

令和 4 年 5 月 21 日現在

機関番号：23803

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03360

研究課題名(和文)抗体特異的な核酸アプタマーの創出とバイオ・プロセス・クリニカルアナリシスへの活用

研究課題名(英文)Creation of antibody specific nucleic acid aptamers and their application to bio-process- and clinical analyses

研究代表者

轟木 堅一郎 (Todoroki, Kenichiro)

静岡県立大学・薬学部・教授

研究者番号：70341451

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、創薬現場、医薬品製造現場、臨床現場での活用を目的とした抗体医薬の相補性決定領域を特異的に認識する高親和性『抗イデオタイプDNAアプタマー』を計7個獲得し、これらを利用した(1)新薬・バイオシミラー開発や臨床現場で利用できる血中薬物濃度分析法、(2)医薬品製造工程で利用できるProcess Analytical Technology (PAT) 技術、(3)治療現場で利用できる簡易診断・コンパニオン診断技術を開発した。従来の抗体医薬分析の課題であった精度管理、煩雑さ、頑健性課題を克服し、国内外の創薬、医薬品製造、臨床の現場に新たな価値を提供することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題の遂行により、従来の抗体医薬分析の課題であった精度管理、煩雑さ、頑健性課題を克服し、国内外の創薬、医薬品製造、臨床の現場に新たな価値を提供することができた。DNAアプタマーは、(1)配列次第では抗体以上の親和性が期待できる、(2)自動合成機による化学合成が容易、(3)高い化学安定性を有する、(4)均質な状態で供給可能、などの利点がある。今回開発した抗体医薬やADCに対するアプタマーおよび種々の分析法は、新規性が高いだけでなく、新薬やバイオシミラー開発期間の効率化、効率的な抗体医薬生産、迅速な薬物治療効果判定や薬物投与計画策定への貢献が期待できる。

研究成果の概要(英文)：In this research, we have developed seven types of high-affinity "anti-idiotypic DNA aptamers" that specifically recognize the complementarity-determining regions of therapeutic mAbs, and have successfully used them to realize (1) bioanalytical methods for drug monitoring in drug development and clinical settings, (2) process analysis technology (PAT) for use in the drug manufacturing process, and (3) simple diagnostic methods for point-of-care testing. This enables to overcome the problems of "lack of accuracy," "complicated operation," and "low robustness" of bioanalysis of therapeutic mAbs, and to provide new value to drug discovery, drug manufacturing, and clinical practice in Japan and overseas.

研究分野：分析化学

キーワード：抗体医薬 DNAアプタマー バイオアナリシス プロセスアナリシス

1. 研究開始当初の背景

近年、癌や自己免疫疾患治療などに対する抗体医薬の使用や開発が進み、臨床現場における有効治療域濃度の評価や投与計画の設定、適正使用を目的とした血中薬物濃度分析の必要性が高まっている。また、インフリキシマブの特許切れを契機としたバイオシミラー開発競争が熾烈になっており、先発品との生物学的同等性評価のための迅速、簡便、高精度な血中薬物濃度分析法が要求される。さらに低分子薬とは異なり、培養細胞株から産生される抗体医薬は産生細胞株のロットの違いや、僅かな培養条件の変化により生成量や構造が大きく変化しうることから、その製造には極めて繊細な注意が払われ、製造工程の管理・評価における簡易なりアルタイム計測法が要求される。我々は、抗体医薬 bevacizumab の相補性決定領域 (CDR) と特異的に結合する抗イディオタイプアプタマーを世界で初めて獲得した (特開 2018-027024 , *Anal. Chem.* **91**, 3125–3130 (2019))。また、本アプタマーを磁気ビーズに固定化したアプタマーアフィニティー精製により、IgG が多量に含まれる血漿試料から bevacizumab のみを選択的に精製でき定量可能であることが示され、HPLC フォーマットの実用的なバイオアナリシス法を構築することができた (*Molecules* **24**, 857 (2019))。

