

# 最終報告書

1-ブロモ-3-クロロ-プロパンの細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：4185（115-103）

平成12年7月13日

試験委託者  
厚生省 生活衛生局

財団法人  
食品農医薬品安全性評価センター

## 目次

1. 要約.....	3
2. 表題.....	4
3. 試験目的.....	4

11. 被験物質.....	6
12. 試験材料および方法.....	8
13. 試験結果.....	15
14. 考察および結論.....	16
15. 参考文献.....	17

Figures		F-1～5
Figure 1	Bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- in strain TA100	F-1
Figure 2	Bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- in strain TA1535	F-2
Figure 3	Bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- in strain WP2 <i>uvrA</i>	F-3
Figure 4	Bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- in strain TA98	F-4
Figure 5	Bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- in strain TA1537	F-5

Tables		T-1~8
Table 1	Results of the bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- (1st trial) [direct method : -S9]	T-1
Table 2	Results of the bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- (1st trial) [direct method : -S9]	T-2
Table 3	Results of the bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- (1st trial) [activation method : +S9]	T-3
Table 4	Results of the bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- (1st trial) [activation method : +S9]	T-4
Table 5	Results of the bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- (2nd trial) [direct method : -S9]	T-5
Table 6	Results of the bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- (2nd trial) [direct method : -S9]	T-6
Table 7	Results of the bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- (2nd trial) [activation method : +S9]	T-7
Table 8	Results of the bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- (2nd trial) [activation method : +S9]	T-8

## 1. 要約

本試験条件下において、1-ブロモ-3-クロロ-プロパンには遺伝子突然変異を誘起する作用があるものと判断した。

1-ブロモ-3-クロロ-プロパ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。

その結果、1-ブロモ-3-クロロ-プロパン処理の場合、直接法の WP2 *uvrA* ならびに代謝活性化法の TA100, TA1535 および WP2 *uvrA* において、用量に依存した復帰突然変異コロニー数の明確な増加が認められた。

一方、直接法および代謝活性化法での陽性対照物質は、それぞれの試験菌株に対し明確な突然変異誘発作用を示した。

2. 表題

1-ブロモ-3-クロロ-プロパ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した。

**11. 被験物質****11.1. 被験物質名**

1-ブロモ-3-クロロ-プロパン

【Propane,1-bromo-3-chloro-】

**11.2. ロット番号****11.3. 純度**

99.9 area%

**11.4. 保管条件**

冷暗所

**11.5. 別名**

塩化臭化トリメチレン

(Trimethylene chlorobromide)

**11.6. CAS 番号**

109-70-6

**11.7. 構造式又は示性式** $\text{Br-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-Cl}$ **11.8. 分子量**

157.44

**11.9. 常温における性状**

無色透明液体，ハロゲン化炭化水素臭

**11.10. 沸点**

143.36℃

**11.11. 蒸気圧 (摂氏 25 度)**

9 mmHg

**11.12. 溶媒に対する溶解度等**

水 : 2.2356 g/L (25℃)

DMSO : 易溶

アセトン : 易溶

**11.13. 安定性**

熱せられると分解して，高度の毒性を有する煙霧が発生する。

**11.14. 取り扱い上の注意**

皮膚，眼，呼吸器等への接触を避けるため，保護手袋，保護メガネ，有機ガス用防毒マスク，保護衣等を着用した．換気設備などで換気した．光，熱，火炎に近づけなかった．

**11.15. 残余被験物質の処理**

被験物質の残余は，染色体異常試験（試験番号：4186）終了後，被験物質提供元に返却する．

## 12. 試験材料および方法

### 12.1. 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種類の菌株を使用した。

- |    |         |                 |                     |
|----|---------|-----------------|---------------------|
| 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 <i>uvrA</i> | (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日にカリフォルニア大学から、また、大腸菌については昭和58年3月16日に国立医薬品食品衛生研究所から分与を受けた。

平成11年6月29日に菌株の特性検査を実施し、規定の特性を保持している菌株を試験に使用した。各菌株の菌懸濁液にジメチルスルホキシド(DMSO: GC用; Merck KGaA; 純度99.7%以上, Lot No. K24605778 803)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; 三洋電機メディカシステム株式会社)に保存(-80℃)した。

### 12.2. 培地の調製

#### 12.2.1. 最少グルコース寒天平板培地(プレート)

テスメディア AN 培地(オリエンタル酵母工業株式会社: 平成11年3月16日製造, Lot No. AN180CO)を試験に使用した。本プレートは、Vogel-Bonner 最少培地Eを含む組成の溶液30 mLを無菌的にシャーレに分注したものである。



最少グルコース寒天平板培地の組成を以下に示す。

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
<hr/>		
グルコース	20	g
精製水	100	mL
<hr/>		
寒天 (No.1 ; Oxoid Limited ; Lot No. 802436)	15	g
精製水	700	mL

#### 12.2.2. トップアガー (軟寒天)

塩化ナトリウム 0.5% を含む 0.6% 寒天 (Bacto-agar : Difco Laboratories ; Lot No. 120535JD) 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 mmol/L L-ヒスチジン (関東化学株式会社 ; Lot No. 911S1877) - 0.5 mmol/L D-ビオチン (関東化学株式会社 ; Lot No. 811S2086) 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 mmol/L 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。

#### 12.3. 試験菌株の前培養

内容量 200 mL のバツフル付三角フラスコに 2.5% ニュートリエントブロス (Nutrient Broth No.2 : Oxoid Limited ; Lot No. 028 59365) 培養液を 25 mL 分注し、これに融解した菌懸濁液を 50  $\mu$ L 接種した。培養開始までの間冷却ユニット (ECS-1 : 東京理化学器械株式会社) を用いて 4°C 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) を用い、37°C で 8 時間振盪 (100 回/分) 培養した。試験毎に菌株の培養を実施し、菌懸濁液は培養終了後直ちに使用した。

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）を用いて計測した生菌数を以下に示した。

試験	試験生菌数 ( $\times 10^9$ /mL)				
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
本試験 1 回目	3.81	3.04	4.30	3.13	2.54
本試験 2 回目	3.37	3.61	4.51	3.18	2.19

#### 12.4. S9 mix

製造後 6 ヶ月以内の S9 mix（キッコーマン株式会社；Lot No. FSM-403）を試験に使用した。

##### 12.4.1. S9 の調製方法

S9 調製の際の動物種，性，臓器，誘導物質ならびに誘導方法を以下に示した。

- a. ロット番号 RAA-403
- b. 調製日 平成 11 年 4 月 23 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 189～245 g
- f. 臓器 肝臓
- g. 誘導物質 Phenobarbital(PB)および 5,6-Benzoflavone(BF)
- h. 投与量 PB：30 mg/kg 1 回（1 日目），  
および 60 mg/kg 3 回（2～4 日目）  
投与回数 BF：80 mg/kg 1 回（3 日目）
- i. 投与方法 腹腔内投与
- j. 蛋白含量 24.96 mg/mL

## 12.4.2. S9 mix の組成

S9 mix 1 mL 中の量を以下に示す.

