

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 (IUPAC命名法による)	2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン		
別名	1,1-(1,1dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene		
C A S 番号	6362-80-7		
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)			
分子量	236.36		
試験に供した新規化学物質の純度	96.97%		
試験に供した新規化学物質のLot No.	412220		
不純物の名称及び含有率	2,4-Diphenyl-4-methyl-2-pentene	2.54%	
	1,1,3-Trimethyl-3-phenylindan	0.24%	
	α-MS	0.07%	
蒸気圧	11 Pa (170°C)		
対水溶解度	10 ppm		
1-オクタノール/水分配係数	—		
融点	-82°C		
沸点	310°C		
常温における性状	無色透明の液体でスチレン臭		
安定性	常温・常圧で安定		
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	DMSO	482.4 mg/mL以上*	**
その他	* : 試験施設にて溶解度を確認 ** : 482.4 mg/mL DMSO溶液に発熱, 発泡は認められず.		

[備考] 物理化学的性状は、可能な限り記入すること。

- 「蒸気圧」の欄には、被験物質の蒸気圧を記入すること。
- 「安定性」の欄には、温度、光等に対する安定性を記入すること。
- 「溶媒に対する溶解度等」の欄には、被験物質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すること。

2. 試験に用いた菌株

菌株名	入手先	入手年月日
<i>Salmonella typhimurium</i> TA 98	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター	1996年 10月 18日
<i>Salmonella typhimurium</i> TA 100	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター	1996年 10月 18日
<i>Salmonella typhimurium</i> TA 1535	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター	1995年 2月 25日
<i>Salmonella typhimurium</i> TA 1537	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター	1995年 2月 25日
<i>Escherichia coli</i> WP2uvrA	中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター	1995年 2月 25日

3. S9 mix

(1) S9の入手法等 (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	2004年 10月 1日製造
購入の場合のLot No.	04100107
保存温度	-80 °C

(2) S9の調製方法

使用動物		誘導物質	
種・系統	ラット; Crj:CD (SD)	名 称	Phenobarbital (PB) 5,6-Benzoflavone (BF)
性	雄	投与方法	ip.
週令	7週	投与期間及び投与量	1日目 PB 0.03 g/kg 2,3,4日目 PB 0.06 g/kg 3日目 BF 0.08 g/kg
体重	210.5 ± 8.8 g	(g / kg 体重)	

(3) S9 mixの組成

成分	S9 mix 1mL中の量	成分	S9 mix 1mL中の量
S9	0.1 mL	NADPH	4 μ mol
MgCl ₂	8 μ mol	NADH	4 μ mol
KCl	33 μ mol	Na-リン酸緩衝液	100 μ mol
グルコース-6-リン酸	5 μ mol	その他 (注射用水)	0.9 mL

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○で囲むこと。)

使用溶媒	名称	製造元	Lot No.	グレード	純度 (%)
	ジメチルスルホキシド	株式会社同仁化学研究所	PU140	紫外部吸収スペクトル用	100.0
溶媒選択の理由	ジメチルスルホキシド(DMSO)は、細菌を用いる復帰突然変異試験で一般的に用いられており、被験物質が容易に溶解するため。				
被験物質溶液の性状	<input checked="" type="radio"/> 溶解 <input type="radio"/> 懸濁 <input type="radio"/> その他 ()				
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	— 時間 — 分 — °C 用量設定試験, 本試験 (I), 本試験 (II) とも用時調製				
純度換算の有無	有 (換算計数:) <input checked="" type="radio"/> 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.
	OXOID NUTRIENT BROTH No.2	OXOID Ltd.	298714
前 培 養 時 間	9 時間		
培養容器 (形状・容量)	形状: L字管 容量: 約 40 mL		
培 養 液 量	10 mL	接 種 菌 量	20 µL

(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 (×10 ⁹ /mL)	用量設定試験	3.1	4.1	5.2	3.5	2.6
	本 試 験 (I)	3.1	4.2	5.2	3.6	2.6
	本 試 験 (II)	3.1	4.2	5.2	3.6	2.6
測 定 方 法 (いずれかを○で囲むこと。)	<input checked="" type="radio"/> 1. O. D. 値よりの換算 <input type="radio"/> 2. 段階希釈 <input type="radio"/> 3. その他 ()					

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	2004年 11月 16日製造
購入の場合の Lot No.	ANI990KT
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.40127

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
<p>判定の理由</p> <p>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。</p> <p>2回実施した本試験には再現性が認められた。</p> <p>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。</p> <p>以上の結果より、本被験物質は陰性と判定した。</p>		

(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

<p>[用量設定理由]</p> <p>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。</p> <p>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及びTA1535では9.77, 19.5, 39.1, 78.1, 156.3及び312.5 µg/plate, WP2uvrAでは156.3, 312.5, 625, 1250, 2500及び5000 µg/plate, TA98及びTA1537では2.44, 4.88, 9.77, 19.5, 39.1及び78.1 µg/plateとした。S9 mix添加の場合、TA100では39.1, 78.1, 156.3, 312.5, 625及び1250 µg/plate, TA1535及びWP2uvrAでは156.3, 312.5, 625, 1250, 2500及び5000 µg/plate, TA98では9.77, 19.5, 39.1, 78.1, 156.3及び312.5 µg/plate, TA1537では2.44, 4.88, 9.77, 19.5, 39.1及び78.1 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。</p>
--

(別表 1-1)

試験結果表

被験物質の名称：2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン (用量設定試験)

試験実施期間		2005年 2月 7日 より					2005年 2月 10日	
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	TA98	TA1537		
-S9 mix	陰性対照	111 (111)	10 (10)	51 (51)	19 (19)	13 (13)		
	0.305	136 (136)	17 (17)	48 (48)	17 (17)	3 (3)		
	1.22	146 (146)	8 (8)	46 (46)	9 (9)	6 (6)		
	4.88	125 (125)	16 (16)	35 (35)	17 (17)	9 (9)		
	19.5	118 (118)	13 (13)	47 (47)	20 (20)	13 (13)		
	78.1	137 (137)	17 (17)	44 (44)	13* (13)	14* (14)		
	312.5	114* (114)	10* (10)	33 (33)	22* (22)	8* (8)		
	1250#	126* (126)	13* (13)	49 (49)	16* (16)	7* (7)		
	5000#	125* (125)	16* (16)	48* (48)	22* (22)	6* (6)		
+S9 mix	陰性対照	146 (146)	9 (9)	41 (41)	29 (29)	20 (20)		
	0.305	137 (137)	16 (16)	36 (36)	26 (26)	15 (15)		
	1.22	138 (138)	16 (16)	44 (44)	31 (31)	18 (18)		
	4.88	154 (154)	14 (14)	49 (49)	32 (32)	19 (19)		
	19.5	127 (127)	11 (11)	46 (46)	29 (29)	21 (21)		
	78.1	137 (137)	17 (17)	40 (40)	28 (28)	19* (19)		
	312.5	139 (139)	7 (7)	42 (42)	17* (17)	20* (20)		
	1250	123* (123)	12 (12)	44 (44)	35* (35)	10* (10)		
	5000#	137* (137)	12* (12)	36* (36)	27* (27)	4* (4)		
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 (μg/プレート)	0.01	0.5	0.01	0.1	80	
		コロニー数/プレート	531 (531)	628 (628)	157 (157)	485 (485)	571 (571)	
	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	957 (957)	312 (312)	843 (843)	352 (352)	187 (187)	

