



BOZO RESEARCH CENTER INC.

原本

最終報告書

1,3-ジプロモプロパンの
細菌を用いた復帰突然変異試験

M-1103

株式会社ボゾリサーチセンター

東京本部 〒151-0065 東京都渋谷区大山町36-7
本社・東京研究所 〒156-0042 東京都世田谷区羽根本1-3-11
御殿場研究所 〒412-0039 静岡県御殿場市かまど1284
函南研究所 〒419-0101 静岡県田方郡函南町桑原三本松1308-125

目 次

	頁
目 次	1
要 約	6
緒 言	7
 試験材料及び方法	
1. 被験物質及び対照物質	8
1-1. 被験物質及び媒体	8
1-2. 被験液の調製	9
1-3. 対照物質	9
2. 使用菌株	11
3. 試 薬	12
4. 試験方法	14
4-1. 識別方法	14
4-2. 前培養条件	14
4-3. 濃度設定試験	15
4-4. 本試験	16
4-5. 追加確認試験	16
5. 判定基準	16
 試験結果	17
 考 察	19

	頁
参考文献	20

Tables and Figures

Table 1	Results of Dose-Range Finding Study on 1,3-Dibromopropane without Metabolic Activation in Bacterial Reverse Mutation Test	22
Table 2	Results of Dose-Range Finding Study on 1,3-Dibromopropane with Metabolic Activation in Bacterial Reverse Mutation Test	23
Table 3	Results of Main Study on 1,3-Dibromopropane without Metabolic Activation in Bacterial Reverse Mutation Test	24
Table 4	Results of Main Study on 1,3-Dibromopropane with Metabolic Activation in Bacterial Reverse Mutation Test	25
Figure 1	Results of Reverse Mutation Test with <i>Salmonella typhimurium</i> TA100 on 1,3-Dibromopropane	26
Figure 2	Results of Reverse Mutation Test with <i>Salmonella typhimurium</i> TA98 on 1,3-Dibromopropane	27
Figure 3	Results of Reverse Mutation Test with <i>Salmonella typhimurium</i> TA1535 on 1,3-Dibromopropane	28
Figure 4	Results of Reverse Mutation Test with <i>Salmonella typhimurium</i> TA1537 on 1,3-Dibromopropane	29
Figure 5	Results of Reverse Mutation Test with <i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i> on 1,3-Dibromopropane	30

要 約

ネズミチフス菌 *Salmonella typhimurium* TA100、TA98、TA1535、TA1537 及び大腸菌 *Escherichia coli* WP2 *uvrA* を用いて、1,3-ジプロモプロパンにおける復帰突然変異誘発能の有無を検討した。

1. 沈殿/結晶

濃度設定試験及び本試験のいずれにおいても、菌株及び代謝活性化の有無にかかわらず、沈殿または結晶の析出は認められなかった。

2. 生育阻害

濃度設定試験及び本試験のいずれにおいても、菌株及び代謝活性化の有無にかかわらず、1250 µg/plate 以上の被験物質処理群において試験菌株に対する生育阻害が認められた。

3. 復帰変異コロニー

濃度設定試験及び本試験のいずれにおいても、*S. typhimurium* TA98、TA1537 及び *E. coli* WP2 *uvrA* は、代謝活性化の有無に関わらず、また、*S. typhimurium* TA100 及び TA1535 の非代謝活性化において溶媒対照と比較して 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。しかし、*S. typhimurium* TA100 の代謝活性化では 156 µg/plate 以上、TA1535 の代謝活性化では 19.5 µg/plate 以上の被験物質処理群において溶媒対照と比較して 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加が認められた。

以上の結果より、本試験条件下における 1,3-ジプロモプロパンの復帰突然変異誘発能は陽性と判定した。

緒　　言

厚生労働省医薬局審査管理課 化学物質安全対策室の依頼により、1,3-ジプロモプロパンの安全性試験の一環として、細菌を用いた復帰突然変異試験を実施したので、その成績を報告する。なお、本試験は以下の基準及びガイドラインに遵守又は準拠して実施した。

試験材料及び方法

1. 被験物質及び対照物質

1-1. 被験物質及び媒体

1-1-1. 被験物質

供 給 者 : 厚生労働省医薬局審査管理課 生活化学安全対策室

製 造 者 :

名 称 : 1,3-ジブロモプロパン

1,3-dibromopropane

C A S 番 号 : 109-64-8

構造式または示性式



ロット番号 :

純 度 : 99.8%

性 状 : 無色透明の液体

分 子 量 : 201.89

比 重 : 1.9818

融 点 : -36.2°C

沸 点 : 165°C

保 存 方 法 : 室温・遮光・気密

安 定 性 : 実験終了後の被験物質を で分析した結果、品質に問題はなく、実験期間中は安定であった。

取り扱い上の注意

: 変異原性が認められた化学物質であり、皮膚、気道あるいは粘膜に対して刺激作用があるため直接触れたり吸入しないよう注意すること。

保 存 場 所 : 御殿場研究所 被験物質保存室及び変異原性試験室（秤量室）

返 却 : 被験物質の残量はすべて試験委託者に返却した。

1-1-2. 媒体

名 称 : ジメチルスルホキシド(以下 DMSO と略記する)
 ロット番号 : SEG4422
 製 造 元 : 和光純薬工業株式会社
 保 存 方 法 : 室温
 保 存 場 所 : 御殿場研究所 変異原性試験室

媒体の選択理由

: 媒体検討の結果、被験物質は DMSO に溶解し、また、発泡、発熱、吸熱及び変色等の変化は認められなかったため、DMSO を媒体として選択した。

1-2. 被験液の調製

調 製 方 法 : 1) 濃度設定試験

無菌的操作により比重換算した 1,3-ジブロモプロパンを採取し、50 mg/mL(最少グルコース寒天平板培地シャーレに添加した際の最終濃度: 5000 µg/plate)を最高用量として DMSO により溶解し、以下公比 4 で 7 段階希釈した計 8 濃度(0.00305, 0.0122, 0.0488, 0.195, 0.781, 3.13, 12.5, 50.0 mg/mL)を調製した。

2) 本試験

濃度設定試験の結果、12.5 mg/mL を最高用量として DMSO により溶解し、以下公比 2 で 6 段階希釈した計 7 濃度(0.195, 0.391, 0.781, 1.56, 3.13, 6.25 及び 12.5 mg/mL)を調製した。

保 存 方 法 : 被験液は用時調製とし保存しなかった。

安 定 性 : 1,3-ジブロモプロパンに DMSO を添加した際に、発泡、発熱、吸熱、色調変化は認められなかった。

1-3. 対照物質

1) 溶媒対照(陰性対照)

名 称 : DMSO

ロット番号 : SEG4422

製造元：和光純薬工業株式会社

保存方法：室温

保存場所：御殿場研究所 変異原性試験室

2) 陽性対照

名 称：AF-2 (2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl) acrylamide)

ロット番号：PAE1151

製造元：和光純薬工業株式会社

保存方法：室温、遮光

名 称：SAZ (Sodium azide)

ロット番号：TPG6789

製造元：和光純薬工業株式会社

保存方法：室温、遮光

名 称：ICR-191 (2-methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)-aminopropylamino] acridine·2HCl)

ロット番号：465901

製造元：Polysciences, Inc.

