

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 8 日現在

機関番号：82110

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15604

研究課題名（和文）電気泳動法によるアクチノイド及び放射性Srの精密分離-超高感度検出-回収法の開発

研究課題名（英文）Development of precise separation and fraction collection method with highly sensitive detection for actinide ions and radioactive strontium ions by way of electrophoresis

研究代表者

原賀 智子（Haraga, Tomoko）

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究部門 原子力科学研究所 バックエンド技術部・研究主幹

研究者番号：80715227

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：放射性試料中のアクチノイド及び放射性ストロンチウムに対する安全な分析法を構築するため、簡易な分析システムであるキャピラリー電気泳動法（CE）やポリアクリルアミドゲル電気泳動法（PAGE）などの電気泳動分離場を基盤とする精密分離-超高感度検出-回収法を開発した。超高感度検出に必要なCEやPAGEで機能する蛍光性試薬（蛍光プローブ）の開発において、これまでになかったネプツニウムイオン及びストロンチウムイオン検出用蛍光プローブを開発するとともに、放射性試料の分析に適用可能な精密分離回収法の開発に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

福島第一原子力発電所の事故以降、放射性物質に対する分析ニーズが高まる中で、本研究成果は、放射性試料中のアクチノイド及び放射性ストロンチウムに対する安全・簡易・迅速な新しい分析法の基盤となる技術を提供するものである。本研究では、電気泳動分離場で機能するネプツニウムイオン及びストロンチウムイオン検出用蛍光プローブを開発するとともに、従来技術では困難であった精密分離回収法の開発に成功した。本研究において開発した精密分離回収法は、当初目的とした放射性試料のほか、DNAアプタマーなどの診断薬や治療薬としての応用が期待されている物質にも適用可能であることを実証し、幅広い分野への応用が期待できる。

研究成果の概要（英文）：Precise separation and fraction collection method with highly sensitive detection for actinide ions and radioactive strontium ions in radioactive samples by way of capillary electrophoresis (CE) and polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) was developed. We designed emissive probes for the detection of neptunium ions and strontium ions that functions in CE and PAGE, and have developed a precise separation and fraction collection method that can be applied to the analysis of radioactive samples.

研究分野：分析化学，放射化学分析

キーワード：キャピラリー電気泳動法 ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 アクチノイドイオン 放射性ストロンチウムイオン 高感度検出-精密分離回収 簡易・迅速スクリーニング 蛍光プローブ 化学ライブラリ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

福島第一原子力発電所の事故以降、環境試料のモニタリングや放射性廃棄物の分析など、放射性物質に対する分析ニーズが高まっている。アクチノイド(An)は長半減期核種が多く、放射性ストロンチウム(Sr)のSr-90は発生量が多いため、廃棄物の処分安全評価において重要な核種である。従来の分析法では、様々な共存核種や元素から目的となる極微量のAnや放射性Srを抽出クロマトグラフィー等により手作業で化学分離した後、質量分析または放射線測定しており、分離から測定まで数日~数週間を要することもある。特に、共存核種の影響により放射線量の高い試料では、被ばくリスクが高く、作業環境も限られ、煩雑な操作は困難なため、遠隔・自動化が可能な安全・簡易・迅速な新しい分析法の開発が急務である。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、放射性試料中のAn及び放射性Srに対する安全な分析法を構築するため、極少量(nL~µL程度)の試料を用いて非常に高効率に短時間で金属イオンを分離可能なことから被ばくリスクの低減が見込めるキャピラリー電気泳動法(CE)やポリアクリルアミドゲル電気泳動法(PAGE)を基盤として、精密分離-超高感度検出-回収法を確立することである。このうち、CEでは、汎用の吸光検出(検出限界ppmレベル)と比較してppb~サブpptレベルの高感度化が見込めるレーザー励起蛍光検出(LIF)を用いることにより、極少試料中の金属イオンの高感度検出を可能にし、共存核種( $^{137}\text{Cs}$ 等)に起因する被ばくリスクを低減することを期待した。また、PAGEでは、ゲルによる分子ふるい効果とともに、ゲル細孔中での水溶媒がバルク水と異なる効果を及ぼす可能性があるため、CEのような自由溶液と異なる分離挙動を発現した新しい分離回収が可能になることを期待した。CEやPAGEでpptレベルの金属イオンを検出するためには、電気泳動分離場で機能する金属イオン検出用蛍光性試薬(蛍光プローブ)が必要である。そこで、本研究では以下の項目を検討した。

- (1) これまでに蛍光プローブが未開発であったAnのうちNpイオン( $\text{NpO}_2^+$ 、 $\text{NpO}_2^{2+}$ )及びSrイオン( $\text{Sr}^{2+}$ )を対象として、蛍光プローブを開発するため、基本骨格のうち、金属イオンに対する検出選択性を左右する金属イオン結合部位を探索した。
- (2) CEやPAGEでpptレベルの金属イオンに対する超高感度検出を実現するには、蛍光プローブに由来する極微量の不純物を抑制することが必須の課題であった。そこで、蛍光プローブを高純度に精製するための精密分離回収技術を開発した。

