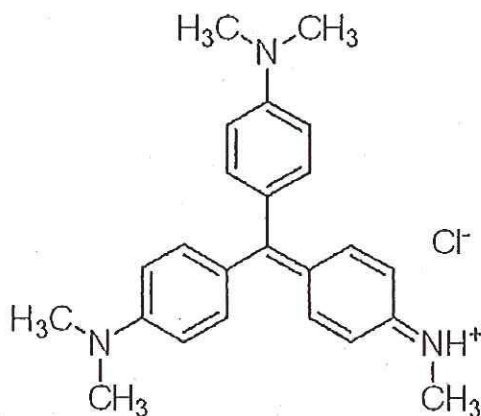


# C.I. Basic Violet 1

[CAS No. 8004-87-3]

Molecular formula:  $C_{24}H_{28}ClN_3$       Molecular weight: 393.95



## ABSTRACT

Reverse mutation test was performed using bacteria in order to evaluate whether C.I. basic violet 1 induces gene mutation. C.I. basic violet 1 induced gene mutation in WP2*uvrA* and TA1537 without metabolic activation (-S9 mix) and in TA98 and TA1537 with metabolic activation (+S9 mix).

## SUMMARIZED DATA FROM THE STUDIES

Purity:	Unknown
Test strains:	<i>Salmonella typhimurium</i> TA100, TA1535, TA98, TA1537 <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>
Test method:	Guidelines for Screening Mutagenicity Testing of Chemicals (Chemical Substances Control Law of Japan) and OECD Test Guideline 471
Procedure:	Pre-incubation method
Solvent:	DMSO

I certify that this is a true copy, and does not differ from the original.

Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.  
Drug Safety Research Laboratories

Study Director

Date

March 16, 2011

Positive controls: -S9 mix: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (TA100, WP2uvrA, TA98), sodium azide (TA1535) and 9-aminoacridine hydrochloride hydrate (TA1537)

+S9 mix: 2-Aminoanthracene (TA100, TA1535, WP2uvrA, TA98, TA1537)

#### Dosage

##### First dose-finding test:

±S9 mix: 5, 15, 50, 150, 500, 1500, and 5000 µg/plate (all test strains)

##### Second dose-finding test:

-S9 mix: 0.246, 0.614, 1.54, 3.84, 9.60, and 24 µg/plate (TA100, TA1535, WP2uvrA, TA1537), 0.614, 1.54, 3.84, 9.60, 24, and 60 µg/plate (TA98)

+S9 mix: 0.614, 1.54, 3.84, 9.60, 24, and 60 µg/plate (TA100, TA1535, WP2uvrA, TA98), 1.54, 3.84, 9.60, 24, 60, and 150 µg/plate (TA1537)

##### Main test:

-S9 mix: 0.313, 0.625, 1.25, 2.5, 5, and 10 µg/plate (TA100, TA1535, WP2uvrA, TA1537), 1.25, 2.5, 5, 10, 20, and 40 µg/plate (TA98)

+S9 mix: 2.5, 5, 10, 20, 40, and 80 µg/plate (TA100, TA1535, WP2uvrA, TA1537), 1.25, 2.5, 5, 10, 20, and 40 µg/plate (TA98)

S9: Rat liver received a combination of intraperitoneal injections of phenobarbital and 5,6-benzoflavone to induce drug-metabolizing enzymes

Plates/test: 3

No. of replicate: 3

Study No.: SBL807-014

GLP compliance: Yes

#### Test results:

A 2-fold or greater and dose-dependent increase in revertant colonies was observed in WP2uvrA and TA1537 without metabolic activation (-S9 mix) and in TA98 and TA1537 with metabolic activation (+S9 mix).

