

Table 40

Study No. B041798

Delivery Data (F0) - Summary

Test Substance Dose (mg/kg)		Gestation Length (days)	Number of Corpora Lutea	Number of Implantation Sites	Total Number of Offspring	Implantation Index (%)	Delivery Index (%)	Gestation Index (%)
1, 3-BAC 0	Mean	22.4	17.7	15.8	14.6	89.92	92.53	100.0
	S. D.	0.5	1.5	1.5	1.1	8.03	7.59	(12/12) a)
	n	12	12	12	12	12	12	
1, 3-BAC 10	Mean	22.4	18.2	16.1	14.8	88.71	92.80	100.0
	S. D.	0.5	2.2	3.6	3.0	16.95	5.63	(12/12)
	n	12	12	12	12	12	12	
1, 3-BAC 60	Mean	22.5	16.8	15.3	14.1	91.71	92.36	100.0
	S. D.	0.5	2.5	1.7	1.7	6.87	4.88	(12/12)
	n	12	12	12	12	12	12	
1, 3-BAC 300	Mean	22.5	16.9	15.8	14.8	93.48	93.72	100.0
	S. D.	0.5	1.7	1.8	1.9	4.14	6.78	(11/11)
	n	11	11	11	11	11	11	

a): Number of pregnant animals delivered live offspring / number of pregnant animals
Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 41

Study No. B041798

Litter Size and Viability Index (F1) - Summary

Test Substance Dose (mg/kg)		Total Number of Offspring at Birth			Number of Live Offspring at Birth			Number of Live Offspring on Day 4						Number of Live Offspring on Day 5			Viability Index (%)		
								before Culling			after Culling								
		M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	M	F	Total	Day 0	Day 4	Day 5
1, 3-BAC 0	Mean	7.0	7.6	14.6	7.0	7.5	14.5	6.9	7.3	14.3							99.48	98.40	
	S.D.	2.0	2.0	1.1	2.0	2.1	1.0	1.9	2.0	0.9							1.79	3.94	
	n (M/F)	12 (84/91)	12 (84/91)	12 (84/91)	12 (84/90)	12 (84/90)	12 (84/90)	12 (83/88)	12 (83/88)	12 (83/88)	12 (83/88)	12 (83/88)	12 (83/88)	12 (83/88)	12 (83/88)	12 (83/88)	12	12	12
1, 3-BAC 10	Mean	6.8	8.1	14.8	6.7	7.9	14.6	6.7	7.8	14.5							98.43	99.44	
	S.D.	2.1	1.7	3.0	2.1	1.7	3.0	2.1	1.6	3.0							2.87	1.93	
	n (M/F)	12 (81/97)	12 (81/97)	12 (81/97)	12 (80/95)	12 (80/95)	12 (80/95)	12 (80/94)	12 (80/94)	12 (80/94)	12 (80/94)	12 (80/94)	12 (80/94)	12 (80/94)	12 (80/94)	12 (80/94)	12	12	12
1, 3-BAC 60	Mean	6.9	7.2	14.1	6.9	7.1	14.0	6.8	7.1	13.9							99.44	99.24	
	S.D.	3.2	2.9	1.7	3.2	2.9	1.7	3.2	2.9	1.9							1.93	2.63	
	n (M/F)	12 (83/86)	12 (83/86)	12 (83/86)	12 (83/85)	12 (83/85)	12 (83/85)	12 (82/85)	12 (82/85)	12 (82/85)	12 (82/85)	12 (82/85)	12 (82/85)	12 (82/85)	12 (82/85)	12 (82/85)	12	12	12
1, 3-BAC 300	Mean	7.5	7.3	14.8	7.2	7.0	14.2	6.9	6.5	13.4							96.25	91.82	
	S.D.	1.8	2.1	1.9	2.1	2.0	2.3	2.7	2.9	4.5							12.42	27.14	
	n (M/F)	11 (83/80)	11 (83/80)	11 (83/80)	11 (79/77)	11 (79/77)	11 (79/77)	11 (76/71)	11 (76/71)	11 (76/71)	11 (76/71)	11 (76/71)	11 (76/71)	11 (76/71)	11 (76/71)	11 (76/71)	11	11	11

