

N-7

機能性プレポリマーを用いたタンパク質分子インプリンティングゲルの調製と特異的認識能の評価

Preparation of Protein Molecular Imprinting Gel by Functional Prepolymers and Estimation of Specific Recognition

○鈴木海斗¹・星徹²・青柳隆夫²

*Kaito Suzuki¹, Toru Hoshi², Takao Aoyagi²

Molecular imprinting gels were prepared by mixing of the functional prepolymers, lysozyme and photoinitiators followed by irradiating of UV light. Non-imprinting gels were also prepared using only functional polymers and photoinitiators without lysozyme. The molecular imprinted and non-imprinted gels were immersed in lysozyme solution and their adsorption capacity was evaluated. The molecular imprinting gel formed cavities with a selective recognition and specifically adsorption for lysozyme and therefore specifically adsorbed it.

1. 緒言

分子インプリンティングとは、機能性モノマー、鋳型分子、架橋剤を混合し重合することで鋳型分子を内包したポリマーを形成し、鋳型分子を除去することで鋳型分子に対して相補的な認識能をもつ分子インプリンティングゲル(MIG)を生成する技術である^[1]。当研究室では、*N*-イソプロピルアクリルアミド(NIPAAm)と NIPAAm 誘導体である 2-カルボキシイソプロピルアクリルアミド(CIPAAm)、2-ヒドロキシイソプロピルアクリルアミド(HIPAAm)の共重合体に架橋性官能基であるアクリロイル基(AG)を導入し、Poly(NIPAAm/CIPAAm/HIPAAm/AG)(NCHA)を合成した。このポリマーに架橋剤、鋳型分子であるリゾチームを混合させ、その後鋳型分子を除去することで、リゾチームを特異的に吸着する分子インプリントゲル(MIG)の調製に成功した。また鋳型分子であるリゾチームを加えずに調製したノンインプリンティングゲル(NIG)を用い、リゾチーム溶液中で吸着実験を行ったところ、MIG に対しての特異的吸着能を確認できた。

そこで本研究では、リゾチームとチトクロム c が混在する競合分子存在下での MIG の選択的認識能の評価を行う。リゾチームと分子の形が異なるチトクロム c の存在下においても、MIG がリゾチームに対して選択的な認識能を有するかを検討する。

2. 実験操作

NIPAAm, BCIPAAm, HIPAAm を用いて terpolymer(NIPAAm/BCIPAAm/HIPAAm)を合成し、NaOH を用いた脱保護を行うことで terpolymer(NIPAAm/CIPAAm/HIPAAm)を得た。得られた ter-NCH に OH 基に対して 4 倍量のアクリロイルクロリドを加えることで、NCHA を合成した。このポリマーに光開始剤、リゾチームを混合し、UV 照射を行うことで MIG を調製した。同様の方法で、リゾチームを加えずに UV 照射を行うことで NIG を調製した。調製した MIG, NIG は NaCl 水溶液(0.5 M)、純水を用いて洗浄し、鋳型分子を除去したのちにリゾチーム溶液、またはリゾチームとチトクロム c の混合溶液に浸漬させ、吸光度測定を行い、MIG, NIG 1 個あたりのリゾチームの吸着量に換算し、評価を行った。

3. 実験結果

MIG, NIG の吸着量と時間の関係を Fig. 1 に示す。MIG, NIG はどちらもリゾチームと官能基間の静電相互作用により吸着が起きていると考えられる。MIG が NIG と比べ吸着量が増加した要因として、MIG は内部にリゾチームに対して特異的な空隙が形成されており、リゾチームを認識しやすいため、吸着量が増加したと考えられる。また、リゾチームとチトクロム c の混合溶液に浸漬させた MIG においても吸着が確認され、競合分子存在下でも MIG はリゾチームを選択的に認識したことを確認した。

参考文献

[1] 竹内俊文, 膜(MEMBRANE), **34** (6), 316-321 (2009)

1 : 日大理工・院(前)・応化 2 : 日大理工・教員・応化

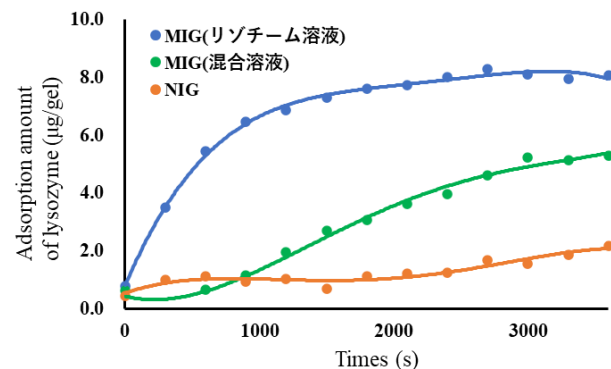


Fig. 1 Adsorption profiles using MIG(lysozyme only) and MIG(lysozyme and cytochrome c) and NIG.