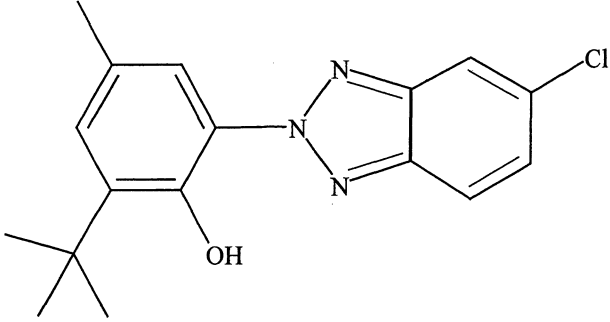


## ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験結果報告書

## 1. 一般的事項

|                                        |                                                                                    |            |         |
|----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|------------|---------|
| 新規化学物質の名称<br>(IUPAC命名法による)             | ブメトリゾール                                                                            |            |         |
| 別 名                                    | 2-(2'-ヒドロキシ-3-tert-ブチル-5'-メチルフェニル)-5-クロロベンゾトリアゾール                                  |            |         |
| C A S 番 号                              | 3896-11-5                                                                          |            |         |
| 構造式又は示性式<br>(いずれも不明の場合は、その製法の概要)       |  |            |         |
| 分 子 量                                  | 315.80                                                                             |            |         |
| 試験に供した新規化学物質の純度                        | 99.9 %                                                                             |            |         |
| 試験に供した新規化学物質のロット番号                     | 01721IW4                                                                           |            |         |
| 不純物の名称及び含有率                            | —                                                                                  |            |         |
| 蒸 気 圧                                  | 7.5 × 10E-7 Pa (20℃)                                                               |            |         |
| 対 水 溶 解 度                              | <1mg/L (20℃) EEC A6                                                                |            |         |
| 1-オクタノール/水分配係数                         | logPow>6 (20-25℃)                                                                  |            |         |
| 融 点                                    | 138-141℃                                                                           |            |         |
| 沸 点                                    | —                                                                                  |            |         |
| 常温における性状                               | 淡黄色粉末, 臭いなし                                                                        |            |         |
| 安 定 性                                  | 常温・常圧で安定                                                                           |            |         |
| 溶媒に対する溶解度等                             | 溶媒                                                                                 | 溶解度        | 溶媒中の安定性 |
|                                        | DMSO                                                                               | 5 mg/mL以下* | **      |
| 備考                                     |                                                                                    |            |         |
| * : 試験施設にて溶解度を確認                       |                                                                                    |            |         |
| ** : 643.2 mg/mL DMSO懸濁液に発熱, 発泡は認められず. |                                                                                    |            |         |

[備考] 物理化学的性状は、可能な限り記入すること。

1. 「蒸気圧」の欄には、被験物質の蒸気圧を記入すること。
2. 「安定性」の欄には、温度、光等に対する安定性を記入すること。
3. 「溶媒に対する溶解度等」の欄には、被験物質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すること。

## 2. 細胞の種類－培養条件

|               |                                         |                     |                           |
|---------------|-----------------------------------------|---------------------|---------------------------|
| 細胞名           | CHL/IU                                  | 入手先                 | 大日本製薬株式会社<br>ラボラトリープロダクツ部 |
| 種             | チャイニーズハムスター                             | 入手年月日               | 2000年 11月 28日             |
| 培養液           | イーグルのMEM粉末を指定の調製方法に従って溶液とし、メンブランで濾過したもの | 製造元                 | GIBCO                     |
| 血清の種類と添加量     | 仔牛 10 %                                 | 製造元 (Lot No.)       | GIBCO (511116)            |
| 細胞周期          | 16.9 h                                  | 凍結条件                | -196 °C                   |
| 継代数           | 15                                      | 容器                  | プラスチックシャーレ                |
| 染色体数<br>(モード) | 25 本                                    | 培養条件<br>温度          | 37 °C                     |
|               |                                         | C O <sub>2</sub> 濃度 | 5 %                       |
| 備考            | —                                       |                     |                           |

## 3. S 9 mix

(1) S 9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: オリエンタル酵母工業株式会社) |
| 製造年月日         | 2005年 1月 21日製造                   |
| 購入の場合のLot No. | 05012111                         |
| 保存温度          | -80 °C                           |

(2) S 9の調製方法

| 使用動物    |                     | 誘導物質                     |                                             |    |           |
|---------|---------------------|--------------------------|---------------------------------------------|----|-----------|
| 種・系統    | ラット, Crj:CD (SD)    | 名 称                      | Phenobarbital (PB)<br>5,6-Benzoflavone (BF) |    |           |
| 性       | 雄                   | 投与方法                     | i.p.                                        |    |           |
| 週 齢     | 7 週                 | 投与期間及び投与量<br>(g / kg 体重) | 1日目                                         | PB | 0.03 g/kg |
| 体重 (匹数) | 216.4 ± 8.9 g (45匹) |                          | 2,3,4日目                                     | PB | 0.06 g/kg |
|         |                     |                          | 3日目                                         | BF | 0.08 g/kg |

## (3) S 9 m i x の組成

| 成 分               | S 9 mix 1mL中の量 | 成 分                | S 9 mix 1mL中の量 |
|-------------------|----------------|--------------------|----------------|
| S9                | 0.3 mL         | NADP               | 4 $\mu$ mol    |
| MgCl <sub>2</sub> | 5 $\mu$ mol    | Na-リン酸緩衝液          | — $\mu$ mol    |
| KCl               | 33 $\mu$ mol   | その他<br>(HEPES緩衝液*) | 4 $\mu$ mol    |
| グルコース-6-リン酸       | 5 $\mu$ mol    | 注射用水               | 総量を1mLとする.     |

