

小タンパク質（ペプチド）を用いた 環境・医療用分析装置の開発

甲南大学フロンティアサイエンス学部生命化学科
准教授 臼井 健二

2025年3月13日

ペプチドとは？

タンパク質の小型版（数十アミノ酸くらい）

・タンパク質（プロテイン）とは？

→ 酵素、抗体、コラーゲン、...

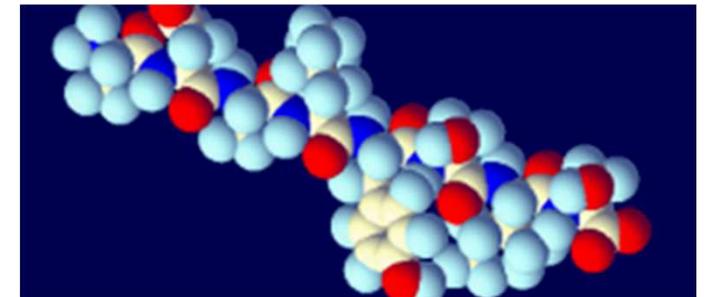
20種類のアミノ酸が数百個程度つながった巨大な分子

https://www.konan-u.ac.jp/hp/FIRST_usui/index.html



・アミノ酸とは？

A	アラニン	M	メチオニン
C	システイン	N	アスパラギン
D	アスパラギン酸	P	プロリン
E	グルタミン酸	Q	グルタミン
F	フェニルアラニン	R	アルギニン
G	グリシン	S	セリン
H	ヒスチジン	T	トレオニン
I	イソロイシン	V	バリン
K	リシン	W	トリプトファン
L	ロイシン	Y	チロシン

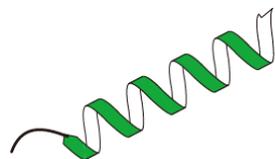


ANALYSIS

$20 \times 20 \times 20 \times 20 \times 20 \times 20 \times 20 \times 20$

= 256 億種

配列を設計
化学合成
新規構造



新規機能
社会に役立つ分子

バイオ

①新規二次構造の創出と応用

DNA四重鎖構造、分子マシン、タンパク質発現制御、
分子コンピュータ

Org. Biomol. Chem., **13**, 2022-2025 (2015)、*Molecules*, **22**, 1991 (2017)など

②固定化ペプチドを利用した工学的応用

タンパク質検出・細胞アレイ、創薬技術、簡易計測、診断装置

Mol. BioSyst., **2**, 113-121 (2006)、*Chem. Commun.* **49**, 6394-6396 (2013)、
Bioorg. Med. Chem., **26**, 3210-3216 (2018)、*Analyst*, **145**, 3211-3216 (2020)、
Processes, **8**, 1257, (2020)、*Int. J. Mol. Sci.*, **21**, 8332 (2020)など

③二次構造の制御

アミロイド線維化制御、細胞培養基材、ナノポア、
人工細胞、分子ロボット

Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **106**, 18563-18568 (2009)、
Nat. Nanotechnol., **17**, 67-75 (2022) など

