最終報告書

2-Imidazolidinethione のほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

（試験番号：B021305）

2004 年 11 月 4 日

株式会社三菱化学安全科学研究所

目次

要約 ····· 5
材料および方法 ····· 6
1. 被験物質および対照物質 ····· 6
2. 細胞 ····· 7
3. 培地 ····· 7
4. S9 mix ····· 8
5. 被験物質溶液および陽性対照物質溶液の調製 ····· 8
6. 細胞増殖抑制試験 ····· 9
7. 染色体異常試験 ····· 10
8. 結果のまとめ ····· 12
結果 ····· 13
考察および結論 ····· 14
参考文献 ····· 15

表 1　染色体異常試験の結果（短時間処理法） ····· 17
表 2　染色体異常試験の結果（連続処理法） ····· 18
図 1　2-Imidazolidinethione の細胞毒性（短時間処理法・－S9 mix） ····· 19
図 2　2-Imidazolidinethione の細胞毒性（短時間処理法・＋S9 mix） ····· 19
図 3　2-Imidazolidinethione の細胞毒性（連続処理法） ····· 20
図 4　2-Imidazolidinethione の構造異常細胞出現頻度（短時間処理法） ····· 21
図 5　2-Imidazolidinethione の数的異常細胞出現頻度（短時間処理法） ····· 21
図 6　2-Imidazolidinethione の構造異常細胞出現頻度（連続処理法） ····· 22
図 7　2-Imidazolidinethione の数的異常細胞出現頻度（連続処理法） ····· 22

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，2-Imidazolidinethione 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いて，細胞増殖抑制試験は，短時間処理法の代謝活性化法によらない場合（－S9 mix），代謝活性化法による場合（＋S9 mix）および連続処理法 24 時間処理（24 時間処理）において 64.4，129，258，515，1030 μg/mL を設定した.

その結果，いずれの処理条件においても，被験物質による 50%以上の細胞増殖抑制は認められなかった．この結果に基づき，染色体異常試験は，いずれの処理条件においても 258，515，1030 μg /mL を設定した.

染色体異常試験の標本観察の結果，染色体構造異常および数的異常を持つ細胞の出現頻度はいずれの処理条件，用量においても 5%未満であった.

従って，2-Imidazolidinethione は，本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と結論した.

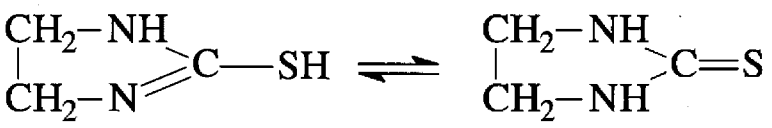
材料および方法

1. 被験物質および対照物質

1.1 被験物質

から提供された 2-Imidazolidinethione を冷蔵，暗所に密封して保存し，使用した．試験期間中における原体の安定性は，実験開始前および実験終了後に当研究所において IR を測定して確認した．

被験物質の純度，組成および物理化学的性質等は以下の通りである．

新規化学物質の名称 (IUPAC 命名法による)	2-Imidazolidinethione		
別　　名	2-Mercapto imidazoline		
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)			
試験に供した新規化学物質の純度	99.89％	試験に供した新規化学物質の Lot No.	
不純物の名称及び濃度	－		
CAS 番号	96-45-7	蒸　気　圧	－
分　子　量	102.16	分配係数	Log Pow = -0.66
融　　点	199-202℃	常温における性状	白色粉体
沸　　点	－		
安　定　性	通常の取扱においては安定		
溶媒に対する溶解度等	溶　媒	溶　解　度	溶媒中の安定性
	水	20 mg/mL（20℃）	－
	生食	25 mg/mL で溶解 1)	安定 2)
	DMSO	357 mg/mL で溶解 1)	安定 2)
	アセトン	やや溶解(100 mg/mL で不溶 1))	－

生食：生理食塩液，DMSO：ジメチルスルホキシド

1)：当研究所での溶媒検討の結果による．

2)：被験物質溶液調製時に発熱，発泡および変色は認められなかった．

1.2 陰性対照物質（被験物質の溶媒）

生理食塩液（以下生食，㈱大塚製薬工場，ロット番号 K2F76）

1.3 陽性対照物質

マイトマイシン C（以下 MMC，協和発酵工業㈱，ロット番号 366AAK，含量 102%）

ベンゾ〔a〕ピレン（以下 BP，東京化成工業㈱，ロット番号 GG01，含量 95.6%）

2. 細胞

雌チャイニーズハムスター肺由来細胞株 CHL/IU を使用した．この細胞は，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．

細胞は大日本製薬㈱から 2002 年 3 月 5 日に購入し（購入時継代数：14），細胞懸濁液に対し最終 10 v/v%の割合でジメチルスルホキシド（以下 DMSO，関東化学㈱，ロット番号 210G1441）を添加したものを 1 mL に小分けし，液体窒素中で凍結保存した（凍結時継代数：17）．同一凍結ロットの細胞について特性検査を実施し，染色体数 25 本，細胞周期 16.4 時間，マイコプラズマ陰性であることを確認した．試験には，この凍結ロットの細胞を融解して培養し，融解後 4 週間以内（継代数：20～24）のものを使用した．細胞の培養には，プラスチックプレート（直径 6 cm または 10 cm；Becton Dickinson and Company）を用い，炭酸ガス細胞培養装置内（炭酸ガス 5%，温度 37℃に設定，加湿，NAPCO 社，7300 型または 6301C 型）で培養した．

