

# 最終報告書

N,N-ジメチルメタンアミンの細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：4173（115-091）

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 N,N-Dimethylmethanamine in strain TA100	F-1
Figure 2	Bacterial reversion test of N,N-Dimethylmethanamine in strain TA1535	F-2
Figure 3	Bacterial reversion test of N,N-Dimethylmethanamine in strain WP2 <i>uvrA</i>	F-3
Figure 4	Bacterial reversion test of N,N-Dimethylmethanamine in strain TA98	F-4
Figure 5	Bacterial reversion test of N,N-Dimethylmethanamine in strain TA1537	F-5

Tables		T-1 ~4
Table 1	Results of the bacterial reversion test of N,N-Dimethylmethanamine (1st trial) [direct method : -S9]	T-1
Table 2	Results of the bacterial reversion test of N,N-Dimethylmethanamine (1st trial) [activation method : +S9]	T-2
Table 3	Results of the bacterial reversion test of N,N-Dimethylmethanamine (2nd trial) [direct method : -S9]	T-3
Table 4	Results of the bacterial reversion test of N,N-Dimethylmethanamine (2nd trial) [activation method : +S9]	T-4

## 1. 要約

本試験条件下において、N,N-ジメチルメタンアミンには遺伝子突然変異を誘起する作用がないものと判断した。

N,N-ジメチルメタンアミ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、N,N-ジメチルメタンアミン処理では 39.1~5000  $\mu\text{g}$ /プレートのおよびの試験用量においても、ラット肝ミクロソーム (S9) 添加の有無にかかわらず、陰性対照に比べ復帰突然変異コロニー数の明確な増加は認められなかった。

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

N,N-ジメチルメタンアミ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**

N,N-ジメチルメタンアミン

【N,N-Dimethylmethanamine】

**11.2. ロット番号****11.3. 純度**

30.8 wt%

**11.4. 保管条件**

直射日光を避け、冷暗所に保管

**11.5. 別名**

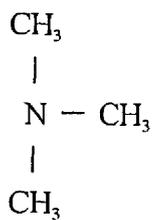
Trimethylamine

**11.6. 化学名**

N,N-ジメチルメタンアミン

**11.7. CAS 番号**

75-50-3

**11.8. 構造式又は示性式****11.9. 分子量**

59.11

**11.10. 不純物の名称及び濃度**

ジメチルアミン：10 ppm 以下

**11.11. 常温における性状**

30%水溶液

11.12. 融点／沸点

融点：5℃

沸点：32℃

11.13. 溶媒に対する溶解度等

水に易溶

11.14. 安定性

密閉状態，冷暗所保存では安定

11.15. 蒸気圧

49 kPa (20℃)

11.16. 取り扱い上の注意

適切な保護具を着用して取り扱った。火気に近づけなかった。

11.17. 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：4174）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3月31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; 三洋電機メデカシステム株式会社)に保存(-80°C)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1月19日製造, Lot No. AN040AO)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. 412E1389) - 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 : 東京理化工機株式会社) 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>invA</i>	TA98	TA1537
本試験 1 回目	3.29	3.09	3.87	3.08	1.98
本試験 2 回目	3.92	3.23	3.91	3.44	2.08

#### 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-400）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-400
- b. 調製日 平成 11 年 3 月 25 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 187～232 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 24.20 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

本被験物質は水溶液 (30.8 w/v% 溶液) であり, かつ, 水溶液中で安定であることから被験物質を注射用水 (株式会社 大塚製薬工場; Lot No. K8J76) を用いて希釈して調製原液とした. 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, 原液中での被験物質濃度が 30.8 w/v% であることを考慮して調製した.

## 12.6. 対照群

## 12.6.1. 陰性 (溶媒) 対照

使用溶媒で試験した.

## 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 にトッパアガーをそれぞれ 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、N,N-ジメチルメタンアミ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 ( $\mu\text{g}$ /プレート)	S9 mix	復帰突然変異コロニー数				
		TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
0	-	136	10	20	18	3
19.5	-	148	5	30	21	7
78.1	-	119	9	20	19	9
313	-	117	10	15	18	3
1250	-	78*	7*	15*	19*	4*
0	+	115	10	17	28	15
19.5	+	111	12	21	26	12
78.1	+	105	11	24	27	10
313	+	129	11	23	24	10
1250	+	85*	6*	21	38	8*

\*：生育阻害作用

直接法の全菌株ならびに代謝活性化法の TA100, TA1535 および TA1537 では 1250  $\mu\text{g}$ /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明確な増加傾向は認められなかった。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、それぞれ 6~7 用量 (公比 2) 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 ( $\mu\text{g}$ /プレート)				
	TA100	TA1535	WP2 $uvrA$	TA98	TA1537
直接法	1250	1250	1250	1250	1250
代謝活性化法	1250	1250	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、トップアガーを 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。

