



Title	Fabrication of Reactive Polymethacrylate Monoliths via Thermally Induced Phase Separation and Their Applications
Author(s)	Han, Wenjuan
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/52147
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (Wenjuan Han)	
論文題名	<p>Fabrication of Reactive Polymethacrylate Monoliths <i>via</i> Thermally Induced Phase Separation and Their Applications</p> <p>(熱誘起相分離を利用した反応性アクリル樹脂モノリスの作製と応用)</p>
<p>論文内容の要旨</p> <p>This thesis deals with the fabrication of poly(glycidyl methacrylate-<i>co</i>-methyl methacrylate) (PGM) monoliths by thermally induced phase separation(TIPS) method. Through appropriate modification, the PGM monolith can be utilized in various fields. The results obtained through this study are summarized as follows.</p> <p>In Chapter 1, PGM was synthesized by a conventional radical copolymerization. The unit ratio of MMA and GMA determined by ^1H NMR spectroscopy was 89/11. PGM monoliths with three-dimensional continuous interconnected porous structures were successfully fabricated through TIPS method. We found that PGM could be dissolved in the mixture of ethanol and H_2O, both of which are non-solvent of the polymer. This could be explained by the unique cosolvency effect. The morphology of PGM monolith including pore and skeleton sizes was easily tuned by varying the fabrication parameters such as cooling temperature and polymer concentration. The skeleton and pore size increased when the cooling temperature increased and polymer concentration decreased. In addition, the mechanism of the formation of PGM monolith was discussed.</p> <p>In Chapter 2, we used the epoxide-containing polymethacrylate-based monolith having a well-defined porous structure as a solid support for the immobilization of HRP. The PGM monolith was modified with AADH, EDTAD and NHS to introduce the reactive NHS ester groups, followed by reacting with HRP under mild reaction conditions. The immobilized HRP on the modified PGM monolith showed enhanced thermal stability at 60°C and kept 52% of the original activity after 6 cycles of the reaction. Furthermore, three spacers with different lengths were selected to modified PGM monolith. Moreover, the spacer structure could reduce the steric interference when HRP was immobilized on modified PGM monolith.</p> <p>In Chapter 3, the PGM monolith with interconnected pores was fabricated by a facile and template-free method, whose pore structure could be readily controlled by preparation conditions, such as cooling temperature and polymer concentration. The epoxy groups on the PGM monolith were modified with aminoacetal followed by acid hydrolysis to obtain the monolith having aldehyde groups. The PGM-CHO monolith was used to immobilize pepsin <i>via</i> the reductive amination. The immobilized pepsin showed stability by inhibiting irreversible conformational change of pepsin. The immobilized pepsin was packed into a column and used for UPLC-ESI-MS/MS online protein digestion. The result showed equal to or even better</p>	

performance than that obtained from the commercial pepsin-immobilized POROS column. It is anticipated that the present efficient sample preparation and the relevant UPLC-ESI-MS/MS online analytical system might provide a promising tool for automated and comprehensive profiling of proteomes and for detailed protein characterization with low cost.

In summary, a polymethacrylate monolith was prepared successfully by using PGM as the precursor *via* TIPS method. The obtained monoliths have unique open- cellular three- dimensional structure and they are applied for enzyme immobilization. PGM monolith has large potential application for biomolecule immobilization.

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (Wenjuan Han)			
論文審査担当者		(職)	氏 名
	主 査	教 授	宇山 浩
	副 査	教 授	井上 豪
	副 査	教 授	古澤 孝弘
	副 査	教 授	平尾 俊一
	副 査	教 授	桑畑 進
	副 査	教 授	櫻井 英博
	副 査	教 授	林 高史
	副 査	教 授	南方 聖司
	副 査	教 授	今中 信人
	副 査	教 授	町田 憲一
	副 査	教 授	安藤 陽一

論文審査の結果の要旨

本論文は熱誘起相分離（TIPS）を利用した反応性ポリメタクリレートモノリスの作製と応用に関し、モノリス表面に反応性基を導入することで多様な分野で利用できる材料に展開した研究成果をまとめたものであり、その内容を要約すると以下のとおりである。

- 1 グリジジルメタクリレート/メチルメタクリレート共重合体（PGM）から三次元の連通孔構造を有するモノリスが TIPS 法で作製している。ポリマーを加熱下でエタノールと水の混合溶媒に溶解し、それを冷却するといった簡便な手法で機能材料として有望な反応性モノリスが得られている。溶媒組成等の作製パラメーターの内部モルフロジーに与える影響を詳細に調べられ、それにより骨格径や孔径を精密に制御している。
- 2 PGM の反応性エポキシ基を利用して、PGM モノリスを固定化酵素担体に用いている。エポキシ基を反応性に富む N-ヒドロキシコハク酸イミド（NHS）に変換し、ここを基点に西洋ワサビペルオキシダーゼ（HRP）を固定している。モノリス表面と NHS 基間のスパーサー長を変えることで、固定化酵素量と酵素活性の向上が図られており、酵素固定化量は既報より高い。得られた HRP 固定化モノリスの酵素活性は非固定化 HRP に比べて熱的安定が著しく向上し、更に繰り返し使用による酵素活性の低下も大幅に抑制した。これらの結果は PGM モノリスが酵素固定化担体として高い潜在性を示している。また、環境用途を目指して HRP 固定化モノリスがフェノール類の除去に応用されている。
- 3 別の官能基を持つ PGM モノリスが開発され、タンパク質分析に応用されている。PGM モノリスのエポキシ基をタンパク質固定化によく用いられるアルデヒド基に変換し、ここを基点にペプシンがモノリスに固定化されている。ペプシン固定化モノリスの相対酵素活性は高温側で高く、至的 pH も変化した。また、バイオメディカル分野を中心とするタンパク質のオンライン分析にこのペプシン固定化カラムが応用されている。高価な市販品と同等のレベルでモデルタンパク質（IgG）が高効率に消化している。これらの結果は安価な原料から簡便に作製できる PGM モノリスが高付加価値のオンライン分析用カラムとして利用できる可能性を示唆している。

以上のように、本論文は熱誘起相分離を基盤技術とした反応性ポリメタクリレートモノリスの作製法とバイオ用途を中心とする機能材料への応用を検討している。これらの結果は多孔質材料の分野における基礎・応用の両面から重要な知見を与えている。よって、本論文は博士論文として価値あるものと認める。