

1-フェニル-1-キシリルエタンのほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

最終報告書
(報告日: 2001 年 3 月 14 日)



1 表題および試験番号

表題 : 1-フェニル-1-キシリルエタンのほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

試験番号 : 2000TT280

2 試験目的

1-フェニル-1-キシリルエタンの染色体異常誘発性について、ほ乳類培養細胞を用いて検討する。

3 試験委託者

所在地 : 東京都渋谷区西原 2-49-10

名称 : 経済産業省製品評価技術センター 化学物質安全管理センター

4 試験施設

所在地 : 長野県伊那市西箕輪 8047 番地

名称 : 株式会社 イナ リサーチ

5 試験実施場所

第2研究所(長野県伊那市西箕輪 2148 番地)

被験物質調製, 分析(安定性試験・濃度確認)およびデータの解析

本社研究所(長野県伊那市西箕輪 8047 番地)

細胞培養, 染色体異常試験, 染色体標本の作製, 観察, 資料および標本の保存

6 試験期間

試験開始日 : 2001 年 1 月 24 日

実験開始日(細胞増殖抑制試験開始日) : 2001 年 2 月 2 日

染色体異常試験開始日 : 2001 年 2 月 16 日


実験終了日(染色体標本観察終了日) : 2001 年 3 月 2 日

試験終了日 : 2001 年 3 月 14 日

7 試験責任者

所属: 株式会社 イナ リサーチ

8 試験従事者

業務分担	担当者
被験物質調製	
染色体異常試験	
投与液分析	
a) 担当責任者	

9 試験計画書, 被験物質のサンプル, 生データ, 標本および最終報告書の保存

保存機関: 株式会社 イナ リサーチ

保存番号: 2000280

保存期間: 最終報告書提出後 10 年間

目 次

	ページ
I 要約.....	1
II 緒言.....	1
III 材料および方法.....	1
1 被験物質.....	1
2 陽性対照物質	1
3 陰性対照物質	1
4 使用細胞種および培養条件	2
4.1 使用細胞種	2
4.2 培養条件	2
5 試験方法.....	2
5.1 細胞培養液(以下、培養液と略)	2
5.2 薬物代謝活性化酵素系(S9 mix)	2
5.3 被験物質および陽性対照物質の調製、添加条件下における被験物質の 安定性ならびに接種液の分析	3
5.3.1 被験物質の調製、添加条件下における被験物質の安定性ならびに 接種液の分析	3
5.3.2 陽性対照物質の調製	3
5.4 細胞増殖抑制試験(予備試験)	3
5.5 染色体異常試験	4
5.5.1 短時間処理法	4
5.5.2 連続処理法(直接法 24 ならびに 48 時間処理)	4
5.6 染色体標本の作製	4
5.7 染色体標本の観察	5
6 結果の判定	5
IV 成績.....	5
V 考察.....	6
文献.....	7

添付資料

付表 : Supplement 1~4-2

総括表: Table 1~4, Appendix 1-1~3

I 要 約

1-フェニル-1-キシリルエタンのほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を実施し、その染色体異常誘発性を検討した。

その結果、薬物代謝活性化酵素系(S9 mix)の存在下(代謝活性化法)ならびに非存在下(直接法)において、陰性対照群と比較して染色体の構造異常ならびに数的異常出現率に有意な増加は認められなかった。

以上の結果から、本試験条件下でチャイニーズ・ハムスター培養細胞染色体の異常誘発性に関しては陰性と判定された。

II 緒 言

1-フェニル-1-キシリルエタンの遺伝毒性試験の一環として、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験を実施し、その結果が得られたので報告する。本試験は、OECD GLP (1997)およびOECD ガイドライン「*In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test 473」(1997)に準拠して実施した。

III 材料および方法

1 被験物質

1-フェニル-1-キシリルエタン(以下、スチリルキシレンと略)は無色透明の液体である。本試験に用いたスチリルキシレンは[redacted]より提供され、その品質はSupplement 1に示すとおりである。入手時から返却時まで、本剤を室温で保存した。なお、試験終了後に[redacted]が実施した分析結果から、本剤の試験期間中の安定性が確認されている(Supplement 2)。

2 陽性対照物質

(1) Mitomycin C(以下、MMCと略): 直接法において使用

本試験に使用したMMC(ロット番号: 318AJD)は協和発酵工業株式会社より購入した。なお、本剤は入手時から使用時まで気密、遮光、室温の条件下で保存した。

(2) Benzo(a)pyrene(以下、BaPと略): 代謝活性化法において使用

本試験に使用したBaP(ロット番号: GG01)は、東京化成工業株式会社より購入した。なお、本剤は入手時から使用時まで気密、遮光、冷蔵(約4℃)の条件下で保存した。

3 陰性対照物質

被験物質および陽性対照物質の媒体ならびに陰性対照群への接種液として、Dimethyl Sulfoxide(DMSO)を使用した。本試験に使用したDMSO(ロット番号: ELH7677)は和光純薬工業株式会社より購入し、入手時から使用時まで室温で保存した。

4 使用細胞種および培養条件

4.1 使用細胞種

新生チャイニーズ・ハムスター雌の肺由来線維芽様細胞株である CHL/IU(以下, CHL 細胞と略)を使用した。本試験に使用した CHL 細胞は 2000 年 8 月 2 日にヒューマンサイエンス研究資源バンクより購入し, その後当施設において維持(凍結保存年月日: 2000 年 8 月 14 日, 保存時継代数: 3)されたものである。試験の際には, 凍結保存していた細胞懸濁液を解凍し, 継代培養を行った CHL 細胞を用いた。また, 試験操作開始前に当該細胞の性状について検査した結果, 倍加時間: 14.2 時間, マイコプラズマ汚染: 陰性, 染色体数: 25 本(モード)であり, すべて正常と判定された。なお, 試験時の CHL 細胞の継代数は細胞増殖抑制試験で 7, 8 代, 本試験で 11, 13 代であった。

4.2 培養条件

細胞の培養には CO₂ インキュベーターを使用した。5%CO₂ の空气中, 37℃, 高湿度の環境条件とした CO₂ インキュベーター内で組織培養用フラスコあるいはプラスチックシャーレに細胞を播種し, 静置して培養した。

5 試験方法

5.1 細胞培養液(以下, 培養液と略)

Eagle's MEM 液体培地(ロット番号: 1085893, 1085894, 製造元: Life Technologies Inc.)に非働化処理仔牛血清(ロット番号: 1068210, Life Technologies Inc.)を最終濃度 10 vol%となるように加えたものを培養液とした。

5.2 薬物代謝活性化酵素系(S9 mix)

ラット肝ホモジネート上清分画(ロット番号: 00102708, 製造元: オリエンタル酵母工業株式会社, 以下, S9 と略)および Cofactor-C(ロット番号: C00101705, オリエンタル酵母工業株式会社)を購入し, S9 mix を調製した。本試験に使用した S9 は誘導剤として Phenobarbital と 5,6-Benzoflavone で前処理した生後 7 週齢の Sprague-Dawley 系雄ラット由来のものであり, 使用時まで Cofactor-C と共に -80℃以下で凍結保存した。S9 mix は用時調製し, 試験操作終了時まで氷水中で保存した。S9 mix 1 mL 中の組成を下表に要約して示した。

成 分	S9 mix 1 mL 中の量	成 分	S9 mix 1 mL 中の量
S9	0.3 mL	4 μ mol/L NADP ^{b)}	0.1 mL
5 μ mol/L MgCl ₂	0.1 mL	滅菌蒸留水	0.1 mL
33 μ mol/L KCl	0.1 mL	4 μ mol/L	0.2 mL
5 μ mol/L G-6-P ^{a)}	0.1 mL	HEPES 緩衝液(pH7.2)	

a) グルコース-6-リン酸

b) ニコチンアミド-アデニンジヌクレオチドリン酸

5.3 被験物質および陽性対照物質の調製, 添加条件下における被験物質の安定性ならびに接種液の分析

5.3.1 被験物質の調製, 添加条件下における被験物質の安定性ならびに接種液の分析

(1) 被験物質の調製

調製は添加当日に行った。所定量を純度換算(換算係数:1.093)して秤量し, DMSO に溶解して, 最高濃度溶液を調製した。これを順次 DMSO で希釈して, 各濃度液を調製した。

(2) 添加条件下における被験物質の安定性

スチリルキシレンを DMSO に溶解して 10 $\mu\text{g/mL}$ および 420 mg/mL とした場合, 室温で 6 時間安定であることが確認されている(Supplement 3)。

(3) 接種液の分析(濃度確認)

本試験の調製時に, 被験物質群の接種液(直接法 6 時間ならびに代謝活性化法; 1.75, 3.5, 7, 14, 28 および 56 mg/mL , 直接法 24 および 48 時間処理; 0.78, 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25 および 50 mg/mL)について濃度確認を行った結果, いずれも調製濃度の $\pm 10\%$ の範囲内であった(Supplement 4-1, 4-2)。

5.3.2 陽性対照物質の調製

調製は添加当日に行った。MMC は所定量を生理食塩液(ロット番号 0A93N, 株式会社 大塚製薬工場)に溶解した。BaP は所定量を 3 項に示す DMSO に溶解した。

5.4 細胞増殖抑制試験(予備試験)

15~1922 $\mu\text{g/mL}$ の 8 用量を設定した。以上の被験物質接種群に加え, 陰性対照群として DMSO を接種する 1 群を設けた。なお, 直接法, 代謝活性化法ともシャーレ数は被験物質群では 2 枚, 陰性対照では 1 枚とした。

1.2 $\times 10^4$ 個/2 mL の細胞浮遊液を直径 35 mm のプラスチックシャーレに播種した。短時間処理法の直接法では, 培養 3 日目に陰性対照物質あるいは被験物質溶液 10 μL を添加した。また, 代謝活性化法の場合は培養液を 335 μL 除き, S9 mix 335 μL , 陰性対照物質あるいは被験物質溶液 10 μL を加えた。添加後, 陰性対照物質あるいは被験物質(以下, 被験物質等と略)の析出の有無を肉眼で確認した。6 時間培養後, 被験物質等の析出の有無を肉眼で確認した。処理液を除いて Dulbecco's リン酸緩衝生理食塩液: Ca^{2+} , Mg^{2+} 不含[以下, PBS (-) と略]で細胞を洗い, 新たに培養液を 2 mL 加えた後, さらに 18 時間培養を続けた。連続(24, 48 時間)処理法では, 1.2 $\times 10^4$ 個/2 mL(48 時間処理の場合は 0.6 $\times 10^4$ 個/2 mL)の細胞浮遊液を直径 35 mm のプラスチックシャーレに播種した。培養 3 日目に陰性対照物質あるいは被験物質溶液 10 μL を添加し, 被験物質等の析出の有無を肉眼で確認した。いずれの処理法でも, 培養時間経過後, 培養液を取り除いて PBS (-) で細胞表面を洗い, 10% 中性緩衝ホルマリン溶液で約 10 分間細胞を固定した。水洗後, 0.1% クリスタル・バイオレット溶液で 10 分間染色し, 水洗して乾燥した。単層培養細胞密度計で細胞密度(増殖抑制率)を測定した。この際, 陰性対照群の細胞増殖率を 100% とし, 被験物質の 50% 細胞増殖抑制濃度(概略値)を求めた。

5.5 染色体異常試験

予備試験の結果を参考に、以下の用量を設定した。最高用量の目安として、細胞増殖抑制率ならびに培養終了時に析出の認められる量を参考とした。

直接法 6 時間処理 ; 0, 8.75, 17.5, 35, 70 および 140 $\mu\text{g/mL}$

直接法 24 および 48 時間処理 ; 0, 3.9, 7.8, 15.6, 31.3, 62.5, 125 および 250 $\mu\text{g/mL}$

代謝活性化法 ; 0, 17.5, 35, 70, 140 および 280 $\mu\text{g/mL}$

陽性対照物質の接種量は、当施設での予備検討の結果および「医薬品のための遺伝毒性試験 Q&A」¹⁾を参考に設定した。

直接法 6 時間処理 ; MMC 0.12 $\mu\text{g/mL}$

直接法 24 および 48 時間処理 ; MMC 0.06 $\mu\text{g/mL}$

代謝活性化法 ; BaP 15 $\mu\text{g/mL}$

なお、直接法、代謝活性化法とも 1 群のシャーレ数は 2 枚とした。また、サテライト群として、同用量の細胞増殖抑制試験も実施した。各用量あたりシャーレ数は 1 枚とした。

