



最終報告書

試験表題：5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナールの細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号： 

試験期間： 



試験責任者署名：



本報告書は表紙を含む 21 枚

目 次

	(頁)
1. 要約.....	3
2. 試験表題.....	4
3. 試験番号.....	4
4. 試験目的.....	4
5. 試験委託者.....	4
6. 試験施設.....	4
7. 試験責任者.....	4
8. 試験実施期間.....	4
9. 適用した GLP 及びガイドライン.....	5
10. 試験関係資料の保存.....	5
11. 試験材料及び試験方法.....	6
11.1. 被験物質.....	6
11.2. 溶媒.....	6
11.3. 対照物質.....	6
11.4. 被験物質液の調製.....	7
11.5. 陽性対照物質液の調製.....	7
11.6. 使用菌株.....	8
11.7. 最少グルコース寒天平板培地.....	8
11.8. トップアガー.....	8
11.9. S9 mix.....	9
11.10. 試験方法.....	10
11.11. 試験の成立条件.....	12
11.12. 統計学的処理.....	12
11.13. 判定基準.....	12
12. 試験結果及び考察.....	12
別表 1	試験結果表(用量設定試験)
別表 2	試験結果表(本試験)
別表 3,4	試験結果表(確認試験)
図 1	用量反応曲線(用量設定試験)
図 2	用量反応曲線(本試験)
図 3,4	用量反応曲線(確認試験)
添付資料	陰性対照値及び陽性対照値の背景データから算出した基準値

1. 要約

5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナールの遺伝子突然変異誘発性を、塩基対置換型変異株の *S. typhimurium* TA100, TA1535, *E. coli* WP2 *uvrA* 及びフレームシフト型変異株の *S. typhimurium* TA98, TA1537を用い、代謝活性化非存在下及び代謝活性化存在下の37°C, 20分間のプレインキュベーション法により検討した。その結果、本被験物質は代謝活性化非存在下の *S. typhimurium* TA98, TA100 に対して復帰変異コロニー数を用量反応的に増加させ、*S. typhimurium* TA98 では本試験において陰性対照の2倍以上の増加を示した。しかし、用量設定試験及び確認試験では陰性対照の2倍以上の増加は認められず、再現性は得られなかった。その他の菌株については、いずれも復帰変異コロニー数の用量反応的な増加及び陰性対照と比較して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。また、用量設定試験、本試験及び確認試験において、試験結果に再現性も得られた。一方、陽性対照は、代謝活性化の有無にかかわらずすべての菌株に対して、復帰変異コロニー数を陰性対照の2倍以上に増加させた。陰性対照及び陽性対照の平均値は、背景データから算出した基準値の範囲内であった。また、無菌試験の結果、雑菌の混入がないことが確認された。これらの結果は、試験が適切に実施されたことを示す。また、試験の信頼性に悪影響をおよぼす疑いのある環境要因についても、なら認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下において本被験物質の遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定する。



2. 試験表題

5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナールの細菌を用いる復帰突然変異試験

3. 試験番号



4. 試験目的

被験物質の細菌に対する遺伝子突然変異誘発性の有無を検討する。

5. 試験委託者

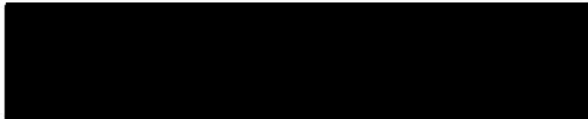
国立医薬品食品衛生研究所



試験委託担当者



6. 試験施設



7. 試験責任者



8. 試験実施期間

試験開始日

溶解性試験

用量設定試験

前培養

被験物質処理

観察及びコロニー数計測

本試験

前培養

被験物質処理

観察及びコロニー数計測

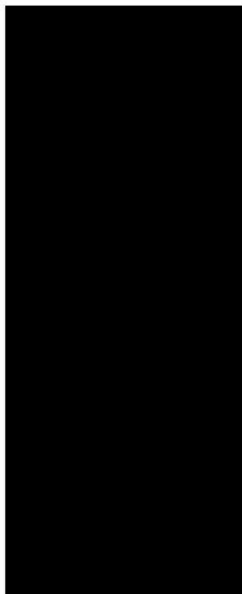
確認試験

前培養

被験物質処理

観察及びコロニー数計測

試験終了日



9. 適用した GLP 及びガイドライン

GLP: 適用しない

ガイドライン:「新規化学物質等に係る試験の方法について」(薬食発 0331 第 7 号, 平成 23・03・29 製局第 5 号, 環企発第 110331009 号, 平成 23 年 3 月 31 日)

「労働安全衛生法第 57 条の 3 第 1 項の規定に基づき労働大臣の定める基準を定める告示」(労働省告示第 77 号, 昭和 63 年 9 月 1 日及び労働省告示第 67 号, 平成 9 年 6 月 2 日)

10. 試験関係資料の保存

保存場所: 当試験施設, 資料保存施設

保存資料: 試験計画書(原本)

被験物質の受領, 廃棄, 管理に関する記録

被験物質の使用に関する記録

菌株の管理に関する記録

試験の実施に関する記録

最終報告書(原本)

その他記録文書

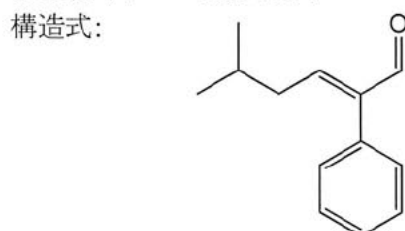
保存期間: 試験終了後 5 年間保存

11. 試験材料及び試験方法

11.1. 被験物質

名称: 5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナール
5-METHYL-2-PHENYL-2-HEXENAL

CAS 番号: 21834-92-4



ロット番号: [REDACTED]

純度: 96.5% (mixed isomers)

