

令和 2 年 7 月 8 日現在

機関番号：14303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K05900

研究課題名(和文) 複数の極性分離機構を同時に発現する高性能・高選択性HPLCカラムの開発

研究課題名(英文) Development of highly efficient and highly selective HPLC columns that provide multiple polar separation mechanisms simultaneously

研究代表者

池上 亨 (Ikegami, Tohru)

京都工芸繊維大学・分子化学系・准教授

研究者番号：20301252

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：当初設定したように、シリカの表面修飾に用いる重合反応の最適化と分離性能の関係の精査を行なった。表面開始原子移動ラジカル重合によってポリ(アクリルアミド)型シリカを調製し、高親水性の親水性相互作用クロマトグラフィー(HILIC)カラムを作製した。ポリマーの重合度及び表面被覆率と分離特性の関係を精査し、シリカ粒子の孔径20 nmの時に、高い親水性と大きな保持を同時に実現できることを示した。報告者が開発したカラムを用いて、糖タンパクに見られる単糖およびオリゴ糖の構造異性体の精密分離を行った(国際共同研究を含む)。さらに糖のアノマー分離も行ない、アノマー化の平衡定数の測定を可能にした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で合成した表面開始原子移動ラジカル重合型のポリアクリルアミドカラムは市販されているどのアミド型カラムとも違う特徴を示した。すなわち、シリカ表面に濃縮される水の層が厚く、弱い酸性の表面を提供できる。親水性の保持が大きく、かつ構造の差異に対する選択性が高い固定相であり、実用性が高いと判断される。また、糖タンパクに含まれる糖鎖の研究は、現在注目を集めている抗体医薬の製造や同一性の確認に不可欠であり、社会的意義が大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：The relationship between the optimization of the polymerization reaction used for the surface modification of silica and the separation performance was studied. Poly (acrylamide) type silica was prepared by surface-initiated atom transfer radical polymerization (SI-ATRP) to obtain hydrophilic interaction chromatography (HILIC) columns providing highly retentive and good selectivity for polar biomolecules. The relationship between the degree of polymerization or surface coverage of the polymer and the separation characteristics was explored to achieve high hydrophilicity and great retention simultaneously with silica particles of 20 nm pores.

Using the column developed by us, fine separation of structural isomers of monosaccharides and oligosaccharides found in glycoproteins was carried out (with international joint work). Furthermore, anomeric separation of sugar was also performed, and the equilibrium constant of the process was measured.

研究分野：クロマトグラフィー

キーワード：液体クロマトグラフィー 親水性相互作用クロマトグラフィー 分離媒体 分離特性 重合修飾

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生命情報を司る高分子として、核酸、タンパク質、糖鎖が三大要素とされている。ポストゲノム時代において、これらの分子を扱う膨大な化学の領域に更なる情報の蓄積をもたらすため、メタボローム、プロテオーム等、オーム解析と呼ばれるこれらの総合的・包括的・網羅的な解析について、世界中で研究開発競争が展開されている。糖鎖や核酸の化学的特徴として、その莫大な構造的多様性が挙げられる。この構造多様性が、様々な生体内の分子認識、細胞認識の場で重要な役割を果たすことが次第に明らかになっている。これら生命情報の解析においては、複雑な生体成分の分離と検出、定量、同定などが研究推進のキーステップになっている。

生体由来の高親水性分子の精密分離技術を提供することは、今後の生命科学の発展に大きく寄与することが予測されるが、これら的高親水性化合物の莫大な構造異性体を分離するには、極めて高い構造選択性と分離性能を実現する必要がある、逆相液体クロマトグラフィーだけでは総合的・網羅的な解析は困難である。近年注目されている親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC)、あるいはイオン交換型クロマトグラフィーは核酸、アミノ酸などのイオン性の高い高親水性分子に適するが、糖鎖を始めとする非イオン性高親水性分子の分離には力量不足であると言わざるを得ない。

研究が開始された2017年においては、2ミクロン以下の微小シリカ粒子を充填したHILIC型カラムの入手は容易になっているものの、その官能基の選択枝の幅が極めて狭く、未修飾シリカかアミド型しかなかった。3ミクロン以上のシリカ粒子を充填したカラムではずっと選択枝の幅は広いが、非イオン性高親水性分子の保持が小さいものが多く、単糖類複雑な混合物の分析は困難であった。

