2024 年度

創発的研究支援事業　年次報告書【公開版】

研究担当者	吉田昭介
研究機関名	奈良先端科学技術大学院大学
所属部署名	先端科学技術研究科バイオサイエンス領域
役職名	教授
研究課題名	微生物代謝に着目した廃 PET 資源化手法の開発
研究実施期間	2024 年 4 月 1 日～2025 年 3 月 31 日

研究成果の概要

I. sakaiensis における PET 代謝機構の解明とその応用展開に取り組んでいる。

[課題 1] *I. sakaiensis* の PET 代謝機構の全容解明:PET 代謝に関わる二成分制御系について、転写因子遺伝子破壊株の RNA-Seq 解析により発現変動遺伝子 1880 個を同定し、そのうち約 40%に転写因子結合サイトが存在することを ChIP-Seq 解析により明らかにした。これらには PET 代謝関連遺伝子が多く含まれており、本制御系が PET 代謝を直接制御することが示唆された。さらに、EMSA 解析により転写因子が実際に PET 代謝遺伝子の上流に結合することも確認した。また、新規 PET オリゴマー加水分解酵素が、EG 末端を有する PET オリゴマーに高い活性を示すことを明らかにし、PETase との併用による PET 分解促進効果を検証中である。

[課題 2]新規 PET 分解菌のスクリーニング:環境から見出した新規 PET 分解菌ゲノムは、*I. sakaiensis* と同様の酵素群を有していることが判明した。PETase ホモログについては、4 つの変異の単変異体と複数の組み合わせ変異体を作成し、それぞれの変異の PET 分解活性への影響、安定性への影響を調べた。その結果、最も高い活性を示した 2 重変異体は、活性は野生型の 2 倍、熱安定性は野生型よりも融点 8℃程度高いことが判明し、自然界での高機能化の進行を示す初めての例となった。

[課題 3] *I. sakaiensis* ゲノムへのランダム変異導入による機能進化と利用：*I. sakaiensis* に対して核酸アナログを用いたランダム変異導入を行い、MHET を炭素源とした培養系で増殖の自動モニタリングを実施中である。現在、増殖が向上した培養ロットを選抜している。