

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：82502

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15422

研究課題名（和文）量子センサを用いた光熱マイクロバブルの実時間3次元温度測定

研究課題名（英文）Real-time three-dimensional temperature measurement of photothermal microbubbles by using quantum sensors

研究代表者

西村 勇姿（Nishimura, Yushi）

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・量子生命科学研究所・博士研究員

研究者番号：00824434

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：多点同時温度計測を可能にするワイドフィールドODMR顕微鏡を開発し、その特性を詳細に分析した。同じ蛍光ナノダイヤモンドについて共焦点検出とワイドフィールド検出で得られたODMRスペクトルを比較したところ、共焦点検出では広視野検出に比べてODMRが深くなることが分かった。ワイドフィールドODMR検出におけるピクセル飽和と位置ドリフトの影響を調べて、測定アーティファクトと感度低下を評価した。このシステムの特長評価から測定パラメータを調整し、生きた細胞内の複数の蛍光ナノダイヤモンドによるODMR測定を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、微小領域の高速・高精度な温度マッピングを可能にしようとするものである。共焦点検出とワイドフィールド検出はこれまで別々に扱われてきたが、1台の顕微鏡に組み込むことで初めて各々の特性を詳細に比較することができた。また、細胞内温度計測という観点においてはワイドフィールド検出の有用性を示すことができた。本研究成果は、カメラによる生きた細胞のリアルタイム大面積スピンベース測定の開発に役立つと期待される。

研究成果の概要（英文）：We have developed a wide-field ODMR microscope that enables simultaneous temperature measurement at multiple points, and analyzed its characteristics in detail. The ODMR spectra obtained using confocal detection and widefield detection were compared with the same fluorescent nanodiamonds, we found that the ODMR is deeper with confocal detection than with widefield detection. The effects of pixel saturation and positional drift on wide-field ODMR detection were investigated to study measurement artifacts and sensitivity degradation. From this system characterization, we adjusted the measurement parameters and performed ODMR measurements of multiple fluorescent nanodiamonds in living HeLa cells.

研究分野：ナノバイオ

キーワード：蛍光ナノダイヤモンド ODMR 温度

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在の食品および医療分野において、アレルギー検査やDNA検査の迅速かつ簡便な検査方法が求められている。これまではそういった検査は専門機関でしか行えないものも多く、検査をしてから結果を知るまでに数週間～数ヶ月かかる場合もあった。食品の迅速な安全性検査や町の中小病院や在宅での検査などの実用化につなげるためには、より低コスト・簡便なシステムの開発が必要不可欠である。水中の物質を集合化するフォトサーマルフルイデイクス技術は光で濃縮することにより反応時間を劇的に短縮することができるため、これらの問題を解決する重要なツールとして近年盛んに研究が行われている。

我々はこれまでタンパク質などの濃縮やDNAハイブリダイゼーションの光加速によってこの新しい分野を切り拓いてきた。この技術の本質はレーザー照射によって生じる熱対流により溶液中の物質を濃縮し生化学反応を活性化することによる。しかしながら、代表者自身の経験であるが、レーザーを当てたらたまたま集まってできた感じが否めなかった。レーザー照射により生じる流れ場をデザインして狙った通りの結果を引き起こすためには、それらの現象を統一的に記述できる学理の構築が必須である。例えば、マイクロTASやLab on a Chipの基盤技術であるマイクロ流体デバイスでは混合・攪拌を遠隔的かつ自在に制御する技術が求められている。上述のフォトサーマルフルイデイクスのメカニズムが解明できればバブル光熱効果による流れの制御が可能となり、マイクロ流体デバイステクノロジーに革新的な進展をもたらすことが可能となる。

2. 研究の目的

本研究課題では、温度イメージング技術を用いて溶液中で光熱効果によるバブル発生時の温度分布の擬3次元計測を行い、得られた温度分布情報をもとに、バブル周辺の流体力学をより詳細に記述し、バブル発生機構の解明を目指した。具体的には、温度量子センサーとして注目される蛍光ナノダイヤモンドを含んだ純水中で近赤外レーザーによる光熱効果でバブルが発生・成長する準定常状態で蛍光ナノダイヤモンドからの光検出スピン共鳴 (ODMR: Optically Detected Magnetic Resonance) 信号をマッピングし、その温度依存性から温度分布を決定する。

