

## ナノダイヤモンド NVC を使った新しい生体・細胞計測法

朽尾 豪人<sup>1</sup>, 外間 進悟<sup>1</sup>, 原田 慶恵<sup>2</sup>

ダイヤモンド中の窒素と格子欠陥が形成する NVC (nitrogen-vacancy center) は、きわめて安定な蛍光を発する。このため、ダイヤモンドをナノ粒子化し蛋白質等に繋げば、有用な蛍光プローブとなると考えられる。加えて、ダイヤモンドの蛍光観察と磁気共鳴技術とを組み合わせることにより、ナノ空間における電場や磁場の大きさ、温度と言ったパラメーターが得られる。近年、こうしたダイヤモンドの特長を生かし、様々な新規細胞計測法、分子計測法が開発されつつある。本稿では、これらを概観し、その行く先を展望する。

### 1. はじめに

ダイヤモンドナノ粒子 (ナノダイヤモンド) は、古くから研磨剤や潤滑材として工業利用されてきたが、最近、細胞生物学分野において、ナノダイヤモンドの発する蛍光を利用した新しい計測手法の研究・開発が急速に進展している。特に、ダイヤモンド中の窒素と格子欠陥が形成する NVC (nitrogen-vacancy center) が発する蛍光がきわめて高い安定性を示すことから、ナノダイヤモンドは、蛍光イメージングのための優れた蛍光プローブとなると目されている。加えて、NVC が発する蛍光は、励起電子のスピン状態の情報を含むため、磁気共鳴技術と組み合わせることにより、ナノダイヤモンド周囲の微小空間の電場・磁場に関する情報を獲得できる。この特性を利用して、従来の蛍光プローブでは不可能な、細胞内ナノ空間の各種物理パラメーターを取得、画像化する技術の開発が進められている。本稿では、ダイヤモンドの蛍光を利用した細胞イメージングについて、これまでの研究を概観し、その行く先を展望したい。

### 2. 蛍光タグとしてのダイヤモンドの特性

#### 1) ダイヤモンド NVC の光学特性

天然ダイヤモンド、人工ダイヤモンドに関わらず、ダイヤモンドは不純物や格子欠陥に由来する蛍光を発することが知られている。なかでも、近年、特に注目を集めているのは、窒素と格子欠陥 (vacancy) からなる nitrogen-vacancy center (NVC) である (図 1)。NVC を 500 nm 程度の光で励起すると、700 nm 程度の蛍光を発する (図 2) が、この蛍光は、低分子蛍光プローブ (fluorescein, Alexa, Cy 等)、蛍光タンパク質 (GFP 等)、量子ドットなど、細胞イメージングに用いられるものに比べて蛍光寿命が長く、量子収率も高い上に、褪色・明滅を示さない。加えてダイヤモンド粒子は生体・細胞に無毒であることから、NVC を持つナノダイヤモンドは、より長時間にわたって、安定したイメージングが可能な蛍光プローブとなると目されている<sup>1)</sup> (表 1)。

NVC の発光波長は、粒子のサイズや励起光の強度、どのようにダイヤモンドが作られたかに依存する。これは、NVC には光学特性の異なる二つの型、電荷のない NV<sup>0</sup> と負電荷を帯びた NV<sup>-</sup> が存在するためである (図 1a)。図 2a は 3 個のダイヤモンド粒子 (直径約 35 nm) の蛍光スペクトルだが<sup>2)</sup>、各粒子中の NV<sup>0</sup> と NV<sup>-</sup> の存在比が異なるため、スペクトルに違いが現れている。なお、ダイヤモンド NVC が注目されているのは、後述するように、その蛍光から電子スピンの状態を知ることができるからであるが、これが可能なのは、NV<sup>-</sup> のみである。

NVC の蛍光はきわめて安定で、図 2b に示すように、Alexa Fluor 546 の蛍光が 12 s で褪色する条件でも、ナノダイヤモンド (粒子径 100 nm および 35 nm) NVC の蛍光は 300 s

<sup>1</sup> 京都大学大学院工学研究科分子工学専攻 (〒615-8510 京都市西京区京都大学桂 A4-132)

<sup>2</sup> 京都大学物質-細胞統合システム拠点 (〒606-8501 京都市左京区吉田本町)

#### Application of nitrogen-vacancy centers of diamonds to biological imaging

Hidehito Tochio<sup>1</sup>, Shingo Sotoma<sup>1</sup> and Yoshie Harada<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Department of Molecular Engineering, Graduate School of Engineering, Kyoto University, A4-132, KyotoDaigaku-Katsura, Nishikyo-ku, Kyoto 615-8510, Japan, <sup>2</sup>Institute for Integrated Cell-Material Sciences (WPI-iCeMS), Kyoto University, Yoshida-Honmachi, Sakyo-ku, Kyoto 606-8501, Japan)