2. 研究の目的

本研究では、これまでの研究成果を拡張・発展させ、創薬現場、医薬品製造現場、臨床現場等での活用を目的として、市販の代表的な抗体医薬の CDR を特異的に認識する『抗イディオタイプ DNA アプタマー』を獲得し、これらを利用した (1) 新薬・バイオシミラー開発や臨床現場で利用できる血中薬物濃度分析法、(2) 医薬品製造工程で利用できる Process Analytical Technology (PAT) 技術、(3) 治療現場で利用できる簡易診断・コンパニオン診断技術を開発する。

3. 研究の方法

1 抗体医薬および ADC に対する抗イディオタイプ DNA アプタマー獲得

抗体医薬 7 種 (trastuzumab , infliximab , nivolumab , tocilizumab , rituximab , ramucirumab) および ADC 1 種 (trastuzumab emtansine) に対する抗イディオタイプ DNA アプタマーを SELEX 法および新規探索法により探索した。新規探索法では、タンパク質精製用 LC (FPLC) と超大量 DNA を用いたアプタマー候補 DNA の簡便かつ迅速な探索が可能となる。本法は大量の DNA を必要とするものの従来の SELEX 法のように実施者の技量に依存しない汎用性の高い方法である。次世代シーケンス解析 (NGS) により得られた数万種類の配列からの候補配列を絞り込むためのアルゴリズム (Smart Aptamer など) の利用、候補配列の抗イディオタイプ性の評価や、配列改善の指針を得るための *in silico* 解析フォーマット (HDOCK など) の整備を行った。

1-1 抗体医薬 Nivolumab に対する高親和性 DNA アプタマーの効率的な探索と獲得したアプタマーの結合能評価

先に我々は bevacizumab に対する抗イディオタイプ DNA アプタマーを獲得し、これを用いた bevacizumab の血中薬物濃度測定法を報告してきた。本アプタマーの獲得には、SELEX 法と呼ばれるランダムオリゴ配列による結合スクリーニング法を採用したが、アプタマーの獲得には長期間を要し、かつその成否は実施者の技量に大きく依存していた。本研究では、抗体医薬 nivolumab を標的医薬とし、FPLC による結合スクリーニングと大量 DNA の利用、NGS、さらには最適配列探索アルゴリズム SMART-Aptamer を組み合わせることで、実施者の技量に依存せず、かつ効率的にアプタマー候補配列を獲得することを目的とした。獲得した候補配列については Enzyme-Linked Aptamer Assay (ELAA) 法による結合親和性評価を行い、最も親和性と特異性に優れた配列は抗 nivolumab アプタマーとして多検体血中薬物濃度分析へと適用した。

1-2 3 種抗体医薬に対する高親和性 DNA アプタマーの効率的な探索とその評価

抗体医薬 Bevacizumab に対する抗イディオタイプ DNA アプタマーを獲得し、血中薬物濃度分析へと展開してきた。本アプタマーは SELEX 法により獲得したが、結合スクリーニングには長期間を要し、かつその成否は実施者の技量に大きく依存していた。本研究では FPLC による結合スクリーニングと大量 DNA の利用、NGS、さらには最適配列探索アルゴリズムを組み合わせることで、実施者の技量によらず、かつ効率的に抗体医薬に対するアプタマーを獲得した。

2 抗イディオタイプ DNA アプタマーによるバイオアナリシス法の開発

2-1 吸着抑制処理を備えた遠心ろ過装置を用いた抗体医薬の高感度 LC 分析の開発

我々は先にアフィニティー精製した抗体医薬を遠心ろ過デバイスにより濃縮し、LC 分析を行う高感度な血中薬物濃度分析法を報告した (*Chromatography* **39**, 21 (2018))。しかしながら、ろ過デバイスのハウジング部分への抗体医薬の非特異吸着が認められ、低濃度域での定量性に

課題を有していた。そこで本研究では、生体親和性 MPC モノマーによる吸着抑制処理を施した遠心ろ過デバイスを新たに作製し、このデバイスを用いた抗体医薬 trastuzumab の定量性と感度に優れた LC 分析法を開発し、アフィニティー精製との併用や LC/TOF-MS 分析への利用を目指した。

