

総説

核内受容体のリガンドスクリーニング法

長尾匡則¹⁾, 米澤貴之¹⁾, 車炳允¹⁾, 照屋俊明¹⁾, 永井和夫^{1,2)}, 禹濟泰^{1,2)}¹⁾中部大学生物機能開発研究所、²⁾中部大学応用生物学部

1. はじめに

ステロイドホルモン、甲状腺ホルモン、ビタミン A、D など、古くから知られる脂溶性のシグナル分子に受容体が存在することが証明されたのは 1980 年代も後半になってからである。これらの分子は核内受容体に対しリガンドとして作用することでその作用を発現していることが明らかになった (Lubahn *et al.* 1988, Benbrook *et al.* 1987, Giguere *et al.* 1987, McDonnell *et al.* 1987)。核内受容体は細胞膜受容体とは異なり、核内において、標的遺伝子上流の特定の塩基配列を認識して結合し、転写を制御する因子 (正確には転写制御因子複合体の一部) として作用する。核内受容体研究は米国のソーク研究所 Evans 氏によってグルココルチコイドレセプターの cDNA がクローニングされた頃から急速に進歩した (Hollenberg *et al.* 1986)。今日では、核内受容体が代謝に関連する様々な遺伝子の発現を調節していることが知られており、それら遺伝子を直接制御できる創薬ターゲットとして核内受容体リガンドの探索が行われている。本稿では核内受容体の作用機構について簡単に紹介すると共に、核内受容体の転写活性を実質的に制御するシグナルであるリガンドのスクリーニング法について概説する。

2. 核内受容体の作用機構

核内受容体は機能と構造が類似した遺伝子スーパーファミリーを形成している。その高い相同性を利用して、機能やリガンドが未知のまま数多くの核内受容体が cDNA クローニングされ、ヒトでは 48 種類存在していることが確認された

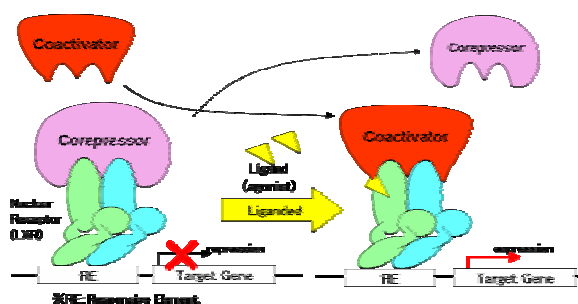
(Chawla *et al.* 2001)。これらリガンド未知の受容体はオーファン受容体 (orphan : 孤児) と呼ばれている。オーファン受容体の中にはその後の研究によってリガンドが同定されたもの (PPARs, LXR, FXR など) があり、それらはアダプティッドオーファン受容体 (adopted : 養子になった) とも呼ばれている (Green *et al.* 1994, Janowski *et al.* 1996, Makishima *et al.* 1999)。

核内受容体の構造は種間でよく保存された A から F の 6 つの機能領域に分類することができる。C 領域は DNA 結合領域 (DNA Binding Domain, DBD) とも呼ばれており、2 つのジンクフィンガーを持ち、各受容体が要求する標的エンハンサー配列に特有な DNA 配列の認識、結合に関わる (Tsai *et al.* 1994)。核内受容体が結合する基本配列の多くは 5'-AGGTCA-3' であり、この配列が 1 つか 2 つか、2 つならその並びが何塩基離れているか、また直列型か回分型かによって配列の特異性が生まれ、特定の受容体だけが結合するようになる (Mangelsdorf *et al.* 1995)。また核内受容体はホモ二量体、または核内受容体 RXR とヘテロ二量体を形成して機能するものが多く、基本配列 2 つを認識するが、リガンド未知のオーファン受容体には単量体で結合するものもあり、それらは 1 つの基本配列を認識して結合する (Mangelsdorf *et al.* 1995)。この二量体化には C 末端側の E/F 領域が関わっている。

転写因子である核内受容体の転写促進領域は 2 か所存在する。1 つは N 末端側の A/B 領域に存在する activation factor 1 (AF-1) と呼ばれる領域で、リガンドの存在に関わらず恒常的な転写促進能を持つ。

