B031638

最終報告書

N, N-ジメチル-*N*-ドデシルグリシンのほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

（試験番号：B031638）

2005 年 11 月 29 日

株式会社三菱化学安全科学研究所

2. 目次

2. 目次 3

5. 要約 10
6. 材料および方法 11
6.1 被験物質 11
6.1.1 名称 11
6.1.2 CAS 番号 11
6.1.3 構造式 11
6.1.4 ロット番号 11
6.1.5 純度 11
6.1.6 不純物 11
6.1.7 分子量 11
6.1.8 常温における性状 11
6.1.9 溶解性 11
6.1.10 保存条件 11
6.1.11 入手先 12
6.1.12 入手日 12
6.1.13 安定性の確認 12
6.1.14 変異原性に関する情報 12
6.2 対照物質 12
6.2.1 陰性対照物質 12
6.2.2 陽性対照物質 12

6.3 細胞 13
6.3.1 細胞 13
6.3.2 購入元 13
6.3.3 購入日 13
6.3.4 保存 13
6.3.5 特性検査 13
6.3.6 継代数 13
6.3.7 培養条件 14
6.3.8 細胞の選択理由 14
6.4 培地 14
6.4.1 MEM 14
6.4.2 MEM 培地 14
6.5 S9 mix 14
6.5.1 S9 14
6.5.2 S9 mix の調製 15
6.6 被験物質溶液および陽性対照物質溶液の調製 16
6.6.1 被験物質溶液の調製 16
6.6.2 陽性対照物質溶液の調製 16
6.7 細胞増殖抑制試験 16
6.7.1 処理条件 16
6.7.2 被験物質用量 17
6.7.3 被験物質用量の設定理由 17
6.7.4 細胞処理 17
6.7.5 細胞増殖率の測定 18
6.7.6 50%細胞増殖抑制用量の算出 18
6.8 染色体異常試験 18
6.8.1 処理条件 18
6.8.2 被験物質用量 18
6.8.3 被験物質用量の設定理由 18
6.8.4 陽性対照物質用量 19
6.8.5 陽性対照物質用量の設定理由 19
6.8.6 細胞処理 19
6.8.7 標本作製 19
6.8.8 細胞増殖率の測定 20
6.8.9 観察 20
6.8.10 判定基準 21
6.9 結果のまとめ 22
6.9.1 結果の表示 22
7. 結果 23
7.1 細胞増殖抑制試験 23

7.2 染色体異常試験 23
8. 考察および結論 24
9. 参考文献 25

表 1 細胞増殖抑制試験の結果 26
表 2 染色体異常試験の結果（短時間処理法） 27
表 3 染色体異常試験の結果（連続処理法；本試験） 28
表 4 染色体異常試験の結果（連続処理法；追加試験） 29
図 1 *N, N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシン処理における細胞毒性（短時間処理法・－S9 mix） 30
図 2 *N, N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシン処理における細胞毒性（短時間処理法・＋S9 mix） 30
図 3 *N, N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシン処理における細胞毒性（連続処理法） 31
図 4 *N, N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシン処理における構造異常細胞出現頻度（短時間処理法） 32
図 5 *N, N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシン処理における数的異常細胞出現頻度（短時間処理法） 32
図 6 *N, N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシン処理における構造異常細胞出現頻度（連続処理法） 33
図 7 *N, N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシン処理における数的異常細胞出現頻度（連続処理法） 33

5. 要約

雌チャイニーズハムスター肺由来の細胞株 CHL/IU を用い，*N,N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシンの *in vitro* における染色体異常試験を実施した．

予備試験の結果に基づき，細胞増殖抑制試験は，短時間処理法 S9 mix 非共存下（以下－S9 mix）および S9 mix 共存下（以下＋S9 mix）で同じく 50，100，150，200，300，400，500 μg/mL を，連続処理法 24 時間処理（以下 24 時間処理）で 12.5，25，50，100，150，200 μg/mL を設定した．
その結果，50%細胞増殖抑制用量（IC_{50}）は，－S9 mix で 146 μg/mL，＋S9 mix で 242 μg/mL，24 時間処理法で 107 μg/mL であった．

細胞増殖抑制試験の結果に基づき，染色体異常試験は，－S9 mix で 100, 125, 150, 175，200 μg/mL を，＋S9 mix で 200，225，250，275，300 μg/mL を，24 時間処理で 50，75，100，125，150 μg/mL を設定した．
24 時間処理では，50%以上の細胞増殖抑制を示す用量において，標本観察ができなかったため，100，110，120，130，140，150 μg/mL を設定して追加試験を実施した．
染色体異常試験の標本観察の結果，いずれの処理条件においても，染色体構造異常または数的異常を持つ細胞の出現頻度は 5.0%未満であった．

従って，*N,N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシンは，当試験条件下において CHL/IU 細胞に対する染色体異常誘発性を有さないものと結論した．

6. 材料および方法

6.1 被験物質

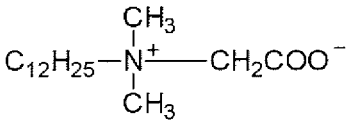
6.1.1 名称

N, N-ジメチル-*N*-ドデシルグリシン［別名；アンヒトール 24B（Amphitol 24B）］

6.1.2 CAS 番号

683-10-3

6.1.3 構造式



6.1.4 ロット番号

6.1.5 純度

27.1%

6.1.6 不純物

石油エーテル可溶分 0.1%，乾燥減量 65.8%，強熱残分 7.0%

6.1.7 分子量

271.25

6.1.8 常温における性状

微黄色透明液体

6.1.9 溶解性

水および生理食塩液に 50 mg/mL で可溶.
（当研究所における溶媒検討・試験結果による.）

6.1.10 保存条件

室温（実測値：16.0°C ～ 23.9°C），遮光，密閉容器

6.1.11　入手先

6.1.12　入手日
2003 年 11 月 19 日

6.1.13　安定性の確認
被験物質の入手先より安定性を保証する資料を入手し，確認した．

6.1.14　変異原性に関する情報
類似化合物の変異原性に関する情報を添付資料にまとめた．

6.2　対照物質
6.2.1　陰性対照物質
6.2.1.1　名称
生理食塩液

6.2.1.2　製造元
株式会社大塚製薬工場

6.2.1.3　ロット番号
K3K96

6.2.1.4　陰性対照物質の選択理由
溶媒検討の結果，本被験物質は生理食塩液に 50 mg/mL で溶解し，発熱，発泡，変色は認められなかった．この結果に基づき，本被験物質の溶媒（陰性対照物質）には生理食塩液を選択した．