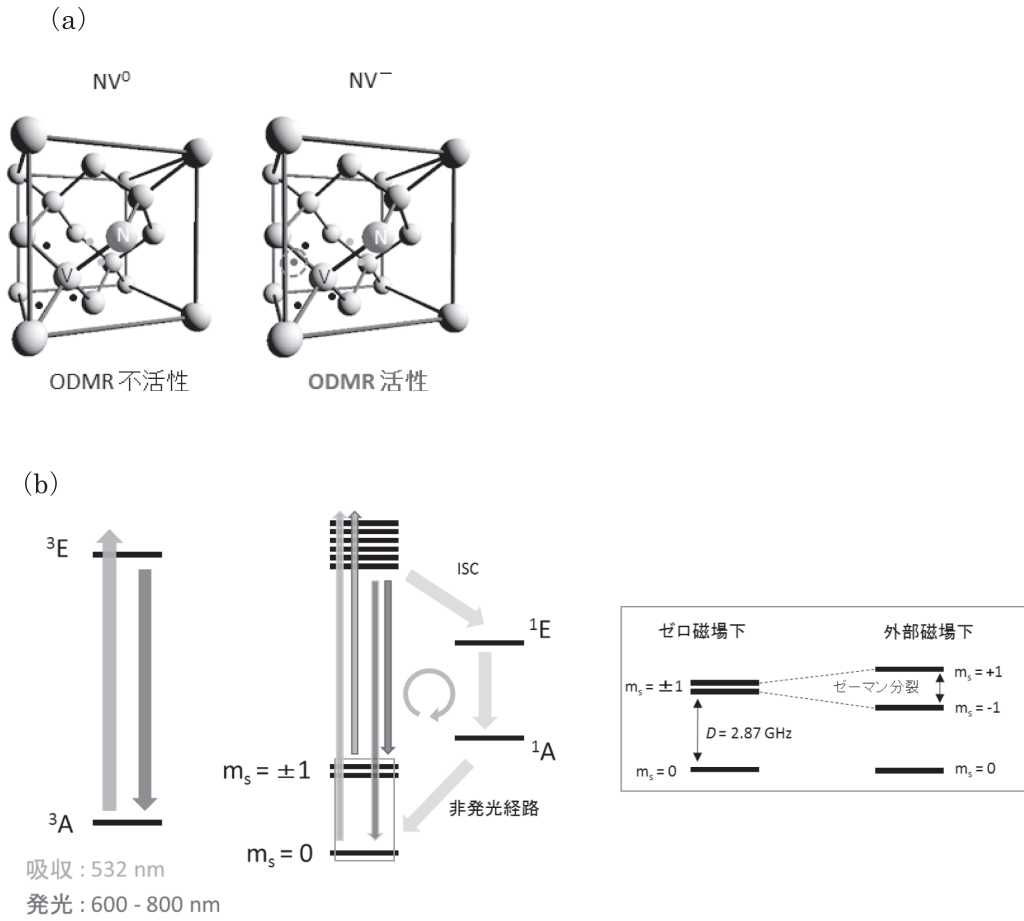


図1 ダイヤNVCの構造とエネルギー準位図  
 (a) ダイヤモンド格子とNVCの模式図。NV<sup>0</sup>では、格子欠陥(V)の周りに、窒素原子由来の2個と炭素原子由来の3個の、計五つの電子が存在する。NV<sup>-</sup>では、さらに電子が一つ加わり(破線囲み)、負電荷を帯びる。(b) NVCのエネルギー準位図。ISC (inter system crossing)。外部磁場を印加すると、 $m_s = +1$ と $m_s = -1$ の縮退がとれる。

