

金・酸化鉄複合ナノ粒子による含硫アミノ酸の選択的磁気分離

水越克彰、清野 智史[†]、木下卓也[‡]、興津健二[‡]、中川 貴[‡]、山本孝夫[‡]

([†]阪府高専、[‡]阪大産研、[‡]阪大院工、[‡]阪府大院工)

1 背景

近年バイオの分野において磁性粒子を用いた特定分子や薬剤の分離・移動・分析・診断に関する研究が活発に行われている。磁性粒子は磁石を用いて外部より容易にマニピュレートできる利点があり、生体分子の磁気分離ビーズとして既に市販されている。しかし特定の分子を吸着させるためには、特定分子ごとに粒子表面をポリマー等で修飾する必要があり汎用性に欠ける。そこで我々は硫黄原子を持つ分子に対して特異的に S-Au 結合を形成する金をナノレベルで磁性酸化鉄と複合化させた汎用磁気分離材料の開発に着手した。前年は、これらの複合材料を超音波還元法によって調製するとともに、それらを用いたグルタチオンの磁気分離について報告した¹)。本研究では、得られる複合材料を改良することで含硫化合物に対する吸着選択性を向上させ、含硫アミノ酸の選択的磁気分離について検討した。

2 実験方法

2-1 複合ナノ粒子の調製

0.5 mM の NaAuCl_4 、磁性酸化鉄($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$)ナノ粒子および 0.4 mM のポリエチレングリコールモノステアレート($n=40$ 、以下 PEG-MS と省略)を含む水溶液を調製し、アルゴンガスでバブリングした後超音波を照射した。酸化鉄ナノ粒子は安達新産業(株)より購入した NanoTek™ を使用した。超音波照射は 20°C の恒温槽中で 200 kHz、200 W で行った。生成物の形状は透過型電子顕微鏡を用いて観察した。

2-2 アミノ酸吸着量の定量

調製した金・酸化鉄複合ナノ粒子を 0.02 N 塩酸に再分散させ、酸化鉄 2.5 mg に対して各アミノ酸の濃度が 100 μM となるようにアミノ酸標準溶液を混合した。20°C で 2 時間攪拌した後磁気分離カラムを用いて磁性成分と非磁性成分に分別した。非磁性成分中に残存している各アミノ酸の濃度をアミノ酸分析計で測定し、吸着量を算出した。

3 実験結果

NaAuCl_4 、酸化鉄ナノ粒子および PEG-MS を含む水溶液に対して超音波を照射したところ、照射に伴い溶液の色は赤味を帯びていった。溶液のスペクトルを測定したところ、530 nm 付近に金ナノ粒子の生成を示す明瞭な表面プラズモン共鳴吸収が見られたことから、超音波還元によって金ナノ粒子が生成したことが分かる。生成物を磁気分離し、非磁性成分のスペクトルを調べたところ、プラズモン

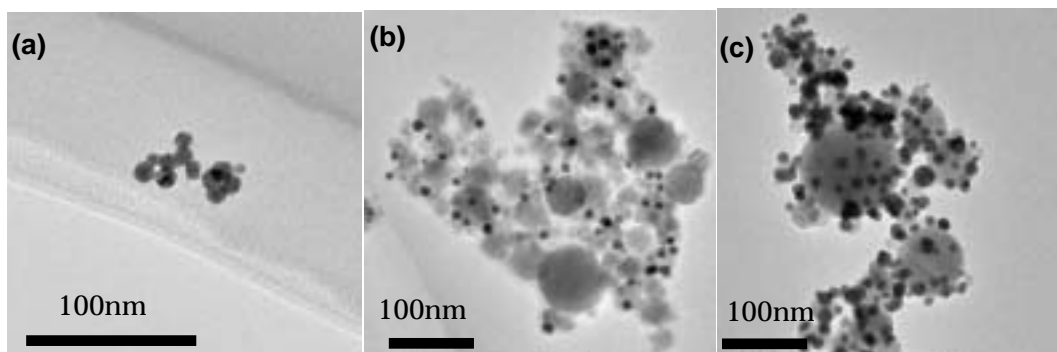


Fig.1 TEM images of sonochemically prepared (a)Au nanoparticles, (b)Au/ $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (1/10) composite nanoparticles and (c)Au/ $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ (1/1) composite nanoparticles.

