ODMR（光検出磁気共鳴）温度測定方法

岡山大学　学術研究院自然科学学域
大学院自然科学研究科
地球生命物質科学専攻
研究教授　藤原　正澄

2022年9月29日

技術開発に関する研究者個人の動機

- 方向性
  - 機能性ナノ粒子を用いた新しいナノ計測技術を開拓
  - 量子現象を測定・制御することで新しい分析技術を提示

- 信条
  - 物理・化学・生物をまたぐ学際基礎研究
  - 応用的研究は、他分野の基礎研究である
  - 分析技術は、「**使ってもらってこそ、価値がある**」

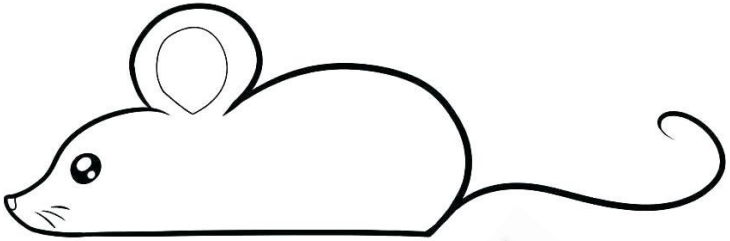
ナノ温度計はどのように役に立つのだろうか？

本資料の構成

- 研究者がこれまで主に研究を行ってきた、バイオ計測での技術開発や結果を紹介
- バイオ計測分野に限らず、温度計としての様々な用途の可能性を議論

生体の温度計測

調子が悪いと…
代謝や炎症の指標



体内深部温度計測

約1 mm
最小の温度計でも50 μm

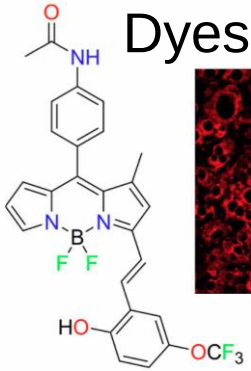
細胞レベルの温度計測には困難

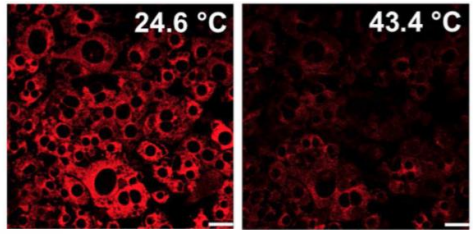
- 温度の重要性は認識されているが…
- 積極的に計測・制御される事は多くない（基本的に温度一定）

細胞レベルの温度計測（蛍光ナノ温度計）

有機分子：分散性・特異性

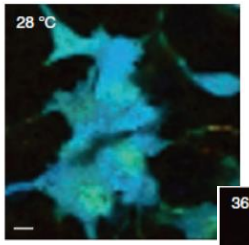
Dyes

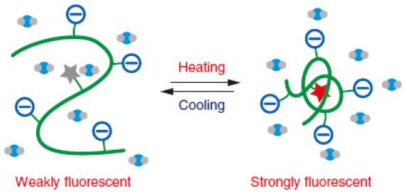


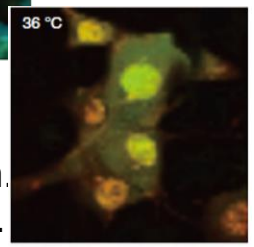


Kriszt et al.,
Sci. Rep. 7, 1383 (2017).

Polymer



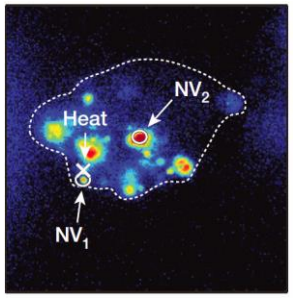




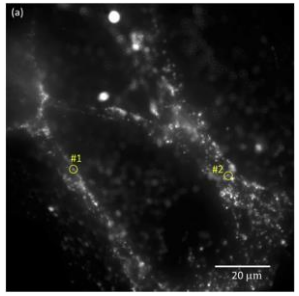
Okabe et al.,
Nat. Commun.
3, 705 (2012).

無機ナノ粒子：安定・長期間

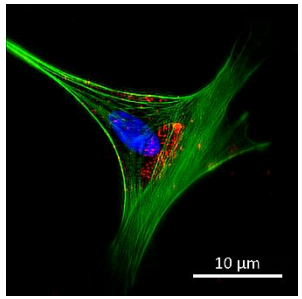
蛍光ナノダイヤモンド



Fibroblast: laser heating
Kucsko et al.,
Nature **500**, 54 (2013).

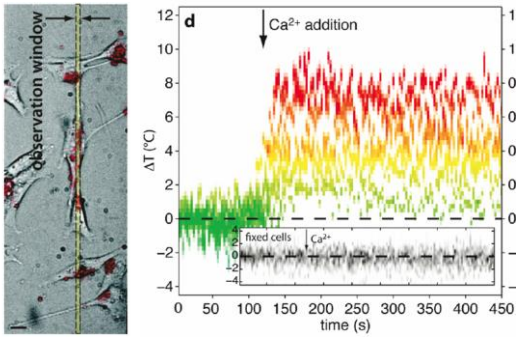


Neuron: nontoxic
Simpson et al.,
ACS Nano **11**, 12077 (2017).



Stem cells
Yukawa, Fujiwara et al.,
review (2019).

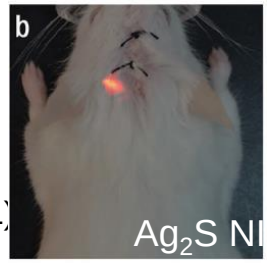
量子ドット



Yang et al.,
ACS Nano 5, 5067 (2011)

Tanimoto et al.,
Sci Rep. 6: 22071 (2016).