3. 培地

3.1 MEM

イーグル MEM 培地「ニッスイ」①（日水製薬㈱，ロット番号 464205，46421011）約 8.3 g を精製水 880 mL に溶解し，オートクレーブ滅菌（121℃，20 分間）後，別に滅菌処理した 2.92 w/v% L-グルタミン水溶液と 10 w/v%炭酸水素ナトリウム水溶液をそれぞれ 8.8 mL，11.2 mL 添加した．以下この溶液を MEM とした．

3.2 MEM 培地

MEM 900 mL に非働化（56℃, 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．

4. S9 mix

4.1 S9

フェノバルビタール（1 日目に 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（3 日目に 80 mg/kg を 1 回腹腔内投与）で酵素誘導した 7 週齢の SD 系雄ラット（体重 208～243g）肝由来 S9（キッコーマン㈱，ロット番号 RAA-468；2002 年 8 月 9 日製造，最終蛋白濃度：1.40 mg/mL）を 2002 年 8 月 21 日に購入したものを使用した．購入した S9 は使用時まで－80℃以下（実測値；－84～－82℃）に設定した超低温冷凍庫で保存した．

4.2 S9 mix

S9 mix 1 mL あたり以下の組成で用時調製し，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
塩化マグネシウム	5 μmol
塩化カリウム	33 μmol
精製水	残量

5. 被験物質溶液および陽性対照物質溶液の調製

5.1 被験物質溶液の調製

溶媒検討の結果，本被験物質は，生食には 25 mg/mL で，DMSO には 357 mg/mL で溶解した．1 w/v%カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液（以下 CMC-Na 溶液）には 50 mg/mL で均一に懸濁した．また，これらの溶液（懸濁液）の調製時に，発熱，発泡，変色は認められなかった．一方，アセトンには 100 mg/mL で溶解，懸濁しなかった．

生食，DMSO，CMC-Na 溶液を溶媒（媒体）とした予備試験の結果，いずれの溶媒（媒体）においても 50%以上の細胞増殖抑制はみられなかったが，各溶媒（媒体）を比較して，生食を溶媒とした場合により強い細胞毒性作用が示された（6.1 項参照）．よって，本被験物質の溶媒には生食を選択した．

被験物質を予定量秤量し，生食を添加しながら振盪撹拌あるいは超音波処理により溶解した．これを同溶媒でのメスアップ，段階希釈により，各処理用量の 10 倍濃度溶液を調製した．被験物質溶液は用時調製し，調製の各操作および調製後の保存は黄色灯下で行った．

また，被験物質溶液調製後，処理までの時間は細胞増殖抑制試験では 10～25 分，染色

体異常試験（短時間処理法）では 10～20 分，染色体異常試験（連続処理法）では 10 分であった.

5.2 陽性対照物質溶液の調製

MMC は 2 mg 入りバイアル瓶の内容物を，注射用水(㈱大塚製薬工場，ロット番号 K2F72, K2I78）5 mL に用時溶解した（400 μg/mL 溶液）．これを生食（㈱大塚製薬工場，ロット番号 K2F76）で段階希釈し，各処理条件における処理用量の 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.

BP は処理用量の 200 倍濃度の溶液を調製（DMSO［関東化学㈱，ロット番号 207G1673］に 4 mg/mL で溶解）し，使用時まで凍結保存した.

6. 細胞増殖抑制試験

6.1 被験物質用量

細胞増殖抑制試験に先立ち，生食，DMSO，CMC-Na 溶液を溶媒（媒体）として，連続処理法 24 時間処理（以下 24 時間処理）において予備試験を実施した．予備試験（用量：103, 1030 μg/mL [1, 10 mmol/L 相当]）は 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下で観察し，陰性対照を 100％として相対的な細胞密度を判断した.

その結果，被験物質処理プレートの細胞密度は下記の通りであった.

用量（μg/mL） 溶媒（媒体）	103	1030
生食	100％	60％
DMSO	100％	80％
CMC-Na 溶液	100％	70％

以上の結果から，本被験物質の溶媒には生食を選択し（5.1 項参照），細胞増殖抑制試験の用量は短時間処理法 S9 mix 非共存下（以下－S9 mix）および共存下（以下＋S9 mix）ならびに 24 時間処理について同じく 64.4，129，258，515，1030 μg /mL を設定した.

6.2 細胞処理

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.

