



最終報告書

試験表題:ジメチルスルフィドのほ乳類培養細胞を用いる
染色体異常試験

試験番号: 

試験期間: 



試験責任者署名:



本報告書は表紙を含む 19 枚

目次

	(頁)
1. 要約	3
2. 試験表題	4
3. 試験番号	4
4. 試験目的	4
5. 試験委託者	4
6. 試験施設	4
7. 試験責任者	4
8. 試験実施期間.....	4
9. 適用した GLP 及びガイドライン	5
10. 試験関係資料の保存	5
11. 試験材料及び試験方法	6
11.1. 被験物質.....	6
11.2. 溶媒	6
11.3. 対照物質.....	6
11.4. 被験物質液の調製	7
11.5. 陽性対照物質液の調製.....	7
11.6. 使用細胞.....	8
11.7. 培養液及び培養条件	8
11.8. S9 mix.....	8
11.9. 試験方法.....	9
11.10. 試験の成立条件	11
11.11. 統計学的処理.....	11
11.12. 判定基準.....	11
12. 試験結果及び考察	12
表 1	細胞増殖抑制試験結果表
表 2	染色体異常試験結果表 (細胞増殖率)
表 3	染色体異常試験結果表 (短時間処理法)
表 4	染色体異常試験結果表 (連続処理法 24 時間処理)
図 1	細胞増殖抑制試験結果 (細胞増殖率)
図 2	染色体異常試験結果 (細胞増殖率)
添付資料	陰性対照値及び陽性対照値の背景データから算出した基準値

1. 要約

ジメチルスルフィドの染色体異常誘発性を、雌チャイニーズハムスター肺由来 CHL/IU 細胞を用い、短時間処理法の代謝活性化非存在下及び代謝活性化存在下、連続処理法 24 時間処理による染色体異常試験により検討した。染色体異常試験は、細胞増殖抑制試験においていずれの処理条件においても 50%以上の細胞増殖抑制が認められず、析出も認められなかったことから、すべての処理条件で本被験物質の 10 mM に相当する 650 µg/mL を最高用量とした以下公比 2 の計 4 用量により実施した。染色体標本の観察は、200 個の分裂中期細胞の観察が可能な連続した上位 3 用量について実施し、すべての処理条件で 163, 325, 650 µg/mL の用量で行った。対照として、すべての処理条件に陰性対照及び陽性対照を設けた。その結果を以下に要約する。

1. 被験物質処理の染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度は、すべての処理条件において 0.0~1.0%を示し、5%以上の増加は認められなかった。倍数体の出現頻度についても、すべての処理条件において 0.0~0.5%を示し、陰性対照の背景データの範囲内であった。
2. 陰性対照の染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度は、短時間処理法の代謝活性化非存在下では 1.0%、短時間処理法の代謝活性化存在下では 1.5%、連続処理法 24 時間処理では 0.0%を示し、5%以上の増加は認められなかった。倍数体の出現頻度についても、短時間処理法の代謝活性化非存在下及び存在下では 0.3%、連続処理法 24 時間処理では 0.0%を示し、いずれも陰性対照の背景データの範囲内であった。
3. 陽性対照の染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度は、短時間処理法の代謝活性化非存在下及び存在下、連続処理法 24 時間処理でそれぞれ 19.5%、32.0%、26.5%と増加を示した。これらの結果は、試験が適切に実施されたことを示す。
4. 以上の結果より、本試験条件下において、本被験物質の染色体異常誘発性は陰性と判定する。



