N，N－ジメチルベンジルアミンの細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：2713（ 115－054 ）

財　団　法　人
食　品　農　医　薬　品　安　全　性　評　価　セ　ン　タ　ー

目　　次

1.	要　　約	1 頁
2.	試 験 題 目	2
3	試 験 目 的	2
4.	試 験 番 号	2
9.	被 験 物 質	3
10.	試験材料および方法	5
11.	試 験 結 果	11
12.	考察および結論	12
13.	参考とした資料	13

Figures および Tables

Figure 1 Bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine in strain TA100 15
Figure 2 Bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine in strain TA1535 16
Figure 3 Bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine in strain WP2 *uvrA* 17
Figure 4 Bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine in strain TA98 18
Figure 5 Bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine in strain TA1537 19

Table 1 Results of the bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine (1st trial) [direct method : -S9] 20
Table 2 Results of the bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine (1st trial) [activation method : +S9] 21
Table 3 Results of the bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine (2nd trial) [direct method : -S9] 22
Table 4 Results of the bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine (2nd trial) [activation method : +S9] 23

1. 要　　約：

本試験条件下において，N，N－ジメチルベンジルアミンには遺伝子突然変異を誘起する作用がないものと判断した．

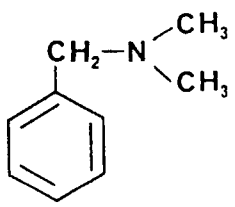
すなわち，N，N－ジメチルベンジルアミンの変異原性について，遺伝子突然変異誘発性を検討するため，ネズミチフス菌（*Salmonella typhimurium*）TA100，TA98，TA1535 および TA1537 株ならびに大腸菌（*Escherichia coli*）WP2 *uvrA* 株を用いた復帰突然変異試験を行った．
あらかじめ予備的な試験を実施し，本試験の用量を設定した．その結果，N，N－ジメチルベンジルアミン処理では 39.1～5000μg／プレートのいずれの試験用量においても，ラット肝ミクロソーム（S9）添加の有無にかかわらず，溶媒対照に比べ復帰突然変異コロニー数の明確な増加は認められなかった．
また，陽性対照物質は，それぞれの試験菌株に対し直接法あるいは代謝活性化法により明確な突然変異誘発作用を示した．

2. 試　験　題　目：　Ｎ，Ｎ－ジメチルベンジルアミンの細菌を用いる復帰突然変異試験

3. 試　験　目　的：　被験物質の *in vitro* における遺伝子突然変異誘発性を検討するため，環保業第237号，薬発第306号，62基局第303号（昭和62年３月31日）の「新規化学物質に係る試験の方法について」ならびにＯＥＣＤ化学品ガイドライン 471 および 472（1983年５月26日）に従って，細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した．
なお，試験の実施は環企研第233号，衛生第38号，63基局第823号（昭和63年11月18日）の「新規化学物質に係る試験及び指定化学物質に係る有害性の調査の項目等を定める命令第４条に規定する試験施設について」ならびにＯＥＣＤのＧＬＰ（1982年）の基準を満たすものとした．

4. 試　験　番　号：　２７１３（115－054）

9. 被　験　物　質：

1) 被験物質名	N，N－ジメチルベンジルアミン
2) CAS No.	１０３－８３－３
3) ロット番号	
4) 純　　度	99.93 wt%
5) 製　造　元	
6) 保管条件	冷暗所，密封容器
7) 保管場所	安評センター被験物質保管庫
8) 別　　名	Ｎ－ベンジルジメチルアミン
9) 化　学　名	N，N－ジメチルベンジルアミン
10) 化学構造	
11) 分　子　式	$C_9H_{13}N$
12) 分　子　量	135.2
13) 物質の状態	液体
14) 色	無色又は淡黄色
15) 融　　点	－75℃
16) 沸　　点	180～182℃

17) 溶　解　性	水に微溶，アルコールおよびエーテルに可溶
18) 安　定　性	水，熱および光に安定
19) 取扱上の注意	(1) 有害性を呈するため吸入したり，皮膚や粘膜への接触を防止するための個人保護具を着用した． (2) 可燃性であるため火気，静電気，衝撃火花などによる着火源の生じないように注意した． (3) 取扱い後は手洗い，洗顔を十分に行った．
20) 被験物質保管および残余被験物質の処理	残余被験物質については，全量保管とした．

10. 試験材料および方法：

1) 試験菌株

細菌を用いる復帰突然変異試験において広く使用されていることから，試験菌株として次の５種類の菌株を選択した．

a. ネズミチフス菌　TA100　（ヒスチジン要求性の塩基対置換型）
b. ネズミチフス菌　TA98　（ヒスチジン要求性のフレームシフト型）
c. ネズミチフス菌　TA1535　（ヒスチジン要求性の塩基対置換型）
d. ネズミチフス菌　TA1537　（ヒスチジン要求性のフレームシフト型）
e. 大　腸　菌　WP2 *uvrA*　（トリプトファン要求性の塩基対置換型）

ネズミチフス菌は昭和58年９月９日に　　から，また，大腸菌については昭和58年３月16日に　　から分与を受けた．平成７年９月５日に菌株の特性検査を実施し，本試験に用いた菌株が規定の特性を保持していることを確認した．

菌株の保存に当たっては，各菌株の菌懸濁液にジメチルスルホキシド（DMSO：GC用；MERCK 社，独国；純度 99.7％以上，Lot No. K21387978 513）を容量比 80：７の割合で添加した後，凍結保存用チューブに 0.2 ml ずつ分注した．これを液体窒素を用いて凍結した後，超低温フリーザー（MDF-390AT；三洋電機特機株式会社，大阪府守口市）に－80℃で保存した．