5.5.1 短時間処理法

5.5.1.1 直接法 6 時間処理

3×10^4 個/5 mL の細胞浮遊液を直径 60 mm のプラスチックシャーレに播種し、培養 3 日目に陰性対照物質あるいは被験物質溶液を 25 μL 加えた。陽性対照群については、培養液 500 μL を除いて、陽性対照物質溶液(MMC)500 μL を加えた。添加後、被験物質等の析出の有無を肉眼で確認した。6 時間培養後にも、被験物質等の析出の有無を肉眼で確認した。処理液を取り除き、PBS(-)で細胞表面を洗浄して、新たに培養液を 5 mL 加えた後、さらに 18 時間培養を続けた。

5.5.1.2 代謝活性化法

直接法と同様に細胞を培養し、培養 3 日目に培養液 2.5 mL を除いて、S9 mix 0.5 mL (S9 の最終濃度=5%)を加え、続いて陰性対照物質、被験物質あるいは陽性対照物質溶液(BaP)を 15 μL 加えた。被験物質等の析出の有無を肉眼で確認した。6 時間培養後にも、被験物質等の析出の有無を肉眼で確認した。処理液を除いて PBS(-)で細胞表面を洗浄し、新たに培養液を 5 mL 加え、さらに 18 時間培養を続けた。

5.5.2 連続処理法(直接法 24 ならびに 48 時間処理)

3×10^4 個/5 mL (48 時間処理の場合は 1.5×10^4 個/5 mL) の細胞浮遊液を直径 60 mm のプラスチックシャーレに播種し、培養 3 日目に陰性対照物質あるいは被験物質溶液を 25 μL 加えた。陽性対照群については、培養液 500 μL を除いて、陽性対照物質溶液(MMC)500 μL を加えた。被験物質等の析出の有無を肉眼で確認し、24 あるいは 48 時間培養後、被験物質等の析出の有無を肉眼で確認した。

5.6 染色体標本の作製

培養終了の約 2 時間前に、最終濃度が約 0.2 $\mu\text{g/mL}$ となるように colcemid 溶液(和光

純薬工業株式会社)を加え、分裂中期の細胞を蓄積させた。培養時間経過後、処理液を遠心管に移し、trypsin 処理によってシャーレより剥離させた細胞を遠心管に加えて遠心(1000 rpm, 5 分間)した。0.075 mol/L KCl 溶液で低張処理した後、用時調製した冷却固定液(メタノール:酢酸=3:1)で細胞を固定し、さらに遠心分離により固定液を3回交換した。最後の遠心後に得た細胞沈渣に少量の冷却固定液を加えて、細胞懸濁液を作製し、これを脱脂洗浄済みのスライドガラス上に滴下して、風乾した。翌朝 Giemsa 液で15分間染色し、水洗後自然乾燥させた。

5.7 染色体標本の観察

顕微鏡下(600倍、必要に応じて1000倍)で、原則として1シャーレ(標本1枚)につき100個の分裂中期像について盲検法にて観察を行った。染色体異常を構造異常と数的異常に大別し、さらに構造異常はギャップ、染色分体型あるいは染色体型の切断および交換ならびにその他の異常に分類し、これらの異常の有無について検索した。なお、ギャップは染色分体幅よりも狭い非染色性部位とした¹⁾。また、数的異常の観察は3倍体以上の倍数性細胞についてのみ行った。

構造異常について、1種以上の構造異常を有する細胞数(総異常細胞数)をギャップのみが観察された細胞数を含めた場合と含めない場合とでそれぞれ集計し、その出現頻度を算出した。また、数的異常については倍数性細胞数を集計し、その出現頻度を算出した。

6 結果の判定

結果の判定は構造異常と数的異常のそれぞれについて行った。

被験物質群における染色体の構造異常および数的異常を有する細胞の出現頻度が陰性対照群と比較して統計学的に有意に増加し、かつその作用に用量依存性または再現性が認められた場合に陽性と判定した。統計学的解析方法として、構造異常の-gap数(gapのみが観察された細胞数を除いたもの)と数的異常細胞数について、陰性対照とその他の処理群との間でFisherの直接確率法を用いて有意差検定を行った。有意水準は片側1%および5%とした。なお、陰性対照群と被験物質群との間で有意差が認められたため、Cochran・Armitageの傾向検定による用量依存性の検索を行った。

陽性対照群の異常出現率については、蓄積された背景データ(Appendix 3)と比較し、その妥当性を判断した。

IV 成績

試験結果をTable 1~4に示した。

Table 1, 2に示すように、直接法6および24時間、代謝活性化法では120~240 $\mu\text{g/mL}$ で細胞増殖抑制率が最も低い値を示し、直接法48時間処理では60 $\mu\text{g/mL}$ 以上の用量ではほぼ一定の抑制率を示した。被験物質の50%細胞増殖抑制濃度(概略値)は、直接法では、6時間処理で119 $\mu\text{g/mL}$ 、24時間処理で46 $\mu\text{g/mL}$ 、48時間処理で37 $\mu\text{g/mL}$ であり、代謝活性化法では算出できなかった。

これらの結果から、培養終了時点で析出の認められた用量を参考に、5.5項に示す用量を設定して、染色体異常試験を実施した。その観察結果を Table 3, 4, Appendix 1-1, 1-2, 1-3 および 2 に示した。

直接法 6 時間処理では 140 $\mu\text{g/mL}$ 、直接法 24 および 48 時間処理では 250 $\mu\text{g/mL}$ 、代謝活性化法では 140 $\mu\text{g/mL}$ 以上で被験物質の析出が認められた。陰性対照群の構造異常出現率(-gap)は 4.5%以下、倍数性構造異常出現率は 2.5%以下であった。一方、スチリルキシレン処理群では、直接法・代謝活性化法とも、3 用量以上の観察が可能であった。全処理群を通じて、構造異常・倍数性異常出現率は 2.5%以下であり、有意な出現は認められなかった。また、用量依存的な出現傾向も認められなかった。ただし、直接法 6 時間処理では、有意な構造異常出現率の低下(17.5 並びに 35 $\mu\text{g/mL}$)と用量相関性が認められた。なお、本試験で陽性対照として用いた MMC, BaP では、構造異常の有意な出現が認められた。また、48 時間処理の MMC 群に有意な倍数性異常出現率の低下が認められた。

V 考 察

今回、1-フェニル-1-キシリルエタンの遺伝毒性試験の一環としてほ乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験を実施した。

試験には新生チャイニーズ・ハムスター雄の肺由来線維芽様細胞である CHL/IU 細胞を使用した。

用量は、直接法 6 時間処理では 8.75~140 $\mu\text{g/mL}$ の 5 用量、直接法 24 ならびに 48 時間処理では、3.9~250 $\mu\text{g/mL}$ の 7 用量、代謝活性化法では 17.5~280 $\mu\text{g/mL}$ の 5 用量を用い、薬物代謝活性化酵素系(S9 mix)の存在下(代謝活性化法)ならびに非存在下(直接法)で試験を実施した。Appendix 3 に示すように、陽性対照物質 MMC 6 時間処理ならびに 24 時間処理の蓄積された平均構造異常出現率は $61.0 \pm 7.7\%$ ($n=5$, 平均値 \pm S.D.), $55.7 \pm 7.2\%$ ($n=3$)で、本試験での異常出現率(61.0%, 50.5%)と比較して ± 1 S.D. の範囲内にあり、妥当な出現率と考えられた。MMC 48 時間処理の蓄積データはないが、染色体異常試験データ集²⁾では、0.04 $\mu\text{g/mL}$ で 42%と報告されており、今回の出現率 87.0%と比較して用量の違いを考慮すれば妥当と考えられた。また、BaP については、10 $\mu\text{g/mL}$ での蓄積された異常出現率のデータがある($n=5$, $47.2 \pm 14.8\%$)。今回の試験は 15 $\mu\text{g/mL}$ で 43.0%の異常出現率であり、ほぼ妥当と考えられた。したがって、今回の試験成績は有効であり、評価可能と考えられた。

直接法 6 時間処理では、有意な構造異常出現率の低下と用量相関性が認められたが、陰性対照値が高かったための有意な低下であると考えられた。処理群の異常出現率は、1.5 %以下であり他の処理群と同程度の出現率であった。また、MMC 群の有意な倍数性異常出現率の低下は、陰性対照値が比較的高かったことによるもので特に生物学的に意義のあるものではないと考えられた。

以上の結果より、本試験条件下では直接法および代謝活性化法とも構造異常、倍数性異常の有意な増加は認められなかったため、陰性と判定された。

文 献

- 1) 日本製薬工業協会ほか編集：医薬品のための遺伝毒性試験 Q&A，サイエンティスト社，東京，2000.
- 2) 祖父尼 俊雄 監修：染色体異常試験データ集，改訂 1998 年版，株式会社 エル・アイ・シー，東京，1999.

一般的事項

サンプルの名称	1-フェニル-1-キシリルエタン					
別 名	スチリルキシレン					
構造式又は示性式 (いずれも不明の場合は、その製法の概要)						
サンプルの純度	91.5 wt%		サンプルのLot No.	[REDACTED]		
不純物の名称及び濃度	1,1-Diphenylethane:0.2mass%, Indan, 1-methyl-3-phenyl:5.6mass% その他 一成分1mass%未満の構造不明炭化水素類合計: 2.7mass% wt%					
C A S 番 号	40766-31-2		蒸 気 圧	0.1Pa以下		
分 子 量	210		分 配 係 数	-		
融 点	流動点: -47.5℃		常温における性状	無色透明液体		
沸 点	蒸留範囲 初留点: 291.5℃ 95% : 297.0℃ 終点 : 303.5℃					
安 定 性						
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	水	不溶	安定	DMSO	溶解	安定
	アセトン	溶解	安定	その他 ()	炭化水素系 溶剤等によ く溶ける	安定

〔備考〕

1. 「安定性」の欄には、温度、光等に対する安定性を記入して下さい。
2. 「蒸気圧」の欄には、サンプルの蒸気圧を記入して下さい。
3. 「分配係数」の欄には、分配係数、測定温度及び分配係数の測定に用いた溶媒名を記入して下さい。
4. 「溶媒に対する溶解度等」の欄には、サンプルの溶媒に対する溶解度及びその溶媒中での安定性を記入して下さい。

一般的事項

サンプルの名称	1-フェニル-1-キシリルエタン (試験終了後の試料)					
別 名	スチリルキシレン					
構造式又は示性式 (いずれも不明の場合は、その製法の概要)						
サンプルの純度 ^{*1}	90.9 mass%	サンプルのLot No.	[REDACTED]			
不純物の名称及び濃度 ^{*1}	1,1-Diphenylethane:0.2mass%, Indan, 1-methyl-3-phenyl:5.6mass% その他 一成分1mass%未満の構造不明炭化水素類合計:3.3mass%					
C A S 番 号	40766-31-2	蒸 気 圧	-			
分 子 量	210	分 配 係 数	-			
融 点	流動点: - °C	常温における性状	無色透明液体			
沸 点	-					
安 定 性						
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	水	-	-	DMSO	-	-
	アセトン	-	-	その他 ()	-	-

〔備考〕

1. 「安定性」の欄には、温度、光等に対する安定性を記入して下さい。
2. 「蒸気圧」の欄には、サンプルの蒸気圧を記入して下さい。
3. 「分配係数」の欄には、分配係数、測定温度及び分配係数の測定に用いた溶媒名を記入して下さい。
4. 「溶媒に対する溶解度等」の欄には、サンプルの溶媒に対する溶解度及びその溶媒中での安定性を記入して下さい。

注1 サンプル純度および不純物濃度: ガスクロマトグラフ測定

測定条件 カラム; OV-1701

カラム温度; 200°C一定

注入口温度; 300°C

検出器温度; 300°C

No. 2000TT279-S1-1

CERTIFICATE OF ANALYSIS
(STABILITY)

Study No.: 2000TT279
Test article: 1-phenyl-1-xylylethane [REDACTED]
Vehicle: Dimethyl Sulfoxide
Storage container: Glass container
Storage conditions: A: at preparation
B: for 6-hour storage at room temperature
Date of preparation: February 9, 2001
Dates of determination: A: February 9, 2001
B: February 9, 2001
Analyst: [REDACTED]

Results:

Nominal conc.		Conc.	Mean conc.	Remaining (%)	Judgement
10 (μ g/mL)	A	9.468 (μ g/mL)	9.468 (μ g/mL)	-	-
		9.468 (μ g/mL)			
	B	9.607 (μ g/mL)	9.484 (μ g/mL)	100.2	Conforms
		9.361 (μ g/mL)			
420 (mg/mL)	A	410.1 (mg/mL)	403.9 (mg/mL)	-	-
		397.7 (mg/mL)			
	B	413.9 (mg/mL)	408.7 (mg/mL)	101.2	Conforms
		403.5 (mg/mL)			

Judgment criterion: The remaining percentages to the values at preparation ranging from 90-110 % are acceptable.

