

投与試験結果の内、肝酵素である GOT、GPT、 γ -GPT のいずれかに変化が見られた化合物を陽性 [44 物質]として、このモジュールの評価を行った。

3-3-1. 結果及び考察

既存化学物質について信頼性を検討した結果を表 1 1 に示す。Sensitivity について 2.4%と非常

に低い値となり、ほとんど使用に耐えられない結果が判明した。このことはモジュールの元となるデータがヒトの結果を元に行っていることに起因していると考えられるので、今後は動物実験の結果を再度収集してデータベースを構築しモジュールを作製したい。

表 1 1. 肝酵素陽性の推測結果[FDA の結果を元にモジュールを作製した場合]

		MultiCase					
		+	-	判定不能	77.7%	(Concordance)	
試験結果	+	44	1	41	2	2.4%	(Sensitivity)
	-	172	4	156	12	97.5%	(Specificity)
					216	93.5%	(Applicability)

3-4. AWorks における肝毒性のモジュールの開発

3-4-1. 方法

Aworks の肝毒性のモジュール開発に当たって、既存の反復投与試験結果を基に作成したデータベースから肝酵素の GOT および GPT の上昇が見られた場合を判定するモジュールを 3 種作成した (DF1, SVM1, TILSQ_2)。この 3 つモジュールに対して既存化学物質について信頼性を検討した。

定結果が 2 つ以上同じ場合にその結果を最終予測結果とした。Sensitivity は 37.2%、Concordance は 65.4% と低い値を示しており、現段階では使用に耐えられないことが判明した。今後、このモジュールの元となるデータを精査して、さらにデータを追加して精度向上を行いたいと考えている。

3-4-2. 結果及び考察

下記に既存化学物質について信頼性を検討した結果を表 12 に示す。判定は各モジュールの判

表 1 2. 肝酵素陽性[反復投与試験の結果を元にモジュールを作製した場合]

		Aworks					
		+	-	判定不能	65.7%	(Concordance)	
試験結果	+	44	16	27	1	37.9%	(Sensitivity)
	-	172	45	120	7	72.7%	(Specificity)
					216	96.3%	(Applicability)

4. AMES 試験における QSAR 精度向上の為の予備的検討

4-1. 始めに

現在、AMES 試験の(Q)SAR モデルの信頼性はほぼ使用に耐えうる状態まで向上しているが、異

性体に対する信頼性に関しては確認をしていない。本年度は下記の 4 物質について実試験を行い、(Q)SAR モデルの予測結果と比較した。

4-2. 方法

4-2-1. 被験物質

2,α-Dichlorotoluene、3,α-Dichlorotoluene、
3-Chlorobenzoyl chloride および 2-Chlorobenzoyl

chloride の4種類の化合物を被験物質とした。いずれも試薬として市販されているものを使用した。表13に純度、購入先等を示す。

表13. 被験物質

被験物質名	CAS No.	純度	比重	Lot No.	購入先
2,α-Dichlorotoluene	611-19-8	>98.0%(GC*)	1.28	AGM01	東京化成工業
3,α-Dichlorotoluene	620-20-2	>95.0%(GC)	1.27	FGI01	東京化成工業
3-Chlorobenzoyl chloride	618-46-2	>98.0%(T**)	1.37	AX01	東京化成工業
2-Chlorobenzoyl chloride	609-65-4	>95.0%(T)	1.38	GK01	東京化成工業

* : by Gas Chromatography

** : by Titrimetric Analysis

4-2-2. 試薬

変異原性試験用培地 (テスメディア AN) : オリエンタル酵母工業(株)製、Bacto Agar : Difco 社製、Nutrient Broth No.2 : Oxoid 社製、ジメチルスルホオキサイド (蛍光分析用、以下 DMSO) : ㈱同仁化学研究所製、Cofactor-α : オリエンタル酵母工業(株)製、S9 : キッコーマン(株)製、9-アミノアクリジン : Aldrich chemical Co., Inc. 製を使用し、その他の試薬は、すべて和光純薬工業(株)製の特級試薬を使用した。

4-2-3. 試験溶液の調製

各被験物質を試験用量に応じて DMSO にそれぞれ溶解または懸濁したものを各試験溶液とした。

4-2-4. 試験菌株

Salmonella typhimurium TA100、*Salmonella typhimurium* TA1535、*Salmonella typhimurium* TA98、*Salmonella typhimurium* TA1537 および *Escherichia coli* WP2uvrA/pKM101 (以下それぞれ TA100、TA1535、TA98、TA1537 および WP2uvrA/pKM101) の5種類の菌株を使用した。

4-2-5. 変異原性試験

試験は「新・微生物を用いる変異原性試験ガイドブック」¹⁾に準じ、37℃、20分間のプレインキュベーション法を用いて行った。

被験物質の最適用量を決めるため、プレート当たり 5 mg を最高用量として公比 5 で希釈し、6段階の用量について用量設定試験を行った。その結果、試験菌株に対する生育阻害が確認された場合には生育阻害を示す用量を、生育阻害が確認されなかった場合にはプレート当たり 5 mg を最高用量として公比 2 で希釈し、6段階の用量について本試験を行った。また必要に応じて試験結果確認のための確認試験を実施した。各試験とも用量毎に2プレートを使用し、溶媒対照は5プレートを、陽性対照は2プレートを使用した。

プレインキュベーション法 : 試験溶液 100μl を滅菌試験管に分注し、これに Na-リン酸緩衝液 500μl (または S9 mix 500μl) および前培養した菌懸濁液 100μl を順次加え、37℃で20分間プレインキュベーションした。その後、L-ヒスチジン 0.05mM および D-ビオチン 0.05mM、または L-トリプトファン 0.05mM を含むソフトアガーを 2 ml 加えて混合した。これを最少グルコース寒天平板培地に注いで一様に広げ、37℃で48時間インキュベーションし、得られたプレート上の復帰変異コロニー数を計数した。

4-2-6. S9 および S9 mix

S9 はフェノバルビタールおよび5,6-ベンゾフラボンで酵素誘導した Sprague-Dawley ラットの肝臓から調製したものを、1プレート当たり 50μl

使用した。

S9 mix は Cofactor-I を蒸留水に溶解し、ろ過除菌 (MILLEX-HV 0.45 μ m : MILLIPORE) 後、S9 を加えた。S9 mix 1ml 中に S9 : 100 μ l、MgCl₂ · 6H₂O : 8 μ mol、KCl : 33 μ mol、G-6-P : 5 μ mol、NADHP : 4 μ mol、NADH : 4 μ mol、Na₂HPO₄ : 84.2 μ mol、NaH₂PO₄ · 2H₂O : 15.8 μ mol になるように調製した。

4-2-7. 試験結果の判定法

1 種類以上の試験菌株に対し、1 用量における復帰変異コロニー数の平均値が溶媒対照の 2 倍以上を示し、用量依存性が認められたものを陽性、それ以外を陰性とした。ただし、平均値が溶媒対照の 1.5 倍以上 2 倍未満の場合など、再試験が必要と思われる場合には確認試験を行った。複数回の試験において判定結果が異なる場合には当該濃度における平均値および量-反応曲線から適宜判断した。

4-3. 結果及び考察

4-3-1. 1. 2, α -Dichlorotoluene

用量設定試験(表 14) : 5 菌株すべてにおいて、-S9 mix および+S9 mix のいずれの条件下においても (以下 \pm S9 mix) 各用量の平均値は溶媒対照の 1.5 倍未満であった。なお、すべて菌株において \pm S9 mix で、200 μ g/プレート以上の用量で細胞毒性が確認された。

