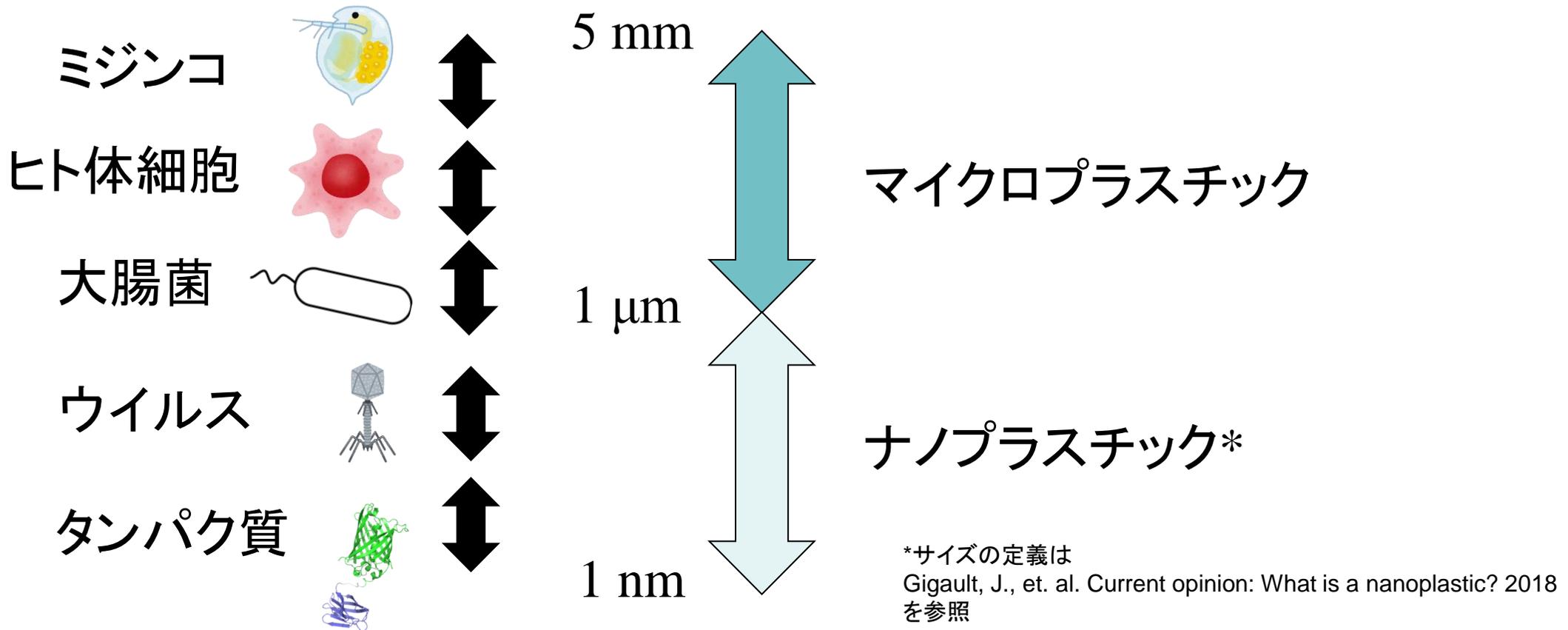


# 自然材料への吸着力を低減した プラスチック吸着酵素の開発

静岡大学 農学部 応用生命科学科  
准教授 中村 彰彦

2024年11月28日

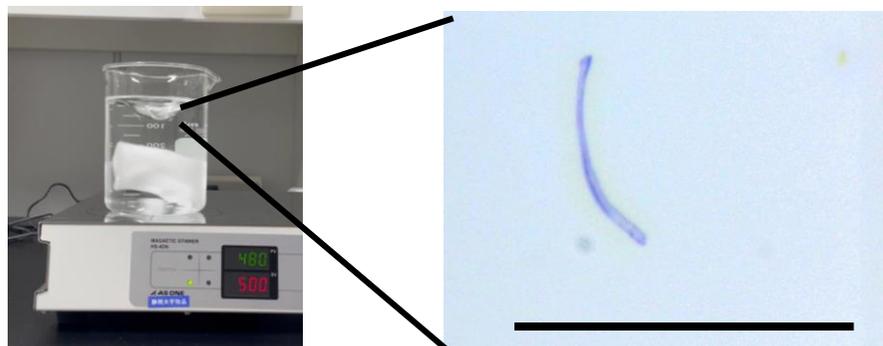
プラスチックは現代の生活に欠かせない素材であり  
その使用を止めることは非常に難しいが、  
近年特に小さいプラスチック片での環境汚染が報告されている



