

ビスフェノールAを分子インプリントした温度応答性ゲルの調製と性質

白石浩平*・大西リエ*・瀬川和也*・杉山一男*

Preparation and Characterization of Molecularly Imprinted Thermosensitive Polymer-Hydrogel for Bisphenol A

Kohei SHIRAIISHI*, Rie OHNISHI*, Kazuya SEGAWA*, and Kazuo SUGIYAMA*

Abstract

In order to know basic information for preparation of sensing, extracting, or multifunctional materials, a molecularly imprinted polymer hydrogel for Bisphenol A (Bis-A) as a typical sample of environmental hormone was prepared from *N*-isopropylacrylamide (NiPAAm), 4-vinylpyridine (4-VP), and *N,N*-methylenebisacrylamide (MBAAm) in the presence of radical initiator in ethanol solution at 60°C for 24 hr. The Bis-A imprinted hydrogel (MIGel) in water showed reversible shrinking and swelling changes on heating (40°C) or on cooling (20°C), respectively. The swelling ratios of MIGel (NiPAAm/4-VP/MBAAm/Bis-A=55/7.5/1/2.5 in molar ratio) and nonimprinted hydrogel were measured in an aqueous Bis-A solution. In addition of 10 times excess amount of Bis-A for splitting of Bis-A, the swelling ratio of MIGel was 20% lower than nonimprinted hydrogel. This result indicated that the network of MIGel memorized Bis-A. Furthermore, the shrinking-swelling behavior of the MIGel was investigated comparing with nonimprinted hydrogel with changing the temperature of the solution.

Key Words ; Thermosensitive polymer hydrogel / Molecular Imprinting / N-isopropylacrylamide / Bisphenol A / Environmental Hormone

1. 緒言

酵素などの生体分子が示す触媒能, 分子認識能, およびこれらが複合化した機能を人工的に発現させる素材の調製法および機能の応用が注目されている¹⁾. これは素材に分子の形状や官能基の位置等を記憶させる情報分子として, 高度な生体分子の機能を人工的に再現する方法を確立する学術的な興味のみならず医薬品等高付加価値化学品の分離・分析用クロマトグラフィー担体²⁾, 分離膜³⁾, 抽出担体⁴⁾, センサー材⁵⁾, 人工触媒⁶⁾として工業的にも有望であるためと考えられる. しかし, 工業的に安価な素材で, 高い分子認識能を示すコンフォメーションと配列をもつ人工高分子の調製は, 現段階では困難である⁷⁾. また, 標的分子が多量である場合はコストのみならず生産性にも配慮した調製法が求められる.

上記の様な分子認識性の材料調製法の一つとして, 標的

分子と相互作用する機能性ビニルモノマーと架橋剤を重合してゲルを作製し, その後ゲル中から標的分子を抽出すると, 標的分子が鑄型となり, 標的分子の形状や官能基位置を空間的に記憶できる分子インプリント法がある. 汎用合成高分子の調製法を用いるため生産性も高く, 分子情報を高度にメモリできる⁸⁾. 合成高分子を基材とする分子インプリントで得た空間は熱安定性が極めて高く, 調製が簡便であるため, ファインケミカルから, 環境中に存在する大量の有害あるいは有用物質等にまで至り, 基材そのものの再利用も視野に入れた選択的なセンシングや抽出用素材として応用を拡大できる.

一方, 分子情報を高度にメモリできる分子インプリント法は, 従来まで素材はしばしば高架橋される場合が多い. しかし, 高架橋は選択性を向上させても, 標的分子の低い拡散性が分離・抽出速度さらに回収率を低下させる. 高架橋ゲルを用

*近畿大学工学部生物化学工学科

Department of Biotechnology and Chemistry, School of Engineering, Kinki University.

いる分子インプリント法では高度な選択性と速度は相反する機能でもあるため⁹⁾, 分子情報の保存性と認識部位への移動能を向上させるため, 剛直セグメント鎖の導入⁹⁾あるいは重合時の相分離¹⁰⁾により高分子鎖の全体のエントロピーを減少させる試みがある。あるいはタンパク質のように環境に応じて分子認識能を変化させて, 標的分子の高度な認識の獲得が行われており,¹¹⁾分子の取り込みと認識のステージをスイッチするインテリジェント性が, 機能を向上させる点から注目される。

本研究では, 分子インプリント法による吸着, 分離, および徐放性機能をもつインテリジェント材料の調製を目的に, 組織工学に用いる細胞培養時にタイミングな栄養や成長因子の放出制御と細胞にダメージを与えない増殖と剥離用の基材, さらに環境応答性を利用した高い認識能と速度を与える刺激応答性高分子材料の開発の一環として¹²⁾, 刺激応答性高分子の調製を目的とした。ここでは近年, 環境中への拡散が問題とされる人間活動に由来する内分泌攪乱物質(環境ホルモン)を標的分子にして, 温度応答性高分子基材とする分子インプリント法により, 環境応答型のセンシングおよび抽出材料の調製を試みた。

