

研究成果報告書

(国立情報学研究所民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		低分子性植物ホルモン・ジベレリンの植物における可視化技術の開発			
研究テーマ (欧文) AZ		Development of gibberellin monitoring system <i>in planta</i> .			
研究氏 代 表 名 者	カカナ CC	姓)スズキ	名)ヨシヒト	研究期間 B	2008 ~ 2009 年
	漢字 CB	鈴木	義人	報告年度 Y	2010
	ローマ字 CZ	Suzuki	Yoshihito	研究機関名	茨城大学
研究代表者 CD 所属機関・職名		茨城大学・教授			
概要 EA (600 字 ~ 800 字程度にまとめてください)					
<p>本研究はジベレリンという低分子性植物ホルモン依存的に会合する 2 つのタンパク質(ペプチド)を利用し、それらの会合を通してジベレリンの存在を可視化することを目的とした。ジベレリン依存的に会合する 2 分子の系として、抗ジベレリン抗体に対してジベレリン依存的に結合する 2 種の 12 アミノ酸からなるペプチド(抗メタタイプペプチド)をファージディスプレイ型ペプチドライブラリーから取得することに成功した。種々の性状解析に加え、ペプチドの構造予測に基づくドッキングシミュレーションにより、抗ジベレリン抗体の一部と活性型ジベレリンの C-13 位を同時に認識して結合していることが判明した。これらを用いることによって、非競争的 ELISA による活性型ジベレリン特異的な高感度分析を確立することが出来た。しかし、得られたペプチドはファージ上に提示しない状態では抗ジベレリン抗体との結合能が得られず、本来の目的を達成するための障壁となった。この問題は現時点でも未だ解決されておらず、今後の課題である。</p> <p>一方、ジベレリン依存的に会合する 2 分子系として、抗ジベレリン抗体の VH および VL を用いる検討を加えた。抗原との結合部位である Fv を構成する VH および VL の各ドメインは、抗原非存在下では結合が弱く、抗原存在下で 3 者複合体の側に平衡が偏ることが知られている。そこで、抗ジベレリン抗体に関して検討したところ、ジベレリン依存的な会合が確認された。そこで、大腸菌を用いてジベレリンの検出能を検討した。VH と VL の会合の検出系としては、BiFC を用いた。すなわち、GFP を N 末端側に分割し VH, VL との融合タンパク質とし、ジベレリン依存的な VH, VL の会合を通して再構成される GFP の蛍光を検出した。その結果、ジベレリン非存在下では GFP 蛍光が見られないのに対して、ジベレリン存在下で明瞭な GFP 蛍光が認められた。このことにより、生細胞系におけるジベレリンの検出を達成したことになる。しかし、この系ではジベレリンの検出感度が低く、植物の内生ジベレリンを検出することは困難な状況であり、VH, VL の分子改変などを通じた感度の向上が今後の課題である。</p>					
キーワード FA	BiFC	抗メタタイプ	抗体	PCA	

(以下は記入しないでください)

助成財団コード TA						研究課題番号 AA							
研究機関番号 AC						シート番号							

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入して下さい）									
雑誌	論文標題 GB								
	著者名GA		雑誌名GC						
	ページGF	~	発行年GE					巻号 GD	
雑誌	論文標題 GB								
	著者名GA		雑誌名GC						
	ページGF	~	発行年GE					巻号 GD	
雑誌	論文標題 GB								
	著者名GA		雑誌名GC						
	ページGF	~	発行年GE					巻号 GD	
図書	著者名HA								
	書名HC								
	出版者HB		発行年HD					総ページ HE	
図書	著者名HA								
	書名HC								
	出版者HB		発行年HD					総ページ HE	

#### 欧文概要EZ

The new detection system of gibberellin (GA), a class of plant hormone, has been developed using anti-GA antibody and its anti-metatype peptides. It has been highly suggestive that the peptides simultaneously recognize GA and its antibody. The system enabled detection of GA4 as low as 30 pg. The peptides, however, could not be applied to BiFC to monitor GA-dependent association of anti-GA antibody and the peptides, because the peptide showed GA-dependent binding to anti-GA antibody only as a phage-displaying form.

Thus we next examined VH and VL of anti-GA antibody as two molecules, which interact each other in a GA-dependent manner. The VH and VL were respectively expressed as a fusion of N-terminal and C-terminal half of GFP in *E. coli*. Only when the *E. coli* was cultured with bioactive GA, the cells showed GFP fluorescence. Thus this was the first successful report that GA could be detected in a living organism. Because the sensitivity of GA detection in this system was low, it is the current issue that the VH and VL should be modified to give higher detection sensitivity comparable to endogenous GA in plants.