

磁気双極子相互作用を考慮した磁性ナノ粒子の磁化特性に関する基礎研究

池田一貴、笹山瑛由、吉田敬
(九州大学)

Basic study of the effect of magnetic dipole interaction on magnetization properties of magnetic nanoparticles

Kazuki Ikeda, Teruyoshi Sasayama, Takashi Yoshida
(Kyushu University)

はじめに

近年、磁性ナノ粒子を用いた磁気粒子イメージングや磁氣的免疫検査などの医療応用が注目されている。磁性ナノ粒子はターゲットに対し、複数個結合する場合が想定される。本研究では、1つのターゲットに結合している2つの磁性ナノ粒子を想定し、磁気双極子相互作用を考慮した磁性ナノ粒子の交流励磁化特性について数値計算を行ったので以下に報告する。

解析方法

Fig.1のように2つの磁性ナノ粒子がターゲットに結合している場合を考える。交流励起磁界 $H_{ex} = \mu_0 H_{ac} \sin \omega t$ をz軸方向とし、2つの磁性ナノ粒子の位置関係 θ を0度（外部磁界に対して平行）、45度、90度（外部磁界に対して垂直）の3パターンに設定した。磁化容易軸の方向はランダムとし、Fig.2のように θ_1, θ_2 と φ_1, φ_2 をそれぞれ独立に設定した。磁気双極子相互作用を考慮した場合、有効磁界 \vec{H}_{eff} は次の式で表すことができる。

$$\vec{H}_{eff} = \vec{H}_{ex} + \frac{2K}{M_s} (\vec{u} \cdot \vec{n}) \vec{n} + \sum_j \frac{1}{4\pi r_j^3} \left(\frac{3\vec{m}_j \cdot \vec{r}_j}{r_j^2} \vec{r}_j - \vec{m}_j \right) + \vec{H}_{th} \quad (1)$$

ここで、第一項は励起磁界、第二項は異方性磁界、第三項は双極子相互作用磁界、第四項は熱雑音磁界であり、 \vec{u} は磁化の向きを、 \vec{n} は磁化容易軸の向きを表している。本研究では、 \vec{n} は固定されているとし、ネール緩和のみを考慮した。各パラメータは $\mu_0 H_{ac} = 20 \text{ mT}$, $f = \omega/2\pi = 100 \text{ kHz}$, $r = 40 \text{ nm}$, $d_c = 20 \text{ nm}$, $M_s = 400 \text{ kA/m}$, $K = 10 \text{ kJ/m}^3$ とした。ここで、 M_s, K はそれぞれ飽和磁化、磁気異方性定数を表す。LLG方程式により $(\theta_1, \theta_2, \varphi_1, \varphi_2)$ に対する磁化を計算し、それらから3パターンに対する平均磁化を求めた。

解析結果

磁性ナノ粒子の位置関係 $\theta (= 0, 45, 90 \text{ deg})$ に対する $M-H$ 曲線をFig.3に示す。なお、黒線は、2つの磁性ナノ粒子が十分に遠い場合を表す。 θ に対する3つの $M-H$ 曲線は、磁気双極子相互作用の影響を無視できる場合に比べて最大磁化は小さくなった。これは、2つの磁性ナノ粒子がランダムな方向を向いている場合、平均すると磁気双極子相互作用により有効磁界が小さくなったためだと考えられる。一方、ヒステリシスの面積は小さくなっているため、ターゲットに対して2つの磁性ナノ粒子が結合している場合、交流励起磁界に対する磁化の応答性が向上していると考えられる。次に、 θ を大きくするとヒステリシスの面積はわずかに小さくなっている。詳細な結果については、当日発表予定である。