S9	0.1	mL
MgCl <sub>2</sub>	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

## 12.5. 被験物質液の調製

本被験物質は DMSO に易溶であり、かつ、同溶媒中で安定であることから被験物質を DMSO (Lot No. K24605778 803) を用いて溶解させ調製原液とした。この調製原液を使用溶媒を用いて所定濃度に希釈した後、直ちに処理を行った。なお、被験物質情報から本被験物質に揮発性が疑われたことから、調製に際しては蓋付きの試験管を用いた。また、モレキュラーシーブを用いて脱水処理を行った DMSO を被験物質の調製に使用した。

## 12.6. 対照群

## 12.6.1. 陰性 (溶媒) 対照

使用溶媒を試験に使用した。

## 12.6.2. 陽性対照

陽性対照として以下の物質を使用した。各陽性対照物質は DMSO (Lot No. K24605778 830) を用いて溶解し、500 あるいは 1000 μL ずつ小分けした後、凍結保存 (-20°C) したものを試験に使用した。

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; 純度 98.0~102.0%; Lot No. PAN0050)
NaN <sub>3</sub>	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. TPR1596)
9-AA	9-アミノアクリジン塩酸塩 (Aldrich Chemical Co., Inc.; 純度 98.0%; Lot No. AQ08326HN)
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. DLH6052)

## 《直接法》

a. AF-2	0.01	μg/プレート	(ネズミチフス菌：TA100)
b. AF-2	0.1	〃	(ネズミチフス菌：TA98)
c. NaN <sub>3</sub>	0.5	〃	(ネズミチフス菌：TA1535)
d. 9-AA	80	〃	(ネズミチフス菌：TA1537)
e. AF-2	0.01	〃	(大腸菌：WP2 <i>uvrA</i> )

## 《代謝活性化法》

a. 2-AA	1	μg/プレート	(ネズミチフス菌：TA100)
b. 2-AA	0.5	〃	(ネズミチフス菌：TA98)
c. 2-AA	2	〃	(ネズミチフス菌：TA1535)
d. 2-AA	2	〃	(ネズミチフス菌：TA1537)
e. 2-AA	10	〃	(大腸菌：WP2 <i>uvrA</i> )

なお、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。

## 12.6.3. 無菌試験

被験物質液（調製原液）ならびに S9 mix について無菌試験を実施した。すなわち、調製原液 100 μL あるいは S9 mix 500 μL にトップアガーをそれぞれ 2 mL 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 S9 mix のいずれについても 2 枚のプレートを用いて無菌試験を実施した。

その結果、1-ブromo-3-クロロ-プロパン調製原液ならびに S9 mix の無菌試験において、菌の増殖は認められなかった。

## 12.7. 復帰突然変異試験

## 12.7.1. 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の結果を以下に示す。

試験用量 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )	S9 mix	復帰突然変異コロニー数				
		TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
0	-	97	14	25	17	11
19.5	-	86	10	20	20	8
78.1	-	85	10	23	19	11
313	-	99	17	27	9	13
1250	-	56*	12*	45	10	9*
0	+	106	15	23	28	13
19.5	+	117	9	23	18	9
78.1	+	108	21	23	24	12
313	+	168	122	27	25	9
1250	+	265*	223*	50	19	5*

\*：生育阻害作用

直接法ならびに代謝活性化法の TA100, TA1535 および TA1537 では 1250  $\mu\text{g}/\text{プレート}$  において試験菌株に対する生育阻害作用が観察された。復帰突然変異コロニー数については、直接法の WP2  $uvrA$  ならびに代謝活性化法の TA100, TA1535 および WP2  $uvrA$  において増加傾向が認められた。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、ネズミチフス菌はそれぞれ 6~7 用量 (公比 2) を設定し、大腸菌については 9 用量 (公比 10/7) を設定した。

復帰突然変異試験で用量当たり 3 枚のプレートを用いた。

試験系	最高用量 ( $\mu\text{g}/\text{プレート}$ )				
	TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
直接法	1250	1250	5000	5000	1250
代謝活性化法	5000	5000	5000	5000	1250

### 12.7.2. 被験物質あるいは対照物質の処理および培養時間

蓋付き試験管に、使用溶媒、被験物質液あるいは陽性対照物質溶液を 100  $\mu$ L、次いで直接法の場合、0.1 mol/L ナトリウム・リン酸緩衝液 (pH 7.4) を 500  $\mu$ L、代謝活性化法の場合、S9 mix を 500  $\mu$ L 分注した。さらに前培養した試験菌株の懸濁液 100  $\mu$ L を加えた後、振盪恒温器 (M-100<sup>N</sup>:タイテック株式会社) を用いて 37°C で 20 分間振盪 (プレインキュベーション) した。振盪終了後、トッパアガーを 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。各プレートをビニールテープで密封した後、恒温器を用いて 37°C の条件で 48 時間各プレートを培養した。再現性を確認するため、本試験を独立して 2 回実施した。

### 12.7.3. コロニー数計測

被験物質の生育阻害作用を確認するため、プレート上の試験菌株 (背景菌) の生育状態について実体顕微鏡 ( $\times 60$ ) を用いて観察した。さらに被験物質の沈殿状態を肉眼で観察した。次いで、復帰突然変異により生じたコロニー数を計測した。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) 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。

## 12.8. 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 倍以上の増加を示し、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。なお、陽性と判定した場合には、変異原性の強さの相対的比較値である比活性を下式で求めた。コロニー数の平均値は四捨五入する以前の値を用いた。

$$\frac{(\text{当該濃度におけるプレートあたりのコロニー数}) - (\text{陰性対照のプレートあたりのコロニー数})}{\text{当該濃度値 (mg)}}$$