2-2 アプタマーアフィニティー精製と trypsin 消化 - LC-MS/MS による抗体医薬 bevacizumab の簡便かつ高選択的な血中薬物濃度定量法の開発

Trypsin 消化 - LC-MS/MS 法による抗体医薬のバイオアナリシスでは、多量の夾雑物や IgG を含む血液試料の中から目的薬物の消化断片を選択的に LC-MS 測定するが、精度や回収率の維持、感度向上において酵素消化前のアフィニティー精製が有効となる。我々が開発した抗 bevacizumab アプタマーは、抗抗体と比べ安価かつ均質で物理的安定性に優れており、これを利用するアフィニティー精製法は汎用性と再現性に優れる。アプタマーアフィニティー精製と trypsin 固定化モノリススピンカラムによる消化処理を組み合わせた前報告³⁾に対して、本研究では限外濾過濃縮を追加することで、従来法に比べて選択性と感度を向上させつつ、簡便性と前処理時間の短縮化を実現した bevacizumab のバイオアナリシス法を構築した。

2-3 抗イディオタイプ DNA アプタマー固定化セファロースを用いる抗体医薬のアフィニティー精製法の開発

先行研究で開発したアプタマーアフィニティー精製-高温逆相 LC による血中薬物濃度分析法は磁気ビーズを担体とすることで良好な精度かつ高い回収率での精製を可能とするが、磁気ビーズは高価であり多量の試料溶液の導入や多検体分析の実施には課題があった。本研究では、安価かつタンパク質精製において多くの実績があるセファロースを担体として用いるアプタマーアフィニティー精製法の開発を行った。

3 DNA アプタマーを利用した抗体医薬の製造現場における簡易 FRET 定量法の開発

バイオ医薬品の製造工程において継続的な検査および監視を行う PAT は、製造プロセスの設計、解析、管理に有用な分析法としてその重要性が高まっている。本研究では抗体医薬原薬製造時の簡易定量および品質評価のための PAT である蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を利用したアプタマーセンシング法を開発した。本法では、抗体医薬 bevacizumab の相補性決定領域を特異的に認識する抗イディオタイプ DNA アプタマーを利用し、bevacizumab 分子に 2 種の異なる蛍光標識 (FITC, TAMRA) アプタマーが両方結合したときに両蛍光団の近接により生じる FRET から bevacizumab を簡易定量した。

4 抗イディオタイプ DNA アプタマーを捕捉分子とする抗体医薬濃度定量用イムノクロマトグラフィー法の開発

抗体医薬の利用が進むにつれ血中濃度が有効治療域濃度に達しているかを簡易に判定し治療方針の決定をサポートできる測定法の需要が高まっている。現在、イムノクロマトグラフィー法による infliximab の簡易血中濃度判定キット (レミチェック Q) が市販されているが、抗体医薬の捕捉に抗抗体を使用するため保存や均質性 精度管理に注意を払う必要がある。本研究では、bevacizumab に対する抗イディオタイプ DNA アプタマーを捕捉分子とするイムノクロマトグラフィー法を開発した。DNA アプタマーは化学合成可能なため均質かつ化学的・物理的にも安定であり、安価でもあることからキットの保存性向上やロット間差の解消、低コスト化が期待できる。

4. 研究成果

1 抗体医薬および ADC に対する抗イディオタイプ DNA アプタマー獲得

獲得した配列はいずれも解離定数が 10-200 nM 程度と一部は改良の余地があるものの、標的医薬に対して高い親和性を有していた。また、これら配列は、*in silico* ドッキングシミュレーションの結果から、いずれも可変部に結合することが示唆されその高い特異性が示唆された。

