

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K14277

研究課題名(和文) 磁気マーカー抗体の磁場中結合反応法の開発と磁氣的医療検査・治療技術への応用

研究課題名(英文) Magnetic-field assisted binding method between magnetic markers and targets for biomedical applications

研究代表者

圓福 敬二 (ENPUKU, Keiji)

九州大学・超伝導システム科学研究センター・教授

研究者番号：20150493

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、磁気マーカーと細胞との結合反応を磁界中で行う「磁場中結合反応法」と呼ぶ新規な手法を開発した。本手法を用いることにより、磁気モーメントが揃った状態で磁気マーカーを細胞に結合することが出来る。最初に、磁気粒子の溶液中でのブラウン緩和特性を明らかにし、その結果を基に、本手法で用いる反応磁界の大きさを選定した。次に、本手法を用いることにより、細胞に結合した磁気マーカーのヒステリシス損や高調波スペクトル等の磁気特性を大きく改善できることを示した。この結果は数値シミュレーションによる予測と定量的に一致した。最後に、磁気マーカーを用いたバイオセンシングに本手法を適用しその有効性を示した。

研究成果の概要(英文)：We have developed a new binding method between magnetic markers and targets for biomedical applications. In this method, magnetic field is applied during the binding reaction so as to prevent the Brownian rotation of the markers in solution. As a result, magnetic moments of all the bound markers can be aligned in the direction of applied field. First, we determine the strength of the magnetic field that is necessary to align the magnetic moment. Next, we show that the magnetic properties of the bound markers, such as harmonic spectra and hysteresis loss, are significantly improved with this method. Finally, we apply the method to improve the performance of biosensing using magnetic markers.

研究分野：計測工学

キーワード：磁気マーカー ブラウン運動 バイオセンシング 磁気粒子イメージング 磁氣的ハイパーサーミア

1. 研究開始当初の背景

磁気ナノ粒子を高分子で被覆し、その表面に検査抗体や薬剤を結合したものは磁気マーカーと呼ばれており、体内診断のための「磁気粒子イメージング」や、がん治療のための「磁氣的ハイパーサーミア」などへの応用が研究されている。磁気マーカーを用いたこれらの検査・治療技術はこれまでにない新しい医療技術であり、その開発に大きな期待が寄せられている。

しかしながら、その実現のためにはまだ多くの課題を解決する必要がある。特に、上記の応用では細胞に結合した磁気マーカーから大きな高調波スペクトルやヒステリシス損を発生させることが重要となる。このための手法を開発し、磁気マーカーの持つポテンシャルを最大限に発揮させる必要がある。

2. 研究の目的

細胞に結合した磁気マーカーは磁気粒子の集合体であり、その磁気特性は磁気モーメント m の揃い具合に大きく依存する。本研究ではこの事に注目し、磁気マーカーと細胞の結合を磁場中で行う、「磁場中反応法」と呼ぶ新たな手法を開発する。即ち、磁気マーカーの溶液中でのブラウン回転運動を磁界でコントロールした状態で細胞との結合反応を行わせる手法である。これにより、磁気モーメント m が揃った状態で磁気マーカーを細胞に結合できる。

本研究では、「磁場中反応法」の機構を定量的に明らかにするとともに、磁気マーカーの特性に応じた本手法の最適化法を示す。また、細胞に結合した磁気マーカーの磁気特性の評価や検査実験により、本手法の有効性を示す。

3. 研究の方法

本研究では、「磁場中反応法」と呼ぶ新規な手法を以下の方法により開発する。

(1) 磁気粒子の溶液中でのブラウン磁気緩和特性を明らかにする。またこの結果を基に、「磁場中反応法」に用いる反応磁界の大きさを磁気マーカーの特性に応じて最適化するための手法を示す。

(2) 磁気粒子サンプルのヒステリシス損や高調波スペクトルに対する「磁場中反応法」の効果を明らかにする。

(3) 「磁場中反応法」を用いた磁気マーカーと細胞との結合反応の模擬実験を行い、本手法の有効性を示す。

4. 研究成果

(1) 磁場中反応に用いる磁界の大きさ

最初に磁場中結合反応に必要な外部磁界 B の大きさを求めた。磁気粒子は溶液中では熱雑音によりブラウン回転しており、磁気モーメント m の向きはランダムになる。外部から磁界 B を印加すると磁気モーメントの向き

