

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：35307

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26460053

研究課題名(和文) 固相マイクロ抽出法に基づく生体酸化損傷マルチマーカーの同時分析システムの開発

研究課題名(英文) Development of simultaneous analytical system of multiple biomarkers for oxidative damage based on the solid-phase microextraction method

研究代表者

片岡 洋行 (KATAOKA, HIROYUKI)

就実大学・薬学部・教授

研究者番号：80127555

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：インチューブ固相マイクロ抽出(SPME)法とLC-MS/MS法の連結により、複数の酸化ストレスバイオマーカーを同時計測するオンライン自動分析法を開発した。脂質、DNA及び蛋白質の酸化でそれぞれ生じる8-イソプロスタン、8-OHdG及び3-ニトロチロシンを分析対象として、インチューブSPME及びLC-MS/MS条件を最適化した。本法は、簡便迅速かつ選択的高感度であり、面倒な前処理なしに尿や唾液、毛髪試料中の微量の酸化ストレス及び関連バイオマーカーの非侵襲的分析に応用できた。本法は、喫煙などによる健康影響の包括的評価法として有用であり、酸化ストレス関連疾患の予防と早期診断への応用が期待される。

研究成果の概要(英文)：We developed an automated on-line analytical method for the simultaneous determination of multiple biomarkers for oxidative stress by in-tube SPME coupled with negative/positive switching ion-mode liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). In-tube SPME and LC-MS/MS conditions were optimized for 8-isoprostane, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) and 3-nitro-L-tyrosine, which are biomarkers of endogenous oxidative damage to lipids, DNA and proteins, respectively. The in-tube SPME/LC-MS/MS method is simple, rapid, selective and sensitive, and was applied successfully to the noninvasive analyses of trace amount of oxidative stress and related biomarkers in urine, saliva and hair samples without any other pretreatment and without interference peaks. This method is useful tool as a comprehensive evaluation method of health effects due to smoking and other lifestyle, and it is expected to be applied to prevention and early diagnosis of oxidative stress related diseases.

研究分野：医歯薬学(薬学・物理系薬学)

 キーワード：固相マイクロ抽出法 オンライン自動分析 生体酸化ストレス バイオマーカー LC-MS/MS分析 糖化
 ストレス タバコ煙曝露 非侵襲的分析

1. 研究開始当初の背景

多様な活性酸素種 (ROS) の産生・消去系のバランスが崩れて酸化ストレス状態が続くと、組織や細胞内の DNA や脂質、蛋白質などの生体分子の酸化損傷が起こり、老化現象の亢進だけでなく、糖尿病や高血圧、動脈硬化、がん、アルツハイマー病など様々な疾病発症の引き金になることが示唆されている (図 1)。従って、これらの疾患の早期発見や予防が重要で、未病段階で自分の健康度合いや老化度合い、酸化ストレス状態をチェックできれば、生活改善により病気を未然に防ぐことができる。しかし、酸化ストレスと疾病メカニズムとの直接的な関連が充分解明されておらず、各種疾患でどのような生体成分の酸化損傷が関連しているかを網羅的に解析することが重要な課題となっている。

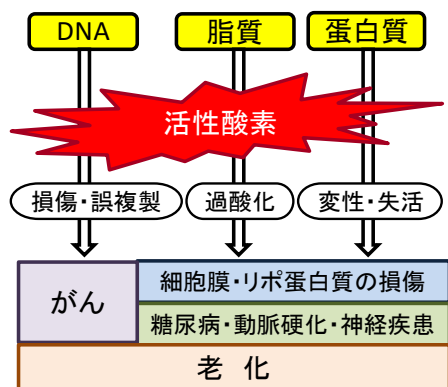


図 1 酸化ストレスと老化・生活習慣病

2. 研究の目的

本研究は、インチューブ固相マイクロ抽出 (SPME)法に基づき、尿や唾液、毛髪中の DNA や脂質、蛋白質の酸化損傷を捉える複数の生体酸化ストレスマーカーを簡便迅速に同時計測する高感度分析法を考案開発し、疾病の早期診断や予防に繋がる非侵襲的分析法の確立を目的とし、以下の基礎的、応用的研究を行った。