2) 培地の調製

a. 最少グルコース寒天平板培地（プレート）

日清製粉株式会社（東京都中央区）製のテスメディア AN培地（Lot No. AN570HK，平成７年８月１日製造）を購入後，試験に用いた．本プレートは，Vogel-Bonner 最少培地Ｅを含む下記の組成の溶液 30 ml を無菌的にシャーレに分注したものである．

硫酸マグネシウム・７水塩	0.2 g
クエン酸・１水塩	2 g
リン酸二カリウム・無水塩	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
精製水	200 ml
グルコース	20 g
精製水	100 ml
寒天（No.1；OXOID 社，英国；Lot No. 87286）	15 g
精製水	700 ml

b. トップアガー（軟寒天）

寒天（Bacto-agar：DIFCO 社，米国；Lot No. 43344AJA）0.6％を含む 0.5％塩化ナトリウム水溶液をオートクレーブで滅菌した後，ネズミチフス菌を用いる試験の場合，0.5 mM L-ヒスチジン（関東化学株式会社，東京都中央区；Lot No. 412E1389）－ 0.5 mM D-ビオチン（関東化学株式会社，Lot No. 705S1379）水溶液を寒天溶液10容量に対し１容量加え，大腸菌を用いる試験の場合，0.5 mM L-トリプトファン（関東化学株式会社，Lot No. 608E1385）水溶液を同じく１容量加えた．

3）試験菌株の前培養

内容量 200 ml の円筒容器に 2.5％ニュートリエントブロス（OXOID 社：No. 2；Lot No.154 52789）溶液を 25 ml 分注し，これに凍結保存した菌懸濁液を融解した後，マイクロピペットを用いて 50μl 接種した．培養開始までの間冷却ユニット（ECS-1：東京理化器械株式会社，東京都中央区）を用いて４℃に保存し，その後ウォーターバスシェーカー（MM-10：タイテック株式会社，埼玉県越谷市）を用い，37℃で８時間振盪（往復振盪：120回／分）培養した．培養終了後の菌懸濁液を使用時まで氷水中に保存した．ＡＴＰフォトメーター（ルミテスター K-100：キッコーマン株式会社，千葉県野田市）を用いて計測した生菌数を以下に示した．

試　験	生　菌　数　（$\times 10^9$／ml）				
	TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
本試験（１回目）	4.01	5.51	4.80	5.67	2.00
本試験（２回目）	4.92	5.50	6.82	5.45	2.71

4) Ｓ９ｍｉｘ

キッコーマン株式会社製のＳ９ｍｉｘ（Lot No. FSM-333）を試験に使用した．なお，製造後６ヵ月以内のＳ９ｍｉｘを使用した．

Ｓ９調製の際の誘導物質，誘導方法等ならびにＳ９ｍｉｘの組成を以下に示した．

a.	ロット番号	ＲＡＡ－３３３
b.	調　製　日	平成７年９月８日（誘導物質投与開始後５日目）
c.	使用動物	ラット：Sprague-Dawley 系
d.	性／週齢	雄／７週齢
e.	体　　重	182 ～ 225 g
f.	誘導物質	Phenobarbital (PB) および 5,6-Benzoflavone (BF)
g.	投与量および投与回数	PB: 30 mg/kg 1回（1日目），60 mg/kg 3回（2～4日目） BF: 80 mg/kg 1回（3日目）
h.	投与方法	腹腔内投与
i.	蛋白含量	24.9 mg/ml

成　分	Ｓ９ｍｉｘ 1ml 中の量
Ｓ９	0.1 ml
$MgCl_2$	8 μmol
ＫＣｌ	33 μmol
Ｇ－６－Ｐ	5 μmol
ＮＡＤＰＨ	4 μmol
ＮＡＤＨ	4 μmol
Ｎａ－リン酸緩衝液（pH 7.4）	100 μmol
精製水	残　量

5) 被験物質溶液の調製

被験物質を DMSO (Lot No. K21387978 513) に溶解させ調製原液とした．この調製原液を所定濃度に希釈した後，直ちに処理を行った．

6) 対照群

a. 溶媒対照

溶媒対照として，使用溶媒の DMSO のみで試験した．

b. 陽性対照

DMSO (Lot No. K20471078 429 あるいは K21387978 513) を用いて陽性対照物質を溶解し，少量ずつ分注した後凍結保存（－20℃）した．これを融解した後，試験に用いた．

各菌株について，下記に示した用量で試験した．これらの試験用量は，労働省安全衛生部化学物質調査課編『安衛法における変異原性試験－テストガイドラインとＧＬＰ』に準じて設定した．

《直接法》	菌　株	物質名	試験用量
ネズミチフス菌	TA100	AF-2	0.01 μg/プレート
〃	TA98	〃	0.1 〃
〃	TA1535	NaN_3	0.5 〃
〃	TA1537	ACR	80 〃
大　腸　菌	WP2 *uvrA*	AF-2	0.01 〃

《代謝活性化法》	菌　株	物質名	試験用量
ネズミチフス菌	TA100	2-AA	1 μg/プレート
〃	TA98	〃	0.5 〃
〃	TA1535	〃	2 〃
〃	TA1537	〃	2 〃
大　腸　菌	WP2 *uvrA*	〃	10 〃

AF-2：2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド（和光純薬工業株式会社，大阪府大阪市；純度 98.0～102.0%，Lot No. PTQ1296)

NaN_3：アジ化ナトリウム（和光純薬工業株式会社；純度 99.0%以上，Lot No. APH4078)

ACR ：9-アミノアクリジン（ALDRICH 社，米国；純度 98.0%，Lot No. CP01604TM)

2-AA：2-アミノアントラセン（和光純薬工業株式会社；純度 90.0%以上，Lot No. DCL3789)

c. 無菌試験

被験物質溶液（調製原液）ならびにＳ９ｍｉｘについて無菌試験を実施した．すなわち，100μl の調製原液あるいは 100μl のＳ９ｍｉｘにトップアガー 2 ml を添加し，プレート上に注いだ．37℃の条件で48時間培養した後，雑菌汚染の有無を確認した．

調製原液およびＳ９ｍｉｘのいずれについても１枚のプレートを用い，試験毎に本無菌試験を実施した．

7) ＡＭＥＳ試験

a. 試験用量

１枚のプレートを用いて実施した予備的な試験結果を以下に示す.

