

理研NMR施設利用報告書  
(トライアルユース)

利用機関名	株式会社デンソー
実施部署名	基礎研究所 先端研究部 バイオ材料研究室
実施責任者管理職名・氏名	課長 久野 斉
実施部署所在地	愛知県日進市米野木町南山 500 番地 1
実施部署連絡先	TEL : FAX : E-mail :
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>近年、生体分子と金属イオンとの相互作用による無機固体形成を利用した環境にやさしい材料や省エネものづくりが提案されている。その中で、我々は、ペプチドと金属イオンの相互作用を活かした新規バイオ吸着材やバイオ素子の創製を目標として研究を行っている。今回の分析では、以下の目的で解析を実施した。</p> <p>1) 亜鉛 (Zn) は酸化亜鉛結晶状態で電気・光・磁性の特徴を持つためデバイスの重要な基本材料であったが、製造工程が高エネで環境負荷が高いため、省エネ、かつ環境負荷が少ない工程が期待されている。我々はファージディスプレイライブラリから Zn 結合能を有するペプチドを幾つか選抜し性能評価を行った。NMR 解析は、ペプチド性能の向上を目指すため、その相互作用機構を解明することを目的とした。</p> <p>2) レアアース製錬時には大量の有機溶媒が使用され、環境負荷が懸念されている。また、使用済み磁石などからのレアアース回収、再利用率は極端に低いため、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、Nd<sup>3+</sup>吸着能を有するペプチドから成るバイオ吸着材を提案した。しかし、ペプチドの吸着性能向上が必要であったため、以前に選抜できた Nd<sup>3+</sup>イオン吸着ペプチドの配列改良指針を決定し、配列置換を試みた。今回は改良したペプチドの性能把握及び結合状態解明することを目的とした。</p>

利用実施時期及び期間	平成 27 年 12 月 21 日 ～ 平成 28 年 3 月 21 日  <div style="text-align: center;"> <span style="border: 1px solid black; border-radius: 50%; padding: 2px;">当初計画どおり</span>・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 ・ ( )600MHz、( ○ )700MHz、( )800MHz、( )900MHz ( )低温プローブ付 ( )固体プローブ付 ( )サンプルチェンジャー付 利用期間 1 : 平成 28 年 2 月 25 日 ～ 平成 28 年 2 月 28 日 利用期間 2 : 平成 28 年 3 月 16 日 ～ 平成 28 年 3 月 21 日
		利用装置② ・ ( )600MHz、( )700MHz、( ○ )800MHz、( )900MHz ( )低温プローブ付 ( )固体プローブ付 ( )サンプルチェンジャー付 利用期間 1 : 平成 27 年 12 月 24 日 ～ 平成 27 年 12 月 27 日 利用期間 2 : 平成 28 年 1 月 18 日 ～ 平成 28 年 1 月 24 日 利用期間 3 : 平成 28 年 2 月 15 日 ～ 平成 28 年 2 月 21 日
		利用装置③ ・ ( )600MHz、( )700MHz、( )800MHz、( ○ )900MHz ( )低温プローブ付 ( )固体プローブ付 ( )サンプルチェンジャー付 利用期間 1 : 平成 27 年 12 月 22 日 ～ 平成 28 年 1 月 3 日
	立体構造解析パイプライン	・ 発現確認 : 利用回数 回 <hr/> ・ フォールド判定 : 利用回数 回 <hr/> ・ 大量調製 : 利用回数 回 <hr/> ・ 構造決定 : 利用回数 回

利用満足度 (複数選択不可)	( <input type="radio"/> )大いに満足、( <input type="checkbox"/> )ほぼ満足、( <input type="checkbox"/> )やや不満、 ( <input type="checkbox"/> )大いに不満	
成果の概要	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> <p><b>1) Zn<sup>2+</sup>結合ペプチドの実験</b>：中性付近の溶液における、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、15°C~25°Cにて、1D 及び 2D NMR スペクトル測定 (TOCSY 法、NOESY 法及び <sup>13</sup>C HSQC 法) を行った。軽水のシグナルは WATERGATE 法を用いて消去した。ペプチド試料を用いた分析では、まず Zn<sup>2+</sup>滴定実験を行い、スペクトル変化を観測した。また、よりシャープなスペクトルを得るため、試料に DMSO を添加した実験も行った。</p> <p><b>2) Nd<sup>3+</sup>結合ペプチドの実験</b>：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にて 1D 及び 2D NMR スペクトル測定 (TOCSY 法、NOESY 法及び <sup>13</sup>C HSQC 法) を行った。軽水のシグナルは WATERGATE 法を用いて消去した。ペプチド試料を用いた分析では、まず Nd<sup>3+</sup>滴定実験を行い、スペクトルの変化を観測した。そして、Kd 計算を行った。得られた測定データについて、スペクトル帰属及び結果考察を行った。</p>
	本課題により得られた成果、当初目標と結果との比較	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、計画通りに目的の測定実験や解析によるデータ収集ができた。当研究の目標に対し、開発中のペプチドと金属イオンの相互作用を把握でき、今後の開発方針が得られた。

	今後の展開、課題	<p>1) Zn<sup>2+</sup>結合ペプチド:今後の研究展開としては、測定実験で得られた知見を基にし、ペプチドライブラリ再設計（ペプチド長さや配列傾向の制御など）を行うことで、ペプチド性能向上を目指す。</p> <p>2) Nd<sup>3+</sup>結合ペプチド:上記と同様で、ペプチド性能向上へ展開する。</p>
社会・経済への波及効果の見通し	<p>金属回収方法又は電子素子作製にて、危険な試薬や特定な抽出剤利用が一般的な方法である。本研究では、ペプチドが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及び電子素子の新規作製方法につながる可能性がある。相互作用機構の解明によって、目指す性能を有するペプチドの獲得が期待できる。</p>	
成果公開延期の希望の有無	<p>( ) あり : ( O ) なし 「あり」の場合理由:</p> <p>延長希望期間: (利用報告書提出日より最大2年)</p>	
理研 NMR 施設利用における感想	<p>測定実験担当スタッフに、NMR 測定実験設定やデータ解釈などについて、沢山のご指導及びご協力を頂きました。企業の研究加速の面だけでなく、教育の面にも感謝しております。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。</p>	
利用周辺環境に関する希望	<p>特になし</p>	
今後の利用形態の予定	<p>( ) 再度本事業への申請を考えている。 ( ) 成果の非公開を前提とした「外部利用」(有料)を考えている。 ( O ) その他理研との共同研究等を考えている。 具体的に:  ( ) 未定</p>	

<p>今後期待するその他のサービス</p>	<p>( ) 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)</p> <p>( ○ ) NMR 装置利用の技術的なサポート</p> <p>( ) その他</p> <p>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>)</p> <p>( ) 見た : ( ○ ) 見ていない</p> <p>感想等 :</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。