

4-メチル-1-ペンテンの細菌を用いる復帰変異試験

Reverse Mutation Test of 4-Methyl-1-pentene in Bacteria

要約

4-メチル-1-ペンテンについて、*Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, TA1537および*Escherichia coli* WP2 *uvrA*を用いる復帰変異試験を実施した。

用量設定試験の結果に基づき、本試験ではS9 mix非存在下およびS9 mix存在下ともに、菌の生育阻害がみられない用量が4用量以上含まれるよう公比2で46.9~3000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の7用量を設定した。なお、被験物質には揮発性があることから、各菌株とも用量毎にパウチ袋に入れ密封し静置培養を行った。

本試験を2回実施した結果、各菌株のS9 mix非存在下およびS9 mix存在下のいずれの用量においても、陰性対照値の2倍以上となる復帰変異コロニー数の増加はみられなかった。

以上の結果より、4-メチル-1-ペンテンは変異原性を有しないと判断した。

方法

1. 被験物質

4-メチル-1-ペンテンは沸点が54°Cの無色透明の液体で、水にはほとんど不溶である。被験物質は、三井化学(山口)よりロット番号3B24A(純度98.36%)が提供され、遮光、室温、気密条件で保存した。

被験物質はジメチルスルホキシド(DMSO, 同仁化学研究所)を用いて溶解ならびに希釈し調製した。被験物質調製時に、変色、発熱、発泡はみられなかった。

2. 陽性対照物質

下記の陽性対照物質を用いた。

2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリル

アミド (AF-2:和光純薬工業)

アジ化ナトリウム (NaN_3 :和光純薬工業)

9-アミノアクリジン (9-AA:Aldrich Chemical)

2-アミノアントラセン (2-AA:和光純薬工業)

AF-2, 9-AAおよび2-AAはDMSOに、 NaN_3 は日本薬局方注射用水に溶解し、-20°C以下で凍結保存したものを解凍し使用した。

3. 試験菌株

Salmonella typhimurium TA100, TA1535, TA98, TA1537および*Escherichia coli* WP2 *uvrA*²⁾の5菌株を使用した。これらの菌株は、国立衛生試験所(現 国立疫

薬品食品衛生研究所)より分与された。試験菌株は、-80°Cで凍結保存したものを解凍し使用した。各菌株は、アミノ酸要求性、膜変異*rfa*特性、紫外線感受性、薬剤耐性ならびに陰性対照物質および陽性対照物質での復帰変異コロニー数を検査し、これらの特性が正常に保持されていることを確認した。

試験菌株は、L字型試験管にニュートリエントブロス(OXOID NUTRIENT BROTH No.2)培地 12 mLを入れ、解凍した保存菌を12 μL 接種し、37°Cで10時間往復振盪培養を行った。培養終了時に、菌培養液の660 nmの吸光度を比色計で測定し、生菌数が 1×10^9 cells/mL以上であることを確認した。

4. 培地およびS9 mixの組成

1) 最少グルコース寒天培地

極東製薬工業の最少グルコース寒天培地を用いた。なお、培地1Lあたりの組成は下記の通りである。

硫酸マグネシウム・7水塩	0.2 g
クエン酸・1水塩	2.0 g
リン酸二カリウム・無水塩	10.0 g
リン酸一アンモニウム	1.92 g
水酸化ナトリウム	0.66 g
ブドウ糖	20.0 g
寒天末(OXOID AGAR No.1)	15.0 g

径90 mmのシャーレ1枚あたり30 mLを流して固めたものである。

2) 重層用培地

下記の組成のソフトアガーおよびアミノ酸溶液を調製し、使用時に(A):(B)=10:1の容量比で混合した。*S.typhimurium*にはL-ヒスチジンおよびD-ビオチンのアミノ酸溶液を、*E.coli*にはL-トリプトファンのアミノ酸溶液を使用した。

Bacto Agar(DIFCO)	0.6 w/v%
塩化ナトリウム	0.5 w/v%
L-ヒスチジンおよびD-ビオチン溶液	各々0.5 mmol/L
L-トリプトファン溶液	0.5 mmol/L