試験用量	Ｓ９	復帰突然変異コロニー数				
(μg／ﾌﾟﾚｰﾄ)	ｍｉｘ	TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
0	−	112	5	23	17	6
4.88	−	111	13	20	19	6
19.5	−	109	7	16	14	6
78.1	−	102	7	20	7	7
313	−	102	3	19	14	3
1250	−	96	11*	15	9	10*
0	＋	109	12	21	24	12
4.88	＋	111	9	22	18	14
19.5	＋	114	18	27	22	10
78.1	＋	108	5	23	24	7
313	＋	124	12	30	11	7
1250	＋	108	9	22	25	10

*：試験菌株に対する生育阻害作用が観察された.

本結果を基に，本試験においては以下に示した用量を最高用量とし，それぞれ６～７用量（公比２）を設定した.

試　験	最高用量（μg／プレート）				
	TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
直接法	5000	2500	5000	5000	2500
代謝活性化法	5000	5000	5000	5000	5000

b. 被験物質あるいは対照物質の処理および培養時間

試験管に，使用溶媒，被験物質溶液あるいは陽性対照物質溶液を 100μl，次いで直接法の場合，0.1M ナトリウム・リン酸緩衝液（pH 7.4）を 500μl，代謝活性化法の場合，Ｓ９ｍｉｘを 500μl 分注した．さらに前培養した試験菌株の懸濁液 100μl を加えた後，振盪恒温器（M-100^{N}：タイテック株式会社）を用いて37℃で20分間振盪培養（プレインキュベーション）した．培養終了後，トップアガーを 2 ml 添加し，内容物を混合した．その後，混合液をプレート上に注ぎ一様に広げた．重層したトップアガーが固化した後，恒温器を用いて37℃の条件で48時間各プレートを培養した．

１用量当たり３枚のプレートを用いた．

独立して試験を２回繰り返して実施した．

c. コロニー数計測

被験物質の試験菌株に対する生育阻害作用を確認するため，プレート上の試験菌株の生育状態について実体顕微鏡（×60）を用いて観察した．次いで，復帰突然変異により生じたコロニーを計数した．計測に際してはコロニーアナライザー（CA-11；システムサイエンス株式会社，東京都福生市）を用い，面積補正ならびに数え落とし補正を実施してコロニー数を算出した．

8) 結果の解析

復帰突然変異コロニー数が溶媒対照のほぼ２倍以上に増加し，かつ，再現性あるいは被験物質の用量に依存性が認められた場合に，陽性と判定した．

統計学的手法を用いた検定は実施しなかった．

11. 試　験　結　果：

1) 本試験（１回目）

各用量における復帰突然変異コロニー数を Figure 1～5 および Table 1～2 に示した.

直接法（－Ｓ９）ならびに代謝活性化法（＋Ｓ９）のいずれも高用量群において，Ｎ，Ｎ－ジメチルベンジルアミン処理による生育阻害作用が観察された.

復帰突然変異により生じたコロニー数については，各被験物質処理群とも溶媒対照群の値と比較して明確な差は認められなかった.

陽性対照物質はそれぞれの菌株において，溶媒対照群の２倍以上の復帰突然変異コロニーを誘発した.

なお，コロニー計数時を含めた試験期間中，析出等の特筆すべき変化は観察されなかった.

2) 本試験（２回目）

各用量における復帰突然変異コロニー数を Figure 1～5 および Table 3～4 に示した.

Ｎ，Ｎ－ジメチルベンジルアミン処理による生育阻害作用は，各試験系，各菌株の高用量において観察された.

復帰突然変異コロニー数は直接法および代謝活性化法のいずれの試験菌株においても溶媒対照値の２倍を超えることはなかった.

陽性対照物質は各試験菌株に対し，復帰突然変異を顕著に誘発した.

なお，試験期間中に特筆すべき変化は観察されなかった.

Ｎ，Ｎ－ジメチルベンジルアミン調製原液ならびにＳ９ｍｉｘの無菌試験において，菌の増殖は認められなかった.

以上２回の試験において直接法ならびに代謝活性化法の両試験とも再現性が確認された.

12. 考察および結論：

N，N－ジメチルベンジルアミンの変異原性，すなわち遺伝子突然変異誘発性の有無を検討するため，微生物（ネズミチフス菌・大腸菌）を用いたプレインキュベーション法による復帰突然変異試験を実施した．
最高用量として試験菌株の生育を阻害する用量あるいは 5000μg／プレートまで検討した．その結果，N，N－ジメチルベンジルアミン処理群では直接法および代謝活性化法のいずれにおいても，復帰突然変異コロニー数が溶媒対照と同等の値を示し，増加傾向は認められなかった．
なお，溶媒対照群あるいは陽性対照群でのコロニー数はいずれも当施設での背景データの範囲内であり，本試験は適切な条件でなされたと判断された．

以上の試験結果から，本試験条件下においてN，N－ジメチルベンジルアミンの微生物に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した．

13. 参考とした資料：

・Ames, B, N., Lee, F.D. and Durston, W.E. : An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens, Proc. Nat. Acad. Sci., 70, 782～786, 1973.

・Ames, B, N. *et al* , : Carcinogens are mutagens : A simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. Proc. Nat. Acad. Sci., 70, 2, 281 ～ 2, 285, 1973.

・Ames B. N., McCann, J. and Yamasaki, E. : Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test. Mut. Res., 31, 347 ～ 364, 1975.