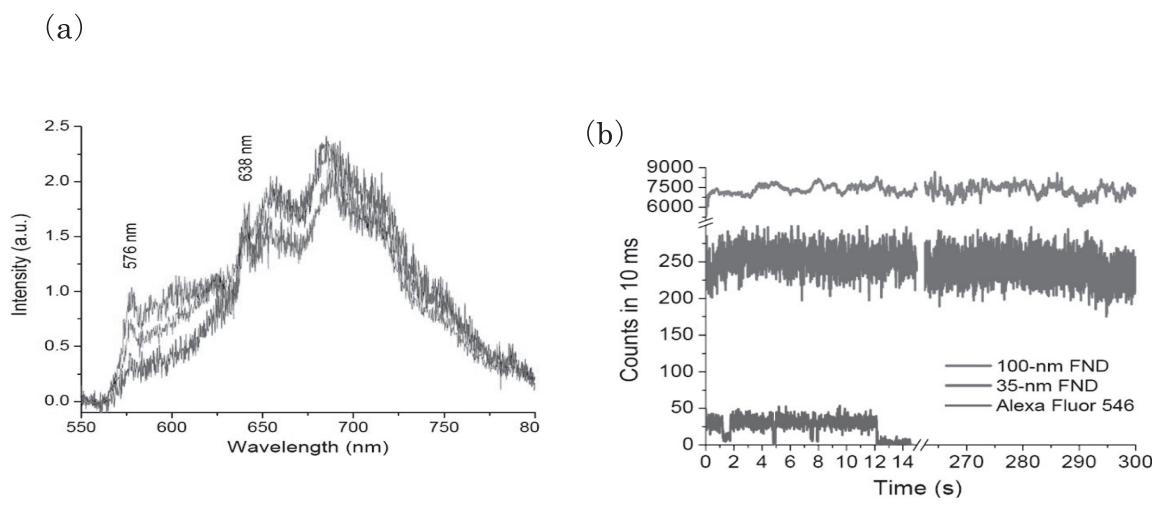


図2 ダイヤNVCの蛍光スペクトルと蛍光強度経時変化  
 (a) 35 nmの粒子径を持つナノダイヤモンドの蛍光スペクトル。三つの異なる粒子のスペクトルが異なる色で表示してある。文献2, 図2bより転載。(b) ナノダイヤモンド100 nm, 35 nm, Alexa Fluor 546の蛍光強度経時変化。文献2, 図3aより転載。

以上の間、褪色や明滅を示さない<sup>2)</sup>。しかし、粒子が小さくなるとNVC蛍光は表面構造の影響を受けて、不安定となる<sup>3)</sup>。これまでに、5~7 nmサイズのダイヤでも高い蛍

光安定性を示すNVCが報告されているが<sup>4~6)</sup>、これより小さなダイヤでは報告がない。

表1 生体計測に利用される蛍光プローブの化学・蛍光特性の比較<sup>1)</sup>

	ダイヤモンド (NVC)	量子ドット	低分子蛍光色素	蛍光タンパク質
蛍光波長	630~800 nm	赤外~紫外 (粒子径に依存)	赤外~紫外	可視
褪色	なし	遅い	速い	速い
明滅	なし	あり	あり	あり
量子収率	0.7~0.8	0.1~0.8	0.5~1.0	0.6
蛍光寿命	25 ns	10~100 ns	1~10 ns	1~5 ns
毒性	なし	あり	さまざま	なし
化学的安定性	安定	不安定	さまざま	不安定

## 2) 多彩な化学修飾が可能

一般に、市販の人工ダイヤモンド中のNVC濃度はppm以下と低い<sup>7)</sup>、用途によってはダイヤモンド内に人工的にNVCを生成させ、その濃度を上げる必要がある<sup>8)</sup>。また、ナノダイヤを、細胞イメージングのための「蛍光タグ」として利用するならば、ナノダイヤでタンパク質等を「標識」できることが要求される。これは、ナノダイヤに有機合成化学の手法を適用することで実現できる。たとえば、ダイヤを強い酸化条件で処理すると、表面の炭素をカルボキシ基(COOH)に変換することができる(図3)<sup>8)</sup>。一度、COOHとなれば、その先は定法に従って、タンパク質中のアミノ基やチオール基などとカップリング反応を行うことができる<sup>9)</sup>。

他方、Yangらは、ナノダイヤを還元し、ヒドロキシ基を導入した後、DNAを結合させている<sup>10)</sup>。その他、アミノ基、チオール基、ハロゲン等、さまざまな官能基をナノダイヤに導入する方法が開発されている<sup>11~13)</sup>。また、ナノダイヤをシリカで包埋し、ここに化学修飾を施すことも行われている<sup>14)</sup>。

以上のように、ダイヤ表面がさまざまに修飾可能であることから、ナノダイヤをドラッグデリバリーのための担体として用いる研究も盛んに行われている。たとえば、Liらは、抗がん剤ドキシソルピシンとHIV-TAT配列を含むペプチドをナノダイヤ表面につなぎ、C6グリオーマ細胞に対する細胞毒性を評価した。その結果、単にドキシソルピシンのみを投与するよりも高い細胞毒性がみられたとしている<sup>15)</sup>。

## 3) 生体適合性

ダイヤモンドは、高い生体適合性を有する。たとえば、Yuらは、粒子径100nmのナノダイヤを肝細胞に投与し培養を行ったが、毒性はみられていない<sup>16)</sup>。ほかにも、さまざまな培養細胞株<sup>17)</sup>や線虫<sup>18)</sup>に対しても毒性がなかったと報告されている。したがって、研究対象の細胞や生体を侵襲することなく、ナノダイヤを用いたイメージングを行うことが可能である。