MEM 培地を除去した後，下記の組成の細胞処理液を 1 用量あたり 2 枚のプレートに加え，連続処理法では 24 時間，短時間処理法では 6 時間細胞を処理した．短時間処理法では 6 時間処理後に 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．陰性対照物質として被験物質の溶媒を用い，下記条件で同様に処理した．

	被験物質溶液 または陰性対照物質	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

6.3 細胞増殖率の測定

細胞表面を Ca^{2+}，Mg^{2+} フリーのリン酸緩衝液（以下 PBS(-)，ダルベッコ PBS「ニッスイ」，日水製薬㈱）で洗浄後，メタノールで 10 分間固定し，3 v/v%ギムザ液で 10 分間染色した後，軽く水洗し乾燥した． 染色した各プレートについて単層培養細胞密度計（モノセレーター，オリンパス光学工業㈱）を用いて細胞増殖率を測定した．

6.4 50%細胞増殖抑制用量の算出

各処理条件について，陰性対照値を 100%として生存曲線を作成した．いずれの処理条件においても，50%以上の細胞増殖抑制が認められなかったため，被験物質の 50%細胞増殖抑制用量（IC_{50}）は算出できなかった．

7. 染色体異常試験

染色体異常試験は先ず，短時間処理法について実施した．

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．

7.1 被験物質用量および陽性対照物質用量

細胞増殖抑制試験の結果に基づき，染色体異常試験の用量はすべての処理条件で同じく 258，515，1030 μg/mL を設定した．

陽性対照物質の用量は，−S9 mix では MMC を 0.1 μg/mL，24 時間処理では MMC を 0.05 μg/mL とした．+S9 mix では BP を 20 μg/mL とした．これらは，いずれも染色体異常誘発性が知られている用量である．

7.2 細胞処理

細胞増殖抑制試験と同様に細胞を処理した.

陽性対照については，下記の組成の細胞処理液で同様に細胞を処理した.

	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

陰性対照群および被験物質処理群については，各処理条件あたり 4 枚のプレートを用い，2 枚を標本作製に，2 枚を細胞増殖率の測定に使用した．陽性対照群については，細胞増殖率測定を実施しないので，各処理条件あたり 2 枚のプレートを用いた.

7.3 標本作製

標本作製用プレートに，標本作製の 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．処理終了後，細胞表面を PBS(-)で洗浄し，0.25 w/v%トリプシン処理にて細胞を剥離した後，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．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．次に，冷却した固定液（メタノール・酢酸［3 : 1〈v/v〉］混合液，以下同様）0.5 mL を加えて細胞を半固定した後，遠心分離し，上清を除去した．さらに，固定液 4 mL を加え，同様の操作を 2 回繰り返した．その後，適量の固定液で細胞を再浮遊させ，濡らした手ぬぐい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．これを 3 v/v%ギムザ溶液で 20 分間染色し，水洗，乾燥後，封入して染色体標本とした．なお，標本は，各プレートにつき 2 枚ずつ作製した.

7.4 細胞増殖率の測定

標本作製と同時期における細胞増殖率の測定を実施した．細胞増殖率測定用のプレートを用いて，細胞増殖抑制試験と同様に実施した．陽性対照群については測定を実施しなかった.

7.5 観察

(1) 予備鏡検

標本作製後，試験の適否確認のため予備鏡検を行い，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た場合，そのプレートの標本を観察

の対象とした．また，陰性対照群および陽性対照群については，構造異常細胞の有無が適切であることを確認した．

(2) 構造異常および数的異常

標本はプレート1枚につき100個，すなわち1用量200個の分裂中期細胞を盲検法で観察した．分裂中期細胞は，染色体がよく拡がった細胞を観察した．

構造異常は，以下の分類[1]に従って観察した．ただし，動原体数が25±2または35以上でない細胞は除外した．

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　（二動原体，環状染色体など）
断片化

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．

数的異常は，動原体数が35以上のものとし，核内倍加細胞を含む倍数体細胞を数えた．

7.6 試験結果の判定基準

構造異常を1個以上もつ細胞を染色体構造異常細胞として集計した．

被験物質の染色体異常誘発性の判定は，各処理条件において，構造異常細胞および数的異常細胞の出現頻度が共に5%未満を陰性（−），いずれか一方または両方が5%以上10%未満を疑陽性（±），いずれか一方または両方が10%以上を陽性（+）とした．

統計学的手法を用いた検定は実施しなかった．

8. 結果のまとめ

染色体構造異常および数的異常をもつ細胞の出現数ならびに合計およびそれぞれの出現頻度（%）を表示した．染色体異常は種類別に細胞数を表示した．また，細胞増殖抑制試験および染色体異常試験の結果を図示した．

結果

細胞増殖抑制試験の結果，－S9 mix，＋S9 mix および 24 時間処理，いずれの処理条件においても，被験物質による 50％以上の細胞増殖抑制は認められなかった（図 1～3）．

これらの結果に基づき，染色体異常試験は，いずれの処理条件においても 258，515，1030 μg/mL を設定した．

染色体異常試験の予備鏡検の結果，いずれの処理条件，用量においても，プレート 1 枚あたり 50 個以上の分裂中期細胞が得られたため，すべてのプレートの標本を観察の対象とした．

染色体異常試験の標本観察の結果，いずれの用量においても，染色体構造異常および数的異常を持つ細胞の出現頻度は 5％未満であった（表 1，2，図 4～7）．また，陰性対照群における染色体構造異常および数的異常を持つ細胞の出現頻度は 5％未満であった（表 1，2，図 4～7）．一方，陽性対照群における染色体構造異常を持つ細胞の出現頻度は 10％以上であった（表 1，2）．

考察および結論

2-Imidazolidinethione 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.

