

中村 彰彦 (准教授(クロスアポイントメント*)) (2022年8月1日~2024年12月31日)
(教授(クロスアポイントメント*)) (2025年1月1日~3月31日)

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) PET 分解酵素の高効率スクリーニングを行うために、ファージ表面に活性型の PET 分解酵素を提示する方法の開発をおこなった。直接ファージのタンパク質と PET 分解酵素を連結すると、立体障害によりファージに生産が確認できなかったため、ファージに SpyCatcher タンパク質、PET 分解酵素に Spytag を連結し、ペリプラズム領域で結合させる方法を試みた。各種プロモーターを検討したところ、コールドショックプロモーターを用いて、ファージの生産量を少し抑えながら PET 分解酵素を誘導することで高い提示率を占めずファージを生産することができた。
- b) 作成した PET 吸着タンパク質のライブラリを RFP と連結し、小スケールでの可溶性酵素生産性の解析を行い、生産可能な変異体のライブラリを取得した。シーケンスを確認し、5 種の変異体を取得した。キチン及びセルロースに対する吸着はほとんど確認できず、また PET への吸着親和性は天然型吸着タンパク質と比較して 2.7 倍向上していた。セルロース、キチン及び PET 粉末をガラス上に配置し、RFP 融合吸着タンパク質で染色したところ、天然型タンパク質では全てが染色されたのに対し、変異体吸着タンパク質では PET のみが強い蛍光を示したことから、PET 染色タンパク質が開発が確認できた。

B-1) 学術論文

R. KUSHIHARA, A. NAKAMURA, K. TAKEGAMI, Y. SETO, Y. KATO, H. DOHRA, T. OHNISHI, Y. TODOROKI and J. TAKEUCHI, "Structural Requirements of KAI2 Ligands for Activation of Signal Transduction," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **122(8)**, e2414779122 (2025). DOI: 10.1073/pnas.2414779122

S. TSUJINO, Y. YAMADA, M. SENDA, A. NAKAMURA, T. SENDA and T. FUJIWARA, "Structural Characterization of Pyruvic Oxime Dioxygenase, a Key Enzyme in Heterotrophic Nitrification," *J. Bacteriol.* **207(2)**, e00342-24 (2025). DOI: 10.1128/jb.00342-24

Y. OGURA, Y. HASHINO and A. NAKAMURA, "Direct Screening of PET Hydrolase Activity in Culture Medium Based on Turbidity Reduction," *ACS Omega* **9(31)**, 34151–34160 (2024). DOI: 10.1021/acsomega.4c05488

B-5) 特許出願

WO2025013877(A1), “Protein, and Method for Decomposing Polyethylene Terephthalate,” T. MATSUZAKI, F. YAMAZAKI, T. SAEKI, A. NAKAMURA, R. IINO and N. KOGA (National Institutes of Natural Sciences), 2024年.

B-6) 受賞, 表彰

中村彰彦, 日本応用糖質科学会奨励賞 (2024).

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, 静岡大学, キリンホールディングス (株), 大阪大学, 「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

開発したPET 分解酵素提示ファージベクターに変異導入を行い, PET 分解酵素変異体ライブラリーの作成を行う。得られたライブラリーを用いて顕微鏡下でPET 分解活性の計測を行い高活性変異体の取得を試みる。また作成したPET 吸着タンパク質はPET 分解酵素との融合体を作成し, PET 分解活性に与える影響を確認する。