### 13. 試験結果

#### 13.1. 試験結果 (1回目)

結果を Figure 1~5 および Table 1~4 に示した。

1-ブロモ-3-クロロ-プロパン処理群の場合、直接法、代謝活性化法とも高用量群において試験菌株に対する生育阻害作用が観察された。また、直接法の WP2 *uvrA* ならびに代謝活性化法の TA100, TA1535 および WP2 *uvrA* では陰性対照と比較し復帰突然変異コロニー数の増加傾向が認められた。

一方、陽性対照物質はそれぞれの菌株において、陰性対照の2倍以上の復帰突然変異コロニーを誘発した。

なお、コロニー計数時に析出等の特筆すべき変化は観察されなかった。

#### 13.2. 試験結果 (2回目)

試験結果を Figure 1~5 および Table 5~8 に示した。

被験物質処理群の場合、直接法、代謝活性化法とも高用量群において試験菌株に対す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直接法の WP2 *uvrA* ならびに代謝活性化法の TA100, TA1535 および WP2 *uvrA* で試験用量に依存した増加が認められた。

一方、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、コロニー計数時に析出等の特筆すべき変化は観察されなかった。

以上、2回繰り返し実施した本試験において、直接法および代謝活性化法の両試験系とも再現性が確認された。

#### 13.3. 比活性

前述の結果から求めた変異原性の強さに関する相対的比較値である比活性 (mg 当たり) は、以下の通りであった。

試験	S9	菌株	試験用量	比活性
本試験 (1回目)	-	WP2 <i>uvrA</i>	588 $\mu\text{g}/\text{プレート}$	45.9
〃	+	TA100	625 $\mu\text{g}/\text{プレート}$	226
〃	+	TA1535	156 $\mu\text{g}/\text{プレート}$	293
〃	+	WP2 <i>uvrA</i>	1201 $\mu\text{g}/\text{プレート}$	41.6
本試験 (2回目)	-	WP2 <i>uvrA</i>	412 $\mu\text{g}/\text{プレート}$	46.1
〃	+	TA100	625 $\mu\text{g}/\text{プレート}$	208
〃	+	TA1535	156 $\mu\text{g}/\text{プレート}$	485
〃	+	WP2 <i>uvrA</i>	1715 $\mu\text{g}/\text{プレート}$	56.6

#### 14. 考察および結論

1-ブロモ-3-クロロ-プロパンの変異原性、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まで検討した。その結果、1-ブロモ-3-クロロ-プロパン処理群では、直接法の WP2 *uvrA* ならびに代謝活性化法の TA100, TA1535 および WP2 *uvrA* において、用量に依存した復帰突然変異コロニー数の明確な増加が認められた。変異原性の強さに関する相対的比較値である比活性の最高値は 485（代謝活性化法, TA1535, 156  $\mu\text{g}/\text{プレート}$ ）と算出され、既知変異原性物質に比較して1-ブロモ-3-クロロ-プロパンの変異原性は弱いことを示していた。

また、本被験物質（1-ブロモ-3-クロロ-プロパン）については Ames 試験で陽性との報告があった<sup>1)</sup>。類縁体である 1,3-Dibromopropane は Ames 試験および染色体異常試験で陽性<sup>2) 3)</sup>、1,3-Dichloropropene は Ames 試験および染色体異常試験で陽性<sup>4) 5)</sup>、ならびに 1,3-Dichloropropane は *in vitro* 小核および SCG 試験（コメットアッセイ）で陽性<sup>6)</sup> との報告があった。

なお、陰性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1-ブロモ-3-クロロ-プロパンの微生物に対する遺伝子突然変異誘発性は陽性と判定した。



## 15. 参考文献

- 1) 労働省労働基準局安全衛生部化学物質調査課 監修：労働安全衛生法有害性調査制度に基づく既存化学物質変異原性試験データ集，社団法人日本化学物質安全・情報センター，1996，p167.
- 2) 労働省労働基準局安全衛生部化学物質調査課 監修：労働安全衛生法有害性調査制度に基づく既存化学物質変異原性試験データ集，社団法人日本化学物質安全・情報センター，1996，p315.
- 3) 労働省労働基準局安全衛生部化学物質調査課 監修：労働安全衛生法有害性調査制度に基づく既存化学物質変異原性試験データ集，社団法人日本化学物質安全・情報センター，1996，p553.
- 4) 石館基：微生物を用いる変異原性試験データ集，life-science Information center, 1991, p176~177.
- 5) 石館基：染色体異常試験データ集，life-science Information center, 1987, p177.
- 6) Tafazoli M. and Kirsch-Volders M. : *In vitro* mutagenicity and genotoxicity study of 1,2-dichloroethylen, 1,1,2-trichloroethane, 1,3-dichloropropane, 1,2,3-trichloropropane and 1,1,3-trichloropropene, using the micronucleus test and the alkaline single cell gel electrophoresis technique (comet assay) in human lymphocytes. : *Mutat. Res.* 371(3-4), 185~202, 1996.

