

化学物質のMITAによる解析, validation

総括研究報告書

分担研究者 中島芳浩

産業技術総合研究所 健康工学研究部門

研究要旨

Multi-ImmunoTox assay (MITA) は、IL-2プロモーター活性を緑色発光ルシフェラーゼ、INF γ プロモーター活性を橙色ルシフェラーゼ、さらに両プロモーター活性を補正するための内部標準プロモーターG3PDH活性を赤色ルシフェラーゼでモニターするJurkat細胞（#2H4細胞）を用いた化学物質の免疫毒性評価試験法である。これまでに得られた知見から、相場らはIL-2転写調節障害をkey eventとするT細胞分化異常誘導とIL-8転写活性更新をkey eventとした気道刺激性に関わるadverse outcome pathway (AOP) を作成した。このような背景のもと、IL-2レポーター活性を指標とするT細胞分化異常誘導化学物質のスクリーニング法のOECDテストガイドライン化を目指し、バリデーション試験が開始された。我々は、平成28年度より試験実施施設としてMITAのIL-2レポーターアッセイの実施を担当し、施設内・施設間再現性（Phase I）、施設間再現性（Phase II）に必要な実験を行った。

初年後はPhase Iとしてコード化した5物質を用いて施設内再現性および施設間再現性を検討した。その結果、暫定的ではあるが80%以上の再現性が得られたことから、Phase IIとしてコード化した20物質を用いて施設間再現性を確認し、さらにリードラボ（東北大）との比較による正確性を検討した。

Phase IIの結果をもとに、閾値を設定した判定基準5を採用することによって、施設内再現性はいずれの施設も80%、施設間再現性は80%、正確性は85%以上となり、いずれもstudy planにおける基準を満たし、国際バリデーション試験を終了した。

キーワード：IL-2レポーター活性、バリデーション試験、施設内・施設間再現性、正確性

A. 研究目的

環境中に存在する何万という化学物質のなかには、免疫系を標的として健康被害を及ぼすものが多数存在する。したがって、免疫毒性は、消費者、生産者はもとより公衆衛生行政にとっても重要な課題となっている。当該研究では、免疫毒性に影響を及ぼす化学物質を簡便に評価するための発光レポーターを利用した *in vitro* 免疫毒性評価試験法（Multi-ImmunoToxicity Assay, MITA）を構築、本試験法のOECDテストガイドライン化を目指し、国際バリデーション試験が開始された。

我々は、試験実施施設[産業技術総合研究所（健康工学研究部門）、産業技術総合研究所（バイオメディカル研究部門）、食品薬品安全センター 秦野研究所]として参加し、技術移転性、施設内再現性、施設間再現性を検証するための実験を行った。

B. 研究方法

B-1) 使用した細胞

MITAバリデーション試験には、IL-2、INF γ とG3PDHプロモーターにそれぞれSLG（緑色）、SLO（橙色）およびSLR（赤色）ルシフェラーゼ遺伝子を繋いだ発現ベクターをヒ

トT細胞由来Jurkat細胞に導入した3色発光細胞株#2H4を用いて試験を行った。

B-2) 使用した化学物質

技術移転の確認のためのPhase 0 studyでは、2-aminoanthracene、chloroquine、citral、dexamethasone、methylmercury (II) chlorideを用いた。

Phase I study以降、被験物質は国立医薬品食品衛生研究所においてコード化された後に送付された。施設内および施設間再現性を確認するPhase I studyでは、5種類の化学物質を1セットとし、セットA、セットB、セットCの計3セットを用いた (表1)。

続いて施設間再現性を確認するためのPhase II studyでは、20物質 (コード番号: MID701~MID720) を用いて試験を実施した (表2)。

B-3) 実験方法

IL-2レポーター活性試験は、MITAプロトコルに従って行った。概要は以下の通りである。

被験物質は蒸留水に25 mg/mLで可溶の場合は蒸留水に、不溶の場合はジメチルスルホキシド(DMSO)に溶解した。物質の溶解性は $\geq 20,000$ xgで5分間遠心分離を行い、沈殿の有無で判定した。被験物質の原液はそれぞれ100 mg/mL (蒸留水)、500 mg/mL(DMSO)を最高濃度とした。調整した被験物質原液を溶媒を用いて公比2で段階希釈して10濃度の希釈液を調整した後、さらに培地で希釈 (蒸留水は25倍、DMSOは10倍希釈の後さらに50倍) した。96wellプレートに1 wellあたり 2×10^5 cells、液量50 μ Lとなるよう播種した#2H4細胞に、希釈した被験物質を1 wellあたり50 μ Lずつ添加し、37°C、5% CO₂環境下で1時間保温した。溶媒の最終濃度は蒸留水が2 % (v/v)、DMSOが0.1 % (v/v)である。

処理1時間後にIL-2、IFN γ 誘導のためPMA/Ionomycin溶液を1 wellあたり10 μ L添加し、さらに37°C、5% CO₂環境下で6時間保温した。最終濃度はそれぞれPMA1 μ M、Ionomycin25 nMである。

PMA/Ionomycin添加6時間後にTripluciferase assay reagent (TOYOBO, MRA-301)を1 wellあたり0.1mL加えて10分間室温で振盪した後、アトー社製フェリオ

ス (AB-2350)を用いて発光を測定した。測定結果から、各色ルシフェラーゼの活性すなわちIL-2、IFN γ 、G3PDHプロモーター活性を算出した。各被験物質について試験成立条件を満たす3回分の結果が得られるまで、独立した実験を繰り返し行った。

<判定基準5>

以下の3つの基準を満たす場合を陽性 (suppressiveまたはstimulatory) とし、それ以外を陰性と判定する。

- SLR-LAの阻害指標 (I. I. -SLR-LA) が0.05以上の濃度のみを判定に使用する。
- %suppressionの平均値が35%以上 (suppressive) か-35%以下 (stimulatory) でかつ、同時95%信頼区間を用いた判定で有意 (統計学的有意) である。
- 統計学的有意となる連続した2つ以上の濃度が得られるか、統計学的有意となる濃度は1つであるが、すくなくとも連続した3濃度で濃度依存性を示す (この場合、統計学的有意を示さなければ、0を挟んでもよい)。

C. 結果

Phase 0ではコード化を行わない5物質に対して各3回ずつの実験を行い、その結果をリードラボである東北大へ送付した。バリデーション試験の試験実施施設である3施設 (産総研健康工学研究部門、産総研バイオメディカル研究部門、秦野研究所) の結果を比較検討した。その結果、技術移転性を確認し、コード化物質での試験を実施することとした。

Phase I studyでは施設内再現性の確認を主目的とした。コード化された5物質を1セットとする群が3セット配布され、1セットにつき計15回の実験を実施した。1セットの実験がすべて終了した後に次のセットの実験を行うことで、セット毎の実験の独立性を担保した。セット毎の実験結果を図1~3に示した。また、判定基準5による物質毎の結果を図4~8に示した。5物質中3物質はすべての実験で同じ判定となり、良好な施設内再現性が得られた。判定基準5では、判定に必要な3実験のうち2実験で判定が同一であれば、その2実験の判定がその物質の判定となる。そのため、Hydrocortisoneでは、

セットによって判定が分かれ、施設内再現性が得られなかった（表3、図5）。一方、Nickel (II) sulfate hexahydrateでは施設内再現性のある結果となった（表3、図7）。

Phase I studyにおける施設内再現性は3試験施設ともに80%、施設間再現性は80%であった（表3）。

Phase II studyでは施設間再現性を確認するため、コード化した20物質について試験を実施した。結果は図9に示した。各実施施設の結果を取りまとめたものが表4である。

判定基準5を採用した20物質の判定は、以下の通りであった。

IL-2転写活性作用影響無(N)：9物質

IL-2転写活性抑制作用有(S)：6物質

IL-2転写活性刺激作用有(A)：5物質

判定基準5による施設間再現性は80% (16/20)、リードラボである東北大学との比較による当施設の正確性は95% (19/20) であり（表4）、全体でも85%以上であった。概ねすべての施設で結果が一致した。

D. 考察

Phase I studyでは施設内再現性および施設間再現性を確認するために、コード化した5物質を1セットとし、3セットの合計15物質について3回の繰り返し実験を行った。バリデーション試験の試験実施施設である3施設（産総研健康工学研究部門、産総研バイオメディカル研究部門、秦野研究所）の結果は東北大および統計処理を担当する神戸大で集計され、解析された。

判定基準は、MITAプロトコルver. 008.5Eに記載された基準（判定基準1, 2）以外に、1物質について3回実施される結果を合わせて判定する基準も提案されており（判定基準3）、これらの判定基準の妥当性についても検討が行われた。結果として、判定基準3に濃度依存性を加味した判定基準3'における施設内再現性は80-100%、施設間再現性は80%となり、良好な結果が得られた。

続いてPhase II studyとして施設間再現性の確認のため、コード化した20物質について同様に試験を行ったところ、良好な施設間再現性が得られなかった。すでにガイドライン化された皮膚感作性試験ガイドラインであるIL-8 Luc assayを踏まえ、IL-2転写活性作用影響無(N)の判定方法を変更

した判定基準4を検討したが、施設間再現性は55%となり、結果は改善しなかった。

以上の結果を考慮の上、%suppressionの閾値を設定した判定基準5を採用したところ、Phase II studyで試験を行った20物質について80%の施設間再現性を達成することができた。なお、判定基準5を適用した場合のPhase I studyの5物質3セットの施設間再現性、施設内再現性ともに80%であった。

今回の判定基準3'から5への変更により、統計学的には有意と判定されるが、生物学的には然程意味を持たない測定誤差や手技の微妙な揺れ程度の差が判定に影響を及ぼすことを防ぎ、明らかな差（閾値）以上を生物学的有意とすることによってより正確な判定が行うことができる。

この変更によって、いくつかの物質については判定結果が変わることとなった。これらの物質はどれもIL-2転写活性抑制あるいは刺激作用が小さく、最大でも10-20%程度であった。30%を超えるような比較的大きな作用を持つ物質に関しては、判定結果は変わらず同一であった。

当施設とリードラボの結果を比較したところ、Phase I studyについてはHydrocortisoneが、Phase II studyについてはDibromoacetic acidの結果が不一致であった。Hydrocortisoneについては他施設の結果を見ても当施設と同様にIL-2転写活性抑制作用有(S)か影響無(N)に判定されることから、判定基準に近い程度の比較的穏和な抑制作用を持つ物質であるのかもしれない。Dibromoacetic acidについては、リードラボも含めると4施設全てにおいて判定結果が異なっていた。従ってこの不一致は人為的操作に起因するとは考え難く、Dibromoacetic acidの持つ性質による可能性がある。

E. 結論

IL-2転写誘導抑制を指標とした免疫毒性評価試験法のOECDテストガイドライン化を目的として、試験実施施設として国際バリデーション試験に参加した。80%以上の施設内再現性、施設間再現性および正確性が得られるMITAプロトコルを確立した。これを以て、この評価系の国際バリデーション試験を終了した。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) Yutaka Kimura, Rie Yasuno, Mika Watanabe, Miwako Kobayashi, Tomoko Iwaki, Chizu Fujimura, Yoshihiro Ohmiya, Kohji Yamakage, Yoshihiro Nakajima, Mayumi Kobayashi, Takashi Omori, Hajime Kojima and Setsuya Aiba. Multi-ImmunoTox Assay (MITA): the creation of its data set and the results of validation studies. 10th

World Congress Alternatives and Animal Use in the Life Science. Seattle, Washington, USA August 20-24, 2017

2) 木村 裕、安野 理恵、渡辺 美香、小林 美和子、岩城 知子、藤村 千鶴、近江谷 克裕、山影 康次、中島 芳浩、小林 眞弓、大森 崇、小島 肇、相場 節也：Multi-ImmunoTox Assay (MITA) データセットの作成およびバリデーション研究の結果 日本動物実験代替法学会 第30回大会（東京）2017年11月

表 1 MITA (IL-2 レポーター活性試験) のバリデーション試験 (Phase I study) に使用した化学物質

No.	Chemical	CAS No.	State	Code No.
1	Dibutyl phthalate	84-74-2	Liquid	MID036A
				MID033B
				MID034C
2	Hydrocortisone	50-23-7	Solid	MID038A
				MID035B
				MID037C
3	Lead(II) acetate trihydrate	6080-56-4	Solid	MID310A
				MID037B
				MID038C
4	Zinc dimethyldithiocarbamate	137-30-4	Solid	MID037A
				MID039B
				MID310C
5	Nickel (II) sulfate hexahydrate	10101-97-0	Solid	MID034A
				MID031B
				MID032C

表 2 MITA (IL-2 レポーター活性試験) のバリデーション試験 (Phase II study) に使用した化学物質

No.	Chemical	CAS No.	State	Code No.
1	2,4-Diaminotoluene	95-80-7	Solid	MID702
2	Benzo(a)pyrene	50-32-8	Solid	MID703
3	Cadmium chloride	10108-64-2	Solid	MID714
4	Dibromoacetic acid	631-64-1	Solid	MID720
5	Diethylstilbestol	56-53-1	Solid	MID711
6	Diphenylhydantoin	630-93-3	Solid	MID704
7	Ethylene dibromide	106-93-4	Liquid	MID705
8	Glycidol	556-52-5	Liquid	MID712
9	Indomethacin	53-86-1	Solid	MID715
10	Isonicotinic Acid Hydrazide (Isoniazid)	54-85-3	Solid	MID707
11	Nitrobenzene	98-95-3	Liquid	MID701
12	Urethane, Ethyl carbamate	51-79-6	Solid	MID719
13	Tributyltin chloride	1461-22-9	Liquid	MID713
14	Perfluorooctanoic acid	335-67-1	Solid	MID718
15	Dichloroacetic acid	79-43-6	Liquid	MID716
16	Toluene	108-88-3	Liquid	MID706
17	Acetonitril	75-05-8	Liquid	MID708
18	Mannitol	69-65-8	Solid	MID717
19	Vanadium pentoxide	1314-62-1	Solid	MID709
20	o-Benzyl-p-chorolophenol	120-32-1	Solid	MID710

