

ベックマン・コールターが提供する h-CLATの最適解 = **CytoFLEX & Kaluza**



Introduction

h-CLAT (Human Cell Line Activation Test) : 動物生体を用いず、培養細胞系にて皮膚感作性を評価するh-CLAT試験方法はヒト単球系培養細胞においてバリデーションされ、2016年7月にOECDの試験法ガイドラインリストに追加されました。日本国内ではJaCVAM皮膚感作性試験資料編纂委員会によりその科学的妥当性が評価された試験法です。h-CLATは、多くの皮膚感作性物質が樹状細胞を活性化することを利用し、ヒト単球系培養細胞であるTHP-1細胞を用い、活性化に伴い細胞表面上の発現量に変化するCD86とCD54を測定することにより皮膚感作性の有無を判定する試験法です。(出典:「皮膚感作性試験評価報告書」平成 28年 12月 20日 JaCVAM 皮膚感作性試験資料編纂委員会)

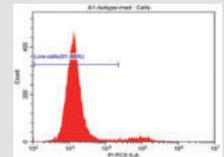
Workflow

試験成立の条件を満たしているかを、手順1～3によって確認します。試験成立のためには、用量設定試験とCD86/CD54発現測定との2つがガイドラインの条件を満たしている必要があります。

手順 1

使用するTHP-1細胞の基礎培地対照および媒体対照の細胞生存率が、**90%以上**であることを確認

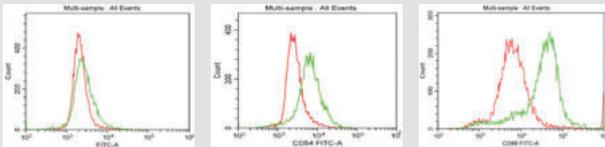
— 生細胞の領域



培地群のヒストグラム
生細胞が**90%以上**であることを確認

手順 2

媒体対照におけるCD86およびCD54の両方の相対蛍光強度値が陽性基準値を超えない (CD86では**150%**、CD54で**200%**)
陽性対照 (DNCB) において、細胞生存率が**50%以上**を示し、CD86およびCD54の相対蛍光強度がいずれも陽性判定基準となることを確認



Isotype control抗体

CD54抗体

CD86抗体

$RFI (\%) = \frac{\text{被験物質処理MFI} - \text{被験物質処理Isotype control MFI}}{\text{被験物質未処理MFI} - \text{被験物質未処理Isotype control MFI}} \times 100$

注) MFI : (Geometric) Mean Fluorescence Intensity
陽性判定基準 CD86 RFI > 150% CD54 RFI > 200%

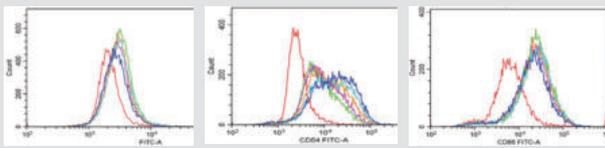
— 溶媒のみ
— 陽性対象 (DNCB)

Kaluza解析ソフトウェア

KaluzaでMFIを算出し、ガイドラインに記載された計算式でRFIを計算し、陽性基準値を満たすことを確認

手順 3

被験物質において、それぞれの測定で試験された少なくとも**4濃度**において、細胞生存率が**50%を超える**条件であることを確認



Isotype control抗体

CD54抗体

CD86抗体

- 溶媒および被験物質のヒストグラム
- KaluzaでMFIを算出し、ガイドラインに記載された計算式でRFIを計算

— 溶媒のみ

— 各濃度の被験物質

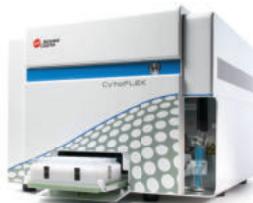
Kaluza解析ソフトウェア

※上記データはお客様ご提供データです。試験法の詳細はOECDの試験法ガイドラインや、JaCVAM皮膚感作性試験資料編纂委員会発行の資料をご参照ください。

Materials

☑ **CytoFLEX**

FSC, SSC, FITC, PIが測定できる仕様です。



☑ **Kaluza 解析ソフトウェア**

幾何学平均 (Geometric Mean) を求めるために必須のソフトウェアです。

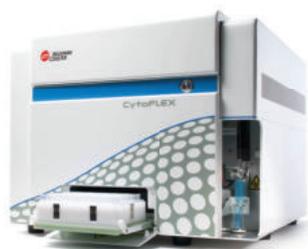


製品番号	製品名	価格(税別)
B53019	【機器本体】 CytoFLEX System B4-R0-V0 (1L4C)	¥5,900,000
C02396	【オプション】 CytoFLEX Plate loader with Mode control upgrade kit	¥1,850,000
A82959	【解析ソフトウェア】 Kaluza シングルユーザ (永久版ライセンス)	¥350,000
B92895	CytoFLEX Installation Kit	¥239,900
FREIGHT5	運送諸掛費(機器)	¥11,000

合計

¥8,350,900

ベックマン・コールターならh-CLATの全自動化もご提案できます



CytoFLEX with Plate loader

+



Biomek i5 Laboratory Automation Workstations

OR



Biomek i7 Laboratory Automation Workstations

Biomek i-Series によるフローサイトメーター解析の自動化システムの一例

複数枚のプレートの細胞染色・アッセイ・測定を自動化



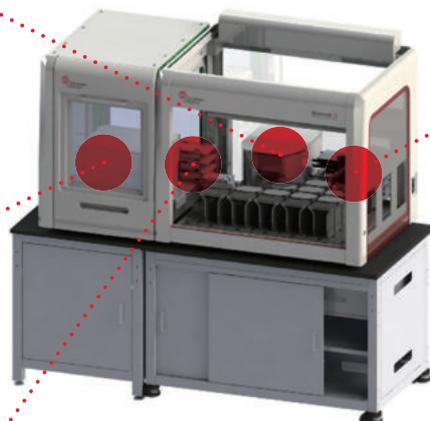
Centrifuge



Plate washer



CytoFLEX Flow Cytometer



Biomek i5



Incubator



ベックマン・コールター株式会社

本社：〒135-0063 東京都江東区有明3-5-7 TOC有明ウエストタワー

お客様専用 ☎ 0120-566-730 ☎ 03-6745-4704 FAX 03-5530-2460
e-mail bckkcas@beckman.com URL <http://www.beckmancoulter.co.jp>