

令和 2 年 6 月 17 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04112

研究課題名(和文) 特異的化学発光計測に基づくキノン及びキノン修飾体の精密解析法の開発と応用

研究課題名(英文) Development and application of selective analytical method for quinones and their derivatives based on the detection of quinone specific chemiluminescence

研究代表者

黒田 直敬 (KURODA, Naotaka)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(薬学系)・教授

研究者番号：50234612

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、キノン類の高感度かつ選択的な化学発光反応に基づくキノンとその修飾体の解析法を確立し、それらの種類や存在を解明するとともに、生体影響の評価を行った。生体成分が酸化されて生じるキノンや生体成分とキノンとの反応で生じるキノン修飾体を合成して、化学発光法に基づく活性酸素発生能を評価した。その結果、キノンに加えてキノン修飾体が強い活性酸素発生能を有するという結果となった。さらに、実際にキノンの一種であるメナジオンを投与したラットの血液からは、メナジオンと生体チオールが反応して生じる修飾体の存在が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究での検討によって、キノンと生体成分との反応により生成するキノン修飾体や生体成分の酸化により生じるキノンは、元の化合物より活性酸素発生能が上昇していることが示され、酸化ストレス量を増加させる恐れがあることが示唆された。さらに、キノン類を生体に投与した場合、確実にその修飾体が生成することが確認された。本研究で得られた成果は、キノン修飾体をバイオマーカーとする酸化ストレス関連疾患の早期診断法につながると思われる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we evaluated the possible health effects and existence of quinone or quinone adducts by using highly sensitive and selective chemiluminescence reactions of quinones. Quinones resulting from the oxidation of biological constituents and quinone adducts resulting from the reaction of biological constituents with quinones were synthesized. The reactive oxygen species generating capability of these quinone and quinone adducts was evaluated based on the chemiluminescence method. The results showed that quinones or quinone adducts have strong reactive oxygen species generating capacity. In addition, in the blood obtained from rats after administration of menadione (one kind of quinone), quinone adducts resulting from the reaction of biothiols with menadione were detected.

研究分野：分析化学

キーワード：キノン キノン修飾体 活性酸素 化学発光 生体チオール

1. 研究開始当初の背景

生体や環境中には多種多様なキノン類が存在していることが知られている。例えば、生体内に存在するキノンとして、ユビキノン、ビタミン K やピロロキノリンキノン (PQQ) 等があり、それぞれ電子伝達や血液凝固、骨形成、アミノ酸代謝等に密接に関わっている。また、エストロゲンやドパミンが生体内で酸化されてエストロゲンキノンやドパミンキノンへと変化することが知られており、それぞれ乳がんやパーキンソン病等への関与が疑われている。一方で、ドキソルビシンのように抗腫瘍薬として処方されるキノンも存在している。また、大気中の浮遊粒子状物質に付着している 9,10-フェナンスレンキノンや 1,4-ナフトキノン等が喘息や発がんへと関与することが疑われている。このほか、ベンズピレン等の多環芳香族炭化水素も生体内で酵素酸化を受け、カテコール体を経由してキノンへと変化すると報告されている。

これらのキノン類は生体内で親電子物質として働き、チオール基やアミノ基のような求核置換基と容易に共有結合を形成する。具体的には、グルタチオン (GSH) 等の低分子化合物を筆頭に、チオール基やアミノ基を有するタンパク質や核酸塩基等が修飾を受ける。一方、キノン類は生体内で NADH デヒドロゲナーゼや NADPH シトクローム P450 リダクターゼによって 1 電子還元されてセミキノンラジカルとなり、これが酸素を還元してスーパーオキシドアニオン ( $O_2^-$ ) が生成する。 $O_2^-$  は DNA の修飾や脂質の過酸化を引き起こす。更には、キノンによる修飾を受けた化合物においても、キノン骨格がそのまま維持される場合がほとんどであり、これらも  $O_2^-$  を産生する。したがって、キノン類の生体影響を調べる際には、キノンのみの分析では不十分であり、その修飾体を同時に調べることが極めて重要になってくる。上述のように、我々の身の回りには多種多様なキノン類が存在しているにもかかわらず、キノン修飾体の生体内での種類や濃度、毒性や病態との関わりに関する報告は見当たらない。そこで、生体試料中に存在するキノンの種類や濃度を明らかにし、また、それらの修飾体も併せて精密に分離・定量することは臨床化学的、毒性学的な観点から極めて重要である。