不純物の名称及び濃度: 6-phenylundecane 0.37%, 1-phenyl-1-hexanone 0.14%

分子量: 188.27

沸点: 290 ~ 291°C

性状: 液体

溶解性: 水に不溶, ジメチルスルホキシド及びアセトンに可溶

溶解度: ジメチルスルホキシドに 5 wt%以上, アセトンに 10 wt%以上溶解

溶媒中での安定性: 水, ジメチルスルホキシド及びアセトンに安定

保存条件: 常温

保存場所: [REDACTED]

11.2. 溶媒

名称: ジメチルスルホキシド(以下 DMSO と略す)

ロット番号: [REDACTED]

純度: 100.0%

規格等級: 試薬特級

供給者: 和光純薬工業株式会社

11.3. 対照物質

陰性対照は, 被験物質の調製に使用した DMSO とした. 陽性対照は, 細菌を用いる復帰突然変異試験に汎用されている下記の既知変異誘発物質を使用した.

名称: 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (以下 AF-2 と略す)

ロット番号: [REDACTED]

含量: 99.7%

供給元: 和光純薬工業株式会社

名称: Sodium azide (以下 AZI と略す)

ロット番号: [REDACTED]

純度: 99.8%

供給元: 和光純薬工業株式会社

名称: 9-aminoacridine(以下 9AA と略す)
ロット番号: XXXXXXXXXX
純度: 98.80%
供給元: MP Biomedicals, LLC.

名称: 2-aminoanthracene (以下 2AA と略す)
ロット番号: XXXXXXXXXX
含量: 96.5%
供給元: 和光純薬工業株式会社

11.4. 被験物質液の調製

11.4.1. 溶媒の選択

本被験物質の溶媒は、溶解性試験の結果より設定した。溶解性試験は、日本薬局方注射用水、DMSO 及びアセトンを経験に実施した。溶解性試験の調製濃度は、日本薬局方注射用水及び DMSO の場合は 50 mg/mL, アセトンの場合は 100 mg/mL とした。

所定量の被験物質を用時秤量した。これに 50 または 100 mg/mL の濃度になるよう溶媒を加え、目視により発熱、発煙等の反応性の有無及び溶解性を確認した。その結果、本被験物質は DMSO 及びアセトンに対して溶解した。また、日本薬局方注射用水については、超音波による分散によっても懸濁しなかった。一方、本被験物質と溶媒との反応性については、いずれの溶媒についてもなんら認められなかった。従って、本被験物質はこれらの溶媒に対して安定であると判断した。

以上の結果より、本被験物質の溶媒は溶液が得られ、また反応性が認められず溶媒中で本被験物質が安定であると判断された DMSO とした。

11.4.2. 被験物質液の調製

調製時期: 用時調製した。

純度換算: 純度換算を行った(秤量値×0.965)。

液量換算: 秤量した被験物質の液量を、添加する溶媒の液量から除いた。

調製方法: 所定量の被験物質を秤量し、これに DMSO を加えて最高濃度の被験物質液 50 mg/mL を調製した。調製に使用した DMSO は、Molecular Sieves (3A)により脱水した。低濃度の被験物質液は、最高濃度の被験物質液に同様の DMSO を加えて段階希釈し調製した。使用後の残余被験物質液は、感染性廃棄物として廃棄した。

11.5. 陽性対照物質液の調製

陽性対照物質は、DMSO (Lot No. XXXXXXXXXX 純度 100.0%, 和光純薬工業株式会社)に溶解し-80°C に凍結保存したものを、用時に解凍して使用した。調製濃度を下記に示す。使用後の残余陽性対照物質液は、感染性廃棄物として廃棄した。

化学物質名	濃度(µg/mL)
AF-2	0.1, 1.0
AZI	5
9AA	800
2AA	5, 10, 20, 100

11.6. 使用菌株

試験には、既知変異誘発物質に対して高い感受性を有しており、細菌を用いる復帰突然変異試験に汎用される下記の菌株を使用した。菌株の入手先及び入手年月日を以下に示す。入手した菌株は、-80°Cに凍結保存した。

菌株名	入手先	入手年月日
塩基対置換型変異株; <i>S. typhimurium</i> TA100, TA1535	日本バイオアッセイ研究センター	[REDACTED]
フレームシフト型変異株 <i>S. typhimurium</i> TA98, TA1537		
塩基対置換型変異株; <i>E. coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	NBRC	[REDACTED]

NBRC; 独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー本部, 生物遺伝資源部門

11.7. 最少グルコース寒天平板培地

最少グルコース寒天平板培地は、極東製薬工業株式会社製造の以下の組成のバイタルメディア AMT-S 培地 (Lot No. [REDACTED]) 製造, 使用寒天; 大洋寒天, Lot No. [REDACTED] SSK セールス) を用いた。

硫酸マグネシウム・7水塩	0.2 g/L
クエン酸・1水塩	2.0 g/L
リン酸二カリウム・無水塩	10.0 g/L
リン酸一アンモニウム	1.92 g/L
水酸化ナトリウム	0.66 g/L
ブドウ糖	20.0 g/L
寒天末	15.0 g/L

11.8. トップアガー

加温溶解した軟寒天溶液 (Bacto Agar, Becton, Dickinson; 0.6%, 塩化ナトリウム, 和光純薬工業株式会社; 0.5%) に, 0.5 mmol/L ヒスチジン (関東化学株式会社), 0.5 mmol/L ビオチン (和光純薬工業株式会社) 及び 0.5 mmol/L トリプトファン (関東化学株式会社) を 1/10 の容量で加えて調製した。