また、これまで属人化されていた DNA アプタマー探索プロトコルの一般化を目指し、タンパク質精製用クロマトグラフによる結合スクリーニングと大量 DNA の利用、NGS 解析、さらには SMART-Aptamer を組み合わせることで、実施者の技量に依存せず、かつ効率的なアプタマー探索法を開発した。従来、アプタマーの探索方法である SELEX 法によるスクリーニングの成否は実施者の技量に大きく依存していたことからこの課題克服を図った。改良法では、SELEX 法で 2 ヶ月以上かかる操作を 2 日まで短縮でき、NGS 解析により nivolumab の場合、約 80,000 個の配列を得た。また、SMART-Aptamer による解析を行うことで解析時間は約 1 日となり、迅速かつ正確に高親和性アプタマーの同定を可能にした。今後、更なる対象抗体医薬の拡大や、自己抗体、疾患関連タンパクに対する特異性の高い DNA アプタマーの獲得に繋がる知見や技術的ノウハウを得ることができた。

1-1 抗体医薬 Nivolumab に対する高親和性 DNA アプタマーの効率的な探索と獲得したアプタマーの結合能評価

NGS 解析で得られた約 80,000 個の配列に対して SMART-Aptamer による解析を行い、スコア上位かつ G4 構造をとらない 30 配列を選択した。これらの配列に対し ELAA 法による結合能評価実験を行った結果、5 つの配列が nivolumab と高い結合親和性を示した。最も親和性に優れた抗 nivolumab アプタマーの K_d 値は 99 nM と算出され、血漿試料中においても nivolumab と特異的に結合し、血中薬物濃度分析に十分適用可能であることが示された。

1-2 3 種抗体医薬に対する高親和性 DNA アプタマーの効率的な探索とその評価

NGS により得られた約 62,000 個の配列のうち SMART-Aptamer 解析でスコア上位かつ G4 構造をとらない 45 配列を選択した。これらを ELAA 法により結合評価した結果、 $K_d = 20 \sim 50$ nM 程度の高親和性アプタマー獲得した。これらアプタマーは血清試料中においても標的医薬と選択的に結合したことから血中薬物濃度分析への適用性が示唆された。

2-1 吸着抑制処理を備えた遠心ろ過装置を用いる抗体医薬の高感度 LC 分析の開発

MPC モノマーによるコーティングを施した遠心ろ過デバイスの利用により、特に低濃度域での吸着抑制効果が認められ、trastuzumab 溶液を 0.2 - 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で良好な直線性 ($r^2 = 1.000$) で定量できた。このとき平均濃縮倍率は 25 倍程度となり、高感度化が達成できた。他の抗体医薬 (bevacizumab, rituximab, nivolumab) についても同様に $r^2 = 0.996$ 以上と良好な直線性が認められ、平均濃縮倍率も約 25 倍となった。本法はアフィニティー精製法と組み合わせた血中薬物濃度測定法としての利用が期待できる。また、LC-TOF-MS や LC-UV 検出器を用いたインタクト抗体医薬分析における感度不足改善のための前処理法としても期待できる。

【成果論文 *Chromatography* 41, 123 (2020)】

2-2 アプタマーアフィニティー精製と trypsin 消化 - LC-MS/MS による抗体医薬 bevacizumab の簡便かつ高選択的な血中薬物濃度定量法の開発

アプタマーアフィニティー精製により血漿中から bevacizumab を選択的に捕集できた。続く限外濾過処理により、溶出液成分の高濃度塩や尿素が除去でき、消化反応の効率化に繋がった。血漿中 bevacizumab 定量範囲は 5 - 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ であり、実検体を測定する上で十分な値を示した。本法は臨床現場における治療効果判定や創薬現場における薬物動態・毒性解析、バイオシミラーの同等性評価などへの利用が期待できる。

2-3 抗イディオタイプ DNA アプタマー固定化セファロースを用いる抗体医薬のアフィニティー精製法の開発

構築したアフィニティー精製法により、多量の夾雑物を含む血清試料から bevacizumab を単一なピークとして分析できた。各種溶出剤 (酸, 有機溶媒, NaCl, チオシアン酸アンモニウム, 尿素) を検討した結果、10 M 尿素と 3M NaCl を含む溶液において最大の回収率が得られた。5 - 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲における bevacizumab の平均回収率は約 73% であり、良好な精度 (RSD 5.6%) と直線性 ($R^2 = 0.9997$) を与えた。構築した精製法は多量の試料導入が可能であるため、抗体医薬に対する我々の定量性に優れた濃縮法と組み合わせることで 20 倍程度の高感度化が期待できる。