Conclusion: 1-phenyl-1-xylylethane solutions in dimethyl sulfoxide at 10 μ g/mL and 420 mg/mL are stable for 6-hour storage at room temperature.

Chief investigator:

[REDACTED]

Analytical Services Dept.
Ina Research Inc.

CERTIFICATE OF ANALYSIS
(CONCENTRATIONS)

Study No.: 2000TT280
Test article: 1-phenyl-1-xylylethane
Vehicle: Dimethyl Sulfoxide
Date of preparation: February 19, 2001
Date of determination: February 19, 2001
Analyst:

Result

Nominal Conc. (mg/mL)	Conc. (mg/mL)	Mean conc. (mg/mL)	Percentage to nominal conc.	Judgement
1.75	1.917	1.913	109.3	Conforms
	1.908			
3.5	3.695	3.653	104.4	Conforms
	3.611			
7	7.223	7.186	102.7	Conforms
	7.149			
14	14.85	14.93	106.6	Conforms
	15.00			
28	29.41	29.56	105.6	Conforms
	29.71			
56	55.86	55.79	99.6	Conforms
	55.71			

Judgment criterion: The percentages to nominal concentrations ranging from 90-110% are acceptable.

Chief investigator:

Analytical Services Dept.
Ina Research Inc.

CERTIFICATE OF ANALYSIS
(CONCENTRATIONS)

Study No.: 2000TT280
Test article: 1-phenyl-1-xylylethane
Vehicle: Dimethyl Sulfoxide
Date of preparation: February 26, 2001
Date of determination: February 26, 2001
Analyst:

Result

Nominal Conc. (mg/mL)	Conc. (mg/mL)	Mean conc. (mg/mL)	Percentage to nominal conc.	Judgement
0.78	0.8023 0.7984	0.8004	102.6	Conforms
1.56	1.640 1.628	1.634	104.7	Conforms
3.13	3.295 3.264	3.280	104.8	Conforms
6.25	6.590 6.653	6.622	106.0	Conforms
12.5	13.37 13.43	13.40	107.2	Conforms
25	26.92 27.11	27.02	108.1	Conforms
50	54.35 54.72	54.54	109.1	Conforms

Judgment criterion: The percentages to nominal concentrations ranging from 90-110% are acceptable.

Chief investigator:

Analytical Services Dept.
Ina Research Inc.

Table 1 Growth inhibition test of 1-phenyl-1-xylylethane

Dose (μ g/mL)	6 hours treatment		+S9 treatment	
	Individual data (%)	Mean (%)	Individual data (%)	Mean (%)
0 ^{a)}	100		100	
15	99, 104	101.5 ^{b)}	85, 92	88.5
30	85, 89	87.0	82, 85	83.5
60	64, 75	69.5	82, 67	74.5
120	49, 49	49.0 #	60, 64	62.0
240	45, 54	49.5 #	53, 64	58.5 #
480	75, 59	67.0 #	67, 74	70.5 #
961	70, 70	70.0 #	74, 67	70.5 #
1922	64, 64	64.0 #	64, 74	69.0 #

^{a)} Negative control, 0.5% Dimethyl sulfoxide

^{b)} Growth rate to negative control

Oil drop after 6 hours treatment

Table 2 Growth inhibition test of 1-phenyl-1-xylylethane

Dose (μ g/mL)	24 hours treatment		48 hours treatment	
	Individual data (%)	Mean (%)	Individual data (%)	Mean (%)
0 ^{a)}	100		100	
15	93 , 96	94.5 ^{b)}	88 , 100	94.0
30	78 , 72	75.0	63 , 52	57.5
60	33 , 33	33.0	25 , 30	27.5
120	30 , 24	27.0	22 , 36	29.0
240	30 , 30	30.0 #	25 , 27	26.0 #
480	36 , 42	39.0 #	27 , 38	32.5 #
961	39 , 39	39.0 #	27 , 36	31.5 #
1922	69 , 39	54.0 #	25 , 30	27.5 #

^{a)} Negative control, 0.5% Dimethyl sulfoxide

^{b)} Growth rate to negative control

Oil drop after 24 or 48 hours treatment

Table 3 Chromosomal aberration test of 1-phenyl-1-xylylthane with cultured mammalian cells
- Direct method -

Treatment time ^{a)} (h)	Dose (μ g/mL)	Growth rate (%)	No. of cells	Number of cells with structural aberrations ^{b)}						Total		Number of polyploid cells (%)
				gap	ctb	cte	csb	cse	oth	+gap	-gap	
6-18	0 ^{c)}	100	200	4	7	1	1	0	0	6.0	4.5 \$\$	0.5
	8.75	92	200	3	3	0	0	0	0	3.0	1.5	1.0
	17.5	95	200	1	1	0	0	0	0	1.0	0.5 **	1.0
	35	54	200	1	0	0	1	0	0	1.0	0.5 **	0.5
	70	22	-	(a few metaphases)						-	-	-
	140 #	15	-	(a few metaphases)						-	-	-
	MMC0.12 ^{d)}	-	200	3	78	60	13	2	4	61.5	61.0 **	0.5
24-0	0 ^{c)}	100	200	2	1	0	0	0	0	1.5	0.5	1.0
	3.9	106	200	0	1	0	2	0	0	1.5	1.5	1.0
	7.8	96	200	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	2.5
	15.6	106	200	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	1.5
	31.3	70	200	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	1.5
	62.5	25	-	(a few metaphases)						-	-	-
	125	35	-	(few metaphases)						-	-	-
	250 #	38	-	(a few metaphases)						-	-	-
	MMC0.06 ^{d)}	-	200	3	64	52	1	0	0	51.5	50.5 **	1.0
48-0	0 ^{c)}	100	200	0	3	0	0	0	0	1.5	1.5	2.5
	3.9	99	200	0	4	1	1	0	0	2.5	2.5	0.5
	7.8	95	200	0	1	0	0	0	0	0.5	0.5	1.0
	15.6	99	200	1	0	0	0	1	0	1.0	0.5	0.5
	31.3	69	200	0	1	0	1	0	0	1.0	1.0	0.5
	62.5	26	-	(few metaphases)						-	-	-
	125	33	-	(few~no metaphases)						-	-	-
	250 #	35	-	(few metaphases)						-	-	-
	MMC0.06 ^{d)}	-	200	2	103	109	15	3	8	87.0	87.0 **	0.0 *

^{a)} Treatment time - Recovery time

^{b)} gap; Chromatid and chromosome gap, ctb; Chromatid break, cte; Chromatid exchange
csb; Chromosome break, cse; Chromosome exchange, oth(others); Multiple aberrant cell(mul),
fragmentation(fra), etc.

^{c)} Negative control, 0.5% Dimethyl sulfoxide

^{d)} Positive control, Mitomycin C

* Significantly different from negative control at $P < 0.05$ (Fisher's test).

** Significantly different from negative control at $P < 0.01$ (Fisher's test).

\$\$ Significantly different from negative control at $P < 0.01$ (Cochran-Armitage's test).

Oil drop after 6, 24 or 48 hours treatment

Table 4 Chromosomal aberration test of 1-phenyl-1-xylylethane with cultured mammalian cells
- Metabolic activation method -

Treatment time ^{a)} (h)	Dose (μ g/mL)	Growth rate (%)	No. of cells	Number of cells with structural aberrations ^{b)}						Total		Number of polyploid cells (%)
				gap	ctb	cte	csb	cse	oth	+gap	-gap	
6-18	0 ^{c)}	100	200	0	0	0	0	0	0	0.0	0.0	1.0
	17.5	97	200	0	0	2	0	0	0	1.0	1.0	1.5
	35	84	200	0	2	1	0	0	0	1.5	1.5	0.0
	70	89	200	0	0	1	0	0	0	0.5	0.5	1.0
	140 #	57	100	1	1	1	0	0	0	3.0	2.0	2.0
	280 #	44	-	(a few metaphases)						-	-	-
	BaP 15 ^{d)}	-	200	4	8	61	9	12	1	43.5	43.0 **	1.0

^{a)} Treatment time - Recovery time

^{b)} gap; Chromatid and chromosome gap, ctb; Chromatid break, cte; Chromatid exchange
csb; Chromosome break, cse; Chromosome exchange, oth(others); Multiple aberrant cell(mul),
fragmentation(fra), etc.

^{c)} Negative control, 0.5% Dimethyl sulfoxide

^{d)} Positive control, Benzo(a)pyrene

** Significantly different from negative control at $P < 0.01$ (Fisher's test).

Oil drop after 6 hours treatment

Appendix 1-1 Chromosomal aberration test of 1-phenyl-1-xylylthane with cultured mammalian cells
- Direct method -

Treatment time ^{a)} (h)	Dose (μ g/mL)	Growth rate (%)	No. of cells	Number of cells with structural aberrations ^{b)}						Total (%)		Number of polyploid cells (%)
				gap	ctb	cte	csb	cse	oth	+gap	-gap	
6-18	0 ^{c)}	100	100	1	3	0	1	0	0	5	4	1
			100	3	4	1	0	0	0	7	5	0
		Total	200	4	7	1	1	0	0	Mean 6.0	4.5 \$\$	0.5
	8.75	92	100	2	1	0	0	0	0	3	1	1
			100	1	2	0	0	0	0	3	2	1
		Total	200	3	3	0	0	0	0	Mean 3.0	1.5	1.0
	17.5	95	100	1	0	0	0	0	0	1	0	2
			100	0	1	0	0	0	0	1	1	0
		Total	200	1	1	0	0	0	0	Mean 1.0	0.5 **	1.0
	35	54	100	0	0	0	0	0	0	0	0	1
			100	1	0	0	1	0	0	2	1	0
		Total	200	1	0	0	1	0	0	Mean 1.0	0.5 **	0.5
	70	22	-	(a few metaphases)						-	-	-
			-	(a few metaphases)						-	-	-
		Total	-	(a few metaphases)						Mean -	-	-
	140 #	15	-	(a few metaphases)						-	-	-
			-	(a few metaphases)						-	-	-
		Total	-	(a few metaphases)						Mean -	-	-
	MMC ^{d)} 0.12	-	100	2	42	27	8	1	3	61	61	0
			100	1	36	33	5	1	1	62	61	1
		Total	200	3	78	60	13	2	4	Mean 61.5	61.0 **	0.5

^{a)} Treatment time - Recovery time

^{b)} gap; Chromatid and chromosome gap, ctb; Chromatid break, cte; Chromatid exchange
csb; Chromosome break, cse; Chromosome exchange, oth; Multiple aberrant cell, fragmentation, etc.

