

皮膚感作性評価 動物実験代替法

ADRA

Amino acid Derivative Reactivity Assay



はじめに

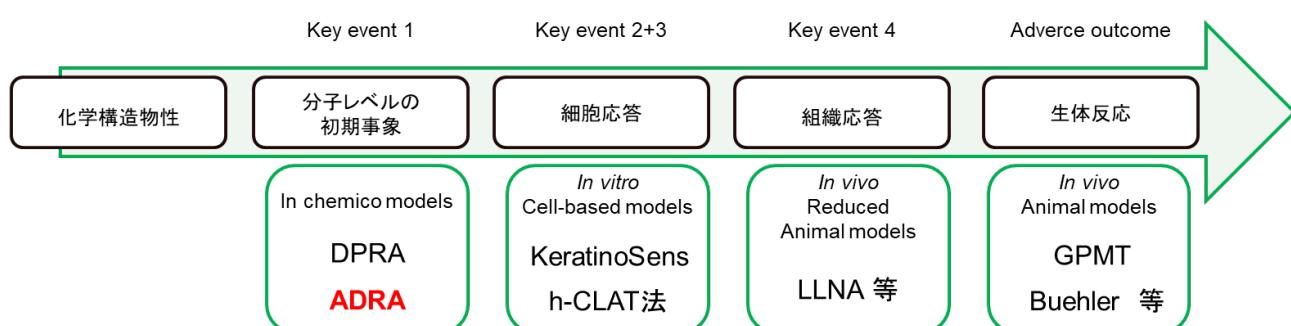
ADRA とは

ADRA(Amino acid Derivative Reactivity Assay)はNAC(*N*-(2-(1-naphthyl)acetyl)-L-cysteine)とNAL(α -*N*-(2-(1-naphthyl)acetyl)-L-lysine)を用いた、**化学物質の皮膚感作性評価試験の動物実験代替試験法**です。

OECD(経済協力開発機構)が定義する、皮膚感作性の有害性発現経路の4つのKey event(KE)のうち、感作性物質とタンパク質が結合し、複合体を形成する過程(KE1)での反応性の評価に使用できます。ADRAはOECD Test Guideline 442Cに収載されています。

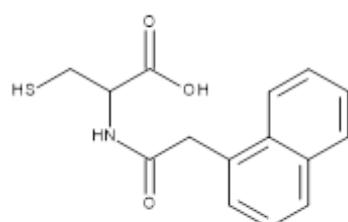
皮膚感作性のメカニズム

皮膚感作性の発現は感作性物質とタンパク質が結合し複合体を形成することから始まります。(Key Event 1)

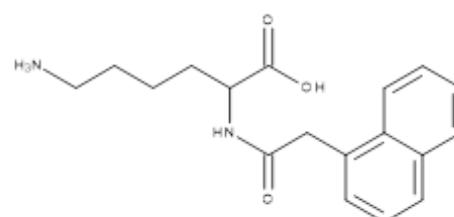


この結合は、タンパク質に含まれるシステインのチオール基またはリジンのアミノ基との共有結合によって発生します。

ADRAは、タンパク質の代わりにNAC(システイン誘導体)、NAL(リジン誘導体)を用い、これらと被験物質の反応性からタンパク質との結合性を予測します。



NAC



NAL

反応性の評価は、NAC・NALの溶液と被験化合物の溶液を混合し、25°Cで24時間反応させたのち、反応液中に残存するNACとNALそれぞれの濃度をHPLCで定量し、その結果を元に皮膚感作性を評価します。

ADRA キット

ADRAキットはOECD TG442Cに対応した、ADRAを簡便に実施できる試薬キットです。

キット構成

試薬名	容量	梱包数
NAC	10 mL用	2本
NAL	10 mL用	2本
NAC Buffer (pH 8.0)プレミックス	300 mL用	2本
NAL Buffer (pH 10.2)プレミックス	300 mL用	2本
0.01 mol/L EDTA溶液	1 mL	2本



コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
296-80901	ADRAキット	Ref ^o	皮膚感作性評価用	1 キット

本キットは富士フイルム株式会社よりライセンスを受け製造・販売を行っております。

キットの他に必要な試薬

コード No.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
204-02743	トリフルオロ酢酸	和光特級	25 mL	1,870
015-08633	アセトニトリル	高速液体クロマトグラフ用	3 L	19,000
016-00346	アセトン *	試薬特級	500 mL	1,300
043-07216	ジメチルスルホキシド *	試薬特級	500 mL	2,550

* 被験物質が水またはアセトニトリルに溶解する場合は使用しません

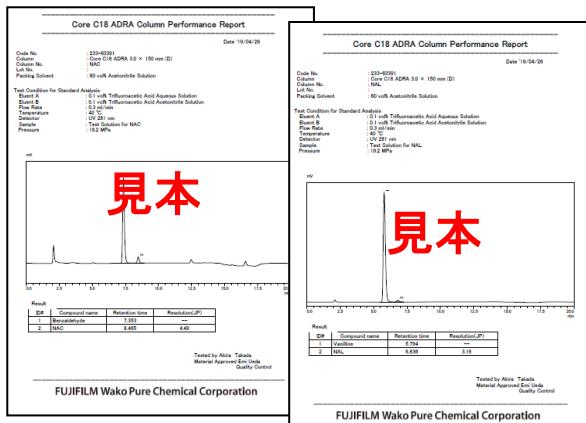
- 陽性対照化合物として Phenylacetaldehyde (CAS RN® 122-78-1) または Squaric acid diethyl ester (CAS RN® 5231-87-8)が必要です。
- 蒸留水またはそれ以上のグレードの水 (ADRAでは金属含有量が少ない水をご使用下さい)

必要な器具類

- ・電子天秤…0.1 mgまで表示されるもの
 - ・マイクロピペット…2~10 μL、10~100 μL、100~1000 μLを分取できる3種類
 - ・12連ピペット…50~150 μL分取可能なもの
 - ・HPLCシステム…流速0.3 mL/minで送液可能な96 well用遮光オートサンプラー付き
 - ・UV検出器…フォトダイオードアレイ検出器(PDA検出器)または吸光度検出器(281 nm)
 - ・HPLCカラム…233-63991 Wakopak® Core C18 ADRA φ3.0mm*150mm
 - ・pH計…±0.01 pH単位まで読むことが可能で、校正用緩衝液付きであること
 - ・インキュベーター…25°C設定が可能なものの
 - ・96 wellプレート
 - ・500 mLポリボトル
 - ・試験管ミキサー
 - ・プレートシール…島津ジーエルシー レジスタンントエンボスシール Catalog #.568-RES001 または同等品
(密封性、耐溶剤性の高いもの)
 - ・プレートシェイカー
 - ・プレート遠心機
- ※ ADRAに使用する容器や器具類(HPLC構成部品を除く)はすべてPPまたはPE製のディスポーサブル品を使用して下さい。金属イオンが混入するとNACが二量体化し、評価を正しく行うことができません。

ADRA 分析専用カラム

Wakopak® Core C18 ADRAはADRA(OECD TG442C)の分析に最適な、粒子径2.6 μm のコアシェル型充てん剤を使用した専用カラムです。カラム1本ごとにNAC、NAL、薬物の分離を確認しています。