【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：2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン (本試験 I)

試験実施期間		2005年 2月 21日 より			2005年 2月 24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 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537	
-S9 mix	陰性対照	117 118 143 (126 \pm 14.7)	12 17 19 (16 \pm 3.6)	43 45 46 (45 \pm 1.5)	13 19 22 (18 \pm 4.6)	13 14 20 (16 \pm 3.8)	
	2.44	/	/	/	16 21 27 (21 \pm 5.5)	17 19 24 (20 \pm 3.6)	
	4.88	/	/	/	20 25 28 (24 \pm 4.0)	19 25 28 (24 \pm 4.6)	
	9.77	97 104 111 (104 \pm 7.0)	15 18 24 (19 \pm 4.6)	/	16 20 20 (19 \pm 2.3)	16 20 23 (20 \pm 3.5)	
	19.5	114 116 130 (120 \pm 8.7)	20 20 25 (22 \pm 2.9)	/	17 19 19 (18 \pm 1.2)	18 20 29 (22 \pm 5.9)	
	39.1	100 100 103 (101 \pm 1.7)	13 13 17 (14 \pm 2.3)	/	20* 21* 21* (21 \pm 0.6)	21* 22* 23* (22 \pm 1.0)	
	78.1	97 105 118 (107 \pm 10.6)	12 14 18 (15 \pm 3.1)	/	15* 19* 27* (20 \pm 6.1)	15* 17* 24* (19 \pm 4.7)	
	156.3	88* 101* 104* (98 \pm 8.5)	11* 16* 19* (15 \pm 4.0)	44 50 60 (51 \pm 8.1)	/	/	
	312.5	90* 109* 109* (103 \pm 11.0)	15* 16* 17* (16 \pm 1.0)	39 47 51 (46 \pm 6.1)	/	/	
	625	/	/	37 51 54 (47 \pm 9.1)	/	/	
	1250#	/	/	54 58 67 (60 \pm 6.7)	/	/	
	2500#	/	/	38 41 44 (41 \pm 3.0)	/	/	
	5000#	/	/	46* 55* 61* (54 \pm 7.5)	/	/	
	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
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			470 544 548 (521 \pm 43.9)	578 604 614 (599 \pm 18.6)	165 168 171 (168 \pm 3.0)	401 425 441 (422 \pm 20.1)	339 393 481 (404 \pm 71.7)
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.

(別表1-3)

試験結果表

被験物質の名称：2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン (本試験I)

試験実施期間		2005年 2月 21日 より			2005年 2月 24日		
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	TA98	TA1537	
+S9 mix	陰性対照	123 130 145 (133±11.2)	16 17 19 (17±1.5)	34 42 60 (45±13.3)	29 36 41 (35±6.0)	20 21 21 (21±0.6)	
	2.44	/	/	/	/	21 33 36 (30±7.9)	
	4.88	/	/	/	/	28 33 38 (33±5.0)	
	9.77	/	/	/	25 37 44 (35±9.6)	24 29 32 (28±4.0)	
	19.5	/	/	/	22 26 27 (25±2.6)	24 30 32 (29±4.2)	
	39.1	108 126 131 (122±12.1)	/	/	36 36 42 (38±3.5)	25 26 29 (27±2.1)	
	78.1	122 123 128 (124±3.2)	/	/	35 36 41 (37±3.2)	30* 32* 33* (32±1.5)	
	156.3	118 124 124 (122±3.5)	13 18 20 (17±3.6)	43 51 53 (49±5.3)	29 30 41 (33±6.7)	/	
	312.5	101 111 114 (109±6.8)	9 10 14 (11±2.6)	41 46 51 (46±5.0)	19* 26* 35* (27±8.0)	/	
	625	98* 101* 114* (104±8.5)	18 18 21 (19±1.7)	28 37 58 (41±15.4)	/	/	
	1250	82* 86* 97* (88±7.8)	7 13 18 (13±5.5)	42 45 54 (47±6.2)	/	/	
	2500#	/	14* 22* 27* (21±6.6)	51 56 57 (55±3.2)	/	/	
	5000#	/	15* 17* 19* (17±2.0)	42* 53* 69* (55±13.6)	/	/	
	陽性対照	名称	/	/	/	/	/
用量 (μg/プレート)		/	/	/	/	/	
コロニー数/プレート		/	/	/	/	/	
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	748 777 835 (787±44.3)	303 330 367 (333±32.1)	746 759 924 (810±99.2)	364 381 385 (377±11.2)	134 142 165 (147±16.1)	

[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。

2AA: 2-Aminoanthracene.

(別表1-4)

試験結果表

被験物質の名称：2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン (本試験II)

試験実施期間		2005年 2月 28日 より			2005年 3月 3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	119 119 124 (121 \pm 2.9)	11 12 13 (12 \pm 1.0)	42 49 54 (48 \pm 6.0)	20 21 21 (21 \pm 0.6)	10 16 19 (15 \pm 4.6)	
	2.44	/	/	/	12 18 19 (16 \pm 3.8)	20 22 25 (22 \pm 2.5)	
	4.88	/	/	/	17 23 30 (23 \pm 6.5)	25 26 28 (26 \pm 1.5)	
	9.77	106 114 120 (113 \pm 7.0)	14 16 19 (16 \pm 2.5)	/	19 21 24 (21 \pm 2.5)	18 20 24 (21 \pm 3.1)	
	19.5	126 127 130 (128 \pm 2.1)	13 13 16 (14 \pm 1.7)	/	16 22 25 (21 \pm 4.6)	17 21 21 (20 \pm 2.3)	
	39.1	118 136 137 (130 \pm 10.7)	12 14 19 (15 \pm 3.6)	/	20* 22* 25* (22 \pm 2.5)	20* 21* 27* (22 \pm 3.8)	
	78.1	118 120 122 (120 \pm 2.0)	10 14 17 (14 \pm 3.5)	/	18* 21* 25* (21 \pm 3.5)	20* 23* 27* (23 \pm 3.5)	
	156.3	119* 128* 134* (127 \pm 7.5)	11* 12* 15* (13 \pm 2.1)	50 61 63 (58 \pm 7.0)	/	/	
	312.5	97* 109* 118* (108 \pm 10.5)	9* 11* 12* (11 \pm 1.5)	47 55 57 (53 \pm 5.3)	/	/	
	625	/	/	51 63 63 (59 \pm 6.9)	/	/	
	1250#	/	/	53 64 72 (63 \pm 9.5)	/	/	
	2500#	/	/	62 69 76 (69 \pm 7.0)	/	/	
	5000#	/	/	56* 58* 62* (59 \pm 3.1)	/	/	
	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	0.01	0.1	80	
コロニー数/プレート		539 549 595 (561 \pm 29.9)	588 604 621 (604 \pm 16.5)	153 169 174 (165 \pm 11.0)	377 387 459 (408 \pm 44.7)	377 435 482 (431 \pm 52.6)	
名称		/	/	/	/	/	
S9 mixを必要とするもの	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.