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 42

Study No. B041798

Clinical Sign (F1 before Weaning) - Summary
Stage : Before Culling

Test Substance Dose (mg/kg)	Day /Findings (M/F)	0	1	2	3	4
		1, 3-BAC 0	Number of dams Number of offspring Number of dams with abnormal offspring No Abnormality Death (M/F/U)	12 84/91/0 0 84/90 0/1/0	12 84/90 0 84/90 0/0	12 84/90 0 84/89 0/1
1, 3-BAC 10	Number of dams Number of offspring Number of dams with abnormal offspring No Abnormality Death (M/F/U)	12 81/97/0 0 80/95 1/2/0	12 80/95 0 80/95 0/0	12 80/95 0 80/95 0/0	12 80/95 0 80/94 0/1	12 80/94 0 80/94 0/0
1, 3-BAC 60	Number of dams Number of offspring Number of dams with abnormal offspring No Abnormality Death (M/F/U)	12 83/86/0 0 83/85 0/1/0	12 83/85 0 82/85 1/0	12 82/85 0 82/85 0/0	12 82/85 0 82/85 0/0	12 82/85 0 82/85 0/0
1, 3-BAC 300	Number of dams Number of offspring Number of dams with abnormal offspring No Abnormality Death (M/F/U) Loss of suckling	11 83/80/0 1 76/75 4/3/0 3/2	11 79/77 0 76/71 3/6	11 76/71 0 76/71 0/0	11 76/71 0 76/71 0/0	11 76/71 0 76/71 0/0

M:Male, F:Female, U:Unable to be sexed on day 0

Table 43

Study No. B041798

Body Weight of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
Sex : Male

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	before Culling		/ after Culling
		0	4	
1, 3-BAC 0	Mean	7.0	10.9	
	S. D.	0.4	0.7	
	n	12	12	
1, 3-BAC 10	Mean	6.8	11.2	
	S. D.	0.7	1.8	
	n	12	12	
1, 3-BAC 60	Mean	7.0	11.2	
	S. D.	0.4	0.8	
	n	12	12	
1, 3-BAC 300	Mean	6.8	10.7	
	S. D.	1.1	1.7	
	n	11	11	

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

396

Table 43

Study No. B041798

Body Weight of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
Sex : Female

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	before Culling / after Culling	
		0	4
1, 3-BAC 0	Mean	6.5	10.3
	S. D.	0.5	0.8
	n	12	12
1, 3-BAC 10	Mean	6.5	10.7
	S. D.	0.7	1.6
	n	12	12
1, 3-BAC 60	Mean	6.6	10.7
	S. D.	0.4	0.9
	n	12	12
1, 3-BAC 300	Mean	6.5	10.5
	S. D.	1.1	1.4
	n	11	10

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

397

Table 44

Study No. B041798

Body Weight Gain of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
 Sex : Male Base : Day 4 after Birth

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	before Culling	after Culling
		0 - 4	
1, 3-BAC 0	Mean	3.9	
	S. D.	0.6	
	n	12	
1, 3-BAC 10	Mean	4.3	
	S. D.	1.1	
	n	12	
1, 3-BAC 60	Mean	4.2	
	S. D.	0.7	
	n	12	
1, 3-BAC 300	Mean	3.9	
	S. D.	0.8	
	n	11	

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

398

Table 44

Study No. B041798

Body Weight Gain of Offspring (F1 before Weaning) - Summary
 Sex : Female Base : Day 4 after Birth

Unit : g

Test Substance Dose (mg/kg)	/Day	before Culling	after Culling
		0 - 4	
1, 3-BAC 0	Mean	3.8	
	S. D.	0.5	
	n	12	
1, 3-BAC 10	Mean	4.2	
	S. D.	0.9	
	n	12	
1, 3-BAC 60	Mean	4.1	
	S. D.	0.7	
	n	12	
1, 3-BAC 300	Mean	3.9	
	S. D.	0.4	
	n	10	

Significantly different from control

: *, P<0.05; **, P<0.01.

399

Table 45

Study No. B041798

External Examination of Offspring (F1) - Summary
Day : 0 (Birth Day)

Test Substance	1, 3-BAC	1, 3-BAC	1, 3-BAC	1, 3-BAC
Dose (mg/kg)	0	10	60	300
Number of Dams	12	12	12	11
Number of Offspring	174	175	168	156
Number of Dams with Anomalous Offspring	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)
Number of Offspring with Any Anomalies	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

Significantly different from control : *, P<0.05; **, P<0.01.

