

中 村 彰 彦（准教授（クロスアポイントメント*））（2022 年 8 月 1 日着任）

川口 律子（事務支援員）

野村 潤子（事務支援員）

* 静岡大学農学部

A-1) 専門領域：生化学，生物物理学

A-2) 研究課題：

- a) ポリエチレンテレフタレート加水分解酵素の改良
- b) ポリエチレンテレフタレート吸着酵素の開発

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 昨年度作成した PET 分解酵素活性スクリーニング系で取得した，活性中心面を正電荷にした変異体及び活性中心と反対の面を負電荷にした変異体の酵素を生産精製し，PET フィルム分解活性を比較した。その結果，負電荷導入酵素ではフィルム分解活性の向上はみられなかったが正電荷を導入した変異体では鋳型とした変異体と比較して 1.2 倍の分解活性の向上が確認された。さらに微粉末 PET を用いて酵素の吸着性能を比較したところ，変異体酵素は鋳型酵素よりも 1.7 倍高い PET への吸着親和性を示した。よって PET 分解活性の向上は表面に導入した正電荷により吸着親和性が向上したことに起因すると考えられた。
- b) 作成した PET 吸着ドメインの吸着特性を調べるため，半結晶微粉末 PET を用いて吸着試験を行ったところ，鋳型の吸着ドメインと比較して吸着親和性に変化はなかったが，最大吸着量が 1.8 倍に増加していた。対して鋳型の天然基質であるキチンへの吸着親和性は 1/25 に減少しており，PET 吸着ドメインに進化していることが確認できた。さらに PET への親和性を向上させキチンへの親和性を低下させるため，キチン吸着に重要とされているアミノ酸残基に変異を導入したが，得られた変異体は大量生産時に凝集してしまうことが多いことがわかった。そこでファージディスプレイでのライブラリ濃縮後に小スケールでの可溶化酵素スクリーニングを組み合わせる系の構築を始めた。

B-1) 学術論文

T. MORI, S. SUGIMOTO, S. ISHII, J. WU, A. NAKAMURA, H. DOHRA, K. NAGAI, H. KAWAGISHI and H. HIRAI, “Biotransformation and Detoxification of Tetrabromobisphenol A by White-Rot Fungus *Phanerochaete sordida* YK-624,” *J. Hazard. Mater.* **465**, 133469 (2024). DOI: 10.1016/j.jhazmat.2024.133469

Y. TANAKA, T. UCHIHASHI and A. NAKAMURA, “Product Inhibition Slow Down the Moving Velocity of Processive Chitinase and Sliding-Intermediate State Blocks Re-Binding of Product,” *Arch. Biochem. Biophys.* **752**, 109854 (2024). DOI: 10.1016/j.abb.2023.109854

B-4) 招待講演

A. NAKAMURA, “Development and single-molecule binding-analysis of plastic hydrolase enzyme for recycling,” MRM2023/IUMRS ICA2023 Symposium E-1 Precise Material Science for Degradation and Stability, Kyoto, December 2023.

A. NAKAMURA, “Improvement of activity and thermostability of a PET hydrolase,” 16th Eurasia Conference on Chemical Sciences 2023 Frontiers in Chemical Sciences for Sustainability, Bangkok (Thailand), December 2023.

A. NAKAMURA, “Development and Characterization of Highly Heat Tolerant and Active Plastic Degrading Enzymes,” International Conference for Green Science and Technology, Kuala Lumpur (Malaysia), December 2023.

B-10) 競争的資金

科学技術振興機構創発的研究支援事業, 「プラスチックを探して壊すバイオマイクロドロンの創出」, 中村彰彦 (2022年度–2025年度).

科研費基盤研究(B), 「自然界に学ぶ「バイオマス分解機構」の解明」 (代表: 金子 哲), 中村彰彦 (研究分担者) (2021年度–2023年度).

科研費挑戦的研究(萌芽), 「高活性リグニン分解菌を用いた新規リグニンリファイナリー技術の構築」 (代表者: 平井 浩文), 中村 彰彦 (研究分担者) (2023年度–2024年度).

B-11) 産学連携

共同研究, キリンホールディングス (株), 「PET 分解酵素の開発」, 中村彰彦 (2022年度–2023年度).

共同研究, キリンホールディングス (株), 「結晶性PET 分解活性の高い酵素の開発」, 中村彰彦 (2023年度–2024年度).

C) 研究活動の課題と展望

PET 分解酵素変異体では親和性向上に由来する活性の上昇が確認できた。そこで蛍光標識した変異体を用いて 1 分子計測を行うことで吸着速度定数の向上か脱着速度定数の減少のどちらが親和性向上に寄与しているのか明らかにする。また吸着ドメインの開発では、可溶化スクリーニングにより鋳型とした変異体と同等の溶解性を持つ変異体が 7 種取得できた。そこでこれらの酵素が本当に大量生産後に安定して可溶化するか確認する。また鋳型酵素と比較して PET 吸着能及びキチンへの親和性の低下が達成できているか検証を進める。これによりさらに進化した PET 吸着ドメインの開発を行い、プラスチック特異的に染色できる酵素の開発を進める。