

「きぼう」利用  
高品質タンパク質結晶生成実験  
第2期実験シリーズ

第3回実験

---

民間利用促進コース

搭載タンパク質

募集要項

募集締切 平成26年11月17日（月）

平成26年10月  
（独）宇宙航空研究開発機構（JAXA）

## 目次

1. 背景.....	4
2. 目的.....	4
3. 実験機会の概要.....	4
4. 募集について .....	5
4.1. トライアルユース <span style="border: 1px solid black;">初めて宇宙実験を実施される方が対象</span> .....	5
4.2. 後日掲載予定 .....	7
5. 応募資格 .....	7
6. 応募書類 .....	7
6.1. 提出書類 .....	7
6.2. データシート記載情報の開示 .....	8
6.3. 募集締切り .....	8
6.4. 書類提出先 .....	9
7. 搭載候補決定の連絡 .....	9
8. 受託契約について .....	9
9. 実験準備から回折実験までの流れ .....	9
9.1. 宇宙実験に向けた技術支援 .....	10
9.2. 宇宙実験に向けた結晶化条件検討 .....	10
9.3. 溶液送付 .....	11
9.4. 搭載判断 .....	11
9.5. 宇宙実験の実施 .....	12
9.6. 結晶引渡し .....	12
10. 注意事項 .....	12
11. 成果の取り扱い .....	13
11.1. 結晶品質情報の提供 .....	13
11.2. 成果発表時のお願い .....	14
12. 実施体制及び問合せ先 .....	15
12.1 . 実施体制 .....	15
12.2 . 問い合わせ先 .....	15
参考資料 1 宇宙実験準備実験装置 .....	16
参考資料 2 宇宙でのタンパク質結晶化実験のメリット .....	17
参考資料 3 情報の取り扱いについて .....	19

参考資料 5	テーマ提案書.....	21
参考資料 6	申込データシート .....	22
参考資料 7	タンパク質試料の安全性に関する保証書.....	26
参考資料 8	実験室バイオセーフティ指針抜粋（WHO 第 3 版） .....	27

## 1. 背景

「きぼう」利用高品質タンパク質結晶生成実験（以下「JAXA PCG (Protein Crystal Growth)」という）は、JAXA がこれまでに獲得・蓄積してきた高品質タンパク質結晶生成技術を適用し、国際宇宙ステーション「きぼう」日本実験棟においてタンパク質結晶生成実験を実施するものです。

JAXA PCG では平成 21 年度から平成 25 年度前半までの約 4 年間に計 6 回の実験を行ってきました。平成 25 年度後半以降、第 2 期実験シリーズとして、およそ半年に一回のペースで計 6 回の追加実験を計画しています。

平成 24 年に行われた宇宙基本計画の改訂を受け、本実験の継続にあたっては、我が国の産業競争力強化に繋がる成果の創出がこれまで以上に求められています。

## 2. 目的

JAXA PCG の目的は、以下の通りです。

- ① 産業競争力強化に繋げるため、民間企業等による利用の拡大を図る。
- ② 社会的・学術的にインパクトがあり重要な成果に繋がるタンパク質を対象に、宇宙実験を継続的に実施して「きぼう」での成果の創出を図る。
- ③ 高品質タンパク質結晶生成技術の発展に不可欠な技術要素の開発を継続的に実施する。

## 3. 実験機会の概要

本募集は、第 3 回実験を対象としています。実験の概要は以下の通りです。

JAXA PCG 第 2 期 第 3 回実験		
打 上 げ	打上げ予定日	平成 27 年 8 月上旬
	打上げ射場	カザフスタン共和国 バイコヌール宇宙基地
	打上げ宇宙船	プログレス補給船
結 晶 生 成 実 験	結晶化場所	国際宇宙ステーション内 「きぼう」日本実験棟 タンパク質結晶生成装置（参考資料 1 参照）
	実験期間	約 5 週間
	搭 載 容 器： JCB-SGT*	高品質タンパク質結晶生成用セルユニット 2 式 （96 試料（1 試料当りキャピラリー 2 本の場合）） *JAXA Crystallization Box - Sealbag Gel Tube
	結晶化方法	カウンターディフュージョン法
回 収	帰還予定日	平成 27 年 9 月中旬
	帰還地点	カザフスタン共和国中部
	帰還宇宙船	ソユーズ宇宙船

なお今後の宇宙実験の計画は、以下の通りです。

平成26年				平成27年				平成28年				平成29年			
3月	5月	9月	11月		8月	9月		3月	5月	9月	11月	3月	5月		
#1		#2		#3予定				#4予定		#5予定		#6予定			
打上	回収	打上	回収		打上	回収		打上	回収	打上	回収	打上	回収		

#### 4. 募集について

JAXA PCG 第2期 第3回実験では、提案者の所属や実験目的等に応じて2つのコースを設定しています。本募集要項は、日本国内の民間企業、もしくは企業と連携のある大学・公的研究機関に所属している方を対象に作成しています。

本コースでは以下の2つの条件を満たす試料を募集します。

- (1) 産業応用への出口戦略が明確で3～5年以内に成果創出が見込めること
- (2) 提案試料が以下のいずれかにあてはまること
  - 水溶性タンパク質（細胞内タンパク質、細胞外タンパク質、ウイルス・細菌由来タンパク質）
  - 一回膜貫通型タンパク質（受容体型チロシンキナーゼ等）
  - 産業用酵素

なお、本コースでは、成果の取り扱いに応じて利用制度のカテゴリを設定予定です。トライアルユース以外の利用制度については、後日、追加掲載する予定です。

##### 4.1. トライアルユース 初めて宇宙実験を実施される方が対象

###### 概要

宇宙実験を試用的に利用できます。費用は頂きません。原則として、1法人につき1回のみ利用可能です。試料調製段階を含む結晶化条件検討、回折データ測定等のサポートを受けることができます。

###### 募集期間

常時受け付けています。なお、実験機会ごとに締め切りは設定しています。緊急応募テーマについては別途対応いたしますので、ご相談ください。

###### 応募の単位

申込は、1法人につき原則1回限りです。ただし、タンパク質種が異なる場合にはご

相談ください。申込の最小単位は1タンパク質試料・1条件（キャピラリー2本）です。1提案者あたり最大2タンパク質試料、各6条件（最大24キャピラリー分）まで搭載可能です。

#### 搭載候補の選定

提出いただいた書類を基に、外部委員から構成される「高品質タンパク質結晶生成実験ワーキンググループ（以下「タンパク質WG」という）」にて安全性、実現性等の評価を行い、搭載候補として選定します。

#### 搭載数の決定

最終的な搭載数は提案者ならびにJAXAで行う宇宙実験に向けた結晶化条件検討実験の状況等を踏まえ提案者と調整します。その後、タンパク質WGにて最終決定します。

#### 宇宙実験に向けた役割分担

タンパク質試料、各種溶液類等は原則として提案者が準備するものとします。宇宙実験はJAXAが実施します。なお、提案者の希望があれば、宇宙実験に向けた結晶化条件検討や、結晶の取り出し、回折データ取得等について技術支援いたします。結晶化条件検討等に必要な情報は提案者より提供いただきます。

#### JAXA との契約形態

提案タンパク質が搭載候補に選定された場合には、提案者（法人）とJAXAとの間で約款形式の利用契約（受託契約）を締結していただきます。経費のやり取りはありません。

#### 実験結果の速報と事後評価

宇宙実験終了後に「結果取り纏めシート」を送付いたします。提案者側で回折実験を行う場合は、実験で得られた結晶の回折データ取得日から60日以内に、本シートに実験結果等を記載頂き、速報として提出いただきます（11.1項「結晶品質情報の提供」を合わせて参照ください）。また、宇宙実験から5年後を目途に実施を予定している事後評価へのご協力をお願いします。