(別表 1-5)

試験結果表

被験物質の名称：2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテン (本試験Ⅱ)

試験実施期間		2005年 2月 28日 より 2005年 3月 3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
+S9 mix	陰性対照	107 116 140 (121 \pm 17.1)	10 12 13 (12 \pm 1.5)	48 50 52 (50 \pm 2.0)	30 37 38 (35 \pm 4.4)	20 20 27 (22 \pm 4.0)					
	2.44									26 31 32 (30 \pm 3.2)	
	4.88									23 33 35 (30 \pm 6.4)	
	9.77							29 31 32 (31 \pm 1.5)		25 30 37 (31 \pm 6.0)	
	19.5							28 32 37 (32 \pm 4.5)		32 34 41 (36 \pm 4.7)	
	39.1	144 155 164 (154 \pm 10.0)						33 35 42 (37 \pm 4.7)		25 28 36 (30 \pm 5.7)	
	78.1	128 151 159 (146 \pm 16.1)						35 39 39 (38 \pm 2.3)		31* 34* 37* (34 \pm 3.0)	
	156.3	115 136 141 (131 \pm 13.8)	8 12 19 (13 \pm 5.6)	47 53 61 (54 \pm 7.0)	29 38 40 (36 \pm 5.9)						
	312.5	123 131 142 (132 \pm 9.5)	8 10 11 (10 \pm 1.5)	60 64 67 (64 \pm 3.5)	25* 38* 38* (34 \pm 7.5)						
	625	109* 137* 151* (132 \pm 21.4)	9 10 12 (10 \pm 1.5)	50 56 60 (55 \pm 5.0)							
	1250	116* 124* 137* (126 \pm 10.6)	7 9 16 (11 \pm 4.7)	45 51 61 (52 \pm 8.1)							
	2500#		10* 11* 11* (11 \pm 0.6)	34 46 47 (42 \pm 7.2)							
	5000#		7* 10* 12* (10 \pm 2.5)	48* 56* 59* (54 \pm 5.7)							
	陽性対照	S9 mixを必要としないもの	名称								
用量 ($\mu\text{g}/\text{プレート}$)											
コロニー数/プレート											
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	818 903 914 (878 \pm 52.5)	297 317 338 (317 \pm 20.5)	822 832 910 (855 \pm 48.2)	375 376 399 (383 \pm 13.6)	147 153 162 (154 \pm 7.5)				

[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。

2AA: 2-Aminoanthracene.

被験物質名：2,4-ジフェニル4-メチル-1-ペンテン (CAS No.6362-80-7)

試験系：*Salmonella typhimurium* : TA100, TA98, TA1535, TA1537

Escherichia coli : WP2uvrA

試験委託者：厚生労働省 医薬食品局審査管理課 化学物質安全対策室

東京都千代田区霞が関1丁目2番2号

試験施設：株式会社日本バイオリサーチセンター 羽島研究所

岐阜県羽島市福寿町間島6丁目104番地

試験目的：2,4-ジフェニル4-メチル-1-ペンテンの細菌を用いる復帰突然変異試験を行い、その遺伝子突然変異誘発性の有無について検討した。

準拠したガイドライン：

「OECD化学品テストガイドライン、471細菌を用いる復帰突然変異試験」(1997年7月21日採択)並びに平成15年11月21日付(薬食発第1121002号：厚生労働省医薬食品局長、平成15・11・13製局第2号：経済産業省製造産業局長、環保企発第031121002号：環境省総合環境政策局長連名通知)「新規化学物質等に係る試験の方法について」の別添「化学物質の慢性毒性試験、生殖能及び後世代に及ぼす影響に関する試験、催奇形性試験、変異原性試験、がん原性試験、生体内運命に関する試験及び薬理学的試験」

遵守したGLP：新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準(平成15年11月21日、薬食発第1121003号、平成15・11・17製局第3号、環保企発第031121004号)並びにOECD PRINCIPLES OF GOOD LABORATORY PRACTICE(OECD化学物質の安全性試験の実施に関する基準)

試験開始日：2005年 1月 31日

試験終了日：2006年 11月 13日

試験実施日：用量設定試験

菌株の前培養実施日 (実験開始日) 2005年 2月 7日

試験の実施日 2005年 2月 8日

判定日 2005年 2月 10日

本試験(I)

菌株の前培養実施日 2005年 2月 21日

試験の実施日 2005年 2月 22日

判定日 2005年 2月 24日

要 約

2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンの遺伝子突然変異誘発性の有無を, *Salmonella typhimurium*のTA100, TA98, TA1535及びTA1537並びに*Escherichia coli*のWP2*uvrA*を用い, プレインキューベーション法による復帰突然変異試験により検討した. 試験は, S9 mix無添加とS9 mix添加の場合について実施した.

2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンの2.44~5000 µg/plate濃度における復帰変異コロニー数は, 本試験(I)及び本試験(II)において, いずれの菌株ともS9 mix無添加及びS9 mix添加の場合にかかわらず, 陰性対照の2倍未満であった. 陽性対照物質は, S9 mix無添加及びS9 mix添加の場合のいずれにおいても, 明らかな陽性結果を示した. 本試験(I)及び本試験(II)の結果には再現性が認められた.

以上の結果, 当試験の条件下において, 2,4-ジフェニル-4-メチル-1-ペンテンに遺伝子突然変異誘発性はないと判定する.

Table 1. Reverse mutation test of 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene in bacteria (dose-finding test)

With(+) or without(-) S9 mix	Compound concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertants (number of colonies/plate)				
		Base-pair substitution type			Frameshift type	
		TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
S9 mix (-)	Negative control	111	10	51	19	13
	0.305	136	17	48	17	3
	1.22	146	8	46	9	6
	4.88	125	16	35	17	9
	19.5	118	13	47	20	13
	78.1	137	17	44	13*	14*
	312.5	114*	10*	33	22*	8*
	1250#	126*	13*	49	16*	7*
	5000#	125*	16*	48*	22*	6*
S9 mix (+)	Negative control	146	9	41	29	20
	0.305	137	16	36	26	15
	1.22	138	16	44	31	18
	4.88	154	14	49	32	19
	19.5	127	11	46	29	21
	78.1	137	17	40	28	19*
	312.5	139	7	42	17*	20*
	1250	123*	12	44	35*	10*
	5000##	137*	12*	36*	27*	4*
Positive control not requiring S9 mix	Name	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	9AA
	Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
	Number of colonies/plate	531	628	157	485	571
Positive control requiring S9 mix	Name	2AA				
	Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	1	2	10	0.5	2
	Number of colonies/plate	957	312	843	352	187

Negative control : Dimethylsulfoxide.

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

2AA : 2-aminoanthracene.

* : Bacterial growth inhibition was observed.