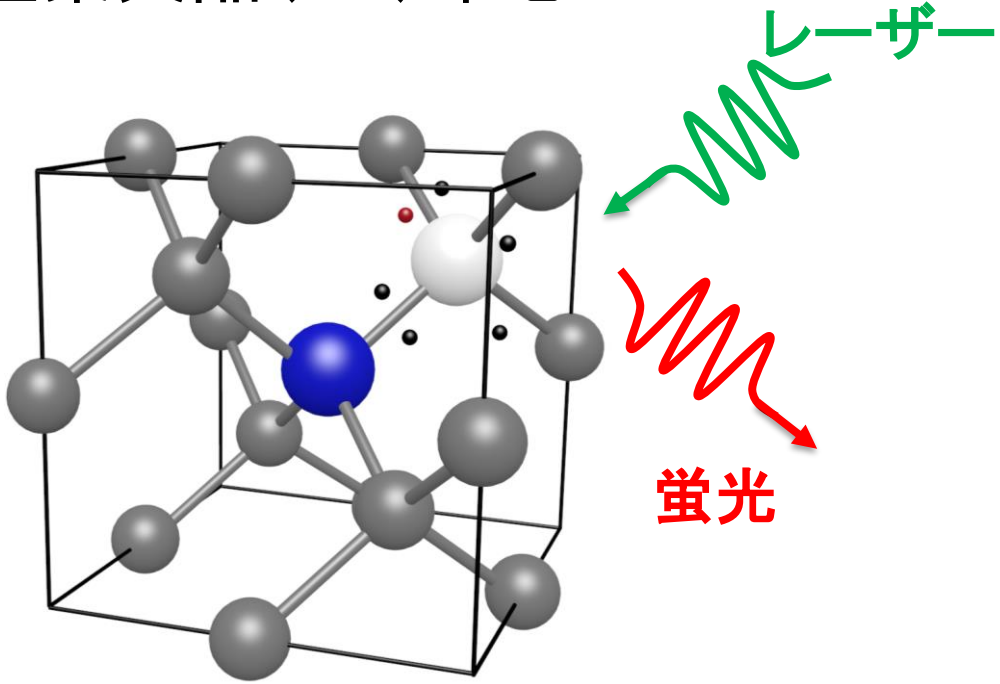
NIH/3T3 cells: Ca+ addition



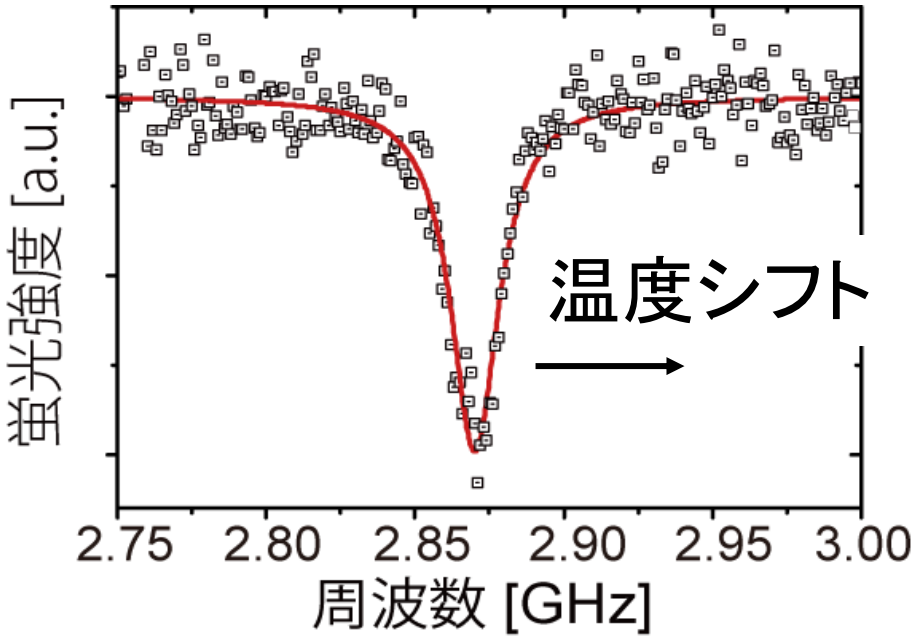
Rosal et al.,
Adv. Funct. Mater.
28, 1806088 (2018).