5. S9 mix

S9 mixは、S9(キッコーマン)、S9 mix用Cofactor(オリエンタル酵母工業)および日本薬局方注射用水を用いて用時調製した。S9は、購入後-80°C以下で保存し、製造日より6カ月以内に使用した。このS9は、フェノバル

ピタルおよび5,6-ベンゾフラボンの腹腔内投与で酵素誘導したSprague-Dawley系ラットの肝ホモジネートより調製された。

S9 mixの1 mL中の組成は次表の通りである。

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

6. 試験方法

試験は、ブレインキュベーション法によりS9 mix非存在下および存在下で行った。

容量5 mLの小プラスチックチューブを用いて、被験物質調製液あるいは対照物質調製液0.1 mLを、S9 mix非存在下の場合は0.1 mol/L Na-リン酸緩衝液(pH 7.4) 0.5 mLと、S9 mix存在下の場合はS9 mix 0.5 mLと混合した。その混合液に菌培養液0.1 mLを加え、37°C、振幅40 mm、振盪速度100回/分に設定した振盪恒温槽で20分間振盪培養(ブレインキュベーション)した。ブレインキュベーション終了後、重層用培地を2 mL加えて混和し、最少グルコース寒天培地に重層した。平坦な場所で重層用培地を固化させた後、各菌株の各系列の用量毎にパウチ袋に入れ密封し静置培養を行った。37°Cに設定したインキュベーターで48時間の静置培養を行った。

静置培養終了後、各プレートについて被験物質の析出の有無を目視確認し、生育阻害の有無を実体顕微鏡で確認した後、復帰変異コロニー数をコロニーカウンターあるいは実体顕微鏡を用いた目視により計数した。プレート数は、用量設定試験では用量毎に1枚、本試験では用量毎に3枚とし復帰変異コロニー数の平均値±標準偏差をもとめた。

7. 判定基準

被験物質処理群の復帰変異コロニー数の平均値が陰性対照群の2倍以上となり、かつ用量の増加にともなうコロニー数の増加が認められ、その結果に再現性が認められる場合を陽性とした。

結果および考察

用量設定試験を、被験物質の溶媒に対する溶解性に基づき300 μ g/plateを最高用量に公比3の7用量(4.12~3000 μ g/plate)で実施した。その結果、生育阻害がS9 mix非存在下および存在下ともに各菌株の1000 μ g/plate以上あるいは3000 μ g/plateの用量で観察された。また、被験物質の寒天プレート表面での油膜状の析出が全ての用量で観察された。

本試験は、用量設定試験結果に基づき、各菌株のS9 mix非存在下および存在下とも3000 μ g/plateを最高用

量に公比2で7用量(46.9~3000 μ g/plate)を設定し、2回実施した。その結果(Table 1および2)、各菌株のS9 mix非存在下および存在下の被験物質処理群の復帰変異コロニー数の平均値は陰性対照群の2倍未満であり、用量の増加に伴う復帰変異コロニーの増加もみられなかった。生育阻害が、S9 mix非存在下および存在下ともに各菌株の750 μ g/plate以上の用量あるいは1500 μ g/plate以上の用量で観察された。また、被験物質の寒天プレート表面での油膜状の析出が全ての用量で観察された。

陰性対照群の復帰変異コロニー数の平均値は、試験施設の背景データの管理値の範囲内であった。また、陽性対照群の復帰変異コロニー数の平均値は全て陰性対照群の値の2倍以上であった。

以上の結果から、4-メチル-1-ペンテンは、当該試験条件下において試験菌株に対する変異原性を有しないと判断した。

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⁺ reversion in *Escherichia Coli*. *Mutation Res*, 38: 3-32(1978).

連絡先

試験責任者: 河村公太郎
 試験担当者: 二平佳苗, 小森絵美
 ㈱化合物安全性研究所
 〒004-0839 札幌市清田区真栄363番24
 Tel 011-885-5031 Fax 011-885-5313

Correspondence

Authors: Khotaro Kawamura (Study Director)
 Kanae Nihei, Emi Komori
 Safety Research Institute for Chemical
 Compounds
 363-24 Shin-ei Kiyota-ku, Sapporo-shi, 004-0839,
 Japan
 Tel +81-11-885-5031 Fax +81-11-885-5313

Table 1 Mutagenicity of 4-methyl-1-pentene in bacteria (I)

With (+) or without (-) S9 mix	Test substance dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertants (number of colonies/plate, Mean \pm S.D.)														
		Base-pair substitution type									Frameshift type					
		TA100			TA1535			WP2 <i>uvrA</i>			TA98			TA1537		
S9 mix (-)	0	127	116	123	7	8	6	18	16	11	15	13	8	12	8	10
		(122 \pm	6)	(7 \pm	1)	(15 \pm	4)	(12 \pm	4)	(10 \pm	2)
	46.9 †	126	120	117	8	5	9	12	13	17	10	7	12	6	11	12
		(121 \pm	5)	(7 \pm	2)	(16 \pm	3)	(10 \pm	3)	(10 \pm	3)
	93.8 †	122	109	100	6	4	8	18	10	12	10	11	9	12	6	4
		(110 \pm	11)	(6 \pm	2)	(13 \pm	4)	(10 \pm	1)	(7 \pm	4)
	188 †	121	112	87	10	6	7	10	17	14	4	9	5	12	12	12
		(107 \pm	18)	(8 \pm	2)	(14 \pm	4)	(6 \pm	3)	(12 \pm	0)
375 †	120	117	120	4	8	5	20	25	20	7	10	16	8	2	8	
	(119 \pm	2)	(6 \pm	2)	(22 \pm	3)	(11 \pm	5)	(6 \pm	3)	
750 †	70	110	85	3*	7*	0*	14	7	6	13	6	10	6*	8*	8*	
	(88 \pm	20)	(3 \pm	4)	(9 \pm	4)	(10 \pm	4)	(7 \pm	1)	
1500 †	24*	32*	48*	2*	6*	3*	8*	12*	10*	8*	8*	4*	12*	2*	4*	
	(35 \pm	12)	(4 \pm	2)	(10 \pm	2)	(7 \pm	2)	(6 \pm	5)	
3000 †	40*	28*	35*	5*	2*	1*	8*	6*	8*	7*	12*	10*	4*	8*	2*	
	(34 \pm	6)	(3 \pm	2)	(7 \pm	1)	(10 \pm	3)	(5 \pm	3)	
S9 mix (+)	0	136	145	117	8	14	11	20	14	17	26	26	35	8	12	10
		(133 \pm	14)	(11 \pm	3)	(17 \pm	3)	(29 \pm	5)	(10 \pm	2)
	46.9 †	123	126	151	12	13	7	22	17	12	27	22	26	24	14	10
		(133 \pm	15)	(11 \pm	3)	(17 \pm	5)	(25 \pm	3)	(16 \pm	7)
	93.8 †	136	164	150	8	12	7	26	20	25	21	34	32	22	10	18
		(150 \pm	14)	(9 \pm	3)	(24 \pm	3)	(29 \pm	7)	(17 \pm	6)
	188 †	149	160	121	9	6	10	27	12	12	17	22	21	10	18	14
		(143 \pm	20)	(8 \pm	2)	(17 \pm	9)	(20 \pm	3)	(14 \pm	4)
375 †	121	188	132	10	12	10	23	23	18	24	28	27	4	14	10	
	(147 \pm	36)	(11 \pm	1)	(21 \pm	3)	(26 \pm	2)	(9 \pm	5)	
750 †	52	56	78	6*	6*	5*	12	14	12	26	22	19	8*	14*	14*	
	(62 \pm	14)	(6 \pm	1)	(13 \pm	1)	(22 \pm	4)	(12 \pm	3)	
1500 †	49*	59*	60*	7*	8*	7*	12*	9*	12*	21*	18*	17*	8*	12*	20*	
	(56 \pm	6)	(7 \pm	1)	(11 \pm	2)	(19 \pm	2)	(13 \pm	6)	
3000 †	40*	44*	59*	8*	10*	6*	11*	8*	8*	14*	4*	15*	18*	8*	0*	
	(48 \pm	10)	(8 \pm	2)	(9 \pm	2)	(11 \pm	6)	(9 \pm	9)	
Positive control S9 mix (-)	Chemical	AF-2 ^a			NaN ₃ ^b			AF-2			AF-2			9-AA ^c		
	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	0.01			0.5			0.01			0.1			80		
Positive control S9 mix (+)	Chemical	2-AA ^d			2-AA			2-AA			2-AA			2-AA		
	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	1			2			10			0.5			2		
	Number of colonies/plate	1021	1126	824	202	227	176	95	110	106	369	253	301	243	222	219
		(990 \pm	153)	(202 \pm	26)	(104 \pm	8)	(308 \pm	58)	(228 \pm	13)
	Number of colonies/plate	1069	1062	1255	245	213	197	705	604	647	253	264	278	223	283	208
		(1129 \pm	109)	(218 \pm	24)	(652 \pm	51)	(265 \pm	13)	(238 \pm	40)

Negative control: Dimethyl sulfoxide

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

b) NaN₃: Sodium azide

c) 9-AA: 9-Aminoacridine hydrochloride

d) 2-AA: 2-Aminoanthracene

†: Oil membrane-like precipitation on the surface of agar plate

*: Growth inhibition was observed

Table 2 Mutagenicity of 4-methyl-1-pentene in bacteria (II)

With(+) or without(-) S9 mix	Test substance dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Number of revertants (number of colonies/plate, Mean \pm S.D.)														
		Base-pair substitution type									Frameshift type					
		TA100			TA1535			WP2 <i>uvrA</i>			TA98			TA1537		
S9 mix (-)	0	108	110	113	4	10	3	19	13	17	7	17	14	14	5	4
		(110 \pm 3)			(6 \pm 4)			(16 \pm 3)			(13 \pm 5)			(8 \pm 6)		
	46.9 †	137	121	119	6	2	7	16	22	17	10	8	10	2	11	7
		(126 \pm 10)			(5 \pm 3)			(18 \pm 3)			(9 \pm 1)			(7 \pm 5)		
	93.8 †	128	128	118	4	1	8	10	11	13	11	18	13	6	9	3
		(125 \pm 6)			(4 \pm 4)			(11 \pm 2)			(14 \pm 4)			(6 \pm 3)		
	188 †	104	109	119	4	3	3	14	20	14	9	12	11	4	6	6
		(111 \pm 8)			(3 \pm 1)			(16 \pm 3)			(11 \pm 2)			(5 \pm 1)		
375 †	91	101	94	7	6	5	20	12	12	17	10	14	3	1	4	
	(95 \pm 5)			(6 \pm 1)			(15 \pm 5)			(14 \pm 4)			(3 \pm 2)			
750 †	56	76	60	3*	2*	3*	8	9	12	3*	4*	8*	2*	3*	5*	
	(64 \pm 11)			(3 \pm 1)			(10 \pm 2)			(5 \pm 3)			(3 \pm 2)			
1500 †	38*	48*	34*	3*	1*	7*	10*	10*	5*	7*	3*	5*	2*	1*	0*	
	(40 \pm 7)			(4 \pm 3)			(8 \pm 3)			(5 \pm 2)			(1 \pm 1)			
3000 †	38*	48*	32*	3*	2*	1*	5*	14*	6*	7*	2*	8*	2*	5*	1*	
	(39 \pm 8)			(2 \pm 1)			(8 \pm 5)			(6 \pm 3)			(3 \pm 2)			
S9 mix (+)	0	141	108	113	5	7	7	19	29	18	22	22	17	8	9	13
		(121 \pm 18)			(6 \pm 1)			(22 \pm 6)			(20 \pm 3)			(10 \pm 3)		
	46.9 †	123	136	128	7	8	10	16	14	22	33	30	30	10	9	9
		(129 \pm 7)			(8 \pm 2)			(17 \pm 4)			(31 \pm 2)			(9 \pm 1)		
	93.8 †	113	138	138	12	7	6	26	18	17	29	29	27	12	9	10
		(130 \pm 14)			(8 \pm 3)			(20 \pm 5)			(28 \pm 1)			(10 \pm 2)		
	188 †	112	125	119	9	4	6	17	20	20	32	21	30	6	5	9
		(119 \pm 7)			(6 \pm 3)			(19 \pm 2)			(28 \pm 6)			(7 \pm 2)		
375 †	126	132	112	6	6	11	15	19	18	33	21	30	2	13	9	
