

国際共同研究事業  
国際化学研究協力事業（ICG プログラム）

事後評価 書面評価結果

所属機関・部局・職・氏名 日本医科大学・医学部・講師・岩崎 俊雄

---

研究課題名： 好熱菌モデル酵素の金属クラスター電子構造に強く影響する  
周辺骨格領域の可視化

---

1. これまでの共同研究を通じて得られた成果

以下に示す評価資料の参照箇所をご参照のうえ、ポイントとなる観点から、評点及びコメントをそれぞれ付してください。

|      |  |
|------|--|
| 観 点  | 当該共同研究課題を実施したことによる成果の達成度。(研究計画を基準とし、それとの比較における達成度とする。) 学術的価値、相手国との共同研究の意義、社会的貢献、若手研究者養成への貢献、将来発展可能性等につき、どの程度成果があったかへの評価。 |
| 参照箇所 | 【実施計画書】<br>【共同研究報告書】<br>「6. 研究概要」、「7. 研究の成果」、「9. 研究発表」   |

該当する口に印を付してください。

|   |
|---|
| <b>評 価 (案)</b>  |
| <input type="checkbox"/> 想定以上の成果があった。<br><input checked="" type="checkbox"/> 概ね成果があった。<br><input type="checkbox"/> ある程度成果があった。<br><input type="checkbox"/> 成果があったとは言えない。  |
| <b>コメント</b>   |
| <p>・共同研究を通じて「学術的側面」・「若手研究者の養成」・「将来発展可能性」の観点から成果があったか。</p> <p>「学術的側面」</p> <p>本共同研究では、主に次の2つの研究を実施することにより、酵素中の鉄硫黄クラスター電子構造に影響を与えるタンパク質部位の同定と、その影響の定量を目的としていた。</p> <p>(1) 一連の安定アミノ酸同位体ラベル酵素を作成し、パルス電子スピン共鳴法(EPR)で測定することにより、ラベル部位が鉄硫黄クラスターに与える影響を系統的に測定する。(2) 鉄硫黄クラスターを有する酵素の単結晶を作成し、X線結晶構造解析および単結晶 EPR 解析により、鉄硫黄クラスター近傍の詳細構造を解明する。</p> <p>(1)の実験用のサンプル調整はほぼ完了し、一連のアミノ酸要求性大腸菌発現宿主株コレクションを作成できた。これらの試料のEPR測定については、ピーク帰属などに困難があり、当初目標である「可視化」までは至っていない。しかし、残基特異的安定同位体ラベルを用いた丹念な解析によって、<sup>15</sup>Nへのelectron spin density transfer空間分布パターンを明らかにし、常磁性活性中心近傍の微細構造を解明した点は、学術的な成果と認められる。</p> <p>一方、(2)の実験については大幅な遅れが見られる。とくに単結晶 EPR 測定に適した鉄硫黄蛋白質単結晶の作成は遅れており、測定については予備実験に留まっている。</p> <p>以上のことから、学術的側面に関しては、ある程度の成果はあったが、当初計画からの大幅な遅れがあると判断される。</p> <p>「若手研究者の養成」</p> <p>日本側研究グループに学部生、大学院生が在籍しておらず、若手研究者の養成への貢献</p> |

には難しい面があった。一方、日本側のポスドク研究員、研究補助員、アメリカ側の大学院生などがお互いの国を行き来し共同研究は適切に実施された。講習会や研究会などを企画し、得られた成果を議論、公開する場を設けるとさらに良かったように思われる。

#### 「将来発展可能性」

今回得られた試料と解析結果は、今後も活用されると期待され、将来発展可能性があると思われ、同時に本共同研究を通して、この研究アプローチでは困難と思われる問題点が複数浮かび上がってきたように思われる。現在のアプローチのまま研究を進めるのでは、大きな壁を超えることはできないかもしれないと、将来発展の可能性は不透明である。何等かのブレイクスルーを見出す必要があるだろう。

・共同研究の成果として優れた研究業績が発表されたか。

日本側研究者の総論文数3報(アメリカ側研究者との共著2報)は少し物足りないが、安定同位体ラベル酵素を作製し、鉄硫黄クラスター周りの水素結合ネットワークを解析した研究成果は著名な国際誌に論文が掲載され学術的に評価できる。また主要な成果の内、未だ論文発表がされていないものが幾つかあるためこれらの論文化が望まれる。

