2004年11月10日

2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールの細菌を用いる復帰突然変異試験

厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室　委託

財団法人食品薬品安全センター
秦野研究所

［目　　次］

頁

要　約 ---------- 1

試験目的 ---------- 2

材料および方法 ---------- 3

1. 被験物質 ---------- 3

2. 陽性対照物質 ---------- 3

3. 検定菌 ---------- 3

4. 試験材料 ---------- 4

5. 被験物質調製液の調製 ---------- 5

6. 試験操作 ---------- 6

7. 判定 ---------- 7

結果および考察 ---------- 8

1. 用量設定試験 ---------- 8

2. 本試験 ---------- 8

参考文献 ---------- 10

Tables　1～3

Figures　1、2

【要　　約】

2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールについて、細菌を用いる復帰突然変異試験を実施し、陰性の結果を得た。

検定菌として、*Salmonella typhimurium* TA100、TA1535、TA98、TA1537 および *Escherichia coli* WP2 *uvrA* の 5 菌株を用い、プレインキュベーション法により、S9 mix 無添加および添加条件で試験を行った。

用量設定試験を 50.0～5000 μg/plate の範囲に公比約 3 で 5 用量を設定して行ったところ、用いたすべての検定菌の S9 mix 無添加条件では最高用量の 5000 μg/plate において、用いたすべての検定菌の S9 mix 添加条件においては 500 μg/plate 以上の用量において生育阻害が認められた。

これらの結果に基づき、最高用量を用いるすべての検定菌の S9 mix 無添加条件については 5000 μg/plate、用いるすべての検定菌の S9 mix 添加条件については 625 μg/plate とし、いずれについても公比 2 で 6 用量（156～5000 μg/plate あるいは 19.5～625 μg/plate）を設定して、2 回の本試験を行った。その結果、用いたすべての検定菌において、S9 mix の添加の有無にかかわらず、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認められなかった。

以上の結果から、2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールは、用いた試験系において変異原性を有しないもの（陰性）と判定した。

【試　験　目　的】

既存化学物質安全性点検に係る毒性調査事業の一環として、2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールについて、細菌を用いる復帰突然変異試験をプレインキュベーション法[1]により実施した。

この試験は、「新規化学物質等に係る試験の方法について」（昭和62年3月31日、環保業第237号、薬発第306号、62基局第303号、一部改正平成9年10月31日、環保安第287号、衛生第127号、平成09・10・31基局第2号）および「OECD化学物質試験法ガイドライン471／細菌を用いる復帰突然変異試験」（1997年7月21日採択）に基づき、「化学物質GLP」（平成12年3月1日改正、環保安第41号、生衛発第268号、平成12・02・14基局第1号）を遵守して実施した。

【材料および方法】

1. 被験物質

被験物質である 2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノール[英名:2-(Di-*n*-butylamino)ethanol、ロット番号:　　、製造:　　]はうすい黄色澄明の液体(弱いアミン臭)であり、　　から購入した。被験物質の物理化学的性状等を Appendix 1 に示す。被験物質は、使用時まで密閉、遮光して室温で保管した。

被験物質は実験期間中安定であったことが、被験物質提供者において確認された。なお、被験物質に関する資料(非 GLP データ)は、被験物質提供者の責任に基づき確認、提供された資料であることから、試験結果の信頼性を損なうものではないと判断した。

2. 陽性対照物質

用いた陽性対照物質および調製法は以下のとおりである。

各検定菌に用いた陽性対照物質は、当研究所で十分な蓄積データが得られている物質および用量とし、それぞれを結果の各 Table 中に示した。

名称	略称	製造者	ロット番号(購入日)	純度
2-(2-ﾌﾘﾙ)-3-(5-ﾆﾄﾛ-2-ﾌﾘﾙ)ｱｸﾘﾙｱﾐﾄﾞ	AF2	和光純薬工業㈱	CKQ1402 (2001 年 9 月 13 日)	99.0%
ｱｼﾞ化ﾅﾄﾘｳﾑ	SA	和光純薬工業㈱	ELE2329 (2001 年 5 月 15 日)	99.2%
9-ｱﾐﾉｱｸﾘｼﾞﾝ	9AA	Sigma Chem. Co.	106F06681 (2001 年 5 月 15 日)	97%以上
2-ｱﾐﾉｱﾝﾄﾗｾﾝ	2AA	和光純薬工業㈱	DWK5667 (2001 年 9 月 13 日)	97.4%