もう1つはC末端側のE/F領域(Ligand Binding Domain, LBD)に存在し、activation function 2(AF-2)と呼ばれている。その機能はリガンド結合依存的である(Tsai *et al.*1994)。

しかし実際のところ核内受容体の転写活性は、受容体とリガンドのみでは発揮されずコファクターの存在が大きく関わっている(Delage *et al.*2000, Augereau *et al.*2006)。リガンドが結合していない状態の核内受容体にはコリプレッサーが会合しているのに対し、E/F領域に存在するリガンド結合領域にリガンドが結合することによってコリプレッサーが解離し、代わりにコアクチベーターが会合する(半田,2002, 加藤, 2003) (図1)。



核内受容体の、これらコファクターとの直接的

図1. 核内受容体の作用機構の模式図

核内受容体はリガンド依存的にコアクチベーターをリクルートすることによって標的遺伝子を発現させる。

な接触部位は、リガンド結合領域にある12番目の α -helixである。核内受容体にリガンドが結合すると、リガンド結合領域全体の立体構造が変化するのはではなく α -helix12のみが大きく移動することで、コファクターとの解離・会合が引き起こされる(Heery *et al.*1997)。ちなみにコリプレッサー内の核内受容体との接触モチーフはL/IXXI/VIであり(Hu X *et al.*1999)、コアクチベーター内の接触モチーフはLXXLLである(Heery *et al.*1997)。

コファクターは単独ではなく、複合体として核内受容体に会合し作用する。コリプレッサー複合体はヒストン脱アセチル化酵素と複合体を形成しているため、クロマチン構造を密にし、転写開

始に対して抑制的に作用していると考えられている。それに対し、コアクチベーターはヒストンアセチル化酵素を含む複合体であるため、クロマチン構造を解き、より転写が開始されやすい状態にしていると考えられる(McKenna *et al.*1999)。

3. 核内受容体のリガンドスクリーニング法

核内受容体の活性制御を目的として、核内受容体リガンドの研究が活発に行われている。そのリガンド活性評価方法にはいくつかある。一つは核内受容体の標的遺伝子のプロモーターにルシフェラーゼなどのレポーター遺伝子を繋いだレポーター遺伝子を用いてリガンド活性を評価する方法である(Bruce *et al.*2004)。レポーター遺伝子産物は基質を加えることで発光し、その相対的な発現量を容易に定量することができる。レポーターアッセイは試験物質による核内受容体転写活性の変化を細胞内で検証することができるので、試験物質が標的遺伝子の発現に関わることを証明することができる。しかし標的遺伝子発現のどの段階に作用しているかを検証することができず、またプラスミドの複製には遺伝子組み換え実験に対応した実験室が必要となる。

その他に核内受容体がりガンド依存的にコアクチベーターと会合する性質を利用し、核内受容体とコアクチベーターの相互作用を検証することでリガンド活性を評価する方法としてTwo-hybridアッセイが用いられている。この方法は転写活性化因子であるGAL4タンパク質のDNA結合ドメインとアクチベータードメインをそれぞれ核内受容体もしくはコアクチベーターとの融合タンパクとして細胞内で発現させ、これにリガンド処理による核内受容体とコアクチベーターとの会合が起こることでGAL4DNA結合ドメインとアクチベータードメインが近接し、レポーター遺伝子を発現させるという原理によってリガンド活性を評価する(Bruce *et al.*2004)。真核生物の細胞内という生体に近い条件で間接的ではあるがりガンド活性を評価できる利点があ

る反面、擬陽性が課題となっている(兼松 *et al.*2002)。

またマイクロプレートに固定化した受容体タンパクをリガンド処理した後、標識したコアクチベーターを会合させて酵素法により測定する CoA-BAP 法も核内受容体とコアクチベーターの会合を検出する方法であり、間接的に試験物質のリガンド活性を評価する方法である(Kanayama *et al.*2003)。プレート内で、核内受容体とコアクチベーターの2種のタンパク質のみ存在する条件下で相互作用を検証できるため、Two-hybrid アッセイに比べより純粋に試験物質のリガンド活性を評価することができる。ラベル化したコアクチベーターの会合の強弱によってリガンド活性を評価するため感度は高いが、キットが非常に高価であるため大量のスクリーニングには不適である。