・　　環境中の発ガン物質を微生物を使ってスクリーニングする実験法について，蛋白質・核酸・酵素，20 (13) , 16 ～ 27, 1975.

・労働省安全衛生部化学物質調査課編：　安衛法における変異原性試験－テストガイドラインとＧＬＰ－，中央労働災害防止協会，1991.

・石館　基　監修：　微生物を用いる変異原性試験データ集，エル・アイ・シー，1991.

Exp. No. 2713 (115-054)

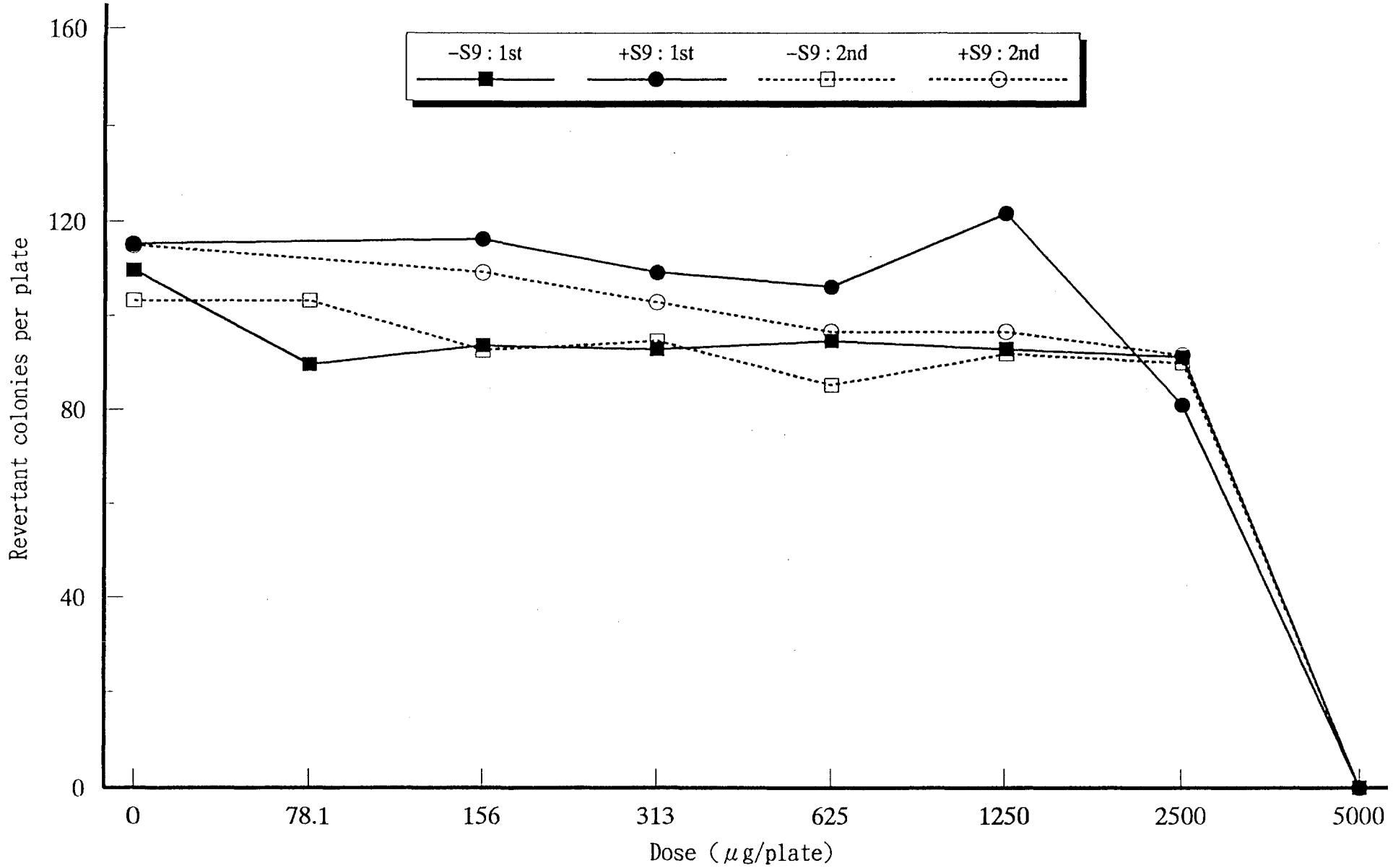


Figure 1. Bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine in strain TA100