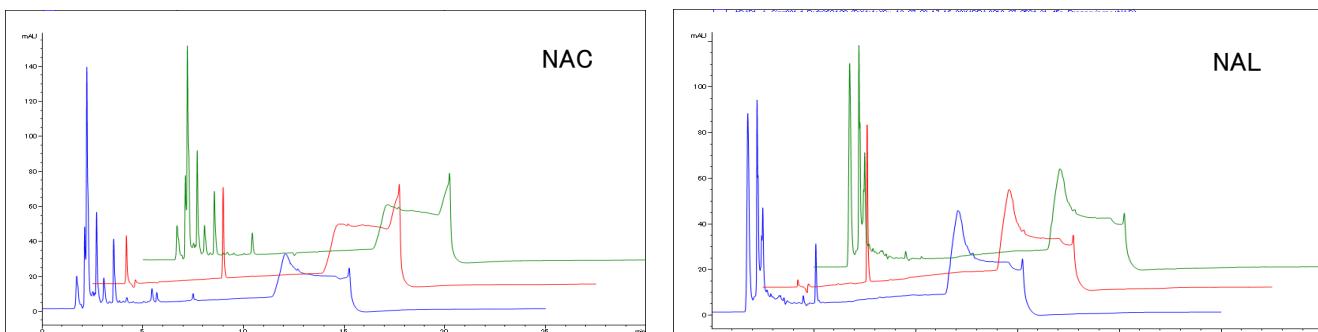


カラム1本ごとにColumn Performance Reportを添付しています。

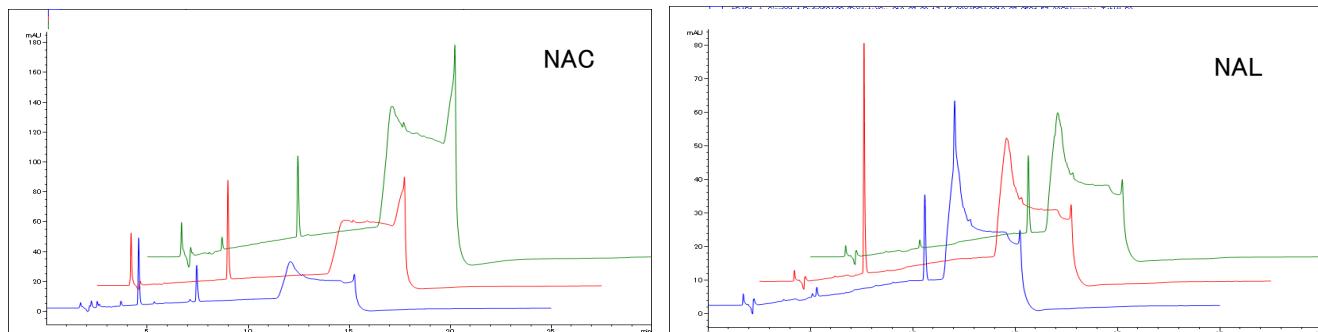
分析例

OECD Test Guideline 442C ADRAの技術習得の確認として試験が必要な習熟化合物の分析例を紹介致します。

1. *p*-ベンゾキノン

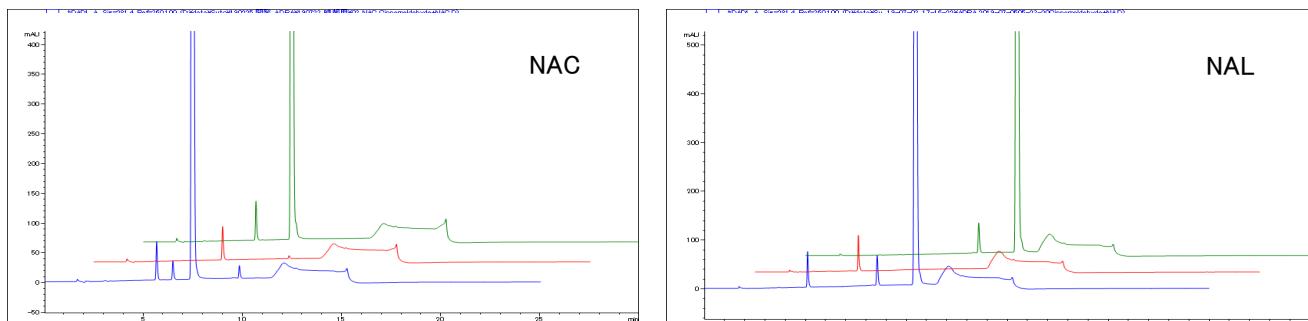


2. *p*-トルエンスルホンクロロアミドナトリウム三水和物

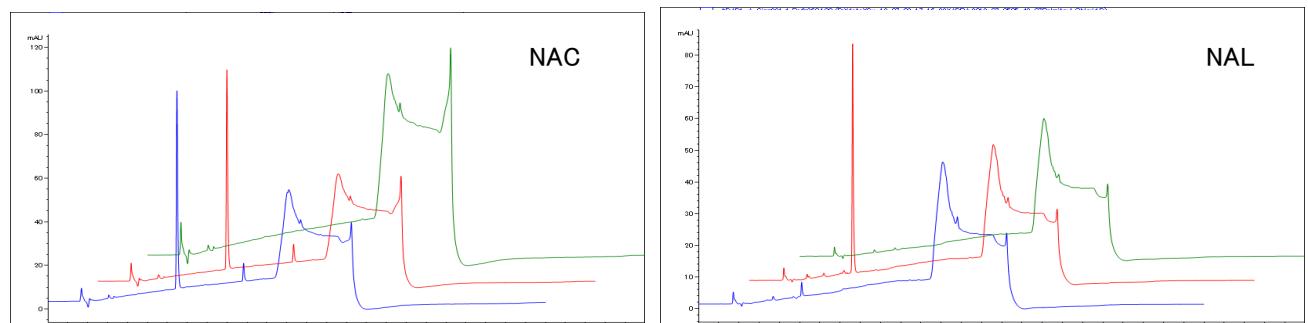