なお、本試験 1 回目において、代謝活性化法の場合、大腸菌の 5000  $\mu$ g/プレートにおいては強い生育阻害作用の影響により、背景菌が目視できるほどのコロニーを形成していた。従って、コロニーアナライザーの使用は不適切と判断し、目視でコロニー数を計数した。

## 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。

### 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, 2 に示した。

N,N-ジメチルメタンアミン処理群の場合、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。しかしながら、復帰突然変異コロニー数は、各試験菌株のいずれの用量においても陰性対照と同等の値であり、明確な増加傾向は認められなかった。

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 3, 4 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が、いずれの菌株においても復帰突然変異コロニー数の明確な増加傾向は認められなかった。

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。

#### 14. 考察および結論

N,N-ジメチルメタンアミンの変異原性，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，N,N-ジメチルメタンアミン処理群では直接法および代謝活性化法のいずれにおいても，陰性対照と比較し復帰突然変異コロニー数の明確な増加は認められなかった。

また，本被験物質（N,N-ジメチルメタンアミン）の変異原性に関する報告はなかったが，類縁体である Dimethylamine については Ames 試験で疑陽性<sup>1)</sup>，Dimethylamine hydrochloride では染色体異常試験で陰性<sup>2)</sup>，Methylamine ではマウスリンフォーマ試験で陽性<sup>3)</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 N,N-ジメチルメタンアミンの微生物に対する遺伝子突然変異誘発性は陰性と判定した。

15. 参考文献

- 1) Green, N. R. and Savage, J. R. : Screening of safrole, eugenol, their ninhydrin positive metabolites and selected secondary amines for potential mutagenicity, *Mutat. Res.*, 57, 115~122, 1978
- 2) Ishidate, M. Jr. and Odashima, S. : Chromosome tests with 134 compounds on chinese hamster cells in vitro – A screening for chemical carcinogens, *Mutat. Res.*, 48, 337~354, 1977
- 3) Caspary, W. J. and Myhr, B. : Mutagenicity of methylisocyanate and its reaction products to cultured mammalian cells, *Mutat. Res.*, 174(4), 285~293, 1986

