

パルス磁場を用いた磁性ナノ粒子の 磁気緩和時間の印加磁場強度依存性の実測

林 柊斗¹, 後藤 春樹¹, 二川 雅登¹, 竹村 泰司², 大多 哲史¹
(¹ 静岡大学, ² 横浜国立大学)

Measurements of magnetic field strength dependence of magnetic relaxation time of
magnetic nanoparticles by applying the pulsed magnetic field
S. Hayashi¹, H. Goto¹, M. Futagawa¹, Y. Takemura², S. Ota¹
(¹Shizuoka University, ²Yokohama National University)

はじめに

磁性ナノ粒子のバイオ医療応用において、磁性ナノ粒子設計や最適な磁場条件の決定には磁性ナノ粒子の磁気特性である磁気緩和現象の評価が必要である¹⁾。磁気緩和現象は粒子自身の回転によるブラウン緩和と磁化の回転であるネール緩和の2種類に大別される。本研究ではパルス磁場を用いる手法²⁾で磁気緩和過程を直接的に観測し、磁気緩和過程の磁場強度依存性の実測に成功した。

実験方法・結果

実験にはシングルコア構造を有する酸化鉄ナノ粒子である SHA-20 (Ocean NanoTech, USA)を用いた。計測試料として粒子を純水中に分散した液体試料 (粘度 $\eta = 1.13 \text{ mP}\cdot\text{s}$)、グリセリンを用いて液体試料の粘度を調整した粘度調整試料 ($\eta = 12.4 \text{ mP}\cdot\text{s}$)、エポキシ樹脂を用いて粒子を物理的に固定した固体試料の3種類を用意した。計測用回路の時定数や感度を考慮して、計測時間領域に対応する4種類のインダクタンスの異なるコイルを用意し、100 ns–200 ms の広範囲での磁気緩和過程を観測した。印加したパルス磁場強度について、4.0–16.0 kA/m の範囲で計測を実施した。

Fig.1 はパルス磁場強度 8.0 kA/m における液体試料 (1.13 mP·s) と粘度調整試料 (12.4 mP·s) の磁気緩和過程、Fig.2 はパルス磁場強度を変えて計測した際の液体試料 (1.13 mP·s) の磁気緩和過程であり、それぞれ縦軸は最大磁化で正規化した値を示した。溶媒粘度の増加に伴い磁気緩和過程が遅れること、印加磁場強度が増加することで磁気緩和過程が早くなること³⁾を確認した。当日は、粒子の物理的回転の生じない固体試料の結果も交えて、磁気緩和過程から解析した磁気緩和時間の磁場強度依存性も含めて報告する。

謝辞

本研究の一部は、科研費 20H05652、23k26114、JST ACT-X JPMJAX21A5 の助成を受けて実施した。

参考文献

- 1) J. Carrey, B. Mehdaoui, and M. Respaud, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **109** (2011) 083921.
- 2) S. Ota and Y. Takemura, *J. Phys. Chem. C*, **123** (2019) 28859–28866.
- 3) T. Yoshida and K. Enpuku, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **48** (2009) 127002.

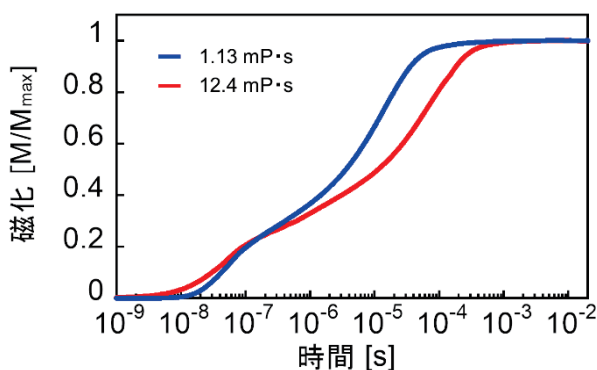


Fig.1 Time evolution of magnetization response under the pulsed magnetic field of 8.0 kA/m in $\eta = 1.13$ and $12.4 \text{ mP}\cdot\text{s}$.

