

「選択的レアアース回収能を持った人工設計ペプチド集合体の創製」

神戸大学大学院理学研究科

田村 厚夫

1 研究の背景と目的

携帯電話や電気(ハイブリッド)自動車などの電磁気部品を回収した結果生じる所謂「都市鉱山」は種々の希少な金属の混合物となっている。この内、白金などのレアメタルと比べ、レアアース(希土類元素)はさらに希少かつ鉱山が地球上の一部地域に集中して偏在化しているため、昨今、価格高騰や輸出規制が問題となっている。例えば磁気や光技術で有用なジスプロシウム(Dy)は99%が中国産である。そこで、使用済みのレアアースを選択的に回収しリサイクルする技術を開発することで、レアアース問題の軽減を図ることを目的とする。この際、申請者が今年3月に特許出願した、レアメタル(パラジウム)結合能を持った人工設計ペプチドの開発技術を適用し、金属混合物からレアアースを選択的に結合するペプチドを創製する。

今まで申請者は「人工設計したペプチド」を用いて、自在に「ナノ構造や機能をデザイン」する機能性ペプチドデザイン技術を独自に開発し、数々の特許出願につなげてきた。ペプチドは天然アミノ酸からなる小型のタンパク質で、設計したペプチドは、高選択性など生体分子の特徴を最大限に活用したバイオ材料として、省エネルギーで低環境負荷などの現代社会で必要とされる要素を有した新しい環境調和型材料である。今回、黎明期にあるこの技術を発展させ、レアアース(ジスプロシウム、ネオジム(Nd)など)をもターゲットとして、これらと選択的に結合するペプチドを開発し、担体に結合させ容易に再利用可能な形態とすることで、新たなレアメタルリサイクル技術へつなげることを目指す。

レアメタルやレアアースに関しては、存在比が非常に少ないため自然界の生体では利用していないだけでなく、ものによっては毒性が問題になる物質である。つまり、生体物質(ペプチド)は一見レアメタルを利用する能力は無いように思われるが、このような自然界での常識を打ち破るべく、申請者の長年の独自技術である人工設計によって、レアメタル結合性の獲得に世界で初めて成功してきた。通常困難と考えられるものを克服した今回のペプチドそのものに、独創性が宿っていると考えられる。ペプチド自体は生体物質であり、金属結合反応は可逆的にOn/Offできることから、再利用可能で環境負荷の少ない最先端の環境調和型材料を創製することとなる。

2 研究方法・研究内容

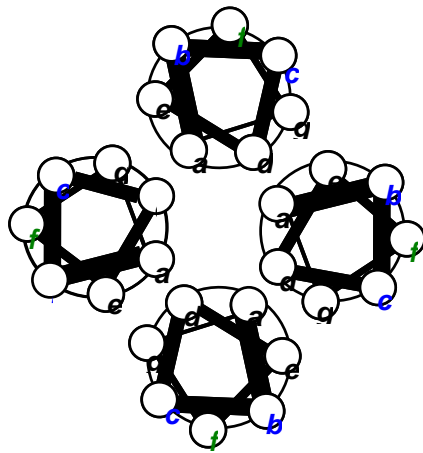
昨年度年成功したレアメタル結合能を持った人工設計ペプチドは、右図のように4本のらせんが束になったヘリックスバンドル構造を取っている。各ヘリックスから、パラジウム結合に必要なアミノ酸が「手」を出し、4本が集合することによって金属結合配位空間(図中の中央部に存在)を形成する。一方、銅イオンなど他の金属イオンへの結合部位が別に存在(図中下部)するため、アミノ酸を置換することで、どちらかの金属イオンに選択的に結合するよう設計可能である。今回は、まずジスプロシウム



への結合能を獲得するため、パラジウム結合部位の改変を行う。具体的には、金属結合サイトのアミノ酸をレアアースの化学的性質(イオン半径、3価のイオンである点、電子軌道など)を考慮して、負イオンであるグルタミン酸やイオウ原子を含むシステインを配す

ることなどを行う。ネオジムについても同様であるが、実際は理論通りにならないこともあるため、候補アミノ酸を組み合わせることでコンビナトリアルに多数合成して、試行錯誤的に目的物を得ることとなる。

