

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 9 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26410152

研究課題名(和文)電子スピン共鳴の光検出を利用した常磁性化学種強調顕微イメージング法の開発

研究課題名(英文) Development of an imaging technique enhancing paramagnetic species by optical detection of electron spin resonance

研究代表者

諏訪 雅頼 (Suwa, Masayori)

大阪大学・理学研究科・助教

研究者番号：90403097

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)：鉄や銅，マンガンのような遷移金属化合物に対して有用な蛍光ラベルが存在しないため，顕微イメージングが困難である。本研究では，多くの遷移金属化合物が電子スピンを有していることに着目し，磁気共鳴現象を光で捉えることを試みた。試料として酸化鉄コロイド粒子を用いた場合，その強磁性共鳴条件において旋光角の変化を観測することができ，測定原理を実証できた。磁気共鳴測定法の位置分解能の飛躍的な向上が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Since there is little fluorescent dye that is effective for transition metals such as iron, copper, manganese and so on, it is impossible to enhance these species by optical microscope. In this study, we focused on electron spin in these compounds and we examined the optical detection of magnetic resonance. We successfully observed the ferromagnetic resonance of iron oxide nanoparticles via the change of the Faraday effect, an optical gyration phenomenon in magnetized materials. Therefore, we were able to demonstrate the principle of this technique. The exponential improvement of the spatial resolution in magnetic resonance techniques can be expected.

研究分野：分析化学

キーワード：電子スピン共鳴 常磁性化学種 ファラデー効果 イメージング法

1. 研究開始当初の背景

生体細胞内において、鉄は電子伝達反応における酸化還元中心としての機能や酵素の触媒中心として重要な役割があることが知られている。一方、電子授受が容易に起こることから、生体内で有毒なラジカル発生源となり、鉄の異常摂取は細胞の癌化の原因の一つと考えられている。この二面性のため、生体細胞には精密な鉄濃度の調節機構を備えている。これを担う個々のたんぱく質の機能はX線構造解析により徐々に解明されてきているが、細胞全体で考えるとこの調節機構は未だ解明されていない事が多い。例えば、処理しきれない過剰な鉄は細胞質内の「不安定鉄プール」に蓄えられると言われているが、現在この「プール」を直接観測した例は無く実体は不明である。これを明らかにするためには、生きた細胞内の鉄の分布を非破壊で調べる必要がある。生体イメージングで最もメジャーな方法は蛍光顕微鏡法である。生体内の分子に特異的に吸着する蛍光プローブが数多く開発されており、単一分子レベルでの検出も可能である。しかしながら、鉄のようなスピンを持つ金属と錯体を形成すると蛍光分子は消光されてしまうため、有効なプローブは無い。磁気共鳴イメージングも強力な手段ではあるが、生体細胞のような微小部位のイメージングは原理上困難である。従って、現在のところ顕微鏡下でスピンを持つ化学種(ラジカルや遷移金属イオン)を強調する画像化法は皆無である。

2. 研究の目的

上述の課題を達成するために、光による磁気共鳴現象の検出を着想した。我々はこれまで、ファラデー回転イメージング(Faraday Rotation Imaging, FRI)法を開発してきた。ファラデー回転は磁場中にある物質内での旋光現象であり、回転角は磁場の大きさと光路長に比例する。特に、常磁性金属や芳香環を持つ化合物では大きな旋光が起こるため、遷移金属イメージングへの展開が期待される方法である。常磁性体のファラデー回転角は、ゼーマン分裂に起因する上向きと下向きの電子スピン数の差に依存する。上向きの電子スピンのマイクロ波を吸収し、電子スピン共鳴(ESR)が起こると、エネルギーの高い下向きのスピン状態に遷移する。マイクロ波の強度が大きい場合、上下のスピン数は等しくなり、マイクロ波の吸収量は飽和する。この状態では常磁性体に起因するファラデー回転が起こらず、ESRをファラデー回転角あるいは磁気円二色性(MCD)の変化で検出できることが報告されている。この方法は光検出ESR法と呼ばれる。逆に言えば、ESRで常磁性金属によるファラデー回転のみ選択的に変調することが可能であり、「通常のFRI」と「ESR条件下でのFRI」を比較することで、常磁性化学種強調画像の取得が可能と考え

