

最終報告書

1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサン
の細菌を用いる復帰突然変異試験

(試験番号: 98-105)

財団法人 畜産生物科学安全研究所

目 次

要約	1 頁
試験目的	2
材料および方法	2
1. 被験物質	2
2. 指標菌株	3
3. 指標菌株の検査	3
4. 指標菌株の保存と前培養	4
5. S9 mix	4
6. 被験物質の供試液の調製	5
7. 陰性対照および陽性対照	6
8. アミノ酸添加軟寒天培地の調製	6
9. 用量設定試験（予備試験）	7
10. 本試験	7
1) 用量設定	7
2) 実験方法	7
(1) プレインキュベーション法（直接法）	7
(2) プレインキュベーション法（代謝活性化法）	8
11. 無菌試験	8
12. 試験の有効性	8
13. 結果の判定	8
結果	9
結論および参考事項	9
参考文献	10

表 :	
表 1-1	S9 mix 非存在下における 1,1-ビス(<i>tert</i> -ブチルペロキシ) -3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの復帰突然変異試験結果 〔本試験 1 回目-直接法〕 11
表 1-2	S9 mix 存在下における 1,1-ビス(<i>tert</i> -ブチルペロキシ) -3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの復帰突然変異試験結果 〔本試験 1 回目-代謝活性化法〕 12
表 2-1	S9 mix 非存在下における 1,1-ビス(<i>tert</i> -ブチルペロキシ) -3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの復帰突然変異試験結果 〔本試験 2 回目-直接法〕 13
表 2-2	S9 mix 存在下における 1,1-ビス(<i>tert</i> -ブチルペロキシ) -3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの復帰突然変異試験結果 〔本試験 2 回目-代謝活性化法〕 14

図 :	
図 1-1	1,1-ビス(<i>tert</i> -ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチル シクロヘキサンの復帰突然変異試験結果-本試験 1 回目 15
図 1-2	1,1-ビス(<i>tert</i> -ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチル シクロヘキサンの復帰突然変異試験結果-本試験 1 回目 16
図 1-3	1,1-ビス(<i>tert</i> -ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチル シクロヘキサンの復帰突然変異試験結果-本試験 1 回目 17
図 2-1	1,1-ビス(<i>tert</i> -ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチル シクロヘキサンの復帰突然変異試験結果-本試験 2 回目 18
図 2-2	1,1-ビス(<i>tert</i> -ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチル シクロヘキサンの復帰突然変異試験結果-本試験 2 回目 19
図 2-3	1,1-ビス(<i>tert</i> -ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチル シクロヘキサンの復帰突然変異試験結果-本試験 2 回目 20

要 約

1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの遺伝子突然変異誘発性の有無を検討するため、復帰突然変異試験を指標菌株として *Salmonella typhimurium* TA100, TA1535, TA98, TA1537 および *Escherichia coli* WP2uvrA を用い、S9 mix 非存在（直接法）および存在（代謝活性化法）下でプレインキュベーション法により行った。

用量は、用量設定試験（予備試験）の結果、5000 μ g/プレートまでの用量で直接法および代謝活性化法ともに全ての菌株において生育阻害が認められなかったため、313～5000 μ g/プレートの範囲（公比2）で設定した。

試験は2回実施した。その結果、全ての菌株において代謝活性化の有無にかかわらず、復帰変異コロニー数の増加は認められず、また、菌の生育阻害も認められなかった。

以上の成績から、本実験条件下では、1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの細菌に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

試験目的

この試験は、1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの細菌に対する遺伝子突然変異誘発性の有無を明らかにするために実施した。

材料および方法^{1, 2)}

1. 被験物質

名称(略号)： 1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサン
(BTBTC)

別名 1,1-Bis(*tert*-butyldioxy)-3,3,5-trimethylcyclohexane; 1,1-Di(*t*-butylperoxy)-3,3,5-trimethylcyclohexane; パーヘキサ3M; DIGIF; 3,3,5-Trimethylcyclohexylidene bis(1,1-dimethylethyl peroxide); 3,3,5-Trimethylcyclohexylidene bis (*tert*-butylperoxide)

CAS番号： 6731-36-8

ロット番号：

純度： 97.9% (平成10年10月13日分析) [不純物：残分 2.1%の約9割は原料である 3,3,5-trimethylcyclohexane, 約1割は不明]

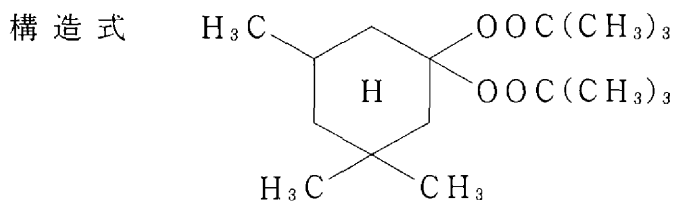
入手先(製造元)：

入手日： 平成10年10月16日

入手量： 250 g

物性等：

化学名 1,1-Bis(*tert*-butylperoxy)-3,3,5-trimethylcyclohexane



分子式 $C_{17}H_{34}O_4$

分子量 302.46

性状(常温) 無色ないし淡黄色液体

沸 点 測定不可

融 点 -40℃以下

蒸 気 圧 4.3 mmHg (83℃)

溶 解 性 水, ジメチルスルホキシド (DMSO) : 不溶 ; アセトン : 易溶

安 定 性 : 安定 [実験終了後, 残余被験物質を において分析 (平成11年6月17日) した結果, 純度は97.8%で, 実験期間中被験物質は安定であったことを確認した。]

保 管 条 件 : 冷暗所 (4℃), 密栓

2. 指標菌株

指標菌株は, 国立公衆衛生院より入手 (平成6年12月19日) した以下の5種類を用いた。

(塩基対置換型)

Salmonella typhimurium TA100, TA1535

Escherichia coli WP2uvrA

(フレームシフト型)

Salmonella typhimurium TA98, TA1537

3. 指標菌株の検査

次に示す指標菌株の遺伝的特性およびその他の諸性質に関する項目について検査し, 本来の特性を有することを確認した。

1) *S. typhimurium* におけるヒスチジンおよびビオチン要求性

E. coli におけるトリプトファン要求性

2) 紫外線感受性 (*uvrA*, *uvrB*)

3) *S. typhimurium* におけるクリスタルバイオレット感受性 (*rfa*)

4) *S. typhimurium* TA100 および TA98 におけるアンピシリン耐性 (pKM101)