^{c)} Negative control, 0.5% Dimethyl sulfoxide

^{d)} Positive control, Mitomycin C

** Significantly different from negative control at $P < 0.01$ (Fisher's test).

\$\$ Significantly different from negative control at $P < 0.01$ (Cochran-Armitage's test).

Oil drop after 6 hours treatment

Appendix 1-2 Chromosomal aberration test of 1-phenyl-1-xylylthane with cultured mammalian cells
- Direct method -

Treatment time ^{a)} (h)	Dose (μ g/mL)	Growth rate (%)	No. of cells	Number of cells with structural aberrations ^{b)}						Total (%)		Number of polyploid cells (%)
				gap	ctb	cte	csb	cse	oth	+gap	-gap	
24-0	0 ^{c)}	100	100	2	0	0	0	0	0	2	0	2
			100	0	1	0	0	0	0	1	1	0
		Total	200	2	1	0	0	0	0	Mean 1.5	0.5	1.0
	3.9	106	100	0	1	0	0	0	0	1	1	1
			100	0	0	0	2	0	0	2	2	1
		Total	200	0	1	0	2	0	0	Mean 1.5	1.5	1.0
	7.8	96	100	0	0	0	0	0	0	0	0	2
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	3
		Total	200	0	0	0	0	0	0	Mean 0.0	0.0	2.5
	15.6	106	100	0	0	0	0	0	0	0	0	2
			100	0	1	0	0	0	0	1	1	1
		Total	200	0	1	0	0	0	0	Mean 0.5	0.5	1.5
	31.3	70	100	0	0	0	0	0	0	0	0	1
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	2
		Total	200	0	0	0	0	0	0	Mean 0.0	0.0	1.5
	62.5	25	-	(a few metaphases)						-	-	-
			-	(a few metaphases)						-	-	-
		Total	-	(a few metaphases)						Mean -	-	-
	125	35	-	(few metaphases)						-	-	-
			-	(few metaphases)						-	-	-
		Total	-	(few metaphases)						Mean -	-	-
	250 #	38	-	(a few metaphases)						-	-	-
			-	(a few metaphases)						-	-	-
		Total	-	(a few metaphases)						Mean -	-	-
	MMC ^{d)} 0.06	-	100	2	33	26	1	0	0	54	53	2
			100	1	31	26	0	0	0	49	48	0
		Total	200	3	64	52	1	0	0	Mean 51.5	50.5 **	1.0

^{a)} Treatment time - Recovery time

^{b)} gap; Chromatid and chromosome gap, ctb; Chromatid break, cte; Chromatid exchange
csb; Chromosome break, cse; Chromosome exchange, oth; Multiple aberrant cell, fragmentation, etc.

^{c)} Negative control, 0.5% Dimethyl sulfoxide

^{d)} Positive control, Mitomycin C

** Significantly different from negative control at P<0.01 (Fisher's test).

Oil drop after 24 hours treatment

Appendix 1-3 Chromosomal aberration test of 1-phenyl-1-xylylethane with cultured mammalian cells
- Direct method -

Treatment time ^{a)} (h)	Dose (μ g/mL)	Growth rate (%)	No. of cells	Number of cells with structural aberrations ^{b)}						Total (%)		Number of polyploid cells (%)
				gap	ctb	cte	csb	cse	oth	+gap	-gap	
48-0	0 ^{c)}	100	100	0	1	0	0	0	0	1	1	4
			100	0	2	0	0	0	0	2	2	1
		Total	200	0	3	0	0	0	0	Mean 1.5	1.5	2.5
	3.9	99	100	0	3	1	1	0	0	4	4	0
			100	0	1	0	0	0	0	1	1	1
		Total	200	0	4	1	1	0	0	Mean 2.5	2.5	0.5
	7.8	95	100	0	0	0	0	0	0	0	0	1
			100	0	1	0	0	0	0	1	1	1
		Total	200	0	1	0	0	0	0	Mean 0.5	0.5	1.0
	15.6	99	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			100	1	0	0	0	1	0	2	1	1
		Total	200	1	0	0	0	1	0	Mean 1.0	0.5	0.5
	31.3	69	100	0	0	0	1	0	0	1	1	1
			100	0	1	0	0	0	0	1	1	0
		Total	200	0	1	0	1	0	0	Mean 1.0	1.0	0.5
	62.5	26	-	(few metaphases)						-	-	-
			-	(few metaphases)						-	-	-
		Total	-	(few metaphases)						Mean -	-	-
	125	33	-	(few metaphases)						-	-	-
			-	(no metaphases)						-	-	-
		Total	-	(few~no metaphases)						Mean -	-	-
	250 #	35	-	(few metaphases)						-	-	-
			-	(few metaphases)						-	-	-
		Total	-	(few metaphases)						Mean -	-	-
	MMC ^{d)} 0.06	-	100	1	46	53	5	2	5	88	88	0
			100	1	57	56	10	1	3	86	86	0
		Total	200	2	103	109	15	3	8	Mean 87.0	87.0 **	0.0 *

^{a)} Treatment time - Recovery time

^{b)} gap; Chromatid and chromosome gap, ctb; Chromatid break, cte; Chromatid exchange
csb; Chromosome break, cse; Chromosome exchange, oth; Multiple aberrant cell, fragmentation, etc.

^{c)} Negative control, 0.5% Dimethyl sulfoxide

^{d)} Positive control, Mitomycin C

* Significantly different from negative control at $P < 0.05$ (Fisher's test).

** Significantly different from negative control at $P < 0.01$ (Fisher's test).

Oil drop after 48 hours treatment

Appendix 2 Chromosomal aberration test of 1-phenyl-1-xylylethane with cultured mammalian cells
- Metabolic activation method -

Treatment time ^{a)} (h)	Dose (μ g/mL)	Growth rate (%)	No. of cells	Number of cells with structural aberrations ^{b)}						Total (%)		Number of polyploid cells (%)
				gap	ctb	cte	csb	cse	oth	+gap	-gap	
6-18	0 ^{c)}	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	1
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		Total	200	0	0	0	0	0	0	Mean 0.0	0.0	1.0
	17.5	97	100	0	0	2	0	0	0	2	2	1
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	2
		Total	200	0	0	2	0	0	0	Mean 1.0	1.0	1.5
	35	84	100	0	1	1	0	0	0	2	2	0
			100	0	1	0	0	0	0	1	1	0
		Total	200	0	2	1	0	0	0	Mean 1.5	1.5	0.0
	70	89	100	0	0	1	0	0	0	1	1	1
			100	0	0	0	0	0	0	0	0	1
		Total	200	0	0	1	0	0	0	Mean 0.5	0.5	1.0
	140 #	57	50	1	1	0	0	0	0	4	2	2
			50	0	0	1	0	0	0	2	2	2
		Total	100	1	1	1	0	0	0	Mean 3.0	2.0	2.0
	280 #	44	-	(a few metaphases)						-	-	-
			-	(a few metaphases)						-	-	-
		Total	-	(a few metaphases)						Mean -	-	-
	BaP ^{d)} 15	-	100	2	3	28	6	5	1	42	42	1
			100	2	5	33	3	7	0	45	44	1
		Total	200	4	8	61	9	12	1	Mean 43.5	43.0 **	1.0

^{a)} Treatment time - Recovery time

^{b)} gap; Chromatid and chromosome gap, ctb; Chromatid break, cte; Chromatid exchange
csb; Chromosome break, cse; Chromosome exchange, oth; Multiple aberrant cell, fragmentation, etc.

^{c)} Negative control, 0.5% Dimethyl sulfoxide

^{d)} Positive control, Benzo(a)pyrene

** Significantly different from negative control at $P < 0.01$ (Fisher's test).

Oil drop after 6 hours treatment

Appendix 3 Historical positive control data of chromosomal aberration test with cultured mammalian cells

1. Direct method

1) Mitomycin C (0.12 μ g/mL, 6-18^{a)})

Experiment No. (date)	Number of cells	Number of cells with structural aberrations ^{b)}						Total (%)		Number of polyploid cells (%)
		gap	ctb	cte	csb	cse	oth	+gap	-gap	
1 (2000.11)	100	3	47	31	0	0	0	66	66	0
2 (2000.11)	100	3	42	36	2	0	0	59	58	0
3 (2001.01)	100	5	40	41	6	0	2	69	68	1
4 (2001.02)	100	4	32	24	3	0	1	51	49	1
5 (2001.02)	100	6	31	47	6	2	0	68	64	0

2) Mitomycin C (0.06 μ g/mL, 24-0^{a)})

Experiment No. (date)	Number of cells	Number of cells with structural aberrations ^{b)}						Total (%)		Number of polyploid cells (%)
		gap	ctb	cte	csb	cse	oth	+gap	-gap	
1 (2001.01)	100	5	41	35	7	0	0	67	64	2
2 (2001.02)	100	2	31	25	0	0	1	52	52	0
3 (2001.02)	100	1	23	35	1	1	0	51	51	1

2. Metabolic activation method

1) Benzo (a) pyrene (10 μ g/mL, 6-18^{a)})

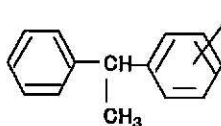
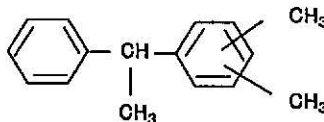
Experiment No. (date)	Number of cells	Number of cells with structural aberrations ^{b)}						Total (%)		Number of polyploid cells (%)
		gap	ctb	cte	csb	cse	oth	+gap	-gap	
1 (2000.11)	100	2	18	46	3	0	4	60	58	0
2 (2000.11)	100	2	6	35	0	0	1	39	39	0
3 (2001.01)	100	1	10	16	2	2	0	26	25	1
4 (2001.02)	100	5	12	46	2	0	2	60	55	1
5 (2001.02)	100	2	13	51	3	1	3	60	59	0

^{a)} Treatment time - Recovery time

^{b)} gap; Chromatid and chromosome gap, ctb; Chromatid break, cte; Chromatid exchange
csb; Chromosome break, cse; Chromosome exchange, oth; Multiple aberrant cell, fragmentation, etc.

ほ乳類を用いる染色体異常試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質の名称	1-フェニル-1-キシリルエタン					
別名	スチリルキシレン					
構造式又は示性式	<div></div> <div></div>					
試験に供した新規化学物質の純度	91.5wt%	試験に供した新規化学物質のロット番号	<div></div>			
不純物の名称及び濃度	① 1,1-Diphenylethane: 0.2mass% ② Indan, 1-methyl-3-phenyl: 5.6mass% ③ その他一成分1mass%未満の構造不明炭化水素類合計: 2.7mass%					
CAS番号	40766-31-2	蒸気圧	0.1Pa以下			
分子量	210	分配係数	—			
融点	流動点: -47.5℃	常温における性状	無色透明液体			
沸点	蒸留範囲 初留点 : 291.5℃ 95% : 297.0℃ 終点 : 303.5℃					
安定性						
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	水	不溶	安定	DMSO	溶解	安定
	アセトン	溶解	安定	その他 (炭化水素系溶剤等)	溶解	安定

2. 細胞の種類－培養条件

細胞名	CHL/IU	入手先		ヒューマンサイエンス研究資源バンク
種	チャイニーズハムスター	入手年月日		2000年8月2日
培養液	Eagle's MEM液体培地	製造元		Life Technologies, Inc.
血清の種類と添加量	仔牛血清, 10%	製造元 (Lot No.)		1085894
細胞周期	14.2h	凍結条件		約-80℃
継代数	細胞増殖抑制試験: 7あるいは8 染色体異常試験: 11あるいは13	培養条件	容器	プラスチックシャーレ
染色体数 (モード)	25本		温度	37℃
			CO ₂ 濃度	5%
備考				

3. S9 mix

(1) S9の入手方法等(該当する番号を○で囲み, 必要事項を記入した。)

自製・購入の別	1. 自製 ②. 購入(製造元: オリエンタル酵母工業株式会社)
製造年月日	2000年10月27日 製造
購入の場合の Lot No.	00102708
保存温度	約-80℃

(2) S9の調製方法

使用動物	誘導物質
種・系統	名 称
性	投与方法
週令	投与期間及び投与量(g/kg体重)
体重	

ラット・SD系	Phenobarbital (PB) 5,6-Benzoflavone (BF)
雄	腹腔内投与
7週	PB: 4日間 0.03+0.06+0.06+0.06g/kg BF: 1日間 0.08g/kg
211.7±10.9g (Mean±S.D.)	