これらの小さいナノプラスチックはとくに健康に悪影響がある可能性が  
指摘されている

## 使用上プラスチック片の産出は避けられない

### 家庭での洗濯

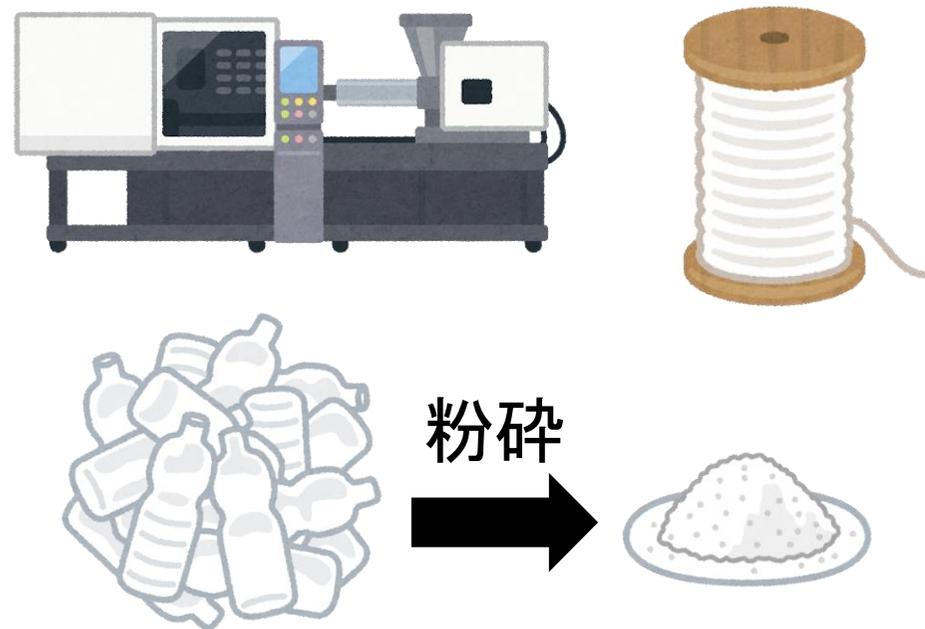


500 μm

