

N-イソプロピルアクリルアミド / 2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン 共重合体コア-シェルゲルビーズの調製と特性評価

日大生産工(院) ○桑原 岳朝
日大生産工 高橋 大輔 和泉 剛

1. 緒論

コア-シェル型高分子微粒子は、2種類の高分子の一方がコアを形成し、もう一方がコアの周囲を取り囲んでシェルを形成した構造をとっている。シェルの高分子により微粒子の分散安定性を向上させることや、コアとシェルに異なる刺激応答性をもつ高分子を用いて複数の刺激応答性をもたせることなどが可能である。このような特徴から、コア-シェル型高分子微粒子は目的分子の分離・回収やDDSなど様々な分野に応用可能な材料として注目されている。

現在、高分子微粒子を用いた臨床検査が広く行われている。例えば、抗体を固定化した微粒子と抗原により形成される凝集塊の大きさから抗原を定量するラテックス凝集法が挙げられる。ラテックス凝集法は簡便な操作で迅速な測定が可能なことからC-反応性タンパク(CRP)などの定量に用いられている。

CRPの血中濃度は、組織破壊、感染、炎症などにより正常値の0-6 µg/mlから数千倍まで上昇し、症状の回復とともに速やかに減少する。このような性質から、CRPは疾患・炎症マーカータンパクとして疾患の重症度、経過、治療効果などの判定に用いられている。

CRPはCa²⁺存在下でホスホリルコリン(PC)と特異的に結合することから、抗体の代わりにPCを利用したCRPの定量に関する研究が報告されている¹⁻²⁾。抗体を用いた測定はコストが高い、固定化した抗体の不活性化などの問題を有する。そこで、本研究では、コアに熱応答性高分子であるポリ*N*-イソプロピルアクリルアミド(PNIPAAm)、シェルにPCを有す

るポリ2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(PMPC)を用いたコア-シェル型刺激応答性ゲルビーズ(NIPAAm / MPC粒子)を調製し特性を評価した。

2. 実験

2-1. 試薬

NIPAAm粒子の調製にはNIPAAm、架橋剤として*N,N'*-メチレンビスアクリルアミド(BIS)、重合開始剤として過硫酸アンモニウム(APS)、界面活性剤としてドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム(NaDBS)を用いた。シェルの調製にはMPC、BIS、APSを用いた。

2-2. NIPAAm粒子の調製

平均粒径約300 nm付近の粒子を得るため、種々のNaDBS濃度でNIPAAm粒子を調製し、最適条件を検討した。

ビーカーに蒸留水200 cm³、NIPAAm 0.1 mol、BIS 1.0 mmolおよびNaDBS 0.40 -10 mmolを量り採り、攪拌溶解した。これを300 cm³三つ口丸底フラスコに移し、冷却管と温度計を取り付け、温度60℃、窒素雰囲気下で1時間攪拌した。ここでAPS 0.2 mmolを添加し、2時間攪拌し重合反応を行った。得られた粗製ゲルビーズ分散液中の界面活性剤その他の低分子量物質を除去するため透析を行った。

2-3. NIPAAm / MPC粒子の調製

コアのNIPAAm粒子を2-2で述べた通りに調製した後、Table. 1に示す条件でシード重合によりNIPAAm / MPC粒子を調製し、平均粒径からMPCの導入量に対するBIS濃度の影響について検討した。

Preparation and characterization of *N*-isopropylacrylamide / 2-methacryloyloxyethyl
phosphorylcholine copolymer core-shell gel beads

Taketomo KUWABARA, Daisuke TAKAHASHI, and Tsuyoshi IZUMI

NIPAAm粒子の調製後、重合温度を45℃に下げ、窒素雰囲気下で1時間攪拌し、Table. 1に示す条件でMPC、BISを添加した。さらに、窒素雰囲気下で1時間攪拌後、Table. 1に示す条件でAPSを添加し、温度45℃、窒素雰囲気下で2時間攪拌し重合反応を行った。得られた粗製ゲルビーズ分散液中の界面活性剤その他の低分子量物質を除去するため透析を行った。