(3) S9 mixの組成

成 分	S9 mix 1ml中の量	成 分	S9 mix 1ml中の量
S9	0.3ml	NADP	4 μ mol
MgCl ₂	5 μ mol	緩衝液(HEPES)	4 μ mol
KCl	33 μ mol	その他(滅菌蒸留水)	0.1ml
グルコース-6-リン酸	5 μ mol		

(4) S9 mixの処理条件(該当する番号を○で囲み, 必要事項を記入した)

①. プレート法	2. 浮遊細胞法	3. その他()
S9 量 (最終濃度)	5%	
S9 蛋白量(最終濃度)	1.165mg/ml	
処 理 時 間	6h	
回 復 時 間	18h	
備 考		

4. 被験物質溶液の調製(被験物質溶液の性状及び純度換算の有無は該当するものを○で囲んだ。)

使 用 溶 媒	名 称	製 造 元	Lot No.	グ レード	純度(%)
	Dimethyl sulfoxide	和光純薬工業株式会社	ELH7677	インフィニティピュア	99.9
溶 媒 選 択 の 理 由	被験物質は水に不溶である。従って、被験物質の性状を考慮し、かつ、水に不溶の場合に最も汎用される溶媒であるDimethyl sulfoxideを選択した。				
被験物質溶液の性状	無色の液体				
被験物質が難溶性の場合における懸濁等の方法					
溶液の調製から使用までの保存時間と温度	細胞増殖抑制試験:1時間, 室温 染色体異常試験:1時間30分, 室温				
純 度 換 算 の 有 無	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> 有 無 </div>				

5. 短時間処理法における試験

(1)細胞増殖抑制試験の条件

		代謝活性化法によらない場合	代謝活性化法による場合
試 験 実 施 期 間		2001年 2月 2日から	2001年 2月 2日から
		2001年 2月 6日	2001年 2月 6日
培 養 器	形 状	円形プラスチックシャーレ	円形プラスチックシャーレ
	大 き さ	直径35mm	直径35mm
	培 養 液 量	2ml／培養器	2ml／培養器
	用量当たりの培養器数	2枚, 但し陰性対照群は1枚	2枚, 但し陰性対照群は1枚
細 胞	播 種 細 胞 数	0.6×10^4 個／ml	0.6×10^4 個／ml
	前 培 養 日 数	2日間	2日間
処 理 条 件	被験物質溶液添加量	0.01ml／培養器	0.01ml／培養器
	S9 mix 添 加 量		0.335ml
	S9 の 最 終 濃 度		5%
	S9 蛋 白 の 最 終 濃 度		1.165mg/ml
	処 理 時 間	6h	6h
	回 復 時 間	18h	18h
細胞増殖抑制測定法	<ul style="list-style-type: none"> ・単層培養細胞密度計を使用 ・10%中性緩衝ホルマリン溶液固定 ・0.1%クリスタル・バイオレット染色 		
備 考			

(2)細胞増殖抑制試験結果

代謝活性化によらない場合(6 - 18 h)		代謝活性化による場合(6 - 18 h)	
用量($\mu\text{g}/\text{ml}$)	細胞増殖率(%)	用量($\mu\text{g}/\text{ml}$)	細胞増殖率(%)
陰性対照群	100.0	陰性対照群	100.0
16	101.5	16	88.5
33	87.0	33	83.5
66	69.5	66	74.5
131 †	49.0	131	62.0
263 †	49.5	263 †	58.5
525 †	67.0	525 †	70.5
1050 †	70.0	1050 †	70.5
2100 †	64.0	2100 †	69.0

[備考] 括弧内には処理時間及び回復期間を記入した。

細胞増殖率は陰性対照群を100%として算出した(2枚のプレートの平均値)。

†:処理終了時(培養6時間)に油滴状物質がプレート中に認められた。

(3) 染色体異常試験の条件

		代謝活性化法によらない場合	代謝活性化法による場合
試 験 実 施 期 間		2001年 2月 16日から	2001年 2月 16日から
		2001年 3月 2日	2001年 3月 2日
培 養 器	形 状	円形プラスチックシャーレ	円形プラスチックシャーレ
	大 き さ	直径60mm	直径60mm
	培 養 液 量	5ml／培養器	5ml／培養器
	用量当たりの培養器数	2枚	2枚
細 胞	播 種 細 胞 数	0.6×10^4 個／ml	0.6×10^4 個／ml
	前 培 養 日 数	2日間	2日間
処 理 条 件	被験物質溶液添加量	0.025ml／培養器	0.015ml／培養器
	S9 mix 添 加 量		0.5ml／培養器
	S9 の 最 終 濃 度		5%
	S9 蛋白の最終濃度		1.165mg/ml
	処 理 時 間	6h	6h
	回 復 時 間	18h	18h
備 考			

(4) 染色体異常試験結果(別表1による)

6. 連続処理法による試験(短時間処理法による試験で陰性と判定された場合に試験を実施すること。)

(1)細胞増殖抑制試験の条件

試 験 実 施 期 間		2001年 2月 5日から	2001年 2月 5日から
		2001年 2月 9日	2001年 2月 10日
培 養 器	形 状	円形プラスチックシャーレ	円形プラスチックシャーレ
	大 き さ	直径35mm	直径35mm
	培 養 液 量	2ml／培養器	2ml／培養器
	用量当たりの培養器数	2枚, 但し陰性対照群は1枚	2枚, 但し陰性対照群は1枚
細 胞	播 種 細 胞 数	0.6×10^4 個／ml	0.3×10^4 個／ml
	前 培 養 日 数	2日間	2日間
処 理 条 件	被験物質溶液添加量	0.01ml／培養器	0.01ml／培養器
	処 理 時 間	24h	48h
	回 復 時 間	0h	0h
細胞増殖抑制測定法	<ul style="list-style-type: none"> ・単層培養細胞密度計を使用 ・10%中性緩衝ホルマリン溶液固定 ・0.1%クリスタル・バイオレット染色 		
備 考			

(2)細胞増殖抑制試験結果

(24 - 0 h)処理による場合		(48 - 0 h)処理による場合	
用量($\mu\text{g}/\text{ml}$)	細胞増殖率(%)	用量($\mu\text{g}/\text{ml}$)	細胞増殖率(%)
陰性対照群	100.0	陰性対照群	100.0
16	94.5	16	94.0
33	75.0	33	57.5
66	33.0	66	27.5
131	27.0	131	29.0
263 †	30.0	263 †	26.0
525 †	39.0	525 †	32.5
1050 †	39.0	1050 †	31.5
2100 †	54.0	2100 †	27.5

【備考】括弧内には処理時間及び回復期間を記入した。

細胞増殖率は陰性対照群を100%として算出した(2枚のプレートの平均値)。

†:処理終了時に油滴状物質がプレート中に認められた。

(3) 染色体異常試験の条件

試 験 実 施 期 間		2001年 2月 23日から	2001年 2月 23日から
		2001年 3月 2日	2001年 3月 2日
培 養 器	形 状	円形プラスチックシャーレ	円形プラスチックシャーレ
	大 き さ	直径60mm	直径60mm
	培 養 液 量	5ml／培養器	5ml／培養器
	用量当たりの培養器数	2枚	2枚
細 胞	播 種 細 胞 数	0.6×10^4 個／ml	0.3×10^4 個／ml
	前 培 養 日 数	2日間	2日間
処 理 条 件	被験物質溶液添加量	0.025ml／培養器	0.025ml／培養器
	処 理 時 間	24h	48h
	回 復 時 間	0h	0h
備 考			

(4) 染色体異常試験結果(別表2による)

7. 結果の判定及び参考事項


(1) 結果の判定

判 定 (いずれかを○で囲むこと。)	陽性	陰性
<p>判定の理由</p> <p>すべての処理群で3用量以上の標本観察が可能であった。陰性対照群と比較して、有意な染色体構造異常、倍数性異常の誘発は認められなかった。一方、陽性対照[マイトマイシンCあるいはベンゾ(a)ピレン]群では、有意な染色体構造異常の誘発が認められた。</p> <p>以上の結果より、本試験条件下では本被験物質はOHL細胞染色体に異常を誘発しないと判定された。</p>		

(2) 参考事項

--

8. その他

試験実施施設	名 称	株式会社 イナリサーチ	
	所 在 地	長野県伊那市西箕輪8047番地(〒399-4501)	TEL:0265-72-6616 FAX:0265-72-6657
試験責任者	職 氏 名	試験管理部 試験管理グループ 	
	経 験 年 数	15年	
	連 絡 先	長野県伊那市西箕輪2148番地(〒399-4501) 株式会社 イナリサーチ 第2研究所	TEL:0265-73-8611 FAX:0265-73-8612
試験番号	2000TT280		
試験期間	2001年 1月 24日 より 2001年 3月 14日		

別表1 染色体異常試験の結果（短時間処理法）

被験物質の名称:1-フェニル-1-キシリルエタン

処理時間(h)	S9 mix	被験物質 の用量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	染色体構造異常の細胞数(出現頻度%)							ギャップの 出現数	細胞増殖率 (%)	染色体の数的異常の細胞数(出現頻度%)	
			観察細胞数	染色分体切断	染色分体交換	染色体切断	染色体交換	その他	総異常数(%)			観察細胞数	倍数体
6-18	-	陰性対照 (DMSO)	100	3	0	1	0	0	4	1	100	100	1
			100	4	1	0	0	0	5	3		100	0
			200	7 (3.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	9 (4.5)	4 (2.0)		200	1 (0.5)
6-18	-	8.75	100	1	0	0	0	0	1	2	92	100	1
			100	2	0	0	0	0	2	1		100	1
			200	3 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.5)	3 (1.5)		200	2 (1.0)
6-18	-	17.5	100	0	0	0	0	0	0	1	95	100	2
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	0
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)		200	2 (1.0)
6-18	-	35	100	0	0	0	0	0	0	0	54	100	1
			100	0	0	1	0	0	1	1		100	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)		200	1 (0.5)
6-18	-	70	TOX	-	-	-	-	-	-	-	22	TOX	-
				-	-	-	-	-	-	-			-
				- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)			- (-)
6-18	-	140 [†]	TOX	-	-	-	-	-	-	-	15	TOX	-
				-	-	-	-	-	-	-			-
				- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)			- (-)
6-18	-	陽性対照 (MMC)	100	42	27	8	1	3	61	2	-	100	0
			100	36	33	5	1	1	61	1		100	1
			200	78 (39.0)	60 (30.0)	13 (6.5)	2 (1.0)	4 (2.0)	122 (61.0)**	3 (1.5)		200	1 (0.5)

1: 処理時間の欄には、処理時間一回復時間の順に記入した。

2: 溶媒(陰性対照物質)、陽性対照物質を括弧内に記入した。なお、記入した略称と正式名称の対応は次の通り。DMSO; Dimethyl Sulfoxide, MMC; Mitomycin C (0.12 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

3: 各群のプレートごとのデータを1及び2行目に記入し、その合計を3行目に示し、それから求めた異常をもつ細胞の出現頻度%を括弧内に示した。

4: 被験物質の析出が認められた場合は、その用量に[†]印を付した。

5: 細胞毒性のために染色体の観察が不能であった用量を表記する場合は、観察細胞数の欄にTOXを記入した。

6: **: P<0.01 (Fisher's test)