保存方法：冷蔵

名 称：2AA (2-aminoanthracene)

ロット番号：M7K7000

製造元：ナカライトスク

保存方法：冷蔵

名 称：B[a]P (Benzo[a]pyrene)

ロット番号：M5K8326

製造元：ナカライトスク

保存方法：室温、遮光

保存場所：御殿場研究所 変異原性試験室

(1) 調製方法

以下の処理濃度となるように、AF-2、ICR-191、2AA、B[a]P は DMSO（和光純薬工業株式会社、試薬特級、Lot No. : SEG4422）、SAZ は、注射用水（日本薬局方、株式会社大塚製薬工場、Lot No. : 9K85N）により溶解し、目的濃度に調製した。

菌 株	陽性対照物質（処理量 $\mu\text{g}/\text{plate}$ ）	
	非代謝活性化 (-S9)	代謝活性化 (+S9)
<i>Salmonella typhimurium</i> TA100	AF-2 (0.01)	B[a]P (5.0)
<i>Salmonella typhimurium</i> TA98	AF-2 (0.1)	B[a]P (5.0)
<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535	SAZ (0.5)	2AA (2.0)
<i>Salmonella typhimurium</i> TA1537	ICR-191 (1.0)	B[a]P (5.0)
<i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	AF-2 (0.01)	2AA (10.0)

(2) 陽性対照物質の選択理由

前記遺伝毒性試験のガイドラインに準じて選択した。

2. 使用菌株

1) 菌株

次の 5 種類の菌株を用いた。

塩基対置換型

Salmonella typhimurium TA100

Salmonella typhimurium TA1535

Escherichia coli WP2 *uvrA*

フレームシフト型

Salmonella typhimurium TA98

Salmonella typhimurium TA1537

2) 入手先及び入手年月日

Salmonella typhimurium TA100 : 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部
1997 年 10 月 9 日 入手

Salmonella typhimurium TA98 : 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部
 1997年10月9日 入手
Salmonella typhimurium TA1535 : 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部
 1997年10月9日 入手
Salmonella typhimurium TA1537 : 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部
 1997年10月9日 入手
Escherichia coli WP2 uvrA : 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部
 1997年10月9日 入手

3) 菌株の選択理由

前記遺伝毒性試験のガイドラインに準じて上記5菌株を選択した。当該菌株は変異原性物質に対する感受性が高く、細菌を用いる変異原性試験に最も一般的に使用されている。

4) 菌株の保存

菌懸濁液 0.8mL に対して DMSO 0.07mL の割合で加え、分注後 -80°C の超低温フリーザ内で保存した。

3. 試 薬

1) S9

名 称 : S9 (S-9/コファクターA セット)
 ロット番号 : 01080305
 製 造 元 : オリエンタル酵母工業株式会社
 製 造 日 : 2001年 8月 3日
 購 入 日 : 2001年 10月 10日
 種・系 統 : ラット・SD 系
 性 : 雄
 週 齢 : 7 週齢
 体 重 : 215.6±8.4 g
 誘導物質 : フェノバルビタール (PB) & 5,6-ベンゾフラボン (BF)
 投 与 法 : 腹腔内投与

投与期間及び投与量

: PB 4日間 30+60+60+60 mg/kg body weight

- BF 1日間 80 mg/kg body weight
- 保存方法 : 冷凍保存(約-80 °C)
- 保存場所 : 御殿場研究所 変異原性試験室
- 2) Cofactor
- 名 称 : Cofactor A (S-9/コファクターA セット)
- ロット番号 : A01072605
- 製 造 元 : オリエンタル酵母工業株式会社
- 保存方法 : 冷凍保存(約-80 °C)
- 保存場所 : 御殿場研究所 変異原性試験室
- 3) S9 mix の組成
- | | | | |
|------------|------|----------------------------|---------|
| S9 | 1 mL | | |
| Cofactor A | 9 mL | 0.4 M 塩化マグネシウム水溶液 | 0.2 mL |
| | | 1.65 M 塩化カリウム水溶液 | 0.2 mL |
| | | 1.0 M グルコース・6・リン酸水溶液 | 0.05 mL |
| | | 0.1 M 還元型ニコチンアミド・アデニン | |
| | | ジヌクレオチドリン酸(NADPH)水溶液 | 0.4 mL |
| | | 0.1 M 還元型ニコチンアミド・アデニン | |
| | | ジヌクレオチド(NADH)水溶液 | 0.4 mL |
| | | 0.2 M ナトリウム・リン酸緩衝液(pH 7.4) | 5.0 mL |
| | | 精製水 | 2.75 mL |
- 4) トップアガー
- 名 称 : BACTO·AGAR
- ロット番号 : 108481JA
- 製 造 元 : DIFCO LABORATORIES
- 保存方法 : 室温
- 保存場所 : 御殿場研究所 変異原性試験室(秤量室)
- 5) 最少グルコース寒天平板培地
- 名 称 : 最少グルコース寒天培地 BZ
- ロット番号 : BZ020IQ
- 製 造 元 : オリエンタル酵母工業株式会社

保存方法 : 15~25°C
 保存場所 : 御殿場研究所 変異原性試験室

4. 試験方法¹⁻⁵⁾

4-1. 識別方法

1) 菌株の識別

菌株の種類毎に、以下に示す色により識別する。

<i>Salmonella typhimurium</i> TA100	青
<i>Salmonella typhimurium</i> TA98	緑
<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535	桃
<i>Salmonella typhimurium</i> TA1537	赤
<i>Escherichia coli</i> WP2 <i>uvrA</i>	黄

2) 濃度の識別

溶媒対照を「SC」(Solvent Control)、陽性対照を「PC」(Positive Control)とし、被験物質処理群の濃度の低い方から「1」「2」「3」「4」「5」「6」…と番号をつけた。
 なお、非代謝活性化は「-」、代謝活性化は「+」をそれぞれ番号の前につけた。

4-2. 前培養条件

1) ニュートリエントプロス

名 称 : Nutrient Broth No.2
 ロット番号 : 59365
 製 造 元 : OXOID
 保 存 方 法 : 室温
 保 存 場 所 : 御殿場研究所 変異原性試験室（秤量室）

2) 振盪培養装置

型 式 : BIOSPIN MBS-1
 製 造 元 : 東京理化器械株式会社(EYELA)

3) 前培養方法

無菌的操作により培養用三角フラスコにニュートリエントプロス 30 mL を分注し、以下に示す凍結保存菌懸濁液を接種した。

Salmonella typhimurium TA 株 : 60 µL
Escherichia coli 株 : 30 µL

これらを 37 ℃で約 8 時間前培養した後、吸光度計を用いて菌濃度（O.D 値）を測定した。この吸光度から換算した理論生菌数が 1×10^9 個/mL 以上の菌濃度であることを確認し、供試菌懸濁液とした。なお、菌懸濁液は使用まで室温にて放置した。