- (1) 酸化ストレスマルチバイオマーカーのインチューブ SPME 条件の最適化
- (2) LC-MS/MS 法による酸化ストレスマルチバイオマーカーの同時分析法の確立
- (3) 尿や唾液、毛髪中酸化ストレスマルチバイオマーカー分析への応用
- (4) 酸化ストレス及び関連ストレスに及ぼす喫煙及び受動喫煙の影響

3. 研究の方法

(1) 試薬及び試液

分析対象化合物は、純度の高い分析用標準物質を用いた。また内部標準 (IS)として、安定同位体標識化合物を用いた。各標準物質は、メタノールに溶解して 1 mg/mL として保存し、精製水で適当な濃度に希釈して使用した。また、移動相溶媒には、LC-MS 用を、その他の試薬類は、すべて試薬特級品を用いた。

(2) 装置及び測定条件

LC-MS/MS 分析装置は Agilent 社のモデル 1100 シリーズ LC と Applied Biosystems 社の API-4000 MS/MS を連結したシステムを使用した。LC 条件は LC 分離カラムとして Inertsil CX (250×2.1 mm, 5 μm)を用い、移動相に 5 mM ギ酸アンモニウム/メタノール (40:60) を用い、流速 0.1 mL/min で、分析時間は 20 分とした。また、表 1 に示す MS/MS 条件で、MRM 検出、定量した。

表 1 MS/MS 条件

Compound	Mass transition (m/z)	DP (V)	EP (V)	CE (eV)	Detection mode
8-IP	353.3 → 193.1	-80	-10	-30	Negative
8-OHdG	284.3 → 167.9	70	10	20	Positive
3-NT	227.3 → 181.1	70	10	20	Positive

(3) インチューブ SPME 法

図 2 に示すように、長さ 60 cm のキャピラリーカラムを 1/16 インチの PEEK チューブに通し、Supelco 製 1/16 インチの SS ユニオン (0.25 μm) とフェラルで固定して、オートサンプラーのインジェクションループとインジェクションニードルの間に取り付けた。インチューブ SPME は、バイパスポジションで計量ポンプによりメタノール吸入/吐出、空気吸入、蒸留水吸入/吐出、サンプル吸入/吐出 (40 μL、100 μL/min、20 サイクル)、メタノール吸入/吐出 (2 μL、200 μL/min) し、その後バルブをメインバスポジションに切り替えて注入モードとなるようプログラムした。インチューブ SPME 操作はすべて自動的に行えるが、まず試料溶液の入ったバイアルをオートサンプラーにセットし、インジェクションプログラムにより、計量ポンプでキャピラリー内をメタノール及び蒸留水で洗浄コンディショニングした後、試料溶液の吸入/吐出を繰り返し、キャピラリー内固定相へ化合物を吸着させる (図 2A)。次に、六方バルブを切り替えて移動相を流して化合物を脱離させ、移動相と共に HPLC カラムへ移送し、分離された化合物を MS または蛍光検出、データ解析する (図 2B)。

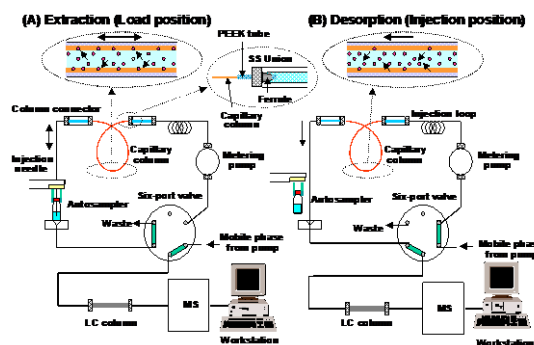


図 2 インチューブ SPME/LC-MS/MS システム

(4) 生体試料の調製

健康人ボランティアから、インフォームドコンセントにより同意を得て、尿、唾液、蓬髪を得た。尿試料は、不溶物がある場合はろ過して直接用いた。唾液はサリソフトを用いて採取し、限外ろ過して高分子を除去して用いた。毛髪は、加熱加水分解して、遠心分離後上澄みを試料として用いた。