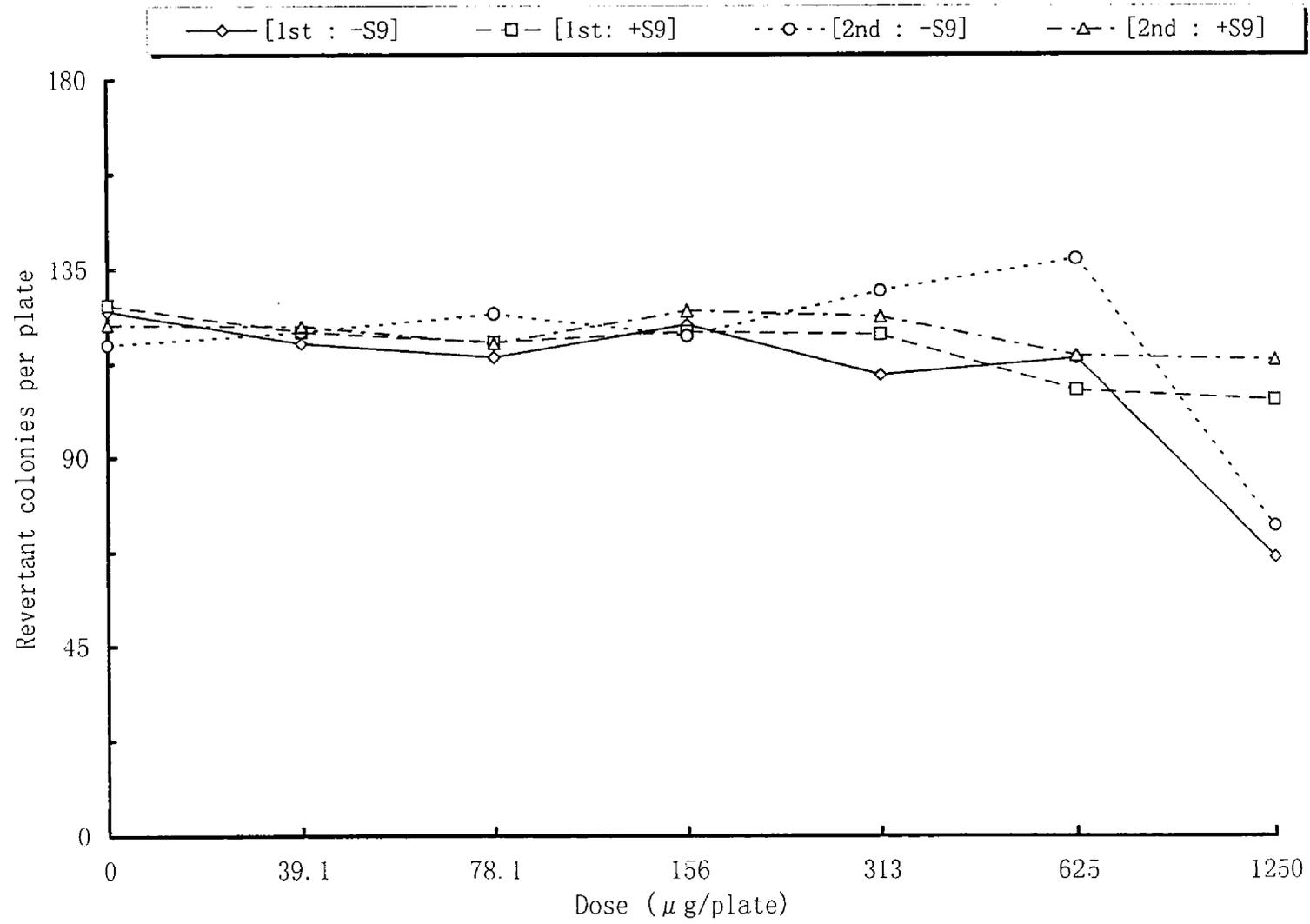


Figure 1. Bacterial reversion test of N,N-Dimethylmethanamine in strain TA100

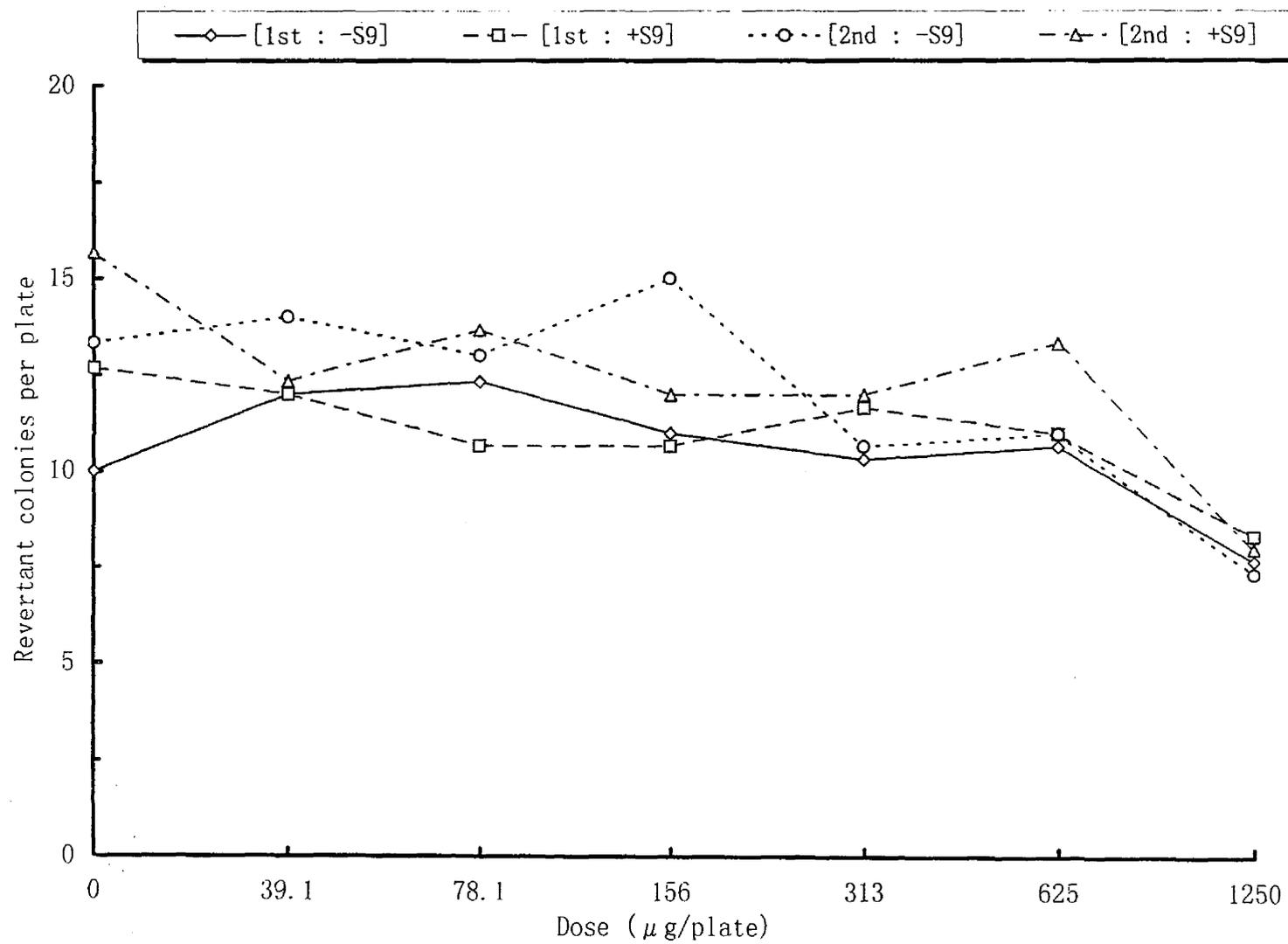