AF2、9AA および 2AA はジメチルスルホキシド(DMSO、和光純薬工業㈱、ロット番号:WAR5208)に、SA は超純水に溶解し、所定の濃度に調製した後-20℃で凍結保存し、調製後 6 か月以内のものを用時に解凍して用いた。

3. 検定菌

「新規化学物質等に係る試験の方法について」に従って、*Salmonella typhimurium*(以下、*S. typhimurium*)TA100、TA1535、TA98、TA1537 および *Escherichia coli*(以下、*E. coli*)WP2 *uvrA* を用いた。

S. typhimurium の 4 菌株は 1997 年 8 月 7 日に、*E. coli* WP2 *uvrA* 株は 1997 年 4 月 9 日に、いずれも日本バイオアッセイ研究センターの　　から分与された。*S. typhimurium* の 4 菌株を用いる試験は、サルモネラ菌（ネズミチフス菌）におけるヒスチジン要求性から非要求性への復帰突然変異[2)]、*E. coli* WP2 *uvrA* 株を用いる試験は、大腸菌におけるトリプトファン要求性から非要求性への復帰突然変異[3)]を指標とした変異原性の検出系である。

検定菌は-80℃で凍結保存したものを用い、特性確認は各菌株の凍結保存菌の調製時に、アミノ酸要求性、UV 感受性、膜変異（*rfa*）、アンピシリン耐性因子 pKM101（プラスミド）の有無および陰性対照と陽性対照の変異コロニー数について調べた。

試験に際して、ニュートリエントブロス No. 2（Oxoid Ltd.）を 12 mL 入れた L 字型試験管に解凍した種菌を 12 μL（TA100、TA98 および TA1535）あるいは 6 μL（TA1537 および WP2 *uvrA*）接種し、37℃で 10 時間往復振とう培養したものを試験菌液とした。分光光度計（㈱島津製作所、型式：UV-120-02）により 660 nm の吸光度を測定し、試験菌液の増殖を確認した。試験に用いた検定菌の生菌数を段階希釈法により求め、Appendix 2 に示した。

4. 試験材料

1）合成培地

培地は、極東製薬工業㈱製の最少グルコース寒天培地〔ロット番号：DZA39D01、2002 年 9 月 13 日製造（用量設定試験）および、ロット番号：DZA3AB01、2002 年 10 月 11 日製造（本試験 I および II）〕を用いた。なお、培地 1 L あたりの組成は下記のとおりで、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。

硫酸マグネシウム･七水和物	0.2	g
クエン酸･一水和物	2	g
リン酸水素二カリウム	10	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
グルコース	20	g
大洋寒天（清水食品㈱）	15	g

2）トップアガー

下記の水溶液（A）に（B）または（C）を容量比 10:1 の割合で混合した。

（A）	バクトアガー（Difco Lab.）	0.6 w/v%
	塩化ナトリウム	0.5 w/v%
（B）	*Salmonella typhimurium* 用	
	L-ヒスチジン	0.5 mmol/L
	D-ビオチン	0.5 mmol/L
（C）	*Escherichia coli* 用	
	L-トリプトファン	0.5 mmol/L

3）S9 mix

S9 mix 1 mL あたりの組成は下記のとおりで、用時氷冷下で混合して調製した。

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

*：7 週齢の Sprague-Dawley 系雄ラットをフェノバルビタール（PB）および 5,6-ベンゾフラボン（BF）の併用投与で酵素誘導して作製した S9（キッコーマン㈱、ロット番号：RAA-475、2002 年 12 月 6 日製造）を購入し、-80℃で凍結保存し、用時に解凍して用いた。PB および BF の投与量は 1 日目 PB 30 mg/kg、2 日目 PB 60 mg/kg、3 日目 PB 60 mg/kg および BF 80 mg/kg、4 日目 PB 60 mg/kg であり、いずれも腹腔内投与したもので、肝臓の摘出および S9 の調製は 5 日目であった。

