

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2013-181021

(P2013-181021A)

(43) 公開日 平成25年9月12日(2013.9.12)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
CO7K 14/11 (2006.01)	CO7K 14/11 ZNA	2G042
GO1N 30/00 (2006.01)	GO1N 30/00 E	4D624
GO1N 30/88 (2006.01)	GO1N 30/88 H	4G066
GO1N 31/00 (2006.01)	GO1N 30/88 IO1D	4H045
GO1N 31/22 (2006.01)	GO1N 31/00 T	4K001
審査請求 未請求 請求項の数 11 OL (全 17 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2012-47585 (P2012-47585)
 (22) 出願日 平成24年3月5日 (2012.3.5)

(71) 出願人 504150450
 国立大学法人神戸大学
 兵庫県神戸市灘区六甲台町1-1
 (74) 代理人 100077012
 弁理士 岩谷 龍
 (72) 発明者 田村 厚夫
 兵庫県神戸市灘区六甲台町1-1 国立大
 学法人神戸大学内
 (72) 発明者 飯田 禎弘
 兵庫県神戸市灘区六甲台町1-1 国立大
 学法人神戸大学内
 Fターム(参考) 2G042 AA01 BC09 CB03 DA06 DA08
 EA02 EA20 FA06 FA14 FA20
 FB05 HA07

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 レアメタル結合能を有する人工ペプチドおよびその利用

(57) 【要約】

【課題】レアメタル結合能を有する人工ペプチドを提供し、環境負荷の少ないレアメタル回収方法を提供すること。

【解決手段】以下のアミノ酸配列(1)を有し、かつアミノ酸残基数が100以下であるペプチド。

(1) SDPLVX₁RASLIGLLX₂LLLWX₃X₄X₅RX₆(配列番号1)
 (X₁は親水性アミノ酸、X₂はHまたはA、X₃はRまたはK、X₄はMまたは脂肪族アミノ酸、X₅はDまたはE、X₆は任意のアミノ酸を表す。)

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

以下のアミノ酸配列(1)を有し、かつアミノ酸残基数が100以下であるペプチド。
 (1) S D P L V X₁ R A S L I G L L X₂ L L L W X₃ X₄ X₅ R X₆ (配列番号1)
 (X₁は親水性アミノ酸、X₂はHまたはA、X₃はRまたはK、X₄はMまたは脂肪族アミノ酸、X₅はDまたはE、X₆は任意のアミノ酸を表す。)

【請求項 2】

X₁がNまたはR、X₄がMまたはL、X₆がKまたはLである請求項1に記載のペプチド。

【請求項 3】

アミノ酸配列(1)が、以下のアミノ酸配列(2)または(3)である請求項2に記載のペプチド。

(2) S D P L V N R A S L I G L L H L L L W R M D R L (配列番号2)

(3) S D P L V R R A S L I G L L H L L L W K M D R K (配列番号3)

【請求項 4】

アミノ酸配列(1)が、以下のアミノ酸配列(4)または(5)である請求項2に記載のペプチド。

(4) S D P L V R R A S L I G L L H L L L W K L E R K (配列番号4)

(5) S D P L V R R A S L I G L L A L L L W K M D R K (配列番号5)

【請求項 5】

請求項1～4のいずれかに記載のペプチドを含有する金属吸着剤。

【請求項 6】

金属がレアメタルである請求項5に記載の金属吸着剤。

【請求項 7】

レアメタルがパラジウムおよび/または白金である請求項6に記載の金属吸着剤。

【請求項 8】

請求項5～7のいずれかに記載の金属吸着材とレアメタルを含む金属成分を含有する水溶液とを接触させる工程を含むことを特徴とするレアメタル回収方法。

【請求項 9】

レアメタルがパラジウムおよび/または白金である請求項8に記載のレアメタル回収方法。

【請求項 10】

請求項1～4のいずれかに記載のペプチドとレアメタルを含む金属成分を含有する水溶液とを接触させる工程、および、当該ペプチドの構造変化を検出する工程を含むことを特徴とするレアメタル検出方法。

【請求項 11】

レアメタルがパラジウムおよび/または白金である請求項10に記載のレアメタル検出方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、レアメタル結合能を有する人工ペプチドおよびその利用に関するものであり、詳細には、レアメタル結合能を有する人工ペプチドを含有する金属吸着剤、それを用いるレアメタル回収方法、レアメタル検出方法に関するものである。

【背景技術】

【0002】

先端科学技術の発展に深く関わり、高性能化の材料となっているのがレアメタルとよばれる非鉄金属類であり、材料・触媒化学の分野において広く注目を浴びている。近年の技術革新や新興国の発展に伴い、貴金属をはじめとするレアメタルの使用量が急増しており、資源確保観点からも金属の回収法の効率化が急務の課題となっている。

10

20

30

40

50

【 0 0 0 3 】

従来のレアメタル回収技術は、高温や強酸性など極端な条件で行われるため、環境負荷が大きく、エネルギー消費も大きい。また、特定のレアメタルのみを選択的に回収することは困難である。そこで、環境負荷の少ないレアメタル回収技術が求められており、種々の技術が提案されている（例えば、特許文献 1 参照）。

【 先行技術文献 】

【 特許文献 】

【 0 0 0 4 】

【 特許文献 1 】 特開 2 0 0 8 - 1 2 7 6 5 1 号 公 報

【 発明の概要 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 5 】

本発明は、レアメタル結合能を有する人工ペプチドを提供し、環境負荷の少ないレアメタル回収方法を提供することを課題とする。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 6 】

本発明は、上記課題を解決するために、以下の各発明を包含する。

[1] 以下のアミノ酸配列 (1) を有し、かつアミノ酸残基数が 1 0 0 以下であるペプチド。

(1) S D P L V X ₁ R A S L I G L L X ₂ L L L W X ₃ X ₄ X ₅ R X ₆ (配列番号 1)

(X ₁ は親水性アミノ酸、X ₂ は H または A、X ₃ は R または K、X ₄ は M または脂肪族アミノ酸、X ₅ は D または E、X ₆ は任意のアミノ酸を表す。)

[2] X ₁ が N または R、X ₄ が M または L、X ₆ が K または L である前記 [1] に記載のペプチド。

[3] アミノ酸配列 (1) が、以下のアミノ酸配列 (2) または (3) である前記 [2] に記載のペプチド。

(2) S D P L V N R A S L I G L L H L L L W R M D R L (配列番号 2)

(3) S D P L V R R A S L I G L L H L L L W K M D R K (配列番号 3)

[4] アミノ酸配列 (1) が、以下のアミノ酸配列 (4) または (5) である前記 [2] に記載のペプチド。

(4) S D P L V R R A S L I G L L H L L L W K L E R K (配列番号 4)

(5) S D P L V R R A S L I G L L A L L L W K M D R K (配列番号 5)