#### Genetic effects:

*Salmonella typhimurium* TA100, TA1535

	+	?	-
Without metabolic activation:	[ ]	[ ]	[*]
With metabolic activation:	[ ]	[ ]	[*]

*Salmonella typhimurium* TA98, TA1537

	+	?	—
Without metabolic activation:	[*]	[]	[]
With metabolic activation:	[*]	[]	[]

*Escherichia coli*: WP2uvrA

	+	?	—
Without metabolic activation:	[*]	[]	[]
With metabolic activation:	[]	[*]	[]

## C.I.ベシックバイオレット 1 の細菌を用いる復帰変異試験 Reverse Mutation Test of C.I. Basic Violet 1 in Bacteria

### 要約

C.I.ベシックバイオレット 1 について、細菌を用いる復帰変異試験を実施した。

試験菌株として、*Salmonella typhimurium* (TA100, TA98, TA1535, TA1537) および *Escherichia coli* (WP2uvrA) の 5 菌株を用いた。用量設定試験 (1 回目) においては S9 mix 存在下および非存在下の各試験菌株において 5 ~ 5000 µg/plate の 7 用量で試験を実施したが、生育阻害がみられない用量が 4 段階なかったため、再度、S9 mix 非存在下の TA100, TA1535, WP2uvrA および TA1537 では 0.246 ~ 24 µg/plate, TA98 では 0.614 ~ 60 µg/plate, S9 mix 存在下の TA100, TA1535, WP2uvrA および TA98 では 0.614 ~ 60 µg/plate, TA1537 では 1.54 ~ 150 µg/plate のそれぞれ 6 用量 (公比 2.5) で用量設定試験 (2 回目) を実施した。本試験では S9 mix 非存在下の TA100, TA1535, WP2uvrA および TA1537 では 0.313 ~ 10 µg/plate, TA98 では 1.25 ~ 40 µg/plate, S9 mix 存在下の TA100, TA1535, WP2uvrA および TA1537 では 2.5 ~ 80 µg/plate, TA98 では 1.25 ~ 40 µg/plate のそれぞれ 6 用量 (公比 2) で試験を実施した。

その結果、2 回目の用量設定試験および本試験において、S9 mix 非存在下の WP2uvrA および TA1537, S9 mix 存在下の TA98 および TA1537 に陰性対照の 2 倍以上、かつ用量依存的な復帰変異コロニー数の増加がみられた。

以上の結果より、本試験条件下では C.I.ベシックバイオレット 1 は、変異原性を有する (陽性) と結論した。

### 方法

#### 1. 試験菌株

細菌を用いる復帰変異試験に広く使用されていることから、試験菌株としてヒスチジン要求性の *Salmonella typhimurium* TA100, TA98, TA1535 および TA1537<sup>1)</sup> ならびにトリプトファン要求性の *Escherichia coli* WP2uvrA<sup>2)</sup> の 5 種類の菌株を選択した。試験菌株は平成 19 年 2 月 5 日に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から購入した。本試験に用いた菌株について、特性検査を実施し、平成 21 年 1 月 22 日に菌株が規定の特性を保持していることを確認した。各菌株の菌懸濁液はジメチルスルホキシド (DMSO, Sigma-Aldrich) を添加した後、凍結保存用チューブに 0.2 mL ずつ分注した。これをドライアイス・アセトンを用いて凍結し、超低温フリーザーに -70°C 以下で保存した。

#### 2. 培地の調製

##### 1) 最少グルコース寒天平板培地 (プレート)

オリエンタル酵母工業製のテスメディア AN 培地を購入し、試験に用いた。テスメディア AN 培地の組成を以下に示す。1 枚のシャーレあたり 30 mL が分注されている。

成分	1000 mL 中の量
硫酸マグネシウム・7 水塩	0.2 g
クエン酸・1 水塩	2 g
リン酸水素二カリウム・無水塩	10 g
リン酸アンモニウム	1.92 g
水酸化ナトリウム	0.66 g
ブドウ糖	20 g
カンテン BA-30	15 g
(伊那食品工業社製)	

## 2) トップアガー

0.5%塩化ナトリウム（和光純薬工業）を含む0.6%バクトアガー（Difco）水溶液10容量に対し、ネズミチフス菌を用いる場合は0.5 mmol/L L-ヒスチジン（和光純薬工業）・0.5 mmol/L D-ビオチン（和光純薬工業）水溶液を、大腸菌を用いる場合は0.5 mmol/L L-トリプトファン（和光純薬工業）水溶液を1容量加えて用いた。