本試験(表 15) : S9 mix 添加条件下 (以下+S9 mix) で TA100 は 50 μ g/プレートの用量で、WP2uvrA/pKM101 は 100 μ g/プレートの用量で、ともに溶媒対照の 1.7 倍 (以下溶媒対照に対する最大倍率を、カッコ内にその時の用量を記載) の復帰変異コロニー数を示し、用量依存性も認められた。また、WP2uvrA/pKM101 は S9 mix 無添加条件下 (以下-S9 mix) においても、溶媒対照の 1.5 倍未満ながら、用量依存的な復帰変異コロニー数の増加を示した。これら以外の試験条件における各用量の平均値は溶媒対照の 1.5 倍未満であった。

確認試験(表 16) : TA100 および

WP2uvrA/pKM101 に対し \pm S9 mix で、用量を公差 25 μ g/プレートとして確認試験を行った。その結果、TA100 は-S9 mix ではすべての用量において溶媒対照の 1.5 倍未満であった。+S9 mix では溶媒対照の 1.5 倍 (100 μ g/プレート) を示し、用量依存的な復帰変異コロニー数の増加を示した。

WP2uvrA/pKM101 は-S9 mix で溶媒対照の 1.6 倍 (125 μ g/プレート)、+S9 mix で 1.7 倍 (100 μ g/プレート) を示し、いずれも用量依存的な復帰変異コロニー数の増加を示した。しかし、本試験と同様、すべて溶媒対照の 2 倍未満であった。

以上の結果から、2, α -Dichlorotoluene の細菌に対する変異原性は陰性とした。

4-3-2. 3, α -Dichlorotoluene

用量設定試験(表 17) : 5 菌株すべてにおいて、 \pm S9 mix で各用量の平均値は溶媒対照の 1.5 倍未満であった。なお、すべて菌株において、200 μ g/プレート以上の用量では \pm S9 mix で細胞毒性が確認された。

本試験(表 18) : 5 菌株すべてにおいて、 \pm S9 mix で各用量の平均値は溶媒対照の 1.5 倍未満であった。

確認試験(表 19) : 用量設定試験および本試験において-S9 mix で WP2uvrA/pKM101 に対し、+S9 mix で TA100 および WP2uvrA/pKM101 に対し、いずれも溶媒対照の 1.5 倍未満ではあったが、わずかに用量依存的な復帰変異コロニー数の増加傾向を示した。そこで、これら 2 菌株に対し \pm S9 mix で、用量を公差 25 μ g/プレートとして確認試験(表 19)を行った。その結果、TA100 では \pm S9 mix で復帰変異コロニー数の増加は示さなかった。一方、WP2uvrA/pKM101 では本試験と同様に、 \pm S9 mix で用量依存的な復帰変異コロニー数の増加を示した。しかし、いずれも溶媒対照の 1.5 倍未満であった。

以上の結果から、3, α -Dichlorotoluene の細菌に対する変異原性は陰性とした。

4-3-3. 3-Chlorobenzoyl chloride

用量設定試験(表 20) : -S9 mix では WP2uvrA/pKM101 が 2.5 倍 (200 μ g/プレート) を示し、用量依存性も認められた。また、TA100 は 1.9 倍 (200 μ g/プレート) を示した。+S9 mix では TA100 が 3.0 倍 (1000 μ g/プレート) 、 WP2uvrA/pKM101 が 3.8 倍 (1000 μ g/プレート) を示し、用量依存性も認められた。また、TA1535 は 1.8 倍 (1000 μ g/プレート) を示した。これら以外の試験条件における各用量の平均値は溶媒対照の 1.5 倍未満であった。なお、-S9 mix ではすべて菌株において 1000 μ g/プレートの用量で細胞毒性が確認された。+S9 mix では TA100、TA98 および TA1537 は 1000 μ g/プレート以上の用量で、WP2uvrA/pKM101 および TA1535 は 5000 μ g/プレートの用量で細胞毒性が確認された。また、5000 μ g/プレートにおいてプレート上に沈殿物が生じたが、判定に影響はなかった。

本試験(表 21) : -S9 mix では TA100 が 2.2 倍 (250 μ g/プレート) 、 WP2uvrA/pKM101 が 2.4 倍 (250 μ g/プレート) を示し、ともに用量依存性も認められた。また、TA98 は 1.9 倍 (250 μ g/プレート) を示した。+S9 mix では TA100 が 5.8 倍 (500 μ g/プレート) 、 WP2uvrA/pKM101 が 4.2 倍 (1000 μ g/プレート) および TA98 が 2.7 倍 (500 μ g/プレート) を示し、それぞれ用量依存性も認められた。また、TA1535 は 1.7 倍 (500 μ g/プレート) を示した。これら以外の試験条件における各用量の平均値は溶媒対照の 1.5 倍未満であった。

確認試験-1(表 22) : TA1537 を除く 4 菌株について ±S9 mix で確認試験を行った。その結果、-S9 mix では WP2uvrA/pKM101 だけが 2.0 倍 (250 μ g/プレート) を示し、用量依存性も認められた。TA98 は 1.5 倍 (250 μ g/プレート) で、TA1535 は 1.5 倍未満であった。これら 3 菌株においては本試験と同様の結果が得られた。しかし、TA100 は 1.6 倍 (250 μ g/プレート) となり、2 倍以上を示した本試験の結果とは異なっていた。+S9 mix では TA100 が 8.2 倍 (1000 μ g/プレート) 、 WP2uvrA/pKM101 が 4.4 倍 (1000 μ g/プレート) および TA98 が 3.4 倍 (1000 μ g/プレート) を示し、

それぞれ用量依存性も認められ、本試験と同様の結果が得られた。しかし、本試験では 2 倍未満であった TA1535 は 3.1 倍 (1000 μ g/プレート) を示し、用量依存性も認められ本試験とは異なる結果となった。

確認試験-2(表 23) : 用量設定試験、本試験 および確認試験において結果の異なった TA100 (-S9 mix) および TA1535 (+S9 mix) に対し再度確認試験を行った。また、確認試験で 2.0 倍 (250 μ g/プレート) であった WP2uvrA/pKM101 (-S9 mix) に対しても再度確認試験を行った。その結果、WP2uvrA/pKM101 (-S9 mix) は 2.3 倍 (250 μ g/プレート) でこれまでの試験と同様の結果が得られた。しかし、TA100 (-S9 mix) は 1.5 倍 (250 μ g/プレート) 、 TA1535 (+S9 mix) は 1.6 倍 (1000 μ g/プレート) であった。これらの各々について、4 回の試験結果を平均すると、両者ともすべての用量において 2 倍未満となった。

以上の結果から、3-Chlorobenzoyl chloride の細菌に対する変異原性は -S9 mix で WP2uvrA/pKM101 に対し、+S9 mix では TA100、 WP2uvrA/pKM101 および TA98 に対し陽性であった。図 1-1 ~ 6-3 に各試験条件における用量-反応曲線を示した。

