

## N-7

## \*\*シアル酸を標的分子とするモレキュラーインプリントポリマーの合成と評価

## Preparation and Evaluation of a Monodisperse Molecularly Imprinted Polymer for Separation of Sialic Acid

○三浦拓也<sup>1</sup>, 青柳隆夫<sup>2</sup>, 萩原俊紀<sup>3</sup>, 星徹<sup>2</sup>, 北原恵一<sup>4</sup>, 西村之宏<sup>4</sup>, 石川慎吾<sup>4</sup>, 普神敬悟<sup>4</sup>  
 \*Takuya Miura<sup>1</sup>, Takao Aoyagi<sup>2</sup>, Toshiki Hagiwara<sup>3</sup>, Toru Hoshi<sup>2</sup>, Keiichi Kitahara<sup>4</sup>, Yukihiro Nishimura<sup>4</sup>,  
 Shingo Ishikawa<sup>4</sup>, Keigo Fugami<sup>4</sup>.

Abstract: A monodisperse molecularly imprinted polymer (MIP) for selective separation of sialic acid was prepared by a monodisperse polymer-gel method with silica-gel as a template. Efficiency of the MIP particles was evaluated with sialic acid and some saccharides by means of high performance liquid chromatography (HPLC). To get detailed information about the separation mechanism, an alternative approach for the preparation of MIP has been investigating. We will discuss the detail results in this presentation.

## 1. 緒言

シアル酸は生体内で糖タンパク質や糖脂質といった糖鎖末端に結合している<sup>[1],[2]</sup>。シアル酸を含む糖鎖は様々な生物学的機能が備わっており<sup>[3],[4]</sup>、その構造と機能に関する研究を更に発展させることが重要である。したがって、シアル酸を含む糖鎖の簡便な分離技術の確立が必要となる。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するため、有用な分離剤である。しかし、破砕法によりゲルを得る従来法<sup>[5]</sup>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 に示した<sup>[6]</sup>。すなわち、まずシアル酸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、加熱重合させてポリマー/シリカゲル複合体を合成する。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 (MIP) 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となり、高い分離能を発揮することが期待される。

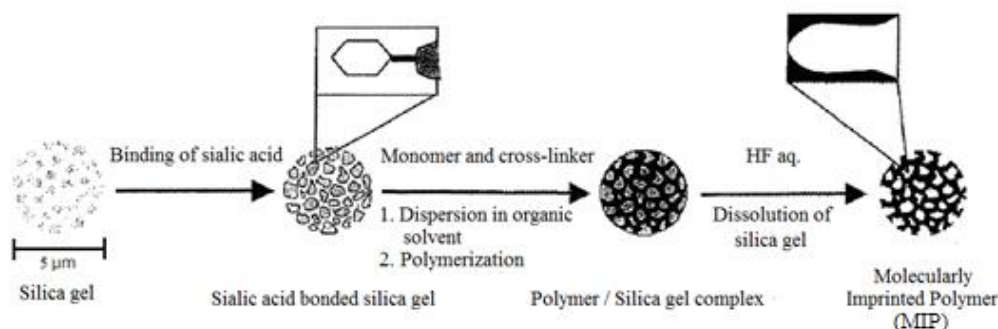


Fig. 1 Preparation of a Monodisperse Molecularly Imprinted Polymer for Sialic Acid.

## 2. 結果と考察

シアル酸をシリカゲルに修飾させるにあたり、まず両者をつなぐリンカーとして 3-アミノプロピルジエトキシシメチルシランをシリカゲル細孔内表面に修飾させた鋳型シリカゲル I を合成した。次いでリンカーのアミノ基

1: 日大理工・院 (前)・応化 2: 日大理工・教員・応化 3: 日大短大・教員・化学 4: 東京医大・教員・医学部医学科

とシアル酸を化学結合させた鑄型シリカゲル II を合成した。その後鑄型シリカゲル II を用いて MIP を調製した。またシアル酸を持たない鑄型シリカゲル I を用いて LIP (Linker imprinted polymer) を、シリカゲルのみを用いて NIP (Non imprinted polymer) を調製した。MIP の評価は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いて行い、MIP と NIP および LIP の分離挙動とを比較することによって行った。結果を Table 1 に示した<sup>[6]</sup>。

Table 1 Retention Times of Sialic Acid and Some Saccharides on MIP, LIP, and NIP Columns. <sup>a</sup>

Sample	Retention time (min)		
	MIP	LIP	NIP
Glucose	8.7	9.6	7.4
Maltose	11.3	12.5	8.8
Raffinose	13.7	15.6	9.6
Glucuronic acid	32.5	48.8	13.8
Galacturonic acid	40.5	58.9	12.4
Sialic acid	21.5	48.8	7.7
Sialic acid methyl ester	5.9	6.4	5.7

<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, 1% (w/v) aq.

シアル酸の保持時間 (Retention time) は NIP < MIP < LIP の順に長くなり、グルクロン酸やガラクトロン酸に対しても同様の結果が得られた。一方シアル酸メチルエステルに対する分離挙動には MIP、LIP、NIP で大きな差は見られなかった。よって MIP、LIP は NIP に比べて、カルボキシ基を有する糖に対して保持を示すことが示唆され、特に LIP は強い保持を示すことがわかった。しかし、これらの結果はシアル酸やグルクロン酸、ガラクトロン酸の保持には、除去されずにポリマー中に残存したリンカー部のアミノ基が関与していることを示唆している。すなわちアミノ基と糖の有するカルボキシ基とが相互作用したものと考えられる。そこで、アミノ基を介さずにシリカゲル表面にシアル酸を化学結合させた鑄型シリカゲルを合成するプロセスを検討した。

### 3. 新規鑄型シリカゲルの合成戦略

メルカプト基をリンカーとした新規鑄型シリカゲルの合成を検討する。新規鑄型シリカゲルへのシアル酸の導入には、エステル化、チオール-エン反応による二段階修飾を用いる。これらの詳細については当日報告する。

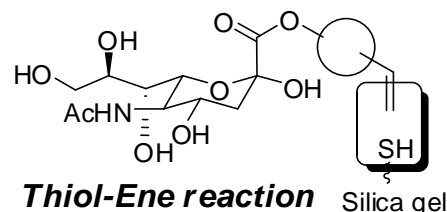


Fig.2 Modified Strategy

### 4. 参考文献

- [1] 宮城妙子, 上村卓司, 塩崎一弘, 山口壹範, 癌の浸潤・転移と糖鎖, 実験医学, 25, (2007), 136-141.
- [2] 江原靖人, インフルエンザウイルスを捕捉する糖鎖修飾三量体 DNA, 現代化学, 2015 年 2 月, 42-47.
- [3] 李章鎬, 妹尾学, シアル酸とその誘導体, 生産研究 42 卷 11 号, 1990.11, 617-622.
- [4] 竹松弘, B リンパ球におけるシアル酸修飾の機能解明に向けて, 生化学, 82, (2010.8), 735-740.
- [5] C. Baggiani, et al., *Biosens. Bioelectron.*, **2010**, 26, 590.
- [6] 三浦拓也, 平成 26 年度卒業研究論文, 日本大学 理工学部 物質応用化学科.