3. 研究の方法

本研究では、大きく分けて次の3項目に関する研究を実施した。

(1) ワイドフィールドODMR顕微鏡の開発

これまでに、独自に構築した共焦点光学顕微鏡にマイクロ波照射系を組み合わせたODMR装置を用いて蛍光ナノダイヤモンドの量子センシングを行ってきた。しかし、現状の装置では高精度な測定は可能であるものの、視野内の1点の情報しか得ることができないため、温度分布をマッピングするには膨大な時間が必要となる。そこで、電子増倍CCDカメラにより得られた蛍光画像から電子スピン共鳴を検出することも同時に可能にするシステムの開発に取り組んだ。

(2) 共焦点ODMRとワイドフィールドODMRの特性比較

ダイヤモンド窒素空孔中心のODMRの測定は、使用する光子検出器に大きく依存する。カメラベースのワイドフィールドODMR測定を研究し、結果を共焦点ベースのODMR検出の結果と比較することにより、温度測定のパフォーマンスを調べた。

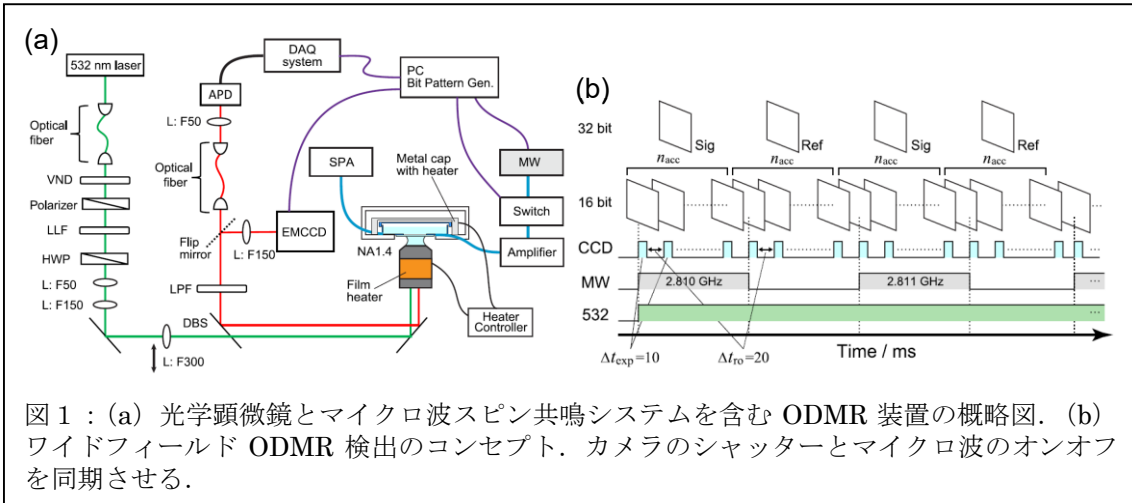
(3) ODMR温度計測によるバイオ応用の開拓

細胞内温度測定は、光熱癌治療、細胞熱走性、細胞レベルの熱発生における細胞死の種類の変化など、温度に関連する生物学的現象の分子メカニズムを解明するための大きな可能性を秘めている。そこで、開発したワイドフィールドODMR顕微鏡を用いて細胞内温度計測を試みた。