2. 試験表題

ジメチルスルフィドのは乳類培養細胞を用いる染色体異常試験

3. 試験番号



4. 試験目的

被験物質のは乳類培養細胞に対する染色体異常誘発性の有無を検討する。

5. 試験委託者

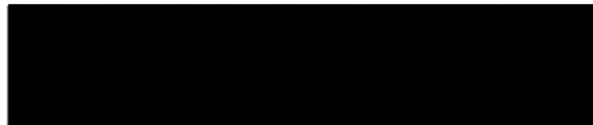
国立医薬品食品衛生研究所



試験委託担当者



6. 試験施設



7. 試験責任者



8. 試験実施期間

試験開始日

溶解性試験

細胞増殖抑制試験

細胞播種

被験物質処理

細胞増殖率計測

染色体異常試験

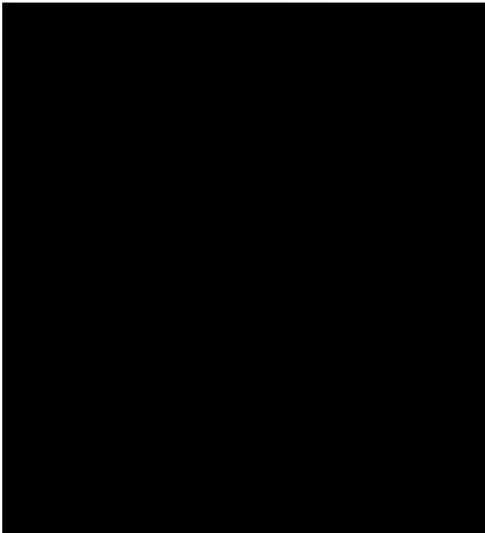
細胞播種

被験物質処理

標本作製

標本観察

試験終了日



9. 適用した GLP 及びガイドライン

GLP: 適用しない

ガイドライン:「新規化学物質等に係る試験の方法について」(薬食発 0331 第 7 号, 平成 23・03・29 製局第 5 号, 環保企発第 110331009 号, 平成 23 年 3 月 31 日)

10. 試験関係資料の保存

保存場所: 当試験施設, 資料保存施設

保存資料: 試験計画書(原本)

被験物質の受領, 廃棄, 管理に関する記録

被験物質の使用に関する記録

菌株の管理に関する記録

試験の実施に関する記録

最終報告書(原本)

その他記録文書

保存期間: 試験終了後 5 年間保存

11. 試験材料及び試験方法

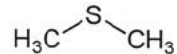
11.1. 被験物質

名称: ジメチルサルファイド

別名: ジメチル スルファイド

CAS 番号: 75-18-3

構造式:



ロット番号: [REDACTED]

供給元: [REDACTED]

純度: 25%

不純物の名称及び濃度: エタノール, 75%

分子量: 62.13404

融点: -98°C

沸点: 37°C

性状: 液体

安定性: 冷蔵で安定

溶解性: 水に 6.5 mg/mL 以上溶解

ジメチルスルホキシド, アセトンに 65 mg/mL 以上溶解

溶媒中での安定性: 水, ジメチルスルホキシド及びアセトンに安定

保存条件: 密封, 冷蔵

保存場所: [REDACTED]

11.2. 溶媒

名称: 日本薬局方注射用水

ロット番号: [REDACTED]

供給元: 扶桑薬品工業株式会社

11.3. 対照物質

陰性対照は, 被験物質液の調製に使用した日本薬局方注射用水とした. 陽性対照は, ほ乳動物培養細胞を用いる染色体異常試験に汎用されている下記の物質を使用した.

名称: Mitomycin C (以下 MMC と略す)

ロット番号: [REDACTED]

力価: 2 mg

供給元: 協和発酵キリン株式会社

名称: Cyclophosphamide (以下 CP と略す)

ロット番号: [REDACTED]

純度: 102.3%

供給元: Sigma-Aldrich Inc.

11.4. 被験物質液の調製

11.4.1. 溶媒の選択

本被験物質の溶媒は、溶解性試験の結果より設定した。溶解性試験は、日本薬局方注射用水、ジメチルスルホキシド及びアセトンに実施した。溶解性試験の調製濃度は、日本薬局方注射用水の場合は 6.5 mg/mL、ジメチルスルホキシド及びアセトンの場合は 65 mg/mL とした。

所定量の被験物質を用時秤量し、6.5 または 65 mg/mL の濃度になるよう各溶媒を加え、目視により発熱、発煙等の反応性の有無及び溶解性を確認した。その結果、本被験物質はいずれの溶媒に対しても溶解した。また、培養液の 10% または 1% の割合での添加においても、培養液中に溶解した。一方、本被験物質と溶媒との反応性については、いずれの溶媒についてもなら認められなかった。従って、本被験物質はこれらの溶媒に対して安定であると判断した。

以上の結果より、本被験物質の溶媒は溶液が得られ、培養液中に溶解し、また反応性が認められず溶媒中で本被験物質が安定であると判断された日本薬局方注射用水とした。

11.4.2. 被験物質液の調製

調製時期：用時調製した。

純度換算：純度換算を行った(秤量値×0.250)。

液量換算：秤量した被験物質の液量を、添加する溶媒の液量から除いた。

調製方法：所定量の被験物質を秤量し、これに日本薬局方注射用水を加え、6.5 mg/mL の被験物質液を調製した。低濃度の被験物質液は、それぞれ調製した被験物質液を最高濃度とし、同様の日本薬局方注射用水で段階希釈して調製した。試験区分ごとの被験物質の秤量値及び液量、溶媒の添加量を下記に示す。使用後の残余被験物質液は、感染性廃棄物として廃棄した。

試験区分	秤量値(mg)	液量(μL)	添加量(mL)
細胞増殖抑制試験	177.85	200	6.640
染色体異常試験	234.68	350	8.676

11.5. 陽性対照物質液の調製

陽性対照物質は、あらかじめ日本薬局方生理食塩液(Lot No. [REDACTED])、扶桑薬品工業株式会社)に溶解し-80°C に凍結保存したものを、用時融解して使用した。調製濃度は、MMC の場合は 5 μg/mL、CP の場合は 500 μg/mL とした。陽性対照物質液の添加量は培養液の 1% とし、使用後の残余陽性対照物質液は感染性廃棄物として廃棄した。下記に処理条件ごとの陽性対照物質の処理濃度を示す。