11.9. S9 mix

11.9.1. S9

S9 は、以下のオリエンタル酵母工業株式会社製ラット肝 S9 を用いた。S9 は、使用するまで-80°C で保存した。

使用動物	ラット:Sprague-Dawley 系
ロット番号	
製造年月日	
性, 週齢/体重範囲	雄, 7 週齢/208.6±10.0 g
誘導物質	Phenobarbital(PB) 及び 5,6-Benzoflavone (BF)
投与量及び投与回数	PB: 30 mg/kg 1回(1日目) 60 mg/kg 3回(2~4日目) BF: 80 mg/kg 1回(3日目)
投与方法	腹腔内投与

11.9.2. コファクター

コファクターは、グルコース-6-リン酸、NADH 及び NADPH(オリエンタル酵母工業株式会社)を 0.2 mol/L ナトリウム-リン酸緩衝液に溶解し、濾過滅菌した後 MgCl₂-KCl 溶液を加えたものを使用した。調製したコファクターは、使用するまで氷冷下で保存した。

11.9.3. S9 mix の調製

-80°Cに凍結保存したS9を用時に解凍し、コファクターと1:9の割合で混合した。以下にS9 mix 1 mL中の成分濃度を示す。調製したS9 mix は、氷冷下で保存した。

S9	0.1 mL
塩化マグネシウム	8 µmol
塩化カリウム	33 µmol
グルコース-6-リン酸	5 µmol
NADPH	4 µmol
NADH	4 µmol
リン酸ナトリウム緩衝液, pH 7.4	100 µmol

11.10. 試験方法

11.10.1. 群構成

菌株ごとに、代謝活性化非存在下及び代謝活性化存在下について実施し、さらに陰性対照、陽性対照を設けた。用量当たりの最少グルコース寒天平板培地は、陰性対照、被験物質及び陽性対照のいずれも 2 枚とした。なお、同日に複数の試験を実施した場合は、陽性対照は共有した。陽性対照の用量は、細菌を用いる復帰突然変異試験に広く使用されている下記の用量とした。

菌株	代謝活性化非存在下		代謝活性化存在下	
	化学物質名	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	化学物質名	用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)
TA100	AF-2	0.01	2AA	1.0
TA1535	AZI	0.5	2AA	2.0
WP2 <i>ivrA</i>	AF-2	0.01	2AA	10.0
TA98	AF-2	0.1	2AA	0.5
TA1537	9AA	80.0	2AA	2.0

11.10.2. 用量段階

本試験の用量段階は、用量設定試験の結果より設定した。用量設定試験は、5000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ を最高用量とした以下公比 4 の計 6 用量とした。用量設定試験の結果を別表 1 及び図 1 に示す。

本被験物質は、代謝活性化の有無にかかわらずすべての菌株に対して 313 $\mu\text{g}/\text{plate}$ 以上の用量で生育阻害を示した。また、復帰変異コロニー数の用量反応的な増加が代謝活性化非存在下の *S. typhimurium* TA100 に対して観察されたが、陰性対照と比較して復帰変異コロニー数の 2 倍以上の増加は、代謝活性化の有無にかかわらずいずれの菌株に対しても認められなかった。被験物質の沈殿についても、代謝活性化の有無にかかわらずいずれの用量段階においても観察されなかった。

以上の結果より、本試験の用量段階は、代謝活性化非存在下の *S. typhimurium* TA100 については、直線的な用量反応性が得られるよう、復帰変異コロニー数の増加が観察された用量を参考に 313 $\mu\text{g}/\text{plate}$ を最高用量とした以下公比 2 の計 6 用量とした(別表 2)。その他の菌株については、用量設定試験において復帰変異コロニー数の増加が認められなかったことから、本試験の用量段階は生育阻害の観察された用量を参考に 313 $\mu\text{g}/\text{plate}$ を最高用量とした以下公比 2 の計 6 用量とした(別表 2)。さらに、代謝活性化の有無にかかわらずすべての菌株について、用量設定試験において試験結果の評価、再現性の確認に必要な用量数が満たなかったことから、本試験と同様の用量段階による確認試験(別表 3)を実施した。また、代謝活性化非存在下の *S. typhimurium* TA98 については、本試験において陰性対照と比較して復帰変異コロニー数の 2 倍以上の増加が観察されたことから、確認試験をあわせて実施した。確認試験は、陰性対照と比較して 2 倍以上の増加は観察されるものの明確な用量反応性が得られなかったことから、復帰変異コロニー数が増加を示す用量域での、より狭い用量段階における観察が必要であると判断し、313 $\mu\text{g}/\text{plate}$ を最高用量とした以下公比 1.4 の計 5 用量とした(別表 4)。代謝活性化非存在下の *S. typhimurium* TA100 についても同様に、復帰変異コロニー数が増加を示す用量域でのより狭い用量段階による確認がおこなえるよう、313 $\mu\text{g}/\text{plate}$ を最高用量とした以下公比 1.4 の計 5 用量による確認試験(別表 4)をあわせて行った。

11.10.3. 菌懸濁液の調製

三角フラスコ(容量 200 mL)に入れた濃度 25 g/L のニュートリエントブロス培養液(Lot No. [REDACTED] Oxoid Ltd.) 25 mL に菌懸濁液 50 μ L (*S. typhimurium* TA1537 及び *E. coli* WP2 *uvrA* の場合は 1/5 に希釈)を接種し, 37°C で 10 時間振盪培養した(ML-10F 及び PU-6, タイテック株式会社). 接種したニュートリエントブロス培養液は, 培養開始まで 4°C に保存した. 培養終了後培養液の濁度(OD)を BioSpec-mini(株式会社島津製作所)を使用して波長 660 nm で測定し, 菌数が 1.0×10^9 個/mL 以上であることを確認した.

11.10.4. 試験操作

試験は, 細菌を用いる復帰突然変異試験の定法として広く用いられている, 37°C, 20 分間のプレインキュベーション法とした.

