

脂溶性サンプルの洗浄方法の検討

□ 目的

TG439に従った方法（PBS洗浄）では脂溶性物質を完全に洗い流すことが難しい。定法のPBS洗浄の前に20%エタノール洗浄を追加することで、脂溶性サンプルの洗浄方法の検証を行う。

□ 方法

1. 前培養

2. 被験物質の適用

3. 洗浄

TG439 : PBSで15回以上

検討方法 : 20%エタノールで10回 + PBS洗浄15回以上

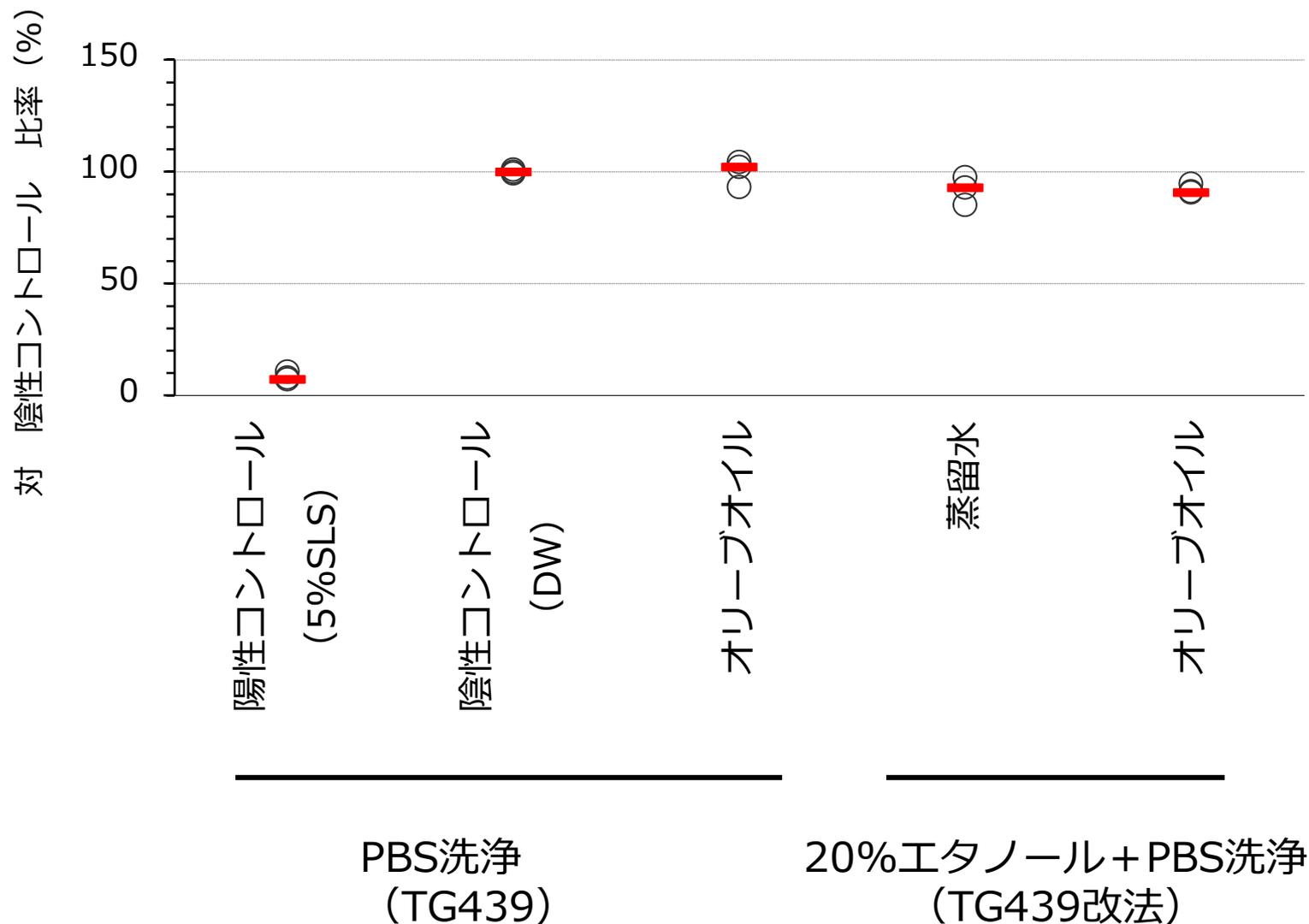
4. 後培養（42時間）

5. MTT反応（生細胞率測定）

陰性コントロール (DW)を基準とした生存率

被験物質		1ウェル	2ウェル	3ウェル	平均	SD
PBS洗浄 (TG439)	陽性コントロール (5%SLS)	3.1	10.6	7.9	7.2	3.8
	陰性コントロール (DW)	99.8	100.9	99.3	100.0	0.9
	オリーブオイル	108.7	104.4	93.2	102.1	8.0
エタノール+PBS洗浄 (TG439改法)	蒸留水	96.0	97.5	85.1	92.9	6.8
	オリーブオイル	86.0	94.6	91.3	90.6	4.3

洗浄方法の違いによる各サンプルの生存率



結果および考察

- ・ **洗浄後の所見：**

エタノール洗浄では、オリーブオイルをPBS洗浄より早く洗い流せた。
目視では、油の残存は確認できなかった。

PBS洗浄では水の弾き等が観察され、オリーブオイルを完全に**除去できない可能性**がある。

- ・ **生存率**

20%エタノール洗浄を加えることで、細胞生存率が10%程度低下する可能性。
エタノール洗浄で角質の脂質成分も洗い流してしまった可能性も考えられる。

若干の生存率の低下は認められたが、20%エタノール洗浄を行うことで脂溶性サンプルを洗い流せる可能性がある。

ただしOECD TG439に記載された皮膚刺激性試験ではないため、各社様での考察が必要である。