短時間処理法の代謝活性化非存在下	MMC, 0.05 μg/mL
短時間処理法の代謝活性化存在下	CP, 5.0 μg/mL
連続処理法 24 時間処理	MMC, 0.05 μg/mL

11.6. 使用細胞

試験には、自然発生の染色体異常発現率が低く、細胞の安定性及び再現性が良く、染色体が比較的大きく数も少なく(染色体数モード 25 本)、多くの化学物質に対して感受性が高く、ほ乳動物培養細胞を用いる染色体異常試験に汎用されている下記の細胞を使用した。入手した細胞は、液体窒素で保存した。

細胞種	雌チャイニーズハムスター肺由来 CHL/IU 細胞(継代数 14)
購入先	DS ファーマバイオメディカル株式会社
購入日	
継代数	19 (細胞増殖抑制試験), 24 (染色体異常試験)
細胞周期	約 15.5 時間
マイコプラズマ	陰性
モード数	25 本

11.7. 培養液及び培養条件

培養液の組成を以下に示す。細胞は 60 mm プレートを培養容器とし、37°C, CO₂濃度 5% で培養した。

Eagle の MEM 液体培地, 和光純薬工業株式会社, Lot No. [REDACTED]	445 mL
ペニシリン (5000 units/mL) 及びストレプトマイシン (5000 µg /mL) ライフテクノロジーズ, Lot No. [REDACTED]	5 mL
牛胎児血清, 非働済 (56°C, 30 分) ライフテクノロジーズ, Lot No. [REDACTED]	50 mL

11.8. S9 mix

11.8.1. S9

S9 は、以下のオリエンタル酵母工業株式会社製ラット肝 S9 を用いた。S9 は、使用するまで -80°C に保存した。

使用動物	ラット:Sprague-Dawley 系
性, 週齢/体重範囲	雄, 7 週齢/208.6±10.0g
ロット番号	[REDACTED]
製造日	[REDACTED]
誘導物質	Phenobarbital (PB)及び 5,6-Benzoflavone (BF)
投与量及び投与回数	PB: 30 mg/kg 1回(1日目) 60 mg/kg 3回(2~4日目) BF: 80 mg/kg 1回(3日目)
投与方法	腹腔内投与
蛋白含量	22.3 mg/mL S9

11.8.2. コファクター

コファクターは、グルコース-6-リン酸及び NADP (オリエンタル酵母工業株式会社)の所定量を秤量し、用時それぞれ日本薬局方注射用水に溶解して MgCl₂ 溶液, KCl 溶液及び HEPES 緩衝液 (pH 7.2)と下記の割合で混合したものを使用した。調製したコファクター溶液は、使用するまで氷冷下で保存した。

20 mmol/L HEPES 緩衝液 (pH 7.2)	2 mL
50 mmol/L MgCl ₂	1 mL
330 mmol/L KCl	1 mL
50 mmol/L G-6-P	1 mL
40 mmol/L NADP	1 mL
日本薬局方注射用水	1 mL

11.8.3. S9 mix の調製

-80°C に凍結保存した S9 を用時に解凍し、コファクターと 7:3 の割合で混合した。以下に S9 mix 1 mL 中の組成を示す。調製した S9 mix は、氷冷下で保存した。

S9	0.3 mL
MgCl ₂	5 µmol
KCl	33 µmol
G-6-P	5 µmol
NADP	4 µmol
HEPES 緩衝液 (pH 7.2)	4 µmol

11.9. 試験方法

11.9.1. 群構成

細胞増殖抑制試験及び染色体異常試験は、短時間処理法の代謝活性化非存在下及び存在下、連続処理法 24 時間処理により実施した。細胞増殖抑制試験では、被験物質処理の用量あたりのプレート数は 1 枚とし、対照として陰性対照を設けた。染色体異常試験では、被験物質処理の用量あたりのプレート数は 3 枚とし、2 枚を標本作製に、1 枚を細胞増殖率の算出に用いた。また、陰性対照も同様とした。陽性対照のプレート数は 2 枚とし、標本作製に用いた。なお、同日に複数の試験を実施した場合は、陽性対照は共有とした。

11.9.2. 細胞増殖抑制試験

11.9.2.1. 用量段階

染色体異常試験の最高用量及び用量段階を設定するため、細胞増殖抑制試験を実施した。細胞増殖抑制試験の用量段階は、本被験物質の 10 mM に相当する 650 µg/mL を最高用量とした以下公比 2 の計 10 用量とした。被験物質処理及び陰性対照の添加量は、培養液の 10% とした。

