

フジシール財団 研究助成事業
成果報告書

公益財団法人フジシール財団
理事長 岡 崎 裕 夫 殿

報告日 2026 年 7 月 28 日

研究課題	ポリエチレンテレフタレート分解酵素の異種発現活性に関する研究	助成金額
		200 万円
助成名	特別長期研究助成・研究助成・若手研究助成	
ふりがな	さぬき りかこ	研究助成申請年度
研究者氏名	佐貫 理佳子	2021 年度
所属機関	奈良先端科学技術大学院大学	研究期間
		2021 年 4 月 1 日～2024 年 3 月 31 日 (ライフイベントによる中断期間を含む)
役 職	客員助教	

下記の通り、研究成果を報告いたします。

記

1. 研究成果の概要

<背景と目的>

プラスチックは軽量で耐久性が高く、容器包装をはじめ幅広く利用されている一方、環境中で分解されにくく、海洋汚染やマイクロプラスチック問題の一因となっている。なかでもポリエチレンテレフタレート (PET) は比較的リサイクルしやすい素材であるが、汚れや異物を含む低品質 PET は、従来のリサイクルによる再資源化が難しい。2016 年、PET を分解・資化する細菌 *Ideonella sakaiensis* (現 *Piscinibacter sakaiensis*) が報告されて以降、PET 分解酵素 PETase の機能改良が進められ、低温かつ環境負荷の小さい再資源化技術として注目されている。一方、PETase を微生物以外の生物に発現させ、PET 分解に用いる研究は限られている。私たちは低品質 PET の分解者として、自然免疫系を備えている昆虫に着目した。昆虫は、微生物よりも無菌培養への依存が少なく、低品質 PET の処理に適用可能な生物プラットフォームとなることが期待される。本研究では、包装材料の一つである PET をモデルケースとし、ショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) に PETase を発現させることで、プラスチック分解機能を有するモデル昆虫を構築し、昆虫を利用した PET 分解プラットフォームの概念実証を行うことを目的とした。

<方法>

PETase を作るショウジョウバエの作製

GAL4-UAS システムを用いて、PET を分解する酵素「PETase」をショウジョウバエの腸と唾液腺で発現させた。PETase が細胞外へ分泌されるように、PETase には BiP シグナル配列を付加した。

ショウジョウバエによる PET 分解実験

PETase を発現するショウジョウバエの飼育培地に固体 PET フィルムを設置した。PETase はアルカリ性の環境で働きやすいため、培地に濃度の異なる炭酸カルシウムを加え、酵素が働きやすい環境を整えた。フィルム表面の変化を電子顕微鏡で観察して、PET が分解されたかを評価した。

由来の異なる PETase の比較

PETase に付加される糖鎖が、酵素の働きや安定性にどのような影響を与えるかを調べるために、ショウジョウバエ S2 細胞、ヒト 293-F 細胞、大腸菌で作製した PETase を比較した。さらに、糖鎖を取り除く処理を行い、PETase の活性や安定性がどのように変化するかを解析した。

＜結果＞

ショウジョウバエの PETase 発現確認：

GAL4-UAS システムを用いて、PETase を発現するショウジョウバエを作製した。GAL4 ドライバー系統には、腸管および唾液腺で遺伝子発現を誘導できる NP1502 系統を選抜し、実験に用いた。抗 PETase 抗体によるウェスタンブロット解析の結果、PETase 発現個体において特異的なバンドが検出され、ショウジョウバエ体内で PETase が発現できていることが確認された。検出されたバンドは、アミノ酸配列から予測される理論分子量よりも高分子量側に認められた。この結果から、発現した PETase がショウジョウバエで糖鎖付加などの翻訳後修飾を受け、発現している可能性が示唆された（図 1）。