光検出磁気共鳴（ODMR）がベース

ナノダイヤモンド中の
窒素欠陥（NV）中心

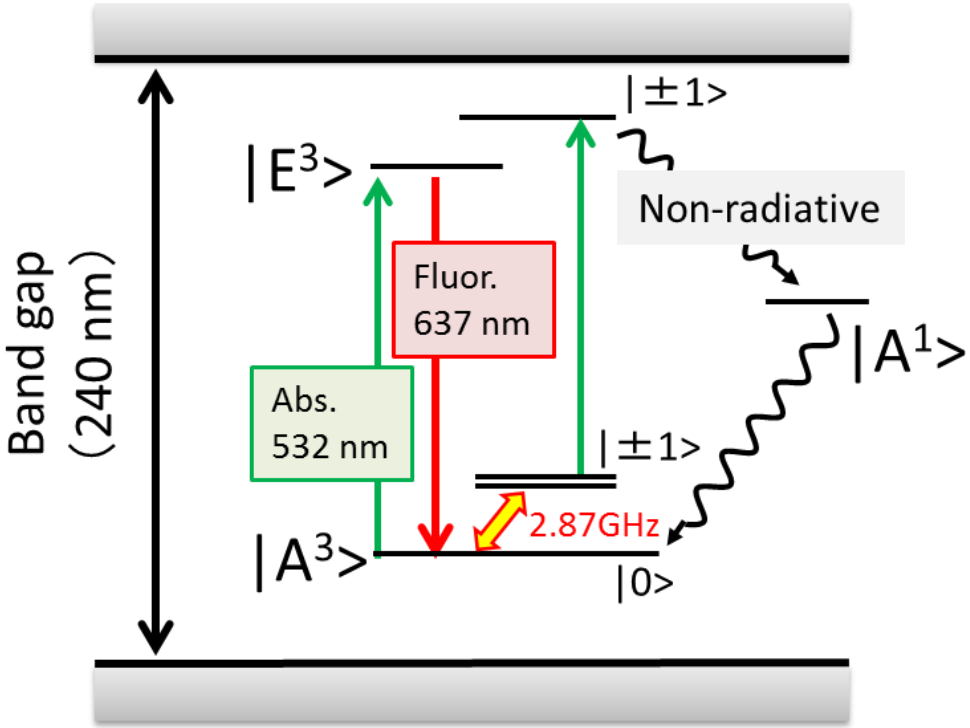


光検出磁気共鳴（ODMR）

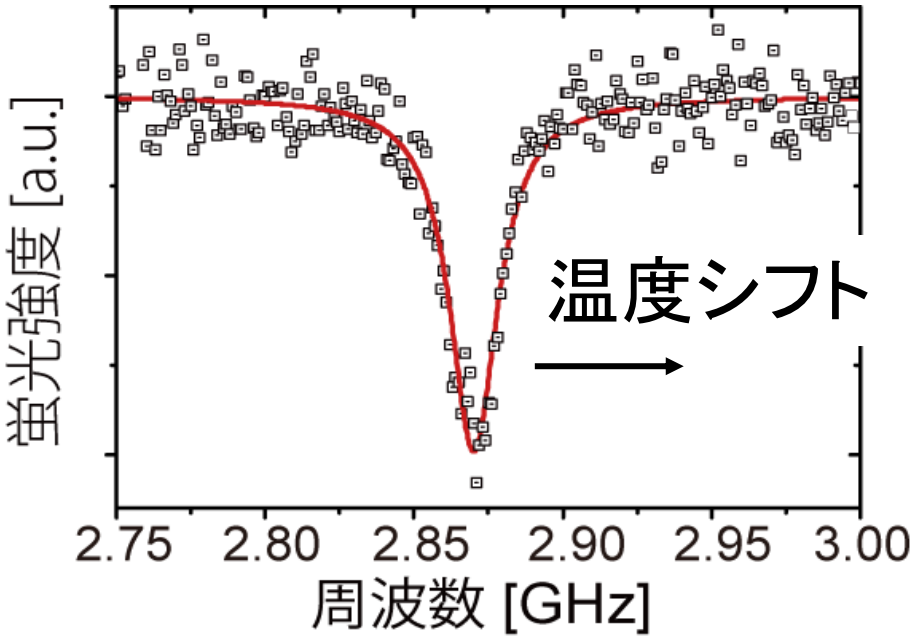


蛍光検出とマイクロ波照射を組み合わせた技術であり、
右図共鳴周波数の温度シフトを読むことで温度計測

光検出磁気共鳴のメカニズム



光検出磁気共鳴（ODMR）

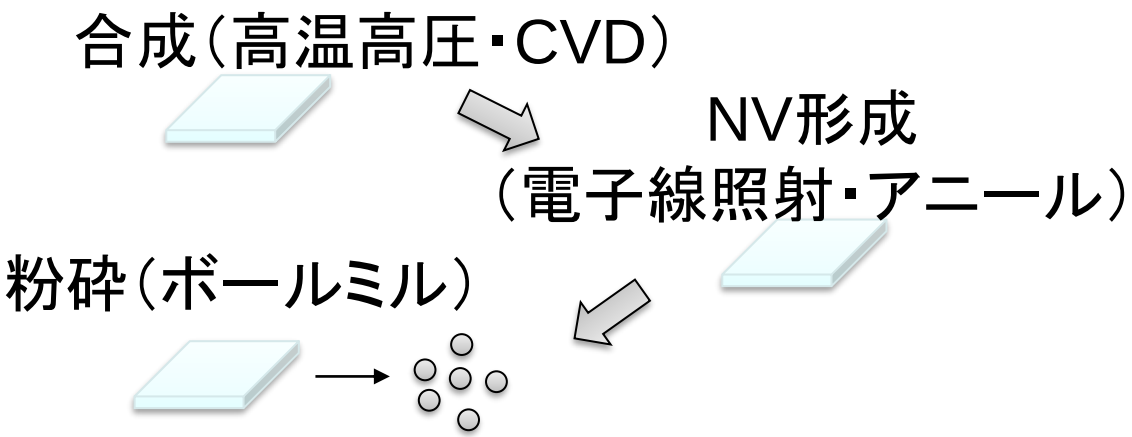


- 2.87 GHz付近が共鳴周波数
- 項間交差による非輻射緩和が誘起される

ダイヤモンドナノ粒子に関して

市販ダイヤモンドナノ粒子
の写真

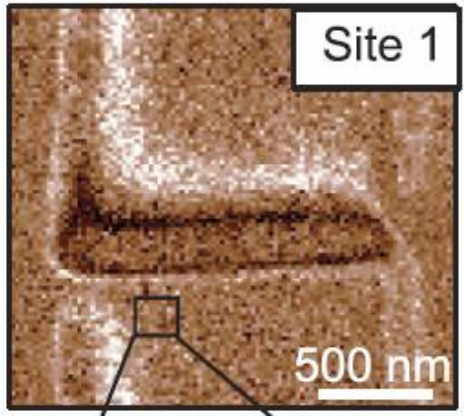
https://www.adamasnano.com/product-technical-info/



- バルク結晶ダイヤモンドから作製する場合が多い
（爆縮法による場合もある）
- 表面にグラファイトが発生するため、その除去も重要
- 表面化学修飾は、表面のOHやCOOHを足場とする事が多い

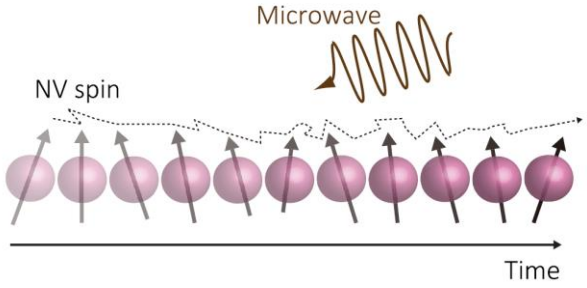
NV中心による量子センシング

磁場：
強磁性ドメイン壁



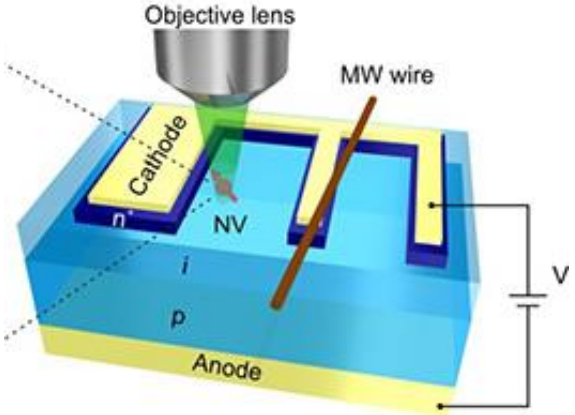
Tetienne et al.,
Science **344**, 1366 (2014).

