

「コンポジット量子センサーの創成 -1細胞から1個体まで-」

研究期間：2018年10月～2022年3月

研究者：五十嵐 龍治

1. 研究のねらい

本研究では、ワイドバンドギャップ半導体中のアルシュの格子欠陥を持つ量子センサーとしての性質に着目し、(1)細胞や生体の多種多様な局所パラメータを分別・一括定量する量子計測技術を開発する。また、(2)ナノハイブリッド技術により、量子センサーで計測可能な物理化学パラメータの種類を拡張する「コンポジット量子センサー」を創成する。更に(3)哺乳動物個体への適用を試み、発生やがん化の定量的モニタリング、自由行動下での脳計測への応用を目指す。これにより細胞や生体組織の状態を定量的に評価し、生命現象のデータ同化シミュレーションにも耐える観察データを提供する。また、哺乳動物個体計測に量子センサーを活用することで、高次の生命科学基盤の創出と技術シーズの提供を目指す。

(1)物理化学パラメータの時空間計測技術の開発

多様な物理化学パラメータを一括定量するパルス系列をデザインする。これにより、細胞内外の多様な物理化学パラメータを時系列イメージングするために必要な量子計測技術を開発する。

(2)ナノハイブリッド技術によるコンポジット量子センサー開発

量子センサーを機能性のポリマーや化学種とハイブリッドすることにより特定のパラメータの影響を増強し量子計測技術では排除できないクロストークを回避する。また、これまで光検出磁気共鳴(ODMR)計測で検出できなかったパラメータを定量する新規センサーを開発する。これにより新たな単一細胞計測技術の提供、および生物個体内での腫瘍形成や脳疾患の病態進行のモニタリングなど応用を実施する。

(3)哺乳動物個体を対象とした量子計測技術の開発

上記の技術を哺乳動物個体計測に応用し、生物個体内の多様な情報を量子センサーによって得るために新たなアプローチを開発する。

(a) 受精卵の実験系への量子センサーの適用

蛍光ナノダイヤモンドをマウス受精卵にインジェクションすることで、1個体に対して局所物理化学パラメータの定量マッピングを目指す。

(b)「ODMR ファイバーフォトメータ」の開発

量子センサーと光ファイバーをカップリングした「ODMR ファイバーフォトメータ」を生物個体内に導入し、臓器近傍や脳内などの生体内物理化学パラメータを高精度計測する。

(c) 近赤外量子センサー-VSiによる深部観察

ナノ SiC をマウスの硬膜内に導入し、脳など透明度の低い組織中で物理化学パラメータの取得を試みる。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究について、当初計画に沿って研究開発を進め、以下の成果が得られた。

(1) 物理化学パラメータの時空間計測技術の開発

①温度と粘性、②温度とラジカル、③温度と pH、④温度と磁場の同時計測技術の開発を行い、いずれの場合も単一のセンサーで同時計測が可能であることを確認、①および②については特定の病態との相関を得ることに成功した。また、新たな計測パラメータとして「3次元回転運動」を精密計測する方法論を考案し生命計測での有用性を実証した(論文2)。更に、NV センター形成法および量子センサー小粒子化などの材料開発にも取り組み(*Nature Communications*, 2019; *ACS Nano*, 2019)、世界最小となる粒子径 5nm のナノ量子センサーの製法開発に成功した。また生体親和性向上のための表面化学修飾法の開発にも取り組んだ結果、表面化学状態の調整が新たなコンポジット材料開発につながるという、当初は思いもよらなかった研究成果も得られた(*Nature Energy*, in Press)。

(2) ナノハイブリッド技術によるコンポジット量子センサー開発

ナノダイヤモンド表面を機能性のポリマーや化学種とハイブリッドすることにより、特定のパラメータの影響を増強し量子計測技術では排除できないクロストークを回避する「コンポジット量子センサー」による微小環境 pH 計測の実現を目指して本研究に取り組んできた。その結果、50-100 nm 程度のナノダイヤモンドを利用して、pH をリアルタイム計測可能な可逆的 pH ナノセンサーを実現することに世界で初めて成功した(論文3)。