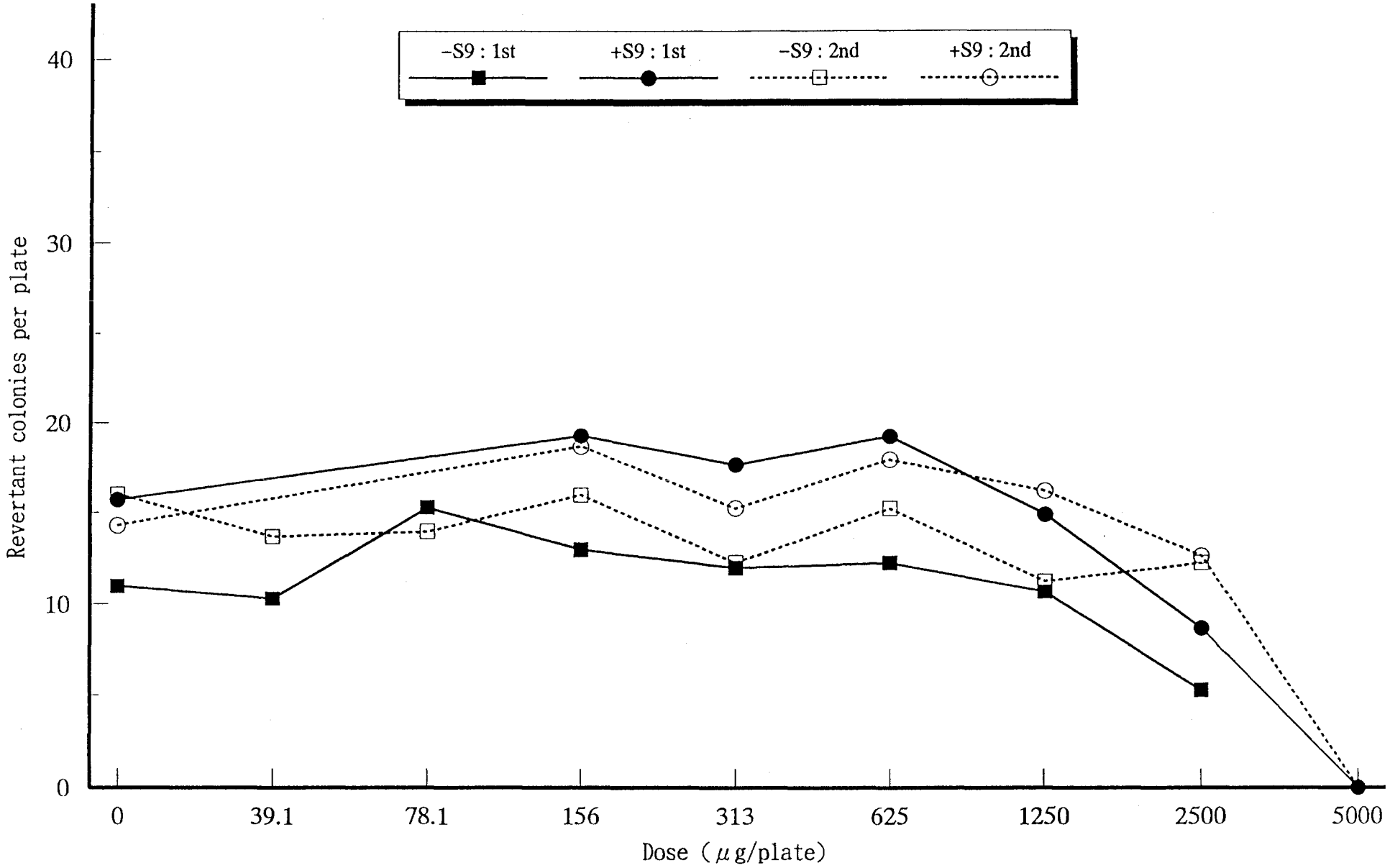


Figure 2. Bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine in strain TA1535

Exp. No. 2713 (115-054)

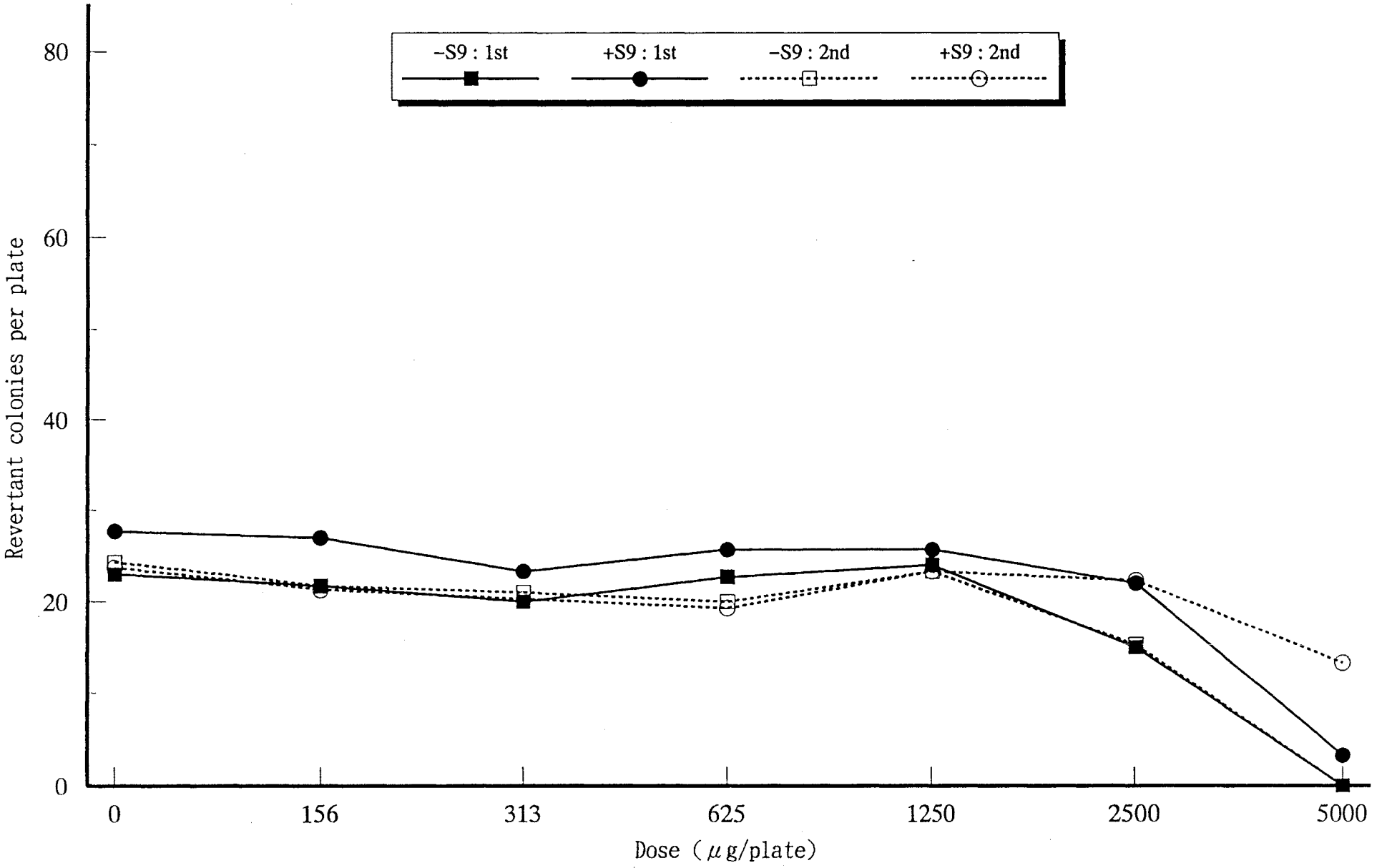


Figure 3. Bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine in strain WP2 *uvrA*