ランダム磁場：
回転ブラウン運動



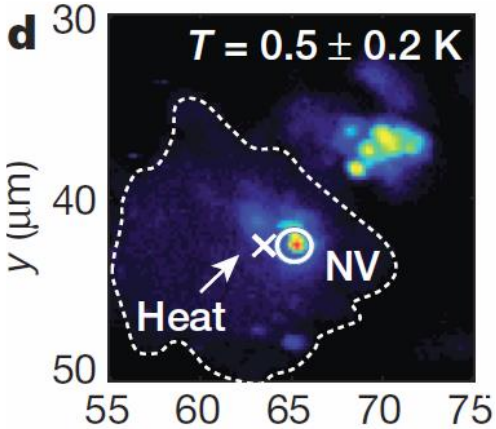
Fujiwara et al.,
Sci. Reports **8**, 14773 (2018).

電気：
デバイスの電界分布



Iwasaki et al.,
ACS Nano **11**, 1238 (2017).

温度：
細胞内温度

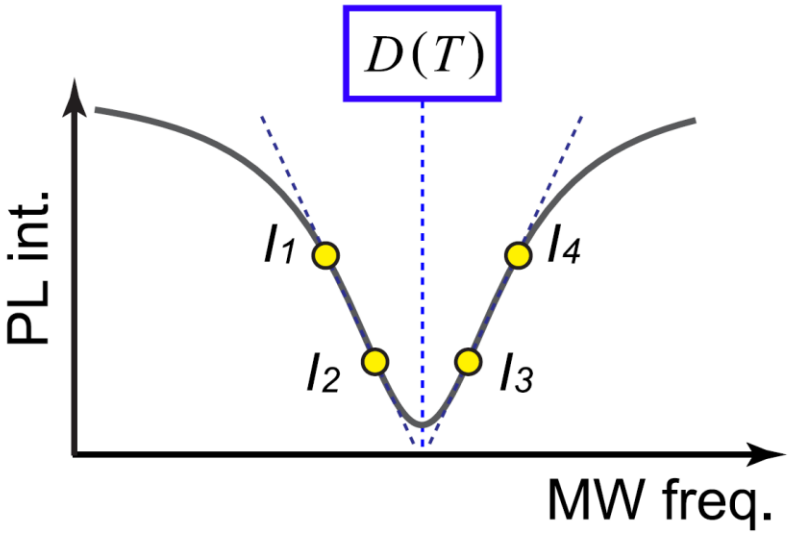


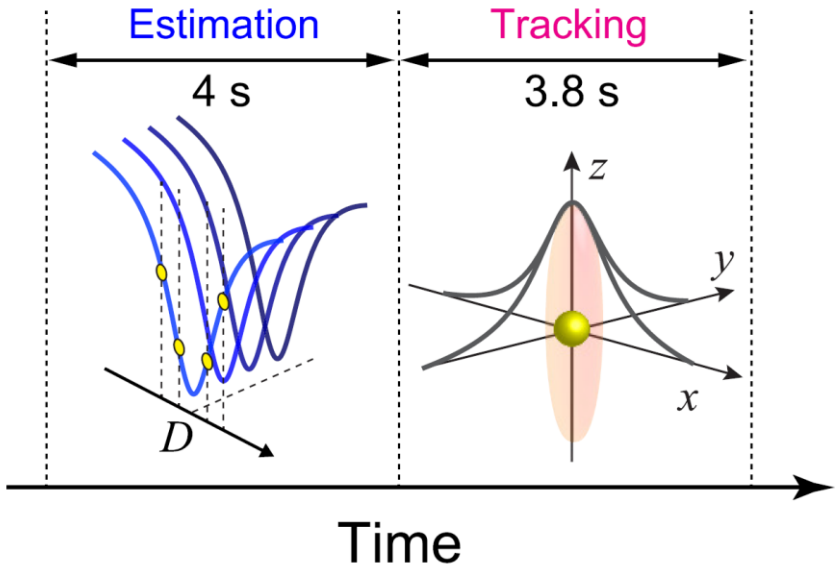
Kucsko et al.,
Nature **500**, 54 (2013).

ダイヤモンドの色欠陥中心を利用して超高感度計測

ナノダイヤモンドに関する最近の関連論文
Fujiwara et al., ACS Appl. Nano Mat. 2, 3710 (2019).
Fujiwara et al., RSC Adv. 9, 12606-12614 (2019).