表 3 MITA (IL-2 レポーター活性試験) のバリデーション試験 (Phase I study) の結果

No.	Chemical	CAS No.	Lead Labo	Round	Lab.B (AISTTS)	Lab.C (FDSC)	Lab.D (AISTTA)	Based on Majority
1	Dibutyl phthalate	84-74-2	S:SSS	1st	S:SSS	S:SSS	S:SSS	S
				2nd	S:SSS	S:SSS	S:SSS	
				3rd	S:SSS	S:SSS	S:SSS	
2	Hydrocortisone	50-23-7	N:SNN	1st	S:SAS	S:SSS	S:NSS	S
				2nd	N:NNN	S:SSS	S:SSN	
				3rd	N:NNN	S:SSN	N:NNS	
3	Lead(II) acetate trihydrate	6080-56-4	S:SSS	1st	S:SSS	S:SSS	S:SSS	S
				2nd	S:SSS	S:SSS	S:SSS	
				3rd	S:SSS	S:SSS	S:SSS	
4	Zinc dimethyldithiocarbamate	137-30-4	S:SSS	1st	S:SSS	S:SSS	S:SSS	S
				2nd	S:SSS	S:SSS	S:SSS	
				3rd	S:SSS	S:SSS	S:SSS	
5	Nickel (II) sulfate hexahydrate	10101-97-0	N:SNN	1st	N:NNN	N:NNN	N:NNA	N
				2nd	N:NNN	S:SSN	N:NNN	
				3rd	N:NSN	N:NNN	N:NNN	
Within					80%	80%	80%	
Accuracy					100%	80%	80%	80%
Between					80%			

表 4 MITA (IL-2 レポーター活性試験) のバリデーション試験 (Phase II study) の結果

No.	Chemical	CAS No.	Lead Labo	Lab.B (AISTTS)	Lab.C (FDSC)	Lab.D (AISTTA)	Concordance	Based on Majority
1	2,4-Diaminotoluene	95-80-7	N:NNN	N:NNN	N:NNN	N:NNN	1	N
2	Benzo(a)pyrene	50-32-8	S:SNS	S:SSS	S:ASS	S:NSS	1	S
3	Cadmium chloride	10108-64-2	N:SNN	N:NNN	N:NSN	N:NNN	1	N
4	Dibromoacetic acid	631-64-1	S:SSA	A/S:A/SA/SA/S	A:NAA	N:NAN	0	A?
5	Diethylstilbestol	56-53-1	S:SSS	S:SSS	S:SSS	S:SSS	1	S
6	Diphenylhydantoin	630-93-3	N:NNN	N:NNN	N:NNN	N:NNN	1	N
7	Ethylene dibromide	106-93-4	N:NNN	N:NNN	N:NNN	N:NNN	1	N
8	Glycidol	556-52-5	A:AA/SA	A:AAA	A:SAA	A:AAA	1	A
9	Indomethacin	53-86-1	A:NAA	A:AAA	A:AAA	A:AAA	1	A
10	Isonicotinic Acid Hydraside (Isoniazid)	54-85-3	S:SSN	S:SSS	N:ANN	S:SSS	0	S

11	Nitrobenzene	98-95-3	N:NNN	N:NNN	S:SSS	N:NNN	0	N
12	Urethane, ethyl carbamate	51-79-6	A:AAA	A:AAA	A:AAA	A:AAA	1	A
13	Tributyltin chloride	1461-22-9	S:SSS	S:SNS	S:SSS	S:SSS	1	S
14	Perfluorooctanoic acid	335-67-1	A:AAN	A:AAA	A:AAA	A:AAA	1	A
15	Dichloroacetic acid	79-43-6	S:SSS	A:AAN	S:SSS	S:SSN	0	S
16	Toluene	108-88-3	N:NNN	N:NNN	N:NNN	N:NNN	1	N
17	Acetonitril	75-05-8	N:NNN	N:NNN	N:NNN	N:ANN	1	N
18	Mannitol	69-65-8	N:NNN	N:NAN	N:NNN	N:NNN	1	N
19	Vanadium pentoxide	1314-62-1	N:NNN	N:NAN	N:NNN	N:ANN	1	N
20	o-Benzyl-p-chlorophenol	120-32-1	S:SSS	S:SSS	S:SSS	S:SSS	1	S
Accuracy				90%	85%	95%		95%
						Between	80%	

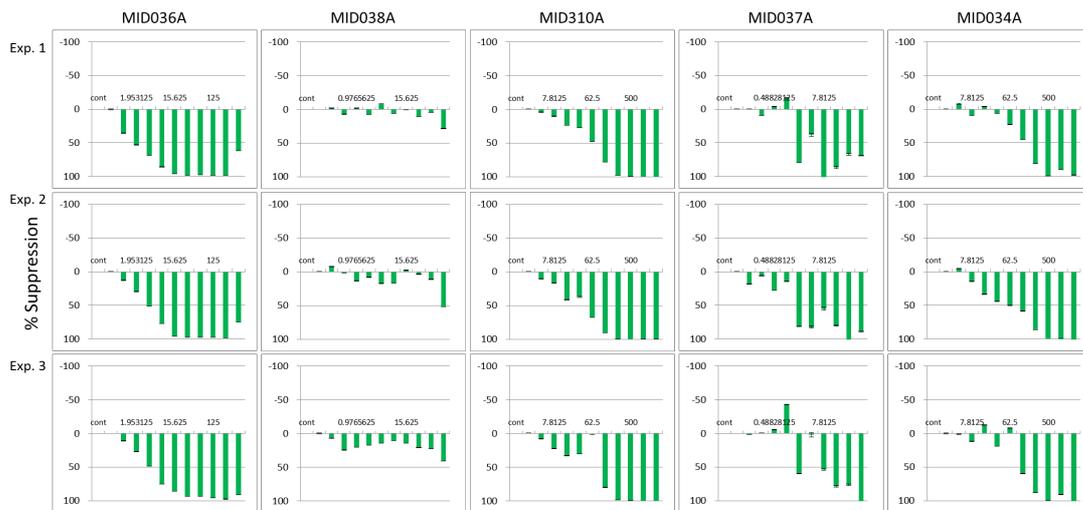


図1 コード化5物質（セットA）のIL-2レポーター活性試験（Phase I）の結果

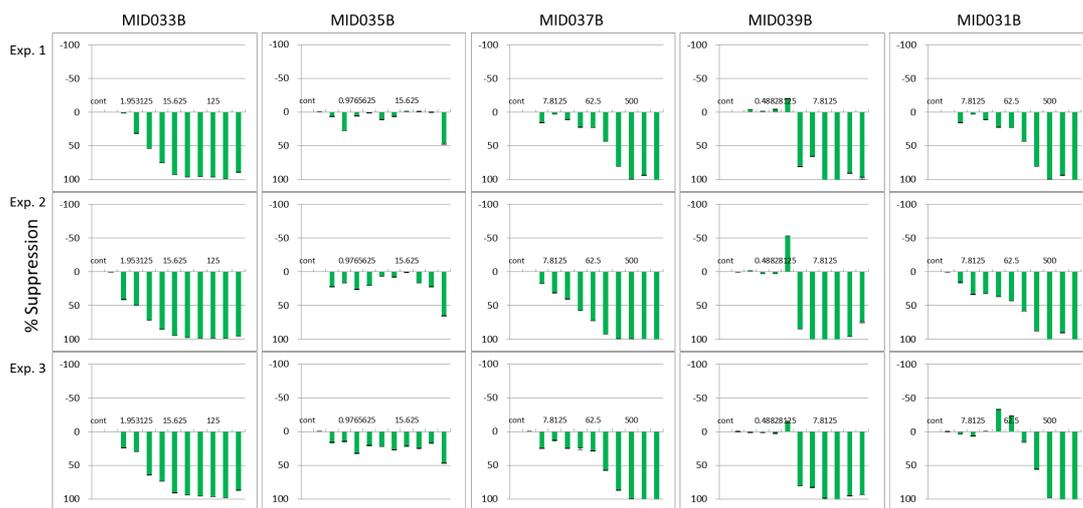


図2 コード化5物質（セットB）のIL-2レポーター活性試験（Phase I）の結果

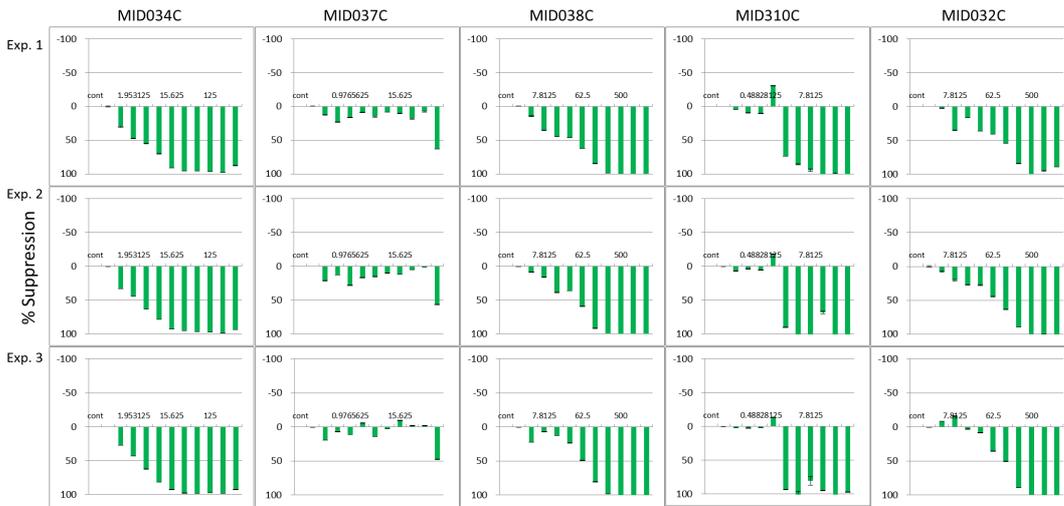


図3 コード化5物質（セットC）のIL-2レポーター活性試験（Phase I）の結果

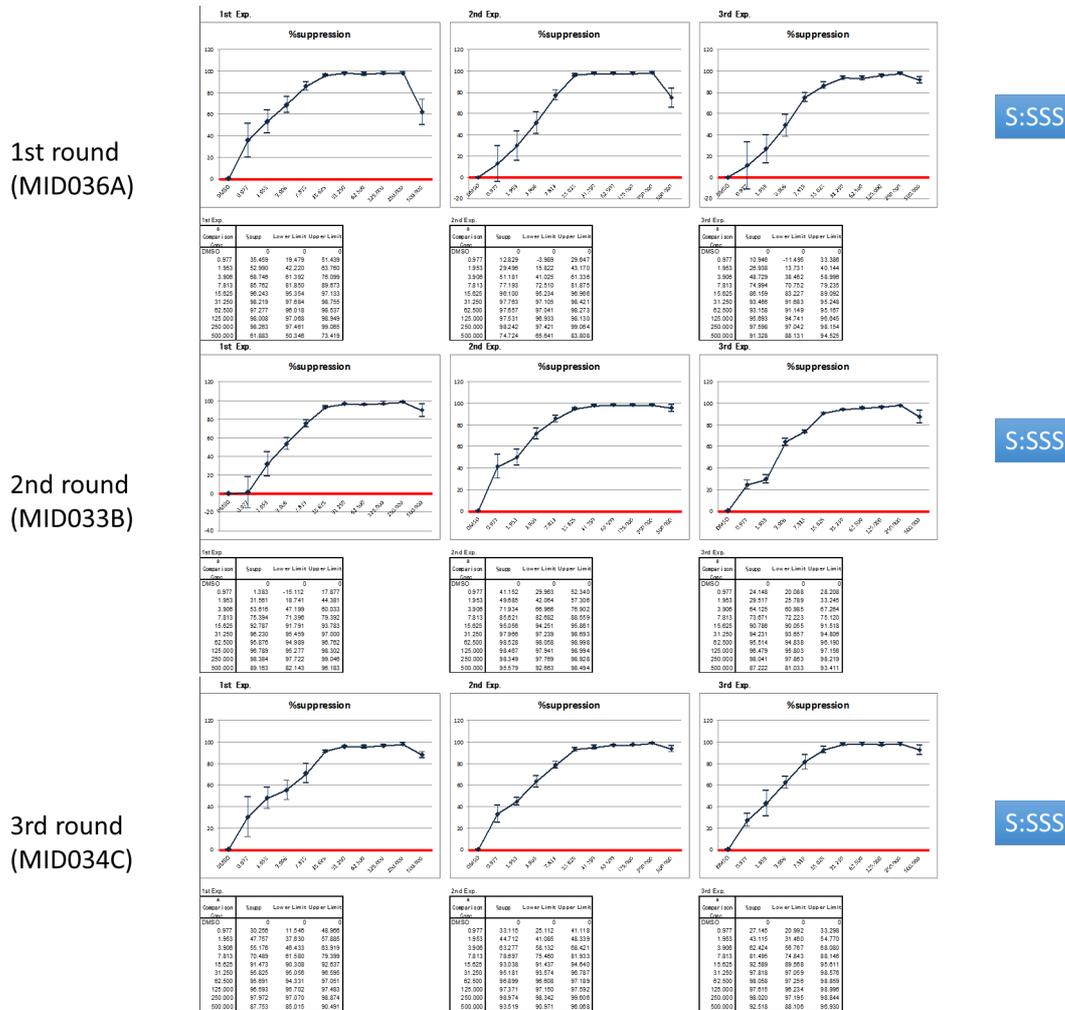
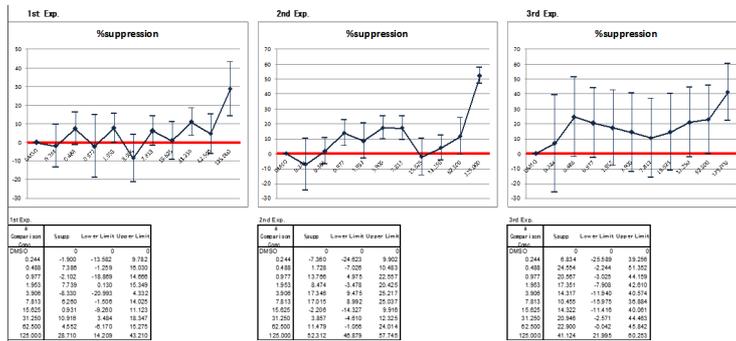


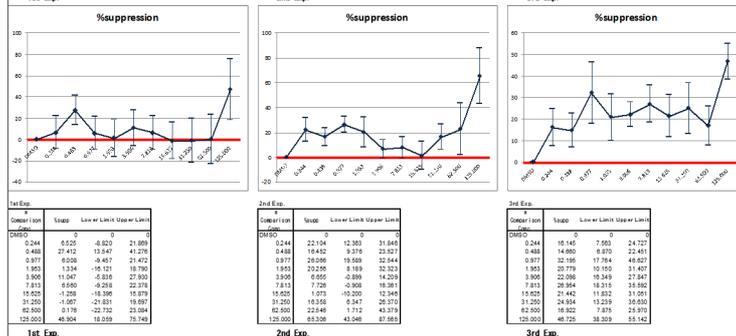
図4 コード化物質（Dibutyl phthalate）の施設内再現性（Phase I）の結果