: Clear oily precipitations were observed on the surface of agar plate.

: White fine precipitations were observed on the surface of agar plate.

Table 2-1. Reverse mutation test of 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene in bacteria (mutagenicity test I : -S9 mix)

Compound concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertants (number of colonies/plate)				
	Base-pair substitution type			Frameshift type	
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
Negative control	117, 118, 143 (126 \pm 14.7)	12, 17, 19 (16 \pm 3.6)	43, 45, 46 (45 \pm 1.5)	13, 19, 22 (18 \pm 4.6)	13, 14, 20 (16 \pm 3.8)
2.44	/	/	/	16, 21, 27 (21 \pm 5.5)	17, 19, 24 (20 \pm 3.6)
4.88	/	/	/	20, 25, 28 (24 \pm 4.0)	19, 25, 28 (24 \pm 4.6)
9.77	97, 104, 111 (104 \pm 7.0)	15, 18, 24 (19 \pm 4.6)	/	16, 20, 20 (19 \pm 2.3)	16, 20, 23 (20 \pm 3.5)
19.5	114, 116, 130 (120 \pm 8.7)	20, 20, 25 (22 \pm 2.9)	/	17, 19, 19 (18 \pm 1.2)	18, 20, 29 (22 \pm 5.9)
39.1	100, 100, 103 (101 \pm 1.7)	13, 13, 17 (14 \pm 2.3)	/	20*, 21*, 21* (21 \pm 0.6)	21*, 22*, 23* (22 \pm 1.0)
78.1	97, 105, 118 (107 \pm 10.6)	12, 14, 18 (15 \pm 3.1)	/	15*, 19*, 27* (20 \pm 6.1)	15*, 17*, 24* (19 \pm 4.7)
156.3	88*, 101*, 104* (98 \pm 8.5)	11*, 16*, 19* (15 \pm 4.0)	44, 50, 60 (51 \pm 8.1)	/	/
312.5	90*, 109*, 109* (103 \pm 11.0)	15*, 16*, 17* (16 \pm 1.0)	39, 47, 51 (46 \pm 6.1)	/	/
625	/	/	37, 51, 54 (47 \pm 9.1)	/	/
1250#	/	/	54, 58, 67 (60 \pm 6.7)	/	/
2500#	/	/	38, 41, 44 (41 \pm 3.0)	/	/
5000#	/	/	46*, 55*, 61* (54 \pm 7.5)	/	/
Positive control					
Name	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	9AA
Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
Number of colonies/plate	470, 544, 548 (521 \pm 43.9)	578, 604, 614 (599 \pm 18.6)	165, 168, 171 (168 \pm 3.0)	401, 425, 441 (422 \pm 20.1)	339, 393, 481 (404 \pm 71.7)

Negative control : Dimethylsulfoxide.

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

() : Mean \pm S.D.

* : Bacterial growth inhibition was observed.

: Clear oily precipitations were observed on the surface of agar plate.

Table 2-2. Reverse mutation test of 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene in bacteria (mutagenicity test I : +S9 mix)

Compound concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertants (number of colonies/plate)				
	Base-pair substitution type			Frameshift type	
	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
Negative control	123 , 130 , 145 (133 \pm 11.2)	16 , 17 , 19 (17 \pm 1.5)	34 , 42 , 60 (45 \pm 13.3)	29 , 36 , 41 (35 \pm 6.0)	20 , 21 , 21 (21 \pm 0.6)
2.44	/	/	/	/	21 , 33 , 36 (30 \pm 7.9)
4.88	/	/	/	/	28 , 33 , 38 (33 \pm 5.0)
9.77	/	/	/	25 , 37 , 44 (35 \pm 9.6)	24 , 29 , 32 (28 \pm 4.0)
19.5	/	/	/	22 , 26 , 27 (25 \pm 2.6)	24 , 30 , 32 (29 \pm 4.2)
39.1	108 , 126 , 131 (122 \pm 12.1)	/	/	36 , 36 , 42 (38 \pm 3.5)	25 , 26 , 29 (27 \pm 2.1)
78.1	122 , 123 , 128 (124 \pm 3.2)	/	/	35 , 36 , 41 (37 \pm 3.2)	30* , 32* , 33* (32 \pm 1.5)
156.3	118 , 124 , 124 (122 \pm 3.5)	13 , 18 , 20 (17 \pm 3.6)	43 , 51 , 53 (49 \pm 5.3)	29 , 30 , 41 (33 \pm 6.7)	/
312.5	101 , 111 , 114 (109 \pm 6.8)	9 , 10 , 14 (11 \pm 2.6)	41 , 46 , 51 (46 \pm 5.0)	19* , 26* , 35* (27 \pm 8.0)	/
625	98* , 101* , 114* (104 \pm 8.5)	18 , 18 , 21 (19 \pm 1.7)	28 , 37 , 58 (41 \pm 15.4)	/	/
1250	82* , 86* , 97* (88 \pm 7.8)	7 , 13 , 18 (13 \pm 5.5)	42 , 45 , 54 (47 \pm 6.2)	/	/
2500##	/	14* , 22* , 27* (21 \pm 6.6)	51 , 56 , 57 (55 \pm 3.2)	/	/
5000##	/	15* , 17* , 19* (17 \pm 2.0)	42* , 53* , 69* (55 \pm 13.6)	/	/
Positive control					
Name	2AA				
Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	1	2	10	0.5	2
Number of colonies/plate	748 , 777 , 835 (787 \pm 44.3)	303 , 330 , 367 (333 \pm 32.1)	746 , 759 , 924 (810 \pm 99.2)	364 , 381 , 385 (377 \pm 11.2)	134 , 142 , 165 (147 \pm 16.1)

Negative control : Dimethylsulfoxide.

2AA : 2-Aminoanthracene.

() : Mean \pm S.D.

* : Bacterial growth inhibition was observed.

: White fine precipitations were observed on the surface of agar plate.

Table 3-1. Reverse mutation test of 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene in bacteria (mutagenicity test II : -S9 mix)

