

Title	疾患バイオマーカー探索のための機能的RNA：タンパク複合体分離精製法の構築
Sub Title	Development of functional protein separation and purification system for biomarker discovery
Author	金澤, 秀子(Kanazawa, Hideko) 綾野, 絵理(Ayano, Eri)
Publisher	
Publication year	2016
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2015.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>本研究では, 疾患マーカーとなるタンパク分離への応用に向けて温度応答性高分子poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm)を固相抽出カラム用充填剤に応用し, 標的タンパクを温度変化を利用して生理活性を維持したまま分離・精製可能であった。本システムの特徴は, 水系溶媒を用いた温和な条件で, 温度変化により精製を可能とした点である。分離担体のコストを抑えることができ汎用性も高い。温度変化を利用し, 水系溶媒という温和な条件下で, 抗体を始めとするタンパクを生理活性を維持したまま精製できたことから, スケールアップを行うことによりバイオ医薬品の精製に応用可能であると考えられる。</p> <p>A temperature-responsive solid-phase extraction (SPE) system with poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm)-based polymer modified silica beads was developed. Utilizing this system, lysozyme, and monoclonal antibodies can be purified from typical contaminants maintaining their physiological activities. An important feature of our system is that the interaction between targeted proteins and PNIPAAm-based polymer modified silica beads can be controlled by temperature switching with a mild aqueous eluent; purification was achieved without the loss of activity. In addition, this system is highly versatile, and a good alternative to limit purification costs. We believe that these purification methods with simple, versatile, inexpensive materials are of important value for biological research; furthermore, these methods provide an alternative to increase the purification efficiency of protocols for bio-pharmaceutical drugs, while reducing the total cost of production.</p>
Notes	研究種目：基盤研究(B)(一般) 研究期間：2013～2015 課題番号：25293009 研究分野：物理系薬学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_25293009seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 6 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25293009

研究課題名(和文) 疾患バイオマーカー探索のための機能的RNA-タンパク複合体分離精製法の構築

研究課題名(英文) Development of Functional Protein Separation and Purification System for Biomarker Discovery

研究代表者

金澤 秀子 (Kanazawa, Hideko)

慶應義塾大学・薬学部・教授

研究者番号：10240996

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、疾患マーカーとなるタンパク分離への応用に向けて温度応答性高分子poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm)を固相抽出カラム用充填剤に応用し、標的タンパクを温度変化を利用することで生理活性を維持したまま分離・精製可能であった。本システムの特徴は、水系溶媒を用いた温和な条件で、温度変化により精製を可能とした点である。分離担体のコストを抑えることができ汎用性も高い。温度変化を利用し、水系溶媒という温和な条件下で、抗体を始めとするタンパクを生理活性を維持したまま精製できたことから、スケールアップを行うことによりバイオ医薬品の精製に応用可能であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：A temperature-responsive solid-phase extraction (SPE) system with poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm)-based polymer modified silica beads was developed. Utilizing this system, lysozyme, and monoclonal antibodies can be purified from typical contaminants maintaining their physiological activities. An important feature of our system is that the interaction between targeted proteins and PNIPAAm-based polymer modified silica beads can be controlled by temperature switching with a mild aqueous eluent; purification was achieved without the loss of activity. In addition, this system is highly versatile, and a good alternative to limit purification costs. We believe that these purification methods with simple, versatile, inexpensive materials are of important value for biological research; furthermore, these methods provide an alternative to increase the purification efficiency of protocols for bio-pharmaceutical drugs, while reducing the total cost of production.

研究分野：物理系薬学

キーワード：機能性高分子 タンパク分離 バイオマーカー RNA

1. 研究開始当初の背景

・創薬につながる疾患マーカー探索の重要性
ポストゲノムにおいては、ゲノム配列情報を基盤とした医療の飛躍的な進歩や画期的な新薬創製が期待されてきた。しかし、ゲノム配列情報のみでは生命の複雑さを生み出す仕組みや病気の発症メカニズムの全容を理解することの難しさも明らかとなっているのが現状である。新規疾患マーカーの探索と疾患メカニズムの解明により治療薬の標的はこれまでの「分子標的」から「機能標的」指向型へと飛躍的に移行すると考えられる。

