

戦略的創造研究推進事業 CREST  
研究領域「新たな光機能や光物性の発現・利活用  
を基軸とする次世代フォトニクスの基盤技術」  
研究課題「単一光子スペクトル計測によるイメージ  
ング技術開発と細胞機能ヴィジュアルライザの創生」

## 研究終了報告書

研究期間 2017年10月～2023年3月

研究代表者：福田大治  
( (国研) 産業技術総合研究所  
計量標準総合センター  
物理計測標準研究部門  
首席研究員 )

## §1 研究実施の概要

### (1) 実施概要

蛍光や発光など、光を用いたイメージングは、細胞や微生物の生体分子のダイナミクスや、生化学的・生物学的な機能を知るのに重要な手がかりを与える。その分子や生細胞からのわずかな光シグナルを観測し、細胞や微生物が本来持っている生機能を明らかにできれば、医療から産業まで計り知れないインパクトを持つ知見が得られる。これを可能とする計測技術を開発しその実証を行うのが本研究の目標である。

本研究では、以下の三つの研究グループから構成され、最終的に細胞や微生物を超非侵襲かつ1細胞ごとにその機能に基づく状態を識別できる技術の確立を目指した。

- 福田グループ(産総研):光を最小単位の光子として捉え、この光子を波長 400 nm から生体の窓を超える波長 2 μm に至るまでシームレスに一つ一つの光子の波長を分光して計測できる超高感度光検出素子の実現
- 山森グループ(産総研):上記光検出素子を多素子化し、生細胞の発光・蛍光スペクトルの変化をリアルタイムにイメージ観察できる二次元撮像素子の実現
- 野村グループ(筑波大学):生体分子や細胞からの光のシグナルの波長・位置など多量の情報を持つ画像から必要な情報を抽出し、細胞や微生物の生機能をリアルタイムに分析する技術の実現。

今までに無い高感度で細胞をイメージングする技術を実現させる、福田グループおよび山森グループが大規模集積化単一光子分光システムの構築に取り組んだ。この分光システムをもとに、実際に共焦点顕微鏡、多共焦点顕微鏡へとチーム全体で展開を図り、植物細胞から動物細胞へと観察対象を広げながら、顕微鏡に必要なスペックとを精査し最大の成果を得るための研究を実施した。まずこの過程で技術開発として得られた成果は以下の通りである。

- ・ 従来の数百分の1の励起光強度でも細胞からの自家蛍光を明瞭に観察可能な超低侵襲な顕微イメージングの実現。
- ・ 単一光子分光素子(TEs)として、世界最高のエネルギー分解能となる 0.06 eV の実現。
- ・ TEs 素子を多重化する技術として、世界最高のサンプリング速度となる 5 MS/s で 40 素子の同時読み出し技術の実現
- ・ 量子検出限界から 60 dB に至るダイナミックレンジを持つ蛍光評価システムの実現

以上を踏まえ、上記計測技術を駆使してこのチーム全体として取り組むことによって得られた細胞機能ヴィジュアライザとしての成果は以下のとおりである。

- ・ HeLa/GFP 細胞による超低励起光照射下での長時間無退色イメージング。これにより、超低励起光イメージングの低侵襲性を実証。
- ・ 自家蛍光スペクトルの変化量に主成分分析を行うことで、酸化ストレス状態の異なる細胞をマーカーレスで識別できることを実証。

### (2) 顕著な成果

<優れた基礎研究としての成果>

#### 1. 超高速、超高エネルギー分解能をもつ単一光子分光技術の開発

概要:

超伝導転移端センサによる光子分光検出技術(あるいは光子数識別器)について、他の研究機関の追従を許さない基礎研究としての成果を上げること成功した。光パルス中の光子数

を高繰り返し周波数で識別できる技術は量子光学の分野では必須とされており、我々は 10 MHz の繰り返し周波数でも高い忠実度での光子数識別を実証した。また、単一光子を 0.06 eV の世界最高の分解能で弁別することにも実証し、中赤外光子の単一光子分光等への新たな応用への道を拓いた。

## 2. マイクロ波マルチプレクシング技術(MW-Mux)

概要:

超伝導検出器の多重読み出しは、これまで信号の速度が 100 us 程度のガンマ線では数 10kHz 程度のサンプリング周波数で 100 チャンネル以上の同時読み出しが他研究機関でも実現されていた。一方で、単一光子検出器は立ち上がり約 300 ns といった非常に高速な信号を出力するため、複数チャンネルの信号を多重化するのは非常に困難であった。我々は超伝導回路チップの素子構造を改良し 5 MHz のサンプリング周波数を実現し、単一光子の高速な信号の多重読み出しを世界で初めて実証した。

