

## (3) 染色体異常試験の条件

試験実施期間		2005年 3月 17日から 2005年 3月 18日	年 月 日から 年 月 日
培 養 器	形 状	円形プラスチックシャーレ	
	大 き さ	直径 60 mm	
	培 養 液 量	5.0 mL/培養器	mL/培養器
	用量当たりの培養器数	2	
細 胞	播 種 細 胞 数	$2.0 \times 10^4$ 個/5mL	個/mL
	前 培 養 日 数	3 日間	日間
処 理 条 件	被 験 物 質 溶 液 添 加 量	0.025 mL/培養器	mL/培養器
	処 理 時 間	24 h	h
	回 復 時 間	0 h	h
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				
判定の理由 本被験物質は、短時間処理法（代謝活性化によらない場合及び代謝活性化による場合）及び連続処理法（24時間処理）とも構造異常・数的異常の出現率は5%未満で、用量に伴う増加も認められなかった。 なお、本試験で用いた陽性対照物質は明らかな陽性結果を示し、陰性対照及び陽性対照における染色体異常誘発率は、背景データの範囲内にあり、試験条件を満たすものであったことから、試験系に影響した他の要因がなく、試験が適切に実施されたことが確認された。 また、染色体異常試験と同時にを行った各処理濃度における生細胞数の測定結果は、用量設定試験として実施した細胞増殖抑制試験の結果を再現し、染色体異常試験が適切な濃度で実施されたことを確認した。 以上の結果より、本被験物質は陰性と判断した。								
D <sub>20</sub> 値	構造異常	短時間処理法	-S9 mix	—	h処理	—	mg/mL	
			+S9 mix	—	h処理	—	mg/mL	
		連続処理法	/		—	h処理	—	mg/mL
					—	h処理	—	mg/mL
	数的異常	短時間処理法	-S9 mix	—	h処理	—	mg/mL	
			+S9 mix	—	h処理	—	mg/mL	
		連続処理法	/		—	h処理	—	mg/mL
					—	h処理	—	mg/mL

[備考] D<sub>20</sub>値は分裂中期像20%に異常を誘発させるために必要な被験物質の推定用量であり、陽性と判定した試験系列について、異常のタイプ別に記入すること。

## (2) 参考事項

## [用量設定理由]

染色体異常試験の実施に先駆けて、試験濃度設定のために細胞増殖抑制試験を実施した。細胞増殖抑制試験の試験濃度は「新規化学物質等に係る試験の方法について」（平成15年11月21日）に基づき、10mMの2.400 mg/mLを最高濃度として、以下公比2で計10濃度を設定した。すなわち、0.00469, 0.00938, 0.0188, 0.0375, 0.075, 0.150, 0.300, 0.600, 1.200及び2.400 mg/mLとした。

細胞増殖抑制試験の結果から、Probit法で求めた被験物質の50 %細胞増殖抑制濃度 (IC<sub>50</sub>) は、短時間処理法の代謝活性化によらない場合では0.0526 mg/mL, 代謝活性化による場合では0.1015 mg/mLであった。一方、連続処理法(24時間処理)では0.0239 mg/mLであった。このことから、染色体異常試験の試験濃度は、IC<sub>50</sub>及び細胞の生存率を指標に、公比2により5段階設定した。すなわち、短時間処理法の代謝活性化によらない場合では、0.00625, 0.0125, 0.025, 0.050及び0.100 mg/mL, 代謝活性化による場合では、0.0125, 0.025, 0.050, 0.100及び0.200 mg/mLとした。連続処理法(24時間処理)では、0.00313, 0.00625, 0.0125, 0.025及び0.050 mg/mLとした。

## [被験物質の析出]

被験物質の析出は、短時間処理法及び連続処理法とも、細胞増殖抑制試験では0.300 mg/mL以上の濃度において認められたが、染色体異常試験ではすべての濃度において認められなかった。

## [染色体異常の観察及び結果判定の方法]

1シャーレあたり100個、1濃度あたり200個の分裂中期像を観察した。染色体の異常については、数的異常として倍数体及び核内倍化を記録した。また、構造的異常として染色分体切断、染色分体交換、染色体切断、染色体交換及びその他に分類し、これらの異常を1つでも有する細胞を陽性細胞1個として記録した。

結果の判定は、石館の方法を用いて行った。

[備考]「参考事項」の欄には、試験結果に対する試験責任者の見解等を記入すること。

別表 1-1 染色体異常試験の結果 (短時間処理法)

被験物質の名称: 2,4-ジフェニル4-メチル-1-ペンテン

処理時間 (hr)	S9 mix	被験物質の用量 (mg/mL)	染色体構造異常の数 (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	その他	総異常細胞数 (%)
6-18	-	陰性対照 (DMSO)	100	0	0	0	0	0	0	0	100	100	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0		100	1	0	1
			200	0	0	0	0	0	0 (0)	0		200	1	0	1 (0.5)
6-18	-	0.00625	100	0	0	0	0	0	0	98	100	0	0	0	
			100	0	0	0	0	0	0		0	100	0	0	0
			200	0	0	0	0	0	0 (0)		0	200	0	0	0 (0)
6-18	-	0.0125	100	1	0	0	0	0	1	98	100	0	0	0	
			100	1	0	0	0	0	1		0	100	0	0	0
			200	2	0	0	0	0	2 (1.0)		0	200	0	0	0 (0)
6-18	-	0.025	100	2	0	0	0	0	2	82	100	0	0	0	
			100	0	0	0	0	0	0		0	100	1	0	1
			200	2	0	0	0	0	2 (1.0)		0	200	1	0	1 (0.5)
6-18	-	0.050	100	0	0	0	0	0	0	53	100	0	0	0	
			100	0	1	0	0	0	1		0	100	0	0	0
			200	0	1	0	0	0	1 (0.5)		0	200	0	0	0 (0)
6-18	-	0.100	100	2	0	0	0	0	2	31	100	0	0	0	
			100	1	0	0	0	0	1		0	100	1	0	1
			200	3	0	0	0	0	3 (1.5)		0	200	1	0	1 (0.5)
6-18	-	陽性対照 (MMC) 0.0001	100	26	31	0	0	0	46	89	100	0	0	0	
			100	31	41	0	0	0	59		0	100	0	0	0
			200	57	72	0	0	0	105 (52.5)		0	200	0	0	0 (0)

【備考】

1. 処理時間の欄には、処理時間一回復時間の順に記入すること。
2. 被験物質の用量は、低い方から順に記入すること。
3. 溶媒、陰性対照物質を括弧内に記入する。物質名を略称で記入した場合には、欄外にその名称を記入すること。
4. 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行目に記入すること。
5. 被験物質の析出が認められた場合、その用量に+印を付すこと。
6. 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を記入すること。
7. その他の欄を用いる場合は、その内容を欄外に記入すること。

DMSO; Dimethyl sulfoxide  
MMC; Mitomycin C