試験管に陰性対照物質, 被験物質液または陽性対照物質 0.1 mL を分注し, これに代謝活性化非存在下では 1/15 mol/L ナトリウムリン酸緩衝液(pH 7.4), 代謝活性化存在下では S9 mix 0.5 mL を加え, さらに菌懸濁液 0.1 mL を加えて攪拌した後 37°C, 振盪回数 105~116 回/分(変動範囲)で 20 分間振盪した. 振盪開始 20 分後これにトップアガーを 2.0 mL 加え, 攪拌した後最少グルコース寒天平板培地に重層した. 重層固化を確認した後最少グルコース寒天平板培地の上下を反転し, 37°C で 48 時間培養した.

11.10.5. 無菌試験

被験物質への雑菌の混入, 試験操作時の雑菌の混入がないことを確認するため, 被験物質液と S9 mix について無菌試験を実施した. 無菌試験における被験物質液及び S9 mix の添加量は, 菌株と被験物質液の処理時の液量とした. 最高濃度の被験物質液または S9 mix にトップアガーを 2.0 mL 加え, 最少グルコース寒天平板培地に重層した. 重層固化を確認した後最少グルコース寒天平板培地の上下を反転し, 37°C で 48 時間培養した.

11.10.6. 識別方法

各菌株の前培養時には, 油性マーカーペンで菌株名を培養容器に表記した. 試験時の最少グルコース寒天平板培地には, 試験番号, 菌株名, 用量, 被験物質名, 陰性対照物質名又は陽性対照物質名及び S9 mix の存在の有無を明記した.

11.10.7. 観察及び復帰変異コロニー数の計測

復帰変異コロニー数の計測時に目視で沈殿の有無を確認し, また実体顕微鏡を用いて background lawn の生育を観察し生育阻害の有無を確認した. 沈殿または生育阻害が認められた場合は, その旨を記録した. 復帰変異コロニー数の計測は, *S. typhimurium* TA100 及び陽性対照の場合は計測値を面積補正コロニーアナライザー(CA-11D, システムサイエンス株式会社)を用いて計測し, 他は目視計測により行った. また, 沈殿, 着色によりコロニーアナライザーでは正確な計測が困難と判断された用量については, 目視計測を行った.

11.11. 試験の成立条件

下記の条件を満たしている場合に、試験は成立とした。

1. 陰性対照群及び陽性対照群のコロニー数の平均値が背景データ(添付資料)の変動範囲内であること。変動範囲を外れる場合にあっては、背景データとの比較から偶発的な要因によるものと考えられること。
2. 陽性対照のコロニー数(平均)が陰性対照値(平均)の2倍以上を示す。
3. 無菌試験の結果、雑菌による汚染が無い。
4. 計測値に欠落がない。

11.12. 統計学的処理

統計学的処理は行わなかった。菌株ごとの被験物質の各用量、陰性及び陽性対照において計測した各用量の実数値を表示し、用量ごとの復帰変異コロニー数の平均値も併せて表示した。さらに、菌株ごとの被験物質の用量と復帰変異コロニー数の用量-反応曲線を図示した。

11.13. 判定基準

用量あたりの復帰変異コロニー数(平均値)が背景データの陰性対照値の変動範囲の上限を超え、かつ陰性対照値(平均値)の2倍以上に増加し、その増加に用量反応性が認められた場合に陽性と判定した。

12. 試験結果及び考察

用量設定試験の結果を別表1及び図1に、本試験の結果を別表2及び図2に、確認試験の結果を別表3,4及び図3,4に示した。また、背景データから算出した陰性対照及び陽性対照値の変動範囲を、添付資料に示した。

本被験物質は、代謝活性化非存在下の *S. typhimurium* TA98, TA100 に対して復帰変異コロニー数を用量反応的に増加させ、*S. typhimurium* TA98 では本試験において陰性対照の2倍以上の増加を示した。しかし、用量設定試験及び確認試験では陰性対照の2倍以上の増加は認められず、再現性は得られなかった。その他の菌株については、いずれも復帰変異コロニー数の用量反応的な増加及び陰性対照と比較して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。また、用量設定試験、本試験及び確認試験において、試験結果に再現性も得られた。一方、被験物質の沈殿については、代謝活性化の有無にかかわらずいずれの用量段階においても認められなかった。陽性対照は、代謝活性化の有無にかかわらずすべての菌株に対して、復帰変異コロニー数を陰性対照の2倍以上に増加させた。陰性対照及び陽性対照の平均値は、用量設定試験、本試験及び確認試験のいずれにおいても、背景データから算出した基準値の範囲内であった。無菌試験の結果、雑菌の混入がないことが確認された。これらの結果は、試験が適切に実施されたことを示す。また、試験の信頼性に悪影響をおよぼす疑いのある環境要因についても、なんら認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下において本被験物質の遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定する。