2. 研究の目的

申請者らはこれまでに、キノンの酸化還元サイクル反応を利用するキノンの化学発光分析法を開発している。この方法は、キノンにジチオスレイトール (DTT) のような化学的還元剤を添加することでキノンをセミキノンラジカルへと還元させ、これが元のキノンへと戻る過程において発生する  $O_2^-$  をルミノールにより化学発光検出するという原理に基づいている (Fig. 1)。本法では、キノンの濃度に応じて直線的に化学発光強度が増大することから、キノンの化学発光定量が可能である。さらに、活性酸素発生能が強いとされるキノンほど、より強い発光を与えることから、本法はキノンの潜在的な有害性評価にも有用であると考えられる。また、本法の原理は HPLC 化学発光定量システムへの組み込みが容易であり、実際に生体試料中に存在するキノンの定量へと応用されている。

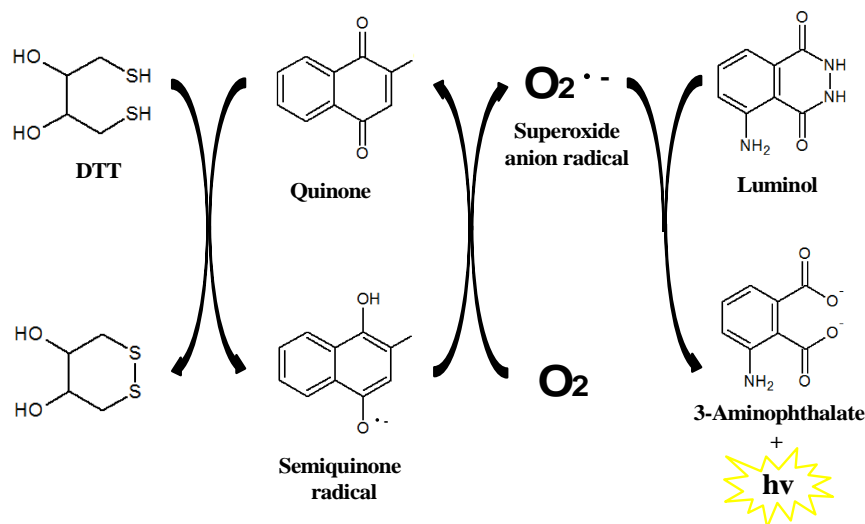


Fig. 1 キノンの酸化還元サイクル反応を利用する化学発光反応

本研究では、このキノンの酸化還元サイクルを利用する化学発光法を用いて、キノン類およびキノン修飾体の活性酸素発生能の評価やこれらの生体内での存在量を解析することを目的とする。最初に用手法により、生体あるいは環境中に存在するキノン類、ならびに生体内で生成するキノン修飾体の活性酸素発生能の評価を行う。次に、本化学発光反応を組み込んだ HPLC システムを構築して、キノンを投与したラットの血中にどのようなキノン修飾体が生成するかの調査をおこなった。さらにこのとき、クロマトグラム上に検出される未知化合物に由来すると考えられるピークの画分を LC-MS/MS により解析することで、これまでにその存在が知られていないキノン修飾体の種類を明らかにすることを試みた。

### 3. 研究の方法

#### (1) キノン修飾体の合成とその化学発光測定による活性酸素発生能評価

ビタミン K の一種であるメナジオン (MD) を選択し、これを *N*-アセチルシステイン (NAC) や GSH といった生体チオールと反応させることにより、生体内で生成するキノン修飾体のモデル化合物である MD-NAC および MD-GSH を合成した。また、生体成分の酸化により生成するキノンとして、エストロゲンキノンおよびドパミンキノンをそれぞれエストロゲンおよびドパミンを原料として、これらを 2-ヨードキシ安息香酸やチロシナーゼを用いて酸化することで合成した。このようにして得られたキノンおよびキノン修飾体を小試験管内に入れ、ルミノールの水酸化ナトリウム水溶液と混合してから、ルミノメーターにセットする。還元剤 DTT のアセトニトリル溶液を自動注入後、生じる発光を 600 秒間測定した。得られた積算発光量を活性酸素発生能として評価した。