Table 46

Study No. B041798

Necropsy Findings (F1 Offspring)
Test Substance : 1, 3-BAC

Test Substance Dose (mg/kg)	/Findings	Day:	Scheduled Sacrifice		Dead		Dead		Dead		Dead		Dead	
			4		0		1		2		3		4	
			M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
1, 3-BAC 0	Number of offspring examined		83	88		1					1		1	
	No abnormality		83	88		1					1		1	
1, 3-BAC 10	Number of offspring examined		80	94	1	2								
	No abnormality		80	94	1	2					1			
1, 3-BAC 60	Number of offspring examined		82	85										
	No abnormality		82	85										
1, 3-BAC 300	Number of offspring examined		76	71	4	3	1	3						
	No abnormality		76	71	4	3	1	3						

M:Male, F:Female

細菌を用いる復帰突然変異試験結果報告書

1. 一般的事項

新規化学物質等の名称 (IUPAC 命名法による)	1,3-ビス (アミノメチル) シクロヘキサン		
別 名	—		
CAS 番号	2579-20-6		
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)			
分 子 量	142.24		
試験に供した新規化学物質 の純度 (%)	99.98%		
試験に供した新規化学物質 のロット番号	50303		
不純物の名称及び含有率	—		
蒸 気 圧	1866 Pa, 14 mmHg (120°C)		
対水溶解度	50 mg/mL で溶解		
1-オクタノール/水分配係数	—		
融 点	-70°C 以下		
沸 点	244°C		
常温における性状	無色液体		
安 定 性	所定の取扱い, 保管条件では安定		
溶媒に対する溶解度等	溶 媒	溶 解 度	溶媒中の安定性
	DMSO	50 mg/mL で溶解 *1	—
	水	50 mg/mL で溶解*1	安定 *2
	アセトン	—	—
	生理食塩水	50 mg/mL で溶解*1	—

DMSO : ジメチルスルホキシド

*1 : 当研究所での溶媒検討の結果による。

*2 : 被験物質溶液調製時に, 発熱, 発泡, 変色は認められなかった。

2. 試験に用いた菌株

菌株名	入手先	入手年月日
TA100	カリフォルニア大学 ██████████	1983年5月27日
TA1535		
TA98		
TA1537		
WP2uvrA/pKM101	日本バイオアッセイ研究センター	1997年9月18日

3. S9 mix

(1) S9の入手方法等 (該当する番号を○で囲み, 必要事項を記入すること.)

自製・購入の別	1. 自製 ②. 購入 (製造元 : キッコーマン株式会社)
製造年月日	2005年2月25日 製造
購入の場合の Lot No.	RAA-517
保存温度	-85°C ~ -80°C

(2) S9の調製方法

使用動物		誘導物質	
種・系統	SD系ラット	名称	フェノバルビタール (PB), 5,6-ベンゾフラボン (BF)
性	雄	投与方法	腹腔内投与
週齢	7週齢	投与期間 及び投与量 (g/kg 体重)	PB; 1日目 : 0.03 2~4日目 : 0.06 BF; PB投与3日目 : 0.08
体重	210-249g		

(3) S9 mixの組成

成分	S9 mix 1 mL 中の量	成分	S9 mix 1 mL 中の量
S9	0.1 mL	β-NADPH	4 μmol
MgCl ₂	8 μmol	β-NADH	4 μmol
KCl	33 μmol	Na-リン酸緩衝液 (pH 7.4)	100 μmol
D-グルコース 6-リン酸	5 μmol	滅菌精製水	残量

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○で囲むこと。)

使用溶媒	名 称	製 造 元	Lot No.	グレード	純度(%)
	注射用水	株式会社大塚製薬工場	K4C80	—	—
溶媒選択の理由	溶媒検討の結果、被験物質は 50 mg/mL で注射用水に溶解した。また、注射用水を加えた際に発熱、発泡、変色は認められなかった。この結果から、溶媒には注射用水を用いた。				
被験物質溶液の性状	溶解	懸濁	その他 ()		
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	10分～45分			室温	
純度換算の有無	有		無		

5. 前培養の条件等

(1) 条件

ニュートリエントブロス	名 称	製 造 元	Lot No.
	Oxoid Nutrient Broth No.2	Oxoid 社	261002
前培養時間	8 時間		
培養容器 (形状・容量)	L 型試験管 22 mL		
培養液量	10 mL	接種菌量	20 μ L