は磁界の方向に揃い始める。その結果、磁気マーカーの磁化 M は以下の式で与えられる。

$$M = M_s L(\xi) = M_s (\coth(\xi) - 1/\xi) \quad (1)$$

$$\xi = mB/k_B T \quad (2)$$

ここで、 M_s は飽和磁化、 k_B はボルツマン定数、 T は絶対温度である。

図 1(a) に磁化 M とパラメータ ξ の関係を示す。図に示す様に、 M/M_s の値は ξ とともに増加する。これは、外部磁界 B の増加により磁気モーメント m の揃い具合が大きくなる事に対応している。なお、 ξ の値が無限大では磁気モーメント m は完全に揃い、この場合の M/M_s の値は 1 に飽和する。

図 1(a) に示す様に、 $\xi = 4$ の場合には $M/M_s = 0.75$ となる。この場合には、75% の磁気モーメントが揃うことになる。従って、 $\xi = 4$ を磁場中結合反応の条件とした。(2) 式に示す様に、 $\xi = 4$ の条件を満たす磁界 B は磁気モーメント m の大きさに依存する。図 1(b) に $\xi = 4$ を与える B と m の関係を示す。この図から、使用する磁気マーカーの m に対応して、磁場中結合反応に必要な磁界 B を求めることが出来る。

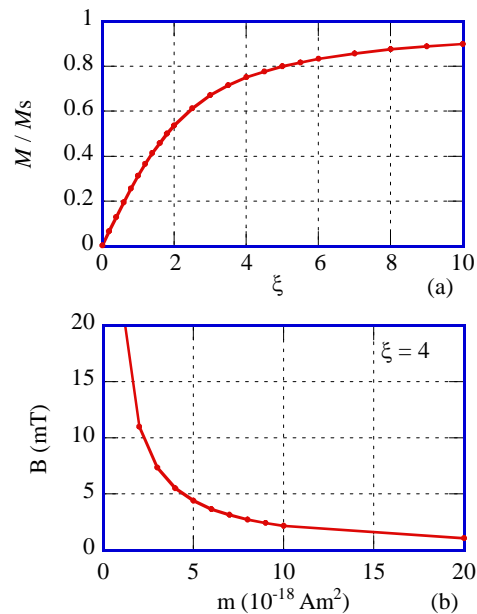


図 1 . (a) 溶液中の磁気粒子の磁化特性。パラメータ ξ の増加とともに磁気モーメント m が揃い、磁化 M が増加する。(b) $\xi = 4$ を与える B と m の関係。

(2) 磁場中反応による磁気特性の改善

磁場中結合反応による磁気特性の変化を実験と数値シミュレーションにより調べた。実験では細胞に結合した磁気マーカーを模擬するため固相化した磁気マーカーを用いた。エポキシ樹脂を用いて磁気マーカーを固相化する際に磁界 B を印加し、磁気モーメント m の向きを揃えた。

なお、市販の磁気粒子ではサンプル内で磁気モーメント m が広く分布している。使用した磁気粒子サンプル (Resovist) の m の分布を図 2(a) に示す。図に示す様にこのサンプルでは $m = 2.4 \times 10^{-18} \text{ Am}^2$ 近傍の磁気モーメントを持つ粒子が多く含まれる。このため、図 1(b) の結果を用いて、反応磁場として $B = 16 \text{ mT}$ を用いた。

図 2(b) に磁場中結合反応の効果を示す。実験では、振幅 20 mT、周波数 20 kHz の交流励起磁界 B_{ex} を印加した時の磁気粒子サンプルの動的磁化特性を測定した。図の 印は磁場中結合反応を用いた場合の結果であり、印は磁場中結合反応を用いない場合の結果である。図に示す様に、磁場中結合反応を用いることにより、磁化特性に大きなヒステリシスが得られている。この事は磁気モーメントの向きを揃える事によりヒステリシス損を増大出来る事を示しており、本手法の有効性が示された。なお、図の実線は数値シミュレーションの結果であり、実験結果と定量的に一致している。