・ソフトナノ界面の3次元的時間制御

本研究では、ソフト界面の動的特性変化を活かして、タンパクを分離する。分離は高分子/水ソフト界面のナノ領域で発現するため、本研究では、従来の2次元的概念にとらわれず、精密設計された固定相上の機能性高分子表面と水とのソフトナノ界面という特殊な場を用いて、標的とするタンパクを吸脱着し、活性を損なわず高効率な回収を達成しようとするところに独創性がある。

・機能性高分子によるアフィニティコントロール

：従来の法では移動相溶媒組成、pH やイオン強度を変化させ分離を行なうが、タンパクの機能変化を引き起こす可能性がある。申請者らは外部刺激により分離担体表面(ソフト界面)の性質を変化させ分離選択性を制御する全く新しい概念の分離システムを構築している。機能性高分子修飾担体表面の外部刺激による親水-疎水性、荷電性及び高分子の構造変化などの制御により水系移動相タンパクを脱着することが可能である。

2. 研究の目的

本研究では、機能性高分子を修飾したソフト界面をナノサイズで制御する技術を応用し、高効率・効果的なアフィニティ分離精製システムを実現する。従来法では分離困難であったタンパク複合体も分離可能となることが期待されるため、より幅広く核酸結合タンパクなども検索することができ、機能標的創薬への貢献が期待される。

・疾患マーカー探索への貢献：米国食品医薬品局(FDA)が薬剤開発におけるファーマコゲノミクスのデータの提出を推奨するガイダンスを公表したことで示されるとおり、医薬品開発の基盤資源となるバイオマーカーの重要性が認識され、その開発競争が熾烈となっている。新しい概念に基づく簡便で高効率なアフィニティ分離精製システムの開発により、次世代創薬研究における医薬品と標的に対する作用メカニズムのさらなる解明と副作用の改善につながる。

・創薬バイオプロセスへの貢献：本システムの吸脱着制御は、抗体精製などのタンパク分離にも応用可能であり、現在バイオ医薬品市場が拡大する中、プロセスコストの40%とも言われる精製プロセスの経費削減のためにブレークスルーとなる新たな技術となり

うる。従来法とは異なり、本法はすべての分離が水系で行えるため安価で、タンパク質を変性させる有機溶媒を必要とせず、生理活性物質の活性を損なわない分離法として、バイオ医薬品で重要性が増大している大規模なタンパクの分離精製プラントへの応用が期待できる。バイオ医薬品から診断・治療などの医療分野に至るまで、広範に利用できる技術となる。

3. 研究の方法

疾患マーカーとなるタンパク分離への応用に向けて選択性の向上のための高機能表面を設計する。

申請者らは、これまで温度応答性高分子 poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) にプロリンを基盤とするアミノ酸誘導体を共重合することにより芳香族アミノ酸を含むタンパクの選択性が向上することを報告している。本研究課題では分子認識部位として高分子鎖中にフェニルアラニンやトリプトファンを基盤とするアミノ酸誘導体を導入することにより、選択性の向上を図り、効率の良い分離システムを設計した。アミノ酸誘導体ポリマーを固定化した PNIPAAm を重合することで、低温でのタンパクの結合容量を増加させる方法についても検討した。カラムあたりのタンパク精製量の向上について検討するため、アイソトープラベルしたタンパクを分離担体に担持させた後、温度降下により担体表面に修飾した PNIPAAm を伸展させ、タンパクを溶出させ回収率を求めた。本システムでは、リガンドに結合したタンパクを溶出させるために従来法で必要であった pH や塩濃度等の過酷な溶媒条件を用いずに、高分子の構造変化により生理活性タンパクを脱着させるため、生理機能を損なわずに分離精製が可能となる。タンパクの不可逆的な会合凝集・変性を防ぎ、回収率を向上させ、溶媒や廃液のコストを削減し、安全性と信頼性の高い方法を検討した。複数のリガンドを用い分離条件の最適化と回収率の向上について検討した。

4. 研究成果

・タンパク選別分離のための分子識別能構築と吸脱着評価

：疾患マーカーとなるタンパク分離への応用に向けて選択性の向上のための高機能表面を設計することを目的に検討した。タンパクの吸脱着には高分子層厚みが大きく影響することを確認している。特定の分子を認識する官能基の導入により、選択的に分子を識別する高分子の設計が可能である。本研究課題では分子認識部位として高分子鎖中にフェニルアラニンやトリプトファンを基盤とするアミノ酸誘導体を導入することにより、選択性の向上を図り、効率の良い分離システムの設計について検討した。カ