6.2.2　陽性対照物質
6.2.2.1　名称
マイトマイシン C（以下 MMC）[S9 mix 非共存下]
ベンゾ[a]ピレン（以下 BP）[S9 mix 共存下]

6.2.2.2　製造元
MMC：協和発酵工業株式会社
BP：東京化成工業株式会社

6.2.2.3 ロット番号
MMC：413ACF
BP：GG01

6.2.2.4 含量
MMC：99%
BP：95.6%

6.2.2.5 陽性対照物質の選択理由
ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験において広く使用され，適用ガイドラインにおいて例示されている．

6.3 細胞
6.3.1 細胞
CHL/IU（雌チャイニーズハムスター肺由来）

6.3.2 購入元
大日本製薬株式会社

6.3.3 購入日
2003 年 9 月 2 日

6.3.4 保存
最終 10 v/v%の割合でジメチルスルホキシド（以下 DMSO）を添加した培養液に細胞を浮遊させ，1 mL に分注したものを 2003 年 9 月 9 日に凍結し，以後，液体窒素保存容器で保存した．
試験においては，これを事前あるいは試験期間中に融解，培養して，他試験と共通で使用した．

6.3.5 特性検査
6.3.4 項の凍結細胞について，以下の特性を事前に確認した．
染色体モード（2n）：25
倍加時間：14.1 時間
マイコプラズマ：陰性

6.3.6 継代数
購入時：14

凍結時：17
使用時：18～24（融解後 4 週間以内）

6.3.7　培養条件

容器：プラスチックプレート（直径 6 cm または 10 cm ; Becton Dickinson and Company）
温度：37°C
CO_2 濃度：5%
湿度：加湿条件下
培養器：炭酸ガス細胞培養装置（Jouan S.A., 6301C 型または 7300 型）

6.3.8　細胞の選択理由

染色体数のモードが 25 本と少なく，染色体が比較的大きいため標本観察が容易である等の利点があり，培養細胞を用いる染色体異常試験で広く使用されている．また，適用ガイドラインにおいて推奨されている．

6.4　培地

MEM および MEM 培地は，事前あるいは試験開始後に調製したものを，他試験と共通で使用した．

6.4.1　MEM

(1) イーグル MEM 培地「ニッスイ」①（日水製薬株式会社，ロット番号：503312）8.3 g を精製水 880 mL に溶解した．
(2) オートクレーブ滅菌（121°C，20 分間）した．
(3) この溶液に，別に滅菌処理した 2.92 w/v%L-グルタミン水溶液 8.8 mL と，10 w/v%炭酸水素ナトリウム水溶液 11.2 mL を添加した．

6.4.2　MEM 培地

MEM 900 mL に，非働化（56°C, 30 分間加熱処理）した仔牛血清（Invitrogen Corp., ロット番号：353445）を 100 mL 添加した．

6.5　S9 mix

6.5.1　S9

6.5.1.1　製造元

キッコーマン株式会社

6.5.1.2 ロット番号
RAA-497

6.5.1.3 製造日
2004 年 2 月 6 日

6.5.1.4 入手日
2004 年 2 月 17 日

6.5.1.5 製造方法
フェノバルビタール（1 日目 30 mg/kg を 1 回腹腔内投与，2 日目以降 60 mg/kg を 1 日 1 回 3 日間腹腔内投与）と 5, 6-ベンゾフラボン（フェノバルビタール投与 3 日目に 80 mg/kg を 1 回腹腔内投与）で酵素誘導した 7 週齢 SD 系雄ラット（体重：215～245 g）の肝臓より調製された．

6.5.1.6 蛋白含量
25.02 mg/mL（細胞処理時の最終蛋白含量：1.25 mg/mL）

6.5.1.7 保存条件
-80°C 以下（実測値：-84～-82°C）

6.5.1.8 使用期限
6.5.1.3 項の製造日から 6 ヶ月間（最終使用日：2004 年 4 月 5 日）

6.5.2 S9 mix の調製
S9 mix 1 mL あたり以下の組成で用時調製した．使用時まで氷中に保存した．

S9	0.3 mL
D-グルコース 6-リン酸	5 μmol
β-$NADP^+$	4 μmol
HEPES (pH 7.2)	4 μmol
$MgCl_2$	5 μmol
KCl	33 μmol
精製水	残量

6.6 被験物質溶液および陽性対照物質溶液の調製

6.6.1 被験物質溶液の調製

(1) 被験物質を所定量秤量した．秤量に際しては，純度換算（27.1%）を実施した．
(2) これに生理食塩液を加え，振盪撹拌により溶解した．
(3) 生理食塩液を加え所定量にメスアップし，最高処理用量の 10 倍濃度溶液（最高濃度溶液）とした．
(4) 最高濃度溶液を生理食塩液で段階希釈して，各処理用量の 10 倍濃度の被験物質溶液（細胞増殖抑制試験：5，4，3，2，1.5，1，0.5，0.25，0.125 mg/mL，染色体異常試験[短時間処理法]3, 2.75, 2.5, 2.25, 2, 1.75, 1.5, 1.25, 1 mg/mL，染色体異常試験［連続処理法・本試験］1.5，1.25，1，0.75，0.5 mg/mL，染色体異常試験［連続処理法・追加試験］1.5，1.4，1.3，1.2，1.1，1 mg/mL）を調製した．
(5) 上記操作ならびに調製後使用時までの保存（細胞増殖抑制試験：10～20 分間，染色体異常試験［短時間処理法］：10～20 分間，染色体異常試験［連続処理法］：10 分間）は，室温，黄色灯下で実施した．

6.6.2 陽性対照物質溶液の調製

6.6.2.1 MMC 溶液の調製

(1) 2 mg 入りバイアル瓶の MMC を，注射用水（株式会社大塚製薬工場，ロット番号：K3G78）5 mL に用時溶解した．
(2) これを生理食塩液（株式会社大塚製薬工場，ロット番号：K3K96）で段階希釈し，処理用量の 10 倍濃度の溶液（短時間処理法：1 μg/mL，連続処理法：0.5 μg/mL）を調製した．

6.6.2.2 BP 溶液の調製

(1) BP 20 mg を秤量し，DMSO （関東化学株式会社，ロット番号：503F1960）5 mL に溶解した（4 mg/mL；処理用量の 200 倍濃度）．
(2) この溶液を 0.2 mL ずつ分注して，冷凍庫（実測値：-27.1～-20.8°C）に保存した．
(3) 2003 年 11 月 21 日に調製した上記溶液のうちの 1 本を，使用当日に融解して使用した．

