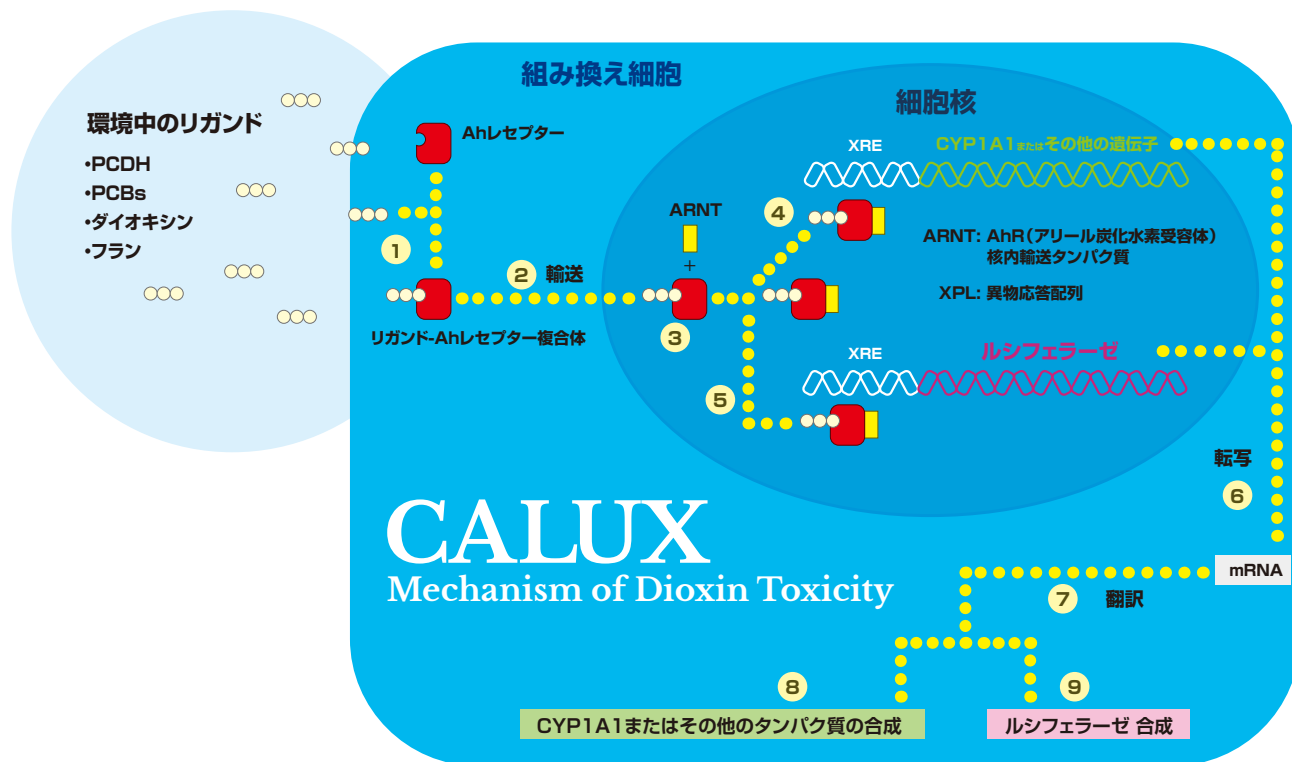


## CALUX細胞メカニズム

### ダイオキシン類の毒性発現

ダイオキシン類等のリガンドは脂溶性の性質を持っています。つまり、細胞膜を通り抜け、細胞内に入ることができます。

- 1 細胞内に侵入したリガンドが、細胞質の中にあるレセプターと結合  
リガンドが細胞内に一旦入ると、Ahレセプター (AhR) と可逆的に結合します。リガンドを鍵、AhRを錠に例えるとリガンドは、錠 (AhR) を開け活性化させる正しい鍵となります。
- 2 リガンドとレセプターの複合体を核の中に運搬するタンパク質＝ARNTがリガンド-Ahレセプター複合体にさらに結合  
リガンドがレセプターと結合してAhR複合体ができると、AhRの形が変化し、細胞の核に運搬されます。
- 3 リガンド、Ahレセプター、ARNTの三者複合体が核の中に移行  
核内では、活性化したAhRがAhR核運搬タンパク質 (ARNT) と呼ばれるタンパク質と三者複合体を形成します。AhR-ARNTは、DNAの特定の配列を認識して結合します。このDNAの配列は、XRE: Xenobiotics Responsive Elements (異物応答配列) と呼ばれます。
- 4 複合体が、XREに結合し、CYP1A1あるいは、その他のタンパク質の合成を指令  
活性化したAhR-ARNTがXREと結合すると、XRE下流のAhR-ARNTのコントロール下にある遺伝子が転写されます。
- 5 複合体がXREに結合すると、組み替えられた遺伝子からルシフェラーゼが合成される
- 6 各々の遺伝子のもつ情報がmRNAに転写される  
転写され、できたメッセンジャーRNA (mRNA) は、核外に運搬され細胞質に入ります。
- 7 mRNAの情報をもとにタンパク質が合成される＝翻訳  
細胞質の中でmRNAは翻訳されます。
- 8 ④からはCYP1A1、あるいはその他のタンパク質が合成される  
新しいタンパク質が合成されます。このタンパク質がダイオキシン類の毒性発現と考えられています。
- 9 ⑤からはルシフェラーゼが合成される。ここにより蛍光基質を加えることにより、その活性を測定することができる



元図: Xenobiotic Detection Systems inc. / 制作: 株式会社 日吉

### CALUX細胞メカニズム

一方、CALUXの細胞はホタルルシフェラーゼ遺伝子の上流域に4個のダイオキシン応答配列DREを含むCYP1A1ダイオキシン応答領域を持つプラスミドPGudLuc6.1をマウス肝ガン細胞Hepa1c1c7に導入したダイオキシン類応答性組換え細胞HIL6.1c2です。この細胞により、ホタルの光を発生させる酵素であるルシフェラーゼを作ります。この結果、CALUX Assayでは、組み換え細胞をリガンドに触れさせることにより

- ① ルシフェラーゼの合成が指令されます。
- ② ルシフェラーゼが合成され、そこへ蛍光基質を加え測定することによりルシフェラーゼの発光量から試料中のダイオキシンTEQ濃度がわかるというしくみです。