

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 5月 20日現在

機関番号：32663

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22560209

研究課題名（和文） 磁性粒子を利用したナノ・マイクロスケール局所加熱法の開発

研究課題名（英文） Development of nano/micro-scale heating method using magnetic particles

研究代表者

森本 久雄（MORIMOTO HISAO）

東洋大学・理工学部・准教授

研究者番号：00385957

研究成果の概要（和文）：本研究では、高周波交流磁場による磁性ナノ・マイクロ粒子の加熱技術と、外部磁場による磁性粒子のマニピュレーション技術を融合し、新規ナノ・マイクロスケール局所加熱法を開発した。また本加熱技術のバイオ・医療分野への応用化検討を行った。酵素を磁性粒子表面に固定化した“磁性粒子/酵素複合体”を作成し、本加熱手法による固定化酵素の加熱・活性化に成功した。

研究成果の概要（英文）：A new nano/micro-scale heating method was developed combining the hysteresis loss heating of ferromagnetic particles under a high frequency alternating magnetic field and the method of manipulating magnetic particles using an external magnetic field. It was shown that the activation and manipulation of enzymes immobilized on ferromagnetic particles can be carried out utilizing the present method.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
総計	2,300,000	690,000	2,990,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学・熱工学

キーワード：熱工学，マイクロ・ナノスケール伝熱

## 1. 研究開始当初の背景

近年、PCR法を用いたウイルス検出やガンの温熱療法、マイクロ化学分析システムにおける化学反応制御など、様々な分野において有効かつ簡便な微小領域局所加熱法が必要とされている。これまでに微小ペルチェ素子や抵抗素子を用いた局所加熱手法や、レーザー、超音波を利用した方法などが提案されているものの、いずれも発熱量が低い、あるいは加熱範囲が広すぎる等の問題点が指摘されている [A. Kempitiya *et al.*, Appl. Phys. Lett. **94**, 064106 (2009)]. 最近、高周波交流磁場中の磁性粒子分散系の磁気ヒステリ

シスに起因した発熱に関する研究が行われ、磁性粒子の加熱源としての応用可能性が示唆された [P. P. Vaishnava *et al.*, J. Appl. Phys. **102**, 063914 (2007)]. 一方、本研究の申請者らは、回転磁場を用いた磁性粒子のマニピュレーション法 [H. Morimoto *et al.*, Phys. Rev. E **78**, 021403 (2008)] およびマイクロ電磁石を用いた磁性粒子の収集・トラッピング法 [A. Aki *et al.*, J. Appl. Phys. **104**, 094509 (2008)] を開発した。それら申請者らが開発した磁性粒子マニピュレーション法と高周波交流磁場を用いた磁性粒子加熱法を組み合わせることによって、新しい

ナノ・マイクロスケール局所加熱法が開発可能であると考えられる。すなわち、回転磁場あるいはマイクロ電磁石により磁性粒子を所望の位置まで移動させ、高周波交流磁場の印加によって局所加熱を行うというものである。

## 2. 研究の目的

本研究では、申請者らがこれまでに開発した磁性粒子マニピュレーション技術を進展させ、ナノ・マイクロスケール局所加熱法を開発する。また、本手法のバイオ・医療への応用化検討を行う。酵素を磁性粒子表面に固定化した磁性粒子/酵素複合体を作成し、本加熱手法を利用した固定化酵素の活性化・マニピュレーション法を開発する。

## 3. 研究の方法

### (1) 交流磁場中における磁性粒子の発熱の解析

磁性粒子に高周波交流磁場を印加しながら粒子の顕微鏡観察が可能なコイルシステムを作成し、これを用いて交流磁場中の粒子表面の温度上昇を観察した。温度分布の可視化には感温性蛍光色素 (Eu-TTA) を用いた。この蛍光色素は温度上昇にともなって蛍光強度が低下する。本研究では、粒子を感温性蛍光色素溶液に分散させ、交流磁場中における粒子表面の蛍光強度変化を観察した。また本研究では、磁性粒子表面に固定化された酵素 (α-アミラーゼ) が交流磁場中の粒子の発熱によって活性化することを明らかにした [(3) バイオ・医療への応用を参照]。そこで固定化α-アミラーゼの活性測定を通して交流磁場中における磁性粒子の表面温度上昇の推定を行った。まず固定化α-アミラーゼの活性の無磁場下における温度依存性を解析した。次いで交流磁場中のα-アミラーゼの活性上昇を測定し、前述の固定化α-アミラーゼの活性の温度依存性と比較し、交流磁場中の磁性粒子の表面温度を推定した。