その結果，いずれの処理条件，用量においても，染色体構造異常および数的異常を持つ細胞の出現頻度は5%未満であった.

一方，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，本試験が技術的に成立していることが示された.

従って，2-Imidazolidinethione は，本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と結論した.

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　染色体異常試験の結果（短時間処理法）

被験物質の名称　2-Imidazolidinethione

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	0	0	0	0	107	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	93	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0	100	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	－	258	100	0	0	1	0	0	1	0	101	100	0	0	0
			100	1	0	0	0	0	1	1	96	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	1	99	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	－	515	100	0	0	0	0	1	1	0	105	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0	86	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)	0	96	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	－	1030	100	1	0	0	1	0	2	0	93	100	1	0	1
			100	0	0	0	0	0	0	0	76	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	84	200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)
6－18	－	陽性対照 (MMC 0.1)	100	13	21	1	0	0	33	1		100	0	0	0
			100	8	28	0	0	0	34	0		100	0	0	0
			200	21 (10.5)	49 (24.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	67 (33.5)	1		200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	＋	陰性対照 (生理食塩液)	100	0	0	0	0	0	0	0	94	100	0	0	0
			100	0	1	2	0	0	2	0	106	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	1 (0.5)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	100	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	＋	258	100	1	0	0	1	0	2	0	95	100	1	0	1
			100	0	0	0	2	0	2	0	96	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.5)	0 (0.0)	4 (2.0)	0	96	200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)
6－18	＋	515	100	0	1	1	0	0	2	0	83	100	0	0	0
			100	0	1	0	0	0	1	0	89	100	0	0	0
			200	0 (0.0)	2 (1.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.5)	0	86	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	＋	1030	100	1	0	0	0	0	1	0	80	100	0	0	0
			100	0	0	1	2	0	3	0	80	100	0	0	0
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	2 (1.0)	0 (0.0)	4 (2.0)	0	80	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
6－18	＋	陽性対照 (BP 20)	100	9	77	0	0	0	81	3		100	0	0	0
			100	1	81	0	0	0	81	0		100	0	0	0
			200	10 (5.0)	158 (79.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	162 (81.0)	3		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

B021305

表 2　　染色体異常試験の結果（連続処理法）

被験物質の名称　2-Imidazolidinethione

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 (%)	染色体数的異常の細胞数(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	0	0	0	0	0	98	100	0	0	0
		100	0	0	0	0	0	0	0	102	100	0	0	0
		200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0	100	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
24 － 0	258	100	1	0	1	0	0	2	0	95	100	0	0	0
		100	0	0	0	0	0	0	0	91	100	0	0	0
		200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0	93	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
24 － 0	515	100	1	0	1	1	0	3	3	88	100	0	0	0
		100	1	0	2	0	0	3	0	79	100	0	0	0
		200	2 (1.0)	0 (0.0)	3 (1.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	6 (3.0)	3	83	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
24 － 0	1030	100	1	0	0	0	0	1	0	75	100	0	0	0
		100	0	0	0	0	0	0	1	77	100	0	0	0
		200	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	1	76	200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
24 － 0	陽性対照 (MMC 0.05)	100	52	26	1	0	0	69	0		100	0	0	0
		100	35	37	4	0	0	57	1		100	0	0	0
		200	87 (43.5)	63 (31.5)	5 (2.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	126 (63.0)	1		200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