(3) 哺乳動物個体を対象とした量子計測技術の開発

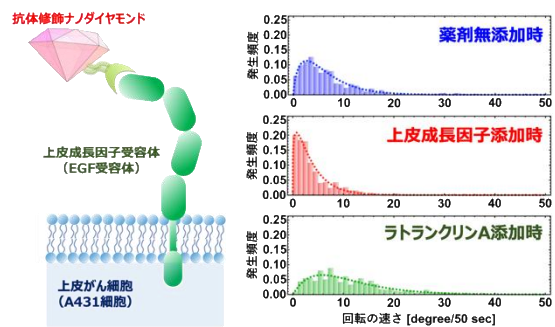
上記の技術を生物個体に適用し、生体内においても様々なパラメータを微小環境で計測することが可能であることを実証した。また、ODMR ファイバーフォトメータの開発についても開発を進めた(*Scientific Reports*, 2020; *IEEE Transactions on Magnetics*, 2020)。更に、生物個体外から生体内の NV センターを検出する手法として、In vivo イメージャータタイプの ODMR 計測装置についても開発を行った。これにより、20 cm 離れた位置からマウス皮下 100 μ m 程度深さにある NV センターを利用して皮下温度を計測することに成功した(*Biomaterials Science*, 2021)。また、All-optical のナノダイヤモンド選択イメージング技術を開発した(論文1)。2012年に五十嵐が開発した手法では積算回数 N に対して $N^{1/2}$ 倍の選択性しか得られなかったが、新技術では N 倍という大幅な選択性の向上が見られた。

(2) 詳細

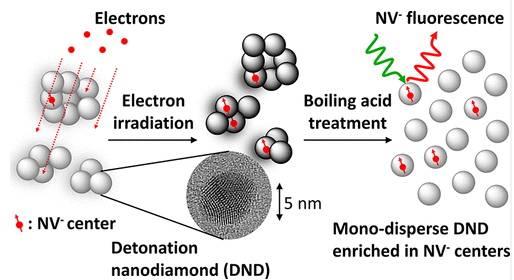
(1) 物理化学パラメータの時空間計測技術の開発

本研究を通じて、生命科学研究における「物理化学パラメータの多項目計測」の重要性を訴え続けてきた。研究開始当初はまだまだ広く受け入れられてはいなかったが、近年になり量子技術イノベーション戦略においても重点課題の一つとして目標に掲げられる(https://www.kantei.go.jp/jp/singi/ryoshigijutsu_innovation/dai6/siryo1-2.pdf)など、広く認知される様になった。その中であって五十嵐は、温度と他のパラメータとの定量的な関係性が物理化学の基本でありながら生命の微小領域においては議論する手段がない現状を踏

まえて、①温度と粘性、②温度とラジカル、③温度と pH、④温度と磁場を量子センサーにより同時計測することを目指して開発を行ってきた。その結果、いずれの場合についても単一のセンサーで同時計測が可能であることを確認するとともに、①についてはタンパク質集合体の物性計測に、②については生物個体内における計測に適用し、それぞれ特定の病態との相関を得ることに成功した。また、新たな計測パラメータとして「3次元回転運動」を精密計測する方法論を考案し、1分子構造動態の3次元トラッキングや、培養細胞系における薬剤応答の1分子計測(右図)に適用可能であることを実証するなど、その有用性を明らかにした(論文2: Igarashi *et al.*, *Journal of the American Chemical Society*, 2020; プレスリリース 3: <https://www.qst.go.jp/site/press/40761.html>)。



更に、量子センサーを用いて生体内微小環境の時空間計測を高感度・高分解能で実現するために、ダイヤモンド結晶中への NV センター形成法の開発およびナノダイヤモンド量子センサーの小粒子化開発にも取り組んだ(Haruyama *et al.*, *Nature Communication*, 2019; Terada *et al.*, *ACS Nano*, 2019)。その結果、世界最小となる粒子径 5nm のナノ量子センサーを作成する製法を開発することに成功した(右図; プレスリリース

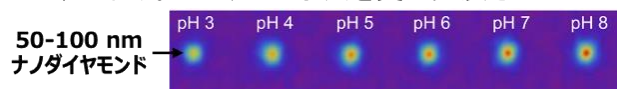


5: <https://www.qst.go.jp/site/press/26372.html>)。これにより、5 nm の爆轟法ナノダイヤモンドの量子センサーとしての利用に活路を見出した。また、爆轟法ナノダイヤモンドについては生体親和性向上のための表面化学修飾法の開発にも取り組んでいる。その副次的な結果、表面化学修飾状態を厳密に調整した爆轟法ナノダイヤモンドを用いたある種のコンポジット材料が耐湿性水素分離膜として極めて有望であることを実証するなど、当初は思いもよらなかった研究成果にもつながった(Huang *et al.*, *Nature Energy*, in Press; プレスリリース1)。