#### 公表情報

宇宙実験への搭載が最終決定した際には、提案法人名、簡易的実験目的（創薬、産業用酵素の解析、等）を、JAXA HP 等にて公表させていただきます。また、宇宙実験

後に速報、ならびに X 線回折実験の結果と宇宙実験の効果、その他宇宙実験に関するご意見等について報告いただきます。公表情報については、参考資料 3「情報の取り扱いについて」も合わせて参照ください。

#### **タンパク質等を構成する原子の位置情報等の帰属**

本研究で取得した回折データから得られたタンパク質等を構成する原子の位置情報を含むタンパク質の構造解析の結果は、提案者に帰属するものとします。

#### **知的財産権**

共同で行った発明等に係る知的財産権については、その貢献度、持ち分および特許出願等の可否等について別途協議の上、決めるものとします。

### **4.2. 後日掲載予定**

## **5. 応募資格**

応募に際して、以下の条件を満たしているか確認ください。

- 提案者の所属が日本国内の民間企業、または企業と連携のある大学・公的研究機関であること。
- JAXA との間で利用契約（受託契約）の締結が可能であること。

## **6. 応募書類**

### **6.1. 提出書類**

ご応募の際に提出していただく書類は以下の 4 種類です。

- (1) 申込書
- (2) テーマ提案書（参考資料 5）
- (3) 申込データシート（参考資料 6）
- (4) タンパク質試料の安全性に関する保証書（※）（参考資料 7）

（※）タンパク質試料に毒性・病原性がないこと、ならびに外為法／輸出貿易管理令の定める戦略物資に該当しないことを証明いただく書類です。

(1),(2),(3)は指定の電子ファイル形式でお送りください。また、(1),(2),(4)については指定の電子ファイル形式とともに、署名・押印後のカラースキャンを PDF ファイル形式にしたものも合わせてお送りください。

## 6.2. データシート記載情報の開示

実験実施の手続き上、以下のデータを提出していただく必要があります。頂いた情報は下記機関に対してのみ限定的に開示致しますので予めご了承願います。それ以外の情報については、提案者のご了承なしに開示することはありません。必要に応じて、別途、秘密保持契約を締結することも可能です。

### タンパク質の略称

宇宙実験搭載の安全性判断のため NASA 及びロシアの宇宙機関に提出いたします。他との識別が可能な程度の略号でも結構です。

### タンパク質の生物学的機能

宇宙実験搭載の安全性判断のため NASA 及びロシアの宇宙機関に提出いたします。

### タンパク質の由来、発現系等

宇宙実験搭載の安全性判断のため NASA 及びロシアの宇宙機関に提出いたします。

### タンパク質の安全性の提案者による保証

宇宙実験搭載の安全性判断のため NASA 及びロシアの宇宙機関に提出いたします。

### 輸出に当たって戦略物資に該当しないことの提案者による証明

タンパク質をロシアに輸出する際、外為法、輸出貿易管理令の定めに従い戦略物資に該当しないことの証明に使用いたします。

### 結晶化溶液の組成の概略

宇宙実験搭載の安全性判断のため NASA 及びロシアの宇宙機関に提出いたします。また、タンパク質をロシアに輸出する際、外為法、輸出貿易管理令の定めに従い戦略物資に該当しないことの証明に使用いたします。

### タンパク質の特記すべき特徴

宇宙実験搭載の安全性判断のため NASA 及びロシアの宇宙機関に提出いたします

## 6.3. 募集締切り

平成 26 年 11 月 17 日（月） 17 時まで

ただし、社内手続き等で上記締切に間に合わない場合は別途ご相談下さい。



#### 6.4. 書類提出先

提出書類は電子メールに添付し、下記メールアドレスまで送付ください。

E-mail: Z-crystal@jaxa.jp

JAXA宇宙環境利用センター JAXA PCG募集担当 宛

#### 7. 搭載候補決定の連絡

平成 26 年 12 月上旬開催予定のタンパク質WGで選定を行い、各提案者に電子メールにて内示の連絡をいたします。

正式な通知書面（実施承諾書）は平成 26 年 12 月中を目途に送付いたします。

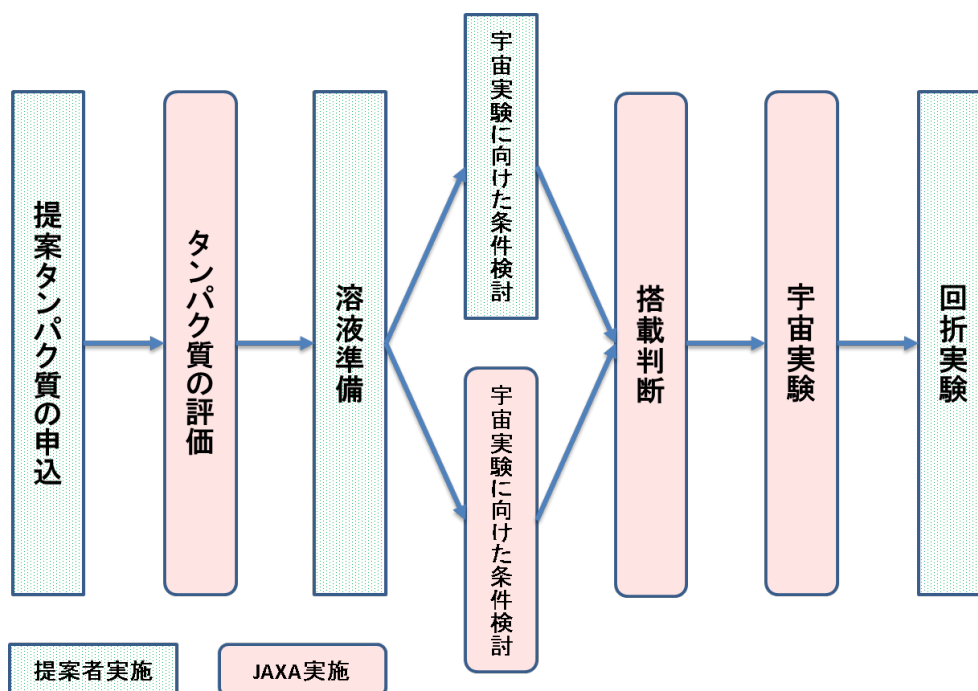
#### 8. 受託契約について

宇宙実験に際して、提案者と JAXA との間で約款方式による利用契約（受託契約）を締結させていただきます。利用契約締結の際には、国際宇宙ステーションでの実験に関する特約事項についてご了承いただく必要があります。

なお、募集要項と利用契約書の記述に齟齬がある場合は、利用契約書の記述が優先となります。

#### 9. 実験準備から回折実験までの流れ

提案タンパク質の申込から回折実験の実施までの流れは以下の通りです。



## 9.1. 宇宙実験に向けた技術支援

JAXA が行う技術支援の概要は以下の通りです。

- 提案者と同等の方法で結晶生成の再現性を確認します。またタンパク質試料の性状を確認いたします。
- 提案者と調整のうえ、必要に応じてタンパク質試料の精製を行います。
- 必要に応じて試料の経時変化を検討します。
- 一部試料については微小重力効果の予測技術実験に供します。
- ゲルチューブ法による結晶化実験を実施し、カウンターディフュージョン法に適した結晶化条件を絞り込みます。
- 必要に応じて条件検討過程で生成した結晶の品質確認を行います。
- 提案者と調整のうえ、必要に応じて地上実験で生成した結晶を定期的に凍結保存し、結晶品質の経時変化を確認します。
- 宇宙実験帰還後の結晶をキャピラリーから取出し、凍結保護を行って放射光施設での回折データ取得実験に供します。