前培養終了後に測定した生菌数（O.D. 値より換算）

菌株	濃度設定試験	本試験
<i>Salmonella typhimurium</i> TA100	2.07×10^9 /mL	2.07×10^9 /mL
<i>Salmonella typhimurium</i> TA98	2.26×10^9 /mL	2.25×10^9 /mL
<i>Salmonella typhimurium</i> TA1535	2.54×10^9 /mL	2.54×10^9 /mL
<i>Salmonella typhimurium</i> TA1537	2.65×10^9 /mL	2.65×10^9 /mL
<i>Escherichia coli</i> WP2 uvrA	3.93×10^9 /mL	3.94×10^9 /mL

4-3. 濃度設定試験

本試験の用量を設定するため、被験物質の 5000 µg/plate を最高用量とし、以下公比 4 で希釈した計 8 濃度(0.305、1.22、4.88、19.5、78.1、313、1250 及び 5000 µg/plate)を用いて試験を以下のように実施した。

操作は、被験液 0.1 mL に非代謝活性化においては 0.1 M ナトリウム－リン酸緩衝液 (pH 7.4) 0.5 mL、代謝活性化においては S9 mix 0.5 mL を加え、更に各菌懸濁液 0.1 mL を加えた。37℃で 20 分間振盪(プレインキュベーション)し、これにトップアガーを 2.0 mL 加えた後に最少グルコース寒天平板培地に重層した。37℃で 48 時間培養した後、試験菌株の生育阻害及び沈殿または結晶の析出の有無を実体顕微鏡を用いて観察した。この結果、菌株及び代謝活性化の有無にかかわらず、全被験物質処理群において沈殿または結晶の析出が認められなかったため、誘発した復帰変異コロニー数をコロニーカウンター（バイオマルチスキャナーBMS-400、東洋測器）を用いて計数した。

なお、トップアガーは、*S. typhimurium* TA 株では 0.5 mM D-ビオチン－0.5 mM L-ヒスチジン溶液を 1/10 容、*E. coli* 株では 0.5 mM L-トリプトファン溶液を同割合で軟寒天液(0.6% Agar, 0.6% NaCl)に加えたものを用いた。また、各用量につき最少グルコース寒天平板培地は 3 枚のプレートを使用した。

4-4. 本試験

濃度設定試験の結果、 $1250 \mu\text{g}/\text{plate}$ 以上において試験菌株に対する生育阻害が認められたため、 $1250 \mu\text{g}/\text{plate}$ を最高用量とし、以下公比 2 で 6 段階希釈した計 7 濃度（19.5、39.1、78.1、156、313、625 及び $1250 \mu\text{g}/\text{plate}$ ）を用いて本試験を実施した。なお、試験操作は濃度設定試験と同条件として設定した。

4-5. 追加確認試験

追加確認試験の必要性が認められなかつたため、実施しなかつた。

5. 判定基準

結果の判定は、被験物質処理における復帰変異コロニー数が自然復帰変異コロニー数に対して顕著に増加し（溶媒対照の 2 倍を目安とした）、この増加に用量依存性が認められ、かつ、濃度設定試験及び本試験の結果に再現性が認められた場合に、陽性と判定した。なお、判定に際しては統計学的処理は行わなかつた。

試験結果

1. 濃度設定試験

濃度設定試験の結果を Table 1, 2 及び Figure 1～5（上段）に示した。

1) 培養開始及び終了時の観察結果

菌株及び代謝活性化の有無に関わらず、全被験物質処理群において沈殿または結晶の析出は認められなかった。また、培養終了後の観察において、菌株及び代謝活性化の有無に関わらず、1250 及び 5000 µg/plate に試験菌株に対する生育阻害が認められた。

2) 復帰変異コロニー数

S. typhimurium TA98、TA1537 及び *E. coli* WP2 *uvrA* の代謝活性化の有無に関わらず、また、*S. typhimurium* TA100 及び TA1535 の非代謝活性化において溶媒対照と比較して 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。しかし、*S. typhimurium* TA100 の代謝活性化では 313 µg/plate 以上、TA1535 の代謝活性化では 19.5 µg/plate 以上の被験物質処理群において溶媒対照と比較して 2 倍以上の用量依存的な復帰変異コロニー数の増加が認められた。なお、最大復帰変異コロニー数は、*S. typhimurium* TA100 の代謝活性化では、313 µg/plate で 2.54 倍、TA1535 の代謝活性化では 313 µg/plate で 16.5 倍を示した。

3) 試験系の成立条件

陽性対照群では各菌株の溶媒対照に比較して 2 倍以上の復帰変異コロニーが認められた。また、すべての用量群について 3 枚のシャーレによる復帰変異コロニー数に顕著な差は認められず、培養条件等の試験環境においても異常は認められなかった。更に菌株及び代謝活性化の有無に関わらず、溶媒対照及び陽性対照の復帰変異コロニー数は当試験実施施設における背景データ（Attached Data 1）との比較において異常と考えられる数値を認めなかった。したがって、本試験条件下では、試験系は成立したものと示唆された。

2. 本試験

本試験の結果を Table 3, 4 及び Figure 1~5（下段）に示した。

1) 濃度設定理由

濃度設定試験の結果、試験菌株に対する生育阻害が認められたため、各菌株の生育阻害の認められた $1250 \mu\text{g}/\text{plate}$ を最高用量とし、以下公比 2 で 6 段階希釈した計 7 濃度の用量（19.5、39.1、78.1、156、313、625 及び $1250 \mu\text{g}/\text{plate}$ ）を設定した。

2) 培養開始及び終了時の観察結果

菌株及び代謝活性化の有無に関わらず、全被験物質処理群において、沈殿または結晶の析出は認められなかった。また、培養終了後の観察において、菌株及び代謝活性化の有無に関わらず、 $1250 \mu\text{g}/\text{plate}$ のみに試験菌株に対する生育阻害が認められた。

3) 復帰変異コロニー数

S. typhimurium TA98、TA1537 及び *E. coli* WP2 *uvrA* の代謝活性化の有無に関わらず、また、*S. typhimurium* TA100 及び TA1535 の非代謝活性化において溶媒対照と比較して 2 倍以上の復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。しかし、*S. typhimurium* TA100 の代謝活性化では $156 \mu\text{g}/\text{plate}$ 以上、TA1535 の代謝活性化では $19.5 \mu\text{g}/\text{plate}$ 以上の被験物質処理群において溶媒対照と比較して 2 倍以上の用量依存的な復帰変異コロニー数の増加が認められた。なお、最大復帰変異コロニー数は、*S. typhimurium* TA100 の代謝活性化では、 $625 \mu\text{g}/\text{plate}$ で 2.90 倍、TA1535 の代謝活性化では $625 \mu\text{g}/\text{plate}$ で 20.3 倍を示した。

4) 試験系の成立条件

陽性対照群では各菌株の溶媒対照に比較して 2 倍以上の復帰変異コロニーが認められた。また、すべての用量群について 3 枚のシャーレによる復帰変異コロニー数に顕著な差は認められず、培養条件等の試験環境においても異常は認められなかった。更に菌株及び代謝活性化の有無に関わらず、溶媒対照及び陽性対照の復帰変異コロニー数は当試験実施施設における背景データ（Attached Data 1）との比較において異常と考えられる数値を認めなかった。したがって、本試験条件下では、試験系は成立したものと示唆された。