6.7 細胞増殖抑制試験

6.7.1 処理条件

－S9 mix：短時間処理法（6 時間処理，18 時間回復）S9 mix 非共存下

＋S9 mix：短時間処理法 S9 mix 共存下
24 時間処理：連続処理法（24 時間処理）S9 mix 非共存下

6.7.2　被験物質用量

－S9 mix：50，100，150，200，300，400，500 μg/mL
＋S9 mix：50，100，150，200，300，400，500 μg/mL
24 時間処理：12.5，25，50，100，150，200 μg/mL

6.7.3　被験物質用量の設定理由

細胞増殖抑制試験に先立ち，予備試験を実施した．各処理条件について 50，500，5000 μg/mL を設定し，1 用量あたり 1 枚のプレートを用いて実施した．処理終了後のプレートを位相差倒立顕微鏡で観察し，陰性対照群プレートの細胞密度を 100%として相対的な細胞密度を判断した．
その結果，各プレートの細胞密度は以下の通りであった．

用量（μg/mL）／処理条件	50	500	5000
－S9 mix	100%	0%	0%
＋S9 mix	100%	0%	0%
24 時間処理	50%	0%	0%

この結果に基づいて，6.7.2 項の被験物質用量を設定した．

6.7.4　細胞処理

(1) 4×10^3 個/mL に調製した細胞浮遊液を 6 cm プレートに 5 mL ずつ播き，3 日間前培養した．
(2) MEM 培地を除去した後，被験物質溶液，S9 mix および MEM 培地を，下記の組成でプレートに添加した．陰性対照群については，生理食塩液を用いて同様に実施した．用量あたり 2 枚のプレートを用いた．

処理条件	被験物質溶液 または生理食塩液	S9 mix	MEM 培地
－S9 mix	0.3 mL	－	2.7 mL
＋S9 mix	0.3 mL	0.5 mL	2.2 mL
24 時間処理	0.5 mL	－	4.5 mL

(3) 短時間処理法では 6 時間，連続処理法では 24 時間細胞を処理した．

(4) 短時間処理法では6時間処理後，MEMで細胞表面を1回洗浄し，新たにMEM培地5 mLを加え，さらに18時間培養した．
(5) 処理開始時および処理終了時に，被験物質の析出，沈殿の有無を目視で観察した．

6.7.5 細胞増殖率の測定

(1) 細胞表面をCa^{2+}，Mg^{2+}フリーのダルベッコリン酸緩衝液（以下PBS(-)，日水製薬株式会社）で洗浄した．
(2) 0.25 w/v%トリプシンで5分間処理した．
(3) MEM培地を加え，ピペッティングにより細胞を剥離した．
(4) 血球計算盤で細胞を計数した．
(5) 陰性対照群の測定値の平均を100%として，細胞増殖率を算出した．

6.7.6 50%細胞増殖抑制用量の算出

各処理条件について，細胞増殖率が50%を挟む2用量を結ぶ直線式より，50%細胞増殖抑制用量（IC_{50}）を算出した．

6.8 染色体異常試験

6.8.1 処理条件

－S9 mix，＋S9 mix，24時間処理
まず，短時間処理法のみについて実施した．短時間処理法の結果，陰性と判定されたため，引き続き連続処理法を実施した．

6.8.2 被験物質用量

6.8.2.1 染色体異常試験（本試験）

－S9 mix：100，125，150，175，200 μg/mL
＋S9 mix：200，225，250，275，300 μg/mL
24時間処理：50，75，100，125，150 μg/mL

6.8.2.2 染色体異常試験（追加試験）

24時間処理：100，110，120，130，140，150 μg/mL

6.8.3 被験物質用量の設定理由

染色体異常試験（本試験）は，細胞増殖抑制試験の結果に基づき，明らかに細胞増殖が50%以上抑制されると予想される用量を最高に，6.8.2.1項の被験物質用量を設定した．

染色体異常試験（本試験）の結果，24 時間処理では，最高用量で 50%以上の細胞増殖抑制が示されたものの，プレートあたり 50 個以上の分裂中期細胞が得られず，標本観察ができなかった．このため，染色体異常試験（追加試験）は，150 μg/mL 以下，細胞増殖が 50%以上抑制されると予想される用量域を含め，6.8.2.2 項の被験物質用量を設定した．

6.8.4　陽性対照物質用量

－S9 mix：MMC，0.1 μg/mL
＋S9 mix：BP，20 μg/mL
24 時間処理：MMC，0.05 μg/mL

6.8.5　陽性対照物質用量の設定理由

上記用量で染色体異常を誘発することが知られている．

6.8.6　細胞処理

6.7.4 項に示した方法で実施した．
陽性対照群については，下記の組成で同様に実施した．

処理条件	MMC 溶液	BP 溶液	S9 mix	MEM 培地
－S9 mix	0.3 mL	－	－	2.7 mL
＋S9 mix	－	0.015 mL	0.5 mL	2.5 mL
24 時間処理	0.5 mL	－	－	4.5 mL

6.8.7　標本作製

(1) 処理終了の 2 時間前にコルセミドを最終用量が 0.1 μg/mL となるように加え，分裂中期細胞を蓄積した．
(2) 処理終了後，細胞表面を PBS(-)で洗浄した．
(3) 0.25 w/v%トリプシン処理にて細胞を剥離した．
(4) 細胞浮遊液を遠心管に回収し，遠心分離（1000 rpm，5 分間；以下同様）により細胞を集めた．
(5) 上清を除去後，各遠心管に 0.075 mol/L 塩化カリウム溶液 4 mL を加えて低張処理（37℃，15 分）を行った．
(6) 冷却した固定液（メタノール・酢酸混合液［3：1，v/v］）0.5 mL を加え，混和した後に，遠心分離し，上清を除去した．
(7) 固定液 4 mL を加え，混和した後に，遠心分離し，上清を除去した．

(8) (7)の操作を再度実施した.
(9) 適量の固定液に細胞を浮遊させた.
(10) 濡らした手ぬぐいの上に置いたスライドガラスに 2 箇所滴下して乾燥させた. プレートあたり 2 枚の標本を作製した.
(11) 3 v/v%ギムザ溶液で 20 分間染色し, 水洗, 乾燥した.
(12) カバーガラスおよび封入剤で封入した.

