

ペプチド固定化ビーズと色素を用いた迅速な皮膚感作性評価法の開発

(甲南大 FIRST¹・山口東京理大薬²) 西山 舞¹・〇栢森 史浩¹・有海 秀人²・濱田 芳男¹・臼井 健二¹

Development of Rapid Skin Sensitization Assessment Using Peptide-Immobilized Beads and Chromophores (¹*Faculty of Frontiers of Innovative Research in Science and Technology, Konan university*, ²*Faculty of Pharmaceutical Sciences, Sanyo-Onoda City University*)
Mai Nishiyama,¹ 〇Fumihiko Kayamori,¹ Hideto Ariumi,² Yoshio Hamada,¹ Kenji Usui¹

The direct peptide reactivity assay (DPRA) is an effective method using peptides in vitro skin sensitization test. However, HPLC in the DPRA protocol is time-consuming and the handling is difficult in comparison with other general analyses. We have developed a novel skin sensitization assay system (chromophore solid phase peptide reaction assay (C-SPRA)) to solve these problems. In this study, in order to develop a method of rapid sensitization assessment, we improved the C-SPRA system by changing a type of beads and simplifying the operations in the measurement preparation stage.

Keywords : *Peptide-immobilized beads; Chromophore; Skin sensitization; Direct peptide reactivity assay; Alternatives to animal testing*

皮膚感作性試験における動物実験代替法である Direct Peptide Reactivity Assay (DPRA) 法は、被験物質とペプチドとの反応を利用した試験法である¹⁾。DPRA 法は in vitro において有効な皮膚感作性の評価法であるが、難水溶性物質の評価が困難であることや操作が煩雑であることなど多くの問題を抱えていた。これらの問題点を解決するため、我々は以前よりペプチド固定化ビーズと色素を使用した皮膚感作性試験法として Chromophore solid phase peptide reaction assay (C-SPRA) 法を開発してきた^{2,3)}。ペプチド固定化ビーズは幅広い溶媒中で膨潤するため、適切な溶媒を選択することにより、難水溶性物質の感作性を評価することが可能である。また色素を用いることで、紫外可視吸収測定によって感作性を評価でき、試験操作が簡便である。しかし、これまで開発してきた C-SPRA 法は DPRA 法と同様に反応に 24 時間を要していたため、試験時間の短縮が望まれていた。そこで我々は C-SPRA 法を改良し、約 2 時間の試験時間で迅速に感作性を評価できる試験法を開発することとした。本発表では、C-SPRA 法の改良に向けたビーズの選定を中心に研究成果を報告する。ビーズとして PEGA レジンを使用すると、ペプチドと被験物質との反応を短時間で行うことができ、試験の再現性についても向上することが分かった。また試験準備段階における操作を簡便化でき、操作性の優れた試験が実施可能となった。

1) Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). Guidelines for Testing of Chemicals No. 442C. In *Chemico Skin Sensitisation: Direct Peptide Reactivity Assay*, Paris, France, 2015.; 2) H. Miyazaki et al. *Analyst*, **2020**, 145, 3211.; 3) H. Miyazaki et al. *Processes*, **2020**, 8, 1257.