5) 自然突然変異体数

6) 陽性対照物質に対する反応性

4. 指標菌株の保存と前培養

菌液 0.8 mL にジメチルスルホキシド (DMSO, 和光純薬工業株式会社, ロット番号 TPK7807, 99.9%) を 0.07 mL の割合で加えて -80°C 以下で保存した。この保存菌株の 25 μL をニュートリエントブロス (Bacto nutrient broth dehydrated, Difco Laboratories, ロット番号 44077JK) 液体培地 15 mL に接種し, 37°C で 12 時間振盪培養した。培養後の懸濁菌液については, 分光光度計で吸光度 ($\text{OD}_{660\text{nm}}$) を測定し, 懸濁と生菌数の換算式より 1 mL あたり 1×10^9 以上の生菌数が得られていることを確認した。

生菌数 ($\times 10^9/\text{mL}$)					
指標菌株	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
用量設定試験	1.54	1.72	1.56	1.44	1.24
本試験 (1回目)	1.50	1.76	1.38	1.35	1.21
本試験 (2回目)	1.46	1.53	1.21	1.33	1.21

5. S9 mix

代謝活性化法に用いた S9 mix は, ラット肝臓のホモジネートの薬物代謝酵素分画 (S9) にコファクターを加えて凍結された市販品をキッコーマン株式会社から購入し, 使用した〔予備試験および本試験 (1回目) : ロット番号 FSM-399・1999年3月19日製造・1999年4月2日購入, 本試験 (2回目) : ロット番号 FSM-405・1999年5月21日製造・1999年5月25日購入〕。凍結 S9 mix は -80°C 以下で保存し, 使用時に冷水中で解凍して用いた。使用した S9 の製造法および S9 mix の 1 mL 当たりの組成は, 次のとおりである。

S9 製造法

A. 使用動物

- a) 種・系統： Sprague-Dawley系ラット（日本エスエルシー株式会社）
- b) 性・週齢： 雄・7週齢
- c) 体重： 198～231g(FSM-399), 184～243g(FSM-405)

B. 誘導法

- a) 誘導物質： phenobarbital (PB), 5,6-benzoflavone (BF)
- b) 投与経路： 腹腔内投与
- c) 投与方法（投与開始日起算）：
 - 1日目－PB 30 mg/kg, 2, 3, 4日目－PB 60 mg/kg
 - 3日目－BF 80 mg/kg

C. 調製法

最終投与の翌日に肝臓ホモジネートを遠心分離（9,000×g）し、その上清を採取

S9 mix 1 mL 当たりの組成

MgCl ₂	8	μmol
KCl	33	μmol
G-6-P	5	μmol
NADH	4	μmol
NADPH	4	μmol
リン酸ナトリウム緩衝液（pH 7.4）	100	μmol
S9	0.1	mL

6. 被験物質の供試液の調製

被験物質は水および DMSO に不溶であり、アセトンには可溶であるため、溶媒にはアセトン（和光純薬工業株式会社、ロット番号 ESE3934, 99.5%）を用いた。被験物質の供試液の調製は、実験の直前に行った。溶媒を用いて最高用量の供試液（原液）を調製し、ついで、この原液を溶媒で順次希釈して所定の用量の被験物質供試液を調製した。

7. 陰性対照および陽性対照

陰性対照（溶媒対照）には、被験物質の溶媒であるアセトンを用いた。陽性対照としては、以下の既知変異原性物質を用いた。

指標菌株	直接法 (μg /プレート)	代謝活性化法 (μg /プレート)
TA100	AF-2 (0.01)	2-AA (1)
TA1535	SA (0.5)	2-AA (2)
WP2uvrA	AF-2 (0.04)	2-AA (10)
TA98	AF-2 (0.1)	2-AA (1)
TA1537	9-AA (80)	2-AA (2)

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, 98%, ロット番号 PTQ1296)

2-AA : 2-アミノアントラセン (和光純薬工業株式会社, >90%, ロット番号 KCM 2259)

SA : アジ化ナトリウム (和光純薬工業株式会社, 90%, ロット番号 KCG5232)

9-AA : 9-アミノアクリジン (Aldrich Chemical Company, 98%, ロット番号 07721MZ)

AF-2 および 2-AA は DMSO (和光純薬工業株式会社, ロット番号 ACH7185, 99.9%) に、SA および 9-AA は蒸留水 (株式会社大塚製薬工場, ロット番号 K7B87) に溶解した。

8. アミノ酸添加軟寒天培地の調製

0.6%寒天粉末 (Difco laboratories, ロット番号 42101JG) および 0.5%塩化ナトリウム (和光純薬工業株式会社, ロット番号 6314, 7001) の組成の軟寒天を調製した。溶解した軟寒天に、*S. typhimurium* 用には 0.5 mM D-ビオチン (Sigma Chemical Company, ロット番号 126H0568) および 0.5 mM L-ヒスチジン (和光純薬工業株式会社, ロット番号 DLJ5479) 水溶液、*E. coli* 用には 0.5 mM L-トリプトファン (和光純薬工業株式会社, ロット番号 KCK3898) 水溶液を 1/10 容加え、アミノ酸添加軟寒天培地とした。

9. 用量設定試験（予備試験）

本試験における被験物質の適切な用量を把握するために、全指標菌株について、20, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000 および 5000 μg /プレートの8用量を用いて、本試験と同様の実験方法で試験を行った。試験は各用量1枚のプレートで行った。

その結果、代謝活性化の有無にかかわらず、いずれの菌株においても全ての用量において、菌の生育阻害は認められなかった。

10. 本試験

1) 用量設定

用量設定試験の結果から、被験物質の用量は、直接法および代謝活性化法ともに最高用量を試験法ガイドラインで規定されている上限量の 5000 μg /プレートとし、以下公比2で 2500, 1250, 625 および 313 μg /プレートの計5用量とした。

2) 実験方法

(1) プレインキューベーション法（直接法）

滅菌小試験管に前培養した懸濁菌液 0.1 mL, 被験物質の供試液 0.05 mL および 0.1 M リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 7.4) 0.5 mL (和光純薬工業株式会社, リン酸水素二ナトリウム・十二水塩: ロット番号 CAH3075, リン酸二水素ナトリウム・二水塩: ロット番号 CAJ2723) を分注し, 37°Cで20分間振盪培養後, 45°Cに保温したアミノ酸添加軟寒天培地 2 mL を加え, 最少グルコース寒天平板培地上に広げた。最少グルコース寒天平板培地 (テスメディアAN培地, オリエンタル酵母工業株式会社, 予備試験および本試験 (1回目): ロット番号 AN080B0・1999年2月4日製造・1999年3月19日購入, 本試験 (2回目): ロット番号 AN120B0・1999年2月18日製造・1999年5月14日購入) は, Vogel-Bonner E 培地 (0.2%クエン酸・一水塩, 1%リン酸二カリウム, 0.192%リン酸一アンモニウム, 0.066%水酸化ナトリウム, 0.02%硫酸マグネシウム・七水塩) に 1.5%寒天粉末および2%グルコースを加え, 30 mL ずつ分注したものである。37°Cで48時間培養後, 復帰変異コロニーを計数し, 同時に指標菌株の生育阻害の有無を実体顕微鏡を用いて観察した。陰性対照および陽性対照群においては, 上記の被験物質の供試液 0.05 mL にかわり, 溶媒 (アセトン) 0.05 mL および陽性対照物質溶液 0.1 mL を用いて同様に実施した。試験は各用量3枚