4. 研究成果

(1) 酸化ストレスマルチバイオマーカーのインチューブ SPME 条件の最適化

DNA 酸化で生じる 8-OHdG、脂質酸化で生じる 8-イソプロスタン(8-IP)、蛋白質酸化で生じる 3-ニトロチロシン(3-NT)を分析対象として、インチューブ SPME 条件を最適化したところ、検討した GC キャピラリーの中で Carboxen 1006 PLOT が最もよく、試料 40 μL を 200 $\mu\text{L}/\text{min}$ の速度で 20 回繰返し吸入/吐出する時、効率よく抽出できた (図 3)。

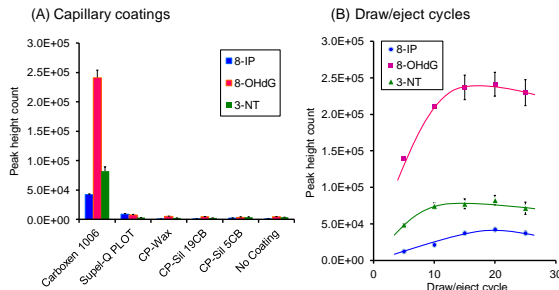


図 3 インチューブ SPME の最適化

(2) LC-MS/MS 法による酸化ストレスマルチバイオマーカーの同時分析法の確立

LC-MS/MS 法の分析条件を検討した結果、Inertsil CX カラムを用いるとき、いずれの化合物も 12 分以内に一斉分析でき、8-IP はネガティブモード、8-OHdG と 3-NT はポジティブモードに切り替え、連続して MRM 検出することにより、感度よく検出できた。また、安定同位体標識化合物を内部標準として用い、インチューブ SPME/LC-MS/MS 法により 0.02–2 ng/mL の範囲で作成した検量線は、いずれも相関係数 0.998 以上と良好な直線性を示し、検出限界も 3–22 pg/mL で直接注入法より 27 倍以上の感度を示した (表 2)。また、日内変動及び日差変動もそれぞれ 3.9% 及び 6.5% 以下で、再現性良く定量できることが分かった (表 3)。

表 2 検量線及び検出限界

Compound	Linearity		Detection limit ^{b)} (pg/mL)	
	Range (ng/mL)	Correlation coefficient ^{a)}	Direct injection	In-tube SPME
8-IP	0.02–2.0	0.9986	110	3.4
8-OHdG	0.02–2.0	0.9997	465	12.6
3-NT	0.02–2.0	0.9980	58	21.5

^{a)} $n = 21$, ^{b)} $S/N = 3$.

表 3 日内変動及び日差変動

Compound	Concentration (ng/mL)	Precision (RSD %), ($n = 5$)	
		Intra-day	Inter-day
8-IP	0.2	1.9	4.5
	0.8	1.1	4.1
	2.0	2.1	3.4
8-OHdG	0.2	3.9	6.1
	0.8	5.0	5.4
	2.0	2.6	5.1
3-NT	0.2	2.6	6.5
	0.8	1.3	2.3
	2.0	3.5	4.7

(3) 尿や唾液、毛髪中酸化ストレスマルチバイオマーカー分析への応用

図 4 に標準溶液 (0.2 ng/mL) 及び尿試料 (0.1 mL) から得られたクロマトグラムを示した。いずれもほとんど妨害ピークも認められず、選択的かつ高感度に分析できた。標準溶液と比較すると、マトリックスの影響でピーク高さが低下するが、安定同位体標識した IS を用いることにより、マトリックスの影響を補正できると考えられる。