2. 実験

2-1. 試薬

N-isopropylacrylamide(NiPAAm)(和光純薬)はベンゼン:ヘキサン=1:30(vol.%)の混合溶媒から再結晶して用いた。4-vinylpyridine(4-VP)は[b.p.59.0°C/10mmHg]で減圧蒸留して用いた。bisphenolA(Bis-A)(東京化成), *N,N'*-methylenebisacrylamide(MBAAm)(関東化学), 1,4-dioxane(和光純薬), *t*-amylperoxy 2-ethyl hexanoate 50%トルエン溶液(商品名トリゴノックス 121-50:化薬アクゾ株式会社), 4-ヒドロキシ安息香酸(4-HBA:和光純薬), トリフルオロ酢酸(TFA)(和光純薬), アセトニトリル(高速液体クロマトグラフィー用;和光純薬)はそのまま用いた。溶媒類は常法に従って精製して用いた。超純水は MILLIPORE 製 Milli-Q Synthesis A10 型超純水製造装置を用いて精製して使用した。

2-2. ポリマーヒドロゲルの調製

Bis-Aをインプリントしたゲル(MIP)は, 既報¹³⁾に準じて所定量の NiPAAm(1.25g:11.04mmol), MBAAm(0.03g : 0.20mmol), 4-VP(0.16g : 1.50mmol あるいは 0.32g :

3.00mmol), Bis-A(0.11g:0.49mmol), および開始剤トリゴノックス(360 μ L)を溶解した 1,4-dioxane 溶液(2.4 mL)をタイガースポリマー製シリコンゴム(SR-50; 厚さ約 2mm)スぺーサとしてガラス板で挟んだセル中に注入して, 60°C, 24h 静置・重合した。反応終了後, ゲルを取り出し 1,4-dioxane に浸漬して未反応モノマーと取り除き, 0.1N NaOH(10mL)水溶液中に室温, 12 時間浸漬して Bis-A を抽出した。Bis-A の抽出量は高速液体クロマトグラフィーを用いて求めた(2-3 項)。次に, 膨潤状態で直径約 2cm のコルクボーラを用いて円形ペレット状にゲルをくり抜き(14mm ϕ , 厚さ 2mm), 室温, 6h 真空乾燥した後, 40°C, 12h 加熱真空乾燥して乾燥ゲル(MIGel)を得た。Bis-A を含まないゲル(CONT)も上記同様に調製および精製した。

2-3. Bis-A 抽出量の測定

既報⁹⁾に準じて, 1.0, 0.5, 0.2, 0.1, 0.05mmol/L 濃度 Bis-A のアセトニトリル溶液 10mL に 50mmol/L の 4-HBA 500 μ L を内部標準として添加し, 下記条件による高速液体クロマトグラフィーのピーク面積から Bis-A の検量線を作成した。MIP-Gel から 0.1N NaOH で Bis-A を抽出溶液 10mL に上記と同様に内部標準を添加して得られたクロマトグラム

のピーク面積から, 抽出 Bis-A 量を算出した。

カラム:TOSOH Super-ODS

検出器:UV(測定波長 225nm)

流速:1.0mL/min

移動相:0.1%TFA 含有水:アセトニトリル=6:4(v/v)%

2-4. ゲル相転移温度の測定

純水中, 20°C で膨潤平衡としたゲルのデジタル写真撮影を行い画像解析してゲルの直径を求めた。次に所定温度の水の中にゲルを 12h 浸漬したのち, 同様にゲルの直径を求めた。水温とゲルの直径を関係の図から, ゲルの直径が不連続に変化する温度を相転移温度として見積った。

2-5. ゲル膨潤度

乾燥ゲルを 20°C の水に浸漬し, 所定時間ごとにヒドロゲルの重量(W_s)を測定した。次いで 40°C の水に浸漬して同様にヒドロゲル重量を測定した。乾燥ゲル重量(W_d)から(1)式によって膨潤度(S)を定義した。

$$S = (W_s - W_d) / W_d \quad (1)$$

2-6. 機器分析

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)には島津製作所製送液ユニット LC-6A および東京理科大学製紫外可視分光検出器(UV-8800V)を用いた。