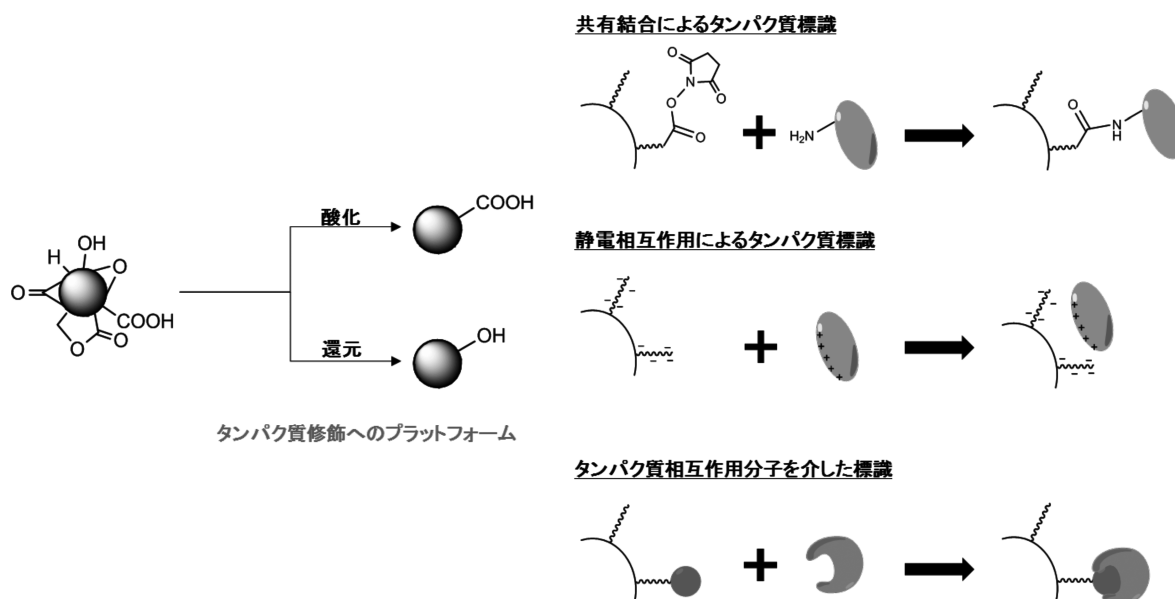


図3 ナノダイヤの表面修飾とタンパク質等の導入

### 3. ナノダイヤを利用した蛍光イメージング

次に、ダイヤNVCを用いた細胞の蛍光イメージングの例をいくつか紹介する。図4は35 nmのナノダイヤを取り込んだHeLa細胞の蛍光像である<sup>8)</sup>。この研究では、エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれたナノダイヤの並進運動が200 sにわたり追跡されており (frame rate: 10 Hz), その拡散係数が $0.03 \mu\text{m}^2\text{s}^{-1}$ と決定されている。この値は、エンドソームに取り込まれた量子ドットのそれとよく一致する<sup>8)</sup>。同様のナノダイヤの細胞内拡散の観察は、Neugartらによっても報告されている<sup>19)</sup>。また、Huiらは、脂質でナノダイヤを被覆すると、細胞質内での並進拡散速度が1桁大きくなったとしている<sup>20)</sup>。その理由として著者らは、脂質で被覆されることによって、ナノダイヤがエンドソームにトラップされないためだとしている。

ナノダイヤを細胞内の特定部位にターゲティングすることも試みられている。抗アクチンフィラメント抗体や抗ミトコンドリア抗体をナノダイヤにつなぎ、これをカチオン性 dendrimer 等を使って HeLa 細胞内へ導入したところ、それぞれの目的部位がナノダイヤで標識されたとしている<sup>21)</sup>。

ほかに、リガンド-受容体相互作用も調べられている。HeLa 細胞に過剰発現させたトランスフェリン (Tf) 受容

体をナノダイヤで標識し、その Tf 依存的な細胞内移行が観測されている<sup>22)</sup>。また、Zhangらは、ナノダイヤ表面を葉酸で修飾し、がん細胞をダイヤ標識した<sup>23)</sup>。すなわち、ヒトがん細胞には葉酸受容体が多く発現しているため、葉酸受容体との結合を介して、ナノダイヤががん細胞に結合する。全ナノダイヤ-葉酸複合体の50%が、エンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれたことを確認している。

以上のような、通常の蛍光イメージングのほかにも、ナノダイヤと近赤外の低分子蛍光プローブ間でのFRET (Förster resonance energy transfer)<sup>24)</sup>や時分割蛍光技術を利用したイメージング<sup>25)</sup>(図5)、二光子励起法<sup>20)</sup>、超解像法の一つであるSTED (stimulated emission depletion) 法<sup>26)</sup>がダイヤNVCに適用されている。また、ダイヤNVC蛍光を使った1分子観察も行われている。Bumbらはガラス基板上に固定した長さ1.4  $\mu\text{m}$ のDNA二本鎖をシリカ包埋ナノダイヤ(粒径30 nm)で標識し、一つのダイヤ粒子由来の蛍光輝点を、時間分解能30ミリ秒、空間分解能20 nm ( $xy$ 方向)および70 nm ( $z$ 方向)で、1時間にわたり観察し、蛍光輝点の位置分布から、DNA鎖の持続長を求めている<sup>14)</sup>。同様のことは金ナノ粒子を標識剤としても行われているが<sup>27)</sup>、ナノダイヤでははるかに容易に行えるとしている。