4-3-4. 2-Chlorobenzoyl chlorid

用量設定試験(表 24) : -S9 mix では TA100 が 2.1 倍 (1000 μ g/プレート) 、 WP2uvrA/pKM101 が 2.4 倍 (200 μ g/プレート) を示し、用量依存性も認められた。+S9 mix では TA100 が 5.0 倍 (1000 μ g/プレート) 、 WP2uvrA/pKM101 が 3.4 倍 (1000 μ g/プレート) を示し、用量依存性も認められた。また、TA1535 は 1.6 倍 (1000 μ g/プレート) 、 TA98 は 1.7 倍 (1000 μ g/プレート) の復帰変異コロニー数を示した。これら以外の試験条件における各用量の平均値は溶媒対照の 1.5 倍未満であった。なお、-S9 mix では TA1535、TA98 および TA1537 は 1000 μ g/プレート以上の用量で、TA100 および WP2uvrA/pKM101 は 5000 μ g/プレートの用量で細胞毒性が確認された。+S9 mix では TA1537 は

1000 μ g/プレート以上の用量で、それ以外の菌株は5000 μ g/プレートの用量で細胞毒性が確認された。また、5000 μ g/プレートにおいてプレート上に沈殿物が生じたが、判定に影響はなかった。

本試験(表 25) : -S9 mix では TA100 が 3.2 倍 (500 μ g/プレート) 、 WP2uvrA/pKM101 が 2.5 倍 (125 μ g/プレート) および TA98 が 2.2 倍 (250 および 500 μ g/プレート) を示し、それぞれ用量依存性も認められた。+S9 mix では TA100 が 5.4 倍 (500 μ g/プレート) 、 WP2uvrA/pKM101 が 3.4 倍 (1000 μ g/プレート) および TA98 が 2.7 倍 (500 μ g/プレート) を示し、それぞれ用量依存性も認められた。また、TA1535 が 1.6 倍 (1000 μ g/プレート) を示した。これら以外の試験条件における各用量の平均値は溶媒対照の 1.5 倍未満であった。

確認試験(表 26) : TA1537 を除く 4 菌株について \pm S9 mix で確認試験を行った。その結果、-S9 mix では TA100 が 3.9 倍 (500 μ g/プレート) 、 WP2uvrA/pKM101 が 2.9 倍 (500 μ g/プレート) および TA98 が 2.1 倍 (375 μ g/プレート) を示し、それぞれ用量依存性も認められ、いずれも本試験と同様の結果が得られた。+S9 mix では TA100 が 6.9 倍 (1000 μ g/プレート) 、 WP2uvrA/pKM101 が 3.3 倍 (1000 μ g/プレート) および TA98 が 3.5 倍 (750 μ g/プレート) を示し、それぞれ用量依存性も認められた。TA1535 は 1.98 倍 (750 μ g/プレート) で 2 倍未満であった。いずれも本試験と同様の結果であった。

以上の結果から、2-Chlorobenzoyl chloride の細菌に対する変異原性は S9 mix の有無にかかわらず TA100、WP2uvrA/pKM101 および TA98 に対し陽性であった。図 7-1 ~12-3 に各試験条件にお

ける用量-反応曲線を示した。

表 27 に各被験物質の変異原性試験結果を示した。

なお、試験に使用した 5 種類の菌株は、いずれも各菌株の特性を保持しており、陰性対照および陽性対照に対する復帰変異コロニー数もすべての試験で適正な範囲であった。

4-3-5. (Q)SAR モデルとの比較

AMES 試験の(Q)SAR モデルの予測と実試験結果の比較を表 28 に示す。実試験では dichlorotoluene が共に陰性、Chlorobenzoyl chloride も共に陽性結果であった。(Q)SAR モデルの予測結果では、dichlorotoluene の場合、DEREK が共に陽性、MCASE が共に陰性、AWorks が陽性と陰性予測結果を示した。Chlorobenzoyl chloride では DEREK、MCASE とともに全て陽性を示したが、AWorks は陰性・陽性と異なった結果が見られた。

4-3-6. まとめ

Dichlorotoluene では、DEREK が実試験陰性に対して陽性結果が見られ、Alert027 の Alkylating agent の為に陽性となっている。今後はこのような例を集積して Alert の改良を行う必要がある。また、AWorks では相反する結果が見られていることから、構造異性体についての相関式を考慮したモジュールの開発が必要と考えられた。

表14. 2,α-Dichlorotoluene (CAS No. [611-19-8])の試験結果 (用量設定試験)

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		WP2uvrA/pKM101		TA98		TA1537						
S9 mix (-)	陰性対照 (溶媒対照)	103	100	109	10	9	10	114	120	112	18	20	17	13	22	10
		112	97	(104)	7	12	(10)	139	103	(118)	22	20	(19)	7	17	(14)
	1.6	107			11			142			20			10		
		100		(104)	9		(10)	106		(124)	18		(19)	10		(10)
	8	107			9			110			17			12		
		114		(111)	9		(9)	127		(119)	17		(17)	18		(15)
	40	131			13			156			15			20		
		122		(127)	13		(13)	160		(158)	18		(17)	10		(15)
200	55 *			3 *			54 *			10 *			6 *			
	78 *		(67)	8 *		(6)	100 *		(77)	12 *		(11)	2 *		(4)	
1000	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 (溶媒対照)	110	99	117	11	15	13	144	148	161	27	22	26	20	13	19
		102	115	(109)	13	13	(13)	139	150	(148)	30	26	(26)	19	25	(19)
	1.6	98			15			153			31			17		
		111		(105)	12		(14)	129		(141)	23		(27)	13		(15)
	8	111			13			144			26			13		
		114		(113)	11		(12)	140		(142)	26		(26)	17		(15)
	40	143			17			207			26			17		
		128		(136)	12		(15)	184		(196)	20		(23)	14		(16)
200	66 *			3 *			122 *			11 *			11 *			
	45 *		(56)	7 *		(5)	106 *		(114)	17 *		(14)	8 *		(10)	
1000	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)	
陽性対照	名称	AF-2		NaN ₃		AF-2		AF-2		9AA						
	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	538		254		973		478		233						
		477		276		1206		439		222						
		(508)		(265)		(1090)		(459)		(228)						
	試験実施期間	'07.2.2~'07.2.5		'07.2.2~'07.2.5		'07.2.2~'07.2.5		'07.2.2~'07.2.5		'07.2.2~'07.2.5						
	名称	2AA		2AA		2AA		2AA		2AA						
	用量(μg/プレート)	1		2		2		0.5		2						
コロニー数/プレート	876		276		1049		512		387							
	833		319		1083		468		404							
	(855)		(298)		(1066)		(490)		(396)							
試験実施期間	'07.2.2~'07.2.5		'07.2.2~'07.2.5		'07.2.2~'07.2.5		'07.2.2~'07.2.5		'07.2.2~'07.2.5							

[備考]

1. 菌の生育阻害が認められる場合は、該当する数値の右に*印を付した。
2. 復帰変異数は各プレートのコロニー数の実測値を記入し、()内にはその平均値を記入した。ただし(###)の欄は未試験。
3. プレート上に沈殿物が析出した場合は、その用量に\$印を付した。
4. 被験物質の復帰変異数が該当する菌株の陰性対照の平均値の2倍以上になった場合、その数値に ■印を付した。
5. 陽性対照物質の名称、AF-2:2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN₃:ナトリウム・アジド、9AA:9-アミノアクリジン、2AA:2-アミノアントラセン

表15. 2, α -Dichlorotoluene (CAS No. [611-19-8])の試験結果 (本試験)