(2) 前培養終了時の生菌数等

菌 株 名		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 _{uvrA} /pKM101	TA98	TA1537
生菌数 ($\times 10^9$ /mL)	予備試験	2.51	2.05	6.42	3.71	2.09
	本試験 1	2.53	2.03	5.99	3.40	2.12
	本試験 2	2.55	1.99	6.11	3.51	2.13
測 定 方 法 (いずれかを○で囲むこと)		1. O.D.値よりの換算			2. 段階希釈法	
		3. 濁度よりの換算				

9. 試験の結果

(1) 試験結果は別表 1～3 および図 1-1～2-2 による。

(2) 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>予備試験の結果に基づいて、菌の生育阻害の認められる用量を最高用量として本試験を 2 回実施した結果、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの試験菌株においても被験物質処理群における復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の 2 倍未満であった。</p> <p>以上の結果から、被験物質は本試験条件下において変異原性を有さない（陰性）と結論した。</p>		

(3) 参考事項

・予備試験を 1.22, 4.88, 19.5, 78.1, 313, 1250, 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の 7 用量で実施した結果、S9 mix 非存在下では TA100, TA1535, TA98, TA1537 の 1250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上の用量、WP2uvrA/pKM101 の 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の用量で、S9 mix 存在下ではすべての菌株の 1250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ 以上の用量で菌の生育阻害が認められた。また、S9 mix の有無にかかわらず、いずれの被験物質処理群においてもプレート上に沈殿物は認められなかった。なお、S9 mix 存在下の TA1535 において、陰性（溶媒）対照値の 2 倍を超える復帰変異コロニー数の増加が認められた。

予備試験の結果から本試験は明らかな生育阻害を示す用量を最高用量として、S9 mix 非存在下の TA100, TA1535, TA98, TA1537 は 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の 6 用量、WP2uvrA/pKM101 は 156, 313, 625, 1250, 2500, 5000 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の 6 用量で、S9 mix 存在下の TA100, WP2uvrA/pKM101, TA98, TA1537 は 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の 6 用量、TA1535 は 9.77, 19.5, 39.1, 78.1, 156, 313, 625, 1250 $\mu\text{g}/\text{プレート}$ の 8 用量で実施した。

- 1 プレートを用いた予備試験における S9 mix 存在下の TA1535 において、陰性（溶媒）対照値の 2 倍を超える復帰変異コロニー数の増加が認められていたが、本試験では復帰変異コロニー数は陰性（溶媒）対照値の 2 倍未満であり、2 回の本試験で再現性が認められたことから、本復帰変異コロニー数の増加は偶発的なものであると判断した。
- S9 mix 非存在下および存在下のすべての菌株で菌の生育阻害が認められた。
- S9 mix の有無にかかわらず、いずれの用量においてもプレート上に沈殿物は認められなかった。
- 試験結果には統計学的検定を実施しなかった。

別表 1

試験結果表 (予備試験)

試験期間		2005年 5月23日 ~ 2005年 5月26日				
代謝活性化系の有無	被験物質用量 (µg/プレート)	復帰変異数 (コロニー数/プレート)				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2 _{uvrA} /pKM101	TA98	TA1537
S9 mix (-)	陰性対照	122	14	86	24	15
	1.22	110	18	81	17	10
	4.88	135	10	76	22	10
	19.5	132	17	90	16	14
	78.1	123	21	74	23	16
	313	119	14	85	22	10
	1250	101 *	12 *	91	11 *	15 *
	5000	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *
S9 mix (+)	陰性対照	117	11	93	28	23
	1.22	134	18	112	32	28
	4.88	154	17	116	30	22
	19.5	146	19	119	22	23
	78.1	118	21	104	27	23
	313	153	32	104	29	19
	1250	127 *	9 *	104 *	29 *	18 *
	5000	0 *	0 *	0 *	0 *	0 *
陽性対照 S9 mix (-)	名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2	9-AA
	用量 (µg/プレート)	0.01	0.5	0.005	0.1	80
	(コロニー数/プレート)	577	548	616	768	298
陽性対照 S9 mix (+)	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	用量 (µg/プレート)	1	2	2	0.5	2
	(コロニー数/プレート)	1218	192	615	408	175

(備考) *: 菌の生育阻害が認められた。
陰性対照: 注射用水 (DW)