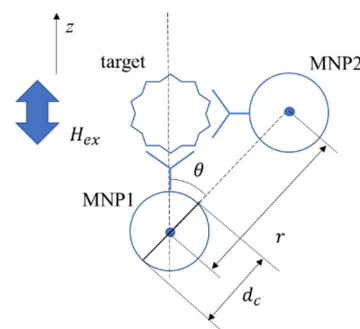


Fig.1 Magnetic Nanoparticles (MNPs) and target

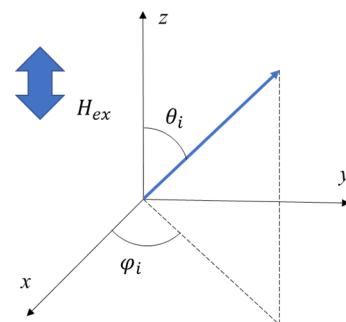


Fig.2 Axis of easy magnetization and polar coordinate system

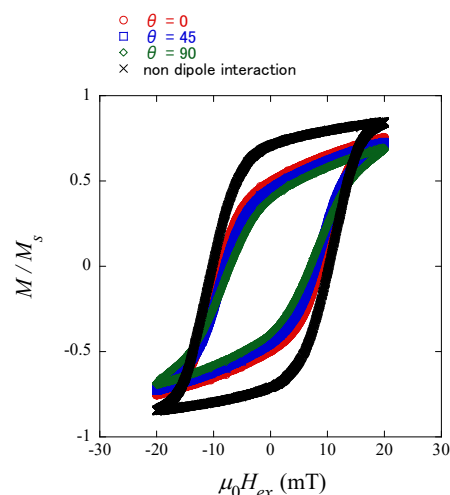


Fig.3. $M-H$ curve

高調波スペクトルを用いた磁性ナノ粒子の固相・液相状態の識別

五藤仁哉、山村柊哉、圓福敬二、吉田敬
(九州大学)

Discrimination of solid and liquid phase states of magnetic nanoparticles using harmonic spectra.

Jinya Goto, Shuya Yamamura, Keiji Enpuku, Takashi Yoshida
(Kyushu University)

はじめに

近年、磁気応用による医療診断技術が注目されており、その中の一つに磁性ナノ粒子からの高調波磁化信号を検出し対象の位置を特定する、磁気粒子イメージング(MPI)がある。本研究では、MPIでの使用が検討されている磁性ナノ粒子 Synomag を使用して液相と固相の混合した試料を複数作製し、第三、五高調波の実部の信号を用いて両者の割合を推定することを目指した。

高調波磁化信号と液相・固相状態識別の原理

液相試料(Free 粒子)と固相試料 (Bound 粒子) では磁気緩和に違いが生じるため、交流励起磁界を印加した際の高調波磁化信号に差異が生じる。Free と Bound が共存した試料の第三、五高調波信号 M_{3R} , M_{5R} は以下のように与えられる。

$$M_{3,R} = n_F m'_{3,F} + n_B m'_{3,B}$$

$$M_{5,R} = n_F m'_{5,F} + n_B m'_{5,B}$$

ここで、 $m'_{i,F}$ と $m'_{i,B}$ ($i=3,5$) は Free と Bound 粒子 1 個の信号であり、予め測定することができる。また、未知数は Free と Bound 粒子の個数 n_F と n_B である。従って、 M_{3R} と M_{5R} の測定値をこの式に代入することで n_F と n_B を求めることが出来る。本実験では n_F と n_B の割合を変化させた試料を準備し、第三、第五高調波の実部から n_F と n_B の割合の推定を行った。

実験結果

液相・固相混合試料としては、Synomag(micromod, Germany) と呼ばれる磁性ナノ粒子を使用し、固相と液相の合計試料体積を 300 μ L、合計鉄量を 800 μ gFe 一定とした。固相の割合 x は $x=0$ から 0.25 刻みで 1 まで変化させた。固相試料の作製にはエポキシ樹脂を、液相試料の作製には精製水を用いた。励起磁界は振幅 20 mT、周波数は 20 kHz とした。

Fig 1(a)に測定信号と x の関係を示す。図に示すように x の増加とともに測定信号は減少する。この結果を用いて、Free と Bound 粒子の個数 n_F と n_B を推定した結果を Fig. 1(b)に示す。高調波磁化信号を利用することで、液相と固相の状態推定が行えていることが分かる。しかし、推定誤差が大きいため、改善が必要である。

