

エストロゲンレセプターモデルとしてのシクロデキストリン誘導体の SPR 法による評価

○西川真子、竹内知子、今多秀夫*、村井省二**、服部憲治郎
東京工芸大・工、サガミ計測㈱*、神奈川県産総研**

近年、環境ホルモンによる生体内への影響が懸念されている。特に、女性ホルモン類似作用を示す化学物質が問題になっている。我々は、シクロデキストリン(CD)をエストロゲンレセプター(ER)モデルとして環境ホルモンの分析、評価、除去に応用する目的で研究を行ってきた。これまでに、固定化 ER と固定化 CD に対してエストラジオール(E2)及び環境ホルモンとの会合定数を測定した結果、CD は ER の 1/100~1/1000 と弱いながらも会合を示した。本研究は、CD 誘導体を分子設計し、ER に近づけることを目的として、各種 CD 誘導体の会合定数を求め、大きいものを探索した。

会合定数の測定は、SPR 光学バイオセンサーを用いて行った。このセンサーキュベットに E2 を固定化するため、文献に従って E2 の 17 位水酸基のトシル化、アジド化を経て、アミノ化を行い、メタノールにて再結晶を行い精製し、17 α -amino-1,3,5-estratrien-3-ol(A-E2)を得た。¹H-NMR、MS、融点測定を行い、合成確認をした。A-E2 のキュベット(アミノシラン型)への固定化は、ビス-スルホサクシニミドスベライトを用いてキュベット上のアミノシラン基からアームを伸ばし、A-E2 を 10 mM リン酸バッファ中(pH7.7)で固定化した。固定化 A-E2 に対する各種 CD 誘導体の会合は、溶液に 10 mM リン酸バッファ(pH7.9)を用いて、25.0°Cにて測定した。



今回測定した中で、置換基の大きいマルトグリコシル(G2)- γ -CD の会合定数(K)を γ -CD と比較すると 12 倍大きいことがわかった。また、 α -CD と γ -CD を比較すると α -CD の K が 1.9 倍大きく、これは、環の適合性によるものと思われる。一方、3-アミノ- β -CD の K に対してヒドロキシプロピル(Hp)- β -CD(DS=1.29)は 1/143、HP- β -CD(DS=6.10)は 1/14 となった。このことから、E2 の包接に対して置換基の大きさや置換度(DS)だけでなく、アミノ基の存在が重要であり、しかも、その位置が一級位(C6)側より二級位(C3)側にあるほうが効果的な会合を示した。HP- β -CD も DS が 11.3 に上げることにより G2- γ -CD と同程度の K が得られた。しかし、HP- β -CD の会合速度定数 k_a 、解離速度定数 k_d は G2- γ -CD に比較していずれも 41 倍であった。これは、CD 空洞本来の疎水性相互作用以外に上下に広がる多数の HP 基により形成される“やわらかい”会合場の寄与が示唆された。

Evaluation of the cyclodextrin derivatives as an estrogen receptor model by SPR assay

○Michiko NISHIKAWA, Tomoko TAKEUCHI, Hideo IMATA*, Syoji MURAI**, Kenjiro HATTORI

Tokyo Institute of Polytechnics, *Sagami Keisoku Co., **Kanagawa Industrial Research Institute

In recent years, the influences of environmental estrogens on life have been investigated. Estradiol (E2) is known to be dominant in the woman hormone and binds with estrogen receptor (ER). We applied cyclodextrins (CD) to the measurement, risk evaluation and removal of the environmental hormone as an ER model. We examined the interaction of the various cyclodextrin derivatives with the immobilized aminated estradiol (A-E2) using SPR biosensor to search the CD derivatives which shows the strong interaction with E2 as ER model.