### (2) 磁性粒子を用いたナノ・マイクロスケール局所加熱法の開発

回転磁場による磁性粒子の転がり運動を利用したマニピュレーションおよび高周波交流磁場による粒子の加熱が同時に実行可能なコイルシステムを作製した。これは磁性粒子をマニピュレーションするための回転磁場を発生する3対のコイルと、粒子を加熱するための高周波交流磁場を発生するコイルから構成される。このコイルシステムを用い、本加熱手法の検証実験を行った。

### (3) バイオ・医療への応用化検討

磁性粒子と酵素および生体細胞との相互作用を解析した。粒子の材質、表面修飾など、

酵素および生体細胞が磁性粒子表面に付着する条件を調べた。酵素が粒子表面に固定化された粒子/酵素複合体に関しては、粒子表面における酵素活性を測定した。さらに磁性粒子/α-アミラーゼ複合体を対象に、交流磁場中における粒子の発熱が粒子表面のα-アミラーゼの活性におよぼす影響を調べた。

## 4. 研究成果

(1) 本研究にて作成したコイルシステムを用いて鉄粒子 (平均粒径: 約  $1.1 \mu\text{m}$ ) に高周波交流磁場を印加し、粒子表面のごく近傍領域が加熱される様子が観察された (図 2 参照)。この鉄粒子表面に固定化したα-アミラーゼの活性変化から推測される粒子表面の温度上昇は、周波数 389 kHz、磁場強度が 12, 24 kA/m の交流磁場を印加した場合、それぞれ約 4 および 8 K であった。

(2) 本研究において開発したコイルシステムを用い、回転磁場による強磁性粒子のマニピュレーションおよび高周波交流磁場の印加による加熱を実行することに成功した。一例を図 1, 2 に示す。本実験では (1) と同様に鉄粒子を感温性蛍光色素溶液に分散させて用いた。まず粒子をガラス基板上に配置し、回転磁場を印加して基板上を移動させた (図 1 参照)。ただしこの例では、粒子は約  $9 \mu\text{m}$  程度のクラスターを形成しており、これが基板上を移動している。さらに移動させた粒子に高周波交流磁場を印加し、粒子の発熱を感温性蛍光色素の蛍光強度変化により確認した (図 2 参照)。

(3) α-アミラーゼ、キチナーゼ、DNA ポリメラーゼ等の酵素を磁性粒子表面に固定化させることに成功し、かつこれらの酵素が磁性粒子表面で活性を示すことが確かめられた。これら固定化酵素は、(2) に示したように回転磁場によってマニピュレーションが可能

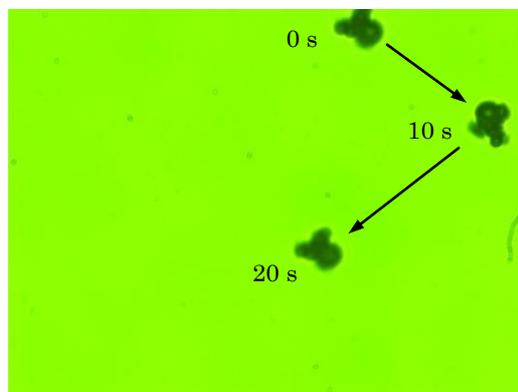


図 1. 回転磁場による鉄粒子のマニピュレーション。回転磁場の強度、周波数はそれぞれ 2.18 kA/m および 1 Hz。鉄粒子は約  $9 \mu\text{m}$  程

度の大きさのクラスターを形成している。であり、また高周波交流磁場中における磁性粒子のヒステリシス損熱によって適度に加熱することにより、その酵素反応を促進することが可能であると考えられる。図 3 は、(1)、(2) で使用したのと同じ鉄粒子表面に

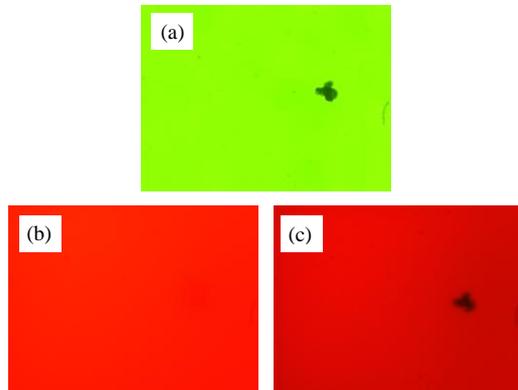


図 2. 高周波交流磁場中における鉄粒子の発熱。図 1 に示した粒子のマニピュレーション実行後に高周波交流磁場（強度 0.54 kA/m, 周波数 398 kHz）を印加した。粒子は感温性蛍光色素溶液中に分散されており、この色素は温度が上昇すると蛍光強度が低下する。(a) 粒子の明視野像。(b) 粒子の蛍光観察像（無磁場）。(c) 磁場印加 5 分後の蛍光観察像。