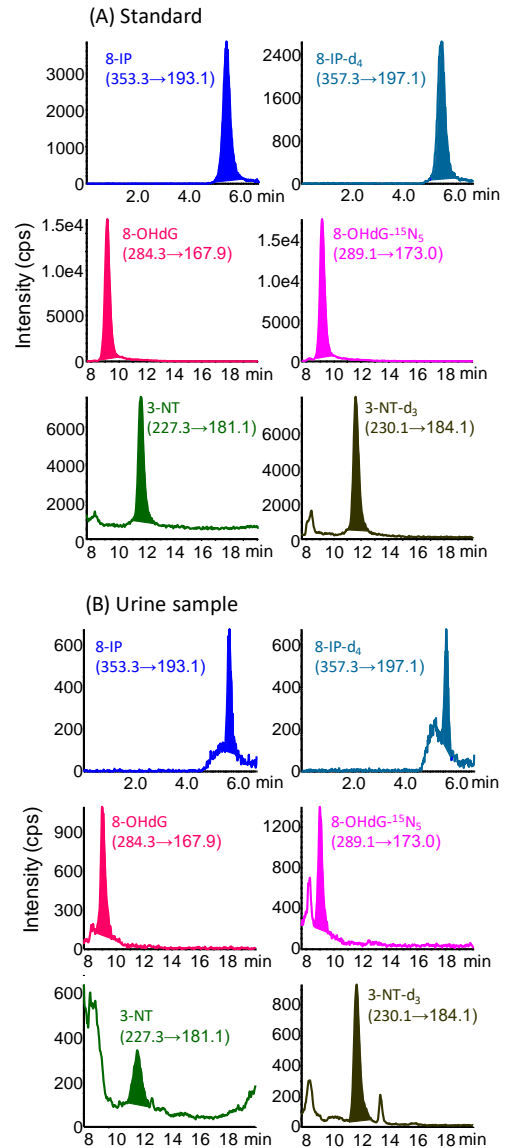


図 4 標準溶液(A)及び尿試料(B)から得られた MRM クロマトグラム

また、表4に示すように、尿試料に添加した8-IP、8-OHdG及び3-NTの回収率は、95%、91%及び84%以上で、定量的に分析できるとが分かった。

表4 日内変動及び日差変動

Compound	Concentration (ng/mL urine)		Recovery (%)
	Spiked	Mean ± SD (n=3)	
8-IP	0	0.62 ± 0.04	
	2.00	2.62 ± 0.30	100.0
	8.00	8.57 ± 0.87	99.4
	20.00	19.76 ± 0.26	95.7
8-OHdG	0	1.97 ± 0.06	
	2.00	3.91 ± 0.23	97.0
	8.00	9.26 ± 0.36	91.1
	20.00	21.24 ± 1.31	96.4
3-NT	0	ND ^{a)}	
	2.00	1.87 ± 0.02	93.5
	8.00	6.70 ± 0.61	83.8
	20.00	12.62 ± 0.43	63.1

^{a)} ND: not detectable.

一方、本法を唾液及び毛髪試料に適用した。唾液試料は血中濃度を反映することから短期的な酸化ストレス状態を把握できると考えられるが、正常人の唾液からは8-IPのみが検出された。また、長期的な酸化ストレスの状態を把握するために、毛髪試料を分析したが、3つのマーカーは検出されなかった。

(4) 酸化ストレス及び関連ストレスに及ぼす喫煙及び受動喫煙の影響

尿中8-IP、8-OHdG及び3-NTをバイオマーカーとして、非喫煙及び喫煙者の尿試料分析に適用した結果、図5に示すように、非喫煙者に比べ喫煙者の尿中に8-IPや8-OHdGが高濃度で検出され、3つのマーカーはいずれも喫煙者で高いことから、喫煙による酸化ストレスの影響評価法として有用であることがわかった。

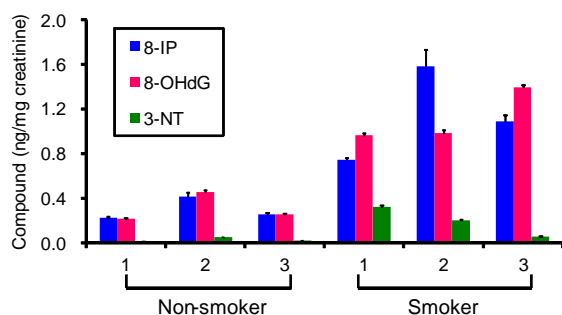


図5 非喫煙者及び喫煙者の尿中8-IP、8-OHdG及び3-NT含量

一方、酸化ストレスと関連するバイオマーカーとして、ストレスホルモン類や糖化ストレスマーカーの分析法を検討した。

コルチゾール、テストステロン、デヒドロエピアンドロステロン及びメラトニンなどのストレス関連のホルモン類を分析対象として、インチューブ SPME/ESI-ポジティブモード LC-MS/MS 法により高感度一斉分析法を開発し、クレペリンテストによる実験的

ストレス負荷による唾液中の各バイオマーカーレベルの変動と自律神経バランスとの相関性を解析した。その結果、唾液中コルチゾールレベルが若干低下し、副交感神経活動指標と負の相関を示すことが分かった。