のプレートで行った。

(2) プレインキュベーション法（代謝活性化法）

滅菌小試験管に前培養した懸濁菌液 0.1 mL, 被験物質の供試液 0.05 mL および S9 mix 0.5 mL を分注し, 37°Cで20分間振盪培養後, 45°Cに保温したアミノ酸添加軟寒天培地 2 mL を加え, 最少グルコース寒天平板培地上に広げた。37°Cで48時間培養後, 復帰変異コロニーを計数し, 同時に指標菌株の生育阻害の有無を実体顕微鏡を用いて観察した。陰性対照および陽性対照群においては, 上記の被験物質の供試液 0.05 mL にかわり, 溶媒（アセトン）0.05 mL および陽性対照物質溶液 0.1 mL を用いて同様に実施した。試験は各用量 3 枚のプレートで行った。

11. 無菌試験

用量設定試験および本試験において, 用いた溶媒, S9 mix および最高用量の被験物質の供試液について, それぞれ 0.1 mL に 0.6%軟寒天 2 mL を加え, 最少グルコース寒天平板培地に重層後, 37°Cで48時間培養し, 菌の生育の有無を調べた。最少グルコース寒天平板培地は, それぞれ 3 枚ずつ使用した。

12. 試験の有効性

以下の 3 基準を満たす場合に, 試験は適切な条件下で実施され, 試験は有効と判定した。

- 1) 試験に用いた菌液, 溶媒, 被験物質の供試液および S9 mix に雑菌の混入がない。
- 2) 各指標菌株の陰性対照における復帰変異コロニー数が, 当研究所における背景データの範囲内の値を示す（自然復帰変異体数）。
- 3) 各指標菌株の陽性対照における復帰変異コロニー数が, 当研究所の背景データの範囲あるいはその近くの値を示す。

13. 結果の判定

結果の判定は, 各用量におけるプレートでの復帰変異コロニー数の平均値を基に, 原則的に以下の 3 基準を満たす場合を陽性とした。

- 1) 被験物質処理群において陰性対照値の 2 倍以上の復帰変異コロニー数が出現する。

- 2) 被験物質用量の増加とともに復帰変異コロニー数が増加する（用量依存性）。
- 3) 2回にわたる本試験の結果から、復帰変異コロニー数の増加に再現性が認められる。
但し、明確な用量依存性が認められない場合においても、陽性値を示す試験結果に再現性が認められれば陽性と判定した。

結 果

試験を2回実施した結果（表 1-1, 1-2, 2-1, 2-2 および図 1-1, 1-2, 1-3, 2-1, 2-2, 2-3）、直接法および代謝活性化法のいずれの場合も、供試したすべての菌株において復帰変異コロニー数は、陰性対照値の2倍を越えることはなく、また、菌の生育阻害も認められなかった。

なお、代謝活性化の有無にかかわらず、1250 μ g/プレート以上の用量で培養終了時、最少グルコース寒天平板培地上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

陰性対照群では、背景データ（添付資料）の範囲内の復帰変異コロニー数が認められ、陽性対照群においては、それぞれ背景データ（添付資料）の範囲内の陽性を示す復帰変異コロニー数の増加が認められた。また、試験に用いた菌液、溶媒、被験物質の供試液および S9 mix などには、雑菌の混入は認められなかった。

結論および参考事項

1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンおよびその類縁化合物の変異原性に関する報告は見当たらない。

そこで、今回 1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの遺伝子突然変異誘発性の有無を調べるため、細菌を用いる復帰突然変異試験を実施した。その結果、代謝活性化の有無にかかわらず、すべての指標菌株で復帰変異コロニー数の増加は認められなかった。

試験の有効性については、2回にわたる本試験ともに有効であることが確認された。

したがって、本実験条件下では、1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

参考文献

- 1) Maron, D.M. and Ames, B.N. (1983). Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutation Research*, **113**, 173-215.
- 2) Green, M.H. (1984). "Handbook of Mutagenicity Test Procedures" 1, Vol.3, eds, by Kilbey, B.J., Legator, M., Nichols, W. and Ramel, C., Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, pp.161-187.

表 1-1 S9 mix 非存在下における 1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリ
メチルシクロヘキサンの復帰突然変異試験結果〔本試験 1 回目-直接法〕

用 量 〔 μg /プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
	TA100	TA1535	WP2uvrA	TA98	TA1537
陰 性 対 照 〔アセトン〕	127	15	18	29	10
	129	14	17	21	9
	119	13	23	18	8
	(125 \pm 5)	(14 \pm 1)	(19 \pm 3)	(23 \pm 6)	(9 \pm 1)
313	120	17	14	26	11
	108	11	24	21	8
	126	12	18	19	9
	(118 \pm 9)	(13 \pm 3)	(19 \pm 5)	(22 \pm 4)	(9 \pm 2)
625	136	13	16	18	12
	130	14	19	24	15
	137	15	27	21	15
	(134 \pm 4)	(14 \pm 1)	(21 \pm 6)	(21 \pm 3)	(14 \pm 2)
1250*	122	10	23	26	8
	118	9	17	19	11
	120	5	17	40	8
	(120 \pm 2)	(8 \pm 3)	(19 \pm 3)	(28 \pm 11)	(9 \pm 2)
2500*	130	13	21	21	11
	138	9	18	29	9
	132	11	17	30	15
	(133 \pm 4)	(11 \pm 2)	(19 \pm 2)	(27 \pm 5)	(12 \pm 3)
5000*	128	6	17	30	14
	118	7	16	26	17
	134	7	16	25	9
	(127 \pm 8)	(7 \pm 1)	(16 \pm 1)	(27 \pm 3)	(13 \pm 4)
陽 性 対 照	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9-AA
μg /プレート	0.01	0.5	0.04	0.1	80
復 帰 変 異 コロニー数 /プレート	847	390	714	462	546
	782	432	697	486	520
	760	400	746	446	703
	(796 \pm 45)	(407 \pm 22)	(719 \pm 25)	(465 \pm 20)	(590 \pm 99)

() : 平均値 \pm 標準偏差

: プレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

AF-2 : 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

SA : アジ化ナトリウム

9-AA : 9-アミノアクリジン

表 1-2 S9 mix 存在下における 1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリ
メチルシクロヘキサンの復帰突然変異試験結果〔本試験 1 回目-代謝活性化法〕