核内受容体とリガンドの結合を直接評価する方法としては放射性同位元素(RI)で標識した化合物を用いる方法が代表的である。しかし RI を用いる実験は取扱いが煩雑で実施は非常に困難でありスクリーニングには不適である。

表面プラズモン共鳴(Surface Plasmon Resonance: SPR)を用いる方法は、核内受容体がりガンド依存的にコアクチベーターと会合する性質を利用し、コアクチベーターの核内受容体結合モチーフを持つペプチドをセンサーチップ上のフローセルに固定化し、そこへ試験物質で処理した核内受容体タンパク質を添加する。もし試験物質にリガンド活性があれば、核内受容体タンパク質はセンサーチップ上のペプチドと結合し、それがレスポンスとして記録される。SPR 法は生体外で反応させるのでその結果をそのまま生体に当てはめることができないが、コアクチベーターと核内受容体との相互作用を、ノンラベルで直接検出することができる。またリアルタイムで連続的に測定するので、CoA-BAP 法等の ELISA では評価が難しかった親和性と解離速度という二つのパラメータを合わせたリガンド活性の評価

が可能になる(GE healthcare, Biacore ユーザートレーニング資料)。

4. 表面プラズモン共鳴の原理

Biacore システムではセンサーチップ表面のガラスと緩衝液という屈折率の異なる媒体の界面に存在する金膜に、ガラス側から偏光を全反射する条件下で照射すると、放射されず界面付近を伝播するエバネッセント波と呼ばれる電磁波(光)が発生する。これが金膜中の自由電子雲と相互作用して金膜の緩衝液側表面にプラズモンとも呼ばれる電子の波を発生させる(表面プラズモン共鳴現象: SPR) (永田和宏 *et al.*1998)。

表面プラズモンの共鳴によっても電磁場(エバネッセント波)は発生し、その波数は金属表面に接する緩衝液の誘電率(あるいはその平方根である屈折率)によって変化する。ゆえにこの波数の表面プラズモンを共鳴させるための、入射光によるエバネッセント波の波数も変化する。入射光によるエバネッセント波の波数は、入射光の入射角によって変化するので、言い方を変えればプラズモン共鳴を起こす入射角(SPR アングル)を見つければ緩衝液の屈折率が測定できるということ

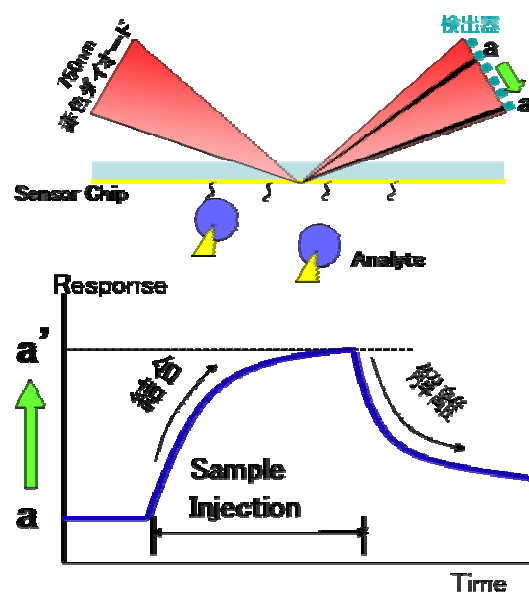


図2. 表面プラズモン共鳴原理の模式図

センサーチップの裏側から光を照射すると、反射光には特定の角度に「影」が出現する。この影の角度はチップ表面の質量変化(正確には質量変化に伴う屈折率の変化)によってシフトするので、SPR ではこの影の角度の変化をレスポンスとしてリアルタイムでグラフに表している。

である。表面プラズモンの共鳴のために入射光の光エネルギーが吸収されるので、反射光の一部は減衰、即ち影が生じる。つまりこの影を測定することで緩衝液の屈折率が測定できるのである(永田和宏 *et al.*1998)。

