

平成 30 年 9 月 4 日現在

機関番号：23701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K05546

研究課題名(和文) Nano Focusingを戦略とするESI-MSの超高感度化に関する研究

研究課題名(英文) Development of ultra sensitive CE-ESI-MS methods based on the nano-focusing strategy

研究代表者

江坂 幸宏 (ESAKA, Yukihiro)

岐阜薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：70244530

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)：極微量の重要イオン性分子の分析を可能にする手法の開発を目的に、ナノリットル体積への収束を行うCEオンライン濃縮とESI-MS検出を結合した高感度検出法の基礎を確立し、DNA中の飲酒由来損傷塩基の検出を行った。その方法では、5'-ヌクレオチドとしてDNAから抽出した損傷体を動電過給法で3000倍濃縮し、ESI効率を高めるためにオンラインでPhostag錯体化して、最後にESI-MSに導入して検出する。直接検出に比べて、3万倍以上の感度向上を達成した。

研究成果の概要(英文)：We have established a basis for highly sensitive detection of DNA damages occurred by drinking, developing capillary electrophoresis-mass spectrometry methods. The damaged bases were extracted from DNA as the corresponding 5'-nucleotides, and were enriched 3000-times by electrokinetic supercharging followed by on-line complexation with the Phostag reagent to enhance ESI efficiency of the nucleotides and finally were introduced to an ESI-MS system. The sensitivity would be more than 30,000-times higher compared with that with detections as the nucleotides by using a simple CE-ESI-MS method.

研究分野：CE・LCおよびMSをプラットフォームとする精密分離分析化学

キーワード：CEオンライン濃縮 オンライン錯体化 発がんリスクマーカー 損傷ヌクレオチド ESI-MS

1. 研究開始当初の背景

MS による網羅的解析を特徴とするオミクス手法の導入とそれを用いた研究の躍進が、生命科学研究の大きなブレークスルーを生みだし、本格的な成果が次々に報告されている。Big Data を AI で扱う情報革命にシンクロすることで、予測以上の洞察が見えてきている。すでに、高い感度での同定を可能にする質量分析であるが、その実質検出感度を極限まで高める取り組みは、生命科学研究に重大なインパクトを与えるはずである。

MS の感度は、高分解能化や検出効率の向上などに対する MS 装置 = ハードの技術革新によって大幅に引き上げられてきた。また、イオン化効率の向上という、ソフト面での大きな戦略をとれることも MS 検出の特徴である。本計画では、オミクスで最も広く使われる ESI を用いた MS 分析の高感度化を計画した。ESI はフローシステムのイオン化法である。その高感度化の戦略には、さらに導入効率の向上という第 3 の戦略がある。通常システムではスプレーされたごく一部が MS に導入されるが、NanoESI で用いられる微細スプレーを利用して、2 桁以上の高率での導入効率向上を可能にする。それは注入した試料の散逸抑制による。そして、NanoESI はキャピラリー電気泳動法 (CE) とのジオメトリーマッチングが高いことは注目に値する。

本計画で中心的な役割をもつ CE のオンライン濃縮法は、数倍から数百万倍の濃度感度向上を可能にする。これは別の側面から見れば試料の収束であり、CE の検出ピーク幅から換算して、最終的に数十 nL の体積に収束させていることを意味している。濃縮倍率は元の試料体積の大きさに依る。当然、出来るだけ大きな体積を nL オーダーに収束できる手法が求められる。その大量導入を可能にする方法の一つに、過渡的等速電気泳動条件下で電気的注入を行う動電過給法 (ElectroKinetic Supercharging, EKS) があり、広島大・廣川健のグループによって数万倍の濃縮性能が示されている。

本計画で特に注目し対象とした試料は損傷 DNA 塩基である。発がんリスクマーカーとして重要視され、特に喫煙、飲酒による発がんリスクに対して、そのモニタリングの意味が近年指摘されている。これらの損傷体は共存し干渉成分となる正常体数億に対して 1 つ程度の低頻度で存在し、実試料量は限られるため、非常にチャレンジングな対象となる。我々の試算によれば、健常人と高リスク者の分析を明確に可能にするためには、1 mL の血液中の濃度換算で sub pM の濃度感度が必要となる。この対象の実分析を可能にする手法の確立を行うためには、酵素反応、高効率固相抽出等の前処理開発、定量的 MS 分析のための内部標準物質の合成を含めた、総合的手法開発が必要である。