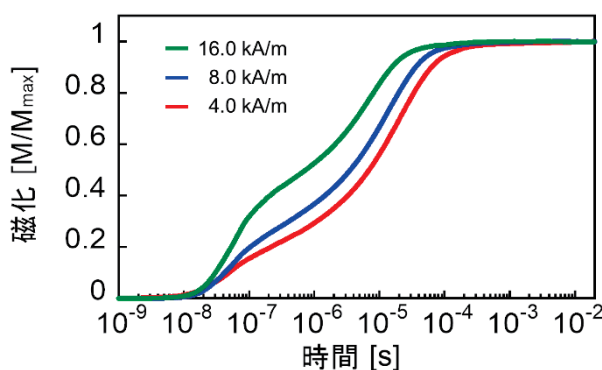


Fig.2 Time evolution of magnetization response under the pulsed magnetic field of 4.0, 8.0, and 16.0 kA/m in $\eta = 12.4 \text{ mP}\cdot\text{s}$.

磁気ナノ粒子周波数解析を用いた血液凝固評価システムの開発

内藤光輔, 山下 慶, 伊永 陸哉, 王 璿, 紀和 利彦
(岡山大学 大学院 ヘルスシステム統合科学研究科)

Development of Coagulation Measurement System Using Frequency Characteristics of Magnetic Nanoparticles

Kosuke Naito, Kei Yamashita, Rikuya Korenaga, Jin Wang, Toshihiko Kiwa
(Graduate School of Interdisciplinary Science and Engineering in Health Systems, Okayama University)

研究背景

現在, 臨床現場では心筋梗塞や脳梗塞, 血友病, 血栓症等の治療に用いられるワルファリンやヘパリンの投与量の指標を定めるため, 血液凝固検査が行われている. この検査では, 光学的手法, 力学的手法を原理とした検査機器が開発されている. しかし, 光学的手法では濁度の関係から全血液を遠心分離し, 血球成分を取り除いた血漿を用いる必要があり, 溶血や乳びといった共存物質の影響を受ける. また, 力学的手法では全血液を使用できるが, 赤血球や白血球, フィブリン塊などの影響を受け, 止血機能の過剰評価の可能性¹⁾がある. 磁気ナノ粒子の **Brown** 緩和時間が溶媒粘度に依存することが知られている²⁾. そこで本研究では, 磁気ナノ粒子の周波数特性を計測することで血液の粘度と関連する凝固状態を評価するシステムを開発した.

実験方法

本研究では, 励磁コイルとグラジオメータとなる検出コイルを同心円状に配置して中心部にサンプルを挿入し測定を行った. 励磁コイルの銅線の直径が 0.8 mm, 巻き数が 74 回であり, 検出コイルは銅線の直径が 0.2 mm, 各巻き数が 125 回とした. 入力信号と出力信号の振幅比および位相差からサンプルの周波数特性を解析した. 入力信号は, 励磁コイルに 0.1 Ω のシャント抵抗を挿入し, シャント抵抗間電圧を検出した. 出力信号は, グラジオメータに生じた起電力を検出した. 信号の検出は共に, 独立した 2 つのロックインアンプを用いて測定した. 測定条件は周波数測定範囲が 30 -10000 Hz, 励磁コイルへの印加電圧は, 0.1 V_{p-p} とした. 止血機能の評価には正常血漿と血液凝固因子である第Ⅷ因子が欠乏し, 血液凝固が発生しない第Ⅷ因子欠乏血漿を用いた. 測定サンプルには凝固剤として用いられる塩化カルシウム溶液や血漿による磁気ナノ粒子の凝集の影響を考慮するため, 正常血漿, 第Ⅷ因子欠乏血漿の他に純水と塩化カルシウム溶液の 4 条件を調製した. 磁気ナノ粒子は Synomag[®]D70 を使用し, 鉄量が 500 μg , 塩化カルシウム溶液は終濃度が 45 mM, サンプル量 200 μL となるよう調整し, 純水, 正常血漿, 第Ⅷ因子欠乏血漿を各々 132 μL 添加した. 測定はサンプル調製完了の 20 分後から開始した.

実験結果

Fig.1 は上記の周波数範囲における各サンプルの磁気信号の変化である. 磁気信号のピーク時周波数は純水, 塩化カルシウム溶液, 塩化カルシウム溶液と正常血漿, 塩化カルシウム溶液と第Ⅷ因子欠乏血漿の順に 4168 Hz, 3144 Hz, 1789 Hz, 1172 Hz と低周波側に推移した. 正常血漿が第Ⅷ因子欠乏血漿と比較し, ピーク時の周波数が低くなっているため, 本システムにおいて血液凝固による粘度増加を磁気ナノ粒子の周波数特性から確認できることが示唆された.