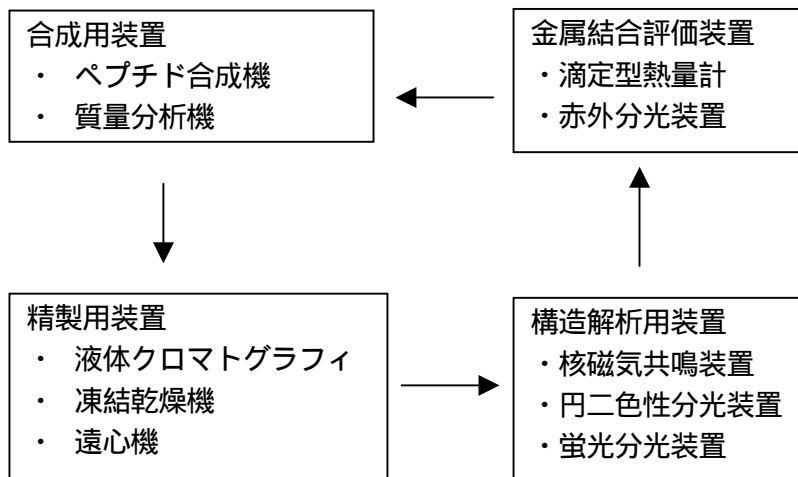
また、実用化を目指すためにペプチド分子単体だけを利用するのではなく、紙などの担体と結合させ安定な素材とするため、以下の改良を行うこととする。1) 紙などの担体への吸着能の上昇による高効率化、2) より高い選択性の獲得、3) 安定性の向上による再利用可能性の獲得。1) について、具体的には、ヘリックスを上から見た構造図(実際はa~gの7アミノ酸残基が3回繰り返した構造となる)を用いて説明する。ヘリックスの外側(下図の青色b, c, および緑色のf 部位)の疎水性の増加によって右上図4本のヘリ



ックバンドルから8本または16本へと増大させ、紙にからみやすくするとともに、結合サイトの数も増加させる。また、2) としては、レアメタルと他の金属との結合部位が異なることが明らかになってきたため、レアアースでも同様と考えられる。そこで、他の金属との結合部位(左図のa位の1つに存在)により相互作用の小さいアミノ酸(アラニン)を配することでレアアースとの高い選択性を獲得する。3) について、産業化する際の企業からの要請として、ペプチド合成の高コストの克服が求められている。これには、安定性を向上させることで、一度合成したものを何度も再利用可能にすることで解決したい。具体的には、pHを下げることで結合したレアメタルをはずし、また