別表1

試験結果表（用量設定試験）

被験物質の名称：5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナール

試験番号

試験実施期間							
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>	TA98	TA1537	
-S9 mix	陰性対照	135 (134) 132	9 (10) 11	25 (24) 22	25 (26) 26	7 (6) 4	
	4.88	142 (133) 123	14 (12) 10	29 (24) 18	26 (26) 26	8 (7) 6	
	19.5	161 (153) 144	10 (10) 10	28 (25) 21	24 (30) 35	6 (5) 4	
	78.1	183 (170) 156	12 (11) 9	34 (34) 34	22 (23) 24	6 (5) 4	
	313	87* (79) 71*	8* (5) 2*	11* (12) 13*	9* (7) 4*	3* (3) 3*	
	1250	0* (0) 0*	0* (0) 0*	0* (0) 0*	0* (0) 0*	0* (0) 0*	
	5000	0* (0) 0*	0* (0) 0*	0* (0) 0*	0* (0) 0*	0* (0) 0*	
+ S9 mix	陰性対照	137 (138) 139	13 (12) 10	30 (30) 30	35 (32) 29	14 (12) 10	
	4.88	124 (134) 144	5 (8) 10	36 (30) 23	28 (34) 39	11 (12) 12	
	19.5	140 (145) 149	11 (9) 7	20 (24) 27	30 (35) 39	14 (15) 15	
	78.1	125 (134) 143	13 (12) 10	35 (35) 34	38 (35) 31	10 (11) 12	
	313	90* (91) 92*	10* (9) 7*	8* (12) 15*	11* (12) 13*	8* (6) 4*	
	1250	0* (0) 0*	0* (0) 0*	4* (6) 8*	1* (1) 0*	0* (0) 0*	
	5000	0* (0) 0*	0* (0) 0*	0* (0) 0*	0* (0) 0*	0* (0) 0*	
陽性対照	S9 mixを必要としないもの	名称	AF-2	AZI	AF-2	AF-2	9AA
		用量 (μg/プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1	80.0
陽性対照	S9 mixを必要とするもの	名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
		用量 (μg/プレート)	1.0	2.0	10.0	0.5	2.0
		コロニー数/プレート	636 (568) 500	551 (530) 509	108 (103) 97	553 (573) 592	300 (295) 290
		コロニー数/プレート	1289 (1318) 1346	436 (424) 412	1093 (1158) 1222	306 (316) 325	231 (225) 219

AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, AZI: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

陰性対照: ジメチルスルホキシド

(): 平均値

*: 生育阻害

別表2

試験結果表（本試験）

被験物質の名称: 5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナール

試験番号

試験実施期間									
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>	TA98	TA1537			
-S9 mix	陰性対照	137 (131) 124	8 (11) 13	32 (29) 26	28 (29) 29	8 (8) 8			
	9.77	115 (122) 128	15 (14) 13	25 (27) 28	24 (30) 35	4 (6) 8			
	19.5	114 (125) 136	9 (10) 10	20 (20) 20	20 (26) 32	5 (6) 6			
	39.1	138 (132) 125	16 (12) 8	26 (26) 25	24 (28) 32	4 (5) 5			
	78.1	130 (144) 157	14 (12) 10	21 (26) 31	29 (30) 31	7 (7) 7			
	156	158 (174) 190	8 (11) 13	45 (37) 28	56 (59) 61	9 (7) 4			
	313	91 * (86) 80 *	0 * (4) 7 *	21 * (25) 28 *	9 * (9) 8 *	5 * (3) 0 *			
	+ S9 mix	陰性対照	139 (140) 140	12 (12) 12	32 (27) 22	35 (35) 34	8 (11) 14		
9.77		140 (138) 135	10 (7) 4	23 (25) 26	31 (33) 34	9 (11) 12			
19.5		138 (135) 132	8 (11) 13	23 (26) 28	31 (32) 33	9 (11) 12			
39.1		129 (137) 144	8 (11) 13	29 (31) 33	26 (30) 33	6 (10) 14			
78.1		142 (144) 146	13 (13) 12	32 (29) 26	29 (33) 37	13 (12) 10			
156		145 (143) 141	11 * (8) 5 *	29 (23) 17	35 (32) 28	8 * (11) 13 *			
313		75 * (74) 72 *	6 * (5) 4 *	18 * (16) 13 *	15 * (15) 14 *	6 * (7) 7 *			
陽性対照		S9 mixを必要としないもの	名称	AF-2	AZI	AF-2	AF-2	9AA	
	用量 (μg/プレート)		0.01	0.5	0.01	0.1	80.0		
	S9 mixを必要とするもの	名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA		
		用量 (μg/プレート)	1.0	2.0	10.0	0.5	2.0		
		コロニー数/プレート	601 (566) 531	558 (548) 537	75 (90) 105	584 (543) 501	203 (225) 247		
		コロニー数/プレート	1215 (1292) 1368	367 (362) 357	1276 (1290) 1304	358 (346) 333	255 (250) 244		

AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, AZI: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

陰性対照: ジメチルスルホキシド

(): 平均値

*: 生育阻害

別表3

試験結果表（確認試験）

被験物質の名称：5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナール

試験番号

試験実施期間							
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>	TA98	TA1537	
-S9 mix	陰性対照	135 (137) 138	11 (12) 12	29 (30) 31	28 (29) 29	4 (6) 8	
	9.77	139 (137) 135	12 (10) 8	27 (30) 32	27 (25) 22	7 (8) 8	
	19.5	141 (138) 135	15 (13) 10	26 (27) 28	20 (19) 18	6 (6) 6	
	39.1	135 (133) 131	6 (10) 14	28 (32) 35	23 (24) 25	5 (5) 5	
	78.1	158 (168) 177	14 (13) 12	23 (27) 31	33 (27) 21	11 (10) 8	
	156	211 (196) 181	7 (8) 9	27 (32) 37	48 (40) 31	3 (4) 5	
	313	87 * (96) 104 *	9 * (9) 8 *	21 * (19) 16 *	18 * (12) 5 *	5 * (5) 5 *	
	+ S9 mix	陰性対照	143 (140) 136	9 (12) 14	44 (37) 29	35 (38) 41	9 (10) 10
9.77		125 (129) 132	8 (8) 7	40 (37) 34	41 (37) 32	11 (12) 13	
19.5		131 (137) 142	12 (12) 11	30 (32) 33	35 (28) 20	14 (10) 6	
39.1		147 (143) 138	10 (8) 5	39 (39) 38	42 (38) 34	10 (10) 10	
78.1		142 (149) 155	6 (8) 9	35 (36) 37	37 (30) 23	11 (11) 10	
156		148 (144) 139	5 * (7) 9 *	34 (35) 36	35 (34) 33	10 * (13) 16 *	
313		121 * (128) 134 *	11 * (9) 7 *	16 * (15) 14 *	16 * (16) 16 *	7 * (9) 10 *	
陽性対照		S9 mixを必要としないもの	名称	AF-2	AZI	AF-2	AF-2
	用量 (μg/プレート)		0.01	0.5	0.01	0.1	80.0
	S9 mixを必要とするもの	名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
		用量 (μg/プレート)	1.0	2.0	10.0	0.5	2.0
		コロニー数/プレート	567 (559) 550	573 (557) 541	99 (99) 98	469 (488) 506	285 (279) 272
		コロニー数/プレート	1323 (1293) 1262	491 (486) 481	1138 (1162) 1185	382 (348) 313	284 (259) 233

AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, AZI: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

陰性対照: ジメチルスルホキシド

(): 平均値

*: 生育阻害

別表4

試験結果表 (確認試験)

被験物質の名称: 5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナール

試験番号

試験実施期間		[Redacted]				
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		TA98		
-S9 mix	陰性対照	129	(137)	21	(19)	
		144		17		
	81.3	136	(147)	35	(37)	
		158		38		
	114	167	(163)	36	(33)	
		158		30		
	159	193	(197)	31	(34)	
	200		37			
	223	174	(183)	17	(18)	
		192		19		
	313	101 *	(97)	10 *	(10)	
		93 *		9 *		
陽性対照	S9 mixを必要としないもの	名称	AF-2		AF-2	
		用量 (µg/プレート)	0.01		0.1	
		コロニー数/プレート	567	(559)	469	(488)
		550		506		

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

陰性対照: ジメチルスルホキシド

(): 平均値

*: 生育阻害

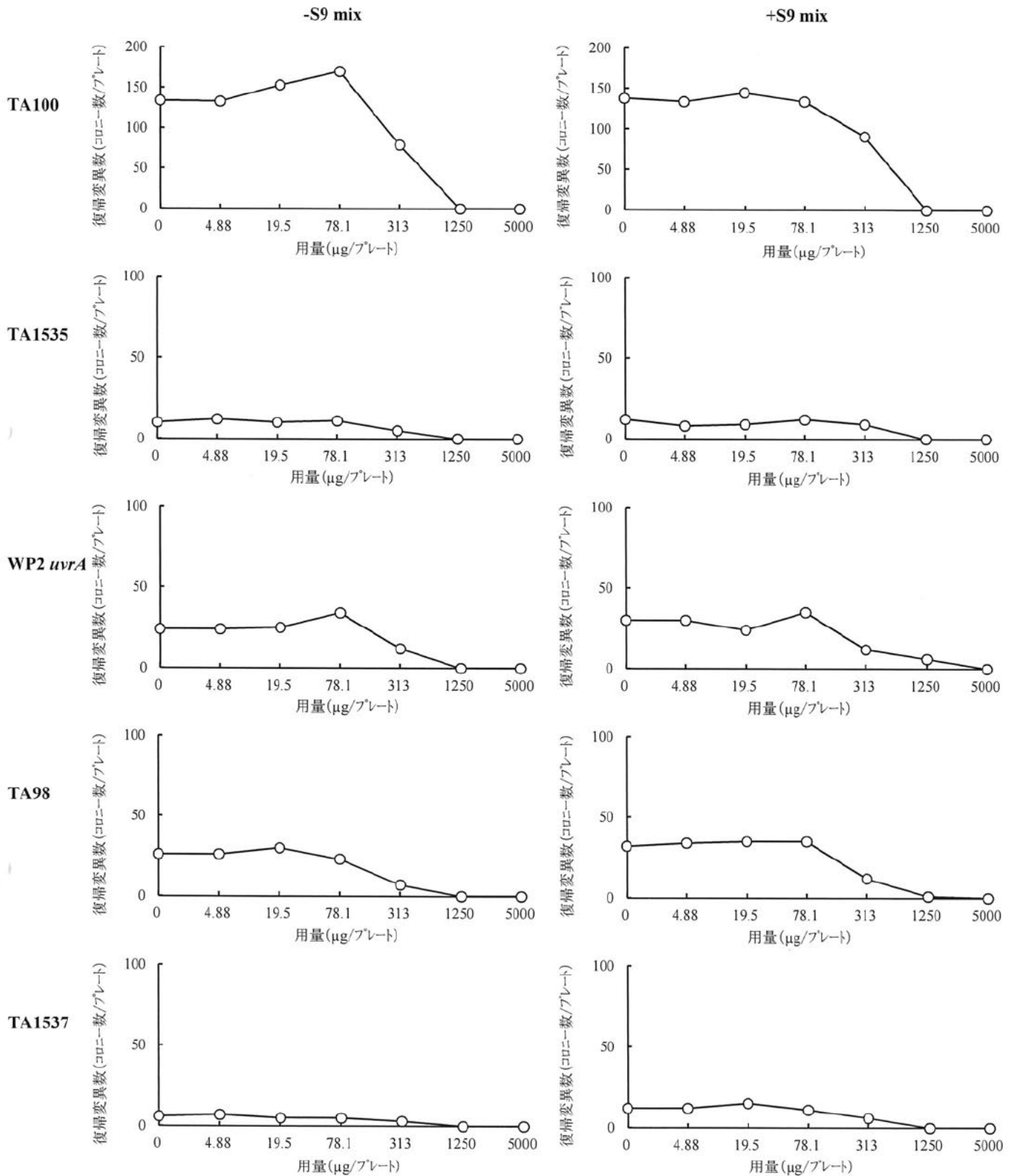


図1 5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナールの試験結果—用量反応曲線(試験番号 [redacted] 用量設定試験)