・本事業により得られた成果の社会への還元があったか。

日米共同で新規アミノ酸要求性大腸菌発現宿主株の保存菌株コレクションを作製し、理研バイオリソースセンターに、平成26年度以降に一括無償委託する予定となっており、成果の社会還元がなされるものと高く評価できる。

・当初予期していなかった活動成果があったか。

当初計画にはなかったが、新規アミノ酸要求性大腸菌発現宿主株の保存菌株コレクションを作製、これを理研バイオリソースセンターに無償委託し、共同研究の成果を社会還元することに繋がった。また、単結晶 EPR 解析の遂行に関し、現実的かつ原理的な問題点・課題等を明確にする事ができた。

## 2. 事業の実施状況

以下に示す評価資料の参照箇所をご参照のうえ、ポイントとなる観点から、評点及びコメントをそれぞれ付してください。

|      |   |
|------|---|
| 観 点  | 事業の日米両国参加者の実施体制や共同研究課題の設け方、実施にあたっての枠組みの適切性、研究者交流の位置付け及び実施内容の適切性、米国との協力の状況、経費の執行状況への評価。              |
| 参照箇所 | <b>【共同研究報告書】</b><br>「5. 研究組織」、「6. 研究概要」、「7. 研究の成果（2）米国との交流実績」、<br>「8. 派遣・受入実績」<br><b>【委託費支出報告書】</b> |

該当する□に印を付してください。

|   |
|---|
| <b>評 価 (案)</b>  |
| <input type="checkbox"/> 想定以上に効果的に実施された。<br><input checked="" type="checkbox"/> 概ね効果的に実施された。<br><input type="checkbox"/> ある程度効果的に実施された。<br><input type="checkbox"/> 効果的に実施されたとはいえない。  |
| コメ ン ト  |
| <p>・事業の課題達成に向けて、「共同研究」「セミナー」「研究者交流」を適切に計画し、実施したか。</p> <p>平成 23 年度、東北地方太平洋沖地震の影響で交流が減少し、研究の進展は遅れたが、安定アミノ酸同位体ラベル酵素を用いた EPR 測定は計画通りに実施し、一部、良好な成果が得られるなど、概ね効果的に実施されたといえる。しかし、全体的にみると、米国の共同研究先の関与が薄いような印象を受ける。例えば、g-テンソル主軸方向決定のための ENDOR 解析では、米国ではなくドイツの研究者と共同研究を行っている。さらに、単結晶 EPR 実験では、共同研究先とは予備実験を行うに留まっており、今後はドイツの研究者との共同研究を検討中のようなのである。</p> <p>米国側参加者との「研究者交流」（派遣、受入）については、人的・日数的にかなりの厚みを持つものを当初計画し、研究進捗に関して適宜、ディスカッションがなされており、概ね計画通り実施されたが、「セミナー」という形での交流は実施されていなかった。また、米国の研究者の訪日がもう少し多いと、より好ましいと思われる。</p> <p>・日米両国参加者間の共同研究実施体制・協力体制等は適切であったか。</p> <p>日本側参加者は安定同位体ラベル酵素の調製、X 線結晶構造解析、アメリカ側参加者はパルスト EPR 測定を分担して行っており、習得したい項目を双方が効果的に先方から学ぶという点についての共同研究実施体制・協力体制等は、概ね適切であったと考えられる。</p> <p>しかし、本共同研究における問題点として、単結晶 EPR 解析が困難であったこと、お</p> |

よび、測定結果の解析が予想以上に困難であったことから、米国との十分な共同研究まで到達することができなかった。測定結果の解析については、今後、理論系研究者も必要であり、当初計画した両国参加者だけでは解決が困難であるように思われる。また、ドイツの研究者との共同研究が本研究の推進に重要な役割を果たしており、米国側参加者の貢献が少ないように見受けられるため、本共同研究の実施体制については、研究開始当初の検討が不十分であったと考えられる。

・共同研究の実施にあたり、適切に経費が執行されたか。

経費の使用は、概ね事前の計画に基づいて執行されており適切である。ただし、他国での学会発表のための外国出張旅費の支出が多く、研究発表も大切ではあるが、研究が予定通りに進捗していない場合には、学会発表よりも、共同研究先との連携を深めたり、研究に集中したりすることも必要だったのではないかと思われる。