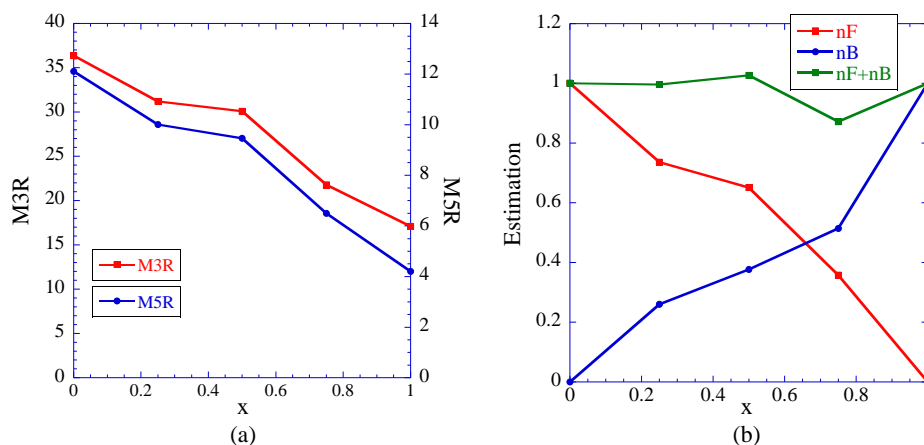


Fig 1. (a) Relationship between x and harmonic signals. (b) Estimation of n_F and n_B

液体腫瘍細胞検出のための磁気免疫検査法の開発

坪田美咲、山下慶、岸本航平、黒田滉人、王璿、堺健司、紀和利彦
(岡山大)

Development of magnetic immunoassay for detection of liquid tumor cells
M. Tsubota, K. Yamashita, K. Kishimoto, H. Kuroda, J. Wang, K. Sakai, T. Kiwa
(Okayama Univ.)

はじめに

免疫反応学を利用した臨床診断は患者の疾患を評価する上で重要な役割を果たしている。現在、新しい免疫検査の手法として、磁気免疫検査法の研究が進められている。この手法は従来の免疫検査と比べ、前処理が不要で液相のまま測定可能であることから検査時間の大幅な短縮が期待されている。本研究では腫瘍細胞を高感度に検出するための磁気免疫検査法の開発を試みた。

測定方法

磁気免疫検査では、磁気ナノ粒子に抗体を付加した磁気マーカーを用いる。抗原と磁気マーカーを結合させることで粒径が増加し、磁気モーメントの緩和時間が変化する。この変化を磁気信号の変化として検出することで抗原・抗体反応の有無を計測する。

本研究で使用した磁気免疫検査装置を Fig. 1 に示す。印加コイルにより 1kHz, 8mT_{pp} の交流磁場をサンプルに印加

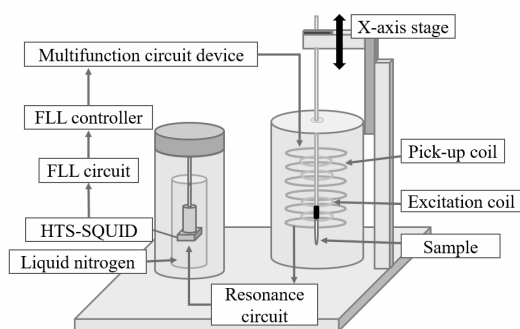


Fig.1 System configuration of magnetic immunoassay device.

し、サンプルから得られた 2 次的な磁場を印加コイルと同軸に配置した 1 次微分コイルのピックアップコイルで検出。HTS-SQUID へ伝達する。得られた磁気信号の 3 次高調波をロックイン検波することで印加磁場に線形な水の反磁性成分を除去し、磁気マーカーから発生する磁場のみを検出することが可能である。本研究では、磁気ナノ粒子としてストレプトアビジンでコーティングされた FG beads (多摩川精機) を用いた。この磁気ナノ粒子に Anti-p53 抗体と結合させることで磁気マーカーを作成した。抗体の結合では混合物をローテーターで結合し、その後ネオジウム磁石で結合物を集める工程を繰り返し 3 回行った。

測定結果

本研究では、計測対象として乳がん細胞(MCF-7/TAMR-1, 1×10^6 cell/vital, Sigma-Aldrich)を用いた。Anti-p53 抗体は、乳がん細胞に含まれる p53 タンパク質と特異的に結合する。以下の 3 つの試料を調整し、50 μ L を取り出して計測を行った。

- (a) 磁気マーカーのみ
- (b) MCF-7 + FG beads(抗体なし)
- (c) MCF-7 + 磁気マーカー

(b)は MCF-7 が存在する状態で、MCF-7 と FG beads が未結合であることを確認するために、Anti-p53 抗体が結合していないものを用いた。