服1着の洗濯1回で約2000本生成する

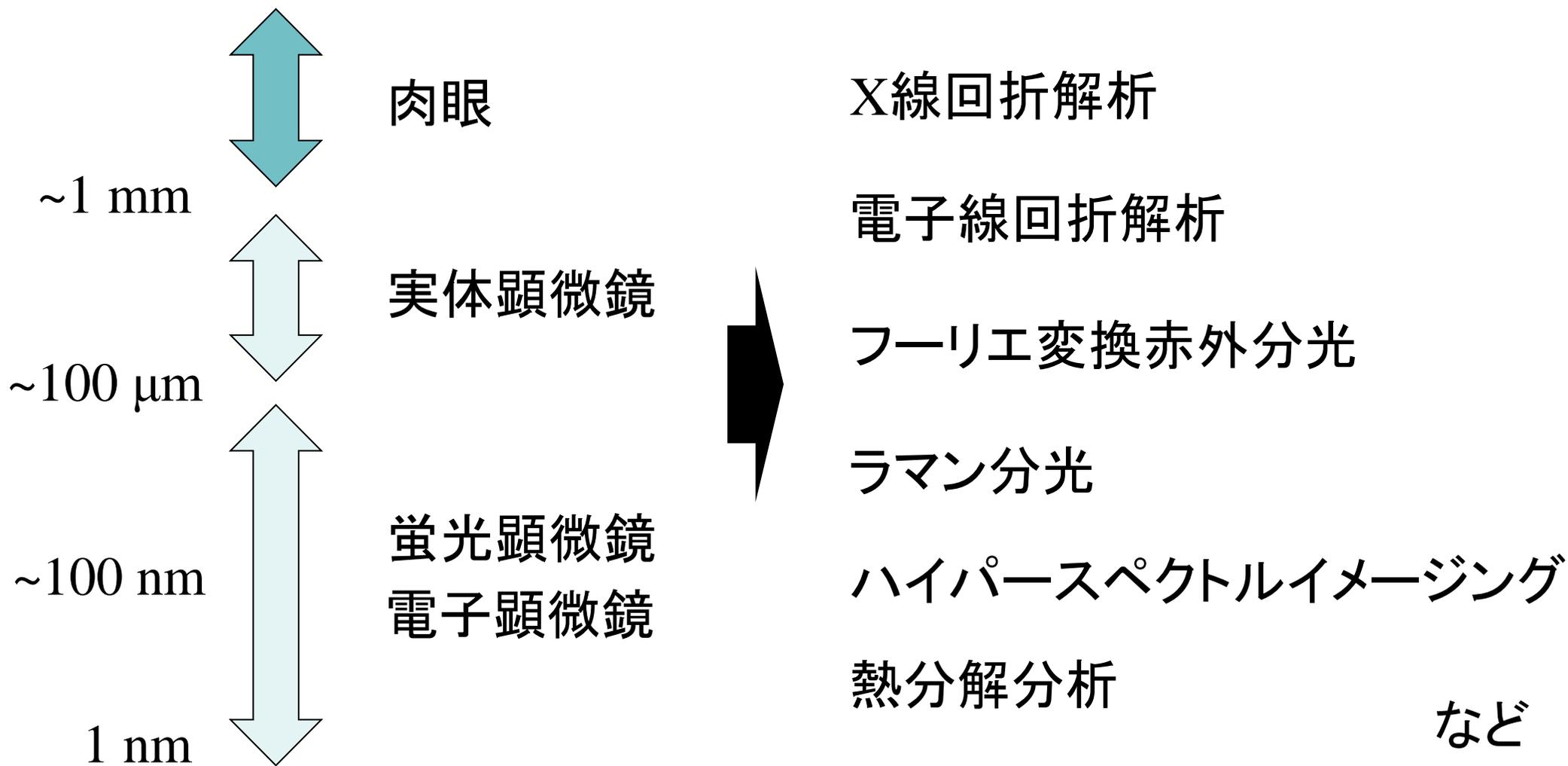
Browne M.A. et al., *Environ. Sci. Technol.*, 45, 9175–9179 (2011)