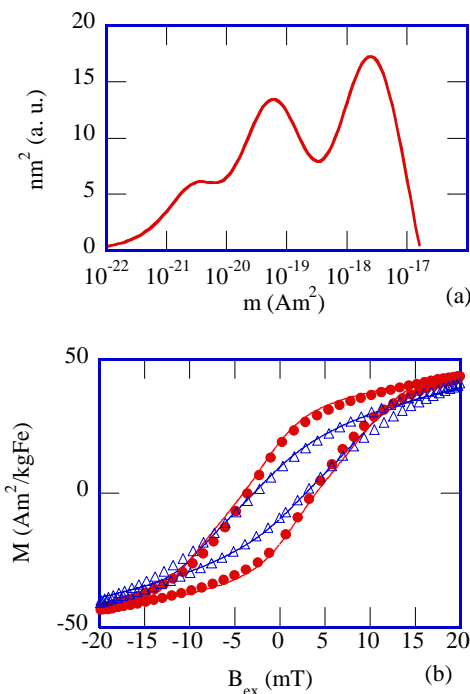


図 2 . (a) 磁気粒子サンプル(Resovist) 内の磁気モーメント m の分布。 (b) 固相化した磁気粒子サンプルの動的磁気特性。 印と印は磁場中結合反応を用いた場合と用いない場合の結果。実線は数値シミュレーションの結果。

次に、磁気粒子から発生する高調波スペクトルの測定結果を示す。実験では振幅 20 mT、周波数 20 kHz の交流励起磁界 B_{ex} を印加した時のスペクトルを測定した。図 3 の 印と印は磁場中結合反応を用いた場合と用いない場合の結果を示している。図の横軸は高

調波の次数 k であり、縦軸は高調波の大きさ M_k を示す。図に示す様に、磁場中結合反応を用いることにより、大きな高調波スペクトルが得られており、本手法の有効性が示された。

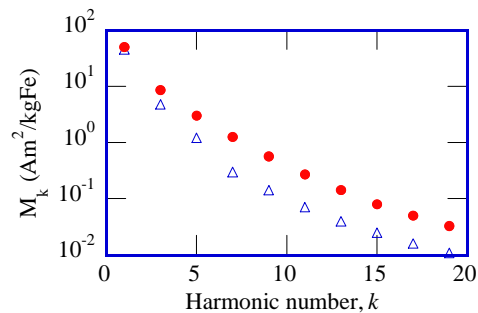


図 3 . 磁気粒子サンプル(Resovist) から発生する高調波スペクトル。 印と印は磁場中結合反応を用いた場合と用いない場合の結果。

(3) 磁場中反応法を用いた免疫検査実験

磁気マーカーを細胞に結合する際の磁場中結合反応の効果調べる模擬実験を行った。図 4 に実験の模式図を示す。図の polymer beads (直径 3.3 μm) が細胞を模擬した物であり、その表面にビオチンを固定化している。アビジンを付加した磁気マーカーをビオチン・アビジンの結合反応により polymer beads に結合させる。この結合過程において反応磁場を用いない場合は、図 4(a) に示す様に磁気マーカーの磁気モーメント m はランダムな方法に向いて結合する。一方、反応磁場を用いると、図 4(b) に示す様に m を揃えて磁気マーカーを結合させることが出来る。

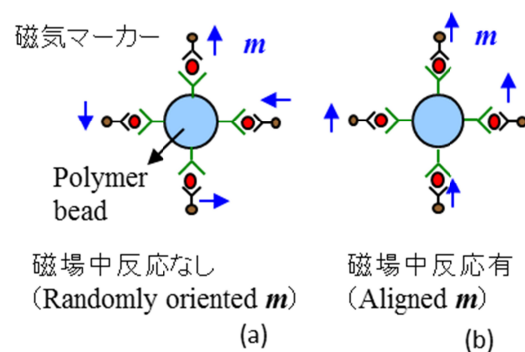


図 4 . Polymer beads に結合した磁気マーカーの磁気モーメント m 。 (a) 磁場中結合反応を用いない場合、 (b) 磁場中結合反応を用いた場合

図 5 に polymer beads に結合した磁気マーカーからの磁気信号を測定した結果を示す。図の横軸は polymer beads の数 N_p (細胞の数に対応) であり、縦軸は磁気信号の強さを表す。図の 印と印は磁場中結合反応を用

いた場合と用いない場合の結果を示している。図に示す様に、磁場中反応を用いることにより磁気マーカーからの信号を大きく出来る事が分かる。これは、磁気モーメントの向きを揃える事により磁気信号の大きさを増大出来る事を示しており、本手法の有効性が示された。