1st round
(MID038A)



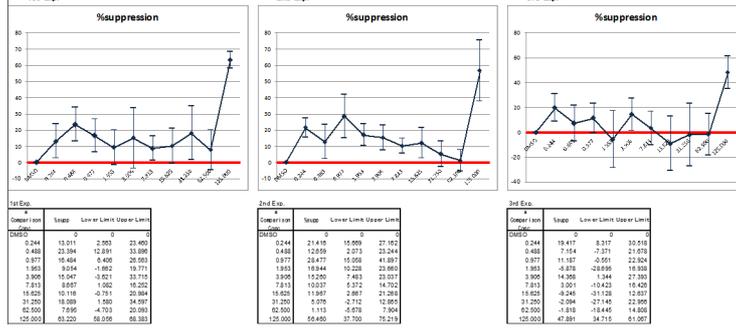
S:NSS

2nd round
(MID035B)



S:SSN

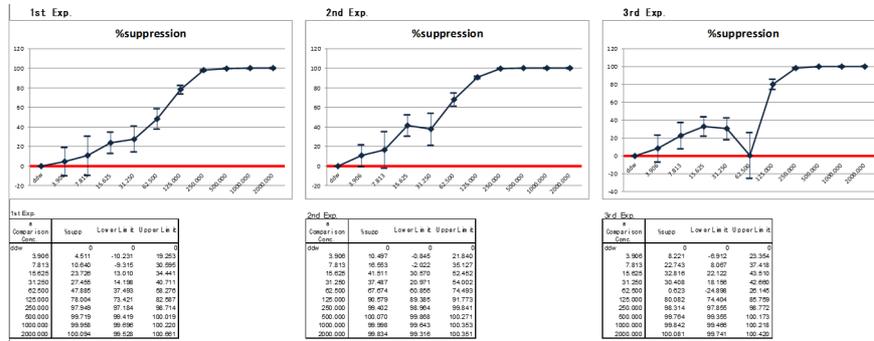
3rd round
(MID037C)



N:NNS

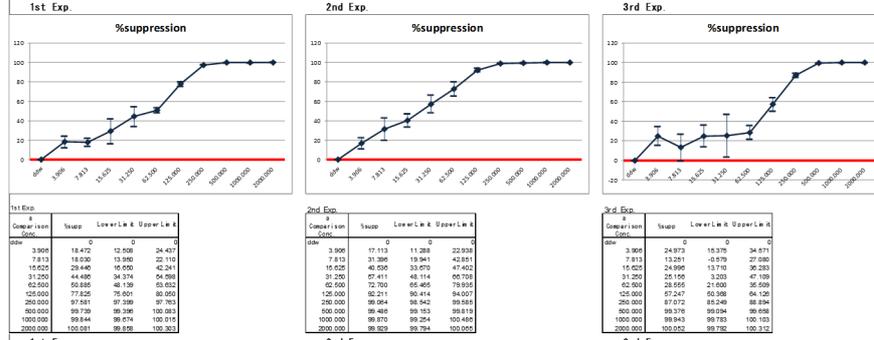
図5 コード物質 (Hydrocortisone) の施設内再現性 (Phase I) の結果

1st round
(MID310A)



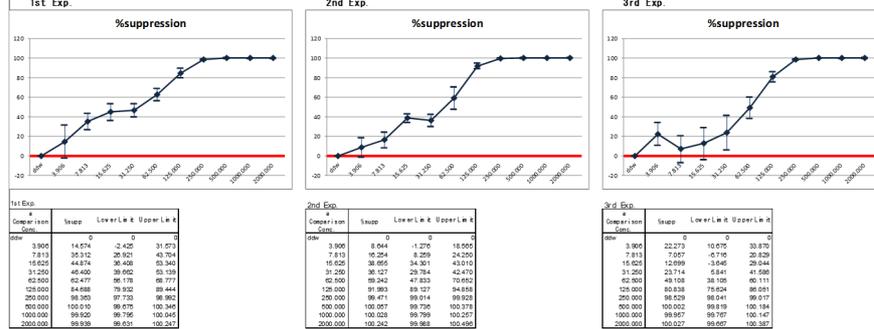
S:SSS

2nd round
(MID037B)



S:SSS

3rd round
(MID038C)



S:SSS

図6 コード物質 (Lead (II) acetate trihydrate) の施設内再現性 (Phase I) の結果

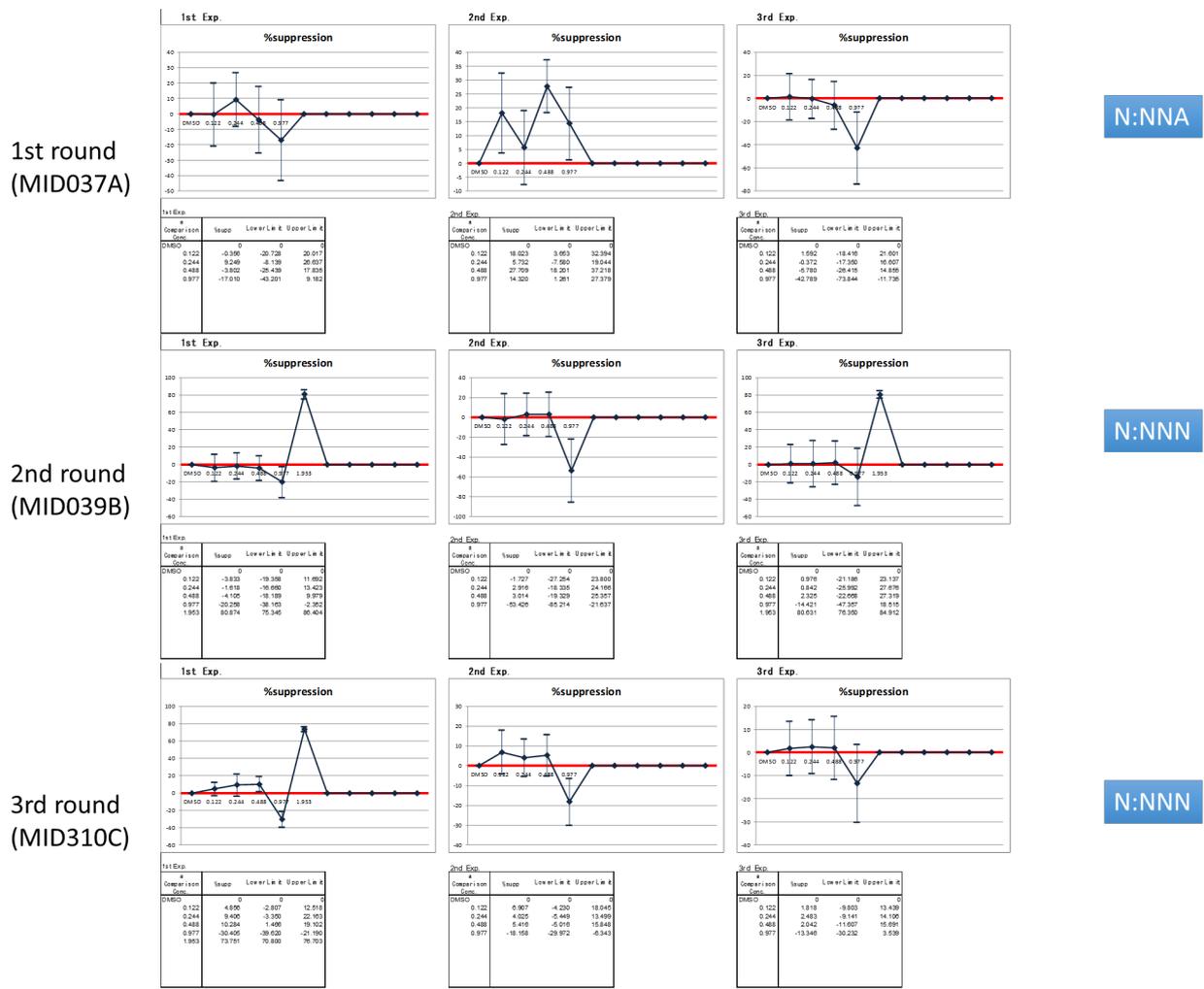
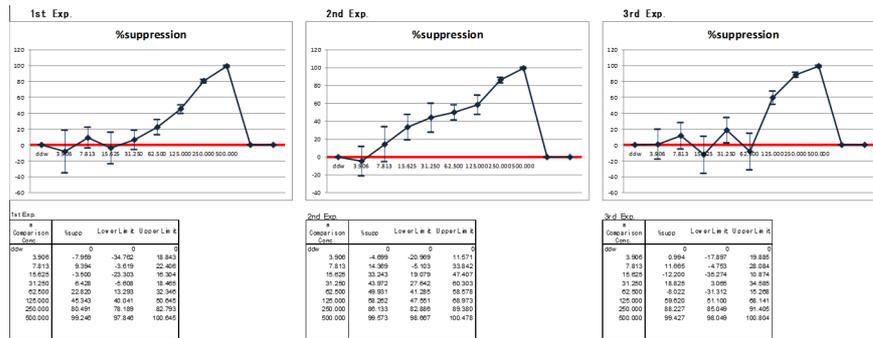


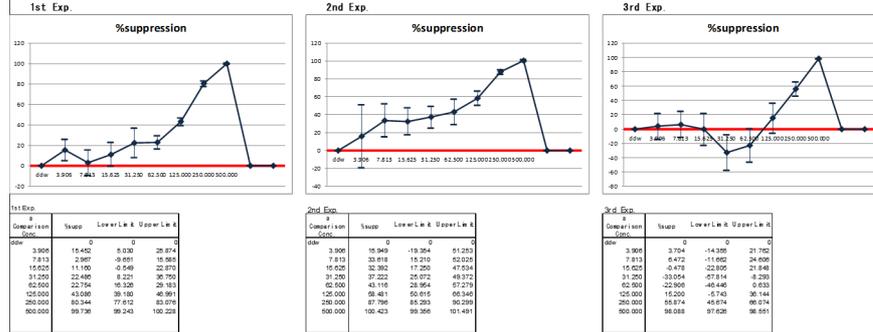
図7 コード化物質 (Zinc dimethyldithiocarbamate) の施設内再現性 (Phase I) の結果

1st round
(MID034A)



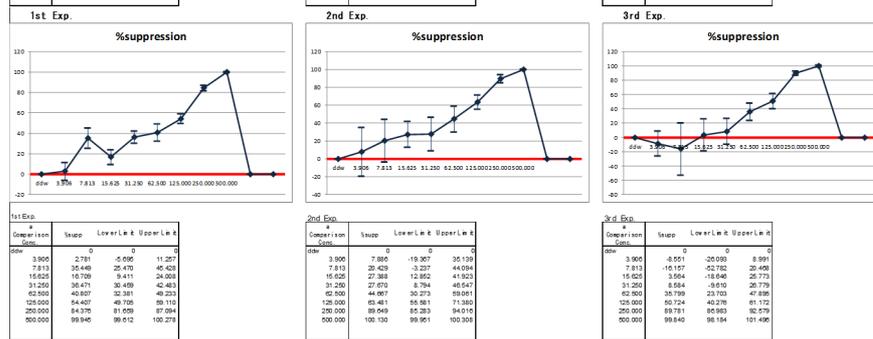
S:SSS

2nd round
(MID031B)



S:SSS

3rd round
(MID032C)