11.9.2.2. 試験操作

4×10^3 細胞/mL の細胞浮遊液 5 mL を播種し、3 日間培養した。短時間処理法の代謝活性化非存在下では、培養液を 2.7 mL とし被験物質液を 0.3 mL 添加した。短時間処理法の代謝活性化存在下では、培養液を 2.2 mL としこれに S9 mix 0.5 mL、被験物質液を 0.3 mL 添加した。添加後細胞を 6 時間培養し、6 時間後に細胞をダルベッコリン酸緩衝液（以下 PBS と略す）で洗浄した後培養液 5 mL を加え、さらに約 18 時間培養した。連続処理法 24 時間処理では、培養液を 4.5 mL とし被験物質液を 0.5 mL 添加し約 24 時間培養した。被験物質の析出の有無は、被験物質添加時及び培養終了時に観察した。

被験物質処理から約 24 時間後に培養液を取り除き、生細胞数測定試薬 (Lot No. [REDACTED] 株式会社同仁化学研究所) を用時に加えた培養液を 2 mL 添加して約 3 時間培養し、呈色反応を行った。呈色反応終了後、プレート 1 枚あたり 96 ウエルプレートの 8 ウエルに 0.1 mL ごと分注し、マイクロプレートリーダーで波長 450 nm での吸光度を測定してホルマゼン量を算出した。被験物質処理の細胞増殖率は、陰性対照のホルマゼン量を 100% とし、用量当たりのホルマゼン量の平均値から細胞増殖率を算出した。50% 以上の増殖抑制が観察された場合は、細胞増殖率 50% を挟む 2 点間を結ぶ直線から、概略の 50% 細胞増殖抑制濃度 (IC_{50}) を算出した。

11.9.3. 染色体異常試験

11.9.3.1. 用量段階

細胞増殖抑制試験の結果を表 1 及び図 1 に示した。

本被験物質は、短時間処理法の代謝活性化非存在下及び存在下、連続処理法 24 時間処理のいずれの用量段階においても析出を生じなかった。また、いずれの処理条件でも 50% 以上の細胞増殖抑は認められなかった。

以上の結果より、染色体異常試験の用量段階は、すべての処理条件において 650 $\mu\text{g}/\text{mL}$ を最高用量とした以下公比 2 の計 4 用量とした。被験物質処理及び陰性対照の添加量は、培養液の 10%、陽性対照の添加量は、培養液の 1% とした。

11.9.3.2. 試験操作

試験操作は、11.9.2.2. 項と同様の操作で実施し、細胞増殖率を算出した。

細胞の回収の約 2 時間前に、コルセミドを最終濃度 0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ になるよう添加した。0.1% EDTA 添加 1.25% トリプシン処理で細胞を回収し、遠心して上清を取り除き、これに 0.075 mol/L 塩化カリウム液を加えて低張処理し、約 10 分後にカルノア固定液 (メタノール 3 : 酢酸 1) を加えて固定した。固定した細胞をスライドガラス上に滴下し、エアドライ法により空気乾燥した後 2% ギムザ液で染色した。染色体標本は、プレートあたり 2 枚作製した。

11.9.3.3. 観察対象

染色体標本の観察は、短時間処理法の代謝活性化非存在下及び代謝活性化存在下を先に、次いで連続処理法 24 時間処理について行った。染色体標本の観察は、すべての処理条件で 163, 325, 650 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の用量で実施した。陰性対照及び陽性対照についても、同様に観察した。

11.9.3.4. 染色体の観察

観察対象の標本は、コードを割付け、プレート番号の情報を伏せた。染色体の構造異常は、1プレートあたり100個、1用量あたり200個の良く広がった分裂中期細胞を倍率1000倍の顕微鏡下で観察した。数的異常は、倍率200倍の顕微鏡下でプレートあたり200個、1用量あたり400個を観察した。構造異常を持つ細胞は、ギャップのみを有する細胞を含めた場合と、含まない場合に区別して集計し、染色体の観察結果の評価はギャップのみを有する細胞を含めない、染色体異常を有する細胞の出現頻度により行った。

染色体異常の分類		異常の型
構造異常	染色分体型異常	染色分体型切断(ctb) 染色分体型交換(cte)
	染色体型異常	染色体型切断(csb), 染色体型交換(cse)
	その他の異常	断片化(frg), 多数の異常(mul)
数的異常		倍数体(pol), 核内倍加(end)

数的異常; モード数が38本以上

11.10. 試験の成立条件

下記の条件を満たしている場合に、試験は成立とした。

1. 構造異常を有する細胞の出現頻度が陰性対照で5%未満、陽性対照で10%以上認められる。
2. 被験物質処理において、分裂中期細胞200個を観察した用量が3用量以上ある。