3. 結果と考察

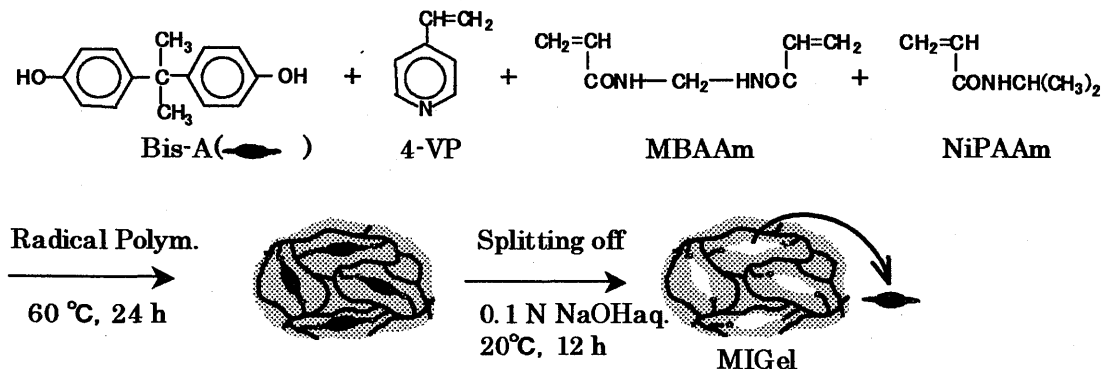
3-1. Bis-A をインプリントした高分子ヒドロゲルの調製

環境ホルモンの分離・検出の様々なアプローチがあるが¹⁴、例えば Bis-A を標的分子としてインプリントした高分子ゲルによる特異的認識機能を利用したセンシングやクロマトグラフィー担体としての応用が検討されている¹⁶。このとき、Bis-A 分子の 2 つの水酸基と相互作用する特性基として 4-VP¹⁶ およびシクロデキストリン(CD)¹⁵が利用されている。CD による Bis-A との包接複合体を形成させる場合は Bis-A の水酸基と CD はほぼ 1:2 のモル比であるが、水素結合によるインプリントでは 1:2 の化学量論よりも過剰に機能性モノマーを配合して分子認識能を向上させる例がある¹⁵。水素結合の熱安定性が大きくないことによると考えられるが、標的分子の抽出が容易であることから、本研究では 4-VP によるインプリントゲルの例に準じた比率¹⁵による検討を試みた。また、標的分子の拡散性を考慮した低架橋での分子認識能を向上および環境に応答して分子認識能を発現させる目的から、温度応答性を示す高分子のモノマーとして NiPAAm:架橋剤 MBAAm:4-VP:Bis-A をモル比で 55:1:7.5:2.5 で仕込み分子インプリントゲルを作製した(Scheme 1)。このとき、重合中に相分離させるため、重合溶媒を 1,4-dioxane とした。1,4-dioxane 中で重合・相分離する NiPAAm 鎖は良溶媒である水中でも認識場が保持される様に MBAAm で架橋した。一方、インプリントした空間が水溶液の温度によって変化して、センシング、抽出等の機能が温度によって制御できることを期待して、水中で

下限臨界共溶温度を示す NiPAAm セグメントを導入している。重合後、乾燥ゲルの重量からモノマーのゲル化収率はほぼ 100%であることを認めた。また、0.1N NaOH 水溶液による抽出によって、分子インプリントに使用した Bis-A がほぼ定量的に除かれた。

3-2. ゲルの熱相転移挙動

poly(NiPAAm)は室温付近では水に溶解しているが、水温を上昇させると相転移する LCST を示す。LCST は塩濃度や共重合するモノマーの親・疎水性^{13,17}によって鋭敏に変化するのみならずカルボキシル基等の解離性官能基の導入によって pH による影響も認められる¹⁸。NiPAAm:EBAAm=95:5 比率以上(モル比)で作製したゲルには明確な相転移を示さないことから¹⁸、本研究ではゲルに温度応答性を付与するため使用する架橋剤 EBAAm の量を、NiPAAm:EBAAm=95:1.7 とした。MIGel をディスク城としての 20°C と 40°C での形態を Fig.1 に示す。20°C で膨潤した MIGel ディスクは 40°C に加温すると収縮し、膨潤および収縮は可逆的であった。次に、水中でのゲルの相転移温度を知るため、所定温度にゲルを浸漬させ、ゲルの直径を測定し、浸漬温度の関係を Fig.2 および Fig.3 に示す。MIGel および CONT のいずれもゲルの直径は 32~34°C 付近までは殆ど変化が認められなかったが、この温度域で急激に直径が低下した。一方、収縮したゲルの水温を徐々に低下させゲルの直径を測定した結果、ゲルの直径が急激に増大する温度が観察された。これは、導入 NiPAAm セグメントによって下限共溶臨界温度となり、相分離するためにゲルが膨潤→収縮したためと考えられる。ここで急激に膨潤あるいは収縮した 32~34°C がゲルの相転移温度であると考えられる。ゲルの相転移温度は MIGel および CONT のいずれもヒーティングよりもクーリング時が高くなるヒステリシスを認めた。また MIGel は収縮から膨潤させ



Scheme 1 Preparation of Bis-A imprinted poly(NiPAAm) hydrogel

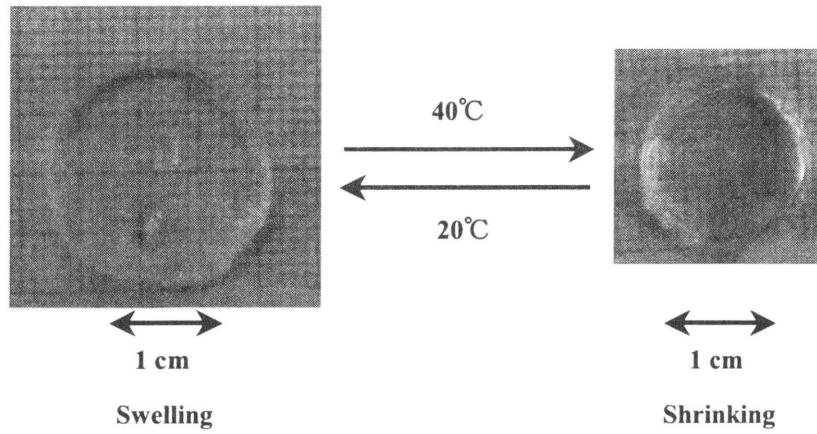


Fig. 1 Swelling – shrinking behavior of MIGel.

