

EPI-MODEL24(6日培養品)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について検討した。

■細胞

気液界面培養1: LabCyte EPI-MODEL24 (Lot:LCE24-101115-A) 6日培養品

気液界面培養2: LabCyte EPI-MODEL24 (Lot:LCE24-110131-A) 6日培養品

液液培養1: LabCyte EPI-MODEL24 (Lot:LCE24-100628-A) 6日培養品

液液培養2: LabCyte EPI-MODEL24 (Lot:LCE24-101115-A) 6日培養品

■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 EPI-MODEL24を寒天培地から取り出し、LabCyte MELANO-MODEL24取扱説明書に従い培養した。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、取扱説明書に従い細胞生存率の測定(MTT法)を実施した。

【気液界面培養 検体添加方法】

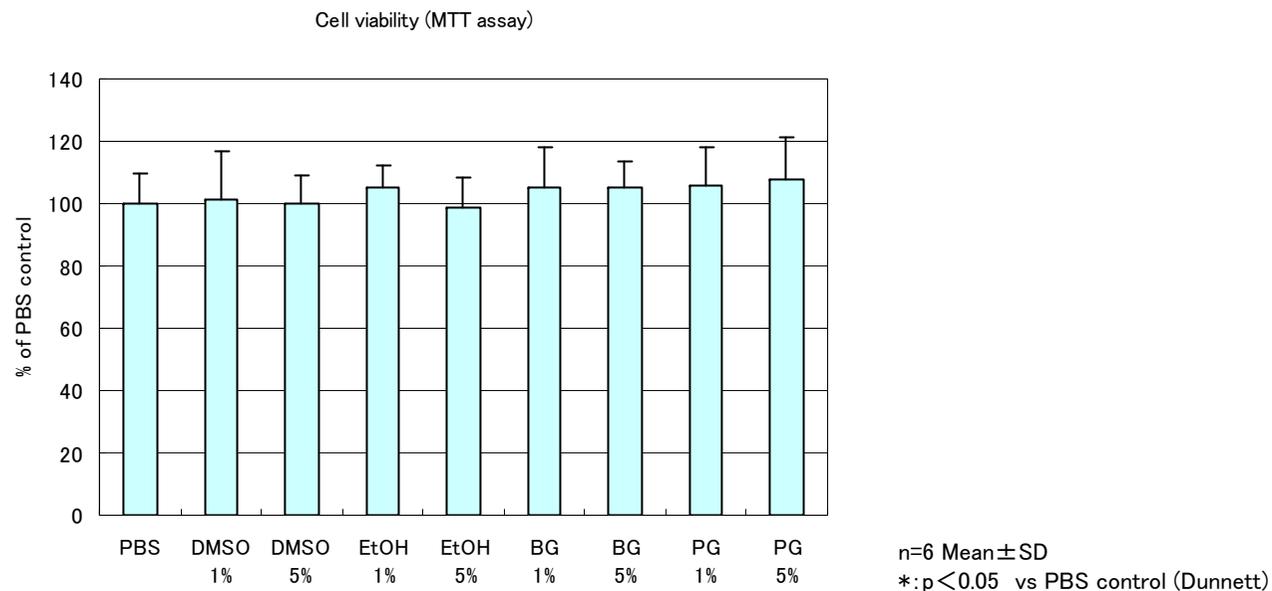
各培養カップ内に検体50 μ lを添加し、検体添加3時間後にアスピレーターで検体を除去し、気相で培養した。1日1回、週5日検体添加を行った。

【液液培養 検体添加方法】

各培養カップ内に検体50 μ lを添加した状態で培養した。培地交換の際に検体を交換した。

■結果1

Fig.1 細胞生存率(気液界面培養)



MTT assayの結果から、DMSO、EtOH、BG及びPGすべ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)。

気液界面培養においては、各溶媒とも5%までは細胞生存率、細胞形態に影響を及ぼさず、試験に適用可能と考えられた。

■結果2

Fig.2 細胞生存率(液液培養)