ナノ

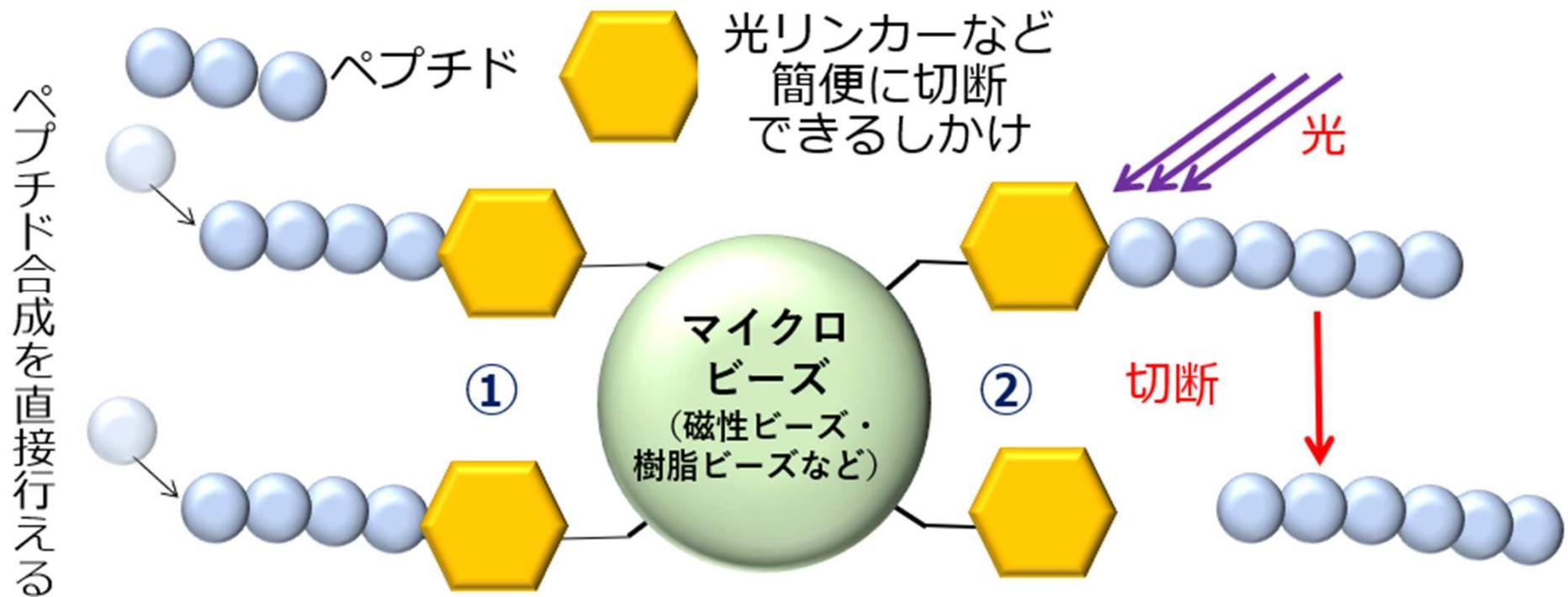
④新規ナノ構造の創出と応用

ミネラル化、有機-無機材料、
歯や骨の形成、マイクロ波応用

Chem. Commun., **52**, 4010-4013 (2016)、*Nanoscale*, **8**, 17081-17084 (2016)、
Commun. Chem., **4**, 1 (2021)、*Chem. Commun.*, **57**, 725-728 (2021)、
Sci. Rep., **13**, 12027 (2023)など

新技術の概要

特にマイクロビーズなどの固相担体に固定化したペプチド(小タンパク質)ビーズを用いた分析装置開発について紹介する。このペプチドビーズは従来、固定化していないペプチド溶液では不可能・困難であった諸問題を解決でき、医療、環境分野での分析に応用できる。