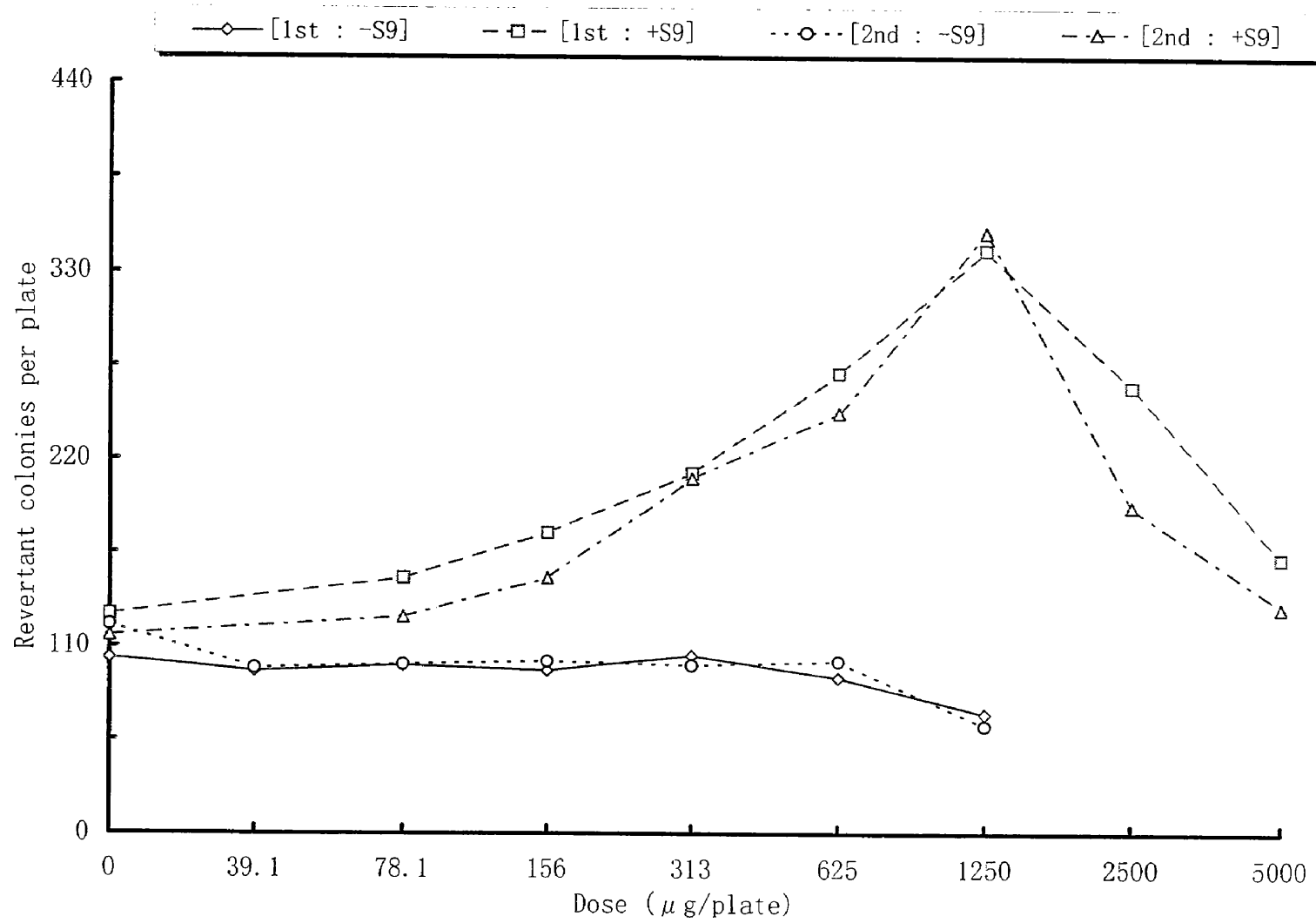


Figure 1. Bacterial reversion test of Propane, 1-bromo-3-chloro- in strain TA100

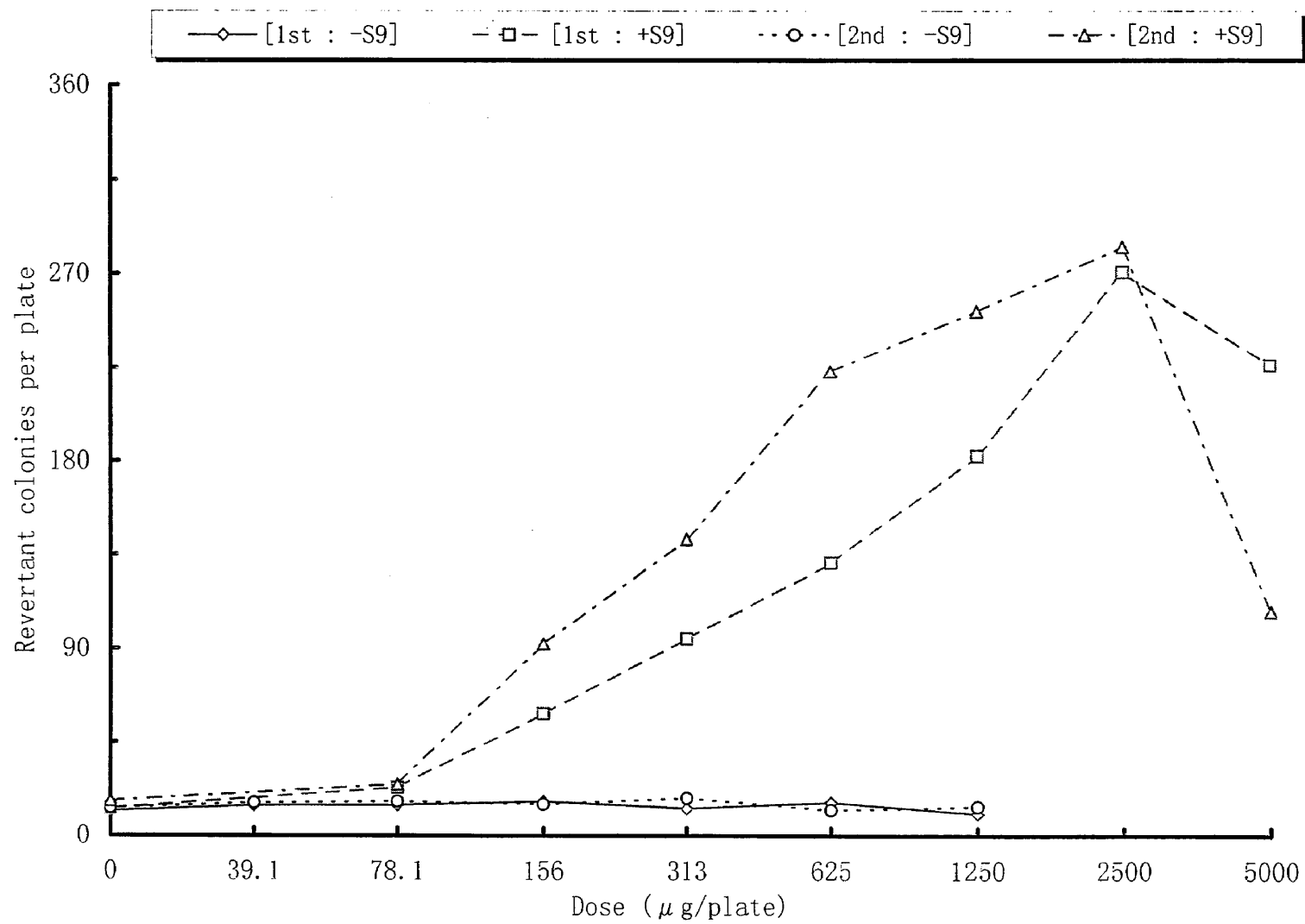


Figure 2. Bacterial reversion test of Propane, 1-bromo-3-chloro- in strain TA1535