6.8.8 細胞増殖率の測定

6.8.7 (3)項で得られた細胞浮遊液の一部を採取し, 血球計算盤で細胞を計数した.
陰性対照群の測定値（平均値）を 100%として, 細胞増殖率を算出した.
陽性対照群については測定を実施しなかった.

6.8.9 観察

6.8.9.1 予備鏡検

試験の適否確認のため予備鏡検を行い, 以下の項目について確認した.
(1) 各プレートから作製した2枚の標本で合わせて50個以上の分裂中期細胞が得られる. （得られない場合, そのプレートの標本は観察対象から除外した.）
(2) 陰性対照群および陽性対照群において, 染色体異常を持つ細胞の出現頻度が適切である.

6.8.9.2 観察

6.8.9.2.1 標本のコード化

標本をランダムに並べ替えた後, 情報記載部分をラベルで覆い観察した.

6.8.9.2.2 観察対象とした分裂中期細胞の選択基準

(1) 染色体がよく広がっている.
(2) 動原体数が 25±2 または 35 以上である（断片化を除く）.

6.8.9.2.3 観察細胞数

プレートあたり 100 個（用量あたり 200 個）

6.8.9.2.4 構造異常[1]

(1) 染色分体型切断
(2) 染色分体型交換
(3) 染色体型切断
(4) 染色体型交換（二動原体, 環状染色体など）
(5) 断片化

6.8.9.2.5　ギャップ

ギャップは，染色分体に見られる非染色部分の幅が染色分体の幅よりも狭いものとした．
他の異常と区別して記録し，構造異常には含めなかった．

6.8.9.2.6　数的異常

動原体数が 35 以上の倍数体細胞（核内倍加細胞を含む）

6.8.10　判定基準

6.8.10.1 染色体異常細胞

構造異常細胞：染色体構造異常を 1 個以上持つ細胞
数的異常細胞：染色体数的異常を持つ細胞

6.8.10.2 データ採用基準

観察可能な分裂中期細胞数がプレートあたり 50 個以上の標本のデータを採用データとした．

6.8.10.3 試験成立基準

以下の基準を満たしている場合に試験成立とした．

(1) 陰性対照群および陽性対照群ならびに 3 用量以上の被験物質処理群について，データ採用基準を満たしている．
(2) 陰性対照群において，構造異常細胞および数的異常細胞の出現頻度が 5%未満である．
(3) 陽性対照群において，構造異常細胞の出現頻度が 10%以上である．

6.8.10.4 判定基準[1]

陰性：いずれの被験物質処理群においても，構造異常細胞および数的異常細胞の出現頻度が 5%未満である．
疑陽性：いずれかの被験物質処理群において，構造異常細胞または数的異常細胞の出現頻度が 5%以上 10%未満である．
陽性：いずれかの被験物質処理群において，構造異常細胞または数的異常細胞の出現頻度が 10%以上であり，用量依存的な増加傾向が認められる．

6.8.10.5 統計学的手法

判定に統計学的手法は用いなかった．

6.9 結果のまとめ

6.9.1 結果の表示

6.9.1.1 表

(1) 細胞増殖率
(2) プレート毎の構造異常細胞および数的異常細胞の出現数
(3) 用量毎の構造異常細胞および数的異常細胞の出現数合計および出現頻度
(4) プレートあたり 50 個以上の分裂中期細胞が観察できなかった標本の欄は「Tox」と記載した.

6.9.1.2 図

(1) 細胞増殖率
(2) 染色体異常細胞出現頻度

7. 結果

7.1 細胞増殖抑制試験

IC_{50}は，－S9 mix で 146 μg/mL，＋S9 mix で 242 μg/mL，24 時間処理法で 107 μg/mL であった（表 1，図 1～3）．

7.2 染色体異常試験

予備鏡検の結果，＋S9 mix の 300 μg/mL の 1 プレート，24 時間処理法（本試験）の 150 μg/mL，および 24 時間処理法（追加試験）の 130 μg/mL 以上の処理用量においては，プレートあたり 50 個以上の分裂中期細胞が得られなかったため，これらのプレートから作製した標本は観察の対象から除外した．

染色体異常試験の標本観察の結果，染色体構造異常または数的異常を持つ細胞の出現頻度は，いずれの処理条件のいずれの被験物質用量においても 5%未満であった（表 2～4，図 4～7）．
陰性対照群における染色体構造異常細胞および数的異常細胞の出現頻度は，いずれの処理条件においても 5%未満であった（表 2～4，図 4～7）．陽性対照群における構造異常細胞の出現頻度は，いずれの処理条件においても 10%以上であった（表 2～4）．

8. 考察および結論

N, N-ジメチル-*N*-ドデシルグリシンの染色体異常誘発性を検討するため，ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を実施した.

染色体異常試験の結果，染色体構造異常または数的異常を持つ細胞の出現頻度は，いずれの処理条件のいずれの被験物質用量においても5%未満であった.
陰性対照群および陽性対照群では染色体異常細胞の出現頻度は期待通りの値を示し，当試験が技術的に成立していることが示された.
従って，*N, N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシンは，当試験条件下においてCHL/IU細胞に対する染色体異常誘発性を有さないものと結論した.

9. 参考文献

[1] 日本製薬工業協会・医薬品評価委員会・基礎研究部会・第 3 分科会・遺伝毒性ワーキンググループ編「医薬品のための遺伝毒性試験 Q&A」サイエンティスト社，東京，2000

表１　細胞増殖抑制試験の結果

用量 (μg/mL)	細胞増殖率（%）		
	短時間処理法		連続処理法
	－S9 mix	＋S9 mix	24時間処理
陰性対照 (生理食塩液)	100	100	100
12.5			95
25			80
50	86	100	79
100	66	98	57
150	49	73	24
200	27	70	0
300	0	31	
400	0	0	
500	0	0	