## 3) 前培養条件

内容量30 mLのガラス製L字管に2.5%ニュートリエントブロス No.2（Oxoid）溶液を10 mL分注し、これに融解した菌懸濁液を20  $\mu$ L接種した。クールバスシェーカー（ML-10F, タイテック）を用い、37°Cで10時間振盪（往復振盪90回/分、振幅2 cm）培養し、菌濃度が $1 \times 10^9$  cells/mL以上であることを確認した後、試験に使用した。

## 4) S9 mix

オリエンタル酵母工業製の製造後6ヵ月以内のS9およびCofactor-Iを用いてS9 mixを作製し、試験に使用した。S9は誘導剤としてフェノバルビタールおよび5,6-ベンゾフラボンを投与したSprague-Dawley系雄ラットの肝臓から調製されたものである。S9 mixの組成を以下に示す。

成分	1 mL中の量
S9	0.1 mL
MgCl <sub>2</sub>	8 $\mu$ mol
KCl	33 $\mu$ mol
G-6-P	5 $\mu$ mol
NADPH	4 $\mu$ mol
NADH	4 $\mu$ mol
Na-リン酸緩衝液 (pH7.4)	100 $\mu$ mol

## 3. 被験物質

被験物質のC.I.ベシックバイオレット1（ロット番号UXLSD）は純度が不明の暗黄緑色～暗緑色の結晶（小塊）である。購入した。また、被験物

質は使用時まで冷暗所（2～8°C）に保存した。本試験とは別に実施した「C.I.ベシックバイオレット1のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験（試験番号SBL807-018）」において、本試験と同一保管条件下で保管された同ロットの被験物質を分析し、実験終了時まで安定であったことが確認された。その結果から、本試験の被験物質も実験期間中は安定であったと判断した。

## 4. 被験物質液の調製

被験物質をすり潰し、DMSOを徐々に加え、練り混ぜながら、DMSOに溶解させた。その後、DMSOでメスアップして最高濃度液とした。以下の濃度の調製液は、最高濃度液をDMSOにより順次希釈して調製した。調製は用時に行い、速やかに処理へ用いた。

## 5. 試験用量の設定

5～5000  $\mu$ g/plateの7用量（公比約3）を用いて用量設定試験（1回目）を実施した。S9 mix非存在下のWP2uvrAおよびTA1537、S9 mix存在下のWP2uvrAにおいて、陰性対照の2倍以上の復帰変異コロニー数の増加がみられた。試験菌株に対する生育阻害作用は、S9 mix非存在下のTA100、TA1535、WP2uvrAおよびTA1537では15  $\mu$ g/plate以上、TA98では50  $\mu$ g/plate以上、S9 mix存在下のTA100、TA1535、WP2uvrAおよびTA98では50  $\mu$ g/plate以上、TA1537では150  $\mu$ g/plate以上に観察された。なお、被験物質処理時および48時間培養後のプレート上ともに、S9 mix存在下および非存在下の500  $\mu$ g/plate以上で被験物質の析出が観察された。

上記において、生育阻害がみられない用量が4段階なかったため、S9 mix非存在下のTA100、TA1535、WP2uvrAおよびTA1537では0.246～24  $\mu$ g/plate、TA98では0.614～60  $\mu$ g/plate、S9 mix存在下のTA100、TA1535、WP2uvrAおよびTA98では0.614～60  $\mu$ g/plate、TA1537では1.54～150  $\mu$ g/plateのそれぞれ6用量（公比2.5）を設定し、用量設定試験（2回目）を実施した。S9 mix非存在



下の WP2uvrA および TA1537, S9 mix 存在下の TA98 および TA1537 において, 陰性対照の 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加がみられた。試験菌株に対する生育阻害作用は, S9 mix 非存在下の TA100, TA1535 および TA1537 では 9.60 µg/plate 以上, WP2uvrA および TA98 では 24 µg/plate 以上, S9 mix 存在下の TA100, TA1535, WP2uvrA および TA98 では 60 µg/plate, TA1537 では 150 µg/plate に観察された。なお, 被験物質処理時および 48 時間培養後のプレート上ともに, 150 µg/plate まで被験物質の析出は観察されなかった。