#### (2) HPLC 化学発光分析システムによる生体試料中キノン及びキノン修飾体の解析

本化学発光測定は、キノンが還元剤 DTT によって還元されることでその酸化還元サイクルが誘起され、これに伴って発生する活性酸素をルミノールにより化学発光検出するという原理に基づいている。この酸化還元サイクル反応は繰り返し進行することから活性酸素は連続的に発生し、結果的に長時間持続する安定な発光が生じる。本研究では、この化学発光反応の特徴に適した HPLC システムの構築を目指した。HPLC システムに注入されたキノンおよびキノン修飾体は分離カラムにより極性の違いに応じて分離される。カラムから溶出したキノン類は、ルミノールの水酸化ナトリウム水溶液および DTT のアセトニトリル溶液とオンラインで同時に混合される。長時間持続する安定な発光を効率よく検出するために、最適化した長さの反応コイルに混合溶液を通過させてから化学発光検出器へと導入した。

メナジオン、1,4-ナフトキノンおよびプルンバギンといったキノンを腹腔内投与したラットから採血して得た血漿試料を前処理後、構築した HPLC システムへと注入した。得られた化学発光クロマトグラムを解析することにより、ラットの体内にて生成するキノンおよびキノン修飾体の解析を行った。

さらに、PQQ を含有するサプリメントを服用した健常人から採取した血漿試料についても、同様の HPLC 化学発光分析システムを用いて解析を行った。

#### (3) LC-MS/MS によるキノン修飾体の解析

(2) の検討において、キノン投与後のラット血液を分析して得たクロマトグラム上に検出されたピークに相当する画分を分取して LC-MS/MS システムに注入し、得られたクロマトグラムを解析することでキノン修飾体の同定を試みた。LC-MS/MS システムの分離カラムには逆相系 ODS カラムを用い、移動相としてはアセトニトリルと水の混液を用いた。質量分析装置におけるイオン化はエレクトロスプレー (ESI) によるポジティブ及びネガティブイオン化法により行った。

### 4. 研究成果

#### (1) キノン修飾体の合成と化学発光測定による活性酸素発生能評価

ユビキノン、メナジオン、PQQ やドキシソルピシンといったキノンの標準溶液に加えて、本研究で合成したエストロゲンキノン、ドーパミンキノンや MD-NAC、MD-GSH といったキノン修飾体の溶液について、ルミノールおよび DTT を添加後の化学発光強度を測定し、得られた積算発光量に基づいて活性酸素発生能を評価した。その結果、今回検討を行ったキノンからはいずれも強い化学発光が観察され、これらのキノンが活性酸素発生能を有していることが考えられた。メナジ

オン自身が与える化学発光強度を、その修飾体である MD-NAC や MD-GSH が与える発光強度を比較すると、メナジオン修飾体の方がより強い発光を与えたことから、メナジオンは生体成分と反応することで、より活性酸素発生能が強い化合物へと変換されることが示唆された。エストロゲンキノンとその元化合物であるエストロゲンとを比較すると、エストロゲンからは顕著な発光は観察されない一方で、エストロゲンキノンからは強い発光が観察された。一方で、ドパミンとドパミンキノンと比較すると、両者が与える発光の強さはほぼ同等であった。この結果は、ドパミンからドパミンキノンへの自動酸化が強アルカリ性の化学発光反応溶液中で素早く起こったことが原因であると考えられた。実際に、ドパミンキノンへの自動酸化を起こさないと考えられるチラミンについて、同様の測定操作を行ったところ、発光は観察されなかった。以上の結果より、キノンと生体成分との反応によるキノン修飾体の生成や、生体成分の酸化によるキノンの生成は、生体が受ける酸化ストレス量を増加させる恐れがあることが示唆された。