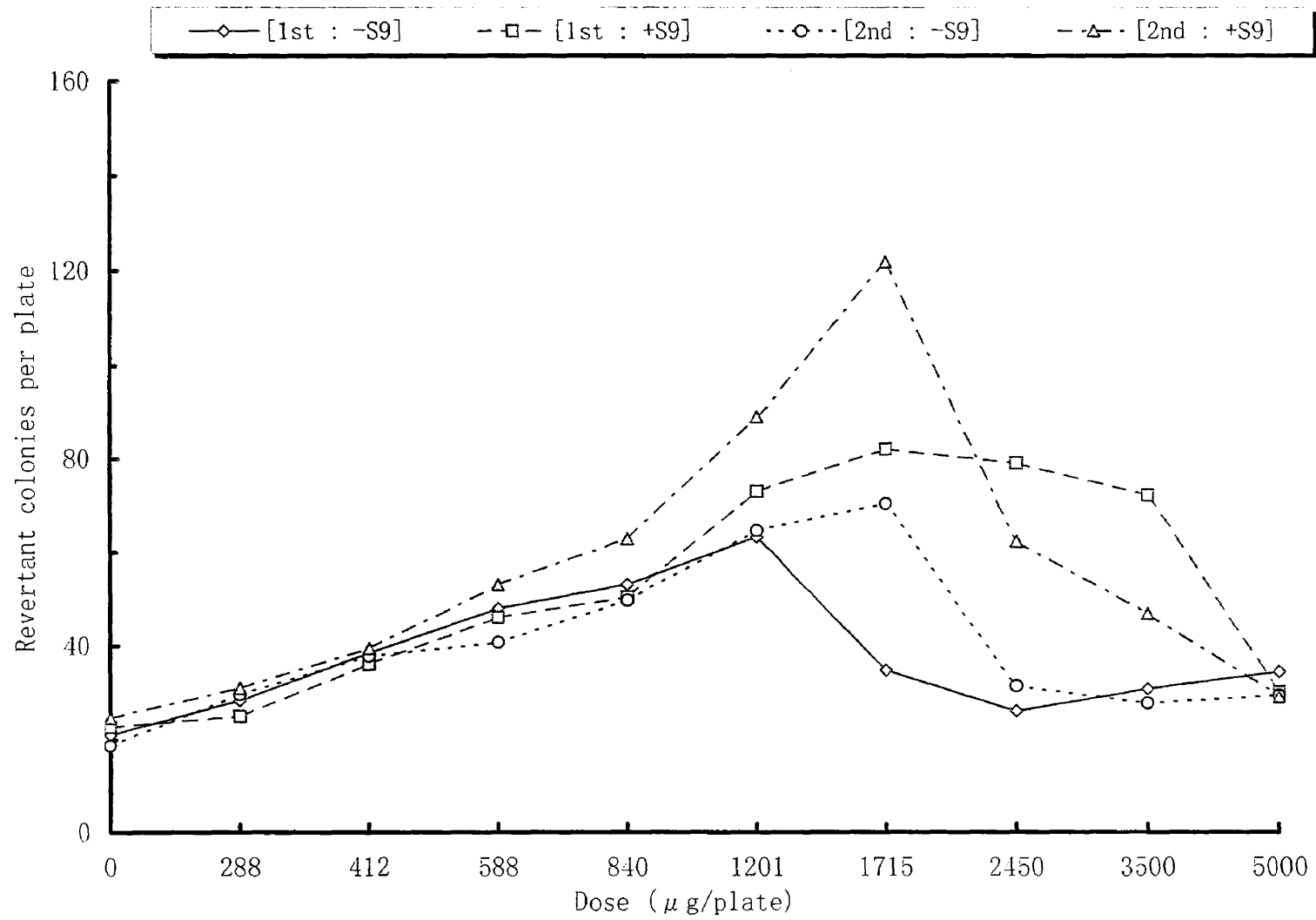


Figure 3. Bacterial reversion test of Propane, 1-bromo-3-chloro- in strain WP2uvrA

