

最終報告書

表 題：ビス(3,5-ジブロモ-4-ジブロモプロピルオキシフェニル)スルホンの
ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

試験番号：SR09209

株式会社 化合物安全性研究所

陳 述 書

表題：ビス(3,5-ジブロモ-4-ジブロモプロピルオキシフェニル)スルホンのほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

試験番号：SR09209

1. 本試験は GLP 基準「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(平成 23 年 3 月 31 日薬食発 0331 第 8 号・平成 23・03・29 製局第 6 号・環保企発第 110331010 号 厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名通知)に従い、試験方法は「新規化学物質等に係る試験の方法について」(平成 23 年 3 月 31 日薬食発 0331 第 7 号・平成 23・03・29 製局第 5 号・環保企発第 110331009 号厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名通知)および OECD 試験法ガイドライン(OECD Guideline for The Testing of Chemicals; *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test (473), 21st July 1997)に基づいて実施したものであります。
2. 本試験は、試験計画書に従って実施し、試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因は認められませんでした。

株式会社 化合物安全性研究所

試験責任者

  2013年2月15日

信頼性保証書

表題：ビス(3,5-ジプロモ-4-ジプロモプロピルオキシフェニル)スルホンのほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

試験番号：SR09209

本試験は、株式会社 化合物安全性研究所 QAUによって、下記のとおり査察された。

査 察 段 階	査 察 日	試 験 責 任 者 への 報 告 日	運 営 管 理 者 への 報 告 日
試験計画書	2011年6月24日	2011年6月24日	2011年6月24日
試験計画書変更書(No.1)	2011年8月1日	2011年8月1日	2011年8月1日
試験計画書変更書(No.2)	2011年8月9日	2011年8月9日	2011年8月9日
試験計画書変更書(No.3)	2011年10月3日	2011年10月3日	2011年10月3日
被験物質の受入・表示・保存	2011年6月24日	2011年6月24日	2011年6月24日
被験物質の調製	2011年8月15日	2011年8月15日	2011年8月15日
試験の実施	2011年8月15日	2011年8月15日	2011年8月15日
標本作製	2011年8月16日 2011年8月18日	2011年8月18日	2011年8月18日
観察	2011年9月20日	2011年9月20日	2011年9月20日
生データ	2011年11月2日	2011年11月2日	2011年11月2日
最終報告書(草案)：図表	2011年11月2日	2011年11月2日	2011年11月2日
最終報告書(草案)：図表*	2011年11月4日	2011年11月4日	2011年11月4日
最終報告書(草案)：本文	2011年11月2日	2011年11月2日	2011年11月2日
最終報告書(草案)：本文*	2011年11月4日	2011年11月4日	2011年11月4日
最終報告書	2013年2月15日	2013年2月15日	2013年2月15日

*：改善内容の確認

1. 本試験は、「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(平成23年3月31日 薬食発0331第8号・平成23・03・29製局第6号・環企発第110331010号 厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名通知)、「新規化学物質等に係る試験の方法について」(平成23年3月31日 薬食発0331第7号・平成23・03・29製局第5号・環企発第110331009号 厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名通知)およびOECD試験法ガイドライン(OECD Guideline for The Testing of Chemicals; *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test (473), 21st July 1997)に従い実施された。
2. 本試験は、試験計画書に従って実施され、また、本報告書には当該試験に使用した方法および手順が正確に記載されており、試験成績には当該試験の実施過程において得られた生データが正確に反映していることを確認した。

株式会社 化合物安全性研究所

QAU責任者

2013年 2月 15日

目次

	頁
表紙	1
陳述書	2
信頼性保証書	3
目次	4
表題、試験番号、試験目的、試験実施基準および試験法ガイドライン、 試験委託者、試験施設	6
試験責任者、試験従事者およびその業務分担、試験期間	7
要約	8
緒言	9
材料および方法	9
成績	19
考察	20
参考資料	21
試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因	22
資料の保存	22
試験責任者の記名なつ印	22
 Tables and Figure	
Table 1 Effects of bis[3,5-dibromo-4-(2,3-dibromopropoxy)phenyl]sulfone on growth rate of CHL/IU with or without metabolic activation (preliminary test) (SR09209)	23
Figure 1 Effects of bis[3,5-dibromo-4-(2,3-dibromopropoxy)phenyl]sulfone on growth rate of CHL/IU with or without metabolic activation (preliminary test) (SR09209)	24
Table 2 Effects of bis[3,5-dibromo-4-(2,3-dibromopropoxy)phenyl]sulfone on growth rate of CHL/IU with or without metabolic activation (chromosomal aberration test) (SR09209)	25
Table 3-1 Results of the chromosomal aberration test of bis[3,5-dibromo- 4-(2,3-dibromopropoxy)phenyl]sulfone (6 hours treatment without metabolic activation) (SR09209)	26

Table 3-2	Results of the chromosomal aberration test of bis[3,5-dibromo-4-(2,3-dibromopropoxy)phenyl]sulfone (6 hours treatment with metabolic activation) (SR09209)	27
Table 3-3	Results of the chromosomal aberration test of bis[3,5-dibromo-4-(2,3-dibromopropoxy)phenyl]sulfone (24 hours treatment without metabolic activation) (SR09209)	28
Appendices		
Appendix 1	ノンネン高純度品 Lot No. 10129 HPLC チャート	29
Appendix 2	ノンネン高純度品リターン分析結果	31

表題

ビス(3,5-ジブロモ-4-ジブロモプロピルオキシフェニル)スルホンのほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

試験番号

SR09209

試験目的

チャイニーズハムスター肺由来細胞(CHL/IU)を用いて、ビス(3,5-ジブロモ-4-ジブロモプロピルオキシフェニル)スルホンの *in vitro* における染色体異常誘発性の有無を検討することを目的とした。

試験実施基準および試験法ガイドライン

試験実施基準(GLP) : 「新規化学物質等に係る試験を実施する試験施設に関する基準について」(平成23年3月31日薬食発0331第8号・平成23・03・29製局第6号・環保企発第110331010号 厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名通知)

試験法ガイドライン : 「新規化学物質等に係る試験の方法について」(平成23年3月31日薬食発0331第7号・平成23・03・29製局第5号・環保企発第110331009号 厚生労働省医薬食品局長・経済産業省製造産業局長・環境省総合環境政策局長連名通知)

OECD 試験法ガイドライン(OECD Guideline for The Testing of Chemicals; *In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test (473), 21st July 1997)

試験委託者

名称 : 厚生労働省 医薬食品局 審査管理課 化学物質安全対策室

所在地 : 東京都千代田区霞が関1-2-2(〒100-8916)

試験施設

名称 : 株式会社 化合物安全性研究所

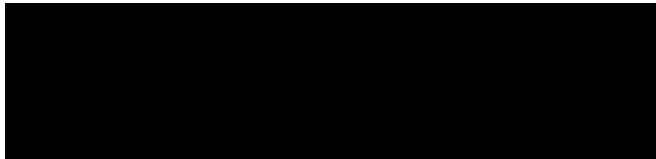
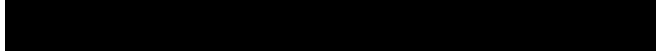
所在地 : 札幌市清田区真栄363番24(〒004-0839)

運営管理者

試験責任者

氏名 : 
所属 : 株式会社 化合物安全性研究所 安全性研究部

試験従事者およびその業務分担

被験物質管理 : 
試験操作 : 

試験期間

試験開始日 : 2011年6月24日
被験物質受入 : 2011年2月3日
実験開始日 : 2011年8月1日
予備試験
被験物質処理開始 : 2011年8月1日
固定・染色 : 2011年8月2日
本試験
被験物質処理開始 : 2011年8月15日
標本作製 : 2011年8月16日
標本観察終了日 : 2011年10月14日
実験終了日 : 2011年10月14日
試験終了日 : 2013年2月15日