MMC：マイトマイシンC

B021305

図1　2-Imidazolidinethioneの細胞毒性
（短時間処理法・－S9 mix）

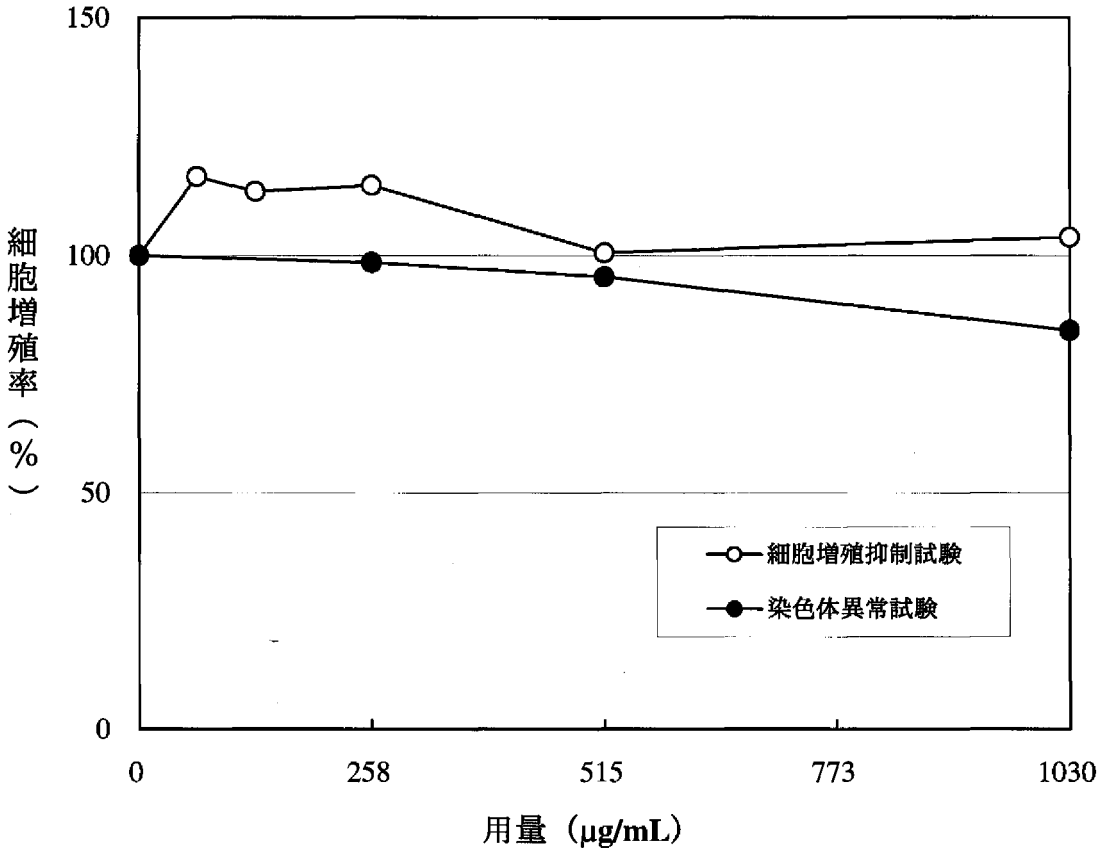


図2　2-Imidazolidinethioneの細胞毒性
（短時間処理法・＋S9 mix）