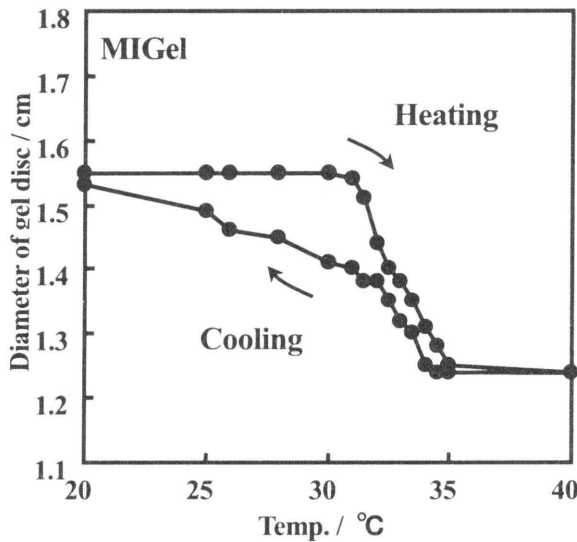


Fig.2 Swelling change of MIGel at various temperature in water.

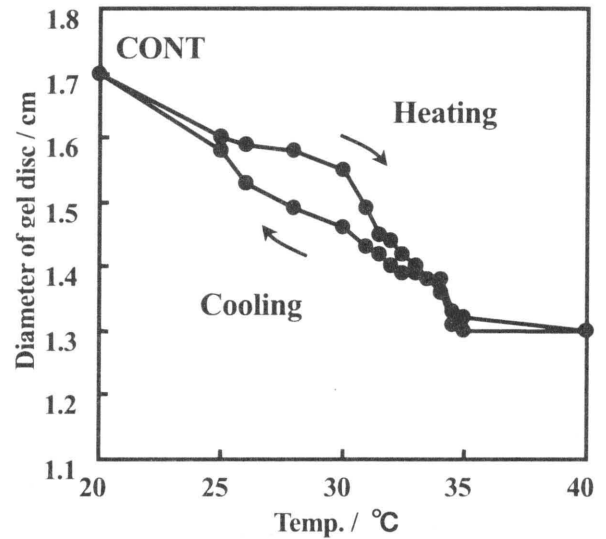


Fig.3 Swelling change of CONT at various temperature in water.

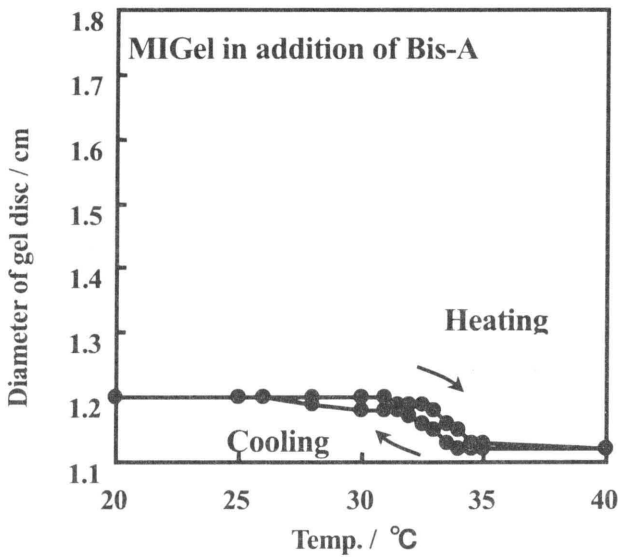


Fig.4 Swelling change of MIGel at various temperature in addition of Bis-A in water, [Bis-A] = 0.080 mmol/L was added.

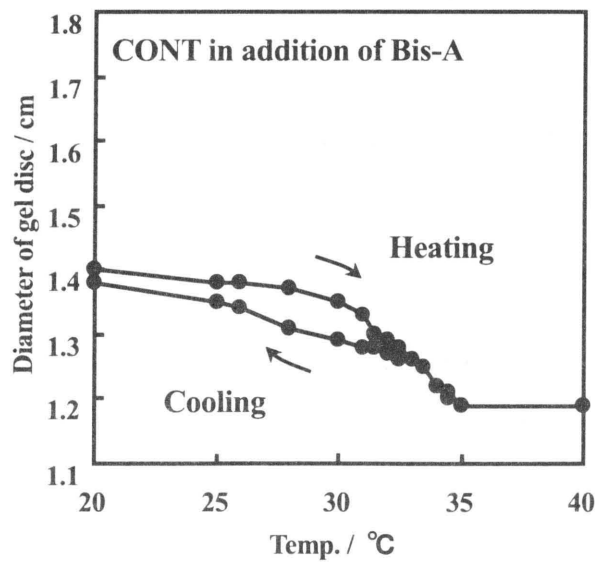


Fig.5 Swelling change of CONT at various temperature in addition of Bis-A in water, [Bis-A] = 0.080 mmol/L was added.