考　察

濃度設定試験及び本試験のいずれにおいても、*S. typhimurium* TA100 の代謝活性化では 156 µg/plate 以上、TA1535 の代謝活性化では 19.5 µg/plate 以上の被験物質処理群において溶媒対照と比較して 2 倍以上の用量依存的な復帰変異コロニー数の増加が認められた。このことから、本被験物質は代謝活性化存在下において特に塩基対置換型のサルモネラ菌に対して変異を誘発する物質であることが示唆された。また、最大比活性値は、*S. typhimurium* TA1535 の代謝活性化で 78.1 µg/plate において 1485 revertants/mg/plate であることから、本被験物質は復帰突然変異誘発能を有することが示唆された。一方、陽性対照群では各菌株の溶媒対照群に比較して 2 倍以上の明らかな復帰変異コロニー数の増加が認められたことから、供試菌株の復帰突然変異誘発物質に対する反応は適切であったことが確認された。

更に、各菌株の代謝活性化及び非代謝活性化における溶媒対照及び陽性対照の復帰変異コロニー数は当試験実施施設における背景データと比較し異常と考えられる数値が認められず、試験は適切に実施されたものと考えられた。

なお、本被験物質については、Ames 試験及び染色体異常試験で陽性との報告⁶⁾がある。また、類縁体の 1,3-dichloropropene⁸⁾及び 1-bromo-3-chloropropane⁷⁾は、Ames 試験で陽性と報告されている。一方、同じ類縁体の 2,4,6-tribromophenol⁸⁾及び chloropentabromocyclohexane⁹⁾は、Ames 試験で陰性との報告もあった。

以上の結果より、1,3-ジブロモプロパンは、本試験条件下において復帰突然変異誘発能を有すると判断した。

参考文献

- 1) Ames, B. N, McCann, J. and Yamasaki, E.: Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian microsome mutagenicity test. *Mutation Research*, 31, 347-364, 1975.
- 2) Maron, D. M. and Ames, B. N.: Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutation Research*, 113, 173-215, 1983.
- 3) 石館基（監修）、能美健彦、松井道子（編集）：微生物を用いる変異原性試験データ集、エル・アイ・シー、東京、1991。
- 4) 日本製薬工業協会・医薬品評価委員会・基礎研究部会 変異原性試験検討グループ（編集）：厚生省医薬品毒性試験法ガイドラインに基づく変異原性試験 Q&A、サイエンティスト社、東京、1992。
- 5) 日本バイオアッセイ研究センター（編集）：微生物を用いる変異原性試験手法解説、富士オフセット株式会社、1999。
- 6) 労働省労働基準局安全衛生部化学物質調査課監修：労働安全衛生法に基づく既存化学物質変異原性試験データ集、日本化学物質安全・情報センター（1996）
- 7) 厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室監修：化学物質毒性試験報告、化学物質点検推進連絡協議会、Vol. 7、418-421 (1999)
- 8) 厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室監修：化学物質毒性試験報告、化学物質点検推進連絡協議会、Vol. 8 (1)、506-510 (2001)
- 9) 厚生労働省医薬局審査管理課化学物質安全対策室監修：化学物質毒性試験報告、化学物質点検推進連絡協議会、Vol. 4、91-93 (1996)

Table 1 Results of Dose-Range Finding Study on 1,3-Dibromopropane without Metabolic Activation in Bacterial Reverse Mutation Test

$\pm S_9$ mix	Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Numbers of revertants (Number of colonies/plate)				
		Base-pair substitution type			Frameshift type	
		TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
S9 mix (-)	Solvent Control	112 112 110 (111 \pm 1.2)	13 15 13 (14 \pm 1.2)	36 28 28 (31 \pm 4.6)	19 23 20 (21 \pm 2.1)	11 9 9 (10 \pm 1.2)
	0.305	116 104 104 (108 \pm 6.9)	15 15 15 (15 \pm 0.0)	33 33 32 (33 \pm 0.6)	20 24 23 (22 \pm 2.1)	9 9 11 (10 \pm 1.2)
	1.22	112 129 109 (117 \pm 10.8)	11 11 17 (13 \pm 3.5)	28 31 28 (29 \pm 1.7)	25 25 28 (26 \pm 1.7)	9 8 13 (10 \pm 2.6)
	4.88	129 132 110 (124 \pm 11.9)	15 15 13 (14 \pm 1.2)	27 28 28 (28 \pm 0.6)	21 24 25 (23 \pm 2.1)	15 15 17 (16 \pm 1.2)
	19.5	141 130 129 (133 \pm 6.7)	17 16 15 (16 \pm 1.0)	29 27 28 (28 \pm 1.0)	27 29 27 (28 \pm 1.2)	12 12 13 (12 \pm 0.6)
	78.1	116 116 117 (116 \pm 0.6)	23 20 16 (20 \pm 3.5)	29 29 27 (28 \pm 1.2)	27 28 29 (28 \pm 1.0)	16 16 15 (16 \pm 0.6)
	313	158 136 126 (140 \pm 16.4)	27 23 23 (24 \pm 2.3)	36 45 43 (41 \pm 4.7)	28 27 25 (27 \pm 1.5)	15 15 15 (15 \pm 0.0)
	1250	77 55 89 a (74 \pm 17.2)	0 0 0 a (0 \pm 0.0)	41 41 41 a (41 \pm 0.0)	8 1 3 a (4 \pm 3.6)	0 0 0 a (0 \pm 0.0)
	5000	0 0 0 a (0 \pm 0.0)	0 0 0 a (0 \pm 0.0)	0 0 0 a (0 \pm 0.0)	0 0 0 a (0 \pm 0.0)	0 0 0 a (0 \pm 0.0)
	Name Concentration	AF-2 ^{#1} 0.01	SAZ ^{#2} 0.50	AF-2 0.01	AF-2 0.10	ICR-191 ^{#3} 1.00
Number of colonies/plate		713 702 714 (710 \pm 6.7)	348 343 342 (344 \pm 3.2)	153 162 161 (159 \pm 4.9)	442 432 434 (436 \pm 5.3)	1861 1907 1951 (1906 \pm 45.0)

(Notes) Solvent Control: DMSO

#1: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide , #2: Sodium azide

#3: 2-Methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)-aminopropylamino]acridine.2HCl

(): Mean of 3 plates \pm Standard deviation

Deposition of crystals and precipitation were not seen at any dose levels.

a: Growth inhibition of the tester strain was seen.

