

# 最終報告書

1,3,5-トリス (2-ヒドロキシエチル) -1,3,5-トリアジン-2,4,6-(1H,3H,5H)-トリオンの  
細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号：4177 ( 115-095 )

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 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- in strain TA100	F-1
Figure 2	Bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- in strain TA1535	F-2
Figure 3	Bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- in strain WP2 <i>uvrA</i>	F-3
Figure 4	Bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- in strain TA98	F-4
Figure 5	Bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- in strain TA1537	F-5

Tables		T-1~4
Table 1	Results of the bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- (1st trial) [direct method : -S9]	T-1
Table 2	Results of the bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- (1st trial) [activation method : +S9]	T-2
Table 3	Results of the bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- (2nd trial) [direct method : -S9]	T-3
Table 4	Results of the bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- (2nd trial) [activation method : +S9]	T-4

## 1. 要約

本試験条件下において、1,3,5-トリス (2-ヒドロキシエチル) -1,3,5-トリアジン-2,4,6-(1H,3H,5H)-トリオ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。

1,3,5-トリス (2-ヒドロキシエチル) -1,3,5-トリアジン-2,4,6-(1H,3H,5H)-トリオ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、1,3,5-トリス (2-ヒドロキシエチル) -1,3,5-トリアジン-2,4,6-(1H,3H,5H)-トリオン処理では 156~5000  $\mu\text{g}$ /プレート のいずれ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

1,3,5-トリス (2-ヒドロキシエチル) -1,3,5-トリアジン-2,4,6-(1H,3H,5H)-トリオ  
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

1,3,5-トリス (2-ヒドロキシエチル) -1,3,5-トリアジン-2,4,6-(1H,3H,5H)-トリオン  
 【1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione,1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)-】

## 11.2. ロット番号

## 11.3. 純度

99.0 wt%

## 11.4. 保管条件

冷暗所

## 11.5. 別名

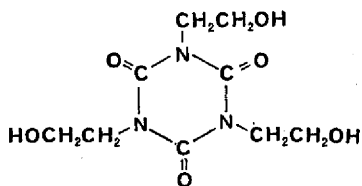
タナック

トリス (2-ヒドロキシエチル) イソシアヌレート

## 11.6. CAS 番号

839-90-7

## 11.7. 構造式又は示性式



## 11.8. 分子量

261.24

## 11.9. 不純物の名称

イソシアヌル酸

## 11.10. 常温における性状

白色粉末

## 11.11. 融点

135℃

## 11.12. 沸点

180℃, 3 mmHg で分解

**11.13. 溶媒に対する溶解度等**

水 : 120 g/100 g (25°C)

アセトン : 1.9 g/100 g (25°C)

メタノール : 20 g/100 g (25°C)

**11.14. 安定性**

水, 光に対して安定. 分解温度 296°C

**11.15. 取り扱い上の注意**

接触, 吸入を防止するために長袖着, 保護具を着用した. 火気に近づけないようにした.

**11.16. 残余被験物質の処理**

被験物質の残余は, 被験物質提供元に返却した.

## 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 *uvrA* (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 を含む下記の組成の溶液 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>uvrA</i>	TA98	TA1537
本試験 1 回目	3.44	3.32	3.52	3.90	2.05
本試験 2 回目	3.53	3.68	4.25	3.18	1.97

## 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  | 24.2 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

本被験物質は水に易溶であり、かつ、溶液中で安定であった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）に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。

## 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℃）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	1.0	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	2.0	〃	(ネズミチフス菌：TA1535)
d. 2-AA	2.0	〃	(ネズミチフス菌：TA1537)
e. 2-AA	10.0	〃	(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°C 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。

1,3,5-トリス (2-ヒドロキシエチル) -1,3,5-トリアジン-2,4,6-(1H,3H,5H)-トリオ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 <sub>uvrA</sub>	TA98	TA1537
0	-	135	9	16	15	8
19.5	-	113	9	18	14	5
78.1	-	105	9	28	14	7
313	-	93	6	14	12	7
1250	-	105	7	19	16	4
0	+	106	8	27	21	13
19.5	+	125	10	20	26	12
78.1	+	105	10	24	30	20
313	+	97	11	17	28	11
1250	+	102	12	20	27	13