### 成形、切削やリサイクル



しかしどれだけ存在しているかどうかを簡単に調べる方法はない

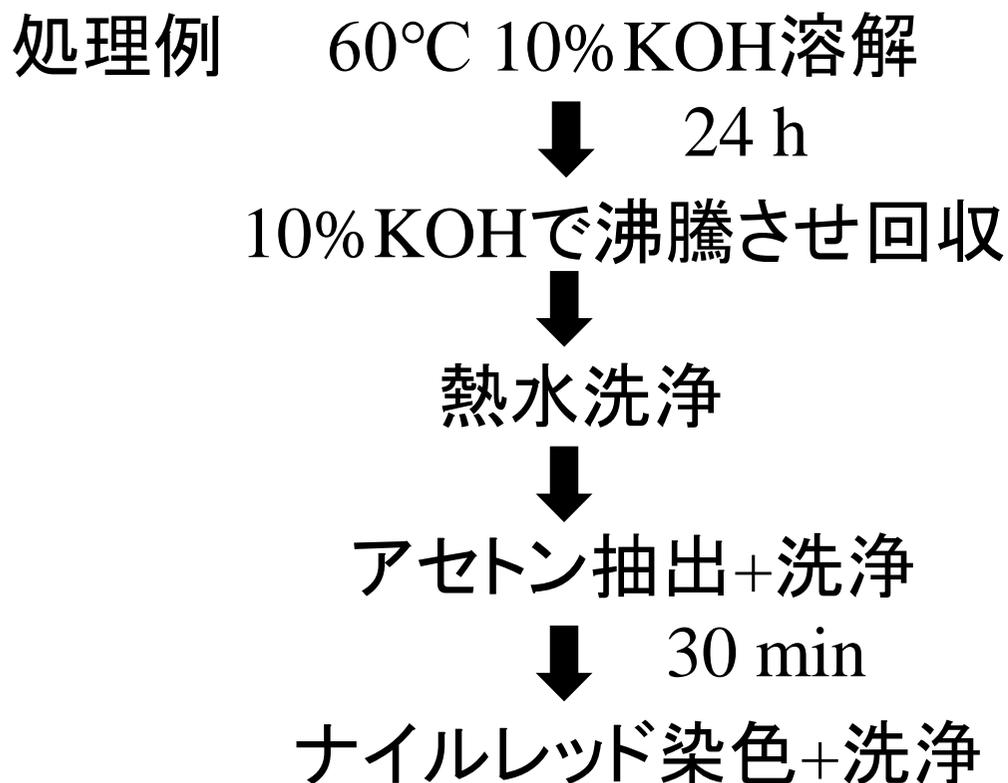
## 現在の微小プラスチック片の検出及び同定方法



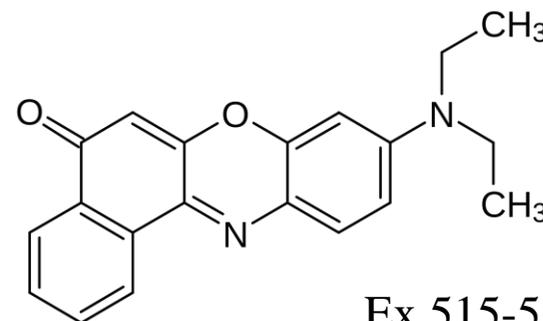
そもそも見つけないと分析もできない

蛍光顕微鏡は比較的安価に微小粒子も観測できる  
また蛍光染色できれば夾雑物からの目視判別も容易になる

現在はナイルレッド等の蛍光色素が使用されているが天然有機物質も染色してしまうため化学処理が必須



## ナイルレッド

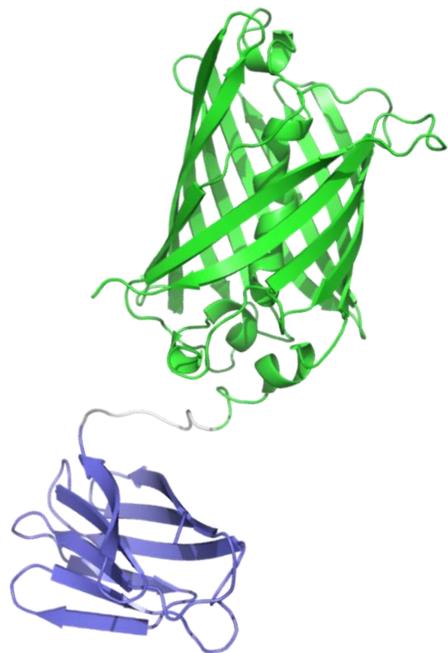


Ex 515-554 nm  
Em 585-638 nm  
(条件に依存)