表 2　　染色体異常試験の結果（短時間処理法）

被験物質の名称　*N,N*-ジメチル-*N*-トデシルグリシン

処理-回復時間(h)	S9 mix	被験物質の用量(μg/mL)	染色体構造異常細胞数(出現頻度%)							ギャップの出現数	細胞増殖率(%)	染色体数的異常細胞数(出現頻度%)			
			観察細胞数	染色分体型切断	染色分体型交換	染色体型切断	染色体型交換	断片化	総異常細胞数(%)			観察細胞数	倍数体	核内倍加	総異常細胞数(%)
6－18	－	陰性対照(生理食塩液)	100	0	0	0	2	0	2	0	102	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	98	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	100	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	－	100	100	1	0	1	0	0	2	0	79	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	79	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	79	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	－	125	100	0	0	0	0	0	0	0	79	100	0	0	0
			100	1	0	0	0	0	1	0	74	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0	77	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	－	150	100	1	1	0	0	0	2	0	57	100	0	0	0
			100	1	1	1	0	0	3	0	58	100	0	0	0
			200	2 (1.0)	2 (1.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (2.5)	0	57	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	－	175	100	0	0	0	0	0	0	0	48	100	0	0	0
			100	0	0	1	0	0	1	1	44	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	1	46	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	－	200	100	1	1	0	0	0	2	1	19	100	0	0	0
			100	3	0	1	1	0	5	0	12	100	0	0	0
			200	4 (2.0)	1 (0.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	7 (3.5)	1	16	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	－	陽性対照(MMC 0.1)	100	9	24	1	0	0	30	0		100	0	0	0
			100	4	20	1	0	0	25	0		100	0	0	0
			200	13 (6.5)	44 (22.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	55 (27.5)	0		200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	＋	陰性対照(生理食塩液)	100	1	0	0	1	0	2	0	105	100	0	0	0
			100	0	0	1	0	0	1	0	95	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	3 (1.5)	0	100	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	＋	200	100	0	0	0	0	0	0	0	83	100	0	2	2
			100	1	0	0	0	0	1	0	86	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0	85	200	0 (0.0)	2 (1.0)	2 (1.0)
6－18	＋	225	100	0	0	1	0	0	1	0	66	100	0	0	0
			100	0	1	1	0	0	2	0	68	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	1 (0.5)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.5)	0	67	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	＋	250	100	0	0	0	0	0	0	0	60	100	0	1	1
			100	0	2	0	1	0	3	0	59	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	3 (1.5)	0	59	200	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)
6－18	＋	275	100	0	1	0	0	0	1	1	44	100	0	2	2
			100	0	2	1	0	0	3	0	37	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	3 (1.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (2.0)	1	41	200	0 (0.0)	2 (1.0)	2 (1.0)
6－18	＋	300	100	0	0	0	1	0	1	1	7	100	0	1	1
			TOX								5	TOX			
			100	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	1 (1.0)	1	6	100	0 (0.0)	1 (1.0)	1 (1.0)
6－18	＋	陽性対照(BP20)	100	3	61	0	0	0	61	0		100	0	0	0
			100	6	72	4	0	0	74	0		100	0	0	0
			200	9 (4.5)	133 (66.5)	4 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	135 (67.5)	0		200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

MMC：マイトマイシンC，　BP：ベンゾ［a］ピレン

TOX：細胞毒性のため，プレートあたり50個以上の分裂中期細胞が得られなかった．

B031638

表 3　　染色体異常試験の結果（連続処理法；本試験）

被験物質の名称　*N,N*-ジメチル-*N*-トデシルグリシン

処理-回復時間(h)	被験物質の用量 (μg/mL)	染色体構造異常細胞数(出現頻度%)							ギャップの出現数	細胞増殖率 (%)	染色体数的異常細胞数(出現頻度%)			
		観察細胞数	染色分体型切断	染色分体型交換	染色体型切断	染色体型交換	断片化	総異常細胞数(%)			観察細胞数	倍数体	核内倍加	総異常細胞数(%)
24 － 0	陰性対照 (生理食塩液)	100	0	0	1	0	0	1	0	102	100	0	0	0
		100	1	0	0	0	0	1	0	98	100	0	0	0
		200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	100	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
24 － 0	50	100	2	0	1	0	0	3	0	67	100	0	0	0
		100	1	1	0	0	0	2	0	69	100	0	0	0
		200	3 (1.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (2.5)	0	68	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
24 － 0	75	100	0	0	0	0	0	0	0	64	100	0	0	0
		100	0	0	0	1	0	1	0	67	100	0	0	0
		200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	0	65	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
24 － 0	100	100	0	0	2	0	0	2	0	56	100	0	0	0
		100	0	1	2	1	0	4	1	59	100	0	0	0
		200	0 (0.0)	1 (0.5)	4 (2.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	6 (3.0)	1	58	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
24 － 0	125	100	0	0	0	0	0	0	0	53	100	0	0	0
		100	0	1	1	0	0	2	0	52	100	0	0	0
		200	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	53	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
24 － 0	150	TOX								30	TOX			
										31				
										30				
24 － 0	陽性対照 (MMC 0.05)	100	8	18	0	0	0	23	0		100	0	0	0
		100	4	21	2	1	0	26	0		100	0	0	0
		200	12 (6.0)	39 (19.5)	2 (1.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	49 (24.5)	0		200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

MMC：マイトマイシンC

TOX：細胞毒性のため，プレートあたり50個以上の分裂中期細胞が得られなかった．

B031638

表 4　　染色体異常試験の結果（連続処理法；追加試験）

被験物質の名称　*N,N-ジメチル-N-トデシルグリシン*

処理-回復時間(h)	被験物質の用量 (μg/mL)	染色体構造異常細胞数(出現頻度%)							ギャップの出現数	細胞増殖率 (%)	染色体数的異常細胞数(出現頻度%)			
		観察細胞数	染色分体型切断	染色分体型交換	染色体型切断	染色体型交換	断片化	総異常細胞数(%)			観察細胞数	倍数体	核内倍加	総異常細胞数(%)
24 － 0	陰性対照 (生理食塩液)	100	0	2	1	0	0	2	0	100	100	1	0	1
		100	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	0
		200	0 (0.0)	2 (1.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	100	200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)
24 － 0	100	100	1	0	1	0	0	2	0	67	100	0	0	0
		100	1	0	3	0	0	4	1	67	100	0	0	0
		200	2 (1.0)	0 (0.0)	4 (2.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	6 (3.0)	1	67	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
24 － 0	110	100	0	0	0	1	0	1	0	48	100	0	0	0
		100	2	0	1	0	0	3	0	51	100	0	0	0
		200	2 (1.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	4 (2.0)	0	49	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
24 － 0	120	84	0	0	1	0	0	1	0	47	84	0	0	0
		94	0	0	0	0	0	0	0	46	94	0	0	0
		178	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.6)	0	47	178	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
24 － 0	130	TOX								40	TOX			
										40				
										40				
24 － 0	140	TOX								33	TOX			
										29				
										31				
24 － 0	150	TOX								32	TOX			
										29				
										31				
24 － 0	陽性対照 (MMC 0.05)	100	4	24	1	0	0	28	2		100	0	0	0
		100	8	32	1	0	0	38	0		100	0	0	0
		200	12 (6.0)	56 (28.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	66 (33.0)	2		200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