AF-2: 2-(2-フルル)-3-(5-ニトロ-2-フルル)アクリルアミド, NaN₃: アシ化ナトリウム, 9-AA: 9-アミノアクリジン塩酸塩, 2-AA: 2-アミノアントラセン

別表 2

試験結果表 (本試験 1)

試験期間		2005年6月14日 ~ 2005年6月17日				
代謝活性化系の有無	被験物質用量 (µg/プレート)	復帰変異数 (コロニー数/プレート)				
		塩基対置換型			フレームシフト型	
		TA100	TA1535	WP2uvrA/pKM101	TA98	TA1537
S9 mix (-)	陰性対照	101 119 (108) 104 (10)	14 11 (13) 13 (2)	92 88 (89) 88 (2)	24 15 (21) 24 (5)	16 11 (14) 15 (3)
	39.1	107 109 (113) 123 (9)	15 17 (15) 14 (2)	/	18 27 (22) 21 (5)	10 16 (15) 18 (4)
	78.1	101 115 (113) 122 (11)	10 11 (11) 11 (1)		22 26 (22) 19 (4)	19 17 (17) 15 (2)
	156	108 109 (110) 113 (3)	11 11 (11) 12 (1)		85 85 (84) 81 (2)	19 23 (20) 17 (3)
	313	119 131 (120) 110 (11)	10 9 (11) 15 (3)	76 84 (82) 87 (6)	18 23 (21) 21 (3)	14 16 (15) 14 (1)
	625	107 116 (119) 135 (14)	12 14 (12) 11 (2)	88 80 (81) 76 (6)	18 22 (21) 24 (3)	10 11 (11) 11 (1)
	1250	86 * 85 * (87) 91 * (3)	9 * 7 * (10) 14 * (4)	78 72 (74) 72 (3)	15 * 9 * (11) 10 * (3)	8 * 8 * (8) 7 * (1)
	2500	/	/	0 * 0 * (0) 0 * (0)	/	/
	5000			0 * 0 * (0) 0 * (0)		
	S9 mix (+)	陰性対照	125 134 (127) 123 (6)	14 10 (11) 9 (3)	95 89 (94) 99 (5)	30 29 (29) 27 (2)
9.77		/	11 8 (10) 10 (2)	/	/	/
19.5			9 10 (10) 10 (1)			
39.1			105 121 (119) 130 (13)			
78.1		133 113 (131) 148 (18)	10 13 (12) 13 (2)	103 112 (106) 103 (5)	24 23 (24) 24 (1)	19 14 (17) 19 (3)
156		128 129 (133) 141 (7)	9 8 (9) 10 (1)	87 106 (98) 100 (10)	25 23 (24) 23 (1)	23 18 (21) 22 (3)
313		119 121 (117) 112 (5)	11 11 (11) 10 (1)	98 89 (92) 89 (5)	26 21 (24) 24 (3)	18 15 (17) 18 (2)
625		117 101 (116) 129 (14)	14 9 (11) 10 (3)	95 123 (114) 125 (17)	25 24 (24) 24 (1)	23 17 (19) 18 (3)
1250		165 * 169 * (173) 186 * (11)	9 * 7 * (6) 3 * (3)	111 * 100 * (109) 117 * (9)	9 * 13 * (10) 9 * (2)	7 * 11 * (9) 10 * (2)
陽性対照 S9 mix (-)		名称	AF-2	NaN ₃	AF-2	AF-2
	用量 (µg/プレート)	0.01	0.5	0.005	0.1	80
陽性対照 S9 mix (+)	名称	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA	2-AA
	用量 (µg/プレート)	1	2	2	0.5	2
陽性対照 S9 mix (+)	(コロニー数/プレート)	888 801 (853) 870 (46)	551 534 (557) 586 (27)	1138 1161 (1056) 870 (162)	825 897 (869) 886 (39)	323 325 (330) 341 (10)
	(平均値)	1377	245	564	432	216
	(標準偏差)	1543 (1444) 1411 (88)	198 (231) 250 (29)	577 (560) 539 (19)	420 (425) 422 (6)	191 (202) 199 (13)

(備考) * : 菌の生育阻害が認められた。

(平均値)
(±標準偏差)

陰性対照 : 注射用水 (DW)

AF-2: 2-(2-フルル)-3-(5-ニトロ-2-フルル)アクリルアミド, NaN₃: アジ化ナトリウム, 9-AA: 9-アミノアクリジン塩酸塩, 2-AA: 2-アミノアントラセン