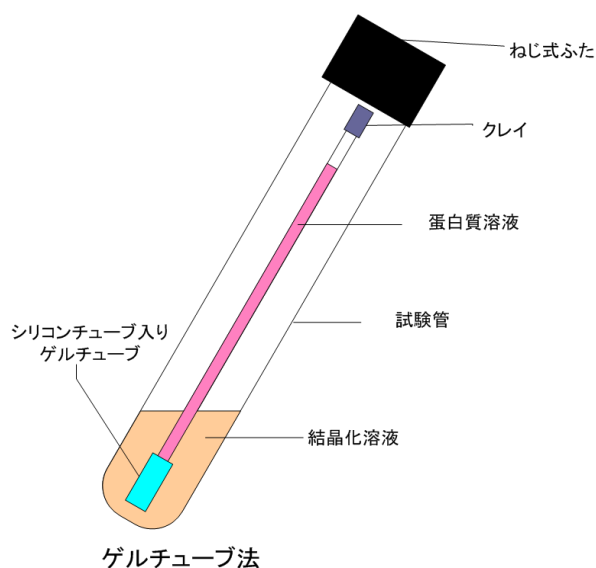
なお提案者との調整により、上記に加え下記のような技術支援も実施できます。

- 試料均一性の確認と均一性向上に関わる実験技術の提案（各種電気泳動、クロマトによる分析、精製等）
- 粗精製試料の高度精製条件の検討
- 回折データの取得、スケーリング
- 地上確認実験で得られた結晶の回折実験
- 大型結晶作成時の相図作成

## 9.2. 宇宙実験に向けた結晶化条件検討

宇宙実験に向けた結晶化条件の検討は、提案者側でも実施してください。宇宙実験を初めてご利用の方には、必要に応じて技術支援を行います。

条件検討はゲルチューブ法で行ってください。また、宇宙実験と同等の充填条件による実施をお願いします。なお、結晶化条件の検討は、受付データシート提出時の結晶化条件の範囲内で行ってください。特に、新たな試薬が追加されると、安全性判断等の承認手



続きに問題が生じ、宇宙実験を実施できなくなる可能性があります。ご注意ください。

搭載判断前に、結晶化条件の検討状況をお伺いいたします。JAXA での条件検討結果と提案者の結果を踏まえて搭載判断を行います。

ゲルチューブ法での結晶化条件検討に関してご不明な点がある場合は、12.2 項に示すお問い合わせ先にご連絡下さい。

### 9.3. 溶液送付

12 月下旬を目処に提出をお願いする予定です。電子メールにて内示後、タンパク質試料、結晶化溶液、ならびにバッファ溶液を送付いただきます。標準的に必要な溶液量は、以下の通りです。

タンパク質溶液	50 $\mu$ l 以上
結晶化溶液	10ml 以上
バッファ溶液	10ml 以上

タンパク質試料ならびに結晶化溶液は、可能な限り、事前に結晶生成が確認できている試料と同じロットのものをお送りください。

宇宙実験への搭載決定後には、改めて宇宙実験、及び地上確認実験（バックアップ用を兼ねる）に必要な溶液を送付いただきます。

必要な溶液量については、別途個別に連絡、調整させていただきますが、宇宙実験を行う場合には最低でも以下の溶液量が必要となります。

タンパク質溶液	50 $\mu$ l 以上
結晶化溶液	7ml 以上
ゲル浸漬溶液	10ml 以上

（ゲルチューブの浸漬をお願いすることがあります）

結晶の取り出しと凍結保護作業を JAXA が行う場合、以下の溶液の提出をお願いすることがあります。

クライオプロテクタントを添加した結晶化溶液	数 ml
クライオプロテクタントを添加したバッファ溶液	数 ml

### 9.4. 搭載判断

提案者および JAXA で行う宇宙実験に向けた条件検討の結果に基づき、タンパク質 WG において搭載の可否ならびにその条件数等を決定します。搭載決定の通知は 2015 年 6 月上旬の予定です。

## 9.5. 宇宙実験の実施

宇宙実験用と地上確認実験用を1セットとして実験を行います。宇宙実験用の容器にトラブルが発生した場合は、地上確認実験用の容器を宇宙実験に供します。これらの作業はJAXAが行います。

## 9.6. 結晶引渡し

宇宙実験から帰還した結晶は、JAXAが日本に輸送します。開梱作業後に外観検査、光学観察等を行い、結晶生成状況をご連絡いたします。

提案者への結晶の引渡しは、支援業者所在地もしくは放射光施設のビームラインのいずれかとなります。なお地上確認実験で生成した結晶も合わせてお渡しいたします。また状況に応じて、キャピラリーからの取り出しと凍結保護作業をJAXAが支援致します。

詳細については回収後、提案者と調整させていただきます。

## 10. 注意事項

以下は宇宙実験の制約に係る事項です。テーマ提案にあたってはご注意ください。

### ① 結晶生成の再現性情報を提供してください。

宇宙実験機会や搭載量は限られています。結晶生成の再現性についての正確な情報は、有用な成果を得るうえで重要です。

### ② 試料・溶液類の提出量、提出期限を守ってください。

試料・溶液類の提出をお願いする際、必要な量と期日を合わせてお知らせします。これらが守られないと精密な条件検討ができません。また、このようなケースでは、宇宙実験を行っても良い結果は期待できません。

タンパク質試料の純度、安定性、精製ロットごとの結晶性の違い等については、提案者側で管理してください。

### ③ 事前の地上実験で、結晶生成条件を十分に検討してください。

提案者に提出いただいた結晶化条件を基にして、宇宙実験のための条件検討を行います。その際、大幅な溶液条件の変更は行いませんので、できる限り結晶生成条件を絞り込んでおいてください。なお、提案者との調整により、結晶生成条件の最適化作業を支援することも可能です。

### ④ 結晶生成温度について

宇宙実験の温度環境は $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ （打上げ／回収／地上輸送時は、 $20\pm 5^{\circ}\text{C}$ ）で

す。この温度での結晶生成が見込めない試料は、現在のところ受け付けることができません。ただし他の温度環境についてもしご要望がある場合には、将来に向けてご一報ください。

⑤ タンパク質安定性について

宇宙実験では試料の充填から回折実験まで2~4.5ヶ月かかります。このため、長期にわたり20℃近傍でタンパク質試料が変性しないことが求められます。タンパク質の安定性に不安がある場合は、お知らせください。

⑥ カビ等の発生防止

溶液の調製に際しては、防カビのため若干の防腐剤の添加をお願いします。なお、防腐剤については溶液組成に記入する必要はありません。

⑦ 宇宙実験実施スケジュールの変更の可能性について

輸送機の打ち上げ時期の遅延等、諸般の事情により、やむを得ず宇宙実験のスケジュールが変更になることがあります。あらかじめご承知おきください。

## 11. 成果の取り扱い

### 11.1. 結晶品質情報の提供

宇宙実験ならびに地上実験にて得られた結晶を用い、提案者側で回折データを取得したときには、JAXAよりお送りする「結果取り纏めシート」に結晶の品質に関わる以下のデータを記載し、回折データ取得日から60日以内に報告をお願いいたします。この際、宇宙実験ならびに地上実験で生成した結晶の比較ができるように、出来る限り同一のX線回折実験条件で測定、解析をお願いします。

これらの情報は目的達成基準の判定、ならびに今後の宇宙実験に必要な基礎データとして利用させていただきます。なお、これらの情報は提案者の了承なしに公開することはありません。

#### 【結晶品質情報】

- ・ Full sphere resolution range、 R merge value、 R symm value、 completeness(%)、 I/sigma(I)
- ・ Highest sphere resolution range、 R merge value、 R symm value、 completeness (%)、 I/sigma(I)
- ・ Mosaicity

また、今後の宇宙実験に必要な基礎データとして、以下の情報も合わせて蓄積させていただきます。なお、④、⑤の情報は JAXA から提案者に無償で提供させていただきます。

