

機関番号：14401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21750076

研究課題名（和文） パルス磁場を利用するキラル生体高分子の電磁誘導蛍光検出法の開発

研究課題名（英文） Fluorescence detection of induction potential on chiral bio-macromolecule under pulsed magnetic field.

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

研究成果の概要（和文）：パルス磁場中で生体らせん構造体に生じる誘導起電力の蛍光検出を行った。銀コーティングしたスーパーコイル構造のプラスミド DNA 上に蛍光分子を結合し、この分散液のパルス磁場に伴う蛍光強度変化を観測した。その結果、僅かな蛍光強度の変化が観測された。この強度変化は、パルス磁場から 100 μ s 程度遅れて起こっており、らせん構造に生じる誘導磁場とパルス磁場の相互作用による配向に起因していることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：We examined to detect the induction potential on a bio-helical structure under pulsed magnetic field by using potential susceptible fluorescence dye. A plasmid DNA, which has supercoiled structure, was coated by Ag nanoparticles to increase the conductivity, and then was bounded with fluorescein. The functionalized plasmid DNA was dispersed in a saline and the fluorescence change accompanied with the pulsed magnetic field was observed. This fluorescence change took place with $\sim 100 \mu$ s delay from the applied magnetic field. It was suggested that this is due to the orientation caused by the interaction between the pulsed magnetic field and the induced magnetic momentum in the helical structure.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：微粒子分析

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：パルス磁場、誘導起電力、らせん構造、キラル認識、蛍光検出

1. 研究開始当初の背景

自然界、特に生体内には DNA やタンパク質中の α -ヘリックス、アクチンフィラメントなど、らせん構造を有するものが多く存在する。DNA の電気伝導性は、多くの研究者により確認されている。しかし、そのインダクタンスを測定する研究例は極めて少ない。同

様にらせん構造を有するカーボンナノチューブのインダクタンスを通常のインピーダンスメータで測定したという報告がなされているが、サンプルがポリマーで覆われているため、インダクタンス成分の由来が完全に分からず不十分である。

時間変化する磁場は、その速度に比例した回転電場を誘起する。そこに、らせん状の伝

導体があれば、軸方向に誘導電流が生じる。その方向はらせん構造物のキラリティーにのみ依存する。即ち、右巻きものは 180° 回転させてもその誘導電流の方向は変わらない。この電流は、らせん状の物質から発するので、誘導電流測定は高感度なインダクタンスの測定、更にはキラリティーの認識に利用できると考えられる。

2. 研究の目的

前述のとおり、時間変化する磁場中にらせん構造を持つ物質が存在する場合、らせん部位に電磁誘導により電荷分離が起こり、起電力が生じると考えられる。またこの場合、電荷分離の方向はらせんのキラリティーにのみ依存する。本研究は、生体内らせん部位の選択的なイメージング及びそのキラリ認識を最終的な目標とし、その第一段階としてパルス磁場中でDNAやアクチンフィラメント、マイクロチューブルなどのらせん構造体に生じる誘導起電力を蛍光で検出することを試みる。

3. 研究の方法

(1) パルス磁石

パルス磁石は静電容量が 2 mF のキャパシタバンクと、自作のソレノイドコイルを用いて作成した。また、短時間のパルス磁場を得るため、2 μ F のコンデンサを用いた磁石も作成した。

(2) パルス磁場と同期した蛍光強度変化観測装置の作成

試料は内径 4 mm、外径 5 mm、厚さ 5 mm の光学セル (pyrex) 中に入れた、図 1 にパルス磁

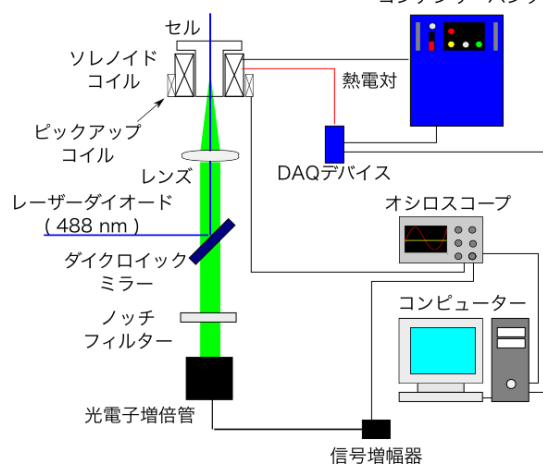


図 1 パルス磁場中蛍光強度観測装置

場中蛍光強度測定装置を示す。光源はダイオードレーザー (488 nm) を用いた。レーザー光はダイクロイック型ビームスプリッター (反射帯 : 442-488 nm, 透過帯 : 502-730 nm) を使い、ソレノイドコイル中のセルに入射し、蛍光を光電子増倍管により受容した。この際、励起光を除くためノッチフィルターを使用した。このシグナルを信号増幅器により増幅し、オシロスコープにより計測した。光と平行にパルス磁場を印加し、パルス磁場をトリガーとして印加前後の蛍光強度を測定した。