生細胞の脂肪滴も染めてしまう

今回紹介させていただくプラスチック特異的吸着タンパク質は細胞膜やセルロース、キチンなどの生体由来物質には吸着しない

各種蛍光タンパク質と繋ぐことで任意の吸光/蛍光波長で未精製環境サンプル中のプラスチックを検出可能



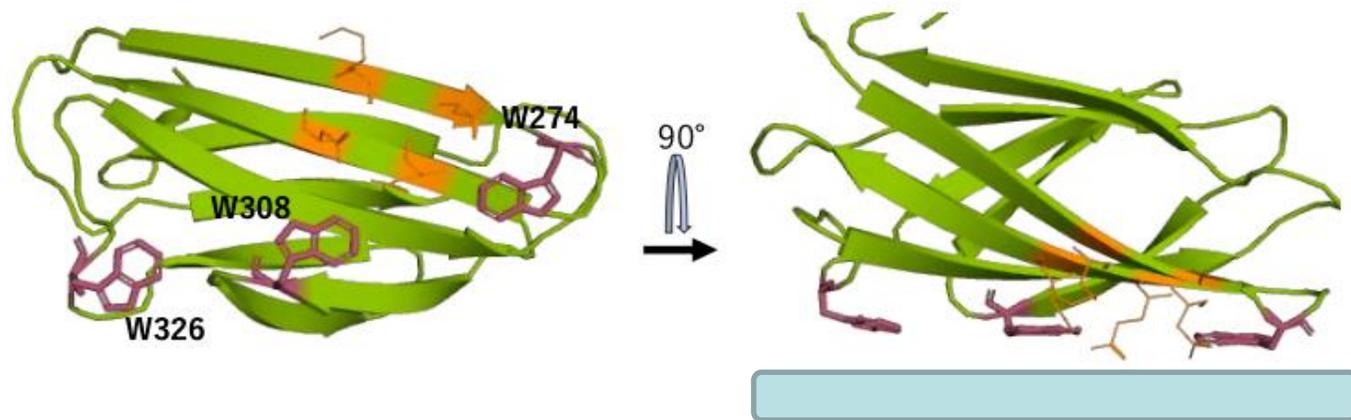
キムワイプでPET粒子をフィルターし染色した例

# 新技術の特徴・従来技術との比較

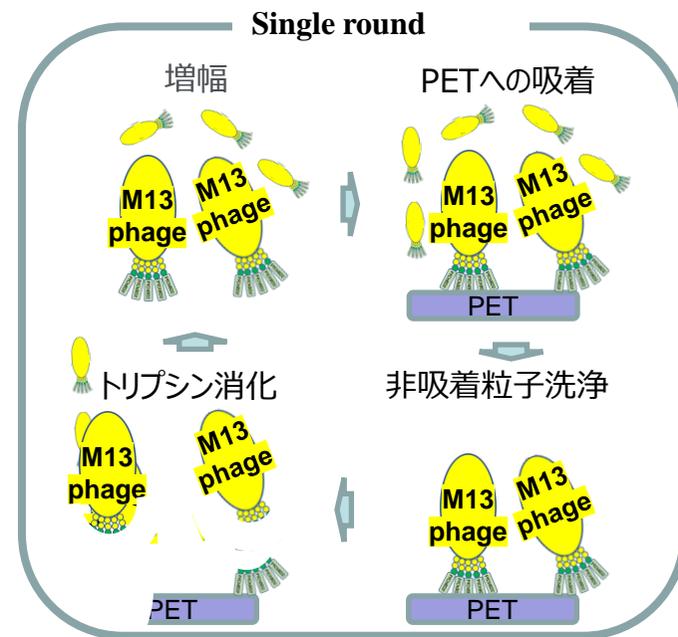
現在報告されているプラスチック吸着タンパク質は天然型セルロース又はキチン吸着タンパク質なので天然基質が存在すると使用できない



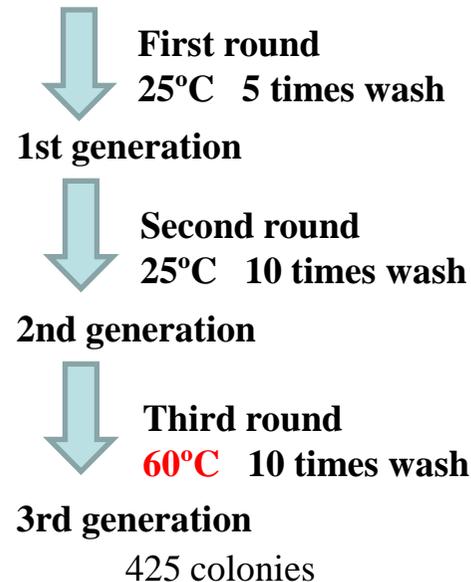
Template *Pyrococcus furiosus*由来  
耐熱性キチン吸着ドメイン 85°Cでも壊れない



PfCBD-K270H-N272P-E279V-D281G (4M)をベースとして更にW274X-W308X-W326Xに変異を導入した酵素遺伝子を作成しファージディスプレイ法で選抜