Compound concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertants (number of colonies/plate)				
	Base-pair substitution type			Frameshift type	
	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
Negative control	119, 119, 124 (121 \pm 2.9)	11, 12, 13 (12 \pm 1.0)	42, 49, 54 (48 \pm 6.0)	20, 21, 21 (21 \pm 0.6)	10, 16, 19 (15 \pm 4.6)
2.44	/	/	/	12, 18, 19 (16 \pm 3.8)	20, 22, 25 (22 \pm 2.5)
4.88	/	/	/	17, 23, 30 (23 \pm 6.5)	25, 26, 28 (26 \pm 1.5)
9.77	106, 114, 120 (113 \pm 7.0)	14, 16, 19 (16 \pm 2.5)	/	19, 21, 24 (21 \pm 2.5)	18, 20, 24 (21 \pm 3.1)
19.5	126, 127, 130 (128 \pm 2.1)	13, 13, 16 (14 \pm 1.7)	/	16, 22, 25 (21 \pm 4.6)	17, 21, 21 (20 \pm 2.3)
39.1	118, 136, 137 (130 \pm 10.7)	12, 14, 19 (15 \pm 3.6)	/	20*, 22*, 25* (22 \pm 2.5)	20*, 21*, 27* (22 \pm 3.8)
78.1	118, 120, 122 (120 \pm 2.0)	10, 14, 17 (14 \pm 3.5)	/	18*, 21*, 25* (21 \pm 3.5)	20*, 23*, 27* (23 \pm 3.5)
156.3	119*, 128*, 134* (127 \pm 7.5)	11*, 12*, 15* (13 \pm 2.1)	50, 61, 63 (58 \pm 7.0)	/	/
312.5	97*, 109*, 118* (108 \pm 10.5)	9*, 11*, 12* (11 \pm 1.5)	47, 55, 57 (53 \pm 5.3)	/	/
625	/	/	51, 63, 63 (59 \pm 6.9)	/	/
1250#	/	/	53, 64, 72 (63 \pm 9.5)	/	/
2500#	/	/	62, 69, 76 (69 \pm 7.0)	/	/
5000#	/	/	56*, 58*, 62* (59 \pm 3.1)	/	/
Positive control					
Name	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	9AA
Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	0.01	0.5	0.01	0.1	80
Number of colonies/plate	539, 549, 595 (561 \pm 29.9)	588, 604, 621 (604 \pm 16.5)	153, 169, 174 (165 \pm 11.0)	377, 387, 459 (408 \pm 44.7)	377, 435, 482 (431 \pm 52.6)

Negative control : Dimethylsulfoxide.

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

() : Mean \pm S.D.

* : Bacterial growth inhibition was observed.

: Clear oily precipitations were observed on the surface of agar plate.

Table 3-2. Reverse mutation test of 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene in bacteria (mutagenicity test II : +S9 mix)

Compound concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertants (number of colonies/plate)				
	Base-pair substitution type			Frameshift type	
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
Negative control	107, 116, 140 (121 \pm 17.1)	10, 12, 13 (12 \pm 1.5)	48, 50, 52 (50 \pm 2.0)	30, 37, 38 (35 \pm 4.4)	20, 20, 27 (22 \pm 4.0)
2.44	/	/	/	/	26, 31, 32 (30 \pm 3.2)
4.88	/	/	/	/	23, 33, 35 (30 \pm 6.4)
9.77	/	/	/	29, 31, 32 (31 \pm 1.5)	25, 30, 37 (31 \pm 6.0)
19.5	/	/	/	28, 32, 37 (32 \pm 4.5)	32, 34, 41 (36 \pm 4.7)
39.1	144, 155, 164 (154 \pm 10.0)	/	/	33, 35, 42 (37 \pm 4.7)	25, 28, 36 (30 \pm 5.7)
78.1	128, 151, 159 (146 \pm 16.1)	/	/	35, 39, 39 (38 \pm 2.3)	31*, 34*, 37* (34 \pm 3.0)
156.3	115, 136, 141 (131 \pm 13.8)	8, 12, 19 (13 \pm 5.6)	47, 53, 61 (54 \pm 7.0)	29, 38, 40 (36 \pm 5.9)	/
312.5	123, 131, 142 (132 \pm 9.5)	8, 10, 11 (10 \pm 1.5)	60, 64, 67 (64 \pm 3.5)	25*, 38*, 38* (34 \pm 7.5)	/
625	109*, 137*, 151* (132 \pm 21.4)	9, 10, 12 (10 \pm 1.5)	50, 56, 60 (55 \pm 5.0)	/	/
1250	116*, 124*, 137* (126 \pm 10.6)	7, 9, 16 (11 \pm 4.7)	45, 51, 61 (52 \pm 8.1)	/	/
2500##	/	10*, 11*, 11* (11 \pm 0.6)	34, 46, 47 (42 \pm 7.2)	/	/
5000##	/	7*, 10*, 12* (10 \pm 2.5)	48*, 56*, 59* (54 \pm 5.7)	/	/
Positive control					
Name	2AA				
Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	1	2	10	0.5	2
Number of colonies/plate	818, 903, 914 (878 \pm 52.5)	297, 317, 338 (317 \pm 20.5)	822, 832, 910 (855 \pm 48.2)	375, 376, 399 (383 \pm 13.6)	147, 153, 162 (154 \pm 7.5)

Negative control : Dimethylsulfoxide.

2AA : 2-Aminoanthracene.

(): Mean \pm S.D.

* : Bacterial growth inhibition was observed.

: White fine precipitations were observed on the surface of agar plate.