高速化：多点ODMR計測と粒子トラッキングの融合



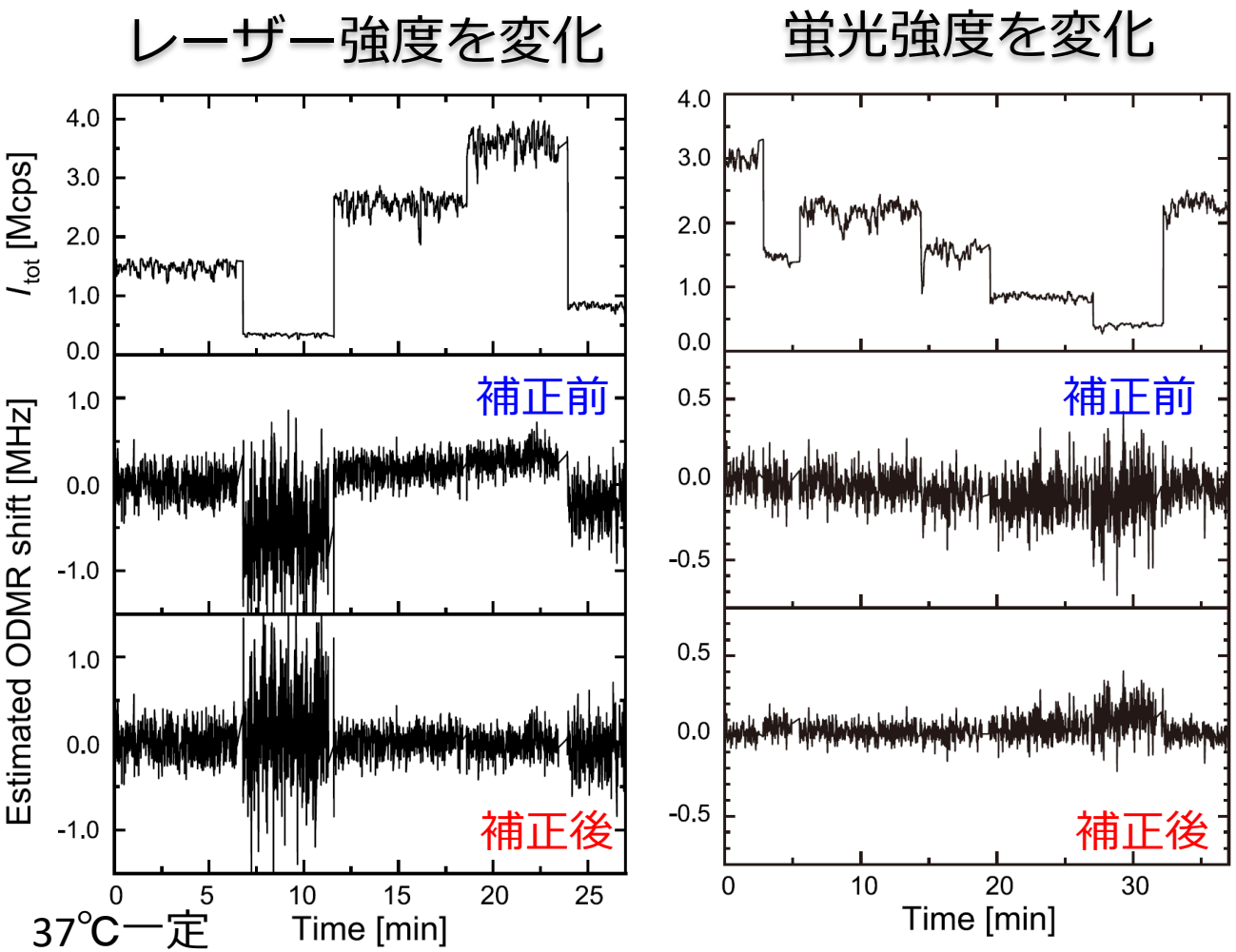


- 高速化のために4点（6点）を計測し、バランスで測定

$$\Delta T_{\mathrm{NV}} = \delta\omega \left(\frac{dD}{dT}\right)^{-1} \frac{(I_1 + I_2) - (I_3 + I_4)}{(I_1 - I_2) - (I_3 - I_4)}$$

- 温度計測と高速粒子トラッキングの融合による実用性

光環境の変化に対するアーティファクト補正



- 事前にアーティファクトの光強度依存性を測定
- 蛍光強度に補正フィルタをかける
- 特に低光域で数℃のずれ
- 要因：

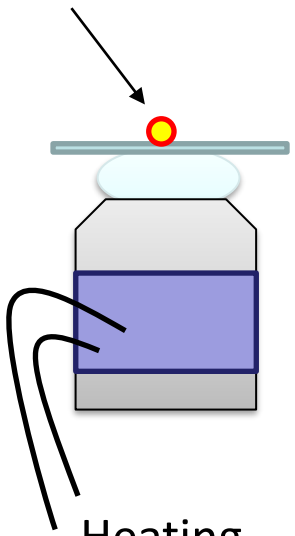
①装置特性（～10%）
APD非線形性，DAQ確度

②ODMRの光依存性（～90%）

MF et al., Sci. Adv. **6**, eaba9636 (2020).