別表1(続き) 染色体異常試験の結果(短時間処理法)

被験物質の名称:1-フェニル-1-キシリルエタン

処理時間(h)	S9 mix	被験物質 の用量 ($\mu\text{g/ml}$)	染色体構造異常の細胞数(出現頻度%)							ギャップの 出現数	細胞増殖率 (%)	染色体の数的異常の細胞数(出現頻度%)		
			観察細胞数	染色分体切断	染色分体交換	染色体切断	染色体交換	その他	総異常数(%)			観察細胞数	倍数体	
6 - 18	+	陰性対照 (DMSO)	100	0	0	0	0	0	0	0	100	100	1	
			100	0	0	0	0	0	0	0		100	1	
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		200	2 (1.0)	
6 - 18	+	17.5	100	0	2	0	0	0	2	0	97	100	1	
			100	0	0	0	0	0	0	0		100	2	
			200	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)		200	3 (1.5)	
6 - 18	+	35	100	1	1	0	0	0	2	0	84	100	0	
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	
			200	2 (1.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.5)	0 (0.0)		200	0 (0.0)	
6 - 18	+	70	100	0	1	0	0	0	1	0	89	100	1	
			100	0	0	0	0	0	0	0		100	1	
			200	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)		200	2 (1.0)	
6 - 18	+	140 †	50	1	0	0	0	0	1	1	57	50	1	
			50	0	1	0	0	0	1	0		50	1	
			100	1 (1.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (2.0)	1 (1.0)		100	2 (2.0)	
6 - 18	+	280 †	TOX	-	-	-	-	-	-	-	44	TOX	-	
				-	-	-	-	-	-	-			-	-
				- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)			- (-)	
6 - 18	+	陽性対照 (BaP)	100	3	28	6	5	1	42	2	-	100	1	
			100	5	33	3	7	0	44	2		100	1	
			200	8 (4.0)	81 (30.5)	9 (4.5)	12 (6.0)	1 (0.5)	86 (43.0)**	4 (2.0)		200	2 (1.0)	

1: 処理時間の欄には、処理時間一回復時間の順に記入した。

2: 溶媒(陰性対照物質)、陽性対照物質を括弧内に記入した。なお、記入した略称と正式名称の対応は次の通り。DMSO; Dimethyl Sulfoxide, BaP; Benzo(a)pyrene (15 $\mu\text{g/ml}$)

3: 各群のプレートごとのデータを1及び2行目に記入し、その合計を3行目に示し、それから求めた異常をもつ細胞の出現頻度%を括弧内に示した。

4: 被験物質の析出が認められた場合は、その用量に † 印を付した。

5: 細胞毒性のために染色体の観察が不能であった用量を表記する場合は、観察細胞数の欄にTOXを記入した。

6: **: P<0.01 (Fisher's test)

別表2 染色体異常試験の結果(連続処理法)

被験物質の名称:1-フェニル-1-キシリルエタン

処理時間(h)	S9 mix	被験物質 の用量 ($\mu\text{g/ml}$)	染色体構造異常の細胞数(出現頻度%)							ギャップの 出現数	細胞増殖率 (%)	染色体の数的異常の細胞数(出現頻度%)	
			観察細胞数	染色分体切断	染色分体交換	染色体切断	染色体交換	その他	総異常数(%)			観察細胞数	倍數体
24 - 0	—	陰性対照 (DMSO)	100	0	0	0	0	0	0	2	100	100	2
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	0
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	2 (1.0)		200	2 (1.0)
24 - 0	—	3.9	100	1	0	0	0	0	1	0	108	100	1
			100	0	0	2	0	0	2	0		100	1
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.5)	0 (0.0)		200	2 (1.0)
24 - 0	—	7.8	100	0	0	0	0	0	0	0	96	100	2
			100	0	0	0	0	0	0	0		100	3
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		200	5 (2.5)
24 - 0	—	15.8	100	0	0	0	0	0	0	0	108	100	2
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	1
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)		200	3 (1.5)
24 - 0	—	31.3	100	0	0	0	0	0	0	0	70	100	1
			100	0	0	0	0	0	0	0		100	2
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		200	3 (1.5)
24 - 0	—	62.5	TOX	—	—	—	—	—	—	—	25	TOX	—
				—	—	—	—	—	—	—			—
				— (-)	— (-)	— (-)	— (-)	— (-)	— (-)	— (-)			— (-)
24 - 0	—	125	TOX	—	—	—	—	—	—	—	35	TOX	—
				—	—	—	—	—	—	—			—
				— (-)	— (-)	— (-)	— (-)	— (-)	— (-)	— (-)			— (-)
24 - 0	—	250 †	TOX	—	—	—	—	—	—	—	38	TOX	—
				—	—	—	—	—	—	—			—
				— (-)	— (-)	— (-)	— (-)	— (-)	— (-)	— (-)			— (-)
24 - 0	—	陽性対照 (MMC)	100	33	28	1	0	0	53	2	—	100	2
			100	31	28	0	0	0	48	1		100	0
			200	64 (32.0)	52 (28.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	101 (50.5)**	3 (1.5)		200	2 (1.0)

1: 処理時間の欄には、処理時間-回復時間の順に記入した。

2: 溶媒(陰性対照物質)、陽性対照物質を括弧内に記入した。なお、記入した略称と正式名称の対応は次の通り。DMSO:Dimethyl Sulfoxide, MMC:Mitomycin C (0.06 $\mu\text{g/ml}$)

3: 各群のプレートごとのデータを1及び2行目に記入し、その合計を3行目に示し、それから求めた異常をもつ細胞の出現頻度%を括弧内に示した。

4: 被験物質の析出が認められた場合は、その用量に † 印を付した。

5: 細胞毒性のために染色体の観察が不能であった用量を表記する場合は、観察細胞数の欄にTOXを記入した。

6: **:P<0.01 (Fisher's test)

試験結果報告書の内容に関するお問い合わせには応じかねますので御了承下さい。

別表2 (続き) 染色体異常試験の結果 (連続処理法)

被験物質の名称: 1-フェニル-1-キシリルエタン

処理時間 (h)	S9 mix	被験物質 の用量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	染色体構造異常の細胞数(出現頻度%)							ギャップの 出現数	細胞増殖率 (%)	染色体の数的異常の細胞数(出現頻度%)		
			観察細胞数	染色分体切断	染色分体交換	染色体切断	染色体交換	その他	総異常数(%)			観察細胞数	倍数体	
48 - 0	-	陰性対照 (DMSO)	100	1	0	0	0	0	1	0	100	100	4	
			100	2	0	0	0	0	2	0		100	1	
			200	3 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.5)	0 (0.0)		200	5 (2.5)	
48 - 0	-	3.9	100	3	1	1	0	0	4	0	99	100	0	
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	1	
			200	4 (2.0)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (2.5)	0 (0.0)		200	1 (0.5)	
48 - 0	-	7.8	100	0	0	0	0	0	0	0	95	100	1	
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	1	
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)		200	2 (1.0)	
48 - 0	-	15.6	100	0	0	0	0	0	0	0	99	100	0	
			100	0	0	0	1	0	1	1		100	1	
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)		200	1 (0.5)	
48 - 0	-	31.3	100	0	0	1	0	0	1	0	69	100	1	
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)		200	1 (0.5)	
48 - 0	-	62.5	TOX	-	-	-	-	-	-	-	26	TOX	-	
				-	-	-	-	-	-	-			-	-
				- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)			- (-)	
48 - 0	-	125	TOX	-	-	-	-	-	-	-	33	TOX	-	
				-	-	-	-	-	-	-			-	-
				- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)			- (-)	
48 - 0	-	250 †	TOX	-	-	-	-	-	-	-	35	TOX	-	
				-	-	-	-	-	-	-			-	-
				- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)			- (-)	
48 - 0	-	陽性対照 (MMC)	100	46	53	5	2	5	88	1	-	100	0	
			100	57	56	10	1	3	86	1		100	0	
			200	103 (51.5)	109 (54.5)	15 (7.5)	3 (1.5)	8 (4.0)	174 (87.0)**	2 (1.0)		200	0 (0.0)	

1 : 処理時間の欄には, 処理時間-回復時間の順に記入した。

2 : 溶媒(陰性対照物質), 陽性対照物質を括弧内に記入した。なお, 記入した略称と正式名称の対応は次の通り。DMSO; Dimethyl Sulfoxide, MMC; Mitomycin C (0.06 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

3 : 各群のプレートごとのデータを1及び2行目に記入し, その合計を3行目に示し, それから求めた異常をもつ細胞の出現頻度%を括弧内に示した。

4 : 被験物質の析出が認められた場合は, その用量に † 印を付した。

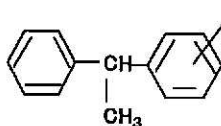
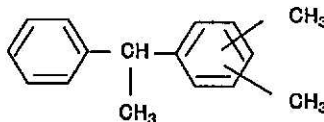
5 : 細胞毒性のために染色体の観察が不能であった用量を表記する場合は, 観察細胞数の欄にTOXを記入した。

6 : **: P<0.01 (Fisher's test)

試験結果報告書の内容に関するお問い合わせには応じかねますので御了承下さい。

ほ乳類を用いる染色体異常試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質の名称	1-フェニル-1-キシリルエタン					
別名	スチリルキシレン					
構造式又は示性式	<div></div> <div></div>					
試験に供した新規化学物質の純度	91.5wt%	試験に供した新規化学物質のロット番号				
不純物の名称及び濃度	① 1,1-Diphenylethane: 0.2mass% ② Indan, 1-methyl-3-phenyl: 5.6mass% ③ その他一成分1mass%未満の構造不明炭化水素類合計: 2.7mass%					
CAS番号	40766-31-2	蒸気圧	0.1Pa以下			
分子量	210	分配係数	—			
融点	流動点: -47.5℃	常温における性状	無色透明液体			
沸点	蒸留範囲 初留点 : 291.5℃ 95% : 297.0℃ 終点 : 303.5℃					
安定性						
溶媒に対する溶解度等	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性	溶媒	溶解度	溶媒中の安定性
	水	不溶	安定	DMSO	溶解	安定
	アセトン	溶解	安定	その他 (炭化水素系溶剤等)	溶解	安定

2. 細胞の種類－培養条件

細胞名	CHL/IU	入手先		ヒューマンサイエンス研究資源バンク
種	チャイニーズハムスター	入手年月日		2000年8月2日
培養液	Eagle's MEM液体培地	製造元		Life Technologies, Inc.
血清の種類と添加量	仔牛血清, 10%	製造元 (Lot No.)		1085894
細胞周期	14.2h	凍結条件		約-80℃
継代数	細胞増殖抑制試験: 7あるいは8 染色体異常試験: 11あるいは13 25本	培養条件	容器	プラスチックシャーレ
染色体数 (モー ド)			温度	37℃
			CO ₂ 濃度	5%
備考				

3. S9 mix

(1) S9の入手方法等(該当する番号を○で囲み, 必要事項を記入した。)

自製・購入の別	1. 自製 ②. 購入(製造元:オリエンタル酵母工業株式会社)
製造年月日	2000年10月27日 製造
購入の場合の Lot No.	00102708
保存温度	約-80℃

(2) S9の調製方法

使用動物	誘導物質
種・系統	名 称
性	投与方法
週令	投与期間及び投与量(g/kg体重)
体重	

ラット・SD系	Phenobarbital (PB) 5,6-Benzoflavone (BF)
雄	腹腔内投与
7週	PB: 4日間 0.03+0.06+ 0.06+0.06g/kg
211.7±10.9g (Mean±S.D.)	BF: 1日間 0.08g/kg

(3) S9 mixの組成

成 分	S9 mix 1ml中の量	成 分	S9 mix 1ml中の量
S9	0.3ml	NADP	4 μ mol
MgCl ₂	5 μ mol	緩衝液(HEPES)	4 μ mol
KCl	33 μ mol	その他(滅菌蒸留水)	0.1ml
グルコース-6-リン酸	5 μ mol		