- ① タンパク質の分子量
- ② 地上での結晶化条件
- ③ ②の条件で結晶化を行った際の結晶生成状況
- ④ 宇宙実験に向けた結晶化条件検討結果、地上での結晶生成時間経過、光学観察像、結晶化状況
- ⑤ 宇宙実験での結晶化状況、光学観察像
- ⑥ 提案試料の宇宙生成結晶に対する微小重力効果についての所見

また、これらのデータの一部もしくは統計値を、タンパク質名や提案者が特定されない形で、学会、展示会、他の宇宙機関との情報交換等で発表する場合がございます。あらかじめご了承くださいますようお願いいたします。

## 11.2. 成果発表時のお願い

宇宙実験で得られた成果を公表する場合には、「きぼう」日本実験棟を利用した成果であること、ロシア連邦宇宙局のプログレス／ソユーズ宇宙船を輸送手段として利用したこと、並びにヨーロッパ宇宙機関及びグラナダ大学が開発した技術を利用していることを謝辞として入れていただくようお願いいたします。公表の際には以下の定型文をご利用下さい。

### 【日本語】

本研究の一部は、(独)宇宙航空研究開発機構が実施している「「きぼう」利用高品質タンパク質結晶生成実験」を利用して行ったものである。また、ロシア連邦宇宙局との協力によりプログレス／ソユーズ宇宙船を利用している。宇宙実験でのタンパク質結晶生成技術の一部は、ヨーロッパ宇宙機関とスペインのグラナダ大学が共同で開発したものである。

### 【英語】

This study is contributed by a part of “High-Quality Protein Crystal Growth Experiment on KIBO” promoted by JAXA (Japan Aerospace Exploration Agency). Russian Space craft “Progress” or/and “Soyuz” provided by Russian Federal Space Agency were used for space transportation. A part of space crystallization technology had been developed by European Space Agency and University of Granada.

## 12. 実施体制及び問合せ先

### 12.1. 実施体制

JAXA PCG においては、JAXA が日本側の全体のとりまとめをいたします。募集作業、実験準備、技術調整等に関する作業の一部を外部に委託し、図1の体制で実施いたします。

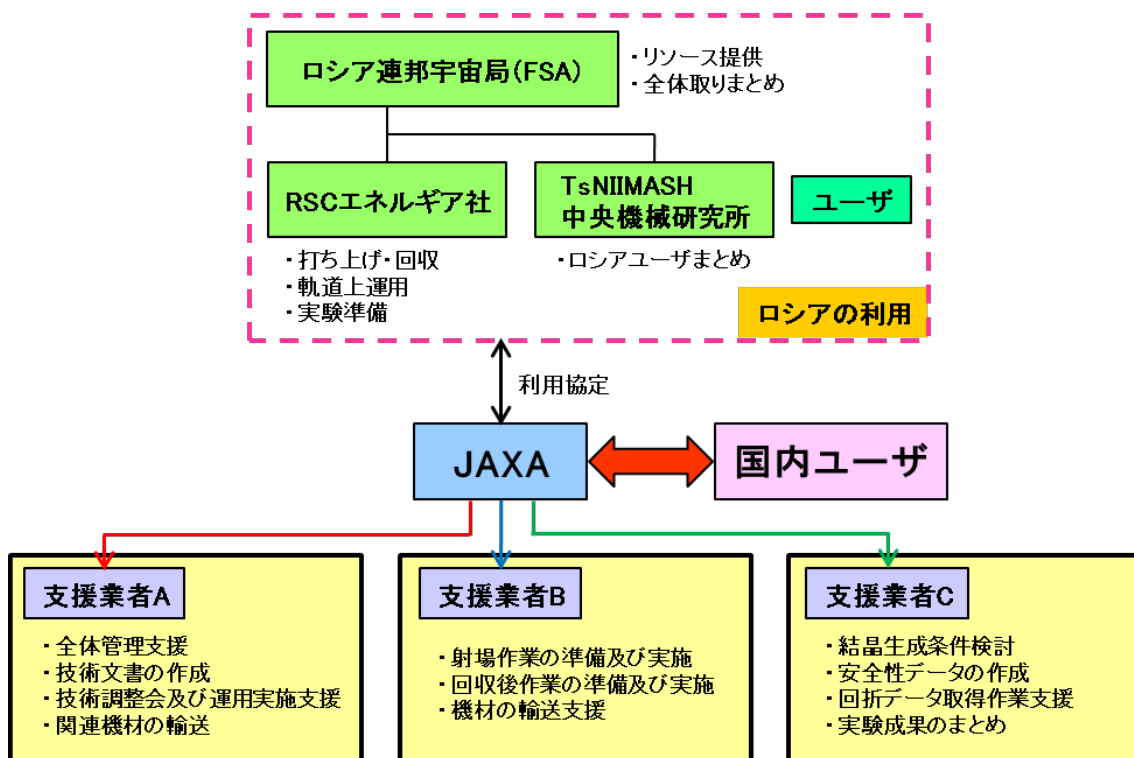


図1. 実施体制

### 12.2. 問い合わせ先

募集全般に関してご不明な点をご遠慮なくお問い合わせ下さい。

E-mail: Z-crystal@jaxa.jp

JAXA 宇宙環境利用センター JAXA PCG 募集担当

## 参考資料 1 宇宙実験準備実験装置

### タンパク質結晶生成実験装置「PCR<sup>※</sup>」

最大144種類のタンパク質を搭載でき、一度にさまざまな結晶の生成実験を行うことができる先進の装置です。  
結晶生成中の庫内温度が約20℃となるように制御されています。

※ Protein Crystallization Research Facility



### セルユニット

PCR内へセットされるセルユニットです。  
各ユニットの中に結晶化容器を最大で12個搭載して使用します。  
ユニットごとに温度をコントロールすることができます。  
庫内の温度はリアルタイムで測定されており、地上で確認することができるだけでなく、打ち上げから回収までの温度がデータとして記録されます。



### 結晶化容器「JCB-SGT<sup>※</sup>」

標準的に使用する結晶化容器です。  
PET製シートでできた細長い筒状の袋で、それぞれ個別に結晶化条件を設定することができます。  
それぞれの袋にゲルチューブを装着したキャピラリーを2本ずつ装填します。シンプルな構造・軽量・高密度という特徴があり、宇宙実験に適しています。

JCB-SGTへの溶液の充填は地上で行います。結晶の生成が国際宇宙ステーション到着後に始まるよう、結晶化溶液やタンパク質溶液の濃度、ゲルチューブの長さを調整します。

※ JAXA Crystallization Box - Sealbag Gel Tube





## 参考資料2 宇宙でのタンパク質結晶化実験のメリット

### 宇宙実験参加のメリット

「結晶化に成功したが、結晶品質が低いため構造を決定できない。」

「構造解析に成功したが、分解能が低いため詳細な構造を決定できない。」

「構造解析ができれば研究・開発が進展するが、結晶解析の技術がない。」

宇宙での結晶生成実験を行うことで、そのような問題が解消されるかもしれません。  
宇宙の微小重力環境では、密度差対流が抑制され、タンパク質の濃度勾配が維持されます。  
そのため不純物が少なく分子配列の揃った高品質な結晶が生成される可能性が高まります。  
ぜひこの機会をご活用ください。

#### 参加費用無料

本プロジェクトへの応募および  
宇宙実験の実施に関する費用は**全て無料**です。

(トライアルユースの場合)