要 約

ビス(3,5-ジブromo-4-ジブromoプロピルオキシフェニル)スルホンの *in vitro* における染色体異常誘発性の有無を、チャイニーズハムスター肺由来細胞(CHL/IU)を用いて検討した。試験は、短時間処理法 -S9 処理、短時間処理法 +S9 処理および連続処理法 24 時間処理の 3 試験系列で実施した。

予備試験(細胞増殖抑制試験 : 19.5~5000 µg/mL)の結果、短時間処理法 -S9 処理の最高用量で極軽度の細胞増殖抑制が認められたのみで、短時間処理法 +S9 処理および連続処理法 24 時間処理の試験系列では細胞増殖への影響はみられなかった。被験物質の析出が、各試験系列とも試験液処理開始時の 156 µg/mL 以上の用量および試験液処理終了時の 78.1 µg/mL 以上の用量で観察された。被験物質処理による培養液 pH への影響は、いずれの試験系列にも観察されなかった。

本試験(染色体異常試験)は、各試験系列の最高用量を 5000 µg/mL とし、以下公比 2 で低下させ、被験物質の析出がみられない用量を 2 用量含む計 9 用量を設定した。

本試験の結果、染色体の構造異常および数的異常の出現率は、短時間処理法 -S9 処理、短時間処理法 +S9 処理および連続処理法 24 時間処理(評価用量 : 19.5~5000 µg/mL)のいずれの用量においても 5%未満であった。被験物質の析出が、各試験系列とも試験液処理開始時の 156 µg/mL 以上の用量および試験液処理終了時の 78.1 µg/mL 以上の用量で観察され、また、被験物質処理による培養液 pH への影響は各試験系列にも観察されず予備試験と同様の結果であった。

陽性対照群における染色体の構造異常の出現率は各試験系列において明確な陽性値を示し、本試験系が適切な感受性を有していたことが確認された。

以上のことから、ビス(3,5-ジブromo-4-ジブromoプロピルオキシフェニル)スルホンは、本試験条件において、ほ乳類の培養細胞に対し染色体異常誘発性を有しないと判断した。

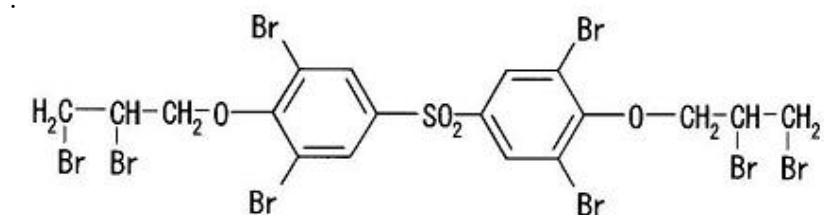
緒 言

ビス(3,5-ジブロモ-4-ジブロモプロピルオキシフェニル)スルホンの *in vitro* における染色体異常誘発性の有無を検討する目的で、チャイニーズハムスター肺由来細胞(CHL/IU)を用いる染色体異常試験を実施した。

材料および方法

1. 被験物質

名称	: ビス(3,5-ジブロモ-4-ジブロモプロピルオキシフェニル)スルホン
英名	: Bis[3,5-dibromo-4-(2,3-dibromopropoxy)phenyl]sulfone ¹⁾
製品名	: ノンネン 52-H
別名	: ビス[3,5-ジブロモ-4-(2,3-ジブロモプロポキシ)フェニル]スルホン ²⁾ 4,4-スルホニルビス[2,6-ジブロモ-1-(2,3-ジブロモプロポキシ)ベンゼン] ²⁾ 4,4-スルホニルビス[2,6-ジブロモ-1-(2,3-ジブロモプロピルオキシ)ベンゼン] ²⁾ 1,1-スルホニルビス[3,5-ジブロモ-4-(2,3-ジブロモプロポキシ)ベンゼン] ³⁾ テトラブロモビスフェノール S ビス(2,3-ジブロモプロピルエーテル) ³⁾ 4,4-Sulfonylbis[2,6-dibromo-1-(2,3-dibromopropoxy)benzene] ²⁾ 4,4-Sulfonylbis[2,6-dibromo-1-(2,3-dibromopropoxy)benzene] ²⁾
CAS No.	: 42757-55-1
化審法官報公示整理番号	: (3)-3205
分子式	: C ₁₈ H ₁₄ Br ₈ O ₄ S

構造式³⁾

分子量

: 965.598²⁾、965.59836⁴⁾

物理化学的性質

: 外観 ; 淡黄色粗粉末³⁾融点 ; 52~55°C¹⁾、80°C以上³⁾

沸点 ; データなし

蒸気圧 ; データなし

引火点 ; なし³⁾溶解度 ; 水に不溶、芳香族系溶剤に可溶³⁾。

試験施設において、ジメチルスルホキシド、アセトンおよび 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液を用いて調製確認を行った。確認内容を、2. 被験物質の調製に記載した。

ロット番号

: 10129

純度

: 98.7% (HPLC) (Appendix 1)

製造者

: 名称 ; マナック株式会社

所在地 ; 広島県福山市箕沖町 92 番地 (〒721-0956)

入手量

: 1.3 kg (関連試験と共に一括受入)

安定性

: 通常取り扱い条件においては安定³⁾。

関連試験を含め全試験操作の終了後、使用した被験物質の純度に関する分析成績を入手し、被験物質の試験期間中の安定性を確認した (Appendix 2)。

保存場所

: 被験物質保存室の冷蔵室および変異原性試験室の冷蔵庫

保存条件

: 直射日光を避け、適当な換気のある冷暗所に保存した (実測範囲 2~8°C)。

保存期間

: 2011 年 2 月 3 日 (受入) ~ 2011 年 8 月 15 日 (最終使用日)

取扱上の注意

: 吸い込んだり、眼、皮膚および衣服に触れないように、適切な保護具を着用し取扱った。

残余被験物質の処置

: 関連試験も含めすべての試験操作終了後、分析者 (製造者) に送付した。

2. 被験物質の調製

試験施設における調製確認において、被験物質はジメチルスルホキシドおよびアセトンでは 500 mg/mL 濃度で溶解せず、また均一な懸濁状態も得られなかった。一方、0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液では 50 mg/mL の濃度で均一な懸濁状態が得られたことから 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液を当該試験の媒体として選択した。

被験物質を精秤し、0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液を用いて懸濁ならびに希釈し、所定の濃度に用時調製した。

予備試験および本試験ともに 50 mg/mL 調製液を調製し、50 mg/mL 調製液から公比 2 の段階希釈により 25、12.5、6.25、3.13、1.56、0.781、0.391 および 0.195 mg/mL 調製液を調製した。

調製液の安定性では、予備試験および本試験ともに、被験物質調製時の目視確認において媒体との反応性(変色、発熱、発泡等)はみられなかった。

被験物質調製液は、プレート内の液に対し 10 vol%の割合で添加し、予備試験では調製後 0.8 時間以内に、本試験では調製後 1.4 時間以内に使用した。

調製はクリーンベンチ内で行い、調製に際しては、保護眼鏡、マスク、手袋および白衣等を着用し、吸引または眼、皮膚および衣類に触れないようにして取扱った。残余調製液は、焼却処分するために、産業廃棄物として回収した。

3. 陰性対照物質

陰性対照物質として、被験物質の調製媒体である 0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液を使用した。

0.5%カルボキシメチルセルロースナトリウム溶液は、日本薬局方カルメロースナトリウム(ロット番号 8806、丸石製薬株式会社)を日本薬局方注射用水(ロット番号 0H87、株式会社大塚製薬工場)に溶解し調製した。調製は無菌的に行い、調製後は冷所で保存し調製後 4 日以内に使用した。