11.11. 統計学的処理

すべての処理条件において、構造異常を有する細胞の出現頻度が5%未満で、かつ、数的異常を有する細胞の出現頻度が背景データの範囲内であることから、統計解析は行わなかった。

11.12. 判定基準

石館らの判定基準(石館基監修; 染色体異常試験データ集, エル・アイ・シー社, 1987)に従い、染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度が下記の条件を満たす場合に、染色体異常誘発性は疑陽性(5%以上~10%未満)または陽性(10%以上)と判定した。染色体の数的異常については、倍数体を有する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、用量依存性が認められた場合に陽性と判定した。

疑陽性: ギャップを除く構造異常を有する細胞の出現頻度が5%以上、10%未満で、差に有意性及び用量反応性が確認される場合

陽性: ギャップを除く構造異常を有する細胞の出現頻度が10%以上で、差に有意性及び用量反応性が確認される場合

数的異常の出現頻度に、陰性対照との差が認められる場合

12. 試験結果及び考察

染色体異常試験結果を表 2～4 及び図 2 に示した。

被験物質処理の染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度は、すべての処理条件において 0.0～1.0%を示し、5%以上の増加は認められなかった。倍数体の出現頻度についても、すべての処理条件において 0.0～0.5%を示し、陰性対照の背景データの範囲内であった。一方、陰性対照の染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度は、短時間処理法の代謝活性化非存在下では 1.0%、短時間処理法の代謝活性化存在下では 1.5%、連続処理法 24 時間処理では 0.0%を示し、5%以上の増加は認められなかった。倍数体の出現頻度についても、短時間処理法の代謝活性化非存在下及び存在下では 0.3%、連続処理法 24 時間処理では 0.0%を示し、いずれも陰性対照の背景データの範囲内であった。陽性対照の染色体の構造異常を有する細胞の出現頻度は、短時間処理法の代謝活性化非存在下及び存在下、連続処理法 24 時間処理でそれぞれ 19.5%、32.0%、26.5%と増加を示した。これらの結果は、試験が適切に実施されたことを示す。また、試験の信頼性に悪影響をおよぼす疑いのある環境要因についても、なら認められなかった。

以上の結果より、本試験条件下において、本被験物質の染色体異常誘発性は陰性と判定する。

表1 ジメチルスルフィドの細胞増殖抑制試験（細胞増殖率）

濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	短時間処理法						連続処理法24時間処理		
	S9 mix (-)			S9 mix (+)			ホルマザン 測定値	細胞増殖率 (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
	ホルマザン 測定値	細胞増殖率 (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	ホルマザン 測定値	細胞増殖率 (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)			
陰性対照	0.942	100.0	---	0.698	100.0	---	0.819	100.0	---
1.27	0.958	101.7		0.695	99.6		0.833	101.7	
2.54	0.939	99.7		0.725	103.9		0.833	101.7	
5.08	0.998	105.9		0.704	100.9		0.902	110.1	
10.2	1.016	107.9		0.695	99.6		0.921	112.5	
20.3	1.034	109.8		0.694	99.4		0.892	108.9	
40.6	1.058	112.3		0.698	100.0		0.972	118.7	
81.3	1.069	113.5		0.706	101.1		0.876	107.0	
163	1.007	106.9		0.679	97.3		1.050	128.2	
325	1.069	113.5		0.702	100.6		0.825	100.7	
650	0.992	105.3		0.718	102.9		0.861	105.1	

陰性対照: 日本薬局方注射用水

表2 ジメチルスルフィドの染色体異常試験（細胞増殖率）

短時間処理法								連続処理法24時間処理			
S9 mix (-)				S9 mix (+)							
濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	ホルマザン 測定値	細胞増殖率 (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	ホルマザン 測定値	細胞増殖率 (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	ホルマザン 測定値	細胞増殖率 (%)	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
陰性対照	0.896	100	---	陰性対照	0.603	100	---	陰性対照	0.968	100	---
81.3	0.918	102		81.3	0.589	97.7		81.3	0.956	98.8	
163	0.879	98.1		163	0.565	93.7		163	0.963	99.5	
325	0.884	98.7		325	0.572	94.9		325	0.953	98.5	
650	0.887	99.0		650	0.482	79.9		650	0.942	97.3	