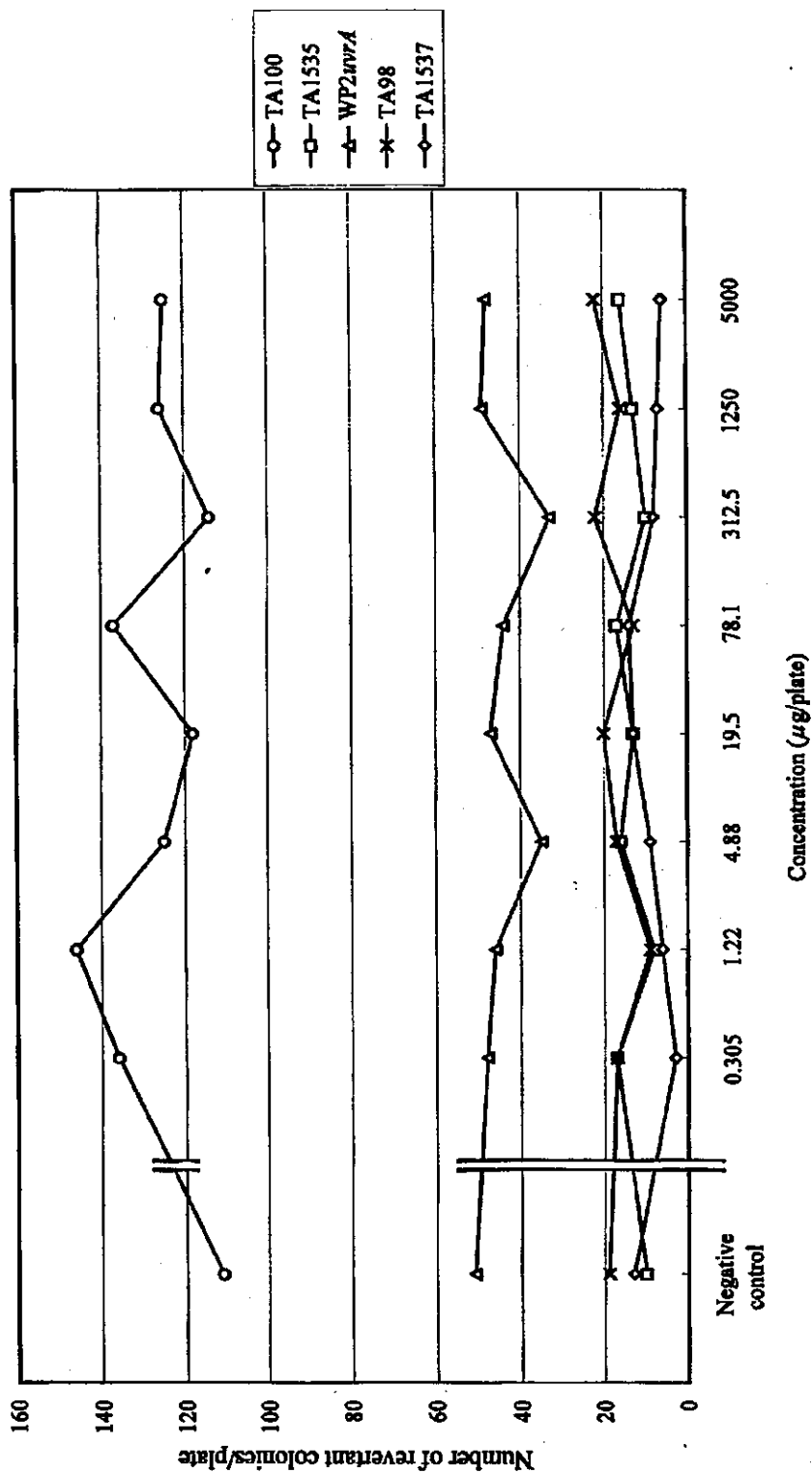


Figure 1-1. Reverse mutation test of 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene in bacteria (dose-finding test: -S9 mix).

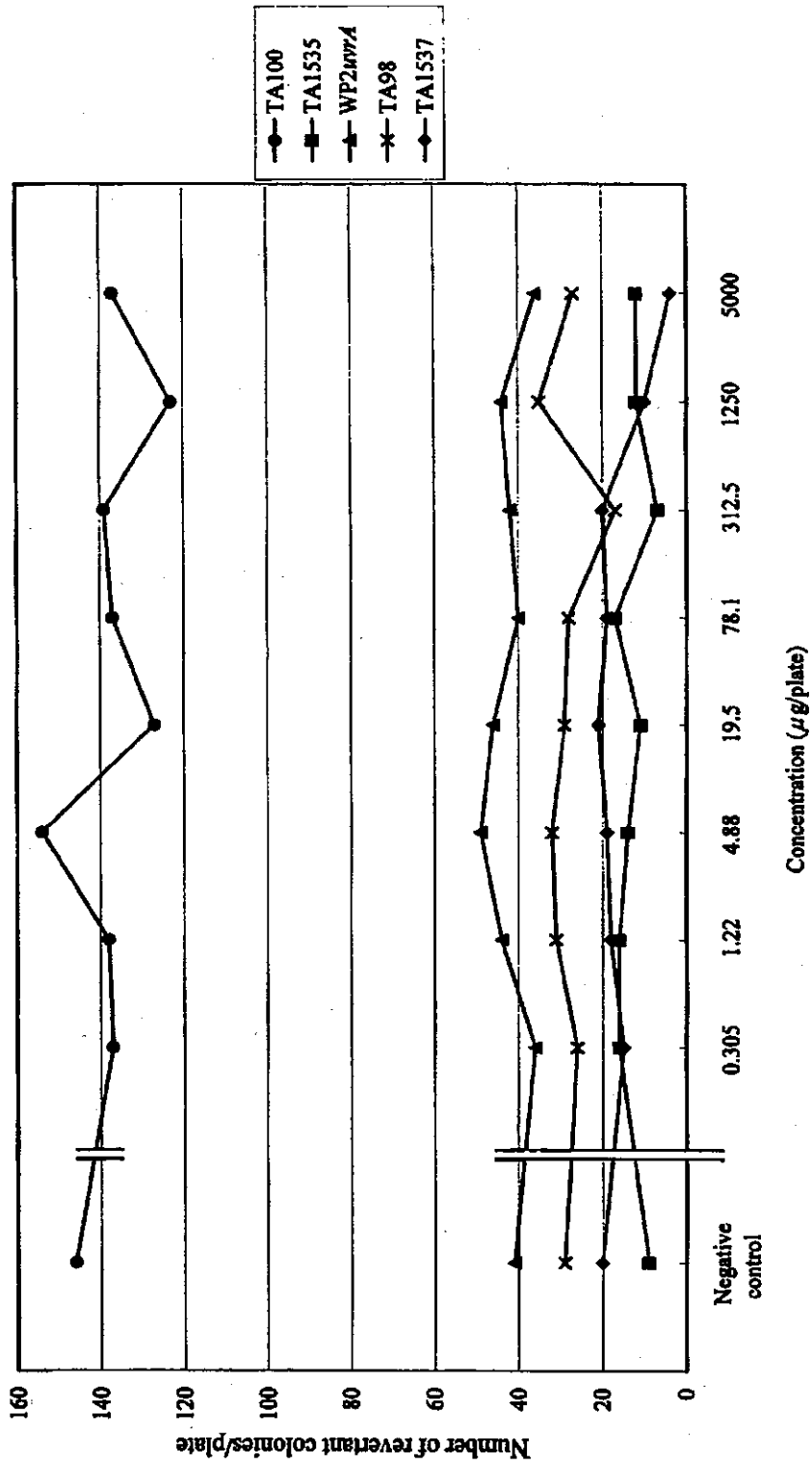


Figure 1-2. Reverse mutation test of 1,1'-(1,1-dimethyl-1,3-propanediyl)bisbenzene in bacteria (dose-finding test: +S9 mix).