陰性対照物質は、プレート内の液に対し 10 vol%の割合で添加した。

4. 陽性対照物質

短時間処理法 -S9 処理および連続処理法 24 時間処理の陽性対照物質として、マイトマイシン C (ロット番号 552AJE、使用期限 2014 年 5 月、協和醗酵キリン株式会社)を使用した。マイトマイシン C は、購入後室温で保存し、日本薬局方注射用水(ロット番号 0H87、株式会社大塚製薬工場)を用いて 5 および 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度に調製した。購入したマイトマイシン C は、1 瓶中に日局マイトマイシン C を 2 mg (力価)含有しており、調製の際には 1 mg (力価)を 1 mg として換算した。

短時間処理法 +S9 処理の陽性対照物質として、3,4-ベンゾピレン[ロット番号 XZ58A、使用期限 2016 年 4 月(購入より 5 年)、東京化成工業株式会社]を使用した。3,4-ベンゾピレンは、購入後冷所(2~8°C 設定)で保存し、ジメチルスルホキシド(ロット番号 WF032、株式会社同仁化学研究所)を用いて 1 mg/mL の濃度に調製した。なお、購入した 3,4-ベンゾピレンの含量は 98.9%であった。調製にあたり含量の補正は行わなかった。

陽性対照物質の各調製液は-20°C以下で分注凍結保存し、調製後 1 ヶ月以内に試験に使用した(使用期限は調製後 1 年)。保存調製液は解凍後 0.9 時間以内に使用した。

陽性対照物質は、それぞれプレート内の液に対し 1 vol%の割合で添加した。

5. 試験系

試験系として、2005 年 5 月 17 日に大日本製薬株式会社より継代数 14 で入手した CHL/IU を使用した。CHL/IU は、雌性の新生チャイニーズハムスターの肺に由来し、染色体数(モード)は 25 本(2n=22)、倍加時間の測定値は 15.0 時間である。本細胞は、増殖速度、継代における染色体の安定性、染色体標本の観察の容易さおよび既知の変異原物質に対する感受性を考慮して選択した。また、供試細胞と同時に凍結保存した細胞を用いて蛍光染色法によりマイコプラズマチェックを行い、陰性であることを確認した。

細胞の保存に際しては、10 vol%ジメチルスルホキシドを含む培地を用いて 1×10^6 cells/mL 細胞浮遊液を調製し、1 mL ずつアンプルに分注したものを漸次冷却して凍結させた後、液体窒素内に保存した。解凍後は、75 cm² 培養フラスコを用いて 5.0%CO₂、37.0°Cに設定した CO₂ インキュベーター(MCO-175、三洋電機株式会社)内で培養し、3 または 4 日毎に継代を行った。試験では、継代数 18(予備試験)あるいは 22(本試験)の細胞を使用した。

6. 培地

イーグル MEM 培地を以下の割合で混合し調製した。

イーグル MEM 培地(Code 05900、ロット番号 656011 および 660102、カナマイシンおよびフェノールレッド含有、日水製薬株式会社)9.4 g を日本薬局方注射用水(ロット番号 OH87、株式会社大塚製薬工場)に溶解し、全量を 1 L とした。オートクレーブ滅菌後、室温まで冷却し、滅菌済みの炭酸水素ナトリウム(試薬特級、ロット番号 201U1579、関東化学株式会社)溶液で pH7.2~7.4 に調整し、ろ過除菌した L-グルタミン溶液(試薬特級、L-グルタミン:ロット番号 STH6490、和光純薬工業株式会社)を 0.292 g/L となるように添加した。さらに牛胎児血清(ロット番号 749058、GIBCO)を最終調製量の 10%になるように加えた。なお、牛胎児血清は 56°C で 30 分間非働化した後に使用した。

7. S9 mix

S9 mix はキッコーマン株式会社より購入し(ロット番号 CAM-629、2011 年 4 月 8 日製造)、 -80°C 以下で凍結保存したものを製造日より 5 ヶ月以内(使用期限：製造後 6 ヶ月)に使用した。

S9 mix は、フェノバルビタールおよび 5,6-ベンゾフラボンの腹腔内投与で酵素誘導を行った Slc:SD ラット(雄、7 週齢)の肝ホモジネートから調製された S9 (ロット番号 RAA-629、S9 中蛋白含量 25.93 mg/mL) 1.05 mL に、コファクターミックス 2.45 mL を加え調製されたものである。S9 mix 1 mL 中のコファクターの成分濃度を次表に示す。

S9 mix 1 mL 中のコファクターの成分濃度		
MgCl ₂	(和光純薬工業株式会社 SDN0075)	5 μmol
KCl	(和光純薬工業株式会社 CDL2642)	33 μmol
G-6-P	(オリエンタル酵母工業株式会社 118006)	5 μmol
NADP	(オリエンタル酵母工業株式会社 045010)	4 μmol
HEPES 緩衝液	(株式会社同仁化学研究所 PE026)	4 μmol

8. 試験方法

(1) 予備試験(細胞増殖抑制試験)

1) 試験群

短時間処理法 -S9 処理、短時間処理法 +S9 処理および連続処理法 24 時間処理の 3 試験系列について実施した。

被験物質の最高用量を試験法ガイドラインに従い 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ とし、以下公比 2 で低下させた計 9 用量(5000、2500、1250、625、313、156、78.1、39.1 および 19.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) の試験群を設定した。更に、試験系列毎に陰性対照群を設定した。

各群につき 2 枚のプレートを使用し、各プレートには識別番号を明記した。

2) 細胞の播種

直径 60 mm の培養プレートに、短時間処理法 -S9 処理および連続処理法 24 時間処理では 0.4×10^4 cells/mL、短時間処理法 +S9 処理では 0.6×10^4 cells/mL の細胞浮遊液をそれぞれ 5 mL ずつ播種し、5.0%CO₂、37.0°C に設定した CO₂ インキュベーター内で培養した。

3) 試験液の処理

a 短時間処理法 -S9 処理

細胞播種後 3 日目に、プレートの培養液を除去し、培養液 2.7 mL に対して試験液を 300 μL の割合で試験チューブ内で混合し、その混合液 3 mL をプレートに添加し

6時間培養した。6時間経過後に、プレート内の液を除去してCa²⁺およびMg²⁺フリーのDulbeccoのリン酸緩衝液[略称：PBS(-)]で細胞を洗い、新鮮な培地5 mLを加えて更に18時間培養した。

b 短時間処理法 +S9 処理

細胞播種後3日目に、プレートの培養液を除去し、S9 mix 0.5 mL および培養液2.2 mL の混和液に対し試験液を300 μ L の割合で試験チューブ内で混合し(S9 の最終濃度約5 vol%)、その混合液3 mL をプレートに添加し6時間培養した。6時間経過後に、プレート内の液を除去してPBS(-)で細胞を洗い、新鮮な培地5 mLを加えて更に18時間培養した。

c 連続処理法 24時間処理

細胞播種後3日目に、プレートの培養液を除去し、培養液4.5 mL に対して試験液を500 μ L の割合で試験チューブ内で混合し、その混合液5 mL をプレートに添加した。更に、24時間培養した。

4) 被験物質の析出の有無の確認

試験液による処理の開始時と終了時に、被験物質の析出の有無を目視確認した。

5) 被験物質による培養液 pH への影響の有無の確認

試験液による処理の開始時と終了時に、培養液色の変化の有無を目視確認した。培養液色に変化が認められない場合には、被験物質による培養液 pH への影響は無いものと判断した。

6) 細胞増殖率の測定および50%細胞増殖抑制濃度(IC₅₀)の算出

培養終了後、プレート内の液を除去してPBS(-)で細胞を洗い、10%ホルマリンで約10~15分間固定した後、0.1 w/v%クリスタルバイオレットで約10~15分間の染色を行った。染色後、水道水を入れた水槽内でプレートを洗浄して風乾させた。対照群のプレートを100%として、各プレートの細胞増殖率を単層培養細胞密度測定装置(MONOCELLATER II、東洋測器株式会社)で測定した。当該試験において、細胞増殖率の50%以下までの低下はみられなかったことから50%細胞増殖抑制濃度(IC₅₀)は算出しなかった。