[5] 前記 [1] ~ [4] のいずれかに記載のペプチドを含有する金属吸着剤。

[6] 金属がレアメタルである前記 [5] に記載の金属吸着剤。

[7] レアメタルがパラジウムおよび / または白金である前記 [6] に記載の金属吸着剤。

[8] 前記 [5] ~ [7] のいずれかに記載の金属吸着材とレアメタルを含む金属成分を含有する水溶液とを接触させる工程とを含むことを特徴とするレアメタル回収方法。

[9] レアメタルがパラジウムおよび / または白金である前記 [8] に記載のレアメタル回収方法。

[1 0] 前記 [1] ~ [4] のいずれかに記載のペプチドとレアメタルを含む金属成分を含有する水溶液とを接触させる工程、および、当該ペプチドの構造変化を検出する工程を含むことを特徴とするレアメタル検出方法。

[1 1] レアメタルがパラジウムおよび / または白金である前記 [1 0] に記載のレアメタル検出方法。

【 発明の効果 】

【 0 0 0 7 】

本発明によれば、レアメタル結合能を有する人工ペプチドを提供することができる。当該人工ペプチドは、金属吸着材として好適に使用することができる。当該金属吸着材を用いることにより、レアメタルを効率よく回収することができる。

10

20

30

40

50

【図面の簡単な説明】

【0008】

【図1】本発明のペプチド(M2SAP2)溶液に金属イオンを添加してCD(円二色性)測定した結果を示す図である。

【図2】本発明のペプチド(M2SAP2)溶液に(A)銅イオン溶液または(B)パラジウムイオン溶液を滴定してITC測定した結果を示す図である。

【図3】本発明のペプチド(M2SAP3)溶液に金属イオンを添加してCD測定した結果を示す図である。

【図4】本発明のペプチド(M2SAP3)溶液に(A)銅イオン溶液または(B)パラジウムイオン溶液を滴定してITC測定した結果を示す図である。

10

【図5】本発明のペプチド(M2SAP5)溶液に金属イオンを添加してCD測定した結果を示す図である。

【図6】本発明のペプチド(M2SAP5)溶液に(A)銅イオン溶液または(B)パラジウムイオン溶液を滴定してITC測定した結果を示す図である。

【図7】本発明のペプチド(M2SAP6)溶液に金属イオンを添加してCD測定した結果を示す図である。

【図8】本発明のペプチド(M2SAP6)溶液に(A)銅イオン溶液または(B)パラジウムイオン溶液を滴定してITC測定した結果を示す図である。

【図9】本発明のペプチド(M2SAP5)塗工した薄葉紙のパラジウムイオン吸着能を検討した結果を示す図である。

20

【発明を実施するための形態】

【0009】

M2タンパク質はA型インフルエンザウイルスのエンベロープ内に存在する膜タンパク質である。M2タンパク質は、97残基のアミノ酸(配列番号6)からなる1回膜貫通タンパク質であり、天然状態ではヘリックス構造をとっておりテトラマーを構成している。さらに、その4本膜貫通ヘリックスはpH依存性のプロトンチャネルを形成しており、その中に含むHis37はpHセンサーであり、Trp41はゲートの役割を担っている(Jasen R. Schnell et al., Nature 451 591-595 2008.、Stouffer AL et al., Nature 451 596-599 2008.)。また、M2タンパク質は銅イオンと選択的に結合する能力を保有していることが知られている(Chris S. Gandhi et al., J Biol Chem 274(9) 5474-82 1999)。

30

そこで、本発明者らは、M2タンパク質の膜貫通ドメインを含むSer23からLeu46までのアミノ酸配列からなるペプチドは疎水性が高く水に不溶であったためアミノ酸配列を改変することで水溶性を獲得させ、さらに新たな金属結合能を付与するべくペプチド分子を設計し、種々の性質について検討を行った。その結果、レアメタル結合能を有する水溶性アナログを見出し、本発明を完成させるに至った。

【0010】

〔ペプチド〕

本発明は、以下のアミノ酸配列(1)を有し、かつアミノ酸残基数が100以下であるペプチドを提供する。

40

(1)SDPLVX₁RASLIGLLX₂LLLWX₃X₄X₅RX₆(配列番号1)
(X₁は親水性アミノ酸、X₂はHまたはA、X₃はRまたはK、X₄はMまたは脂肪族アミノ酸、X₅はDまたはE、X₆は任意のアミノ酸を表す。)

本発明のペプチドは、水溶性かつレアメタル結合能を有しているペプチドであればよい。本発明のペプチドは、上記アミノ酸配列(1)を含むものであればよく、それ以外の部分のアミノ酸配列は、水溶性およびレアメタル結合能の少なくとも一方を損なわない限り特に限定されない。なお、本明細書において、「ペプチド」は2個以上のアミノ酸がペプチド結合によって結合したものを意味し、結合するアミノ酸の数は問わない。すなわち、本発明における「ペプチド」にはポリペプチドが含まれる。

【0011】

50

X_1 は親水性アミノ酸であればよい。 X_1 の親水性アミノ酸としては、例えばアスパラギン、アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸、グルタミン、ヒスチジン、リジン、セリン、トレオニン等が挙げられる。好ましくは、アスパラギン、アルギニンまたはグルタミン酸である。

X_4 はメチオニンまたは脂肪族アミノ酸であればよい。 X_4 の脂肪族アミノ酸としては、例えばロイシン、イソロイシン、アラニン、バリン等が挙げられる。好ましくはロイシンである。

X_6 のアミノ酸は特に限定されず、いずれのアミノ酸でもよい。好ましくは、ロイシン、リジン、グリシンであり、より好ましくは、ロイシンまたはリジンである。

【0012】

上記アミノ酸配列(1)は、以下のアミノ酸配列(2)または(3)であることが好ましい。

(2) SDPLVNRASLIGLLHLLLRMDRL (配列番号2)

(3) SDPLVRRASLIGLLHLLLRKMDRK (配列番号3)

アミノ酸配列(2)または(3)からなるペプチドは水溶性であり、パラジウムおよび銅と選択的に結合することが確認されている。

【0013】

また、上記アミノ酸配列(1)は、以下のアミノ酸配列(4)または(5)であることが好ましい。

(4) SDPLVRRASLIGLLHLLLRKLERK (配列番号4)

(5) SDPLVRRASLIGLLALLLRKMDRK (配列番号5)

アミノ酸配列(4)または(5)からなるペプチドは水溶性であり、パラジウムと選択的に結合することが確認されている。

【0014】

本発明のペプチドのアミノ酸残基数は、24残基以上100残基以下であれば特に限定されない。取り扱いの簡便さ、製造効率等の観点から、アミノ酸残基数の上限は約80残基が好ましく、より好ましくは約50残基、さらに好ましくは約40残基、特に好ましくは約30残基である。