5. 被験物質調製液の調製

被験物質は、50 mg/mL の濃度で水には溶解しないが、DMSO には溶解することから、試験に際しては、DMSO（和光純薬工業㈱、ロット番号：WAJ4459）に溶解して最高用量の調製液を調製した後、同溶媒で順次希釈して、速やかに試験に用いた。調製濃度を

以下に示す。なお、調製時に、発熱、発泡および変色は認められなかった。

用量設定試験：0.500、1.50、5.00、15.0、50.0 mg/mL

本試験Ⅰ、Ⅱ：0.195、0.391、0.781、1.56、3.13、6.25、12.5、25.0、50.0 mg/mL

6. 試験操作

試験は、プレインキュベーション法により、被験物質をそのまま検定菌に作用させるS9 mix 無添加条件および哺乳動物（ラット）のもつ薬物代謝酵素によって産生される被験物質の代謝物の変異原性を試験する S9 mix 添加条件で行った。

小試験管中に被験物質調製液 0.1 mL、S9 mix 無添加条件では 0.1 mol/L ナトリウム-リン酸緩衝液（pH 7.4）0.5 mL、S9 mix 添加条件では S9 mix 0.5 mL、試験菌液 0.1 mL を混合し、37℃で 20 分間プレインキュベーションしたのち、トップアガー2 mL を加えて混和し、合成培地平板上に流して固めた。また、被験物質調製液の代わりに使用溶媒 0.1 mL または陽性対照物質溶液を加えて、それぞれ陰性対照および陽性対照とした。陰性および陽性対照の結果については、同時に実施した他試験と共通に用いた。

培養は 37℃で 48 時間行い、発生した復帰変異コロニー数を、コロニーアナライザー（システムサイエンス㈱、CA-11）または目視により算定した。被験物質に由来する沈澱の有無は、肉眼により観察した。また、生育阻害の有無については、肉眼あるいは実体顕微鏡下で、寒天表面の菌叢の状態から判断した。用いた平板は用量設定試験においては、陰性および陽性対照では 3 枚ずつ、各用量については 1 枚ずつとした。また、本試験においては、両対照および各用量につき 3 枚ずつを用い、それぞれの平均値と標準偏差を求めた。陰性および陽性対照の復帰変異コロニー数の平均値を、それぞれ陰性対照値および陽性対照値とした。

なお、最高用量の被験物質調製液 0.1 mL および S9 mix 0.5 mL を、それぞれ合成培地平板上に滴下して、培養終了時に雑菌の混入の有無を調べた。

上記の方法により、用量設定試験は 1 回、本試験は同一用量について 2 回実施し、結果の再現性を確認した。

7. 判定

用いた 5 種の検定菌のうち、1 種以上の検定菌の S9 mix 無添加条件あるいは S9 mix 添加条件において、被験物質を含有する平板上における復帰変異コロニー数の平均値が、陰性対照値のそれに比べて 2 倍以上に増加し、その増加に再現性および用量依存性が認められた場合に、本試験系において変異原性を有するもの（陽性）と判定することとした。

【結果および考察】

1. 用量設定試験

「OECD 化学物質試験法ガイドライン 471/細菌を用いる復帰突然変異試験」に従って、最高用量を 5000 μg/plate とし、50.0、150、500、1500 および 5000 μg/plate の 5 段階の用量を設定して用量設定試験を行った（Table 1）。その結果、用いたすべての検定菌の S9 mix 無添加条件では最高用量の 5000 μg/plate において、用いたすべての検定菌の S9 mix 添加条件においては 500 μg/plate 以上の用量において生育阻害が認められた。また、被験物質に由来する沈澱は、用いたいずれの用量においても認められなかった。

以上の結果から、本試験における最高用量を、用いるすべての検定菌の S9 mix 無添加条件については 5000 μg/plate、用いるすべての検定菌の S9 mix 添加条件については 625 μg/plate とした。