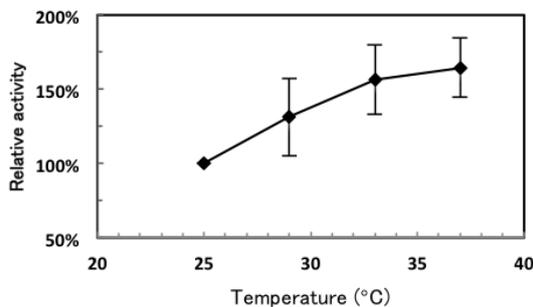


図 3. 鉄粒子表面に固定化された  $\alpha$ -アミラーゼの活性の温度依存性。

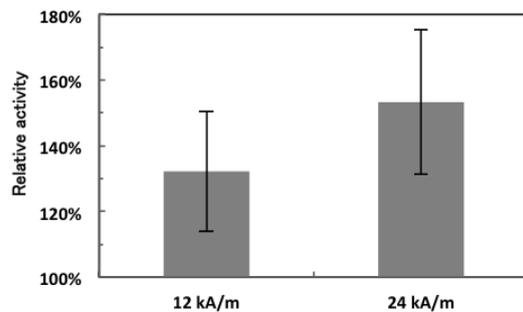


図 4. 交流磁場中における鉄粒子表面に固定化された  $\alpha$ -アミラーゼの活性 (389 kHz)。

図中の活性は、無磁場における活性で規格化したものである。

固定化した  $\alpha$ -アミラーゼの活性の温度依存性である。固定化アミラーゼは温度上昇とともにその活性が上昇することがわかる。そこで本研究ではこの磁性粒子/アミラーゼ複合体に高周波交流磁場を印加し、このときの活性変化を評価した。これを図 4 に示す。ここで印加磁場の周波数は 389 kHz, 強度は 12, 24 kA/m とした。また、図 4 に示した活性は、磁場中の測定値と無磁場におけるそれとの比をとったものである。交流磁場中における磁性粒子のヒステリシス損熱によって粒子表面のアミラーゼが活性化していることがわかる。またこのときの粒子表面の温度は、本結果と固定化アミラーゼの活性の温度依存性（図 3）との比較により評価した [(1) 交流磁場中における磁性粒子の発熱の解析を参照]。

## 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 5 件）

- ① A. Mathew, A. Aravind, D. Brahatheeswaran, T. Fukuda, Y. Nagaoka, T. Hasumura, S. Iwai, H. Morimoto, Y. Yoshida, T. Maekawa, K. Venugopal and D. S. Kumar, “Amyloid-binding aptamer conjugated curcumin-PLGA nanoparticle for potential use in Alzheimer’s disease”, *BioNanoSci.*, 査読有, Vol.2, pp.83-93 (2012). DOI: 10.1007/s12668-012-0040-y
- ② A. Mathew, T. Fukuda, Y. Nagaoka, T. Hasumura, H. Morimoto, Y. Yoshida, T. Maekawa, K. Venugopal, D. S. Kumar, “Curcumin loaded-PLGA nanoparticles conjugated with Tet-1 peptide for potential use in Alzheimer’s disease”, *PLoS ONE*, 査読有, Vol.7, e32616 (2012). DOI: 10.1371/journal.pone.0032616
- ③ Y. Nagaoka, H. Morimoto and T. Maekawa, “Ordered complex structures formed by paramagnetic particles via self-assembly under an ac/dc combined magnetic field”, *Langmuir*, 査読有, Vol.27, pp.9160-9164 (2011). DOI: 10.1021/la201156q
- ④ T. Ukai, H. Morimoto and T. Maekawa, “Cluster-cluster aggregations of superparamagnetic particles in a rotational magnetic field”, *Phys. Rev. E*, 査読有, Vol.83, 061406 (2011).

DOI: 10.1103/PhysRevE.83.061406

- ⑤ B. G. Nair, Y. Nagaoka, H. Morimoto, Y. Yoshida, T. Maekawa and D. S. Kumar, "Aptamer conjugated magnetic nanoparticles as nanosurgeons", *Nanotechnology*, 査読有, Vol.21, 455102 (2010).

