

コアクチベーターを利用した内分泌攪乱物質の高感度検出法の検討

広瀬敏治¹⁾、青森達¹⁾、西和人²⁾、水上春樹²⁾、正宗行人¹⁾

¹⁾金沢大学薬学部、²⁾株式会社エンバイオテック・ラボラトリーズ

【目的】内分泌攪乱物質、いわゆる環境ホルモンはホルモン作用を攪乱し、生殖機能を阻害したり、悪性腫瘍を引き起したりするなど生物に悪影響を及ぼす可能性が指摘されている。エストロゲンレセプター (ER) にリガンドが結合するとコアクチベーターが結合し遺伝子の転写を活性化する。このコアクチベーターと ER との結合は LXXLL というコアクチベーター内の配列による。我々は ER とこのペプチドとの結合を利用して環境ホルモンが検出できないか検討する事にした。

【方法】 N 末端をビオチンで標識した LXXLL を含むペプチドを合成し、これと ER との結合がリガンド存在下で特異的に起こるかどうかを調べた。検出方法としてビオチンに特異的に結合するストレプトアビジンで標識したホースラディツシュペルオキシダーゼの結合を利用し、TMB の発色を吸光度で測定した。

【結果・考察】 ER α 、 β ともに 17 β -estradiol を 10 nM から検出する事ができた。この感度は放射性同位元素を用いる競合試験法と同程度であった。しかし酵母を用いた *in vivo* の系では 1 nM でも検出できず、本方法では期待したほどの感度は達成できなかった。また、本方法は DES, Bisphenol, A, nonylphenol も検出することができた。エストロゲンのアンタゴニストである tamoxifen はこの検出系でエストロゲンによるレセプターとペプチドとの結合を阻害することが示唆され、この系でアンタゴニストも検出できることが示唆された。

Assay of Estrogenic Compound with Coactivator

Toshiharu Hirose¹⁾, Tohru Aomori¹⁾, Kazuto Nishi²⁾, Haruki Mizukami²⁾, Yukito Masamune¹⁾

¹⁾Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University, ²⁾EnBioTec Laboratories, CO., Ltd.

Several synthetic compound acts as endocrine disrupter. We developed new assay system based on ligand-dependent interaction between estrogen receptor and coactivator. 17 β -estradiol dose-dependently induced coactivator peptide binding to ER. The estrogenic compound such as diethylstilbestrol, nonylphenol and bisphenol A were detected by this system. This system could be applied to the detection of xenoestrogen.