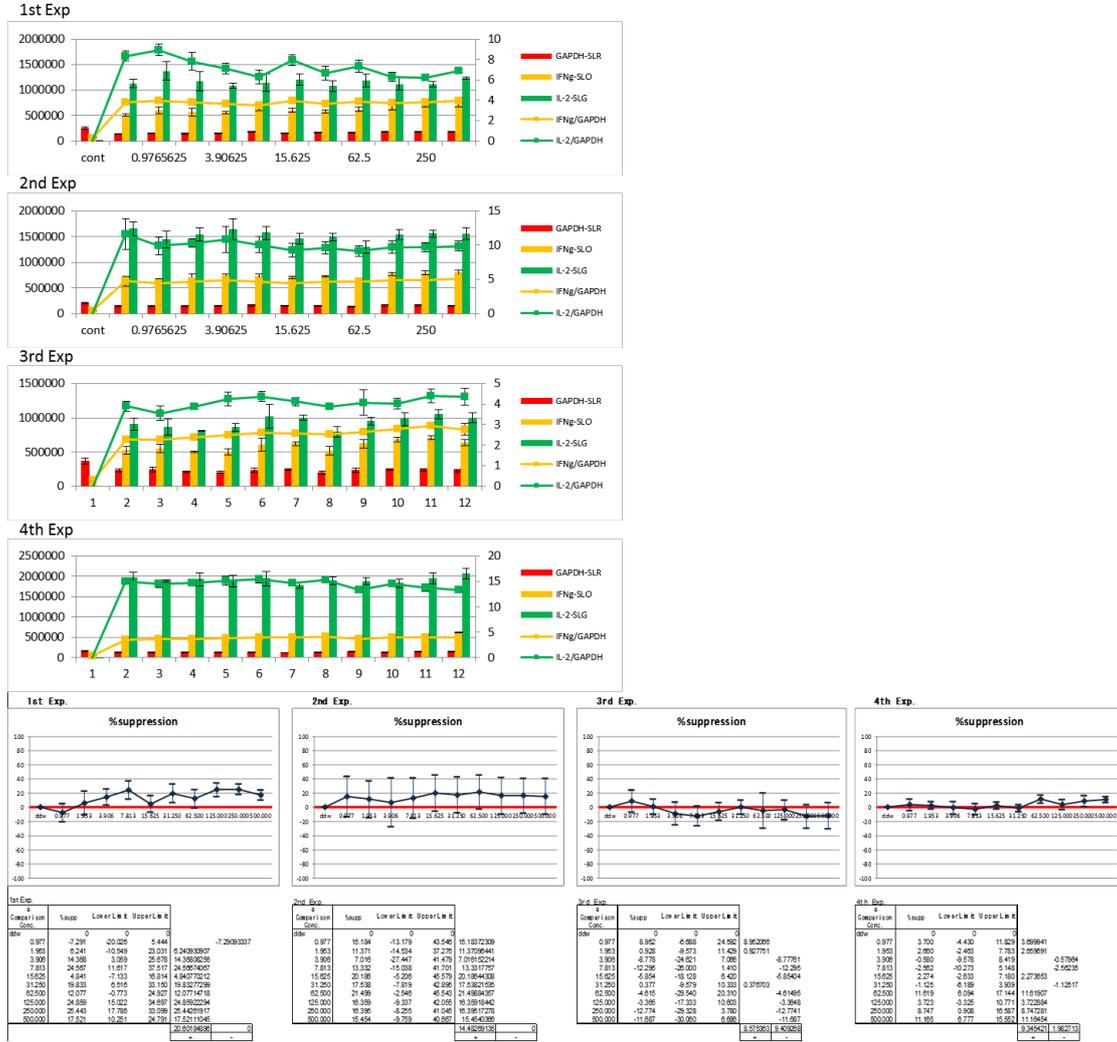
S:SSS

図8 コード化物質 (Nickel (II) sulfate hexahydrate) の施設内再現性 (Phase I) の結果

コード化 20 物質の IL-2 レポーター活性試験 (Phase II) の結果

No. 1 <2,4-Diaminotoluene, Code No.:MID702>

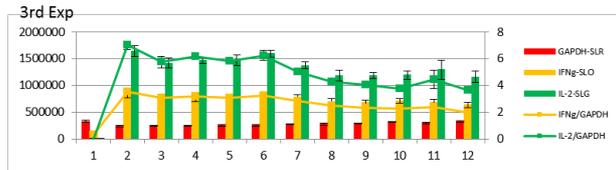
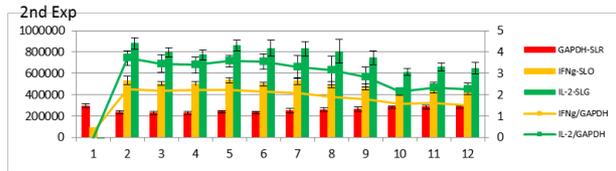
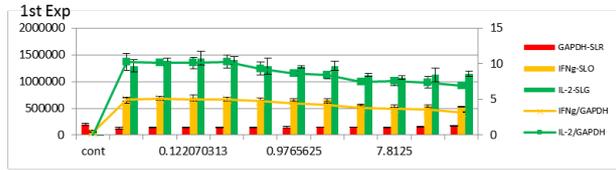
(The maximum concentration: 500 µg/ml, Vehicle: Distilled water)



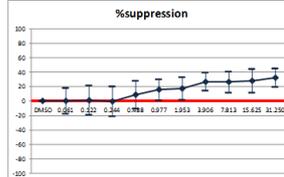
N:NNN

No. 2 <Benzo(a)pyrene, Code No. :MID703>

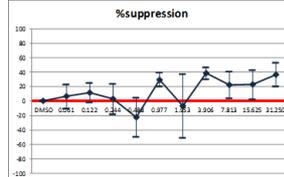
(The maximum concentration: 31.25 µg/ml, Vehicle: DMSO)



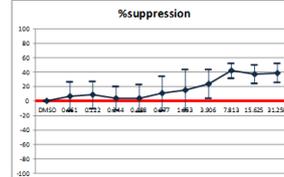
1st Exp.



2nd Exp.



3rd Exp.



1st Exp.

Comparison	Group	Lower Limit	Upper Limit
DMSO	0	0	0
0.061	0.328	-17.123	17.778
0.122	1.376	-8.914	29.271
0.244	-4.458	-21.021	20.108
0.488	8.941	-10.574	38.286
0.977	15.598	1.083	30.108
1.953	17.599	2.995	33.182
3.906	25.645	14.198	39.094
7.813	28.236	11.677	40.913
15.625	28.100	11.623	44.481
31.250	32.425	19.624	45.225

2nd Exp.

Comparison	Group	Lower Limit	Upper Limit
DMSO	0	0	0
0.061	6.072	-10.107	22.252
0.122	11.932	-2.098	26.993
0.244	2.843	-18.915	23.701
0.488	22.135	-49.989	4.854
0.977	29.848	18.942	39.350
1.953	-8.729	-50.980	37.458
3.906	38.477	30.337	46.555
7.813	22.488	3.528	41.047
15.625	22.784	2.525	43.844
31.250	39.895	20.433	62.957

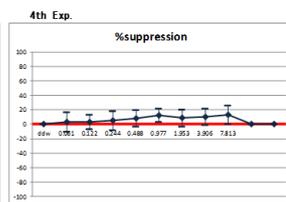
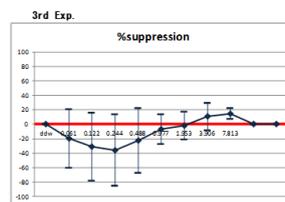
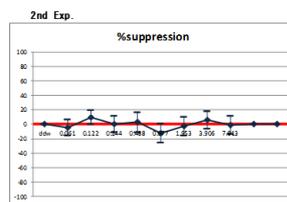
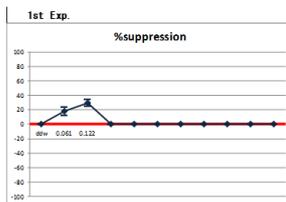
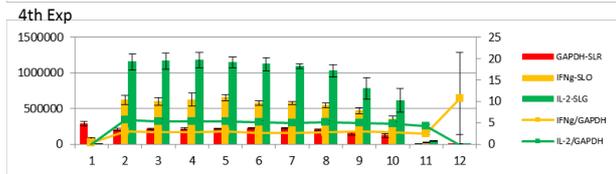
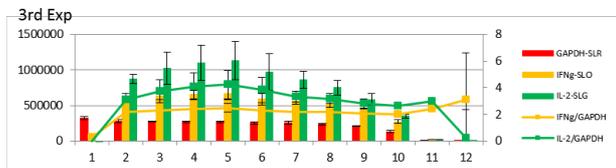
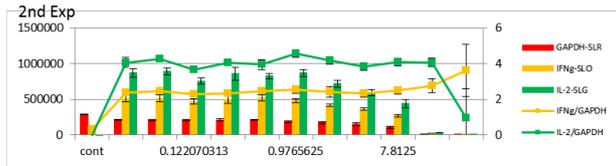
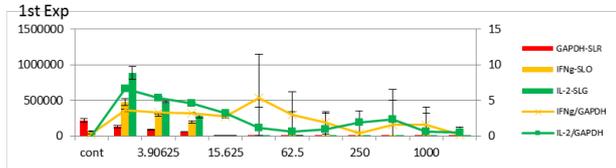
3rd Exp.

Comparison	Group	Lower Limit	Upper Limit
DMSO	0	0	0
0.061	6.875	-13.016	26.766
0.122	9.940	-10.200	27.200
0.244	3.898	-12.127	19.889
0.488	4.038	-14.682	22.793
0.977	10.768	-13.215	34.751
1.953	10.305	-12.254	43.564
3.906	23.743	3.554	43.901
7.813	41.962	31.825	50.300
15.625	37.394	24.995	49.982
31.250	38.873	25.679	52.087



No. 3 <Cadmium chloride, Code No. :MID714>

(Final concentration: 1st Exp: 2000 µg/ml, 2-4th Exp: 31.25 µg/ml, Vehicle: Distilled water)



1st Exp.	Comparison (%)	Mean	Lower L	Upper L
0.061	0	18.075	12.094	24.063
0.122	0	28.759	24.885	34.632

rejected

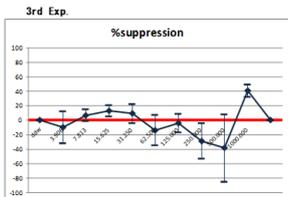
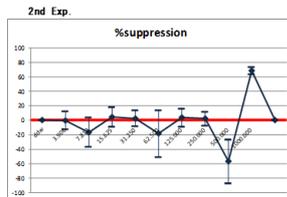
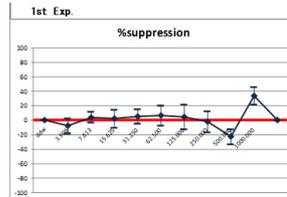
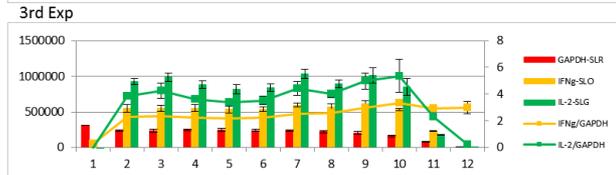
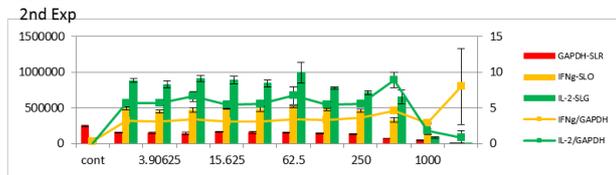
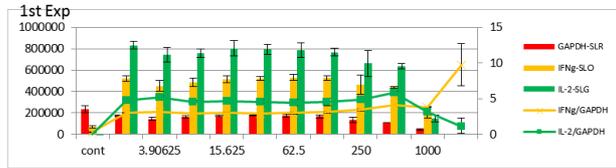
2nd Exp.	Comparison (%)	Mean	Lower L	Upper L
0.061	0	-4.575	-15.557	6.417
0.122	0	8.810	0.471	19.150
0.244	0	0.719	-11.111	11.646
0.488	0	2.804	-10.873	16.482
0.977	0	-12.286	-25.456	0.886
1.953	0	-2.333	-15.099	10.433
3.906	0	8.554	-0.082	17.200
7.813	0	-0.773	-13.023	11.478

3rd Exp.	Comparison (%)	Mean	Lower L	Upper L
0.061	0	40.180	21.900	58.460
0.122	0	-30.695	-77.965	16.235
0.244	0	-35.530	-85.029	13.969
0.488	0	-22.381	-67.500	22.287
0.977	0	-2.700	-27.235	19.835
1.953	0	-1.832	-21.198	17.534
3.906	0	10.718	-8.169	29.602
7.813	0	14.873	7.590	22.156

4th Exp.	Comparison (%)	Mean	Lower L	Upper L
0.061	0	3.474	-9.992	16.940
0.122	0	3.338	-5.521	13.199
0.244	0	4.978	-7.684	17.639
0.488	0	0.596	-3.251	18.440
0.977	0	13.250	2.907	21.652
1.953	0	8.519	-3.325	20.362
3.906	0	13.525	-0.768	21.699
7.813	0	13.302	0.438	26.105

N:NNN

No.4 <Dibromoacetic acid, Code No.: MID720>
 (Final concentration: 2000 µg/ml, Vehicle: DMSO)



1st Exp. Comparison Data:

Comparison (0%)	0	0	0
Lower	Upper	Lower	Upper
3.906	-7.810	-17.822	2.211
7.813	4.050	-3.571	11.751
15.625	2.174	-10.053	14.481
31.250	5.126	-4.964	15.916
62.500	6.852	-7.705	20.912
125.000	4.386	-12.818	21.348
250.000	-1.988	-16.600	12.587
500.000	-22.581	-32.963	-12.198
1000.000	33.655	21.884	45.442

2nd Exp. Comparison Data:

Comparison (0%)	0	0	0
Lower	Upper	Lower	Upper
3.906	-0.155	-12.591	12.172
7.813	-18.391	-36.325	3.674
15.625	4.642	-5.724	16.488
31.250	2.797	-8.012	13.006
62.500	-15.247	-40.146	14.651
125.000	3.559	-8.919	10.029
250.000	2.161	-3.565	11.567
500.000	-58.803	-67.254	-25.351
1000.000	65.456	65.437	73.478

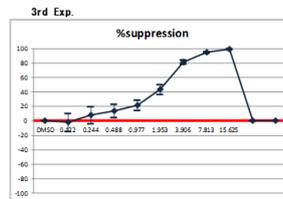
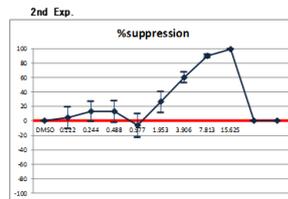
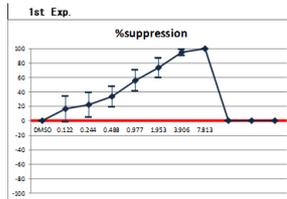
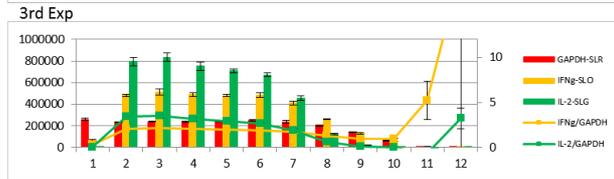
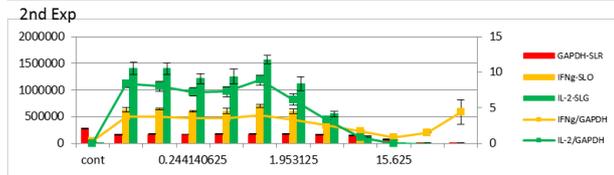
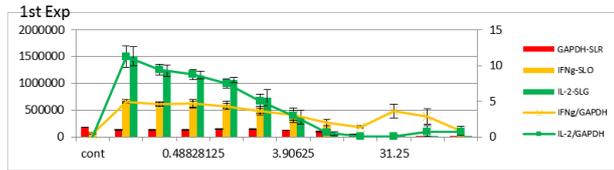
3rd Exp. Comparison Data:

Comparison (0%)	0	0	0
Lower	Upper	Lower	Upper
3.906	-8.717	-31.650	12.415
7.813	6.594	-1.070	15.268
15.625	15.177	5.464	20.293
31.250	9.239	-4.012	22.584
62.500	-13.953	-34.756	7.463
125.000	-3.940	-16.682	9.152
250.000	-25.510	-53.054	-4.015
500.000	-38.227	-64.804	8.346
1000.000	40.759	32.256	49.220

N:NAN

No. 5 <Diethylstilbestol, Code No. :MID711>

(Final concentration: 1st Exp: 125 µg/ml, 2-4th Exp: 62.5 µg/ml, Vehicle: DMSO)



1st Exp.

Comparison	Mean	Lower L	Upper L
DMSO	0	0	0
0.122	16.548	-1.392	34.490
0.244	22.385	5.405	39.300
0.488	33.925	19.204	47.988
0.977	55.888	41.314	70.463
1.953	79.295	69.973	87.238
3.906	94.890	90.889	98.030
7.813	99.998	99.247	99.999

2nd Exp.

