【助成38-03】

テーラーメイド修飾酵素によるマイクロプラスチック分解技術の開発

研究者 北海道大学大学院地球環境科学研究院 教授 小野田 晃

[研究の概要]

マイクロプラスチックを効率的に酵素分解するためには、酵素がプラスチックの疎水性表面に効率的に吸着する必要がある。本研究では、親水性の高い分解酵素に、疎水性のマイクロプラスチックの表面に吸着する能力を付与するために、疎水性分子を化学修飾したテーラーメイド酵素を作製し、酵素応用によるマイクロプラスチック分解技術を開拓に取り組んだ。独自に開発した、選択性が高く、簡便なタンパク質 N 末端技術を活用して、ターゲットとした分解酵素クチナーゼのN末端特異的に合成分子や脂質などの天然の疎水性分子を連結したテーラーメイド酵素の作製と評価を実施した。

[研究経過および成果]

機能性と利便性の高い高分子材料から構成される プラスチックは、世界で年間約 4 億トンが生産されて おり、廃棄ごみや洗濯排水による拡散によって海洋 汚染の原因になっている。この問題解決に向けて、 生物の力を利用したマイクロプラスチックの分解技術 が特に期待されている。ポリエステルの分解菌をはじ め、生物が持つ分解酵素を活用したプラスチック分 解技術は、いずれも有望であるが、以前、分解速度 は十分でなく、分解酵素の能力を最大限向上するた めの技術が求められている。

マイクロプラスチックを効率的に酵素分解するためには、酵素がプラスチックの疎水性表面に効率的に吸着する必要がある。そこで、親水性の高い分解酵素に、疎水性のマイクロプラスチックの表面に吸着する能力を付与するために、疎水性分子を部位徳的に化学修飾したテーラーメイド酵素を作製し、酵素応用によるマイクロプラスチック分解技術に取り組んだ。本研究代表者が独自に開発した、選択性が高く、世界で最も簡便なタンパク質 N 末端技術を活用して、ター

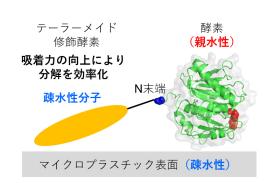


図1 マイクロプラスチック分解のための テーラーメイド修飾酵素

ゲットとした酵素に対して、部位特異的に疎水性分子を連結した分解酵素クチナーゼを作製し、プラスチックであるポリエチレンテレフタラート(PET)への吸着能力と分解能力の向上を目指した。

酵素と目的分子を連結する際には、酵素の構造と機能を保持することが鍵となる。一般的に目的分子を簡便に化学修飾するには、活性エステル等を用いることが多いが、酵素表面の多数のアミノ基に対して修飾反応がランダムに進行する。したがって、酵素反応に関与するアミノ酸残基やその他の重要な残基が化学修飾により影響を受けて、活性低下が懸念される。構造的、機能的に影響の少ない酵素の N 末端に選

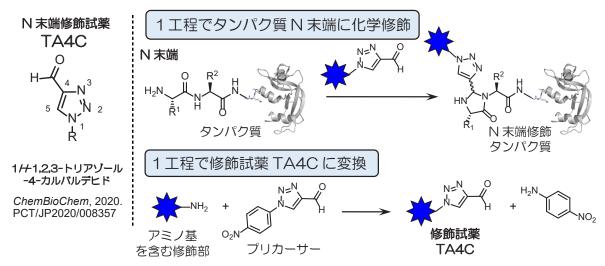


図2 独自開発したタンパク質 N 末端修飾技術

択的に目的分子を修飾したテーラーメイド分解酵素 を作製し、疎水分子を部位選択的に化学修飾したテーラーメイド酵素を調製すれば大きな意義がある。

本研究では、PET 分解酵素であるエステラーゼの ー種クチナーゼのN末端に、様々な疎水性分子を導 入し、PET 表面への吸着能力を大幅に向上したテー ラーメイド酵素の作製を目指した。なお、使用する分 解酵素のクチナーゼは、植物の葉などで含まれるワックス成分であるポリエステルのクチンを分解する酵素 であり、本研究では Cut1 を使用した。

これまでにターゲットの酵素やタンパク質に対して、機能分子を、精密かつ簡便に化学修飾するために、N末端に着目してタンパク質修飾技術を開発してきた(ChemBioChem, 2020、PCT/JP2020/008357)(図2)。N末端は、フォールディング構造に通常含まれないため、N末端修飾はタンパク質や酵素の機能に影響を与える可能性が低い点が利点である。また、N末端の α -アミノ基は Lys 側鎖の ϵ -アミノ基よりも ϵ -アミノ酸を標的とする修飾が可能ある。タンパク質 N末端に対して特異的に化学修飾する独自の技術の開発に成功した本技術は、高い

N 末端選択性に加えて、末端のアミノ酸の種類に依存しない、かつ1段階で修飾試薬を調製可能であり、 1段階でタンパク質修飾可能という特徴をもつ。

Cut1 の N 末端に化学修飾を施して、高速液体クロマトグラフ-質量分析により同定を行った。この修飾Cutlの活性を、4-ニトロフェニル酢酸の加水分解活性により評価したところ、nativeの酵素と同程度であった。以上より、本提案で用いるクチナーゼのN末端への選択的な化学修飾が可能であること、活性は保持されていることを確認した。

分解酵素を保持したまま、疎水性タンパク質を融合することによって、吸着力のみを向上するアプローチで分解能力顕著に向上した報告例があるが、このような融合酵素は、発現や精製が困難になる確率が高く、実用化へのスケールアップが課題となっている。本アプローチでは、天然酵素を利用するため上記の問題を回避できると期待される。現在、Cut1に修飾分子のスクリーニングとマイクロプラスチックの分解評価を進めている。

〔発表論文〕未発表