## (2) HPLC 化学発光分析システムによる生体試料中キノン及びキノン修飾体の解析

申請者はこれまでに、キノンの酸化還元サイクルを利用する化学発光法に加えて、キノンに紫外線を照射することで発生する活性酸素をルミノールあるいはシュウ酸エステルおよび蛍光色素を用いて化学発光検出する方法についても開発している。そこで、本研究ではキノンの HPLC 化学発光分析システムを構築するにあたって、どちらの化学発光法が適しているか予備的検討を行った。その結果、酸化還元サイクルを利用する化学発光法の方が、比較的再現性良くキノンを定量可能であったことから、キノンの酸化還元サイクルを利用する化学発光法を以降の検討で採用することにした。

最初に、HPLC の分離モードとして一般的な逆相カラムによるキノンおよびキノン修飾体の同時定量 HPLC システムの構築を試みた。しかしながら、ODS のような逆相系の分離カラムでは高極性のキノン修飾体を保持させることが困難であった。そこで、イオン対クロマトグラフィーや親水性相互作用クロマトグラフィーといった逆相系とは異なる分離モードによる分離条件の検討を行った。このうち、テトラブチルアンモニウムブロミド添加によるイオン対クロマトグラフィーを採用することにより、キノン修飾体を HPLC カラムに保持させることができ、さらにカラムからの溶出液を化学発光試薬と混合することによりキノン修飾体を化学発光ピークとして検出することに成功した。

実際にメナジオンを腹腔内投与したラットの血液について構築した HPLC システムにより分析したところ、MD-GSH をはじめとするキノン修飾体のピークが検出された (Fig. 2)。また、生体チオールとの修飾体以外にもキノン修飾体由来すると考えられるピークがいくつか検出された (Fig. 2 の青矢印)。

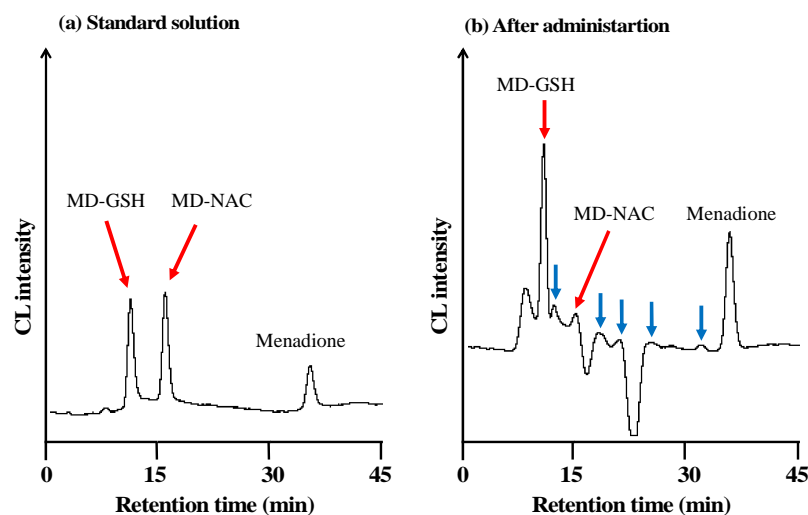


Fig. 2 (a) メナジオン、MD-GSH および MD-NAC の標準溶液、  
(b) メナジオン投与後のラットの血漿試料

次に、1,4-ナフトキノンやプルンバギンといったメナジオンとは異なるキノンを用いての検討を行なった。血液に1,4-ナフトキノンを添加したところ、いくつかの新しい化合物の生成が確認され、血液成分と1,4-ナフトキノンが反応していると考えられた。しかし、これらの1,4-ナフトキノン修飾体の安定性は低いと考えられ、実際に1,4-ナフトキノンを投与したラットの血液からは1,4-ナフトキノン修飾体は検出されなかった。プルンバギンを用いた検討では、プルンバギンはグルタチオンと反応していることが確認されたが、反応によりキノン構造が失われていることが示唆され、化学発光によりプルンバギン修飾体の存在を追跡することは困難であると考えられた。