3 DNA アプタマーを利用した抗体医薬の製造現場における簡易 FRET 定量法の開発

Bevacizumab を含む試料溶液と蛍光標識 DNA アプタマー溶液との混合反応液に 498 nm の励起光を照射すると、525 nm の FITC 由来蛍光が bevacizumab 濃度依存的に減少し、FRET 現象に基づく 580 nm の TAMRA 由来蛍光が増大した。4-logistic model により作成した検量線から bevacizumab の定量下限は 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、定量上限は 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、真度は $\pm 11.6\%$ 以下、相関係数は $R^2 = 0.998$ であり、製造現場での PAT に十分な性能を有していた。培地試料中に他の抗体医薬 (nivolumab) が 20% 量共存した場合においても 80 - 800 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で真度 $\pm 11.0\%$ 以下で正確に bevacizumab を定量可能であった。開発した分析法は、蛍光標識アプタマー溶液と培地試料の混合のみで簡便かつ正確に培地中 bevacizumab の定量を可能とするものであり、抗体医薬原薬製造現場における PAT としての利用が期待できる。

4 抗イディオタイプ DNA アプタマーを捕捉分子とする抗体医薬濃度定量用イムノクロマトグラフィー法の開発

抗 bevacizumab アプタマーの biotin 標識体を streptavidin が修飾された粒子径 30 nm の金ナノ粒子と反応させ、glass fiber 製の conjugation pad 上にスポットした。cellulose fiber 製の sample pad よりスポットした 200 μL の bevacizumab 含有溶液は conjugation pad 上で反応した後、ニトロセルロース膜上で 100 mM PBS buffer (pH 7.4) により展開された。Test spot には 40 μg の protein A を、control spot には 25 μg の bevacizumab をそれぞれ塗布し、両スポットに生じた赤色を目視で観察した。さらに専用ブース内で iPhone SE を用い撮影した画像を