用 量 〔 μg /プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
陰 性 対 照 〔アセトン〕	118	11	24	37	11
	127	15	20	35	10
	114	14	17	27	15
	(120 \pm 7)	(13 \pm 2)	(20 \pm 4)	(33 \pm 5)	(12 \pm 3)
313	117	13	20	46	18
	131	13	27	46	11
	130	14	18	40	12
	(126 \pm 8)	(13 \pm 1)	(22 \pm 5)	(44 \pm 3)	(14 \pm 4)
625	117	13	21	35	13
	105	14	21	18	16
	132	17	22	34	12
	(118 \pm 14)	(15 \pm 2)	(21 \pm 1)	(29 \pm 10)	(14 \pm 4)
1250#	122	16	21	31	7
	121	11	17	32	12
	121	12	26	31	15
	(121 \pm 1)	(13 \pm 3)	(21 \pm 5)	(31 \pm 1)	(11 \pm 4)
2500#	123	7	23	32	14
	122	7	22	29	14
	105	8	30	27	7
	(117 \pm 10)	(7 \pm 1)	(25 \pm 4)	(29 \pm 3)	(12 \pm 4)
5000#	134	6	30	38	15
	139	6	22	25	10
	106	10	28	20	9
	(126 \pm 18)	(7 \pm 2)	(27 \pm 4)	(28 \pm 9)	(11 \pm 3)
陽 性 対 照	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
μg /プレート	1	2	10	1	2
復 帰 変 異 コロニー数 /プレート	689	150	820	411	111
	718	159	829	357	114
	671	156	864	402	125
	(693 \pm 24)	(155 \pm 5)	(838 \pm 23)	(390 \pm 29)	(117 \pm 7)

() : 平均値 \pm 標準偏差

: プレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

2-AA : 2-アミノアントラセン

表 2-1 S9 mix 非存在下における 1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリ
メチルシクロヘキサンの復帰突然変異試験結果〔本試験 2 回目-直接法〕

用 量 〔 μg /プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
陰性対照 〔アセトン〕	98	12	15	30	8
	100	10	18	28	8
	122	14	21	27	10
	(107 \pm 13)	(12 \pm 2)	(18 \pm 3)	(28 \pm 2)	(9 \pm 1)
313	105	9	20	25	14
	112	12	18	32	12
	131	8	15	33	12
	(116 \pm 13)	(10 \pm 2)	(18 \pm 3)	(30 \pm 4)	(13 \pm 1)
625	110	9	22	30	14
	90	13	17	31	11
	108	10	16	31	13
	(103 \pm 11)	(11 \pm 2)	(18 \pm 3)	(31 \pm 1)	(13 \pm 2)
1250#	107	8	12	14	6
	108	5	14	27	11
	129	5	16	22	7
	(115 \pm 12)	(6 \pm 2)	(14 \pm 2)	(21 \pm 7)	(8 \pm 3)
2500#	121	6	16	17	12
	83	6	25	21	10
	109	9	14	24	8
	(104 \pm 19)	(7 \pm 2)	(18 \pm 6)	(21 \pm 4)	(10 \pm 2)
5000#	119	9	15	32	7
	94	9	15	26	14
	112	14	14	32	10
	(108 \pm 13)	(11 \pm 3)	(15 \pm 1)	(30 \pm 3)	(10 \pm 4)
陽性対照	AF-2	SA	AF-2	AF-2	9-AA
μg /プレート	0.01	0.5	0.04	0.1	80
復帰変異 コロニー数 /プレート	795	386	716	472	428
	783	358	806	488	512
	829	336	691	402	557
	(802 \pm 24)	(360 \pm 25)	(738 \pm 60)	(454 \pm 46)	(499 \pm 65)

(): 平均値 \pm 標準偏差

: プレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

AF-2: 2-(2-フリル)-3-(5-ニトロ-2-フリル)アクリルアミド

SA : アジ化ナトリウム

9-AA: 9-アミノアクリジン

表 2-2 S9 mix 存在下における 1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリ
メチルシクロヘキサンの復帰突然変異試験結果〔本試験 2 回目-代謝活性化法〕

用 量 〔 μ g/プレート〕	復帰変異コロニー数/プレート				
	塩基対置換型			フレームシフト型	
	TA100	TA1535	WP2 <i>uvrA</i>	TA98	TA1537
陰 性 対 照 〔アセトン〕	116	9	25	41	16
	105	7	22	25	11
	102	10	21	35	10
	(108 \pm 7)	(9 \pm 2)	(23 \pm 2)	(34 \pm 8)	(12 \pm 3)
313	127	7	21	27	16
	105	13	30	33	13
	120	8	10	44	19
	(117 \pm 11)	(9 \pm 3)	(20 \pm 10)	(35 \pm 9)	(16 \pm 3)
625	118	10	31	31	10
	118	8	24	32	15
	115	12	21	29	13
	(117 \pm 2)	(10 \pm 2)	(25 \pm 5)	(31 \pm 2)	(13 \pm 3)
1250*	128	13	12	40	13
	128	11	28	28	15
	104	7	26	36	14
	(120 \pm 14)	(10 \pm 3)	(22 \pm 9)	(35 \pm 6)	(14 \pm 1)
2500*	120	9	24	23	14
	100	15	19	30	18
	118	6	25	45	15
	(113 \pm 11)	(10 \pm 5)	(23 \pm 3)	(33 \pm 11)	(16 \pm 2)
5000*	93	13	20	33	6
	131	11	24	23	13
	101	6	17	23	10
	(108 \pm 20)	(10 \pm 4)	(20 \pm 4)	(26 \pm 6)	(10 \pm 4)
陽 性 対 照	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
μ g/プレート	1	2	10	1	2
復 帰 変 異 コ ロ ニ ー 数 / プ レ ー ト	699	214	685	339	173
	668	193	723	382	121
	623	184	803	362	142
	(663 \pm 38)	(197 \pm 15)	(737 \pm 60)	(361 \pm 22)	(145 \pm 26)