【0015】

本発明のペプチドの具体例としては、例えば、配列番号6のアミノ酸配列からなるM2タンパク質のSer23からLeu46を、上記アミノ酸配列(1)で置換したペプチドを含むペプチドを好適に用いることができる。また、上記アミノ酸配列(1)を2~4回繰り返した配列を含むペプチドを好適に用いることができる。上記アミノ酸配列(1)を2~4回繰り返した配列としては、具体的には、例えば、上記アミノ酸配列(2)~(5)のいずれか1種を2~4回繰り返した配列、上記アミノ酸配列(2)~(5)の2~4種を適宜組み合わせ合わせて結合した配列などが挙げられる。好ましくは上記アミノ酸配列(2)~(5)のいずれか1種からなるペプチドであり、より好ましくは上記アミノ酸配列(4)または(5)からなるペプチドである。

【0016】

本発明のペプチドは、公知の一般的なペプチド合成のプロトコールに従って、固相合成法(Fmoc法、Boc法)または液相合成法により製造することができる。また、本発明のペプチドをコードするDNAを含有する発現ベクターを導入した形質転換体を用いる方法や、*in vitro*転写・翻訳系を用いる方法により製造することができる。

【0017】

本発明のペプチドは、C末端がカルボキシル基(-COOH)、カルボキシレート(-COO⁻)、アミド(-CONH₂)またはエステル(-COOR)の何れであってもよい。エステルにおけるRとしては、例えば、メチル、エチル、*n*-プロピル、イソプロピルもしくは*n*-ブチルなどのC₁~₆アルキル基、例えば、シクロペンチル、シクロヘキシルなどのC₃~₈シクロアルキル基、例えば、フェニル、*n*-ナフチルなどのC₆~₁₂アリール基、例えば、ベンジル、フェネチルなどのフェニル-C₁~₂アルキル基もし

10

20

30

40

50

くは -ナフチルメチルなどの -ナフチル - C₁ - 2 アルキル基などの C₇ - 1₄ アラルキル基のほか、経口用エステルとして汎用されるピバロイルオキシメチル基などが挙げられる。本発明のペプチドがC末端以外にカルボキシル基またはカルボキシレートを有している場合、それらの基がアミド化またはエステル化されているものも本発明のペプチドに含まれる。

【0018】

本発明のペプチドを構成するアミノ酸は、側鎖が任意の置換基で修飾されたものでもよい。置換基は特に限定されないが、例えば、フッ素原子、塩素原子、シアノ基、水酸基、ニトロ基、アルキル基、シクロアルキル基、アルコキシ基、アミノ基などが挙げられる。

さらに、本発明のペプチドには、N末端のメチオニン残基のアミノ基が保護基（例えば、ホルミル基、アセチルなどのC₂ - 6 アルカノイル基などのC₁ - 6 アシル基など）で保護されているもの、N末端側が生体内で切断され生成したグルタミル基がピログルタミン酸化したもの、分子内のアミノ酸の側鎖上の置換基（例えば、-OH、-SH、アミノ基、イミダゾール基、インドール基、グアニジノ基など）が適当な保護基（例えば、ホルミル基、アセチルなどのC₂ - 6 アルカノイル基などのC₁ - 6 アシル基など）で保護されているものも含まれる。

【0019】

本発明のペプチドは塩を形成していてもよく、その塩としては、例えば、塩酸、硫酸、燐酸、乳酸、酒石酸、マレイン酸、フマル酸、シュウ酸、リンゴ酸、クエン酸、オレイン酸、パルミチン酸などの酸との塩；ナトリウム、カリウム、カルシウムなどのアルカリ金属もしくはアルカリ土類金属の、またはアルミニウムの水酸化物または炭酸塩との塩；トリエチルアミン、ベンジルアミン、ジエタノールアミン、t-ブチルアミン、ジシクロヘキシルアミン、アルギニンなどとの塩などが挙げられる。

【0020】

〔金属吸着剤およびレアメタル回収方法〕

本発明のペプチドは金属（金属イオン）と結合できる性質を有するため、金属吸着剤として好適に用いることができる。本発明の金属吸着剤の吸着対象金属は、本発明のペプチドに特異的（選択的）に結合可能な金属に限定されず、非特異的に結合可能な金属であってもよい。本発明の金属吸着剤の吸着対象金属としては、例えば、金、銀、銅、亜鉛、白金、パラジウム、コバルト、クロム、マンガン、ニッケルなどが挙げられる。

【0021】

本発明のペプチドは選択的レアメタル結合能を有しているので、レアメタル吸着剤として有用である。レアメタルとしては、例えば、白金、パラジウム、ロジウム、イリジウム、ルテニウム、オスミウム、金、銀、コバルト、クロム、マンガン、ニッケルなどが挙げられる。好ましくはパラジウムおよび/または白金である。

【0022】

本発明の金属吸着剤は、本発明のペプチドのみからなるものでもよいが、本発明のペプチド以外のものを含んでもよい。好ましくは、本発明のペプチドが適当な担体に担持された形態の金属吸着剤である。担体は、本発明のペプチドを担持可能なものであれば特に限定されず、公知のペプチド担体から適宜選択して用いることができる。担体の材質は特に限定されず、例えば、紙、木材、プラスチック等が挙げられる。担体の形状は特に限定されず、平板状、球状、糸状等が挙げられる。

【0023】

本発明の金属吸着剤を、金属成分を含有する水溶液と接触させることにより、本発明のペプチドが水溶液中の金属イオンと結合し、結合した金属を回収することができる。したがって、本発明は、上記本発明の金属吸着剤と金属成分を含有する水溶液とを接触させる工程を含む金属回収方法を提供する。また、本発明のペプチドは、レアメタルと特異的（選択的）に結合することができるので、回収対象金属をレアメタルとすることが好ましい。レアメタルを回収する場合は、本発明の金属吸着剤とレアメタルを含む金属成分を含有する水溶液とを接触させればよい。回収対象のレアメタルとしては、上記に例示したもの

が好ましい。

【0024】

本発明のレアメタル回収方法では、本発明の金属吸着剤とレアメタルを含む金属成分を含有する水溶液とを接触させた後、例えば、遠心分離、ろ過、pHの変化などによりレアメタルが結合した本発明の金属吸着剤を回収し、酵素による加水分解や燃焼によって金属吸着剤を分解消滅させることなどにより本発明の金属吸着剤からレアメタルを分離すればよい。

【0025】

〔レアメタル検出方法〕

本発明者らは、後の実施例で示すように、本発明のペプチドが特定のレアメタルと結合することにより構造変化することを見出した。したがって、本発明は、本発明のペプチドを用いるレアメタル検出方法を提供することができる。すなわち、本発明のレアメタル検出方法は、本発明のペプチドと目的のレアメタルを含有する可能性のある水溶液とを接触させる工程、および、接触後の本発明のペプチドの構造変化を検出する工程を含むものであればよい。本発明のレアメタル検出方法において、本発明のペプチドは、上記本発明の金属吸着剤の形態で使用することが好ましい。ペプチドの構造変化を検出する手段としては、特に限定されないが、例えば、円二色性(CD)測定、赤外分光(IR)測定、核磁気共鳴(NMR)測定などが挙げられる。