4. 研究成果

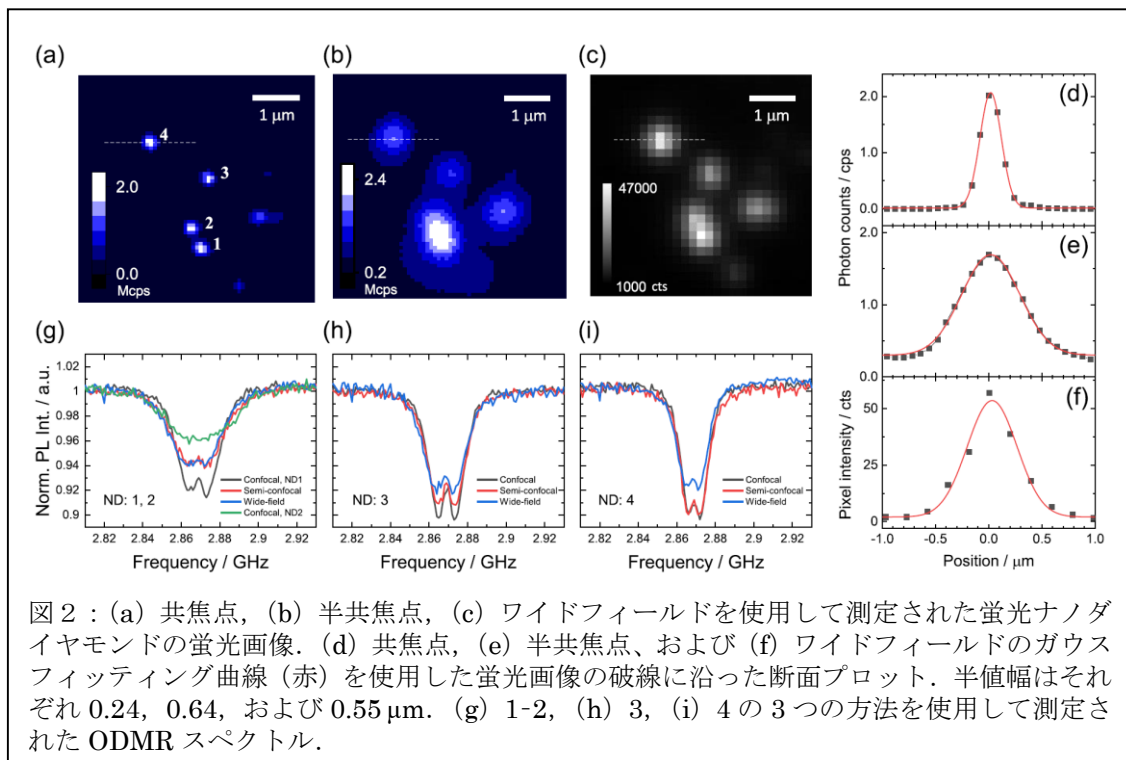
(1) ワイドフィールドODMR顕微鏡の開発

共焦点検出とワイドフィールド検出のODMRスペクトルを比較するために、両方の検出モードでODMR測定を実行できる顕微鏡を開発した(図1a)。顕微鏡には、アンテナ一体型培養皿を保存できる自作のステージトップインキュベーターがある。マイクロ波照射と電子増倍CCDカメラによる蛍光画像取得の同期を行い(図1b)、得られたデータを自作の画像解析プログラムを用いて解析した。その結果、カバーガラス状にスピコートした蛍光ナノダイヤモンドにおいて、電子増倍CCDの蛍光画像からODMRスペクトルを取得することに成功した。また、外部ヒーターによる温度制御を行いながら測定した結果、実際に温度変化を示すODMRスペクトルのピークシフトが確認できた。この手法を用いれば、たった1回の測定で複数カ所の蛍光ナノダイヤモンドからのODMRスペクトルを得ることができる。そのため、顕微鏡観察可において数十マイクロメートル～サブミリメートルオーダーの観測領域における温度分布をマッピングすることが可能となる。



(2) 共焦点 ODMR とワイドフィールド ODMR の特性比較

共焦点検出とワイドフィールド検出を使用して得られた ODMR スペクトルを同じ蛍光ナノダイヤモンドで比較したところ、ODMR はワイドフィールド検出よりも共焦点検出の方が深いことがわかった (図 2). さらに、ODMR 検出に対するピクセル飽和と蛍光ナノダイヤモンドの位置ドリフトの影響を調べ、測定アーティファクトと感度低下を調べた. 結果として、ROI が適切に設定されている限り、単一の焦点面での個々の蛍光ナノダイヤモンドのぼやけた蛍光スポットは ODMR スペクトルに影響を与えない一方で、カメラのピクセル飽和は測定アーティファクトを引き起こす可能性があるため特に注意深い処理が必要となる. 本研究により、バックグラウンド蛍光が低く、ピクセル飽和が適切に処理されていれば、ワイドフィールド ODMR 検出が共焦点検出と同等の結果を得られることを明らかにした (西村ら, *Sci. Rep.* **11**, 4248 (2021)).