4. 研究成果

(1) パルス磁石の作成

得られたパルス磁場 B の時間変化を図 2 に示す。水のファラデー回転により磁場の大きさを見積もった。0.5 ms 程度と短い時間ながら、室温で 4 T 以上の磁場を発生させることができた。誘導起電力は、パルス磁石の時間微分 (dB/dt) に比例すると考えられる。図 3 に、今回作成したパルス磁石で得られた (dB/dt) の時間変化を示す。最大 $4 \times 10^4 \text{ T s}^{-1}$ の磁場時間変化が得られることが分かった。

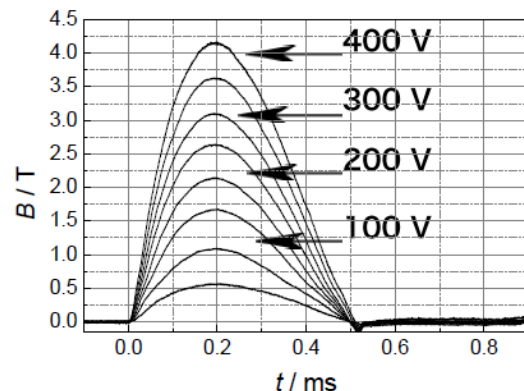


図 2 パルス磁場の時間変化

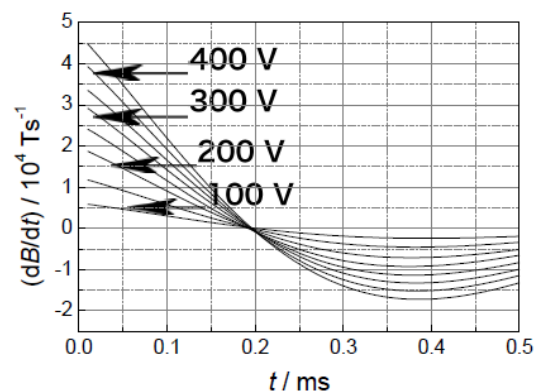


図 3 (dB/dt) の時間変化

また、コンデンサバンクの容量を小さくすることで、強度は 1T 程度ではあるが、短い幅 100 μs 、図 4)パルス磁場を発生させることができた。これは熱の発生が非常に小さいため、繰り返し周波数を 10 Hz まで大きくすることが可能であり (大きなコンデンサバンクを用いた場合は繰り返し 0.1 Hz), 簡易であるが高精度な実験が達成できると期待される。

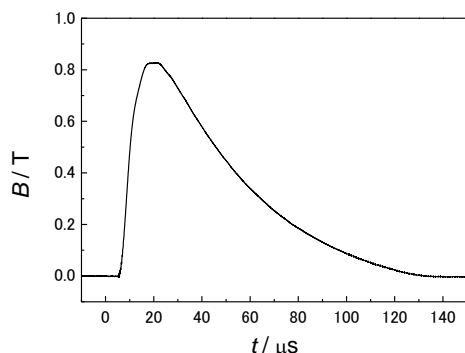


図 4 短パルス磁石の時間変化

(2) プラスミド DNA の銀粒子コーティング

スーパーコイル構造をとったままのプラスミド DNA に銀ナノ粒子をコーティングすることに成功した。図 5 は、銀コーティングされた ColE1 DNA の透過型電子顕微鏡 (TEM) 像である。図に示すように長さ 200 nm、幅 50 nm ほどの構造が観測された。また、明瞭なコントラストが得られていることと、コーティングされていないプラスミド DNA に比べ、肉厚になっていることから、銀コーティングされていることが分かった。