	(123 \pm 10)			(8 \pm 3)			(17 \pm 2)			(28 \pm 6)			(8 \pm 6)			
750 †	74*	84*	66*	4*	8*	6*	14	15	14	38*	17*	13*	2*	6*	8*	
	(75 \pm 9)			(6 \pm 2)			(14 \pm 1)			(23 \pm 13)			(5 \pm 3)			
1500 †	69*	77*	61*	6*	5*	5*	18*	11*	9*	24*	13*	20*	15*	4*	10*	
	(69 \pm 8)			(5 \pm 1)			(13 \pm 5)			(19 \pm 6)			(10 \pm 6)			
3000 †	62*	74*	59*	10*	4*	11*	6*	10*	12*	14*	19*	20*	6*	2*	7*	
	(65 \pm 8)			(8 \pm 4)			(9 \pm 3)			(18 \pm 3)			(5 \pm 3)			
Positive control S9 mix (-)	Chemical	AF-2 ^{a)}			NaN ₃ ^{b)}			AF-2			AF-2			9-AA ^{c)}		
	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	0.01			0.5			0.01			0.1			80		
Positive control S9 mix (+)	Chemical	2-AA ^{d)}			2-AA			2-AA			2-AA			2-AA		
	Dose ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	1			2			10			0.5			2		
Positive control S9 mix (+)	Number of colonies/plate	697	731	656	238	253	290	118	123	98	239	368	202	178	289	292
		(695 \pm 38)			(260 \pm 27)			(113 \pm 13)			(270 \pm 87)			(253 \pm 65)		
Positive control S9 mix (+)	Number of colonies/plate	1328	1629	1536	199	205	220	649	731	669	237	235	253	272	249	310
		(1498 \pm 154)			(208 \pm 11)			(683 \pm 43)			(242 \pm 10)			(277 \pm 31)		

Negative control: Dimethyl sulfoxide

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

b) NaN₃: Sodium azide

c) 9-AA: 9-Aminoacridine hydrochloride

d) 2-AA: 2-Aminoanthracene

†: Oil membrane-like precipitation on the surface of agar plate

*: Growth inhibition was observed

4-メチル-1-ペンテンのチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験

In vitro Chromosomal Aberration Test of 4-Methyl-1-pentene in Cultured Chinese Hamster Cells

要約

4-メチル-1-ペンテンのチャイニーズ・ハムスター肺由来細胞(CHL/IU細胞)を用いる染色体異常試験を実施した。

細胞増殖抑制試験の結果、50%細胞増殖抑制濃度は短時間処理法のS9 mix非存在下が102 µg/mL、S9 mix存在下が209 µg/mL、連続処理法(24時間処理)が105 µg/mLであった。

染色体異常試験は、各系列において150 µg/mLあるいは300 µg/mLを最高用量とする9試験群で実施した。

短時間処理法のS9 mixの非存在下および存在下ならびに連続処理法ともに、被験物質処理群の染色体の構造異常ならびに倍数性異常の出現頻度は5%未満であった。

以上の結果から、4-メチル-1-ペンテンは、本試験条件下において染色体異常を誘発しないと判断した。

方法

1. 被験物質

4-メチル-1-ペンテンは沸点が54°Cの無色透明の液体で、水にほとんど不溶である。被験物質は、三井化学(山口)よりロット番号3B24A(純度98.36%)が提供され、遮光、室温、気密条件で保存した。