従って, 本試験は, 陰性対照の 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加がみられた菌株については正確な用量-反応曲線が求められる用量範囲で, その他の菌株については生育阻害の発現用量付近を最高用量とし, すなわち S9 mix 非存在下の TA100, TA1535, WP2uvrA および TA1537 では 0.313~10 µg/plate, TA98 では 1.25~40 µg/plate, S9 mix 存在下の TA100, TA1535, WP2uvrA および TA1537 では 2.5~80 µg/plate, TA98 では 1.25~40 µg/plate のそれぞれ 6 用量 (公比 2) を設定した。

## 6. 陽性対照物質

陽性対照物質として次の物質を使用した。NaN<sub>3</sub>は注射用水を, その他はDMSOを加えて溶解し, 少量ずつ分注した後, 凍結保存 (-20°C) したものを用時に解凍して, 試験に使用した。

AF-2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide  
NaN<sub>3</sub>: Sodium azide

9AA: 9-Aminoacridine hydrochloride hydrate

2AA: 2-Aminoanthracene

## 7. 試験方法

Amesらの原法<sup>1)</sup>の改良法であるプレインキュベーション法を採用し, S9 mix存在下および非存在下のそれぞれについて試験を実施した。試験管にS9 mix非存在下の場合, 0.1 mol/L ナトリウム・リン酸緩衝液(pH7.4)を 500 µL, S9 mix存在下の場合, S9 mixを 500 µL, 次い

で試験菌液を 100 µL添加し, さらに陰性対照物質液, 被験物質液あるいは陽性対照物質液を 100 µLを加え, シェイキングバス (BW201, ヤマト科学) を用い, 37°Cで 20 分間振盪 (往復振盪 120 回/分, 振幅 2 cm) 培養した。培養終了後, あらかじめ 45°Cに保温したトッパガーを 2 mL添加し, 混合液をプレートに重層した。恒温培養器 (TVA660DA, 東洋製作所) を用いて, 37°Cで 48 時間培養後, 肉眼および実体顕微鏡 (×40, SPT-40L, カートン光学) により被験物質の試験菌株に対する生育阻害作用の有無 (バックグラウンドの菌の生育状態), また, 肉眼によりプレート上の被験物質の析出の有無を観察した。次いで, 復帰変異により生じたコロニーを肉眼により計測した。ただし, 陽性対照群についてはコロニーアナライザー (CA-11DS, システムサイエンス) を用いた。各用量につき 3 枚のプレートを使用した。

## 8. 結果の解析

いずれかの菌株において, プレートあたりの復帰変異コロニー数が陰性対照の 2 倍以上に増加し, また, 用量の増加とともに復帰変異コロニー数が増加を示し, かつ, 用量設定試験と本試験の間に再現性が確認された場合に陽性と判定した。復帰変異コロニー数が陰性対照の 2 倍未満であり, かつ, 用量設定試験と本試験の間に再現性が確認された場合は陰性と判定した。なお, 陽性と判定した菌株については, 変異原性の強さの相対的比較値である比活性値を, 当該用量におけるプレートあたりのコロニー数から陰性対照のコロニー数を引き, それを当該用量 (mg/plate) で割ることにより算出した。

統計学的手法を用いた検定は実施しなかった。

## 結果および考察

1 回目の用量設定試験の結果を Table 1 に、2 回目の用量設定試験の結果を Table 2 に、本試験の結果を Table 3 に示した。

2 回目の用量設定試験および本試験において、S9 mix 非存在下の WP2*uvrA* および TA1537, S9 mix 存在下の TA98 および TA1537 に陰性対照の 2 倍以上、かつ用量依存的な復帰変異コロニー数の増加がみられた。また、試験菌株に対する生育阻害は、いずれの菌株のいずれかの用量において観察された。なお、被験物質処理時および 48 時間培養後のプレート上ともに、S9 mix 存在下および非存在下の 500 µg/plate 以上で被験物質の析出が観察された。一方、陰性対照および陽性対照群の復帰変異コロニー数は、当施設の背景データの範囲 (Mean ± 3SD) 内にあった。

変異原性の強さに関する相対的比較値である比活性値の最高値は 46400 (本試験, S9 mix 非存在下の WP2*uvrA*, 0.000625 mg/mL) と算出された。

以上の試験結果から、本試験条件下において、C.I. ベイシックバイオレット 1 の微生物に対する遺伝子突然変異誘発性は陽性と判定した。

## 文献

- 1) Maron DM, Ames BN: Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. Mutation Res, 113: 173-215 (1983).
- 2) Green MH, Muriel WJ: Mutagen testing using TRP<sup>+</sup> reversion in Escherichia coli. Mutation Res, 38:3-32 (1978).