陰性対照: 日本薬局方注射用水

表3 ジメチルスルフィドの染色体異常試験（短時間処理法）

処理時間	(μg/mL)	細胞増殖率 (%)	構造異常を持つ細胞数								合計(%)		数的異常を持つ細胞数				
			観察数	gap	ctb	csb	cte	cse	others	合計	- gap	+ gap	観察数	pol	end	合計 (%)	
6 時間 S9 mix (-)	陰性対照	100	100	1	1	0	0	0	0	0	1			200	1	0	1
			100	1	1	0	0	0	0	0	1			200	0	0	0
			Total	200	2	2	0	0	0	0	2	(1.0)	(2.0)	400	1	0	1
	163	98.1	100	0	0	0	0	0	0	0			200	0	0	0	
			100	0	0	1	0	0	0	1			200	0	0	0	
			Total	200	0	0	1	0	0	1	(0.5)	(0.5)	400	0	0	0	(0.0)
	325	98.7	100	0	0	0	0	0	0	0			200	0	0	0	
			100	0	0	0	0	0	0	0			200	0	0	0	
			Total	200	0	0	0	0	0	0	(0.0)	(0.0)	400	0	0	0	(0.0)
	650	99.0	100	0	0	0	0	0	0	0			200	1	0	1	
			100	0	2	0	0	0	0	2			200	1	0	1	
			Total	200	0	2	0	0	0	2	(1.0)	(1.0)	400	2	0	2	(0.5)
MMC 0.05	---	100	0	10	0	11	0	0	20			200	0	0	0		
		100	0	7	0	15	0	0	19			200	0	0	0		
		Total	200	0	17	0	26	0	39	(19.5)	(19.5)	400	0	0	0	(0.0)	
6 時間 S9 mix (+)	陰性対照	100	100	0	1	0	1	0	0	2			200	0	0	0	
			100	1	0	0	1	0	0	1			200	1	0	1	
			Total	200	1	1	0	2	0	3	(1.5)	(2.0)	400	1	0	1	(0.3)
	163	93.7	100	1	2	0	0	0	0	2			200	0	0	0	
			100	0	0	0	0	0	0	0			200	0	0	0	
			Total	200	1	2	0	0	0	2	(1.0)	(1.0)	400	0	0	0	(0.0)
	325	94.9	100	0	0	0	0	0	0	0			200	0	0	0	
			100	1	1	0	1	0	0	2			200	0	0	0	
			Total	200	1	1	0	1	0	2	(1.0)	(1.5)	400	0	0	0	(0.0)
	650	79.9	100	1	0	0	0	0	0	0			200	0	0	0	
			100	0	0	0	1	0	0	1			200	1	0	1	
			Total	200	1	0	0	1	0	1	(0.5)	(1.0)	400	1	0	1	(0.3)
CP 5.0	---	100	0	10	0	30	1	0	33			200	1	0	1		
		100	1	7	2	28	0	0	31			200	1	0	1		
		Total	200	1	17	2	58	1	64	(32.0)	(32.0)	400	2	0	2	(0.5)	

陰性対照: 日本薬局方注射用水

CP: Cyclophosphamide

MMC: Mitomycin C

ctb: 染色分体型切断, csb: 染色体型切断, cte: 染色分体型交換, cse: 染色体型交換, pol: 倍数体, end: 核内倍加

表4 ジメチルスルフィドの染色体異常試験（連続処理法24時間処理）

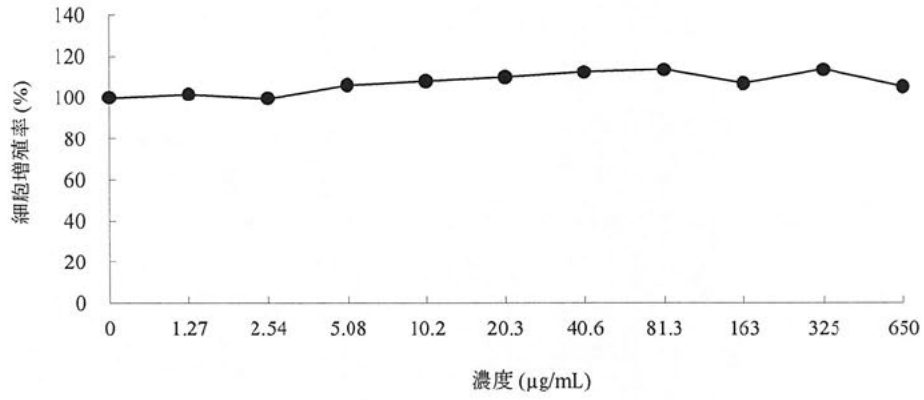
処理時間	(μg/mL)	細胞増殖率 (%)	構造異常を持つ細胞数								合計(%)		数的異常を持つ細胞数			
			観察数	gap	ctb	csb	cte	cse	others	合計	- gap	+ gap	観察数	pol	end	合計 (%)
24 時間	陰性対照	100	100	0	0	0	0	0	0	0			200	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0			200	0	0	0
			Total	200	0	0	0	0	0	0	0	(0.0)	(0.0)	400	0	0
	163	99.5	100	0	0	0	0	0	0	0			200	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0			200	0	0	0
			Total	200	0	0	0	0	0	0	0	(0.0)	(0.0)	400	0	0
	325	98.5	100	0	0	0	0	0	0	0			200	1	0	1
			100	1	0	0	0	0	0	0			200	0	0	0
			Total	200	1	0	0	0	0	0	0	(0.0)	(0.5)	400	1	0
	650	97.3	100	0	0	0	0	0	0	0			200	0	0	0
			100	0	0	0	0	0	0	0			200	0	0	0
			Total	200	0	0	0	0	0	0	0	(0.0)	(0.0)	400	0	0
MMC 0.05	---	100	1	6	0	22	0	1	27			200	0	0	0	
		100	0	3	0	24	0	0	26			200	2	0	2	
		Total	200	1	9	0	46	0	1	53	(26.5)	(26.5)	400	2	0	2 (0.5)