さらに、PQQ 含有サプリメントを服用した健康人から経時的に採取した血漿中に含まれる PQQ の定量を行なった。その結果、サプリメント服用前の血漿から PQQ は検出されなかった一方で、服用 3 時間後の血漿からは PQQ 由来のピークが検出され、サプリメントの服用により PQQ が血中へ移行していることが明らかとなった (Fig. 3)。また、PQQ サプリメントを一週間継続して服用した被験者では、血漿中 PQQ 濃度が単回服用時と比較して高い値を維持する傾向にあった。しかしながら、本研究の検討範囲では、クロマトグラム上に PQQ と生体成分との反応で生じると考えられる PQQ 修飾体のピークは検出されなかった。

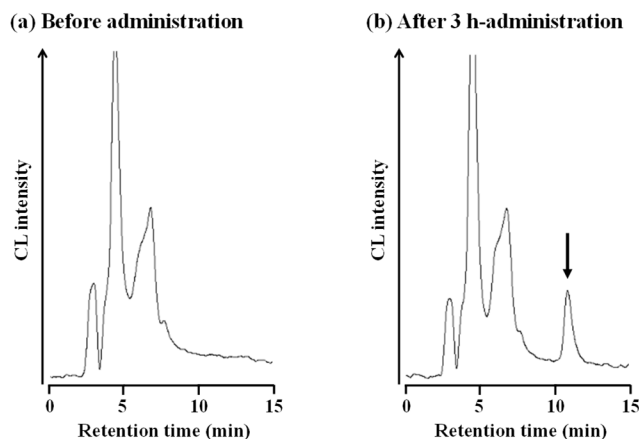


Fig. 3 (a) PQQ 含有サプリメント服用前の健康人血漿試料、  
(b) サプリメント服用後 3 時間後の血漿試料

### (3) LC-MS/MS によるキノン修飾体の解析

(2) の検討において、メナジオンを投与したラットの血液から、MD-GSH 以外にもキノン修飾体に由来すると考えられるピークがいくつか検出された。そこで、これらのピークがどのような修飾体に由来するかを同定するために、ピーク画分を分取して LC-MS/MS により解析した。しかしながら、これらの画分中から明確な分子イオンピークを検出することができず、キノン修飾体のイオン化効率が低いことが考えられた。そこで、2,4-ジニトロフェニルヒドラジン等のイオン化効率を改善するための誘導体化試薬を用いての検討を行なったが、結果として現在までにキノン修飾体に由来するピークの同定には至っていない。これまでの検討によってキノン類を生体に投与した場合、確実にその修飾体が生成することが化学発光検出によって確認できたが、その本体解明にはより高感度で精度の高い LC-MS/MS 等の導入が必要であると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 6件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 El-Maghrabey Mahmoud H., Watanabe Riho, Kishikawa Naoya, Kuroda Naotaka	4. 巻 1057
2. 論文標題 Detection of hydrogen sulfide in water samples with 2-(4-hydroxyphenyl)-4,5-di(2-pyridyl)imidazole-copper(II) complex using environmentally green microplate fluorescence assay method	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytica Chimica Acta	6. 最初と最後の頁 123-131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.aca.2019.01.006	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 Kishikawa Naoya, El-Maghrabey Mahmoud, Kuroda Naotaka	4. 巻 175
2. 論文標題 Chromatographic methods and sample pretreatment techniques for aldehydes determination in biological, food, and environmental samples	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	6. 最初と最後の頁 112782
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpba.2019.112782	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 Fukuda Mizuho, Qianjun Liu, Ohyama Kaname, Kishikawa Naoya, Kuroda Naotaka	4. 巻 150
2. 論文標題 Development of ultrafast colorimetric microplate assay method for ubiquinone utilizing the redox cycle of the quinone	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microchemical Journal	6. 最初と最後の頁 104104
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.microc.2019.104104	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 YASAKA Naoyuki, KISHIKAWA Naoya, HIGASHIJIMA Takumi, OHYAMA Kaname, KURODA Naotaka	4. 巻 34
2. 論文標題 The Utility of Sonogashira Coupling Reaction for the Derivatization of Aryl Halides with Fluorescent Alkyne	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 1183 ~ 1188
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.18P117	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 El-Maghrabey Mahmoud, Mine Masaki, Kishikawa Naoya, Ohyama Kaname, Kuroda Naotaka	4. 巻 180
2. 論文標題 A novel dual labeling approach enables converting fluorescence labeling reagents into fluorogenic ones via introduction of purification tags. Application to determination of glyoxylic acid in serum	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Talanta	6. 最初と最後の頁 323 ~ 328
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.talanta.2017.12.023	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 El-Maghrabey Mahmoud H., Nakatani Taro, Kishikawa Naoya, Kuroda Naotaka	4. 巻 158