## 連絡先

試験責任者:

試験担当者:

(株) 新日本科学 安全性研究所

〒891-1394 鹿児島県鹿児島市宮之浦町 2438

Tel 099-294-2600 Fax 099-294-3619

## Correspondence

Authors:

Shin Nippon Biomedical Laboratories, Ltd.

Drug Safety Research Labs. (SNBL DSR)

2438 Miyanoura, Kagoshima 891-1394, Japan

Tel +81-99-294-2600 Fax +81-99-294-3619



Table 1 Results of reverse mutation test (first dose-finding test) with C.I. basic violet 1

代謝活性化系の有無	用量 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	復帰変異コロニー数/plate					
		塩基対置換型			フレームシフト型		
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
S9 mix 非存在下	陰性対照	103 78 100	9 6 5	13 20 12	32 24 23	5 4 7	
	DMSO	( 94 $\pm$ 14 )	( 7 $\pm$ 2 )	( 15 $\pm$ 4 )	( 26 $\pm$ 5 )	( 5 $\pm$ 2 )	
	5	93 102 74	5 6 4	59 48 64	36 37 41	10 11 11	
		( 90 $\pm$ 14 )	( 5 $\pm$ 1 )	( 57 $\pm$ 8 )	( 38 $\pm$ 3 )	( 11 $\pm$ 1 )	
	15	34 * 31 * 35 *	1 * 2 * 1 *	34 * 35 * 35 *	32 27 16	4 * 2 * 2 *	
		( 33 $\pm$ 2 )	( 1 $\pm$ 1 )	( 35 $\pm$ 1 )	( 25 $\pm$ 8 )	( 3 $\pm$ 1 )	
	50	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	21 * 17 * 10 *	0 ** 0 ** 0 **	0 *** 0 *** 0 ***	
		( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 16 $\pm$ 6 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	
S9 mix 存在下	150	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 ** 0 ** 0 **	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	
		( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	
	500 +	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	
		( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	
	1500 +	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	
		( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	
	5000 +	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	
		( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	
S9 mix 存在下	陰性対照	105 105 95	5 5 12	20 20 20	30 21 30	8 6 9	
	DMSO	( 102 $\pm$ 6 )	( 7 $\pm$ 4 )	( 20 $\pm$ 0 )	( 27 $\pm$ 5 )	( 8 $\pm$ 2 )	
	5	108 126 98	6 5 11	28 26 25	44 37 51	8 5 8	
		( 111 $\pm$ 14 )	( 7 $\pm$ 3 )	( 26 $\pm$ 2 )	( 44 $\pm$ 7 )	( 7 $\pm$ 2 )	
	15	82 100 91	2 5 6	46 47 36	33 43 53	16 13 14	
		( 91 $\pm$ 9 )	( 4 $\pm$ 2 )	( 43 $\pm$ 6 )	( 43 $\pm$ 10 )	( 14 $\pm$ 2 )	
	50	50 * 42 * 40 *	0 * 0 * 4 *	33 * 32 * 42 *	17 * 33 * 31 *	11 9 5	
		( 44 $\pm$ 5 )	( 1 $\pm$ 2 )	( 36 $\pm$ 6 )	( 27 $\pm$ 9 )	( 8 $\pm$ 3 )	
S9 mix 存在下	150	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	18 * 5 * 8 *	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	
		( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 10 $\pm$ 7 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	
	500 +	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 ** 0 ** 0 **	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	
		( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	
	1500 +	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	
		( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	
	5000 +	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	0 *** 0 *** 0 ***	
		( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	( 0 $\pm$ 0 )	
陽性対照	名称	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9AA	
	用量 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	0.01	0.5	0.02	0.1	80	
	コロニー数/plate	366 345 364	194 178 214	352 321 324	528 496 485	278 317 281	
		( 358 $\pm$ 12 )	( 195 $\pm$ 18 )	( 332 $\pm$ 17 )	( 503 $\pm$ 22 )	( 292 $\pm$ 22 )	
	名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA	
	用量 ( $\mu\text{g}/\text{plate}$ )	1	2	10	0.5	2	
	コロニー数/plate	848 855 787	136 182 156	209 253 242	505 528 547	230 240 235	
		( 830 $\pm$ 37 )	( 158 $\pm$ 23 )	( 235 $\pm$ 23 )	( 527 $\pm$ 21 )	( 235 $\pm$ 5 )	