また、酸化ストレスと関連して老化や糖尿病など様々な疾患との関連が示唆されている糖化ストレスのバイオマーカーである終末糖化産物 (AGEs) として、カルボキシメチルリシン、ペントシジン、ピラリンなどをインチューブ SPME/ESI-ポジティブモード LC-MS/MS 法により一斉分析する高感度分析法を開発し、尿及び毛髪試料分析に応用した。その結果、尿中のカルボキシメチルリシン及びピラリンは食事の影響を受け、また毛髪中カルボキシメチルリシンは、AGE リーダーによる皮膚中蛍光性 AGE レベルと正の相関を示すことが分かった。

さらに、喫煙や受動喫煙の状況、食習慣やストレスの有無 (頻度) などをアンケート調査して、毛髪中への酸化ストレスマーカー及び糖化ストレスバイオマーカーやタバコ煙曝露マーカーの毛髪への蓄積から、タバコ煙曝露が酸化ストレス及び関連ストレスに影響を及ぼすことを複合的に解析できるとが分かった。

結語

以上より、インチューブ SPME 法による効率的な試料の抽出濃縮と、ネガティブ/ポジティブモード切り替えによる LC-MS/MS 法との連携により、生体酸化損傷マルチバイオマーカーを同時計測する選択的かつ高感度なオンライン自動分析法を開発した。本法を用いれば、尿、唾液、毛髪などの試料を用いて非侵襲的に生体酸化ストレス状況を把握できることから、DNA や脂質、蛋白質の酸化損傷の解析による健康影響や疾病診断などへの応用が期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 12 件)

- ① Saito A., Hamano M., Kataoka H. (2018) Simultaneous analysis of multiple urinary biomarkers for the evaluation of oxidative stress by automated online in-tube solid-phase microextraction coupled with negative/positive ion-switching mode liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Sep. Sci.*, 41 (12): in press. (DOI: 10.1002/jssc.201800175) 査読あり (2018年7月掲載予定)
- ② Inukai T., Kaji S., Kataoka H. (2018) Analysis of nicotine and cotinine in hair by on-line in-tube solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry as biomarkers of exposure to