DOI: 10.1088/0957-4484/21/45/455102

[学会発表] (計 14 件)

- ① T. Iida and H. Morimoto, "Cluster structures of ferromagnetic nanoparticles formed in a narrow gap", *7th International Conference on Surfaces, Coatings and Nanostructured Materials (NANOSMAT 2012)* (20th September 2012, Plague, Czech Republic).
- ② M. Suzuki, A. Aki, T. Mizuki, R. Usami, T. Maekawa and H. Morimoto, "Activity of an enzyme immobilized on ferromagnetic particles under an ac magnetic field", *7th International Conference on Surfaces, Coatings and Nanostructured Materials (NANOSMAT 2012)* (20th September 2012, Plague, Czech Republic).
- ③ S. Suzuki, M. Suzuki, T. Mizuki and H. Morimoto, "Polymerase chain reaction utilizing DNA polymerase/magnetic particle hybrid", *7th International Conference on Surfaces, Coatings and Nanostructured Materials (NANOSMAT 2012)* (20th September 2012, Plague, Czech Republic).
- ④ Y. Nagaoka, T. Ukai, M. Suzuki, R. Hironaga, H. Morimoto, N. Grobert and T. Maekawa, "Dynamics of magnetically controlled magnetic nano/micro objects on the surface of a substrate", *7th International Conference on Surfaces, Coatings and Nanostructured Materials (NANOSMAT 2012)* (20th September 2012, Plague, Czech Republic).
- ⑤ 鈴木政史, 安喜敦士, 水木徹, 宇佐美論, 前川透, 森本久雄, "強磁性粒子のヒステリシス損熱を利用した酵素の活性化", *化学工学会 第77年会* (2012年3月15日, 東京・工学院大学).
- ⑥ B. G. Nair, Y. Nagaoka, T. Fukuda, T. Mizuki, H. Morimoto, D. S. Kumar and T. Maekawa, "Application of bifunctionalized magnetic nanoparticles for cell manipulation studies", *Nanocon2011* (22nd September 2011, Brno, Czech Republic).
- ⑦ M. Suzuki, A. Aki, T. Mizuki, R. Usami, T. Maekawa and H. Morimoto, "Encouragement of enzyme reaction utilizing hysteresis loss heating of ferromagnetic particles", *15th International Symposium on Applied Electromagnetics and Mechanics* (9th September 2011, Naples, Italy).
- ⑧ K. Hoshino, T. Ukai, T. Maekawa and H. Morimoto, "Cluster structures formed by paramagnetic particles subjected to a dc magnetic field", *15th International Symposium on Applied Electromagnetics and Mechanics* (8th September 2011, Naples, Italy).
- ⑨ T. Hashimoto, Y. Nagaoka, T. Mizuki, H. Morimoto and T. Maekawa, "Encouragement of biochemical reactions by rotating chain clusters in a rotational magnetic field", *15th International Symposium on Applied Electromagnetics and Mechanics* (9th September 2011, Naples, Italy).
- ⑩ 鈴木政史, 安喜敦士, 水木徹, 宇佐美論, 前川透, 森本久雄, "強磁性粒子のヒステリシス損熱を利用した酵素反応促進法の開発", *化学工学会 第76年会* (2011年3月22日, 東京・東京農工大学).
- ⑪ M. Suzuki, A. Aki, T. Mizuki, R. Usami, T. Maekawa and H. Morimoto, "Activation of enzyme utilizing hysteresis loss heating of ferromagnetic particles", *International Soft Matter Conference 2010* (5th and 6th July 2010, Granada, Spain).
- ⑫ R. Hironaga, Y. Nagaoka, T. Ukai, H. Morimoto and T. Maekawa, "Dynamics of magnetic colloidal particles on a nonmagnetic substrate under a rotational magnetic field", *International Soft Matter Conference 2010* (5th and 6th July 2010, Granada, Spain).
- ⑬ T. Ukai, H. Morimoto and T. Maekawa, "Aggregation of superparamagnetic particles in a rotational magnetic field", *International Soft Matter Conference 2010* (5th and 6th July 2010, Granada, Spain).
- ⑭ Y. Nagaoka, H. Morimoto and T. Maekawa, "Cluster structures formed by magnetic colloidal particles under fluctuating magnetic fields", *International Soft Matter Conference 2010* (5th and 6th July 2010, Granada, Spain).

6. 研究組織

(1) 研究代表者

森本 久雄 (MORIMOTO HISAO)  
東洋大学・理工学部・准教授  
研究者番号：00385957

(2) 研究分担者 (0)

(3) 連携研究者 (0)