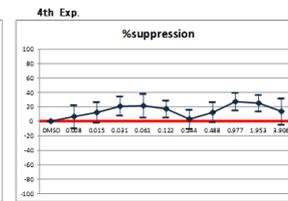
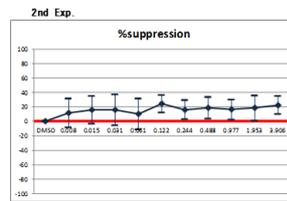
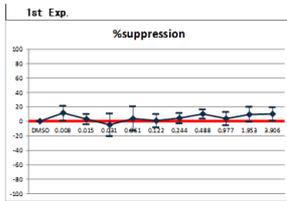
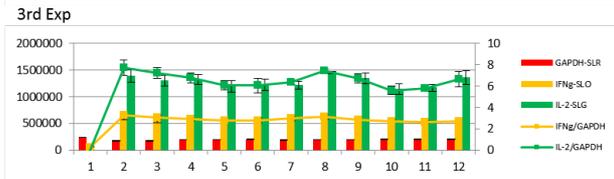
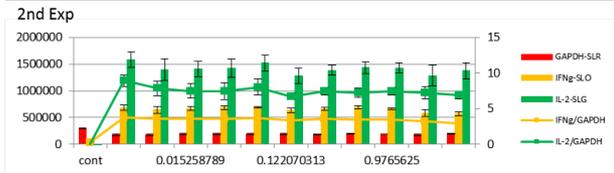
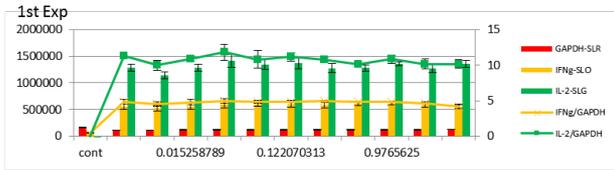
Comparison	Mean	Lower L	Upper L
DMSO	0	0	0
0.122	4.404	-10.473	19.262
0.244	13.418	-9.271	27.107
0.488	13.203	-1.786	33.202
0.977	-6.989	-22.319	10.140
1.953	29.298	11.420	47.052
3.906	60.182	52.938	67.847
7.813	89.932	87.347	91.717
15.625	99.272	98.931	99.613

3rd Exp.

Comparison	Mean	Lower L	Upper L
DMSO	0	0	0
0.122	-2.092	-14.620	10.515
0.244	7.873	-3.892	19.889
0.488	13.864	4.469	23.222
0.977	21.888	14.640	28.962
1.953	43.079	30.264	55.179
3.906	81.321	78.063	83.979
7.813	94.619	92.911	96.146
15.625	98.771	98.009	99.534

S:SSS

No. 6 <Diphenylhydantoin, Code No. :MID704>
 (Final concentration: 3.9 µg/ml, Vehicle: DMSO)



1st Exp.

Comparison Gene	0	Supp	Lower Limk	Upper Limk
DMSO	0	0	0	0
0.008	11.456	1.085	21.909	
0.015	3.125	-4.177	10.427	
0.031	-4.450	-20.037	10.958	
0.061	4.173	-12.889	21.929	
0.122	1.109	-9.092	10.270	
0.244	4.408	-2.884	11.429	
0.488	10.430	4.102	16.763	
0.977	3.378	-5.403	12.989	
1.953	18.017	-0.142	19.979	
3.906	10.095	0.806	19.318	

2nd Exp.

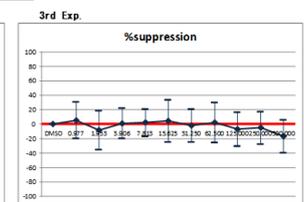
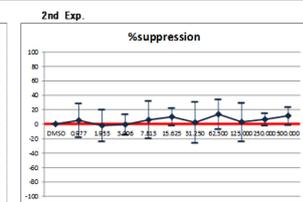
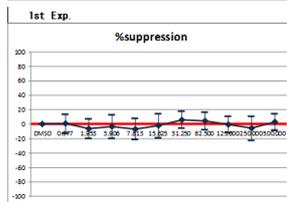
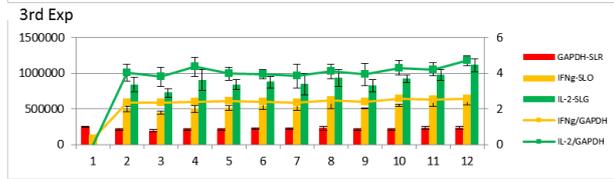
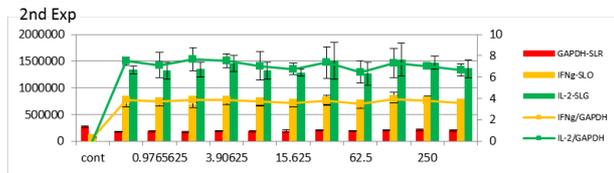
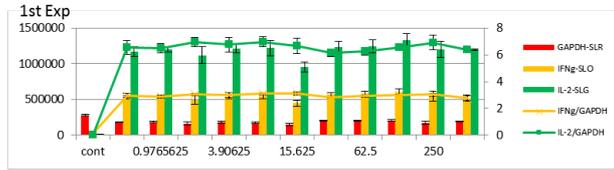
Comparison Gene	0	Supp	Lower Limk	Upper Limk
DMSO	0	0	0	0
0.008	11.879	-7.932	31.690	
0.015	15.745	-3.370	24.694	
0.031	10.044	-5.338	31.440	
0.061	9.900	-11.398	31.910	
0.122	24.675	12.189	36.750	
0.244	10.193	2.838	28.548	
0.488	18.802	4.174	33.429	
0.977	18.301	2.483	30.148	
1.953	18.662	1.185	30.136	
3.906	22.554	10.291	34.857	

4th Exp.

Comparison Gene	0	Supp	Lower Limk	Upper Limk
DMSO	0	0	0	0
0.008	6.382	-3.287	22.052	
0.015	12.390	-2.118	26.530	
0.031	21.178	8.285	34.099	
0.061	21.918	5.120	37.903	
0.122	17.518	5.652	29.884	
0.244	3.009	-10.037	10.159	
0.488	12.813	-1.199	29.421	
0.977	27.358	15.381	39.322	
1.953	26.228	14.049	38.407	
3.906	13.985	4.312	31.463	

N:NNN

No.7 <Ethylene dibromide, Code No.:MID705>
 (Final concentration: 500 µg/ml, Vehicle: DMSO)



1st Exp. Comparison conc.	Snpp	LowerLim	UpperLim
DMSO	0	0	0
0.977	0.722	-12.524	13.967
1.953	-0.139	-19.745	7.468
3.906	-3.123	-19.522	13.278
7.813	-6.534	-20.658	7.592
15.625	-2.070	-18.839	14.699
31.250	9.223	-5.529	17.973
62.500	4.497	-7.876	16.910
125.000	-2.291	-11.818	11.149
250.000	-5.823	-22.415	11.170
500.000	2.932	-8.507	14.322

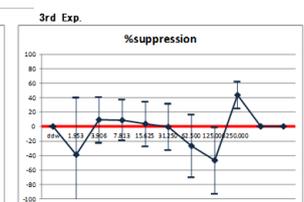
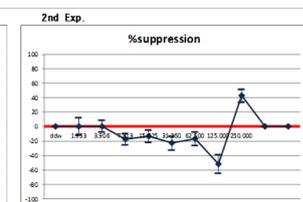
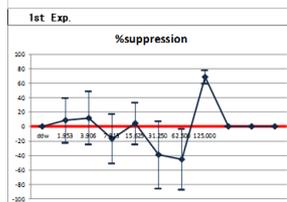
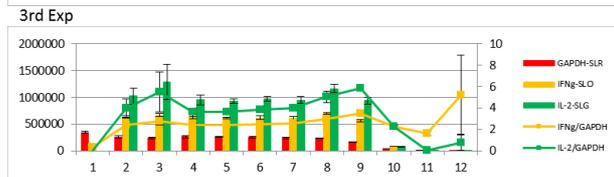
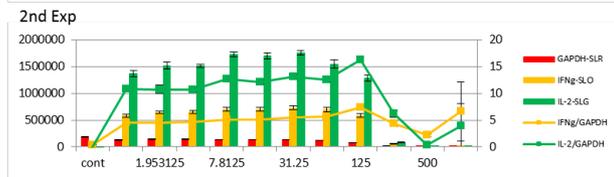
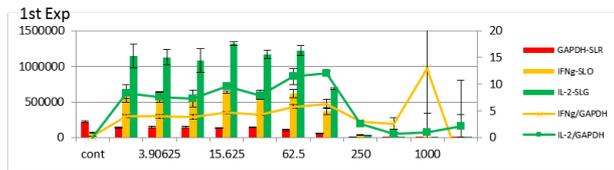
2nd Exp. Comparison conc.	Snpp	LowerLim	UpperLim
DMSO	0	0	0
0.977	5.278	-19.020	29.575
1.953	-1.768	-23.790	20.190
3.906	-0.448	-14.839	13.943
7.813	6.341	-19.791	32.451
15.625	10.284	-2.130	23.220
31.250	2.231	-26.153	30.691
62.500	13.904	-8.798	34.605
125.000	2.950	-23.997	29.599
250.000	8.919	-1.949	15.188
500.000	11.383	-1.280	24.027

3rd Exp. Comparison conc.	Snpp	LowerLim	UpperLim
DMSO	0	0	0
0.977	5.604	-19.871	30.679
1.953	-6.146	-34.801	28.504
3.906	1.335	-19.937	22.597
7.813	2.096	-16.796	20.126
15.625	4.848	-24.187	30.463
31.250	-1.695	-24.578	20.199
62.500	2.512	-25.398	30.423
125.000	-8.797	-32.355	16.761
250.000	-4.770	-27.182	17.821
500.000	-19.727	-39.118	5.669

N:NNN

No. 8 <Glycidol, Code No. :MID712>

(Final concentration: 2000 or 1000 µg/ml, Vehicle: Distilled water)



1st Exp.

Comparison Conc.	Slope	LowerLim	UpperLim
cont	0	0	0
1.893	6.596	-22.105	39.298
3.896	11.044	-24.658	49.334
7.813	-16.720	-50.483	17.042
15.625	4.266	-24.795	33.323
31.250	-38.846	-82.282	7.000
62.500	-46.188	-86.791	-3.596
125.000	66.476	99.470	77.479

2nd Exp.

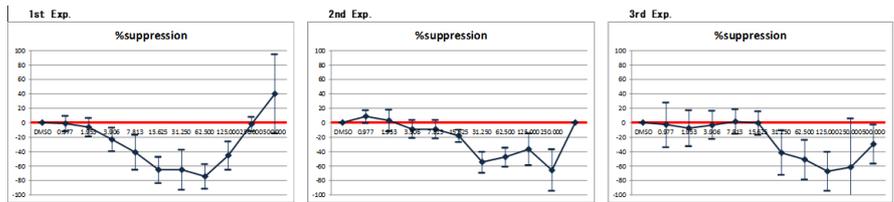
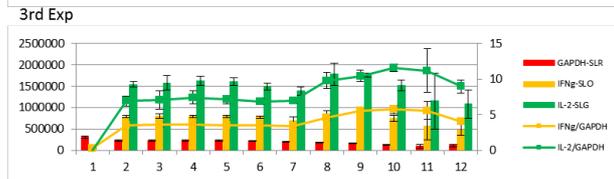
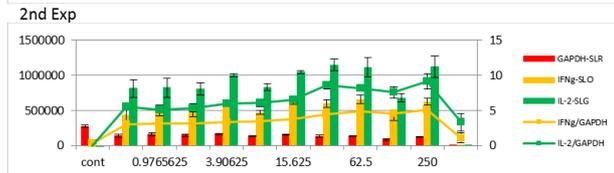
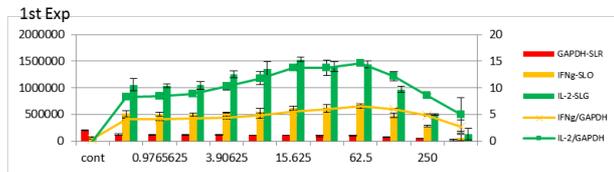
Comparison Conc.	Slope	LowerLim	UpperLim
cont	0	0	0
1.953	0.455	-11.696	12.695
7.813	0.593	-7.596	8.793
31.250	-17.205	-24.915	-8.496
125.000	-13.003	-21.502	-4.494
500.000	-22.927	-32.093	-13.000
200.000	-61.598	-84.612	-38.582
250.000	42.691	33.392	91.790

3rd Exp.

Comparison Conc.	Slope	LowerLim	UpperLim
cont	0	0	0
1.953	-38.715	-117.185	39.754
7.813	9.197	22.316	49.793
31.250	9.191	-19.033	37.414
125.000	3.325	-27.462	24.544
500.000	-0.648	-32.434	31.343
200.000	-28.719	-89.843	32.464
250.000	-45.986	-82.509	-9.864
200.000	43.653	24.858	62.249

A:AAA

No.9 <Indomethacin, Code No. :MID715>
 (Final concentration: 500 µg/ml, Vehicle: DMSO)



1st Exp.

Comparison	Supp	Lower Lwr	Upper Lwr
DMSO	0	0	0
0.977	-1.028	-11800	9.894
1.953	-5.846	-18.522	8.830
3.906	-23.185	-29.387	-6.973
7.813	-40.887	-44.887	-19.900
15.625	-43.282	-63.378	-47.149
31.250	-24.823	-62.853	-36.988
62.500	-14.714	-61.524	-38.887
125.000	-15.332	-64.920	-25.794
250.000	-1.972	-11.758	7.819
500.000	-49.799	-44.723	-84.895

2nd Exp.

