

MELANO-MODEL24の有機溶媒耐性試験

■ 目的

検体を有機溶媒に溶解して用いる時のために、vehicleとなる各種有機溶媒の、3次元培養表皮モデルに対する細胞毒性及びメラニン産生に与える影響について検討した。

■ 細胞

検討1: LabCyte MELANO-MODEL24 (Lot:LCMM24-100621-A)

検討2: LabCyte MELANO-MODEL24 (Lot:LCM24-101206-A)

■ 検体

DMSO、EtOH、BG及びPGをPBSにて1%及び5%に調製した。

Negative control: PBS

■ 方法

LabCyte MELANO-MODEL24を寒天培地から取り出し、LabCyte MELANO-MODEL取扱説明書に従い培養した。各培養カップ内に検体50 μ lを添加し、14日間培養を行った。培養期間中は培地交換とカップ内の検体交換を2~3日毎に行った。14日間培養後、LabCyte MELANO-MODEL取扱説明書に従って、細胞生存率の測定(MTT法)及びメラニン量の定量を行った。

■結果

Fig.1. 細胞生存率

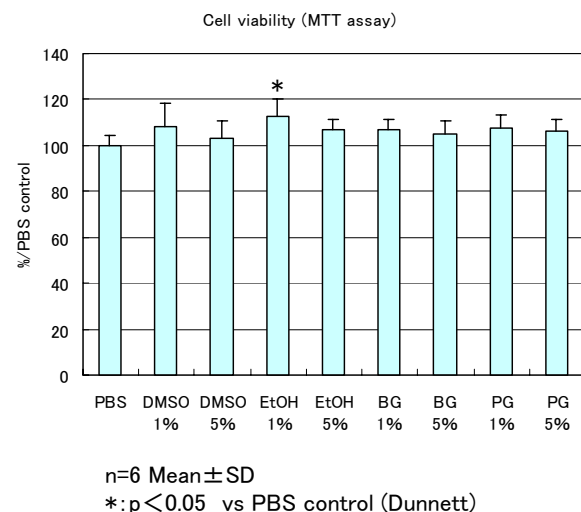


Fig.2. メラニン産生量

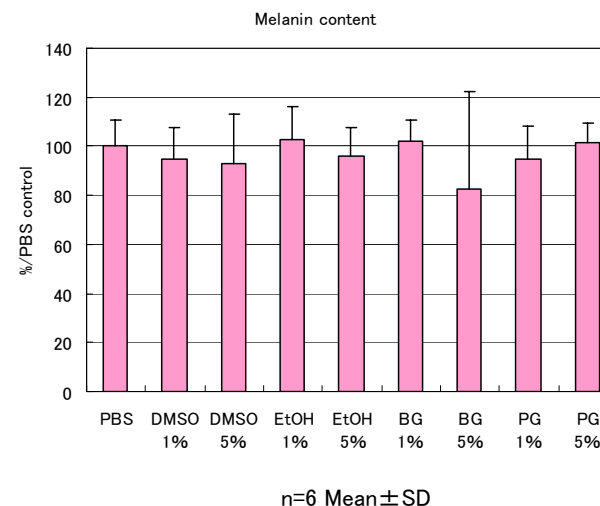
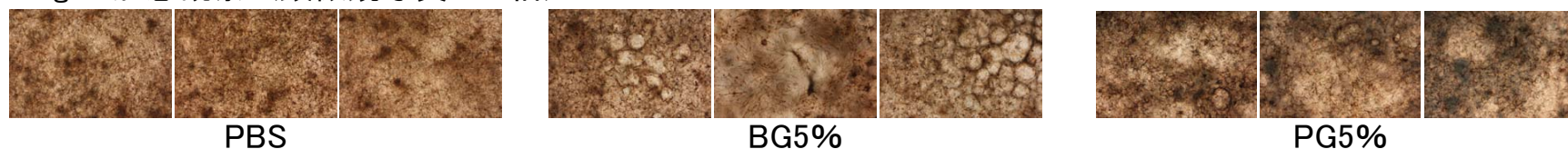


Fig.3. 形態観察 (顕微鏡写真 400倍)



MTT assayの結果から、検討1・2共に全ての有機溶媒添加群に細胞毒性は認められなかった (Fig.1)。しかしながら形態観察から、検討1でBG5% (3/3例) (Fig.3) 及びPG5% (1/3例)、検討2でDMSO5% (2/3例)、PG5% (3/3例) (Fig.3) に形態変化が認められた。メラニン産生量の測定結果から、BG5%では溶媒濃度依存的にメラニン産生量が減少する傾向が見られた (5/6例)。

■考察

DMSO、BG及びPGは1%まで、EtOHは5%までは細胞生存率、細胞形態、メラニン産生量に影響を及ぼさなかった。この結果から、上記の濃度までは試験に適用可能と考えられた。