() : 平均値 \pm 標準偏差

: プレート上に被験物質と思われる油滴様物が認められた。

2-AA : 2-アミノアントラセン

図 1-1 1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの
 復帰突然変異試験結果—本試験1回目

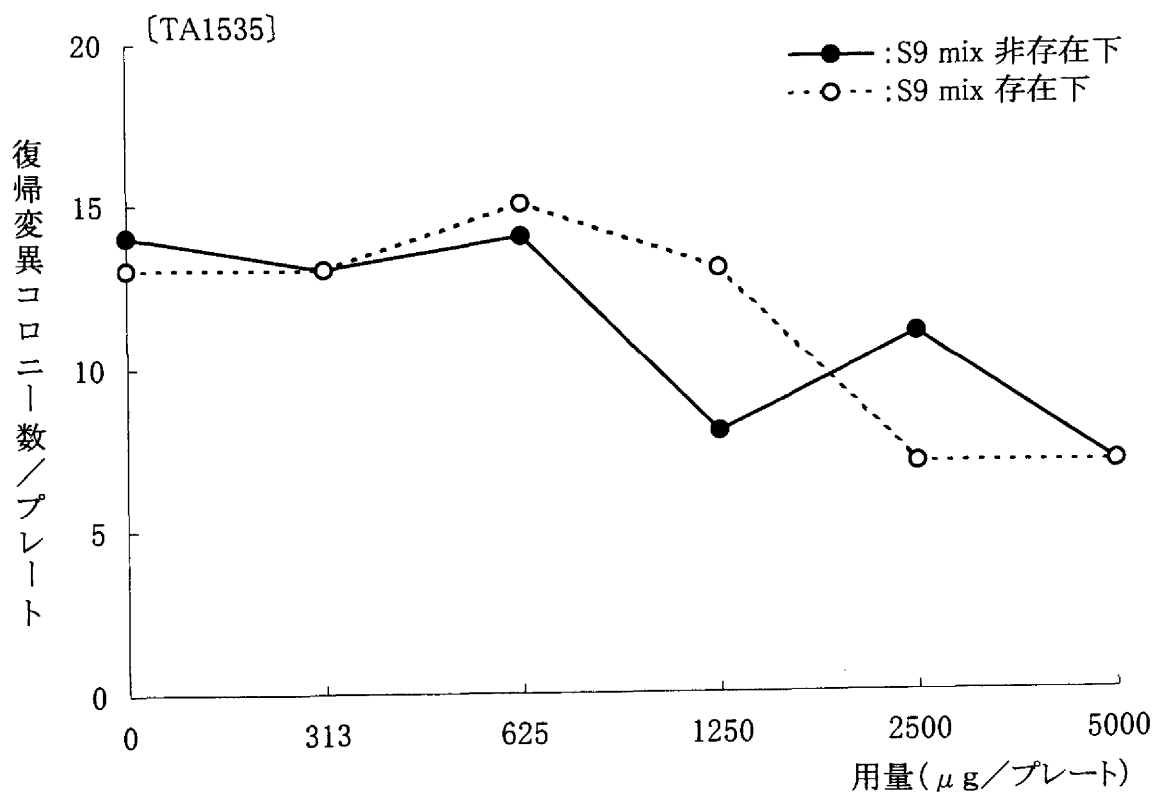
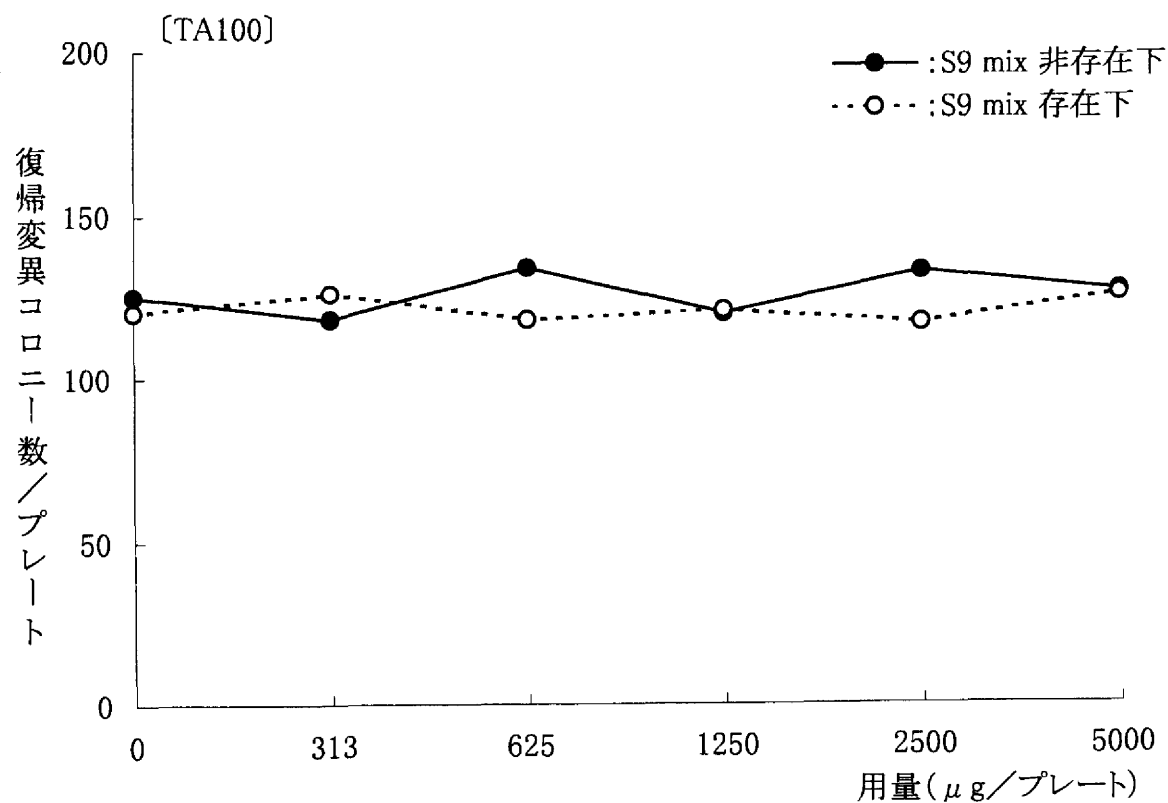