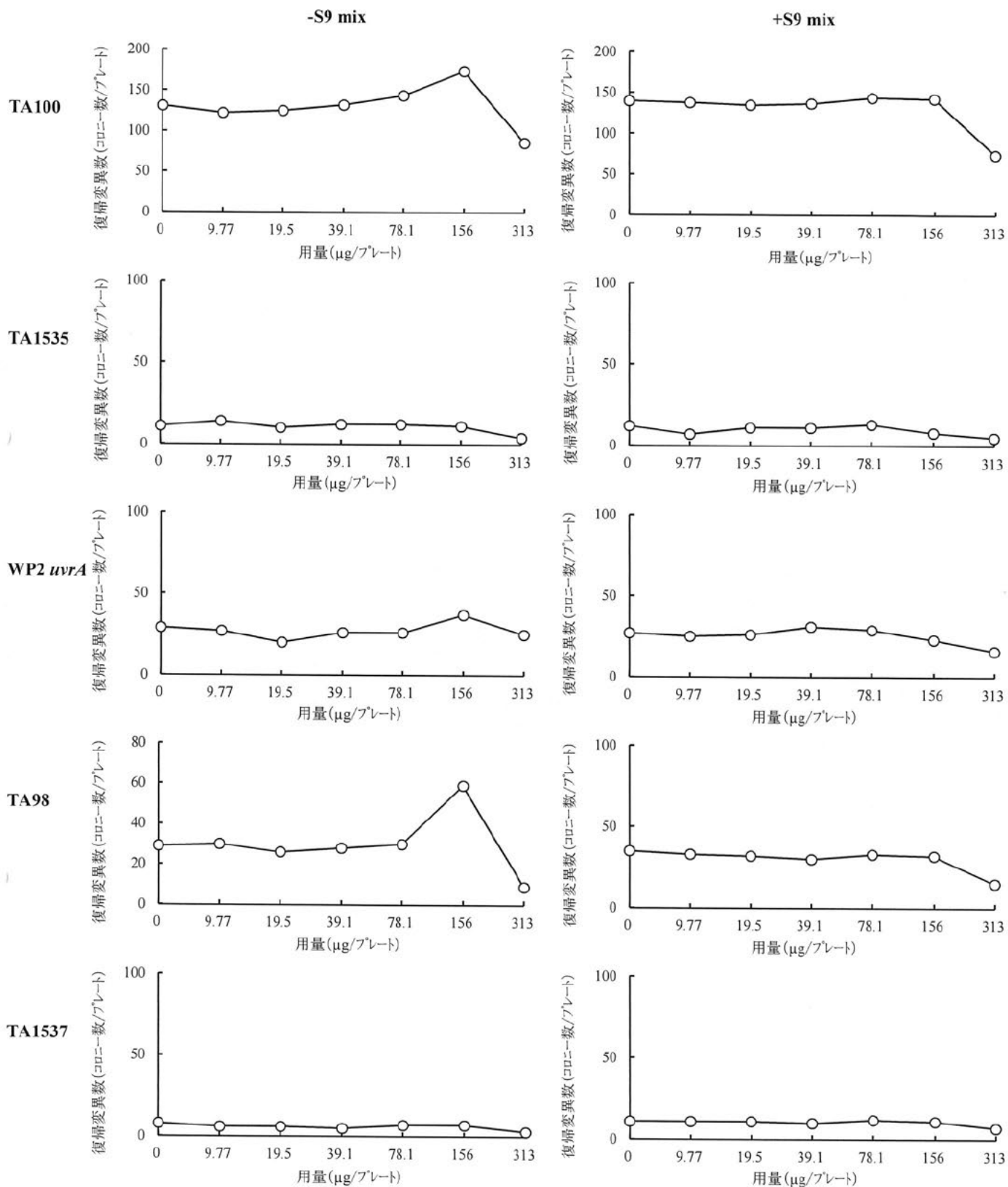


図2 5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナールの試験結果—用量反応曲線(試験番号 [REDACTED], 本試験)