2. 研究の目的

CE によるオンライン濃縮は、数 10 nL の微小体積への収束 (Nano Focusing) を行うことを意味する。Nano Focusing による超高倍率での濃縮及び、極微体積を活用した Nano ESI の適用を主戦略に、オンライン錯体化によるイオン化効率向上を含む、総合的に MS 分析の実質分析感度を顕著に向上する CE-ESI-MS 法を可能することを目的とする。上記戦略に沿って、発がんリスクマーカーとなる DNA 塩基損傷の分析法を開発し、実分析法として確立する。手法開発と実分析による検証を通じて、本手法: Nano Focusing-ESI-MS 法を確立する。

3. 研究の方法

CE-ESI-MS 装置をプラットフォームに Nano Focusing-ESI-MS 法を開発する。飲酒を原因とする損傷 DNA 塩基をターゲットにする分析を「モデルケースかつ、応用の最終的な目的の一つ」として取り組み、方法論開発へのフィードバックを得て、方法論の一般化を同時に行っていく。

まずオンライン濃縮法を、濃縮率の向上、濃縮干渉イオン (主として正常塩基) の除去の観点から完成する。次に、収束したターゲットをオンラインで錯体化する等、「ESI 効率を顕著に増進する方法」を確立する。そして、数 10 nL 体積の対象に nano ESI 法を適用する方法を、非水系 CE の採用とインターフェイス開発によって確立する。

開発した検出の方法論・技術を発がんリスクマーカーとしての損傷塩基の実分析に活用する。そのための前処理技術 (酵素分解、抽出用固相) の開発を合わせて行う。

4. 研究成果

(1) オンライン濃縮法の検討

EKS によるヌクレオチド濃縮

過渡的に等速電気泳動の仕組みを使う EKS を、5'-dGMP 及び飲酒、喫煙由来の損傷ヌクレオチド 2 種: ¹⁴C-cyclic propano-5'-dGMP (CPr-5'-dGMP), ¹⁴C-ethyl -5'-dGMP (Et-5'-dGMP) (ともに自家合成品) に対して適用し、条件最適化を行って、1 mL の試料溶液から 3000 倍前後の濃縮注入を達成した。酢酸イオンを泳動液に含有させ、pH 調節することで、移動度をヌクレオチドのそれに近づけた酢酸イオンをリーディングイオンにすることができ、単純に電気的注入することで高い濃縮効率を得ることが出来る。本計画では最終的に、シーストレス CE でダイレクトに ESI することを目指としているので、イオン化効率の良いアセトニトリル含量の多い泳動液でも EKS を検討した。その結果、50% 含量であれば、3200 倍の濃縮を確認できた。

キャピラリーの導入効率は試料リザーバーの構造・体積に依存する。直線細管状 (内径 0.5mm, 体積 10 μL) のリザーバーでは、前述の 1 mL リザーバーの 5 - 10% に対し、80% の導入効率を得ることが判明した。10

μL からの濃縮は300倍前後の倍率となったので、マイクロ固相抽出で1 mL 10 μL の前濃縮を行えば、EKSと合わせて実質的には3万倍の濃縮が可能であることが示された。

動的pH界面法によるヌクレオシド濃縮

pHの異なる試料溶液と泳動液の界面で試料を濃縮する動的pH界面法も検討した。後述のように、イオン化効率という面ではヌクレオシドはヌクレオチドと比較し、1ケタ高い。これは錯体化などのイオン化増強を併用しなくとも、同様のESI-MSの濃縮感度を期待できる。また、実績のあるヌクレオシドから塩基へのフラグメンテーションを利用したMS/MSによる高感度検出も可能となる。

解離できるアミドプロトンを持ち、pHによってはイオン化が可能なdG及びEt-dGについて、泳動液にホウ酸緩衝液（ホウ酸 $\text{pK}_a=9.2$ ）を用いて、試料溶液と泳動液のpHを試料の pK_a を考慮して最適化した結果、100倍前後の濃縮が行われた。この場合、数100 nLのゾーン注入であるのでキャピラリーへの導入効率100%であり、ピークの半値幅も10秒程度と数nLへの収束で極めて濃縮の効率もよい。従って、マイクロ固相抽出との組み合わせによって、非常に高い実質感度向上を期待できる。これをESI-MS検出へ適用するために、揮発性の炭酸アンモニア系の緩衝液への転換を図り、30倍程度の濃縮を達成した。（濃縮倍率向上は継続事項とした。）加えて、dGとEt-dGは pK_a が0.5程度異なるため、設定pHによって、二者の混合試料溶液から損傷体であるEt-dGを選択的に高い倍率で濃縮することが可能であることを示した。