a) ( ) 内の数値は3枚のプレートの平均値 $\pm$ 標準偏差

b) 陽性対照物質の名称

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

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

9AA: 9-Aminoacridine hydrochloride hydrate

2AA: 2-Aminoanthracene

c) DMSO: ジメチルスルホキシド

d) +: 被験物質の析出が認められた用量

e) \*: プレート上のバックグラウンドの菌の生育が陰性対照群のそれと比較して明らかに阻害されているもの。

\*\*: プレート上のバックグラウンドの菌の生育が被験物質により阻害され、バックグラウンドの菌が死滅し、肉眼的に微小コロニーを認めるもの。なお、この場合は、復帰変異コロニー数を「0」とした。

\*\*\*: プレート上のバックグラウンドの菌の生育が被験物質により強く阻害され、バックグラウンドの菌が死滅し、微小コロニーも認められないもの。



Table 2 Results of reverse mutation test (second dose-finding test) with C.I. basic violet 1

代謝活性化系の有無	用量 (μg/plate)	復帰変異コロニー数/plate					
		塩基対置換型			フレームシフト型		
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
S9 mix 非存在下	陰性対照 DMSO	89 73 88 ( 83 ± 9 )	8 9 4 ( 7 ± 3 )	14 15 21 ( 17 ± 4 )	27 24 29 ( 27 ± 3 )	3 9 7 ( 6 ± 3 )	
	0.246	117 87 103 ( 102 ± 15 )	9 7 6 ( 7 ± 2 )	34 22 28 ( 28 ± 6 )	Not Tested	3 3 6 ( 4 ± 2 )	
	0.614	114 87 103 ( 101 ± 14 )	4 7 8 ( 6 ± 2 )	37 35 40 ( 37 ± 3 )	30 27 31 ( 29 ± 2 )	7 4 3 ( 5 ± 2 )	
	1.54	111 118 101 ( 110 ± 9 )	4 9 5 ( 6 ± 3 )	75 66 49 ( 63 ± 13 )	35 27 27 ( 30 ± 5 )	11 11 16 ( 13 ± 3 )	
	3.84	149 130 127 ( 135 ± 12 )	10 5 6 ( 7 ± 3 )	89 70 85 ( 81 ± 10 )	52 41 41 ( 45 ± 6 )	16 23 14 ( 18 ± 5 )	
	9.60	64* 77* 75* ( 72 ± 7 )	2* 5* 4* ( 4 ± 2 )	43 41 41 ( 42 ± 1 )	58 41 43 ( 47 ± 9 )	5* 6* 10* ( 7 ± 3 )	
	24	0** 0** 0** ( 0 ± 0 )	0* 0* 1* ( 0 ± 1 )	19* 20* 17* ( 19 ± 2 )	15* 19* 14* ( 16 ± 3 )	0** 0** 0** ( 0 ± 0 )	
	60	Not Tested	Not Tested	Not Tested	0** 0*** 0** ( 0 ± 0 )	Not Tested	
S9 mix 存在下	陰性対照 DMSO	93 100 88 ( 94 ± 6 )	8 6 10 ( 8 ± 2 )	30 33 25 ( 29 ± 4 )	32 17 31 ( 27 ± 8 )	10 5 8 ( 8 ± 3 )	
	0.614	106 112 91 ( 103 ± 11 )	8 5 10 ( 8 ± 3 )	25 25 24 ( 25 ± 1 )	32 30 39 ( 34 ± 5 )	Not Tested	
	1.54	134 126 101 ( 120 ± 17 )	4 7 4 ( 5 ± 2 )	25 29 21 ( 25 ± 4 )	46 42 53 ( 47 ± 6 )	11 8 12 ( 10 ± 2 )	
	3.84	109 109 95 ( 104 ± 8 )	11 11 10 ( 11 ± 1 )	27 29 27 ( 28 ± 1 )	52 49 58 ( 53 ± 5 )	4 5 6 ( 5 ± 1 )	
	9.60	114 116 125 ( 118 ± 6 )	16 9 14 ( 13 ± 4 )	42 43 35 ( 40 ± 4 )	69 77 57 ( 68 ± 10 )	7 7 3 ( 6 ± 2 )	
	24	83 66 82 ( 77 ± 10 )	6 6 3 ( 5 ± 2 )	32 33 30 ( 32 ± 2 )	42 48 40 ( 43 ± 4 )	19 20 21 ( 20 ± 1 )	
	60	16* 6* 11* ( 11 ± 5 )	2* 2* 2* ( 2 ± 0 )	45* 43* 27* ( 38 ± 10 )	22* 10* 16* ( 16 ± 6 )	12 6 7 ( 8 ± 3 )	
	150	Not Tested	Not Tested	Not Tested	Not Tested	0*** 0*** 0*** ( 0 ± 0 )	
陽性対照	名称	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9AA	
	用量 (μg/plate)	0.01	0.5	0.02	0.1	80	
	コロニー数/plate	373 364 386 ( 374 ± 11 )	205 202 234 ( 214 ± 18 )	442 458 463 ( 454 ± 11 )	432 451 448 ( 444 ± 10 )	262 217 355 ( 278 ± 70 )	
	名称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA	
	用量 (μg/plate)	1	2	10	0.5	2	
	コロニー数/plate	654 640 682 ( 659 ± 21 )	192 177 164 ( 178 ± 14 )	217 214 223 ( 218 ± 5 )	528 508 510 ( 515 ± 11 )	221 214 183 ( 206 ± 20 )	