## 3.細胞評価技術(CRIF 法)

概要:

本手法は、反射顕微鏡法で細胞の位置および形態情報を、共焦点レーザー顕微鏡法により細胞の自家蛍光情報を同時に取得する技術である。1 細胞ごとに画像解析を行うことで、体系的で総合的な各細胞の自家蛍光情報を抽出し、自家蛍光シグネチャーとして再構築することにより、各細胞を識別する「細胞の指紋」を取得することを可能とする

< 科学技術イノベーションに大きく寄与する成果 >

### 1.超低侵襲単一光子分光イメージング

概要:

細胞の蛍光イメージングは有用な情報が得られる反面、観察ともなう強い励起光により細胞にダメージを与えるというジレンマがあった。このため、再生医療に用いる細胞や、生殖医療に用いられる卵子などデリケートな細胞への適用が難しいという課題があった。本研究課題により、これまでより数オーダー低い、ほぼ自然光強度での蛍光イメージング細胞評価が可能になった。この成果は様々な応用への道を開くブレイクスルーである。

### 2. 超伝導単一光子検出器の多画素化の研究開発加速

概要:

超伝導単一光子検出器は従来の検出器では実現できない感度と分解能を有するが、素子が小さいため測定に時間を要するという課題があった。本プロジェクトにおいて単一光子の高速な信号の多重読み出しを世界で初めて実証し、多画素化による検出時間短縮化や画像イメージングの道を拓いた。

### 3. バイオフィルム内における細胞の配向性の発見

概要:

屈折率マッチング技術により 反射共焦点イメージングのコントラストを改善する要素技術を開発した。これを用いた研究から、これまで可視化が難しかった低酸素濃度条件下で、緑膿菌バイオフィルムの立体構造を可視化することに成功した。さらに画像解析によって、本バイオフィルムが、多孔質な 2 次元メッシュ状の構造が高さ方向に一樣に積層した立体構造を持つことを明らかにした。本結果は、これまで立体構造の配向性は低いと考えられてきたバイオフィルムに、配向性の高い構造モデルが存在することを示すものである。

< 代表的な論文 >

1. “Few-photon spectral confocal microscopy for cell imaging using superconducting transition edge sensor,” K, Niwa, K. Hattori, D. Fukuda, Front. Bioeng. Biotech 9, 789709 (2021).

概要:

共焦点レーザー走査型顕微鏡 (CLSM) に TES 技術を適用し、生体サンプルの超高感度で広帯域の波長範囲カラー イメージングを実証した。広波長帯域観察に向け、3 つの異なる色素を同時に励起するために、405 および 488 nm レーザーを組み合わせて照射しました。それぞれ 80 nW と 120 nW の低出力で照射しても、発光シグナルは TES によってスペクトル的に検出され、RGB, IR の四つの波長帯域に識別されました。観察された各波長域の S/N は従来技術よりも高い値を示し、この結果は、TES が生命科学分野で有用な広帯域スペクトル光子検出器になることを示しています。

2. "Low-noise microwave SQUID multiplexed readout of 38 x-ray transition-edge sensor microcalorimeters", Y.Nakashima et al., Applied Physics Letters, Vol.117, p.122601 (2020), DOI: 10.1063/5.0016333

概要:

サンプリング周波数 500 kHz で 40 チャンネルを読み出せるマイクロ波多重読み出し回路を開発し、X 線 TES マイクロ熱量計のアレイから 38 ピクセルの同時読み出しを行い、立ち上がり時間が約 12 us の高速応答と 9 pA/ルート Hz という低ノイズ性能を実現した。サンプリング周波数(高速化)とチャンネル数(集積化)の両方を同時に低ノイズで実現したという点では世界的にも最高性能の成果である。

3. "Three-dimensional morphology of bacterial community developed on the index-matched materials," Okano C, Takabe K, Hirayama T, Nomura N, Yawata Y, Scientific Reports 11:19508. 2021.

