

コンホメーションセンシング法によるエストロゲン受容体結合の評価

下東康幸¹・浅井大輔¹・中井 誠²・矢可部芳州²・高月峰夫²・野瀬 健¹・坂口和靖¹・毛利資郎³・小泉 修⁴

¹九州大学・院理・化学、²化学物質評価研究機構・評価研、

³九州大学・院医・実験動物学、⁴福岡女子大学・人間環境科学

環境化学物質を迅速にスクリーニングする方法が強く求められている。我々はエストロゲン受容体のコンホメーション変化を感知 (センシング) する抗体を開発し、これを用いたアッセイ法の開発に取り組んでいる。本研究では様々なアゴニストまたはアンタゴニストについて、女性ホルモン受容体に対するセンシング抗体の応答について詳細に検討した。その結果、天然の女性ホルモンの 17 β -エストラジオール(E2)の受容体結合を、コンホメーション変化量に応じた応答として検出できることがわかった。また、同じ天然の女性ホルモンのエストリオール (E3) や合成女性ホルモンについても同様の結果が得られた。しかし、エストロン (E1) は全く異なり、感応する抗体成分は少ないことが判明した。さらに、アンタゴニスト 4-ヒドロキシタモキシフェンについては、E1、E2、E3、そして合成女性ホルモンいずれの場合とも異なる抗体応答を示した。

Estrogen receptor binding assay by the receptor conformation-sensing method

Yasuyuki Shimohigashi¹, Daisuke Asai¹, Makoto Nakai², Yoshikuni Yakabe², Mineo Takatsuki², Takeru Nose¹, Kazuyasu Sakaguchi¹, Shirou Mohri³, and Osamu Koizumi⁴

¹Department of Chemistry, Faculty and Graduate School of Sciences, Kyushu University, Japan,

²Chemicals Evaluation and Research Institute, Kurume, Japan, ³ Department of Laboratory Animal Science, Faculty of Medical Sciences, Kyushu University, Fukuoka, Japan, and ⁴ Faculty of Human Environ. Science, Fukuoka Women's University, Fukuoka, Japan

Endocrine disruptors bind to the nuclear receptor, and this receptor binding induces a critical conformation change for further binding of the complex to the coactivator. The conformation change of nuclear receptor is due mainly to the change in positioning of the C-terminal α -helix in the receptor molecule. Recently, in order to evaluate such conformation change of estrogen receptor, we produced the anti-rabbit polyclonal antibodies, which recognize the epitope α -helix in either ligand-bound or ligand-free conformation. In the present study, we evaluated in detail the binding abilities of the antibodies with and without various natural and synthetic estrogens. It was found that the conformation change induced by 17 β -estradiol (E2) was quantitated by increasing the concentration of E2. Estrone (E1) exhibited a very small sensing of conformation change, suggesting that E1 elicited a different type change in receptor conformation. A similar was found for antagonist 4-hydroxytamoxifen. It appeared that the conformation-sensing antibody is good enough to estimate the protein content of ligand-free and ligand-bound estrogen receptors.