緑:薬物 赤:NACまたはNAL 青:薬物+NACまたはNAL

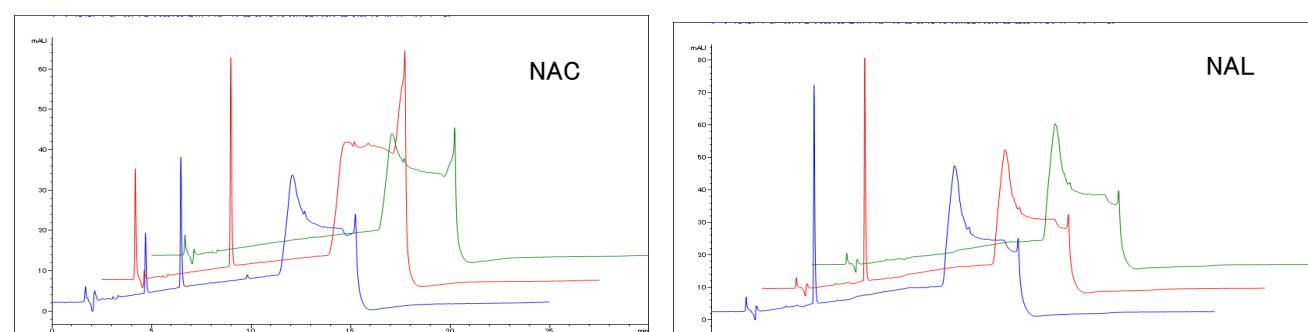
3. シンナムアルデヒド



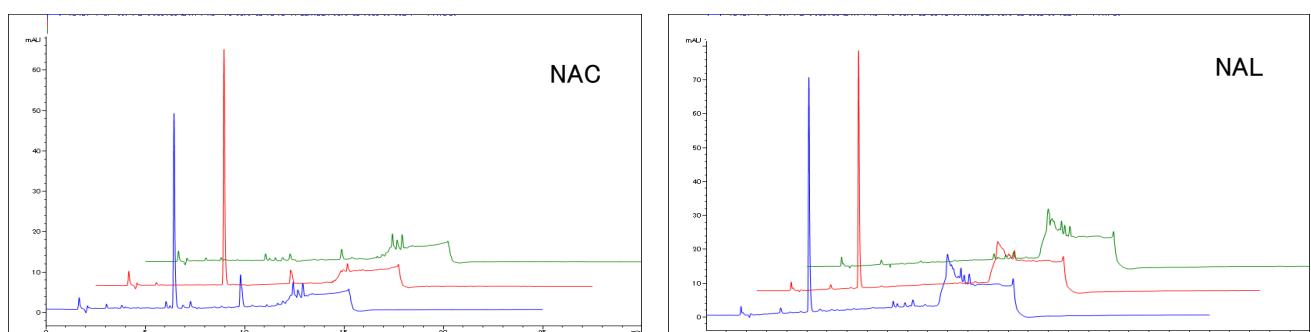
4. 塩化パルミトイール



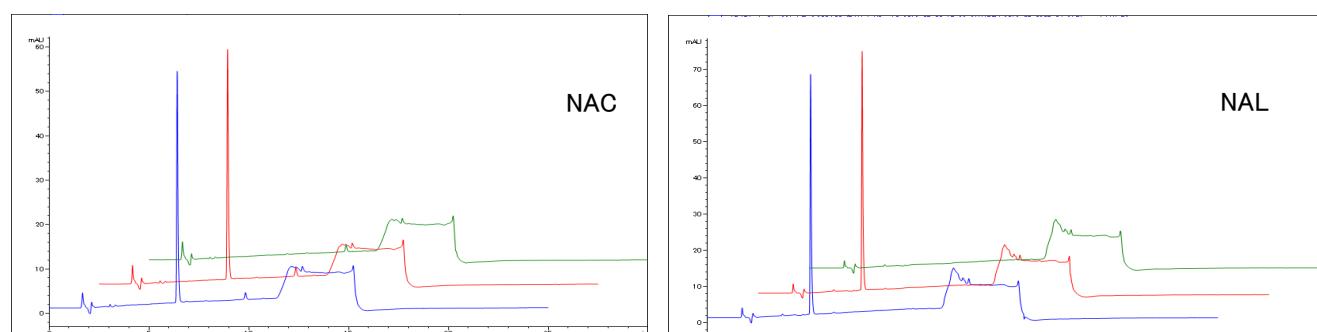
5. イミダゾリジニル尿素



6. ファルネサール

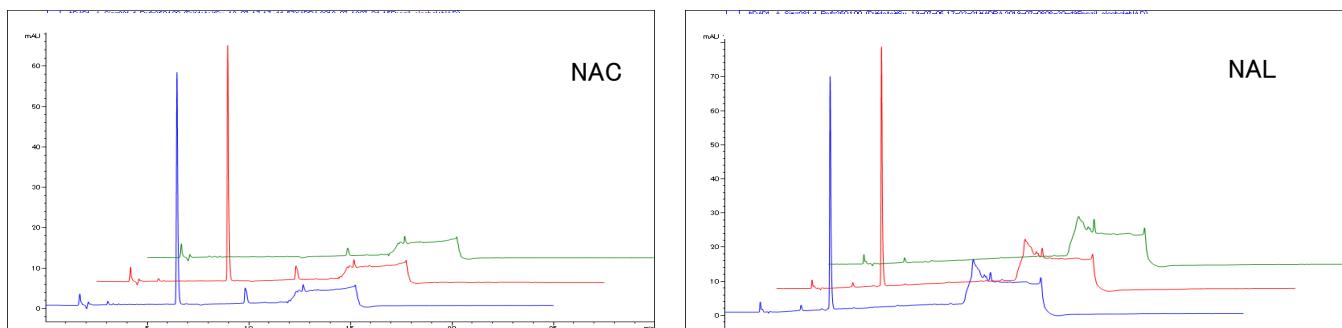


7. グリセリン