参考文献

- 1) C. Solomon, et al., *Anesthesia & Analgesia*, pp721-730, 2012.
- 2) K Yamashita, et al., *IEICE Tech. Rep.*, pp11-16, 2023.

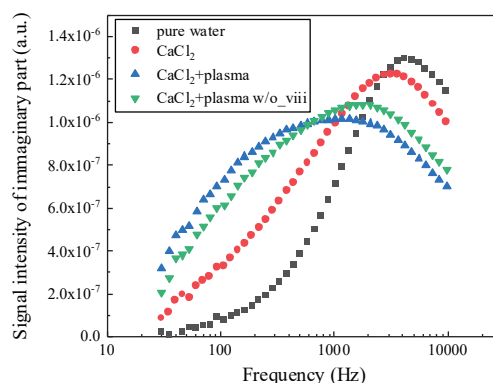


Fig.1 Imaginary part of the magnetic signal of Synomag[®]D70

タンパク質との抗原抗体反応による磁性ナノ粒子の凝集効果の評価

金子晃基¹, 村山 徹¹, トンタットロイ¹, 沖田和彦², 坂天弥¹, 田中深雪¹, 田中良和¹, 薮上 信^{1,2}
(¹ 東北大学, ² Tohoku-TMIT, Ltd.)

Observation of aggregate of magnetic nanoparticles with protein

K. Kaneko, T. Murayama, L. Tonthat, K. Okita, A. Ban, M. Tanaka, Y. Tanaka, S. Yabukami
(Tohoku University, *Tohoku-TMIT, Ltd.)

1.はじめに

スイッチ磁界に対する磁性ナノ粒子の応答性から抗原抗体反応によりタンパク質(GDF-15)¹⁾を検出した。タンパク質が磁性ナノ粒子の凝集性を促進することを, TEM 観察およびスイッチ磁界による応答性評価等により明らかにした。

2.実験方法

本システムは磁性ナノ粒子へのスイッチ磁界の応答性を検出可能である²⁾³⁾。試料は永久磁石(NdFeB 磁石, 5 mm×4 mm×3 mm, 表面磁束密度 21 mT)で約 300 秒間着磁され, 続けて針状 NiFe ヨーク上で 300 秒間磁化した後に, スイッチ磁界を±0.06 mT ステップ間隔で 30 秒間かけつつ 20 回転し, 回転ごとに磁界センサで磁性ナノ粒子の漏れ磁界を検出する。本サンプルは, Protein A が添加された磁性ナノ粒子 (Nanomag-D, 平均粒径 130 nmφ) と 1 次抗体 (GDF-15 antibody) を結合させた後, 抗原となるタンパク質 (GDF-15) と約 30 分間抗原抗体反応をさせた³⁾。GDF-15 の濃度は 0, 1, 10 ng/ml と変化させた。

また, GDF-15 の有無による磁性ナノ粒子の結合の変化を確かめるために TEM 観察を行った。GDF-15 濃度は 0, 1000 ng/ml とした。Holey マイクログリッド (EM ジャパン社) にカーボン膜を張り親水化した後, サンプルを 3 μl 滴下して静置した。その後, サンプルをろ紙で吸い取り, 25 %EM ステイナー (日新 EM 社) で染色し, 透過電子顕微鏡 (JEM-1400 Plus) で観察した。

3.測定結果

Fig. 1 はタンパク質 (GDF-15) の濃度を段階的に変化させて, 磁性ナノ粒子/抗原凝集体の光学顕微鏡写真を示したものである。抗原濃度が増えるに従って, 磁性ナノ粒子/抗原の凝集が進み凝集体の色が濃くなり, 凝集が促進される様子が確認出来る。これは抗原と磁性ナノ粒子がクロスブリッジを形成し, 磁性ナノ粒子間の距離が近づき, 静磁気結合が増加したためだと考えられる³⁾。Fig.2 は TEM 画像である。濃度 0, 1000 ng/ml 各 3 画像に解析ソフト MIPAR で解析を行い, 画像上の凝集体の個数と大きさを計測した。その結果, 0.03 μm² より大きい凝集体の割合が濃