る過程において、初期の膨潤状態に CONT よりも幾分戻りにくい、可逆的であったことから、ゲルは温度刺激によって形態を変化するが、相転移温度以下で平衡に達するとインプリントした空間が再生していると考えられる。ゲルの示したヒステリシスが MIGel と CONT で異なるのはゲル中で親水性基となる 4-VP が定まった位置に配列した MIGel の親水性が CONT よりも高くなったためと考えた。つぎに、インプリントした同量の Bis-A を添加してゲルの膨潤を測定した結果を Fig.4, Fig.5 に示す。MIGel と CONT いずれも無添加の場合よりゲルの直径が小さくなった。また、ゲルのヒーティング時の収縮およびクーリング時の膨潤に伴うゲル直径の変化が、無添加よりも極端に小さくなった。変化が少ないため、無添加の場合に比べての相転移温度の明確な差が認められない。Bis-A の添加による膨潤-収縮挙動の大きな変化は、Bis-A が 4-VP を介する架橋剤として機能したためと考えられ、高度に架橋されたゲルは膨潤しにくく、相転移に必要な NiPAAm セグメントの運動が妨げられ相転移が認められなかったと考えられる。また、CONT にも Bis-A によって架橋できる位置に 4-VP が確率的に配置されていたものの、膨潤性は MIGel より高く、相転移も認めたことから、MIGel はインプリントによって Bis-A と相互作用しやすい空間位置に 4-VP が配置されていると考えられ、MIGel 中に Bis-A と相互作用しやすい空間が多数ゲル内に生起していることが示唆される。

3-3. ゲルの膨潤-収縮挙動

急激な温度刺激による MIGel あるいは CONT の膨潤-収縮挙動に関する知見を得るために、水温を 20°C→40°C あるいは 40°C→20°C にパルス的に変化させたときのゲルの膨潤-収縮挙動を膨潤ゲル重量の測定から検討した。乾燥した MIGel を 20°C の水中に浸漬するとゲルは膨潤した。次いで、ゲルを 40°C の水中に浸漬するとゲルは急激に収縮した (Fig.6)。いずれのゲルも膨潤-収縮は水温の変化に対してほぼ可逆的であり、膨潤平衡時(40°C)の最大膨潤率および収縮時の最小膨潤率、さらにそれぞれの平衡到達時間(膨潤時約 12h, 収縮時約 6h)は温度変化による繰り返しによって大きな変化を認めなかった。一般に、乾燥したガラス状のゲルが溶媒を吸収して、膨潤するとき、その膨潤変化には、表面からの溶媒の吸収に伴って一定速度で膨潤し平衡に達する case-II 輸送プロセスと、中心のガラス状コアの存在が膨潤を抑制し、コアが消失して平衡に達する supercase-II 輸送プロ

セスに分類することができる¹⁹⁾。本研究で調製したインプリントゲルはいずれも、これまで DDS 用キャリアのモデルとして作製したゲルと同様に¹⁹⁾ゲルの膨潤度が時間経過とともに増加する case-II 輸送プロセスで膨潤することが明らかになった。なお、架橋剤 EBAAm 含量が MIGel, CONT の約半分の NiPAAm のみから調製したゲルが示す膨潤あるいは収縮平衡への到達時間は 24h(膨潤時), 3h(収縮時)であった。今回調製したゲルは架橋剤 EBAAm 含量が多いため、および 4-VP が親水性基として働いたため、膨潤しやすく収縮しにくくなると考えられる。また、MIGel と CONT の膨潤-収縮挙動は水中では大きな差異は認められなかった。