(2)ESI-MS検出に関する検討

ヌクレオチド、ヌクレオシド、塩基形態間でのイオン化効率の比較

CE濃縮の容易さはイオン性の高いヌクレオチドにアドバンテージがある一方で、ESI-MS検出の感度を支配するイオン化効率の相対比を、各モノマーフォームについて、インフュージョンモードを利用して定量的に調査した。その結果、ヌクレオシド=塩基>ヌクレオチドとなり、10倍前後の差がみられた。また、5'-ヌクレオチドから後述のPhostag錯体になると、15倍イオン化効率が増えることが分かった。

溶媒組成、添加剤によるイオン化促進 - 自作nanoESIプローブを用いた検討 -

ESI効率は、脱溶媒のプロセスが重要なプロセスであり、一般に有機溶媒の含量が多いほうが脱溶媒の容易さからイオン化しやすい。また、適切な塩の添加がイオン化を促進することが知られている。CE濃縮-シーストレスESI-MSを実現することを目標としているので、NanoESIインターフェイスを自作し、nanoスプレーの状況下で、有機溶媒の含量に依存するイオン化効率の変化を検出信号強度を指標に確認した。試料としては5'-dGMPを用いた。その結果、10-50%までの含量増

加により、強度は5倍程度上昇するが、それ以降は横ばいとなった。濃縮の際に、試料の解離状態が安定している方がよいので、含量は50%程度が最適と結論した。

一方、含有塩として、酢酸アンモニウムを用いて、その濃度とイオン化効率の関係を検討したところ、1-10 mM程度の含有量で、0 mMに比較して数倍の強度上昇がみられるが、それ以上で減少し、25 mMでは10 mMの5分の1以下の強度となった。これは、nanoESI条件下でもマトリックスイオンによる深刻なサプレッション現象が生じることを示している。一方で、25 mMという濃度はEKS濃縮を十分に行う上での下限濃度である。25 mM、10 mM、5 mMの塩濃度での、EKS倍率比（5'-dGMP）は100:70:15となった。EKS倍率とESI効率のバランスからは、10 mMを選択することも正解である。

この状況で、当初予定していた、シーストレス方式のチップ型EKS濃縮注入システムの開発を次の段階にシフトし、シーストレス液を用いて安定したESI環境を導入できる状況で、分析系を確立することを優先することに決定し、期間内の検討を進めることとした。

(3)Phostag錯体化の導入

Phostag錯体の電気泳動及びESI-MS

Phostagは、酵素機能中心をモデルとして開発した2中心の亜鉛錯体化試薬であり、リン酸基に高い選択性を示して、多元錯体を形成する。MS分野への活用では、MALDI-MSへの利用を想定して単一原子量の Zn^{2+} を含むものが開発され、イオン化促進の目的で利用できる。この錯体化は、環境内に遊離Phostagが存在する状況下で、錯体解離平衡によって生成が保証される。今回、5'-ヌクレオチド-Phostag錯体が、周辺環境に依っては速度論的に比較的安定で、CEでの泳動時間中に周りにPhostagが存在しない場合でも、ほとんど解離が起こらないことを見出した。遊離型Phostag、5'-ヌクレオチド、多元錯体は電荷が異なるため容易に分離され、CE-MSシステムによって錯体のみでMSへの導入が可能になった。一方、3'-ヌクレオチドは5'-体に比較し、錯体の解離が早く、本法に適さないことが分かった。

PhostagのESIでの利用はほとんどなく、少なくとも分離された多元錯体単体でのMS導入は初めての成果である。このESIにおいては15倍程度のイオン化の促進が確認され、ヌクレオチドのイオン化効率の低さの問題の解決を得た。3'-ヌクレオチド体のPhostag錯体は、イオン化においてヌクレオチドの開裂分解が生じ、ESIにおいても問題があることが分かった。従って、損傷体は5'体での採取が必要であり、後述の酵素処理の検討を実施した。

EKS濃縮 - オンラインPhostag錯体化ESI-MS法による検出

EKS濃縮との結合は、以下のように達成さ

れた。まず、電気浸透流をジメチルポリアクリルアミドコーティングキャピラリーの使用によって抑制した条件下で、EKS を行ったのち、上流から Phostag を導入し、電気泳動移動度の差を利用して、ヌクレオチドを追い抜かせ、ダイナミックに錯体化を行い、その後錯体を分離して、ESI-MS システムへ導入する。溶媒組成、塩濃度などのイオン化環境はシース液を用いて、コントロールした。EKS から錯体化までのプロセスを自動化したプログラムも構築した。