次世代診断装置マイクロアレイ
アレルギー感作性検査装置
ペプチド合成支援装置・・・

- ・環境・医工学装置・測定機器の開発分野
- ・医薬・化粧品・化学物質の開発・分析分野

例： ペプチドビーズを用いた重金属イオンの 環境測定、水質浄化、重金属中毒治療への挑戦

- ・ 自動車用バッテリー
- ・ 電子基板のはんだ
- ・ 有鉛ガソリン
- ・ 鉛管
- ・ 鉛系塗料

など



リサイクルの際に環境に放出し
水質・大気汚染が発生

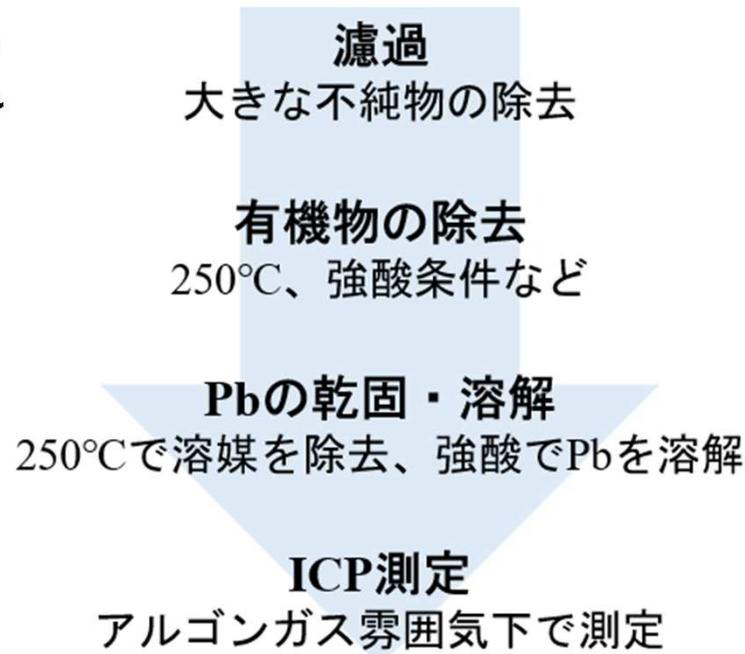
生体調査や環境調査が必要

**鉛汚染が世界的に深刻な問題となっており
環境測定方法の開発が求められている。**

**※日本も例外ではない。
先進国でも規制前の廃棄物からの鉛
狩猟の鉛弾
釣りの鉛錘**

従来技術とその問題点

ICP-AES測定



測定の問題点

- ・ 有機物の存在下で測定ができない
- ・ 有機物の除去に高温処理や酸分解が必要
- ・ 装置が大型で高価



生体サンプルなどに含まれる
鉛イオン (Pb^{2+}) の測定が難しい

汎用性が高く、扱いやすい機器を用いた
 Pb^{2+} の測定方法が求められている

新技術の特徴・従来技術との比較1

S. Yoshida et al., *Sci. Rep.* **15**, 3249 (2025)

PbBP-bead



D体のアミノ酸を使用

X. Li et al., *Langmuir*, **28**, 13512-13517 (2012).

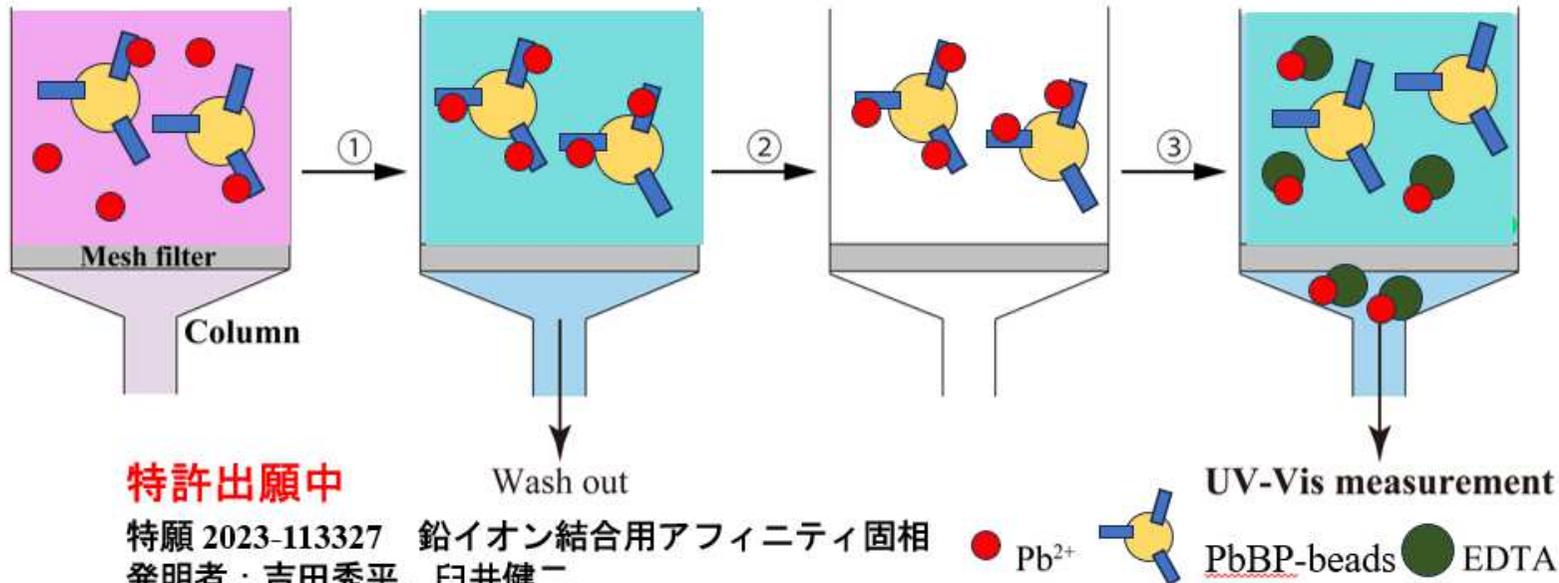
R. Tugyi et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **102**, 413-418 (2005).