MMC：マイトマイシンC

TOX：細胞毒性のため，プレートあたり50個以上の分裂中期細胞が得られなかった．

B031638

図1　*N*,*N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシン処理における
細胞毒性（短時間処理法・－S9 mix）

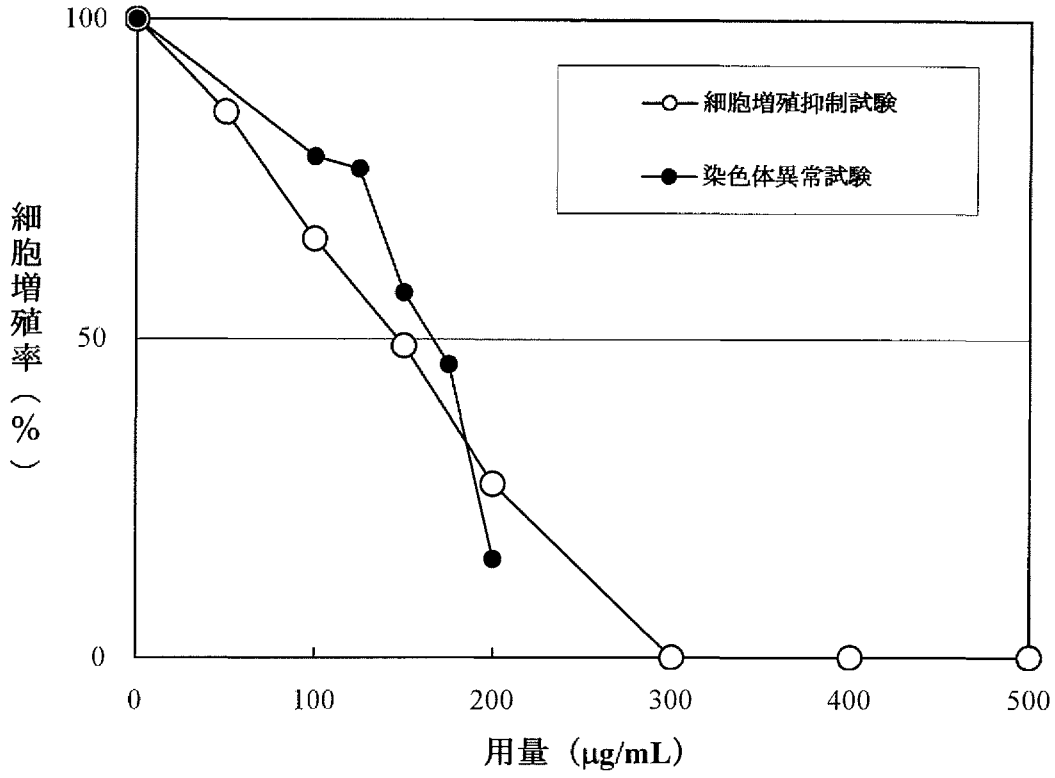


図2　*N*,*N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシン処理における
細胞毒性（短時間処理法・＋S9 mix）

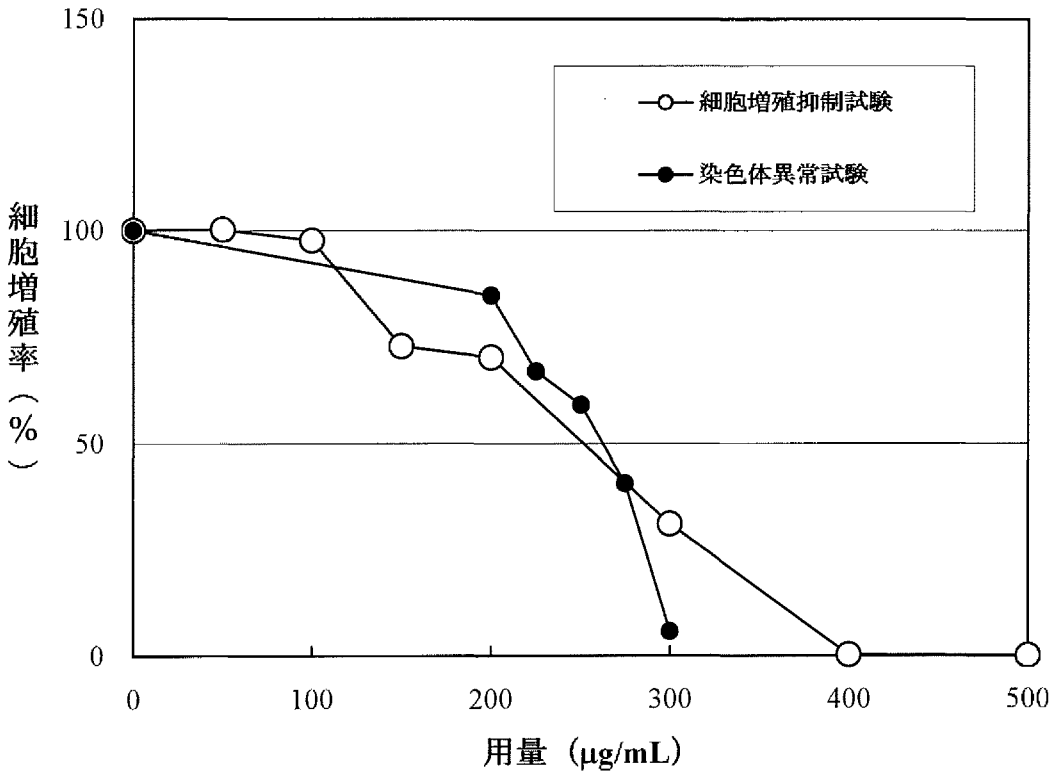


図3　*N*,*N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシン処理における
細胞毒性（連続処理法）

