

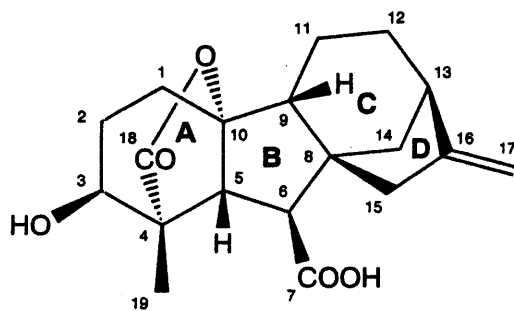
論文審査の結果の要旨

申請者氏名 村田 貴志

本研究は、代表的な植物ホルモンであり、120種を超える同属体からなるジベレリン(GAs)のなかで、数少ない活性型の一つとされているジベレリン A₄ (GA₄)と、これを特異的に認識する抗 GA₄ 抗体 4-B8(8)/E9 との相互作用を分光学的に解析したものであり、序章を含む4章と総括より構成されている。

序章では、研究の背景、ならびに本研究の目的と意義について述べている。

第1章では、GA₄ と抗体 4-B8(8)/E9 との結合に関して、BIAcore を用いた速度論的な解析を行っている。センサー部分に GA₄ を固定する方法として、ビオチン標識 GA₄ を用いている。すなわち、あらかじめストレプトアビジンをアミド結合によりセンサー表面に固定し、これにビオチン標識 GA₄ を反応させて固定している。この系に抗体 4-B8(8)/E9 から調製した Fab フラグメント溶液を供し、その反応量を経時的に追跡することにより、結合速度定数 $K_{ass} = 5.4 \times 10^4$ (1/Ms)、解離速度定数 $K_{diss} = 3.4 \times 10^{-3}$ (1/s)、解離定数 $K_D = 6.4 \times 10^{-8}$ (M) をそれぞれ得た。この結果は RIA 法を用いて得られている K_D 値とほぼ同様の値であり、この方法を用いて、抗体と抗原の親和性を短時間に求めることができることを示した。BIAcore は、本質的にセンサー部分の質量の増減を感知する、表面プラズモン共鳴法を利用した解析法であることから、低分子化合物への応用には不向きであり、解析例も少ない。しかしながら、本研究において、低分子化合物である GA₄ をセンサー部位に固定することにより、信頼性の高い相互作用解析を行うことに成功し、BIAcore をハプテン抗体の特異性の解析法として利用できることを示した。



Gibberellin A₄

第2章では、抗 GA₄ 抗体と GA₄ との相互作用を NMR 法により解析するにあたり、低分子化合物と高分子タンパク質との相互作用という観点から、低分子プローブ法を利用し、様々なパラメータの変化を指標に GAs の相互作用部位の特定を試みている。特に相互作用解析に配位子である GA に、GA₄ のアナログであり、抗体と結合した GA と遊離 GA との交換速度の大きい GA₃ を用いることにより、系内に過剰量加えた GA₃ との間で平均化された ¹H 核緩