ラムあたりのタンパク精製量の向上について検討するため、アイソトープラベルしたタンパクを分離担体に担持させた後、温度降下により担体表面に修飾した PNIPAAm を伸展させ、タンパクを溶出させ回収率を求めた。PNIPAAm 鎖中に疎水性物質である butyl methacrylate (BMA) 及びカチオン性の *N,N*-dimethylaminopropyl acrylamide (DMAPAAm) を導入した高分子層を持つシリカゲルビーズ担体を作製した。PNIPAAm に BMA を導入したカラムでは、モデルタンパクとして用いたヒト血清アルブミン(HSA) は保持されずに低分子薬物との分離が可能であった。PNIPAAm に DMAPAAm を導入したカラムで分析を行ったところ、温度を高くすると HSA は保持された。保持された HSA は、生理食塩水を流すと溶出させ回収することが可能であった。同様の条件で、クロロミン T 法を用いて HSA をヨウ素 125 で標識し、HSA の回収率を求めたところ 80% 以上の高い回収率が得られた。

・アフィニティ精製用バイオセパレーション技術の確立:

タンパクの活性を損なわずに分取可能なバイオセパレーションシステムの実現を目的に検討した。本法ではタンパクを溶出させるために従来法で必要であった pH や塩濃度等の過酷な溶媒条件を用いず、高分子の構造変化により生理活性タンパクを脱着させるため、生理機能を損なわずに分離精製が可能となる。タンパクの不可逆的な会合凝集・変性を防ぎ、回収率を向上させ、溶媒や廃液のコスト削減となる。分離条件の最適化と回収率の向上について検討した。現在、抗体医薬の精製においては、Protein A を用いたアフィニティークロマトグラフィーが多用されているが、溶出溶媒は pH 4 付近で行うため、変性・凝集が起きてしまう可能性がある。本研究では、温度応答性高分子 PNIPAAm を修飾した充填剤表面の性質を温度により変化させることで溶出制御を行い、水系溶媒を用いた温和な条件での抗体精製について検討した。試料として Immunoglobulin G (IgG) を用い吸着を増大させるために PNIPAAm にコモノマーとして ATBS (acrylamido-tertiarybutylsulfonic acid) を用いたポリマー修飾充填剤を作製した。IgG は温度による溶出制御により pH6 のリン酸緩衝液のみの温和な条件で分離することができた。PNIPAAm に acrylic acid を導入した Poly(NIPAAm-co-BMA-co-Acrylic acid) を用いたカラムにより、卵の主タンパクである ovalbumin と lysozyme の分離について検討した。担体表面の電荷を温度により制御することにより lysozyme と ovalbumin の分離・精製が可能であった。Micrococcus luteus の溶菌反応により活性測定を行った結果、精製後の lysozyme 活性は 90% 以上維持されていた。以上、本研究では 2 種類のタンパクを温度のみによって活性を維持しながら分

離・精製することが可能であり、IgG も温和な条件で分離可能であり、本法が抗体の精製に有用であることが示唆された。さらに試料として抗体医薬であるセツキシマブ (pI = 8.5) を用い、吸着を増大させるために ATBS を導入した Poly (NIPAAm-co-BMA-co-ATBS) 修飾充填剤を用いた。抗体医薬作製時における培養系由来の主夾雑物を想定したウシ血清アルブミン (BSA) とセツキシマブを、温度変化を利用し pH 6.6 のリン酸バッファーという温和な条件で分離・精製することができた。本研究では、温度応答性高分子 PNIPAAm を固相抽出カラム用充填剤に応用することにより、2 種類のタンパクを温度変化を利用することで生理活性を維持したまま分離・精製可能であった。本システムの特徴は、水系溶媒を用いた温和な条件で、温度変化により精製を可能とした点である。また、分離担体であるシリカゲルの粒径が大きいためコストを抑えることができ汎用性も高い。温度変化を利用し、水系溶媒という温和な条件下で、抗体を始めとするタンパクを生理活性を維持したまま精製できたことから、スケールアップを行うことによりバイオ医薬品の精製に応用可能であると考えられる。研究成果の一部は、学術誌に論文として報告した。

5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計 12 件)

Hiruta Y, Kanazashi R, Ayano E, Okano T, Kanazawa H. Temperature-responsive molecular recognition chromatography using phenylalanine and tryptophan derived polymer modified silica beads. *Analyst*, 査読有, 141, 2016, 910-917, DOI: 10.1039/c5an01996f