a) ( ) 内の数値は3枚のプレートの平均値±標準偏差

b) 陽性対照物質の名称

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

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

9AA : 9-Aminoacridine hydrochloride hydrate

2AA: 2-Aminoanthracene

c) DMSO : ジメチルスルホキシド

d) \* : プレート上のバックグラウンドの菌の生育が陰性対照群のそれと比較して明らかに阻害されているもの。

\*\* : プレート上のバックグラウンドの菌の生育が被験物質により阻害され、バックグラウンドの菌が死滅し、肉眼的に微小コロニーを認めるもの。なお、この場合は、復帰変異コロニー数を「0」とした。

\*\*\* : プレート上のバックグラウンドの菌の生育が被験物質により強く阻害され、バックグラウンドの菌が死滅し、微小コロニーも認められないもの。

Table 3 Results of reverse mutation test (main test) with C.I. basic violet 1

代謝活性化系の有無	用量 (μg/plate)	復帰変異コロニー数/plate					
		塩基対置換型			フレームシフト型		
		TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
S9 mix 非存在下	陰性対照 DMSO	118 109 117 ( 115 ± 5 )	6 4 10 ( 7 ± 3 )	22 21 22 ( 22 ± 1 )	19 21 21 ( 20 ± 1 )	5 5 6 ( 5 ± 1 )	
	0.313	136 137 117 ( 130 ± 11 )	9 7 6 ( 7 ± 2 )	38 33 41 ( 37 ± 4 )	Not Tested	7 8 6 ( 7 ± 1 )	
	0.625	119 152 134 ( 135 ± 17 )	5 12 2 ( 6 ± 5 )	52 52 49 ( 51 ± 2 )	Not Tested	8 2 4 ( 5 ± 3 )	
	1.25	143 169 136 ( 149 ± 17 )	5 8 8 ( 7 ± 2 )	91 77 56 ( 75 ± 18 )	30 24 28 ( 27 ± 3 )	12 25 19 ( 19 ± 7 )	
	2.5	125 119 132 ( 125 ± 7 )	8 6 12 ( 9 ± 3 )	70 55 43 ( 56 ± 14 )	29 24 31 ( 28 ± 4 )	11 10 19 ( 13 ± 5 )	
	5	96 * 98 * 120 * ( 105 ± 13 )	3 5 7 ( 5 ± 2 )	71 72 55 ( 66 ± 10 )	33 26 39 ( 33 ± 7 )	19 13 19 ( 17 ± 3 )	
	10	62 * 50 * 75 * ( 62 ± 13 )	0 * 1 * 3 * ( 1 ± 2 )	64 46 52 ( 54 ± 9 )	18 30 23 ( 24 ± 6 )	4 * 6 * 8 * ( 6 ± 2 )	
	20	Not Tested	Not Tested	Not Tested	9 * 13 * 10 * ( 11 ± 2 )	Not Tested	
	40	Not Tested	Not Tested	Not Tested	0 ** 0 ** 0 ** ( 0 ± 0 )	Not Tested	