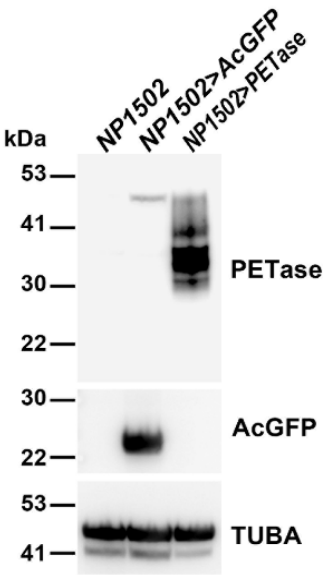


図 1. ショウジョウバエによる PETase の発現確認

ショウジョウバエによる PET 分解：

PETase を発現するショウジョウバエ PET フィルムを同一の飼育系に置き、昆虫個体で発現した PETase によって PET フィルムを分解できるか検討した（図 2A）。通常の培地では、飼育中に生じる代謝産物や PET の加水分解産物によって培地が酸性化し、PETase の活性が低下する可能性がある。そこで、培地の酸性化を抑え、PETase が作用しやすい pH 条件を維持するため、炭酸カルシウムを添加した。その結果、炭酸カルシウムを添加した条件において、PETase 発現個体の飼育バイアルに設置された PET フィルム表面に顕著な変化が観察された（図 2B）。さらに、走査型電子顕微鏡による観察では、PETase 発現個体と飼育した PET フィルムの表面に、PETase による加水分解と考えられる痕が認められた（図 2C）。

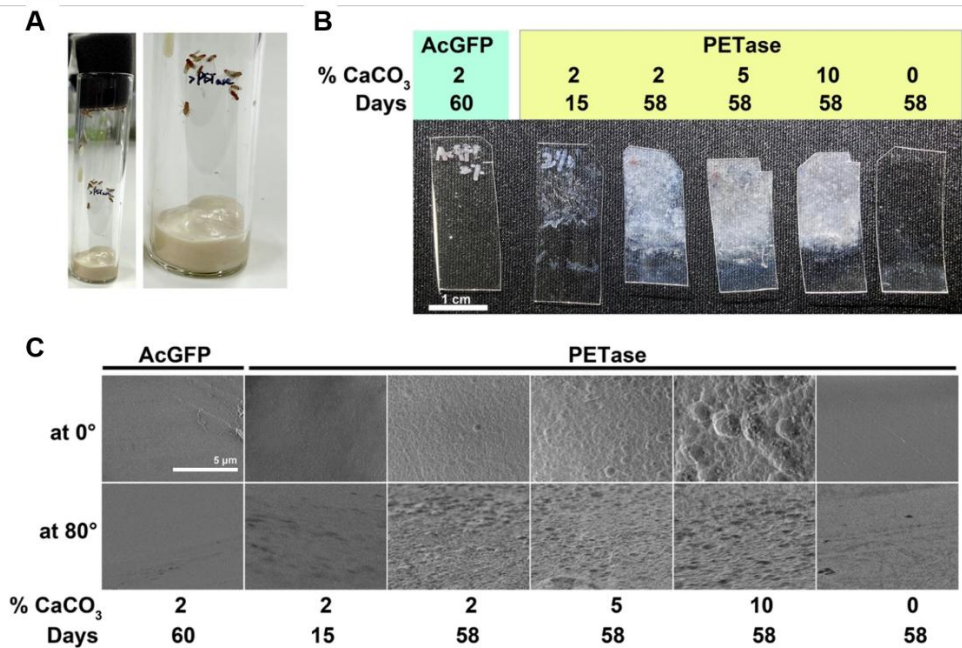


図 2. ショウジョウバエによる固体フィルム PET の分解

以上の結果から、ショウジョウバエに PETase を発現させることで、固体 PET フィルムを分解できる可能性が示された。また、昆虫個体で発現した PETase の機能を十分に引き出すためには、酵素の発現量だけでなく、培地の pH を含む飼育環境の調整が重要であることが示唆された。