2. 論文標題 Aromatic aldehydes as selective fluorogenic derivatizing agents for dicarbonyl compounds. Application to HPLC analysis of some advanced glycation end products and oxidative stress biomarkers in human serum	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	6. 最初と最後の頁 38 ~ 46
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpba.2018.05.012	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 El-Maghrabey Mahmoud, Kishikawa Naoya, Kuroda Naotaka	4. 巻 90
2. 論文標題 Novel Isotope-Coded Derivatization Method for Aldehydes Using <sup>14</sup> N/ <sup>15</sup> N-Ammonium Acetate and 9,10-Phenanthrenequinone	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Analytical Chemistry	6. 最初と最後の頁 13867 ~ 13875
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.analchem.8b02458	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 Elgawish MS, Kishikawa N, Kuroda N	4. 巻 164
2. 論文標題 Redox-based chemiluminescence assay of aminothiols in human urine: A fundamental study	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Talanta	6. 最初と最後の頁 116-120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.talanta.2016.11.042	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 Higashi A, Kishikawa N, Ohyama K, Kuroda N	4. 巻 58
2. 論文標題 A simple and highly selective fluorescent sensor for palladium based on benzofuran-2-boronic acid	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 2774-2778
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2017.06.005	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 Fukuda M, El-Maghrabey MH, Kishikawa N, Ikemoto K, Kuroda N	4. 巻 145
2. 論文標題 Ultrasensitive determination of pyrroloquinoline quinone in human plasma by HPLC with chemiluminescence detection using the redox cycle of quinone	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis	6. 最初と最後の頁 814-820
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jpba.2017.08.008	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 Miyamoto A, Nakano S, Nagai K, Kishikawa N, Ohyama K, Aoyama T, Matsumoto Y, Kuroda N	4. 巻 33
2. 論文標題 Development of an evaluation method for hydroxyl radical scavenging activities using sequential injection analysis with chemiluminescence detection	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 697-701
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.33.697	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 Ohyama K, Yoshimi H, Aibara N, Nakamura Y, Miyata Y, Sakai H, Fujita F, Imaizumi Y, Chauhan AK, Kishikawa N, Kuroda N	4. 巻 140(2)
2. 論文標題 Immune complexome analysis reveals the specific and frequent presence of immune complex antigens in lung cancer patients: A pilot study	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 International Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 370-380
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ijc.30455	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 Wada M, Yamaguchi A, Ogawa A, Kido H, Nakamura S, Takada M, Kawakami S, Kuroda N, Nakashima K	4. 巻 33
2. 論文標題 Luminol Chemiluminescence Profile of O/W Emulsions during Thermal Oxidation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 249-252
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.33.249	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 岸川直哉、黒田直敬	4. 巻 46(4)
2. 論文標題 脂質過酸化アルデヒドをマーカーとする酸化ストレス疾患の新規評価法の開発	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 臨床化学	6. 最初と最後の頁 299-304
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 -