#### JAXAからの技術支援

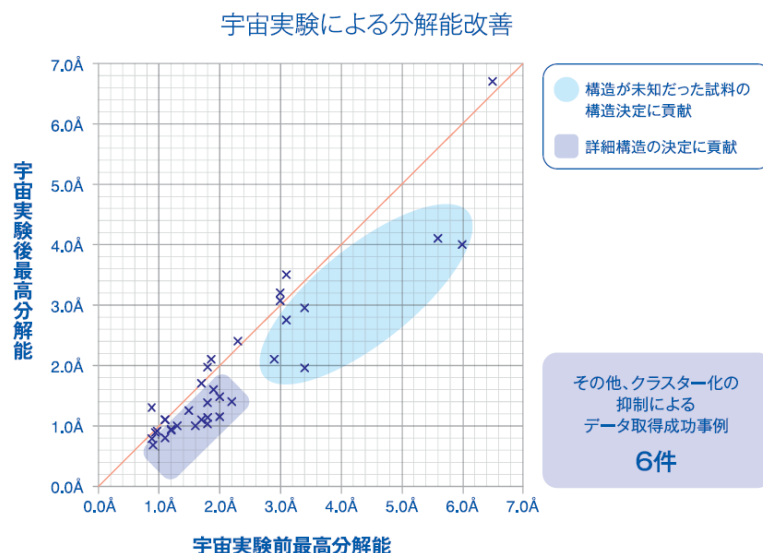
JAXA側の事前実験によって生成された結晶を  
提案者へ提供するなど、広く技術支援を行います。

### 宇宙実験による分解能改善実績

### 第1期実験シリーズ第1回から第5回の成果のまとめ

低分解能およびクラスター化のため回折データの収集・解析が困難な試料について、  
その構造決定に貢献できる可能性があります。

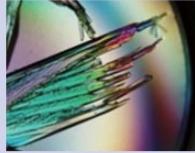
**1Åを超える超精密構造解析に貢献することも可能です。**



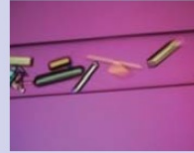
## 微小重力環境の効果

### クラスター化の抑制

地上実験

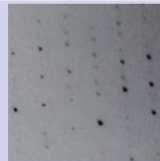


宇宙実験



### モザイシティの改善

地上実験



0.523

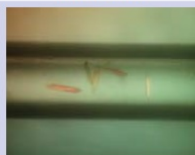
宇宙実験



0.209

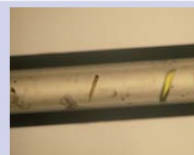
### 分解能の改善

地上実験

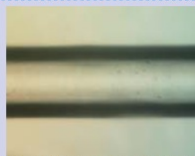


1.48 Å

宇宙実験



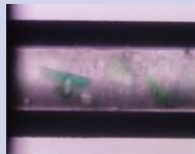
1.14 Å



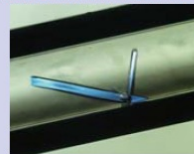
沈殿



1.50 Å

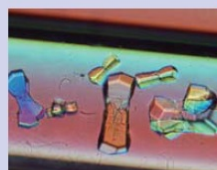


1.30 Å

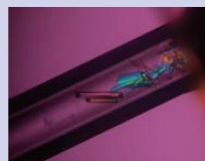


1.06 Å

### ツイン結晶の解消



### 異なる空間群の結晶の生成



$P2_1$   
65.5, 102.2, 75.4,  
103.8



$P2_12_12_1$   
50.2, 66.1, 131.9



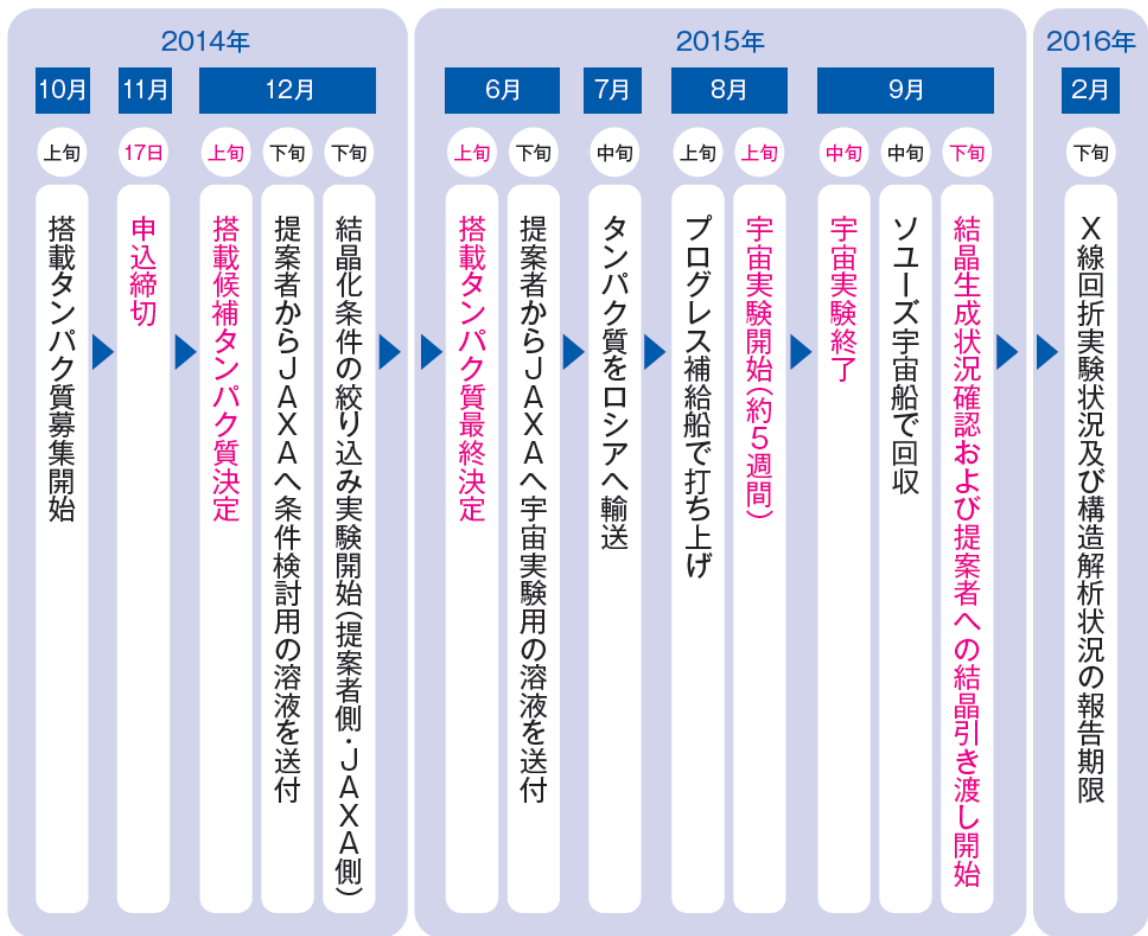
$P4_32_12$   
67.0, 67.0, 270.0

### 参考資料 3 情報の取り扱いについて

トライアルユースの情報の取り扱いは以下のとおりです。

情報項目	源泉	提出時期	トライアル ユース	公開時期
提案者名	提案書	提案受付時	非公開	搭載決定時
提案機関名(＊2)			公開(＊1)	搭載決定時
タンパク質略称			非公開	
選択型簡易目的			公開	搭載決定時
公表可能なタンパク質機能			公開	宇宙実験終了から 6カ月後
達成目標			非公開	
実験目的			非公開	宇宙実験終了から 6カ月後
タンパク質基本情報(＊3)	申込 データシート		限定公開 (＊4)	宇宙実験終了から 6カ月後
タンパク質安全性情報			非公開	
結晶化関連溶液情報			非公開	
宇宙実験前 地上実験成果(＊5)			限定公開 (＊4)	宇宙実験終了から 6カ月後
結晶化、回折実験状況			非公開	
希望実験条件、その他			非公開	
地上実験を含む 宇宙実験成果(＊5)	成果 取り纏め シート	提案者側で回折実験を行う場合、実験で得られた結晶の回折データ取得日から 60 日以内	限定公開 (＊4)	宇宙実験終了から 6カ月後
<p>(＊1) 公開とは不特定多数の人が閲覧できる状態を指します。非公開とは JAXA、支援業者、タンパク質 WG 委員だけが閲覧できる状態を指します。ただし例外として、安全性判断に係る情報については、NASA およびロシア宇宙局が上記に加わります。なお情報を公開する場合でも、対象タンパク質や提案者を特定できるような情報の場合には、提案者の了承を得ずに公開することはありません。</p> <p>(＊2) 提案者および共同研究者の所属機関名称(企業名、大学名、公的研究機関名)を指します。</p> <p>(＊3) 水溶性か膜タンパク質か。局在は細胞内か細胞外か。由来はヒトか、バクテリアか、ウイルスか。その他、等電点、分子量等の基本的な情報</p> <p>(＊4) 限定公開とは、統計データとしての公開、または提案者、タンパク質名を特定できない状態として公開することを指します。統計データの具体的な例としては、地上よりも分解能が上がった試料を実験機会毎に集計する場合に、数に含めて計算するということを指します。</p> <p>(＊5) Full sphere と highest sphere の resolution range, R merge value, R symm value, completeness(%), I/sigma(I)および Mosaicity</p>				