- tobacco smoke. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 156: 272–277. (DOI: 10.1016/j.jpba.2018.04.032) 査読あり
- ③ Ishizaki A., Uemura A., Kataoka H. (2017) A sensitive method to determine melatonin in saliva by automated online in-tube solid-phase microextraction coupled with stable isotope-dilution liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Methods*, 9: 3134–3140. (DOI: 10.1039/C7AY00622E) 査読あり
- ④ Kataoka H., Ishizaki A., Saito K. (2016) Solid-phase microextraction for pharmaceutical and biomedical analysis. *Anal. Methods*, 8 (29): 5773–5788. (DOI: 10.1039/C6AY00380J) 査読あり
- ⑤ Kataoka H., Mizuno K., Oda E., Saito A. (2016) Determination of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanine as biomarker for oxidative stress by automated online in-tube solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*, 1019: 140–146. (DOI: 10.1016/j.jchromb.2015.08.028) 査読あり
- ⑥ Kataoka H. (2015) Solid-phase microextraction techniques for biomedical analysis. *Bioanalysis*, 7(17): 2135–2144. (DOI: 10.4155/bio.15.145) 査読あり
- ⑦ Yamamoto Y., Ishizaki A., Kataoka H. (2015) Biomonitoring method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in hair by online in-tube solid-phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography and fluorescence detection. *J. Chromatogr. B*, 1000: 187–191. (DOI: 10.1016/j.jchromb.2015.07.033) 査読あり
- ⑧ Moriyama E., Kataoka H. (2015) Solid-phase microextraction – Recent developments and future trends in pharmaceutical and biomedical analysis. *Chromatography*, 2: 382–391. (DOI:10.3390/chromatography2030382) 査読あり
- ⑨ Mizuno K., Kataoka H. (2015) Analysis of urinary 8-isoprostane as an oxidative stress biomarker by stable isotope dilution using automated online in-tube solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 112: 36–42. (DOI:10.1016/j.jpba.2015.04.020) 査読あり
- ⑩ Kataoka H. (2014) Solid-phase Microextraction: Biomedical Applications. in *Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Edited by Jan Reedijk (Elsevier, Academic Press: Oxford, UK), 1–15. (DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.10989-8) 査読あり
- ⑪ Kataoka H. (2014) Amines: Gas Chromatography. in *Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Edited by Jan Reedijk (Elsevier, Academic Press: Oxford, UK), 1–15. (DOI: 10.1016/B978-0-12-409547-2.10941-2) 査読あり
- ⑫ Kataoka H., Inoue T., Ikekita N., Saito K. (2014) Development of exposure assessment method based on the analysis of urinary heterocyclic amines as biomarkers by on-line in-tube solid-phase microextraction coupled with liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.*, 406: 2171–2178. 査読あり (DOI: 10.1007/s00216-013-7420-1)
- [学会発表] (計 23 件)
- ① 毎床比呂冬、宗岡哲也、片岡洋行、糖化ストレスバイオマーカーとしての AGEs のオンラインインチューブ SPME / LC-MS/MS 分析. (2018.3.27) 日本薬学会第 138 年会 (金沢市)
- ② 加地早苗、犬飼勇仁、片岡洋行、受動喫煙バイオマーカーとしての毛髪中ニコチン及びコチニンのオンラインインチューブ SPME / LC-MS/MS 分析. (2018.3.27) 日本薬学会第 138 年会 (金沢市)
- ③ 石崎厚、片岡洋行、受動喫煙バイオマーカーとしてのタバコ特異的ニトロソアミン類のオンラインインチューブ SPME / LC-MS/MS 分析. (2018.3.27) 日本薬学会第 138 年会 (金沢市)
- ④ 犬飼勇仁、加地早苗、片岡洋行、毛髪中ニコチン及びコチニンのオンラインインチューブ SPME / LC-MS/MS 分析. (2017.11.16) 第 28 回クロマトグラフィー科学会議 (京都市)
- ⑤ 齋藤啓太、猪木摩耶子、片岡洋行、Fiber SPME/GC-MS 法による皮脂含有脂肪酸分解物の高感度解析. (2017.9.10) 日本分析化学会第 66 年会 (東京)
- ⑥ 石崎厚、片岡洋行、インチューブ SPME/LC-MS/MS 法による尿中ニトロソアミン類の高感度分析法の開発. (2017.9.10) 日本分析化学会第 66 年会 (東京)
- ⑦ 宗岡哲也、片岡洋行、インチューブ SPME / LC-MS/MS による終末糖化産物 AGEs の全自動オンライン分析. (2017.3.27) 日本薬学会第 137 年会 (仙台市)
- ⑧ 北川菜絵、石崎厚、片岡洋行、インチューブ SPME / LC-MS/MS 法によるストレス関連マルチバイオマーカーの同時分析. (2017.3.27) 日本薬学会第 137 年会 (仙台市)
- ⑨ 青山真鈴、石崎厚、片岡洋行、オンラインインチューブ SPME / 蛍光検出 HPLC による水環境中多環芳香族炭化水素類の分析. (2017.3.27) 日本薬学会第 137 年会 (仙台市)