Image J で解析し定量性を評価した。画像解析の結果、作製したキットは bevacizumab 濃度 0 ~ 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で $R^2=0.945$ の定量性を示した。抗体医薬添加血清試料の直接導入では定量性が不十分だったためサンプルの希釈法を検討した。その結果、抗体医薬添加血清試料においても $R^2=0.980$ の定量性を示した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Saito Taro, Shimizu Yutaka, Tsukakoshi Kaori, Abe Koichi, Lee Jinhee, Ueno Kinuko, Asano Ryutaro, Jones Brian V., Yamada Tomohiro, Nakano Tatsuki, Tong Jiaying, Hishiki Asami, Hara Kodai, Hashimoto Hiroshi, Sode Koji, Toyo 'oka Toshimasa, Todoroki Kenichiro, Ikebukuro Kazunori	4. 巻 203
2. 論文標題 Development of a DNA aptamer that binds to the complementarity-determining region of therapeutic monoclonal antibody and affinity improvement induced by pH-change for sensitive detection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biosensors and Bioelectronics	6. 最初と最後の頁 114027 ~ 114027
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bios.2022.114027	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 轟木堅一郎	4. 巻 36
2. 論文標題 ADCのバイオアナリシスの現状	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 570-576
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 轟木堅一郎	4. 巻 36
2. 論文標題 IgGを認識するアプタマー	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 1436-1440
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 TODOROKI Kenichiro, NAKANO Tatsuki, HAYASHI Hideki, MIZUNO Hajime, Zhe MIN Jun, TOYO 'OKA Toshimasa	4. 巻 41
2. 論文標題 Fluorescence Bioanalysis of Bevacizumab Using Pre-Column and Post-Column Derivatization ? Liquid Chromatography After Immunoaffinity Magnetic Purification	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 CHROMATOGRAPHY	6. 最初と最後の頁 115 ~ 122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15583/jpchrom.2020.014	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 SHIBATA Yosuke, YAMADA Tomohiro, SUGIYAMA Eiji, MIZUNO Hajime, TODOROKI Kenichiro	4. 巻 41
2. 論文標題 Sensitive Method for LC Analysis of Therapeutic Monoclonal Antibodies Using a Centrifugal Filtration Device with Adsorption Suppression Treatment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 CHROMATOGRAPHY	6. 最初と最後の頁 123 ~ 128
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15583/jpchrom.2020.016	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Todoroki Kenichiro, Mizuno Hajime, Sugiyama Eiji, Toyo 'oka Toshimasa	4. 巻 179
2. 論文標題 Bioanalytical methods for therapeutic monoclonal antibodies and antibody-drug conjugates: A review of recent advances and future perspectives	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	6. 最初と最後の頁 112991 ~ 112991
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpba.2019.112991	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 SOTOMATSU Sae, YAMADA Tomohiro, MIZUNO Hajime, HAYASHI Hideki, TOYO 'OKA Toshimasa, TODOROKI Kenichiro	4. 巻 40
2. 論文標題 High-Temperature Reversed-Phase LC Separation of Heavy and Light Chain Fragments of Therapeutic Monoclonal Antibodies and Antibody-Drug Conjugate Produced by Chemical Reduction	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 CHROMATOGRAPHY	6. 最初と最後の頁 99 ~ 104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.15583/jpchrom.2019.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計39件 (うち招待講演 8件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 磯部亮太
2. 発表標題 抗イディオタイプDNAアプタマーを捕捉分子とする簡易薬物濃度定量用イムノクロマトグラフィー法の開発
3. 学会等名 第28回クロマトグラフィーシンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kenichiro TODOROKI