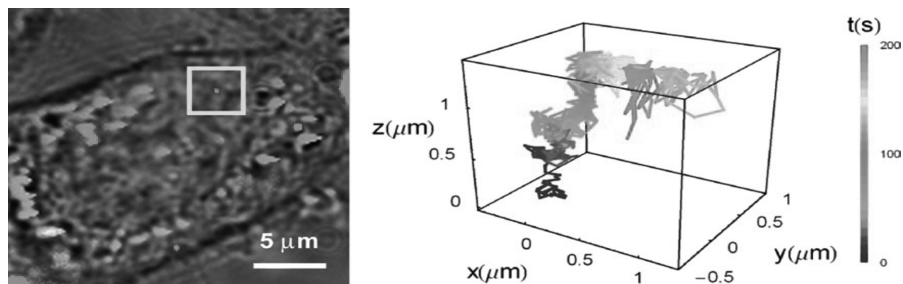


図4 細胞内におけるナノダイヤの三次元トラッキング  
(左) ナノダイヤを取り込んだHeLa細胞の明視野観察像、蛍光観察像(赤色)の重ね合わせ。(右) ナノダイヤの細胞内でのトラジェクトリー(200 s)。文献8, 図4より転載。

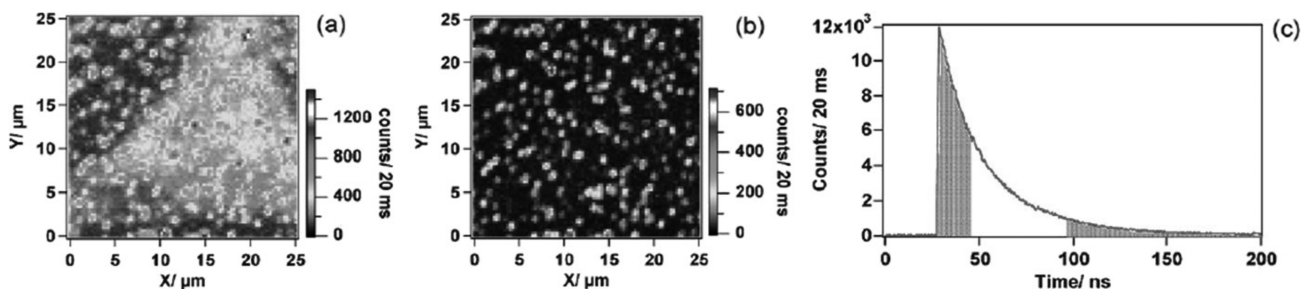


図5 HeLa細胞に取り込まれたナノダイヤの時分割共焦点イメージング  
(a) レーザー励起後、すべての光子を検出した観察像。(b) レーザー励起後、15~53 nsに放出された光子を検出した観察像。この条件では細胞の自家蛍光は褪色しておりナノダイヤの蛍光のみが検出される。(c) (a)のナノダイヤの蛍光強度の減衰曲線。灰色の部分の光子を検出せず、白い部分の示す時間の光子のみを検出することで(b)の像が得られる。文献28, 図2より転載。

#### 4. NVC を用いた光検出磁気共鳴

以上見てきたように、従来行われてきた蛍光イメージングのほとんどすべての手法をそのままナノダイヤに適用できる。ダイヤ NVC が安定した蛍光を発生できること、ダイヤ表面がさまざまに化学修飾できること、ナノダイヤの生体適合性を考えると、今後、蛍光タグとしてのナノダイヤの用途は広がっていくと思われる。しかし、ダイヤ NVC には、もう一つの大きな特長がある。それは、蛍光と磁気共鳴との共役が可能な系であるという点である。この特長ゆえに、ナノダイヤを使って、従来の蛍光プローブでは得ることのできない、生体内・細胞内の物理パラメータの獲得が可能となる。

##### 1) NVC のエネルギー構造と ODMR

図 1b に示すように、NVC の電子基底状態は、二つの電子がスピン三重項を形成しており、異なるスピン状態 ( $m_s = 0$  か  $m_s = \pm 1$ ) によってエネルギーが異なる ( $\sim 2.87$  GHz)。

「スピン」とは電子や原子核が持つ物理量の一つである。スピンは、磁気モーメントを与え、磁気的な相互作用を規定する。そして、電子や原子核のスピン状態は、各々、ESR (electron spin resonance) や NMR (nuclear magnetic resonance) を通して調べられる。スピンは、「方向性」も持つ量であるが、多くの電子スピンの場合、逆向きのスピンと対になって相殺されているため、スピンによる磁気的な性質は表には出てこない。しかし、NV<sup>-</sup>では二つの電子スピンの相殺されず、いわゆる「スピン三重項」を形成しており、三つの状態をとりうる ( $m_s = -1, 0, +1$  とする)。

