

コイエストロゲン受容体 α cDNAの単離とアルキルフェノールのコイエストロゲン受容体 α 及び β に対する結合性

○中井 誠¹、村上秀和¹、浅井大輔²、矢可部芳州¹、高月峰夫¹、下東康幸²

¹(財)化学物質評価研究機構・安全性評価技術研究所、²九大院・理・分子科学

環境中に放出された化学物質による野生生物の内分泌系への影響が懸念されており、その評価手法の開発は重要な問題であるが、化学物質の内分泌攪乱作用メカニズムを解明するためには一次構造の異なる各種ホルモンレセプターに対する化学物質の結合性を測定し、さらに、種差の検討を行う必要がある。そこで、本研究では、化学物質のコイエストロゲンレセプターへの結合性を検討した。

これまでに報告されている魚類 ER α 及び β の塩基配列を比較し、 α サブタイプに特異的な部分配列を探索した。この塩基配列をもとにプライマーを設計し、PCR によりコイ肝臓由来 cDNA からコイ ER α の内部部分配列を増幅した。この部分配列をもとに 3'-及び 5'-RACE を行い、全長 cDNA を得た。リガンド結合ドメインを発現プラスミドに導入し、大腸菌を用いた発現系を確立した。さらに、発現レセプターに対するアルキルフェノールの競争結合試験を行い、すでに得られている β サブタイプへの結合性と比較した。

この研究は環境省「内分泌攪乱化学物質の生態影響に関する試験法開発」の一環として行ったものである。

Isolation of estrogen receptor α cDNA from carp (*Cyprinus carpio*) hepatopancreas and binding potencies of alkylphenols to carp estrogen receptors α and β

○Makoto Nakai¹, Hidekazu Murakami¹, Daisuke Asai², Yoshikuni Yakabe¹, Mineo Takatsuki¹, and Yasuyuki Shimohigashi²

¹Chemicals Assessment Center, Chemicals Evaluation and Research Institute, ²Department of Molecular Chemistry, Graduate School of Science, Kyushu University

Recently, it has suspected that a number of chemicals in environment have adverse effects on endocrine system of wildlife. It is important to develop the testing methods for evaluating biological effects of such chemicals. To dissolve the mechanism of such an endocrine disruption, it is necessary to measure the binding potencies of chemicals to hormone receptors with different amino acid sequences, and evaluate the differences between species. In this study, binding properties of chemicals to carp estrogen receptors α and β was evaluated.

Degenerated primers specific to ER β were designed according to the comparison of nucleotide sequences of ERs α and β from other fish. A partial DNA fragment was amplified by PCR using carp hepatopancreas cDNA library as a template, and full-length carp ER α was obtained by RACE methods. Ligand binding domain of carp ER α was expressed in *E. coli*. Relative binding affinities of alkylphenols for the receptor obtained from receptor-binding assay were compared with those for carp estrogen receptor β .

We acknowledge Ministry of the Environment for their financial support of this work.