

30W-pm05S

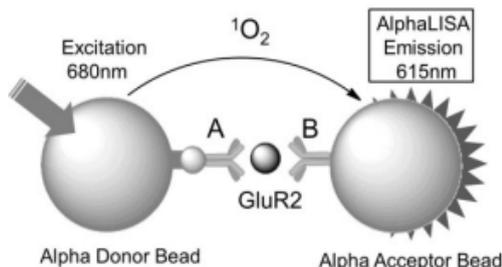
GluR2 発現を指標とした *in vitro* 神経毒性候補物質探索系の構築

○杉山 千尋¹, 古武 弥一郎¹, 津山 由美¹, 奥田 勝博¹, 太田 茂¹(¹広島大院医歯薬)

【目的】化学物質の神経毒性試験は大量の動物を用いた *in vivo* 試験が主流であるが、倫理面・費用面で問題があった。この問題を解決するためには、*in vitro* 試験系を確立し *in vivo* 試験の前段階で用いることが望ましい。当研究室では中枢神経系にのみ存在する AMPA 受容体サブユニット GluR2 の減少が神経脆弱化を惹起すること、数種の環境化学物質で神経細胞の GluR2 発現が減少することを明らかにしている。そこで、GluR2 を指標物質とした *in vitro* スクリーニング試験を構築する目的で、ELISA をより簡便化した手法である AlphaLISA[®] を利用した新規 GluR2 発現量簡便評価系の構築を行った。

【方法】ラット胎仔大脳皮質初代神経細胞に TNE buffer を添加し、細胞可溶化液を調製しアッセイに用いた。各種条件検討後、現段階の GluR2 定量法である western blotting(WB)との比較検討を行った。

【結果および考察】抗体の選択(図中 A/B)や可溶化条件など至適条件を検討し定量法を確立した。その後 WB での定量結果と比較検討したところ正の相関を得られた。本測定系を用いることにより、短時間で 96 サンプルの化学物質評価が可能となり、GluR2 発現減少を介した神経毒性を有する環境化学物質をより簡便かつ大規模に探索できる。



図：AlphaLISA[®]の原理