\*pH 7.2

## (4) S 9 m i x の処理条件(該当する番号を○で囲み, 必要事項を記入すること.)

|                |             |            |
|----------------|-------------|------------|
| ① プレート法        | 2. 浮遊細胞法    | 3. その他 ( ) |
| S 9 量 (最終濃度)   | 5 %         |            |
| S 9 蛋白量 (最終濃度) | 1.257 mg/mL |            |
| 処 理 時 間        | 6 h         |            |
| 回 復 時 間        | 18 h        |            |
| 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○で囲むこと.)

| 使用溶媒      | 名称                                                             | 製造元         | Lot No. | グレード        | 純度      |
|-----------|----------------------------------------------------------------|-------------|---------|-------------|---------|
|           | ジメチルスルホキシド                                                     | 株式会社同仁化学研究所 | PU140   | 紫外部吸収スペクトル用 | 100.0 % |
| 溶媒選択の理由   | ジメチルスルホキシド（DMSO）は、ほ乳類培養細胞を用いる染色体異常試験で一般的に用いられており、良好な懸濁状態となるため。 |             |         |             |         |
| 被験物質溶液の性状 | 溶解                                                             | （懸濁）        | その他（    |             |         |

## 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        |                   | 2005年 4月 25日から<br>2005年 4月 26日 | 2005年 4月 25日から<br>2005年 4月 26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 60 mm                       | 直径 60 mm                       |
|               | 培 養 液 量           | 3.0 mL/培養器                     | 2.5 mL/培養器                     |
|               | 用量当たりの培養器数        | 1                              | 1                              |
| 細 胞           | 播 種 細 胞 数         | $2.0 \times 10^4$ 個/5mL        | $2.0 \times 10^4$ 個/5mL        |
|               | 前 培 養 日 数         | 3 日間                           | 3 日間                           |
| 処 理 条 件       | 被験物質溶液添加量         | 0.015 mL/培養器                   | 0.015 mL/培養器                   |
|               | S 9 m i x 添 加 量   |                                | 0.5 mL/培養器                     |
|               | S 9 の 最 終 濃 度     |                                | 5 %                            |
|               | S 9 蛋 白 の 最 終 濃 度 |                                | 1.257 mg/mL                    |
|               | 処 理 時 間           | 6 h                            | 6 h                            |
|               | 回 復 時 間           | 18 h                           | 18 h                           |
| 細胞増殖抑制<br>測定法 | 血球計算盤を使用          |                                |                                |
| 備考            |                   |                                |                                |

## (2) 細胞増殖抑制試験結果

| 代謝活性化法によらない場合 ( 6 - 18 h) |           | 代謝活性化法による場合 ( 6 - 18 h) |           |
|---------------------------|-----------|-------------------------|-----------|
| 用量 (mg/mL)                | 細胞増殖率 (%) | 用量 (mg/mL)              | 細胞増殖率 (%) |
| 0                         | 100       | 0                       | 100       |
| 0.00625                   | 95        | 0.00625                 | 97        |
| 0.0125                    | 94        | 0.0125                  | 97        |
| 0.025                     | 98        | 0.025                   | 100       |
| 0.050 <sup>†</sup>        | 97        | 0.050 <sup>†</sup>      | 97        |
| 0.100 <sup>†</sup>        | 95        | 0.100 <sup>†</sup>      | 97        |
| 0.200 <sup>†</sup>        | 94        | 0.200 <sup>†</sup>      | 93        |
| 0.400 <sup>†</sup>        | 91        | 0.400 <sup>†</sup>      | 90        |
| 0.800 <sup>†</sup>        | 77        | 0.800 <sup>†</sup>      | 81        |
| 1.600 <sup>†</sup>        | 41        | 1.600 <sup>†</sup>      | 47        |
| 3.200 <sup>†</sup>        | 23        | 3.200 <sup>†</sup>      | 27        |

[備考] 括弧内には処理時間及び回復時間を記入すること。

細胞増殖率は溶媒処理群を100%とし、濃度の低い順に記入すること。

<sup>†</sup>代謝活性化法によらない場合及び代謝活性化法による場合とも、0.050 mg/mL以上の濃度で被験物質の析出（白色、微細及び油膜状）が認められた。

## (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  |               | 2005年 5月 9日から<br>2005年 5月 10日 | 2005年 5月 9日から<br>2005年 5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 60 mm                      | 直径 60 mm                      |
|         | 培 養 液 量       | 3.0 mL/培養器                    | 2.5 mL/培養器                    |
|         | 用量当たりの培養器数    | 2                             | 2                             |
| 細 胞     | 播 種 細 胞 数     | $2.0 \times 10^4$ 個/5mL       | $2.0 \times 10^4$ 個/5mL       |
|         | 前 培 養 日 数     | 3 日間                          | 3 日間                          |
| 処 理 条 件 | 被験物質溶液添加量     | 0.015 mL/培養器                  | 0.015 mL/培養器                  |
|         | S 9 mix 添加量   |                               | 0.5 mL/培養器                    |
|         | S 9 の 最 終 濃 度 |                               | 5 %                           |
|         | S 9 蛋白の最終濃度   |                               | 1.257 mg/mL                   |
|         | 処 理 時 間       | 6 h                           | 6 h                           |
|         | 回 復 時 間       | 18 h                          | 18 h                          |
| 備考      |               |                               |                               |

## (4) 染色体異常試験結果 (別表1-1, 1-2による.)