(3) ODMR 温度計測によるバイオ応用の開拓

生きた HeLa 細胞内に蛍光ナノダイヤモンドを導入し、開発したワイドフィールド ODMR 顕微鏡による細胞内温度計測を行った (図 3). カメラベースのワイドフィールド検出は、複数の蛍光ナノダイヤモンドの並列プロービングにより、広い視野内の複数のポイントでスピン温度計測が可能である. 培地の温度を変化させながら HeLa 細胞内の蛍光ナノダイヤモンドによる温度計測を行ったところ、測定結果と培地の温度変化に良い一致が見られた.

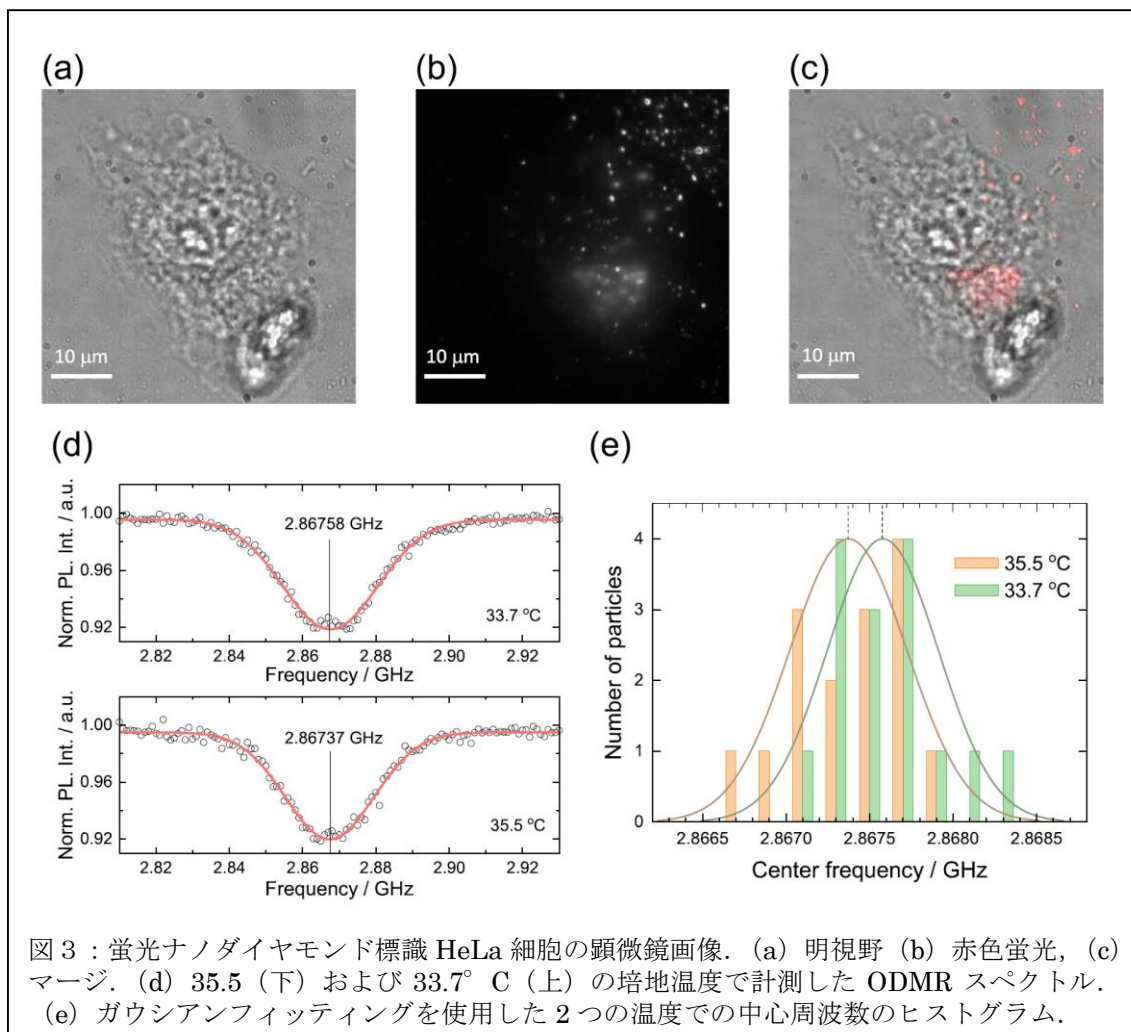


図 3 : 蛍光ナノダイヤモンド標識 HeLa 細胞の顕微鏡画像. (a) 明視野 (b) 赤色蛍光, (c) マージ. (d) 35.5 (下) および 33.7 °C (上) の培地温度で計測した ODMR スペクトル. (e) ガウシアンフィッティングを使用した 2 つの温度での中心周波数のヒストグラム.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Oshimi Keisuke, Nishimura Yushi, Matsubara Tsutomu, Tanaka Masuaki, Shikoh Eiji, Zhao Li, Zou Yajuan, Komatsu Naoki, Ikado Yuta, Takezawa Yuka, Kage-Nakadai Eriko, Izutsu Yumi, Yoshizato Katsutoshi, Morita Saho, Tokunaga Masato, Yukawa Hiroshi, Baba Yoshinobu, Teki Yoshio, Fujiwara Masazumi	4. 巻 -
2. 論文標題 Glass-patternable notch-shaped microwave architecture for on-chip spin detection in biological samples	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Lab on a Chip	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D2LC00112H	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nishimura Yushi, Oshimi Keisuke, Umehara Yumi, Kumon Yuka, Miyaji Kazu, Yukawa Hiroshi, Shikano Yutaka, Matsubara Tsutomu, Fujiwara Masazumi, Baba Yoshinobu, Teki Yoshio	4. 巻 11
2. 論文標題 Wide-field fluorescent nanodiamond spin measurements toward real-time large-area intracellular thermometry	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4248
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-83285-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujiwara Masazumi, Dohms Alexander, Suto Ken, Nishimura Yushi, Oshimi Keisuke, Teki Yoshio, Cai Kai, Benson Oliver, Shikano Yutaka	4. 巻 2
2. 論文標題 Real-time estimation of the optically detected magnetic resonance shift in diamond quantum thermometry toward biological applications	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Physical Review Research	6. 最初と最後の頁 43415
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1103/PhysRevResearch.2.043415	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fujiwara Masazumi, Sun Simo, Dohms Alexander, Nishimura Yushi, Suto Ken, Takezawa Yuka, Oshimi Keisuke, Zhao Li, Sadzak Nikola, Umehara Yumi, Teki Yoshio, Komatsu Naoki, Benson Oliver, Shikano Yutaka, Kage-Nakadai Eriko	4. 巻 6