Table 2 Results of Dose-Range Finding Study on 1,3-Dibromopropane with Metabolic Activation in Bacterial Reverse Mutation Test

± S9 mix	Concentration (µg/plate)	Numbers of revertants (Number of colonies/plate)				
		Base-pair substitution type			Frameshift type	
		TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
S9 mix (+)	Solvent Control	125 132 133 (130 ± 4.4)	13 16 15 (15 ± 1.5)	31 31 35 (32 ± 2.3)	29 25 24 (26 ± 2.6)	15 15 15 (15 ± 0.0)
	0.305	108 114 113 (112 ± 3.2)	17 16 16 (16 ± 0.6)	43 35 32 (37 ± 5.7)	25 25 24 (25 ± 0.6)	15 15 16 (15 ± 0.6)
	1.22	104 128 117 (116 ± 12.0)	16 15 15 (15 ± 0.6)	41 43 43 (42 ± 1.2)	31 31 28 (30 ± 1.7)	17 17 15 (16 ± 1.2)
	4.88	110 129 133 (124 ± 12.3)	19 19 17 (18 ± 1.2)	28 29 35 (31 ± 3.8)	24 28 27 (26 ± 2.1)	15 16 17 (16 ± 1.0)
	19.5	129 137 141 (136 ± 6.1)	32 33 31 (32 ± 1.0)	37 37 41 (38 ± 2.3)	36 28 28 (31 ± 4.6)	16 16 12 (15 ± 2.3)
	78.1	217 182 198 (199 ± 17.5)	93 110 118 (107 ± 12.8)	44 39 45 (43 ± 3.2)	24 24 21 (23 ± 1.7)	16 16 16 (16 ± 0.0)
	313	350 309 331 (330 ± 20.5)	283 226 234 (248 ± 30.9)	37 37 33 (36 ± 2.3)	24 23 25 (24 ± 1.0)	13 12 12 (12 ± 0.6)
	1250	128 a 104 a 105 a (112 ± 13.6)	0 a 0 a 0 a (0 ± 0.0)	37 a 43 a 21 a (34 ± 11.4)	0 a 0 a 0 a (0 ± 0.0)	0 a 0 a 1 a (0 ± 0.6)
	5000	0 a 0 a 0 a (0 ± 0.0)	0 a 0 a 0 a (0 ± 0.0)	0 a 0 a 0 a (0 ± 0.0)	0 a 0 a 0 a (0 ± 0.0)	0 a 0 a 0 a (0 ± 0.0)
	Name Concentration Number of colonies/plate	B[a]P ^{#4} 5.00	2AA ^{#5} 2.00	2AA 10.0	B[a]P 5.00	B[a]P 5.00
	908 899 915 (907 ± 8.0)	158 160 158 (159 ± 1.2)	416 431 418 (422 ± 8.1)	285 278 289 (284 ± 5.6)	120 122 97 (113 ± 13.9)	

(Notes) Solvent Control: DMSO

#4: Benzo[al]pyrene , #5: 2-Aminoanthracene

(): Mean of 3 plates ± Standard deviation

Deposition of crystals and precipitation were not seen at any dose levels.

a: Growth inhibition of the tester strain was seen.

Table 3 Results of Main Study on 1,3-Dibromopropane without Metabolic Activation in Bacterial Reverse Mutation Test

$\pm S9$ mix	Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Numbers of revertants (Number of colonies/plate)				
		Base-pair substitution type			Frameshift type	
		TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
Solvent Control	96	12	28	17	16	
	97	12	27	25	12	
	101	(98 \pm 2.6)	17 (14 \pm 2.9)	28 (28 \pm 0.6)	25 (22 \pm 4.6)	13 (14 \pm 2.1)
	93	15	21	16	12	
	110	15	33	15	12	
	117	(107 \pm 12.3)	16 (15 \pm 0.6)	31 (28 \pm 6.4)	12 (14 \pm 2.1)	9 (11 \pm 1.7)
	108	12	33	19	11	
	96	12	27	12	12	
	113	(106 \pm 8.7)	17 (14 \pm 2.9)	27 (29 \pm 3.5)	13 (15 \pm 3.8)	11 (11 \pm 0.6)
	113	13	31	21	11	
S9 mix (-)	109	13	32	17	12	
	116	(113 \pm 3.5)	15 (14 \pm 1.2)	35 (33 \pm 2.1)	15 (18 \pm 3.1)	13 (12 \pm 1.0)
	118	15	31	20	13	
	94	17	29	21	12	
	96	(103 \pm 13.3)	16 (16 \pm 1.0)	32 (31 \pm 1.5)	19 (20 \pm 1.0)	11 (12 \pm 1.0)
	128	20	40	24	11	
	110	19	39	24	9	
	112	(117 \pm 9.9)	17 (19 \pm 1.5)	39 (39 \pm 0.6)	19 (22 \pm 2.9)	9 (10 \pm 1.2)
	129	23	37	16	11	
	129	16	40	15	11	
1250	125	(128 \pm 2.3)	16 (18 \pm 4.0)	37 (38 \pm 1.7)	21 (17 \pm 3.2)	8 (10 \pm 1.7)
	93 a	0 a	47 a	0 a	0 a	
	85 a	0 a	48 a	0 a	0 a	
	81 a (86 \pm 6.1)	0 a (0 \pm 0.0)	44 a (46 \pm 2.1)	0 a (0 \pm 0.0)	0 a (0 \pm 0.0)	
Name Concentration Number of colonies/plate	AF-2 ^{#1} 0.01	SAZ ^{#2} 0.50	AF-2 0.01	AF-2 0.10	ICR-191 ^{#3} 1.00	
	978	415	176	493	1809	
	960	399	170	489	1749	
	907	(948 \pm 36.9)	414 (409 \pm 9.0)	180 (175 \pm 5.0)	491 (491 \pm 2.0)	1777 (1778 \pm 30.0)

(Notes) Solvent Control: DMSO

#1: 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide , #2: Sodium azide

#3: 2-Methoxy-6-chloro-9-[3-(2-chloroethyl)-aminopropylamino]acridine.2HCl

(): Mean of 3 plates \pm Standard deviation

Deposition of crystals and precipitation were not seen at any dose levels.

a: Growth inhibition of the tester strain was seen.

Table 4 Results of Main Study on 1,3-Dibromopropane with Metabolic Activation in Bacterial Reverse Mutation Test

$\pm S9$ mix	Concentration ($\mu\text{g}/\text{plate}$)	Numbers of revertants (Number of colonies/plate)				
		Base-pair substitution type			Frameshift type	
		TA100	TA1535	WP2UVRA	TA98	TA1537
Solvent Control	19.5	136	12	29	24	12
		118	16	29	27	12
		129 (128 ± 9.1)	16 (15 ± 2.3)	28 (29 ± 0.6)	27 (26 ± 1.7)	12 (12 ± 0.0)
	39.1	101	37	28	27	16
		138	35	28	27	16
		122 (120 ± 18.6)	33 (35 ± 2.0)	28 (28 ± 0.0)	27 (27 ± 0.0)	15 (16 ± 0.6)
	78.1	140	59	27	24	16
		137	63	24	28	16
		132 (136 ± 4.0)	72 (65 ± 6.7)	32 (28 ± 4.0)	28 (27 ± 2.3)	15 (16 ± 0.6)
S9 mix (+)	156	203	130	36	36	17
		227	132	35	33	16
		198 (209 ± 15.5)	130 (131 ± 1.2)	37 (36 ± 1.0)	32 (34 ± 2.1)	16 (16 ± 0.6)
	313	278	229	31	23	17
		306	206	33	23	13
		323 (302 ± 22.7)	247 (227 ± 20.6)	31 (32 ± 1.2)	21 (22 ± 1.2)	13 (14 ± 2.3)
	625	329	279	37	33	15
		350	281	40	33	15
		368 (349 ± 19.5)	313 (291 ± 19.1)	40 (39 ± 1.7)	31 (32 ± 1.2)	15 (15 ± 0.0)
	1250	368	302	57	23	16
		370	307	60	24	15
		376 (371 ± 4.2)	305 (305 ± 2.5)	51 (56 ± 4.6)	24 (24 ± 0.6)	16 (16 ± 0.6)
	Name Concentration	154 a	0 a	43 a	0 a	0 a
		188 a	0 a	32 a	0 a	0 a
		55 a (132 ± 69.1)	0 a (0 ± 0.0)	32 a (36 ± 6.4)	5 a (2 ± 2.9)	0 a (0 ± 0.0)
Number of colonies/plate	B[a]P [#] 5.00	2AA [#] 2.00	2AA 10.0	B[a]P 5.00	B[a]P 5.00	
	907	146	367	263	109	
	911	154	427	263	113	
	911 (910 ± 2.3)	152 (151 ± 4.2)	350 (381 ± 40.5)	262 (263 ± 0.6)	108 (110 ± 2.6)	

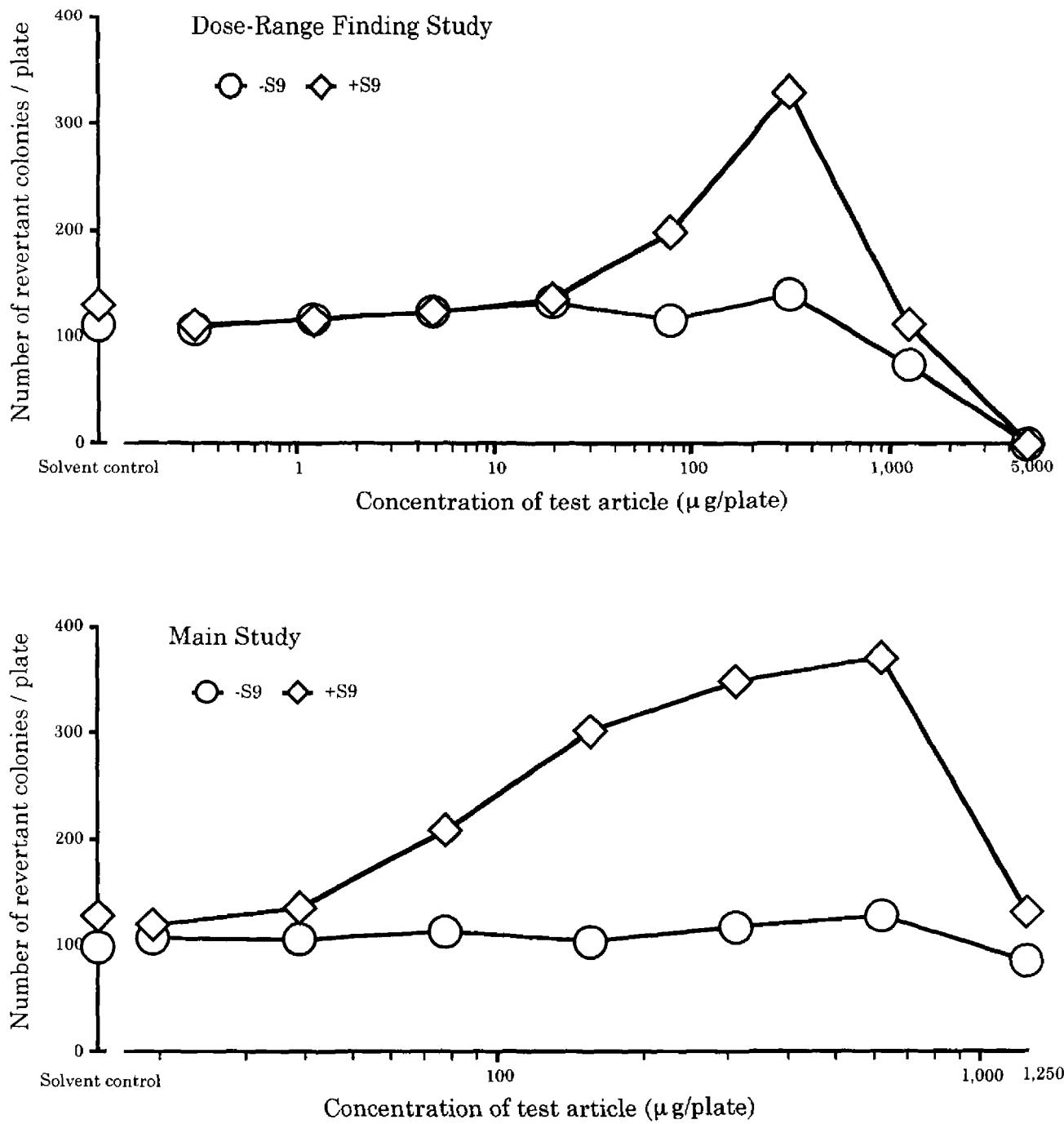
(Notes) Solvent Control: DMSO

#4: Benzo[a]pyrene , #5: 2-Aminoanthracene

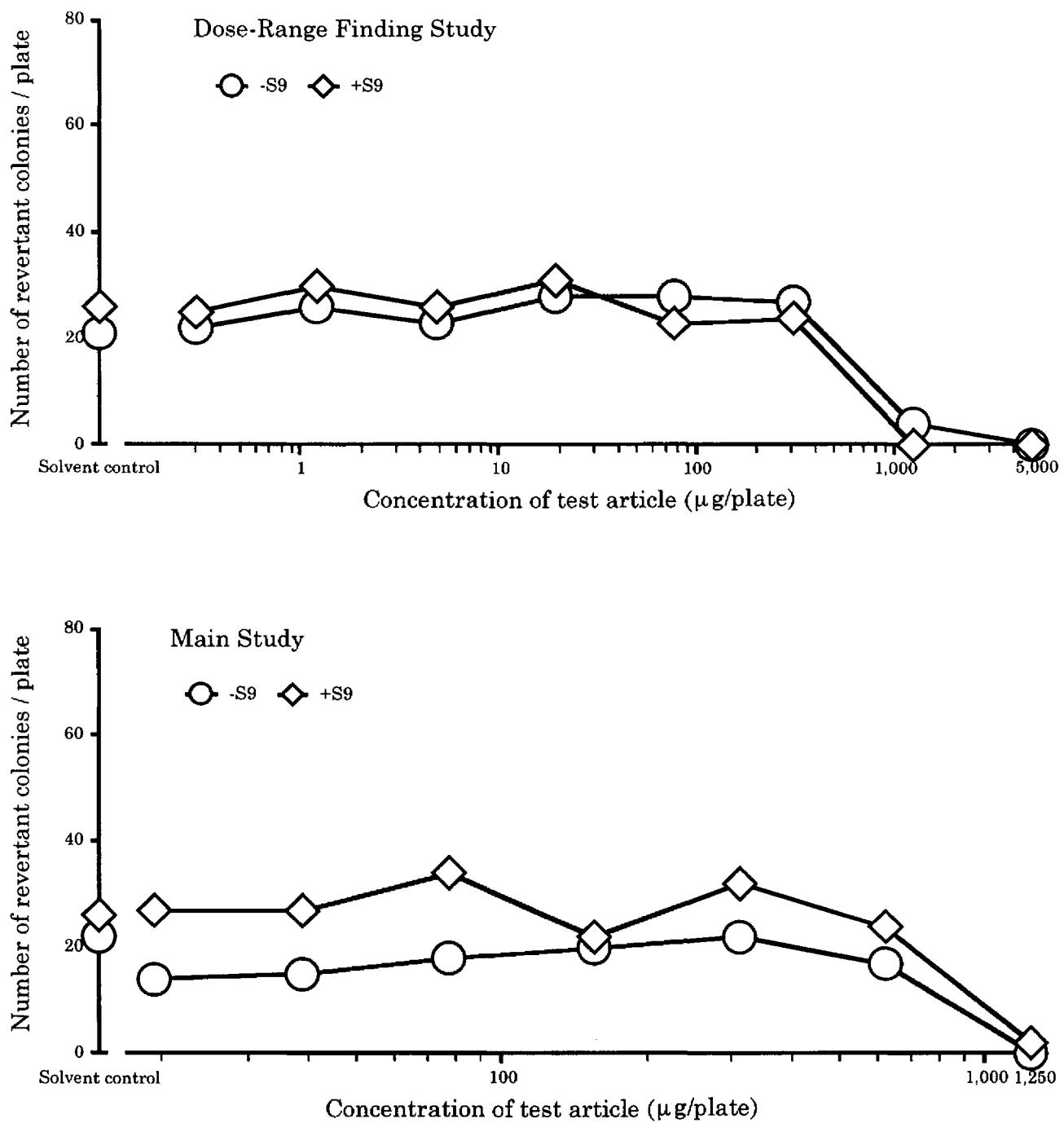
(): Mean of 3 plates \pm Standard deviation