【0026】

〔レアメタルセンサー〕

本発明のペプチドは特定のレアメタルと結合することにより構造変化するので、特定のレアメタルに対するセンシング素子として用いることができる。本発明のペプチドを用いるセンシング素子と、特定のレアメタルの結合に伴うペプチドの構造変化を他の信号に変換する手段とを組み合わせることにより、特定のレアメタルに対するセンサー(検出器)を提供することができる。

【実施例】

【0027】

以下、実施例により本発明を詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。

【0028】

〔実施例1：人工ペプチドの金属イオン結合能の検討〕

(1) ペプチドの合成

以下の4種類のペプチドを、ペプチド合成機(Pioneer, Peptide synthesis System; Applied Biosystems社製)を用いて、Fmoc固相法により合成した。

M2SAP2: SDPLVNRASLIGLLHLLLRMDRL (配列番号2)

M2SAP3: SDPLVRRASLIGLLHLLLRKMDRK (配列番号3)

M2SAP5: SDPLVRRASLIGLLHLLLRKLERK (配列番号4)

M2SAP6: SDPLVRRASLIGLLALLLRKMDRK (配列番号5)

【0029】

(2) 実験方法

(2-1) CD(円二色性)測定

合成した各ペプチドを酢酸バッファー(pH5.5)にそれぞれ溶解して、300μMのペプチド溶液を調製した。このペプチド溶液にコバルト、銅またはパラジウムを含む溶液を添加した。ペプチド溶液のみ(金属非添加)、コバルト添加ペプチド溶液、銅添加ペプチド溶液およびパラジウム添加ペプチド溶液について、それぞれCDを測定した。測定には、Jasco J-720 spectropolarimeter(日本分光社製)を使用し、光路長0.1mmのタイコセルを用いて200μLのペプチド溶液について測定した。測定条件は、温度25℃、走査波長250nm~190nm、データ間隔0.2nm、走査速度100nm/min、レスポンス2sec、バンド幅1nm、感度10mdeg、積算回数8回とした。

10

20

30

40

50

【 0 0 3 0 】

(2 - 2) I T C 測定 (等温滴定量測定)

合成した各ペプチドを酢酸バッファー (pH 5 . 5) にそれぞれ溶解して、300 μ M のペプチド溶液を調製した。測定には、V P - I T C M i c r o C a l o r i m e t e r (MicroCal社製) を使用した。セルに 1 . 5 m L のペプチド溶液を入れ、攪拌しながら銅イオン溶液またはパラジウムイオン溶液を滴定した。得られた発熱量の変化を解析して結合定数を算出した。

【 0 0 3 1 】

(3) 結果

(3 - 1) M 2 S A P 2

M 2 S A P 2 の C D 測定の結果を図 1 に、I T C 測定の結果を図 2 (A) および (B) に示した。図 1 から、M 2 S A P 2 は、銅イオンまたはパラジウムイオンを添加することによりこれらの金属と結合して α -ヘリックスに構造変化することが示された。一方、コバルトイオンを添加した場合は構造変化が生じないことが示された。示していないが、他の金属 (鉄イオン、ニッケルイオン等) を添加した場合も構造変化が生じなかった。この結果から、M 2 S A P 2 は、銅およびパラジウムと選択的に結合することが明らかとなった。図 2 (A) および (B) に示した発熱量の変化に基づいて得られた結合常数 (表 1 参照) から、M 2 S A P 2 の銅およびパラジウムに対する結合能は同程度であった。

10

【 0 0 3 2 】

(3 - 2) M 2 S A P 3

M 2 S A P 3 の C D 測定の結果を図 3 に、I T C 測定の結果を図 4 (A) および (B) に示した。図 3 から、M 2 S A P 3 は、銅イオンまたはパラジウムイオンを添加することによりこれらの金属と結合して α -ヘリックスに構造変化することが示された。一方、コバルトイオンを添加した場合は構造変化が生じないことが示された。示していないが、他の金属 (鉄イオン、ニッケルイオン等) を添加した場合も構造変化が生じなかった。この結果から、M 2 S A P 3 は、銅およびパラジウムと選択的に結合することが明らかとなった。図 4 (A) および (B) に示した発熱量の変化に基づいて得られた結合常数 (表 1 参照) から、M 2 S A P 3 の銅およびパラジウムに対する結合能は同程度であった。

20

【 0 0 3 3 】

(3 - 3) M 2 S A P 5

M 2 S A P 5 の C D 測定の結果を図 5 に、I T C 測定の結果を図 6 (A) および (B) に示した。図 5 から、M 2 S A P 5 は、パラジウムイオンを添加することによりこれと結合して α -ヘリックスに構造変化することが示された。一方、銅イオンまたはコバルトイオンを添加した場合は構造変化が生じないことが示された。示していないが、他の金属 (鉄イオン、ニッケルイオン等) を添加した場合も構造変化が生じなかった。この結果から、M 2 S A P 5 は、パラジウムと選択的に結合することが明らかとなった。図 6 (A) および (B) に示した発熱量の変化に基づいて得られた結合常数 (表 1 参照) から、M 2 S A P 5 のパラジウムに対する結合能は、銅に対する結合能の約 4 倍であった。なお、パラジウムに対する結合能が M 2 S A P 3 と比して約 2 倍向上している点で、より有用性が高い。

30

40

【 0 0 3 4 】

(3 - 4) M 2 S A P 6

M 2 S A P 6 の C D 測定の結果を図 7 に、I T C 測定の結果を図 8 (A) および (B) に示した。図 7 から、M 2 S A P 6 は、パラジウムイオンを添加することによりこれと結合して α -ヘリックスに構造変化することが示された。一方、銅イオンまたはコバルトイオンを添加した場合は構造変化が生じないことが示された。示していないが、他の金属 (鉄イオン、ニッケルイオン等) を添加した場合も構造変化が生じなかった。この結果から、M 2 S A P 6 は、パラジウムと選択的に結合することが明らかとなった。図 8 (A) および (B) に示した発熱量の変化に基づいて得られた結合常数 (表 1 参照) から、M 2 S A P 6 のパラジウムに対する結合能は、銅に対する結合能の約 4 倍であった。なお、パラ

50

ジウムに対する結合能がM2SAP3と比して約4倍向上している点で、より有用性が高い。

【0035】

【表1】

ペプチド	Ka	
	Cu ²⁺	Pd ²⁺
M2SAP2	$1.05 \times 10^5 \pm 1.1 \times 10^4$	$1.72 \times 10^5 \pm 1.01 \times 10^5$
M2SAP3	$6.92 \times 10^4 \pm 500$	$5.85 \times 10^4 \pm 6.1 \times 10^3$
M2SAP5	$2.72 \times 10^4 \pm 2.0 \times 10^3$	$1.07 \times 10^5 \pm 1.5 \times 10^4$
M2SAP6	$7.62 \times 10^4 \pm 2.8 \times 10^3$	$3.06 \times 10^5 \pm 8.3 \times 10^4$