Nagase K, Kobayashi J, Kikuchi A, Akiyama Y, Kanazawa H, Okano T. Thermoresponsive Hydrophobic Copolymer Brushes Modified Porous Monolithic Silica for High-Resolution Bioseparation. *RSC Advances*, 査読有, 5, 2015, 66155-66167, DOI: 10.1039/c5ra11038f

Hiruta Y, Nagumo Y, Miki A, Okano T, Kanazawa H. Effects of Terminal Group and Chain Length on Temperature-Responsive Chromatography Utilizing Poly(*N*-isopropylacrylamide) Synthesized via RAFT Polymerization. *RSC Advances*, 査読有, 5, 2015, 73217-73224, DOI: 10.1039/c5ra15906g

Akimaru M, Okubo K, Hiruta Y, Kanazawa H. Temperature-responsive Solid-phase Extraction Column for Biological Sample Pretreatment. *Anal. Sci.*, 査読有, 31(9), 2015, 881-886, DOI: <http://doi.org/10.2116/analsci.31.881>

Hiruta Y, Nagumo Y, Suzuki Y, Funatsu

T, Ishikawa Y, Kanazawa H. The effects of anionic electrolytes and human serum albumin on the LCST of poly(*N*-isopropylacrylamide)-based temperature-responsive copolymers. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 査読有, 132, 2015, 299-304, doi:10.1016/j.colsurfb.2015.05.032

Okada F, Akiyama Y, Kobayashi J, Ninomiya H, Kanazawa H, Yamato M, Okano T. Measurement of the dynamic behavior of thin poly(*N*-isopropylacrylamide) hydrogels and their phase transition temperatures measured using reflectometric interference spectroscopy. *J. Nanopart. Res.*, 査読有, 17, 2015, 148, DOI: 10.1007/s11051-015-2951-3

Nagase K, Kobayashi J, Kikuchi A, Akiyama Y, Kanazawa H, Okano T. Monolithic Silica Rods Grafted with Thermoresponsive Anionic Polymer Brushes for High-Speed Separation of Basic Biomolecules and Peptides. *Biomacromolecules*, 査読有, 15, 2014, 1204-1215, DOI: 10.1021/bm401779r.

坂田和貴, 大久保廣平, 蛭田勇樹, 綾野絵理, 金澤秀子. 分子認識部位を導入した機能性高分子修飾充填剤による温度応答性クロマトグラフィー. *高分子論文集 (Kobunshi Ronbunshu)*, 査読有, 71, 2014, 293-301, DOI: <http://dx.doi.org/10.1295/koron.71.293>

Nagase K, Geven M, Kimura S, Kobayashi J, Kikuchi A, Akiyama Y, Grijpma D.W., Kanazawa H, Okano T. Thermoresponsive Copolymer Brushes Possessing Quaternary Amine Groups for Strong Anion-Exchange Chromatographic Matrices. *Biomacromolecules*, 査読有, 15, 2014, 1031-1043, DOI: 10.1021/bm401918a

Ayano E, Kanazawa H. Temperature-responsive smart packing materials utilizing multi-functional polymers. *Anal. Sci.*, 査読有, 30, 2014, 167-173, DOI: 10.2116/analsci.30.167

Ayano E, Suzuki Y, Nishio T, Nagata Y, Kanazawa H, Nagase K, Okano T. Liquid Chromatography-Mass Spectrometric Analysis of Dehydroepiandrosterone and Related Steroids Utilizing a Temperature-Responsive Stationary Phase. *Chromatography*, 査読有, 35, 2014, 131-138, DOI: 10.15583/jpchrom.2014.021

Nagase K, Kobayashi J, Kikuchi A, Akiyama Y, Kanazawa H, Okano T. Thermally modulated cationic copolymer brush on monolithic silica rods for high-speed separation of acidic biomolecules. *ACS Appl. Mater. Interfaces.*, 査読有, 5(4), 2013,

1442-1452, DOI: 10.1021/am302889j

〔学会発表〕(計 54 件)

安達 亮, 内田 亮, 蛭田勇樹, 金澤秀子. プロリン誘導体ポリマーを用いた温度応答性クロマトグラフィーによるキラル分離の検討, 日本薬学会第 136 年会, 2016.3.26-29, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