(2) ナノハイブリッド技術によるコンポジット量子センサー開発

細胞内の局所 pH は細胞内のエネルギー産生や不要物の分解、生体組織においてはその病態などとも深く関係するため、微小環境の pH 定量技術の実現は長く待望されてきた課題である。量子センサーもその実現への寄与を期待されてきた技術の一つであるが、NV センターは pH に対する応答性を持たないことが知られており、pH を計測するための新たなセンサー開発の必要性が認識されていた。その中であって五十嵐は、ナノダイヤモンド表面を機能性のポリマーや化学種とハイブリッドすることにより、特定のパラメータの影響を増強し量子計測技術では排除できないクロストークを回避する「コンポジット量子センサー」による微小環境 pH 計測の実現を目指して本研究に取り組んできた。その結果、50-100 nm 程度のナノダイヤモンドを利用して、pH をリアルタイム計測可能な可逆的 pH ナノセンサーを実現することに世界で初めて成功した(論文3: Fujisaku *et al.*, *ACS Nano*, 2019; プレスリリース 4: <https://www.qst.go.jp/site/press/31759.html>; 右図)。

また、この手法を更に発展させることにより、カルシウムイオンなどのイオン種の計測にも適用可能であること

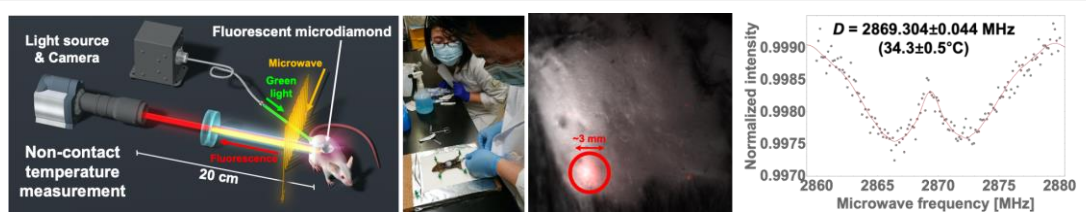


とを確認した。また、本手法は開発当初は生体分子の非特異吸着の排除(ステルス化)が不十分であったため、細胞内では pH 応答性が不活性化するなどの問題を抱えていた。しかし、その後の開発で pH ナノセンサーのステルス化にも目処が立ち、現在この手法の細胞内計測や生体計測などへの応用を行っている。

(3) 哺乳動物個体を対象とした量子計測技術の開発

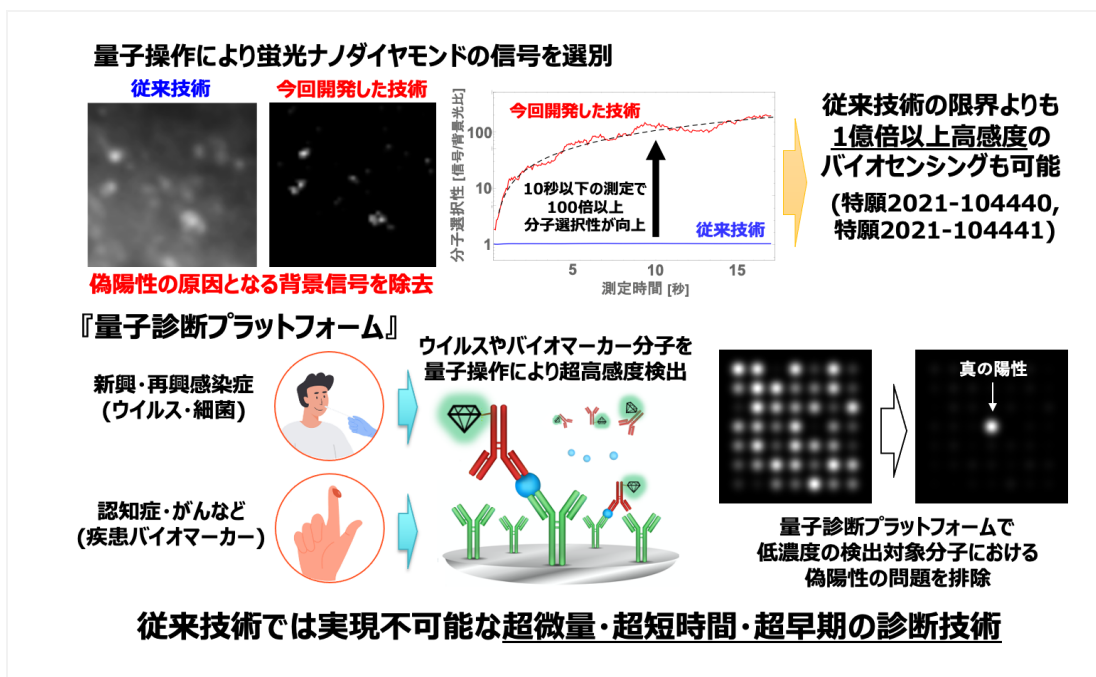
上記の技術を哺乳動物個体計測に応用し、生物個体内の多様な情報を量子センサーによって得るために新たなアプローチについても開発を進めた。その一部は既に前述の通りである。これらは全て顕微鏡によるナノダイヤモンド NV センターの計測をベースとした技術であり、生体内においても温度やラジカル種など様々なパラメータを微小環境で計測することが可能であることを実証してきた。またその派生的な研究として、当初計画にあった受精卵の実験系への量子センサーの適用を実現する新たな方法として、ナノダイヤモンドではなく、ダイヤモンドのマイクロニードルをプローブとして受精卵中の微小環境を定量計測する手法についても日立と共同で開発を進めている。この方法であれば、従来のナノダイヤモンドを使う手法で問題となってきた「粒子の回転」が起こらないため、バルクダイヤモンドの系で開発が進められてきた様々な量子センシング技術(たとえば XY8, CPMG, Qdyne など)を細胞計測に適用可能である。従って、従来法では達成できなかった超高感度で、細胞内局所の物理・化学パラメータ計測が実現されると期待している。