(2) 本試験(染色体異常試験)

1) 試験群

a 被験物質

予備試験の結果、短時間処理法 -S9 処理の5000 μ g/mL の用量において極軽度の細胞増殖抑制が認められたのみで、短時間処理法 +S9 処理および連続処理法 24時間処理の試験系列では細胞増殖への影響はみられなかった。被験物質の析出が、試

験液処理開始時の 156 $\mu\text{g/mL}$ 以上の用量および試験液処理終了時の 78.1 $\mu\text{g/mL}$ 以上の用量で観察された。

本試験の最高用量として、ガイドラインに従い各試験系列ともに被験物質の析出が認められた最低用量である 78.1 $\mu\text{g/mL}$ の選択が可能であったが、当該被験物質は、試験施設で実施された復帰突然変異試験[ビス(3,5-ジブロモ-4-ジブロモプロピルオキシフェニル)スルホンの細菌を用いる復帰突然変異試験(SR09208)]において陽性結果が得られており、より高用量についても評価するのが適当と判断した。従って、各試験系列とも最高用量を予備試験と同様 5000 $\mu\text{g/mL}$ とし、以下公比 2 で低下させ、予備試験で被験物質の析出が観察されなかった用量の 2 用量を含む計 9 用量を設定した。

b 対照物質

各試験系列について、陰性対照群ならびに次表の陽性対照群を設定した。

試験系列	陽性対照物質	用量 ($\mu\text{g/mL}$)
短時間処理法 -S9 処理	マイトマイシン C	0.1
短時間処理法 +S9 処理	3,4-ベンゾピレン	10
連続処理法 24 時間処理	マイトマイシン C	0.05

c サテライト群

被験物質の細胞増殖への影響を確認するためのサテライト群を、陽性対照群を除く各用量に設定した。

d プレート数

陽性対照群を除く各群に 4 枚のプレート(2 枚はサテライト群)を、陽性対照群には 2 枚のプレートを使用した。各プレートには識別番号を明記した。

2) 細胞の播種

8. 試験方法、(1) 予備試験(細胞増殖抑制試験)、2) 細胞の播種と同様の方法で実施した。

3) 試験液の処理

a 短時間処理法 -S9 処理

8. 試験方法、(1) 予備試験(細胞増殖抑制試験)、3) 試験液の処理、a 短時間処理法 -S9 処理と同様の方法で実施した。

b 短時間処理法 +S9 処理

8. 試験方法、(1) 予備試験(細胞増殖抑制試験)、3) 試験液の処理、b 短時間処理法 +S9 処理と同様の方法で実施した。

c 連続処理法 24 時間処理

8. 試験方法、(1) 予備試験(細胞増殖抑制試験)、3) 試験液の処理、c 連続処理法 24 時間処理と同様の方法で実施した。

4) 被験物質の析出の有無の確認

8. 試験方法、(1) 予備試験(細胞増殖抑制試験)、4) 被験物質の析出の有無の確認と同様の方法で実施した。

5) 被験物質による培養液 pH への影響の有無の確認

8. 試験方法、(1) 予備試験(細胞増殖抑制試験)、5) 被験物質による培養液 pH への影響の有無の確認と同様の方法で実施した。

6) 細胞増殖率の測定

8. 試験方法、(1) 予備試験(細胞増殖抑制試験)、6) 細胞増殖率の測定および 50% 細胞増殖抑制濃度(IC₅₀)の算出と同様の方法で実施した。

7) 染色体標本の作製

培養終了の 2 時間前に、各プレートに最終濃度 0.2 μg/mL のコルセミド(ロット番号 847035、GIBCO)を加えた。培養終了時間に、プレート内の液をそれぞれ遠沈管に回収し(連続処理法 24 時間処理では、プレート内の液を廃棄し、新鮮培地 5 mL をそれぞれの遠沈管に入れた)、各プレートを 0.02% EDTA-0.25% トリプシン(0.5M EDTA : ロット番号 1390894、GIBCO、2.5% トリプシン : ロット番号 892771、GIBCO)で処理して細胞を剥離させ、得られた細胞浮遊液を上記の遠沈管に回収して 1000 rpm で 5 分間遠心分離した。上清を除去し、0.075 mol/L 塩化カリウム(ロット番号 810X1990、関東化学株式会社)を加え、穏やかにピペティングを繰り返しながら常温で 30 分間放置し細胞を膨満化させた。氷冷したカルノア固定液(メタノール : 酢酸 = 3 : 1、メタノール : ロット番号 110N1127、関東化学株式会社、酢酸 : ロット番号 EPL1744、和光純薬工業株式会社)を加えて細胞を固定した後、1000 rpm で 5 分間遠心分離して上清を除去し、新しいカルノア固定液を加えた。細胞の固定操作を 3 回繰り返した後、細胞浮遊液をスライドガラス上に滴下し、一夜以上自然乾燥させた。各プレートより、2 枚の染色体標本を作製した。

各スライドは、2% ギムザ液(ギムザ液 : ロット番号 EJ961、和光純薬工業株式会社、インスタントリン酸緩衝液(pH7.2) : ロット番号 L043、三菱化学メディエンス株式会社)で 20 分間染色し、水洗および風乾の後、封入剤(マリノール、ロット番号 1000901、武藤化学薬品株式会社)で封入した。

8) 染色体標本の観察

標本観察の前に各用量の各プレートにつき1枚の標本を選択してコード化した。

総合倍率600倍の顕微鏡(BX51TF、オリンパス株式会社)で、1枚あたり100個の分裂中期像を観察し、以下の分類に従って染色体異常の判定を行った。構造異常については 25 ± 2 本の染色体をもつものを観察対象とした。

①構造異常(structural aberration)

- ・染色体分体切断(ctb: chromatid break)

染色体分体のはっきりした不連続部分(切断部分)で、不連続部分が染色体分体の幅以上である場合、あるいは切断片が染色体分体の長軸線上から外れている場合に染色体分体切断として判定した。

- ・染色体分体交換(cte: chromatid exchange)

染色体分体の2ヵ所以上の切断部位が相互に交換(結合反応)しているものを染色体分体交換として判定した。

- ・染色体切断(csb: chromosome break)

両方の染色体分体の同じ位置に切断が生じている場合に、染色体切断として判定した。切断の判定基準は、染色体分体切断に準じた。

- ・染色体交換(cse: chromosome exchange)

両方の染色体分体の同じ位置で同じ方向に交換が生じている場合に、染色体交換として判定した。

- ・その他(others)

その他の構造異常として、断片化(fragmentation)がある。一つの分裂中期像のほとんど全ての染色体に切断やギャップが現れ、交換型の異常が含まれていない場合に断片化として判定した。

②ギャップ(gap)

染色体分体あるいは染色体上に生じた非染色部分(染色性が全くみられない部分)で、非染色部分の幅が染色体分体の幅より狭い場合にギャップとして判定した。

③数的異常(numerical aberration)

- ・倍数体(poly: polyploid)

染色体数(25 ± 2)が倍加し、三倍体、四倍体等になったものを倍数体として判定した。

- ・その他(others)

その他の数的異常として核内倍加がある。倍加した染色体が分離せずに平行に並んでいる場合に核内倍加(end: endoreduplication)と判定し、倍数体とは区別し計数した。

9) 観察結果の集計方法

プレート毎に以下の細胞出現数を求め、試験群毎にその合計値を算出した。更に、構造異常(1個の細胞に複数の構造異常がある場合にも、構造異常を有する細胞数は1として計数)および数的異常を有する細胞の total について、それぞれ出現率(%)を求めた。出現率(%)は、観察した細胞数(分裂中期像の数)に対する出現数の百分率で算出した。

①構造異常について

- ・ctb: 染色分体切断をもつ細胞数
- ・cte: 染色分体交換をもつ細胞数
- ・csb: 染色体切断をもつ細胞数
- ・cse: 染色体交換をもつ細胞数
- ・others: その他の構造異常をもつ細胞数
- ・total: 何らかの構造異常をもつ細胞数