7-4

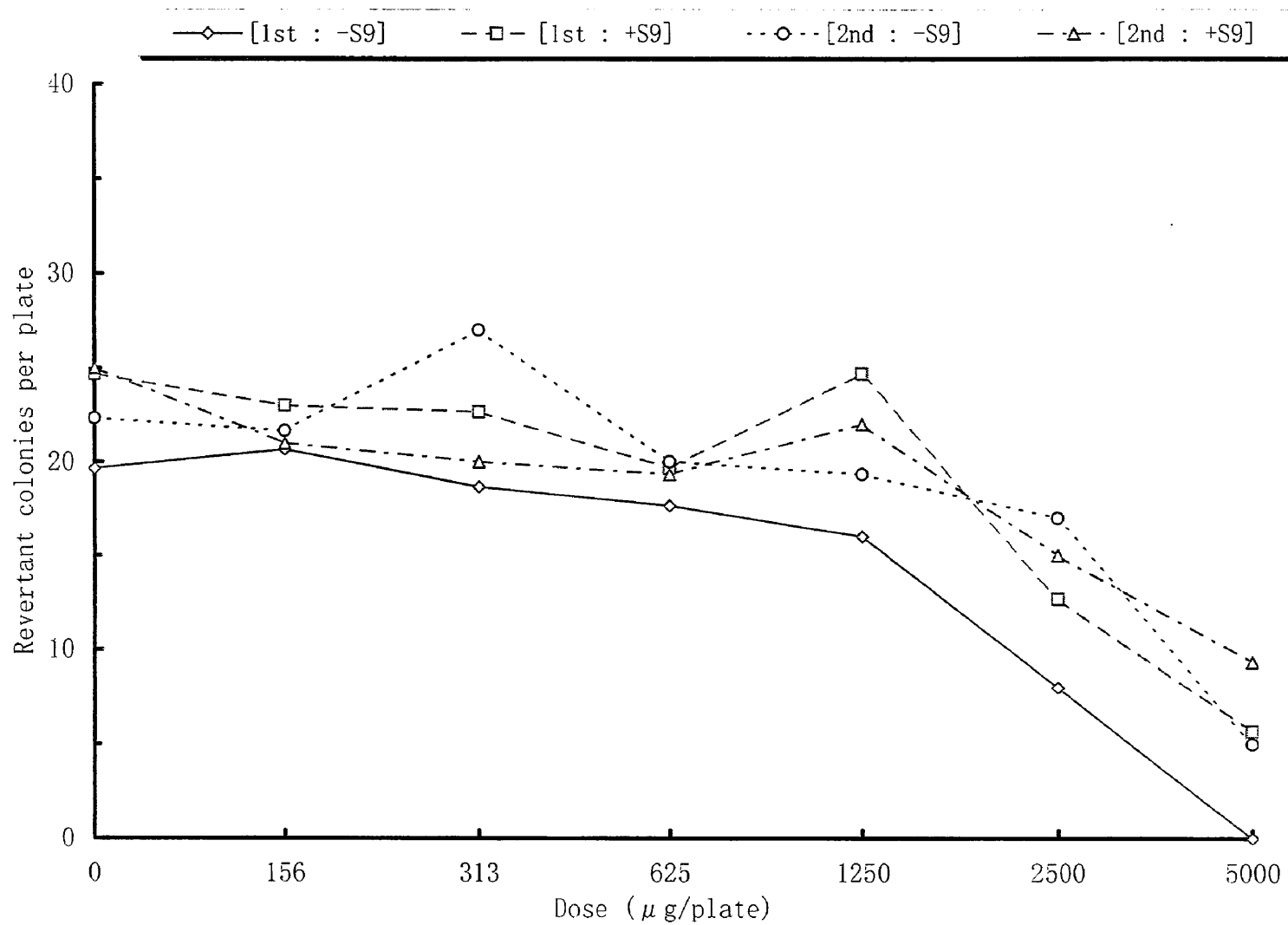


Figure 4. Bacterial reversion test of Propane, 1-bromo-3-chloro- in strain TA98

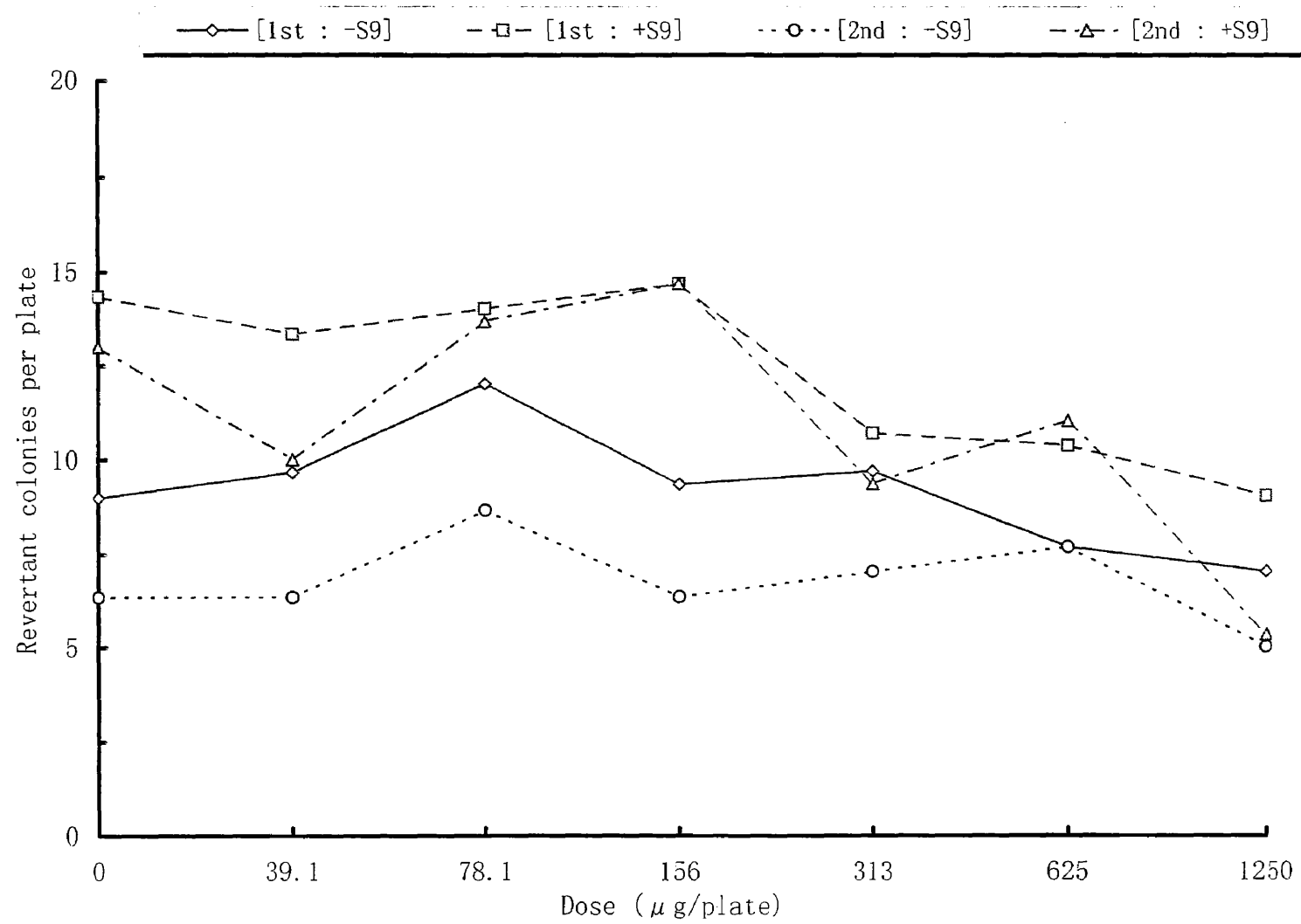


Figure 5. Bacterial reversion test of Propane, 1-bromo-3-chloro- in strain TA1537

Table 1. Results of the bacterial reversion test of Propane, 1-bromo-3-chloro- (1st trial)  
[direct method : -S9]