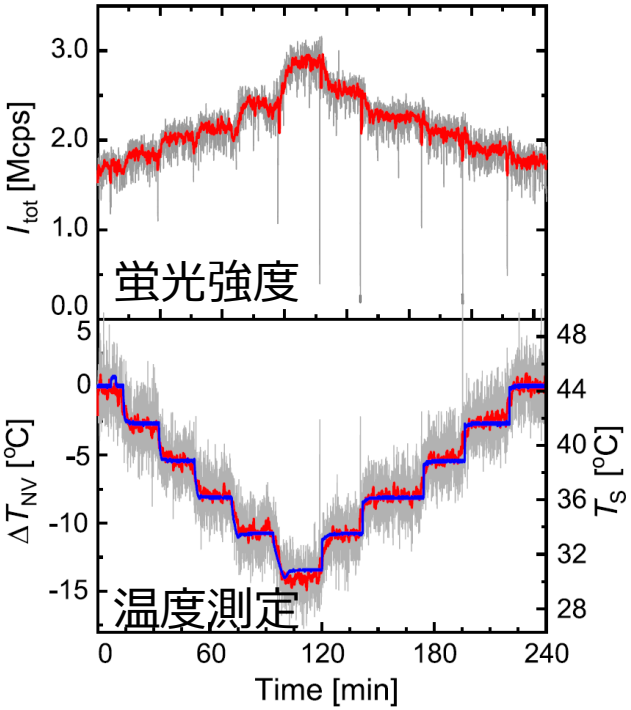
ガラス上のND温度制御

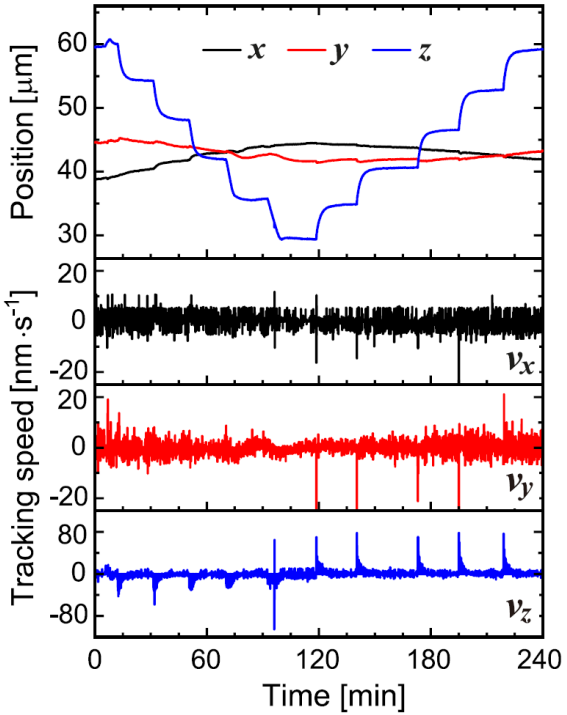
NDs on coverslip



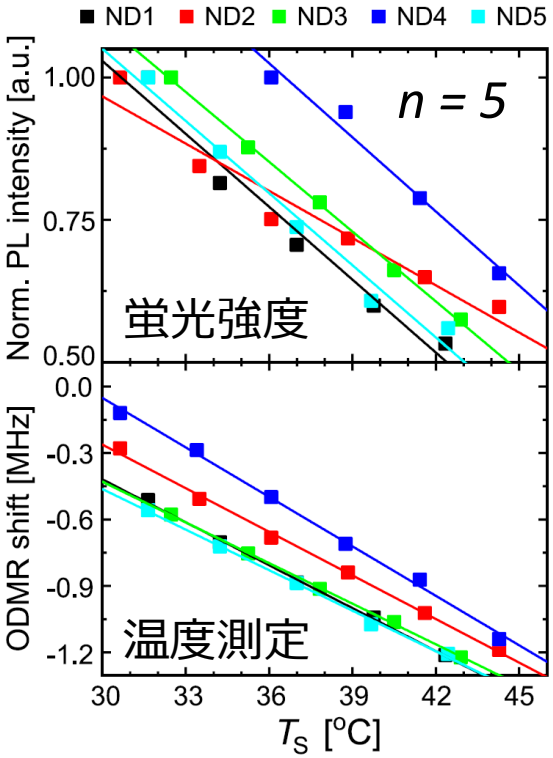
Heating objective

レンズの温度を３℃ステップで変化



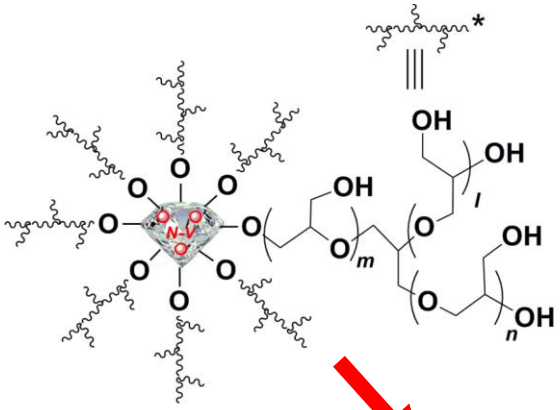


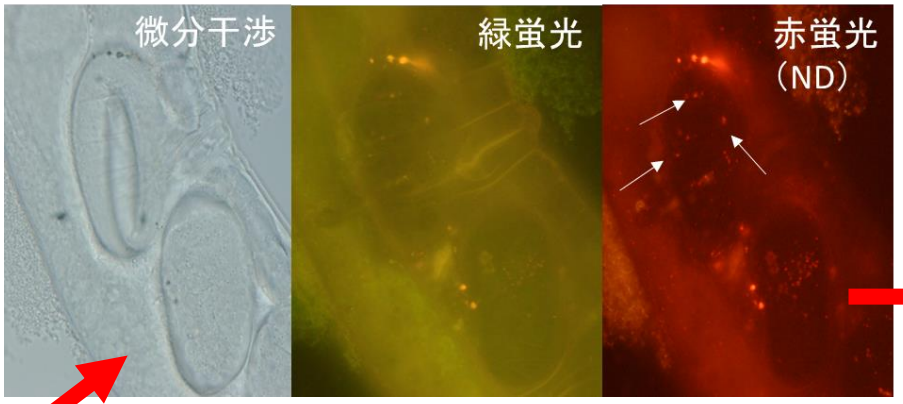
粒子依存性

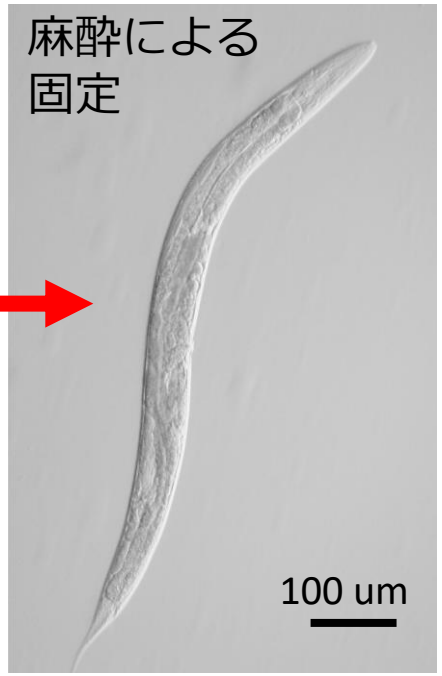


- ３℃変化で6μmドリフトする（100 nm/s）→追従・正確な温度計測
- -65.4 kHz/Kと決定　→　既報の-74kHz/Kより小さめ（試料依存・校正難）