Figure 2. Bacterial reversion test of N,N-Dimethylmethanamine in strain TA1535

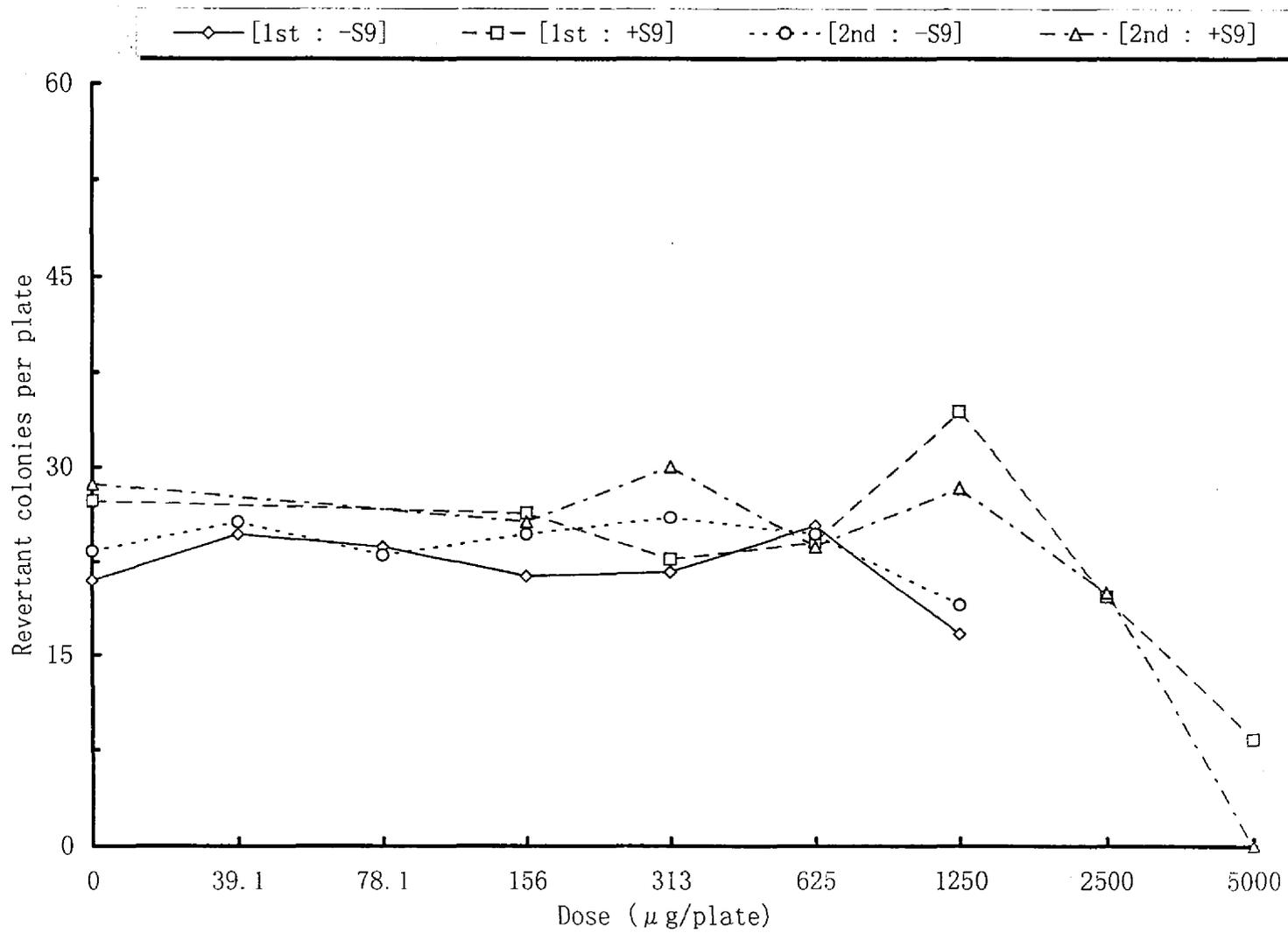


Figure 3. Bacterial reversion test of N,N-Dimethylmethanamine in strain WP2uvrA