蓮池英里香, 秋元 文, 黒田玲子, 蛭田勇樹, 金澤秀子, 吉田 亮. 分離担体への応用を目指した温度応答性ハイドロゲルによる DNA アプタマーの立体構造制御, 日本薬学会第 136 年会, 2016.3.26-29, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

加治屋瑞貴, 内田 亮, 蛭田勇樹, 永田佳子, 金澤秀子. 温度応答性クロマトグラフィーによる河川水中溶存医薬品の検出, 日本薬学会第 136 年会, 2016.3.26-29, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

芳川満輝, 黒木 巽, 内田 亮, 三熊敏靖, 蛭田勇樹, 永田佳子, 金澤秀子. 向精神薬の分析を目指した温度応答性クロマトグラフィー, 日本薬学会第 136 年会, 2016.3.26-29, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

大島麻理子, 伊藤佳子, 金澤秀子. 温度応答性クロマトグラフィーによるポリフェノール配糖体の分析, 日本薬学会第 136 年会, 2016.3.26-29, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

秋丸倫子, 蛭田勇樹, 金澤秀子. 温度応答性高分子および DNA アプタマーを用いた新規アフィニティー担体の開発, 日本薬学会第 136 年会, 2016.3.26-29, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

大阿久絢加, 大久保廣平, 秋丸倫子, 蛭田勇樹, 金澤秀子. タンパク精製のための温度応答性固相抽出カラムの開発, 日本薬学会第 136 年会, 2016.3.26-29, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

芳川満輝, 黒木 巽, 内田 亮, 三熊敏靖, 蛭田勇樹, 金澤秀子. 温度応答性インテリジェント表面と HPLC による向精神薬の一斉分析, 第 25 回インテリジェント材料・システムシンポジウム, 2016.1.8, 東京女子医科大学 先端生命医科学研究所(東京都・新宿区)

Nagumo Y, Hiruta Y, Kanazawa H. Effects of terminal group and chain length on temperature-responsive chromatography utilizing Poly(*N*-isopropylacrylamide) via RAFT polymerization, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (Pacifichem 2015), 2015.12.15-20, Hawaii, USA

Akimaru M, Okubo K, Hiruta Y, Kanazawa H. Development of temperature-responsive solid-phase extraction column for biological sample pretreatment, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (Pacifichem 2015), 2015.12.15-20, Hawaii, USA

Nagase K, Kobayashi J, Kikuchi A, Akiyama Y, Kanazawa H, Okano T. Thermoresponsive strong anionic copolymer brushes grafted silica beads for effective cation exchange chromatography, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (Pacifichem 2015), 2015.12.15-20, Hawaii, USA

大島麻理子, 永田佳子, 金澤秀子. 温度応答性クロマトグラフィーによるポリフェノール配糖体の分離, 第 26 回クロマトグラフィー科学会議, 2015.11.11-13, 九州大学 医系キャンパス(福岡県・福岡市)

安達 亮, 内田 亮, 蛭田勇樹, 金澤秀子. プロリン誘導体高分子を用いた温度応答性クロマトグラフィーによるキラル分離の検討, 第 26 回クロマトグラフィー科学会議, 2015.11.11-13, 九州大学 医系キャンパス(福岡県・福岡市)

大久保廣平, 秋丸倫子, 蛭田勇樹, 金澤秀子. 温度応答性固相抽出カラムのタンパク精製への検討, 第 26 回クロマトグラフィー科学会議, 2015.11.11-13, 九州大学 医系キャンパス(福岡県・福岡市)

蓮池英里香, 秋元 文, 黒田玲子, 蛭田勇樹, 金澤秀子, 吉田 亮. 細胞分離への応用を目指した温度応答性ゲルによる DNA アプタマーの立体構造制御, 第 37 回日本バイオマテリアル学会大会, 2015.11.9-10, 京都テルサ(京都府・京都市)

Hasuike E, Mizutani Akimoto A, Kuroda R, Hiruta Y, Kanazawa H, Yoshida R. DNA Aptamer Crosslinked Thermoresponsive Gel for Novel Affinity Chromatography System, RSC Tokyo International Conference 2015, 2015.9.3-4, Chiba, Japan

Akimaru M, Okubo K, Hiruta Y, Kanazawa H. Development of temperature-responsive solid-phase extraction column for biological sample pretreatment, RSC Tokyo International Conference 2015, 2015.9.3-4, Chiba, Japan