直接法，代謝活性化法のいずれの試験用量においても菌株に対する生育阻害作用は観察されず，復帰突然変異コロニー数の明確な増加傾向も認められなかった。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 <sub>uvrA</sub>	TA98	TA1537
直接法	5000	5000	5000	5000	5000
代謝活性化法	5000	5000	5000	5000	5000

### 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

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。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。

### 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.

1,3,5-トリス (2-ヒドロキシエチル) -1,3,5-トリアジン-2,4,6-(1H,3H,5H)-トリオン処理群の場合, 直接法, 代謝活性化法の各試験用量とも試験菌株に対する生育阻害作用は観察されなかった. また, 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, 代謝活性化法の各試験用量とも試験菌株に対する生育阻害作用は観察されず, また, 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

1,3,5-トリス (2-ヒドロキシエチル) -1,3,5-トリアジン-2,4,6-(1H,3H,5H)-トリオンの変異原性, 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 5000  $\mu\text{g}$ /プレートまで検討した. その結果, 1,3,5-トリス (2-ヒドロキシエチル) -1,3,5-トリアジン-2,4,6-(1H,3H,5H)-トリオ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, 本被験物質の類縁体である 1,3,5-Trichloro-1,3,5-triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione については Ames 試験で陰性との報告があり, 1,3,5-Triethylhexahydro-1,3,5-triazine, Triallyl-1,3,5-triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione, ならびに Trichloromelamine の変異原性に関する報告はなかった.

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 1,3,5-トリス (2-ヒドロキシエチル) -1,3,5-トリアジン-2,4,6-(1H,3H,5H)-トリオ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) 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，東京，1996.