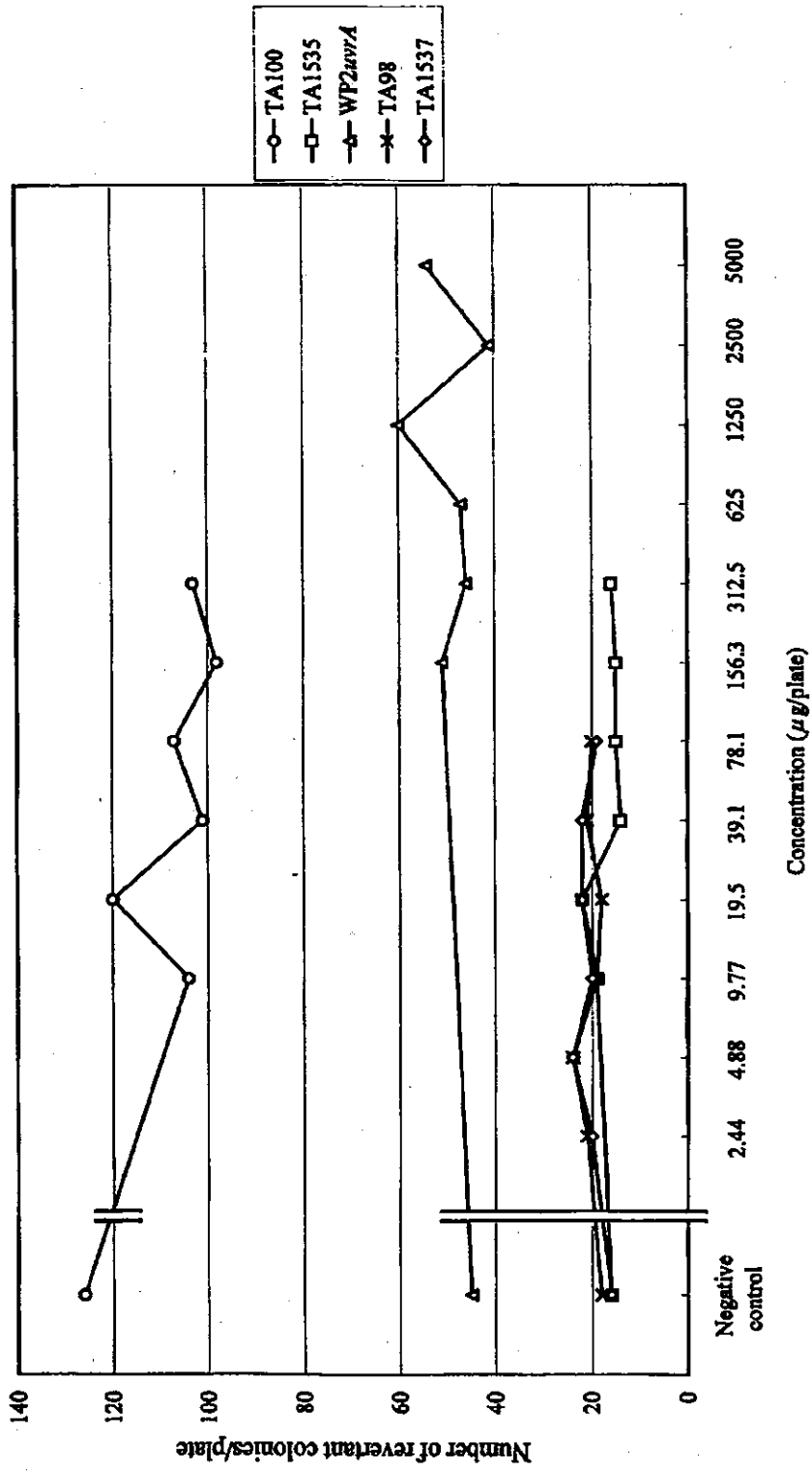


Figure 2-1. Reverse mutation test of 1,1-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene in bacteria (mutagenicity test I: -S9 mix).

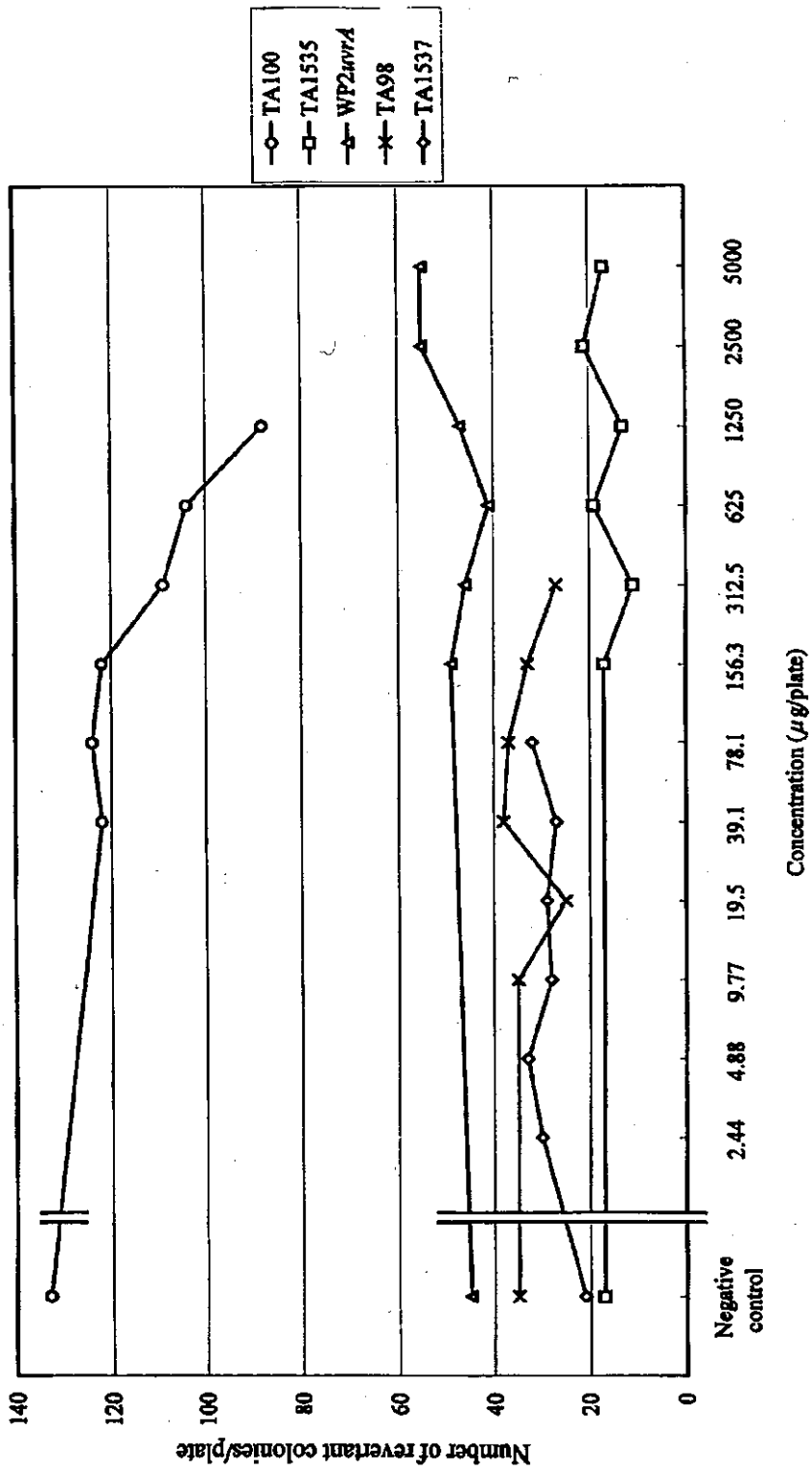


Figure 2-2. Reverse mutation test of 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene in bacteria (mutagenicity test I: +S9 mix).