Nagumo Y, Hiruta Y, Kanazawa H. Effects of Terminal Group and Chain Length on Temperature-Responsive Chromatography Utilizing Poly(N-isopropylacrylamide) Via RAFT Polymerization, RSC Tokyo International Conference 2015, 2015.9.3-4, Chiba, Japan

Okubo K, Akimaru M, Hiruta Y, Kanazawa H. Development of a novel solid phase extraction column for purification of the protein utilizing temperature-responsive polymer, RSC Tokyo International Conference 2015, 2015.9.3-4, Chiba, Japan

Uchida R, Mikuma T, Hiruta Y, Kanazawa H. Utility of online pretreatment method utilizing temperature-responsive chromatography, RSC Tokyo International Conference 2015, 2015.9.3-4, Chiba, Japan

② Hiruta Y, Adachi R, Kanazawa H. Development of temperature-responsive chromatography using Hydroxyproline derivative polymer, RSC Tokyo International Conference 2015, 2015.9.3-4, Chiba, Japan

② 蛭田勇樹, 南雲悠平, 金澤秀子. 精密重合された Poly(N-isopropylacrylamide)を用いた温度応答性クロマトグラフィーの開発, 第 28 回バイオメディカル分析科学シンポジウム, 2015.08.20-22, 長崎大学(長崎県・長崎市)

③ 加治屋瑞貴, 蛭田勇樹, 永田佳子, 金澤秀子. 河川水中溶存医薬品の検出を目指した温度応答性高分子導入カラムでの HPLC 分析, 第 28 回バイオメディカル分析科学シンポジウム, 2015.08.20-22, 長崎大学(長崎県・長崎市)

④ 芳川満輝, 内田 亮, 黒木 巽, 三熊敏靖, 蛭田勇樹, 永田佳子, 金澤秀子. 温度応答性高分子導入カラムを用いた HPLC による向精神薬の一斉分析, 第 28 回バイオメディカル分析科学シンポジウム, 2015.08.20-22, 長崎大学(長崎県・長崎市)

⑤ Hiruta Y, Nagumo Y, Kanazawa H. Effects of polymer chain length and terminal functional group on temperature-responsive chromatography utilizing Poly(N-isopropylacrylamide), 42nd International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, 2015.6.21-25, Geneva, Switzerland

⑥ Kanazawa H, Hiruta Y, Ayano E. Effect of a Polymer Containing a Molecular-recognition Site on the Separation Selectivity in Temperature-responsive Chromatography, 42nd International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, 2015.6.21-25, Geneva, Switzerland

⑦ Okubo K, Akimaru M, Hiruta Y, Kanazawa H. Development of a novel solid phase extraction column for purification of proteins by only changing temperature, 42nd International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, 2015.6.21-25, Geneva, Switzerland

⑧ Uchida R, Mikuma T, Hiruta Y, Kanazawa H. Development of on-line pre-treatment method utilizing temperature-responsive chromatography, 42nd International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques, 2015.6.21-25, Geneva, Switzerland

⑨ 金澤秀子. 機能性高分子の特性を活かした新しい分離技術の開発, 第 22 回クロマトグラフィーシンポジウム, 2015.5.28-30, 近畿大学(大阪府・東大阪市)

⑩ 秋丸倫子, 大久保廣平, 蛭田勇樹, 金澤秀

子. 生体試料の前処理への応用を目指した温度応答性固相抽出カラムの開発, 第 22 回クロマトグラフィーシンポジウム, 2015.5.28-30, 近畿大学(大阪府・東大阪市)

③① 南雲悠平, 蛭田勇樹, 金澤秀子. RAFT 重合による Poly(*N*-isopropylacrylamide)を用いた温度応答性クロマトグラフィーにおける高分子鎖長および末端置換基効果, 第 22 回クロマトグラフィーシンポジウム, 2015.5.28-30, 近畿大学(大阪府・東大阪市)

③② 安達 亮, 蛭田勇樹, 金澤秀子. ヒドロキシプロリン誘導体高分子を用いた温度応答性クロマトグラフィーの開発, 第 75 回分析化学討論会, 2015.05.23-24, 山梨大学(山梨県・甲府市)

③③ 内田 亮, 三熊敏靖, 蛭田勇樹, 金澤秀子. 温度応答性クロマトグラフィーを用いたオンライン前処理法の構築, 日本薬学会第 135 年会, 2015.03.26-28, 神戸学院大学(兵庫県・神戸市)