2. 研究の目的

本研究は、高性能/高選択的な親水性相互作用型 (HILIC)、イオン交換型、およびキラル分離型 HPLC 用カラム (モノリス型、粒子型) を調製し、既存の粒子充填型カラムの性能限界を超えた高親水性化合物の分離媒体を開発することが目的である。

- (1) シリカの表面修飾に用いる重合反応条件とカラム性能の関係の精査、最適化
- (2) 導入する高分子鎖の鎖長、鎖の密度と分離性能の相関の検討
- (3) 親水性相互作用型、イオン交換型、キラル分離型カラムで理論段数10万段を発生
- (4) 高速条件下で利用価値の高い低分子型の分子識別部位の開発

(2-1) メタクリレートモノマーの選択によって極めて多種類の官能基や多様な化学構造がシリカ表面に導入可能なので、これまでに知られていない分離特性を示す新規固定相を開発し、分離特性が異なる分離媒体を提供する。酸性を示す固定相は例が少ないため、その分離特性の解明を行なう。また、糖鎖に親和性の高いボロン酸を含む固定相を調製する。

(2-2) 重合修飾の反応条件と高分子鎖の化学的特性に対する分離性能の相関を検討し、最適な修飾条件を決定する。これまでの結果、重合修飾では高分子鎖が分子量5万を超えると、保持および選択性が明確に向上することが明らかになった。これらをブラシ型ポリマーに展開することで、高分子鎖間の距離を狭めたものを調製し、分離性能の相関を検討する。

(2-3) シリカモノリスによる理論段高6ミクロン、理論段数10万段を上回るカラムおよび2ミクロン以下のシリカ粒子充填型カラムによる理論段高4ミクロン以下のカラムについて、上記の親水性分離モードを付与する。

(2-4) 理論上、高速分離条件下では低分子型の分子識別部位が有利であるが、これまで保持、選択性が高い固定相は見つかっていない。低分子型でありながら、ポリマーコート型修飾と同等の保持を示す分離媒体を開発する。試験的な検討でテトラゾール誘導体の有効性を確認している。

3. 研究の方法

本研究の目的は高性能/高選択的な親水性相互作用型 (HILIC)、イオン交換型、およびキラル分離型 HPLC 用カラムの開発にある。分離性能の探求は流体力学に基づく設計により理論段数を高めれば達成でき、すでにいくつかの方法が確立されている。本申請では、構造選択性の向上を主たる目的におく。目的の分離モードに応じた分子間相互作用を及ぼす識別部位を設計し、合成し、場合によっては高分子化することで性能の向上を図る。中でも、親水性相互作用型でしか保持が期待できない糖鎖を保持、分離する固定相を中心に開発する。識別部位の分子鎖長 (小分子、高分子)、結合密度などと分離性能の相関を研究し、最適化をおこなう。

(3-1) シリカの表面修飾に用いる重合反応の最適化と分離性能の関係の精査、最適化

1. 現在までに、アクリルアミド (HILIC)、アクリル酸 (HILIC-弱カチオン交換型)、三級アミノ基含有メタクリレート (弱アニオン交換型) 四級アンモニウム基含有メタクリレート (強アニオン交換型)、スルホン酸含有メタクリレート (強カチオン交換型) をモノマーに使用してポリマーコート型のモノリスカラムを調製、評価し、報告している。また N-テトラゾリルメタクリルアミドのポリマーコートで、市販品の2~3倍の親水性保持を実現している。より高い糖鎖の保持を目指して、イオン交換相互作用に依存しない高親水性の固定相を開発する。

2. HILIC では、移動相中の水が固定相近傍に濃縮されて形成された水和層と、移動相の間の

分配平衡が主な分離の機構とされている。直径2ミクロン付近の微小シリカ粒子とシリカモノリス両方について、モノマーの構造と対応するポリマーの溶解性を基に、カラムあたりの親水性ポリマー結合量を極限まで高め、親水性の層の厚みを確保し、高親水性物質の保持が極大となる修飾条件を探索する。シリカ上の一反応点あたりの親水性基の数を劇的に増やすには、重合度を上げることが直接的な解決方法であると考えられる。