(4) DNA からの損傷体抽出法の検討

酵素の検索

LC/ESI-MS/MS を用いた先行研究で、我々は micrococcal nuclease (MN) と Spleen phosphodiesterase (SP) を混合併用して、DNA をヌクレオチドに分解してきた。Nucleases は本来の機能として正常塩基部位を認識し、これを定量的に切り出すことを求められているので、塩基部の損傷により基質として認識されない部分が発生すると考えられる。MN・SP ミックスは、CPr-Gua と Et-Gua 部位を基質として認識し、該当の 3' 体に定量的に分解できる。一方、前述のように Phostag との錯体の安定性、ESI 時の安定性を考慮すれば 3' 体の形での本法の適用は不適である。従って、CPr-Gua と Et-Gua の部位を定量的に基質として、該当 5' 体を与える a 型 nuclease が必要となる。市販の入手可能なものから検索し、モデル損傷 DNA 分解反応解析を行い、Nuclease Bal 31 が 2 種の損傷体を定量的に与えることを見出した。

正常体からの分離法の検討

EKS を実行する際に、試料溶液にマトリックス成分、特にイオン成分が泳動液内のそれに比して濃く存在すると、濃縮が行われなくなる。本件では、正常ヌクレオチドが最大数億倍の濃度で共存するため、これを除去する必要がある。逆相 HPLC の条件検討により、良好な分取が可能であることを示した。これをもとに、マイクロ固相抽出カラム (StageTip) の作成を進めた。

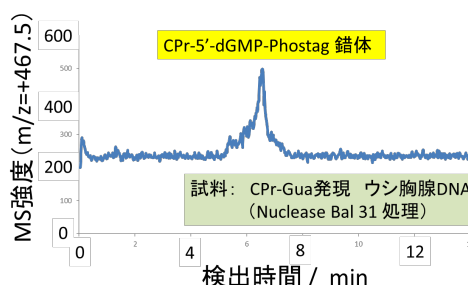
動的 pH 界面法では、対象がヌクレオシドになる。ヌクレオシド用の StageTip は完成し、処理プロトコルの作成に至った。

(5) 損傷体定量分析のための重水素化体の調製

ESI-MS 分析用の内部標準物質として、d4-アセトアルデヒドと dG を原料に、溶媒に重水を用いて、ヌクレオシド体：CPr-dG 及び Et-dG の D 化体 (それぞれ M+7、M+5) の調製に成功した。LC/ESI-MS/MS システムで評価を行い、十分な純度を持ち、高い直線性を有する内標準法検量線の作成に成功した。同様の合成法で、5' -dGMP を dG の代わりに用いて、ヌクレオチド体の調製が可能である。

(6) DNA からの損傷ヌクレオチドの検出

ウシ胸腺 DNA をアセトアルデヒドに暴露させ、内部に CPr-Gua を発現させた DNA に対し、本計画で整備した、前処理及び EKS 濃縮-オンライン錯体化-ESI-MS 法を適用し、CPr-5' -dGMP としての検出に成功した (下図)。



CEオンライン濃縮/錯体化/ESI-MS法による検出

(7) 本計画の成果の位置づけと今後の展望

今回の成果は、前例のない、CE による nL 体積への収束と nano ESI-MS の組み合わせという、原理的に最高の感度が期待できる一つの分析システムの基本形を実現したものである。今後、この基本知見をもとに、改良・整備を行うことで、性能を向上し、実用性を付与した真に有用な手法の完成を行っていく。また、本法を用いて、実分析に近い形で検出を行った DNA 損傷塩基の対象としての重要性は論を待たず、重要なターゲットとしてその分析法を前処理を含め総合的に整備していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計7件)

Yukihiro ESAKA, Kenji HISATO, Takuhei YAMAOTO, Hiroya MURAKAMI, Bunji UNO, Evaluation of Type A Endonucleases for Quantitative Analysis of DNA Damages due to Exposure to Acetaldehyde Using Capillary Electrophoresis, Analytical Sciences, 査読有, in press (2018).