Compound	Dose ( $\mu$ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]											
		TA100			TA1535			TA98			TA1537		
Test substance	0	96	112	101	10	13	12	19	20	20	7	10	10
		[103 $\pm$		8]	[12 $\pm$		2]	[20 $\pm$		1]	[9 $\pm$		2]
	39.1	93	91	101	14	14	15				8	10	11
		[95 $\pm$		5]	[14 $\pm$		1]				[10 $\pm$		2]
	78.1	99	100	96	15	15	14				12	14	10
		[98 $\pm$		2]	[15 $\pm$		1]				[12 $\pm$		2]
	156	96	99	91	17	17	15	23	21	18	11	9	8
		[95 $\pm$		4]	[16 $\pm$		1]	[21 $\pm$		3]	[9 $\pm$		2]
313	108	102	102	12	12	15	18	19	19	12	8	9	
	[104 $\pm$		3]	[13 $\pm$		2]	[19 $\pm$		1]	[10 $\pm$		2]	
625	104 *	86 *	83 *	16 *	15 *	17 *	16	16	21	6	8	9	
	[91 $\pm$		11]	[16 $\pm$		1]	[18 $\pm$		3]	[8 $\pm$		2]	
1250	73 *	71 *	66 *	8 *	12 *	12 *	15	17	16	7 *	9 *	5 *	
	[70 $\pm$		4]	[11 $\pm$		2]	[16 $\pm$		1]	[7 $\pm$		2]	
2500							10 *	6 *	8 *				
							[8 $\pm$		2]				
5000							0 *	0 *	0 *				
							[0 $\pm$		0]				
Positive control		397	442	469 <sup>a)</sup>	400	412	383 <sup>b)</sup>	528	460	493 <sup>c)</sup>	416	349	366 <sup>d)</sup>
		[436 $\pm$		36]	[398 $\pm$		15]	[494 $\pm$		34]	[377 $\pm$		35]

a): AF-2; 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 0.01  $\mu$ g/plate    b): NaN<sub>3</sub>; Sodium azide, 0.5  $\mu$ g/plate

c): AF-2, 0.1  $\mu$ g/plate    d): 9-AA; 9-Aminoacridine hydrochloride, 80  $\mu$ g/plate

\* : Growth inhibition was observed

Table 2. Results of the bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- (1st trial)  
[direct method : -S9]

Compound	Dose ( $\mu$ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]		
		WP2uvrA		
Test substance	0	19	23	21
		[ 21 $\pm$	2]	
	288	28	27	30
		[ 28 $\pm$	2]	
	412	35	41	39
		[ 38 $\pm$	3]	
	588	52	46	46
		[ 48 $\pm$	3]	
	840	53	52	54
		[ 53 $\pm$	1]	
	1201	72	57	60
		[ 63 $\pm$	8]	
	1715	41 *	32 *	31 *
		[ 35 $\pm$	6]	
	2450	28 *	26 *	24 *
		[ 26 $\pm$	2]	
	3500	30 *	32 *	30 *
		[ 31 $\pm$	1]	
	5000	37 *	33 *	33 *
		[ 34 $\pm$	2]	
Positive control		118	129	139 <sup>a)</sup>
		[129 $\pm$	11]	

a): AF-2; 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 0.01  $\mu$ g/plate

\* : Growth inhibition was observed



Table 3. Results of the bacterial reversion test of Propane, 1-bromo-3-chloro- (1st trial)  
[activation method : +S9]

Compound	Dose ( $\mu$ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]											
		TA100			TA1535			TA98			TA1537		
Test substance	0	122	133	131	14	12	13	22	27	25	16	13	14
		[129 $\pm$ 6]			[ 13 $\pm$ 1]			[ 25 $\pm$ 3]			[ 14 $\pm$ 2]		
	39.1										15	11	14
											[ 13 $\pm$ 2]		
	78.1	147	145	157	22	24	23				12	17	13
		[150 $\pm$ 6]			[ 23 $\pm$ 1]						[ 14 $\pm$ 3]		
	156	173	180	176	62	49	65	24	18	27	12	17	15
		[176 $\pm$ 4]			[ 59 $\pm$ 9]			[ 23 $\pm$ 5]			[ 15 $\pm$ 3]		
	313	195	218	220	89	89	106	23	22	23	12	8	12
	[211 $\pm$ 14]			[ 95 $\pm$ 10]			[ 23 $\pm$ 1]			[ 11 $\pm$ 2]			
625	263	278	268	128	141	124	19	22	18	9	10	12	
	[270 $\pm$ 8]			[131 $\pm$ 9]			[ 20 $\pm$ 2]			[ 10 $\pm$ 2]			
1250	336 *	353 *	337 *	177 *	178 *	192 *	24	26	24	9 *	7 *	11 *	
	[342 $\pm$ 10]			[182 $\pm$ 8]			[ 25 $\pm$ 1]			[ 9 $\pm$ 2]			
2500	255 *	263 *	266 *	286 *	251 *	275 *	13 *	13 *	12 *				
	[261 $\pm$ 6]			[271 $\pm$ 18]			[ 13 $\pm$ 1]						
5000	158 *	164 *	160 *	257 *	194 *	227 *	6 *	5 *	6 *				
	[161 $\pm$ 3]			[226 $\pm$ 32]			[ 6 $\pm$ 1]						
Positive control	829	791	820 <sup>a)</sup>	399	369	391 <sup>b)</sup>	372	304	349 <sup>d)</sup>	152	155	163 <sup>b)</sup>	
	[813 $\pm$ 20]			[386 $\pm$ 16]			[342 $\pm$ 35]			[157 $\pm$ 6]			

a) : 2-AA; 2-Aminoanthracene, 1  $\mu$ g/plate    b) : 2-AA, 2  $\mu$ g/plate    d) : 2-AA, 0.5  $\mu$ g/plate

\* : Growth inhibition was observed

Table 4. Results of the bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- (1st trial)  
[activation method : +S9]

Compound	Dose ( $\mu$ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]		
		WP2uvrA		
Test substance	0	23	24	21 [ 23 $\pm$ 2]
	288	26	25	24 [ 25 $\pm$ 1]
	412	39	32	37 [ 36 $\pm$ 4]
	588	43	48	47 [ 46 $\pm$ 3]
	840	45	52	54 [ 50 $\pm$ 5]
	1201	65	76	77 [ 73 $\pm$ 7]
	1715	78	83	84 [ 82 $\pm$ 3]
	2450	79	77	80 [ 79 $\pm$ 2]
	3500	75 *	74 *	66 * [ 72 $\pm$ 5]
5000	32 *	34 *	24 * [ 30 $\pm$ 5]	
Positive control		710	615	698 <sup>c)</sup> [674 $\pm$ 52]

c) : 2-AA, 10  $\mu$ g/plate

\* : Growth inhibition was observed

Table 5. Results of the bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- (2nd trial)  
[direct method : -S9]

