

試験報告書

依頼者 ; 合同会社 STH 様

株式会社メイプルバイオラボラトリーズ
化粧品製造業許可 12CZ200289
化粧品製造販売業許可 12CQX10014
〒270-1401 千葉県白井市平塚 2802-1
電話 04-7100-0001
e-mail; inquiry@maple-biolab.com

2021年4月28日

光毒性試験(OECD432)

供試検体の名称 ; CLEANEST NFE2 (室内用)
試験検体供与者 ; 合同会社 STH 様
試験期間 ; 2021年4月12日から4月23日
目的 ; 光の照射下及び非照射下において、供試された試験検体に暴露された細胞生存率の相対的な減少による光細胞毒性をOECD432 (In Vitro 3T3 NRU phototoxicity test)に準拠して行う。
光源照射時間 ; 30分、60分 (2ポイント)
試験方法 ; OECD432 (In Vitro 3T3 NRU phototoxicity test) に準拠
検査使用細胞株 ; BALB/3T3 clone A31 (JCRB 株, Cell#JCRB9005)
試験サンプル濃度 ; 1倍、2倍、5倍、10倍、100倍、1,000倍、10,000倍、Negativecontrol
光照射用プレート及び非照射用プレート ; BALB/3T3 cellを撒種
光照射試験 ; 2000ルクス(±100) を30分間、60分間暴露
培養時間 ; 18時間
染色法 ; クリスタルバイオレッド染色法により細胞変性の有無を観察
判定 ; 光照射の有無により、プレート上の細胞の生存に相対的な差がないことから、当該製品には「光毒性はない」と判断される。

試験報告書

依頼者； 合同会社 STH 様

株式会社メイプルバイオラボトリーズ
化粧品製造業許可 12CZ200269
化粧品製造販売業許可 12CAX10014
〒270-1401 千葉県白井市平塚 2802-1
電話 04-7100-0001
e-mail; inquiry@maple-biolab.com

2021年4月28日

光毒性試験(OECD432)

供試検体の名称； CLEANEST NFE2 (室内用)

試験検体供与者； 合同会社 STH 様

試験期間； 2021年4月12日から4月23日

目的； 光の照射下及び非照射下において、供試された試験検体に暴露された細胞生存率の相対的な減少による光細胞毒性をOECD432 (In Vitro 3T3 NRU phototoxicity test) に準拠して評価する。

光源照射時間; 30分、60分(2ポイント)

試験検体；

試験に用いた細胞株は以下の通り。

検査使用細胞株； BALB/3T3 clone A31 (JCRB 株, Cell#JCRB9005)

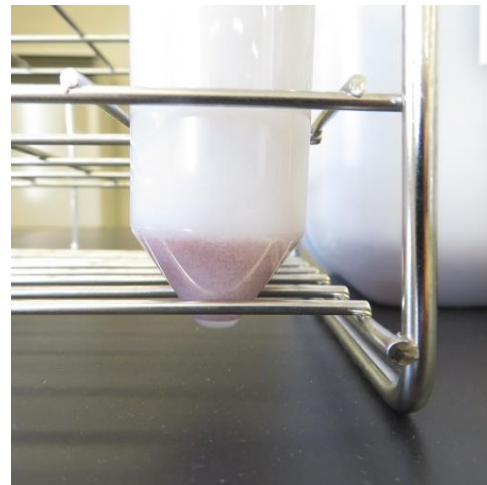
試験方法はOECD432 (In Vitro 3T3 NRU phototoxicity test) に準拠した。

サンプル形状； 試験に使用した試薬は以下の通り (写真 1)

試験サンプル濃度； 1 倍、2 倍、5 倍、10 倍、100 倍、1,000 倍、10,000 倍、Negativecontrol



CLEANEST NFE2 (乳白色懸濁液)