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/pKM101		TA98		TA1537						
S9 mix (-)	陰性対照 (溶媒対照)	115	111	113	10	13	10	142	146	131	17	20	19	15	6	11
		104	122	(113)	8	7	(10)	117	127	(133)	19	22	(19)	11	10	(11)
	6.3	102			11			88			13			11		
		112		(107)	10		(11)	129		(109)	18		(16)	12		(12)
	12.5	119			8			165			18			11		
		129		(124)	8		(8)	136		(151)	15		(17)	5		(8)
	25	119			10			179			20			7		
	114		(117)	5		(8)	151		(165)	18		(19)	11		(9)	
50	143			11			189			23			15			
	116		(130)	13		(12)	181		(185)	18		(21)	15		(15)	
100	102			13			199			21			13			
	125		(114)	11		(12)	144		(172)	23		(22)	10		(12)	
200	60 *			6 *			0 *			11 *			5 *			
	71 *		(66)	12		(9)	2 *		(1)	14 *		(13)	4 *		(5)	
S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	90	95	95	14	9	12	149	167	151	28	28	29	22	17	18
		95	90	(93)	14	10	(12)	162	154	(157)	24	28	(27)	13	23	(19)
	6.3	87			14			166			26			13		
		91		(89)	10		(12)	159		(163)	25		(26)	15		(14)
	12.5	113			14			150			28			13		
		111		(112)	13		(14)	176		(163)	24		(26)	13		(13)
	25	102			16			168			18			18		
	113		(108)	9		(13)	203		(186)	23		(21)	18		(18)	
50	155			7			204			30			13			
	154		(155)	13		(10)	200		(202)	22		(26)	12		(13)	
100	153			8			274			28			22			
	122		(138)	10		(9)	270		(272)	22		(25)	19		(21)	
200	47 *			12			117			11 *			7 *			
	40 *		(44)	7 *		(10)	112		(115)	16 *		(14)	9 *		(8)	
陽性対照	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		0.005		0.1		80						
	コロニー数/ プレート	383		226		1160		436		209						
		457		(420)	243		(235)	1182		(1171)	472		(454)	236		(223)
	試験実施期間	'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13						
	名称	2AA		2AA		2AA		2AA		2AA						
用量($\mu\text{g}/\text{プレート}$)	1		2		2		0.5		2							
コロニー数/ プレート	746		324		1349		279		436							
	832		(789)	311		(318)	1446		(1398)	311		(295)	436		(436)	
試験実施期間	'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13							

【備考】

1. 菌の生育阻害が認められる場合は、該当する数値の右に*印を付した。
2. 復帰変異数は各プレートのコロニー数の実測値を記入し、()内にはその平均値を記入した。ただし(####)の欄は未試験。
3. プレート上に沈殿物が析出した場合は、その用量に\$印を付した。
4. 被験物質の復帰変異数が該当する菌株の陰性対照の平均値の2倍以上になった場合、その数値に ☒印を付した。
5. 陽性対照物質の名称、AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN₃: ナトリウム・アジド、9AA: 9-アミノアクリジン、2AA: 2-アミノアントラセン

表16. 2, α -Dichlorotoluene (CAS No. [611-19-8])の試験結果 (確認試験)

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	WP2uvrA/pKM101	TA98	TA1537
S9 mix (-)	陰性対照 (溶媒対照)	92 77 92 83 93 (87)	(#####)	133 129 126 135 144 (133)	()	()
	25	94 103 (99)	()	()	()	()
	50	108 132 (120)	()	166 197 (182)	()	()
	75	105 96 (101)	()	165 217 (191)	()	()
	100	93 120 (107)	()	169 223 (196)	()	()
	125	74 62 (68)	()	203 214 (209)	()	()
	150	83 74 (79)	()	189 179 (184)	()	()
	175	()	()	145 156 (151)	()	()
	200	()	()	170 117 * (144)	()	()
	S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	81 102 93 87 87 (90)	()	153 158 151 175 148 (157)	()
25		117 98 (108)	()	()	()	()
50		123 96 (110)	()	202 193 (198)	()	()
75		122 108 (115)	()	246 221 (234)	()	()
100		135 141 (138)	()	265 275 (270)	()	()
150		123 122 (123)	()	239 184 (212)	()	()
175		()	()	279 232 (256)	()	()
200		()	()	124 118 (121)	()	()
陽性対照	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	9AA
	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	488 563 (526)	()	809 710 (760)	()	()
	試験実施期間	'07.2.16~'07.2.19		'07.2.16~'07.2.19		
	名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
	用量(μg /プレート)	1	2	2	0.5	2
	コロニー数/ プレート	1035 1036 (1036)	()	773 854 (814)	()	()
	試験実施期間	'07.2.16~'07.2.19		'07.2.16~'07.2.19		

【備考】

1. 菌の生育阻害が認められる場合は、該当する数値の右に*印を付した。
2. 復帰変異数は各プレートのコロニー数の実測値を記入し、()内にはその平均値を記入した。ただし(#####)の欄は未試験。
3. プレート上に沈殿物が析出した場合は、その用量に\$印を付した。
4. 被験物質の復帰変異数が該当する菌株の陰性対照の平均値の2倍以上になった場合、その数値に\$印を付した。
5. 陽性対照物質の名称、AF-2:2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN₃:ナトリウム・アジド、9AA:9-アミノアクリジン、2AA:2-アミノアントラセン

表17. 3, α -Dichlorotoluene (CAS No. [620-20-2])の試験結果 (用量設定試験)

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			WP2uvrA/pKM101			TA98			TA1537		
S9 mix (-)	陰性対照 (溶媒対照)	103	100	109	10	9	10	114	120	112	18	20	17	13	22	10
		112	97	(104)	7	12	(10)	139	103	(118)	22	20	(19)	7	17	(14)
	1.6	103			12			118			23			10		
		103		(103)	11		(12)	127		(123)	20		(22)	8		(9)
	8	108			10			107			31			14		
		99		(104)	10		(10)	132		(120)	20		(26)	18		(16)
	40	113			10			138			18			20		
	104		(109)	9		(10)	144		(141)	24		(21)	12		(16)	
200	38 *			3 *			18 *			10 *			6 *			
	51 *		(45)	7 *		(5)	59 *		(39)	2 *		(6)	4 *		(5)	
1000	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 (溶媒対照)	110	99	117	11	15	13	144	148	161	27	22	26	20	13	19
		102	115	(109)	13	13	(13)	139	150	(148)	30	26	(26)	19	25	(19)
	1.6	111			15			129			28			22		
		105		(108)	13		(14)	155		(142)	22		(25)	15		(19)
	8	128			17			153			27			19		
		106		(117)	12		(15)	140		(147)	24		(26)	26		(23)
	40	123			10			169			32			18		
	117		(120)	17		(14)	180		(175)	26		(29)	19		(19)	
200	38 *			7 *			113			11 *			3 *			
	27 *		(33)	5 *		(6)	88 *		(101)	6 *		(9)	8 *		(6)	
1000	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)	
陽性対照	名称	AF-2			NaN ₃			AF-2			AF-2			9AA		
	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	538			254			973			478			233		
		477		(508)	276		(265)	1206		(1090)	439		(459)	222		(228)
	試験実施期間	'07.2.2~'07.2.5			'07.2.2~'07.2.5			'07.2.2~'07.2.5			'07.2.2~'07.2.5			'07.2.2~'07.2.5		
	名称	2AA			2AA			2AA			2AA			2AA		
	用量(μg /プレート)	1			2			2			0.5			2		
	コロニー数/プレート	876			276			1049			512			387		
		833		(855)	319		(298)	1083		(1066)	468		(490)	404		(396)
	試験実施期間	'07.2.2~'07.2.5			'07.2.2~'07.2.5			'07.2.2~'07.2.5			'07.2.2~'07.2.5			'07.2.2~'07.2.5		