(3-2) 導入する高分子鎖の鎖長、鎖の密度と分離性能の相関の検討

ポリアクリルアミドやポリアクリル酸修飾型 HILIC 型分離においては、分子量5万を境目に保持、選択性ともに劇的に向上することが明らかになった。用いた重合法では、溶液中で発生した高分子がシリカ表面に結合するため、分子間距離が開いたマッシュルーム型構造を取っているものと推測される。シリカ表面から重合反応を開始することで、ポリマーブラシ構造を持つ分離媒体を開発する。分子量および高分子鎖長の均一性および高分子鎖の密度と分離性能の関係の解明は学術的に興味深く、現実的な実用性の面からも意義深い。特に HILIC やキラル分離には官能基同士の相互作用の強弱が重要なので、この差が大きく現れると予測している。

(3-3) 親水性相互作用型、イオン交換型、キラル分離型カラムで理論段数10万段を発生

一般的に、HILIC 型やイオン交換型等、逆相型より強い分子間相互作用（クーロン相互作用、水素結合型相互作用）を用いる系では、理論段高は逆相型より高くなり、線速度の上昇に伴い顕著な分離性能の低下が起こることが予想される。現在理論段高6ミクロンの HILIC 型カラムや理論段高8ミクロンのアニオン交換、カチオン交換型カラムを調製可能であるので、基材となるシリカモノリスの性能向上と、計画(1)の修飾方法の改良によって、理論段高5-10ミクロンの極性化合物分離用のカラムを調製する。

(3-4) 高速条件下で利用価値の高い低分子型の分子識別部位の開発

近年の HPLC 用カラムの研究開発は、2ミクロン以下の微小粒子や、コアシェル粒子などの利用による高速化への傾倒が顕著である。逆相 HPLC とは異なり、本申請の HILIC やイオン交換、キラル分離などは、高速化への取り組みが遅れている分野である。高速化は分離時の高压条件を伴うが、圧力が高いと意図しない保持の変化が起こることを発表してきた。これは圧力下で固定相が受ける変形に基づく効果と考えられている。すると、ポリマー型修飾よりは低分子型の化学修飾の方が望ましいと考えられる。一方、HILIC カラムとして十分な保持と高い選択性を発現する低分子型化学修飾剤はまだない。予備的な検討では、テトラゾールを含むシリル化剤を修飾すると、一般的なポリマーコート型カラムと同等の親水性を獲得できることを確認している。この知見をもとに、低分子型の分子識別部位の開発をおこなう。

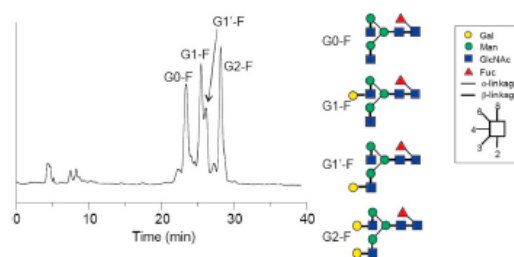
4. 研究成果

2017~2019年の研究期間内に上記の方法(3-1)及び(3-2)に関しては、詳細な検討をおこない、HILIC 型分離媒体の保持と構造選択性を大幅に改善できた。以下にその概要を述べる。

(4-1) テトラゾールメタクリレート重合型カラムを用いた糖類の分離分析について

申請者らが開発したテトラゾールメタクリルアミド重合型カラムは、2018年の9月、DCPak-PTZとして市販が開始された。それに先立って、雛型のカラムを用いた糖類の分離分析をおこない、十分な保持と選択性が実現できることを示した。