陰性対照: 日本薬局方注射用水

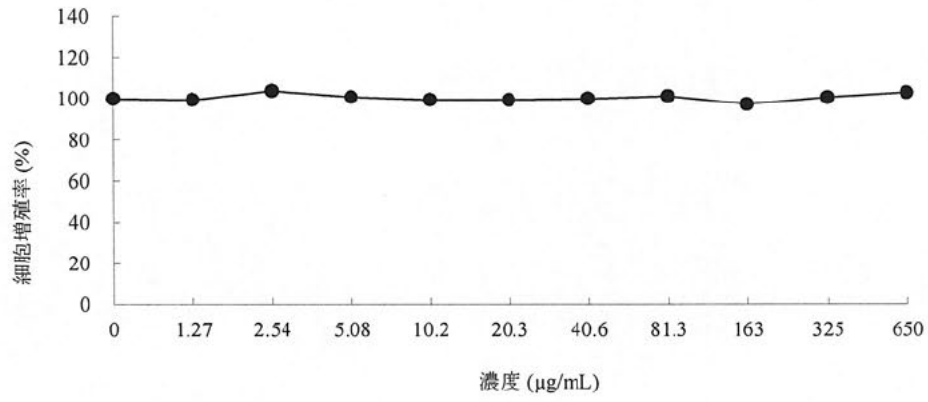
MMC: Mitomycin C

ctb: 染色分体型切断, csb: 染色体型切断, cte: 染色分体型交換, cse: 染色体型交換, pol: 倍数体, end: 核内倍加

短時間処理法（代謝活性化非存在下）



短時間処理法（代謝活性化存在下）



連続処理法24時間処理

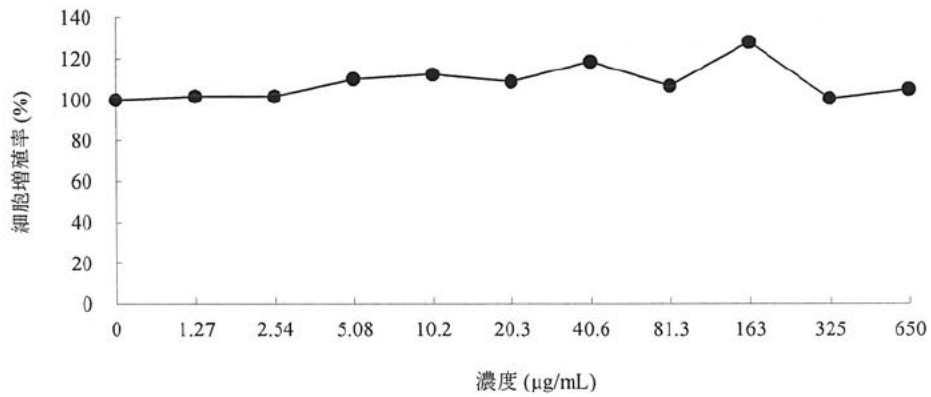


図1 ジメチルスルフィドの細胞増殖抑制試験（細胞増殖率, ██████████）

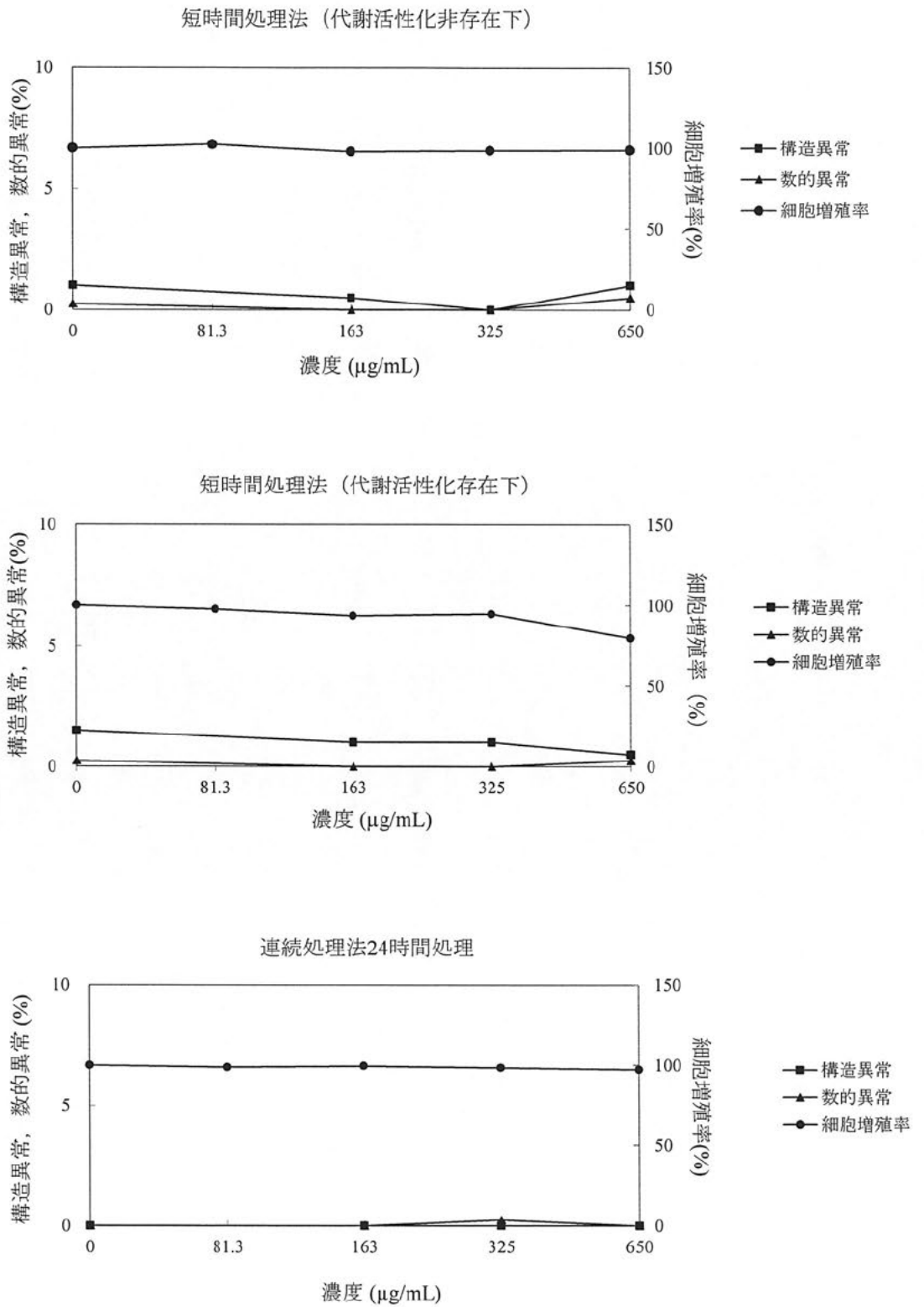


図2 ジメチルスルフィドの染色体異常試験 ()

添付資料

陰性対照値及び陽性対照値の背景データから算出した基準値

データ集計期間: XXXXXXXXXX

構造異常出現頻度 (%)

処理方法	陽性対照物質	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	試験数	構造異常出現頻度 (%)		変動範囲* (%)
				Mean	SD	
短時間処理法 (-S9 mix)	MMC	0	61	0.9	0.6	0.0 ~ 2.8
		0.05	50	25.8	8.2	1.3 ~ 50.3
短時間処理法 (+S9 mix)	CP	0	89	0.6	0.6	0.0 ~ 2.4