図 1-2 1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの復帰突然変異試験結果—本試験1回目

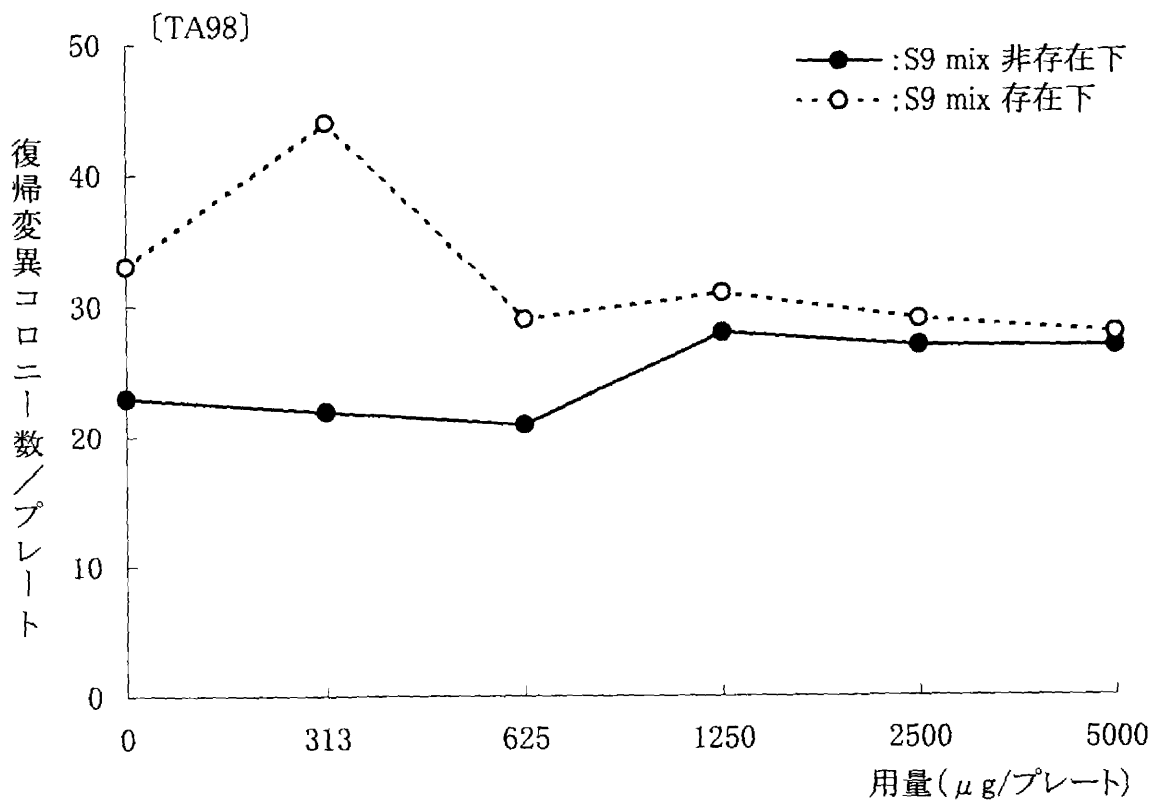
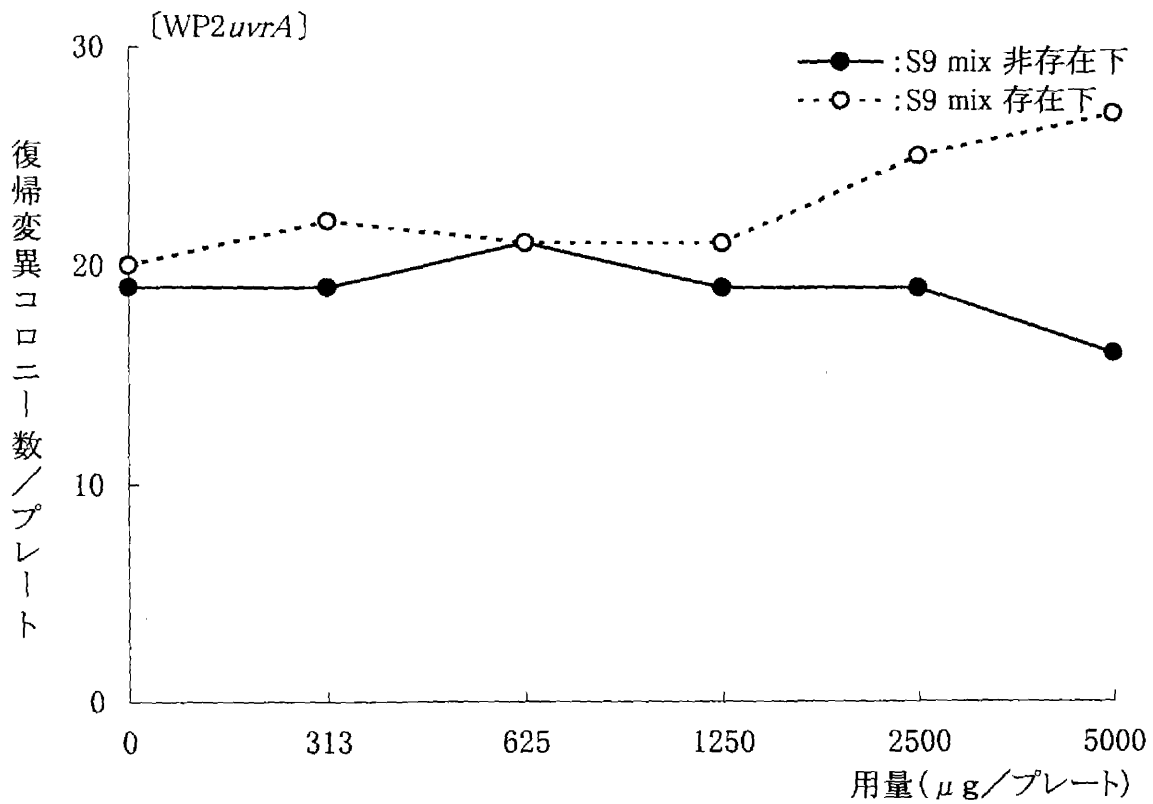