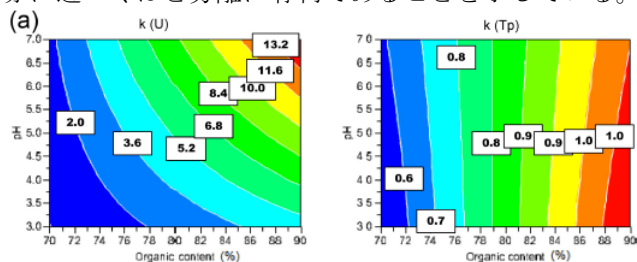
オリゴ糖の8-アミノピレン-1,3,6-トリスルホネート (APTS) による標識は、キャピラリー電気泳動による分析に好適な方法であるが、クロマトグラフィーによる分離分析を困難にすることが知られている。糖タンパクに含まれるオリゴ糖を APTS 標識し、テトラゾールメタクリレート重合型カラムで分析したところ、モノガラクトシル化グリカンの異性体ペア、およびガラクトース残基の数の違いがある IgG 由来の複合型グリカンを分離できることが示された。これは他の HILIC 型カラムでは困難であることが知られており、糖タンパク質の同定に効果的な方法を提供できる可能性がある。右図はヒトの免疫グロブリンに含まれる8~10個の糖よりなるオリゴ糖の分析例である。HILIC の特徴として、オリゴ糖を構成している糖の数が多いほど保持が大きくなる傾向があるが、これについてもそのことが言える。



(以上、doi.org/10.1016/j.chroma.2018.06.050による。)

実験計画法を用いて、テトラゾールメタクリルアミド重合型カラムを用いたウリジン、2'-デオキシウリジン、テオフィリン、テオプロミンの4つの化合物の分離条件を最適化し、その条件下でグルコースとグルコース誘導体（スクロース、グルコサミン、グルクロン酸、グルコース-1-リン酸、グルコース-6-リン酸、グルコン酸、 δ -ラクトントレハロース、グルコース、マルトース、グルコサミン-6-リン酸）を分析できることを示した。次頁左に示す図は、ウリジンと

テオフィリンの保持が移動相中の有機溶媒の組成と pH によって変化する様子を表したもので、赤に近づくほど分離に有利であることを示している。

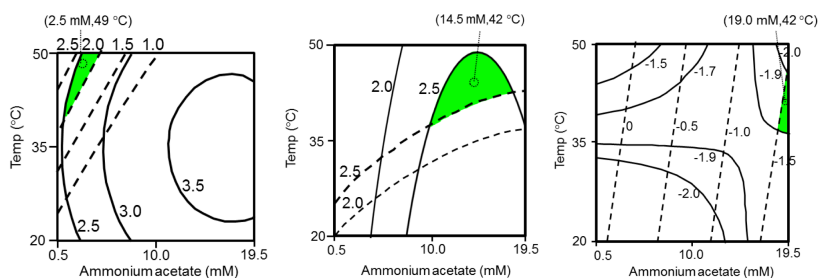
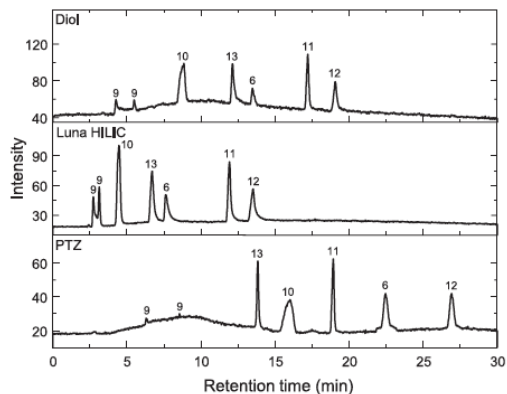


ス 11: グルコース-6-リン酸 12: グルコサミン-6-リン酸 13: グルクロン酸 である。タンパク質の糖化に関与している糖類もテトラゾール型カラムで効率よく分析できた。

(以上、doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460500 による。)

同様の実験計画法を用いた検討により、ヌクレオチド類の分析の最適化も報告した。ヌクレオチド類は従来アニオン交換型カラムによる分析が一般的であったが、HILIC による分析に挑戦した。カラム及び装置を構成するステンレスにヌクレオチド類が吸着するため、HILIC カラムによっては、ピーク形状が乱れてこの分析ができないものもあった。最適な分離条件もカラムによって異なり、左図で示す緑色で示す領域で良好な分離が可能であった。この3種のカラムの中では、中央の ZIC cHILIC が緑色の領域が広く、より堅牢な分析条件を構築、運用しやすいことが示された。この