[備考]

1. 菌の生育阻害が認められる場合は、該当する数値の右に*印を付した。
2. 復帰変異数は各プレートのコロニー数の実測値を記入し、()内にはその平均値を記入した。ただし(####)の欄は未試験。
3. プレート上に沈殿物が析出した場合は、その用量に\$印を付した。
4. 被験物質の復帰変異数が該当する菌株の陰性対照の平均値の2倍以上になった場合、その数値に ☒ 印を付した。
5. 陽性対照物質の名称、AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN₃: ナトリウム・アジド、9AA: 9-アミノアクリジン、2AA: 2-アミノアントラセン

表18. 3,α-Dichlorotoluene (CAS No. [620-20-2])の試験結果 (本試験)

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		WP2uvrA/pKM101		TA98		TA1537						
S9 mix (-)	陰性対照 (溶媒対照)	115	111	113	10	13	10	142	146	131	17	20	19	15	6	11
		104	122	(113)	8	7	(10)	117	127	(133)	19	22	(19)	11	10	(11)
	6.3	123			6			142			16			9		
		109		(116)	9		(8)	139		(141)	17		(17)	10		(10)
	12.5	110			13			147			15			8		
		113		(112)	9		(11)	158		(153)	18		(17)	9		(9)
	25	122			14			144			15			9		
		101		(112)	10		(12)	157		(151)	17		(16)	8		(9)
50	102			13			166			16			14			
	99		(101)	9		(11)	189		(178)	24		(20)	8		(11)	
100	90			8			155			12			12			
	102		(96)	11		(10)	120		(138)	16		(14)	5		(9)	
200	78 *			9			0 *			8 *			6 *			
	52 *		(65)	4 *		(7)	0 *		(0)	5 *		(7)	6 *		(6)	
S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	90	95	95	14	9	12	149	167	151	28	28	29	22	17	18
		95	90	(93)	14	10	(12)	162	154	(157)	24	28	(27)	13	23	(19)
	6.3	89			12			174			12			7		
		91		(90)	10		(11)	166		(170)	28		(20)	18		(13)
	12.5	104			13			154			18			17		
		104		(104)	10		(12)	132		(143)	27		(23)	19		(18)
	25	117			8			165			39			13		
		110		(114)	15		(12)	158		(162)	22		(31)	17		(15)
50	114			8			195			22			14			
	129		(122)	10		(9)	169		(182)	22		(22)	19		(17)	
100	114			12			233			33			10			
	125		(120)	13		(13)	192		(213)	32		(33)	14		(12)	
200	31 *			8 *			123			6 *			9 *			
	21 *		(26)	8 *		(8)	72 *		(98)	7 *		(7)	8 *		(9)	
陽性対照	名称	AF-2		NaN ₃		AF-2		AF-2		9AA						
	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	383		226		1160		436		209						
		457	(420)	243	(235)	1182	(1171)	472	(454)	236	(223)					
	試験実施期間	'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13						
	名称	2AA		2AA		2AA		2AA		2AA						
	用量(μg/プレート)	1		2		2		0.5		2						
	コロニー数/プレート	746		324		1349		279		436						
	832	(789)	311	(318)	1446	(1398)	311	(295)	436	(436)						
試験実施期間	'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13							

[備考]

1. 菌の生育阻害が認められる場合は、該当する数値の右に*印を付した。
2. 復帰変異数は各プレートのコロニー数の実測値を記入し、()内にはその平均値を記入した。ただし(###)の欄は未試験。
3. プレート上に沈殿物が析出した場合は、その用量に\$印を付した。
4. 被験物質の復帰変異数が該当する菌株の陰性対照の平均値の2倍以上になった場合、その数値に\$印を付した。
5. 陽性対照物質の名称、AF-2:2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN₃:ナトリウム・アジド、9AA:9-アミノアクリジン、2AA:2-アミノアントラセン

表19. 3,α-Dichlorotoluene (CAS No. [620-20-2])の試験結果 (確認試験)

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	WP2uvrA/pKM101	TA98	TA1537
S9 mix (-)	陰性対照 (溶媒対照)	92 77 92 83 93 (87)	()	133 129 126 135 144 (133)	()	()
	25	89 90 (90)	()	154 158 (156)	()	()
	50	95 92 (94)	()	151 172 (162)	()	()
	75	86 93 (90)	()	185 177 (181)	()	()
	100	86 78 (82)	()	143 143 (143)	()	()
	125	80 66 * (73)	()	121 65 * (93)	()	()
	150	59 * 47 * (53)	()	()	()	()
S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	81 102 93 87 87 (90)	()	153 158 151 175 148 (157)	()	()
	25	94 92 (93)	()	179 186 (183)	()	()
	50	116 98 (107)	()	179 186 (183)	()	()
	75	89 99 (94)	()	193 199 (196)	()	()
	100	93 107 (100)	()	218 210 (214)	()	()
	150	123 101 (112)	()	230 218 (224)	()	()
	175	()	()	158 218 (188)	()	()
200	()	()	191 141 (166)	()	()	
陽性対照	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	9AA
	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	488 563 (526)	()	809 710 (760)	()	()
	試験実施期間	'07.2.16~'07.2.19		'07.2.16~'07.2.19		
	名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
	用量(μg/プレート)	1	2	2	0.5	2
コロニー数/プレート	1035 1036 (1036)	()	773 854 (814)	()	()	
試験実施期間	'07.2.16~'07.2.19		'07.2.16~'07.2.19			

[備考]

1. 菌の生育阻害が認められる場合は、該当する数値の右に*印を付した。
2. 復帰変異数は各プレートのコロニー数の実測値を記入し、()内にはその平均値を記入した。ただし(###)の欄は未試験。
3. プレート上に沈殿物が析出した場合は、その用量に\$印を付した。
4. 被験物質の復帰変異数が該当する菌株の陰性対照の平均値の2倍以上になった場合、その数値に ☒印を付した。
5. 陽性対照物質の名称、AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN₃: ナトリウム・アジド、9AA: 9-アミノアクリジン、2AA: 2-アミノアントラセン

表20. 3-Chlorobenzoyl chloride (CAS No. [618-46-2])の試験結果 (用量設定試験)