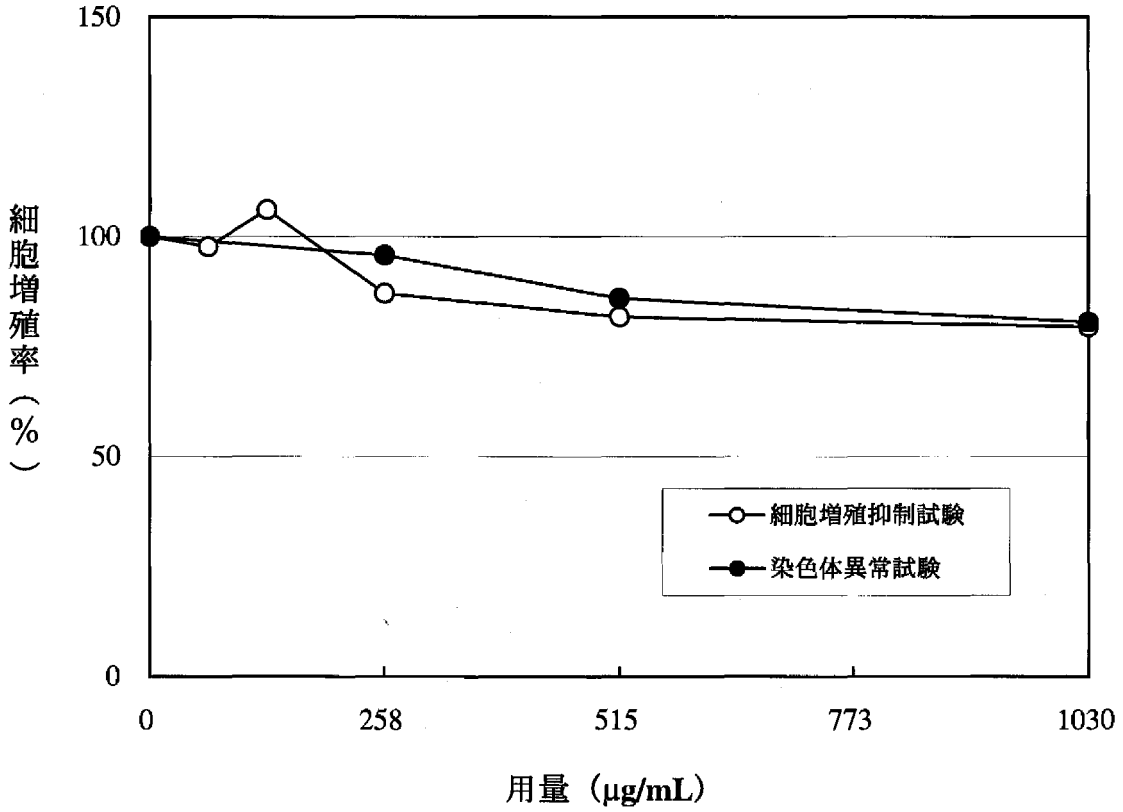


図3　2-Imidazolidinethioneの細胞毒性
（連続処理法）

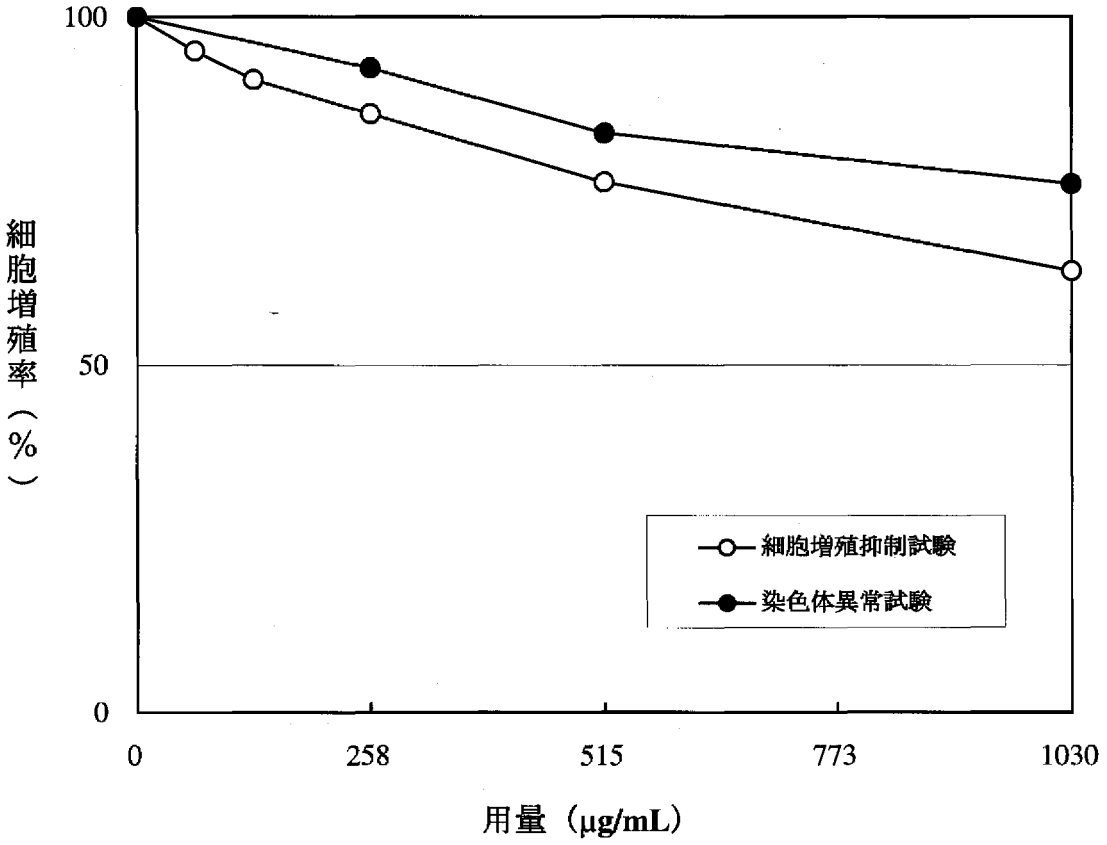


図4　2-Imidazolidinethioneの構造異常細胞出現頻度
