

ペプチド結合性試験(DPRA) Direct Peptide Reactivity Assay

DPRAは、*in chemico* で行う皮膚感作性試験代替法の一つで、被験物質のペプチドへの反応性を基に皮膚感作性を評価します。2種類のペプチドと被験物質を混合～反応させた後、残存ペプチド量をHPLCにより測定します。このときのペプチドの減少率から被験物質の皮膚感作性を評価します。

Key words : ペプチド結合性試験(DPRA) 皮膚感作性試験 動物実験代替法
Column : USP category: L1

[Analytical conditions]

Column : L-column2 ODS (C18, 3 μm, 12 nm), 2.1 mm I.D. × 100 mm L.; Cat. No. 711170
Eluent : A: 0.1% Trifluoroacetic acid in CH₃CN, B: 0.085% Trifluoroacetic acid in H₂O
A/B, 10/90-30/70 (0-25 min)
Flow rate : 0.3 mL/min
Temperature : 30°C
Detection : UV 220 nm
Injection volume : 3 μL
System : Prominence (Shimadzu Co.)

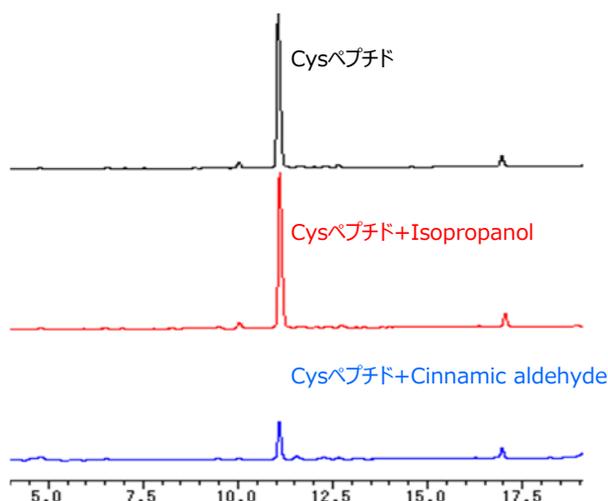


Fig.1 Cysペプチドを用いた反応結果

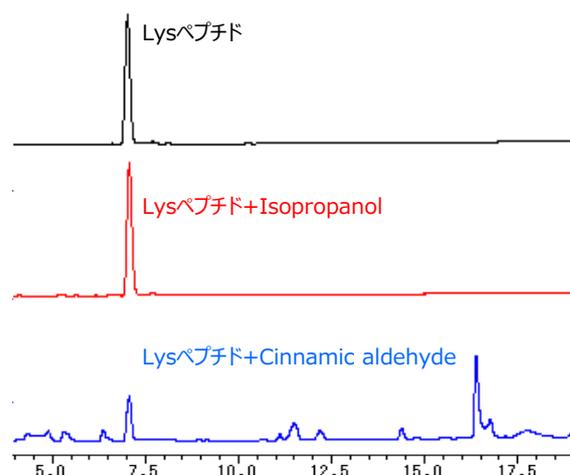


Fig.2 Lysペプチドを用いた反応結果

- 試験材料: 合成Cysペプチド: Ac-RFAACAA-COOH (スクラム社), 合成Lysペプチド: Ac-RFAAKAA-COOH (スクラム社)
- 被験物質: Isopropanol (皮膚感作性陰性), Cinnamic aldehyde (皮膚感作性陽性)
- 反応条件: Cysペプチド:被験物質(1:10)、Lys ペプチド:被験物質(1:50)の割合で混和し、室温、24時間反応
- 評価: ペプチド減少率 = (1-被験物質と反応させたペプチドのピーク面積/コントロールのペプチドのピーク面積) × 100

Cysペプチドの減少率とLysペプチドの減少率の平均を感作性判定に使用

皮膚感作性陰性であるIsopropanolを反応させた場合、両ペプチドのピーク面積は変化しませんでした。皮膚感作性陽性であるCinnamic aldehydeを反応させた場合、両ペプチドのピーク面積は減少し、その減少率は文献*とほぼ等しい結果でした。DPRAにおいても、L-column2 ODSを使用すると再現性の良い結果が得られます。

* G. Frank Gerberick, Jeffrey D. Vassallo, Leslie M. Foertsch, Brad B. Price, Joel G. Chaney, and Jean-Pierre Lepoittevin. (2007). Quantification of Chemical Peptide Reactivity for Screening Contact Allergens: A Classification Tree Model Approach. TOXICOLOGICAL SCIENCES 97(2), 417-427 .