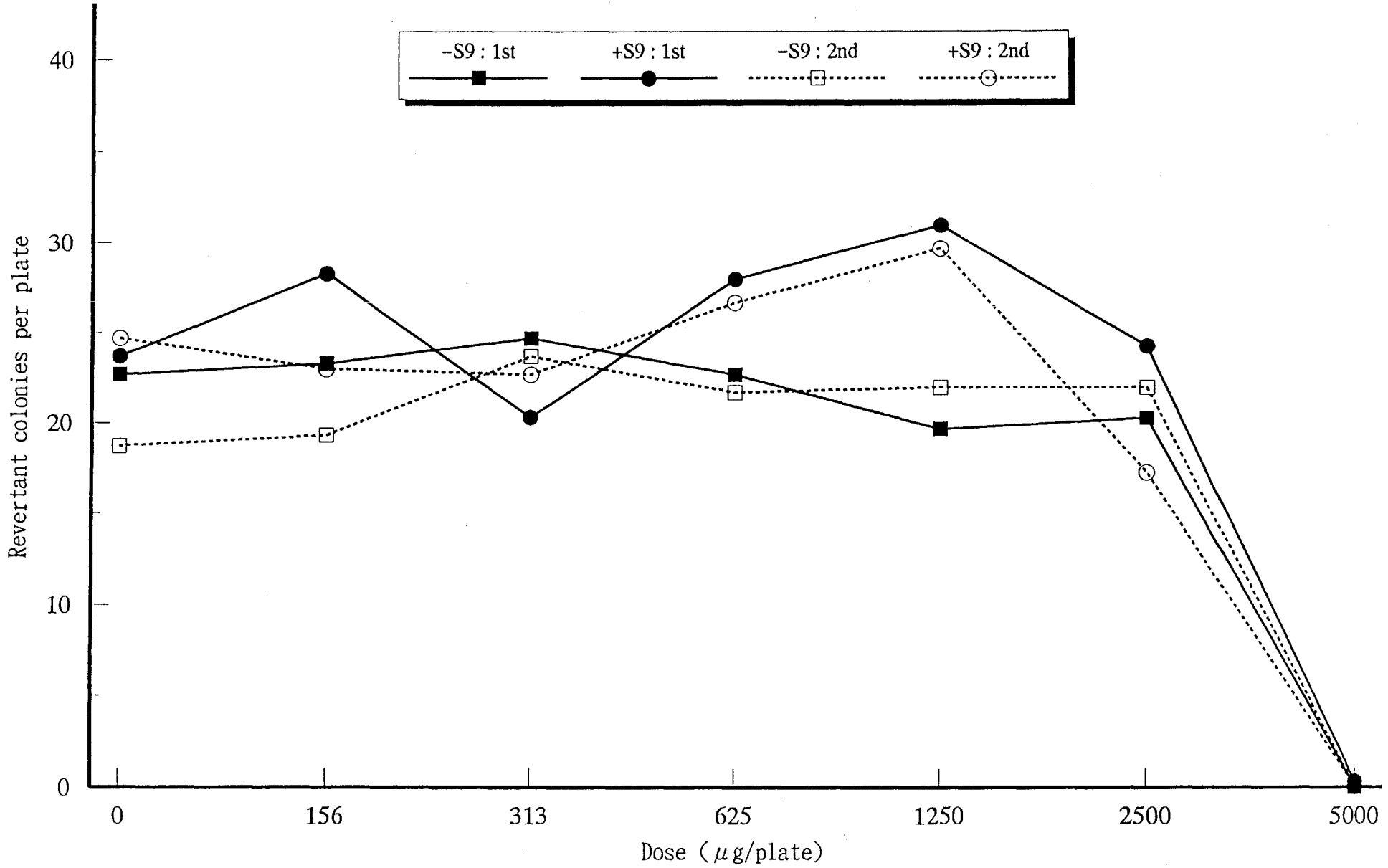


Figure 4. Bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine in strain TA98

Exp. No. 2713 (115-054)