また、ODMR ファイバーフォトメータの開発についても当初計画として挙げていた。これについても開発を進めており、その一部成果は東大 関野研との共同研究成果として論文でも発表されている(Kuwahata *et al.*, *Scientific Reports*, 2020; Kitaizumi *et al.*, *IEEE Transactions on Magnetics*, 2020)。現在、内視鏡的に生体内の量子センシングを行うための ODMR ファイバーフォトメータ開発を QST において進めている。更に、生物個体外から生体内の NV センターを検出する手法として、In vivo イメージャータイプの ODMR 計測装置についても開発を行った。これにより、20 cm 離れた位置からマウス皮下 100 μ m 程度深さにある NV センターを利用して皮下温度を計測することに成功した(Kaminaga *et al.*, *Biomaterials Science*, 2021; 下図)。



一方、ナノ SiC 中の近赤外量子センサー V_{Si} による深部観察については、生体親和性の改善開発の点では超分岐ポリグリセロール修飾によるステルス化のスキームを開発するなど大きく進展したが、生体内深部観察という点では顕著な進展が見られなかった。その最も大きい理由は、 V_{Si} の蛍光波長域である 900 nm 付近の近赤外光を高感度検出する検出器の技術的な進歩が研究開始当初の予想よりも緩やかなものであり、2021 年現在においても有力な市販品が存在しないことが大きな原因である。従って、現時点では EMCCD を用いた検出が最も高い感度を与える検出手法の一つであるが、この場合においては NV センターとの間に検出感度の点での優位性は見られなかった。

哺乳動物個体を対象とした量子計測技術の開発においては、研究開始当初は全く予想しなかった非常に大きな開発成果も得られた。それは、ウイルスや疾患バイオマーカー分子の超高感度検出を実現する蛍光選択イメージング技術の開発である。五十嵐は 2012 年にマイクロ波による NV センターの蛍光強度変調を活用したナノダイヤモンド選択イメージング技術を発表したが、この手法が超高感度のウイルス検出に利用可能であることが 2020 年にイギリスのグループから報告された (Miller *et al.*, *Nature*, 2020)。ただし、マイクロ波を使うことから汎用の光学装置としては機構が複雑で高コストであること、また選択性の向上が積算回数 N に対して $N^{1/2}$ 倍の向上しか見られないため更なる高感度化が見込めるなどの技術課題がこの手法には存在した。そこで、本研究を通じて開発した T_1 強調ナノイメージング技術 (Fujisaku *et al.*, *Chemosensors*, 2020) に改良を加えることを着想し、選択性が積算回数 N に対して N 倍向上する All-optical のナノダイヤモンド選択イメージング技術を開発することに成功した (論文 1: Yanagi *et al.*, *ACS Nano*, 2021; 特許出願 1: 特願 2021-104440; 特許出願 2: 特願 2021-104440; プレスリリース 2: <https://www.qst.go.jp/site/press/20210803.html>; 下図)。この手法は、2012 年に自らが開発した手法よりも遥かに簡便で、かつ遥かに高い選択性が得られることから、RT-PCR やデジタルイムノアッセイなど既存の高感度技術では達成できなかった超高感度かつ迅速なウイルスおよび疾患バイオマーカーの検出が実現可能であると考えており、現在この技術に基づくイムノアッセイ系「量子診断プラットフォーム」の構築を進めている。