10

【0036】

〔実施例2：ペプチド塗工紙のPdイオン吸着能の検討〕

(1) ペプチド塗工紙の作製

原紙として、薄葉紙 14 g/m^2 ($50 \text{ mm} \times 50 \text{ mm}$) を用いた。ペプチド塗工液 (原液) として、バインダー樹脂 (25%品) 40 mg にM2SAP5を 10 mg 添加して攪拌混合したもの (バインダー樹脂 (固形量) : ペプチド (固形量) = 1 : 1) を用いた。ペプチド塗工液の入ったシャーレの中に薄葉紙を入れて含浸させ、その後オープン乾燥機にて100で10分間乾燥を行った。ペプチド塗工液 (原液) を水で希釈して濃度を調整することにより、塗工量が 2 g/m^2 (ペプチド 1 g/m^2) の塗工紙および 1 g/m^2 (ペプチド 0.5 g/m^2) の塗工紙の2種類を作製した。

20

【0037】

(2) Pdイオン吸着試験

パラジウム標準液 (1000 ppm) が 5 mL 入ったシャーレに、 $25 \text{ mm} \times 25 \text{ mm}$ 角の塗工紙を4時間含浸させ、パラジウムイオンを吸着させた。その後、残液のパラジウムイオン濃度を原子吸光分光光度計を用いて測定し、初期濃度との差を吸着量とした ($n = 2$)。

30

結果を図9および表2に示した。図9は、4時間含浸後の薄葉紙の写真であり、(A) が薄葉紙 14 g/m^2 、(B) が薄葉紙 14 g/m^2 + ペプチド塗工液 2 g/m^2 、(C) が薄葉紙 14 g/m^2 + ペプチド塗工液 1 g/m^2 の写真である。図9からわかるように、薄葉紙の着色の程度は (B) > (C) > (A) であった。また、表2に示したように、薄葉紙に本発明のペプチドを塗工することでパラジウムイオンの吸着量が用量依存的に増加した。また、ペプチド塗工紙作製における原料ペプチドの歩留まりを100%と仮定した場合、ペプチド 1 g あたりのパラジウムイオン吸着量は約90 ~ 約135 mg/g と推定された。

40

【0038】

【表 2】

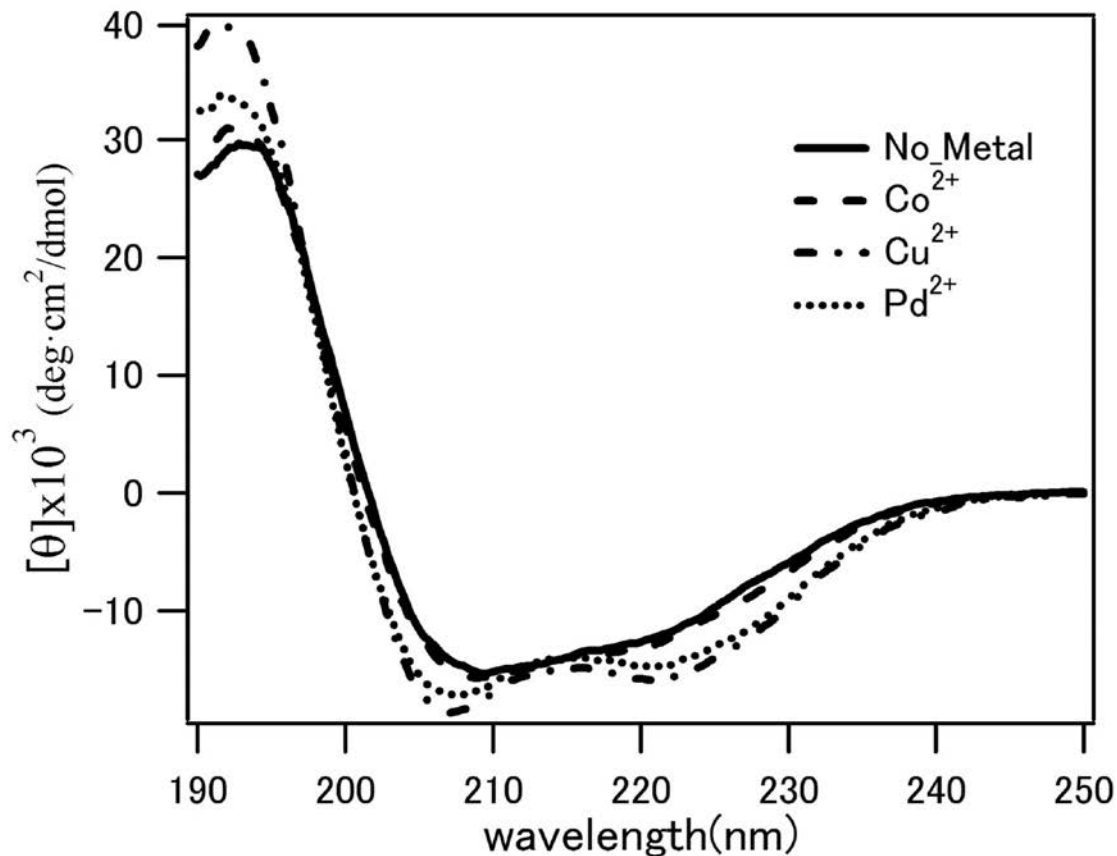
試料	Pd吸着量 (mg/g紙) 平均値
薄葉紙14g/m ²	2.39
薄葉紙14g/m ² +ペプチド塗工液2g/m ²	5.81
薄葉紙14g/m ² +ペプチド塗工液1g/m ²	4.36