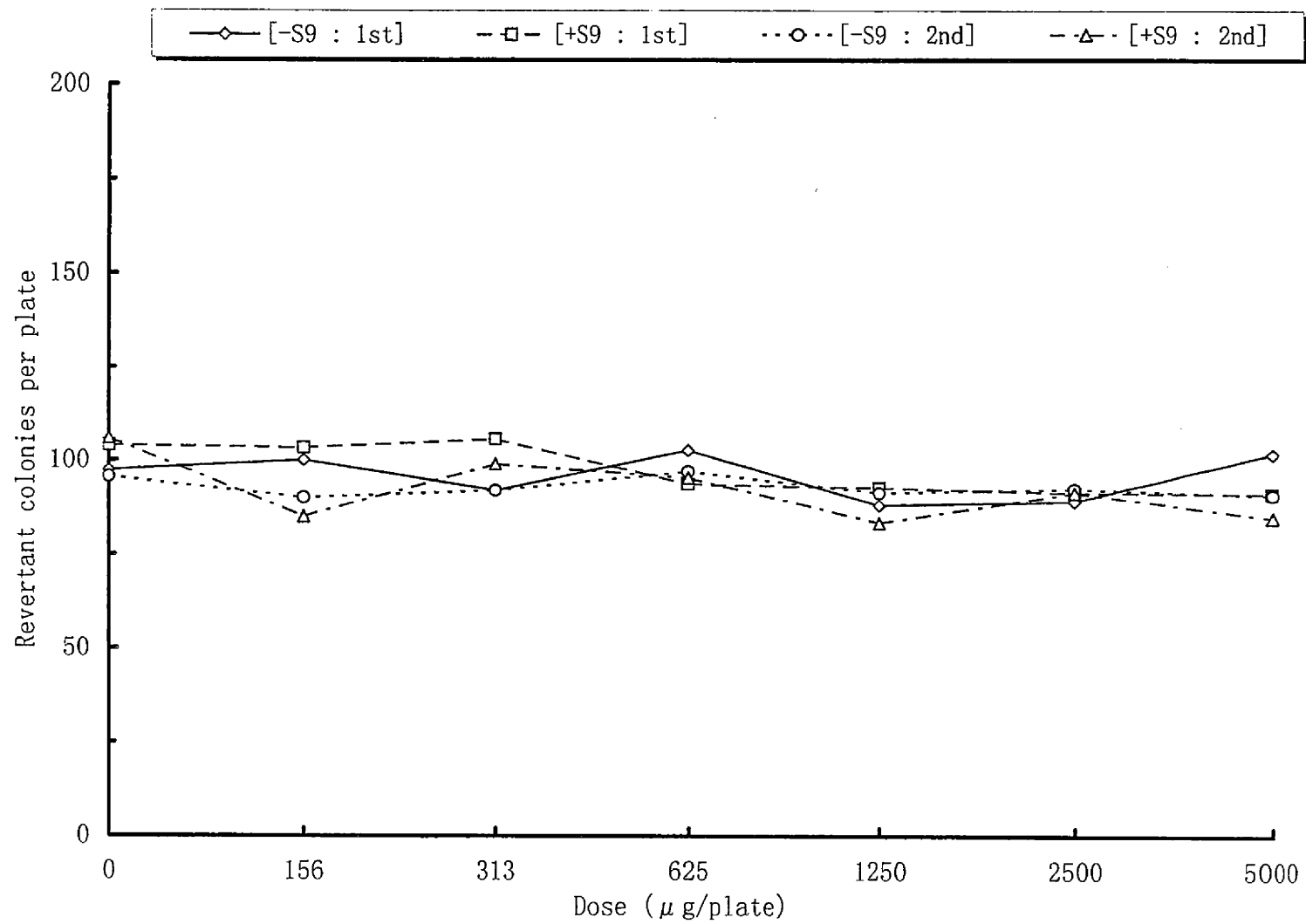


Figure 1. Bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- in strain TA100