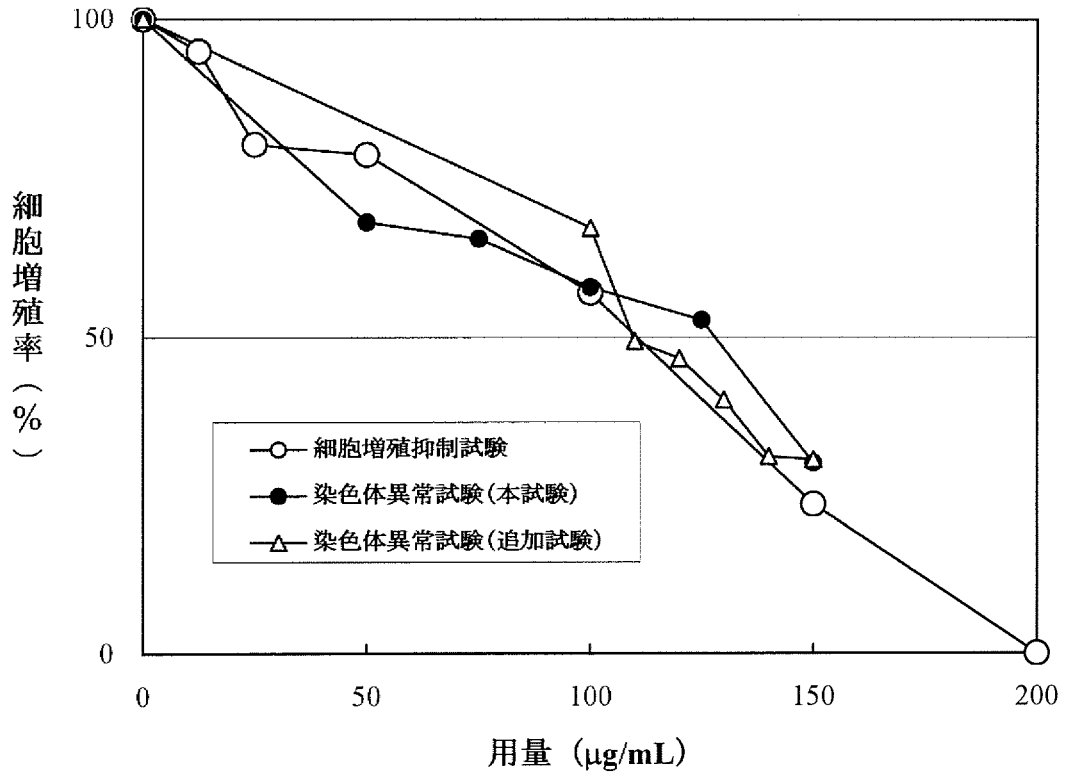


図4　*N,N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシン処理における
構造異常細胞出現頻度（短時間処理法）

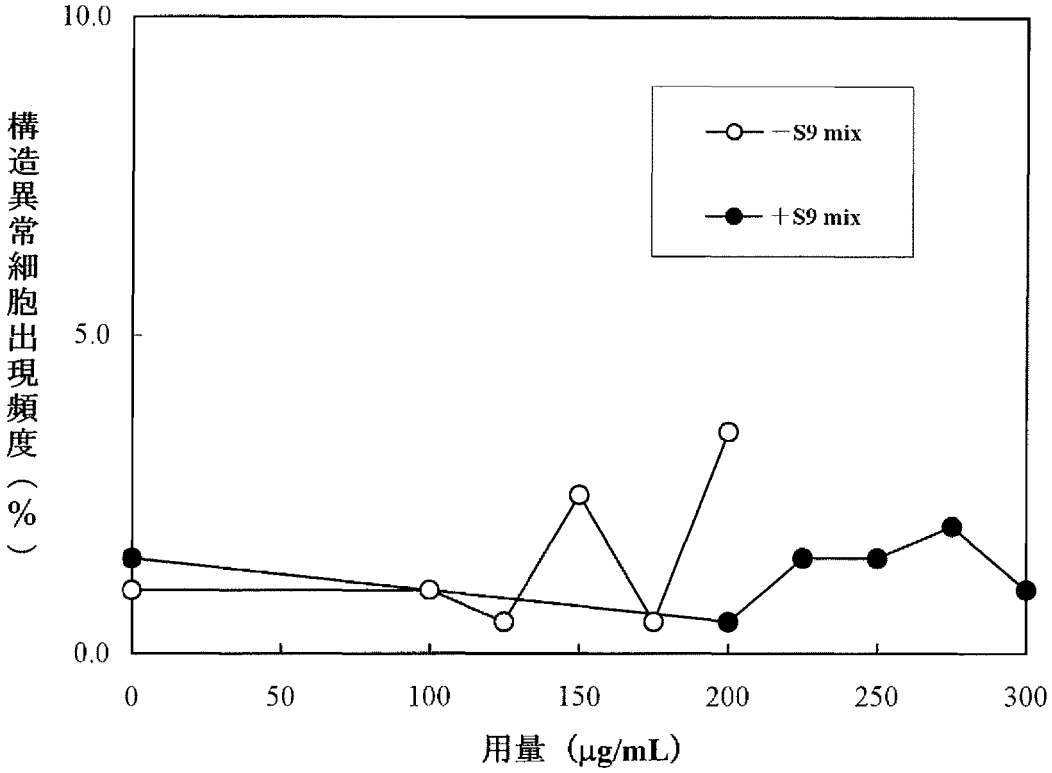


図5　*N,N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシン処理における
数的異常細胞出現頻度（短時間処理法）

