

表面プラズモン共鳴 (SPR) を用いた ヒトエストロゲン受容体のリガンド結合アッセイ法

石山 耕太¹、井口 泰泉^{2,3}、仁科 行雄^{1,3}

¹横浜市大大学院・総理、²岡崎 NRI・統合バイオ、³CREST・JST

我々は SPR を用いてヒトエストロゲン受容体 (hER) のリガンド結合アッセイを迅速に簡便に行う方法を開発しています。従来の hER リガンド結合アッセイ法として、³H]エストラジオールを用いた受容体結合アッセイや酵母レポーター遺伝子アッセイなどが用いられてきました。しかし、一般に流通する数万種の化学物質について hER 結合能を調べるためにはより迅速で簡便なアッセイ法が望まれています。そこで本研究では、SPR を応用した BIACORE[®]を用いて hER と化学物質との相互作用を検出する系を検討しました。BIACORE[®]は放射性標識を必要とせず、迅速・簡便に物質間相互作用を検出することができるという点で優れています。まず、検出部のセンサーチップ上に hER あるいはそのリガンド結合部位 (LBD) を固定化し、そこに各種化学物質を送液し、相互作用を検出しました。受容体との結合の有無、結合・解離速度定数 (Ka, Kd) を比較することでその化学物質と hER との結合親和性を検討しました。

Human estrogen receptor-ligand binding assay using surface plasmon resonance

Kouta Ishiyama¹, Taisen Iguchi^{2,3}, Yukio Nishina^{1,3}

¹Graduate Sch. of Integrated sci. Yokohama City Univ.,

²Okazaki NRI Center for Integ. Biosci., ³CREST・JST

We developed a speedy and simple human estrogen receptor (hER)-ligand binding assay using surface plasmon resonance (SPR). Up to now, receptor binding assay using radio labeled estradiol or yeast reporter gene assay have been used as a hER-ligand binding assay. However, we want to have more speedy and simple one for examining tens of thousands of compounds which are traded in the world. So we used BIACORE[®] which applied SPR to detect the interaction between hER and the ligand. It is not necessary to label with radio isotope and it made us possible to detect the interaction between two objects in a short time. First we fixed hER or the ligand binding domain (LBD) on a sensor chip and then flew some compounds with buffer. We investigated the binding affinity of those compounds by examining if it binds and comparing the kinetics (Ka, Kd).