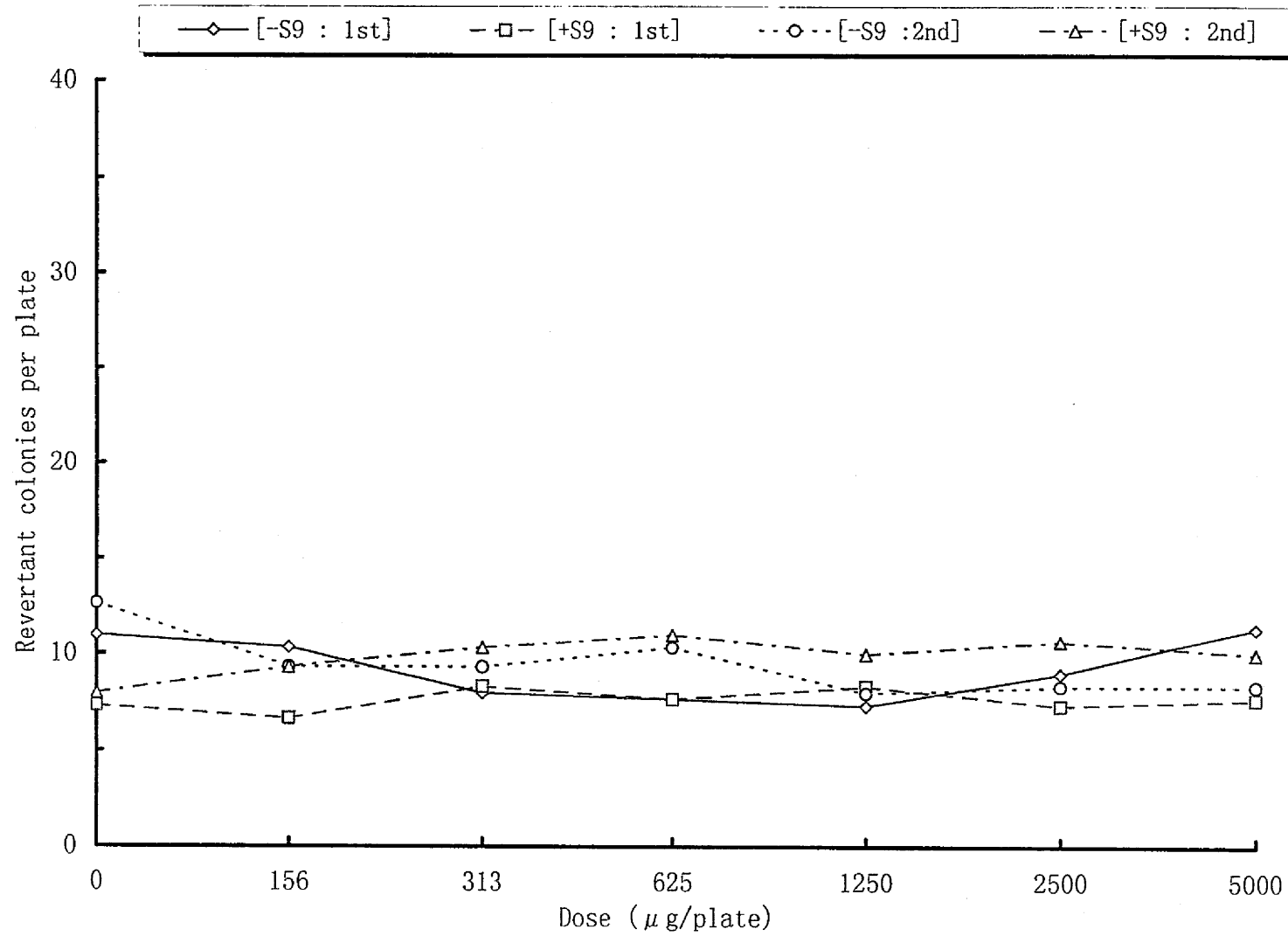


Figure 2. Bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- in strain TA1535

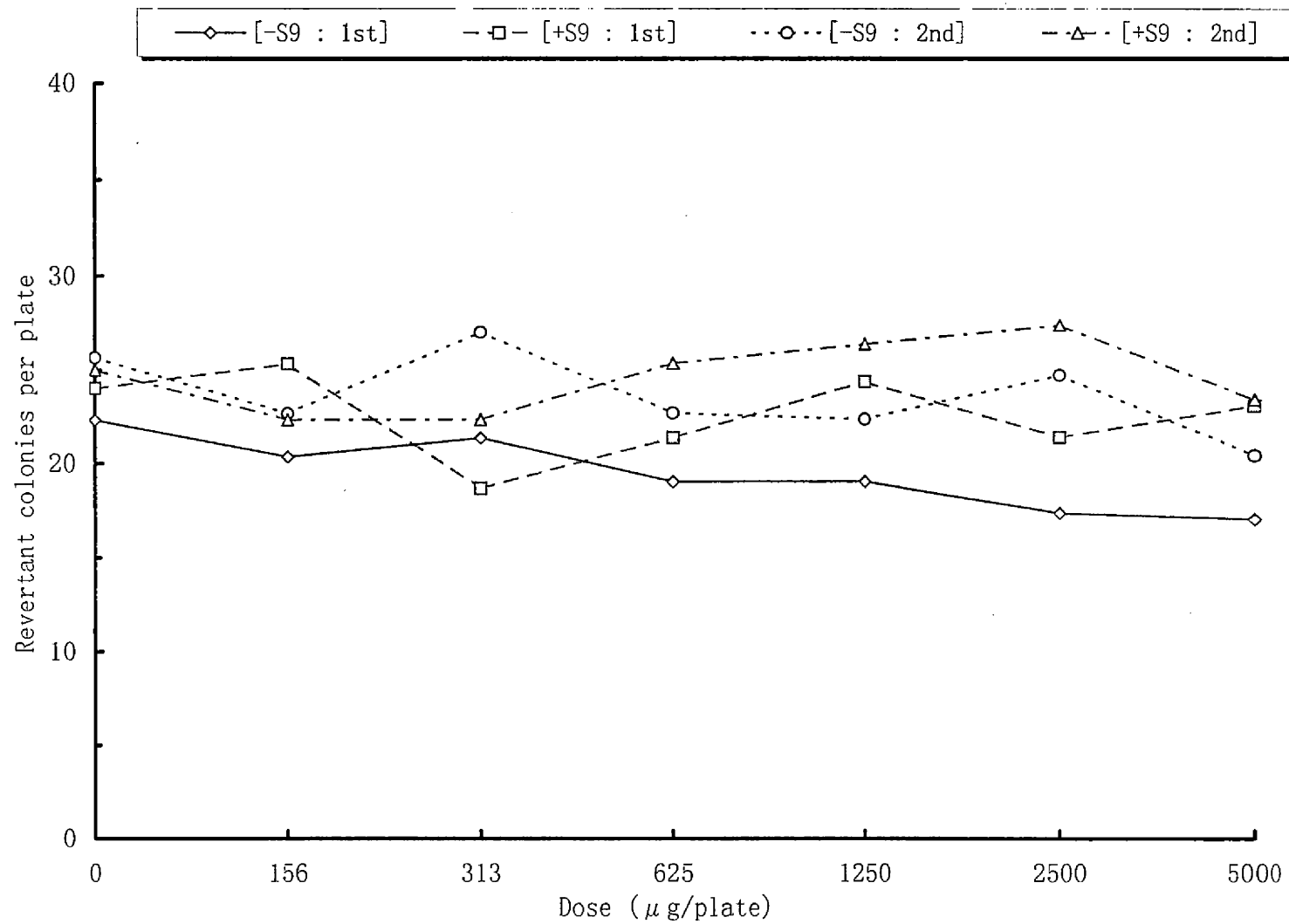


Figure 3. Bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- in strain WP2uvrA