分解を防ぐ化学修飾

S. He et al., *Acta Biomaterialia*, **164**, 175-194 (2023).

環境中での利用を想定し、ペプチドの分解を防ぐ配列を設計した

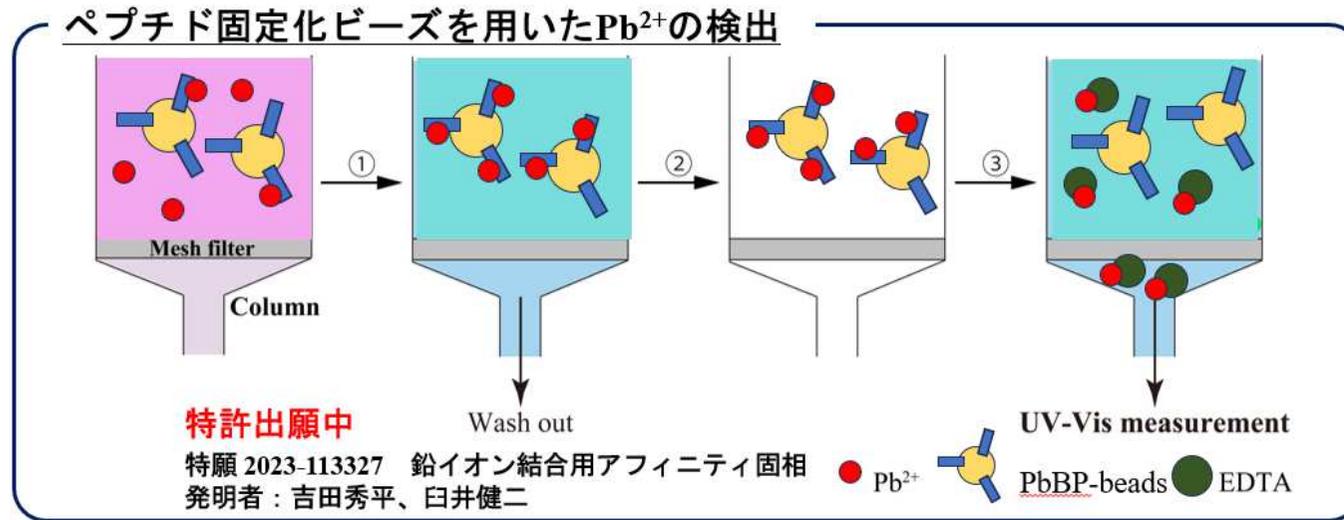
ペプチド固定化ビーズを用いたPb²⁺の検出



- ①溶液からのPb²⁺の分離 ②樹脂の洗浄操作 ③EDTA-Pb(II)を用いたUV吸収による検出

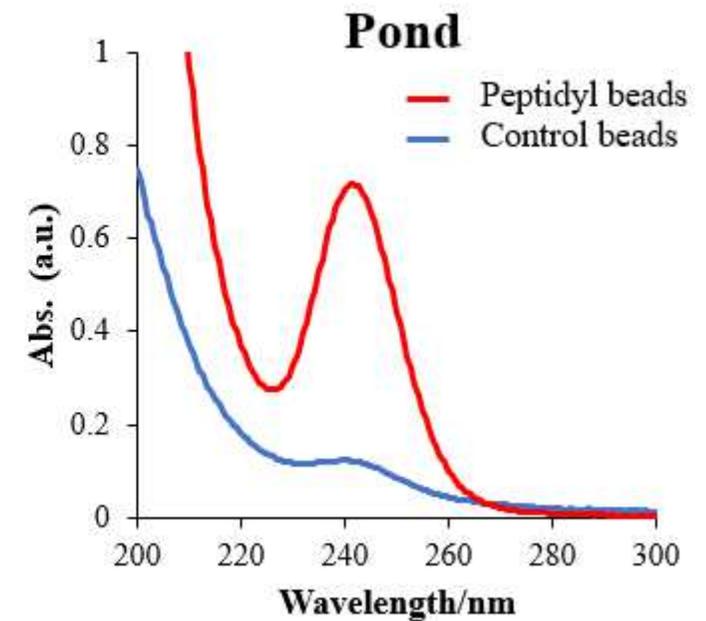
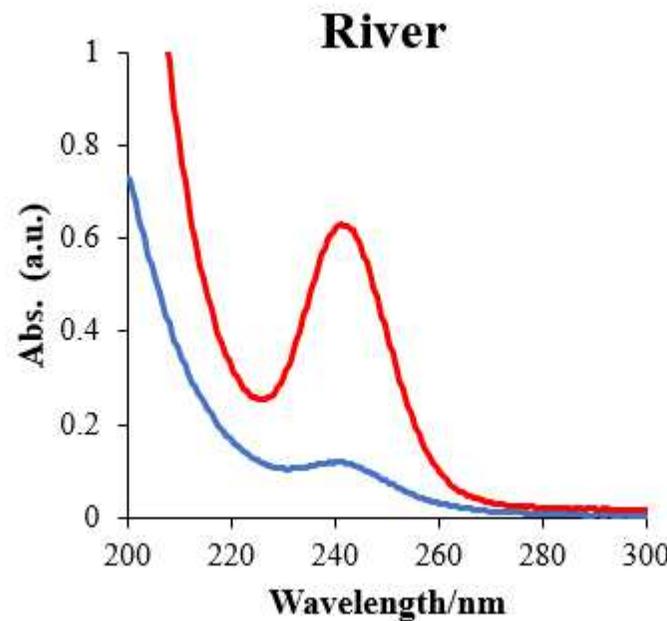
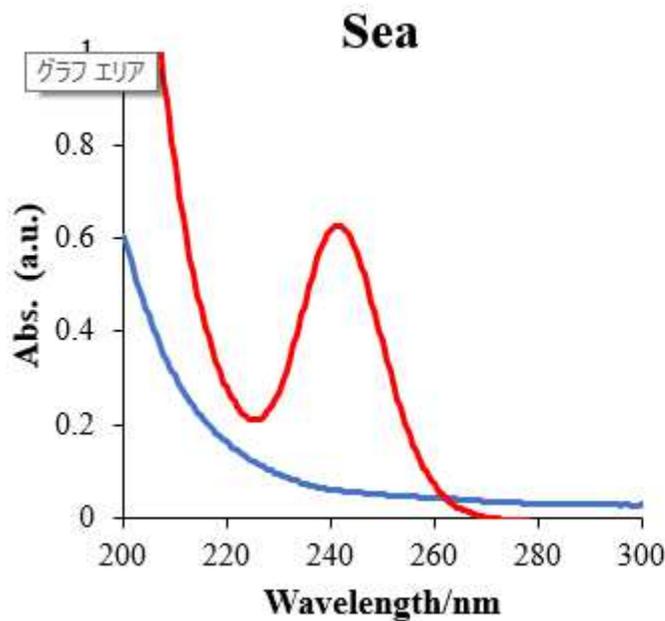
新技術の特徴・従来技術との比較2

S. Yoshida et al., *Sci. Rep.* **15**, 3249 (2025)



Reaction condition
[PbBP] = 100 μM
[Pb(NO₃)₂] = 100 μM
[MES (pH 6.0)] = 25 mM
in environmental water.
Incubation for 24 h at r.t..

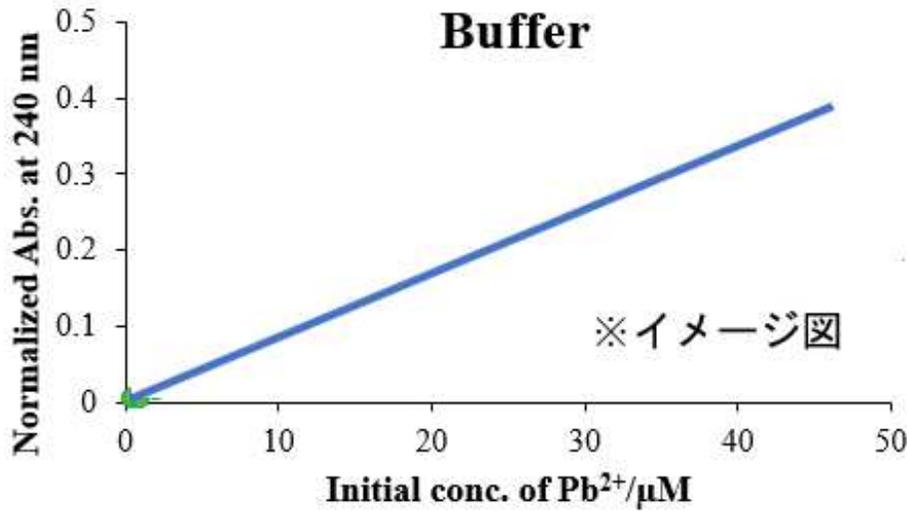
Detection condition
[EDTA] = 1 mM
Incubation for 30 min at r.t..



