

試験報告書

Final Test Report

細胞毒性代替法試験

試験品：フフフではは歯

フ フェースサーバイ株式会社



試験結果報告書

細胞毒性代替法試験

発行日：2021年7月1日

フェースサイエンス株式会社



8. LD₅₀ 値換算式

下記の ICCVAM の換算式から LD₅₀ 値を算出した。

$$\log \text{LD}_{50} (\text{mg/kg}) = 0.372 \log \text{IC}_{50} (\mu\text{g/mL}) + 2.024 \quad (\text{ICCVAM}, 2006a)$$

※LD₅₀ 値のおおむねの目安

一般的な安全性試験の基準としては、マウスやラットを用いた急性毒性試験で LD₅₀ 値が 2000mg/kg 以上であれば概ね安全性に問題は無いと判断される。

9. 試験の概要

試験は、溶媒溶解テストの後、予備試験を実施し、本試験を実施した。

溶媒溶解テストの結果、100mg/ml を最高濃度として公比 1:10 で予備試験を実施した。

10. 予備試験の方法

- ①2.0–3.0 × 10³cells/well になるように、96 穴マイクロプレートに細胞を播種し、24 時間前培養した。
- ②前培養後、試験品（100mg/ml から 7 段階希釈）、コントロール(培地のみ)を添加し、48 時間培養した。
- ③培養終了後、NR を含む培地に交換し、3 時間培養した。
- ④3 時間培養後、NR を含む培地を取り除き、PBS にて洗浄後、NR 抽出液を加え、マイクロプレートを 20–45 分振とう抽出する。
- ⑤540nm にて ABS を測定し、コントロールを 100 として、細胞毒性を IC₅₀ にて求めた。

11. 本試験の方法

予備試験によって、観察された IC₅₀ 値付近について、公比 2 にて 7 濃度の細胞毒性試験を実施した。試験方法は、予備試験の方法と同様で、試験物質に陽性対照である SDS を合わせて実施した。

12. 結果

下記の表 1 ~ 3 に示したように被験物質の IC₅₀ は 4118.0μg/ml であった。

また、SDS の IC₅₀ 値は、39.7±2.1μg/ml であり、基準値範囲内であり、試験は成立した。

得られた IC₅₀ 値から LD₅₀ 値を算出すると下記の値となった。

$$\log \text{LD}_{50} (\text{mg/kg}) = 0.372 \log \text{IC}_{50} (\mu\text{g/mL}) + 2.024 = 3.5482$$

$$\text{LD}_{50} (\text{mg/kg}) = 3537.2$$

以上より、試験品の LD₅₀ 値は 3537.2mg/kg であった。

本結果から、試験品の細胞毒性は無いと考えられる。