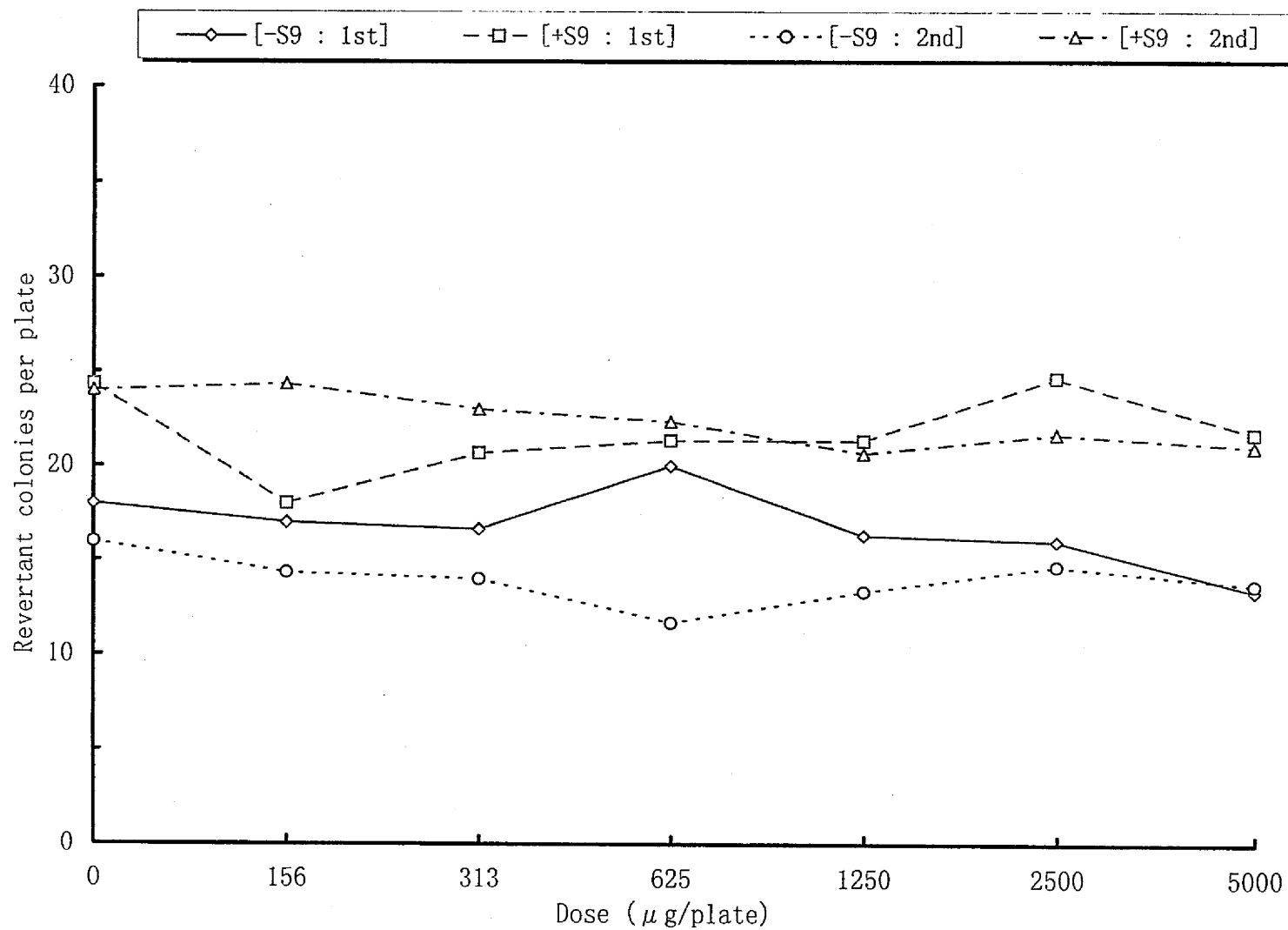


Figure 4. Bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- in strain TA98

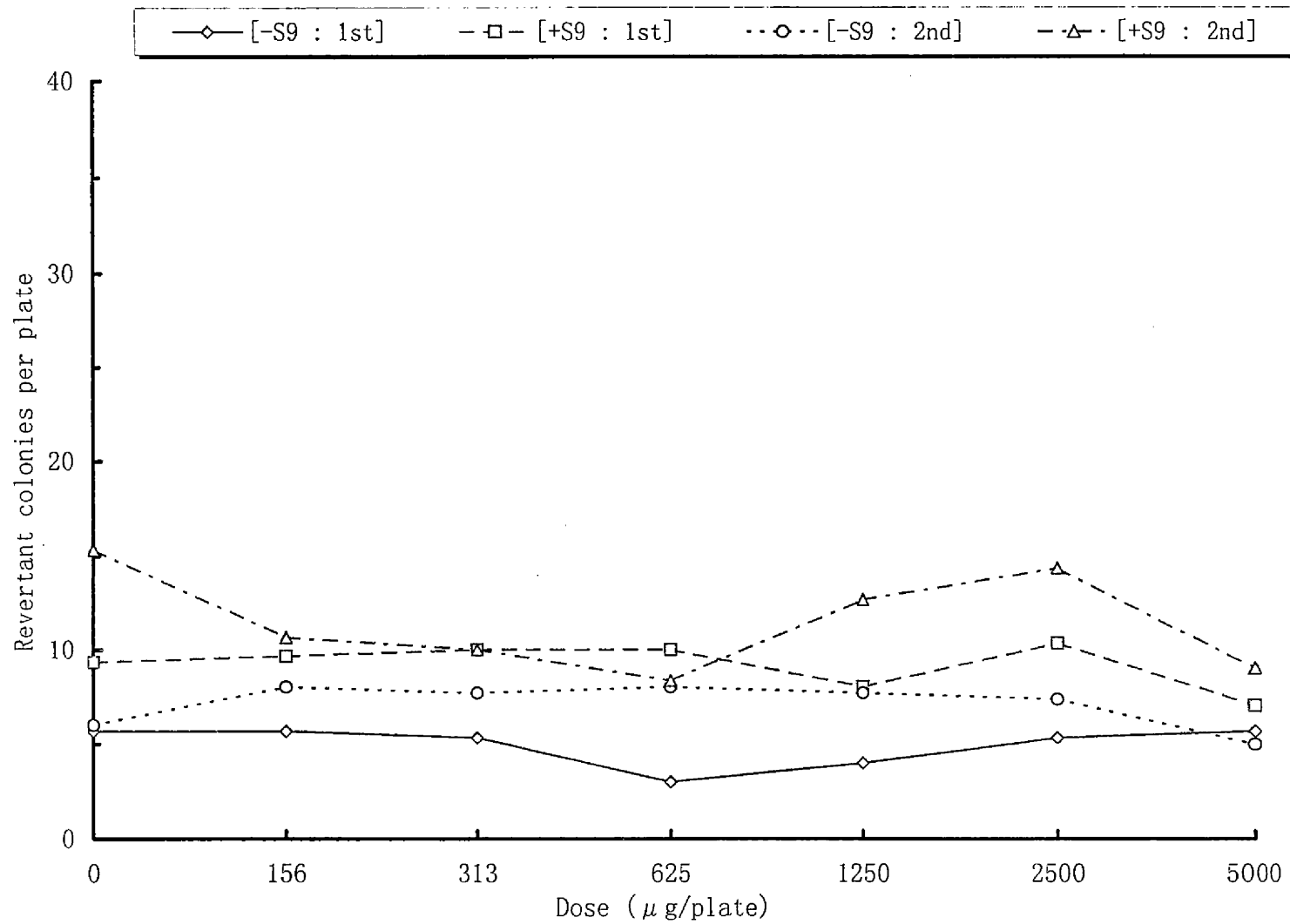


Figure 5. Bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trione, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- in strain TA1537