（短時間処理法）

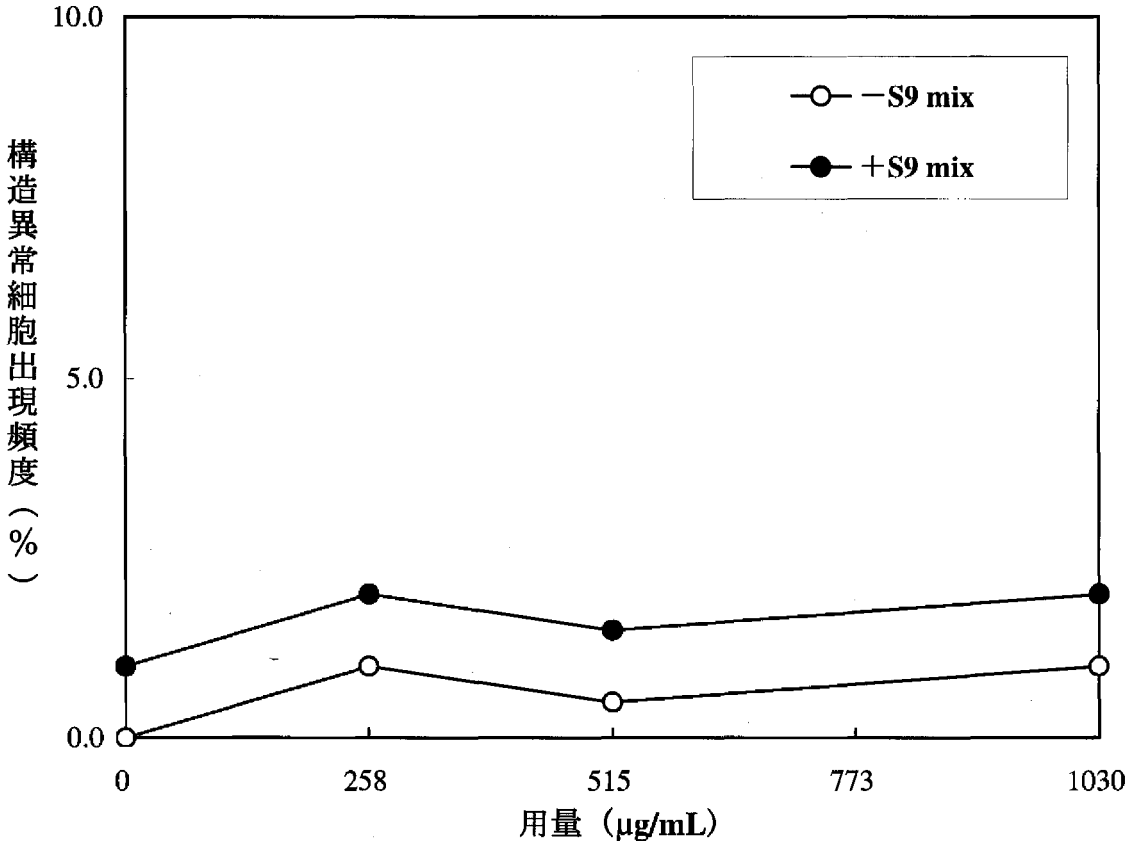


図5　2-Imidazolidinethioneの数的異常細胞出現頻度
（短時間処理法）

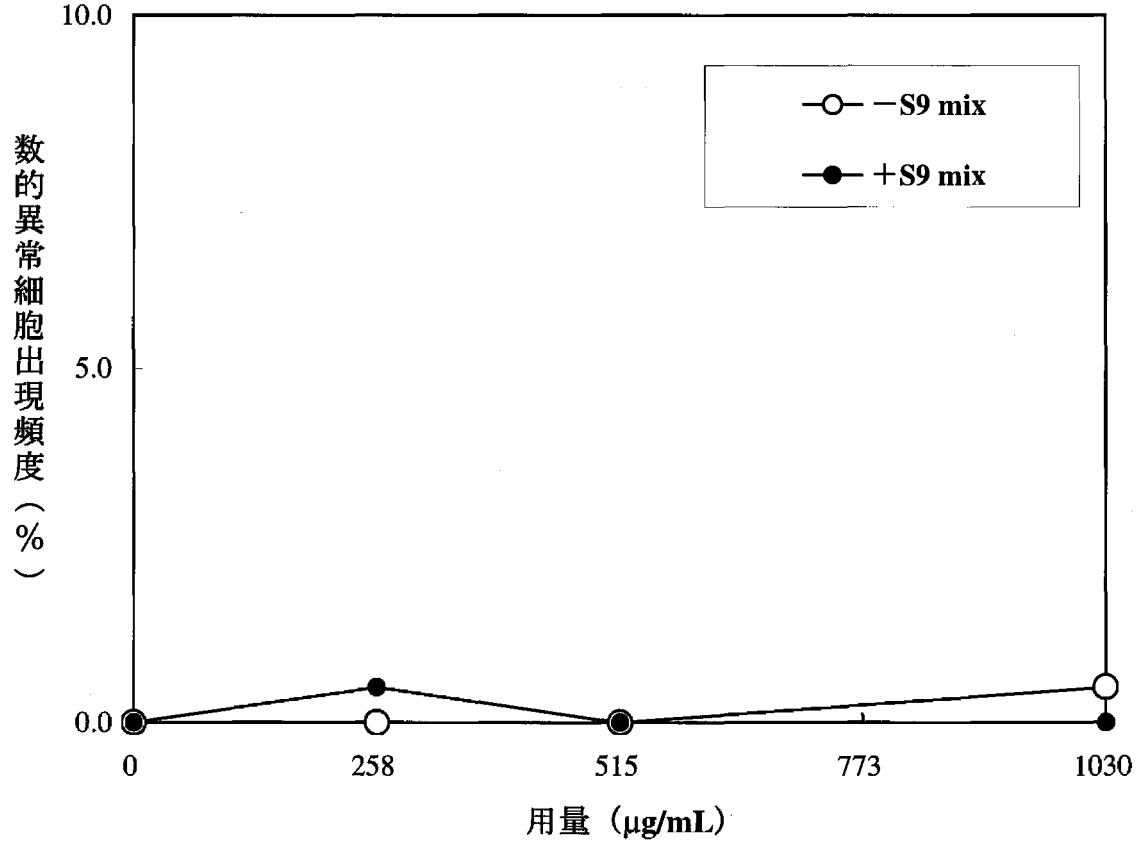