2. 発表標題 Bioanalytical methods for therapeutic monoclonal antibodies
3. 学会等名 INDO-JAPAN SAKURA SCIENCE CAFE (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Taisei HOJO
2. 発表標題 Efficient screening of high-affinity DNA aptamers for nivolumab and binding evaluation of the acquired aptamers
3. 学会等名 The 31st International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Analysis (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kenichiro TODOROKI
2. 発表標題 Bioanalysis of therapeutic monoclonal antibodies using DNA aptamers as new affinity ligands
3. 学会等名 The 31st International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Analysis (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 磯部亮太
2. 発表標題 抗イディオタイプ DNA アプタマーを捕捉分子とする抗体医薬濃度定量用イムノクロマトグラフィー法の開発
3. 学会等名 第18回次世代を担う若手のためのフィジカル・ファーマフォーラム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北條泰成
2. 発表標題 抗体医薬Nivolumabに対する高親和性DNAアプタマーの効率的な探索と獲得したアプタマーの結合能評価
3. 学会等名 第33回バイオメディカル分析化学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 轟木堅一郎
2. 発表標題 DNAアプタマーを利用する抗体医薬のバイオアナリシス
3. 学会等名 第52回 中部化学関係学協会支部連合秋季大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小林直央
2. 発表標題 抗体医薬に対する高親和性DNAアプタマーの効率的な探索法の構築
3. 学会等名 第52回 中部化学関係学協会支部連合秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 轟木堅一郎
2. 発表標題 抗体医薬の新規バイオアナリシス法の開発
3. 学会等名 第61回 日本臨床化学会年次学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小林直央
2. 発表標題 3種抗体医薬に対する高親和性DNAアプタマーの効率的な探索とその評価
3. 学会等名 新アミノ酸分析研究会第11回学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 轟木堅一郎
2. 発表標題 診断と創薬を目指したDNAアプタマー開発
3. 学会等名 第3回 静岡県3大学連携シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 濱田大地
2. 発表標題 抗イディオタイプDNAアプタマー固定化セファロースを用いる抗体医薬のアフィニティー精製法の開発
3. 学会等名 第32回クロマトグラフィー科学会議
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 磯部亮太
2. 発表標題 抗体医薬に対する結合能を高めた抗イディオタイプDNAアプタマーの探索
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小林直央
2. 発表標題 3種抗体医薬に対する高親和性DNAアプタマーの効率的な探索とその評価
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 轟木堅一郎
2. 発表標題 DNAアプタマーを用いる抗体医薬のバイオアナリシス研究
3. 学会等名 Takeda Academic Web Salon 2020 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 轟木堅一郎
2. 発表標題 抗イディオタイプDNAアプタマーを用いる rituximab のバイオアナリシス法の開発
3. 学会等名 第27回 クロマトグラフィーシンポジウム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 轟木堅一郎
2. 発表標題 汎用性と成功率に優れたDNAアプタマー探索法の開発
3. 学会等名 USフォーラム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 轟木堅一郎
2. 発表標題 自己血糖測定器を利用する抗体医薬bevacizumabの血中薬物濃度簡易測定法開発に関する検討
3. 学会等名 USフォーラム
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柴田洋佑
2. 発表標題 吸着抑制処理を備えた遠心ろ過装置を用いる抗体医薬の高感度LC分析の開発
3. 学会等名 第31回クロマトグラフィー科学会議
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 外松沙依
2. 発表標題 アプタマーアフィニティー精製とtrypsin消化 - LC-MS/MSによる抗体医薬bevacizumabの簡便かつ高選択的な血中薬物濃度定量法の開発 (2)
3. 学会等名 第31回クロマトグラフィー科学会議
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 北條泰成
2. 発表標題 DNAアプタマーを用いる抗体医薬ペルツズマブの新規血中濃度分析法の開発
3. 学会等名 第31回クロマトグラフィー科学会議
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柴田洋佑
2. 発表標題 吸着抑制処理を施した遠心ろ過デバイスを用いる抗体医薬trastuzumabの定量性と感度に優れたLC分析法の開発
3. 学会等名 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 青木萌恵
2. 発表標題 抗体医薬を特異的に認識する機能性DNAアプタマーの探索とその結合能評価
3. 学会等名 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 青木萌恵
2. 発表標題 抗体医薬に対する高親和性DNAアプタマーの効率的かつ汎用性の高い探索法とその結合能評価
3. 学会等名 新アミノ酸分析研究会第10回学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 濱田大地、山田朋宏、水野 初、杉山栄二、豊岡利正、轟木堅一郎
2. 発表標題 抗イディオタイプ DNA アプタマーを用いる抗体医薬リツキシマブの新規血中濃度分析法の開発
3. 学会等名 第65回日本薬学会東海支部大会（愛知）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邊圭一郎、山田朋宏、水野 初、杉山栄二、豊岡利正、轟木堅一郎