2. 本試験

上記の最高用量に基づき、公比 2 で 6 用量（S9 mix 無添加条件：156～5000 μg/plate、S9 mix 添加条件：19.5～625 μg/plate）を設定して、いずれも 2 回の本試験を行った（Table 2,3、Figure 1,2）。その結果、S9 mix 無添加条件については、TA100、TA1535、TA98 および TA1537 では 2500 μg/plate 以上の用量で、WP2 *uvrA* では最高用量の 5000 μg/plate の用量で、S9 mix 添加条件については、すべての検定菌の 625 μg/plate において生育阻害が認められた。

復帰変異コロニー数は、用いたすべての検定菌において、S9 mix の添加の有無にかかわらず、陰性対照値の 2 倍以上となる増加は認められなかった。

すべての試験において、最高用量の被験物質調製液および S9 mix への雑菌の混入は認められなかった。また、いずれの検定菌においても陽性対照物質の変異原性が検出され、陽性対照値および陰性対照値は、ともに背景データ（Appendix 3）の変動範囲内（平均値±3×標準偏差）であったことから、本試験系の有効性が確認された。

なお、2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールについては、当研究所で実施したチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験では構造異常および倍数性ともに陽性

の[4]結果が得られている。また、関連物質であるDibutylamineについては、復帰突然変異試験では陰性、染色体異常試験では疑陽性の結果が報告されている[5]。Dibutylnitrosamineについては復帰突然変異試験では陽性、染色体異常試験では疑陽性の結果が報告されている[6]。

以上の結果に基づき、2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールは、用いた試験系において変異原性を有しないもの（陰性）と判定した。

【参　考　文　献】

1) T. Matsushima, T. Sugimura, M. Nagano, T. Yahagi, A. Shirai, M. Sawamura, "Short-term Test Systems for Detecting Carcinogens," eds., by K. H. Norpoth, R. C. Garner, Springer, Berlin, 1980, pp. 273-285.

2) D. M. Maron, B. N. Ames, Mutat. Res., 113, 173 (1983).

3) M. H. L. Green, "Handbook of Mutagenicity Test Procedures," eds., by B. J. Kilbey, M. Legator, W. Nichols, C. Ramel, Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, 1984, pp. 161-187.

4) 「2-(ジ-*n*-ブチルアミノ)エタノールのチャイニーズ・ハムスター培養細胞を用いる染色体異常試験」，試験計画番号：G-02-042（2004）.

5) 祖父尼俊雄　監修：染色体異常試験データ集改訂 1998 年版，株式会社エル・アイ・シー，東京，p. 165 (1999).

6) 祖父尼俊雄　監修：染色体異常試験データ集改訂 1998 年版，株式会社エル・アイ・シー，東京，p. 166 (1999).

Table 1. Cytotoxicity of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in bacteria

With (+) or without (-) S9 mix	Test substance dose (μg/ plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, Mean ± S.D.)														
		Base - pair substitution type									Frameshift type					
		TA100			TA1535			WP2 *uvrA*			TA98			TA1537		
S9 mix (-)	0	128	114	106	11	13	9	38	32	32	17	21	16	9	10	5
		(116 ± 11)			(11 ± 2)			(34 ± 3)			(18 ± 3)			(8 ± 3)		
	50.0	113			9			26			35			6		
	150	126			5			27			15			11		
	500	93			9			31			19			7		
	1500	127			8			26			16			11		
	5000	78 *			7 *			11 *			7 *			0 *		
S9 mix (+)	0	136	159	116	8	7	6	34	36	45	35	29	24	12	16	16
		(137 ± 22)			(7 ± 1)			(38 ± 6)			(29 ± 6)			(15 ± 2)		
	50.0	111			6			46			31			8		
	150	97			6			35			29			8		
	500	104 *			7 *			27 *			26 *			14 *		
	1500	118 *			6 *			40 *			27 *			10 *		
	5000	93 *			5 *			14 *			14 *			6 *		
Positive control S9 mix (-)	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2			9AA		
	Dose (μg / plate)	0.01			0.5			0.01			0.1			80		
	Number of colonies / plate	488	429	408	553	606	574	161	165	155	430	407	483	356	442	286
		(442 ± 41)			(578 ± 27)			(160 ± 5)			(440 ± 39)			(361 ± 78)		
Positive control S9 mix (+)	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA			2AA		
	Dose (μg / plate)	1			2			10			0.5			2		
	Number of colonies / plate	752	803	884	365	346	336	961	857	793	422	465	491	217	254	260
		(813 ± 67)			(349 ± 15)			(870 ± 85)			(459 ± 35)			(244 ± 23)		

The purity of the test substance was 99.8%.

