

## シアル酸を標的分子としたモレキュラーインプリントポリマーの合成 Synthesis of a monodisperse molecularly imprinted polymer for separation of sialic acid

○三浦拓也<sup>1)</sup>, 澤口孝志<sup>2)</sup>, 萩原俊紀<sup>2)</sup>, 星徹<sup>2)</sup>, 北原恵一<sup>3)</sup>

○Takuya Miura<sup>1)</sup>, Takashi Sawaguchi<sup>2)</sup>, Toshiki Hagiwara<sup>2)</sup>, Toru Hoshi<sup>2)</sup>, Keiichi Kitahara<sup>3)</sup>

Abstract: A monodisperse molecularly imprinted polymer (MIP) selective for sialic acid was prepared by polymerization of *N,N'*-methylenebisacrylamide in the presence of template silica gel particles functionalized with sialic acid on the surface, followed by dissolution of the sialic acid-bonded silica gel with a HF aqueous solution. Efficiency of the MIP particles was evaluated using a high performance liquid chromatography, and the significant recognition of sialic acid was observed.

### 1. 緒言

シアル酸は生体内で糖タンパク質や糖脂質の糖鎖末端に結合している。シアル酸を含む糖鎖は様々な生物学的機能を有していることが知られており、その構造と機能に関する研究が更に発展するためには、シアル酸を含む糖鎖の簡便な分離技術の確立が必要である。モレキュラーインプリントポリマー(Molecularly imprinted polymer : MIP)は標的分子に対して高い認識能を有し、分離剤として有用である。しかし、破砕法によりゲルを得る従来法では単分散性の低さに起因する分離能の限界が問題となっている。そこで本研究では、シリカゲルを鋳型とする単分散ポリマーゲル合成法を用いて、シアル酸を標的分子とする MIP を合成することを目的とした。合成法の概略を Fig. 1 に示す。この方法では、予め標的分子を化学結合させたシリカゲルの細孔内にモノマーや架橋剤および開始剤を侵入させた後、加熱重合させる。その後、フッ化水素酸でシリカゲルおよび標的分子を溶解除去し、標的分子の形に適合する認識部位を持ったポリマーを合成する。この方法で得られる MIP は、鋳型に用いるシリカゲルの形状をそのまま反映して単分散性に優れ、また標的分子に対する認識部位の形状が均一であることから、高い分離能を発揮することが期待される。

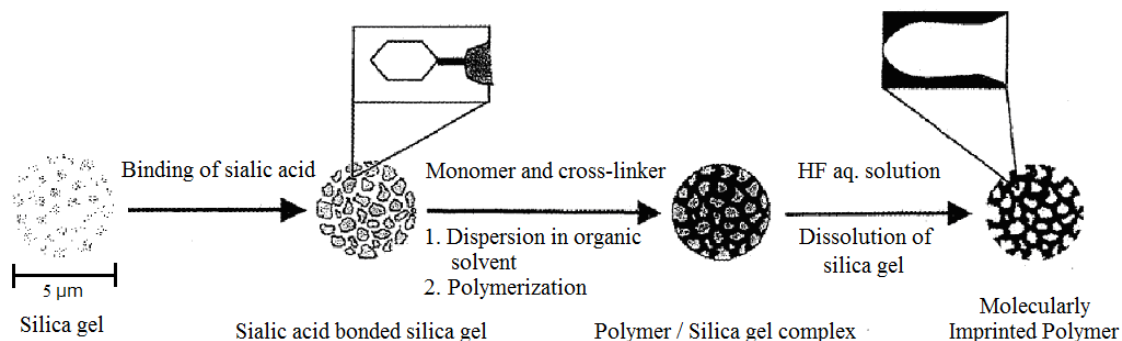


Fig. 1 Synthesis of a monodisperse molecularly imprinted polymer for sialic acid.

1: 日大理工・学部・応化 2: 日大理工・教員・応化 3: 東京医科大・教員・医学部医学科

## 2. 実験方法

MIP のシアル酸に対する認識能は、NIP(標的分子を結合させていないシリカゲルを鋳型として合成したポリマー, Non imprinted polymer)との比較によって評価した。

### 2.1 NIP の合成

シリカゲル 3.01 g、*N,N'*-メチレンビスアクリルアミド 3.40 g、2,2'-アゾビスイソブチロニトリル 0.021 g をヘプタン 65 ml 中で加熱攪拌し、ポリマー/シリカゲル複合体を合成した。次いで得られた複合体 6.18 g に 46%フッ化水素酸 9 ml とメタノール 10 ml を加えて攪拌し、シリカゲルを溶解除去した。3.08 g の NIP を得た。

### 2.2 MIP の合成

Fig. 1 に示したように、シリカゲルをアミノプロピル基結合型シリカゲル、次いでシアル酸結合型シリカゲルに変換した後、これを鋳型に用いて MIP を合成した。シアル酸結合型シリカゲル 3.10 g、*N,N'*-メチレンビスアクリルアミド 2.80 g、2,2'-アゾビスイソブチロニトリル 0.022 g から NIP と同様の方法で合成し、MIP 2.71 g を得た。

### 2.3 HPLC を用いる MIP の分離能の評価

合成した MIP 及び NIP はそれぞれ、充填溶媒にアセトニトリル - 水(1:1, v/v)を用い、充填圧力 50 kg/cm<sup>2</sup>で HPLC カラムに充填した。Table 1 に示した HPLC 条件でシアル酸および糖をそれぞれ個別に分析した。検出には気化光散乱検出器(ELSD)を用いた。

## 3. 結果および考察

MIP、NIP によるシアル酸および糖の分析結果を Table 1 に示した。この結果、MIP と NIP はシアル酸以外の糖に対してはほぼ同じ保持挙動を示した。一方シアル酸に対して、MIP は NIP と比較して大きな保持を示した。このことから、シリカゲルを鋳型とする方法で合成した MIP はシアル酸に対して高い認識能を有することが確認された。

Table 1 Retention times of sialic acid and some saccharides on MIP and NIP columns. <sup>a</sup>

Sample	Retention time (min)				
	Xylose	Glucose	Maltose	Raffinose	Sialic acid
MIP	6.6	7.1	8.9	10.0	19.7
NIP	6.9	7.4	8.6	9.6	9.3

<sup>a</sup> HPLC conditions: column, 4.6 mm I.D.×15 cm; mobile phase, CH<sub>3</sub>CN-10 mM HCOONH<sub>4</sub> (pH 6.15) (3:1, v/v) at flow rate 0.50 ml/min; detection, ELSD; drift tube temp, 100°C; gas flow, 2.0 L/min; sample, 0.1% (w/v) aq. solution.