

### ダイオキシン類がAhレプター核運搬タンパク質に結合することを利用した方法

ダイオキシン類は、体内で細胞内にある「Ahレプター核運搬タンパク質(Ahレプター)」というタンパク質と特異的に結合することにより、その毒性を発現すると考えられている。(経路)

Ahレプターと結合したダイオキシン類は、更にAhレプター核運搬タンパク質というタンパク質と結合して、細胞の核内にあるDNAに作用する。作用する際、DNAのある決まった部位に作用するが、この決まった部位をXRE(またはDRE)といい、DNAの配列が決まっている。

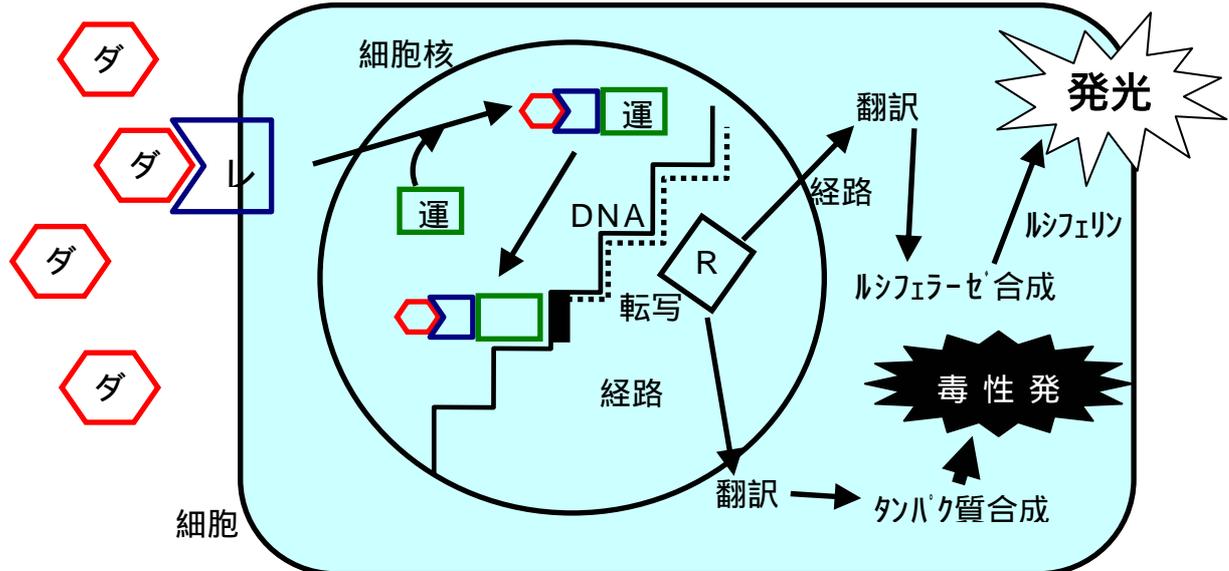
ダイオキシン類等の結合体がDNAに作用すると、XREを境としてDNAの情報がmRNAに転写され、その転写された情報がmRNAから翻訳されることにより、別のタンパク質が合成される。DNAから転写される情報によって、この最終的に合成されるタンパク質は一意的に決まる。このタンパク質合成こそがダイオキシン類の毒性発現と考えられている。

上記メカニズムを利用することにより、転写されるDNAを組み換え、mRNAが転写するDNAの情報をコントロールできる。

例えば、ルシフェラーゼという発光酵素が合成されるようDNAを組み換えた細胞(経路)に、ダイオキシン類を作用させれば、ダイオキシン類の量に応じた量のルシフェラーゼが合成される。合成されたルシフェラーゼにルシフェリンを作用させると発光が起こるが、その発光量を測定することにより、間接的にダイオキシン類の定量が可能となる。

なお、各測定方法で、上記XRE、組換え前の細胞、組換え後の細胞名、導入した遺伝子が異なるが、表にまとめたものが下表である。

方法	XRE(またはDRE)を含む部位	組換えに利用した細胞	導入した遺伝子	組換え後の細胞名
1	シトクロム P450(CYP1A1)プロモーターをもつプラスミド pGudLuc6.1	マウス肝ガン細胞 Hepa1c1c7	ホタルルシフェラーゼ遺伝子	H1L6.1c2
2	ヒトシトクロム P450(CYP1A1)プロモーターをもつプラスミド pL1A1N	ヒト肝細胞由来 HepG2	ホタルルシフェラーゼ遺伝子	101L
3	プラスミド pGL3 をホタルルシフェラーゼ遺伝子の上流域に含むプラスミド pGL3-chTATARE x 5-bsd	マウス肝由来 Hepa1 細胞	ホタルルシフェラーゼ遺伝子	HeB5



ダ: ダイオキシン類      レ: Ahレプター      運: Ahレプター核運搬タンパク質      R: mRNA  
 ■: XRE      .....: タンパク質合成の情報部位

この部位の違いで mRNA から合成されるタンパク質が変わる。

### ダイオキシン類を抗原とする抗原抗体反応を利用した方法

## 抗原抗体反応とは

抗体形成の原因となる物質で、細菌等、生体にとって異物的な高分子を抗原という。

抗原が体内に侵入すると、これに反応して体内で抗体が形成され、抗原と抗体が反応することにより、抗原の働きを中和する。この抗原と抗体とは、鍵と鍵穴のように特異的に反応するが、免疫も抗原抗体反応の現われである。

抗ダイオキシン抗体と選択的に反応する抗原を固定化したもの(例えば、表面に抗原を塗布した板状のもの 下図の固相化抗原)に、ダイオキシン類と抗体の両方を添加・反応させると、抗体は抗原よりもダイオキシン類とより結合するため、ダイオキシン類と結合できなかった抗体が抗原と結合する。つまり、ダイオキシン類が少ない程、抗原と結合する抗体は多くなる。

この抗原と結合した抗体を定量することにより、ダイオキシン類の定量が可能となる。

具体的には、抗原と結合した抗体に対し、特異的に反応する二次抗体を添加・結合させる。この二次抗体を定量することにより、間接的にダイオキシン類を定量する。

発色反応      二次抗体の定量      抗原と結合した抗体の定量      ダイオキシン類の定量