This substance contained 0.12% water as impurity.

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

*: Growth inhibition was observed.

Table 2. Mutagenicity of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in bacteria (I)

With (+) or without (-) S9 mix	Test substance dose (μg/ plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, Mean ± S.D.)														
		Base - pair substitution type									Frameshift type					
		TA100			TA1535			WP2 *uvrA*			TA98			TA1537		
S9 mix (-)	0	153	139	133	10	10	8	18	22	24	22	28	26	7	5	8
		(142 ±	10)		(9 ±	1)		(21 ±	3)		(25 ±	3)		(7 ±	2)	
	156	137	135	135	9	6	7	18	27	26	28	28	23	9	8	8
		(136 ±	1)		(7 ±	2)		(24 ±	5)		(26 ±	3)		(8 ±	1)	
	313	100	176	159	5	7	9	27	22	28	23	20	28	8	7	7
		(145 ±	40)		(7 ±	2)		(26 ±	3)		(24 ±	4)		(7 ±	1)	
	625	151	171	166	7	7	8	24	18	29	29	28	29	9	11	9
		(163 ±	10)		(7 ±	1)		(24 ±	6)		(29 ±	1)		(10 ±	1)	
	1250	158	155	137	3	10	5	23	23	21	29	31	21	12	10	6
		(150 ±	11)		(6 ±	4)		(22 ±	1)		(27 ±	5)		(9 ±	3)	
	2500	152 *	173 *	164 *	6 *	4 *	10 *	26	14	29	25 *	22 *	31 *	5 *	8 *	9 *
		(163 ±	11)		(7 ±	3)		(23 ±	8)		(26 ±	5)		(7 ±	2)	
	5000	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *
		(0 ±	0)		(0 ±	0)		(0 ±	0)		(0 ±	0)		(0 ±	0)	
S9 mix (+)	0	171	161	147	6	14	10	35	30	36	42	41	36	12	16	15
		(160 ±	12)		(10 ±	4)		(34 ±	3)		(40 ±	3)		(14 ±	2)	
	19.5	123	159	164	8	8	8	23	28	28	31	45	28	12	11	12
		(149 ±	22)		(8 ±	0)		(26 ±	3)		(35 ±	9)		(12 ±	1)	
	39.1	167	160	163	9	13	9	27	30	28	38	36	31	13	16	12
		(163 ±	4)		(10 ±	2)		(28 ±	2)		(35 ±	4)		(14 ±	2)	
	78.1	151	170	208	8	6	7	30	33	21	41	30	33	16	18	12
		(176 ±	29)		(7 ±	1)		(28 ±	6)		(35 ±	6)		(15 ±	3)	
	156	162	149	174	15	10	9	21	28	26	34	35	37	11	9	16
		(162 ±	13)		(11 ±	3)		(25 ±	4)		(35 ±	2)		(12 ±	4)	
	313	169	164	152	12	12	3	31	32	29	30	45	27	16	14	9
		(162 ±	9)		(9 ±	5)		(31 ±	2)		(34 ±	10)		(13 ±	4)	
	625	137 *	151 *	165 *	15 *	7 *	5 *	29 *	30 *	28 *	41 *	57 *	44 *	11 *	10 *	12 *
		(151 ±	14)		(9 ±	5)		(29 ±	1)		(47 ±	9)		(11 ±	1)	
Positive control S9 mix (-)	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2			9AA		
	Dose (μg / plate)	0.01			0.5			0.01			0.1			80		
	Number of colonies / plate	574	619	613	646	625	610	165	186	184	336	374	431	224	224	231
		(602 ±	24)		(627 ±	18)		(178 ±	12)		(380 ±	48)		(226 ±	4)	
Positive control S9 mix (+)	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA			2AA		
	Dose (μg / plate)	1			2			10			0.5			2		
	Number of colonies / plate	817	802	845	357	311	346	866	763	760	485	443	394	261	266	276
		(821 ±	22)		(338 ±	24)		(796 ±	60)		(441 ±	46)		(268 ±	8)	

The purity of the test substance was 99.8%.