図 1-3 1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの
復帰突然変異試験結果—本試験1回目

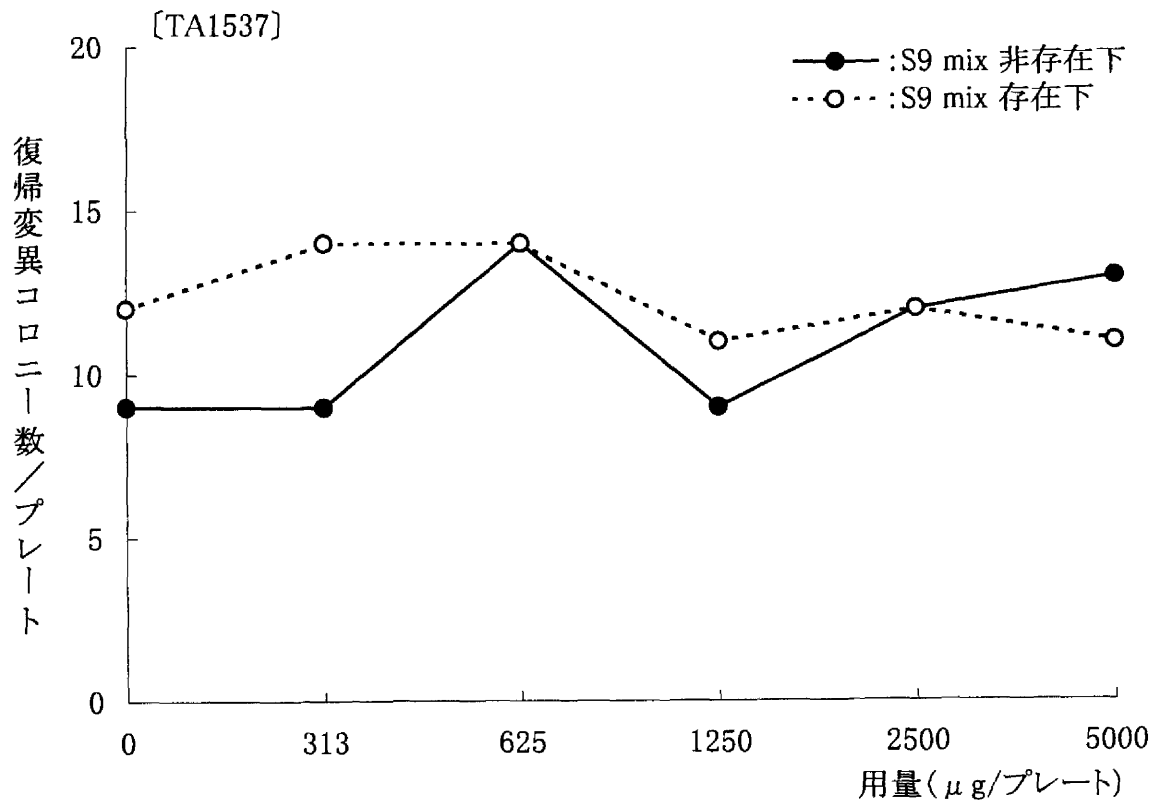


図 2-1 1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの
 復帰突然変異試験結果—本試験2回目

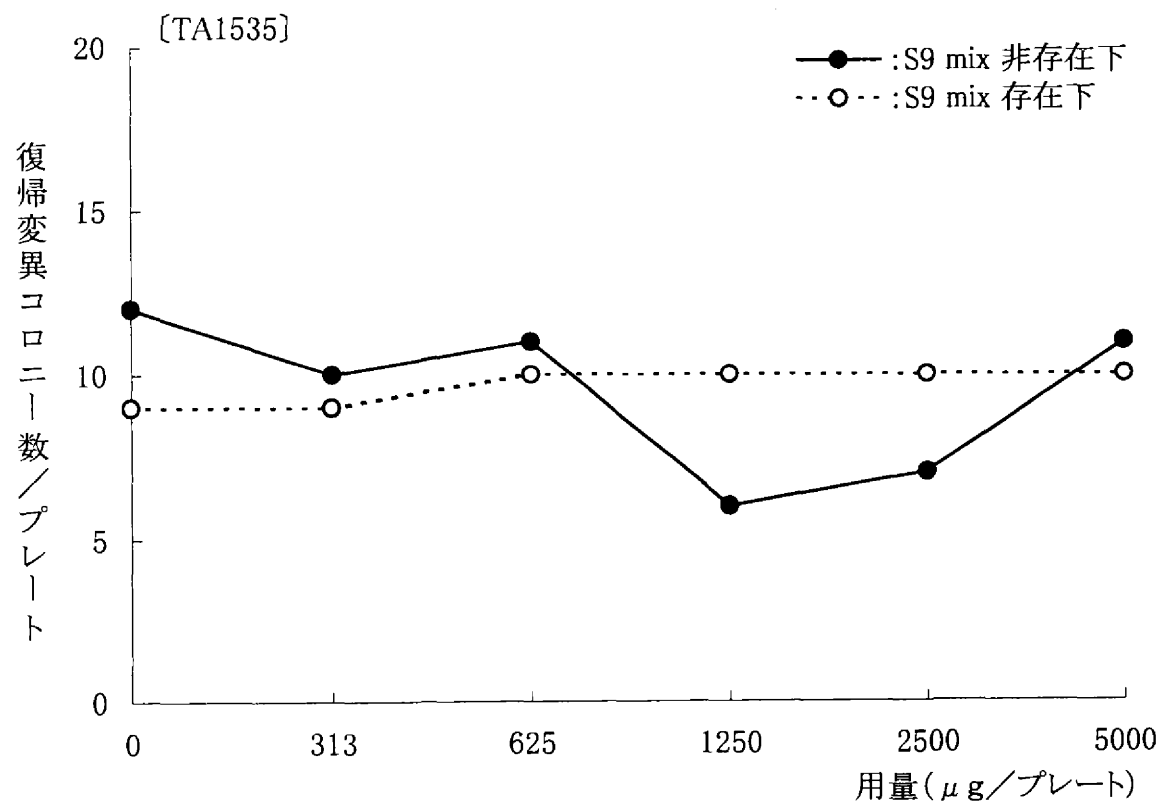
