

Studien har tagits fram med stöd från Jordbruksverket/Djurskyddsmyndigheten

## **Utveckling av ett in vitro test för sensibilisering baserat på humana dendritiska celler och epitelceller**

**Malin Lindstedt, Lunds universitet**

Vi har med stöd från Jordbruksverket arbetat med utveckling av ett test för identifiering av allergena substanser, med syfte att ersätta användning av djurförsök för detta ändamål. Under 2013 införs förbud av test av kosmetika på djur inom EU (The Cosmetics Directive (76/768/EEC), 7<sup>th</sup> amendment) och idag finns inga validerade in vitro test för sensibilisering att tillgå. Projektets målsättning är att identifiera de cellulära mekanismer och biomarkörer som är involverade när vårt immunförsvar, med fokus på dendritiska celler (DC) och epitelceller, reagerar mot allergena ämnen, för att kunna använda dessa i ett in vitro test för att särskilja allergiframkallande ämnen från ofarliga substanser.

Under 2009 har vi fokuserat på stimulering av DC med kemikalier, för att m.h.a. transcriptomics och CD arrayer kunna identifiera en signatur av biomarkörer som kan användas för att särskilja allergener, s.k. sensitizers, från kontrollkemikalier. Vi har använt oss av MUTZ-3 som in vitro-modell, en human cell linje som efterliknar DC, och stimulerat dessa med en panel med allergena kemikalier och en panel med kontroller (vehicle och irriteranter). Från dessa cellprov har vi analyserat kemikalie-inducerad gentranskription och lyckats identifiera en signatur på drygt 100 gener som tillsammans kan särskilja sensitizers från andra kemikalier. Vi har även använt antikropps-baserade CD arrayer från Medsaic Pty Ltd ([www.medsaic.com](http://www.medsaic.com)) för att analysera förändringar i proteinuttryck av membranbundna CD antigen. Resultaten från dessa arrayer stöder de resultat vi sett i transkriptionsanalysen, d.v.s. att MUTZ-3 har förmåga att skilja på allergener och negativa kontroller. Förutom att visa potential för att kunna användas som ett test-system i sig, har dessa proteinarrayer hjälpt oss identifiera CD markörer på cellens yta vars uttryck regleras då cellen exponerats för ett allergen. Experimenten har resulterat i 20 markörer som tidigare aldrig undersökts i detta syfte.

Metoderna fungerade så tillfredsställande att vi under 2010 kommer att blindtesta vår gen- och proteinsignatur med 20 nya kemikalier (allergener och kontroller) som skickas från European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM), för att utvärdera testens funktionalitet och prediktivitet. Ifall vi då uppnår 85% träffsäkerhet i vår identifikation, eller bättre, kommer vi att gå vidare med utvecklingen av en testassay.