②ギャップについて

- ・gap: ギャップをもつ細胞数

③数的異常について

- ・poly: 倍数体の細胞数
- ・others: その他の数的異常をもつ細胞数
- ・total: 何らかの数的異常をもつ細胞数

9. 試験結果の評価

染色体の構造的異常および数的異常の出現率(%)が、いずれも5%未満の場合を陰性、いずれかの出現率あるいは双方の出現率が5%以上10%未満の場合には確認試験を実施し、再現性が認められる場合を疑陽性、いずれかの出現率あるいは双方の出現率が10%以上で、再現性あるいは用量の増加にともなう増加が認められる場合を陽性と判定した。

なお、いずれの試験系列にも異常細胞の5%以上の出現はみられなかったことから、D₂₀値(細胞の20%に異常が認められる濃度)は算出しなかった。

成績

1. 予備試験

細胞増殖率の結果を Table 1 および Figure 1 に、被験物質の析出および培養液 pH への影響の結果を Table 1 に示す。

細胞増殖への影響では、短時間処理法 -S9 処理の 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の用量で極軽度の細胞増殖抑制が認められたのみで、短時間処理法 +S9 処理および連続処理法 24 時間処理の試験系列では細胞増殖への影響はみられなかった。

被験物質の析出が、各試験系列とも試験液処理開始時の 156 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の用量および試験液処理終了時の 78.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の用量で観察された。

被験物質処理による培養液 pH への影響は、各試験系列のいずれの用量にも観察されなかった。

2. 本試験

細胞増殖率、被験物質の析出および培養液 pH への影響の結果を Table 2 に、染色体異常誘発性の評価結果を Table 3-1~3-3 に示す。

染色体異常誘発性と同時に評価したサテライト群において、短時間処理法 -S9 処理の 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の用量で極軽度の細胞増殖抑制が認められたのみで、短時間処理法 +S9 処理および連続処理法 24 時間処理の試験系列では細胞増殖への影響はみられなかった。

被験物質の析出が、各試験系列とも試験液処理開始時の 156 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の用量および試験液処理終了時の 78.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上の用量で観察された。

被験物質処理による培養液 pH への影響は、各試験系列のいずれの用量にも観察されなかった。

染色体の構造異常および数的異常の出現率は、短時間処理法 -S9 処理、短時間処理法 +S9 処理および連続処理法 24 時間処理(評価用量：19.5~5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$)のいずれの用量においても 5%未満であった。

陽性対照群の染色体の構造異常の出現率は、短時間処理法 -S9 処理が 53.5%、短時間処理法 +S9 処理が 46.5%および連続処理法 24 時間処理が 59.5%であった。

考 察

ビス(3,5-ジブromo-4-ジブromoプロピルオキシフェニル)スルホンの *in vitro* における染色体異常誘発性の有無を、チャイニーズハムスター肺由来細胞(CHL/IU)を用いて検討した。

染色体誘発性の評価用量として、予備試験では短時間処理法 -S9 処理の最高用量で極軽度の細胞増殖抑制が認められたのみで、短時間処理法 -S9 処理および連続処理法 24 時間処理では細胞増殖への影響はみられず、一方で、各試験系列の低用量まで被験物質の析出が観察されたことから、ガイドラインに従い析出用量を最高用量とすることも可能であったが、当該被験物質は復帰突然変異試験において陽性結果が得られておりより高用量まで評価対象とするのが適当と判断した。従って、各試験系列とも予備試験と同様に 5000 µg/mL を最高用量に選択し、以下公比 2 で低下させ、予備試験において析出が観察されなかった用量を 2 用量を含む計 9 用量を設定した。

本試験の結果、染色体の構造異常ならびに数的異常の出現率は各試験系列のいずれの用量も 5%未満であり、結果は陰性であった。

陽性対照群における染色体の構造異常の出現率は各試験系列において明確な陽性値を示し、本試験系が適切な感受性を有していたことが確認された。

以上のことから、ビス(3,5-ジブromo-4-ジブromoプロピルオキシフェニル)スルホンは、本試験条件において、ほ乳類の培養細胞に対し染色体異常誘発性を有しないと判断した。

当該被験物質は、試験施設で実施した復帰突然変異試験[ビス(3,5-ジブromo-4-ジブromoプロピルオキシフェニル)スルホンの細菌を用いる復帰突然変異試験(SR09208)]において陽性(*S. typhimurium* TA100 および TA1535 の代謝活性化系の非存在下および存在下)である。また、当該被験物質のスルホニル基がジメチル基であることが異なるのみの類縁物質である Tetrabromobisphenol A bis(2,3-dibromopropyl ether) (CAS No. 21850-44-2)は、復帰突然変異試験で陽性(*S. typhimurium* TA100 および TA1535 の代謝活性化系の非存在下および存在下、*S. typhimurium* TA98 の代謝活性化系の非存在下)、CHO 細胞を用いた姉妹染色分体交換試験で代謝活性化系の非存在下および存在下ともに陰性、ラットの不定期 DNA 合成試験で陰性と報告されている⁵⁾。Tetrabromobisphenol A bis(2,3-dibromopropyl ether)のジブromo

プロピル側鎖が外れフェノールとなった Tetrabromobisphenol A (CAS No. 79-94-7) は、復帰突然変異試験が陰性で染色体異常試験についての情報はない⁶⁾。Tetrabromobisphenol A のジメチル基がスルホニル基となった Tetrabromobisphenol S (CAS No. 39635-79-5) とその類縁物質に遺伝毒性の情報は得られておらず、単純構造の Brominated phenol 類では、2,4,6-tribromophenol (CAS No. 118-79-6) が復帰突然変異試験で陰性、染色体異常試験では代謝活性化系の非存在下および存在下ともに CHL およびヒトリンパ球で陽性、マウスの骨髄小核試験は陰性と報告されている⁷⁾。他方、被験物質のアルキル側鎖に相当する 2,3-dibromo-1-propanol (CAS No. 96-13-9) は、復帰突然変異試験で陽性 (*S. typhimurium* TA98、TA100 および TA1535 の代謝活性化系の非存在下)、マウスリンフォーマ試験 (L5178Y 細胞) で陽性、CHO 細胞を用いた姉妹染色分体交換試験および染色体異常試験で陽性、ショウジョウバエの伴性劣性致死試験および相互転座において陽性、マウスを用いた *in vivo* 骨髄小核試験で陰性と報告されている⁵⁾。

以上のように、分子構造に臭素原子を含む低分子量の化合物に遺伝毒性の陽性反応がみられており、復帰突然変異試験 (SR09208) での当該被験物質の陽性結果も微生物代謝等で産生される臭化アルカン類による可能性が推察されている。従って、当該試験での陰性結果は、被験物質のエーテル側鎖が切断されずその構造が比較的良く維持されたことを示唆するものと考えられる。

参考資料

- 1) 化学物質総合情報提供システム. 独立行政法人 製品評価技術基盤機構.
- 2) 日本化学物質辞書 Web. 化学物質情報詳細. 独立行政法人 科学技術振興機構.
- 3) 製品安全データシート. ノンネン 52-H、マナック株式会社、10149、2008 年 4 月 1 日.
- 4) 化審法データベース (J-CHECK)
- 5) Tetrabromobisphenol A bis(2,3-dibromopropyl ether) [21850-44-2], Review of Toxicological Literature, National Institute of Environmental Health Sciences, November 2002
- 6) TETRABROMOBISPHENOL A and DERIVATIVES, ENVIRONMENTAL HEALTH CRITERIA 172, 1995
- 7) Scientific Opinion on Brominated Flame Retardants (BFRs) in Food: Brominated Phenols and their Derivatives, EFSA Journal 2012; 10(4) 2634