参考資料4 スケジュール概略



参考資料5 テーマ提案書

テーマ提案書には、提案タンパク質に係る基本的な事項を記入いただきます。提案者の所属が大学・公的研究機関である場合は、研究体制の項目に企業側の共同研究者名等を記載するなどして、企業との連携が明確になるようにして下さい。

1つのテーマ提案に関連するタンパク質（例：ネイティブタンパク質、変異体タンパク質1、変異体タンパク質2・・・、あるいはテーマに関連する異種のタンパク質）であれば、複数種類のタンパク質を1つの指定の電子ファイルに記入ください。同一のタンパク質に対して、多種類のリガンド化合物を結合させた複合体結晶の生成を想定する場合は、1種類として記載ください。テーマ提案書の記載に関してご不明な点がある場合は、12.2項に示すお問い合わせ先にご連絡下さい。

提案書（（例）トライアルユース）

※以下は第2期シリーズ第2回実験用の様式です。今後変更される可能性があります。

JAXA PCG 第2期 #2 テーマ提案書			民間利用/トライアルユース	
区分	項目			記入欄
基本情報	テーマ名			〇〇の構造決定
	提案日			平成25年9月1日
	研究代表者の自署/押印			蛋白 七郎 (印)
提案記号・番号				
研究代表者所属機関等	所属機関			〇〇製薬株式会社
	研究代表者/役職			蛋白 七郎/医薬研究センター センター長
	研究代表者氏名/所属機関 英文表記			Shichiro Tanpaku /Director of the Laboratory for medical chemistry research center
	電話番号	03-1111-2234	連絡先住所	111-2234 東京都千代田区千代田1-1
	E-mailアドレス			tanpaku@00pham.co.jp
提案タンパク質	選択型簡易目的			創薬ターゲット
	提案タンパク質略称1 英数文字15字以内)			TAA1
	提案タンパク質略称2 英数文字15字以内)			TAA2
	公表可能な、タンパク質の機能もしくは名称等			hydro lyase
提案内容	達成目標			地上で2.3 Å分解能の構造を1.0 Åまで向上することを目標とする
	実験目的			地上で2.3 Å程度の構造しか得られていないタンパク質が、宇宙実験を行うことで1.0 Å程度の良い分解能で構造決定できるかどうかを判断したい。
研究体制	共同研究者 1/ 役職			宇宙 七子/ 部長
	共同研究者 1所属機関			〇〇製薬株式会社
	共同研究者 1分担概要			全体の統括
	共同研究者 2/ 役職			航空 七太/ 研究員
	共同研究者 2所属機関			〇〇製薬株式会社
	共同研究者 2分担概要			タンパク質の発現、精製
	共同研究者 3/ 役職			研究 七美/ 研究員
	共同研究者 3所属機関			〇〇製薬株式会社
	共同研究者 3分担概要			結晶化実験
	共同研究者 4/ 役職			開発 七夫/ 研究員
	共同研究者 4所属機関			〇〇製薬株式会社
	共同研究者 4分担概要			構造解析

## 参考資料 6 申込データシート

申込データシートの情報は、提案タンパク質に関する安全性の確認、輸出時の戦略物資非該当証明、ならびに宇宙実験に向けた結晶化条件検討試験に利用します。記入に関しては、以下の点をご注意下さい。

- ・ 専用のExcel シートを用い、提案タンパク質に関わる事項、データ等を記入下さい。
- ・ 記入欄をクリックすると記入内容の説明が表示されます。この際、セルによってはドロップダウンメニューで選択肢を選んでください。記入例をご参照ください。
- ・ テーマ提案書に記載の提案タンパク質名が表示されているシートに、対応するタンパク質の調製状況、および結晶化状況について、詳細をご記入ください。結晶の写真も貼付ください。同一タンパク質試料の場合、結晶化条件は最良の条件を1つだけ記載して下さい。複数の結晶化条件や複数の阻害剤との複合体結晶の生成を希望する場合には、申込データシート最下段「その他」の欄に、その旨ご記入ください。
- ・ 受付後に試薬の追加はできません。申込後に溶液組成を変更する可能性がある場合には、申込時点で想定される試薬すべてについて、記載くださいますようお願いいたします。
- ・ 宇宙実験には、毒性・病原性のある試料は搭載できません。
- ・ 以下の4点の安全性を確認の上、「タンパク質試料の安全性の確認」欄に記入をお願いします。
  - i. タンパク質の安全性： 当該タンパク質にはヒトへの毒性または病原性はない
  - ii. 原材料の安全性： 当該タンパク質の原材料とした生物種はヒトへの毒性または病原性を獲得する可能性がない
  - iii. 製造工程の安全性： 当該タンパク質の製造には毒性または病原性微生物の混入のない製造工程が保証されている
  - iv. そのための品質の要件： 当該タンパク質は、以上の安全性の保証、原材料の安全性の保証、製造工程の安全性の保証、またその後の最低限の品質検査（電気泳動で単一ピークを呈すること等）により、毒性または病原性物質の混入がないことが確認されている
- ・ 「WHO 安全アセスメントレベル」は参考資料 8 を参照の上、そのレベルを記入願います。詳細は以下のホームページを参照下さい。

英語版：

<http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety7.pdf>

日本語版：

[http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety3\\_j.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/Biosafety3_j.pdf)

- 「外為法/輸出貿易管理令による戦略物資に該当の有無」欄は、以下のホームページで「輸出貿易管理令別表第1 3の2(1) 軍用細菌製剤の原料」を確認し、判断のうえ記入下さい。

<http://www.meti.go.jp/policy/anpo/law02.html>

### 1 / 3 ((例) トライアルユース)

JAXA PCG 第2期 #2 申込データシート				
区分	項目		記入欄	
タンパク質名称			TAA1	
コース/型	民間利用/ トライアルユース	受付番号		
申込責任者	所属機関		〇〇製薬株式会社	
	申込責任者/役職		蛋白 七郎/ 医薬研究センター センター長	
	申込責任者氏名英文表記		Shichiro Tanpaku	
	E-mailアドレス		tanpaku@00pham.co.jp	
担当者	実験担当者 (コンタクトポイント)/役職		研究 七美/ 研究員	
	実験担当者氏名英文表記		Nanami Kenkyu	
	連絡先住所 (郵便番号も記入)	111-2234	東京都千代田区千代田1-1	
	連絡先電話番号/ファックス番号		03-1111-2235/03-1111-2236	
	E-mailアドレス		kenkyu@00pham.co.jp	
タンパク質の物理化学的情報	分子量 (計算値)		25234	
	分子量 (実測値、サブユニット等の泳動位置も含む)		25000	
	等電点 (計算値、実測値の別も記入)		6.5	
タンパク質基本情報		タンパク質の性質	水溶性タンパク質	タンパク質の局在 細胞外
タンパク質の安全性情報	タンパク質試料の安全性の確認		Yes	
	WHO 安全アセスメントレベル		Risk Group 1 (no or low individual and community risk)	
	外為法/輸出貿易管理令による戦略物資非該当の確認		非該当	
	生物学的機能 (英文)		hydrolase	
	天然タンパク/組換えタンパクの別		native protein	
	対象タンパク質の由来となる生物種		Aspergillus oryzae	
	タンパク質試料の生成系	生物種名	Aspergillus oryzae	
		株名		
		メーカー	TT Science	
		ATCC ナンバー	16507	
タンパク質溶液搭載想定最大濃度		100.00	mg/ml	
毒性化合物		なし		