2. 発表標題 抗イディオタイプ DNA アプタマーを用いる抗体医薬トラスツズマブの新規血中濃度分析法の開発
3. 学会等名 第65回日本薬学会東海支部大会（愛知）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 轟木堅一郎
2. 発表標題 特殊構造のDNAを自在に操り診断薬や医薬品を創る
3. 学会等名 第2回静岡テックブラングランプリ（静岡）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清水 裕、齊藤太郎、塚越かおり、山田朋宏、轟木堅一郎、池袋 一典
2. 発表標題 DNAアプタマーを用いたbevacizumabの検出法の開発
3. 学会等名 2019年電気化学秋季大会（山梨）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yutaka Shimizu, Kaori Tsukakoshi, Tomohiro Yamada, Jiaxing Tong, Asami Hishiki, Kodai Hara, Hiroshi Hashimoto, Toshimasa Toyo'oka, Kenichiro Todoroki, Kazunori Ikebukuro
2. 発表標題 Improvement in binding property of the anti-idiotypic aptamer against bevacizumab based on structural information
3. 学会等名 The 46th International Symposium on Nucleic Acids Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 轟木堅一郎
2. 発表標題 DNAアプタマーを利用したパイオアナリシス研究
3. 学会等名 静岡大学グリーン科学技術研究所シンポジウム（静岡）（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Sae Sotomatsu, Tomohiro Yamada, Taro Saito, Yutaka Shimizu, Eiji Sugiyama, Hajime Mizuno, Kaori Tsukakoshi, Hideki Hayashi, Toshimasa Toyo 'oka, Kazunori Ikebukuro, Kenichiro Todoroki
2. 発表標題 Aptamer affinity purification - trypsin digestion LC-MS/MS: A simple and selective bioanalysis of bevacizumab
3. 学会等名 The 49th International Symposium on High Performance Liquid Phase Separations and Related Techniques (Kyoto) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 トンジャシイン、後藤厚子、杉山栄二、水野 初、豊岡利正、轟木 堅一郎
2. 発表標題 汎用性と成功率に優れたアプタマー探索法の開発
3. 学会等名 第30回クロマトグラフィー科学会議（京都）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 外松沙依、山田朋宏、齋藤太郎、清水 裕、杉山栄二、水野 初、塚越かおり、林 秀樹、豊岡利正、池袋一典、轟木堅一郎
2. 発表標題 アプタマーアフィニティー精製とtrypsin消化 - LC-MS/MSを組み合わせた抗体医薬の簡便かつ高選択的な血中薬物濃度定量法の開発
3. 学会等名 第30回クロマトグラフィー科学会議（京都）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邊圭一郎、濱田大地、山田朋宏、太田茂徳、水野 初、杉山栄二、豊岡利正、轟木堅一郎
2. 発表標題 抗イディオタイプDNAアプタマー固定化シリカモノリスピンカラムを用いた抗体医薬Trastuzumabのアプタマーアフィニティー精製法の開発
3. 学会等名 第30回クロマトグラフィー科学会議（京都）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenichiro Todoroki
2. 発表標題 Development of anti-idiotypic DNA aptamer for therapeutic monoclonal antibodies and its application to bioanalysis
3. 学会等名 2019 NTHU-Shizuoka University Bilateral Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 トン ジャシイン、後藤 厚子、杉山 栄二、水野 初、豊岡 利正、轟木 堅一郎
2. 発表標題 汎用性と成功率に優れたアプタマー探索法の開発
3. 学会等名 新アミノ酸分析研究会第9回学術講演会（蒲田）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 濱田大地、渡邊圭一郎、山田明宏、太田茂徳、水野初、杉山栄二、豊岡利正、轟木堅一郎
2. 発表標題 抗イディオタイプ DNA アプタマーを用いる抗体医薬 Rituximab の新規血中濃度分析法の開発
3. 学会等名 新アミノ酸分析研究会第9回学術講演会（蒲田）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 ヒル義丞、山田朋宏、清水裕、斎藤太郎、塚越かおり、杉山栄二、水野初、豊岡利正、池袋一典、轟木堅一郎
2. 発表標題 自己血糖測定器を利用する抗体医薬 bevacizumab の血中薬物濃度簡易測定法開発に関する検討
3. 学会等名 新アミノ酸分析研究会第9回学術講演会（蒲田）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡辺 拳優、山田 朋宏、トン ジャシイン、水野 初、杉山 栄二、豊岡 利正、轟木堅一郎
2. 発表標題 DNA アプタマーとペーパークロマトグラフィーを組み合わせた抗体医薬ベバシズマブの POCT 法の開発
3. 学会等名 新アミノ酸分析研究会第9回学術講演会（蒲田）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

https://w3pharm.u-shizuoka-ken.ac.jp/~analchem/research2.html

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
研究分担者	林 秀樹 (Hayashi Hideki) (00419665)	岐阜薬科大学・薬学部・教授 (23701)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	橋本 博 (Hashimoto Hiroshi) (40336590)	静岡県立大学・薬学部・教授 (23803)	
研究分担者	池袋 一典 (Ikebukuro Kazunori) (70251494)	東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・卓越教授 (12605)	
研究分担者	鈴木 昭夫 (Suzuki Akio) (80775148)	岐阜大学・医学部附属病院・准教授 (13701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関