度 1000 ng/ml で約 5.8 %, 0 ng/ml では約 4.2 %であり, GDF-15 が 1000 ng/ml 含まれた方が高い数値となった。Fig.3 は, 0.01 μm² ほどの範囲で凝集体の個数の割合をグラフ化した図であり, 0.03 μm² より大きい範囲で 1000 ng/ml の方が高い数値を示している。抗原と磁性ナノ粒子のクロスブリッジが生じて, 凝集体のサイズが大きくなったと考えられる。

謝辞

本研究の一部は AMED Moonshot プロジェクト (JP23zf0127001), JST 大学発新産業創出基金事業可能性検証 (JPMJSF23C4), テルモ生命科学振興財団の成果である。

参考文献

- [1] Khalid Sawalha et.al. Current Heart Failure Reports, Vol.20, pages 287-299(2023)
- [2] Loi Tonthat et.al., AIP Advances, Vol.9, No. 12, 125325 (2019).
- [3] Shin Yabukami et.al. AIP Advances, Vol.14, Issue 3, 035102(2024).

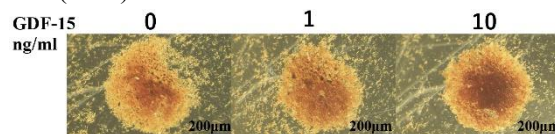
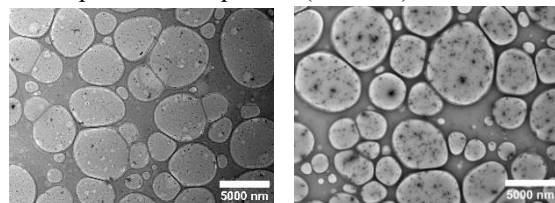


Fig. 1 Photographs of the aggregates of magnetic nanoparticles and protein (GDF-15).



(a) GDF-15 0 ng/ml (b) GDF-15 1000 ng/ml
Fig. 2 TEM measurement image of sample.

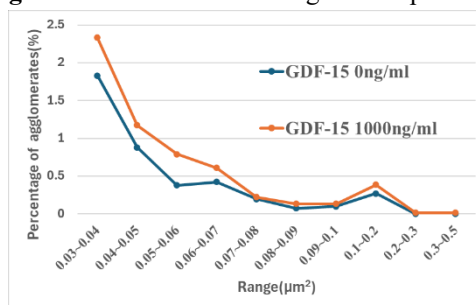


Fig. 3 Comparison of the number of agglomerates in TEM images.

超広帯域における磁性ナノ粒子およびタンパク質の磁化率評価

舩井亮哉¹, 本多順一¹, 村山徹¹, トンタットロイ¹, 沖田和彦², 桑波田晃弘¹, 藪上信^{1,2}

(¹ 東北大学, ²Tohoku-TMIT 株式会社)

An Ultra-Broadband Magnetic Susceptibility Evaluation of magnetic nanoparticle and protein

R. Masui¹, J. Honda¹, T. Murayama¹, L. Tonthat¹, K. Okita², A. Kuwahata¹, S. Yabukami^{1,2}

(¹Tohoku University, ²Tohoku-TMIT, Ltd.)

1 はじめに 転移性癌, ミトコンドリア病, 高血圧症などの疾患診断としてそのバイオマーカーであるタンパク質を迅速に検出することが求められている。しかし, 従来のウィスタンブロット法[1], 酸素結合免疫吸着検定法(ELISA)[2], 質量分析法[3]は大がかりで高価な装置やそれを操作できる高度な技術者を必要とする。本研究ではこれらの課題を克服する検出法として超広帯域での磁性ナノ粒子およびタンパク質の磁化率評価の検討を行った。

2 計測方法 サンドイッチ法のイムノアッセイを用いて今回の標的タンパク質である GDF-15(Growth Differentiation Factor-15)[4]を検出する。まず, 金を成膜したガラス基板に COOH-SAM (11-mercapto-1-undecanoic acid) を有する SAM(self-assembled monolayer)を形成した。次に GDF-15 抗体(Monoclonal mouse IgG2B, R&D Systems)の溶液(0.5 mg/ml)を添加し, 一次抗体としてガラス基板上の COOH-SAM に固定化した。その表面を GDF-15 溶液(0, 0.5, 5, 50 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$)に浸漬させ, 続けて二次抗体であるビオチン化抗体(Goat poly, 0.2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, R&D Systems)とストレプトアビジンコート磁性ナノ粒子 (SPHEROTM Coated Superparamagnetic Particles, 0.25 $\mu\text{m}\phi$, 5 mg/ml)を添加し, 結合させた。最後にビオチンコート蛍光粒子とストレプトアビジンコート磁性ナノ粒子を添加した。シグナル増幅のため, 上記の操作を3回繰り返し行った。調製した試料は PET フィルムを介してマイクロストリッププローブにセットされる。そこに電磁石を用いてプローブによる RF 磁場と垂直となるように直流磁場を印加する。はじめに 1.8 T の直流磁場により S_{21} をキャリブレーションし, その後 1.47, 1.1, 0.73, 0.37, 0.18, 0 T の直流磁場における S_{21} を測定し, 複素インピーダンスと磁化率を求めた。

3 計測結果 Fig. 1 は 5 $\mu\text{l}/\text{ml}$ の GDF-15 溶液を添加したときの直流磁場に対する透過係数(S_{21})の実部の周波数特性グラフである。強磁性共鳴でのエネルギー吸収は 10-20 GHz 付近で観察された。0.37 T 以下の低い直流磁場では磁性ナノ粒子がランダムに配向しているため明確な強磁性共鳴は観察されな

った。しかし, 直流磁場を増加させると, 強磁性共鳴は鋭くなり, FMR 周波数は高周波側にシフトした。Fig 2 は 10 GHz 以下の磁化率($\kappa = \kappa' - j\kappa''$)の実部 κ' の平均値と強磁性共鳴における虚部 κ'' の損失ピークを GDF-15 の関数として示したものである。GDF-15 の濃度増加に伴って κ' , κ'' は増加した。これによって超広帯域での磁化率評価によりタンパク質検出が可能であることが示された。

謝辞 磁化率評価にご協力いただいた東北大学 斉藤伸教授, 岩動大樹様に感謝します。また, 本研究の一部は JST 大学発新産業早出基金事業可能性検証(JPMJSF23C4)により実施した。

参考文献 [1] C. Favrot et al., *Veterinary Dermatology*, 28, pp.180 (2017).[2] D.M. Rissin et al, *Nature Biotechnology*, 28, pp. 595-599 (2010).[3] K. Tanaka, H. Waki, Y Ido, S. Akita, Y. Yoshida, T. Yoshida, T. Matsuo, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2, pp. 151-153 (1988).[4] K. Sawalha et. al., *Current Heart Failure Reports*, 20:287-299(2023).

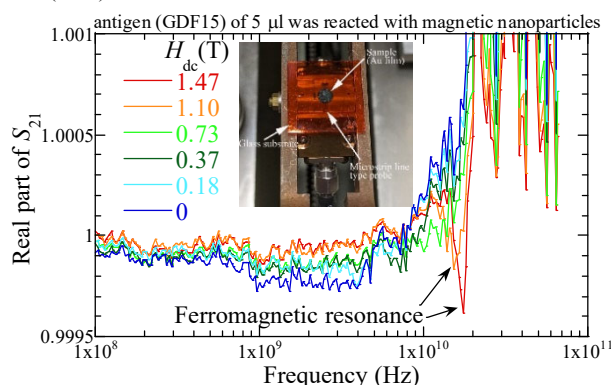


Fig. 1 Real part of the transmission coefficient (S_{21}) plotted against the DC magnetic field.

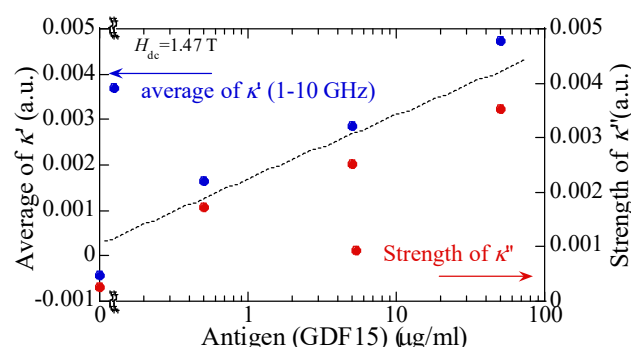


Fig. 2 Magnetic susceptibility as a function of the GDF15 when the DC magnetic field is 0.