グルコース誘導体の分析例は次に示すように、テトラゾール型カラム (下段) を用いると、保持及び分離の程度がジオール型カラム (最も上)、ポリオール型カラム (中段) に比べて良い。なお、ここで分離されている化合物は、6: ナトリウムイオン 9: グルコノデルタラクトン 10: グルコー

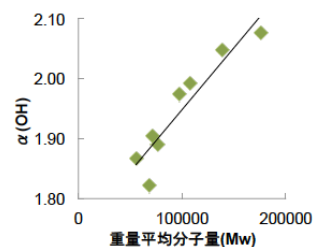


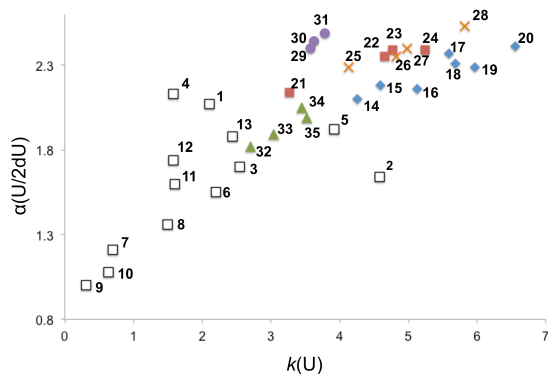
条件を用いて、食品に含まれるヌクレオチドの分析を行った。干し椎茸、鯉節、ホワイトアスパラガスの抽出液中のヌクレオチドが完全に分離された。(以上、10.1016/j.jpba.2018.05.014 による。) 現在、より難しいニリン酸と

三リン酸の混合物の分析方法を最適化中で、ここでは ZIC cHILIC カラムよりテトラゾール型カラムが有力であることがわかっている。

テトラゾール型カラムの高い親水性と構造選択性を利用して、糖のアノマーを完全分離できる。グルコース、マンノース、ガラクトース、フルクトース、リボース、リブローース、キシロース、キシロロース、アラビノース、マルトース、セロビオース、ラクトース、スクロース、トレハロースについて、アノマー間の相互変換平衡を計測できることを示した。アノマー化のエネルギー障壁は、298 K で約 83~91 kJ mol⁻¹ の範囲にあり、順方向 ($\alpha \rightarrow \beta$) と逆方向反応 ($\beta \rightarrow \alpha$) (右図に示すような糖の異性化反応である) の差は、通常 1~3 kJ mol⁻¹ の間であった。この方法は、HILIC-ESI-MS/MS を用いたグリコメタボロミクス的一般かつ普遍的な手段を提供できるものと考えられる。(以上、10.1016/j.chroma.2020.460981 による。)

(4-2) HILIC 型カラムの充填剤に導入する高分子鎖の鎖長、鎖の密度と分離性能の相関の検討をおこない、以下の結果を得た。代表的な HILIC 型固定相であるアミド官能基の例として、シリカゲルをアクリルアミドを重合修飾することにした。古典的なフリーラジカル重合による方法では、シリカ上に結合するポリマーの分子量が、 $M_w = 10^5$ を上回る領域で初めて十分な保持を示す分離媒体が得られ、それ以下では実用性の低い媒体となることが示された(右図、未発表。投稿準備中。) 元素分析の結果より、フリーラジカル重合では、500 個のシラノールに対して一本のポリマー鎖が結合する計算であり、決して修飾効率が良い。一方、原子移動型ラジカル重合 (ATRP) を用いるとその様相は一変した。およそ 25 個のシラノールに対して一本のポリマー鎖が成長する計算であり、フリーラジカル重合の 10~20 倍の高密度でポリマー鎖を結合できる。その結果、分子量ははるかに小さいポリマー鎖が結合しているにもかかわらず、カラムに成形した際の保持、構造選択性が非常に高い固定相の作成に成功した。左に示す図は、横軸が親水性保持、縦軸が構造選択性を表している。フリーラジカル重合で得た固定相は、32~34 の緑色の三角印で示されている(なお、白抜きの四角印は市販の HILIC カラムに対応している。) これに対し、ATRP で修飾した