③④ 秋丸倫子, 大久保廣平, 蛭田勇樹, 金澤秀子. 生体試料の前処理への応用を目指した温度応答性固相抽出カラムの開発, 第 24 回ライフサポート学会フロンティア講演会, 2015.3.5-6, 東京電機科大学(東京都・足立区)

③⑤ 秋丸倫子, 大久保廣平, 蛭田勇樹, 金澤秀子. 生体試料の前処理への応用を目指した温度応答性固相抽出カラムの開発, 第 25 回クロマトグラフィー科学会議, 2014.12.10-12, 京都大学桂キャンパス(京都府・京都市)

③⑥ 大久保廣平, 秋丸倫子, 蛭田勇樹, 金澤秀子. 温度スイッチング法を用いた新規固相抽出カラムの開発, 第 25 回クロマトグラフィー科学会議, 2014.12.10-12, 京都大学桂キャンパス(京都府・京都市)

③⑦ Kanazawa H, Ayano E, Okano T. Temperature-Responsive Chromatography for the Separation of Biomolecules, JSPS A3 Foresight International Symposium on Nano-Biomaterials and Regenerative Medicine, 2014.10.08-09, Tokyo, Japan

③⑧ Akimaru M, Okubo K, Hiruta Y, Kanazawa H. Application of Temperature-responsive Solid-phase Extraction Column to Therapeutic Drug Monitoring, JSPS A3 Foresight International Symposium on Nano-Biomaterials and Regenerative Medicine, 2014.10.08-09, Tokyo, Japan

③⑨ Mikuma T, Ueno D, Hiruta Y, Nagata Y, Okano T, Kanazawa H. Analysis of Psychoactive Drugs using Temperature-Responsive Chromatography, JSPS A3 Foresight International Symposium on Nano-Biomaterials and Regenerative Medicine, 2014.10.08-09, Tokyo, Japan

④⑩ 金澤秀子. 機能性高分子の設計とバイオ分析への応用, 日本分析化学会第 63 年会, 2014.09.17-19, 広島大学(広島県・東広島市)

④⑪ Okubo K, Akimaru M, Hiruta Y, Kanazawa H. Development of solid phase extraction utilizing temperature-responsive polymer, RSC Tokyo International Conference, 2014.09.04-05, Chiba, Japan

④⑫ 上野大治郎, 三熊敏靖, 蛭田勇樹, 永田佳子, 岡野光夫, 金澤秀子. 温度応答性クロマトグラフィーを用いた中枢神経系用薬の分析, 第 27 回バイオメディカル分析科学シンポジウム, 2014.08.20-21, 帝京大学(東京都・板橋区)

④⑬ 大久保廣平, 秋丸倫子, 金澤秀子. 温度応答性高分子を用いた固相抽出カラムのタンパク精製への応用, 第 21 回クロマトグラフィーシンポジウム, 2014.06.04-06, 名古屋市工業研究所(愛知県・名古屋市)

④⑭ 内田 亮, 上野大治郎, 永田佳子, 金澤秀子. カラムスイッチング超高速液体クロマトグラフィーを用いたアミノ酸キラル分析の検討, 第 21 回クロマトグラフィーシンポジウム, 2014.06.04-06, 名古屋市工業研究所(愛知県・名古屋市)

④⑮ Hiruta Y, Sakata K, Okubo K, Yamamoto C, Okano T, Kanazawa H. Novel Solid-Phase Extraction Cartridge Utilizing Temperature-Responsive Polymer Modified Stationary Phase, 40th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques (HPLC2013-Hobart), 2013.11.18.-21, Tasmania, Australia

④⑯ Sakata K, Hiruta Y, Matsuura M, Ayano E, Kanazawa H, Okano T. Temperature-Responsive Chromatography Utilizing Functional Polymer Introduced Aromatic Amino Acid Derivative, 40th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques (HPLC2013-Hobart), 2013.11.18.-21, Tasmania, Australia

④⑰ Kanazawa H. Temperature-Responsive Chromatography for the Separation of Biomolecules, ASIANALYSIS XII, 2013.08.22.-24, Fukuoka, Japan

他 7 件

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

金澤 秀子 (KANAZAWA HIDEKO)
慶應義塾大学・薬学部・教授
研究者番号：10240996

(2) 研究分担者

綾野 絵理 (AYANO ERI)
慶應義塾大学・薬学部・研究員
研究者番号：10424102