簡便な操作で環境水中のPb²⁺を検出することが可能となった

新技術の特徴・従来技術との比較3

S. Yoshida et al., *Sci. Rep.* **15**, 3249 (2025)



**Pb²⁺の濃度と吸光度に
正の相関があることが示唆された**

Reaction condition

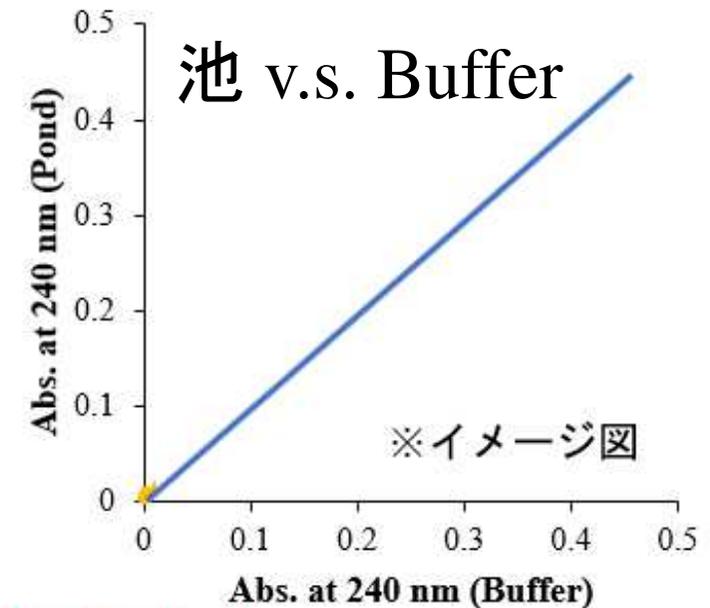
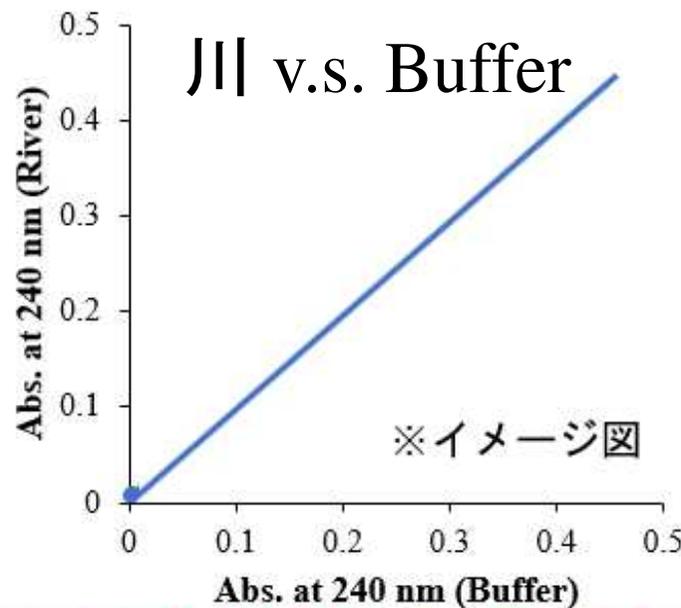
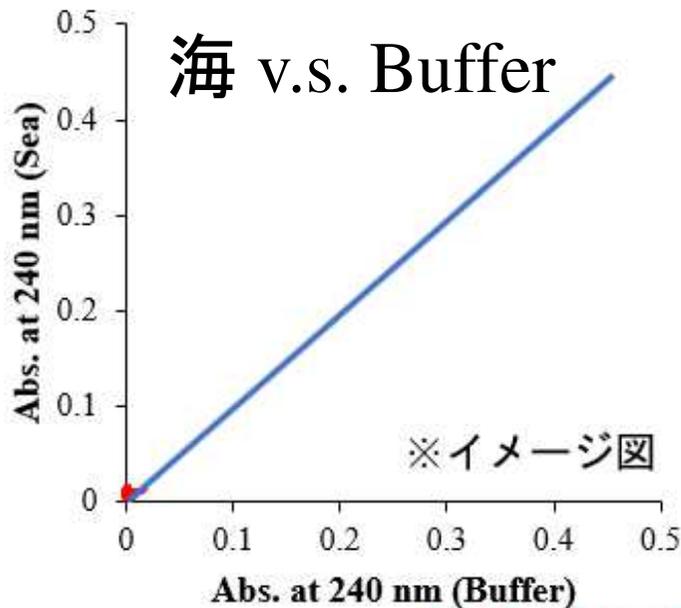
[PbBP] = 100 μM, [Pb(NO₃)₂] = 0.5~50 μM, [MES (pH 6.0)] = 25 mM

Incubation for 24 h at r.t.

Detection condition

[EDTA] = 1 mM Incubation for 30 min at r.t.