3. 今後の展開

本研究成果から、大きく分けて以下の3つの展開が今後期待できる。

(1) ナノ量子センサーによる細胞計測技術の展開

細胞計測技術については、本研究で多くの開発・実証を行ってきた。その結果、温度やラジカル、pH などのパラメータ計測について技術開発と実証を進め、実用化に目処の立つレベルまで技術開発が進展した。今後は、これら多様な微小環境パラメータを単一センサーで一括計測する技術の開発が進み、マルチパラメータ計測に基づく細胞状態評価が今後5年以内には実用化できると考えている。その結果、細胞生物学分野における基礎研究への寄与にとどまらず、創薬における薬剤スクリーニング、病理診断など産業や医療へも大きく貢献できると期待している。

(2) ナノ量子センサーによる生物個体計測技術の展開

生物個体の計測技術についても、細胞計測技術と同様にナノ量子センサーの貢献が見込める技術分野であると考えている。これにより、生体内における発がん初期に微小環境が及ぼす影響、脳の機能や病理、生体内での発生過程などの定量的な取り扱いが可能になり、がんや認知症などの機序解明や治療法開発、再生医療における複雑な臓器形成などへの貢献が見込める。ただし、このためには生体深部での量子センシング技術の開発が不可欠だが、2光子励起などによる生体深部での ODMR 計測は現在も検討を進めている課題であり、実用化には10年程度の期間を要すると考えている。

(3) ナノ量子センサーによる量子診断プラットフォーム技術の展開

ナノダイヤモンドを用いた体外診断技術(量子診断プラットフォーム)は、ナノダイヤモンドの生命科学応用において最も早期の実用化が見込める技術の一つである。既に RNA ウイルスなどについて高感度の検出が可能であることは実証されており、これを様々な疾患バイオマーカーに適用するための開発を進めている。この数年での製品化を視野に開発をすすめており、臨床においても今後5~10年での実用化が十分期待できる。

4. 自己評価

日本は今、世界がこれまでに経験したことのない速さでの人口高齢化を経験している。我が国が直面するこの大きな課題を克服するためには、国民が健やかに老いることができ、生涯にわたり社会参加できる健康・長寿社会の達成が望まれる。このためには、日本発の新技术に基づく医療産業の活性化、世界最先端の効果的かつリーズナブルな医療の実現、疾患早期に適切な医療にアクセスするための基盤づくりなどが最重要課題となっている。

量子センサーをはじめとする量子生命技術は、この課題に対して最適な解を与える可能性を持つ萌芽的な技術であった。本研究を通じて、五十嵐は、ナノ量子センサーの生体計測への応用に向けて問題点を徹底的に洗い出し、それらに一つ一つ対処することで、従来の計測技術では達成し得ない微小・微量・多項目の生命計測が実現できることを証明してきた。その結果、当初計画を遂行できたことはもちろん、当初予想を大きく超える成果をもたらすことができたと考えている。また、その成果は17件の論文(内IF 10以上は6件)で発表されただけでなく、延べ5誌においてカバー採用されるなど高い評価と期待も集めている。

「3. 今後の展開」に記載した内容は、本さきがけ研究から派生してすでに五十嵐らがプロジェクトとして開始しているものであり、そこには既にいくつかの民間企業も参加・協力し始めている。その実現は、たとえば、(1)病態を含む細胞状態の詳細な評価や、(2)小動物を用いた病理の解明、更に(3)簡便かつ安価な体外診断により未病・超早期の内に様々な疾患を検出するための技術基盤などになり得る。従って、本研究が創出した革新的技術シーズは「日本発の新技术に基づく医療産業の活性化」「世界最先端の効果的かつリーズナブルな医療の実現」「疾患早期に適切な医療にアクセスするための基盤づくり」といった健康・長寿社会達成に向けた社会インフラの構築に大きく貢献できるものと考えている。