2. 論文標題 Real-time nanodiamond thermometry probing in vivo thermogenic responses	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 9636
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1126/sciadv.aba9636	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yukawa Hiroshi, Fujiwara Masazumi, Kobayashi Kaori, Kumon Yuka, Miyaji Kazu, Nishimura Yushi, Oshimi Keisuke, Umehara Yumi, Teki Yoshio, Iwasaki Takayuki, Hatano Mutsuko, Hashimoto Hideki, Baba Yoshinobu	4. 巻 2
2. 論文標題 A quantum thermometric sensing and analysis system using fluorescent nanodiamonds for the evaluation of living stem cell functions according to intracellular temperature	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nanoscale Advances	6. 最初と最後の頁 1859 ~ 1868
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0NA00146E	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 宮地 冬、小林 香央里、西村 勇姿、藤原 正澄、湯川 博、馬場 嘉信	4. 巻 27
2. 論文標題 蛍光ナノダイヤモンドによる幹細胞再生機能温度センシング	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Organ Biology	6. 最初と最後の頁 185 ~ 190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11378/organbio.27.185	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsukahara Ryuta, Fujiwara Masazumi, Sera Yoshihiko, Nishimura Yushi, Sugai Yuko, Jentgens Christian, Teki Yoshio, Hashimoto Hideki, Shikata Shinichi	4. 巻 2
2. 論文標題 Removing Non-Size-Dependent Electron Spin Decoherence of Nanodiamond Quantum Sensors by Aerobic Oxidation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Applied Nano Materials	6. 最初と最後の頁 3701 ~ 3710
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnm.9b00614	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計25件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 徳永真登、湯川博、三輪田勤、須賀英隆、有馬寛、西村勇姿、馬場嘉信
2. 発表標題 ナノ量子センサーを用いたiPS細胞由来再生脳オルガノイド機能解明
3. 学会等名 第15回日本分子イメージング学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 徳永真登、湯川博、西村勇姿、須賀英隆、馬場嘉信
2. 発表標題 ナノ量子センサーを用いたiPS細胞由来再生脳オルガノイド機能解明
3. 学会等名 量子生命科学会第3回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 徳永真登、湯川博、西村勇姿、須賀英隆、馬場嘉信
2. 発表標題 ナノ量子センサーを用いたiPS細胞由来再生脳オルガノイド機能解明