Deposition of crystals and precipitation were not seen at any dose levels.

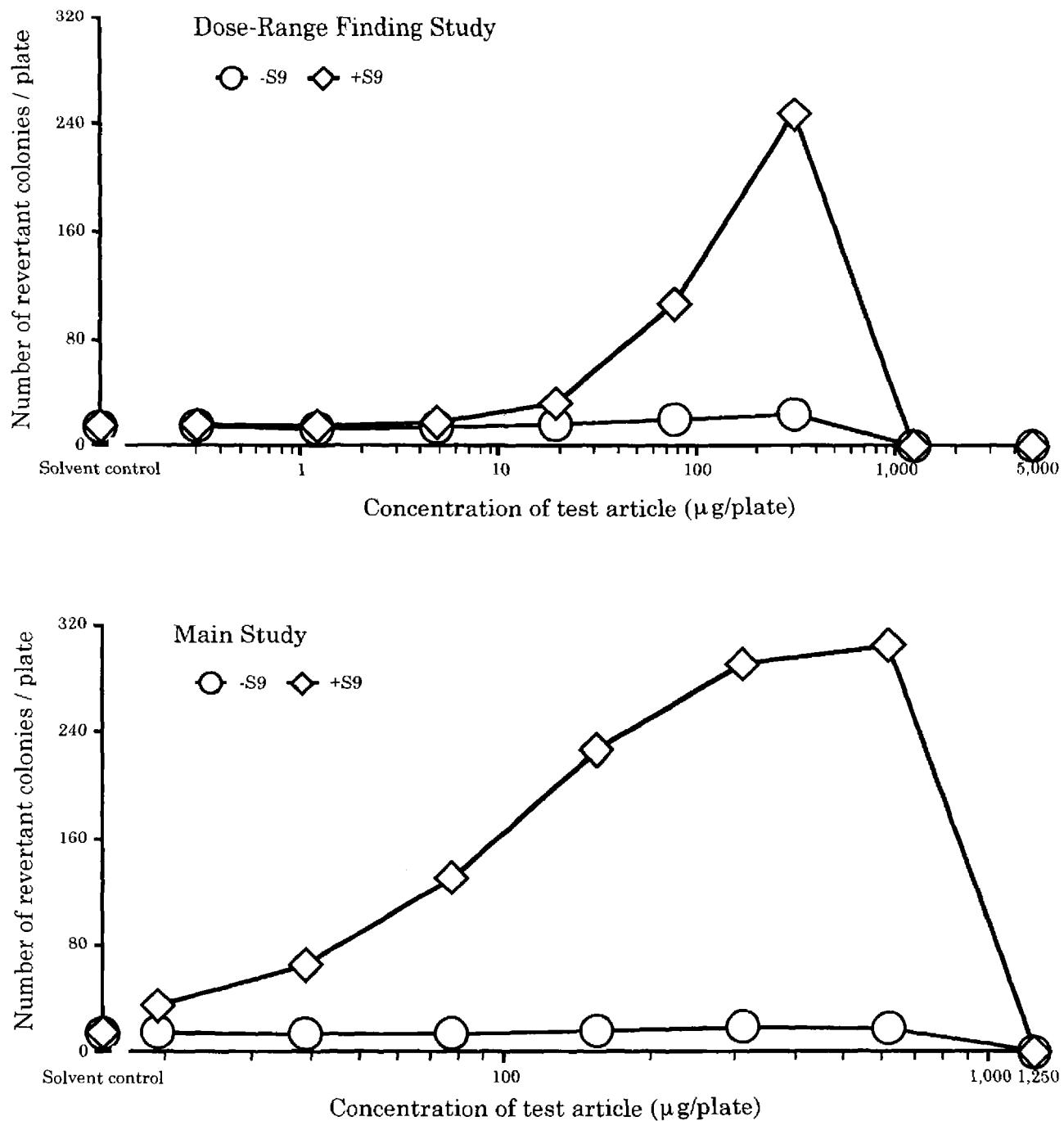
a: Growth inhibition of the tester strain was seen.