### 3. 今後の共同研究実施

以下に示す評価資料の参照箇所をご参照のうえ、ポイントとなる観点から、評点及びコメントをそれぞれ付してください。

|      |  |
|------|--|
| 観 点  | ・ 事業終了後も継続的な研究交流活動の実施が期待できるか。                          |
| 参照箇所 | 【共同研究報告書】<br>「5. 研究組織」、「6. 研究概要」、「7. 研究成果 (5) 将来発展可能性」 |

該当する口に印を付してください。

|  |
|--|
| <b>評 価 (案)</b>   |
| <input type="checkbox"/> 想定以上の成果が期待できる。<br><input checked="" type="checkbox"/> 概ね成果が期待できる。<br><input type="checkbox"/> ある程度成果が期待できる。<br><input type="checkbox"/> 成果が期待できない。  |
| <b>コメント</b>  |
| <p>・ 事業終了後も当該分野における世界的水準の継続的な研究交流活動の実施が期待できるか。</p> <p>今後も安定同位体ラベル酵素を用いることにより、継続的な研究交流活動の実施が期待できる。また、論文として未発表のデータも複数存在しており、今後、ある程度の研究成果が出るのがあわせて期待される。</p> <p>しかし、本共同研究で課題が浮き彫りになった「単結晶 EPR 解析」に関しては、解析に適した試料の作成法の開発と専門的な解析技術を有する研究者との共同研究が必須である。また、安定同位体ラベル酵素の EPR ピーク帰属等に関しては、困難な点も多く、現在のままの研究アプローチを継続するのでは、世界的水準の研究成果を創出することは難しいと考えられる。さらなる研究の発展には、適切な系の選択や詳細なシミュレーションの実施が必要であると思われる。また、量子化学計算などの理論的分野の専門家の協力を得ることができれば、さらなる進展もありうるかもしれない。</p> |

#### 4. 総合的評価（書面評価）

該当するアルファベットを○で囲んでください。

##### 評 価（案）

- A 当初設定された研究計画は想定以上に達成された。
- B 当初設定された研究計画は概ね達成された。
- C 当初設定された研究計画はある程度達成された。
- D 当初設定された研究計画はほとんど達成されなかった。

##### コメント

本共同研究は、日本側参加者は安定同位体ラベル酵素の調製、X線結晶構造解析、アメリカ側参加者はパルスEPR測定を分担して行い、適切に共同研究が進められた。安定同位体ラベル酵素を用いたパルスEPRを軸とする系統的な研究を行い、鉄硫黄クラスター周りの水素結合ネットワークを解析した。これらの研究成果は種々の金属タンパク質やモデルペプチドの常磁性部位の性質を特定する手法を提供するものであり、学術的に価値が高い。また、本共同研究における実験用のサンプル調整はほぼ完了し、一連のアミノ酸要求性大腸菌発現宿主株コレクションを作成した。これらの試料のEPR測定については、ピーク帰属などに困難があり、当初目標である「可視化」までは至っていないが、米国の共同研究先で行った残基特異的安定同位体ラベルを用いた丹念な解析により、 $^{15}\text{N}$ へのelectron spin density transfer空間分布パターンを明らかにし、常磁性活性中心近傍の微細構造を解明した点は、学術的な成果と認められる。さらに、本共同研究で作成した一連のアミノ酸要求性大腸菌発現宿主株コレクションについては、平成26年度以降に理研バイオリソースセンターへ一括無償委託される予定であり、これはアカデミア、産業界に成果を還元するという点で高く評価できる。

一方で、(2)の実験については、単結晶の作成とX線結晶構造解析が大幅に遅れており、また、単結晶EPR測定については、予備実験に留まっている。「単結晶EPR解析」に関しては、おそらく当初は想定していなかった（あるいは軽視していた）問題点が、研究の進展に伴い浮き彫りとなっており、試料調製法の開発と専門的な解析技術の導入が必要であると考えられる。さらに、常磁性中心と周辺アミノ酸残基の相互作用についてのより詳細な解析には、適切な系の選択や詳細なシミュレーションの実施など、さらなる工夫が必要であると思われる。

本共同研究においては、論文として未発表のデータも複数存在しており、今後、ある程度の研究成果が出るのが期待される一方、本共同研究を通して、現行の研究アプローチでは困難と思われる点も浮かびあがってきており、量子化学計算などの理論系研究者との共同研究も推進することにより、何等かのブレイクスルーを見出す必要がある。