られる。本研究課題ではファラデー回転による光検出ESRを実証する事を目的とする。

3. 研究の方法

(1) 光検出磁気共鳴観測装置の作成

ファラデー回転による光検出ESRを達成するためには以下3つの条件が揃う必要がある。

ESRの条件：マイクロ波磁場と外部静磁場は直交しなければならない。

ファラデー回転観測の条件：外部静磁場と光の進行方向は平行でなければならない。

顕微鏡観測の条件：対物レンズや偏光子等の光学部品やカメラを設置するため空間が必要。対物レンズの作動距離は短いため、試料はマイクロ波キャビティー外に設置する必要がある。

これらの条件を満たすよう、装置の構成要素を決定した。

マイクロ波キャビティー

マイクロ波漏洩と光を透過させるための二開口穴付円筒形キャビティーを設計・作成した。9GHzの周波数帯でTE₁₁₁モードの共鳴条件となるようにサイズを合せた。キャビティーからのマイクロ波反射強度が最小になる周波数を共鳴周波数とした。試料により変化するが、共鳴周波数はおおよそ9.68GHz付近となった。

磁石

ESRのg値を典型的な値である2.0として、9.7GHzのマイクロ波条件では0.35Tであるので、これ以上の磁場が得られれば永久磁石でもESRが観測可能である。そこで、ボア型磁気回路を用いた。ボア中心において1.2T、またボア外においても0.5Tのボアと平行な磁場を発生している。これをキャビティーに固定した試料に近づけることにより、ESR条件とした。この磁気回路の利点はレーザー光と磁場を同軸で入射できることである。

ESR条件下におけるファラデー回転測定

試料に直線偏光のレーザー光(405nm、488nm、532nm、633nmのいずれか)を入射し、透過後の直線偏光をウォラストンプリズムにより+45°と-45°の成分に分けた。これらの強度差をバランス検出器により測定し、ファラデー回転角を見積もった。微弱な変化を観測するために、マイクロ波出力を500-3000Hzで変調し、ロックイン検出を行った。

(2) 光検出ESR原理実証用の試料

試料として、種々の常磁性錯体(主に銅や酸化バナジウム、鉄)やラジカル種を測定した。また、Fe₂O₃ナノ粒子を用いて、強磁性共鳴の検出も試みた。液体試料はすべて厚さ200μmの偏平セルに封入し、これをキャビティーの開口穴上に固定した。

(3) マイクロ秒パルス磁石によるFRIの高感度化

通常のFRIの感度上昇のためには、繰り返し回数増大によりランダムノイズを除去する必要がある。現在普及しているミリ秒パルス

ス磁石では、チャージに時間が数秒必要であり、発熱も大きいことから、繰り返し測定に時間が必要である。そこで、マイクロ秒パルス磁石を作成した。

パルス磁場は LCR 回路の自由放電により得られる。2 μ F の充電用コンデンサを用いることにより、パルス幅の減少を試みた。また、高速パワーデバイスである絶縁ゲートバイポーラトランジスタ (Insulated gate bipolar transistor, IGBT) をスイッチング素子として使用した。さらにこれを用いた FRI 観測装置を構築した。

4. 研究成果

(1) 光検出磁気共鳴の観測

Fe₂O₃ ナノ粒子の強磁性共鳴

水中に分散した Fe₂O₃ ナノ粒子の光検出 ESR を測定した。外部磁場 0.35T 付近において、9.68GHz のマイクロ波照射に伴うファラデー回転角の減少が観測された。これは先行研究で報告されている共鳴条件と一致している。非共鳴条件では磁化が静磁場の方向に整列するのに対し、共鳴条件では静磁場に対して 90° に整列しようとするため、ファラデー回転角が減少したと予想される。しかし、繰り返し測定において、不均一な磁場により試料中にナノ粒子の濃淡が生じることや、観測位置により信号強度が変化するため現在のところ再現性が得られていない。より系統的な測定が必要である。

常磁性化学種の光検出 ESR 観測

種々の常磁性化学種の光検出 ESR を試みたが、明瞭なシグナルは得られなかった。今回は室温においてのみ測定を行ったが、ファラデー回転の常磁性項も、ESR シグナルも温度に反比例するため、低温測定が必要である。