(4) S9 mixの処理条件(該当する番号を○で囲み, 必要事項を記入した)

①. プレート法	2. 浮遊細胞法	3. その他()
S9 量 (最終濃度)	5%	
S9 蛋白量(最終濃度)	1.165mg/ml	
処 理 時 間	6h	
回 復 時 間	18h	
備 考		

4. 被験物質溶液の調製(被験物質溶液の性状及び純度換算の有無は該当するものを○で囲んだ。)

使 用 溶 媒	名 称	製 造 元	Lot No.	グ レード	純度(%)
	Dimethyl sulfoxide	和光純薬工業株式会社	ELH7677	インフィニティピュア	99.9
溶 媒 選 択 の 理 由	被験物質は水に不溶である。従って、被験物質の性状を考慮し、かつ、水に不溶の場合に最も汎用される溶媒であるDimethyl sulfoxideを選択した。				
被験物質溶液の性状	無色の液体				
被験物質が難溶性の場合における懸濁等の方法					
溶液の調製から使用までの保存時間と温度	細胞増殖抑制試験:1時間, 室温 染色体異常試験:1時間30分, 室温				
純 度 換 算 の 有 無	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> 有 無 </div>				

5. 短時間処理法における試験

(1)細胞増殖抑制試験の条件

		代謝活性化法によらない場合	代謝活性化法による場合
試 験 実 施 期 間		2001年 2月 2日から	2001年 2月 2日から
		2001年 2月 6日	2001年 2月 6日
培 養 器	形 状	円形プラスチックシャーレ	円形プラスチックシャーレ
	大 き さ	直径35mm	直径35mm
	培 養 液 量	2ml／培養器	2ml／培養器
	用量当たりの培養器数	2枚, 但し陰性対照群は1枚	2枚, 但し陰性対照群は1枚
細 胞	播 種 細 胞 数	0.6×10^4 個／ml	0.6×10^4 個／ml
	前 培 養 日 数	2日間	2日間
処 理 条 件	被験物質溶液添加量	0.01ml／培養器	0.01ml／培養器
	S9 mix 添 加 量		0.335ml
	S9 の 最 終 濃 度		5%
	S9 蛋白の最終濃度		1.165mg/ml
	処 理 時 間	6h	6h
	回 復 時 間	18h	18h
細胞増殖抑制測定法	<ul style="list-style-type: none"> ・単層培養細胞密度計を使用 ・10%中性緩衝ホルマリン溶液固定 ・0.1%クリスタル・バイオレット染色 		
備 考			

(2)細胞増殖抑制試験結果

代謝活性化によらない場合(6 - 18 h)		代謝活性化による場合(6 - 18 h)	
用量($\mu\text{g}/\text{ml}$)	細胞増殖率(%)	用量($\mu\text{g}/\text{ml}$)	細胞増殖率(%)
陰性対照群	100.0	陰性対照群	100.0
16	101.5	16	88.5
33	87.0	33	83.5
66	69.5	66	74.5
131 †	49.0	131	62.0
263 †	49.5	263 †	58.5
525 †	67.0	525 †	70.5
1050 †	70.0	1050 †	70.5
2100 †	64.0	2100 †	69.0

[備考] 括弧内には処理時間及び回復期間を記入した。

細胞増殖率は陰性対照群を100%として算出した(2枚のプレートの平均値)。

† : 処理終了時(培養6時間)に油滴状物質がプレート中に認められた。

(3) 染色体異常試験の条件

		代謝活性化法によらない場合	代謝活性化法による場合
試 験 実 施 期 間		2001年 2月 16日から	2001年 2月 16日から
		2001年 3月 12日	2001年 3月 12日
培 養 器	形 状	円形プラスチックシャーレ	円形プラスチックシャーレ
	大 き さ	直径60mm	直径60mm
	培 養 液 量	5ml／培養器	5ml／培養器
	用量当たりの培養器数	2枚	2枚
細 胞	播 種 細 胞 数	0.6×10^4 個／ml	0.6×10^4 個／ml
	前 培 養 日 数	2日間	2日間
処 理 条 件	被験物質溶液添加量	0.025ml／培養器	0.015ml／培養器
	S9 mix 添 加 量		0.5ml／培養器
	S9 の 最 終 濃 度		5%
	S9 蛋白の最終濃度		1.165mg/ml
	処 理 時 間	6h	6h
	回 復 時 間	18h	18h
備 考			

(4) 染色体異常試験結果(別表1による)

6. 連続処理法による試験(短時間処理法による試験で陰性と判定された場合に試験を実施すること。)

(1)細胞増殖抑制試験の条件

試 験 実 施 期 間		2001年 2月 5日から	2001年 2月 5日から
		2001年 2月 9日	2001年 2月 10日
培 養 器	形 状	円形プラスチックシャーレ	円形プラスチックシャーレ
	大 き さ	直径35mm	直径35mm
	培 養 液 量	2ml／培養器	2ml／培養器
	用量当たりの培養器数	2枚, 但し陰性対照群は1枚	2枚, 但し陰性対照群は1枚
細 胞	播 種 細 胞 数	0.6×10^4 個／ml	0.3×10^4 個／ml
	前 培 養 日 数	2日間	2日間
処 理 条 件	被験物質溶液添加量	0.01ml／培養器	0.01ml／培養器
	処 理 時 間	24h	48h
	回 復 時 間	0h	0h
細胞増殖抑制測定法	<ul style="list-style-type: none"> ・単層培養細胞密度計を使用 ・10%中性緩衝ホルマリン溶液固定 ・0.1%クリスタル・バイオレット染色 		
備 考			

(2)細胞増殖抑制試験結果

(24 - 0 h)処理による場合		(48 - 0 h)処理による場合	
用量($\mu\text{g}/\text{ml}$)	細胞増殖率(%)	用量($\mu\text{g}/\text{ml}$)	細胞増殖率(%)
陰性対照群	100.0	陰性対照群	100.0
16	94.5	16	94.0
33	75.0	33	57.5
66	33.0	66	27.5
131	27.0	131	29.0
263 †	30.0	263 †	26.0
525 †	39.0	525 †	32.5
1050 †	39.0	1050 †	31.5
2100 †	54.0	2100 †	27.5

【備考】括弧内には処理時間及び回復期間を記入した。

細胞増殖率は陰性対照群を100%として算出した(2枚のプレートの平均値)。

†:処理終了時に油滴状物質がプレート中に認められた。

(3)染色体異常試験の条件

試 験 実 施 期 間		2001年 2月 23日から	2001年 2月 23日から
		2001年 3月 12日	2001年 3月 12日
培 養 器	形 状	円形プラスチックシャーレ	円形プラスチックシャーレ
	大 き さ	直径60mm	直径60mm
	培 養 液 量	5ml／培養器	5ml／培養器
	用量当たりの培養器数	2枚	2枚
細 胞	播 種 細 胞 数	0.6×10^4 個／ml	0.3×10^4 個／ml
	前 培 養 日 数	2日間	2日間
処 理 条 件	被験物質溶液添加量	0.025ml／培養器	0.025ml／培養器
	処 理 時 間	24h	48h
	回 復 時 間	0h	0h
備 考			

(4)染色体異常試験結果(別表2による)

7. 結果の判定及び参考事項

(1) 結果の判定

判 定 (いずれかを○で囲むこと。)	陽性	陰性
<p>判定の理由</p> <p>すべての処理群で3用量以上の標本観察が可能であった。陰性対照群と比較して、有意な染色体構造異常、倍数性異常の誘発は認められなかった。一方、陽性対照[マイトマイシンCあるいはベンゾ(a)ピレン]群では、有意な染色体構造異常の誘発が認められた。</p> <p>以上の結果より、本試験条件下では本被験物質はCHL細胞染色体に異常を誘発しないと判定された。</p>		

(2) 参考事項

--

8. その他

試験実施施設	名 称	株式会社 イナリサーチ	
	所 在 地	長野県伊那市西箕輪8047番地(〒399-4501)	TEL:0265-72-6616 FAX:0265-72-6657
試験責任者	職 氏 名	[REDACTED]	
	経 験 年 数	[REDACTED]	
	連 絡 先	長野県伊那市西箕輪2148番地(〒399-4501) 株式会社 イナリサーチ 第2研究所	TEL:0265-73-8611 FAX:0265-73-8612
試験番号	2000TT280		
試験期間	2001年 1月 24日 より 2001年 4月 6日		

別表1 染色体異常試験の結果(短時間処理法)

被験物質の名称:1-フェニル-1-キシリルエタン

処理時間(h)	S9 mix	被験物質 の用量 ($\mu\text{g/ml}$)	染色体構造異常の細胞数(出現頻度%)							ギャップの 出現数	細胞増殖率 (%)	染色体の数的異常の細胞数(出現頻度%)	
			観察細胞数	染色分体切断	染色分体交換	染色体切断	染色体交換	その他	総異常数(%)			観察細胞数	倍数体
6 - 18	—	陰性対照 (DMSO)	100	3	0	1	0	0	4	1	100	100	1
			100	4	1	0	0	0	5	3		100	0
			200	7 (3.5)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	9 (4.5)	4 (2.0)		200	1 (0.5)
6 - 18	—	8.75	100	1	0	0	0	0	1	2	92	100	1
			100	2	0	0	0	0	2	1		100	1
			200	3 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.5)	3 (1.5)		200	2 (1.0)
6 - 18	—	17.5	100	0	0	0	0	0	0	1	95	100	2
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	0
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)		200	2 (1.0)
6 - 18	—	35	100	0	0	0	0	0	0	0	54	100	1
			100	0	0	1	0	0	1	1		100	0
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)		200	1 (0.5)
6 - 18	—	70	TOX	—	—	—	—	—	—	—	22	TOX	—
				—	—	—	—	—	—	—			—
				— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)			— (—)
6 - 18	—	140 †	TOX	—	—	—	—	—	—	—	15	TOX	—
				—	—	—	—	—	—	—			—
				— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)			— (—)
6 - 18	—	陽性対照 (MMC)	100	42	27	8	1	3	61	2	—	100	0
			100	36	33	5	1	1	61	1		100	1
			200	78 (39.0)	60 (30.0)	13 (6.5)	2 (1.0)	4 (2.0)	122 (61.0)**	3 (1.5)		200	1 (0.5)

1: 処理時間の欄には、処理時間-回復時間の順に記入した。

2: 溶媒(陰性対照物質)、陽性対照物質を括弧内に記入した。なお、記入した略称と正式名称の対応は次の通り。DMSO: Dimethyl Sulfoxide, MMC: Mitomycin C (0.12 $\mu\text{g/ml}$)

3: 各群のプレートごとのデータを1及び2行目に記入し、その合計を3行目に示し、それから求めた異常をもつ細胞の出現頻度%を括弧内に示した。

4: 被験物質の析出が認められた場合は、その用量に † 印を付した。

5: 細胞毒性のために染色体の観察が不能であった用量を表記する場合は、観察細胞数の欄にTOXを記入した。

6: **: $P < 0.01$ (Fisher's test)

別表1(続き) 染色体異常試験の結果(短時間処理法)