This substance contained 0.12% water as impurity.

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

*: Growth inhibition was observed.

Table 3. Mutagenicity of 2-(di-*n*-butylamino)ethanol in bacteria (II)

With (+) or without (-) S9 mix	Test substance dose (μg/ plate)	Number of revertants (number of colonies / plate, Mean ± S.D.)														
		Base - pair substitution type									Frameshift type					
		TA100			TA1535			WP2 *uvrA*			TA98			TA1537		
S9 mix (-)	0	121	104	128	6	8	11	39	37	46	19	29	21	15	10	11
		(118 ±		12)	(8 ±		3)	(41 ±		5)	(23 ±		5)	(12 ±		3)
	156	104	124	124	13	9	6	43	49	34	21	30	21	7	9	9
		(117 ±		12)	(9 ±		4)	(42 ±		8)	(24 ±		5)	(8 ±		1)
	313	107	125	140	7	6	11	47	48	63	27	18	24	10	11	15
		(124 ±		17)	(8 ±		3)	(53 ±		9)	(23 ±		5)	(12 ±		3)
	625	131	116	128	11	7	5	34	48	45	24	26	18	8	10	6
		(125 ±		8)	(8 ±		3)	(42 ±		7)	(23 ±		4)	(8 ±		2)
	1250	123	124	121	9	7	11	40	35	38	27	19	23	7	8	2
		(123 ±		2)	(9 ±		2)	(38 ±		3)	(23 ±		4)	(6 ±		3)
	2500	141 *	136 *	134 *	8 *	4 *	8 *	46	31	49	20 *	13 *	27 *	5 *	6 *	10 *
		(137 ±		4)	(7 ±		2)	(42 ±		10)	(20 ±		7)	(7 ±		3)
	5000	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *
		(0 ±		0)	(0 ±		0)	(0 ±		0)	(0 ±		0)	(0 ±		0)
S9 mix (+)	0	134	120	130	5	11	8	50	45	43	36	43	40	13	13	14
		(128 ±		7)	(8 ±		3)	(46 ±		4)	(40 ±		4)	(13 ±		1)
	19.5	142	130	124	6	6	11	43	49	40	33	39	33	19	10	7
		(132 ±		9)	(8 ±		3)	(44 ±		5)	(35 ±		3)	(12 ±		6)
	39.1	139	105	150	9	10	5	58	52	48	37	30	27	10	15	17
		(131 ±		23)	(8 ±		3)	(53 ±		5)	(31 ±		5)	(14 ±		4)
	78.1	124	135	131	8	6	3	43	40	48	34	40	39	14	17	7
		(130 ±		6)	(6 ±		3)	(44 ±		4)	(38 ±		3)	(13 ±		5)
	156	115	129	128	7	8	11	44	52	52	39	37	39	13	15	11
		(124 ±		8)	(9 ±		2)	(49 ±		5)	(38 ±		1)	(13 ±		2)
	313	148	132	146	7	5	4	46	49	43	40	32	28	11	8	17
		(142 ±		9)	(5 ±		2)	(46 ±		3)	(33 ±		6)	(12 ±		5)
	625	127 *	130 *	139 *	8 *	6 *	7 *	51 *	47 *	46 *	30 *	35 *	41 *	13 *	13 *	16 *
		(132 ±		6)	(7 ±		1)	(48 ±		3)	(35 ±		6)	(14 ±		2)
Positive control S9 mix (-)	Chemical	AF2			SA			AF2			AF2			9AA		
	Dose (μg / plate)	0.01			0.5			0.01			0.1			80		
	Number of colonies / plate	485	406	403	602	600	601	159	170	200	403	397	466	224	298	416
		(431 ±		47)	(601 ±		1)	(176 ±		21)	(422 ±		38)	(313 ±		97)
Positive control S9 mix (+)	Chemical	2AA			2AA			2AA			2AA			2AA		
	Dose (μg / plate)	1			2			10			0.5			2		
	Number of colonies / plate	755	755	801	367	319	348	822	712	796	441	444	418	251	234	273
		(770 ±		27)	(345 ±		24)	(777 ±		57)	(434 ±		14)	(253 ±		20)

The purity of the test substance was 99.8%.