Hiroya MURAKAMI(1 番目), Yukihiro ESAKA(5 番目)(員数 7), Effects of Hydrophilic Monomers on Sorptive Properties of Divinylbenzene-based Reversed Phase Sorbents, Talanta, 査読有, 185(2018)427-432, DOI:10.1016/j.talanta.2018.03.093.

Yujiyo KINOMURA(1 番目), Yukihiro ESAKA(12 番目), Shinya MINATOGUCHI(15 番目)(員数 15), Endogenous Adenosine may be Related to Left Ventricular Dysfunction, Dilation, and Hypertrophy in Patients with Heart Disease, Circulation Journal, 82(2018)1319-1329, DOI: 10.1253/circj.CJ-17-0972.

Hiroya MURAKAMI(1 番目), Yasushi ISHIHAMA(8 番目), Yukihiro ESAKA(10 番目)(員数 10), Progress in a

Selective Method for the Determination of the Acetaldehyde-derived DNA Adducts by Using HILIC-ESI-MS/MS, *Talanta*, 査読有, 177(2018)12-17, DOI:10.1016/j.talanta.2018.09.055. 岩政衣美, 三木雄太, 井上嘉則, 江坂幸宏, 村上博哉, 手嶋紀雄, DNA付加体の網羅的分析を目指した HILIC 分離条件の検討, *分析化学*, 印刷中(2018) 三木雄太, 村上博哉, 尾宮美保, 江坂幸宏, 井上嘉則, 手嶋紀雄, アデニンを修飾した新奇吸着分離剤の核酸関連化合物に対する固相抽出特性, *分析化学*, 印刷中(2018) Hiroya MURAKAMI(1 番目), Yukihiro ESAKA(4 番目)(員数 9), Simple Pretreatment and HILIC Separation for LC-ESI-MS/MS Determination of Adenosine in Human Plasma, *Analytical Sciences*, 査読有, 31(2015) 1189-1192, DOI: 10.2116/analsci.31.1189.

[学会発表](計 19 件)

江坂幸宏, 久戸賢治, 山本拓平, 村上博哉, 宇野文二, CE による DNA アセトアルデヒド付加体検出に用いる a 型ヌクレアーゼの探索, 日本薬学会第 138 年会, 2018 年 3 月 26 日, もてなしドーム(石川県金沢市)

村上博哉(1 番目), 石濱泰(5 番目), 江坂幸宏(6 番目)(員数 7), HILIC-ESI-MS/MS を用いた DNA 付加体定量分析法の高感度化, 第 54 回 FIA 講演会, 2017 年 12 月 1 日, 岡山理科大学(岡山県岡山市)

江坂幸宏, 國嶋咲希, 山本拓平, 村上博哉, 宇野文二, アセトアルデヒドによる DNA 損傷検出のための CE による a 型ヌクレアーゼ反応解析, 第 37 回キャピラリー電気泳動シンポジウム, 2017 年 11 月 29 日東北大学(宮城県仙台市)

江坂幸宏, 國嶋咲希, 山本拓平, 村上博哉, 宇野文二, アセトアルデヒド由来 DNA 付加体の ESI-MS 定量のための同位体内標準の調製と評価, 第 28 回クロマトグラフィー科学会議, 2017 年 11 月 16 日, 京都大学(京都府京都市)

江坂幸宏(1 番目), 鳥村政基(6 番目), 石濱泰(7 番目), 村上博哉(8 番目)(員数 8), DNA 損傷の高感度 ESI-MS 検出のための検出形態に関する検討, 第 77 回分析化学討論会, 2017 年 5 月 27 日, 龍谷大学(京都府京都市)

Y. Esaka, K. Hisato, T. Fujii, B. Uno, M. Torimura, Y. Ishihama, H. Murakami, T. Hirokawa, Development of highly sensitive methods for detection of damaged nucleotides by using CE enrichment coupled with on-line complexation followed by ESI-MS

measurement, 第 45 回高性能液相分離及び関連技術に関する国際会議, 2017 年 6 月 18-22 日, プラハ(チェコ)

江坂幸宏(1 番目), 鳥村政基(6 番目), 石濱泰(7 番目), 村上博哉(8 番目)(員数 8), CE 濃縮 ESI-MS 法による核酸損傷分析, 日本薬学会第 137 年会, 2017 年 3 月 26 日, 東北大学(宮城県仙台市)

江坂幸宏(1 番目), 石濱泰(5 番目), 村上博哉(6 番目)(員数 6), DNA 損傷分析のための損傷塩基の酵素反応処理に関する検討, 第 27 回クロマトグラフィー科学会議, 2016 年 11 月 16 日慶応義塾大学(東京都港区)