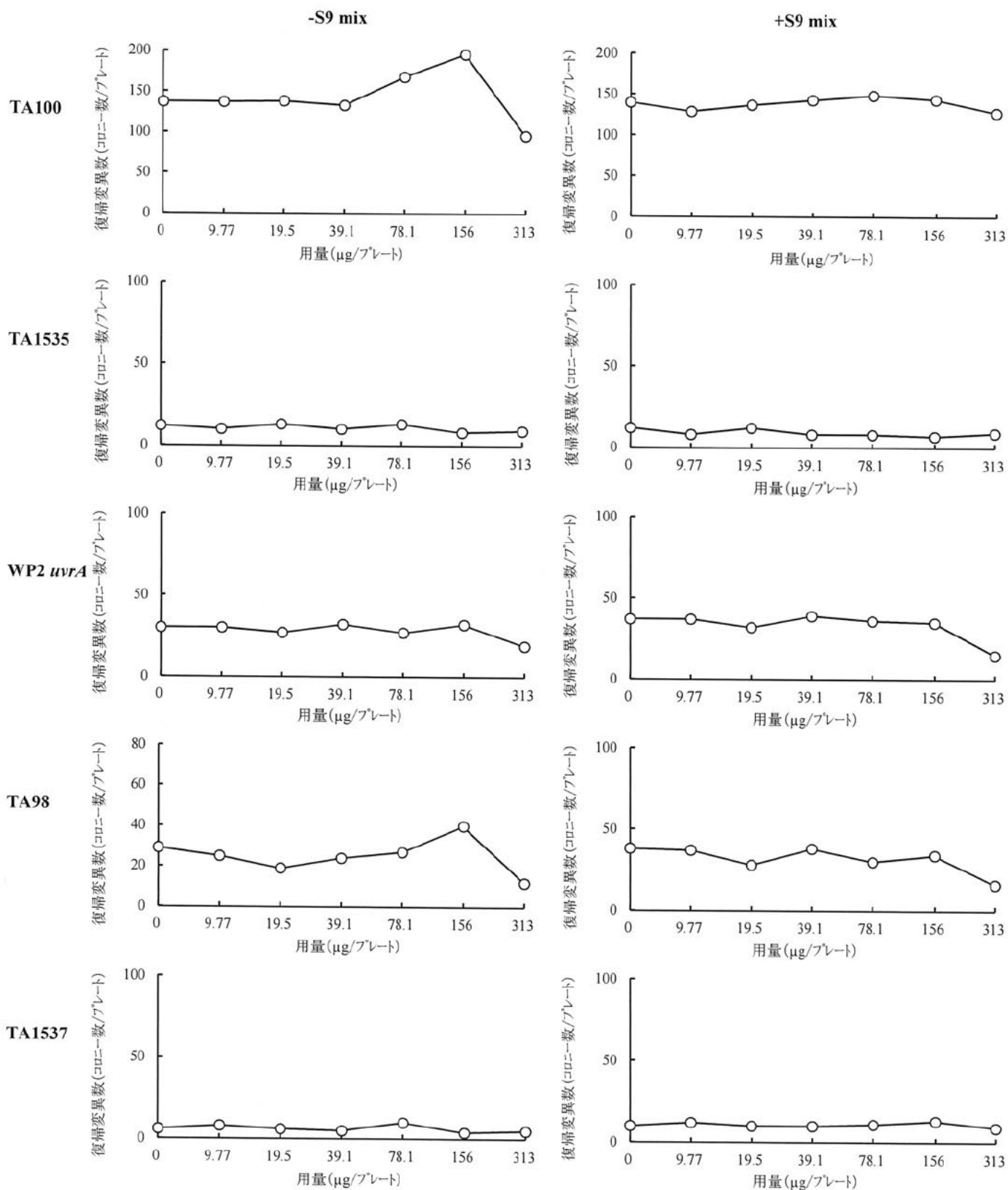


図3 5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナールの試験結果—用量反応曲線(試験番号 [REDACTED] 確認試験)

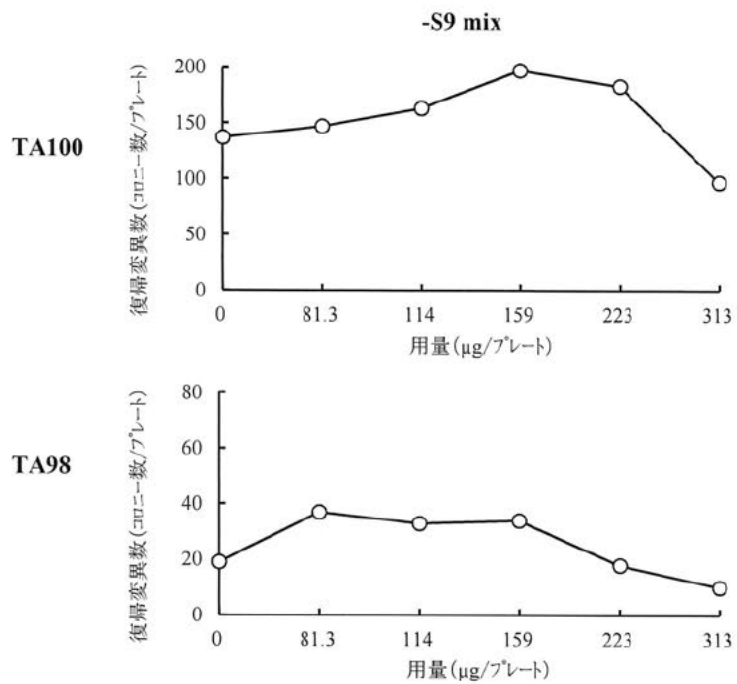


図4 5-メチル-2-フェニル-2-ヘキセナールの試験結果
 一用量反応曲線(試験番号 [REDACTED] 確認試験)

添付資料

陰性対照値及び陽性対照値の背景データから算出した基準値

データ集計期間

陰性対照値

菌株名	S9 mix	背景データ					変動範囲
		データ数	最小値	最大値	平均値	標準偏差	
TA100	—	807	80	161	117	10.4	86-148
	+	797	84	186	129	10.3	98-160
TA1535	—	734	6	19	10	1.9	4-16
	+	709	4	30	10	2.0	4-16
WP2 _{uvrA}	—	717	10	47	21	4.8	7-35
	+	712	12	46	25	5.4	9-41
TA98	—	804	12	33	20	3.5	10-31
	+	916	16	52	28	4.3	15-41
TA1537	—	728	3	13	7	1.5	3-12
	+	714	5	23	10	2.6	2-18

陽性対照値

菌株名	陽性対照物質及び用量 ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	S9 mix	背景データ					変動範囲
			データ数	最小値	最大値	平均値	標準偏差	
TA100	AF-2:0.01	—	545	332	814	492	84.3	239-745
	2AA:1.0	+	534	436	1515	935	181.1	392-1478
TA1535	AZI:0.5	—	524	103	574	411	75.6	184-638
	2AA:2.0	+	504	71	468	276	73.4	56-496
WP2 _{uvrA}	AF-2:0.01	—	506	65	246	100	24.0	65-172
	2AA:10.0	+	497	176	1272	559	267.4	176-1361
TA98	AF-2:0.1	—	543	228	746	420	69.3	212-628
	2AA:0.5	+	553	142	645	302	52.0	146-458
TA1537	9AA:80.0	—	520	149	824	448	137.1	37-859
	2AA:2.0	+	506	70	437	218	56.7	48-338

菌株ごとに平均値(M)及び標準偏差(S.D.)を算出し、変動範囲($M \pm 3S.D.$)を設定した。変動範囲の下限値が0以下になった場合は、背景データのコロニー数の最小値を下限値とした。陽性対照値の変動範囲の下限値が陰性対照の変動範囲の上限以下になった場合は、陽性対照値の最小値を下限値とした。