(1) タンパク質試料 (溶液) の調製状況について						
蛋白質濃度	75	μg/ml	pH 数値)	7	濃度 数値)	濃度単位
組成 1	Tris-HCl				50	(mM)
組成 2	Calcium chloride				2	(mM)
組成 3	Sodium azide				0.04	(%)
組成 4						
組成 5						
組成 6						
組成 7						
組成 8						
組成 9						
組成 10						
タンパク質調製	タンパク質調製実施者/役職	航空 七太/研究員				
	タンパク質調製量	数~10mg				
	調製頻度	数ヶ月に1回				
	調製の再現性	あまり高くない (80~80%)				
	品質の確認方法	SDS-PAGE				
	再現性の状況	ばらつきはない				
	長期間の保存性	可能				
	長期保存方法	粉末を凍結				
	保存試料での結晶化	可能。結晶品質への影響なし				
保存試料結晶化の実験操作	必要 遠心分離					
(2) 結晶生成状況について						
リザーバ溶液組成、濃度、pH	pH 数値)	6.5	濃度 数値)	濃度単位		
組成 1	PEG 8000		40	(%)		
組成 2	Sodium acetate		100	(mM)		
組成 3	Calcium chloride		2	(mM)		
組成 4						
組成 5						
組成 6						
組成 7						
組成 8						
組成 9						
組成 10						
結晶化関連試薬の入手状況		入手困難なものはない				
結晶化方法の実験操作	結晶化方法	ハンギングドロップ				
	具体的な実験操作	タンパク質溶液とリザーバ溶液を1:1で混合してドロップを作成				
	シーディングの有無	なし				
	特殊操作、結晶化に関する特記事項	特殊操作はありません				
結晶生成の再現性	結晶化温度	20	結晶写真			
	ロットごとの再現性	低い				
	同一ロット試料の再現性	高い				
結晶成長	結晶が生成し始めるまでの日数	1週間~2週間				
	結晶成長の速さ	2週間以上				
	結晶の大きさ (μm)	0.05*0.05*0.05				
生成結晶の安定性	生成結晶の経時安定性	安定				
	生成結晶の温度安定性	ある				
複合体結晶	複合体結晶調製方法	共結晶				
	複合体結晶実験操作	結晶化実験開始時にタンパク質溶液に化合物粉末を混合				



(3) 回折実験状況		
過去の文献またはPDB登録 もしある場合)	結晶化方法/容器	ハンギングドロップ
	回折実験状況分解能 (Å)	2.0
受付時以前利用 者での結晶 化状況	結晶化方法/容器	ハンギングドロップ
	評価分類	6.既に構造解析済
	結晶寸法 (nm)	0.05*0.05*0.01
	性状	柱状単結晶
	回折実験状況	取得回折データで構造得られず
	ビームライン/施設名	SPring-8 BL41XU
	回折実験実施取得日	2012年8月8日
	回折実験実施温度 (K)	100
	目視で確認した最高分解能 (Å)	1.9
	データセットの統計値から判断した最高分解能 (Å)	2.0
	構造解析で利用した最外殻回折分解能 (Å)	2.0
	空間群	P1
	格子定数	95.0, 98.5, 120.3, 89.3, 90.5, 92.2
	Mosaicity	0.13
	Rmerge	0.23
	Completeness	96.1
I/σ (I)	8.8	
結晶の多型について	P21の結晶が得られる場合があるが構造解析には至っていない。	
希望実験条件	結晶化試薬であるPEG 8000濃度を振ったいくつかの結晶化条件 (3条件くらい) での結晶化を希望します。 また、本酵素の阻害剤化合物 (2種類) との複合体結晶作成を希望します。	
その他、特記 事項、留意点	本酵素は、同一ロットでは性状が安定しているが、ロット間の違いが大きい。 一度の精製で得られるタンパク質量が少ないため、質の良いロットを得るために、複数回の精製を行い、ロット間の差をなくすようにする必要がある。	