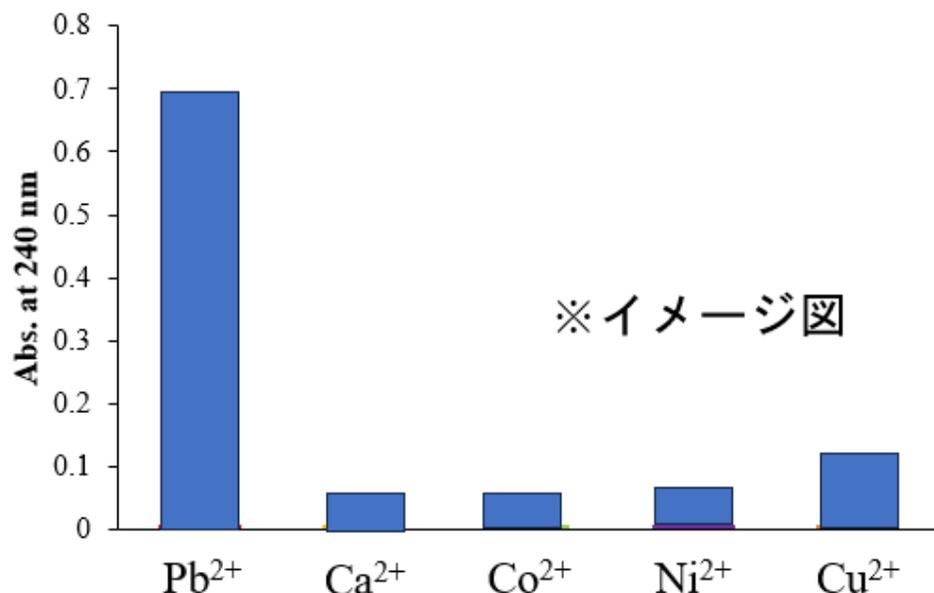
純水と環境水の吸光度の比較



環境水と純水によらず吸光度が同様の変化を示した

⇒ 環境水中でも定量できることが分かった

単一金属種ごとの選択性



Pb²⁺のみ選択的に
検出できることが明らかとなった

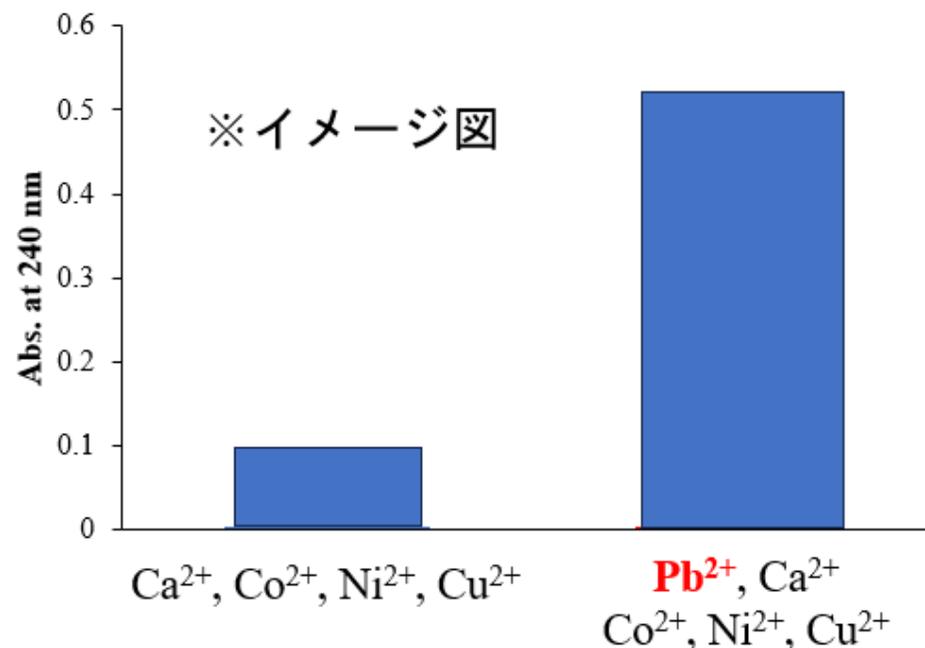
Reaction condition

[PbBP] = 100 μM
[Pb(NO₃)₂] or [CaCl₂] or [CoCl₂] or [NiSO₄] or [CuSO₄] = 100 μM
[MES (pH 6.0)] = 25 mM Incubation for 24 h at r.t.

Detection condition

[EDTA] = 1 mM Incubation for 30 min at r.t.

混合溶液中での選択性



異種金属の混合条件においても
Pb²⁺特異的に検出することができた

Reaction condition

[PbBP] = 100 μM, [Pb(NO₃)₂] = 100 μM, [CaCl₂] = 100 μM,
[CoCl₂] = 100 μM, [NiSO₄] = 100 μM, [CuSO₄] = 100 μM
[MES (pH 6.0)] = 25 mM Incubation for 24 h at r.t.

Detection condition

[EDTA] = 1 mM Incubation for 30 min at r.t.

異種金属の混合条件においても
Pb²⁺を選択的に検出できることが明らかとなった

新技術の特徴・従来技術との比較5

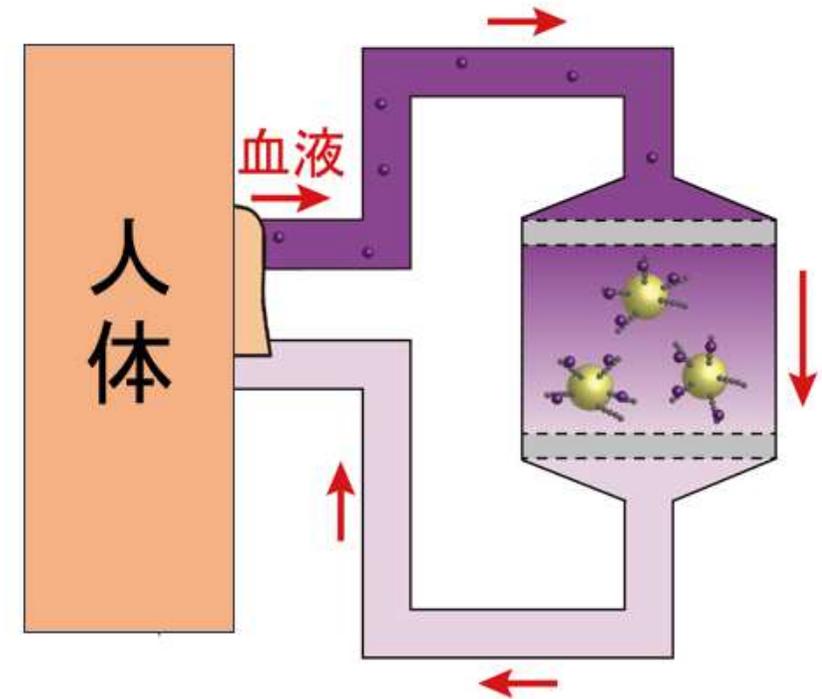
ペプチドビーズの取り扱いにはフィルター付きカラムなどを用いることで比較的操作性に優れており、さらに色素などを用いた分光分析技術とを組み合わせることで、従来技術・競合技術と比較して、簡便に必要なかつ十分な分析情報を得ることが可能となっている。