赤褐色状の沈殿あり

光毒性試験(OECD432)試験方法

OECD432 (In Vitro 3T3 NRU phototoxicity test) の試験方法に準拠し試験を実施した。

BALB/3T3 cellの撒種してあるプレートを一サンプル1ポイントに対し光照射用プレートと、非照射用プレートの2枚を準備した。

予め段階希釈した7段階の検査対象溶液と、8列目には陰性対象(溶媒のみ)を分注した。

37℃、5%CO₂条件下にて**30分間**プレインキュベーションした。

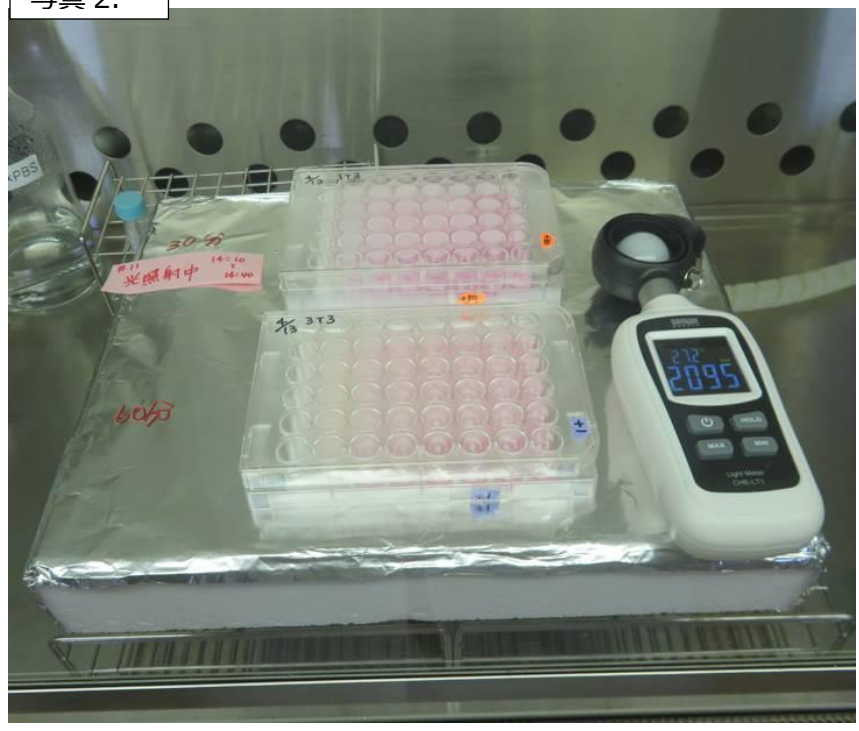
その後2枚のうち1枚に2000ルクス(±100)の光源を作用検査時間で暴露し (写真2)、

もう1枚は作用検査時間同様に暗所に置いた。

今回は光照射時間 (作用時間) **30分間、60分間**とした。

照射時間が経過したら試験溶液を細胞培養培地に置換し、一晚 (18~22時間) インキュベーション後、クリスタルバイオレッド染色法により細胞変性の有無を観察し結果の判定を行った。

写真 2.



光源照射時：(上)作用時間30分
(下)作用時間60分

光毒性試験結果

サンプル濃度配置図

	1	2	3	4	5	6	7	8
A	○	○	○	○	○	○	○	○
B	○	○	○	○	○	○	○	○
C	○	○	○	○	○	○	○	○
D	○	○	○	○	○	○	○	○
E	○	○	○	○	○	○	○	○
F	○	○	○	○	○	○	○	○

- 試験サンプル希釈倍率
- 1lane= x1
 - 2lane= x2
 - 3lane= x5
 - 4lane= x10
 - 5lane= x100
 - 6lane= x1,000
 - 7lane= x10,000
 - 8lane= Negativecontrol

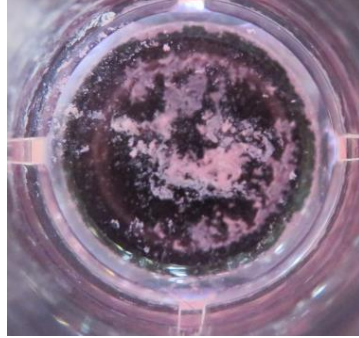
試験サンプルの影響により、分注後 1 レーン目から 4 レーン目までウェル上に沈殿物が確認された。(写真3①～⑦)

写真3. サンプル分注後のウェルの写真

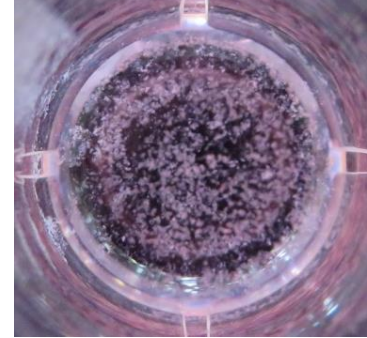
① 1レーン;