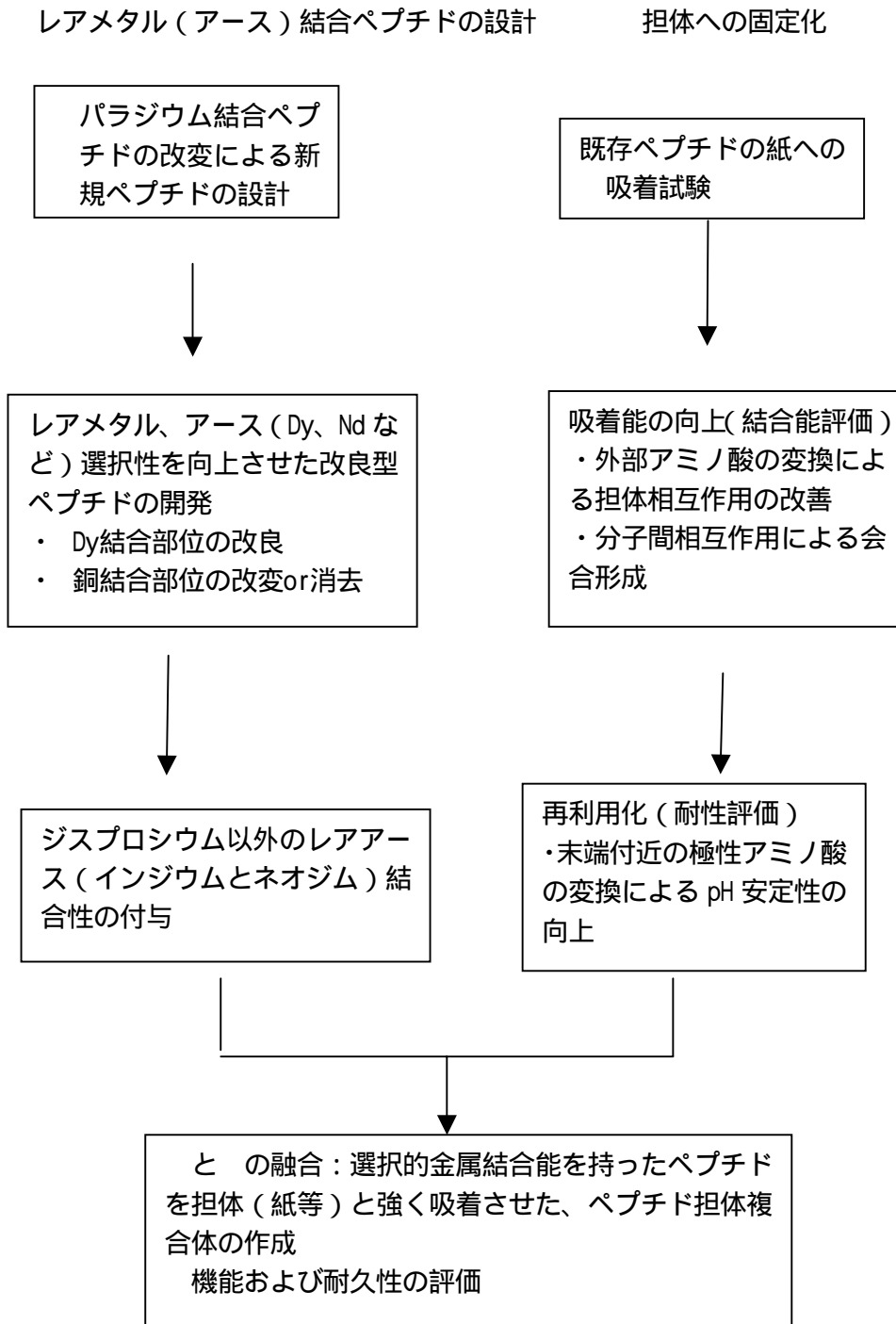
pHを戻すことで結合可能な状態にするため、低いpHでも安定な構造となるよう酸性アミノ酸の数と配置を工夫する。サイトとしては、左図のdの位置の1つがレアアース結合部位と考えられるが、ここにグルタミン酸を配すると、酸性では負電荷が中和されメタル結合能が失われることを利用する。

研究方法のフローとしては、設計 合成と精製 構造解析 機能(金属結合能)測定 評価および再設計、を数回繰り返すこととなる。実験自体はすべて既存設備で行うことができるが、ペプチド合成はペプチド合成機を用い活性化したアミノ酸を購入することで半自動合成を行い、得られたペプチドをクロマトグラフィーを用いて精製する。精製物は、まず構造を物理化学的な測定装置(核磁気共鳴装置、円二色性など)を用いて調べ、さらに機能として金属イオンとの結合を観測するため、滴定型熱量計による熱測定と分光法によるスペクトル変化の追跡を行った。



ペプチドの設計と担体への固定化技術の開発（こちらはまずは既存のペプチドで試行）を平行して走らせる。設計に関しては、まずペプチド会合度を高め、最もレアアース結合の可能性の高い配列を1種4月に合成し、その測定結果から改良方向を決定するとともに、担体としてまずは薄葉紙を用いて固定化を行う。

以上の工程を時間経過とともにフローチャートにして示す。



なお、技術上解決すべきこととして、企業側からはペプチド合成のコスト面が指摘されてきた。これについて、担体（紙）に固定化し金属のみ回収可能な形態とすることと、溶液の pH の上げ下げで何度も再利用可能な形態とすることでの克服を目指す。

