

事後評価報告書（日英研究交流）

1. 研究課題名：未開拓遺伝子資源としての海藻類が生産する新規で有用な酵素類の構造－機能解析に関する共同研究

2. 研究代表者名：

2－1. 日本側研究代表者：和泉 好計（鳥取大学大学院工学研究科 教授）

2－2. 英国側研究代表者：Jenny A. Littlechild（エクセター大学,生体触媒研究センター 教授）

総合評価：（可）

3. 研究交流実施内容及び成果：

本研究交流では、種々の化学反応に対応可能な触媒素子としての酵素の利用価値を高めるとともに、蛋白質の高次構造と触媒活性・特性の新たな構造－機能相関関係を提唱することを目的とする。具体的には、日本側の応用酵素学的見地からの有用酵素の探索と機能解析および蛋白質の大量発現および結晶化技術と、エクセター大学側の蛋白質の構造解析、バイオインフォマティクス、酵素反応機構解明技術とを組み合わせ、独創的な有用酵素の研究に関して研究交流を行う。

研究成果としては以下のとおり。

(1) 日本側の成果

- ① エクセター大学からの情報を基に、ハロペルオキシダーゼの変異酵素を発現させ、活性評価を実施した。しかし、すべての場合で野生型酵素に比べて低い活性を示す結果となった。
- ② 多くの海藻を採集し、蛋白質の生成を実施した。その中で、海草 *Phyllospadix japonica* が有するキチナーゼについて、酵素生成と諸性質検討を行った。その結果、精製酵素のサブユニット分子量は43 kDa、キチンオリゴマーに作用し、主としてキチンダイマーを精製する酵素であることが明らかとなった。
- ③ その他に得られた蛋白質について解析した結果、相同性が高い蛋白質はいずれも色素蛋白質であった。また、海藻 *Codium fragile* から高度に精製した蛋白質については、新規蛋白質と推定された。
- ④ 好熱菌のビオチン生合成系酵素類の遺伝子 *bioF*, *bioB*, *bioW*, *bioD* についてゲノム情報から推定し、大腸菌にその遺伝子を導入して発現させた後、それぞれの酵素活性を初

めて見いだすことができた。

(2) 英国側の成果

- ① ハロペルオキシダーゼの立体構造を詳細に解析し、活性を保持したまま、安定性、触媒活性が上昇する可能性が高い部位を推定した。
- ② 海藻から蛋白質を抽出する基礎的な方法を確立した。
- ③ 日本側がエクセター大学にもっていった AqBioF の結晶の高分解能の回折像を得た。現在、構造解析中。

今後期待される効果

・科学技術進展の面から

今までまったく報告がなかった好熱菌由来の微生物にも大腸菌と同じようなビオチン生合成系機能があることを初めて見だし、酵素科学的特性の新規な面を見いだすことができた。この事実から、好熱菌由来のビオチン生合成系酵素類のさらに新規な特性が次々と見いだされるものと日本側研究チームは期待している。

本研究で得られた2種類の BioB を用いて、硫黄原子が1原子導入されて C-S-C 結合形成、すなわち、含硫複素環化合物生合成メカニズムの解明への糸口がつかめる可能性があるとして日本側研究チームは期待している。

・社会・産業への波及効果の面から

今回得られた方法論が、海藻の蛋白質あるいはその他の成分を付加価値の高い物質として利用する際に、有用な情報として活用できると日本側研究チームは期待している。

ビオチン生合成系酵素類を利用することによって、コレステロール生合成阻害剤である医薬のスタチンと同様に、雑草の除草剤や病原菌に対する医薬の合成に利用される可能性を秘めていると日本側研究チームは期待している。

4. 事後評価結果

4-1. 総合評価

当初の目的であったハロペルオキシダーゼの酵素活性・安定性の改良と新規タンパク質の検索・精製に、好熱菌由来のビオチン生合成酵素の解析が加わっている。ハロペルオキシダーゼの改良に関して、当然、構造をもとにした網羅的な変異体解析が行われるべきであるが、報告書ではわずかな変異体の作製しか行われていないようである。新規タンパク質の検索に関しては、これも、どのようなストラテジーで行うかの明確な提示がなく、偶然に依存しているようにも思える。一方、ビオチン生合成系酵素については、英国の共同研究者からの助言をもとに目的指向的に探索したと思われる。日本側の研究グループが代表者と講師1名で構成され、学生も参加したと想像されるが、網羅的な変異体解析など、実験を行う能力の絶対的な不足が感

じられる。

研究交流に関しては、日本側代表者と英国側代表者の相互訪問が実現しているようである。一方、若手の交流はほとんど見られず、貴重な分野にも関わらず将来を担う若手の育成という点では残念である。ただ、ビオチン生合成酵素の立体構造の解析を機に今後の交流が広がる可能性があり、当初の目的を含めた交流が広がることを期待したい。

4-2. 研究交流の有効性

研究交流期間を通じて発表されたオリジナル論文は1報で、それも、日本側独自の研究に関する論文である。したがって、現段階では、新しい知の創造が行われたかなどについては判断できない。とくにハロペルオキシダーゼに関する変異体解析については、もっと広範に行うべきであったと考えられる。一方、新規タンパク質については継続的な努力がなされているようなので、その成果を日英共同としてどのように発展させるつもりであったかも含めて、今後の研究に期待したい。好熱菌についての研究に関しては、目的指向型としてある程度の成果を上げることができたのではないかと考えられる。

相互訪問に参加したのは、両国の代表者のみで、それも特別に長い期間滞在したわけではない。その意味では若手研究者の育成にはつながらなかったのではないかと考えられる。とくに、日本側の講師の英国への訪問がなかったのは残念である。

自然を相手にした有用酵素の探索と機能解析は非常に重要な分野である。したがって、本課題が採択されたのは日英両国にとっても有用であったと考えられる。ただ、代表者のみの相互訪問では、将来を担う若手の育成にはつながらず、とくに日本側の代表者の今後の努力が期待される。

4-3. 当初目標の達成度

申請書には両グループの研究交流を行うと記載されているが、具体的な交流内容の記載はない。したがって、当初から若手研究者の相互訪問などの研究交流は計画されていなかったと考えられる。報告書にも日本側の代表者がエクスター大学を訪問したことが記載されているが、英国代表者が鳥取大学を訪問した形跡を見出すことができない。したがって、研究交流実施体制が適切に作られたとは考えられない。

申請書にはシンポジウムなどの開催経費は記載されていない。したがって、シンポジウム・ワークショップは当初から計画されていない。相互派遣については、実質的に代表者のみの英国訪問となったようであり、鳥取大学の(学生を含む)若手研究者が英国の研究者と直接話をする機会はなかったのではないかと想像される。