興味深いことに、 $m_s = \pm 1$  の電子が励起されて発生する蛍光の強度はスピンが  $m_s = 0$  のときに比べて 2~3 割弱くなる。これは、図 1b に示したように  $m_s = \pm 1$  の電子が励起された場合、系間交差 (スピン多重度の異なる状態間の遷移) を経て、無輻射で (光を発することなく) 電子基底状態に戻る経路が存在することによる。この経路を経た  $m_s = \pm 1$  の電子は、最終的に  $m_s = 0$  の電子基底状態に戻る。他方、 $m_s = 0$  の電子は、蛍光を発して元の  $m_s = 0$  の電子基底状態に戻るだけである。この NVC に励起光 (532 nm) を照射し続けると何が起こるか?  $m_s = \pm 1$  の電子は励起後、一定の確率で系間交差→無輻射遷移で  $m_s = 0$  になりうるのに対して、 $m_s = 0$  が  $m_s = \pm 1$  に変換する過程はない。よって、一定時間後にはすべての NVC 電子が  $m_s = 0$  の定常状態が達成される。通常の熱平衡状態では、 $m_s = 0$  と  $m_s = \pm 1$  の占有比はボルツマン分布に従うが、このように励起光を照射し続けることにより、NVC 電子を一方のスピン状態にのみ集めることができる (完全な「分極 (polarization)」の実現)。この過程は、「光ポンピング (optical pumping)」と呼ばれる。ダイヤ NVC の場合、マイクロ秒オーダーの励起光照射で完全な分極が達成される。光

ポンピングで  $m_s = 0$  に集められた NVC 電子に 2.87 GHz のマイクロ波を照射すると、 $m_s = 0$  と  $m_s = \pm 1$  間に ESR に基づく遷移が起こる。すると、 $m_s = \pm 1$  の電子が生まれるので蛍光強度が減弱する。これは、ESR の蛍光による検出にはかならない。通常、磁気共鳴は検出コイルに発生する誘導電流によって検出されるが、このように光学的に磁気共鳴が検出されることを、ODMR (optically detected magnetic resonance) と呼ぶ。上記マイクロ波照射時に、周波数を掃引すると、ODMR スペクトルが得られる (図 6 右下)。一方、パルス NMR/ESR の要領でマイクロ波を断続的に ON/OFF する方式もある。条件を整えれば、たとえば、 $m_s = 0$  の電子をすべて  $m_s = \pm 1$  に変換することもできるし、両者の「重ね合わせ」状態を作ることもできる。発生したスピン状態の時間発展にはナノダイヤ周囲のさまざまな物理パラメータが乗ってくるので、ODMR 計測でそれらの情報が得られる。ODMR が観測できる系はダイヤ NVC 以外にもあるが、常温・常圧、水系の媒質中で観測でき、生体系に適用可能なものはダイヤ NVC しか知られていない。

##### 2) ナノダイヤ粒子の選択計測

我々は、ダイヤ NVC を利用した、いくつかの新たな計測方法の開発を進めている。以下では、磁気共鳴を利用して、背景光の中からダイヤ NVC 由来の蛍光のみを選択的にイメージングする手法を紹介する。当該法は、先述の、「NVC に 2.87 GHz のマイクロ波を照射すると、蛍光強度が低下する」、という原理を利用している。すなわち、細胞中のダイヤ NVC の蛍光を観察しつつ、2.87 GHz のマイクロ波を断続的 (ON/OFF) に照射すれば、その強度はマイクロ波照射のタイミングと同期して増減する。他方、細胞の自家蛍光や背景光はその影響を受けない。マイクロ波の ON/OFF と同期して蛍光が増減する輝点のみを選別・画像化するアルゴリズムを用いれば、強い背景光の中からも、NVC の輝点のみを描出することができる。この NVC 選択計測は、培養細胞、線虫 (図 6)、マウス皮肉中で可能である<sup>29)</sup>。

##### 3) NVC-ODMR の応用

以下、NVC-ODMR の応用について、かなり将来的な展望も含めて、紹介する。

###### 細胞内温度測定

Kucsko らは、細胞内にナノダイヤを取り込ませ、NVC 蛍光を使って、細胞内微小空間 ( $\sim 200$  nm) における温度測定を行った。その結果、1.8 ミリケルビンというわずかな温度変化でも読み取れることを示した<sup>30)</sup>。この手法により、細胞内の温度分布をマッピングでき、細胞内生化学反応について有用な情報が得られると期待される。