10

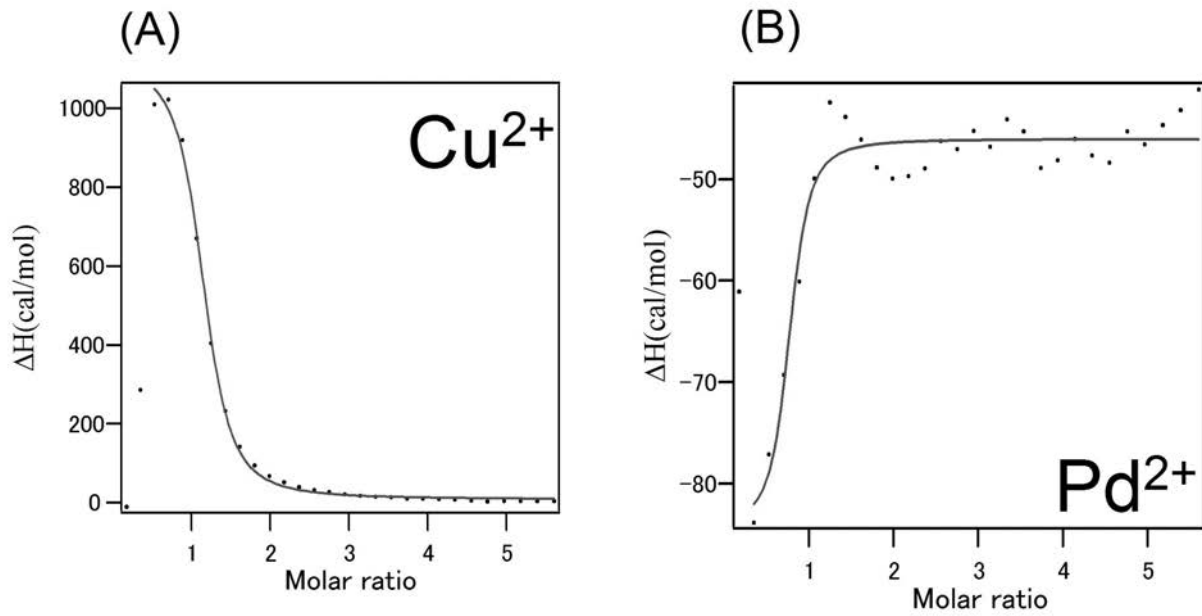
【0039】

なお本発明は上述した各実施形態および実施例に限定されるものではなく、請求項に示した範囲で種々の変更が可能であり、異なる実施形態にそれぞれ開示された技術的手段を適宜組み合わせ得られる実施形態についても本発明の技術的範囲に含まれる。また、本明細書中に記載された学術文献および特許文献の全てが、本明細書中において参考として援用される。

