

蛍光リガンドを用いたアンドロゲン受容体結合試験法の開発

○村上秀和¹、浅井大輔²、中井 誠¹、徳永隆俊²、野瀬 健²、矢可部芳州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

従来、化学物質のホルモン受容体への競争結合試験には、放射化天然ホルモンが標準リガンドとして用いられている。しかし、この方法は特別な施設が必要などの問題がある。最近、放射リガンドの代わりに蛍光リガンドを用いて蛍光偏光度を測定する方法や、遊離のリガンドを酵素免疫化学的な方法で測定する方法などの非放射リガンドを用いる方法が、エストロゲン受容体への結合試験を中心に幾つか開発されている。我々もこれまでに、蛍光標識エストロゲンを用いた受容体結合試験の開発を行ってきた。しかし、エストロゲンと同様に化学物質の内分泌攪乱作用性の評価に重要であるアンドロゲン受容体への結合試験についてはあまり報告されていない。

本研究では、ジヒドロテストステロンとフルオレセインを一連の鎖長をもつ ω -アミノ酸で架橋した蛍光標識アンドロゲンのアンドロゲン受容体結合試験への適用性を検討した。その結果、架橋アルキル鎖の6と7の化合物が、アンドロゲン受容体への競争結合試験の蛍光リガンドとして最適であることがわかった。次に、これらの化合物をリガンドとして競争結合試験を行い、放射リガンドを用いた結果と比較したところ、両者の結合強度の間に良好な直線関係が認められた。

Development of fluorometric competitive binding assay for androgen receptors

○Hidekazu Murakami¹, Daisuke Asai², Makoto Nakai¹, Takatoshi Tokunaga², Takeru Nose², Yoshikuni Yakabe¹ and Yasuyuki Shimohigashi²

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

The competitive binding assay using radiolabelled ligand is widely used as a standard method for assessing the binding affinities of chemicals to hormone receptor, but this method is restricted to the use in RI facility. Some alternative methods using nonradioactive ligand have been developed with the estrogen receptor. We reported the competitive binding assay to estrogen receptor using fluorescein-labeled estroge. However the binding assay using nonradioactive ligand has not been reported with the androgen receptor.

In this study, 5 α -dihydrotestosterone-fluorescein conjugates with alkyl linker of various methylene chains were applied to the competitive binding assay to androgen receptor. The conjugates with alkyl linker of 6 and 7 methylene chains were optimum as the ligand of the competitive binding assay. Linear relationship between the binding affinities of chemicals measured by both methods using radiolabelled ligand and fluorescent ligand.