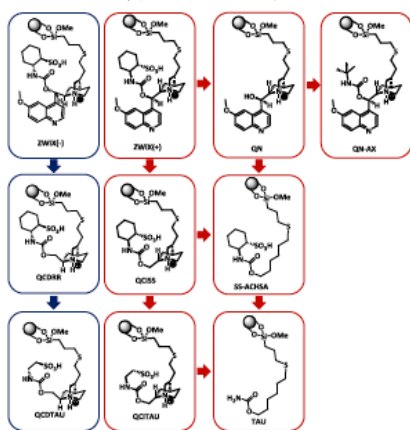


(以上、10. 1016/j. chroma. 2019. 460837 より。)この修飾方法を用いたカラムの製造に関して、企業との協議を開始した。当該企業はシリカモノリスカラムも製造販売しており、順調に技術移転が進めば実用化が期待される。

(4-3) 親水性相互作用型、イオン交換型、キラル分離型カラムで理論段数10万段を発生する検討は、やや当初の計画より遅れている。テトラゾールメタクリルアミドを重合修飾する方法で、すでに理論段数10万段を発生する1mサイズのカラムを作成している。これはフリーラジカル法で重合修飾したが、原子移動ラジカル重合の有用性が示されたため、実験計画の練り直しも視野に入れるべきである。

(4-4) 高速条件下で利用価値の高い低分子型の分子識別部位の開発は、3ミクロン、2ミクロンの粒子にテトラゾール基を有するシリル化剤を化学結合して実施した。5ミクロンの粒子を修飾した際は、 $k(U) = 3.7$, $\alpha(U/2dU) = 2.4$ が得られた。これはシリル化剤型としては顕著に大きい保持、選択性である。しかし、シリカの粒子径を小さくすると、これほどの保持、選択性が見られなくなった。この現象は基材に用いたシリカの化学的特性の差異に基づくものと考えている。

(4-5) ミックスモードの固定相の分離特性を定量的に評価する方法を提案した。数多いHPLC固定相の中には、逆相(RP)、親水性相互作用型(HILIC)、カチオン交換型(CEX)、アニオン交換型(AEX)の2つ、あるいは3つ以上の官能基を併せ持つものがあり、ミックスモードと呼ばれている。これらのカラムは、カラムの分離特性を横断的に評価する方法が提案されていなかった。このため、初めてこれらのカラムを手にするユーザーにとっては、自身の要求に見合ったものを選ぶ際に大きな障壁があった。



既存のキラル分離カラム(カチオン交換、アニオン交換、逆相のミックスモード)から、意図的にシリル化剤の構造的要素を段階的に減らし、どの部分が保持と選択性に寄与しているか検討した。種々のミックスモードの固定相(アニオン交換-逆相や、カチオン交換-逆相、カチオン交換-HILICなど)から、それらの分離特性を特徴付ける試料を選び出し、疎水性、親水性、カチオン交換性、アニオン交換性のそれぞれを独立に評価するシステムを構築した。

この検討を始める際の出発カラムである、ZWIXカラムは、親水性があり、カチオン交換性も強いが、構造的要素を減らすにつれ、親水性、カチオン交換性ともに弱くなり、疎水性が向上する様子が見て取れた。この一連の変化が定量的に記述できることがこの方法の

利点であり、それぞれの構造的要素が分離特性に及ぼす影響を評価した。(以上、10. 1016/j. chroma. 2020. 461075 による。)