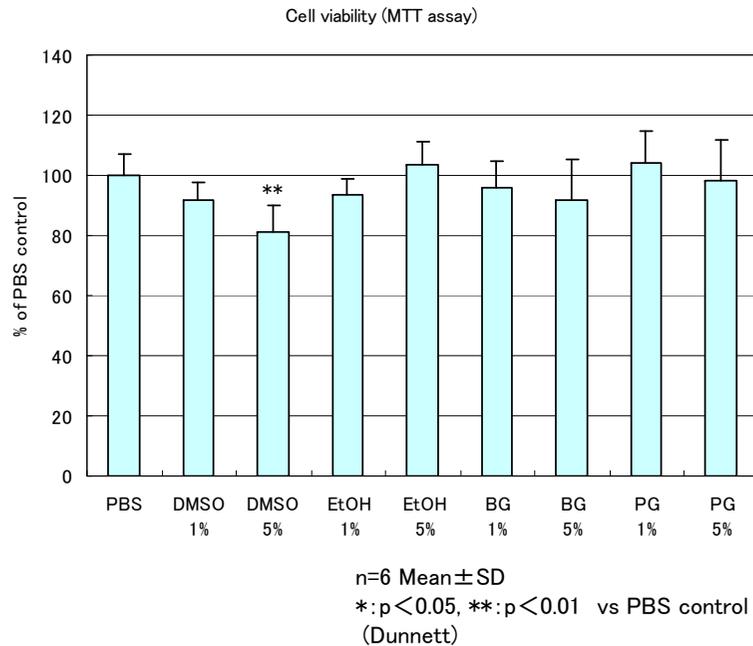
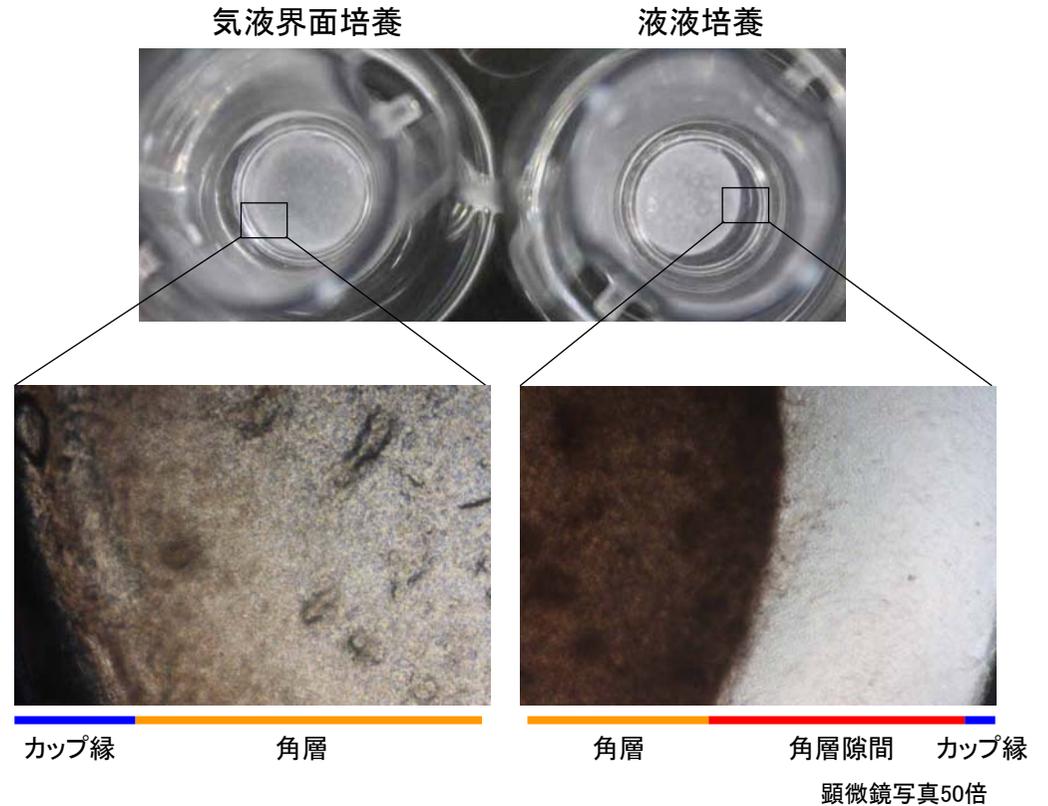


Fig.3 形態観察



MTT assayの結果から、5%DMSOに若干の細胞毒性が認められた。EtOH、BG及びPGは5%まで、DMSOは1%まで細胞生存率に影響を及ぼさないと考えられた (Fig.2)。

気液界面培養と比較して、液液培養では角層とカップ縁との間に隙間ができており、角層形態に差異が認められた (Fig.3)。