全サンプルをそれぞれ 3 回ずつ測定し、平均した信号強度の結果を Fig. 2 に示す。磁気マーカーのみの(a)と MCF-7 と結合している(c)とでは、(c)の方が 6.49 μ V_{pp} ほど高くなった。また、(a)と(c)の中間地点である(b)では信号強度が一度高くなることが分かった。これより、MCF-7 と磁気マーカーが結合しているときとそうでないときの信号強度の差を見出すことができた。

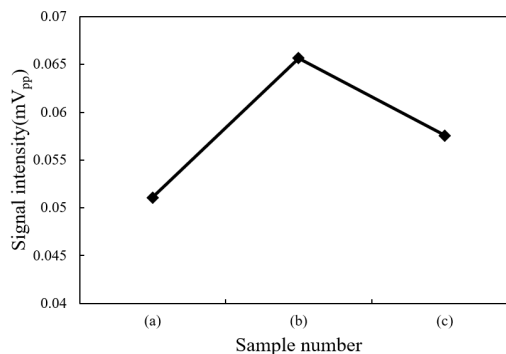


Fig.2 Average signal intensity of sample(a) to (c).

スイッチ磁界に対する磁性ナノ粒子の応答性を利用した多菌種検出

高橋隼之介*, 小野寺英彦**, 村山徹**, トンタットロイ*, 沖田和彦**, 桑波田晃弘*, 藪上信**,
大坪和香子*, 横田琴音**, 古谷真衣子*, 金高弘恭*, 三浦由則**, 高橋英樹***
(*東北大学, **東北学院大学, ***ジーエヌエス有限会社)

Measurement of multiple bacteria species using magnetic nanoparticles by switching magnetic field

S. Takahashi*, H. Onodera**, T. Murayama**, L. Tonthat*, K. Okita**, A. Kuwahata*, S. Yabukami**,
W. Ohtsubo*, K. Yokota**, M. Furuya*, H. Kanetaka*, Y. Miura**, H. Takahashi***

(*Tohoku University, **Tohoku Gakuin University, ***JNS Co., Ltd.)

1 はじめに

口腔の細菌叢は歯周病, う蝕, 肺炎と相関性があり¹⁾, これまでに高齢者施設等での臨床現場即時検査 (Point Of Care Testing: POCT) 向けの細菌検出システムを開発した²⁾. 今回 POCT で求められる簡便かつ高速な細菌検出器というニーズに対応するために6チャンネル同時測定可能な本装置を開発した.

2 計測原理・方法

本装置では, 磁性ナノ粒子と細菌を抗原抗体反応により結合させた試料への印加磁界を交互に反転させる事で, 試料の磁化反転の変化から細菌量を検出した. 試料を永久磁石により試料容器の底に集め, 次に励磁コイル上で凝集させ, 励磁コイルと磁界センサ上を回転移動させた. 1回転毎に励磁コイル上で試料を停止させ磁界を印加し, 2回転を1組とし印加磁束密度を段階的に増加させた. 磁界の印加時間は30秒程度で磁束密度は最大100 mT程度とし, 1回転毎に反転させた. Fig. 1は本システムの主要構成の写真である. 本システムは6組の試料容器, 回転機構, 永久磁石 (NdFeB 磁石, 5 mm×4 mm×3 mm) と, 磁性ナノ粒子からの漏れ磁界を検出するセンサ (ジーエヌエス製 MI センサ) 1つから構成され, 同時に6チャンネルでの測定が可能である. 試料は Protein A でコーティングされた磁性ナノ粒子 (Nanomag-D, 平均粒径 0.5 μm) と1次抗体 (ウサギ抗血清 Anti-*B. longum*) を結合させた後, ビフィズス菌 (*B. longum*) 10⁶ CFU/ml と抗原抗体反応をさせた. また, コントロールとしてビフィズス菌なし (0 CFU/ml) の試料を用意した.