3-4. 標的分子 Bis-A 存在下でのゲルの膨潤-収縮挙動

MIGel 調製時の 1 倍, 10 倍, 100 倍量の Bis-A が添加された水溶液中での膨潤-収縮の結果を Fig.7, Fig.8, Fig.9 に示す。1 倍量の Bis-A 添加系 (Fig.7) では、無添加と比べて殆ど変化が認められなかったのに対し、10 倍量 (Fig.8) および 100 倍量 (Fig.9) の Bis-A を添加して系ではゲルの膨潤-収縮挙動が大きく変化した。100 倍量の Bis-A を添加して測定した水溶液中では、MIGel および CONT のいずれもゲルは殆ど膨潤を認めなかった。これは Bis-A が 4-VP と結合して架橋剤として働いたため、Bis-A によるゲルは高架橋され、膨潤が妨げられたと考えられる。一方、10 倍量の Bis-A の添加ではゲルの膨潤度は MIGel および CONT のいずれも無添加よりも低下し、また 100 倍量よりも膨潤度が増加した。このとき MIGel の膨潤率は CONT よりも平衡膨潤時で約 20% 低下した。これは分子インプリントによって Bis-A の官能基の位置がメモリされ、MIGel では Bis-A による架橋が効率よく進行するためと考えられる。一方、多量の Bis-A の存在下では、ランダムな配置の 4-VP でも Bis-A が結合できることを示しており、Bis-A が過剰にゲル内に取り込まれると 4-VP と Bis-A は予想した 2:1 の化学量論的な結合ではなく、例えばクラスター化した Bis-A によって多点架橋する様な結合が生起していると推測される。なお、Bis-A を再び 0.1N NaOH 水溶液を用いて抽出後、Bis-A 無添加の水中で測定した膨潤-収縮挙動は MIGel および CONT のいずれも初期の Bis-A 無添加の水溶液中で測定したゲルと殆ど同じ挙動を示し、上記同様の Bis-A を添加するとほぼ同じ膨潤率および収縮率を示すゲル機能の再現性を認めた。

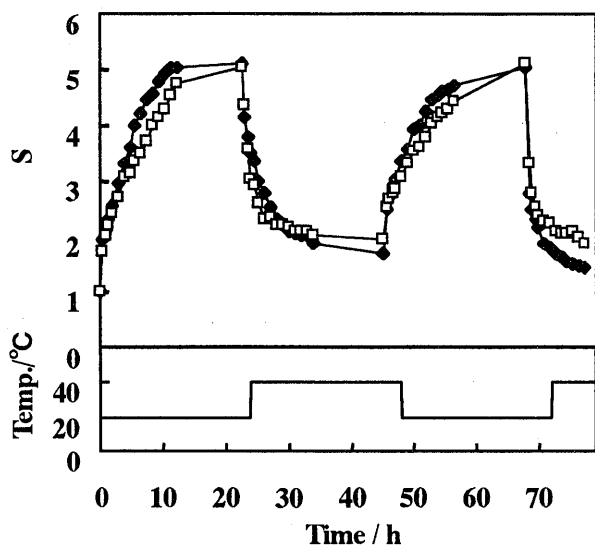


Fig.6 Pulsatile swelling change in water of MIGel and CONT in response to stepwise temperature change at 20 °C and 40 °C, time interval 24 h, (□) MIGel, (◆) CONT.

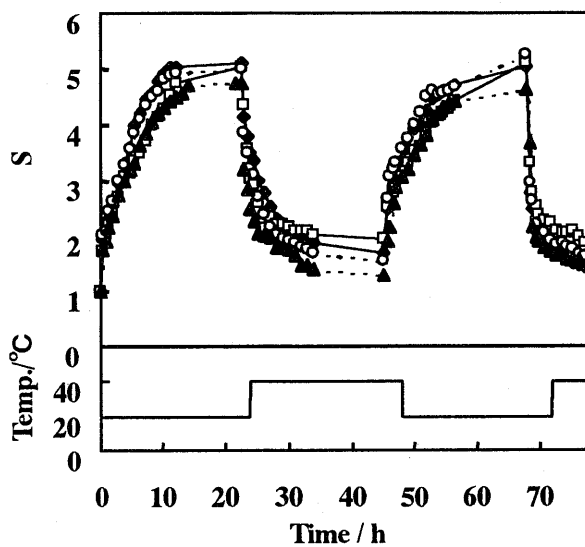


Fig.7 Pulsatile swelling change in water of MIGel and CONT in response to stepwise temperature change at 20 °C and 40 °C, time interval 24 h, (□) MIGel, (◆) CONT, (○) MIGel in Bis-A containing water, (▲) CONT in Bis-A containing water; [Bis-A] = 0.080 mmol/L.

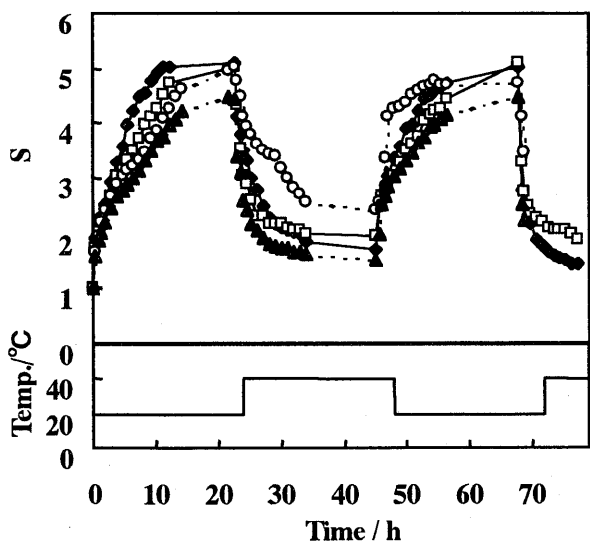


Fig.8 Pulsatile swelling change in water of MIGel and CONT in response to stepwise temperature change at 20 °C and 40 °C, time interval 24 h, (□) MIGel, (◆) CONT, (○) MIGel in Bis-A containing water, (▲) CONT in Bis-A containing water; [Bis-A] = 0.80 mmol/L.