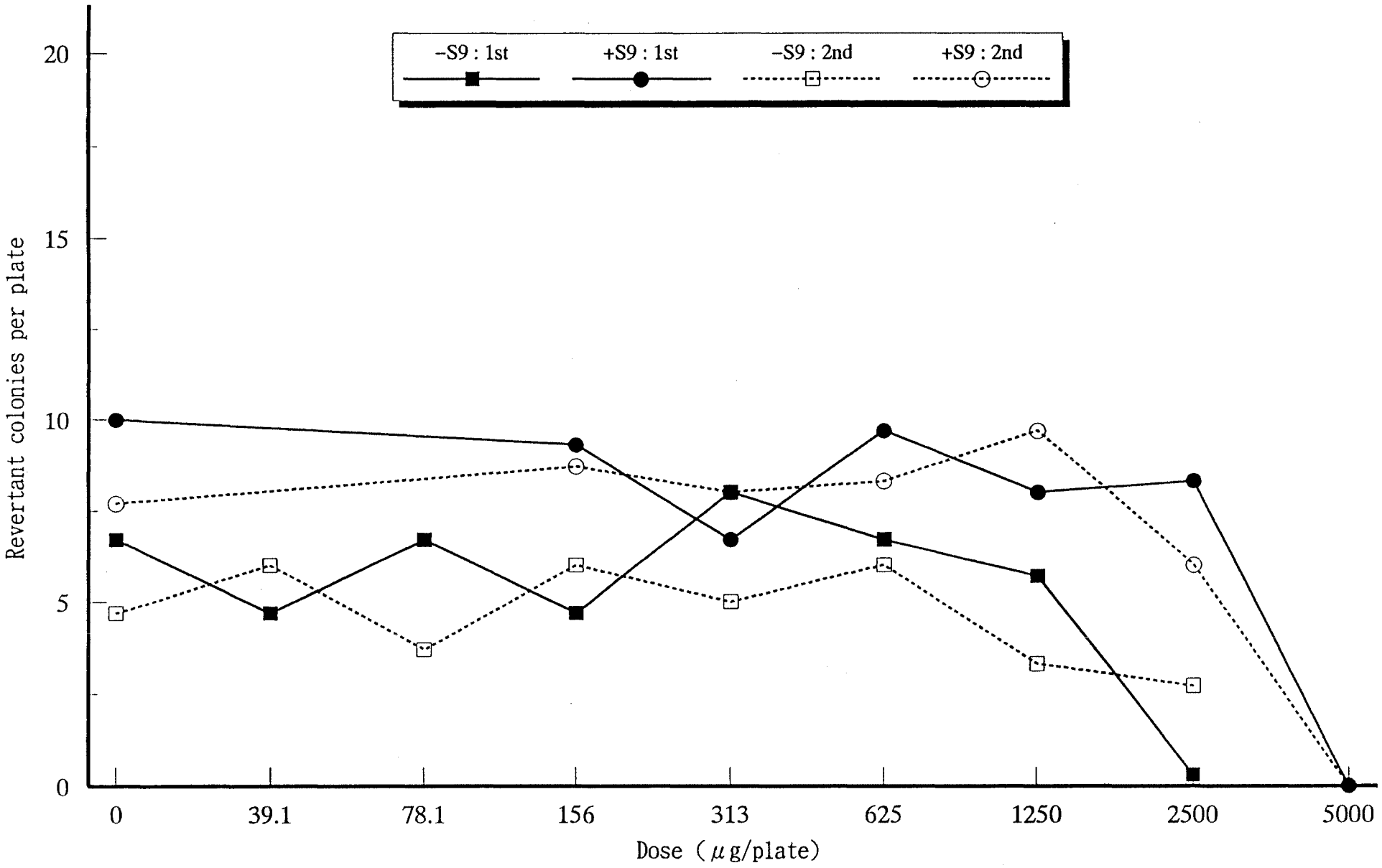


Figure 5. Bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine in strain TA1537

Table 1. Results of the bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine (1st trial)
[direct method : -S9]

Compound	Dose (μg/plate)	Revertant colonies per plate [Mean ± S.D.]				
		TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
DMSO #	0	117 105 107 [110 ± 6]	11 9 13 [11 ± 2]	26 23 20 [23 ± 3]	26 18 24 [23 ± 4]	6 9 5 [7 ± 2]
test sub.	39.1	-	9 12 10 [10 ± 2]	-	-	3 5 6 [5 ± 2]
	78.1	89 92 88 [90 ± 2]	18 12 16 [15 ± 3]	-	-	7 8 5 [7 ± 2]
	156	107 83 91 [94 ± 12]	14 13 12 [13 ± 1]	20 24 21 [22 ± 2]	23 24 23 [23 ± 1]	4 4 6 [5 ± 1]
	313	93 104 82 [93 ± 11]	14 12 10 [12 ± 2]	20 20 20 [20 ± 0]	28 18 28 [25 ± 6]	7 6 11 [8 ± 3]
	625	85 105 94 [95 ± 10]	15 11 11 [12 ± 2]	27 22 19 [23 ± 4]	28 21 19 [23 ± 5]	7 9 4 [7 ± 3]
	1250	95* 97* 87* [93 ± 5]	14* 11* 7* [11 ± 4]	27 24 21 [24 ± 3]	26 13 20 [20 ± 7]	4 7 6 [6 ± 2]
	2500	89* 87* 98* [91 ± 6]	3* 6* 7* [5 ± 2]	14* 16* 15* [15 ± 1]	16* 25* 20* [20 ± 5]	1* 0* 0* [0 ± 1]
	5000	0* 0* 0* [0 ± 0]	-	0* 0* 0* [0 ± 0]	0* 0* 0* [0 ± 0]	-
Positive control		329 336 306 a) [324 ± 16]	367 397 362 b) [375 ± 19]	120 145 124 a) [130 ± 13]	624 671 667 c) [654 ± 26]	567 594 586 d) [582 ± 14]

#: Solvent control *: Toxic effect was observed -: Not tested
a): AF-2; 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 0.01 μg/plate b): NaN_3; Sodium azide, 0.5 μg/plate c): AF-2, 0.1 μg/plate
d): ACR; 9-Aminoacridine, 80 μg/plate

Exp. No. 2713 (115-054)

Table 2. Results of the bacterial reversion test of N, N-Dimethylbenzylamine (1st trial)
[activation method : +S9]