- ⑩ 石崎厚、上村彰子、齋藤啓太、片岡洋行、In-tube SPME/LC-MS/MS によるメラトニンのオンライン自動分析. (2016.11.6) 第 28 回クロマトグラフィー科学会議(京都市)
- ⑪ 齊藤晃大、濱野真理子、水野敬亮、小田恵里、片岡洋行、生体酸化ストレスマルチバイオマーカーのオンライン自動 LC-MS/MS 分析. (2016.6.16) 第 23 回クロマトグラフィーシンポジウム(甲府市)
- ⑫ 齋藤啓太、岡村智章、渡辺祐子、片岡洋行、インチューブ SPME/LC-MS による食品成分解析. (2016.3.28) 日本薬学会第 136 年会(横浜市)
- ⑬ 三浦亜希子、片岡洋行、インチューブ SPME/LC-MS/MS によるルテオリンのオンライン自動分析法の開発. (2016.3.28) 日本薬学会第 136 年会(横浜市)
- ⑭ 原由理加、片岡洋行、インチューブ SPME/LC-MS/MS による尿中エクオール全自动オンライン分析. (2016.3.28) 日本薬学会第 136 年会(横浜市)
- ⑮ 濱野真理子、片岡洋行、インチューブ SPME/LC-MS/MS 法による唾液中酸化ストレスマルチマーカーの自動分析. (2016.3.28) 日本薬学会第 136 年会(横浜市)
- ⑯ 渡辺祐子、齋藤啓太、片岡洋行、インチューブ SPME/LC-MS 法によるスルフォラファン解析. (2015.3.29) 日本薬学会第 135 年会(神戸市)
- ⑰ 今城慶子、齋藤啓太、片岡洋行、コーヒー含有高機能成分のインチューブ SPME 法を利用した高感度分析法の開発. (2015.3.29) 日本薬学会第 135 年会(神戸市)
- ⑱ 犬飼勇仁、片岡洋行、安定同位体希釈インチューブ SPME/LC-MS/MS 法によるニコチン及びコチニンの全自动オンライン分析. (2015.3.29) 日本薬学会第 135 年会(神戸市)
- ⑲ 上村彰子、片岡洋行、安定同位体希釈インチューブ SPME/LC-MS/MS 法によるメラトニンの全自动オンライン分析. (2015.3.29) 日本薬学会第 135 年会(神戸市)
- ⑳ 齊藤晃大、片岡洋行、安定同位体希釈インチューブ SPME/LC-MS/MS 法による尿中酸化ストレスマルチマーカーの自動分析(2015.3.29) 日本薬学会第 135 年会(神戸市) 会(横浜市)
- 21 森山絵梨、片岡洋行、オキシトシンの全自动オンラインインチューブ SPME/LC-MS/MS 分析. (2014.12.12) 第 25 回クロマトグラフィー科学会議(京都市)
- 22 片岡洋行、齊藤晃大、水野敬亮、小田恵里、齋藤啓太、加藤久登、増田和文、酸化ストレスマルチバイオマーカーのポジティブ/ネガティブモード LC-MS/MS 同時分析. (2014.9.19) 日本分析化学会第 62 年会(広

島市)

- 23 片岡洋行、バイオメディカル分析における効率的試料前処理法としてのマイクロ抽出法の進歩<依頼講演>(2014.9.19) 日本分析化学会第 62 年会(広島市)

[図書] (計 2 件)

- ① Kataoka, H. (2018) PHARMACEUTICAL ANALYSIS/Sample Preparation, in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering, Edited by F. Adams, D. Barcelo, N. Barnett, A. Bond, L. Bottomley, M. Breadmore, L. Buydens, A. da Costa Duarte, R. Evershed, A. Gachanja, D. Graham, D. Knopp, H.K. Lee, S. Lewis, J. Lindon, M. Miró, L. Mondello, P.N. Nesterenko, C. Poole, F. Regan, A. Sanz-Medel, L.Simon-Sarkadi, M. Soylik, A. Townshend, M. Trojanowicz, I. Wilson, P. Worsfold, (Elsevier: Amsterdam, Netherlands), in press.
- ② Kataoka H. (2017) Sample Preparation for Liquid Chromatography (Chapter 1), in Handbooks in Separation Science: Liquid Chromatography 2 nd Edn, Edited by S. Fanali, P.R. Haddad, C.F. Poole, M.-L. Riekkola, (Elsevier: (Elsevier, Amsterdam, Netherlands), Vol. 2, 1-37. (ISBN: 978-0-12-805392-8)

6. 研究組織

- (1)研究代表者
片岡 洋行 (KATAOKA Hiroyuki)
就実大学・薬学部・教授
研究者番号：8 0 1 2 7 5 5 5
- (3)連携研究者
齋藤 啓太 (SAITO Keita)
就実大学・薬学部・講師
研究者番号：3 0 4 5 4 8 5 4
- (3)連携研究者
石崎 厚 (ISHIZAKI Atsusi)
就実大学・薬学部・助教
研究者番号：2 0 7 8 0 9 9 3
- (4)研究協力者(就実大学・薬学部・学生)
水野 敬亮 (MIZUNO Keisuke)
森山 絵梨 (MORIYAMA Eri)
上村 彰子 (UEMURA Akiko)
齊藤 晃大 (SAITO Akihiro)
原 由理加 (HARA Yukari)
濱野 真理子 (HAMANO Mariko)
三浦 亜希子 (MIURA Akiko)
北川 菜絵 (KITAGAWA Sae)
宗岡 哲也 (MUNEOKA Tetsuya)
毎床 比呂冬 (MAITOKO Hiroto)