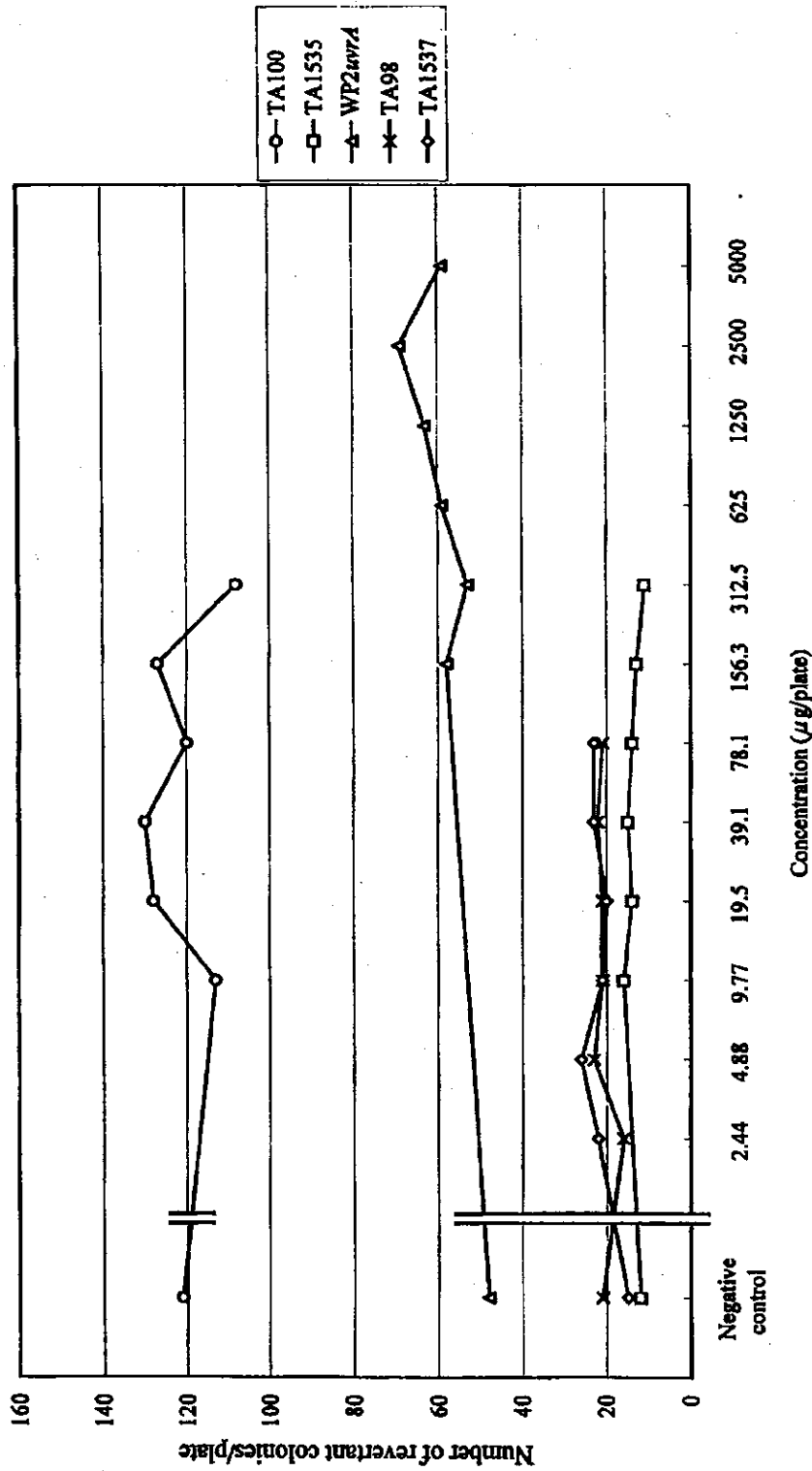


Figure 3-1. Reverse mutation test of 1,1-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene in bacteria (mutagenicity test II: -S9 mix).

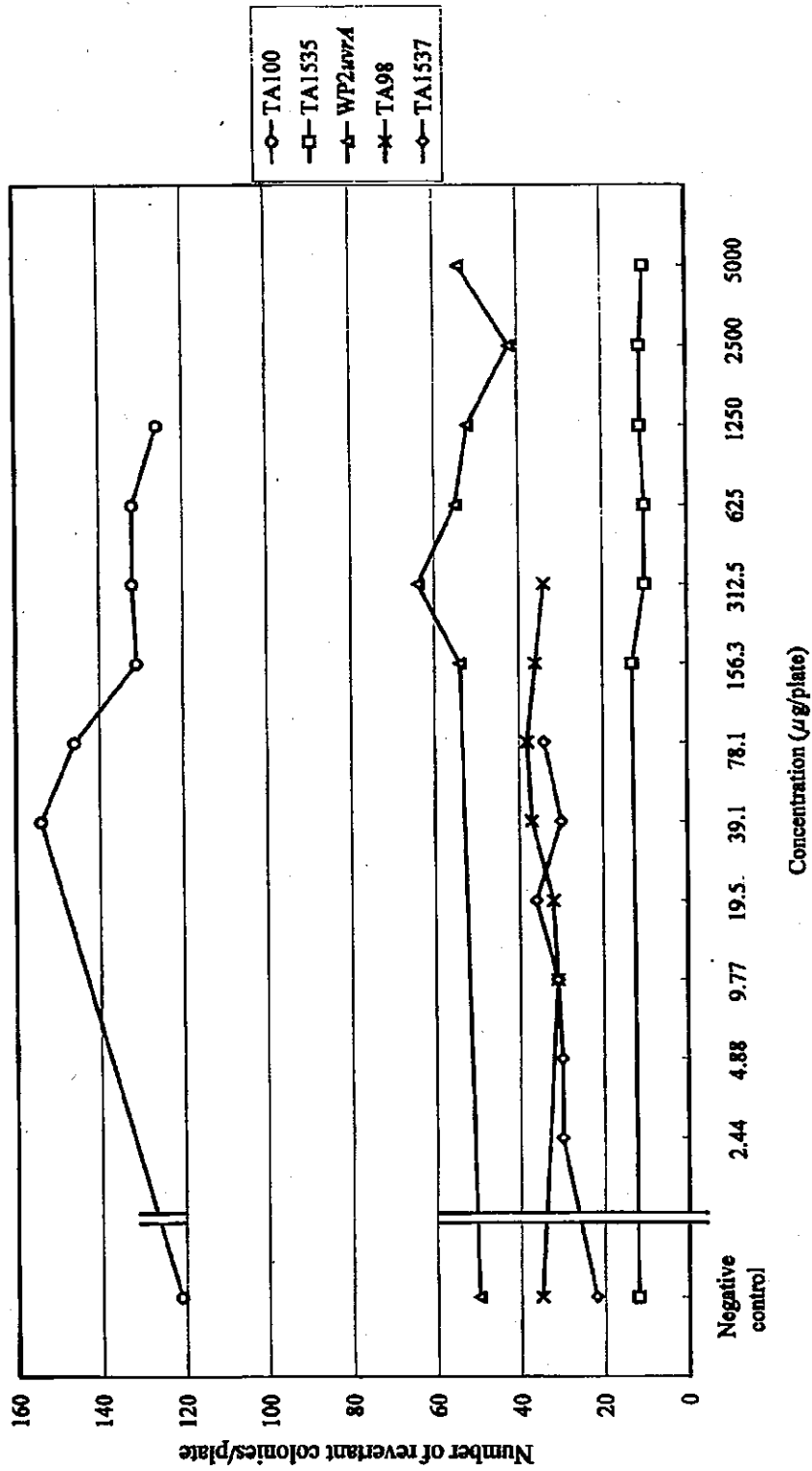


Figure 3-2. Reverse mutation test of 1,1'-(1,1-dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl)bisbenzene in bacteria (mutagenicity test II: +S9 mix).