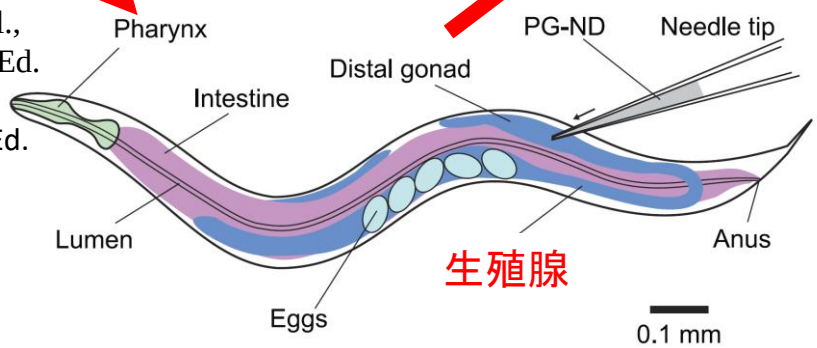
線虫（*C. elegans*）への蛍光ND導入







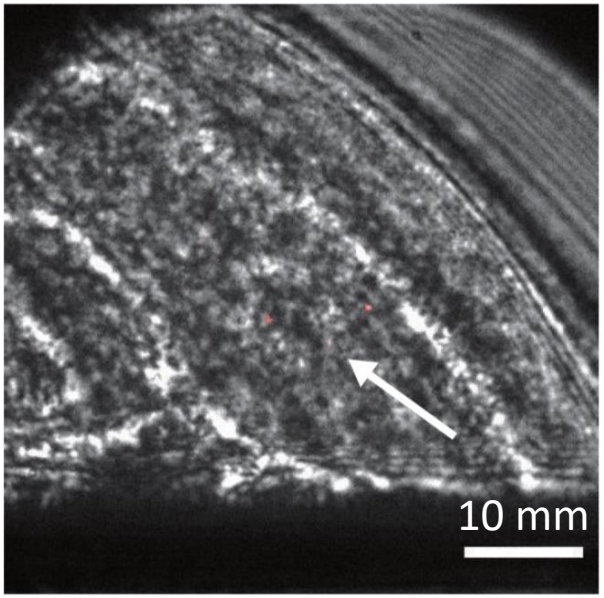
Zhao, Komatsu et al., Angew. Chem. Int. Ed. **58**, 17918 (2019). Angew. Chem. Int. Ed. **50**, 1388 (2011).

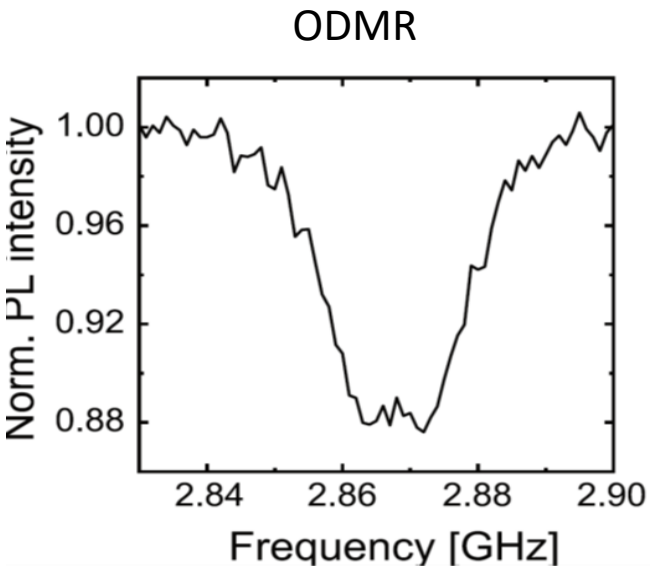


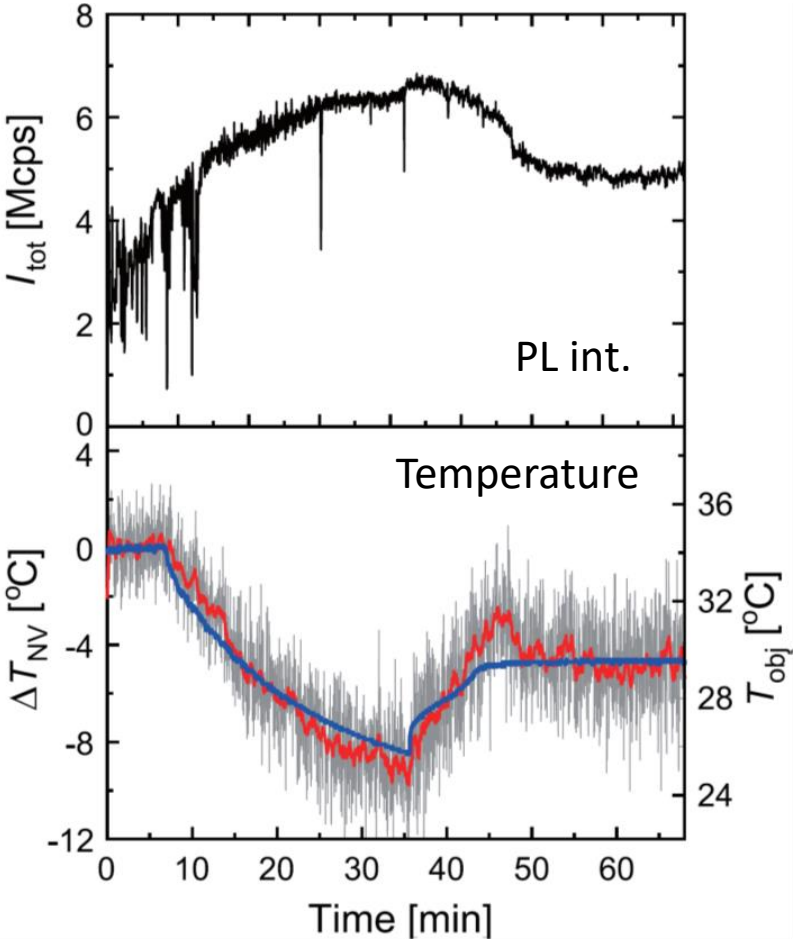
- Polygrycerol (PG) 修飾の蛍光ＮＤ（高い水分散性）を生殖腺に注射
- 一日リカバリー後に観察。Young adult (Bristol N2)

線虫への温度ショック（温度感受性研究など）

BF + Red (merge)