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		WP2uvrA/pKM101		TA98		TA1537						
S9 mix (-)	陰性対照 (溶媒対照)	103	100	109	10	9	10	114	120	112	18	20	17	13	22	10
		112	97	(104)	7	12	(10)	139	103	(118)	22	20	(19)	7	17	(14)
	1.6	96			10			126			18			10		
		98		(97)	14		(12)	112		(119)	20		(19)	15		(13)
	8	98			8			108			22			7		
		106		(102)	14		(11)	131		(120)	19		(21)	23		(15)
	40	113			13			135			20			12		
	95		(104)	13		(13)	174		(155)	16		(18)	8		(10)	
200	189			8			303			33			11			
	210		(200)	8		(8)	284		(294)	26		(30)	11		(11)	
1000	58 *			5 *			38 *			0 *			0 *			
	76 *		(67)	0 *		(3)	207		(123)	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 (溶媒対照)	110	99	117	11	15	13	144	148	161	27	22	26	20	13	19
		102	115	(109)	13	13	(13)	139	150	(148)	30	26	(26)	19	25	(19)
	1.6	112			11			133			27			23		
		106		(109)	12		(12)	157		(145)	25		(26)	21		(22)
	8	104			13			148			24			16		
		107		(106)	15		(14)	129		(139)	23		(24)	12		(14)
	40	119			20			153			34			19		
	113		(116)	11		(16)	154		(154)	26		(30)	17		(18)	
200	335			12			367			24			15			
	322		(329)	17		(15)	328		(348)	33		(29)	26		(21)	
1000	408			24			517			10 *			3 *			
	251 *		(330)	22		(23)	602		(560)	3 *		(7)	3 *		(3)	
5000 \$	0 *			0 *			0 *			0 *			0 *			
	0 *		(0)	0 *		(0)	0 *		(0)	0 *		(0)	0 *		(0)	
陽性対照	名称	AF-2		NaN ₃		AF-2		AF-2		9AA						
	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	538		254		973		478		233						
		477		(508)	276		(265)	1206		(1090)	439					
				(508)						(459)						
	試験実施期間	'07.2.2~'07.2.5		'07.2.2~'07.2.5		'07.2.2~'07.2.5		'07.2.2~'07.2.5		'07.2.2~'07.2.5						
S9mixを必要とするもの	名称	2AA		2AA		2AA		2AA		2AA						
	用量(μg/プレート)	1		2		2		0.5		2						
	コロニー数/プレート	876		276		1049		512		387						
		833		(855)	319		(298)	1083		(1066)	468					
			(855)						(490)							
試験実施期間	'07.2.2~'07.2.5		'07.2.2~'07.2.5		'07.2.2~'07.2.5		'07.2.2~'07.2.5		'07.2.2~'07.2.5							

【備考】

1. 菌の生育阻害が認められる場合は、該当する数値の右に*印を付した。
2. 復帰変異数は各プレートのコロニー数の実測値を記入し、()内にはその平均値を記入した。ただし(###)の欄は未試験。
3. プレート上に沈殿物が析出した場合は、その用量に\$印を付した。
4. 被験物質の復帰変異数が該当する菌株の陰性対照の平均値の2倍以上になった場合、その数値に\$印を付した。
5. 陽性対照物質の名称、AF-2:2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN₃:ナトリウム・アジド、9AA:9-アミノアクリジン、2AA:2-アミノアントラセン

表21. 3-Chlorobenzoyl chloride (CAS No. [618-46-2])の試験結果 (本試験)

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		WP2uvrA/pKM101		TA98		TA1537						
S9 mix (-)	陰性対照 (溶媒対照)	115	111	113	10	13	10	142	146	131	17	20	19	15	6	11
		104	122	(113)	8	7	(10)	117	127	(133)	19	22	(19)	11	10	(11)
	31.3	86			7			160			20			14		
		117		(102)	8		(8)	166		(163)	23		(22)	10		(12)
	62.5	113			10			171			21			8		
		117		(115)	5		(8)	233		(202)	32		(27)	14		(11)
	125	175			8			273			33			11		
	175		(175)	11		(10)	309		(291)	27		(30)	11		(11)	
250	245			12			301			36			12			
	242		(244)	11		(12)	324		(313)	38		(37)	11		(12)	
500	128			6			245			6 *			11			
	105		(117)	10		(8)	281		(263)	8 *		(7)	5		(8)	
1000	11 *			1 *			26 *			0 *			0 *			
	15 *		(13)	7 *		(4)	20 *		(23)	0 *		(0)	0 *		(0)	
S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	90	95	95	14	9	12	149	167	151	28	28	29	22	17	18
		95	90	(93)	14	10	(12)	162	154	(157)	24	28	(27)	13	23	(19)
	62.5	131			13			191			28			10		
		129		(130)	13		(13)	188		(190)	30		(29)	14		(12)
	125	198			8			305			30			16		
		220		(209)	20		(14)	262		(284)	41		(36)	21		(19)
	250	378			4			368			36			18		
	363		(371)	13		(9)	394		(381)	48		(42)	18		(18)	
500	536			20			516			79			10			
	541		(539)	21		(21)	542		(529)	72		(76)	21		(16)	
1000	499			19			685			0 *			0 *			
	522		(511)	14		(17)	633		(659)	2 *		(1)	3 *		(2)	
2000	176 *			7 *			273			0 *			0 *			
	118 *		(147)	3 *		(5)	88 *		(181)	0 *		(0)	0 *		(0)	
陽性対照	名称	AF-2		NaN ₃		AF-2		AF-2		9AA						
	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	383		226		1160		436		209						
		457		(420)	243		(235)	1182		(1171)	472		(454)	236		(223)
	試験実施期間	'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13						
	名称	2AA		2AA		2AA		2AA		2AA						
用量(μg /プレート)	1		2		2		0.5		2							
コロニー数/プレート	746		324		1349		279		436							
	832		(789)	311		(318)	1446		(1398)	311		(295)	436		(436)	
試験実施期間	'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13							

【備考】

1. 菌の生育阻害が認められる場合は、該当する数値の右に*印を付した。
2. 復帰変異数は各プレートのコロニー数の実測値を記入し、()内にはその平均値を記入した。ただし(###)の欄は未試験。
3. プレート上に沈殿物が析出した場合は、その用量に\$印を付した。
4. 被験物質の復帰変異数が該当する菌株の陰性対照の平均値の2倍以上になった場合、その数値に\$印を付した。
5. 陽性対照物質の名称、AF-2:2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN₃:ナトリウム・アジド、9AA:9-アミノアクリジン、2AA:2-アミノアントラセン

表22. 3-Chlorobenzoyl chloride (CAS No. [618-46-2])の試験結果 (確認試験-1)

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			WP2uvrA/pKM101			TA98		TA1537	
S9 mix (-)	陰性対照 (溶媒対照)	92	77	92	13	11	6	133	129	126	17	12	19	()
		83	93	(87)	10	8	(10)	135	144	(133)	22	20	(18)	()
	62.5	93			9			148			23			
		93	(93)		11	(10)		168	(158)		11	(17)	()	
	125	127			15			202			16			
		109	(118)		12	(14)		196	(199)		25	(21)	()	
	250	133			9			274			32			
		146	(140)		10	(10)		267	(271)		23	(28)	()	
S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	81	102	93	10	10	11	153	158	151	20	21	22	()
		87	87	(90)	13	9	(11)	175	148	(157)	22	25	(22)	()
	62.5							190						
			()					207	(199)			()	()	
	125	134			10			275						
		128	(131)		9	(10)		291	(283)			()	()	
	250	254			15			305			28			
		203	(229)		14	(15)		344	(325)		29	(29)	()	
S9 mix (+)	375				15						33			
			()		12	(14)			()		29	(31)	()	
	500	368			14			447			47			
		443	(406)		19	(17)		481	(464)		44	(46)	()	
	750				21						48			
			()		30	(26)			()		57	(53)	()	
	1000	737			22			697			62			
		739	(738)		44	(33)		695	(696)		87	(75)	()	
陽性対照	名称	AF-2			NaN ₃			AF-2			AF-2		9AA	
	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	488			217			809			482		()	
		563 (526)			251 (234)			710 (760)			479 (481)		()	
試験実施期間	'07.2.16~'07.2.19													
陽性対照	名称	2AA			2AA			2AA			2AA		2AA	
	用量(μg/プレート)	1			2			2			0.5		2	
	コロニー数/プレート	1035			235			773			382		()	
		1036 (1036)			218 (227)			854 (814)			449 (416)		()	
試験実施期間	'07.2.16~'07.2.19													

