

# OECD Test Guideline 442C 収載 ADRA キット

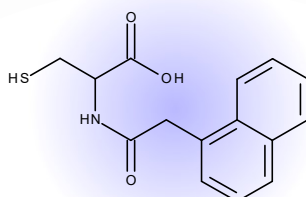
ADRA(Amino acid Derivative Reactivity Assay)はNAC(*N*-(2-(1-naphthyl)acetyl)-L-cysteine)とNAL( $\alpha$ -*N*-(2-(1-naphthyl)acetyl)-L-lysine)を用いた、化学物質の皮膚感作性評価試験の動物実験代替試験法です。OECD(経済協力開発機構)が定義する、皮膚感作性の有害性発現経路の4つのKey event(KE)のうち、感作性物質とタンパク質が結合し、複合体を形成する過程(KE1)での反応性の評価に使用できます。

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

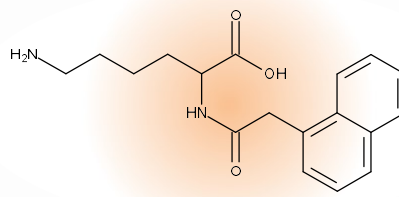
## 原理

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(KE1)。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。

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。



NAC



NAL

- ・高感度・・・281nmで定量するため、共溶出が少ない
- ・従来法(DPRA)の1/100濃度(20mM)で評価が可能・・・反応液の析出が少ない
- ・結果のばらつきが小さい・・・反応停止後にHPLC分析を実施するため、測定中の反応進行がない
- ・スループット性に優れる・・・実験操作は主に96ウェルプレートとマルチチャンネルピペッターで実施

## キット構成



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

Buffer プレミックス、NAC、NALは反応に必要な量が小分けされており、規定量の溶媒で溶解するだけで使用できます。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
296-80901	ADRAキット	皮膚感作性評価用	1キット	75,000

◆NAC、NALの単品販売を開始しました。キット内のNAC、NALと同一の製品です。

コードNo.	品名	規格	容量	希望納入価格(円)
294-83001	NAC	皮膚感作性評価用	10mL×2本	38,000
290-83101	NAL	皮膚感作性評価用	10mL×2本	38,000

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。

## ◆分析専用カラム

ADRA(OECD TG442C)に対応した、粒子径2.6μm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、各カラムにColumn Performance Reportが添付されます。

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	98,000

### 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	25mL	1,700
015-08633	アセトニトリル  	高速液体クロマトグラフ用	3L	16,900
016-00346	アセトン *	試薬特級	500mL	910
043-07216	ジメチルスルホキシド *	試薬特級	500mL	1,850

\* 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) 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℃設定が可能なもの
- ・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posable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。

Ref…2~10℃保存 F…-20℃保存 B0…-80℃保存 表示が無い場合は室温保存です。  
 特定 …特定毒物 …劇物 …劇物 …毒物 …毒薬 …劇薬 …危険物 …向精神薬 …特定麻薬向精神薬原料 …カルタヘナ  
…化審法 第一種特定化学物質 …化審法 第二種特定化学物質 …化学兵器禁止法 第一種指定物質 …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。  
 国民保護法…生物・毒薬兵器の製造・使用防止のため、「毒薬等」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。  
 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。

## 富士フイルム 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 TEL 06-6203-3741 (代表)  
 東京本店 〒103-0023 東京都中央区日本橋本町二丁目4番1号 TEL 03-3270-8571 (代表)

- 九州営業所 ● 中国営業所
  - 東海営業所 ● 横浜営業所
  - 筑波営業所 ● 東北営業所
  - 北海道営業所
- フリーダイヤル 0120-052-099  
 試薬URL: <https://labchem-wako.fujifilm.com>

■ FUJIFILM Wako Chemicals U.S.A. Corporation 1600 Bellwood Road, Richmond, VA 23237, USA TEL:+1-804-714-1920 FAX:+1-804-271-7791  
 ■ FUJIFILM Wako Chemicals Europe GmbH Fuggerstr 12, 41468 Neuss, Germany TEL:+49-2131-311-0 FAX:+49-2131-311-100