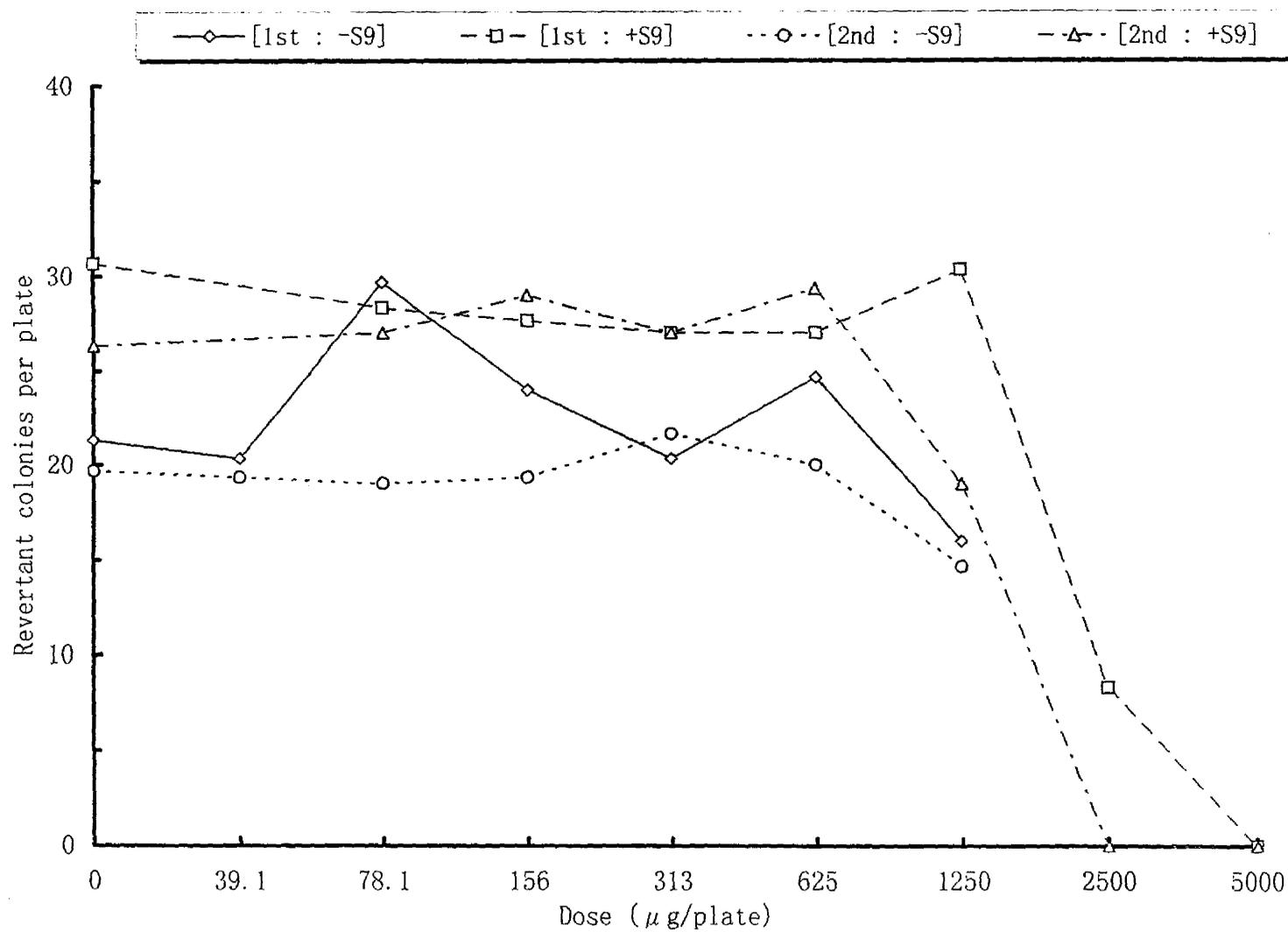


Figure 4. Bacterial reversion test of N,N-Dimethylmethanamine in strain TA98

F-5

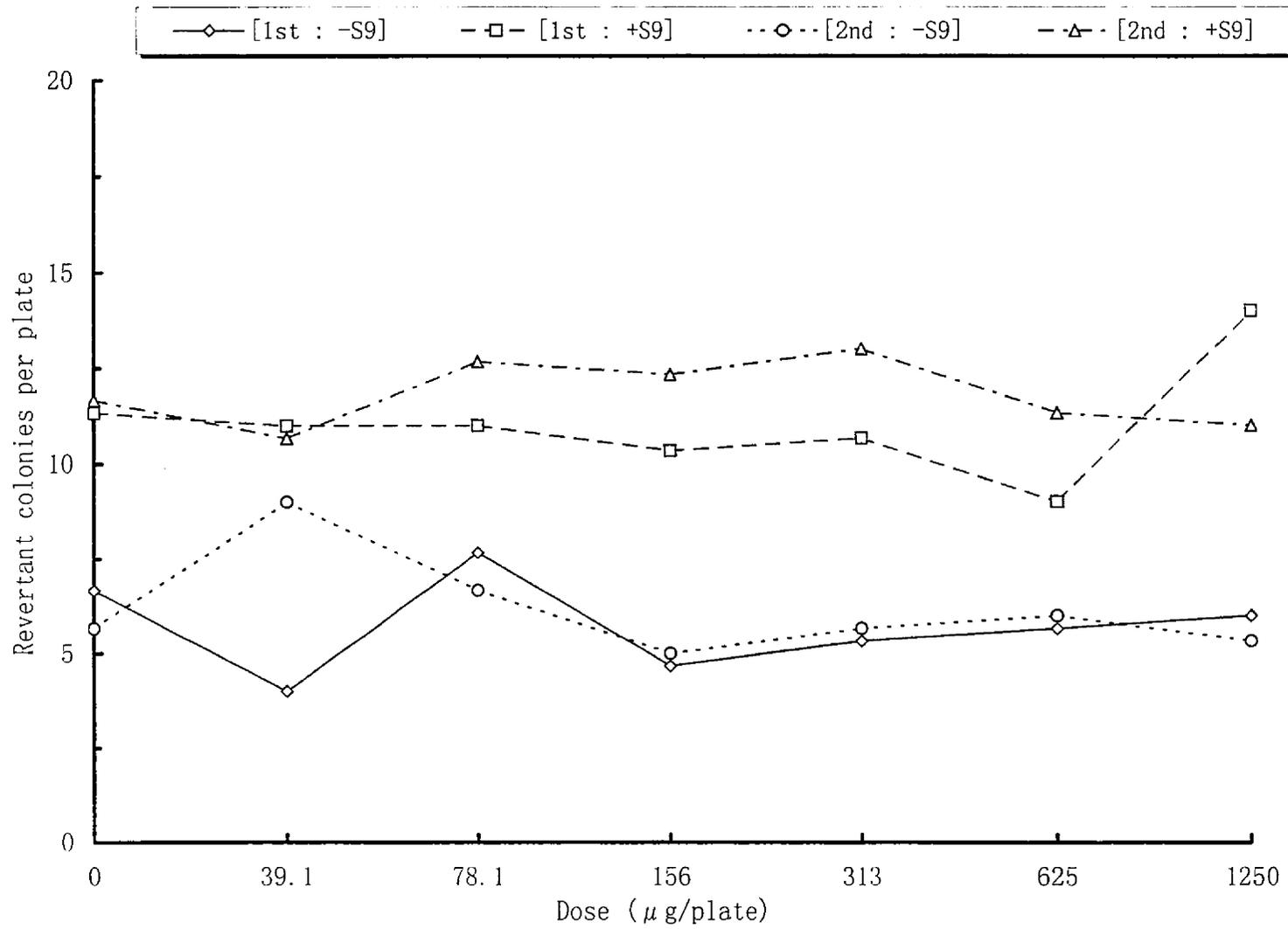


Figure 5. Bacterial reversion test of N,N-Dimethylmethanamine in strain TA1537

Table 1. Results of the bacterial reversion test of N,N-Dimethylmethanamine (1st trial)  
[direct method : -S9]