This substance contained 0.12% water as impurity.

AF2: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, SA: Sodium azide, 9AA: 9-Aminoacridine, 2AA: 2-Aminoanthracene

*: Growth inhibition was observed.

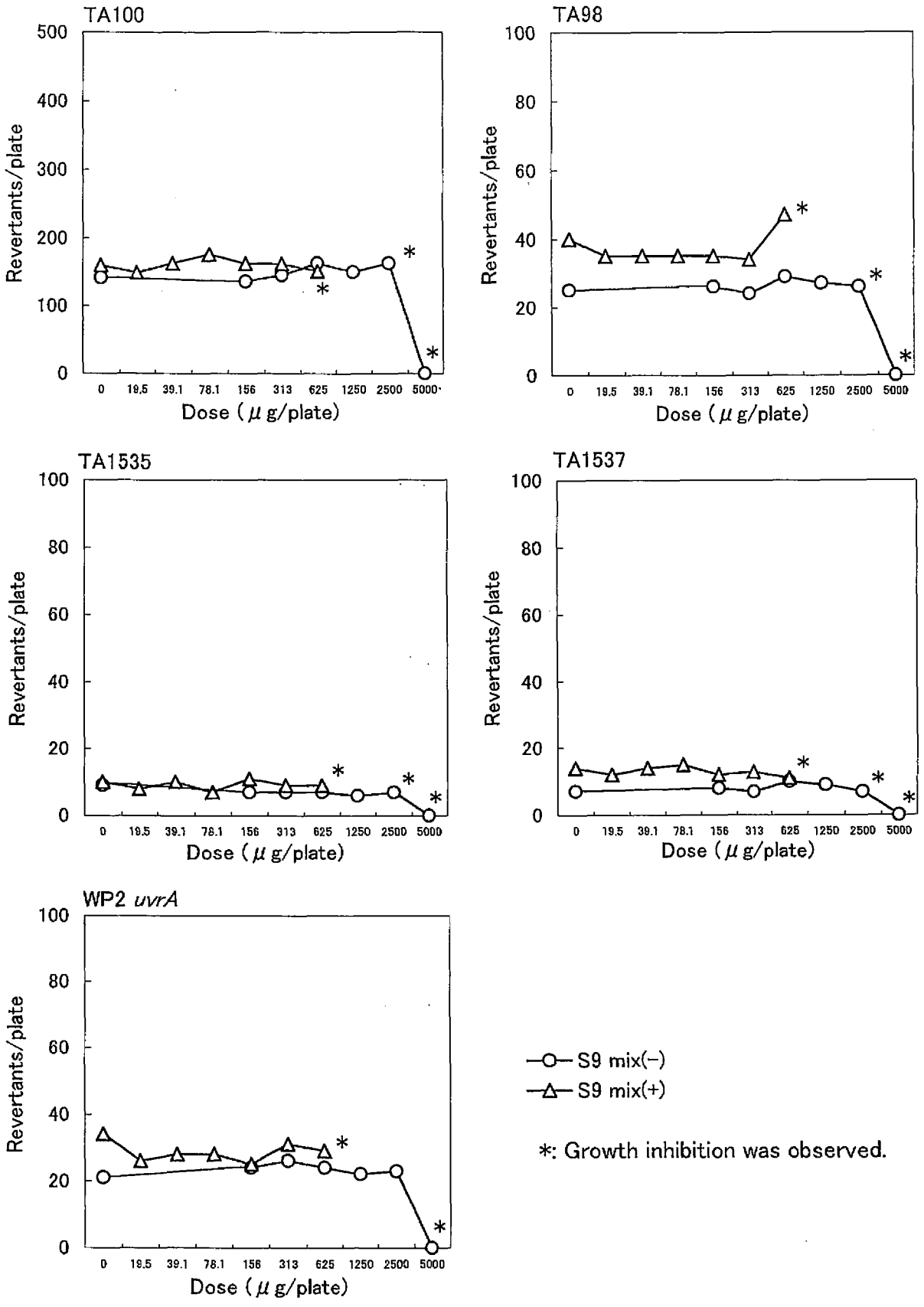

Figure 1. Dose response curves in mutagenicity test (I) of 2-(Di-n-butylamino)ethanol in bacteria