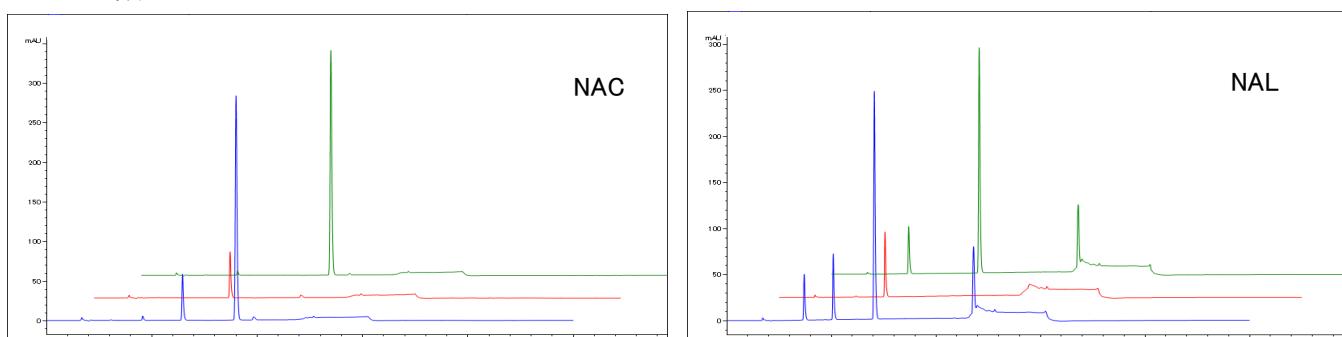


緑:薬物 赤:NACまたはNAL 青:薬物+NACまたはNAL

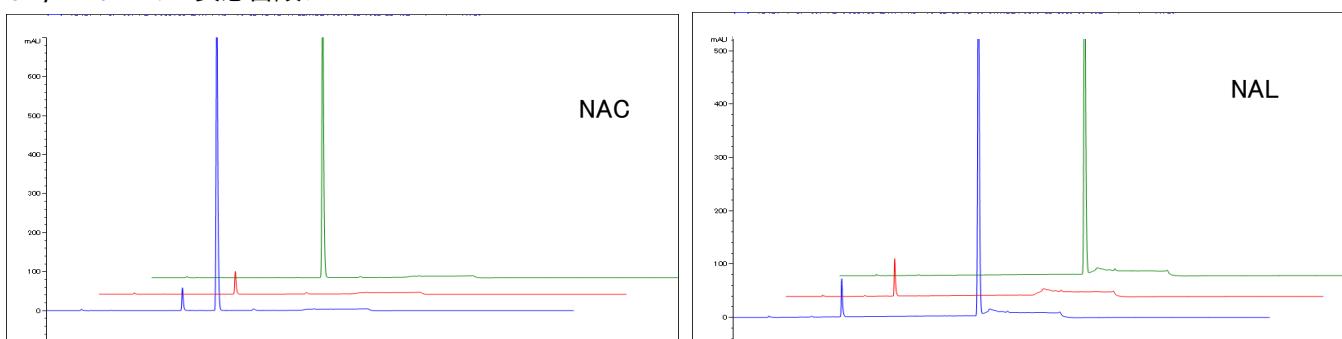
8. ベンジルアルコール



9. イソフタル酸ジメチル



10. p-ヒドロキシ安息香酸プロピル



緑:薬物 赤:NACまたはNAL 青:薬物+NACまたはNAL

分析条件

機器	Agilent UHPLC 1290 infinity II (Agilent社)
カラム	Wakopak® Core C18 ADRA 3.0×150 mm (D)
移動相 A	0.1 % トリフルオロオル酸-水溶液
移動相 B	0.1 % トリフルオロオル酸-アセトニトリル溶液
NAC グラジェント条件	0min.(A:B=70:30)→9.5min.(45:55)→10.0min(0:100) →13.0min.(0:100)→13.5min.(70:30)→25.0min.(70:30)
NAL グラジェント条件	0min.(A:B=80:20)→9.5min.(55:45)→10.0min(0:100) →13.0min.(0:100)→13.5min.(80:20)→25.0min.(80:20)
流量	0.3 mL/min
ミキサー容量	35 μL
カラム温度	40 °C
検出波長	UV 281 nm
注入量	10 μL