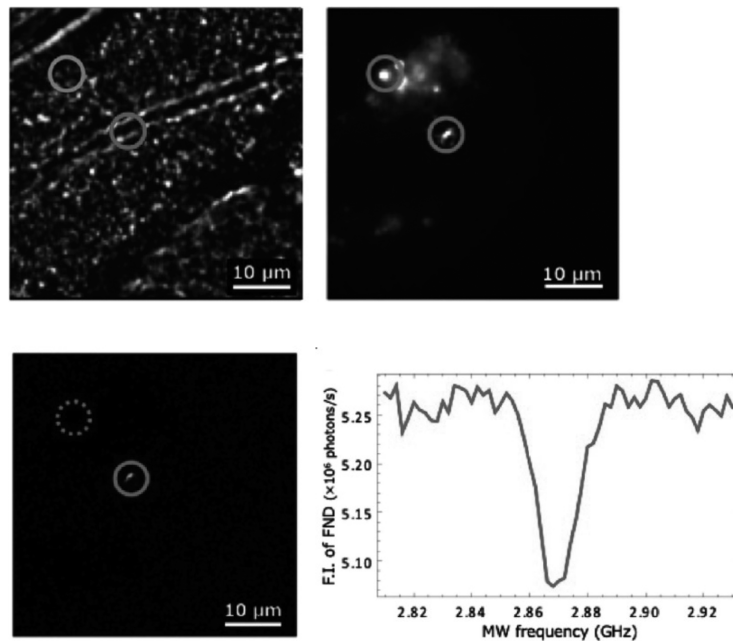


図6 線虫腸内のナノダイヤモンド NVC の明視野画像 (上左), 蛍光像 (上右) と選択画像 (下左)  
 下段右は線虫腸内のナノダイヤモンド NVC の典型的な ODMR スペクトル. 文献 29, 図 3 より転載.

### 粒子の回転運動追跡

NVC に外部から磁場を印加すると,  $m_s = \pm 1$  の縮退がとけ, NVC の ESR の共鳴周波数が 2.87 GHz からシフトするが (図 1b), そのシフトの大きさは外部磁場の方向と「N と V を結ぶベクトル」のなす角度に依存する. よって, 外部磁場の強度と向きを固定しておけば, ナノダイヤモンドの「向き」を知ることができる. McGuinness らは, 10 時間以上にわたって, HeLa 細胞内にエンドサイトーシスされたナノダイヤモンド (~45 nm) の並進運動と, その粒子の「向き」の変化を追跡した<sup>31)</sup> (図 7). 観察された並進拡散はきわめて遅く, 粒子の「向き」の変動も小さいものであった (10 時間で  $10^\circ$  以下). このことから, 取り込まれたナノダイヤモンドはエンドソームにトラップされたままだったと推測

している. この測定法で決定される角度の精度は高く ( $\pm 1^\circ$ ), 時間分解能もミリ秒オーダーであり, エンドサイトーシスや膜輸送過程における膜の運動性解析, 細胞局所の粘度測定, 分子モーターの回転計測など, さまざまな応用が考えられる. NVC 以外の蛍光プローブでも, 蛍光偏光法を用いれば, 分子の「向き」の情報は得られるが, 細胞内で, これほど長時間にわたって, 高感度・高精度な追跡を行うことは非常に困難である.

なお, 上の例では, 粒子の動きがきわめて遅いものだったが, より高速に回転する場合もあるだろう. これがミリ秒オーダーより速くなると, 「向き」の逐次追跡はできない. しかし, ナノダイヤモンドの回転拡散係数を求めることは可能で, ナノ空間の粘度測定や分子間相互作用の検出に利用可能だと考えられる<sup>32, 33)</sup>.

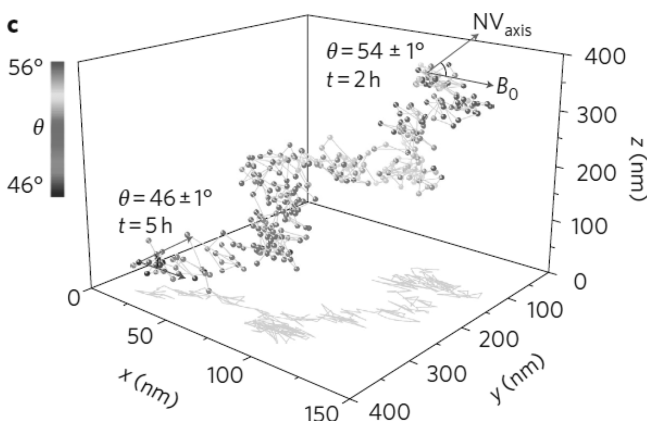


図7 HeLa 細胞内のナノダイヤモンド粒子 (~45 nm) の並進および回転運動のトラッキング  
 文献 31, 図 5 より転載.

### 超高感度 NMR

NVC 蛍光を使った NMR の超高感度検出にも大きな期待が寄せられている. NMR は, タンパク質の立体構造やダイナミクス, 化学反応に関する情報を与え得る多能な分光法で, 構造生物学分野で活用されている. 我々は, NMR を使った細胞内タンパク質の構造解析法 (in-cell NMR) を開発しているが<sup>34)</sup>, 蛍光観察に比べると, NMR の検出感度ははるかに低いため, 1 回の計測には数百万の細胞を必要とする. このため, 得られる情報は, 局在, 細胞周期など, さまざまな意味で平均化されたものとならざるをえない. しかし, ごく最近, ダイヤ NVC を磁気センサーとすることで, 数 nm 立方という, 細胞のスケールに比べてもはるかに小さな空間中に存在する  $10^3 \sim 10^6$  個の  $^1\text{H}$