変異体ライブラリ



## 反応条件

半結晶PET粉末0.2 mg/mL + 1  $\mu$ M酵素

結晶性キチン又はセルロース 1 mg/mL + 10  $\mu$ M酵素

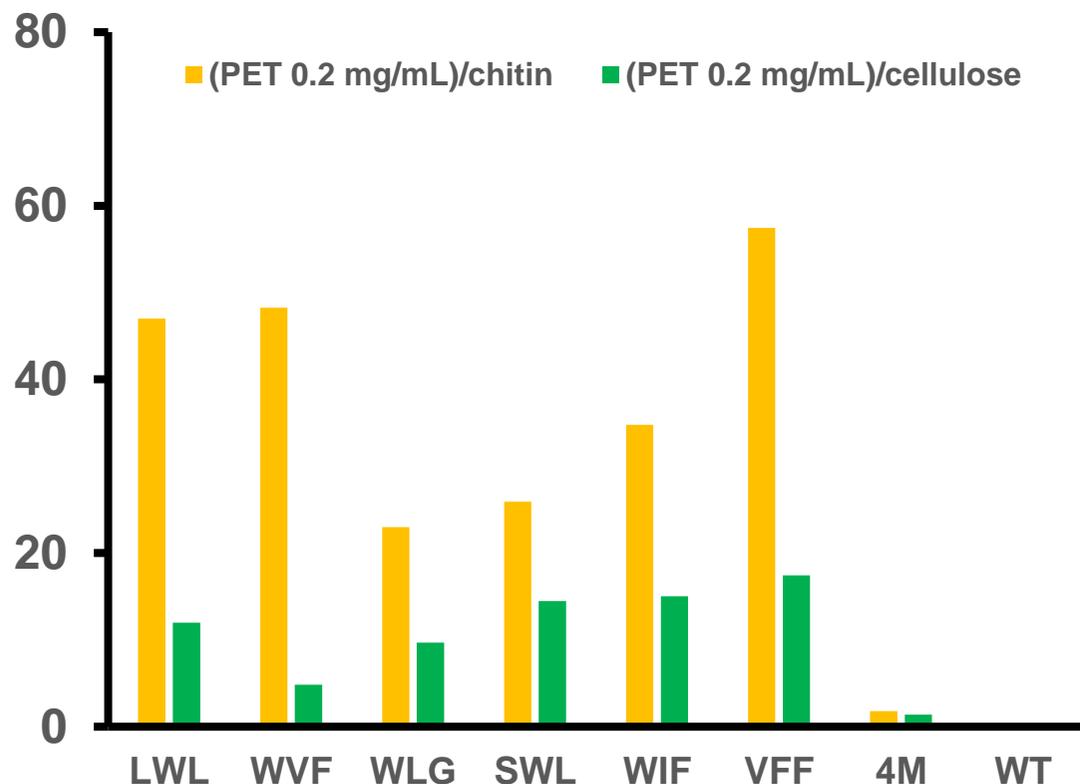
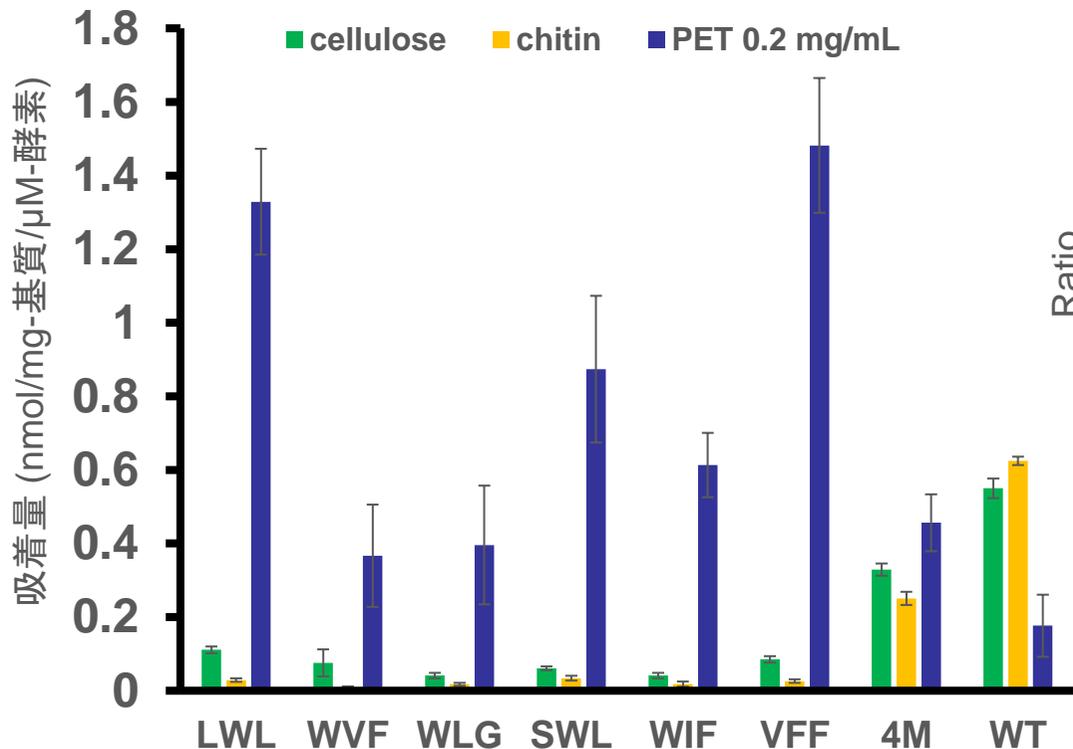
緩衝液 50 mM リン酸Na pH 8.0