表面プラズモン共鳴に伴う電磁波は、界面から約 100nm 付近に存在するエバネッセント波と呼ばれる表面波であるので、金膜表面の極近傍のみの屈折率を測定することになる。もし金膜表面に緩衝液中の分子が結合すれば、金膜表面全体としてみると表面近傍の屈折率は増加し、表面プラズモン共鳴のために消費される入射光の入射角は大きい方へとシフトする。即ち、相互作用する A と B という 2 つの物質のうち A をセンサーチップに固定化し、そこに B が溶けた溶液を流すことで A と結合した B の質量分だけ SPR アングルが変化し、センサーグラムのレスポンスとして記録される。もちろん溶液を流し続ければ A に結合する B の量は増え、B を含まない緩衝液に切り替えれば徐々に A に結合していた B は解離していく。その過程がレスポンスの増加と減少としてリアルタイムに記録される (図 2) (GE healthcare, BIA technology Handbook)。

5. 代謝調節因子としての核内受容体 LXR

LXR は水酸化コレステロールを内因性のリガンドとしている (Spencer *et al.*2001)。また LXR には α と β のアイソフォームがあり、 α は主に肝臓、脂肪細胞、小腸、マクロファージ、腎臓等で発現し、 β は全身で発現している (Kaneko *et al.*2003, Laffitte *et al.*2001)。LXR の最もよく知られた作用として、コレステロール逆輸送 (reverse cholesterol transport) が挙げられる。マクロファージでコレステロールの流出を促す輸送タンパクである ABCA1 及び ABCG1 を発現させるとともに、ApoE を発現させてコレステロールの流出をさらに促し、HDL への転換を促し肝臓へ運ぶ。肝臓まで運ばれたコレステロールは胆汁酸として ABC トランスポーターを介して胆汁中に分

泌・排泄される (Tontonoz *et al.*2003, Repa *et al.*2002, Baldan *et al.*2006)。その他にも糖新生に関わる PEPCK やグルコース 6 ホスファターゼの発現を抑え、細胞内への糖取り込みに関わる輸送タンパクである GLUT4 の発現を増加させることで血糖値の上昇を抑える働きも報告されている (Laffitte *et al.*2003)。さらに最近ではマクロファージでの免疫レスポンスに関わることや (Joseph *et al.*2004)、LXR のリガンドを投与することによりアルツハイマーと神経炎症を減弱させるという報告もある (Zelcer *et al.*2007)。ゆえに LXR の活性を制御することは高コレステロール血症や炎症などに関連する生活習慣病関連疾患の予防や治療に繋がると考えられる。

6. Biacore を利用した LXR のリガンドスクリーニング

リガンド探索において Biacore を利用する利点は、結合・解離の様子をリアルタイムで連続的に測定できることにある。これによって 1 回の測定で単純に結合量だけでなく、その結合量に達する反応の速度までグラフ形状から判断することができる。つまり核内受容体の機能発現に必須であるコファクターと受容体との相互作用について、もっとも充実した測定を行えるのが Biacore であると考えられる。

Biacore でスクリーニングを行うことの最も大きな課題は、測定後のセンサーチップをいかにして完全に再生することであった。Biacore ではセンサーチップにサンプルを固定化したら、そのサンプルの活性が失われるまで繰り返し使用する。そのためにアナライトを添加した後は、チップからアナライトを取り除くための再生操作が必要になる。再生に用いる溶液には、塩、酸、界面活性剤、アルカリなどを用いるが、再生条件が過酷であればセンサーチップのサンプルは失活してしまうし、条件が穏やかすぎればアナライトを完全に解離させることができないため、いずれにしろ実験サイクルを重ねるごとに結合レスポンスが減少してしまう。つまりサイクルを重ねてもレ

スポンスが減少しないような完全な再生条件が確立しないと測定できるサイクル数が限られてしまうため、高価なセンサーチップの消費量が多くなるだけではなく、オートサンプラーを使って多サンプルの処理を自動化することもできなくなりスクリーニングの作業効率が低下する。しかしデリケートなタンパク質をセンサーチップに固定化して、失活させずに完全に再生させることは非常に困難である。そこで我々は活性に立体構造を必要としないペプチドであればより過酷な再生条件を適用できると考え、核内受容体リガンド依存的にコアクチベーターと会合することに着目し、コアクチベーターの核内受容体接触モチーフである LXXLL 配列を含むペプチドをセンサーチップに固定化し、ここに核内受容体タンパク質とそのリガンド（または試験化合物）の混合液をインジェクションする方法を採用した(図3)。