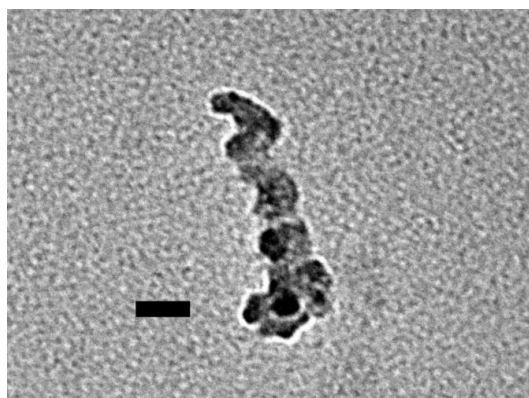


図 5 銀コーティングされたスーパーコイル構造プラスミド DNA の TEM 像

(3) パルス磁場中での蛍光強度変化観測

図 6 に、観測された蛍光強度の時間変化を示す。蛍光強度はパルス磁場の印加に伴い、

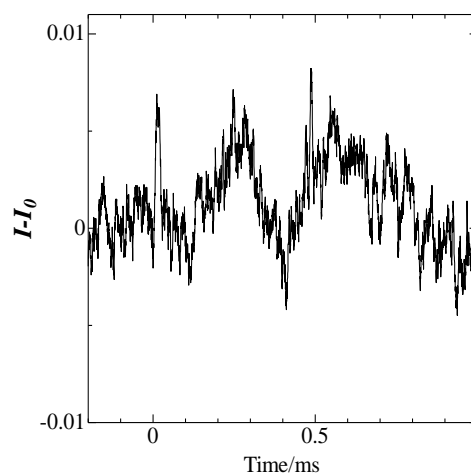


図 6 蛍光強度の時間変化

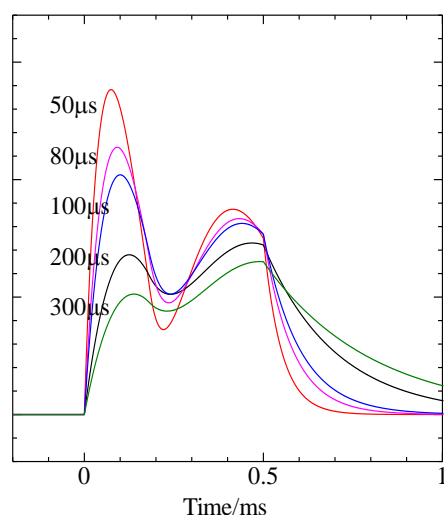


図 7 コンボリューションにより得られた応答波形

僅かではあるが (0.5 % 程度)、二つのピークを持つように変化した。また、パルス磁場の幅 (0.5 ms) を超えて変化していることが分かった。さらに、0.1 ms の短いパルス磁場中で実験を行ったところ、この変化は観測されなかった。このことから、この現象には何らかの緩和過程があることが示唆された。前述のとおり、らせん構造体に誘導される起電力は図 3 に示す dB/dt に比例する。 dB/dt を入力波形として、シングルエクスポネンシャルのインパルス応答を仮定し、コンボリューションすることで、応答波形を計算したものが、図 7 である。図 7 のそれぞれの波形は、時定数を 50 ~ 300 μs まで変化させて計算した結果である。これらの応答波形のうち、100 μs のものが、今回得られた波形とよく一致していることが分かった。このことより、観測された現象には 100 μs 程度の緩和過程が存在することが示唆された。この緩和時間は水素イオンの移動ではなく、DNA の回転緩和時間に近いことから、パルス磁場と誘導磁場による配向が

影響を及ぼしていると考えられる。これは、新しい磁場効果であり、現在のところ報告例は見当たらない。また、想定していた現象とは若干異なるが、sub- μm 程度のらせん構造体に磁場により誘導される起電力の測定も可能であると示唆された。

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4件)

① M. Suwa and H. Watarai

Magnetoanalysis of micro/nanoparticles: A review.
Anal. Chim. Acta, 690, 137-147 (2011) 査読有

② 諏訪雅頼, 渡會仁

磁気泳動速度解析による単一微粒子の磁化率測定法の開発
分析化学 **59**, 895-902 (2010) 査読有

③ M. Suwa and H. Watarai

Optical Extinction Change of Magnetic Nanoparticle Suspension under Pulsed Magnetic Field.
J. Phys.: Conf. Ser. 156, 12025/1-8 (2009) 査読有

④ K. Miyamoto, K. Isai, M. Suwa and H. Watarai
Effective Transition Probability for Faraday Effect of Lanthanide(III) Ion Solutions.

J. Am. Chem. Soc. **131**, 6328-6329 (2009) 査読有

[学会発表] (計9件)

① 諏訪雅頼, 宮本佳代子、仲野祐輔、渡會仁
パルス磁場を利用したファラデー回転イメージング法の開発
第5回 日本磁気科学会年次大会 2010年10月22日 九州大学

② 諏訪雅頼, 宮本佳代子、仲野祐輔、渡會仁
パルス磁場を用いる自然旋光とファラデー効果の同時測定法の開発
日本分析化学会 第59年回 2010年9月15日 東北大学

③ 諏訪雅頼, 宮本佳代子、仲野祐輔、渡會仁
パルス磁場を利用したファラデー効果イメージングの検討
東京コンファレンス2010 2010年9月2日 幕張メッセ国際会議場

④ M. Suwa, K. Miyamoto, Y. Nakano, H. Watarai
Simultaneous Measurement of the Faraday

Rotation and the Natural Optical Rotation Under Pulsed Magnetic Field

The 4th International Workshop on Materials Analysis and Processing in Magnetic Fields, May 10th, 2010, Georgia World Congress Center

⑤ 宮本佳代子, 諏訪雅頼, 渡會仁

種々の有機液体のファラデー回転スペクトルにおける芳香族類の特異性
第4回日本磁気科学会 2009年11月13日 信州大学

⑥ 諏訪雅頼

磁気泳動速度解析による単一微粒子の磁化率測定法の開発
日本分析化学会 第58年会 2009年9月25日 北海道大学

⑦ 諏訪雅頼

磁気泳動速度解析による単一微粒子の磁化率測定法の開発
日本分析化学会 第58年会 2009年9月25日 北海道大学

⑧ 押野佑一郎, 諏訪雅頼, 渡會仁

大気圧フロー微粒子の磁気変位質量分析法の開発
日本分析化学会 第58年会 2009年9月25日 北海道大学

⑨ 宮本佳代子, 諏訪雅頼, 渡會仁

希土類(III)イオン水溶液のファラデー効果における有効遷移確率の規則性
第70回 分析化学討論会 2009年5月17日 和歌山大学

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

()

研究者番号: