

Title	New Methods for Electromagnetophoretic Analysis of Single-Microparticles in Liquids
Author(s)	飯國, 良規
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46485
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名	飯 國 良 規
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学位記番号	第 20017 号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 理学研究科化学専攻
学位論文名	New Methods for Electromagnetophoretic Analysis of Single-Microparticles in Liquids (電磁泳動力を利用する新規な単一微粒子分析法の開発)
論文審査委員	(主査) 教授 渡會 仁 (副査) 教授 篠原 厚 教授 阿久津秀雄 教授 久保井亮一

論 文 内 容 の 要 旨

環境化学および生命科学において、様々な微粒子やコロイド粒子を非破壊で分離、キャラクタリゼーションを行う新しい方法の開発が重要なテーマとなっている。小分子やイオンについては、有効な手法が開発されている一方で、 μm サイズの単一微粒子に対しては、有効な分離分析法は極めて少ない。本研究ではこれまでの泳動分析法とは異なる駆動力を利用した新しい方法の開発を目的として、磁場と電流を駆動力とする電磁泳動に注目した。電磁泳動とは、電解質溶液に磁場とそれに直交する電流を印加したとき、液中の微粒子が磁場および電流に対して垂直の方向に泳動する現象である。本研究においては強い電磁泳動力を得るために超伝導磁石 (10 T) を用い、連続的に試料の注入が可能なキャピラリーフロー系において電磁泳動実験を行った。

10 T の磁場内で、キャピラリー内の μm サイズの微粒子の泳動挙動およびその泳動速度を測定したところ、その方向は微粒子の種類によらず媒体に対するローレンツ力とは逆向きであり、微粒子に対しては浮力として作用した。また、その泳動速度は微粒子の種類によって異なり、得られた泳動速度は磁束密度、電流、半径の二乗に比例し Kolin の理論式と一致した。これらの結果より、微粒子の泳動はそれ自体の電気伝導度ではなく表面電気伝導に起因する見かけの電気伝導度に支配されることが明らかとなった。

電磁泳動力を利用し、液中微粒子とキャピラリーセル内壁との吸着力を測定する方法を開発した。本法は AFM と異なり、対象に対して非接触に測定を行えることから生体細胞等への適用が可能である。そこで細胞表面の分子認識、凝集等の主要因子のひとつである糖-タンパク質相互作用に注目し、細胞表面にマンノース含有糖鎖を持つ酵母細胞とマンノース結合タンパク質であるコンカナバリン A (Con A) の相互作用力を測定した。酵母細胞の吸着力は酵母細胞表面のマンノース糖鎖と Con A との単一の相互作用力を反映しており、その値は 30–40 pN であった。さらに、マンノース-Con A 相互作用の解離速度定数を測定した。酵母細胞に対して 10 pN、20 pN、30 pN の電磁泳動力を印加し、時間に対する酵母細胞の脱着数を測定し、それぞれの張力印加時の解離速度定数を求めた。得られたプロットを Bell モデルによりフィッティングし、マンノース-Con A 相互作用の解離速度定数を $3.3 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 、結合解離変位 0.34 nm と決定した。本法により細胞表面での分子間の相互作用力が測定され、細胞表面分析法としての可能性が示された。

新規な液中微粒子分離法として、キャピラリー電磁泳動吸脱着クロマトグラフィーの開発を行った。電磁泳動力によって微粒子のキャピラリー内壁への吸脱着を制御し、フローと組み合わせることで保持時間の差により微粒子を分離するクロマトグラフ法である。本法は粒子サイズおよび粒子の吸着力を因子として分離する方法である。

実際、本法によるポリスチレン粒子のサイズ分離を試みた。試料には粒径 $10\ \mu\text{m}$ および $20\ \mu\text{m}$ のポリスチレン粒子を $1\ \text{M}$ 塩化カリウム水溶液に分散させたものを用いた。内径 $200\ \mu\text{m}$ の円形熔融シリカキャピラリーにおいてキャピラリー有効長 $1\ \text{mm}$ での保持時間の測定を行った。その結果ポリスチレン粒子の保持時間は $10\ \mu\text{m}$ 粒子が $20\ \mu\text{m}$ 粒子よりも短く、分離が可能であることが示された。またその保持時間は予想値とよく一致し、得られた保持時間のプロファイルからその分離能を求めると 1.58 となった。さらに、スクアランで内面を修飾したキャピラリーを用いて酵母細胞 (0.01% Triton X-100 を含む $1\ \text{M}$ KCl 水溶液に分散させた) の保持時間を測定すると、生細胞と死細胞で保持時間が異なった。この結果から、本法は細胞表面の特異性を反映する泳動分離法に展開可能と考えられる。

論文審査の結果の要旨

本論文は、電磁泳動現象を始めて微粒子の泳動分析に適用し、新規な微粒子分析法として微粒子泳動速度測定法、微粒子の付着力測定法、および微粒子の吸脱着クロマトグラフ法を開発したものである。 $10\ \text{T}$ の均一強磁場下で、キャピラリーフロー系における微粒子挙動の顕微測定を行い、まず微粒子の電磁泳動速度を支配する因子を明らかにした。すなわち、泳動速度が電流密度と磁束密度に比例し、粘度に反比例し、微粒子半径の二乗に比例すること、泳動速度の微粒子の伝導率への依存性は、Kolin 理論で予測される結果とは異なり、微粒子の表面伝導率に依存することを明らかにした。そして、電解質溶液中の微粒子に働く力は、媒体へのローレンツ力により生じる磁気浮力であることを明らかにした。

次に、電磁浮力を利用する単一微粒子のキャピラリー内壁に対する付着力の測定法を開発した。本法を用いて、糖結合性たんぱく質であるコンカナバリン A (Con A) で修飾したシリカ表面への酵母細胞の付着力を測定し、細胞表面上に存在するマンノース含有糖鎖と Con A との単一結合力が $30\text{--}40\ \text{pN}$ であると決定した。そして、電磁浮力を印加した状況での解離速度の測定から、解離速度定数と結合解離変位を決定した。この手法は、作用させる電磁浮力が電流により正確に制御できること、密閉系の微粒子について非接触で付着力が測定できること、 pN オーダーの感度が容易に得られることから、細胞などの生体微粒子のリガンドーレセプター結合力を測定・評価するための有効な新手法であることを示した。

さらにキャピラリーフロー系において、電磁浮力によるキャピラリー壁への吸脱着とフローを組み合わせ、新しい微粒子分離法を開発した。本法により、微粒子のサイズ分離が可能であること、細胞間の吸着力の差による分離が可能であることを示した。

このように、飯国君は電磁泳動力を利用した新しい原理の微粒子分析法を開発した。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。