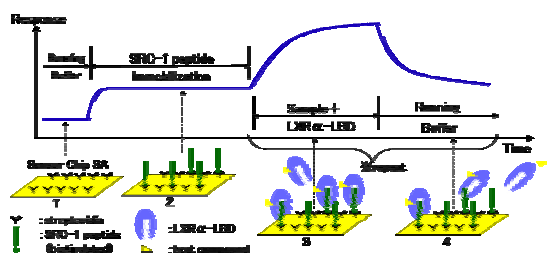


図3 .Biacore を用いた LXR リガンドスクリーニング

(1)予めストレプトアビジンが固定化されたセンサーチップに、(2)N 末端をビオチン化したコアクチベーターペプチド (hSRC-1, aa.676-700) を固定化する。(3)サンプルと LXR(hLXR α-LBD,aa.207-447)を添加する。(4)サンプル添加終了後は、結合していた LXR が解離していく。この後再生溶液を添加して LXR 等を取り除き、次のサンプルを添加する。

各工程において、結合量がリアルタイムにモニターされるため、結果に問題があった場合、どの段階に原因があるのか特定しやすいのも、SPR 法の特徴である。

固定化法としてはリジンのアミノ基とセンサーチップ上のカルボキシル基を利用して共有結合を形成させるアミンカップリング法が代表的であるが、より確実かつ簡便な方法であるストレプトアビジン-ビオチン法での固定化を試みた。あらかじめストレプトアビジン処理されているセン

サーチップ SA に、コアクチベーターであるヒトの Steroid Receptor Coactivator 1 (SRC-1)の核内受容体接触モチーフ (LXXLL) を含むビオチン化ペプチド (hSRC-1, aa.676-700) を固定化し、ここに LXR α-LBD タンパク質と、既知の非ステロイド系 LXR リガンドである T0901317 との混合液をインジェクションし、SRC-1 ペプチドと LXR α-LBD との結合レスポンスの変化を検証したところ、T0901317 の濃度依存的に結合レスポ

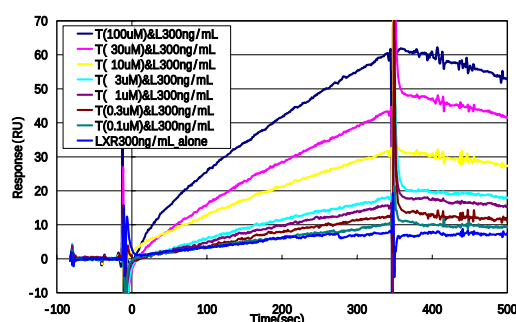


図4 . T0901317 によるレスポンスへの影響

LXR に既知アゴニスト T0901317 を加えると、T0901317 の濃度依存的にレスポンスが増大した。生データから溶媒のレスポンスを差し引いている。

ンスが変化することが確認された(図4)。

これを踏まえ当研究室が所有する天然物由来化合物ライブラリより約 2300 種を濃度 1 点でスクリーニングした結果、70 種についてレスポンスの増大が確認された。ここで得られたレスポンスは LXR とコアクチベーターとの結合を増強することによるものだけではなく、試験化合物自体が直接センサーチップに吸着されている可能性もあるため、二次スクリーニングとして試験化合物のみ (100 μM) LXR と試験化合物 (100 μM、33 μM、11 μM) で測定を行ったところ、2 種の化合物において弱いながらも濃度依存的なレスポンスの増大が確認された。

7. おわりに

核内受容体を標的とした創薬・機能性食品開発が盛んに行われている。その中でも新規リガンドスクリーニングは直接創薬に繋がる点で特に活発な分野である。事実、リガンド未知としてホモ