この研究は、2017年から2018年にかけて、10ヶ月間ドイツのテュービンゲン大学に出張した際の共同研究テーマの一つである。

この出張中に、HILICの背負う説を執筆する依頼を受けたので、ペプチド医薬、抗体医薬のHILICによる分析に関して網羅的にまとめた(10. 1002/jssc. 201801074)。幸い、この総説は当該研究分野から注目を集めており、2019年の被引用回数でトップ10%、2018-2019の期間におけるダウンロード数が1位である。現在、抗体医薬の売上げ額は医薬品全体の30%以上であり、今後その比率が高まってゆくことが予想される。抗体医薬は本質的に糖タンパクであり、糖化の程度を評価する際に、HILICは非常に有用な分析手法であることがわかった。今後はこの方面への応用を目指して、より構造選択性の高い固定相を研究開発してゆきたい。その目的を遂行するにあたり、今回得られた知見は非常に有益であると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Fu Xiaqing, Cebo Malgorzata, Ikegami Tohru, Laemmerhofer Michael	4. 巻 1609
2. 論文標題 Retention characteristics of poly(N-(1H-tetrazole-5-yl)-methacrylamide)-bonded stationary phase in hydrophilic interaction chromatography	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Chromatography A	6. 最初と最後の頁 460500 ~ 460500
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chroma.2019.460500	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Taniguchi Ashin, Tamura Saki, Ikegami Tohru	4. 巻 1618
2. 論文標題 The relationship between polymer structures on silica particles and the separation characteristics of the corresponding columns for hydrophilic interaction chromatography	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Chromatography A	6. 最初と最後の頁 460837 ~ 460837
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chroma.2019.460837	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fu Xiaqing, Cebo Malgorzata, Ikegami Tohru, Laemmerhofer Michael	4. 巻 1620
2. 論文標題 Separation of carbohydrate isomers and anomers on poly-N-(1H-tetrazole-5-yl)-methacrylamide-bonded stationary phase by hydrophilic interaction chromatography as well as determination of anomer interconversion energy barriers	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Chromatography A	6. 最初と最後の頁 460981 ~ 460981
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chroma.2020.460981	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Ferri Martina, Baeurer Stefanie, Carotti Andrea, Wolter Marc, Alshaar Belal, Theiner Johannes, Ikegami Tohru, West Caroline, Laemmerhofer Michael	4. 巻 1621
2. 論文標題 Fragment-based Design of Zwitterionic, Strong Cation- and Weak Anion-Exchange Type Mixed-mode Liquid Chromatography Ligands and their Chromatographic Exploration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Chromatography A	6. 最初と最後の頁 461075 ~ 461075
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chroma.2020.461075	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Arase Shuntaro, Kimura Susumu, Ikegami Tohru	4. 巻 158
2. 論文標題 Method optimization of hydrophilic interaction chromatography separation of nucleotides using design of experiment approaches I: Comparison of several zwitterionic columns	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	6. 最初と最後の頁 307 ~ 316
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpba.2018.05.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto Sachio, Kinoshita Mitsuhiro, Ikegami Toru, Suzuki Shigeo	4. 巻 1566
2. 論文標題 High-performance liquid chromatographic separation of 8-aminopyrene-1,3,6-trisulfonic acid labeled N-glycans using a functional tetrazole hydrophilic interaction liquid chromatography column	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Chromatography A	6. 最初と最後の頁 44 ~ 50
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chroma.2018.06.050	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ikegami Tohru	4. 巻 42
2. 論文標題 Hydrophilic interaction chromatography for the analysis of biopharmaceutical drugs and therapeutic peptides: A review based on the separation characteristics of the hydrophilic interaction chromatography phases	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Separation Science	6. 最初と最後の頁 130 ~ 213
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jssc.201801074	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nishihara, Yuko; Matsui, Kazuma; Kuwabara, Keiko; Murata, Naoya; Yamaguchi, Tomoko; Miyake, Yusuke; Ikegami, Tohru; Kanaori, Kenji; Tajima, Kunihiko	4. 巻 90
2. 論文標題 Molecular structure of poly(vinyl alcohol)-derived carbon-centered radicals studied by rapid-flow and spin-trapping ESR measurements: a short-lived intermediate radical in the initial stage of the graft polymerization reaction	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 244 ~ 253