【備考】

1. 菌の生育阻害が認められる場合は、該当する数値の右に*印を付した。
2. 復帰変異数は各プレートのコロニー数の実測値を記入し、()内にはその平均値を記入した。ただし(###)の欄は未試験。
3. プレート上に沈殿物が析出した場合は、その用量に\$印を付した。
4. 被験物質の復帰変異数が該当する菌株の陰性対照の平均値の2倍以上になった場合、その数値に\$印を付した。
5. 陽性対照物質の名称、AF-2:2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN₃:ナトリウム・アジド、9AA:9-アミノアクリジン、2AA:2-アミノアントラセン

表23. -Chlorobenzoyl chloride (CAS No. [618-46-2])の試験結果 (確認試験-2)

代謝活性化系の有無	被験物質の用量 (μ 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/pKM101		TA98	TA1537			
S9 mix (-)	陰性対照 (溶媒対照)	100	105	106		119	113	105			
		99	111	(104)	()	107	99	(109)	()	()	
	62.5	111				153					
		119	(115)	()	()	166	(160)	()	()	()	
	125	95				218					
		140	(118)	()	()	181	(200)	()	()	()	
	200	136				229					
		130	(133)	()	()	221	(225)	()	()	()	
S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)				16	14	13				
		()	()	()	11	8	(12)	()	()	()	
	375				12						
		()	()	()	16	(14)	()	()	()	()	
S9 mix (+)	500				18						
		()	()	()	17	(18)	()	()	()	()	
	750				14						
		()	()	()	18	(16)	()	()	()	()	
	1000				21						
		()	()	()	18	(20)	()	()	()	()	
陽性対照	名称	AF-2			NaN ₃			AF-2		AF-2	9AA
	用量(μ R/プレート)	0.01			0.5			0.005		0.1	80
	コロニー数/プレート	510						1198			
		574	(542)	()	()	()	()	925	(1062)	()	()
	試験実施期間	'07.2.23~'07.2.26						'07.2.23~'07.2.26			
	名称	2AA			2AA			2AA		2AA	2AA
	用量(μ g/プレート)	1			2			2		0.5	2
	コロニー数/プレート				297						
	()	()	()	271	(284)	()	()	()	()	()	
試験実施期間				'07.2.23~'07.2.26							

【備考】

1. 菌の生育阻害が認められる場合は、該当する数値の右に*印を付した。
2. 復帰変異数は各プレートのコロニー数の実測値を記入し、()内にはその平均値を記入した。ただし(###)の欄は未試験。
3. プレート上に沈殿物が析出した場合は、その用量に\$印を付した。
4. 被験物質の復帰変異数が該当する菌株の陰性対照の平均値の2倍以上になった場合、その数値に *印を付した。
5. 陽性対照物質の名称、AF-2:2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN₃:ナトリウム・アジド、9AA:9-アミノアクリジン、2AA:2-アミノアントラセン

表24. 2-Chlorobenzoyl chloride (CAS No. [609-65-4])の試験結果 (用量設定試験)

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		WP2uvrA/pKM101		TA98		TA1537			
S9 mix (-)	陰性対照 (溶媒対照)	103 100 109 112 97 (104)	10 9 10 7 12 (10)	114 120 112 139 103 (118)	18 20 17 22 20 (19)	13 22 10 7 17 (14)							
	1.6	111 98 (105)	10 8 (9)	119 140 (130)	18 20 (19)	21 11 (16)							
	8	105 94 (100)	6 12 (9)	128 122 (125)	23 16 (20)	8 16 (12)							
	40	107 121 (114)	14 12 (13)	124 138 (131)	22 23 (23)	12 16 (14)							
	200	209 198 (204)	14 10 (12)	276 280 (278)	27 25 (26)	13 10 (12)							
	1000	219 224 (222)	11 5 * (8)	222 304 (263)	4 * 4 * (4)	2 * 7 * (5)							
	5000 \$	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)							
	S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	110 99 117 102 115 (109)	11 15 13 13 13 (13)	144 148 161 139 150 (148)	27 22 26 30 26 (26)	20 13 19 19 25 (19)						
1.6		113 108 (111)	12 10 (11)	140 152 (146)	28 26 (27)	16 14 (15)							
8		104 112 (108)	15 17 (16)	137 163 (150)	25 29 (27)	18 22 (20)							
40		116 116 (116)	13 13 (13)	160 167 (164)	33 28 (31)	30 21 (26)							
200		243 226 (235)	11 13 (12)	273 291 (282)	24 24 (24)	16 18 (17)							
1000		561 527 (544)	19 22 (21)	493 512 (503)	48 43 (46)	8 * 5 * (7)							
5000 \$		0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)	0 * 0 * (0)							
陽性対照		名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	9AA						
	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	538 477 (508)	254 276 (265)	973 1206 (1090)	478 439 (459)	233 222 (228)							
	試験実施期間	'07.2.2~'07.2.5	'07.2.2~'07.2.5	'07.2.2~'07.2.5	'07.2.2~'07.2.5	'07.2.2~'07.2.5							
	名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA							
	用量(μg/プレート)	1	2	2	0.5	2							
S9mixを必要とするもの	コロニー数/ プレート	876 833 (855)	276 319 (298)	1049 1083 (1066)	512 468 (490)	387 404 (396)							
	試験実施期間	'07.2.2~'07.2.5	'07.2.2~'07.2.5	'07.2.2~'07.2.5	'07.2.2~'07.2.5	'07.2.2~'07.2.5							

[備考]

1. 菌の生育阻害が認められる場合は、該当する数値の右に*印を付した。
2. 復帰変異数は各プレートのコロニー数の実測値を記入し、()内にはその平均値を記入した。ただし(###)の欄は未試験。
3. プレート上に沈殿物が析出した場合は、その用量に\$印を付した。
4. 被験物質の復帰変異数が該当する菌株の陰性対照の平均値の2倍以上になった場合、その数値に\$印を付した。
5. 陽性対照物質の名称、AF-2:2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN₃:ナトリウム・アジド、9AA:9-アミノアクリジン、2AA:2-アミノアントラセン

表25. 2-Chlorobenzoyl chloride (CAS No. [609-65-4])の試験結果 (本試験)