3. 学会等名 第52回中部化学関係協会支部連合秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 徳永真登、湯川博、西村勇姿、須賀英隆、馬場嘉信
2. 発表標題 ナノ量子センサーを用いたiPS細胞由来再生脳オルガノイド機能解明
3. 学会等名 第47回日本臓器保存生物医学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 徳永真登、湯川博、西村勇姿、須賀英隆、馬場嘉信
2. 発表標題 ナノ量子センサーを用いたiPS細胞由来再生脳オルガノイド機能解明
3. 学会等名 第21回日本再生医療学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 徳永真登、湯川博、西村勇姿、須賀英隆、馬場嘉信
2. 発表標題 ナノ量子センサーを用いたiPS細胞由来再生脳オルガノイド温度計測と機能解明
3. 学会等名 量子先端科学フォーラム2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西村勇姿、藤原正澄、湯川博、馬場嘉信
2. 発表標題 量子ドットを用いた計測による幹細胞内温度の環境依存性
3. 学会等名 量子生命科学会第2回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西村勇姿
2. 発表標題 生体ナノセンサーによる細胞内温度イメージング
3. 学会等名 バイオインダストリー奨励賞受賞者企画講演会～生命現象の根本的解明を目指す量子生命科学について～（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮地冬、湯川博、小野島大介、藤原正澄、西村勇姿、馬場嘉信
2. 発表標題 蛍光ナノダイヤモンドによる幹細胞再生機能温度センシング
3. 学会等名 量子生命科学会第1回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤原正澄, Dohms Alexande, 西村勇姿, 手木芳男, Benson Oliver, 鹿野豊
2. 発表標題 蛍光ナノダイヤモンドを用いたリアルタイム温度計測
3. 学会等名 第80回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 押味佳裕, 西村勇姿, 田中益明, 仕幸英治, 藤原正澄, 手木芳男
2. 発表標題 広い空間領域で光検出磁気共鳴が検出可能なアンテナ集積化培養ディッシュの開発
3. 学会等名 第80回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西村勇姿, 宮地冬, 公文優花, 湯川博, 馬場嘉信, 藤原正澄, 手木芳男
2. 発表標題 量子ドットによる細胞内温度計測
3. 学会等名 第80回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yushi Nishimura, Kazu Miyaji, Yuka Kumon, Hiroshi Yukawa, Yoshinobu Baba, Yoshio Teki, Masazumi Fujiwara
2. 発表標題 Quantum sensing technology for intracellular temperature measurement
3. 学会等名 International Workshop on Quantum Sensing & Biophotonics 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 押味佳裕, 西村勇姿, 田中益明, 仕幸英治, 松原勤, 藤原正澄, 手木芳男
2. 発表標題 広領域マイクロ波照射が可能な細胞培養ディッシュの開発
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤原正澄, Simo S, Dohms A, 西村勇姿, 首藤健, 竹澤有華, 押味佳裕, Zhao L, Sadzak N, 梅原有美, 手木芳男, 小松直樹, Benson O, 鹿野豊, 中台(鹿毛)枝里子
2. 発表標題 リアルタイム蛍光ナノダイヤモンド温度計測による細胞熱産生の検出
3. 学会等名 第67回応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 押味佳裕, 西村勇姿, 田中益明, 仕幸英治, 松原勤, 藤原正澄, 手木芳男
2. 発表標題 広領域マイクロ波照射が可能な細胞培養ディッシュの開発
3. 学会等名 量子生命科学会第2回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤原正澄, Sun S, Dohms A, 西村勇姿, 首藤健, 竹澤有華, 押味佳裕, Zhao L, Sadzak N, 梅原有美, 手木芳男, 小松直樹, Benson O, 鹿野豊, 中台枝里子