5. 主な研究成果リスト

(1) 代表的な論文(原著論文)発表

研究期間累積件数: 17件

1. Tamami Yanagi, Kiichi Kaminaga, Michiyo Suzuki, Hiroshi Abe, Hiroki Yamamoto, Takeshi Ohshima, Akihiro Kuwahata, Masaki Sekino, Tatsuhiko Imaoka, Shizuko Kakinuma, Takuma Sugi, Wataru Kada, Osamu Hanaizumi*, Ryuji Igarashi*. "All-Optical Wide-Field Selective Imaging of Fluorescent Nanodiamonds in Cells, *In Vivo* and *Ex Vivo*." *ACS Nano*. **2021**, 15(8), 12869-12879, IF: 15.881, Supplementary Journal Cover

ナノダイヤモンドを選択イメージングするための全光学的な手法の開発と生体試料での実証を行った。2012年に五十嵐が開発したナノダイヤモンド選択イメージングの手法はマイクロ波による蛍光変調を利用し、後にこの手法でウイルスの高感度検出が行えることなども実証されている。その一方で、マイクロ波を使うこと、選択性が積算回数の平方根に比例してしか伸びないことなどが課題となってきた。本手法ではこれを All-optical で実現するとともに、選択性の伸びを積算回数に比例するまでに向上させた。

2. Ryuji Igarashi*, Takuma Sugi, Shingo Sotoma, Takuya Genjo, Yuta Kumiya, Erik Walinda, Hiroshi Ueno, Kazuhiro Ikeda, Hitoshi Sumiya, Hidehito Tochio, Yohsuke Yoshinari, Yoshie

Harada*, Masahiro Shirakawa*. “Tracking the 3D Rotational Dynamics in Nanoscopic Biological Systems.” *Journal of the American Chemical Society*. **2020**, 142(16), 7542–7554, IF: 15.419, Supplementary Journal Cover

磁場中における NV センターの共鳴周波数の角度依存性を利用し、NV センターを有するナノダイヤモンドの回転運動を3次元的にトラッキングする技術を開発した。また、この技術を1分子構造変化の3次元トラッキングや、薬剤応答の1細胞計測、生物個体中でのナノレベルの運動計測など様々な生体試料に適用し、その有用性を実証した。

3. Takahiro Fujisaku, Ryotaro Tanabe, Shinobu Onoda, Ryou Kubota, Takuya F. Segawa, Frederick T.-K. So, Takeshi Ohshima, Itaru Hamachi, Masahiro Shirakawa*, Ryuji Igarashi*. “pH Nanosensor Using Electronic Spins in Diamond.” *ACS Nano*. **2019**, 13(10), 11726–11732, IF: 15.881

NV センターは本来外界の pH に応答しないためナノダイヤモンド量子センサーは pH 計測には利用できなかったが、本研究では pH 変化に応じて電荷状態が変化する表面化学修飾をナノダイヤモンドに施すことにより、ナノダイヤモンド量子センサーに pH 応答性を付与することに成功した。更に、この方法は pH 変化に対して可逆的に応答することを示し、ナノ領域におけるリアルタイム pH 計測が行えることを実証した。

(2) 特許出願

研究期間全出願件数: 2件 (特許公開前のもも含む)

1	発 明 者	五十嵐 龍治、神長 輝一、柳 瑤美
	発 明 の 名 称	蛍光検出装置及び蛍光検出方法
	出 願 人	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構
	出 願 日	2021/06/23
	出 願 番 号	特願 2021-104440
2	発 明 者	五十嵐 龍治、神長 輝一、柳 瑤美
	発 明 の 名 称	蛍光検出装置及び蛍光検出方法
	出 願 人	国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構
	出 願 日	2021/06/23
	出 願 番 号	特願 2021-104441

(3) その他の成果 (主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

プレスリリース: 5件

1. 世界最高の水素分離性能を有する酸化グラフェン膜を開発—耐湿性を飛躍的に改善し、実用化に大きく前進—
2. 量子操作で蛍光検出効率 100 倍に成功 ~ウイルス感染症の早期・迅速診断への応用に期待~
<https://www.qst.go.jp/site/press/20210803.html>
3. 細胞における分子 1 個の回転運動を3次元で検出するナノ量子センサーを実現~ 医学と生命科学の発展に幅広く貢献 ~
<https://www.qst.go.jp/site/press/40761.html>

4. 世界初・ナノサイズの pH センサーを実現 –生命の謎にダイヤモンドで迫る–
<https://www.qst.go.jp/site/press/31759.html>
5. 世界最小のダイヤモンド量子センサーの作成に成功 –細胞や分子のわずかな変化をとらえる超高感度センサーとして期待–
<https://www.qst.go.jp/site/press/26372.html>