

理研NMR施設利用報告書  
(トライアルユース)

14-500-048

平成 27 年 4 月 10 日

利用機関名	株式会社デンソー
実施部署名	先端研究部 バイオ材料研究室
実施責任者管理職名・氏名	室長 / 福田 裕章
実施部署所在地	愛知県日進市米野木町南山 500-1
実施部署連絡先	
利用課題名	金属イオン吸着ペプチドの構造解析
利用目的・内容	<p>レアアースは一部の国で採掘されず、資源危機が問題となっている。また、レアアース製錬時には大量の有機溶媒が使用され、環境への負荷も懸念されている。また、使用済み磁石などからのレアアース回収、再利用の割合は極端に低いため、リサイクルコストは市場価格に見合わない。そこで、我々はレアアースを効率的に吸着できるペプチドを見出し、溶媒レスで環境負荷の低い安価なレアアース簡易回収プロセスを提案することを目指し、レアアースの中で最も使用量の多いネオジウム (Nd) を選定し、Nd<sup>3+</sup>イオンを吸着する機能性ペプチド材料の探索を開始した。</p> <p>これまでに、ファージディスプレイ法により、Nd<sup>3+</sup>イオンへの吸着能を有する 12 残基アミノ酸からなるペプチド (以下、「本ペプチド」という) を選抜してきた。吸着性能評価実験にて、ファージのコートタンパク質に提示したものをを用い、Nd<sup>3+</sup>吸着親和性を確認すると同時に、Nd<sup>3+</sup>イオンの特異的吸着性能の確認のため、Fe<sup>3+</sup>を比較対象として、同様の評価実験を行った。また、CD スペクトル分析の結果、本ペプチドは、Nd<sup>3+</sup>イオン添加により構造変化することを確認したが、ペプチド分子と Nd<sup>3+</sup>との相互作用や吸着機構は解明できていない。そこで、ファージを含まないペプチド分子のみの吸着性能の把握のため、及び安定的に Nd<sup>3+</sup>イオンを吸着できるペプチド構造を提案するため、本ペプチドと Nd<sup>3+</sup>イオンとの相互作用機構を解明することを目的とし、測定実験を行う。</p>

利用実施時期及び期間	平成 26 年 10 月 1 日 ~ 平成 27 年 3 月 16 日  <div style="text-align: center;"> <input checked="" type="radio"/> 当初計画どおり・当初計画変更            (変更理由)         </div>	
利用施設	NMR装置 (該当部分に○)	利用装置① ・ ( ) 溶液 600MHz、( ) 溶液 700MHz、( <input checked="" type="radio"/> ) 溶液 800MHz、 ( ) 溶液 900MHz、( ) 固体 700MHz 利用期間 1 : 平成 26 年 10 月 1 日 ~ 平成 26 年 10 月 5 日 利用期間 2 : 平成 27 年 3 月 10 日 ~ 平成 27 年 3 月 15 日  利用装置② ・ ( ) 溶液 600MHz、( ) 溶液 700MHz、( ) 溶液 800MHz、 ( <input checked="" type="radio"/> ) 溶液 900MHz、( ) 固体 700MHz 利用期間 1 : 平成 26 年 10 月 28 日 ~ 平成 26 年 10 月 29 日 利用期間 2 : 平成 26 年 11 月 19 日 ~ 平成 26 年 11 月 20 日 利用期間 3 : 平成 27 年 2 月 24 日 ~ 平成 27 年 3 月 1 日
利用満足度 (複数選択不可)	( ) 大いに満足、( <input checked="" type="radio"/> ) ほぼ満足、( ) やや不満、 ( ) 大いに不満	

