 5.5)	391 413 427 (410 $\pm$ 18.1)	
	S9 mixを必要とするもの	名 称						
		用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)						
		コロニー数/プレート						

[備考]

1. 菌の生育阻害が認められる場合は、該当する数値の右上に*印を付すること。
2. 括弧内には各プレートのコロニー数の平均値を記入すること。
3. 復帰変異数は、被験物質用量の低い順に実測値及び平均値を記入すること。
4. プレート上で沈殿が析出した場合は、その用量に#印を付すること。
5. 略称で示された陽性物質の名称を欄外に記入すること。

AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide; NaN₃: sodium azide; 9AA: 9-aminoacridine hydrochloride.