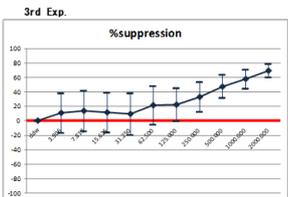
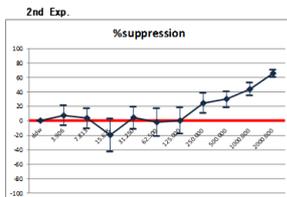
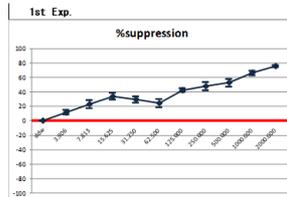
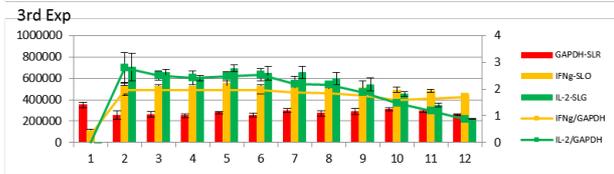
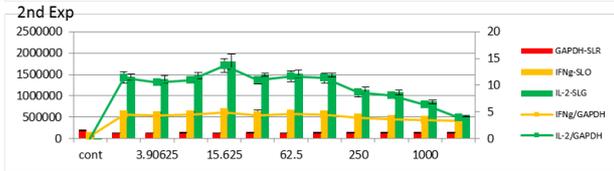
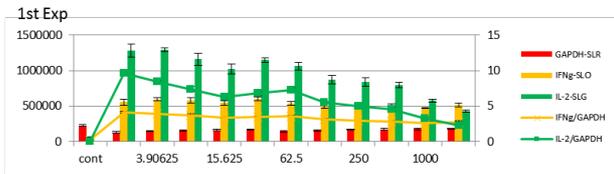
Comparison	Supp	Lower Lwr	Upper Lwr
DMSO	0	0	0
0.977	8.742	-2.312	17.856
1.953	3.008	-12.082	18.089
3.906	-8.920	-20.132	3.957
7.813	-8.842	-21.626	3.924
15.625	-13.051	-26.586	-0.573
31.250	-4.840	-28.123	-40.195
62.500	-47.218	-68.186	-34.182
125.000	-36.592	-58.352	-14.821
250.000	-65.505	-84.144	-38.887

3rd Exp.

Comparison	Supp	Lower Lwr	Upper Lwr
DMSO	0	0	0
0.977	-2.838	-33.537	27.866
1.953	-7.375	-32.087	17.340
3.906	-13.090	-32.441	16.266
7.813	1.878	-16.442	18.611
15.625	-0.402	-16.988	16.183
31.250	-41.243	-72.412	-10.073
62.500	-51.094	-78.871	-23.898
125.000	-68.830	-83.880	-38.759
250.000	-41.803	-129.708	4.101
500.000	-29.448	-61.189	-3.720

A:AAA

No. 10 < Isonicotinic Acid Hydrazide (Isoniazid), Code No. :MID707>
 (Final concentration: 2000 µg/ml, Vehicle: Distilled water)



1st Exp.

Comparison Conc.	Slope	Lower Lwr	Upper Lwr
0	0	0	0
3.906	11.912	8.506	15.318
7.813	22.829	17.013	28.684
15.625	34.402	25.112	38.352
31.250	39.331	24.874	33.888
62.500	24.402	15.962	39.251
125.000	42.298	39.884	44.731
250.000	41.771	42.084	53.467
500.000	52.545	47.013	58.079
1000.000	58.157	52.871	69.834
2000.000	71.552	74.029	77.596

2nd Exp.

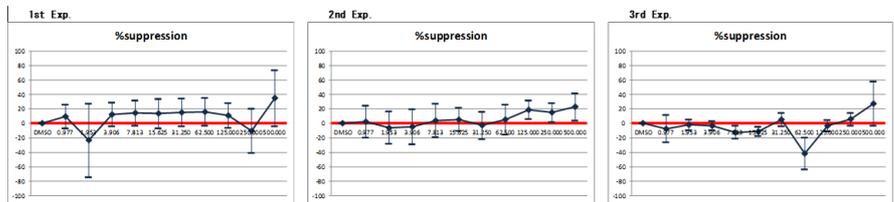
Comparison Conc.	Slope	Lower Lwr	Upper Lwr
0	0	0	0
3.906	7.957	-5.190	21.209
7.813	3.888	-10.175	17.549
15.625	-19.878	-42.090	3.233
31.250	4.433	-10.899	19.735
62.500	-2.038	-21.170	17.095
125.000	0.804	-17.225	18.458
250.000	24.907	10.766	38.829
500.000	29.897	18.714	41.081
1000.000	43.970	35.129	52.812
2000.000	55.547	50.684	60.410

3rd Exp.

Comparison Conc.	Slope	Lower Lwr	Upper Lwr
0	0	0	0
3.906	10.711	-16.435	37.059
7.813	13.683	-14.376	41.793
15.625	11.303	-16.500	38.396
31.250	9.403	-19.413	38.219
62.500	21.402	-5.258	48.061
125.000	22.305	-0.302	44.912
250.000	32.709	12.144	53.273
500.000	47.613	31.480	63.898
1000.000	57.512	44.599	70.409
2000.000	69.389	60.105	78.673

S:SSS

No.11 <Nitrobenzene, Code No. :MID701>
 (Final concentration: 500 µg/ml, Vehicle: DMSO)



1st Exp

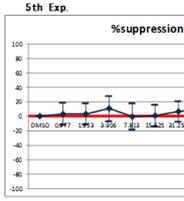
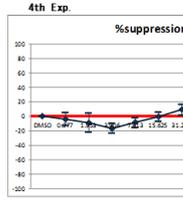
Comparison Gene	0	0	0	0
DMSO	0	0	0	0
0.977	8.371	-7.007	25.996	
1.953	-22.481	-74.433	27.910	
3.906	12.282	-4.147	28.132	
7.813	14.226	-3.078	31.678	
15.625	15.484	-2.729	33.716	
31.250	16.395	-3.699	34.408	
62.500	16.944	-3.077	34.661	
125.000	10.904	-4.184	27.991	
250.000	-10.103	-40.703	20.491	
500.000	34.819	-3.615	73.251	

2nd Exp

Comparison Gene	0	0	0	0
DMSO	0	0	0	0
0.977	2.233	-19.089	24.155	
1.953	-6.737	-28.202	18.871	
3.906	-4.054	-28.188	19.281	
7.813	4.145	-18.898	27.188	
15.625	5.491	-10.331	21.613	
31.250	-2.875	-21.405	19.662	
62.500	5.053	-15.699	25.661	
125.000	19.088	6.323	31.852	
250.000	10.121	1.667	23.339	
500.000	22.727	3.846	41.608	

3rd Exp

Comparison Gene	0	0	0	0
DMSO	0	0	0	0
0.977	-7.355	-20.042	11.338	
1.953	-1.926	-9.257	5.504	
3.906	-3.143	-6.273	3.389	
7.813	-12.230	-21.221	-3.260	
15.625	-11.200	-17.569	-4.962	
31.250	6.192	-3.532	14.217	
62.500	-41.342	-63.312	-25.373	
125.000	-2.981	-10.873	4.912	
250.000	6.954	-2.868	16.694	
500.000	27.249	-3.418	57.913	



4th Exp

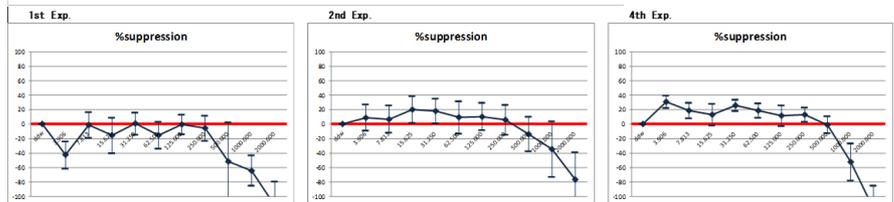
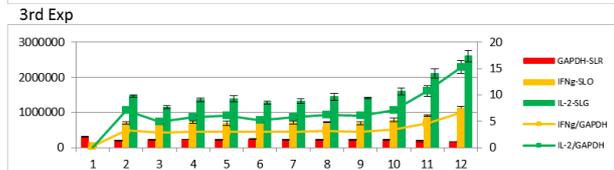
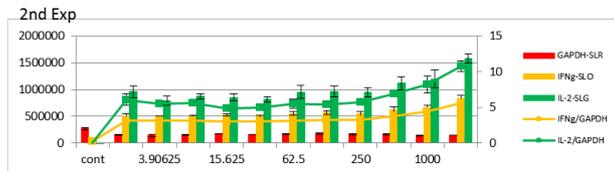
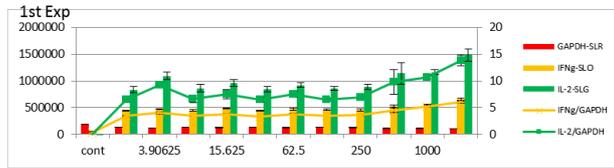
Comparison Gene	0	0	0	0
DMSO	0	0	0	0
0.977	-3.831	-10.507	5.294	
1.953	-8.624	-21.941	4.573	
3.906	-16.908	-29.267	6.192	
7.813	-8.347	-16.896	-1.697	
15.625	-3.225	-6.895	6.196	
31.250	6.971	1.977	16.622	
62.500	14.421	6.275	29.668	
125.000	22.102	16.855	27.948	
250.000	21.229	14.037	28.617	
500.000	25.951	16.121	35.781	

5th Exp

Comparison Gene	0	0	0	0
DMSO	0	0	0	0
0.977	3.311	-11.905	18.527	
1.953	3.451	-11.191	18.624	
3.906	10.719	-2.750	28.189	
7.813	-0.172	-18.465	18.308	
15.625	1.922	-13.957	18.320	
31.250	6.737	-7.405	20.879	
62.500	9.811	-2.449	25.171	
125.000	14.160	-1.819	30.140	
250.000	25.941	11.645	38.463	
500.000	26.985	6.873	45.604	

N:NNN

No. 12 <Urethane, Ethyl carbamate, Code No. :MID719>
 (Final concentration: 2000 µg/ml, Vehicle: Distilled water)



1st Exp.

Comparison Gene	Lower	Upper	Lower	Upper
cont	0	0	0	0
3.906	-42.490	41.278	-23.933	23.933
7.813	-1.152	-89.019	18.736	18.736
15.625	-15.494	-39.894	8.967	8.967
31.250	0.995	-44.931	19.203	19.203
62.500	-15.139	-33.423	3.144	3.144
125.000	-29.612	-14.059	12.654	12.654
250.000	-5.700	-32.371	11.961	11.961
500.000	-41.671	-105.585	2.343	2.343
1000.000	-64.147	-85.071	-43.224	-43.224
2000.000	-112.458	-146.623	-79.283	-79.283

2nd Exp.

Comparison Gene	Lower	Upper	Lower	Upper
cont	0	0	0	0
3.906	9.091	-8.185	27.288	27.288
7.813	7.014	-11.300	26.983	26.983
15.625	20.017	1.638	38.496	38.496
31.250	17.948	1.138	34.795	34.795
62.500	9.369	-12.888	31.631	31.631
125.000	16.009	-8.594	29.247	29.247
250.000	1.890	-14.833	26.613	26.613
500.000	-43.549	-37.011	9.814	9.814
1000.000	-34.647	-72.898	3.572	3.572
2000.000	-78.118	-113.998	-38.835	-38.835

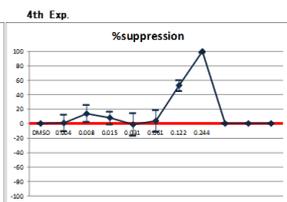
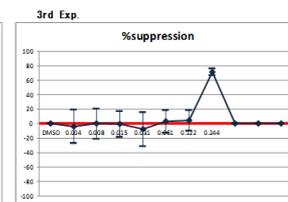
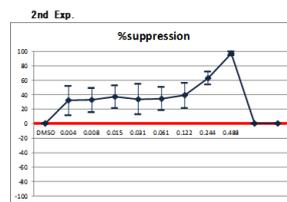
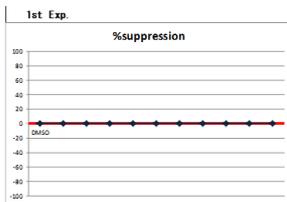
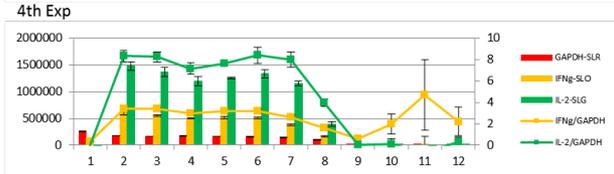
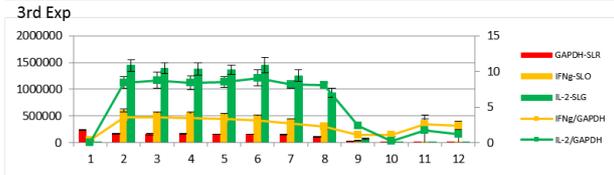
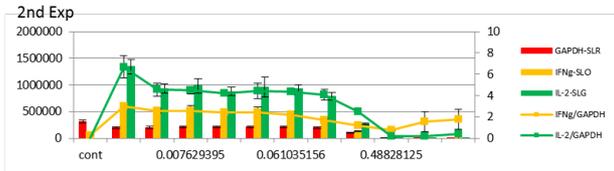
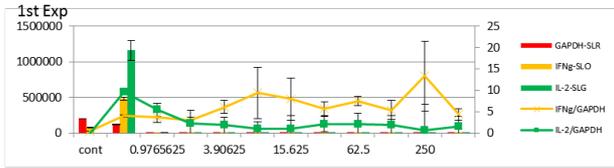
4th Exp.