Compound	Dose ( $\mu$ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]														
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98			TA1537		
Test substance	0	122	134	119	9	10	11	21	20	22	20	22	22	7	8	5
		[125 $\pm$	8]	[10 $\pm$	1]	[21 $\pm$	1]	[21 $\pm$	1]	[7 $\pm$	2]					
	39.1	121	111	120	10	11	15	24	24	26	20	20	21	4	4	4
		[117 $\pm$	6]	[12 $\pm$	3]	[25 $\pm$	1]	[20 $\pm$	1]	[4 $\pm$	0]					
	78.1	113	117	112	14	10	13	24	23	24	29	31	29	9	7	7
		[114 $\pm$	3]	[12 $\pm$	2]	[24 $\pm$	1]	[30 $\pm$	1]	[8 $\pm$	1]					
	156	121	120	124	12	11	10	20	24	20	25	21	26	6	4	4
	[122 $\pm$	2]	[11 $\pm$	1]	[21 $\pm$	2]	[24 $\pm$	3]	[5 $\pm$	1]						
313	109	114	106	9	10	12	23	21	21	19	22	20	5	6	5	
	[110 $\pm$	4]	[10 $\pm$	2]	[22 $\pm$	1]	[20 $\pm$	2]	[5 $\pm$	1]						
625	116	112	113	10	10	12	28	22	26	24	27	23	5	3	9	
	[114 $\pm$	2]	[11 $\pm$	1]	[25 $\pm$	3]	[25 $\pm$	2]	[6 $\pm$	3]						
1250	68 *	64 *	67 *	7 *	10 *	6 *	18 *	16 *	16 *	14 *	15 *	19 *	7 *	6 *	5 *	
	[66 $\pm$	2]	[8 $\pm$	2]	[17 $\pm$	1]	[16 $\pm$	3]	[6 $\pm$	1]						
Positive control	530	506	522 <sup>a)</sup>	404	413	416 <sup>b)</sup>	120	128	123 <sup>a)</sup>	696	661	657 <sup>c)</sup>	426	413	434 <sup>d)</sup>	
	[519 $\pm$	12]	[411 $\pm$	6]	[124 $\pm$	4]	[671 $\pm$	21]	[424 $\pm$	11]						

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 N,N-Dimethylmethanamine (1st trial)  
[activation method : +S9]

Compound	Dose ( $\mu$ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]															
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98			TA1537			
Test substance	0	128	127	124	12	11	15	27	25	30	30	32	30	11	13	10	
		[126 $\pm$	2]	[13 $\pm$	2]	[27 $\pm$	3]	[31 $\pm$	1]	[11 $\pm$	2]						
	39.1	121	116	123	11	12	13							9	13	11	
		[120 $\pm$	4]	[12 $\pm$	1]										[11 $\pm$	2]	
	78.1	114	120	119	10	11	11				26	32	27	10	12	11	
		[118 $\pm$	3]	[11 $\pm$	1]				[28 $\pm$	3]	[11 $\pm$	1]					
	156	118	122	120	11	9	12	28	25	26	29	26	28	10	10	11	
		[120 $\pm$	2]	[11 $\pm$	2]	[26 $\pm$	2]	[28 $\pm$	2]	[10 $\pm$	1]						
	313	119	120	119	11	14	10	22	24	22	25	29	27	10	13	9	
	[119 $\pm$	1]	[12 $\pm$	2]	[23 $\pm$	1]	[27 $\pm$	2]	[11 $\pm$	2]							
625	107	105	106	12 *	9 *	12 *	23	24	25	31	26	24	9 *	7 *	11 *		
	[106 $\pm$	1]	[11 $\pm$	2]	[24 $\pm$	1]	[27 $\pm$	4]	[9 $\pm$	2]							
1250	110 *	104 *	97 *	8 *	9 *	8 *	33	33	37	31 *	31 *	29 *	14 *	18 *	10 *		
	[104 $\pm$	7]	[8 $\pm$	1]	[34 $\pm$	2]	[30 $\pm$	1]	[14 $\pm$	4]							
2500							19 *	18 *	22 *	6 *	10 *	9 *					
							[20 $\pm$	2]	[8 $\pm$	2]							
5000							5 *	9 *	11 *	0 *	0 *	0 *					
							[8 $\pm$	3]	[0 $\pm$	0]							
Positive control		758	753	761 <sup>a)</sup>	286	302	300 <sup>b)</sup>	808	772	798 <sup>c)</sup>	270	298	284 <sup>d)</sup>	158	162	172 <sup>b)</sup>	
		[757 $\pm$	4]	[296 $\pm$	9]	[793 $\pm$	19]	[284 $\pm$	14]	[164 $\pm$	7]						

a) : 2-AA; 2-Aminoanthracene, 1  $\mu$ g/plate    b) : 2-AA, 2  $\mu$ g/plate    c) : 2-AA, 10  $\mu$ g/plate    d) : 2-AA, 0.5  $\mu$ g/plate

\* : Growth inhibition was observed

Table 3. Results of the bacterial reversion test of N,N-Dimethylmethanamine (2nd trial)  
[direct method : -S9]