3 計測結果

Fig. 2は1チャンネル構成の実験装置を用いた測定後の試料の顕微鏡写真及び磁化反転の経過を表した評価値をスイッチ磁界 (反転させた印加磁界) の磁束密度に対して表したものである. 測定後の試料の凝集はビフィズス菌が0 CFU/mlの場合より, 10⁶ CFU/mlの場合の方が大きかった. これは磁性ナノ粒子とビフィズス菌が結合し, 更に共に凝集している

為であると考えられる. また Fig. 2のグラフより, スwitch磁界が大きくなるにつれて評価値が減少する様子が分かり, ビフィズス菌0 CFU/mlよりも10⁶ CFU/mlの試料の評価値の減少が早いことから, ビフィズス菌が検出できた. この違いは凝集の様子が異なる事で, より強く凝集したビフィズス菌が0 CFU/mlの試料ではブラウン緩和が起こりにくく, 磁化反転し難くなった為だと考えられる.

謝辞 本研究の一部は JST COI TOHOKU プロジェクトの研究成果である. 本研究の一部は JST ASTEP の成果である.

参考文献

- 1) M. Lu, S. Xuan, Z. Wang, *Food Science and Human Wellness*, 8 (1), 8–15 (2019).
- 2) S. Takahashi *et al.*, Technical Meeting on Mag. IEE Japan, MAG-19-233 (2019).

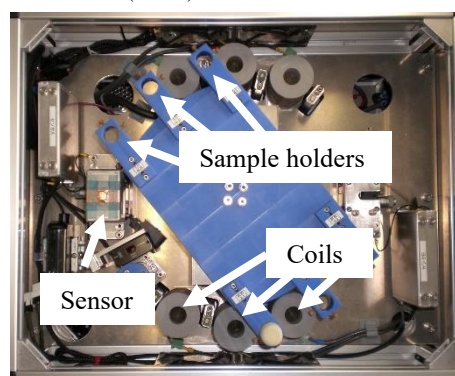


Fig. 1 The Overview of our device.

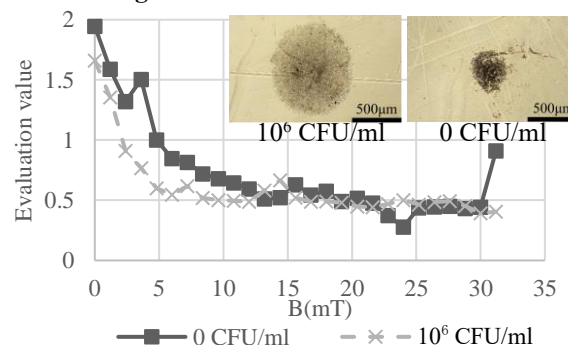


Fig. 2 Picture of samples after measurements and Evaluation value as a function of Magnetic flux.

抗体を直接吸着させた磁性ナノ粒子の抗原抗体反応の評価

米山 毅, 村山 徹*, トンタット ロイ, 桑波田 晃弘, 藪上 信,
佐藤 佑哉**, 寺村 裕治***, 大坪 和香子, 小川 智之

(東北大学, *東北学院大学, **東京大学, ***産業技術総合研究所)

Evaluation of antigen-antibody reaction of magnetic nanoparticles with directly adsorbed antibodies

Tsuyoshi Yoneyama, Toru Murayama*, Loi Tonthat, Akihiro Kuwahata, Shin Yabukami

Yuya Sato**, Yuji Teramura***, Wakako Ohtsubo, Tomoyuki Ogawa,

(Tohoku Univ., *Tohoku Gakuin Univ., **The University of Tokyo,

***National Institute of Advanced Industrial Science and Technology)

1. はじめに

磁性ナノ粒子⁽¹⁾ (Magnetic nanoparticles, 以下 MNP と略する) を用いた低コスト微生物検知システムを実現するために, タンパク質で被覆されていない MNP 表面に直接抗体を吸着させ抗原と反応させることを目指し, MNP 表面にビフィズス菌抗体を直接吸着させ抗原抗体反応が起こることを評価した。

