

P388 白血病細胞増殖抑制試験

1 依頼者

株式会社 バイオフェイス東京研究所

2 検 体

白金ナノ粒子

3 試験目的

食品成分などの抗腫瘍作用を探索する一次スクリーニング法の一つとして、腫瘍細胞の増殖の程度を呈色反応として検出する手法が知られている。マウス白血病細胞P388(以下「P388細胞」とする。)は、このような抗腫瘍作用の検定に用いられる標準細胞株の一つとして、研究分野において広く用いられている。本試験では、P388細胞と検体を共存させた際に生じる生細胞由来の酸化還元酵素と、この酵素と反応する発色試薬より生成するホルマザン色素の生成量から細胞増殖率を求め、検体が細胞増殖に与える影響を調べる。

4 試験方法

1) 試験液の調製

検体を培地により希釈し、検体濃度20, 10及び5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ の試験液を調製した。

2) 試験操作

P388細胞を96ウェルプレートに播種後、20, 10及び5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ の各試験液を添加した(検体の終濃度は10, 5及び2.5 $\mu\text{L}/\text{mL}$)。培地のみを加えたものを未処置対照、カンプトテシン[和光純薬工業株式会社]を終濃度5 ng/mLとなるように加えたものを陽性対照として同様に試験を行った。また、P388細胞を含まない培地を添加した後、同様に操作したものをサンプルブランクとした。37 $^{\circ}\text{C}$ で3日間反応後、Cell Counting Kit-8[株式会社 同仁化学研究所]を添加し、37 $^{\circ}\text{C}$ で3時間反応させた。主な試験条件を表-1に示した。

表-1 試験条件

細 胞	P388[ヒューマンサイエンス振興財団]
培 地	RPMI-1640培地 牛胎児血清 : 10 % Penicillin-Streptomycin : 1 % HEPES solution : 1.5 %

3) 測定方法

マイクロプレートリーダー[SpectraMax M2e, Molecular Devices Corporation]を用い、生成したホルマザン色素の吸光度を測定した(測定波長: 450 nm 対照波長: 650 nm)。

4) 算出方法

未処置対照の吸光度に対する各試験液の吸光度から、次式により細胞増殖率を算出した。陽性対照は各試験液と同様に算出した。

$$\text{細胞増殖率(\%)} = \frac{S_a - \text{SBL}}{(\text{CN} - \text{SBL}) \text{の平均値}} \times 100$$

CN : 未処置対照の吸光度

S_a : 各試験液の吸光度

SBL : サンプルブランクの吸光度の平均値(n=2)

5 試験結果

細胞増殖率を図-1及び表-2に示した。

6 参考文献

- ・ 新本洋士ほか: 日本食品科学工学会誌, 48, 787-790(2001).

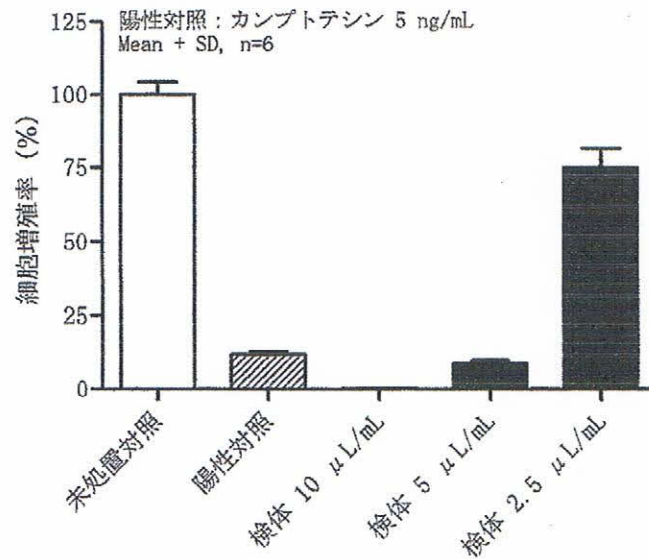


図-1 細胞増殖率

表-2 細胞増殖率

	細胞増殖率 (%)						平均値	標準偏差
	n=1	n=2	n=3	n=4	n=5	n=6		
未処置対照	87.3	98.3	102.3	106.8	106.3	98.8	100	7.2
陽性対照	15.6	16.8	15.6	15.1	15.0	14.4	15	0.8
検体 10 μL/mL	0.4	0.0	0.1	0.1	0.0	0.1	0	0.1
検体 5 μL/mL	7.5	8.9	10.2	9.6	8.7	7.7	9	1.1
検体 2.5 μL/mL	83.8	80.1	68.5	77.5	71.7	67.7	75	6.6

以 上