概要:

環境中の細菌は浮遊状態で存在するだけではなく、様々な物質表面に定着して組織上の多細胞構造体(バイオフィーム)を形成し、さまざまな環境ストレスへの抵抗性を獲得する。八幡らは、2008 年に細胞の反射光を利用することで、形質転換や染色を必要とせずにバイオフィームを一細胞解像度で可視化する手法(COCRM 法)をこれまでに開発しており、口腔バイオフィームや合成生物学により作成された細胞の可視化などに幅広い用途で用いられてきた。一方で共焦点反射顕微鏡法には、固体-液体界面での全反射により画像のコントラストが低下するという問題があった。そこで本研究では固体-液体界面での屈折率差(全反射を引き起こす)をポリマーコーティングにより解消し、高コントラストの画像を生成する技術を開発した。この技術を活用した一細胞解像度の解析により、低酸素環境下(蛍光タンパク質の適用が難しい)で形成される細菌バイオフィーム内部での細胞の配置はこれまで考えられてきたようにランダムなものではなく、一定の秩序(細胞がほぼ水平に配置)があることを解明した。

## § 2 研究実施体制

### (1) 研究チームの体制について

- ① 福田グループ(産業技術総合研究所)  
研究代表者:福田 大治(産業技術総合研究所 物理計測標準研究部門 首席研究員)  
研究項目
  - ・ 単一光子スペクトル測定装置による生物蛍光発光スペクトルの測定
  - ・ 超広帯域かつ高波長分解能をもつ超伝導光検出技術の開発
  - ・ 単一光子スペクトル素子の集積化技術の開発
  - ・ 非古典的な光子統計に基づく超解像イメージング(新型コロナウイルス感染に関する追加研究)
- ② 野村グループ(筑波大学)  
主たる共同研究者:野村 暢彦(筑波大学 生命環境系 教授)  
研究項目
  - ・ 単一光子分光スペクトル測定装置を蛍光検出器とした生物対応共焦点顕微鏡による超低ダメージ自家蛍光パターン取得法の構築
  - ・ 単一光子分光スペクトル測定法を利用した細胞機能の評価
- ③ 山森グループ(産業技術総合研究所)  
主たる共同研究者:山森 弘毅(産業技術総合研究所 ナノエレクトロニクス研究部門 研究グループ長)  
研究項目
  - ・ 読出し回路の高速化
  - ・ 100 素子アレイ用読出し回路開発

### (2) 国内外の研究者や産業界等との連携によるネットワーク形成の状況について

- ① 東京大学古澤研究室、理化学研究所、情報通信研究機構、NTT と新しい量子プロトコルの実証に向けた共同研究  
福田大治(研究代表者)が産総研側の代表者として上記 5 者の共同研究を推し進め、オールジャパンで量子情報の新たな展開につながる研究を実施中である。
- ② 文部科学省光・量子飛躍フラッグシッププログラム(Q-LEAP)基礎基盤研究「光子数識別量子ナノフォトニクス」の創成(2018年~2022年年度)、研究代表者 東北大学枝松圭一  
福田大治(研究代表者)が上記プロジェクトの研究分担者として超伝導光子数識別器の開発を担当した。東北大学とは、共同研究を実施中である。
- ③ JST 戦略的創造研究推進事業【革新光】「ハイブリッド光位相シフトによるプログラマブル光回路を用いた光演算」東京大学竹中充  
産総研は上記プロジェクトの主たる共同研究者として参画しており、福田大治(研究代表者)がこの中核メンバーとして効率の高い光子検出器の開発を担当している。
- ④ 立教大学山田真也研究室等と共同研究  
福田大治(研究代表者)は、超伝導光検出器の宇宙科学分野への展開を視野に共同研究を実施中である。
- ⑤ ドイツ標準物理研究所(PTB)との共同研究  
福田大治(研究代表者)は、単一光子 Metrology への展開として共同研究を実施中である。また、ヨーロッパ計量標準機関間の国際プロジェクト SEQUME(Single and entangled photon sources for quantum metrology)に研究パートナーとして参画中である。
- ⑥ ベルリン工科大学との共同研究

福田大治(研究代表者)は、超伝導検出器を用いた光子の超精密計測に関する共同研究を実施中である。

山森 G では、これまで多チャンネル読み出し回路の動作確認を行うにあたり、多チャンネルで実際に動作する超伝導センサーアレーが必要であった。そこで、オランダの SRON と共同研究契約を締結し、X 線用超伝導転移端センサーアレーの貸し出しを受け、産総研で試作した読み出し回路で 40 チャンネル同時読み出しの実証実験を行った。この検出器は本プロジェクトで開発するものよりも一桁速度が遅いが、本プロジェクトの単一光子読み出しのための高速化の設計の指針を得るのに大いに貢献した。また本プロジェクトに参加した研究員が国内外の研究所(ドイツ PTB、立教大学、産総研等)または民間企業等で新たにポスドクやパーマネントのポストを得ており、本プロジェクトに参画した人材が超伝導検出器のみならず様々な研究開発において活躍している。