Table 1. Results of the bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trion, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)-  
(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	100	97	95	12	12	9	24	24	19	17	16	21	5	6	6
		[ 97 $\pm$		3]	[ 11 $\pm$		2]	[ 22 $\pm$		3]	[ 18 $\pm$		3]	[ 6 $\pm$		1]
	156	103	101	96	11	11	9	21	23	17	20	16	15	5	5	7
		[100 $\pm$		4]	[ 10 $\pm$		1]	[ 20 $\pm$		3]	[ 17 $\pm$		3]	[ 6 $\pm$		1]
	313	95	88	93	9	7	8	22	20	22	15	17	18	5	5	6
		[ 92 $\pm$		4]	[ 8 $\pm$		1]	[ 21 $\pm$		1]	[ 17 $\pm$		2]	[ 5 $\pm$		1]
	625	107	101	100	9	6	8	17	22	18	20	24	16	3	4	2
	[103 $\pm$		4]	[ 8 $\pm$		2]	[ 19 $\pm$		3]	[ 20 $\pm$		4]	[ 3 $\pm$		1]	
1250	84	90	90	6	7	9	17	16	24	19	16	14	2	6	4	
	[ 88 $\pm$		3]	[ 7 $\pm$		2]	[ 19 $\pm$		4]	[ 16 $\pm$		3]	[ 4 $\pm$		2]	
2500	91	89	87	9	10	8	21	17	14	14	18	16	6	5	5	
	[ 89 $\pm$		2]	[ 9 $\pm$		1]	[ 17 $\pm$		4]	[ 16 $\pm$		2]	[ 5 $\pm$		1]	
5000	96	103	106	10	13	11	17	16	18	14	12	14	7	4	6	
	[102 $\pm$		5]	[ 11 $\pm$		2]	[ 17 $\pm$		1]	[ 13 $\pm$		1]	[ 6 $\pm$		2]	
Positive control		475	469	484 <sup>a)</sup>	384	369	355 <sup>b)</sup>	122	136	138 <sup>a)</sup>	651	663	659 <sup>d)</sup>	416	438	406 <sup>d)</sup>
		[476 $\pm$		8]	[369 $\pm$		15]	[132 $\pm$		9]	[658 $\pm$		6]	[420 $\pm$		16]

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

Table 2. Results of the bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trion, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)-  
(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	104	104	104	8	6	8	23	27	22	24	28	21	9	10	9
		[104 $\pm$	0]	[ 7 $\pm$	1]	[ 24 $\pm$	3]	[ 24 $\pm$	4]	[ 9 $\pm$	1]					
	156	104	104	102	6	6	8	25	24	27	19	17	18	7	11	11
		[103 $\pm$	1]	[ 7 $\pm$	1]	[ 25 $\pm$	2]	[ 18 $\pm$	1]	[ 10 $\pm$	2]					
	313	108	106	103	9	10	6	18	21	17	19	25	18	11	8	11
		[106 $\pm$	3]	[ 8 $\pm$	2]	[ 19 $\pm$	2]	[ 21 $\pm$	4]	[ 10 $\pm$	2]					
	625	94	93	94	8	6	9	24	19	21	22	23	19	9	13	8
	[ 94 $\pm$	1]	[ 8 $\pm$	2]	[ 21 $\pm$	3]	[ 21 $\pm$	2]	[ 10 $\pm$	3]						
1250	89	94	95	10	7	8	27	24	22	25	22	17	11	7	6	
	[ 93 $\pm$	3]	[ 8 $\pm$	2]	[ 24 $\pm$	3]	[ 21 $\pm$	4]	[ 8 $\pm$	3]						
2500	89	91	94	8	8	6	21	20	23	24	28	22	8	14	9	
	[ 91 $\pm$	3]	[ 7 $\pm$	1]	[ 21 $\pm$	2]	[ 25 $\pm$	3]	[ 10 $\pm$	3]						
5000	92	88	93	9	7	7	22	21	26	19	26	20	8	7	6	
	[ 91 $\pm$	3]	[ 8 $\pm$	1]	[ 23 $\pm$	3]	[ 22 $\pm$	4]	[ 7 $\pm$	1]						
Positive control		785	822	853 <sup>a)</sup>	349	348	363 <sup>b)</sup>	653	667	646 <sup>c)</sup>	410	422	401 <sup>d)</sup>	142	148	132 <sup>b)</sup>
		[820 $\pm$	34]	[353 $\pm$	8]	[655 $\pm$	11]	[411 $\pm$	11]	[141 $\pm$	8]					