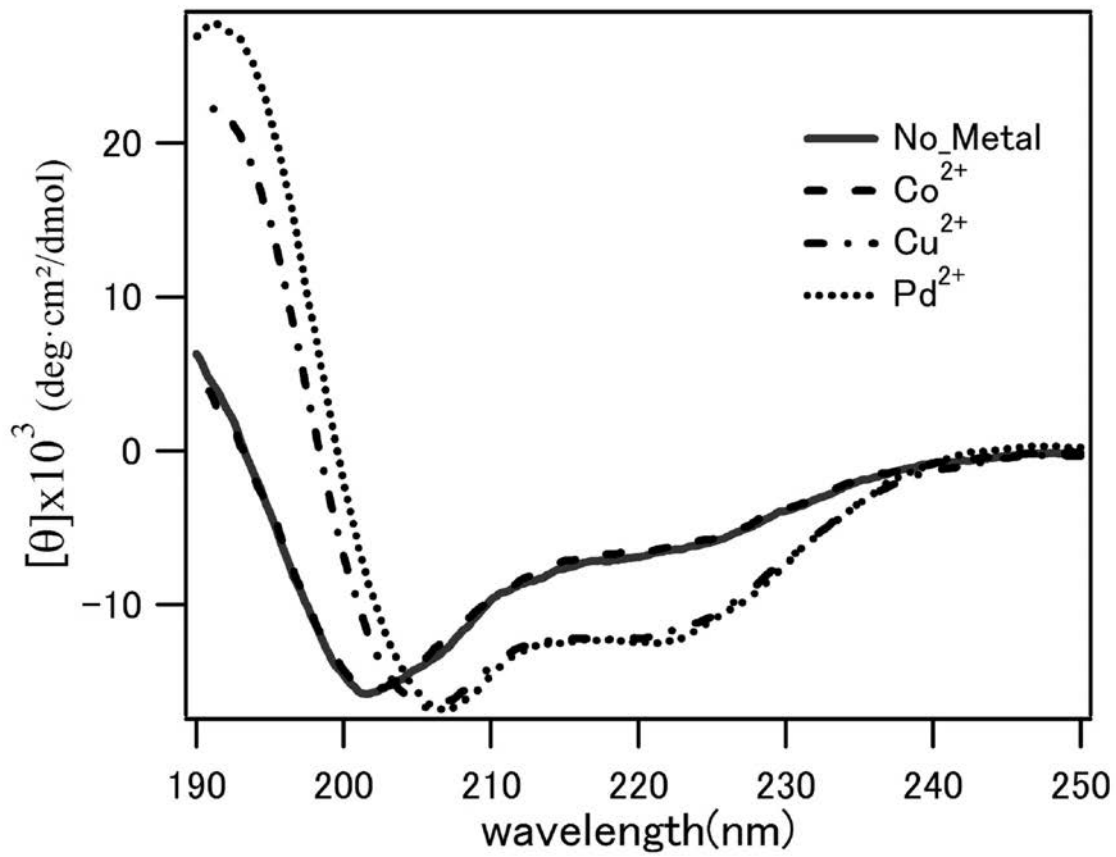
【図 1】



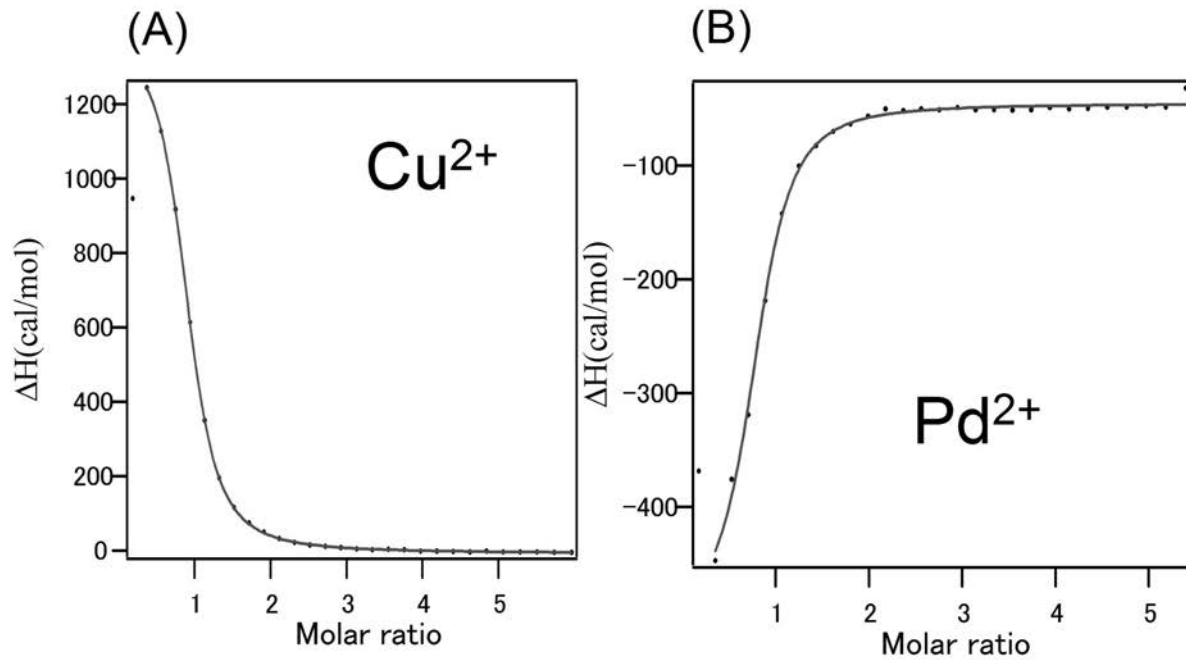
【 図 2 】



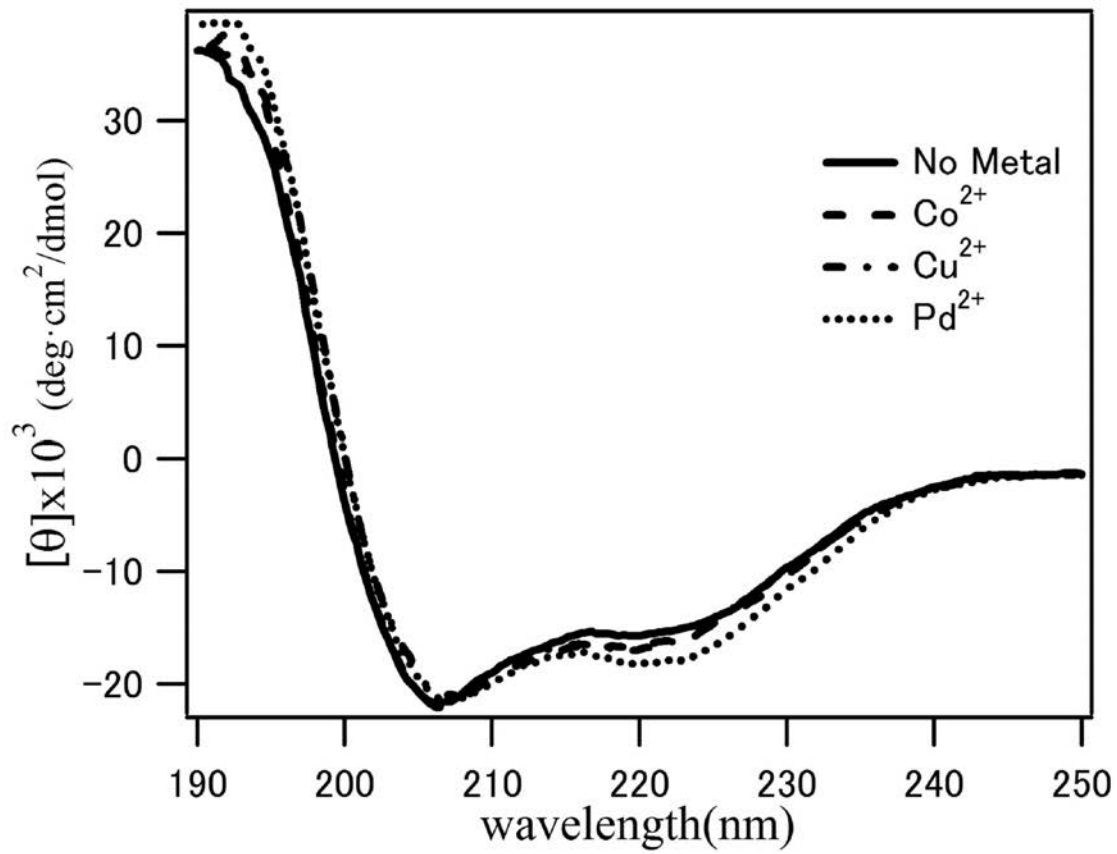
【 図 3 】



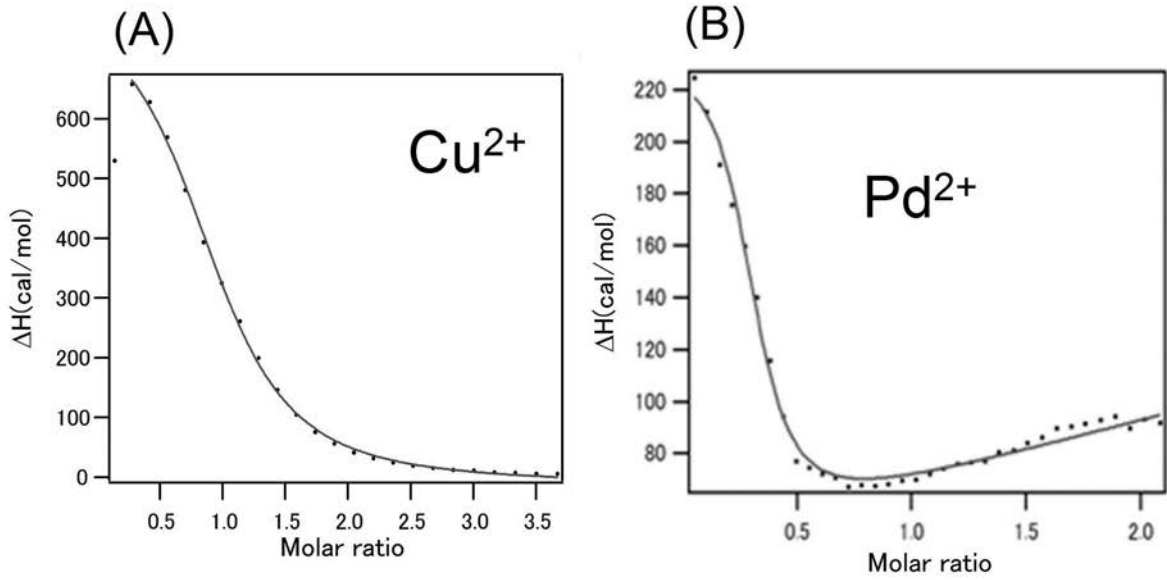
【 図 4 】



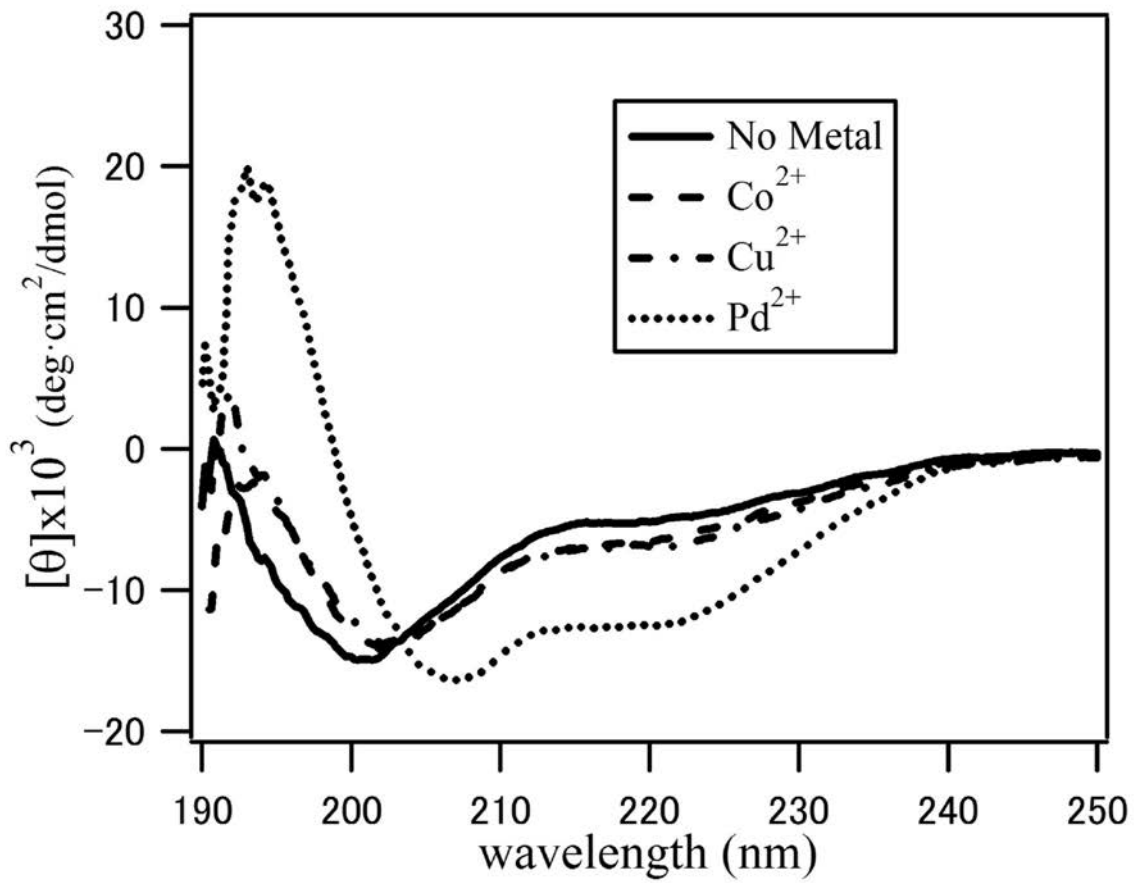
【 図 5 】



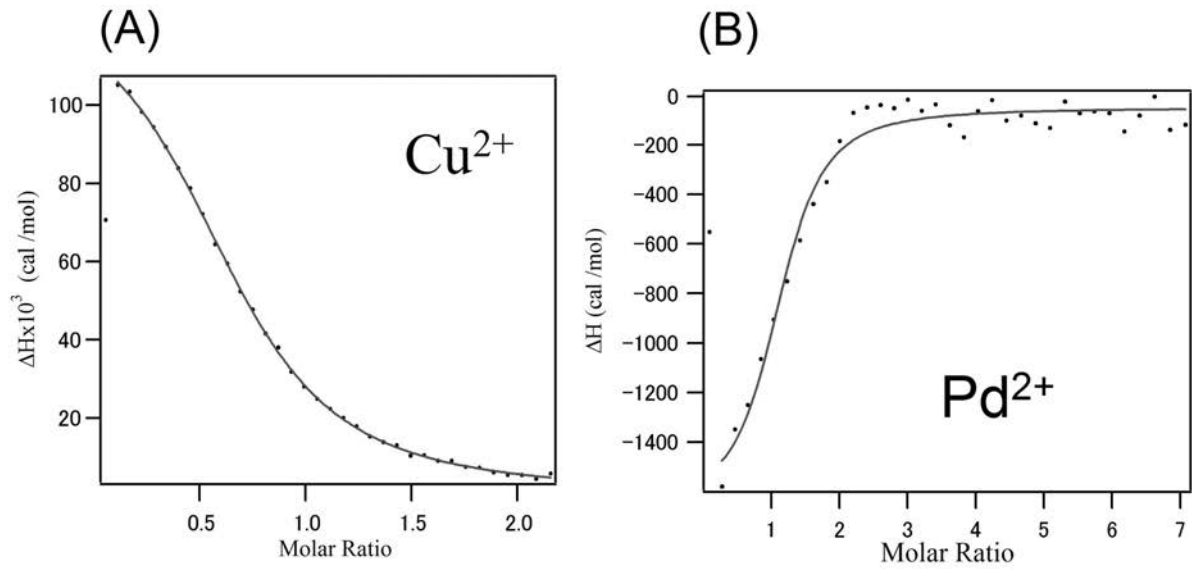
【 図 6 】



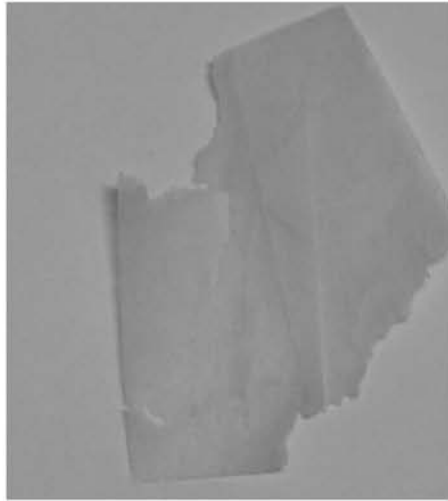
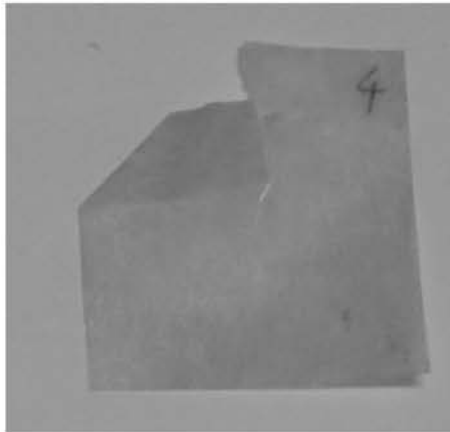
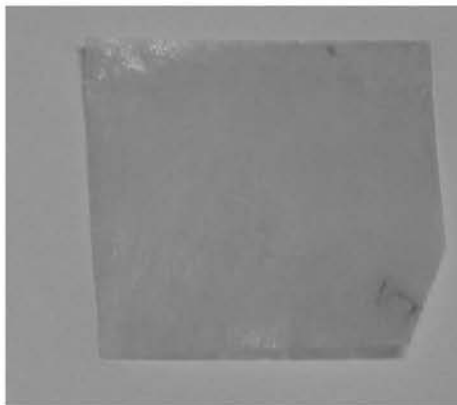
【 図 7 】



【 図 8 】



【 図 9 】

(A) 薄葉紙14g/m²(B) 薄葉紙14g/m²+ペプチド塗工液2g/m²(C) 薄葉紙14g/m²+ペプチド塗工液1g/m²

【 配 列 表 】

2013181021000001.app

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
B 0 1 J 20/26 (2006.01)	G 0 1 N 31/00	Y
C 0 2 F 1/28 (2006.01)	G 0 1 N 31/22	1 2 4
C 2 2 B 3/26 (2006.01)	B 0 1 J 20/26	E
C 2 2 B 11/00 (2006.01)	C 0 2 F 1/28	B
	C 2 2 B 3/00	J
	C 2 2 B 11/00	1 0 1

Fターム(参考) 4D624 AA00 AB16 BA17 BB08 DA10 DB03 DB07 DB18 DB23
 4G066 AB27B AC02C CA46 DA07 GA25 GA40
 4H045 AA10 AA30 BA18 EA50 EA60 FA20
 4K001 AA01 AA04 AA07 AA08 AA09 AA16 AA19 AA30 AA41 BA24
 DB30