糖鎖修飾の影響と効果：

ショウジョウバエで発現した PETase は、予測分子量よりも大きなサイズを示したことから、糖鎖修飾を受けている可能性が考えられた。そこで、ショウジョウバエ由来 S2 細胞およびヒト由来 293-F 細胞を用いて PETase を分泌発現させて精製し、それぞれ DmPETase、HsPETase とした。また、大腸菌で発現させた PETase を EcPETase とした。ウエスタンブロット解析の結果、DmPETase および HsPETase はいずれも EcPETase より高分子量のバンドを示した。さらに、糖鎖除去酵素で処理した DmPETase および HsPETase（それぞれ Dm(deG)PETase、Hs(deG)PETase）では分子量が低下したことから、真核細胞から分泌された PETase が糖鎖修飾されていることが確認された（図 3A）。

30℃で 22 日間 PET 分解活性を調べたところ、EcPETase は高い初期活性を示した。一方、DmPETase は初期活性が比較的低かったものの、長期間にわたって分解を続け、22 日後には EcPETase と同程度の分解量に達した。これに対し、Dm(deG)PETase でも分解産物の増加が認められたが、その増加は DmPETase と比較して早い段階で鈍化し、22 日後の PET 分解濃度は DmPETase より低かった（図 3B）。

昆虫の飼育温度である 25℃では、EcPETase による分解は 28 日後にほぼ頭打ちとなった。一方、DmPETase は 64 日目まで PET を分解し続け、最終的には EcPETase と同程度の分解量に達した。糖鎖を除去した Dm(deG)PETase は、初期には DmPETase より高い分解活性を示したが、その後は分解量の増加が鈍化し、47 日目以降はほぼ頭打ちとなった（図 3C）。以上の結果から、糖鎖修飾は DmPETase の安定性を高め、低温条件下における持続的な PET 分解に寄与すると考えられた。