### 3. 研究の方法

#### (1) Np及びSrイオン用蛍光プローブの開発

蛍光プローブの基本骨格のうち、金属イオンに対する検出選択性を左右する金属イオン結合部位には、電気泳動中に結合が切断されない強い安定性が求められ、4座平面型、6~8座環状型及び非環状型の配位骨格を候補とした(Fig.1)。AnのうちNpイオン( $\text{NpO}_2^+$ 、 $\text{NpO}_2^{2+}$ )及びSrイオン( $\text{Sr}^{2+}$ )を対象として、金属イオン結合部位を探索するため、対象の金属イオンに対して、電気泳動図を取得し、高感度検出のための蛍光部位が機能する泳動液の液性(緩衝液の濃度、pH等)の範囲において、検出性能を確認した。探索した金属イオン結合部位の中から検出性能の高い金属イオン結合部位を選定し、選定した金属イオン結合部位と蛍光部位を反応させて、蛍光プローブを合成した。合成した蛍光プローブに対して、重金属イオンに起因する蛍光部位の消光の程度を調査することにより、蛍光プローブとしての検出性能を確認した。

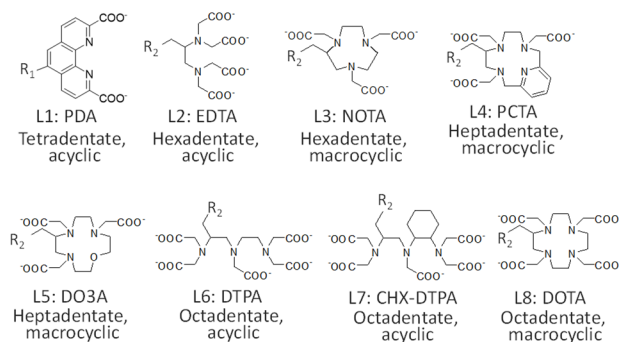


Fig.1 蛍光プローブの配位骨格の候補

#### (2) 精密分離回収技術の開発

CEやPAGEでpptレベルの金属イオンの超高感度検出を実現するには、蛍光プローブに由来する極微量の不純物を抑制することが必須の課題であった。そこで、不純物を除去し、蛍光プローブを高純度に精製するための精密分離回収技術を開発するため、非常に高い分離能力を有するCEを活用することを発想した。極少試料量(nLレベル)で分析が可能なCEの利点は、µLレベルの蛍光プローブ溶液の精製を目的とする場合には難点となることから、注入量をµLレベルまで増量可能な条件を検討した。

#### 4. 研究成果

##### (1) Np 及び Sr イオン用蛍光プローブの開発

本研究において開発を進めている蛍光プローブの基本骨格を Fig.2 に示す。An のうち Np イオン ( $\text{NpO}_2^+$ 、 $\text{NpO}_2^{2+}$ ) 及び Sr イオン ( $\text{Sr}^{2+}$ ) を対象として、Fig.1 に示した L1 ~ L8 の配位骨格 (化学ライブラリー) を候補として、金属イオン結合部位を探索した。その結果、Np イオン ( $\text{NpO}_2^+$ 、 $\text{NpO}_2^{2+}$ ) に対しては、4 座平面型 (L1) の配位骨格が有効であることがわかった。また、Sr イオン ( $\text{Sr}^{2+}$ ) に対しては、8 座大環状型 (L8) の配位骨格が適用可能であることがわかった。金属イオンに対する検出選択性には、電気泳動中の金属イオン-プローブ錯体の速度論的安定性 (解離不活性であること) が寄与しており、本研究において Np 及び Sr 錯体においても解離反応速度が関係していると考察した。Np イオンについては、CE では検出が難しく、PAGE で検出することができた。このような違いが生じた原因は解明できていないが、今後調査していきたい。

