

酵母 Two-Hybrid 法を用いた化学物質及び代謝物の 甲状腺ホルモン様作用の評価

北川陽子、高取聡、織田肇、西川淳一¹⁾、西原力¹⁾、中澤裕之²⁾、堀伸二郎
大阪府立公衆衛生研究所、¹⁾大阪大学大学院薬学研究科、²⁾星薬科大学

【目的】甲状腺ホルモン受容体を導入した酵母を用いた Two-Hybrid 法により、フタル酸エステル、アジピン酸エステル及びスチレンダイマー等の化学物質及びそれらの代謝物について甲状腺ホルモン様作用を評価した。

【方法】甲状腺ホルモン受容体の発現遺伝子、転写共役因子の発現遺伝子及びレポーター遺伝子として β -ガラクトシダーゼを組み込んだ酵母に化学物質を、30 °C で 24 時間作用させた。このとき酵母内に産生した β -ガラクトシダーゼ活性を測定し、甲状腺ホルモン様作用の指標とした。また、化学物質を S-9mix 中で 37°C、4 時間インキュベーションを行い、代謝物を生成させた。次に代謝物を含む S-9 処理溶液を 2 倍濃度の SD 培地中に懸濁しておいた酵母と容量比 1 : 1 で混和し、30°C、24 時間作用させた。このとき酵母内に産生した β -ガラクトシダーゼ活性を測定し、代謝物の甲状腺ホルモン様作用の指標とした。

【結果】約 120 種類の化学物質の甲状腺ホルモン様作用について評価した。3,5,3'-トリヨードチロニン を 1.0×10^{-6} M 作用させた際にもっとも高い β -ガラクトシダーゼ活性が認められた。*o*-イソプロピルフェノール、*o*-*tert*-ブチルフェノールに甲状腺ホルモン様作用が認められた。約 60 種類の化学物質の代謝物の甲状腺ホルモン様作用についても評価した。対象とした化学物質の代謝物には甲状腺ホルモン様作用は認められなかった。

Detection of Thyromimetic Activities of Chemicals and Metabolites Using a Yeast Two-Hybrid Assay

Yoko Kitagawa, Satoshi Thkatori, Hajime Oda, Jun-ichi Nishikawa¹⁾, Tsutomu Nishihara¹⁾, Hiroyuki Nakazawa²⁾ and Shinjiro Hori
Osaka Prefectural Institute of Public Health, ¹⁾ Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, ²⁾ Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hoshi University, Japan.

The thyromimetic activities of chemicals were examined with a yeast two-hybrid assay. In this study, we used a yeast two-hybrid assay with thyroid hormone receptor (TR α) and the coactivator (TIF 2). For detecting thyromimetic activities of chemicals, the yeast transformants, expressing GAL4DBD-TRLBD and GAL4AD-TIF2, were incubated with chemicals at 30 °C for 24 h. Subsequently, the β -galactosidase (a reporter gene product of the assay system) activities in the yeast transformants were measured. *o*-Isopropylphenol and *o*-*tert*-butylphenol exhibited thyromimetic activities. The thyromimetic activities of metabolites were also examined with the assay system. Chemicals were incubated in an S-9 mix at 37°C for 4 h prior to their incubation with the yeast transformants. Afterwards, the S-9 mix containing metabolites was mixed at a 1 : 1 volume ratio with the yeast transformants suspended in 2 x SD medium and the mixture was incubated at 30 °C for 24 h. There were no metabolites exhibited thyromimetic activities. GAL4MDBD, GAL4 DNA binding domain; GAL4AD, GAL4 activation domain; TRLBD, thyroid hormone receptor α ligand binding domain.