3 研究成果

当研究室で現在まで人口設計してきた M2 タンパクの水溶性アナログとして設計した SAP5 は白金、パラジウムと選択的に結合することが分かっている。この SAP5 をスタートとして、側鎖に正電荷をもつアルギニンをより多く配置することで、溶液中の金属錯体イオンとペプチドが相互作用しやすくなるようにしたアミノ酸24残基からなる SAP6~9 を設計した。この内、SAP9 (分子量 2855) について詳しく構造と機能 (金属結合能) を評価した。

まず構造測定として、金属添加によるペプチドの二次構造変化を調べるために SAP9 のみの溶液と SAP9 に金属を加えた溶液の円偏光二色性 (CD) 測定を行った。CD 測定に用いたものと同じ試料を用いて動的光散乱 (DLS) 測定を行い、ペプチドの粒径から会合状態を評価した。次に 5 種の金属イオンを含む金属混合液を準備した。この金属混合液に SAP9 を添加後、生じた集合体を遠心によって取り除いた。さらに、遠心後の上清をフィルターを用いて分子量 3000 以上の分子が含まれる溶液と 3000 未満の分子が含まれる溶液に分離した。二つの溶液を用いて誘導結合プラズマ発光分光分析 (ICP-AES) 測定を行い、それぞれの溶液中の金属濃度を元の金属混合液と比較しペプチドと金属の結合の有無を確認した。

CD 測定の結果から、ヘリックス構造に見られる 222nm 付近の負の極値における 値が白金 (Pt)、ツリウム (Tm)、ネオジウム (Nd) 等のレアメタルを加えた試料では SAP9 のみの場合より減少した。このことから金属を加えたことによりヘリックス含量が増加していることが分かった。この二次構造の形成から SAP9 は金属と結合したと考えられる。DLS 測定の結果から、金属を加えた試料では溶液中のペプチドの粒径が大きくなっており、多量体になっていることが分かった。加えた金属の種類によりペプチドの粒径が異なっていることから加えた金属に応じた会合状態をとると考えられる。ICP-AES 測定のための溶液の前処理において、溶液中の金属錯体イオンが単独で存在する場合、フィルターを通過したはずであるが、白金やディスプロシウム (Dy) などは通過しなかった溶液に含まれることが分かった。これらの金属はペプチドと結合しているためフィルターを通過できなかったと考えられる。また金 (Au) やパラジウム (Pd) では、フィルターを通過した溶液と通過しなかった溶液に含まれる量の合計がペプチドを加えなかった金属混合液での量より少なくなっている。このことは SAP9 添加後に生じた集合体にこれらの金属が含まれていたことを示唆するものである。

重要なポイントとなる結合性については、等温滴定量熱計 (ITC) により詳しく解析を行った。まず、金属 (Nd) の滴下に伴う熱量変化の測定の結果、結合に伴って発熱し、結合定数も 10^4 以上であることが定量的に得られ、前述の CD による分光測定の結果をサポートするものであった。また、結合に伴う分子会合状態の変化を検出するため行った DLS 測定の結果、Nd、や Tm などの金属と結合することで分子集合が促進されていることを示し、担体との結合に有利に働くと考えられる。

以上より、Pd, Pt Au というレアメタル結合だけでなく、Dy, Nd, Tm などのレアア

スに対する結合性、新たな選択性、および金属集合体を形成する性質をもつペプチドが設計できたといえる。

これらの結果の一部は、2013年9月に以下の特許出願につながることとなった。

特願 2013-182954 「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」 田村厚夫、飯田禎弘

4 生活や産業への貢献および波及効果

レアメタルおよびレアアースを含む対象市場は、電機や自動車を筆頭に多岐にわたり、その市場規模は素材として3兆円、最終製品として150兆円と見積もられている。資源の価格高騰および枯渇により、今後この中でリサイクルが占める割合は増加の一途をたどるものと考えられる。

今回のレアメタル結合ペプチドの設計は、リサイクルにおける全く新規の手法として応用が期待されるとともに、従来では困難であったレアアース、その中でも特に有用性が高いと目されるネオジウムとディスプロジウムとの結合性を示した点で画期的であろう。このことは、人工設計ペプチドが想定以上の幅広いターゲット金属に対して結合可能であることを示唆するものであり、今後ターゲット金属を絞ってテーラーメイドで設計することにより、目的金属のみ選択的に回収する新たなリサイクルシステムを構築することが可能となると考えられる。