試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因

試験成績の信頼性に影響を及ぼしたと思われる環境要因はなかった。

資料の保存

1. 資料保存施設および保存資料

以下の資料を、株式会社 化合物安全性研究所の資料保存室に保存する。

- (1) 試験計画書、試験計画書変更書
- (2) 生データその他の記録文書
- (3) 最終報告書
- (4) 染色体標本

2. 保存期間

試験終了後 10 年間保存し、その後の保存については試験委託者との協議により決定する。

試験責任者の記名なつ印



  2013 年 2 月 15 日

Table 1 Effects of bis[3,5-dibromo-4-(2,3-dibromopropoxy)phenyl]sulfone on growth rate of CHL/IU with or without metabolic activation (preliminary test) (SR09209)

Growth rate (% to the control)				
Group	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	S9-	S9+	S9-
		6-18 h (Mean)	6-18 h (Mean)	24-0 h (Mean)
Control ^a	–	100 , 100 (100.0)	100 , 100 (100.0)	100 , 100 (100.0)
Bis[3,5-dibromo-4-(2,3-dibromopropoxy)phenyl]sulfone	19.5	93 , 95 (94.0)	91 , 115 (103.0)	99 , 104 (101.5)
	39.1	90 , 89 (89.5)	86 , 95 (90.5)	93 , 96 (94.5)
	78.1	88 ⁺ , 91 ⁺ (89.5)	89 ⁺ , 93 ⁺ (91.0)	99 ⁺ , 100 ⁺ (99.5)
	156	92 [*] , 88 [*] (90.0)	69 [*] , 88 [*] (78.5)	103 [*] , 109 [*] (106.0)
	313	82 [*] , 84 [*] (83.0)	94 [*] , 89 [*] (91.5)	116 [*] , 112 [*] (114.0)
	625	84 [*] , 94 [*] (89.0)	80 [*] , 80 [*] (80.0)	105 [*] , 103 [*] (104.0)
	1250	83 [*] , 85 [*] (84.0)	83 [*] , 89 [*] (86.0)	101 [*] , 99 [*] (100.0)
	2500	83 [*] , 86 [*] (84.5)	110 [*] , 108 [*] (109.0)	96 [*] , 94 [*] (95.0)
5000	75 [*] , 77 [*] (76.0)	105 [*] , 120 [*] (112.5)	109 [*] , 100 [*] (104.5)	
IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)		-	-	-

a : 0.5% Carboxymethylcellulose sodium solution

* : Precipitation at the beginning and end of treatment

⁺ : Precipitation at the end of treatment

Change of pH in culture medium was not observed.

The figure in parentheses represents mean value of two plates.

-: Blank

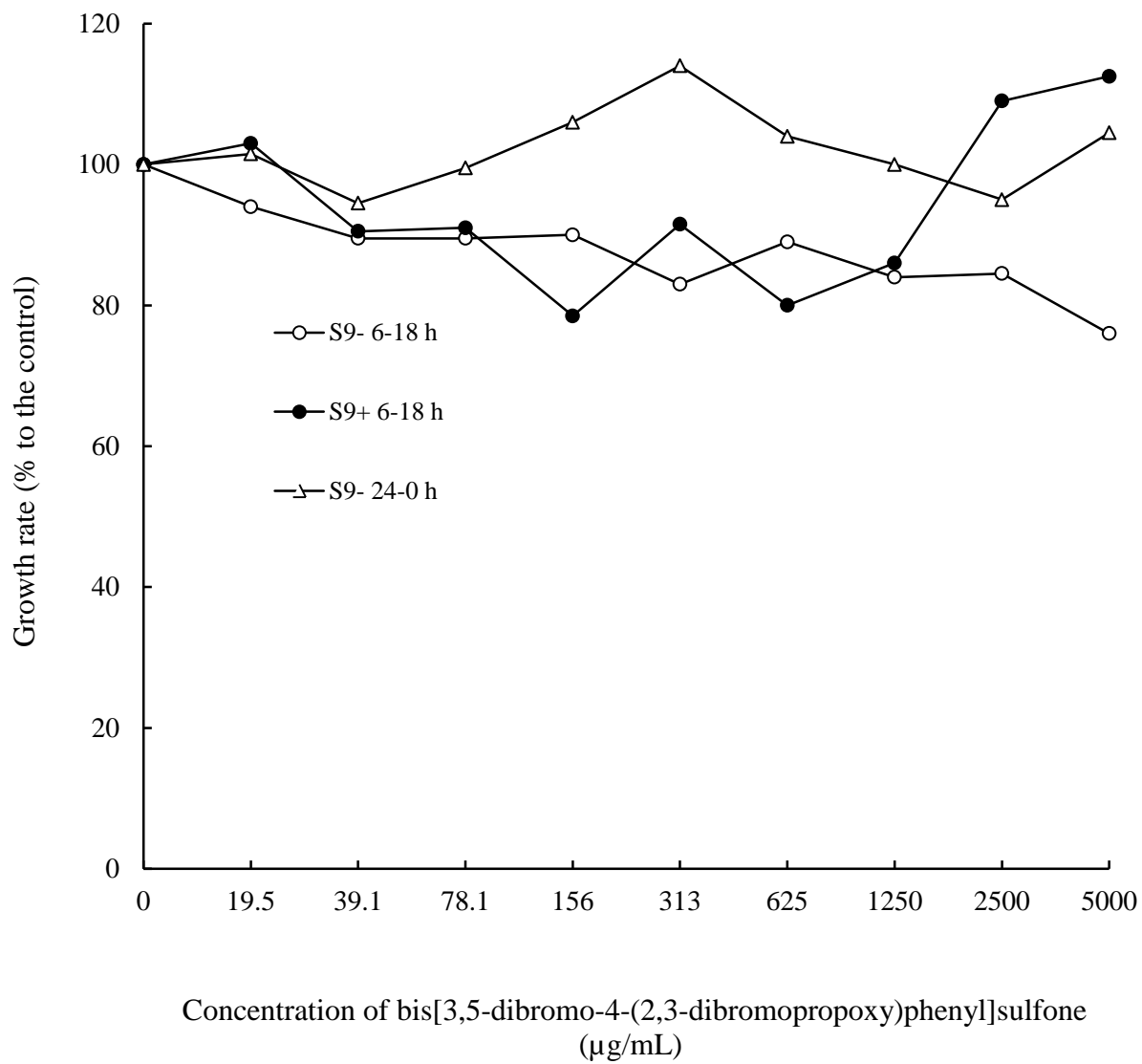


Figure 1 Effects of bis[3,5-dibromo-4-(2,3-dibromopropoxy)phenyl]sulfone on growth rate of CHL/IU with or without metabolic activation (preliminary test) (SR09209)

Each point represents mean value (n=2).

Table 2 Effects of bis[3,5-dibromo-4-(2,3-dibromopropoxy)phenyl]sulfone on growth rate of CHL/IU with or without metabolic activation (chromosomal aberration test) (SR09209)

Growth rate (% to the control)

Group	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)	S9-	S9+	S9-
		6-18 h (Mean)	6-18 h (Mean)	24-0 h (Mean)
Control ^a	–	100 , 100 (100.0)	100 , 100 (100.0)	100 , 100 (100.0)
Bis[3,5-dibromo-4-(2,3-dibromopropoxy)phenyl] sulfone	19.5	95 , 104 (99.5)	111 , 94 (102.5)	103 , 99 (101.0)
	39.1	95 , 102 (98.5)	106 , 90 (98.0)	106 , 100 (103.0)
	78.1	91 ⁺ , 83 ⁺ (87.0)	102 ⁺ , 87 ⁺ (94.5)	103 ⁺ , 105 ⁺ (104.0)
	156	85 [*] , 89 [*] (87.0)	106 [*] , 93 [*] (99.5)	104 [*] , 91 [*] (97.5)
	313	83 [*] , 90 [*] (86.5)	98 [*] , 81 [*] (89.5)	112 [*] , 105 [*] (108.5)
	625	84 [*] , 87 [*] (85.5)	100 [*] , 81 [*] (90.5)	88 [*] , 92 [*] (90.0)
	1250	95 [*] , 96 [*] (95.5)	97 [*] , 89 [*] (93.0)	109 [*] , 103 [*] (106.0)
	2500	96 [*] , 85 [*] (90.5)	123 [*] , 95 [*] (109.0)	104 [*] , 89 [*] (96.5)
5000	75 [*] , 79 [*] (77.0)	115 [*] , 104 [*] (109.5)	81 [*] , 79 [*] (80.0)	

a : 0.5% Carboxymethylcellulose sodium solution

* : Precipitation at the beginning and end of treatment

⁺ : Precipitation at the end of treatment

Change of pH in culture medium was not observed.