Compound	Dose (μg/plate)	Revertant colonies per plate [Mean ± S.D.]				
		TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
DMSO #	0	114 119 113 [115 ± 3]	18 12 17 [16 ± 3]	29 27 27 [28 ± 1]	28 24 19 [24 ± 5]	10 9 11 [10 ± 1]
test sub.	156	115 121 113 [116 ± 4]	19 19 20 [19 ± 1]	30 25 26 [27 ± 3]	32 31 22 [28 ± 6]	11 10 7 [9 ± 2]
	313	107 100 121 [109 ± 11]	19 18 16 [18 ± 2]	24 25 21 [23 ± 2]	20 22 19 [20 ± 2]	8 4 8 [7 ± 2]
	625	108 103 108 [106 ± 3]	19 20 19 [19 ± 1]	21 29 27 [26 ± 4]	29 27 28 [28 ± 1]	11 7 11 [10 ± 2]
	1250	125 128 112 [122 ± 9]	13 15 17 [15 ± 2]	25 29 23 [26 ± 3]	28 33 32 [31 ± 3]	10 8 6 [8 ± 2]
	2500	91* 78* 74* [81 ± 9]	11* 6* 9* [9 ± 3]	24* 21* 21* [22 ± 2]	26 19 28 [24 ± 5]	8* 9* 8* [8 ± 1]
	5000	0* 0* 0* [0 ± 0]	0* 0* 0* [0 ± 0]	5* 5* 0* [3 ± 3]	0* 1* 0* [0 ± 1]	0* 0* 0* [0 ± 0]
Positive control		826 749 796 a) [790 ± 39]	323 361 365 b) [350 ± 23]	869 874 917 c) [887 ± 26]	428 420 404 d) [417 ± 12]	114 109 132 b) [118 ± 12]

#: Solvent control *: Toxic effect was observed -: Not tested
a): 2AA; 2-Aminoanthracene, 1 μg/plate b): 2AA, 2 μg/plate c): 2AA, 10 μg/plate d): 2AA, 0.5 μg/plate

Table 3. Results of the bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine (2nd trial)
[direct method : -S9]

Compound	Dose (μg/plate)	Revertant colonies per plate [Mean ± S.D.]				
		TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
DMSO #	0	110 100 100 [103 ± 6]	17 14 17 [16 ± 2]	28 21 24 [24 ± 4]	21 16 19 [19 ± 3]	5 3 6 [5 ± 2]
test sub.	39.1	-	19 9 13 [14 ± 5]	-	-	8 7 3 [6 ± 3]
	78.1	104 96 110 [103 ± 7]	19 12 11 [14 ± 4]	-	-	1 4 6 [4 ± 3]
	156	99 91 88 [93 ± 6]	17 13 18 [16 ± 3]	23 21 21 [22 ± 1]	18 22 18 [19 ± 2]	8 4 6 [6 ± 2]
	313	83 90 111 [95 ± 15]	13 10 14 [12 ± 2]	23 16 24 [21 ± 4]	21 26 24 [24 ± 3]	3 7 5 [5 ± 2]
	625	81 82 93 [85 ± 7]	13 17 16 [15 ± 2]	22 22 16 [20 ± 3]	18 24 23 [22 ± 3]	6 5 7 [6 ± 1]
	1250	83* 110* 83* [92 ± 16]	11* 13* 10* [11 ± 2]	24 22 24 [23 ± 1]	22 18 26 [22 ± 4]	1* 4* 5* [3 ± 2]
	2500	82* 98* 90* [90 ± 8]	16* 10* 11* [12 ± 3]	18* 12* 16* [15 ± 3]	24* 24* 18* [22 ± 3]	2* 3* 3* [3 ± 1]
	5000	0* 0* 0* [0 ± 0]	-	0* 0* 0* [0 ± 0]	0* 0* 0* [0 ± 0]	-
Positive control		377 406 380 a) [388 ± 16]	402 385 398 b) [395 ± 9]	154 129 128 a) [137 ± 15]	600 622 639 c) [620 ± 20]	555 581 587 d) [574 ± 17]

#: Solvent control *: Toxic effect was observed -: Not tested
a): AF-2; 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 0.01 μg/plate b): NaN_3; Sodium azide, 0.5 μg/plate c): AF-2, 0.1 μg/plate
d): ACR; 9-Aminoacridine, 80 μg/plate

Exp. No. 2713 (115-054)

Table 4. Results of the bacterial reversion test of N,N-Dimethylbenzylamine (2nd trial)
[activation method : +S9]

Compound	Dose (μg/plate)	Revertant colonies per plate [Mean ± S.D.]				
		TA100	TA1535	WP2*uvrA*	TA98	TA1537
DMSO #	0	111 118 116 [115 ± 4]	20 11 12 [14 ± 5]	19 27 25 [24 ± 4]	28 20 26 [25 ± 4]	9 8 6 [8 ± 2]
test sub.	156	120 117 91 [109 ± 16]	18 15 23 [19 ± 4]	20 23 21 [21 ± 2]	18 24 27 [23 ± 5]	10 6 10 [9 ± 2]
	313	114 97 98 [103 ± 10]	10 17 19 [15 ± 5]	17 20 24 [20 ± 4]	18 28 22 [23 ± 5]	7 7 10 [8 ± 2]
	625	101 109 80 [97 ± 15]	19 20 15 [18 ± 3]	20 19 19 [19 ± 1]	30 27 23 [27 ± 4]	8 10 7 [8 ± 2]
	1250	95 100 95 [97 ± 3]	16 17 16 [16 ± 1]	23 21 26 [23 ± 3]	29 31 29 [30 ± 1]	11 10 8 [10 ± 2]
	2500	108* 84* 83* [92 ± 14]	10* 12* 16* [13 ± 3]	20* 21* 26* [22 ± 3]	17 17 18 [17 ± 1]	6* 5* 7* [6 ± 1]
	5000	0* 0* 0* [0 ± 0]	0* 0* 0* [0 ± 0]	12* 13* 15* [13 ± 2]	0* 0* 0* [0 ± 0]	0* 0* 0* [0 ± 0]
Positive control		797 822 791 a) [803 ± 16]	350 375 354 b) [360 ± 13]	730 790 795 c) [772 ± 36]	359 351 354 d) [355 ± 4]	108 113 101 b) [107 ± 6]

#: Solvent control *: Toxic effect was observed -: Not tested
a): 2AA; 2-Aminoanthracene, 1 μg/plate b): 2AA, 2 μg/plate c): 2AA, 10 μg/plate d): 2AA, 0.5 μg/plate