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		WP2uvrA/pKM101		TA98		TA1537						
S9 mix (-)	陰性対照 (溶媒対照)	115	111	113	10	13	10	142	146	131	17	20	19	15	6	11
		104	122	(113)	8	7	(10)	117	127	(133)	19	22	(19)	11	10	(11)
	62.5	137			13			212			28			15		
		140		(139)	12		(13)	297		(255)	18		(23)	15		(15)
	125	161			12			303			28			6		
		156		(159)	11		(12)	357		(330)	36		(32)	13		(10)
	250	276			7			301			45			8		
		232		(254)	9		(8)	307		(304)	41		(43)	12		(10)
	500	378			10			314			48			10		
		336		(357)	8		(9)	245		(280)	38		(43)	7		(9)
	1000	253			11			280			4*			5*		
		268		(261)	10		(11)	206		(243)	0*		(2)	4*		(5)
2000	38*			0*			16*			0*			0*			
	64*		(51)	0*		(0)	6*		(11)	0*		(0)	0*		(0)	
S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	90	95	95	14	9	12	149	167	151	28	28	29	22	17	18
		95	90	(93)	14	10	(12)	162	154	(157)	24	28	(27)	13	23	(19)
	62.5	125			15			154			24			12		
		132		(129)	9		(12)	194		(174)	35		(30)	11		(12)
	125	164			11			217			27			16		
		179		(172)	9		(10)	234		(226)	44		(36)	12		(14)
	250	329			16			340			44			14		
		349		(339)	13		(15)	350		(345)	41		(43)	18		(16)
	500	503			12			453			60			20		
		504		(504)	14		(13)	447		(450)	90		(75)	13		(17)
	1000	463			18			514			0*			13		
		518		(491)	20		(19)	550		(532)	3*		(2)	12*		(13)
2000	15*			5*			16*			0*			2*			
	23*		(19)	1*		(3)	6*		(11)	0*		(0)	0*		(1)	
陽性対照	名称	AF-2		NaN ₃		AF-2		AF-2		9AA						
	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	383		226		1160		436		209						
		457		(420)	243		(235)	1182		(1171)	472		(454)	236		(223)
	試験実施期間	'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13						
	名称	2AA		2AA		2AA		2AA		2AA						
	用量(μg /プレート)	1		2		2		0.5		2						
	コロニー数/プレート	746		324		1349		279		436						
		832		(789)	311		(318)	1446		(1398)	311		(295)	436		(436)
	試験実施期間	'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13		'07.2.9~'07.2.13						

[備考]

1. 菌の生育阻害が認められる場合は、該当する数値の右に*印を付した。
2. 復帰変異数は各プレートのコロニー数の実測値を記入し、()内にはその平均値を記入した。ただし(###)の欄は未試験。
3. プレート上に沈殿物が析出した場合は、その用量に\$印を付した。
4. 被験物質の復帰変異数が該当する菌株の陰性対照の平均値の2倍以上になった場合、その数値に\$印を付した。
5. 陽性対照物質の名称、AF-2:2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN₃:ナトリウム・アジド、9AA:9-アミノアクリジン、2AA:2-アミノアントラセン

表26. 2-Chlorobenzoyl chloride (CAS No. [609-65-4])の試験結果 (確認試験)

代謝活性化系の有無	被験物質の用量 (μ 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/pKM101		TA98		TA1537				
S9 mix (-)	陰性対照 (溶媒対照)	92	77	92	13	11	6	133	129	126	17	12	19	(####)
		83	93	(87)	10	8	(10)	135	144	(133)	22	20	(18)	
	62.5			()			(####)	147					(####)	(####)
								164		(156)			(####)	
	125	104			7			218			23			
		104		(104)	10		(9)	285		(252)	27		(25)	(####)
	250	177			10			321			30			
		187		(182)	10		(10)	362		(342)	27		(29)	(####)
	375			(####)			(####)			(####)	37			
											40		(39)	(####)
500	307			17			382			31				
	378		(343)	8		(13)	396		(389)	43		(37)	(####)	
750			(####)			(####)			(####)	28				
										21		(25)	(####)	
1000	221			12			369							
	209		(215)	5		(9)	381		(375)			(####)	(####)	
2000	2 *			0 *			26 *							
	40 *		(21)	0 *		(0)	8 *		(17)			(####)	(####)	
S9 mix (+)	陰性対照 (溶媒対照)	81	102	93	10	10	11	153	158	151	20	21	22	(####)
		87	87	(90)	13	9	(11)	175	148	(157)	22	25	(22)	
	62.5			()			(####)	197						
								210		(204)			(####)	(####)
	125	154						245						
		120		(137)			(####)	233		(239)			(####)	(####)
	250	268						313			41			
		248		(258)			(####)	360		(337)	49		(45)	(####)
	375			()			(####)			(####)	49			
											55		(52)	(####)
500	440			11			427			55				
	503		(472)	17		(14)	473		(450)	57		(56)	(####)	
750			()	18					(####)	82				
				24		(21)				73		(78)	(####)	
1000	492			17			532			76				
	752		(622)	13		(15)	511		(522)	63		(70)	(####)	
1500			()	11					(####)					
				18		(15)						(####)	(####)	
2000	9 *			4 *			435							
	11 *		(10)	2 *		(3)	240 *		(338)			(####)	(####)	
陽性対照	名称	AF-2		NaN ₃		AF-2		AF-2		9AA				
	用量(μ g/プレート)	0.01		0.5		0.005		0.1		80				
	コロニー数/プレート	488		217		809		482		(####)				
		563		251		710		479		(481)				
	試験実施期間	'07.2.16~'07.2.19		'07.2.16~'07.2.19		'07.2.16~'07.2.19		'07.2.16~'07.2.19						
	名称	2AA		2AA		2AA		2AA		2AA				
用量(μ g/プレート)	1		2		2		0.5		2					
コロニー数/プレート	1035		235		773		382		(####)					
	1036		218		854		449		(416)					
試験実施期間	'07.2.16~'07.2.19		'07.2.16~'07.2.19		'07.2.16~'07.2.19		'07.2.16~'07.2.19							

[備考]

1. 菌の生育阻害が認められる場合は、該当する数値の右に*印を付した。
2. 復帰変異数は各プレートのコロニー数の実測値を記入し、()内にはその平均値を記入した。ただし(####)の欄は未試験。
3. プレート上に沈殿物が析出した場合は、その用量に\$印を付した。
4. 被験物質の復帰変異数が該当する菌株の陰性対照の平均値の2倍以上になった場合、その数値に\$印を付した。
5. 陽性対照物質の名称、AF-2:2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド、NaN₃:ナトリウム・アジド、9AA:9-アミノアクリジン、2AA:2-アミノアントラセン

表27. 変異原性試験結果一覧

No.	被験物質名	用量範囲 (μ g/プレート)	希釈溶媒	変異原性試験結果									
				TA100		TA1535		WP2uvrA/pKM101		TA98		TA1537	
				-S9 mix	+S9 mix	-S9 mix	+S9 mix	-S9 mix	+S9 mix	-S9 mix	+S9 mix	-S9 mix	+S9 mix
1	2, α -Dichlorotoluene	1.6 ~ 5000	DMSO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	3, α -Dichlorotoluene	1.6 ~ 5000	DMSO	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	3-Chlorobenzoyl chloride	1.6 ~ 5000	DMSO	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-
4	2-Chlorobenzoyl chloride	1.6 ~ 5000	DMSO	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-

+: 陽性(復帰変異コロニー数が溶媒対照の2倍以上を示し、用量依存性が認められたもの)

-: 陰性(上記以外のもの)

DMSO: ジメチルスルホキシド

表 28. AMES 試験における構造異性体の予測結果と試験結果の比較

物質名	CAS No.	実試験結果	(Q)SAR モデル		
			DEREK	MCASE	AWorks
2,α-Dichlorotoluene	611-19-8	陰性	陽性	陰性	陽性
3,α-Dichlorotoluene	620-20-2	陰性	陽性	陰性	陰性
2-Chlorobenzoyl chloride	609-65-4	陽性	陽性	陽性	陰性
3-Chlorobenzoyl chloride	618-46-2	陽性	陽性	陽性	陽性