コードNo.	品名	容量	希望納入価格(円)
233-63991	Wakopak® Core C18 ADRA Φ3.0mm*150mm	1 本	118,600

フランスで形成外科や美容整形手術の際に切除された残余ヒト新鮮皮膚組織をGenoskin社で開発したマトリクスにセットし、インサートを用いて各プレートに収めてReady-to-Useの検体としております。専用の培地も合わせて提供いたします。皮膚透過、代謝、培養、薬物動態の研究などにお使いいただけます。

Genoskin社は、2011年にフランス国立科学研究中心（CNRS）と Paul Sabatier 大学のスピノフとして設立されたメーカーです。

ヒト新鮮皮膚 NativeSkin (NativeSkin access)

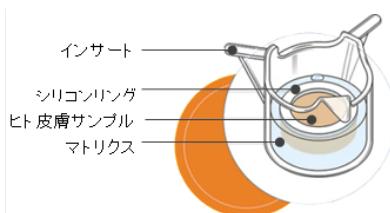
ヒト新鮮皮膚 NativeSkin (NativeSkin access)は、インサートに包埋済み=Ready-to-Useのヒト新鮮皮膚組織です。

脂肪組織を除いた全層を含んでいます。角質層を持ち、生体皮膚と同様の皮膚バリア機能・酵素活性を保持しており、皮膚表面への塗布、あるいは培地への添加による被検物質の試験を行なうことが可能です。



特長

- Ready to Use
- 皮膚の厚さ 3-4 mm
- ストレッチマーク、傷なし
- インフォームドコンセント取得
- 非凍結の新鮮皮膚組織
- 主な部位：腹部、太腿部
- HIV, HBV, HCV陰性ドナーのみ提供
- 性別、年代などの指定が可能



円形に加工された皮膚とマトリクスがシリコングリーンで固定されています。
インサートとウェルの間に培地を添加してから試験にお使い下さい。

製品のアプリケーションデータ等、詳細情報は当社WEBページでご覧ください。

トップ > 受託サービス > 生体試料 > 生体試料について > Genoskin社のヒト新鮮皮膚解析キット
ページ番号:W027669
https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/custom_service/products/95181.html

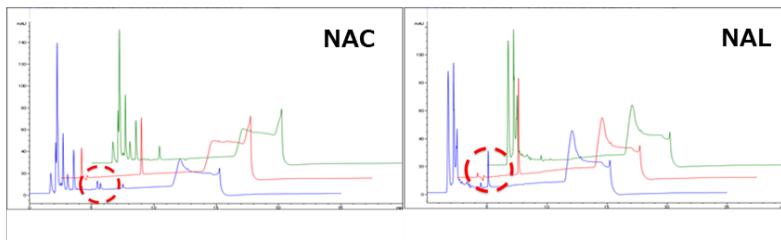
※本製品は研究用途以外には使用できません。ヒト、動物への医療、臨床診断などにはご使用できませんのでご注意ください。
※HIV,HBV,HCV陰性であることを確認しておりますが、感染の危険性があるものとして十分注意して取扱って下さい。
※NativeSkinは室温輸送品です。

ADRAによる皮膚感作性評価 受託試験

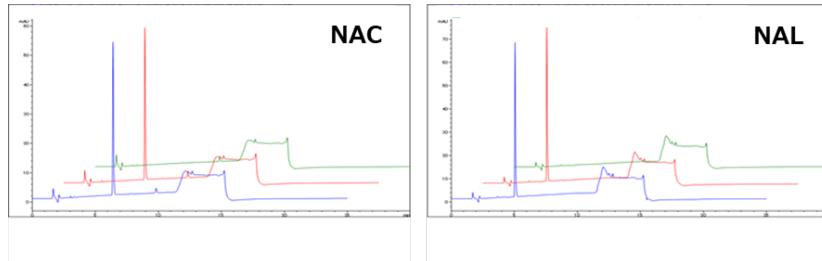
当社ではADRAによる皮膚感作性評価試験の実施を承っております。

解析例

■p-ベンゾキノン（陽性例）



■グリセロール（陰性例）



緑:被検物質 赤:NAC または NAL 青:被験物質+NAC または NAL

p-ベンゾキノンについては、NAC・NAL共にピーク面積の減少が確認出来ているため、皮膚感作性陽性と判断。グリセロールについてはNAC・NAL共にピーク面積の減少が見られないため、皮膚感作性陰性と判断。