参考資料 7 タンパク質試料の安全性に関する保証書

タンパク質試料の安全性に関する保証書			
タンパク質名称：		TAA1	
1. 上記タンパク質 以下当該タンパク質というは、以下の点で安全性が保証されています。 1) タンパク質の安全性： 当該タンパク質にはヒトへの毒性または病原性はない 2) 原材料の安全性： 当該タンパク質の原材料とした生物種はヒトへの毒性または病原性を獲得する可能性がない 3) 製造工程の安全性： 当該タンパク質の製造には毒性または病原性微生物の混入のない製造工程が保証されている 4) そのための品質の要件： 当該タンパク質は、以上の安全性の保証、原材料の安全性の保証、製造工程の安全性の保証、またその後の最低限の品質検査（電気泳動で単一ピークを呈すること等）により、毒性または病原性物質の混入がないことが確認されている			
2. 当該タンパク質は、すべて実験用のものであり、以下に示す輸出貿易管理令、別表第 1 の 1 項（14）および別表 1 の 3 項（1）および別表 1 の 3 の 2 項（1）に該当するものではありません。			
日付		平成25年9月1日	
所属機関		〇〇製薬株式会社	
研究代表者/役職		蛋白 七郎/医薬研究センター センター長	
署名		蛋白 七郎	印鑑
輸出貿易管理令、同別表第1等は <a href="http://www.metigo.jp/policy/ampo/index.htm">http://www.metigo.jp/policy/ampo/index.htm</a> を参照ください。最終改正は平成23年12月26日公布、平成24年2月1日施行。以下に、平成25年8月8日時点の抜粋を示します。			
1) 輸出貿易管理令 別表第 1 の 1 項（14） 軍用の化学製剤の探知若しくは識別のための生体高分子（※ 1）若しくはその製造に用いる細胞株又は軍用の化学製剤の浄化若しくは分解のための生体触媒（※ 2）若しくはその製造に必要な遺伝情報を含んでいるベクター（※ 3）、ウイルス若しくは細胞株 注： ※ 1 生体高分子： 以下のいずれかに該当するものをいう。 イ、酵素 ロ、モノクローナル抗体、ポリクローナル抗体、抗イデオタイプ抗体 ハ、レセプター ※ 2 生体触媒： 生体化合物のうち特定の物質に結合し、分解を促進するものであって、人為的な選択又は遺伝子操作を経て生産されたものをいう ※ 3 ベクター： 遺伝物質を新細胞に組み込む媒体をいう。			
2) 輸出貿易管理令 別表第 1 の 3 項（1） 軍用の化学製剤の原料となる物質又は軍用の化学製剤と同等の毒性を有する物質若しくはその原料となる物質として経済産業省令で定めるもの 注： 詳細は上記ホームページを参照 ください			
3) 輸出貿易管理令 別表第 1 の 3 の 2 項（1） 軍用の細菌製剤の原料として用いられる生物、毒素若しくはそのサブユニット又は遺伝子であって経済産業省令で定められるもの 次のいずれかに該当するものとする） <b>第一号</b> ウイルス（ワクチンを除く）であって、アフリカ馬疫ウイルス、アフリカ豚コレラウイルス、アンデスウイルス、エボラウイルス、黄熱ウイルス、オーエスキールウイルス、オムスク出血熱ウイルス、オロポーチウイルス、ガナリトウイルス、キャサヌール森林病ウイルス、牛痘ウイルス、狂犬病ウイルス、クリミア・コンゴ出血熱ウイルス、口蹄疫ウイルス、サビアウイルス、サル痘ウイルス、小反芻獣疫ウイルス、シンゾンブレウイルス、水胞性口炎ウイルス、西部ウマ脳炎ウイルス、セントルイス脳炎ウイルス、ソウルウイルス、ダニ媒介性脳炎ウイルス、チクングニヤウイルス、チャバレウイルス、跳躍病ウイルス、テッセン病ウイルス、テュクロウイルス、デング熱ウイルス、痘瘡ウイルス、東部ウマ脳炎ウイルス、ドブラバールベルグウイルス、トリインフルエンザウイルス（H5 又は H7 の H 抗原を有するものに限る。）、豚コレラウイルス、ニパウイルス、日本脳炎ウイルス、ニューカッスル病ウイルス、ハンタウイルス、プタエンテロウイルス 9 型、フニンウイルス、ブルータングウイルス、ベネズエラウマ脳炎ウイルス、ヘンドラウイルス、ボテ・アンデアン・ラテント・チモウイルス、ボテ・スピン・ドレ・チュバー・ウィロイド、ボウツサンウイルス、マチュ・ボウウイルス、マールブルグウイルス、マレー・溪谷脳炎ウイルス、ヤギ痘ウイルス、羊痘ウイルス、ラグナネグラウイルス、ラッサ熱ウイルス、ランピースキン病ウイルス、リフトバレー熱ウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス、ルヨウイルス又はロシオウイルス <b>第二号</b> 細菌（ワクチンを除く）であって、ウシ流産菌、オウム病クラミジア、ガス壊 疽菌、Q 熱リケッチア、牛肺疫菌（小コロニー型）、コレラ菌、蜚蠊熱リケッチア、志賀赤痢菌、炭疽菌、チフス菌、腸管出血性大腸菌血清型 O157、発疹チフスリケッチア、鼻疽菌、ブタ流産菌、ペスト菌、ボツリヌス菌、マルタ熱菌、山羊伝染性胸膜肺炎菌 F38 株、野兔病菌、類鼻疽菌又はロッキー山紅斑熱リケッチア <b>第三号</b> 毒素（免疫毒素を除く）であって、アフラトキシン、アブリン、ウェルシュ菌毒素、HT-2 トキシン、黄色ブドウ球菌毒素、コノキシン、コレラ毒素、赤痢菌毒素、デアセトキシシルベノール毒素、T-2 トキシン、テトロドトキシン、ビスカムアルブミンレクチン、ペロ毒素及び志賀毒素リボソーム不活化蛋白質、ボツリヌス毒素、ボルケンシン、ミクロシスチン又はモデシン <b>第四号</b> 前号に該当するもののサブユニット <b>第五号</b> 細菌又は菌類であって、クラビバクター・ミンガネンシス亜種セベトニカス、コクシジオイデス・イミチス、コクシジオイデス・ボサダシ、コクリオボールス・ミヤベアヌス、コレトリウム・コフェアヌム、パラエティ・ペルランス、ザントモナス・アルビネアヌス、ザントモナス・オリゼ・パソパー・オリゼ、ザントモナス・キャンベストリス・パソパー・シトリ、ピリキュリア・オリゼ、ピリキュリア・グリセア、ブクシニア・グラミス、ブクシニア・ストリフォルミス、ミクロシクルス・ウレイ又はラルス・トニア・ソラナセアルム・レーヌ 2 及び 3 <b>第六号</b> 第一号、第二号若しくは前号に該当するものの核酸の塩基配列のうち病原性を発現させるもの又は第三号若しくは第四号に該当するものを産生させる核酸の塩基配列を有する遺伝子（染色体、ゲノム、プラスミド、トランスポゾン及びベクターを含む。） <b>第七号</b> 第一号、第二号若しくは第五号に該当するものの核酸の塩基配列のうち病原性を発現させるもの又は第三号若しくは第四号に該当するものを産生させる核酸の塩基配列を有するよう遺伝子を改変した生物（微生物を含む。）			

## 参考資料 8 実験室バイオセーフティ指針抜粋（WHO 第 3 版）

表1 感染性微生物のリスク群分類

リスク群1	（個体および地域社会へのリスクは無い、ないし低い） ヒトや動物に疾患を起す可能性の無い微生物。
リスク群2	（個体へのリスクが中等度、地域社会へのリスクは低い） ヒトや動物に疾患を起す可能性はあるが実験室職員、地域社会、家畜、環境にとって重大な災害となる可能性のない病原体。実験室での曝露は、重篤な感染を起す可能性はあるが、有効な治療法や予防法が利用でき、感染が拡散するリスクは限られる。
リスク群3	（個体へのリスクが高い、地域社会へのリスクは低い） 通常、ヒトや動物に重篤な疾患を起すが、通常の条件下では感染は個体から他の個体への拡散は起こらない病原体。有効な治療法や予防法が利用できる。
リスク群4	（個体および地域社会へのリスクが高い） 通常、ヒトや動物に重篤な疾患を起し、感染した個体から他の個体に、直接または間接的に容易に伝播され得る病原体。通常、有効な治療法や予防法が利用できない。

表2 リスク群分類と、BSレベル分類の関連、主な作業方式、機器

	BSレベル	実験室の型	作業方式	安全機器
リスク群1	基本- BS レベル1	基本教育、研究	GMT	特に無し；開放型作業台
リスク群2	基本- BS レベル1	一般医療、診断 検査、研究	GMT+ 保護衣、 バイオハザード標識	開放型作業台+ エアロ ゾル発生の可能性ある 場合はBSC
リスク群3	封じ込め- BS レベル3	特殊診断検査、 研究	BS レベル2 + 特別 な保護衣、入域の 制限、一定気流方向	全操作をBSC/ ないし、 その他の封じ込め機器 を用いて行う
リスク群4	高度封じ込め 実験室- BS レベル4	特殊病原体施設	BS レベル3 + 入口 部はエアロック、 出口にシャワー、 特別な廃棄物	クラスⅢ BSC または 陽圧スーツ+ クラスⅡ BSC、(壁に固定した) 両面オートクレーブ； 給排気は濾過

略語：BSC = 生物学的安全キャビネット；GMT = 基準微生物実験技術（本指針第Ⅳ部参照）

表3 BSレベル別施設基準要約

	BSレベル 1	BSレベル 2	BSレベル 3	BSレベル 4
実験室の隔離 <sup>a</sup>	不要	不要	要	要
汚染除去時の実験室気密封鎖性能	不要	不要	要	要
換気	内側への気流	望ましい	要	要
	制御換気系	望ましい	要	要
	排気のHEPA濾過	不要	要/不要 <sup>b</sup>	要
入口部二重ドア	不要	不要	要	要
エアロック	不要	不要	不要	要
エアロック+シャワー	不要	不要	不要	要
前室	不要	不要	要	—
前室+シャワー	不要	不要	要/不要 <sup>c</sup>	不要
排水処理	不要	不要	要/不要 <sup>c</sup>	要
クオ レ ー ト ブ	現場処理	望ましい	不要	要
	実験室内	不要	望ましい	要
	両面オートクレーブ	不要	望ましい	要
生物学的安全キャビネット	不要	望ましい	不要	要
職員安全モニタリング設備 <sup>d</sup>	不要	不要	望ましい	要

- a：一般交通より、環境的、機能的に隔離。  
b：排気系の位置による(第4章参照)。  
c：実験室内で取り扱われる病原体による。  
d：例、覗き窓、有線テレビ、2方向通信系。