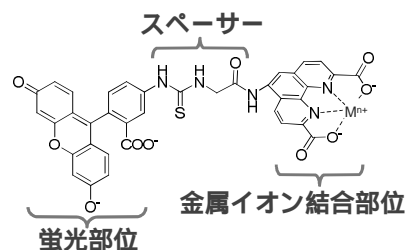


Fig.2 蛍光プローブの基本骨格

##### (2) 精密分離回収技術の開発

合成した蛍光プローブにわずかに含まれる不純物が、金属イオンの超高感度検出の妨害となるため不純物の除去を試みたが、従来技術のクロマトグラフィーでは分離能力が不足し、除去不可能であることがわかった。そこで、非常に高い分離能力を有する CE を活用して蛍光プローブを精製することを発想し、オンキャピラリー濃縮法を応用して注入量を  $\mu\text{L}$  レベルまで増量する技術を確認することに成功した。開発した精密分離回収技術の適用例を Fig.3 に示す。本技術の適用により、極微量の不純物が除去され、高純度化が可能となった。これにより、放射性試料中の金属イオンの分析に必要な蛍光プローブを精製できる手法 (精密分離回収技術) を開発することができた。本研究において開発した精密分離回収技術は、従来のクロマトグラフィーでは達成不可能な非常に高い分離能力を有しており、放射性試料中の放射性核種 (An 及び放射性 Sr) の分離回収に適用することも可能である。また、当初目的とした放射性試料のほか、DNA アプタマーなど診断薬や治療薬としての応用が期待されている物質にも適用可能であることを実証し、幅広い分野への応用が期待できる。

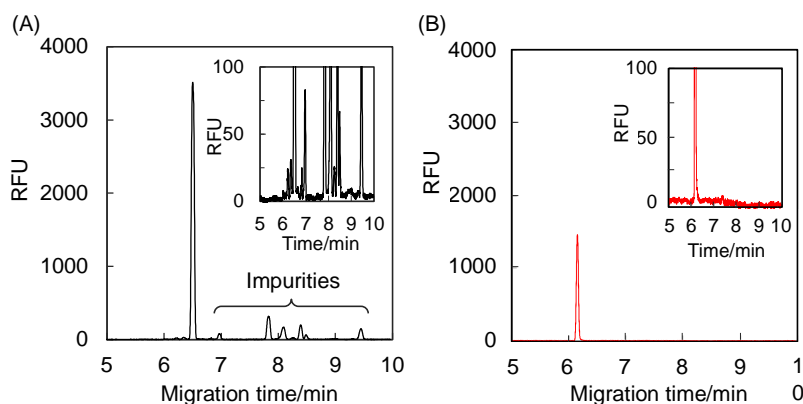


Fig.3 開発した精密分離回収技術の適用例 (A)精製前、(B)精製後

以上のように、本研究では CE 及び PAGE で機能する Np イオン及び Sr イオン検出用蛍光プローブを開発するための配位骨格の探索を行うとともに、分析に必要な精密分離回収技術の開発に成功した。本研究で開発した精密分離回収技術は、本研究を遂行する過程で発生した課題を解決するために新たに発想したものであり、当初目的とした分野への適用のほか、幅広い分野への応用が期待できる技術である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 原賀智子, 齋藤伸吾	4. 巻 70(12)
2. 論文標題 キャピラリー電気泳動-レーザー励起蛍光検出法による放射性試料中ランタノイド及びアクチノイドイオンの定量法	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 分析化学	6. 最初と最後の頁 671-679
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/bunsekikagaku.70.671	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 Sumika Nakano, Kazuki Marumo, Rintaro Kazami, Takumi Saito, Tomoko Haraga, Yuiko Tasaki-Handa, Shingo Saito	4. 巻 55(22)
2. 論文標題 Stoichiometry between Humate Unit Molecules and Metal ions in Supramolecular Assembly Induced by Cu <sup>2+</sup> and Tb <sup>3+</sup> Measured by Gel Electrophoresis Techniques	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Environmental Science & Technology	6. 最初と最後の頁 15172-15180
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.est.1c03993	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 Tomoko Haraga, Hiroto Tsujimura, Saori Miyauchi, Takuya Kamimura, Masami Shibukawa, Shingo Saito	4. 巻 41
2. 論文標題 Purification of anionic fluorescent probes through precise fraction collection with a two point detection system using multiple stacking preparative capillary transient isotachopheresis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ELECTROPHORESIS	6. 最初と最後の頁 1152-1159
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/elps.201900399	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4件（うち招待講演 2件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 齋藤伸吾, 原賀智子
2. 発表標題 アクチノイドイオン分析への電気泳動法の適用
3. 学会等名 第81回分析化学討論会(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 原賀 智子, 齋藤 伸吾
2. 発表標題 キャピラリー電気泳動法を用いたアクチノイドの分析
3. 学会等名 第39回キャピラリー電気泳動シンポジウム(SCE 2019) (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 原賀 智子, 丸茂 和樹, 斉藤 拓巳, 渋川 雅美, 齋藤 伸吾
2. 発表標題 ゲル電気泳動法を基盤とするフミン酸結合型アクチノイドイオンの分子量分布評価
3. 学会等名 日本腐植物質学会第35回講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 原賀智子
2. 発表標題 極少量サンプルを高純度化する技術～毛细管を使って純度99%以上に～
3. 学会等名 未来2020
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究協力者	齋藤 伸吾  (SAITO Shingo)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	大内 和希  (OUCHI Kazuki)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関