2. 実験方法

MNP は, 界面活性剤にオレイルアミンを用い熱分解法で合成したマグネタイト (Fe_3O_4) ナノ粒子 (平均粒径 4 nm) である。抗体は, ビフィズス菌抗体 (Anti-*B. longum*) を含むウサギ抗血清 (抗体濃度 90 mg/mL) である。PBS を用いて, MNP の濃度条件を 1, 0.5, 0.1 mg/mL, 抗体の濃度条件を 10, 1, 0.1 mg/mL とし合計 9 サンプルを作製した。抗体と MNP を結合させるために, ロータリーシェーカーを用いて 30 分間反応させた。MNP を遠心分離 (3000 rpm, 5 min) し, 磁気スタンド上で上清を除去, PBS で洗浄した。MNP に吸着した抗体量を定量するために Micro BCA 法を用いた。96 穴マイクロプレートにサンプルおよび BCA 試薬 (Dual-Range BCA Protein Assay Kit, VISUAL PROTEIN) を入れて反応させ, マイクロプレートリーダー (MULTISKAN FC, Thermo Scientific) で吸光度 (波長 560 nm) を測定し抗体量を算出した。抗原抗体反応が起こることを確認するために, 抗体が吸着した各サンプル 100 μL と, ビフィズス菌 (*B. longum*, 10^6 CFU/mL) 100 μL を混合しロータリーシェーカーを用いて 30 分間反応させた。磁気スタンドで MNP を集めて上清を除去し, PBS で洗浄した。サンプルに DAPI 溶液を 50 μL 混合し, ビフィズス菌の DNA を染色し, 倒立顕微鏡 (CKX53, OLYMPUS) で観察した。

3. 結果

コントロール (MNP のみ) との吸光度の差分から, 各サンプルの抗体吸着量を MNP 1 mg あたりに規格化した結果を Fig. 1 に示す。全てのサンプルにおいて, 15 $\mu\text{g}/\text{mg}$ の抗体が MNP に結合していることを確認した。1 サンプル (0.1/10) を除いて, 抗体の吸着量は MNP の濃度に大きく依存しないと考えられる。Fig. 2 は, ビフィズス菌染色後の抗体-MNP を倒立顕微鏡で撮影した画像である。96 穴マイクロプレ

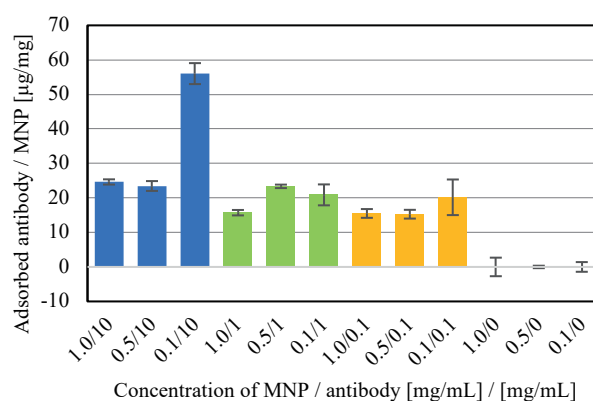


Fig. 1. Antibody adsorption amount for each sample.

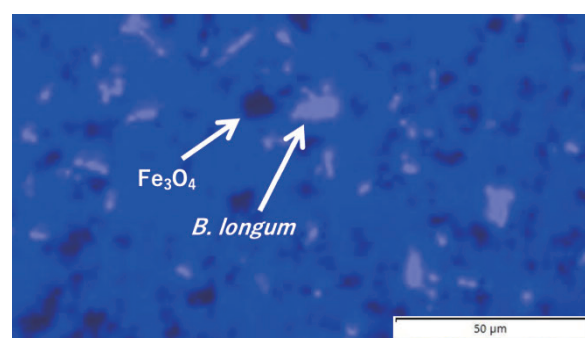


Fig. 2. Inverted microscope image (x400) of antibody-magnetic nanoparticles after staining *B. longum*.

ートに各サンプルを 200 μL ずつ入れ, 紫外線を照射し観察した。ビフィズス菌の DNA と結合した DAPI の蛍光発色が見られ, ビフィズス菌が抗体-MNP と結合していることが確認できた。

4. まとめ

MNP の表面にビフィズス菌抗体を直接吸着させ, 抗原が結合していることを観測した。今後, 抗体-MNP と抗原の結合量を定量するため, その測定方法を検討中である。

謝辞

本研究は JST COI, JST ASTEP, 科研費基盤 C (21K04090) の研究成果である。

参考文献

- (1) Y. Teramura, Y. Arima, H. Iwata, *Analytical Biochemistry* 357 (2006) 208-215.