Compound	Dose ( $\mu$ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S.D.]														
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98			TA1537		
Test substance	0	125	117	109	12	13	15	25	25	20	20	20	19	5	7	5
		[117 $\pm$		8]	[13 $\pm$		2]	[23 $\pm$		3]	[20 $\pm$		1]	[6 $\pm$		1]
	39.1	123	120	117	13	14	15	22	26	29	19	18	21	11	8	8
		[120 $\pm$		3]	[14 $\pm$		1]	[26 $\pm$		4]	[19 $\pm$		2]	[9 $\pm$		2]
	78.1	122	126	125	13	12	14	26	21	22	18	20	19	8	6	6
		[124 $\pm$		2]	[13 $\pm$		1]	[23 $\pm$		3]	[19 $\pm$		1]	[7 $\pm$		1]
	156	127	112	118	17	14	14	25	25	24	24	17	17	6	5	4
	[119 $\pm$		8]	[15 $\pm$		2]	[25 $\pm$		1]	[19 $\pm$		4]	[5 $\pm$		1]	
313	125	129	135	10	12	10	25	27	26	23	20	22	7	4	6	
	[130 $\pm$		5]	[11 $\pm$		1]	[26 $\pm$		1]	[22 $\pm$		2]	[6 $\pm$		2]	
625	130	145	137	11	12	10	28	26	20	21	21	18	6	5	7	
	[137 $\pm$		8]	[11 $\pm$		1]	[25 $\pm$		4]	[20 $\pm$		2]	[6 $\pm$		1]	
1250	75 *	75 *	71 *	6 *	8 *	8 *	18 *	19 *	20 *	16 *	16 *	12 *	7 *	4 *	5 *	
	[74 $\pm$		2]	[7 $\pm$		1]	[19 $\pm$		1]	[15 $\pm$		2]	[5 $\pm$		2]	
Positive control		525	508	480 <sup>a)</sup>	409	402	427 <sup>b)</sup>	160	155	159 <sup>a)</sup>	523	552	553 <sup>c)</sup>	411	419	419 <sup>d)</sup>
		[504 $\pm$		23]	[413 $\pm$		13]	[158 $\pm$		3]	[543 $\pm$		17]	[416 $\pm$		5]

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 4. Results of the bacterial reversion test of N,N-Dimethylmethanamine (2nd trial)  
[activation method : +S9]

Compound	Dose ( $\mu$ g/plate)	Revertant colonies per plate [Mean $\pm$ S. D.]														
		TA100			TA1535			WP2uvrA			TA98			TA1537		
Test substance	0	118	125	122	16	15	16	27	29	30	25	30	24	10	15	10
		[122 $\pm$ 4]		[16 $\pm$ 1]		[29 $\pm$ 2]		[26 $\pm$ 3]		[12 $\pm$ 3]						
	39.1	120	121	123	11	12	14							8	11	13
		[121 $\pm$ 2]		[12 $\pm$ 2]										[11 $\pm$ 3]		
	78.1	124	121	107	17	12	12				30	25	26	11	14	13
		[117 $\pm$ 9]		[14 $\pm$ 3]							[27 $\pm$ 3]		[13 $\pm$ 2]			
	156	117	129	129	13	10	13	23	26	28	31	28	28	14	10	13
		[125 $\pm$ 7]		[12 $\pm$ 2]				[26 $\pm$ 3]		[29 $\pm$ 2]		[12 $\pm$ 2]				
	313	125	120	126	13	10	13	29	30	31	26	28	27	13	14	12
	[124 $\pm$ 3]		[12 $\pm$ 2]				[30 $\pm$ 1]		[27 $\pm$ 1]		[13 $\pm$ 1]					
625	123	109	111	15 *	12 *	13 *	22	24	25	32	28	28	11 *	13 *	10 *	
	[114 $\pm$ 8]		[13 $\pm$ 2]				[24 $\pm$ 2]		[29 $\pm$ 2]		[11 $\pm$ 2]					
1250	112 *	114 *	114 *	9 *	7 *	8 *	30	25	30	17 *	22 *	18 *	12 *	9 *	12 *	
	[113 $\pm$ 1]		[8 $\pm$ 1]				[28 $\pm$ 3]		[19 $\pm$ 3]		[11 $\pm$ 2]					
2500							19 *	20 *	21 *	0 *	0 *	0 *				
							[20 $\pm$ 1]		[0 $\pm$ 0]							
5000							0 *	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *				
							[0 $\pm$ 0]		[0 $\pm$ 0]							
Positive control		759	776	742 <sup>a)</sup>	286	290	252 <sup>b)</sup>	602	609	623 <sup>c)</sup>	362	368	383 <sup>d)</sup>	140	148	150 <sup>b)</sup>
		[759 $\pm$ 17]		[276 $\pm$ 21]			[611 $\pm$ 11]		[371 $\pm$ 11]		[146 $\pm$ 5]					

a) : 2-AA; 2-Aminoanthracene, 1  $\mu$ g/plate    b) : 2-AA, 2  $\mu$ g/plate    c) : 2-AA, 10  $\mu$ g/plate    d) : 2-AA, 0.5  $\mu$ g/plate

\* : Growth inhibition was observed