**Figure 1**

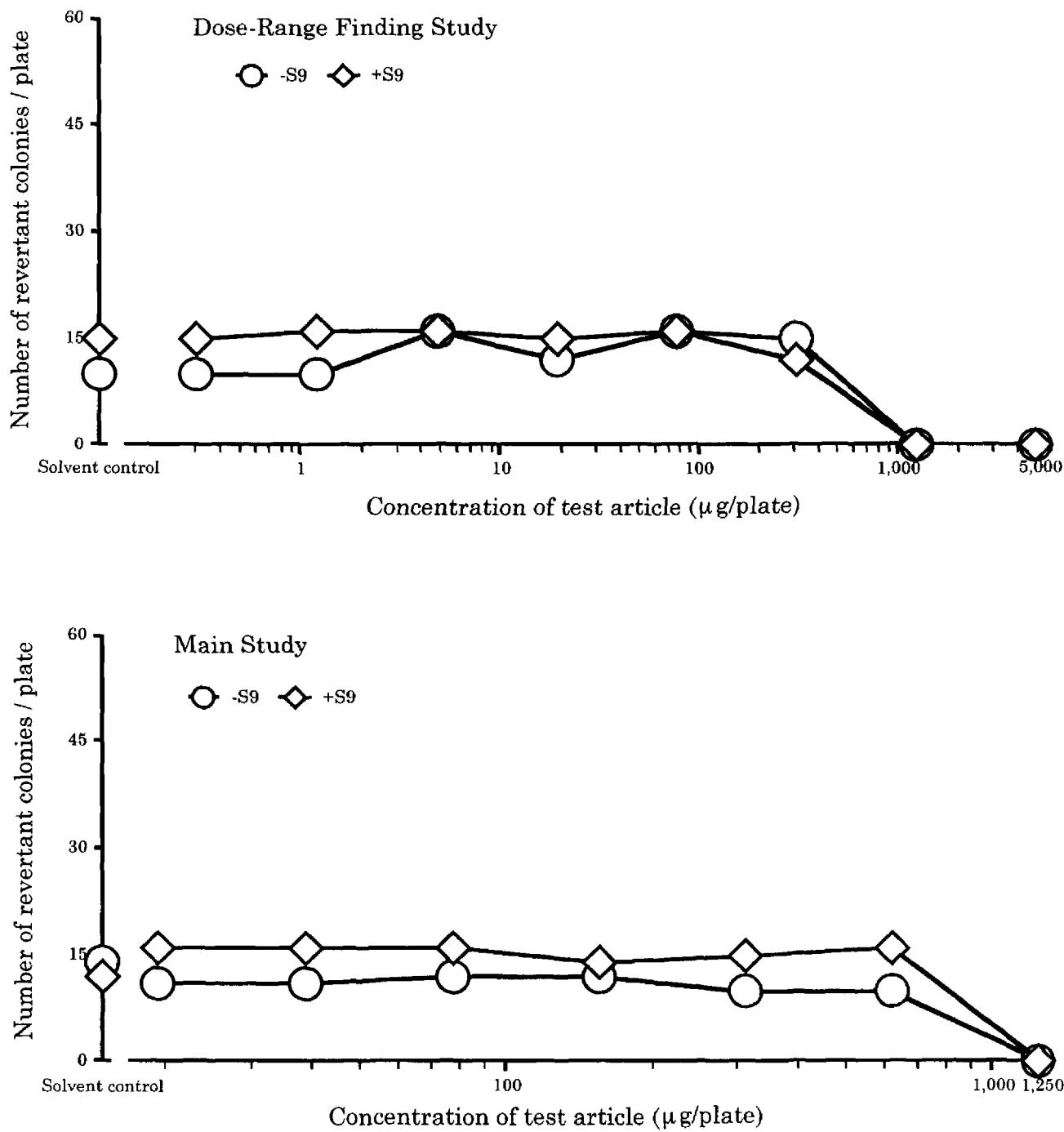
**Results of Reverse Mutation Test with *Salmonella typhimurium* TA100
on 1,3-Dibromopropane**

**Figure 2**

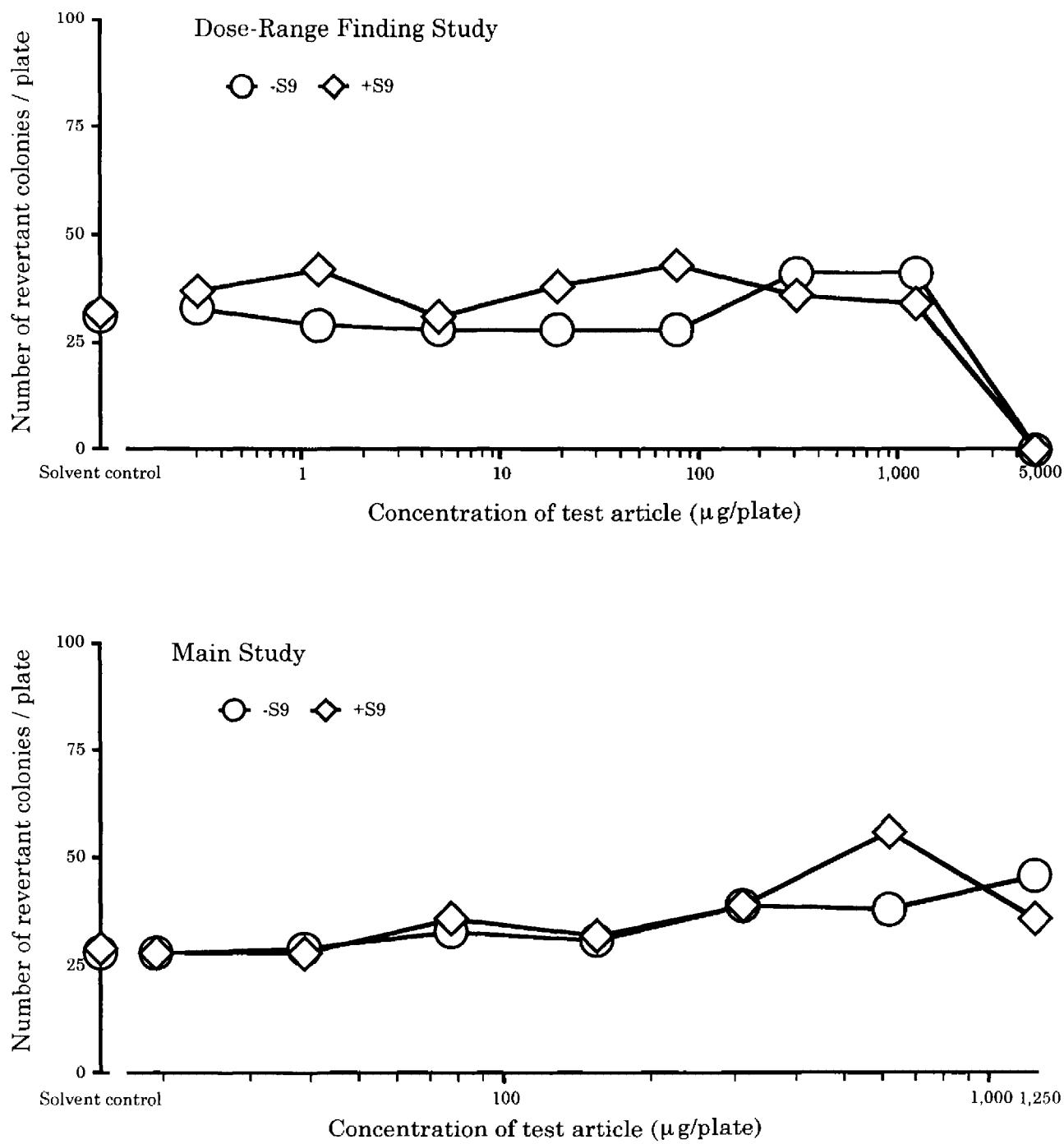
Results of Reverse Mutation Test with *Salmonella typhimurium* TA98
on 1,3-Dibromopropane

**Figure 3**

Results of Reverse Mutation Test with *Salmonella typhimurium* TA1535
on 1,3-Dibromopropane

**Figure 4**

**Results of Reverse Mutation Test with *Salmonella typhimurium* TA1537
on 1,3-Dibromopropane**

**Figure 5**

Results of Reverse Mutation Test with *Escherichia coli* WP2 *uvrA*
on 1,3-Dibromopropane