被験物質の名称:1-フェニル-1-キシリルエタン

処理時間(h)	S9 mix	被験物質 の用量 ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	染色体構造異常の細胞数(出現頻度%)							ギャップの 出現数	細胞増殖率 (%)	染色体の数的異常の細胞数(出現頻度%)		
			観察細胞数	染色分体切断	染色分体交換	染色体切断	染色体交換	その他	総異常数(%)			観察細胞数	倍数体	
6 - 18	+	陰性対照 (DMSO)	100	0	0	0	0	0	0	0	100	100	1	
			100	0	0	0	0	0	0	0		100	1	
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		200	2 (1.0)	
6 - 18	+	17.5	100	0	2	0	0	0	2	0	97	100	1	
			100	0	0	0	0	0	0	0		100	2	
			200	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)		200	3 (1.5)	
6 - 18	+	35	100	1	1	0	0	0	2	0	84	100	0	
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	
			200	2 (1.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.5)	0 (0.0)		200	0 (0.0)	
6 - 18	+	70	100	0	1	0	0	0	1	0	89	100	1	
			100	0	0	0	0	0	0	0		100	1	
			200	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)		200	2 (1.0)	
6 - 18	+	140 †	50	1	0	0	0	0	1	1	57	50	1	
			50	0	1	0	0	0	1	0		50	1	
			100	1 (1.0)	1 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (2.0)	1 (1.0)		100	2 (2.0)	
6 - 18	+	280 †	TOX	-	-	-	-	-	-	-	44	TOX	-	
				-	-	-	-	-	-	-			-	-
				- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)			- (-)	
6 - 18	+	陽性対照 (BaP)	100	3	28	6	5	1	42	2	-	100	1	
			100	5	33	3	7	0	44	2		100	1	
			200	8 (4.0)	81 (30.5)	9 (4.5)	12 (6.0)	1 (0.5)	86 (43.0)**	4 (2.0)		200	2 (1.0)	

1: 処理時間の欄には、処理時間-回復時間の順に記入した。

2: 溶媒(陰性対照物質)、陽性対照物質を括弧内に記入した。なお、記入した略称と正式名称の対応は次の通り。DMSO: Dimethyl Sulfoxide, BaP: Benzo(a)pyrene (15 $\mu\text{g}/\text{ml}$)

3: 各群のプレートごとのデータを1及び2行目に記入し、その合計を3行目に示し、それから求めた異常をもつ細胞の出現頻度%を括弧内に示した。

4: 被験物質の析出が認められた場合は、その用量に † 印を付した。

5: 細胞毒性のために染色体の観察が不能であった用量を表記する場合は、観察細胞数の欄にTOXを記入した。

6: **: $P < 0.01$ (Fisher's test)

別表2 染色体異常試験の結果(連続処理法)

被験物質の名称:1-フェニル-1-キシリルエタン

処理時間(h)	S9 mix	被験物質 の用量 ($\mu\text{g/ml}$)	染色体構造異常の細胞数(出現頻度%)							ギャップの 出現数	細胞増殖率 (%)	染色体の数的異常の細胞数(出現頻度%)		
			観察細胞数	染色分体切断	染色分体交換	染色体切断	染色体交換	その他	総異常数(%)			観察細胞数	倍数体	
24 - 0	-	陰性対照 (DMSO)	100	0	0	0	0	0	0	2	100	100	2	
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	2 (1.0)		200	2 (1.0)	
24 - 0	-	3.9	100	1	0	0	0	0	1	0	106	100	1	
			100	0	0	2	0	0	2	0		100	1	
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.5)	0 (0.0)		200	2 (1.0)	
24 - 0	-	7.8	100	0	0	0	0	0	0	0	96	100	2	
			100	0	0	0	0	0	0	0		100	3	
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		200	5 (2.5)	
24 - 0	-	15.6	100	0	0	0	0	0	0	0	106	100	2	
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	1	
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)		200	3 (1.5)	
24 - 0	-	31.3	100	0	0	0	0	0	0	0	70	100	1	
			100	0	0	0	0	0	0	0		100	2	
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)		200	3 (1.5)	
24 - 0	-	62.5	TOX	-	-	-	-	-	-	-	25	TOX	-	
				-	-	-	-	-	-	-			-	-
				- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)			- (-)	- (-)
24 - 0	-	125	TOX	-	-	-	-	-	-	-	35	TOX	-	
				-	-	-	-	-	-	-			-	-
				- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)			- (-)	- (-)
24 - 0	-	250 †	TOX	-	-	-	-	-	-	-	38	TOX	-	
				-	-	-	-	-	-	-			-	-
				- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)			- (-)	- (-)
24 - 0	-	陽性対照 (MMC)	100	33	26	1	0	0	53	2	-	100	2	
			100	31	26	0	0	0	48	1		100	0	
			200	64 (32.0)	52 (26.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	101 (50.5)**	3 (1.5)		200	2 (1.0)	

1: 処理時間の欄には、処理時間一回復時間の順に記入した。

2: 溶媒(陰性対照物質)、陽性対照物質を括弧内に記入した。なお、記入した略称と正式名称の対応は次の通り。DMSO: Dimethyl Sulfoxide, MMC: Mitomycin C (0.06 $\mu\text{g/ml}$)

3: 各群のプレートごとのデータを1及び2行目に記入し、その合計を3行目に示し、それから求めた異常をもつ細胞の出現頻度%を括弧内に示した。

4: 被験物質の析出が認められた場合は、その用量に † 印を付した。

5: 細胞毒性のために染色体の観察が不能であった用量を表記する場合は、観察細胞数の欄にTOXを記入した。

6: **: $P < 0.01$ (Fisher's test)

試験結果報告書の内容に関するお問い合わせには応じかねますので御了承下さい。

別表2 (続き) 染色体異常試験の結果 (連続処理法)

被験物質の名称: 1-フェニル-1-キシリルエタン

処理時間(h)	S9 mix	被験物質 の用量 ($\mu\text{g/ml}$)	染色体構造異常の細胞数(出現頻度%)							ギャップの 出現数	細胞増殖率 (%)	染色体の数的異常の細胞数(出現頻度%)		
			観察細胞数	染色分体切断	染色分体交換	染色体切断	染色体交換	その他	総異常数(%)			観察細胞数	倍数体	
48 - 0	-	陰性対照 (DMSO)	100	1	0	0	0	0	1	0	100	100	4	
			100	2	0	0	0	0	2	0		100	1	
			200	3 (1.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (1.5)	0 (0.0)		200	5 (2.5)	
48 - 0	-	3.9	100	3	1	1	0	0	4	0	99	100	0	
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	1	
			200	4 (2.0)	1 (0.5)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	5 (2.5)	0 (0.0)		200	1 (0.5)	
48 - 0	-	7.8	100	0	0	0	0	0	0	0	95	100	1	
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	1	
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)		200	2 (1.0)	
48 - 0	-	15.6	100	0	0	0	0	0	0	0	99	100	0	
			100	0	0	0	1	0	1	1		100	1	
			200	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	1 (0.5)		200	1 (0.5)	
48 - 0	-	31.3	100	0	0	1	0	0	1	0	69	100	1	
			100	1	0	0	0	0	1	0		100	0	
			200	1 (0.5)	0 (0.0)	1 (0.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (1.0)	0 (0.0)		200	1 (0.5)	
48 - 0	-	62.5	TOX	-	-	-	-	-	-	-	26	TOX	-	
				-	-	-	-	-	-	-			-	-
				- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)			- (-)	
48 - 0	-	125	TOX	-	-	-	-	-	-	-	33	TOX	-	
				-	-	-	-	-	-	-			-	-
				- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)			- (-)	
48 - 0	-	250 †	TOX	-	-	-	-	-	-	-	35	TOX	-	
				-	-	-	-	-	-	-			-	-
				- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)	- (-)			- (-)	
48 - 0	-	陽性対照 (MMC)	100	46	53	5	2	5	88	1	-	100	0	
			100	57	56	10	1	3	86	1		100	0	
			200	103 (51.5)	109 (54.5)	15 (7.5)	3 (1.5)	8 (4.0)	174 (87.0)**	2 (1.0)		200	0 (0.0)	

1 : 処理時間の欄には、処理時間一回復時間の順に記入した。

2 : 溶媒(陰性対照物質)、陽性対照物質を括弧内に記入した。なお、記入した略称と正式名称の対応は次の通り。DMSO; Dimethyl Sulfoxide, MMC; Mitomycin C (0.06 $\mu\text{g/ml}$)

3 : 各群のプレートごとのデータを1及び2行目に記入し、その合計を3行目に示し、それから求めた異常をもつ細胞の出現頻度%を括弧内に示した。

4 : 被験物質の析出が認められた場合は、その用量に † 印を付した。

5 : 細胞毒性のために染色体の観察が不能であった用量を表記する場合は、観察細胞数の欄にTOXを記入した。

6 : **: $P < 0.01$ (Fisher's test)

試験結果報告書の内容に関するお問い合わせには応じかねますので御了承下さい。

OECD Robust Summary for 1-phenyl-1-xylylethane

GENETIC TOXICITY *IN VITRO* (CHROMOSOMAL ABERRATIONS)

TEST SUBSTANCE

- 1-phenyl-1-xylylethane (CAS No. 40766-31-2)

Remarks : Source ;

Purity ; 91.5%

Lot No. ;

Stability during use confirmed by gas chromatography

METHOD

- Method/Guideline followed : OECD Guideline "*In Vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test (#473)" (1997)
- Test type : mammalian cell chromosome aberration
- System of testing : non-bacterial
- GLP (Y/N) : OECD GLP (1997)
- Year (study performed) : 2001
- Species/Strain or cell type and or cell line, bacterial or non-bacterial :
CHL/IU cell line, lung fibroblast cells derived from a newborn female Chinese hamster
- Metabolic activation :
 - Species and cell type :
S9 mix : rat liver homogenate + Cofactor-C
 - Quantity : 0.5 ml/plate
 - Induced or not induced : induced(PB+BF)
- Statistical methods : Fisher's exact test, Cochran-Armitage's trend test

REMARKS FIELD FOR TEST CONDITIONS

— Concentrations tested :

Direct method : 6-hr treatment ; 0, 8.75, 17.5, 35, 70, 140 μ g/ml

24- and 48-hr treatment ; 0, 3.9, 7.8, 15.6, 31.3, 62.5, 125, 250 μ g/ml

Metabolic activation method : 6-hr treatment 0, 17.5, 35, 70, 140, 280 μ g/ml

— Plate/test : two plates

— Solvent : Dimethyl Sulfoxide

— Positive control : -S9 mix ; Mitomycin C, +S9 mix ; Benzo(a)pyrene

RESULTS

- Cell growth inhibition test :

Inhibition rates of the cell growth were the lowest at 120 – 240 μ g/ml in the direct method of 6- and 24-hr treatment, and in the metabolic activation method. Nearly constant inhibition rates were noted at 60 μ g/ml or greater in the direct method of 48hrs. The approximate 50% cell growth inhibitory concentrations of the test substance were 119 μ g/ml at 6-hr treatment, 46 μ g/ml at 24-hr treatment and 37 μ g/ml at 48-hr treatment in the direct method. In the activation method, this calculation could not be performed.

Referring to the above results, the main chromosomal aberration test was performed.

- Main test :

Precipitates of the test substance were noted at 140 μ g/ml in 6-hr treatment, at 250 μ g/ml in 24- and 48-hr treatments in the direct method and at 140 and 280 μ g/ml in the metabolic activation method.

In the negative control group, the incidence of the structural aberration (- gap) was lower than 4.5%, and the incidence of polyploid cells was lower than 2.5%.

In the test substance treated groups, observations could be conducted at 3 doses or more. The incidences of the structural aberrations and polyploid cells were lower than 2.5% in all treated groups, and no significant incidence was noted. Furthermore, no statistical dose-relationship was observed.

In the positive control groups with mitomycin C and benzo(a)pyrene, the incidence of the structural aberration was significantly increased.

CONCLUSIONS

1-Phenyl-1-xylylthane was judged to be negative for clastogenic potential since no statistical increase in the structural aberrations and polyploid cells was observed in the direct and metabolic activation methods under this experimental conditions.

DATA QUALITY

- Reliability : statement by the Quality Assurance Unit

REFERENCES

- 1) Edited by Japanese Pharmaceutical Industries Association, Genetic Toxicities for Medicines, Q & A, Scientist, Inc., Tokyo, 2000
- 2) Supervised by Sofuni, T., Data Book of Chromosomal Aberration Tests, revised in 1998, LIC, Co., Tokyo, 1999

OTHERS

- Study title : Chromosomal Aberration Test of 1-Phenyl-1-xylylethane with Cultured Mammalian Cells
- Test No. : 2000TT280