- 混合物から目的分子のみを選択的に濃縮し、分析することが可能
- ペプチド配列を変更すれば他の目的分子の分析にも応用できる
- 固定化ペプチドは分析だけではなく、ペプチド薬剤などの創出にも役立つ

想定される用途

- ・環境中重金属、放射性物質などの現場での簡易測定
- ・重金属汚染水や土壌の浄化
- ・重金属中毒における直接的な治療

血液中の Pb^{2+} の分離・回収



 Pb^{2+} binding peptide immobilized-resin

 Pb^{2+}

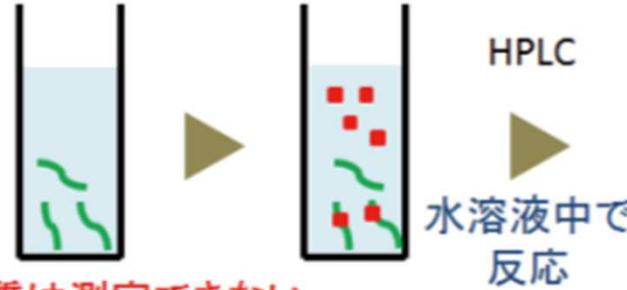
ペプチド固定化樹脂を用いた
血中の Pb^{2+} 分離のイメージ

- ・化学製品・化学物質・混合物におけるアレルギー性の有無の判定
- ・血液、唾液などを用いた病気の早期診断

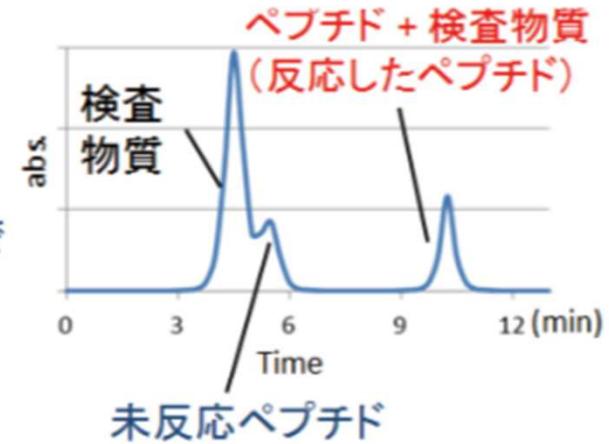
例2: アレルギー感作試験

従来のDPRA法

- 検査物質
- 〰 遊離ペプチド

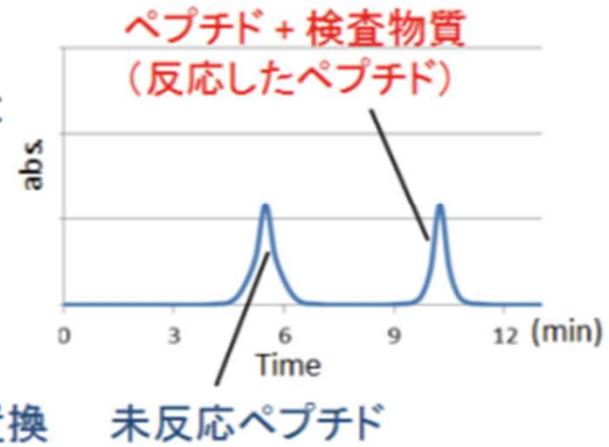
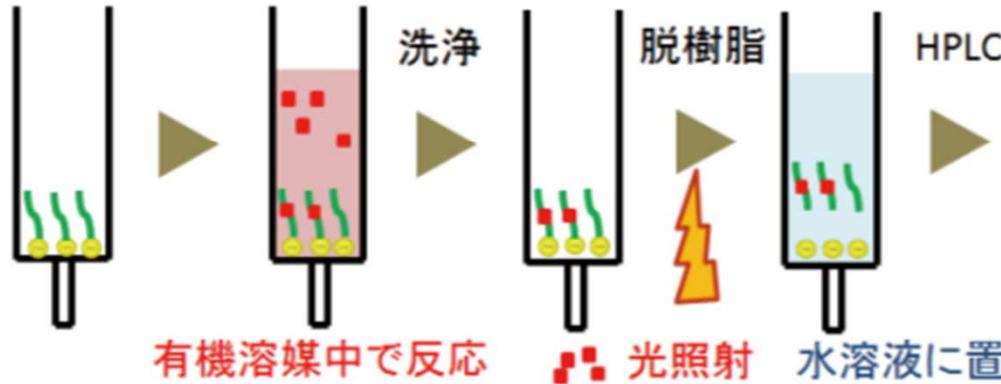


- ・疎水性の高い検査物質は測定できない
- ・検査物質とペプチドの溶出時間が重なる可能性
- ・疑陽性の可能性(チオール基によるダイマー化の懸念)