Comparison Gene	Lower	Upper	Lower	Upper
cont	0	0	0	0
3.906	30.875	22.330	39.421	39.421
7.813	18.702	9.345	28.173	28.173
15.625	13.037	-1.963	28.029	28.029
31.250	28.098	18.334	35.678	35.678
62.500	18.885	8.571	28.563	28.563
125.000	11.729	-2.669	26.193	26.193
250.000	13.122	3.072	23.173	23.173
500.000	-1.144	-42.738	18.693	18.693
1000.000	-42.234	-77.580	-36.908	-36.908
2000.000	-118.533	-148.214	-84.772	-84.772

A:AAA

No. 13 <Tributyltin chloride, Code No. :MID713>

(Final concentration: 1st Exp: 500 µg/ml, 2-4th Exp: 1.9 µg/ml, Vehicle: DMSO)



Comparison	Supp	Lower	Upper
DMSO	0	0	0

rejected

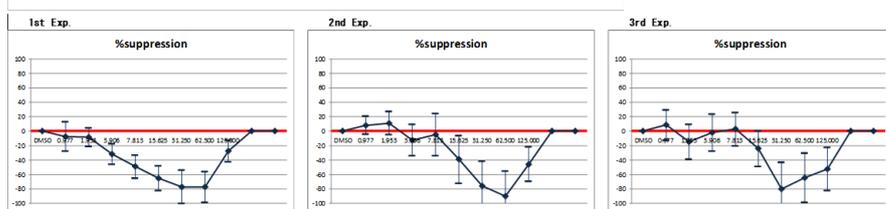
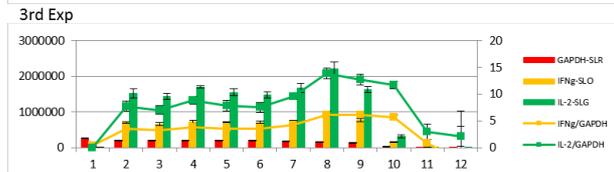
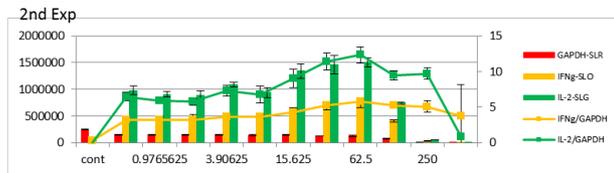
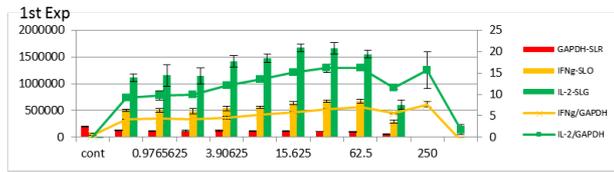
Comparison	Supp	Lower	Upper
DMSO	0	0	0
0.004	31.931	11.829	52.033
0.008	32.821	15.989	49.653
0.015	36.991	21.459	52.523
0.031	33.910	12.789	54.831
0.061	34.537	18.638	50.385
0.122	39.253	21.628	56.876
0.244	62.351	54.089	71.912
0.488	97.038	94.044	99.431

Comparison	Supp	Lower	Upper
DMSO	0	0	0
0.004	-3.946	-20.480	19.195
0.008	0.038	-20.852	20.873
0.015	-0.489	-18.476	17.558
0.031	-7.056	-31.173	19.999
0.061	3.138	-12.446	19.757
0.122	4.400	-9.565	18.906
0.244	71.044	66.749	76.543

Comparison	Supp	Lower	Upper
DMSO	0	0	0
0.004	0.770	-10.083	12.223
0.008	14.107	2.432	25.782
0.015	7.937	-1.051	16.924
0.031	-1.114	-16.511	14.283
0.061	3.950	-11.020	18.020
0.122	62.589	49.275	69.902
0.244	99.431	98.185	100.077

S:SSS

No. 14 <Perfluorooctanoic acid, Code No. :MID718>
 (Final concentration: 500 µg/ml, Vehicle: DMSO)



1st Exp.

Comparison Conc.	Snpp	LowerLim	UpperLim
DMSO	0	0	0
0.977	-7.198	-27.438	13.102
1.953	-8.205	-28.867	4.460
3.906	-31.698	-45.959	-17.200
7.813	-48.928	-64.668	-32.869
15.625	-55.229	-82.184	-48.226
31.250	-78.074	-99.989	-53.759
62.500	-77.111	-96.374	-55.946
125.000	-27.292	-41.941	-12.643

2nd Exp.

Comparison Conc.	Snpp	LowerLim	UpperLim
DMSO	0	0	0
0.977	8.478	-3.927	20.878
1.953	11.080	-4.907	27.988
3.906	-12.222	-33.830	9.386
7.813	-8.723	-33.786	-24.261
15.625	-38.987	-71.894	-5.110
31.250	-75.530	-110.173	-41.487
62.500	-69.772	-124.627	-44.916
125.000	-40.656	-89.438	-21.680

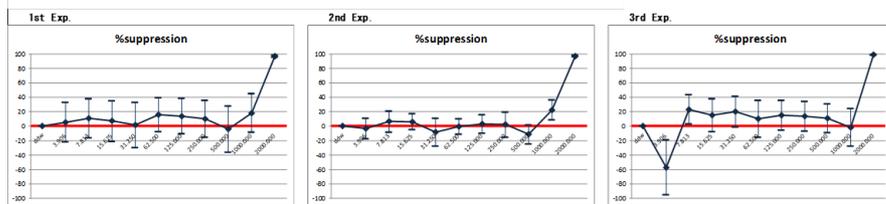
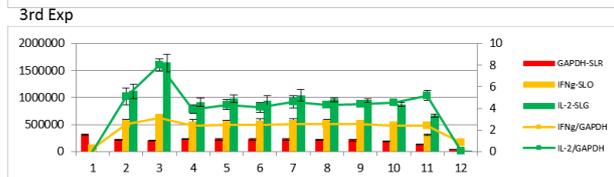
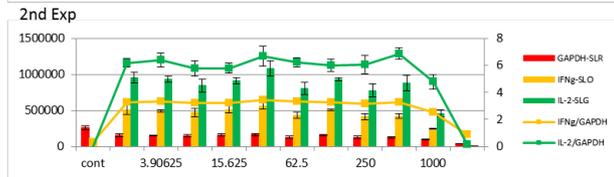
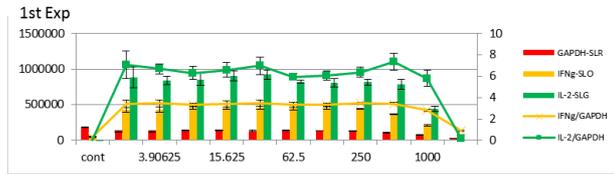
3rd Exp.

Comparison Conc.	Snpp	LowerLim	UpperLim
DMSO	0	0	0
0.977	8.502	-12.253	28.250
1.953	-14.007	-38.819	9.809
3.906	-1.847	-27.700	24.000
7.813	2.810	-24.470	28.951
15.625	-24.074	-48.375	0.227
31.250	-79.702	-116.168	-43.286
62.500	-64.377	-98.337	-30.418
125.000	-52.171	-81.789	-22.950

A:AAA

No. 15 <Dichloroacetic acid, Code No. :MID716>

(Final concentration: 2000 µg/ml, Vehicle: Distilled water)



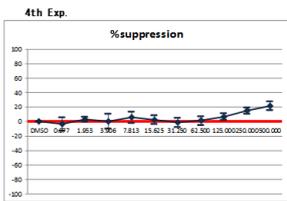
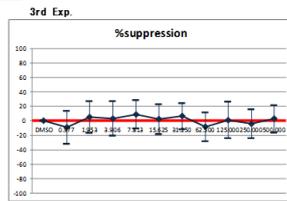
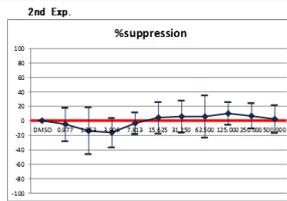
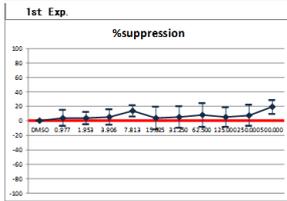
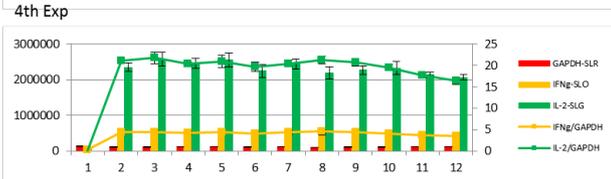
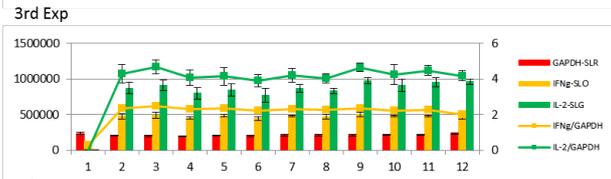
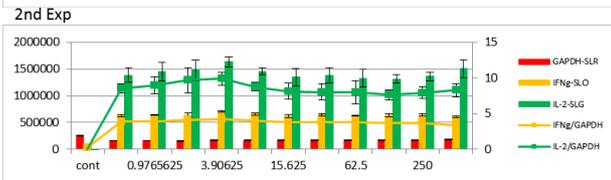
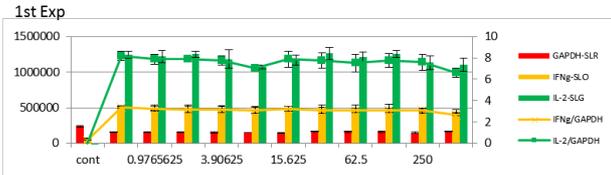
1st Exp	Comparison Conc.	Snapp	LowerLim	UpperLim
	0	0	0	0
	3.906	5.606	-51.494	32.710
	7.813	10.956	-10.048	37.984
	15.625	7.130	-21.189	35.448
	31.250	1.985	-29.055	32.654
	62.500	16.980	-7.250	39.417
	125.000	14.100	-10.420	38.655
	250.000	10.140	-15.851	35.938
	500.000	-4.020	-38.238	29.198
	1000.000	18.219	-3.389	44.627
	2000.000	87.026	85.448	88.605

2nd Exp	Comparison Conc.	Snapp	LowerLim	UpperLim
	0	0	0	0
	3.906	-3.149	-17.234	10.936
	7.813	6.027	-8.187	21.290
	15.625	6.329	-4.786	17.444
	31.250	-6.331	-27.321	10.661
	62.500	-6.865	-11.340	10.006
	125.000	-3.109	-9.567	15.855
	250.000	2.099	-15.989	19.797
	500.000	-41.232	-24.386	1.823
	1000.000	22.549	8.549	35.549
	2000.000	97.094	95.181	98.027

3rd Exp	Comparison Conc.	Snapp	LowerLim	UpperLim
	0	0	0	0
	3.906	-59.932	-84.748	-18.117
	7.813	23.895	3.265	43.945
	15.625	15.988	-7.302	37.859
	31.250	20.090	-1.081	41.029
	62.500	10.141	-15.258	35.549
	125.000	15.090	-2.274	32.747
	250.000	13.805	-7.988	34.265
	500.000	11.114	-8.950	31.118
	1000.000	-1.640	-27.889	24.459
	2000.000	86.875	86.184	89.189

S:SSN

No. 16 <Toluene, Code No. :MID706>
 (Final concentration: 500 µg/ml, Vehicle: DMSO)



1st Exp.

Concentration	Slope	Lower L.R.	Upper L.R.
DMSO	0	0	0
0.977	4.04	-8.10	14.89
1.953	3.970	-4.286	12.33
3.906	4.273	-4.525	10.971
7.813	14.056	6.188	21.928
15.625	3.956	-11.625	19.545
31.250	5.336	-9.540	20.332
62.500	8.388	-7.942	24.734
125.000	5.278	-7.880	18.142
250.000	7.813	-8.993	22.139
500.000	19.164	9.450	28.887

2nd Exp.

Concentration	Slope	Lower L.R.	Upper L.R.
DMSO	0	0	0
0.977	-4.954	-27.888	17.900
1.953	-11.575	-45.840	18.694
3.906	-16.102	-36.282	4.078
7.813	-3.282	-18.478	11.895
15.625	4.477	-17.080	26.033
31.250	6.780	-16.327	27.847
62.500	5.985	-22.928	34.853
125.000	10.591	-4.406	25.587
250.000	8.965	-10.510	24.441
500.000	2.829	-16.531	21.789

3rd Exp.

Concentration	Slope	Lower L.R.	Upper L.R.
DMSO	0	0	0
0.977	-8.993	-31.422	13.516
1.953	5.185	-16.759	27.130
3.906	3.453	-20.200	26.287
7.813	9.101	-10.201	28.523
15.625	2.328	-16.483	21.142
31.250	6.531	-11.511	24.573
62.500	-4.325	-28.137	11.486
125.000	1.331	-24.004	26.355
250.000	-4.198	-24.992	16.595
500.000	2.885	-16.887	21.853

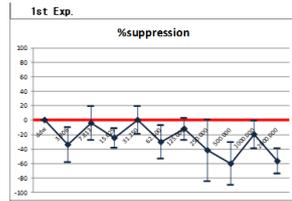
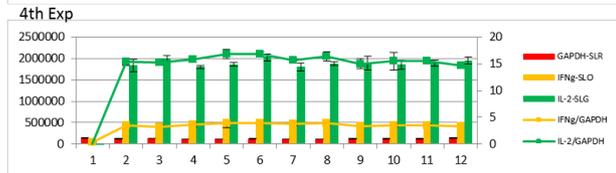
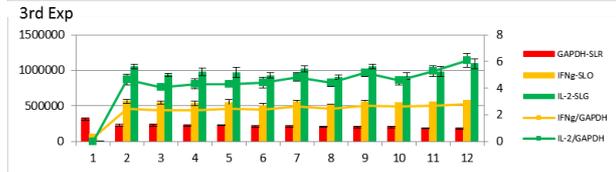
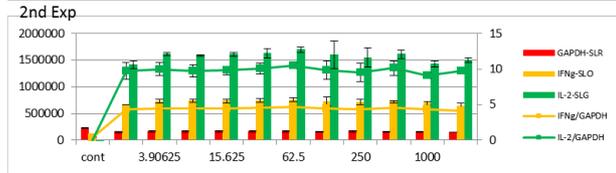
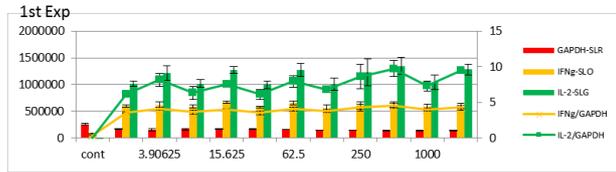
4th Exp.