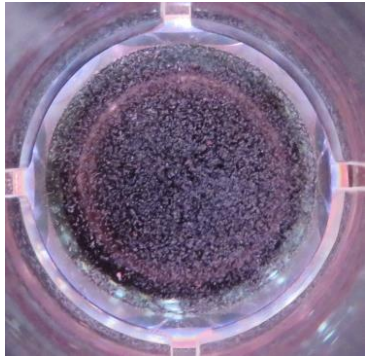
② 2レーン;



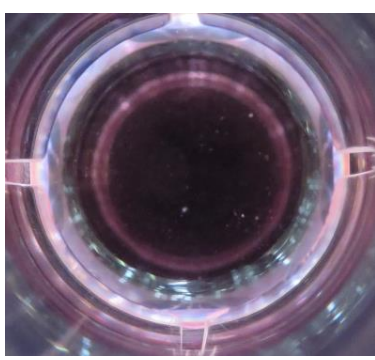
③ 3レーン;



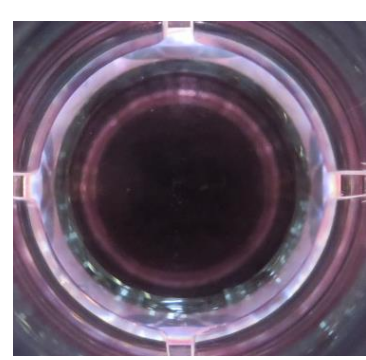
④ 4レーン;



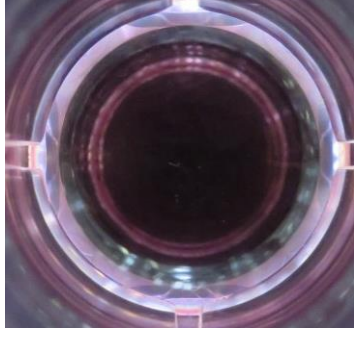
⑤ 5レーン;



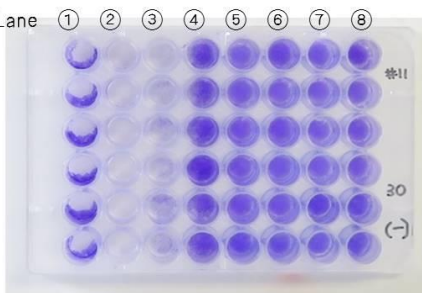
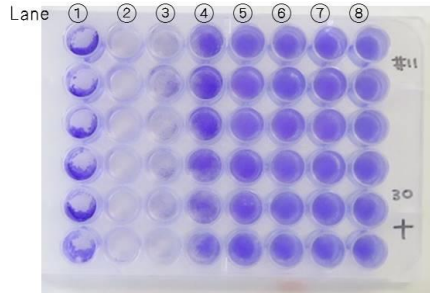
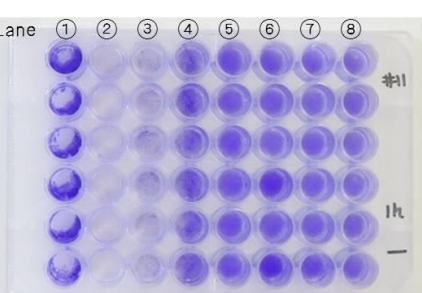
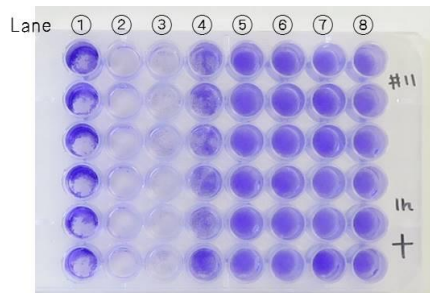
⑥ 6レーン;



⑦ 7レーン;



CLEANEST NFE2の細胞(BALB/3T3)に対する光毒性試験結果

BALBc/3T3 cell	非照射(-Irr)	光照射(+Irr) 2000ルクス±100
照射時間30分		
照射時間60分		

結果の判定

細胞の生存の有無について；

1レーン目(サンプル希釈倍率1倍)においてはウエル底面にサンプルの沈殿物が接着し、判定用色素により染色されたものであり、細胞が生存している為ではない。

4レーン目(サンプル希釈倍率10倍)においては7割程度に細胞変性・細胞死が認められた。

5レーン目(サンプル希釈倍率100倍)以降においては全てのウエルにおいて細胞の変性はみられなかった。

光照射の有無により、プレート上の細胞の生存に相対的な差がないことから、当該製品には「光毒性はない」と判断される。

以上

報告日 2021年4月28日

株式会社メイプルバイオラボラトリーズ