The figure in parentheses represents mean value of two plates.

Table 3-2 Results of the chromosomal aberration test of bis[3,5-dibromo-4-(2,3-dibromopropoxy)phenyl]sulfone (6 hours treatment with metabolic activation) (SR09209)

Time schedule ^a (hours)	S9	Group	Concentration (µg/mL)	Growth rate (%)	Number of metaphase observed	Structural aberrations					Gap	Numerical aberrations			Judgment ^c			
						ctb	cte	csb	cse	others		total (%)	poly	others		total (%)		
6-18	+	Control ^b	—	100.0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	
					100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
					200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
			100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-
			100	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			200	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			100	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			200	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	
		100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+			
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
100	8	39	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+			
100	5	49	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
200	13	88	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				
200	13	88	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0				

ctb, chromatid break cte, chromatid exchange csb, chromosome break cse, chromosome exchange poly, polyploid

a : Time schedule ; treatment time-recovery time

b : 0.5% Carboxymethylcellulose sodium solution

c : Judgment was made according to the total (%) of structural aberrations and numerical aberrations ; -, negative +, positive

Table 3-3 Results of the chromosomal aberration test of bis[3,5-dibromo-4-(2,3-dibromopropoxy)phenyl]sulfone (24 hours treatment without metabolic activation) (SR09209)

Time schedule ^a (hours)	S9	Group	Concentration (µg/mL)	Growth rate (%)	Number of metaphase observed	Structural aberrations					Gap	Numerical aberrations			Judgment ^c					
						ctb	cte	csb	cse	others		total (%)	poly	others		total (%)				
24-0	-	Control ^b	—	100.0	100	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	-				
					100	1	0	0	0	0	1	0	2	0	2					
					200	1	0	0	0	0	1	(0.5)	0	3	0		3	(1.5)		
					100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0		
					100	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0		1	0		
					200	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0		1	(0.5)		
					100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0		
					100	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0		0	0		
					200	1	0	0	0	0	1	(0.5)	0	0	0		0	0	(0.0)	
					100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2		0	2	0	
					100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	
					200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2		0	2	(1.0)	
					100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	
					100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		0	1	0	
					200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		0	1	(0.5)	
					100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	
					100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	
					200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	(0.0)
					100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0
					100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0	0	0	0
200	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	(0.0)					
100	6	55	1	1	0	60	0	0	0	0	0	0	0	0	+					
100	13	50	0	0	0	59	0	0	0	0	0	0	0	0						
200	19	105	1	1	0	119	(59.5)	0	0	0	0	0	0	0	(0.0)					

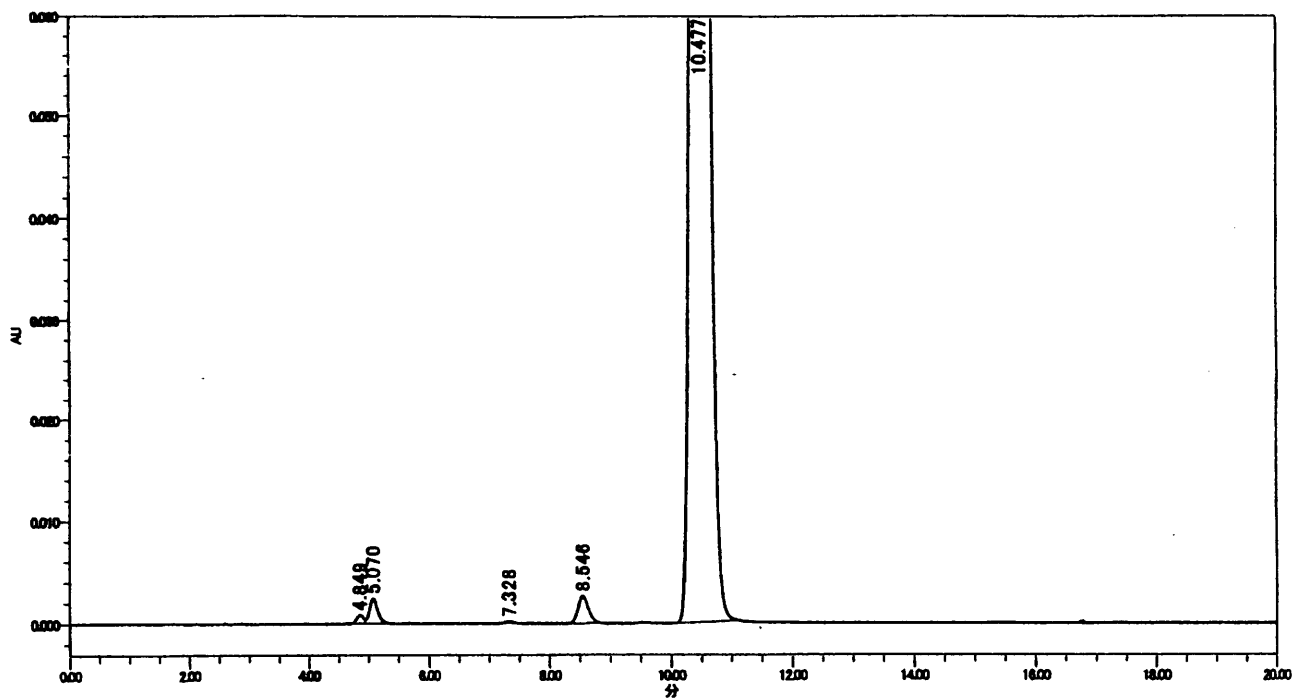
ctb, chromatid break cte, chromatid exchange csb, chromosome break cse, chromosome exchange cse, poly, polyploid

a : Time schedule ; treatment time-recovery time

b : 0.5% Carboxymethylcellulose sodium solution

c : Judgment was made according to the total (%) of structural aberrations and numerical aberrations ; -, negative +, positive

Empower



	保持時間 (分)	面積 (μ V秒)	高さ (μ V)	分割の種類	%面積
1	4.849	6404	833	BV	0.1274
2	5.070	22998	2462	VB	0.4574
3	7.328	1610	179	BB	0.0320
4	8.546	32162	2659	BB	0.6397
5	10.477	4964575	344116	BB	98.7435
合計		5027749			100.0