ロジーよりクローニングされたオーファン受容体のいくつかについては、後の研究によってそのリガンドが見つけられている。しかし核内受容体が実際に転写調節活性を発揮するためにはリガンドだけではなくコファクターが必要であり、近年の研究ではリガンドによってリクルートしやすいコファクターが異なると報告されている (Kressler *et al.* 2007)。これからのリガンド探索においては受容体に対する特異性だけではなく、今回例示した Biacore を用いる実験法のように、受容体とコファクターとの関連を検証することが必要であると考えられる。核内受容体は言うに及ばず、コファクターについても未知の部分は多いが、将来これらの研究が発展し、コファクター選択的なリガンドが開発されれば、副作用の少ない医薬・食品の開発に貢献するかもしれない。

引用文献

- Augereau P, Badia E, Balaguer P, Carascossa S, Castet A, Jalaguier S, Cavaillès V. 2006. Negative regulation of hormone signaling by RIP140. *J Steroid Biochem Mol Biol.* Dec;102(1-5):51-9. Epub 2006 Oct 23.
- Baldán A, Tarr P, Lee R, Edwards PA. 2006. ATP-binding cassette transporter G1 and lipid homeostasis. *Curr Opin Lipidol.* Jun;17(3):227-32.
- Benbrook D., Pfahl M. 1987. A novel thyroid hormone receptor encoded by a cDNA clone from a human testis library. *Science.* Nov 6;238(4828):788-91.
- Bruce A, Alexander J, Julian L, Martin R, Keith R, Peter W, 監訳: 中村桂子・松原謙一. 2004. 細胞の分子生物学 第4版, Newton Press.
- Chawla A, Repa JJ, Evans RM, Mangelsdorf DJ. 2001. Nuclear receptors and lipid physiology: opening the X-files. *Science.* Nov 30;294(5548):1866-70.
- Delage-Mourroux R, Martini PG, Choi I, Kraichely DM, Hoeksema J, Katzenellenbogen BS. 2000. Analysis of estrogen receptor interaction with a repressor of estrogen receptor activity (REA) and the regulation of estrogen receptor transcriptional activity by REA. *J Biol Chem.* Nov 17;275(46):35848-56.
- GE healthcare, Biacore ユーザートレーニング資料.
- GE healthcare, BIA technology Handbook.
- Giguere V, Ong ES, Segui P, Evans RM. 1987. Identification of a receptor for the morphogen retinoic acid. *Nature.* Dec 17-23;330(6149):624-9.
- Green S, Wahli W. 1994. Peroxisome proliferator-activated receptors: finding the orphan a home. *Mol Cell Endocrinol.* Apr;100(1-2):149-53.
- 半田 宏. 2002. 転写がわかる 基本転写から発生,再生,先端医療まで. 羊土社.
- Heery DM, Kalkhoven E, Hoare S, Parker MG. 1997. A signature motif in transcriptional co-activators mediates binding to nuclear receptors. *Nature.* Jun 12;387(6634):733-6.
- Hollenberg SM, Weinberger C, Ong ES, Cerelli G, Oro A, Lebo R, Thompson EB, Rosenfeld MG, Evans RM. 1985. Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA. *Nature.* Dec 19-1986 Jan 1;318(6047):635-41.
- Hu X, Lazar MA. 1999. The CoRNR motif controls the recruitment of corepressors by nuclear hormone receptors. *Nature.* Nov 4;402(6757):93-6.
- Janowski BA, Willy PJ, Devi TR, Falck JR, Mangelsdorf DJ. 1996. An oxysterol signalling pathway mediated