2. 被験物質の調製

被験物質はジメチルスルホキシド(DMSO、同仁化学研究所)を用いて溶解ならびに希釈し調製した。被験物質調製液は、全ての試験において培養液の1 vol%になるように加えた。なお、被験物質調製時に変色、発熱、発泡はみられなかった。

3. 試験細胞株

チャイニーズ・ハムスター肺由来のCHL/IU細胞を、大日本製薬から入手(1999年2月)した。細胞は凍結保存し、試験に際して解凍および継代を行い、継代数23を使用した。

4. 培養液

非働化した牛胎児血清(GIBCO)を最終調製量の10%になるように加えたイーグルMEM培地(日本製薬)を使用した。調製後の培養液は冷蔵で保存した。

5. 培養条件

2.4あるいは 3.6×10^4 cells/6 mLのCHL/IU細胞を、被験物質処理時に被験物質の揮発を防ぐため密栓が可能な培養フラスコ(25 cm², Becton Dickinson)に播き、5.0%CO₂、37.0°Cに設定したCO₂インキュベーターで培養した。

短時間処理法では、細胞播種3日後に被験物質調製液を混和した培養液と交換し、S9 mix非存在下および存在下において密栓条件で6時間処理し、処理終了後、さらに新鮮培地および開放条件で18時間培養した。連続処理法では、細胞播種3日後に被験物質調製液を混和した培養液と交換し、密栓条件で24時間処理した。

6. S9 mix

S9 mix(キッコーマン)は、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系ラット(雄、7週齢)の肝ホモジネートより調製されたものを購入し、製造後6ヶ月以内に使用した。添加量は培養液に対し5 vol%とした。

7. 細胞増殖抑制試験(予備試験)

染色体異常試験に用いる被験物質の処理濃度を決定するため、被験物質の細胞増殖におよぼす影響を調べた。被験物質の細胞増殖抑制作用は、生細胞数の計数により測定し、陰性対照群に対する割合を持って指標とした。

被験物質は、各系列ともに溶媒への溶解性に基づき300 µg/mLを最高濃度とし、以下公比2で低下させた計6用量を処理した。その結果、50%細胞増殖抑制濃度は短時間処理法のS9 mix非存在下で102 µg/mL、S9 mix存在下で209 µg/mL、連続処理法の24時間処理で105 µg/mLであった(Fig. 1)。なお、被験物質の析出ならびに培養液pHの変化はみられなかった。

8. 実験群の設定

細胞増殖抑制試験の結果に基づき、各系列において150 µg/mLあるいは300 µg/mLを最高用量とする計9試験群を設定した。

陽性対照として、短時間処理法のS9 mix存在下ではベンゾ[a]ピレン(和光純薬工業)の10 µg/mL、S9 mix非存在下ではマイトマイシンC(協和発酵工業)の0.1 µg/mL、連続処理法ではマイトマイシンCの0.05 µg/mLの濃度を用いた。

陽性対照群を除く各群には細胞増殖抑制計測用の2個を加えた4個の培養フラスコを使用し、陽性対照群では

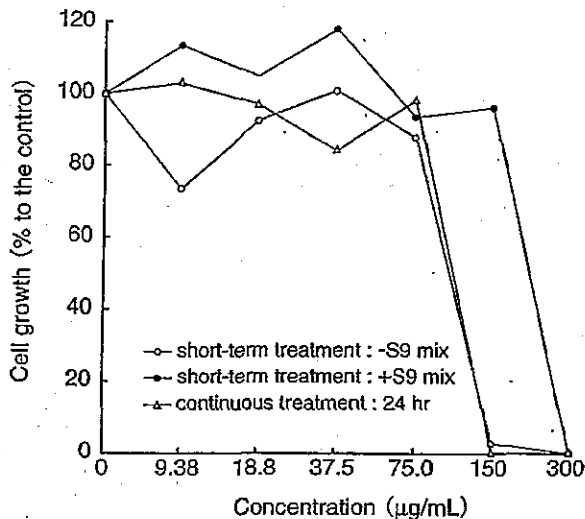


Fig. 1 Growth inhibition of CHL/IU cells treated with 4-methyl-1-pentene

Each point represents mean value (n=2).