Compound	Dose ( $\mu$ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]											
		TA100			TA1535			TA98			TA1537		
Test substance	0	126	129	113	13	15	12	19	22	26	5	6	8
		[123 $\pm$	9]	[13 $\pm$	2]	[22 $\pm$	4]	[6 $\pm$	2]				
	39.1	90	95	105	17	16	14				8	7	4
		[97 $\pm$	8]	[16 $\pm$	2]				[6 $\pm$	2]			
	78.1	96	106	95	15	16	18				9	8	9
		[99 $\pm$	6]	[16 $\pm$	2]				[9 $\pm$	1]			
	156	108	96	98	17	15	13	25	19	21	5	7	7
		[101 $\pm$	6]	[15 $\pm$	2]	[22 $\pm$	3]	[6 $\pm$	1]				
	313	101	94	100	15	17	22	24	28	29	9	6	6
	[98 $\pm$	4]	[18 $\pm$	4]	[27 $\pm$	3]	[7 $\pm$	2]					
625	104	109	89	12	11	14	21	19	20	7	7	9	
	[101 $\pm$	10]	[12 $\pm$	2]	[20 $\pm$	1]	[8 $\pm$	1]					
1250	58 *	55 *	76 *	12 *	16 *	14 *	19	20	19	4 *	6 *	5 *	
	[63 $\pm$	11]	[14 $\pm$	2]	[19 $\pm$	1]	[5 $\pm$	1]					
2500							16 *	14 *	21 *				
							[17 $\pm$	4]					
5000							4 *	5 *	6 *				
							[5 $\pm$	1]					
Positive control		544	518	545 <sup>a)</sup>	468	429	429 <sup>b)</sup>	536	570	571 <sup>c)</sup>	417	377	416 <sup>d)</sup>
		[536 $\pm$	15]	[442 $\pm$	23]	[559 $\pm$	20]	[403 $\pm$	23]				

a): AF-2; 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 0.01  $\mu$ g/plate    b): NaN<sub>3</sub>; Sodium azide, 0.5  $\mu$ g/platec): AF-2, 0.1  $\mu$ g/plate    d): 9-AA; 9-Aminoacridine hydrochloride, 80  $\mu$ g/plate

\* : Growth inhibition was observed

Table 6. Results of the bacterial reversion test of Propane, 1-bromo-3-chloro- (2nd trial)  
[direct method : -S9]

Compound	Dose ( $\mu$ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S. D.]		
		WP2uvrA		
Test substance	0	17	16	23
		[ 19 $\pm$		4]
	288	24	36	29
		[ 30 $\pm$		6]
	412	43	31	39
		[ 38 $\pm$		6]
	588	40	39	43
		[ 41 $\pm$		2]
	840	43	48	58
		[ 50 $\pm$		8]
1201	61	62	70	
	[ 64 $\pm$		5]	
1715	68 *	65 *	77 *	
	[ 70 $\pm$		6]	
2450	28 *	31 *	35 *	
	[ 31 $\pm$		4]	
3500	33 *	26 *	24 *	
	[ 28 $\pm$		5]	
5000	33 *	29 *	26 *	
	[ 29 $\pm$		4]	
Positive control		115	140	140 <sup>a)</sup>
		[132 $\pm$		14]

a): AF-2; 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide, 0.01  $\mu$  g/plate

\* : Growth inhibition was observed

Table 7. Results of the bacterial reversion test of Propane,1-bromo-3-chloro- (2nd trial)  
[activation method : +S9]

Compound	Dose ( $\mu$ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]											
		TA100			TA1535			TA98			TA1537		
Test substance	0	111	113	125	16	16	18	22	23	30	14	16	9
		[116 $\pm$		8]	[ 17 $\pm$		1]	[ 25 $\pm$		4]	[ 13 $\pm$		4]
	39.1										10	9	11
											[ 10 $\pm$		1]
	78.1	120	130	131	25	24	25				11	17	13
		[127 $\pm$		6]	[ 25 $\pm$		1]				[ 14 $\pm$		3]
	156	147	149	153	109	93	75	23	22	18	15	15	14
		[150 $\pm$		3]	[ 92 $\pm$		17]	[ 21 $\pm$		3]	[ 15 $\pm$		1]
	313	211	185	228	130	162	135	19	17	24	13	7	8
	[208 $\pm$		22]	[142 $\pm$		17]	[ 20 $\pm$		4]	[ 9 $\pm$		3]	
625	247	235	257	240	205	224	19	22	17	12	10	11	
	[246 $\pm$		11]	[223 $\pm$		18]	[ 19 $\pm$		3]	[ 11 $\pm$		1]	
1250	316 *	393 *	348 *	251 *	235 *	270 *	19	25	22	7 *	5 *	4 *	
	[352 $\pm$		39]	[252 $\pm$		18]	[ 22 $\pm$		3]	[ 5 $\pm$		2]	
2500	222 *	162 *	190 *	275 *	304 *	270 *	18 *	13 *	14 *				
	[191 $\pm$		30]	[283 $\pm$		18]	[ 15 $\pm$		3]				
5000	140 *	117 *	139 *	89 *	117 *	118 *	10 *	12 *	6 *				
	[132 $\pm$		13]	[108 $\pm$		16]	[ 9 $\pm$		3]				
Positive control	807	799	785 <sup>a)</sup>	339	387	376 <sup>b)</sup>	330	278	315 <sup>d)</sup>	137	117	127 <sup>b)</sup>	
	[797 $\pm$		11]	[367 $\pm$		25]	[308 $\pm$		27]	[127 $\pm$		10]	

a) : 2-AA; 2-Aminoanthracene, 1  $\mu$ g/plate    b) : 2-AA, 2  $\mu$ g/plate    d) : 2-AA, 0.5  $\mu$ g/plate

\* : Growth inhibition was observed

Table 8. Results of the bacterial reversion test of Propane, 1-bromo-3-chloro- (2nd trial)  
[activation method : +S9]

Compound	Dose ( $\mu$ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]		
		WP2uvrA		
Test substance	0	28	20	26
		[ 25 $\pm$ 4 ]		
	288	33	26	34
		[ 31 $\pm$ 4 ]		
	412	41	34	43
		[ 39 $\pm$ 5 ]		
	588	50	54	55
		[ 53 $\pm$ 3 ]		
	840	66	55	67
		[ 63 $\pm$ 7 ]		
1201	98	74	94	
	[ 89 $\pm$ 13 ]			
1715	132	104	129	
	[122 $\pm$ 15]			
2450	52 *	68 *	66 *	
	[ 62 $\pm$ 9 ]			
3500	45 *	47 *	48 *	
	[ 47 $\pm$ 2 ]			
5000	31 *	31 *	25 *	
	[ 29 $\pm$ 3 ]			
Positive control		680	629	678 <sup>c)</sup>
		[662 $\pm$ 29]		

c) : 2-AA, 10  $\mu$ g/plate

\* : Growth inhibition was observed