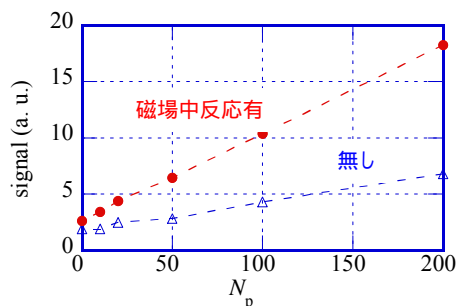


図5. Polymer beads に結合した磁気マーカーからの磁気信号と bead の数 N_p の関係。印と 印は磁場中結合反応を用いた場合と用いない場合の結果。

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 6 件)

高藤佳嗣、入江康、吉田敬、圓福敬二、「磁気マーカーを用いた液相でのバイオ物質検出」、九州大学システム情報科学紀要, vol. 23, 1-7 (2018)、査読有。

T. Sasayama, T. Yoshida, and K. Enpuku, "Relationship between harmonic spectra and coercive field of immobilized magnetic nanoparticles", Jpn. J. Appl. Phys. vol. 56, 025001 (2017)、査読有。

K. Enpuku, Y. Tsujita, K. Nakamura, T. Sasayama and T. Yoshida, "Biosensing utilizing magnetic markers and superconducting quantum interference devices", Supercond. Sci. and Technol, vol. 30, 053002 (2017)、査読有。

T. Yoshida, Y. Matsugi, N. Tsujimura, T. Sasayama, K. Enpuku, T. Viereck, M. Schilling and F. Ludwig, "Effect of alignment of easy axes on dynamic magnetization of immobilized magnetic nanoparticles", J. Magn. Magn. Mater., vol. 427, 162-167 (2017)、査読有。

K. Enpuku, T. Sasayama, and T. Yoshida, "Estimation of Magnetic Moment and Anisotropy Energy of Magnetic Markers for Biosensing Application", J. Appl. Phys. vol. 119, 184902 (2016)、査読有。

辻田 祐也、牟田 雅浩、笹山 瑛由、圓福敬二、「マルチ検出コイルを用いた磁気ナノ粒子の三次元イメージング」、電子情報通信学会技術報告, SCE2016-24, pp. 47-52 (2016)、査読なし。

[学会発表](計 8 件)

中村 啄流, 東 大路, 松木 優樹, 吉田 敬, 圓福 敬二、「磁気ナノ粒子の磁気分画法の開発及び磁気粒子イメージングの高感度化に関する検討」、電気学会、2018年3月、九州大学(福岡)

高藤 佳嗣、入江 康太、秋吉 一輝、笹山 瑛由、吉田 敬、圓福 敬二、「磁気マーカーを用いた液相でのバイオ物質検出」、電子情報通信学会 超伝導エレクトロニクス研究会、2018年1月、機械振興会館(東京)

Ahmed L. Elrefai, T. Sasayama, T. Yoshida, and K. Enpuku, "Empirical Expression for DC Magnetization Curve of Immobilized Magnetic Nanoparticles for Use in Biomedical Applications", Int. Conf. on Magnetism and Magnetic Materials 2017年11月、Pittsburgh, (USA).

K. Enpuku, Y. Takafuji, K. Irie, T. Sasayama, and T. Yoshida, "Detection of Biological Targets Using HTS SQUID and Magnetic Markers", European Conference on Applied Superconductivity, 2017年9月、Geneva (Switzerland).

K. Enpuku, "Improved liquid-phase detection of biological targets based on Brownian relaxation of magnetic markers", International Conference of the Asian Union of Magnetic Societies (ICAUMS), 2016年8月、Tainan (Taiwan)

T. Yoshida, Y. Matsugi, T. Sasayama, and K. Enpuku, "Effect of Alignment of Magnetic Easy Axes on AC Magnetization of Immobilized Magnetic Nanoparticles", International workshop on magnetic bio-sensing, 2016年9月、Fukuoka (Japan).

笹山 瑛由、吉田 敬、圓福 敬二、「磁気ナノ粒子の交流磁化特性の磁界強度および周波数依存性」、日本磁気学会、2016年9月、金沢大学(金沢)

松木 優樹、吉田 敬、笹山 瑛由、圓福 敬二、「固相磁気ナノ粒子における磁化容易軸の配向が磁化動特性に及ぼす影響」、電気学会マグネティクス研究会、2016年9月、横浜国立大学(横浜)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.sc.kyushu-u.ac.jp/~enlab/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

圓福 敬二 (ENPUKU, Keiji)

九州大学・超伝導システム科学研究セン

ター・教授

研究者番号：20150493

(2)研究分担者

吉田 敬 (YOSHISA, Takashi)

九州大学・システム情報科学研究院・准教

授

研究者番号：30380588