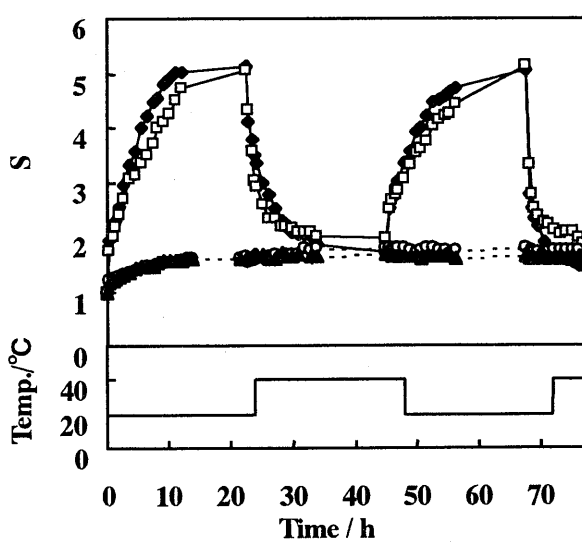


Fig.9 Pulsatile swelling change in water of MIGel and CONT in response to stepwise temperature change at 20 °C and 40 °C, time interval 24 h, (□) MIGel, (◆) CONT, (○) MIGel in Bis-A containing water, (▲) CONT in Bis-A containing water; [Bis-A] = 8.0 mmol/L.

3-5. MIGel の化合物選択性

10 倍量の Bis-A 添加時に CONT に対して MIGel の膨潤率が 20%程度低下する分子インプリントの効果を認めたことから、MIGel の示す分子認識能を知るために、Bis-A と同量の 4-ヒドロキシ安息香酸(4-HBA)を添加した水溶液中で測定した膨潤-収縮挙動の結果をFig.10に示す。図から、膨潤-収縮挙動は 4-HBA を添加しても殆ど無添加と変わらない(図中点線)。また、別途検討した CONT でも 4-HBA の添加による変化を認めなかったことから、MIGel は Bis-A に対して 4-HBA よりも高い分子認識能を示すと考えられる。

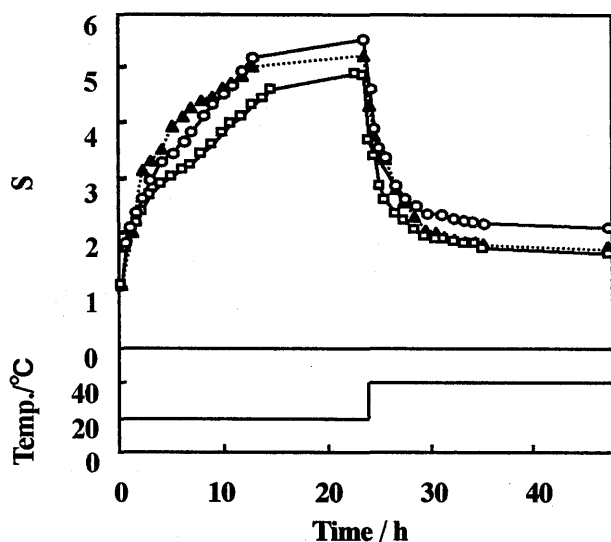


Fig.10 Pulsatile swelling change in water of MIGel in response to stepwise temperature change at 20 °C and 40 °C, time interval 24 h, (O)none, (▲) in 4-HBA containing water, (□) in Bis-A containing water; [Bis-A] = [4-HBA] = 0.080 mmol/L.

4. 結論

Bis-A を標的分子として調製した感温性ポリ(NiPAAm)セグメントを主成分とするゲルは、低温膨潤時に標的分子を認識した挙動を示す環境応答型の分子認識性ゲルであることを認めた。本ゲルは低架橋であるが CD の様な元来 Bis-A 等の認識空間をもつ分子を利用した分子認識ゲルと異なり、分子インプリントによって高分子鎖あるいは官能性モノマー(本実験では 4-VP)の配列制御が与えられたと結論づけられる。選択吸着後の処理により再利用可能な本ゲルは比較的low価格での大量生産も可能であり、環境中に多量に存在する様な環境ホルモン等の選択的な抽出材料として、今後材料組成の最適化等によって十分可能であると考えられる。また、本法を利用

して、より官能性の高い(分子中の官能基の多い)ペプチドを標的分子とすれば、分子認識性の向上が期待され、温度等の刺激による内包分子の選択的な吸着・放出材料への応用にも展開できると考える。

5. 謝辞

本研究は 2001 年財団法人古川財団, 2000~2001 年度財団法人マツダ財団, および 2003~2004 年度日本学術振興会(No.15500334)の援助によって行なわれたものであり、ここに感謝の意を表します。