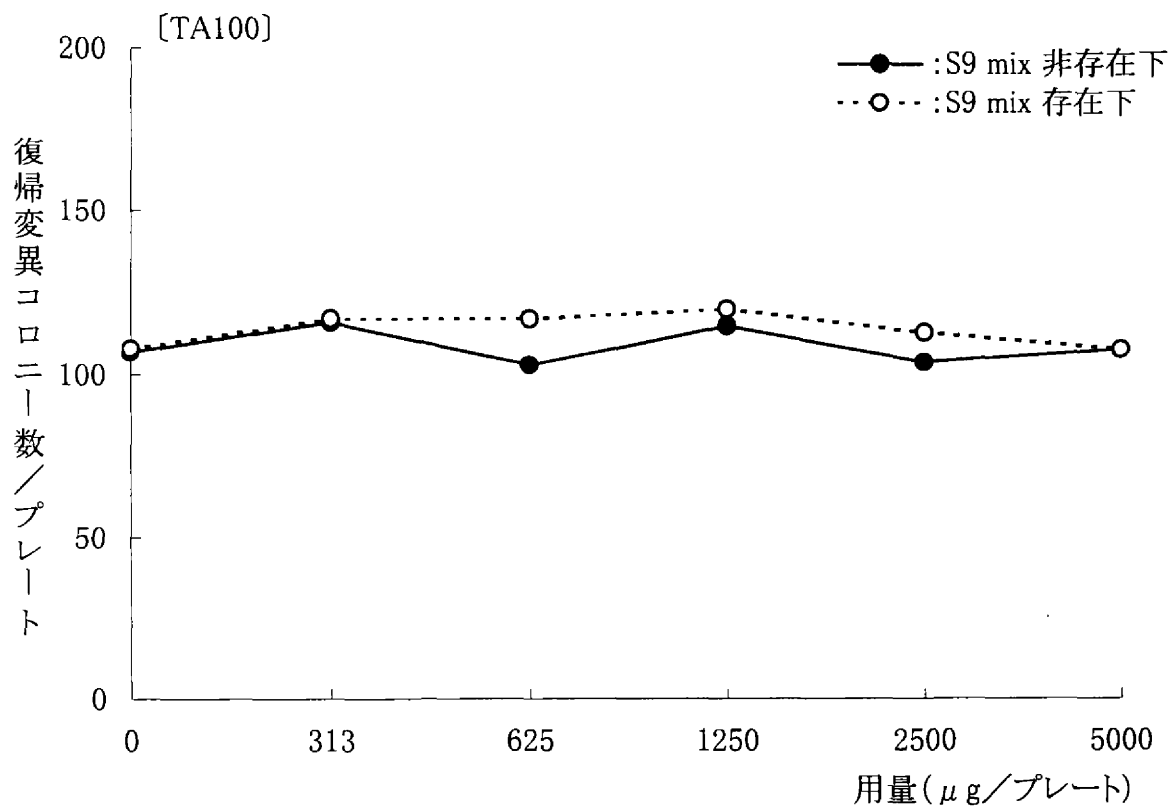
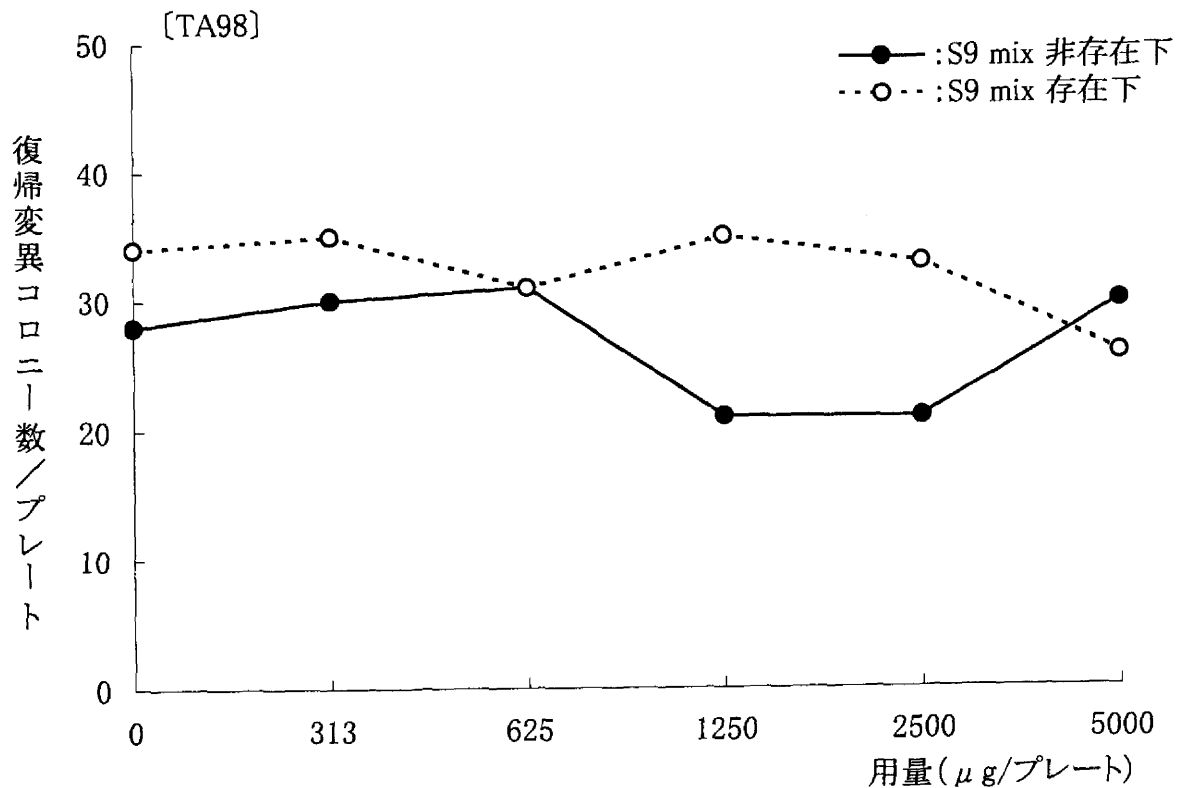
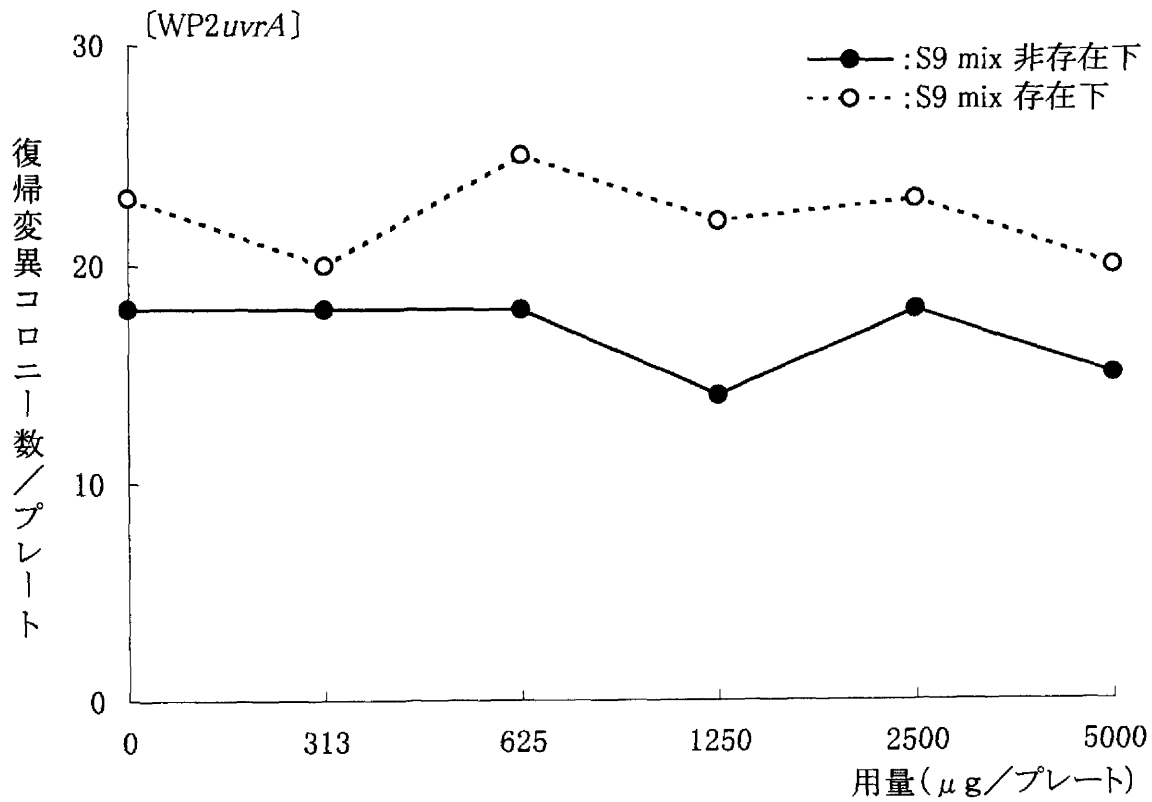


図 2-2 1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの
 復帰突然変異試験結果—本試験2回目



2-3 1,1-ビス(*tert*-ブチルペロキシ)-3,3,5-トリメチルシクロヘキサンの
復帰突然変異試験結果一本試験2回目