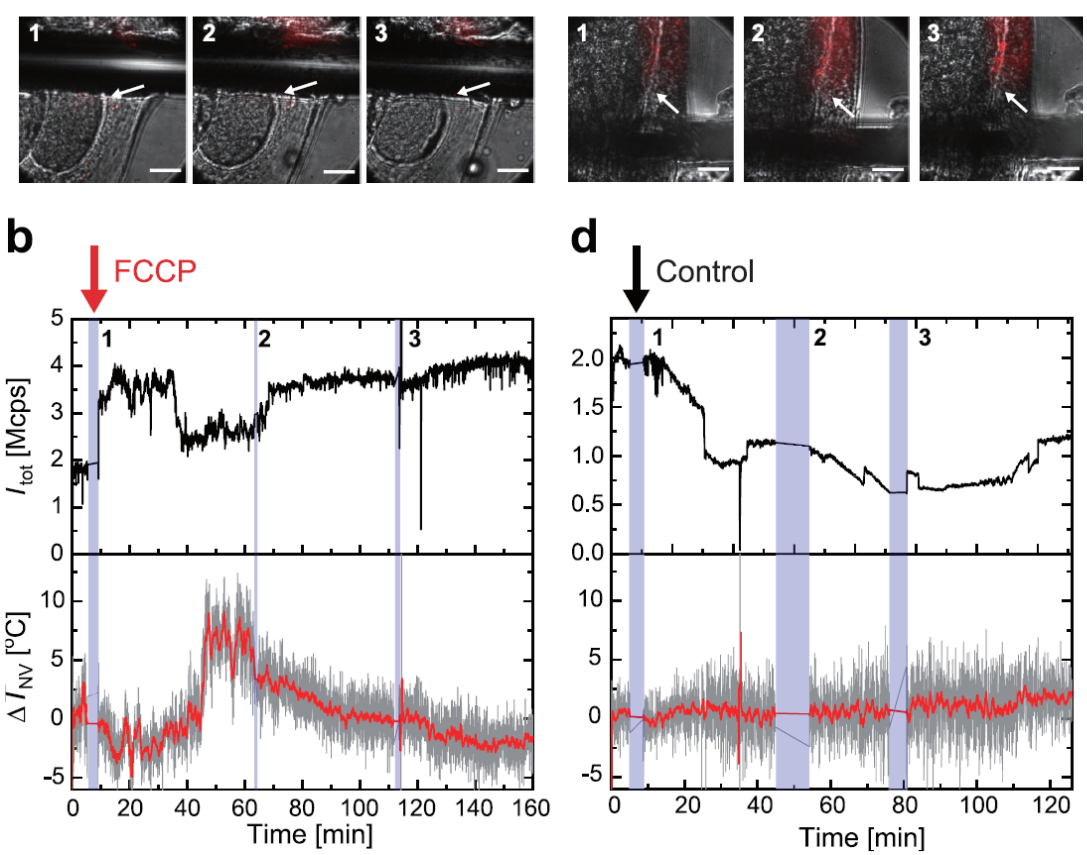


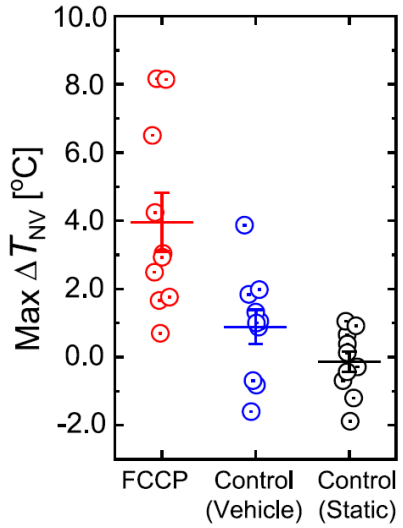


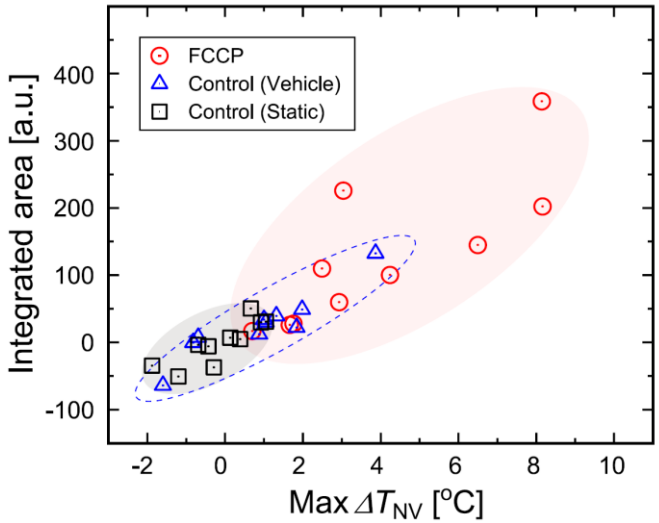
線虫体内で動く蛍光NDを追跡しながら、
外部温度変化を体内で計測することに成功

MF et al., Sci. Adv. **6**, eaba9636 (2020).

線虫の薬剤刺激（ミトコンドリア脱共役剤）







- 薬剤刺激による温度上昇を観測
- 温度の定量値に関しては今後の課題（dD/dT, 他の要因など）

MF et al., Sci. Adv. **6**, eaba9636 (2020).

従来技術とその問題点

既に実用化されているものには、ローダミン色素の蛍光温度依存性による方法等があるが、

微小環境に起因するアーティファクトが発生

耐久性が低く、色素の褪色が問題

等の問題があり、広く利用されるまでには至っていない。

従来技術との比較

- 従来技術の問題点であった、温度精度・確度を改良することに成功した。
（精度±0.14℃、確度）
- 上記の実験では、4時間は少なくとも安定して温度が測定可能（別に24時間以上は確認しており、実際にはほぼ寿命はない）

想定される用途

- ターゲットの最表面の温度測定
- ナノ材料の熱分析
- 微小生体試料の温度測定
- 薄膜製造技術や半導体製造技術の品質管理
- 化粧品や食料品の熱分析技術

実用化に向けた課題

- 現在、顕微鏡に取り付け可能な装置の実機を構築済。しかし、カメラなどの光検出機がユーザーによって異なるため、適合させるためのソフトウェア開発には多少時間がかかる
- 実用化に向けて、ナノ温度計があればどのようなことができるか？という点をアプリケーション開発している（温度管理技術、熱分析技術として）

企業への期待

- ナノ温度計の技術背景は全て確立しているため、特定のアプリケーションにおいて実証研究を共に進められるような共同研究
- 「空間情報を有する熱分析技術）」があればよいと考えておられる企業と意見交換を希望
- 主に工業用途を探索しているが、バイオ分析などの分野でも共同研究は継続して探索中

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称：
  ODMR（光検出磁気共鳴）温度測定方法
- 出願番号　　：特願2019-124578
  PCT/JP2020/024945
- 出願人　　：岡山大学
- 発明者　　：藤原正澄

お問い合わせ先

岡山大学
研究推進機構 知的財産本部

TEL：086-251-8417

FAX：086-251-8961

e-mail：cr-ip@okayama-u.ac.jp

URL：http://www.orsd.okayama-u.ac.jp/