		5	60	31.0	8.2	6.2 ~ 55.7
連続処理 (-S9 mix) 24hrs	MMC	0	80	0.9	0.7	0.0 ~ 2.9
		0.05	40	35.0	9.6	6.0 ~ 63.9
連続処理 (-S9 mix) 48hrs	MMC	0	4	0.9	0.6	0.0 ~ 2.8
		0.05	4	42.5	10.7	10.5 ~ 74.5

数的異常出現頻度 (%)

処理方法	陽性対照物質	濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	試験数	数的異常出現頻度 (%)		変動範囲* (%)
				Mean	SD	
短時間処理法 (-S9 mix)	MMC	0	61	0.5	0.4	0.0 ~ 1.6
		0.05	50	0.7	0.4	0.0 ~ 2.0
短時間処理法 (+S9 mix)	CP	0	89	0.5	0.4	0.0 ~ 1.8
		5	60	0.6	0.6	0.0 ~ 2.4
連続処理 (-S9 mix) 24hrs	MMC	0	80	0.4	0.4	0.0 ~ 1.7
		0.05	40	0.6	0.4	0.0 ~ 1.7
連続処理 (-S9 mix) 48hrs	MMC	0	4	0.9	0.3	0.1 ~ 1.6
		0.05	4	0.7	0.4	0.0 ~ 2.0

陽性対照 MMC : Mitomycin C , CP : Cyclophosphamide

変動範囲* (%) : Mean \pm 3SD