2個 of 培養フラスコを使用した。

9. 染色体標本の作製

培養終了の約2時間前に、コルセミドを最終濃度が2 µg/mLとなるように培養液に加えた。染色体標本の作製は常法に従って行った。スライド標本は、各培養フラスコより1枚(細胞毒性により得られた細胞数が少ない場合)あるいは2枚を作製し、2 vol%ギムザ溶液で20分間染色した。

10. 染色体分析

標本観察の前に各用量の各培養フラスコにつき1枚の標本を選択してブラインド化した。

染色体の分析は、日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会(MMS)による分類法に基づいて行い、ギャップ(gap)、染色体型切断(ctb)、染色体型交換(cte)、染色体型切断(csb)、染色体型交換(cse)およびその他の異常など構造異常の種類ならびに異常を持つ細胞の数を記録した。ギャップは構造異常には含めなかった。同時に倍数性細胞の数も記録した。

各用量あたり200個(1培養フラスコあたり100個)の分裂中期像について観察を行った。

11. 試験結果の評価

構造異常または倍数性異常のtotalの出現率(%)が10%以上となり、その出現様式に用量依存性がみられる場合、あるいは5%以上の出現率について再現性がみられる場合を陽性、それ以外を陰性とした。なお、統計学的手法による検定は実施しなかった。

結果及び考察

短時間処理法の結果をTable 1および2に、連続処理

法の結果をTable 3に示す。被験物質処理群における染色体の構造異常および倍数性異常の出現頻度は、短時間処理法のS9 mix非存在下および存在下ならびに連続処理法ともに5%未満であった。

以上の結果から、4-メチル-1-ペンテンは、本試験条件下において染色体異常を誘発しないと判断した。

なお、当該被験物質は当施設で実施した細菌を用いる復帰変異試験²⁾で陰性の結果が得られている。

文献

- 1) 日本環境変異原学会・哺乳動物試験分科会(編):「化学物質による染色体異常アトラス」朝倉書店、東京(1988)pp.16-37.
- 2) 河村ら:4-メチル-1-ペンテンの細菌を用いる復帰変異試験. 化学物質毒性試験報告, 13:138-141(2006).

連絡先

試験責任者: 河村公太郎

試験担当者: 二平佳苗, 榊原隆史

(株)化合物安全性研究所

〒004-0839 札幌市清田区真栄363番24

Tel 011-885-5031 Fax 011-885-5313

Correspondence

Authors: Khotaro Kawamura (Study Director)

Kanae Nihei, Takashi Sakakibara

Safety Research Institute for Chemical

Compounds

363-24 Shin-ei Kiyota-ku, Sapporo-shi, 004-0839,

Japan

Tel +81-11-885-5031 Fax +81-11-885-5313

Table 1 Chromosome aberration test in CHL/IU cells treated with 4-methyl-1-pentene (short-term treatment: -S9 mix)

Compound	Concentration (μg/mL)	S9 mix	Time of exposure (hr)	Cell growth (%)	No. of cells observed	Number of cells with structural aberrations					No. of cells with aberrations (without gaps) (%)	No. of gaps	No. of polyploid cells (%)	Final judgment ^{b)}
						ctb	cte	csb	cse	others				
Negative control ^{a)}	0	-	6-18	100.0	200	1	2	0	0	0	1.5	0	1.5	-
4-Methyl-1-pentene	18.8		6-18	106.6		Not observed								
	37.5		6-18	103.6		Not observed								
	56.3		6-18	106.9		Not observed								
	75.0		6-18	101.4		Not observed								
	85.8	-	6-18	90.5		Not observed								
	98.6		6-18	95.7	200	2	0	0	0	0	1.0	0	0.0	
	113		6-18	91.5	200	1	1	0	0	0	1.0	1	0.5	
	130		6-18	101.4	200	1	0	0	0	0	0.5	0	0.5	
150		6-18	18.9	200	2	0	0	0	0	1.0	0	1.0		
Mitomycin C	0.1	-	6-18	N.D.	200	37	109	1	0	0	61.0	1	0.0	+