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



Table 3. Results of the bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trion, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)-(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	104	96	87	13	10	15	23	29	25	16	15	17	8	6	4
		[ 96 $\pm$	9]	[ 13 $\pm$	3]	[ 26 $\pm$	3]	[ 16 $\pm$	1]	[ 6 $\pm$	2]					
	156	87	97	86	7	12	9	27	21	20	14	15	14	9	6	9
		[ 90 $\pm$	6]	[ 9 $\pm$	3]	[ 23 $\pm$	4]	[ 14 $\pm$	1]	[ 8 $\pm$	2]					
	313	106	85	85	8	10	10	23	30	28	17	16	9	8	9	6
		[ 92 $\pm$	12]	[ 9 $\pm$	1]	[ 27 $\pm$	4]	[ 14 $\pm$	4]	[ 8 $\pm$	2]					
	625	106	95	90	11	12	8	22	22	24	9	14	12	5	8	11
	[ 97 $\pm$	8]	[ 10 $\pm$	2]	[ 23 $\pm$	1]	[ 12 $\pm$	3]	[ 8 $\pm$	3]						
1250	102	89	83	9	9	6	20	27	20	15	15	10	6	9	8	
	[ 91 $\pm$	10]	[ 8 $\pm$	2]	[ 22 $\pm$	4]	[ 13 $\pm$	3]	[ 8 $\pm$	2]						
2500	94	100	83	9	10	6	23	23	28	16	13	15	10	7	5	
	[ 92 $\pm$	9]	[ 8 $\pm$	2]	[ 25 $\pm$	3]	[ 15 $\pm$	2]	[ 7 $\pm$	3]						
5000	81	101	90	8	10	7	21	23	17	11	13	17	4	6	5	
	[ 91 $\pm$	10]	[ 8 $\pm$	2]	[ 20 $\pm$	3]	[ 14 $\pm$	3]	[ 5 $\pm$	1]						
Positive control		445	432	416 <sup>a)</sup>	371	375	335 <sup>b)</sup>	107	119	124 <sup>a)</sup>	655	621	607 <sup>c)</sup>	489	426	460 <sup>d)</sup>
		[431 $\pm$	15]	[360 $\pm$	22]	[117 $\pm$	9]	[628 $\pm$	25]	[458 $\pm$	32]					

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

Table 4. Results of the bacterial reversion test of 1,3,5-Triazine-2,4,6-(1H,3H,5H)-trion, 1,3,5-tris(2-hydroxyethyl)- (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	104	102	112	7	8	9	23	25	27	24	22	26	14	17	15
		[106 $\pm$	5]	[ 8 $\pm$	1]	[ 25 $\pm$	2]	[ 24 $\pm$	2]	[ 15 $\pm$	2]					
	156	86	87	82	12	9	7	22	22	23	24	23	26	14	9	9
		[ 85 $\pm$	3]	[ 9 $\pm$	3]	[ 22 $\pm$	1]	[ 24 $\pm$	2]	[ 11 $\pm$	3]					
	313	100	93	104	11	12	8	19	23	25	18	28	23	12	7	11
		[ 99 $\pm$	6]	[ 10 $\pm$	2]	[ 22 $\pm$	3]	[ 23 $\pm$	5]	[ 10 $\pm$	3]					
	625	99	86	101	14	10	9	19	29	28	27	22	18	7	7	11
	[ 95 $\pm$	8]	[ 11 $\pm$	3]	[ 25 $\pm$	6]	[ 22 $\pm$	5]	[ 8 $\pm$	2]						
1250	80	83	87	12	11	7	23	26	30	21	17	24	14	13	11	
	[ 83 $\pm$	4]	[ 10 $\pm$	3]	[ 26 $\pm$	4]	[ 21 $\pm$	4]	[ 13 $\pm$	2]						
2500	100	88	86	11	9	12	26	27	29	22	25	18	16	14	13	
	[ 91 $\pm$	8]	[ 11 $\pm$	2]	[ 27 $\pm$	2]	[ 22 $\pm$	4]	[ 14 $\pm$	2]						
5000	80	80	94	9	8	13	21	24	25	18	25	20	7	10	10	
	[ 85 $\pm$	8]	[ 10 $\pm$	3]	[ 23 $\pm$	2]	[ 21 $\pm$	4]	[ 9 $\pm$	2]						
Positive control		888	892	885 <sup>a)</sup>	411	365	400 <sup>b)</sup>	659	660	675 <sup>c)</sup>	408	405	417 <sup>d)</sup>	127	139	145 <sup>b)</sup>
		[888 $\pm$	4]	[392 $\pm$	24]	[665 $\pm$	9]	[410 $\pm$	6]	[137 $\pm$	9]					

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