(2) マイクロ秒パルス磁石

FRI の高感度化

構築したマイクロ秒パルス磁石は最大 1.7 T のピーク磁場を発生することが可能であった。パルス幅は IGBT のゲートにより可変で、最小 10 μ s であった。繰り返し周波数は最大 60Hz であるが、FRI 測定では CCD カメラの取り込み周波数 20Hz 程度で、これがボトルネックとなった。しかしながら、以前のミリ秒パルス磁石では最大繰り返し周波数が 0.5Hz 程度であることを考えると、測定回数を飛躍的に向上させることが可能であった。また、短いパルス幅によりコイルの温度上昇を抑えることができた。この磁石を用いて、直径 20 μ m の球状微粒子の定量的な FRI を測定することに成功した。

振動パルス磁場

高速スイッチングに伴うサージ電流から IGBT を保護するために、スナバ回路と呼ばれる RC 直列回路を IGBT と並列に接続する。我々はスナバ回路の抵抗を小さくすると、減衰振動するパルス磁場が得られることを見出した。最大振幅は 1T で周波数は 20-50kHz、減衰の時定数は 400 μ s 程度であった。これ

ほど振幅と周波数が大きい交流磁石は他になく、ロックイン検出と組み合わせた FR 測定の高感度化のほか、磁気キラル二色性の新しい測定法の開発、磁性ナノ粒子の回転ダイナミクス測定などへの応用が期待できる。

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 2件)

諏訪 雅頼, Fatma Yesil, 中塚由加里, 有馬彰秀, 塚原聡, 分析化学, 65 巻, 2016, 203-209.

Masayori Suwa, Satoshi Tsukahara, Hitoshi, Watarai, Faraday Rotation Imaging Microscope with Microsecond Pulse Magnet, J. Magn. Magn. Mater. 査読有, 393 巻, 2015, 562-568.

[学会発表](計 12件)

諏訪 雅頼, 超伝導磁石内マイクロチップ電磁泳動によるサブマイクロ微粒子分離の検討, 第 11 回日本磁気科学会年次大会, 物質・材料研究機構, 2016 年 11 月 16 日

川村 遊, Dy(III) を吸着させた球状シリカゲル粒子のファラデー回転イメージング, 日本分析化学会第 65 年会, 北海道大学, 2016 年 9 月 16 日

Fatma Yesil, Measurement of anchoring energy at aqueous solution/liquid crystal interface, 日本分析化学会第 65 年会, 北海道大学, 2016 年 9 月 15 日

諏訪 雅頼, 常磁性イオンを吸着したシリカゲル粒子のファラデー回転イメージ, 日本化学会第 96 年会, 同志社大学, 2016 年 3 月 26 日

Masayori Suwa, Development of Faraday rotation imaging microscope with pulsed magnetic field, Pacificchem 2015, Marriott Waikiki Beach, HI, USA, 2015 年 12 月 16 日

諏訪 雅頼, 磁気泳動法による単一微粒子磁化率測定, 分析化学会近畿支部提案公募型セミナー, 大阪大学, 2015 年 11 月 7 日

Masayori Suwa, Faraday rotation microscope imaging of weak magnetic samples under pulsed magnetic field, 日本分析化学会第 64 年会, 九州大学, 2015 年 9 月 9 日

山下 直大, 超伝導磁石内における単一サブマイクロ粒子の電磁泳動挙動の蛍光顕微観測, 第 75 回分析化学討論会, 山梨大学, 2015 年 5 月 24 日

諏訪 雅頼, 水溶液と界面を形成する 4-シアノ-4'-ペンチルピフェニル液晶の

アンカリングエネルギー測定，日本分析化学会第 63 年会，広島大学，2014 年 9 月 19 日

山下 直大，超伝導磁石内蛍光顕微鏡の作製およびサブマイクロ粒子の電磁泳動観察，日本分析化学会第 63 年会，広島大学，2014 年 9 月 17 日

Masayori Suwa, Measurement of Anchoring Energy of Water/Liquid Crystal Interface, 6th International Workshop on Materials Analysis and Processing in Magnetic Fields, Southern Beach Hotel & Resort Okinawa, 2014 年 6 月 8 日

諏訪 雅頼，マイクロ秒パルス磁石を利用したファラデー回転顕微鏡の開発，第 74 回分析化学討論会，福島大学，2014 年 5 月 25 日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

諏訪 雅頼 (SUWA, Masayori)
大阪大学・大学院理学研究科・助教
研究者番号：90403097

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

塚原 聡 (TSUKAHARA, Satoshi)
大阪大学・大学院理学研究科・教授
研究者番号：50207338

(4) 研究協力者

()