6. 文献

- (1)G. Wulff, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 34, 1812 (1995), S. Mallik, S. D. Plukett, P. K. Dhal, R. D. Johnson, D. Pack, D. Shenek, and F. H. Arnold, *New J. Chem.*, 18, 299(1994), H. Ringsdorf, B. Schlarb, and J. Venzmer, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 27, 113 (1988).
- (2)G. Vlatakis, L. I. Anderson, R. Müller, and K. Mosbach, *Nature*, 361(18), 645(1993), B. Sellergren, *Makromol. Chem.*, 190 2703(1989), K. Hosoya and J. M. J. Fréchet, *J. Polym. Sci.: Part A: Polym. Chem.*, 31 2129(1993), J. Haginaka, H. Takehira, K. Hosoya, and N. Tanaka, *Chem. Lett.*, 1997, 555(1999), L. Fischer, R. Müller, B. Ekberg, and K. Mosbach, *J. Am. Chem. Soc.*, 113, 9358(1991), J. Haginaka, H. Takehira, K. Hosoya, and N. Tanaka, *J. Chromatogr., A*, 816, 113(1998).
- (3)S. M-Tibbon and I. Willner, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1994, 1261(1994), M. Yoshikawa, J. Izumi, T. Kitao, and S. Sakamoto, *Macromolecules*, 29, 8197(1996), M. Yoshikawa, J. Izumi, T. Ooi, T. Kitao, M. D. Guiver, G. P. Robertson, *Polym. Bull.*, 40, 517(1998).
- (4) L. Ye, O. Ramström, and K. Mosbach, *Anal. Chem.*, 70, 2789(1998), T. Takeuchi, D. Fukuma, and J. Matsui, *Anal. Chem.*, 71, 285(1999).
- (5)K. Yamamura, H. Hatakeyama, K. Naka, I. Tabushi, and K. Kurihara, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1988, 79(1988), K. Haupt, A. G. Mayes, and K. Mosbach, *Anal. Chem.*, 70, 3936(1998), S. A. Piletsky, E. V. Piletskaya, T. L. Panasyuk, A. V. El'skaya, R. Levi, I. Karube, and G. Wulff, *Macromolecules*, 31, 2137(1998).

- (6) D. K. Robinson and K. Mosbach, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1989**, 969(1989), K. Ohkubo, Y. Urata, S. Hirota, Y. Honda, Y. Fujishita, and T. Sagawa, *J. Mol. Catal.*, **93**, 189(1994), K. Ohkubo, Y. Urata, S. Hirota, Y. Honda, T. Sagawa, *J. Mol. Catal.*, **87**, L21(1994), G. Wulff, T. Gross, and R. Schönfeld, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **18**, 36(1997).
- (7) 竹岡敬和, 渡辺正義, *化学*, **53**(11), 74(1998).
- (8) G. Wulff and J. Haarer, *Macromol. Chem.*, **192**, 1329(1991), M. J. Whitcombe, M. E. Rodriguez, P. Villar, and E. N. Vulfson, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 7105(1995), J. Matsui, I. A. Nichollus, I. Karube, and K. Mosbach, D. A. Spivak and K. J. Shea, *Macromolecules*, **31**, 2160(1998).
- (9) 白石浩平, G. Wulff, 近畿大学工学部研究報告, **34**, 9(2000).
- (10) M. Watanabe, T. Akahoshi, Y. Tabata, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 5577(1998).
- (11) V. S. Pande, A. Yu. Grosberg, and T. Tanaka *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, **91**, 12976(1994), V. S. Pande, A. Yu. Grosberg, and T. Tanaka, *Macromolecules* **28**, 2218(1995).
- (12) K. Sugiyama, K. Shiraishi, and K. Sono, *J. Appl. Polym. Sci.*, **90**, 143(2003), K. Sugiyama, S. Rikimaru, Y. Okada, K. Shiraishi, *J. Appl. Polym. Sci.*, **82**, 228(2001).
- (13) 白石浩平, 杉山一男, 山門大晃, 中西昭文, 近畿大学工学部研究報告, **36**, 9(2002).
- (14) A. Atkinson and D. Roy, *Environ. Mol. Mutagenesis*, **26**, 60(1995), M. Lübke, M. J. Whitcombe, E. N. Vulfson, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 13342(1998).
- (15) 浦上忠, 西畑武, 宮田隆志, 高分子学会予稿集, **51**, 1840(2002).
- (16) J. Haginaka and H. Sanbe, *Chem. Lett.*, **28**(8), 757(1999).
- (17) 伊藤昭二, 高分子論文集, **46**, 437(1989), 伊藤昭二, 高分子論文集, **47**, 467(1990).
- (18) 白石浩平, 杉山一男, 未発表データ.
- (19) 金子祐三, 坂井清孝, 岡野光夫, “ゲルハンドブック第2版, 第2章, 第2節, p241, エヌ・ティ・エス(1997).