吸収が見られないことから、生じた金ナノ粒子は磁性酸化鉄ナノ粒子と複合化していることが示唆された。

Fig.1 に得られたナノ材料の透過型電顕写真を示した。コントラストの強いものが金ナノ粒子で弱いものが酸化鉄ナノ粒子である。粒径 10 nm ほどの金ナノ粒子が生じ、酸化鉄の表面に固定化されていることが分かる。また重量比 Au/Fe₂O₃ が高くなるほど、多数の金ナノ粒子が酸化鉄の表面に均一に分散されていることが分かる。Fig.1 には酸化鉄を含まない系で調製した金ナノ粒子の TEM 像も示した。酸化鉄の有無、量の多少に関わらず生じる金ナノ粒子の粒径はほぼ同じあることから、金ナノ粒子の生成に酸化鉄は関与しておらず、酸化鉄が含まれる場合は生じた金ナノ粒子が生成した後にそのまま酸化鉄表面に固定化されると考えられる。

得られた複合ナノ粒子に対する各アミノ酸の吸着量は Fig. 2 に示したとおりである。17 種類のアミノ酸についてその磁気分離特性を検討した結果、硫黄を含むシスチン((Cys)₂)ならびにメチオニン(Met)の吸着量が著しく高いことが分かった。硫黄を含まないアミノ酸の多くは、重量比 Au/Fe₂O₃ が高くなるにつれてその吸着量が低下しているのに対し、シスチンおよびメチオニンの吸着量は逆に増加していった。このことから含硫アミノ酸は酸化鉄表面の金に効率的に吸着され、選択的に磁気分離できることが明らかとなった。一般にナノ粒子の保護剤として使用される PEG-MS を添加することで、複合ナノ粒子の表面が被覆され、アミノ酸の吸着を阻害することが懸念されたが、そのような影響は本研究では見られなかった。

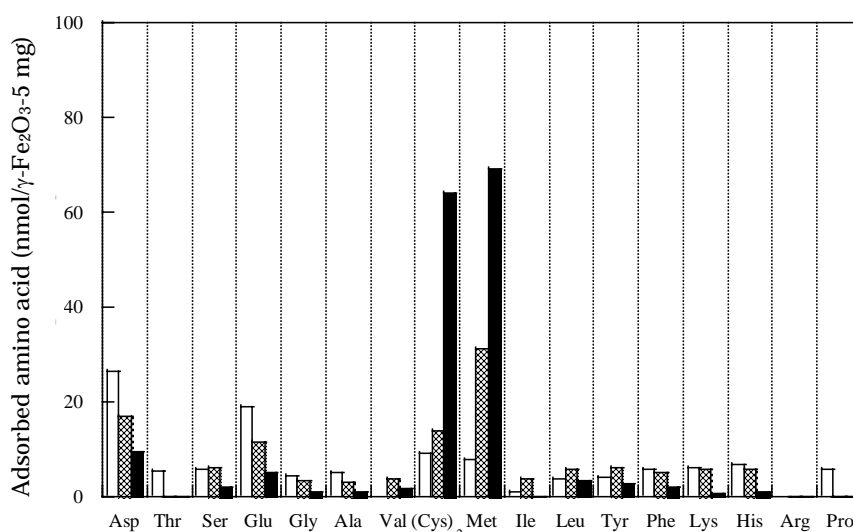


Fig.2 Amounts of amino acids adsorbed on the surface of magnetic nanoparticles.
□ : γ -Fe₂O₃ nanoparticles, ▨ :Au: γ -Fe₂O₃ (1/10) composite nanoparticles, ■ : Au: γ -Fe₂O₃ (1/1) composite nanoparticles.

こうした結果より、超音波還元法で得られた金・酸化鉄複合ナノ粒子は、含硫化合物の汎用磁気分離キャリアとしてのバイオの分野をはじめとする様々な局面での使用が期待できる。

4 謝辞

本研究の一部は(財)向科学技術振興財団の助成によって行われた。また平成15年度産業技術研究助成事業(NEDO)から部分的な援助を受けた。

5 参考文献

- 1) Y. Mizukoshi *et al.* *Ultrasonics Sonochem.*, in press(Available online 10 February 2004).

Selective Magnetic Separation of Sulfur-containing Amino Acids Using Au/Fe₂O₃ Composite Nanoparticles Synthesized by Sonochemical Reduction

Yoshiteru Mizukoshi, Satoshi Seino[†], Kenji Okitsu[‡], Takuya Kinoshita[※],
Takashi Nakagawa[※] and Takao A. Yamamoto[※]

*Osaka Prefectural College of Technology,
26-12, Saiwai-cho, Neyagawa, Osaka, 572-8572, Japan*

*[†]The Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka University,
8-1, Mihogaoka, Ibaraki, Osaka, 567-0047, Japan*

*[‡]Graduate School of Engineering, Osaka Prefecture University,
1-1, Gakuen-cho, Sakai, Osaka, 599-8531, Japan*

*[※]Graduate School of Engineering, Osaka University,
2-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan*

Abstract

We prepared Au/ γ -Fe₂O₃ composite nanoparticles by sonochemically reducing Au(III) ions employing polyethylene glycol monostearate as stabilizer in the aqueous solution to form stable Au nanoparticles and allowing them to attach onto the surface of γ -Fe₂O₃ particles. The obtained magnetic nanoparticles were mixed with amino acid standard solution containing 17 kinds of amino acids and were followed by applying external magnetic fields to find that only sulfur-containing amino acids, such as cystine and methionine were selectively adsorbed and separated from other amino acids.

e-mail: mizukosi@ipc.osaka-pct.ac.jp