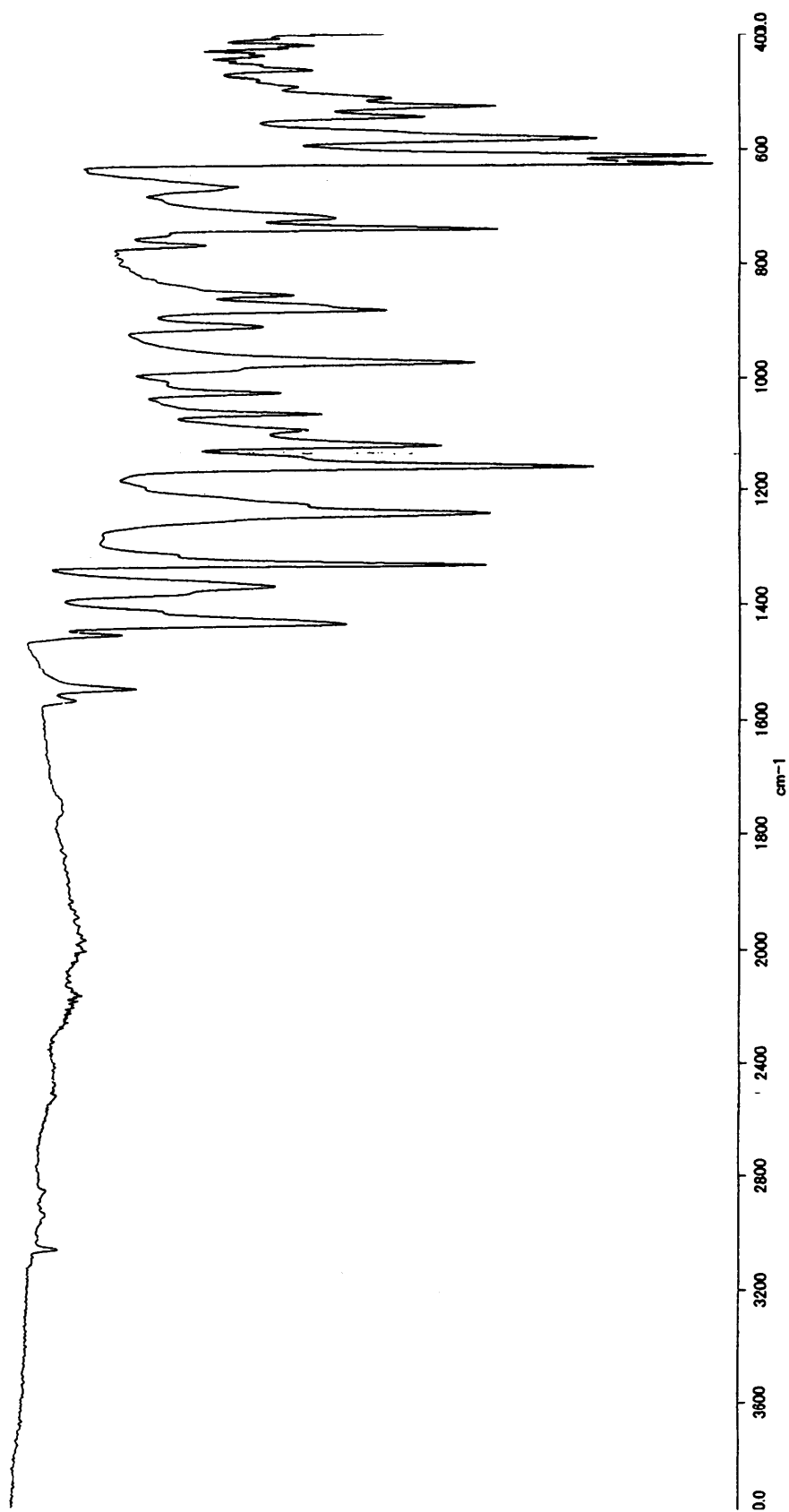
ノンネン高純度品

Lot No. 10/29

HPLCチャート

スペクトルファイル名: ツネン高純度品.sp

記述: Lot No.10129



平成 23 年 11 月 29 日

株式会社化合物安全性研究所 御中

マナック株式会社
環境品質保証室
室長

ノンネン高純度品のリターン分析結果のご報告

拝啓 貴社益々ご清栄のこととお慶び申し上げます。平素は格別のお引き立てに預かり、心からお礼申し上げます。

ノンネン高純度品のリターン分析結果(安定性)について、ご報告致します。
ご査収の上、よろしくお取計らい下さいますようお願い申し上げます。

敬具

記

1. リターン分析結果

1) 赤外吸収スペクトル (IR)

サンプル送付前分析と同一波数のところに同様の強度の吸収が認められる

2) HPLC 純度

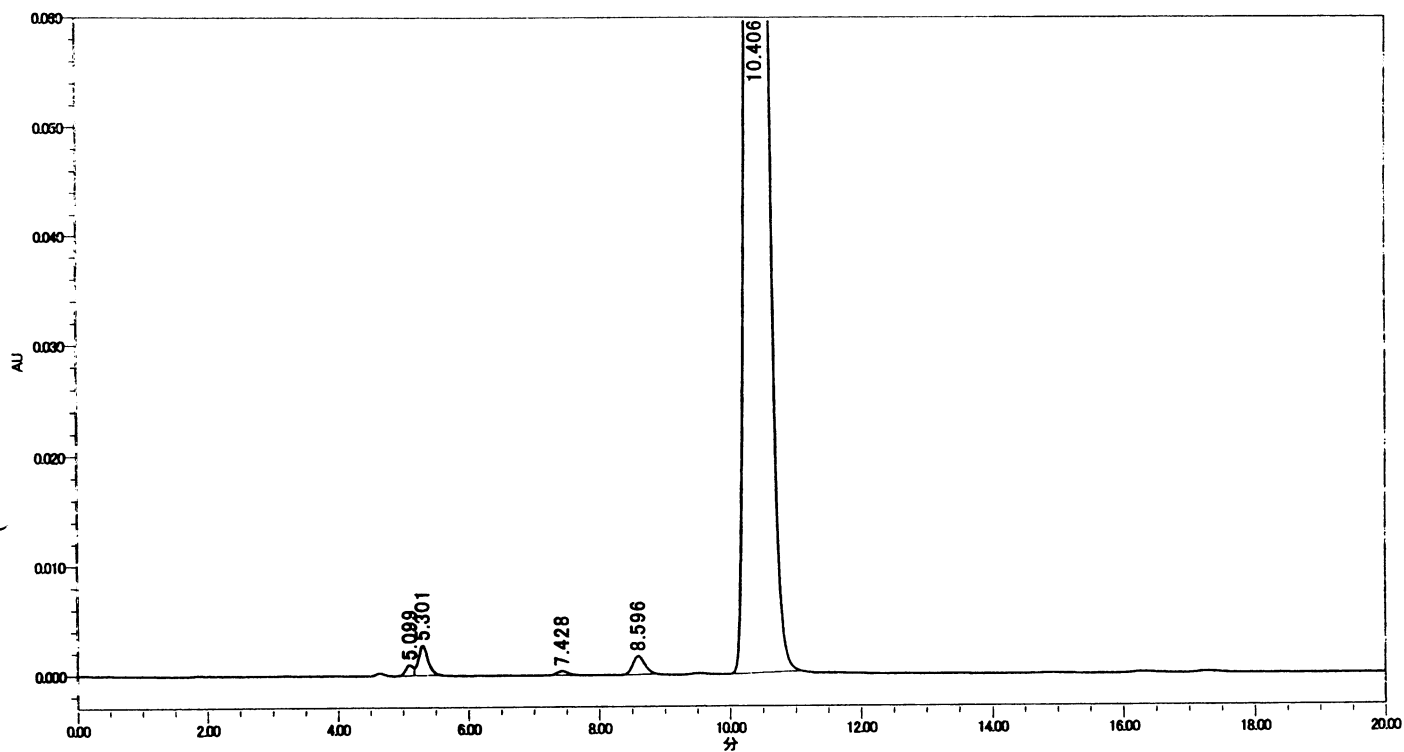
純度 98.7% (サンプル送付前分析 純度 98.7%)

2. 安定性について

以上の結果より、サンプル送付前分析とリターン分析において、有意な変化は認められず、ノンネン高純度品は、安定であることが確認できました。

* リターン分析チャートを別添いたします。

以上



	保持時間 (分)	面積 (μ V秒)	高さ (μ V)	分割の種類	%面積
1	5.099	7825	999	BV	0.1589
2	5.301	28684	2766	VB	0.5824
3	7.428	4096	361	BB	0.0832
4	8.596	21482	1693	BB	0.4362
5	10.406	4862756	315928	BB	98.7393
合計		4924843			100.0

ノネン高純度品

Lot No. 10129

HPLCチャート

リタ-ン分析

スペクトルファイル名: ノンネン高純度品.sp

記述: Lot No.10129

リターン分析