実施内容	<p>本課題を解決するために、以下とおり測定実験を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 酸性溶液及び中性周辺の溶液における、当該ペプチドのフリー状態を 9:1 (H<sub>2</sub>O:D<sub>2</sub>O) 溶液、25°Cに 1D 及び 2D NMR スペクトル測定 (TOCSY 法、NOESY 法又は ROESY 法、及び <sup>13</sup>C HSQC 法) を行った。軽水のシグナルは Presaturation 法を用いて消去した。次に、ペプチド試料に Nd<sup>3+</sup> イオンを添加し、ペプチドのフリー状態に対し、NMR スペクトルの変化を観測した。</li> <li>2. ファージディスプレイ法におけるペプチド選抜の際、樹脂上に Nd<sup>3+</sup> を固定するため、キレート剤を用いた。そのため、NMR 測定実験でも、測定試料に IDA 及び EDTA をキレート剤として、添加し、測定を実施した。</li> <li>3. さらに、Nd<sup>3+</sup>・EDTA と比較対象である Fe<sup>3+</sup> を観測するため、ペプチドと Fe<sup>3+</sup>・EDTA についても観測を行った。 得られた測定データについて、スペクトル帰属及び結果分析を行った。</li> </ol>
本課題により得られた成果、当初目標と結果との比較	<p>当該課題に対して、NMR 装置利用担当スタッフの助言や協力により、目的の測定実験や解析によるデータ収集ができた。</p> <p>今回は、様々な条件の NMR スペクトル観測により、選抜したペプチドと金属イオンの吸着現象の把握ができた。Nd イオンへの特異性を観測するための Fe イオンの吸着に対し、異なった吸着現象が見られたが、想定していた結果には至らなかった。ペプチドのみの情報と金属添加後の情報を解析比較すると、ペプチドと Nd の相互作用は弱い結合の状態であるため、明確な結合構造は決定できなかった。</p>
今後の展開、課題	<p>本課題では、実験条件設定などがある程度工夫したが、我々が選抜したペプチドでは、Nd<sup>3+</sup> イオン添加前後得られた情報に大きな差異がみられず、考察が難しかった。しかし、適切なペプチド試料や最適な測定条件の選択により、ペプチドと Nd<sup>3+</sup> イオンとの相互作用について、分子レベルでの把握が可能であることが見えてきた。今後の研究展開としては、今回の測定で得られた知見をもとにペプチド選抜実験の設計や性能評価方法の改良を考えている。また、改良できたペプチドと金属イオンの吸着機構の把握及び構造決定を行っていきたいと考えている。</p>

<p>社会・経済への波及効果の見通し</p>	<p>金属回収方法にて、大量の試薬や特定な抽出剤利用のが一般的な方法である。本研究では、ペプチドはバイオ材料であるため、将来の環境負荷が低い金属回収方法につながる可能性が高い。相互作用機構の解明によって、高吸着性能を有するペプチドの獲得が期待できる。</p>
<p>成果公開延期の希望の有無</p>	<p>( <input type="radio"/> ) なし : ( <input type="radio"/> ) あり  「あり」の場合理由：   延期希望期間 : (利用報告書提出日より最大2年)</p>
<p>理研NMR施設利用における感想</p>	<p>測定実験担当スタッフに、NMR 測定実験設定やテクニックなどについて、沢山のご助言やご協力頂きまして、厚くお礼申し上げます。  このような連携機会でも、深く意見交換や技術的な議論などができ、企業での新しい研究が速やかに進められると考えています。今後も装置利用しやすいシステムや技術サポートシステムが利用しやすくなることを願います。</p>
<p>利用周辺環境に関する希望</p>	<p>特になし</p>
<p>今後の利用形態の予定</p>	<p>( <input type="radio"/> ) 再度本事業への申請を考えている。  ( <input type="radio"/> ) 成果の非公開を前提とした「外部利用」(有料)を考えている。  ( <input type="radio"/> ) その他理研との共同研究等を考えている。  具体的に：   ( <input type="radio"/> ) 未定</p>
<p>今後期待するその他のサービス</p>	<p>( <input type="radio"/> ) NMR 装置利用の教育(これまで NMR を使用した経験の無い方に対する教育も含む)  ( <input type="radio"/> ) NMR 装置利用の技術的なサポート  ( <input type="radio"/> ) その他  具体的に</p>

<p>文部科学省の共用ナビ （研究施設共用総合ナビゲーションサイト）に対する感想・改善について</p>	<p>(<a href="http://kyoyonavi.mext.go.jp/">http://kyoyonavi.mext.go.jp/</a>)  <input checked="" type="radio"/> 見た    :    <input type="radio"/> 見ていない  感想等：多数の施設情報が示され、情報共用できるサイトであるが、分野別などのご案内が利用しやすくできること及び情報展開が望まれる。</p>
<p>その他</p>	<p>（上記の項目以外でご意見等お願いします。）</p>

本報告書については、印刷または必要な編集・加工を行った上で公開します。また、別途開催予定の成果報告会・シンポジウムや委託事業報告書作成時において、本報告書の内容についての資料作成または発表をお願いする場合があります。