温度 25度

震盪 1000 rpm

液量 1 mL

時間 1 h

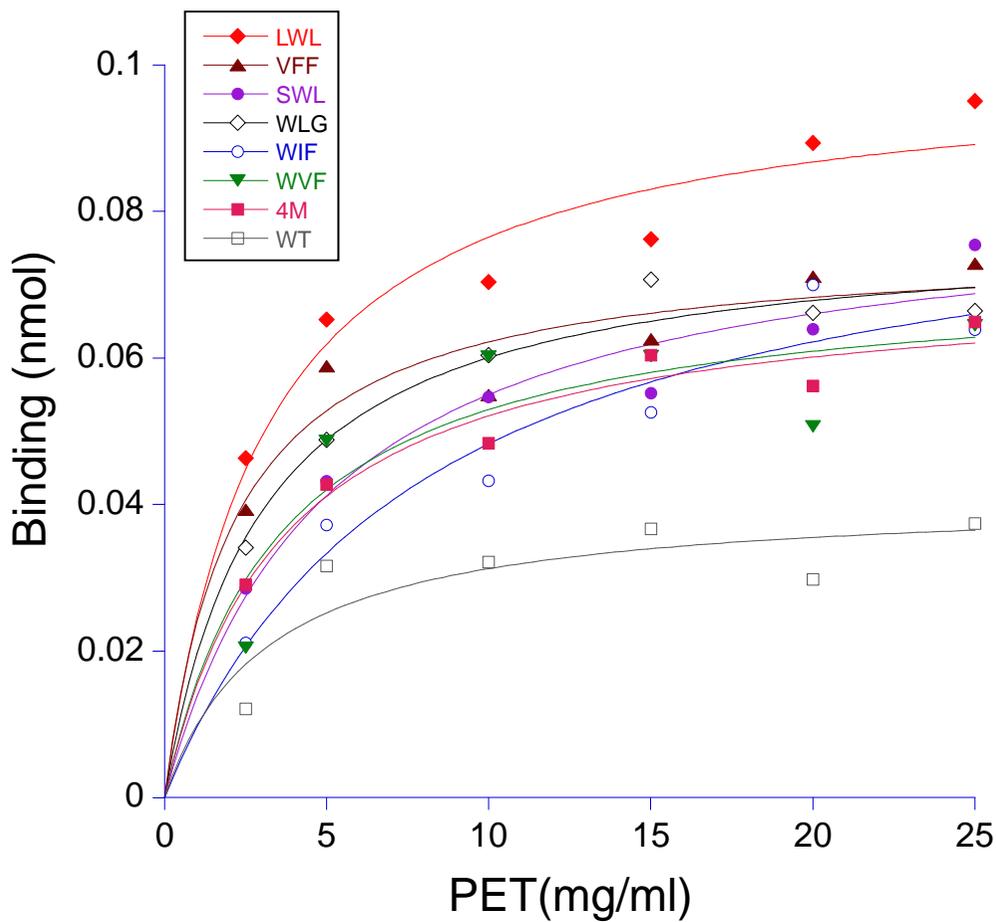


セルロースとキチンには吸着しない新規吸着タンパク質に人工進化できた

# 新技術の特徴・従来技術との比較

半結晶PET粉末 + 1  $\mu$ M酵素  
緩衝液 50 mM リン酸Na pH 8.0  
温度 25度

震盪 1000 rpm  
液量 1 mL  
時間 1 h



	$B_{max}$	$K_d$	$B_{max}/K_d$
LWL	0.100	3.10	0.0324
VFF	0.0757	2.17	0.0350
SWL	0.0826	5.00	0.0165
WLG	0.0780	2.99	0.0262
WIF	0.0874	8.10	0.0108
WVF	0.0717	3.53	0.0204
4M	0.0711	3.64	0.0195
WT	0.0404	3.01	0.0134