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20160332	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Matsui, Kazuma; Nishihara, Yuko; Yamaguchi, Tomoko; Sakurai, Yasuhiro; Miyake, Yusuke; Ikegami, Tohru; Kanaori, Kenji; Tajima, Kunihiko	4. 巻 90
2. 論文標題 Rapid-flow and Spin-trapping ESR study on carbonyl conjugated radicals of modified poly(vinyl alcohol) bearing 1,2 propanediol pendant moiety as intermediates of graft copolymerization	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan	6. 最初と最後の頁 1293 1308
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20170235	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 谷口亜紳, 池上 亨
2. 発表標題 親水性相互作用クロマトグラフィー用HPLC カラムにおけるシリカ粒子上のポリマー形態と分離特性の関係についての研究
3. 学会等名 第 26 回クロマトグラフィーシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ashin Taniguchi, Kazuki Ito, Saki Tamura, Tohru Ikegami
2. 発表標題 STUDY ON RELATIONSHIP BETWEEN POLYMER STRUCTURES ON SILICA PARTICLES AND THE SEPARATION CHARACTERISTICS OF THE CORRESPONDING HPLC COLUMNS FOR HYDROPHILIC INTERACTION CHROMATOGRAPHY
3. 学会等名 48TH International Symposium on High-Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques (HPLC2019 Milan) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tohru Ikegami, Ashin Taniguchi
2. 発表標題 MUSHROOM- OR BRUSH-TYPE POLYACRYLAMIDE ON SILICA: RELATIONSHIP BETWEEN POLYMER SHAPES AND SEPARATION CHARACTERISTICS OF HILIC STATIONARY PHASES
3. 学会等名 48TH International Symposium on High-Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques (HPLC2019 Milan) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Xiaoqing Fu, Malgorzata Cebo, Tohru Ikegami, Michael Laemmerhofer
2. 発表標題 Characterization of DCpak PTZ HILIC phase and its application to the separation of monosaccharides
3. 学会等名 49th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques (HPLC2019 Kyoto) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 谷口亜紳, 池上 亨
2. 発表標題 親水性相互作用クロマトグラフィー用HPLC カラムにおけるシリカ粒子上のポリマー形態と分離特性の関係についての研究
3. 学会等名 第 26 回クロマトグラフィーシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Martina Ferri, Tohru Ikegami, Stefanie Baeurer, Michael Laemmerhofer
2. 発表標題 PREPARATION OF QUININE- AND QUINIDINE BASED ZWITTERIONIC CHIRAL STATIONARY PHASES FOR HPLC USING A THIOL-CLICK REACTION, AND THEIR CHROMATOGRAPHIC CHARACTERIZATION
3. 学会等名 ISCC-42nd International Symposium on Capillary Chromatography 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ashin Taniguchi, Tohru Ikegami
2. 発表標題 Development and Characterization of a Novel HILIC Stationary Phase Modified with Poly(glycidyl methacrylate) Using Surface Initiated-Atom Transfer Radical Polymerization
3. 学会等名 ISC 2018 32nd International Symposium on Chromatography (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Significantly High Hydrophilicity of a New HILIC Column Modified with Brush-Type Polyacrylamide: Relationship Between the Polymer Structure and the Chromatographic Characteristics
2. 発表標題 Tohru Ikegami
3. 学会等名 ISC 2018 32nd International Symposium on Chromatography (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Martina Ferri ¹ 池上 亨 Stefanie Baeurer Michael Laemmerhofer
2. 発表標題 双性イオン型キラル分離媒体の部分構造と分離特性の相 関に関する研究
3. 学会等名 第29回 クロマトグラフィー科学会議
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tohru Ikegami, Kazuki Itoh, Saki Tamura, Tomoyuki Okada
2. 発表標題 Mushroom- or brush-type polymers on silica? Development and characterization of HILIC stationary phases modified with polyacrylamide.
3. 学会等名 HPLC 2017 PRAGUE (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Ashin Taniguchi, Tohru Ikegami
2. 発表標題 Development and characterization of HILIC stationary phases modified with polymers possessing chiral group based on cysteine derivatives.
3. 学会等名 HPLC 2017 PRAGUE (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 池上 亨
2. 発表標題 HPLCカラムの分離特性解析
3. 学会等名 第28回クロマトグラフィー科学会議（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 新瀬俊太郎、木村 進、池上 亨
2. 発表標題 実験計画法による双性イオン型カラムを用いたヌクレオチド分離メソッドの最適化
3. 学会等名 第28回クロマトグラフィー科学会議
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考