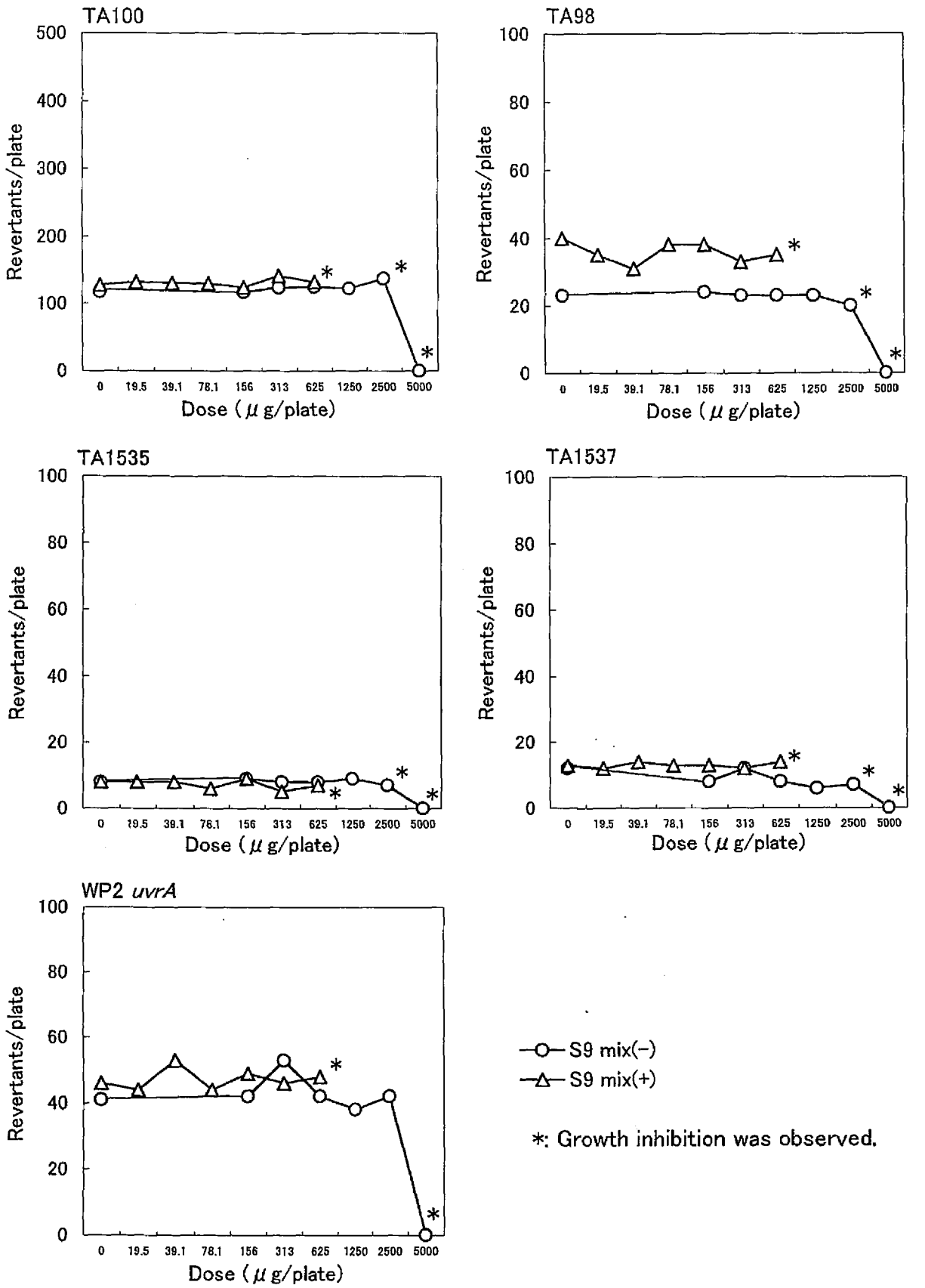

Figure 2. Dose response curves in mutagenicity test (II) of 2-(Di-n-butylamino)ethanol in bacteria