Concentration	Slope	Lower L.R.	Upper L.R.
DMSO	0	0	0
0.977	-3.448	-12.291	5.394
1.953	3.358	-2.027	8.718
3.906	2.468	-9.748	10.855
7.813	6.217	-1.484	13.927
15.625	2.951	-3.761	9.661
31.250	-1.120	-7.419	5.178
62.500	1.469	-4.355	7.260
125.000	7.020	2.475	11.565
250.000	15.462	11.248	19.655
500.000	21.931	15.974	27.888

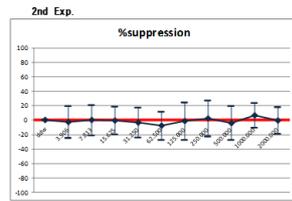
N:NNN

No. 17 <Acetonitril, Code No. :MID708>

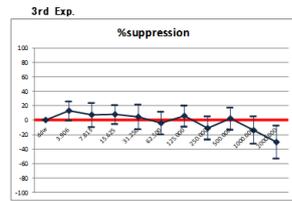
(Final concentration: 2000 µg/ml, Vehicle: Distilled water)



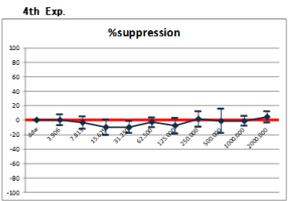
1st Exp.	Comparison Gene	Swaps	LowerLim	UpperLim
3.906		0	0	0
7.813		-33.852	-58.237	-9.398
15.625		-3.834	-27.994	19.465
31.250		-24.447	-38.201	-10.892
62.500		3.056	-19.149	19.279
125.000		-19.889	-52.965	-6.721
250.000		-11.986	-27.403	3.456
500.000		-41.603	-69.263	1.037
1000.000		-29.757	-89.944	-30.470
2000.000		-19.430	-35.471	-0.386
3000.000		-58.186	-75.417	-38.913



2nd Exp.	Comparison Gene	Swaps	LowerLim	UpperLim
3.906		0	0	0
7.813		-2.342	-24.434	19.751
15.625		3.189	-23.851	21.189
31.250		-3.198	-23.842	17.469
62.500		-7.721	-27.388	11.946
125.000		-2.298	-21.171	24.600
250.000		-2.487	-22.982	27.518
500.000		-4.052	-27.852	19.459
1000.000		4.434	-19.618	29.467
2000.000		-0.440	-18.884	18.004



3rd Exp.	Comparison Gene	Swaps	LowerLim	UpperLim
3.906		0	0	0
7.813		12.778	-0.398	26.941
15.625		7.202	-8.946	23.812
31.250		7.875	-5.181	21.152
62.500		4.987	-12.330	21.221
125.000		-3.765	-19.823	12.282
250.000		6.384	-8.620	20.569
500.000		-19.822	-26.990	5.947
1000.000		2.159	-13.124	17.662
2000.000		-30.437	-53.207	2.887

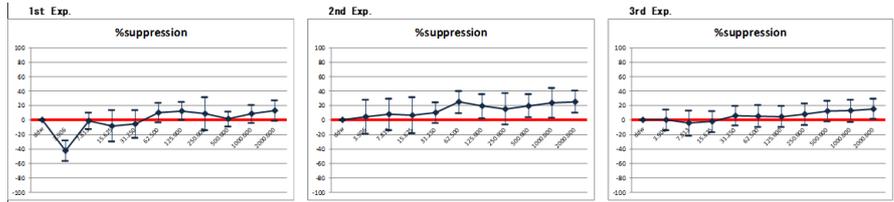
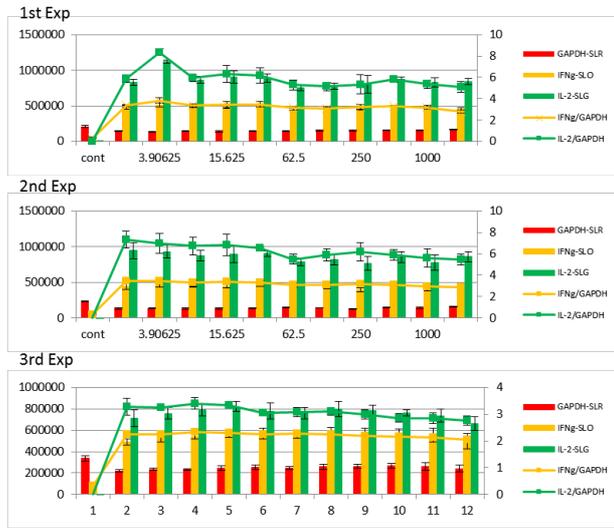


4th Exp.	Comparison Gene	Swaps	LowerLim	UpperLim
3.906		0	0	0
7.813		0.578	-6.775	7.928
15.625		-3.229	-11.721	5.304
31.250		-8.638	-20.587	0.900
62.500		-2.975	-9.534	4.181
125.000		-7.259	-17.883	3.466
250.000		0.203	-6.659	12.128
500.000		-0.850	-17.789	16.098
1000.000		-0.874	-7.772	6.634
2000.000		4.448	-3.230	12.121

N:ANN

No. 18 <Mannitol, Code No. :MID717>

(Final concentration: 2000 µg/ml, Vehicle: Distilled water)



1st Exp.

Concentration (µg/ml)	%sup	Lower Lk	Upper Lk
0	0	0	0
3.906	-42.250	-65.949	-28.251
7.813	-1.016	-12.572	10.541
15.625	-7.846	-20.913	5.221
31.250	-5.323	-24.483	13.837
62.500	10.152	-2.388	22.644
125.000	12.482	0.109	24.866
250.000	9.133	-12.049	31.354
500.000	1.550	-8.572	11.672
1000.000	8.730	-9.720	21.179
2000.000	15.153	-12.512	27.517

2nd Exp.

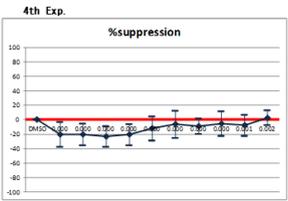
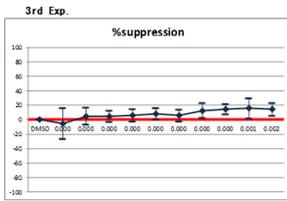
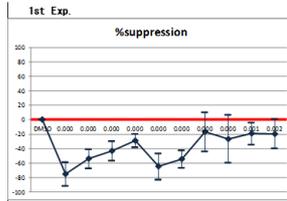
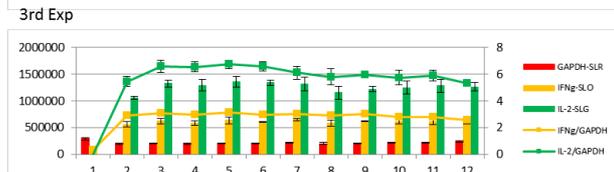
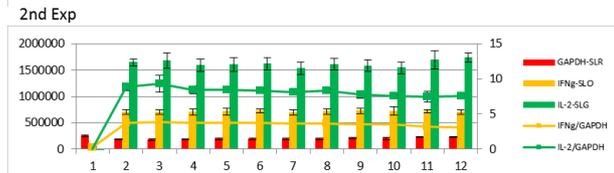
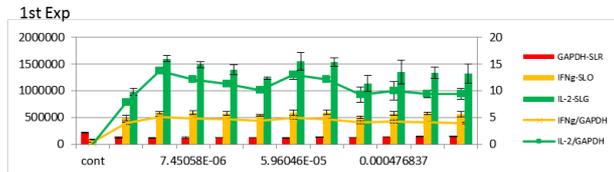
Concentration (µg/ml)	%sup	Lower Lk	Upper Lk
0	0	0	0
3.906	4.487	-18.880	27.853
7.813	7.862	-13.808	29.533
15.625	6.521	-18.402	31.445
31.250	10.422	-3.657	24.220
62.500	24.995	9.591	40.941
125.000	19.360	2.797	35.964
250.000	19.499	-5.949	38.949
500.000	19.719	3.727	35.693
1000.000	23.995	2.995	44.994
2000.000	28.474	10.119	46.829

3rd Exp.

Concentration (µg/ml)	%sup	Lower Lk	Upper Lk
0	0	0	0
3.906	0.328	-14.022	14.379
7.813	-4.151	-21.558	13.257
15.625	-2.027	-16.507	12.452
31.250	6.289	-7.181	19.779
62.500	6.530	-8.153	20.813
125.000	4.788	-9.896	19.422
250.000	6.519	-7.120	20.160
500.000	12.477	-1.787	26.719
1000.000	12.751	-2.949	28.448
2000.000	16.408	1.028	29.789

N:NNN

No. 19 <Vanadium pentoxide, Code No. :MID709>
 (Final concentration: 0.0019 µg/ml, Vehicle: DMSO)



1st Exp.

#	Comparison	Supp	LowerLimit	UpperLimit
0.000	DMSO	0	0	0
0.000	0.000	-74.720	81.168	-89.291
0.000	0.000	-23.994	67.315	-40.094
0.000	0.000	-43.112	-66.731	-29.462
0.000	0.000	-28.857	-37.933	-19.781
0.000	0.000	-64.646	-82.750	-46.542
0.000	0.000	-54.691	-60.773	-42.419
0.000	0.000	-16.922	-44.038	10.196
0.000	0.000	-26.132	-26.245	8.631
0.001	0.001	-18.135	-34.225	-4.044
0.002	0.002	-19.237	-39.219	0.144

3rd Exp.

#	Comparison	Supp	LowerLimit	UpperLimit
0.000	DMSO	0	0	0
0.000	0.000	-5.125	-28.430	18.229
0.000	0.000	4.849	-6.778	16.476
0.000	0.000	4.305	-3.990	12.170
0.000	0.000	6.121	-2.037	14.530
0.000	0.000	6.125	3.465	10.788
0.000	0.000	16.765	-2.038	14.452
0.000	0.000	12.667	2.444	22.890
0.000	0.000	14.963	7.187	21.959
0.001	0.001	15.892	1.614	29.771
0.002	0.002	14.243	6.472	23.013

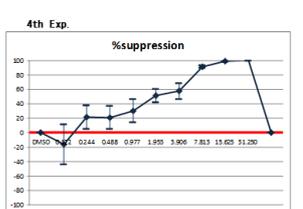
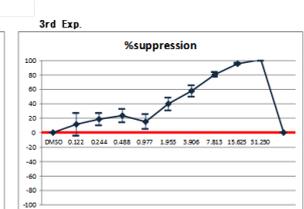
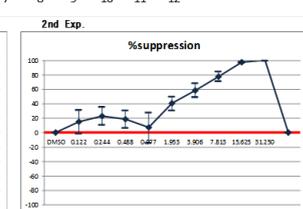
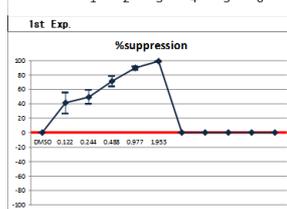
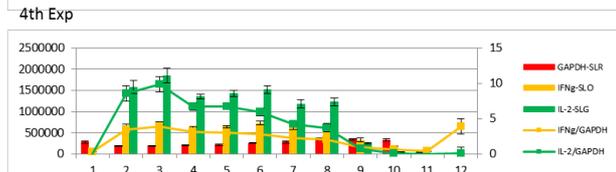
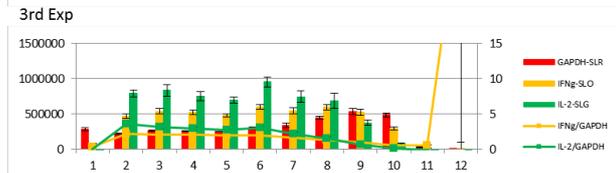
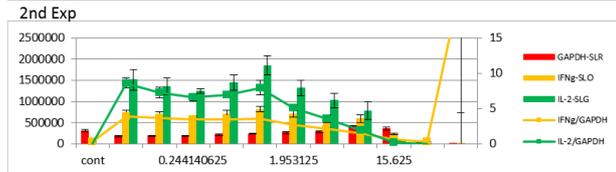
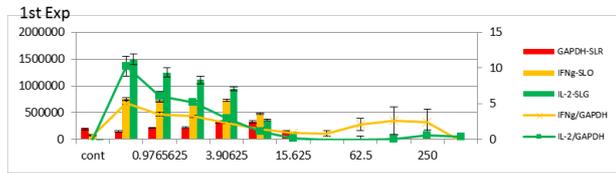
4th Exp.

#	Comparison	Supp	LowerLimit	UpperLimit
0.000	DMSO	0	0	0
0.000	0.000	-20.520	37.466	-8.593
0.000	0.000	-20.130	35.124	6.135
0.000	0.000	-23.430	37.969	-8.164
0.000	0.000	-20.614	35.235	-6.902
0.000	0.000	-12.010	28.717	4.707
0.000	0.000	-6.164	24.523	12.714
0.000	0.000	-8.618	-19.222	2.089
0.000	0.000	-5.330	-22.640	11.983
0.001	0.001	-7.754	-22.303	6.795
0.002	0.002	-2.545	-7.769	22.850

N:ANN

No. 20 α-Benzyl-p-chorolophenol, Code No. :MID710>

(Final concentration: 1st Exp: 500 $\mu\text{g/ml}$, 2-4th Exp: 62.5 $\mu\text{g/ml}$, Vehicle: DMSO)



1st Exp.

Comparison	Supp	Lower	Upper	Lower	Upper
DMSO	0	0	0	0	0
0.122	41.193	28.931	55.498		
0.244	49.915	39.809	59.422		
0.488	71.283	64.423	78.104		
0.977	89.427	87.243	91.613		
1.953	98.759	96.473	99.038		

rejected

2nd Exp.

Comparison	Supp	Lower	Upper	Lower	Upper
DMSO	0	0	0	0	0
0.122	15.162	-0.978	31.262		
0.244	23.335	12.954	30.718		
0.488	19.851	6.800	30.503		
0.977	7.222	-13.137	28.262		
1.953	42.888	31.054	53.318		
3.906	65.959	49.118	69.222		
7.813	77.794	71.074	84.514		
15.625	97.514	97.038	97.989		
31.250	100.085	99.927	100.243		

3rd Exp.

Comparison	Supp	Lower	Upper	Lower	Upper
DMSO	0	0	0	0	0
0.122	11.789	-3.794	27.372		
0.244	18.884	10.327	27.462		
0.488	23.821	14.508	33.139		
0.977	15.929	5.150	26.883		
1.953	39.789	30.824	48.743		
3.906	67.884	50.965	69.094		
7.813	80.888	77.548	83.748		
15.625	96.797	94.743	98.851		
31.250	101.041	99.848	102.233		

4th Exp.

Comparison	Supp	Lower	Upper	Lower	Upper
DMSO	0	0	0	0	0
0.122	-15.730	-43.372	11.912		
0.244	21.438	4.969	37.907		
0.488	21.177	5.015	37.338		
0.977	30.428	14.487	46.361		
1.953	51.242	41.884	60.601		
3.906	67.695	49.668	69.734		
7.813	91.417	89.750	93.083		
15.625	98.819	98.555	99.194		
31.250	100.159	99.871	100.447		

S:SSS