価格・納期

【価格】

UV検出のみ(単一化合物を測定するお客様向け):1~8検体まで850,000円(税抜)

UV+蛍光検出の場合(混合物(エキスなど)の測定をするお客様向け): 1~8検体まで1,250,000円(税抜)

※8検体以上の場合にはご相談ください。

溶解性確認試験、再現性確認試験には別途費用が発生します。価格はお問い合わせください。

【納期】サンプル受領後2ヶ月程度

※サンプル量や試験の混み具合で納期をご相談させていただく場合があります。予めご了承ください。

固体材料からの抽出作業もお受けいたします。お問合せは jutaku2@fujifilm.com まで！！

・希望納入価格は2024年11月時点の価格です。希望納入価格は予告なく変更する場合があります。最新の価格は当社HPにてご確認ください。

Ref^o …2~10°C保存 F^o …-20°C保存 B^o …-80°C保存 H^o …-150°C保存 表示が無い場合は室温保存です。
特定毒物 特-I 特-II …毒物 劇-I 劇-II 劇-III …劇物 毒-II …毒薬 劇-II …劇薬 危 …危険物 向精神薬 特麻原 …特定麻薬向精神薬原料 カルタヘナ法
番-1 …化審法 第一種特定化学物質 番-2 …化審法 第二種特定化学物質 化兵1 …化学兵器禁止法 第一種指定物質 化兵2 …化学兵器禁止法 第二種指定物質
覚せい剤取締法…「覚せい剤原料研究者又は取扱者」の免許を取得して、ご購入に際しては、譲受証及び譲渡証による受け渡しが必要となります。覚
国民保護法・生物・毒素兵器の製造、使用防止のため、「毒素等」を試験研究用に使用することを確認する証を頂戴しております。毒素等
上記以外の法律及び最新情報は弊社試薬サイト (<https://labchem-wako.fujifilm.com>)をご参照下さい。

- 本文に収載しております試薬は、試験・研究の目的にのみ使用されるもので、「医療品」、「食品」、「生活用品」などとして使用できません。
- 希望納入価格には消費税等が含まれておりません。

富士フィルム 和光純薬株式会社

本 社 〒540-8605 大阪市中央区道修町三丁目 1 番 2 号
東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目 4 番 1 号

● 北海道営業所 ● 東北営業所 ● 筑波営業所 ● 横浜営業所
● 東海営業所 ● 中国営業所 ● 九州営業所

試薬URL : <https://labchem-wako.fujifilm.com>

■ FUJIFILM Irvine Scientific

1830 E. Warner, Avenue, Santa Ana, CA 92705-5505, U.S.A.
TEL:+1-949-261-7800 FAX:+1-949-261-6522

■ 富士胶片和光(广州)贸易有限公司

广州市越秀区先烈中路69号东山广场30楼3002-3003室
TEL:+86-20-8732-6381 (广州)
TEL:+86-21-6288-4751 (上海)
TEL:+86-10-6413-6388 (北京)

■ FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH

Fuggerstr 12, 41468 Neuss, Germany
TEL:+49-2131-311-0 FAX:+49-2131-311-100

■ 富士膠片和光(香港)有限公司

Room 1111, 11/F, International Trade Centre,
11-19 Sha Tsui Road, Tsuen Wan, N.T., Hong Kong
TEL:+852-2799-9019 FAX:+852-2799-9808