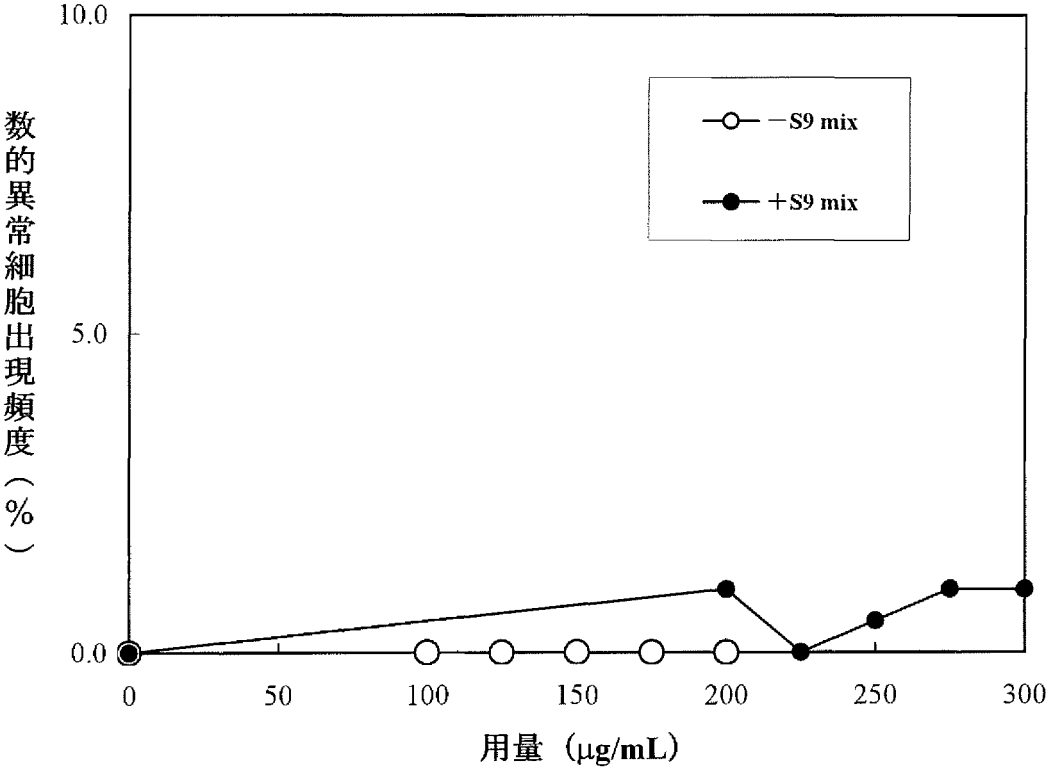


図6　*N*,*N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシン処理における
構造異常細胞出現頻度（連続処理法）

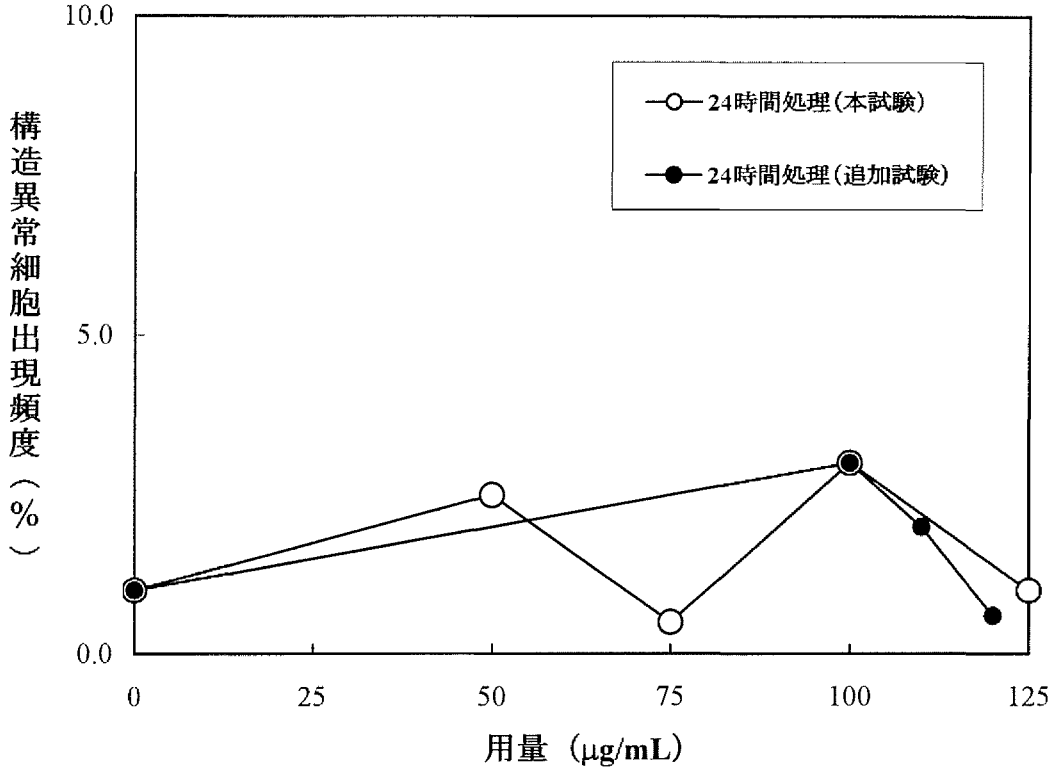
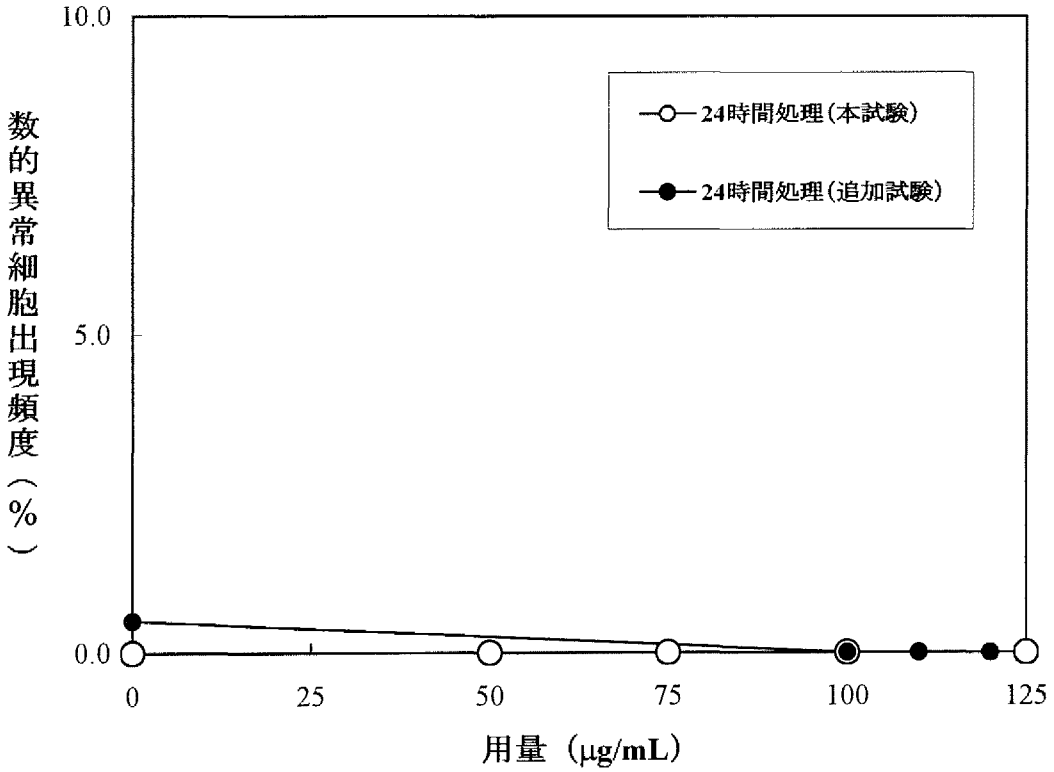



図7　*N*,*N*-ジメチル-*N*-ドデシルグリシン処理における
数的異常細胞出現頻度（連続処理法）