- by the nuclear receptor LXR alpha. *Nature*. Oct 24;383(6602):728-31.
- Joseph SB, Bradley MN, Castrillo A, Bruhn KW, Mak PA, Pei L, Hogenesch J, O'connell RM, Cheng G, Saez E, Miller JF, Tontonoz P. 2004. LXR-dependent gene expression is important for macrophage survival and the innate immune response. *Cell*. Oct 15;119(2):299-309.
- Kanayama T, Mamiya S, Nishihara T, Nishikawa J. 2003. Basis of a high-throughput method for nuclear receptor ligands. *J Biochem*. Jun;133(6):791-7.
- 兼松 隆, 平田 雅人. 2002. タンパク質間相互作用解析のアプローチ, *日本薬理学雑誌*, Vol. 119 No. 4:241-246.
- Kaneko E, Matsuda M, Yamada Y, Tachibana Y, Shimomura I, Makishima M. 2003. Induction of intestinal ATP-binding cassette transporters by a phytosterol-derived liver X receptor agonist. *J Biol Chem*. Sep 19;278(38):36091-8.
- 加藤茂明. 2003. 受容体がわかる : シグナル伝達を司る受容体の機能から多様な生命現象まで. 羊土社.
- Kressler D, Hock MB, Kralli A. 2007. Coactivators PGC-1beta and SRC-1 interact functionally to promote the agonist activity of the selective estrogen receptor modulator tamoxifen. *J Biol Chem*. Sep 14;282(37):26897-907.
- Laffitte BA, Chao LC, Li J, Walczak R, Hummasti S, Joseph SB, Castrillo A, Wilpitz DC, Mangelsdorf DJ, Collins JL, Saez E, Tontonoz P. 2003. Activation of liver X receptor improves glucose tolerance through coordinate regulation of glucose metabolism in liver and adipose tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A*. Apr 29;100(9):5419-24.
- Laffitte BA, Joseph SB, Walczak R, Pei L, Wilpitz DC, Collins JL, Tontonoz P. 2001. Autoregulation of the human liver X receptor alpha promoter. *Mol Cell Biol*. Nov;21(22):7558-68.
- Lubahn DB, Joseph DR, Sullivan PM, Willard HF, French FS, Wilson EM. 1988. Cloning of human androgen receptor complementary DNA and localization to the X chromosome. *Science*. Apr 15;240(4850):327-30.
- Makishima M, Okamoto AY, Repa JJ, Tu H, Learned RM, Luk A, Hull MV, Lustig KD, Mangelsdorf DJ, Shan B. 1999. Identification of a nuclear receptor for bile acids. *Science*. May 21;284(5418):1362-5.
- Mangelsdorf DJ, Evans RM. 1995. The RXR heterodimers and orphan receptors. *Cell*. Dec 15;83(6):841-50.
- McDonnell DP, Mangelsdorf DJ, Pike JW, Haussler MR, O'Malley BW. 1987. Molecular cloning of complementary DNA encoding the avian receptor for vitamin D. *Science*. Mar 6;235(4793):1214-7.
- McKenna NJ, Lanz RB, O'Malley BW. 1999. Nuclear receptor coregulators: cellular and molecular biology. *Endocr Rev*. Jun;20(3):321-44.
- 永田和宏, 半田宏共編. 1998. 生体物質相互作用のリアルタイム解析実験法 BIACORE を中心に. シュプリンガー・フェアラーク東京.
- Repa JJ, Mangelsdorf DJ. 2002. The liver X receptor gene team: potential new players in atherosclerosis. *Nat Med*. Nov;8(11):1243-8.
- Spencer TA, Li D, Russel JS, Collins JL, Bledsoe RK,

Consler TG, Moore LB, Galardi CM, McKee DD, Moore JT, Watson MA, Parks DJ, Lambert MH, Willson TM. 2001. Pharmacophore analysis of the nuclear oxysterol receptor LXRalpha. *J Med Chem.* Mar 15;44(6):886-97.

Tontonoz P, Mangelsdorf DJ. 2003. Liver X receptor signaling pathways in cardiovascular disease. *Mol Endocrinol.* Jun;17(6):985-93.

Tsai MJ, O'Malley BW. 1994. Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily members. *Annu Rev Biochem.* 63:451-86.

Zelcer N, Khanlou N, Clare R, Jiang Q, Reed-Geaghan EG, Landreth GE, Vinters HV, Tontonoz P. 2007. Attenuation of neuroinflammation and Alzheimer's disease pathology by liver x receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* Jun 19;104(25):10601-6.

Title : Screening of nuclear receptor ligand

Authors : Masanori Nagao¹⁾, Takayuki YONEZAWA²⁾, Byung-Yoon CHA²⁾, Toshiaki TERUYA²⁾, Kazuo NAGAI^{1,2)}, Woo Je-Tae^{1,2)}

Addresses : ¹⁾College of Bioscience and Biotechnology, Chubu University. ²⁾Research Institute for Biological Function, Chubu University.

Keywords : Nuclear Receptor, Ligand Screening, Liver X Receptor, Surface Plasmon Resonance, Biacore