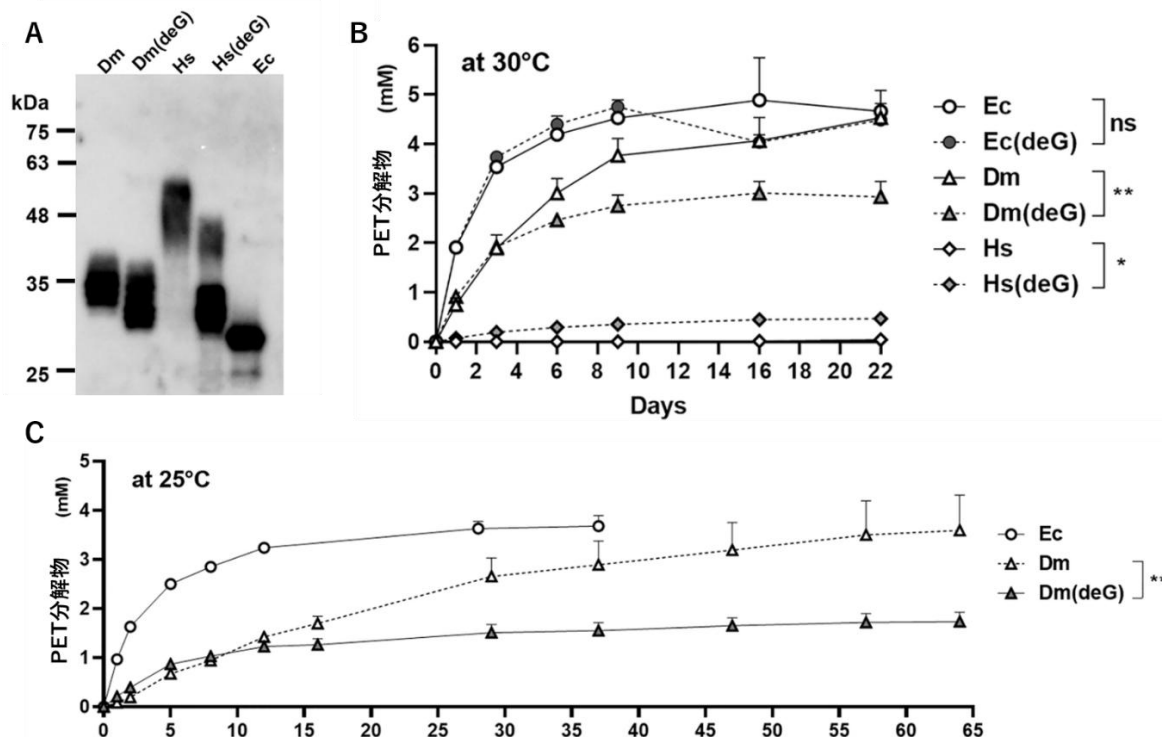


図 4. PET 分解における各種酵素活性の比較

2. 研究成果のパッケージ産業への貢献の可能性

パッケージに使用されるプラスチックは、製品寿命が短く、使用后すぐに廃棄物となるものが多いため、その回収と再資源化はパッケージ産業における重要な課題である。特に、汚れや異物が混入した低品質 PET は、選別や洗浄が困難で、再生材料の品質も低下しやすいため、従来のリサイクルによる再資源化が難しい。本研究では、PETase を発現するショウジョウバエが PET フィルム分解に寄与し得ることが示された。これは、昆虫を PET 分解酵素の供給源として利用し、前処理が困難な低品質 PET を処理する新たな生物学的プラットフォームにつながる可能性を示している。

将来的に本技術が発展すれば、使用済みパッケージの減容化や分解前処理、再資源化しやすい原料への変換などに応用され、既存の回収・選別・リサイクル工程を補完できる可能性がある。また、比較的低温で長期間作用する昆虫由来 PETase の特性は、エネルギー消費を抑えた処理技術の開発にも有用と考えられる。一方で、本研究は概念実証の段階であり、分解速度、処理量、生成物の回収、安全性、遺伝子組換え昆虫の管理など、産業利用に向けた課題が残されている。したがって、本研究成果は直ちに廃 PET 処理へ利用できるものではないが、低品質 PET を含むパッケージ廃棄物の循環利用に向けた新たな技術基盤として、パッケージ産業に貢献する可能性がある。

3. 学会発表、学会誌等への論文掲載、産業財産権出願などの実績

学会発表

1. 藤原涼雅, 佐貫理佳子, 網代広治, 福居俊昭, 吉田昭介

PET を発酵原料とした *Ideonella sakaiensis* によるポリヒドロキシアルカン酸(PHA)の合成

第 67 回日本生化学会近畿支部例会 2021 年

2. 藤原涼雅, 佐貫理佳子, 網代広治, 福居俊昭, 吉田昭介

Ideonella sakaiensis による PET を発酵原料としたポリヒドロキシアルカン酸の生産

第 73 回 日本生物工学会大会 2021 年

(2022)

3. 伊出 健太郎, 戸所 健彦, 佐貫 理佳子, 南はつね, 河野 恵美, 小高敦史, 吉田昭介, 石田 博樹

Aspergillus oryzae による *Ideonella sakaiensis* 由来 PET 分解酵素の異種発現

第 74 回 日本生物工学会大会 2022 年

論文掲載

1. Direct fermentative conversion of poly(ethylene terephthalate) into poly(hydroxyalkanoate) by *Ideonella sakaiensis*.

Ryoga Fujiwara, Rikako Sanuki, Hiroharu Ajiro, Toshiaki Fukui, Shosuke Yoshida

Scientific reports 11(1), 2021 年 10 月

2. Polyethylene terephthalate degradation by *Drosophila melanogaster* through heterologous expression of glycosylated polyethylene terephthalate hydrolase (PETase).

Rikako Sanuki, Hatsune Minami, Emi Kawano, Keita Katsuma, Toshiyuki Takano-Shimizu-Kouno, Shosuke Yoshida

Communications Sustainability 1, 36, 2026 年 2 月