2. 発表標題 生体内リアルタイム蛍光ナノダイヤモンド温度計測
3. 学会等名 第81回応用物理学会秋季学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤原正澄, Simo Sun, Alexander Dohms, 西村勇姿, 首藤 健, 竹澤有華, 押見佳裕, Li Zhao, Nikola Sadzak, 梅原有美, 手木芳男, 小松直樹, Oliver Benson, 鹿野 豊, 中台枝里子
2. 発表標題 生体内リアルタイム蛍光ナノダイヤモンド温度計測
3. 学会等名 第43回量子情報技術研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 藤原正澄, S. Sun, A. Dohms, 西村勇姿, 首藤健, 竹澤有華, 押味佳裕, L. Zhao, N. Sadzak, 梅原有美, 手木芳男, 小松直樹, O. Benson, 鹿野豊, 中台(鹿毛)枝里子
2. 発表標題 電子スピン共鳴融合型蛍光顕微鏡による線虫のin-vivo温度計測
3. 学会等名 日本顕微鏡学会第76回学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 押味 佳裕, 西村 勇姿, 仕幸 英治, 竹澤 有華, 中台 枝里子, 藤原 正澄, 手木 芳男
2. 発表標題 広領域でナノダイヤモンドのNV中心の光検出磁気共鳴が可能なアンテナ一体型ディッシュの開発
3. 学会等名 第68回春季応用物理学会春季学術講演会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤原正澄, A. Dohms, 首藤 健, 西村 勇 姿, 押味 佳裕, 手木芳男, 蔡 凱, O. Benson, 鹿野 豊
2. 発表標題 ダイヤモンドNV中心の電子スピン共鳴周波数が示す光強度依存性とセンシングにおけるアーティファクト
3. 学会等名 日本物理学会第76回年次大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名	Masazumi Fujiwara, Simo Sun, Alexander Dohms, Yushi Nishimura, Ken Suto, Yuka Takezawa, Keisuke Oshimi, Li Zhao, Nikola Sadzak, Yumi Umehara, Yoshio Teki, Naoki Komatsu, Oliver Benson, Yutaka Shikano, and Eriko Kage-Nakadai
2. 発表標題	Real-time nanodiamond thermometry probing in-vivo thermogenic responses
3. 学会等名	SPIE Photonics West 2021 (国際学会)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	Masazumi Fujiwara, Simo Sun, Alexander Dohms, Yushi Nishimura, Ken Suto, Yuka Takezawa, Keisuke Oshimi, Li Zhao, Nikola Sadzak, Yumi Umehara, Yoshio Teki, Naoki Komatsu, Oliver Benson, ○Yutaka Shikano, Eriko Kage-Nakadai
2. 発表標題	Real-time nanodiamond thermometry probing in-vivo thermogenic responses
3. 学会等名	1st Conference on Zero and Ultra Low Field (ZULF) NMR (国際学会)
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	西村勇姿, 徳永真登, 須賀英隆, 馬場嘉信, 湯川博
2. 発表標題	生体ナノ量子センサによるオルガノイドの温度計測
3. 学会等名	量子生命科学会第4回大会
4. 発表年	2022年

1. 発表者名	押味佳裕, 西村勇姿, 松原勤, 田中益明, 仕幸英治, Li Zhao, Yajuan Zou, 小松直樹, 井門勇太, 竹澤有華, 中台(鹿毛)枝里子, 井筒ゆみ, 吉里勝利, 森田紗布, 徳永真登, 湯川博, 馬場嘉信, 手木芳男, 藤原正澄
2. 発表標題	Glass-patternable notch-shaped microwave architecture for on-chip spin detection in biological samples
3. 学会等名	量子生命科学会第4回大会
4. 発表年	2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------