改良DPRA法 樹脂固定化ペプチドを使用

① 樹脂固定化ペプチド



従来のDPRA法の諸々の問題点を解決することが可能

化粧品関係企業と
共同研究
特許3件登録

被験物質の皮膚感作性の検定方法
被験物質の皮膚感作性の評価方法、及び樹脂固定ペプチド
樹脂固定ペプチド

登録番号: 第 6749685 号
登録番号: 第 6793290 号
登録番号: 第 6889432 号

実用化に向けた課題

- ペプチド固定化ビーズの安定な供給・生産コスト削減
- 現在の検出限界の1/1000倍程度までの微量測定法・濃縮法の確立 (ICP-MS)
- 治療実用化に向けては、血中の物質の吸着を防ぐ技術、安全性、医療機器認可

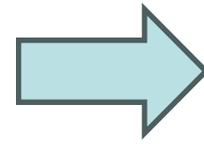
企業への期待

- ペプチド固定化ビーズの安定な生産・販売
- 受託分析のマネージメント
- 無吸着の固相担体製造技術
- 医療機器認可・OECDプロトコル化ノウハウ

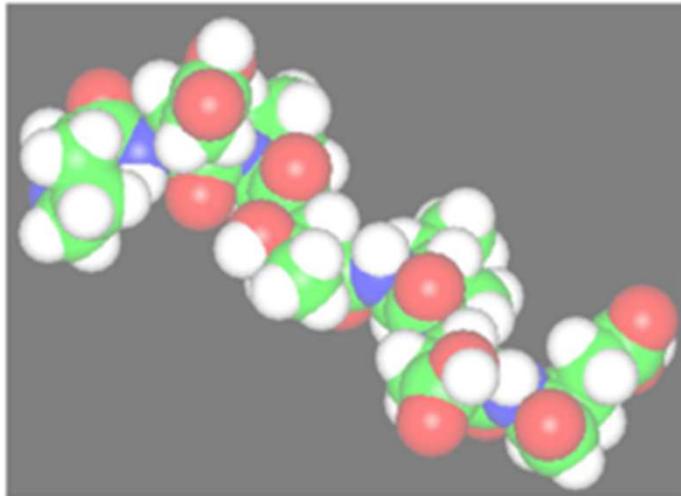
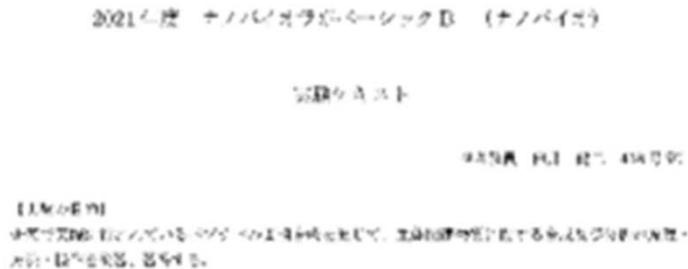
企業への貢献、PRポイント

- 本技術は操作が簡便であるため、ビーズを企業に提供して、独占的な受託分析業務
- 本格導入にあたってのペプチド合成や分析技術指導等
- 少額での基礎研究的な共同研究・受託研究
- 産学連携関連の助成金獲得

学部1年生でペプチド合成
学部2年生でアミノ酸分析



学部の学生実験では
世界でここだけ！



日本ペプチド学会の
ニューズレターにも
掲載されました。

Peptide Newsletter Japan,
No. 99 p9-p10 (2016年1月)

No. 125 p5-p8 (2022年7月)

研究室所有機器



CD
JASCO
J-1500



FPLC
cytiva
AKTA pure micro



HPLC
HITACHI
5410,5110



蛍光測定装置
JASCO
FP-8300



プレートリーダー (蛍光)
コロナ電気株式会社
MTP-601



UV測定装置
SHIMADZU
UV-1800



凍結乾燥機
EYELA
FDS-1000

学部所有機器



MALDI-TOF MS
SHIMADZU
AXIMA Performance



LC-MS
Waters
e2695,2998,QDa

本技術に関する知的財産権 1

- 発明の名称 : 鉛イオン結合用
アフィニティ固相
- 出願番号 : 特願2023-113327
- 出願人 : 学校法人甲南学園
- 発明者 : 臼井健二 ・ 吉田秀平

本技術に関する知的財産権2

- 発明の名称 : 樹脂固定ペプチド
- 出願番号 : 特願2016-092094
- 登録番号 : 第 6889432 号
- 出願人 : 学校法人甲南学園・
株式会社マングラム・
株式会社ダイセル
- 発明者 : 臼井健二・目片秀明・
宮崎洋・山下邦彦

産学連携の経歴

ペプチドマイクロアレイによる新規診断装置の開発

提供機関：国内民間企業

2015年7月 - 2022年3月

固定化ペプチドを利用した新規アレルギー感作性試験法の開発

提供機関：国内民間企業

2014年12月 - 現在

ペプチド線維に関する研究

提供機関：国内民間企業

その他

ナノバイオ関連受託分析

提供機関：複数の国内民間企業

研究費の採択実績

2024年度	クリタ水・環境科学振興財団・研究助成
2024年度	科研費・基盤C(分担)
2022年度	テルモ生命科学振興財団・研究助成
2021年度	JST・CREST(分担)
2021年度	科研費・基盤C(分担)
2021年度	コーセーコスメトロジー財団・コスメトロジー研究助成
2020年度	村田学術振興財団 研究助成(自然科学)
2019年度	ニッポン火腿食の未来財団・公募型研究助成
2019年度	科研費・基盤C

お問い合わせ先

甲南大学
フロンティア研究推進機構

TEL : 078-441-4547

e-mail : sangaku@ml.konan-u.ac.jp