S9 mix 存在下	陰性対照 DMSO	131 131 118 ( 127 ± 8 )	3 11 7 ( 7 ± 4 )	32 25 29 ( 29 ± 4 )	29 32 25 ( 29 ± 4 )	8 9 8 ( 8 ± 1 )	
	1.25	Not Tested	Not Tested	Not Tested	42 43 32 ( 39 ± 6 )	Not Tested	
	2.5	122 148 143 ( 138 ± 14 )	6 5 8 ( 6 ± 2 )	32 34 28 ( 31 ± 3 )	58 44 42 ( 48 ± 9 )	10 11 8 ( 10 ± 2 )	
	5	113 113 134 ( 120 ± 12 )	3 5 8 ( 5 ± 3 )	44 22 43 ( 36 ± 12 )	68 68 44 ( 60 ± 14 )	10 13 13 ( 12 ± 2 )	
	10	139 154 124 ( 139 ± 15 )	6 3 7 ( 5 ± 2 )	57 42 40 ( 46 ± 9 )	40 41 50 ( 44 ± 6 )	22 14 17 ( 18 ± 4 )	
	20	108 105 121 ( 111 ± 9 )	4 7 8 ( 6 ± 2 )	48 49 52 ( 50 ± 2 )	39 39 51 ( 43 ± 7 )	18 22 18 ( 19 ± 2 )	
	40	54 * 65 * 77 * ( 65 ± 12 )	3 * 2 * 3 * ( 3 ± 1 )	37 * 41 * 46 * ( 41 ± 5 )	39 * 30 * 26 * ( 32 ± 7 )	15 12 20 ( 16 ± 4 )	
	80	0 ** 0 ** 0 ** ( 0 ± 0 )	0 ** 0 ** 0 ** ( 0 ± 0 )	16 * 31 * 32 * ( 26 ± 9 )	Not Tested	1 * 0 * 0 * ( 0 ± 1 )	
陽性 対照	S9 mix 非存在下	名 称	AF-2	NaN <sub>3</sub>	AF-2	AF-2	9AA
		用量 (μg/plate)	0.01	0.5	0.02	0.1	80
		コロニー数/plate	400 405 407 ( 404 ± 4 )	222 205 228 ( 218 ± 12 )	305 351 367 ( 341 ± 32 )	512 489 458 ( 486 ± 27 )	392 398 375 ( 388 ± 12 )
	S9 mix 存在下	名 称	2AA	2AA	2AA	2AA	2AA
		用量 (μg/plate)	1	2	10	0.5	2
		コロニー数/plate	645 684 633 ( 654 ± 27 )	161 169 151 ( 160 ± 9 )	235 221 223 ( 226 ± 8 )	501 552 517 ( 523 ± 26 )	208 189 198 ( 198 ± 10 )

a) ( ) 内の数値は3枚のプレートの平均値±標準偏差

b) 陽性対照物質の名称

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

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

9AA: 9-Aminoacridine hydrochloride hydrate

2AA: 2-Aminoanthracene

c) DMSO: ジメチルスルホキシド

d) \*: プレート上のバックグラウンドの菌の生育が陰性対照群のそれと比較して明らかに阻害されているもの。

\*\*: プレート上のバックグラウンドの菌の生育が被験物質により阻害され、バックグラウンドの菌が死滅し、肉眼的に微小コロニーを認めるもの。なお、この場合は、復帰変異コロニー数を「0」とした。