江坂幸宏(1 番目), 鳥村政基(6 番目), 石濱泰(7 番目), 村上博哉(8 番目)(員数 8), 核酸損傷塩基検出システムとしての動電過給濃縮 オンライン錯体化 ESI-MS 法, 第 36 回キャピラリー電気泳動シンポジウム, 2016 年 11 月 29 日徳島大学(徳島県徳島市)

江坂幸宏(1 番目), 鳥村政基(6 番目), 村上博哉(7 番目), 石濱泰(8 番目)(員数 8), 動電過給濃縮 Phostag 錯体化 - ESI-MS 法による損傷ヌクレオチドの高感度検出, 日本分析化学会第 65 年会, 2016 年 9 月 14 日, 北海道大学(北海道札幌市)

江坂幸宏, 堀場瑠璃, 新宅圭太郎, 宇野文二, 石濱泰, 村上博哉, Nuclease P1 差別化処理 DNA 損傷塩基検出法の開発, 第 29 回バイオメディカル分析化学シンポジウム, 2016 年 9 月 2 日, 京都大学(京都府京都市)

村上博哉(1 番目), 金子和弘(4 番目), 石濱泰(7 番目), 江坂幸宏(8 番目)(員数 8), DNA adductomics を目指した LC-MS システムの最適化, 第 29 回バイオメディカル分析科学シンポジウム, 2016 年 9 月 2 日, 京都大学(京都府京都市)

荒木逸杜, 村上博哉, 堀場 瑠莉, 宇野文二, 石濱泰, 江坂幸宏, 手嶋紀雄, LC-ESI-MS による DNA 付加体分析のためのイオン化効率改善に関する研究, 第 76 回分析化学討論会, 2016 年 5 月 28 日, 岐阜薬科大学(岐阜県岐阜市)

漆原三佳(1 番目), 村上博哉(4 番目), 江坂幸宏(5 番目)(員数 6), 損傷ヌクレオチド高感度検出のための CE 濃縮錯体化 シースレス ESI-MS 法の開発, 第 76 回分析化学討論会, 2016 年 5 月 28 日, 岐阜薬科大学(岐阜県岐阜市)

新宅圭太郎(1 番目), 村上博哉(4 番目), 江坂幸宏(5 番目)(員数 6), 酵素反応前処理を用いた DNA 損傷体の選択的定量法の開発, 第 76 回分析化学討論会, 2016 年 5 月 28 日, 岐阜薬科大学(岐阜県岐阜市)

江坂幸宏, 宇野文二, 鳥村政基, 廣川健, 村上博哉, 石濱泰, 酵素反応による差別化を用いる高感度 DNA 損傷分析 ESI-MS 法

の開発、日本薬学会第 136 年会、2016 年 3 月 26 日、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

江坂幸宏、宇野文二、鳥村政基、廣川健、村上博哉、石濱泰、CE 濃縮注入 オンライン陽イオン錯体化 - ESI-MS 法による損傷ヌクレオチド検出、第 35 回キャピラリー電気泳動シンポジウム、2015 年 11 月 5 日、岡山大学（岡山県岡山市）

江坂幸宏、宇野文二、鳥村政基、廣川健、村上博哉、石濱泰、損傷ヌクレオチド高感度検出のための CE 濃縮注入オンライン錯体化 ESI-MS 法の開発、日本分析化学会第 65 年会、2015 年 9 月 10 日、九州大学（福岡県博多市）

江坂幸宏、宇野文二、鳥村政基、廣川健、村上博哉、石濱泰、CE 濃縮注入 オンライン錯体化 ESI-MS 法による損傷ヌクレオチド検出法の開発、第 28 回バイオメディカル分析科学シンポジウム、2016 年 9 月 2 日、長崎大学（長崎県長崎市）

6. 研究組織

(1) 研究代表者

江坂 幸宏 (ESAKA, Yukihiro)
岐阜薬科大学 薬学部・准教授
研究者番号：70244530

(3) 連携研究者

石濱 泰 (ISHIHAMA, Yasusi)
京都大学 薬学研究科・教授
研究者番号：30439244

村上 博哉 (MURAKAMI, Hiroya)
愛知工業大学 工学部・准教授
研究者番号：40515128

鳥村 政基 (TORIMURA, Masaki)
国立研究開発法人産業技術総合研究所
イノベーション推進本部・総括企画主幹
研究者番号：40357588