〔学会発表〕 計32件(うち招待講演 3件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 岸川直哉、出口華菜子、Mahmoud Hamed El-Maghrabey、黒田直敬
2. 発表標題 イミダゾール誘導体の生成に基づく $\alpha$ -アミノ酸に選択的な蛍光誘導体化
3. 学会等名 第79回分析化学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岸川直哉、Mahmoud Hamed El-Maghrabey、中谷太郎、黒田直敬
2. 発表標題 ターピリジンへの変換に基づくベンズアルデヒドの蛍光定量法の開発とsemicarbazide-sensitive amine oxidase 活性測定への応用
3. 学会等名 第32回バイオメディカル分析科学シンポジウム (BMAS2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤雄大、岸川直哉、Mahmoud H.El-Maghrabey、黒田直敬
2. 発表標題 キノンをシグナル発生タグとして用いる化学発光免疫測定法の開発
3. 学会等名 第17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 (PPF2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 竇徳亮太、Mahmoud H.El-Maghrabey、岸川直哉、黒田直敬
2. 発表標題 14N/15N-酢酸アンモニウムを質量タグとして用いる $\alpha$ -ジカルボニル化合物の安定同位体誘導体 LC-MS/MS 定量法
3. 学会等名 第17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 (PPF2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岸川直哉、Mahmoud H.El-Maghrabey、黒田直敬
2. 発表標題 イミダゾール生成反応に基づく脂質過酸化アルデヒドの誘導体化LC-MS/MS定量法の開発
3. 学会等名 第44回日本医用マススペクトル学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岸川直哉、黒田直敬
2. 発表標題 酸化ストレス評価を目的とする脂質過酸化物の誘導体化 HPLC 定量法の開発
3. 学会等名 第59回日本臨床化学会年次学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 清野奨太、岸川直哉、黒田直敬
2. 発表標題 銅イオン及び亜鉛イオンに対して異なる発色応答を示す比色プローブの開発
3. 学会等名 第36回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 東嶋拓海、岸川直哉、黒田直敬
2. 発表標題 Heck couplingに基づくアリールハライドの長波長発蛍光誘導体化の検討
3. 学会等名 第36回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 坪上彩香、岸川直哉、黒田直敬
2. 発表標題 チロシンを選択的に検出可能な化学発光分析法によるチロシナーゼ活性測定法の開発
3. 学会等名 第36回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山道 彩、Mahmoud Hamed El-Maghrabey、岸川直哉、黒田直敬
2. 発表標題 2,2'-ビミダゾールへの変換に基づくグリオキサールの蛍光マイクロプレートアッセイの開発
3. 学会等名 第36回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Mahmoud El -Maghrabey、Yudai Sato、Naoya Kishikawa、Naotaka Kuroda
2. 発表標題 A non-enzymatic approach for immunoassay based on using quinones as chemiluminescence signal generators
3. 学会等名 第36回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 朝、Mahmoud Hamed El-Maghrabey、岸川直哉、黒田直敬
2. 発表標題 2,4-ジニトロフェニルヒドラジンによる誘導体化と紫外線照射反応を組み合わせたアルデヒドのHPLC-化学発光定量法の開発
3. 学会等名 第36回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長坂東奈、出口華菜子、Mahmoud Hamed El-Maghrabey、岸川直哉、黒田直敬
2. 発表標題 9,10-フェナンスレンキノン及び酢酸アンモニウムを用いる -アミノ酸に選択的な新規発光誘導体化反応
3. 学会等名 第36回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 黒田直敬、岸川直哉
2. 発表標題 -ケトカルボニル化合物の発光誘導体化 HPLC 定量法の開発と疾患患者血清への応用
3. 学会等名 第58回日本臨床化学学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 東嶋拓海、岸川直哉、黒田直敬
2. 発表標題 Sonogashira coupling 及び Heck coupling によるアリールハライドの長波長発蛍光誘導体化
3. 学会等名 第31回バイオメディカル分析科学シンポジウム (BMAS2018)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 牛島成美、岸川直哉、福田瑞穂、El-Maghrabey MH、池本一人、黒田直敬
2. 発表標題 血漿中ピロロキノリンキノン (PQQ) の HPLC 化学発光定量法の開発と親油化 PQQ の経口吸収性評価への応用
3. 学会等名 第31回バイオメディカル分析科学シンポジウム (BMAS2018)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 賈徳亮太、El-Maghrabey MH、岸川直哉、黒田直敬
2. 発表標題 -ジカルボニル化合物の <sup>15</sup> N-酢酸アンモニウムによる安定同位体誘導体化 LC-MS/MS定量法の開発