2.4  
|  
2.6  
倍

**PETへの親和性も2.5倍程度向上**

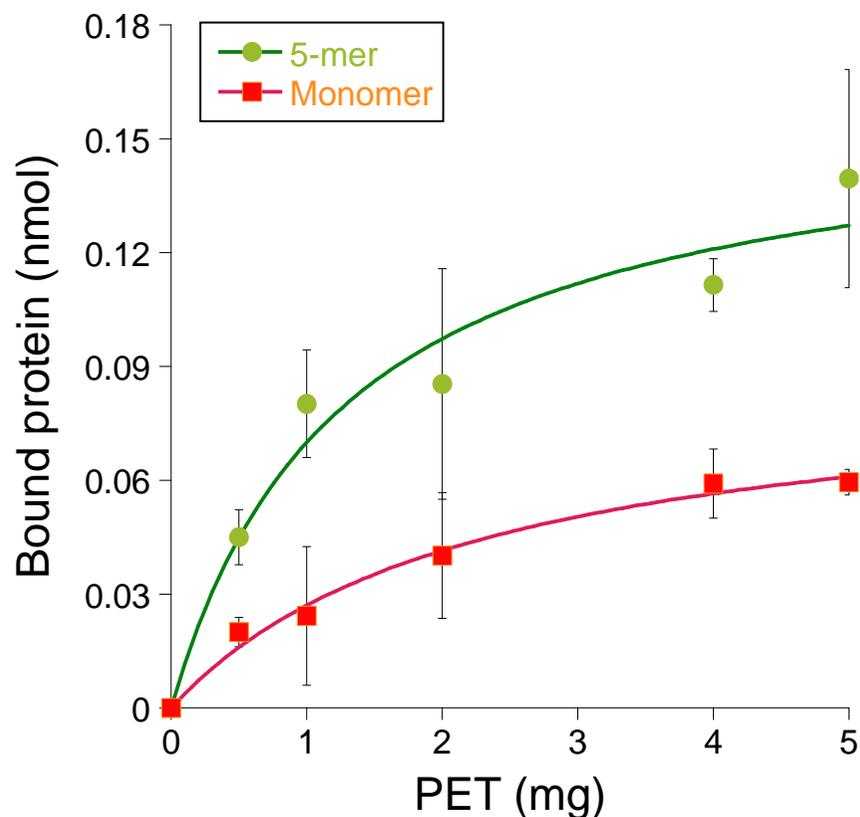
# 新技術の特徴・従来技術との比較

半結晶PET粉末 + 1  $\mu$ M酵素  
緩衝液 50 mM リン酸Na pH 8.0  
温度 25度

震盪 1000 rpm  
液量 1 mL  
時間 1 h



~2 cm



蛍光タンパク質 1  $\mu$ Mに統一

**5mer**

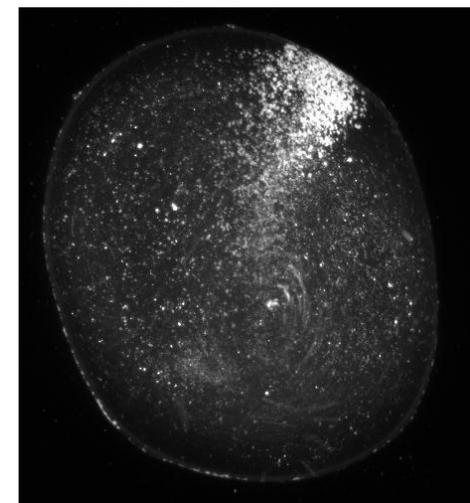
**$B_{\max} = 0.16$  (nmol)**

**$K_d = 1.3$  (mg)**

**1mer**

**$B_{\max} = 0.088$  (nmol)**

**$K_d = 2.3$  (mg)**



**多量体化することで親和性向上、液中微小粒子の蛍光検出が可能**

## 想定される用途

- プラスチック製造、リサイクル、化学繊維を扱う産業での廃液や空間中の微小プラスチック量の計測。
- 特にセルロースフィルターで捕獲したプラスチックをダイレクトに染色できるためごく短時間で検査が可能。
- 生物への悪影響のないプラスチック染色試薬として使用できる。

## 実用化に向けた課題

- 現在、セルロース、キチンへの非特異吸着がない所まで開発済み。しかし、プラスチックの染め分けの点が未解決である。
- 今後、より大規模な変異体ライブラリを構築し各種プラスチックへ特異性を示すものを選抜する予定。
- 実用化に向けて、プラスチックへの吸着親和性を向上させると使用しやすい。

## 企業への期待

- 未解決のプラスチックの同定については、複数吸着変異体と蛍光タンパク質での同時染色によるシグナル比の解析により分離可能だと考えている。
- 画像判定の技術及び蛍光画像計測装置製作技術及びプラスチック回収検出用の均一なフィルターを持つ、企業との共同研究を希望。

## 企業への貢献、PRポイント

- 本技術は蛍光タンパク質を別のタンパク質に置き換えることも可能。プラスチック表面に任意のタンパク質を局在させられる。
- 現在のファーザーライブラリで任意の基質への吸着タンパクを探することも可能。
- 吸着タンパク質サンプル提供については要相談

# 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：タンパク質、ポリヌクレオチド、組換えベクター、形質転換体、組成物、ポリエチレンテレフタレートを検出方法、及びポリエチレンテレフタレートの分解方法
- 出願番号：特願2023-081904
- 出願番号：特願2024-199935
- 出願人：静岡大学
- 発明者：橋野嘉仁、中村彰彦

## 産学連携の経歴

- 2021年-2024年 飲料メーカーと共同研究実施
- 2021年- JST創発的研究事業に採択
- 2023年- プラスチック材料メーカーと共同研究実施
- 2023年- 自動車メーカーと共同研究実施

# お問い合わせ先

静岡大学  
イノベーション社会連携推進機構

T E L 054-238-4630

F A X 054-238-3018

e-mail [sangakucd@adb.shizuoka.ac.jp](mailto:sangakucd@adb.shizuoka.ac.jp)