2-4. 平均粒径の測定

動的光散乱法により、25-45℃におけるNIPAAm粒子、NIPAAm / MPC粒子の平均粒径を測定し、各粒子の平均粒径の温度依存性について検討した。

3. 結果および考察

種々のNaDBS濃度で調製したNIPAAm粒子の温度25-45℃における平均粒径をFig. 1に示す。温度の上昇に伴い平均粒径は低下し、特にPNIPAAmの下限臨界溶解温度(LCST)付近である30-35℃にかけて平均粒径が大幅に低下した。LCST以下のNIPAAm粒子は、親水部が水素結合、疎水部が疎水性水和により膨潤しているが、LCST以上になると脱水和により疎水部同士の会合が起こりやすくなるため、平均粒径が大幅に低下したと考えられる。

また、NaDBS濃度により平均粒径の変化が見られ、25 mMで平均粒径300 nmの粒子が得られた。

Table. 1に示すシェル部重合条件で調製したNIPAAm / MPC粒子の温度25-45℃における平均粒径をFig. 2に示す。NIPAAm粒子同様に平均粒径の温度依存性が見られた。PMPCはPNIPAAmのような熱応答性を示さないことから、コアのPNIPAAmが収縮することによりシェルのPMPCが中心に引きつけられるためと考えられる。

30-35℃における各粒子の平均粒径の変化量をTable. 2に示す。NIPAAm / MPC粒子の平均粒径の変化量がNIPAAm粒子と比較して小さいことから、PMPCがシェルとして形成されていると考えられる。また、Sample. 3の平均粒径の変化量がSample. 1, 2に比べ小さいことから、より厚い層のシェルが形成されていると考えられる。したがって、BIS濃度の調節により

Table. 1 Preparation condition of shell parts

Sample	MPC (mM)	BIS (μM)	APS (μM)
1	1.5	15	3.0
2	3.0	30	6.0
3	1.5	75	3.0

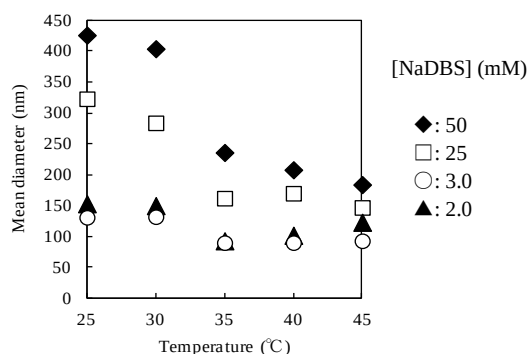


Fig. 1 Temperature dependence of the mean diameter of NIPAAm beads

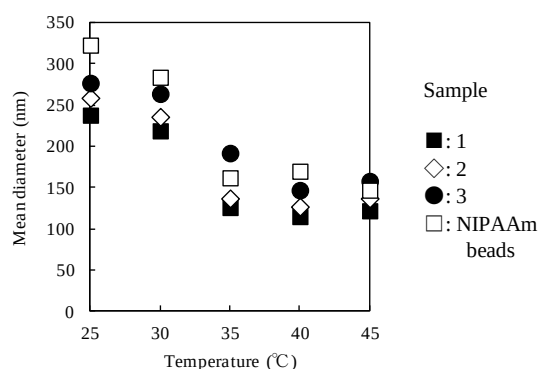


Fig. 2 Temperature dependence of the mean diameter of NIPAAm / MPC beads

Table. 2 Differential mean diameter toward temperature changes from 30℃ to 35℃

Sample	Δ Mean diameter (nm)
1	93.6
2	99.8
3	71.9
NIPAAm beads	121.8

効率よくMPCを導入することが可能であると考えられる。

4. 参考文献

- 1) P.L. Tugirimana et al, *Clin Chem Lab Med*, **2009**, 47, 1417-1422
- 2) O. Deegan et al, *Analytical Biochemistry*, **2003**, 312, 175-181