図6　2-Imidazolidinethioneの構造異常細胞出現頻度
（連続処理法）

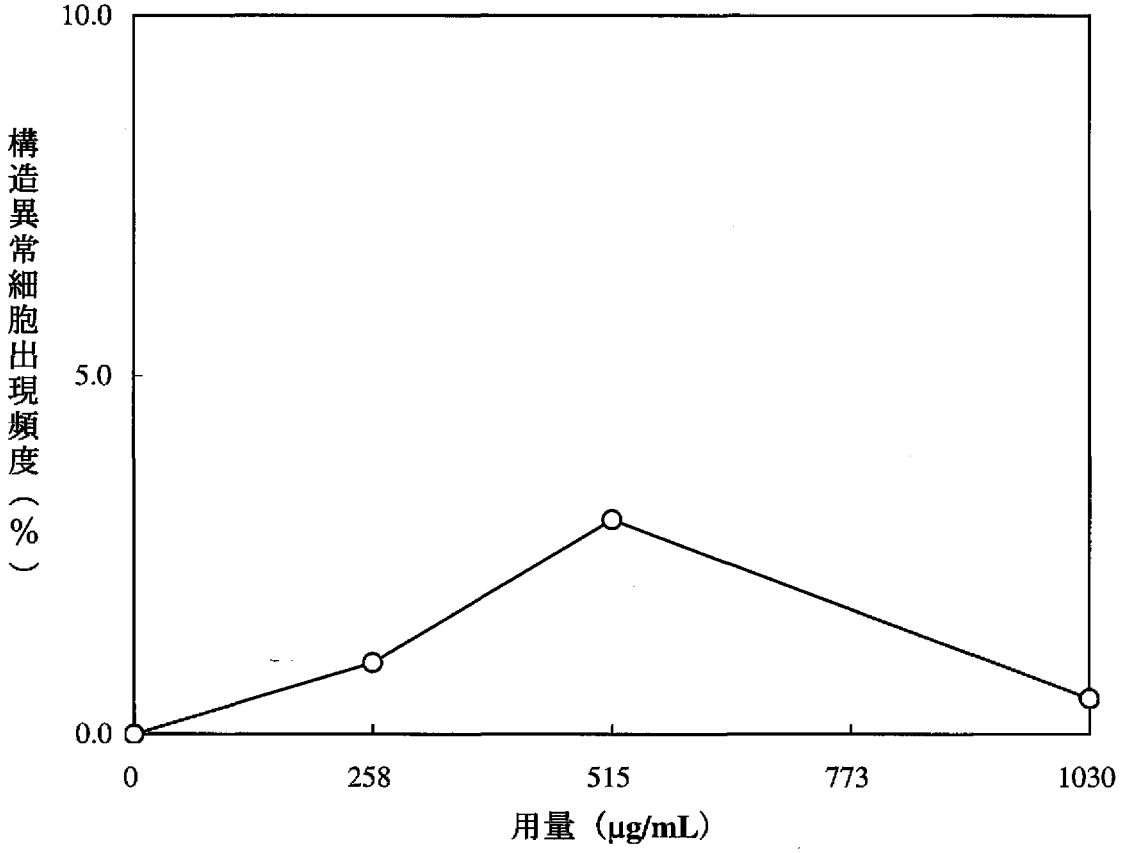
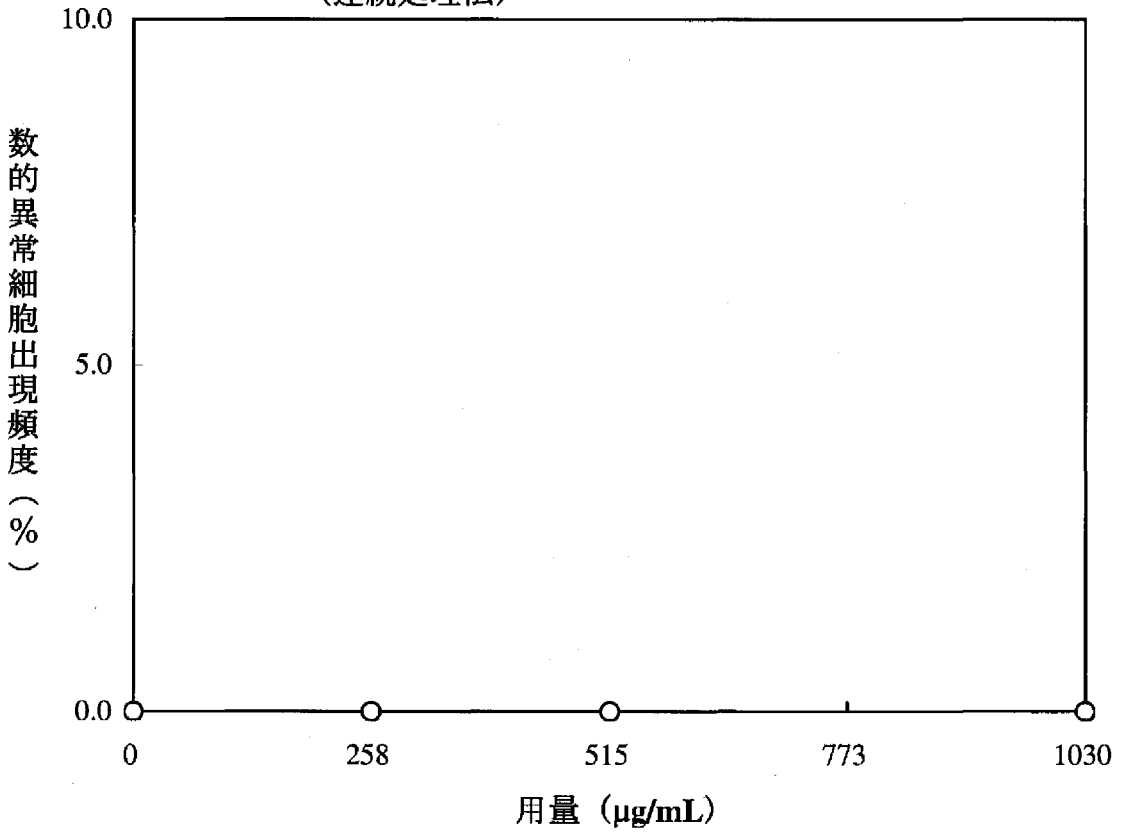



図7　2-Imidazolidinethioneの数的異常細胞出現頻度
（連続処理法）