Abbreviation: ctb:chromatid break, cte:chromatid exchange, csb:chromosome break, cse:chromosome exchange

N.D.:Not determined

a)Dimethyl sulfoxide

b)Judgment was made according to the total(%) of structural aberrations and numerical aberrations; -:negative, +:positive

Table 2 Chromosome aberration test in CHL/IU cells treated with 4-methyl-1-pentene (short-term treatment: +S9 mix)

Compound	Concentration (μg/mL)	S9 mix	Time of exposure (hr)	Cell growth (%)	No. of cells observed	Number of cells with structural aberrations					No. of cells with aberrations (without gaps) (%)	No. of gaps	No. of polyploid cells (%)	Final judgment ^{b)}
						ctb	cte	csb	cse	others				
Negative control ^{a)}	0	+	6-18	100.0	200	0	0	0	0	0	0.0	0	0.5	-
4-Methyl-1-pentene	37.5		6-18	117.9		Not observed								
	75.0		6-18	106.0		Not observed								
	113		6-18	110.1		Not observed								
	150		6-18	113.5		Not observed								
	172	+	6-18	91.2		Not observed								
	197		6-18	90.0	200	0	0	0	0	0	0.0	0	0.0	
	227		6-18	89.2	200	2	1	0	0	0	1.5	0	0.0	
	261		6-18	84.8	200	0	0	1	0	0	0.5	0	0.0	
300		6-18	0.5		Toxic									
Benzo(a)pyrene	10	+	6-18	N.D.	200	42	108	0	3	0	58.5	0	0.0	+

Abbreviation: ctb:chromatid break, cte:chromatid exchange, csb:chromosome break, cse:chromosome exchange

N.D.:Not determined

a)Dimethyl sulfoxide

b)Judgment was made according to the total(%) of structural aberrations and numerical aberrations; -:negative, +:positive

Table 3 Chromosome aberration test in CHL/IU cells treated with 4-methyl-1-pentene (continuous treatment:24 hr)

Compound	Concentration ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Time of exposure (hr)	Cell growth (%)	No. of cells observed	Number of cells with structural aberrations					No. of cells with aberrations (without gaps) (%)	No. of gaps	No. of polyploid cells (%)	Final judgment ^{b)}
					ctb	cte	csb	cse	others				
Negative control ^{a)}	0	24	100.0	200	3	2	0	0	0	2.0	0	0.0	-
	18.8	24	101.3		Not observed								
	37.5	24	89.1	200	1	0	0	0	0	0.5	0	0.0	
	56.3	24	78.4	200	0	0	0	0	0	0.0	0	0.0	
	75.0	24	67.4	200	2	0	1	0	0	1.0	0	1.0	
	85.8	24	56.5	200	0	1	0	0	0	0.5	0	0.5	-
	98.6	24	65.9	200	0	0	0	0	0	0.0	0	0.0	
	113	24	74.9	200	0	0	0	0	0	0.0	0	0.0	
	130	24	49.7	200	2	0	0	0	0	1.0	0	0.0	
150	24	21.2	200	4	0	0	0	0	2.0	0	0.0		
Mitomycin C	0.05	24	N.D.	200	30	110	0	0	0	62.5	0	0.0	+

Abbreviation; ctb:chromatid break, cte:chromatid exchange, csb:chromosome break, cse:chromosome exchange

N.D.:Not determined

a) Dimethyl sulfoxide

b) Judgment was made according to the total (%) of structural aberrations and numerical aberrations; -:negative, +:positive