3. 学会等名 第31回バイオメディカル分析科学シンポジウム (BMAS2018)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡本悠祐、岸川直哉、萩森政頼、川上 茂、黒田直敬
2. 発表標題 ヒドラジドによる off/on 制御に基づく銅イオン選択的蛍光プローブの開発
3. 学会等名 第16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 (PPF2018)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 出口華菜子、El-Maghrabey MH、岸川直哉、黒田直敬
2. 発表標題 9,10-フェナンスレンキノンを試薬として用いるアミノ酸選択的蛍光誘導体化 HPLC 定量法の開発
3. 学会等名 第16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 (PPF2018)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岸川直哉、永井海舟、秋武将俊、黒田直敬
2. 発表標題 抗酸化物質の探索を目的とする化学発光イメージング/HPLCシステムの開発と食品への応用
3. 学会等名 日本分析化学会第67年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤雄大、El-Maghrabey MH、岸川直哉、黒田直敬
2. 発表標題 新規化学発光イムノアッセイ開発を目的とするピオチン導入ナフトキノンの合成と評価
3. 学会等名 生物発光化学発光研究会第 34 回学術講演会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岸川直哉、沼田 翔、梅野智大、大山 要、田中正一、黒田 直敬
2. 発表標題 非天然型アミノ酸を含むペプチドにより修飾した新規HPLC用固定相の調製とその評価
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 河村麻由、岸川直哉、黒田直敬
2. 発表標題 ルテニウム-ピピリジン錯体を用いるキノンの HPLC 化学発光定量法の開発
3. 学会等名 第35回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岸川直哉、渡辺凜歩、El-Maghrabey MH、岸川直哉、黒田直敬
2. 発表標題 口フィン類似誘導体-銅錯体を用いる硫化水素の蛍光定量法の開発
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岸川直哉、峰 正樹、Mahmoud Hamed El-Maghrabey、大山 要、黒田直敬
2. 発表標題 多成分縮合反応に基づく精製タグ導入/蛍光誘導体化法の開発とグリオキシル酸のHPLC 定量への応用
3. 学会等名 第30回バイオメディカル分析科学シンポジウム (BMAS2017)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 東 杏澄、岸川直哉、大山 要、黒田直敬
2. 発表標題 簡便かつ迅速なパラジウムイオンの検出を目的とするアリールボロン酸型新規蛍光センサー分子の開発
3. 学会等名 第15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 (PPF2017)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福田瑞穂、岸川直哉、Mahmoud.H. El-Maghrabey、池本一人、黒田直敬
2. 発表標題 ピロロキノリンキノンの高感度 HPLC-化学発光 定量法の開発と血漿試料への応用
3. 学会等名 第15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 (PPF2017)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福田瑞穂、岸川直哉、黒田直敬
2. 発表標題 キノン及びキノン修飾体のHPLC化学発光定量法の開発と生体試料への応用
3. 学会等名 第57回日本臨床化学会年次学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 八坂直幸、岸川直哉、大山 要、黒田直敬
2. 発表標題 Sonogashira coupling に基づく甲状腺ホルモンの高選択的蛍光誘導体化 HPLC 定量法の開発
3. 学会等名 第34回日本薬学会九州支部大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福田瑞穂、岸川直哉、黒田直敬
2. 発表標題 生体内キノン修飾体の高選択的化学発光検出法の開発と挙動解析
3. 学会等名 第29回日本臨床化学会九州支部総会
4. 発表年 2018年



1. 発表者名 黒田直敬、岸川直哉
2. 発表標題 臨床検査への応用を志した化学発光分析法の開発
3. 学会等名 日本薬学会第138年会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岸川直哉、河本絢香、黒田直敬
2. 発表標題 光応答性活性酸素発生物質を標識試薬として用いるアミン類の HPLC-化学発光検出法の開発
3. 学会等名 日本薬学会第138年会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

長崎大学薬学部薬品分析化学分野 <a href="http://www.ph.nagasaki-u.ac.jp/lab/analysis/index-j.html">http://www.ph.nagasaki-u.ac.jp/lab/analysis/index-j.html</a> PQQ のヒト血中濃度分析法を開発 (PQQの体内動態を解明する強力なツール) <a href="http://www.nagasaki-u.ac.jp/ja/about/info/science/science139.html">http://www.nagasaki-u.ac.jp/ja/about/info/science/science139.html</a>
--

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	岸川 直哉  (KISHIKAWA Naoya)  (90336181)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(薬学系)・准教授    (17301)	