

## アンドロゲン・男性ホルモン受容体の高親和性蛍光トレーサーの設計合成

徳永隆俊<sup>1</sup>・浅井大輔<sup>1</sup>・近藤 薫<sup>2</sup>・中井 誠<sup>2</sup>・野瀬 健<sup>1</sup>・矢可部芳州<sup>2</sup>・下東康幸<sup>1</sup><sup>1</sup>九州大学・院理・化学、<sup>2</sup>化学物質評価研究機構

ステロイドホルモンは転写因子であるホルモン受容体(核内受容体)と結合し、遺伝子の mRNA への転写を活性化させる。現在のところ、ホルモンの受容体結合について調べる場合、放射性トレーサーを用いる結合競争試験系が一般的である。蛍光リガンドをトレーサーとした方法が開発されれば簡便な解析方法を構築することが可能となる。そこで、今回、アンドロゲン・男性ホルモン受容体に対する蛍光トレーサーを得るべく、5- $\alpha$ ジヒドロテストステロンとフルオレセインを一連の $\omega$ -アミノ酸(NH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-COOH; n=1,2,3,4,5,6,7,10)で架橋した蛍光リガンドを設計合成した。

合成した蛍光アンドロゲンはゲルろ過、逆相 HPLC により精製した。逆相 HPLC の結果、それぞれの化合物でほぼ等量の 2 成分の存在が示された。保持時間の比較によりフルオレセインのペンゼン環での結合位置の異なる構造異性体の混合物であることが分かった。そこで、それぞれを精製し、受容体への結合能をトリチウムラベルしたアンドロゲンをトレーサーとしたデキストラン被膜活性炭法により評価した。その結果、架橋アルキル鎖には受容体の結合に関して最適な距離が存在することが判明した。また、今回合成した一連の蛍光アンドロゲンは受容体に対して高い結合性を示し、有用な蛍光トレーサーが合成された。

**Design and Synthesis of Fluorescent Tracer for Androgen Receptor Binding Assay**Takatoshi Tokunaga<sup>1</sup>, Daisuke Asai<sup>1</sup>, Kaoru Kondo<sup>2</sup>, Makoto Nakai<sup>2</sup>, Takeru Nose<sup>1</sup>, Yoshikuni Yakabe<sup>2</sup>, and Yasuyuki Shimohigashi<sup>1</sup><sup>1</sup>Laboratory of Structure-Function Biochemistry, Department of Chemistry, Faculty and Graduate School of Sciences, Kyushu University, Japan, and <sup>2</sup>Chemical Evaluation and Research Institute, Japan.

For a rapid screening of chemicals which may have potential to interact with the androgen receptor, the binding assay is crucially important. Although radiolabeled ligands are usually used for such binding assay, non-radiolabeled ligand must be greatly useful. In particular, fluorescent tracer would provide a very facile assay system, since it could be utilized without B/F separation. In the present study, in order to attain the fluorescent derivative of androgen, we conjugated 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone (5 $\alpha$ -DHT) with fluorescein by using  $\omega$ -amino acids (Oaa: NH<sub>2</sub>-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-COOH; n = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, and 10). Purification was conducted by gel filtration followed by RP-HPLC. In each case, two compounds corresponding to the structural isomers were obtained, and those were separated by RP-HPLC. Fluorescein- $\beta$ -Ala-DHT was found to be most active (IC<sub>50</sub> = 39.8 nM) for androgen receptor. The results showed that there is an optimum distance between fluorescein and 5 $\alpha$ -DHT in binding to the androgen receptor.