から NMR 信号が取得可能なことが実証された<sup>35,36)</sup>(図 8)。従来の NMR 装置で<sup>1</sup>H-NMR 信号を検出するには、最低でも  $10^{14} \sim 10^{15}$  個の<sup>1</sup>H が必要であることから、単純に比較すると、8 桁以上もの感度向上といえよう。また、あくまで、理論研究ではあるが、NVC を使った 1 分子 NMR も提案されている<sup>37)</sup>。まだまだ克服すべき課題は多く、さまざま「単一細胞」や「単一分子」レベルでの NMR 構造解析が可能になるとは思えない。しかし、特定の分子の細胞内局在を得るだけなら比較的容易であると思われ、近い将来、NVC を使った、1 細胞レベルでの MRI (magnetic resonance imaging) が実現される可能性は高い。NVC-MRI の長所は、核種の同定能力で、たとえば、炭素-13 や窒素-15 といった NMR 活性な同位体で特定のタンパク質を標識すれば、その細胞内分布を、ナノメートル分解能でイメージングできるだろう。ちょうど、ライブセル蛍光イメージングと電子顕微鏡観察の中間の性質を持った手法になると期待される。

### その他

ほかにも、ダイヤモンド NVC を用いた、さまざまな計測方法のアイデアが提案されている。たとえば、NVC の ODMR 信号は、周囲電場の影響も受けることから、ナノダイヤを細胞膜に埋め込んで、膜電位の変化を調べることが提案されている<sup>1)</sup>。また、AFM (atomic force microscope) のカンチレバーの先に NVC を備えたダイヤモンドチップを作り、原子分解能の表面走査型磁気センサーとしたり<sup>38)</sup>、単一イオンチャンネルの開閉を検出する<sup>39)</sup>などが提案されている。

### 5. 克服すべき課題

最重要と思われる課題は、安定した NVC を有する直径数 nm のダイヤモンド粒子を大量に供給する手段の開発であろう。タンパク質分子を標識し、その挙動を観察することを目指すならば、タンパク質と同程度のサイズ (直径 $\sim$ 2 nm) か、それ以下が望ましい。これまでに直径 5 $\sim$ 7 nm

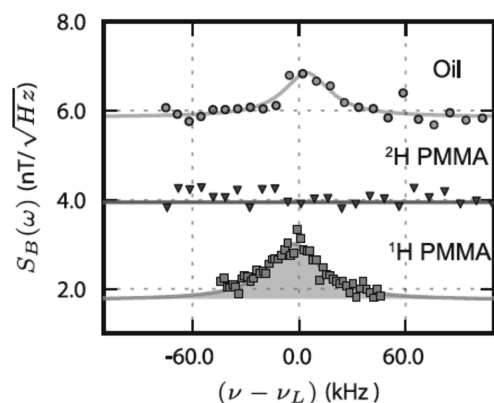


図 8 ナノダイヤモンドに接着した物質の<sup>1</sup>H-NMR 信号  
5 nm 立方内にあるイメージンオイル、重水素化 PMMA ポリマー、PMMA ポリマーの<sup>1</sup>H-NMR スペクトル。文献 36, 図 3 より転載。

のナノダイヤで安定した NVC が観測されている<sup>4-6)</sup>が、さらに小さなダイヤ粒子では安定した NVC 蛍光の報告はない (板状ダイヤでは、深さ 2 nm の位置に安定した NVC を作れたとの報告もある<sup>1)</sup>)。しかし、*ab initio* 計算から、NVC 電子の波動関数が 1 nm 立方の体積内に収まるとされていることから<sup>40,41)</sup>、直径 2 nm 程度で、安定な NVC を有するナノダイヤは実現できると考えられている。ダイヤ粒子の微小化によって引き起こされる問題点は、既述のように、NVC が表面に近づくため、表面の影響を受けやすくなることにある。たとえば、ダイヤ表面の電気双極子モーメントが大きくなると、ホールの内部への流入が起こり、ODMR を与える NV<sup>-</sup>が不活性型の NV<sup>0</sup>になってしまうらしい<sup>42)</sup>。このため、NVC を安定化させるような表面修飾法の探索が行われており、良好な結果が得られつつある<sup>43)</sup>。NVC に対する表面効果を克服できれば、より小さな NVC ダイヤが作製できるようになり、一気に応用範囲が広がると期待される。

### 6. おわりに

ナノダイヤ NVC は、その高い蛍光安定性から、細胞イメージング用の蛍光タグとして有望視されている。しかし、それ以上に、蛍光検出の技術と磁気共鳴によるスピン操作技術の組み合わせが、従来にないユニークな計測法を生み出すと大きな期待が寄せられている。すなわち、ナノダイヤ周辺の電場・磁場・温度が直接得られるほか、間接的にタンパク質の運動性・相互作用についての情報も獲得できるだろう。ナノダイヤの細胞内局在は抗体によるターゲティング<sup>21)</sup>や、光ピンセットによって操作可能である<sup>44,45)</sup>。ナノダイヤ NVC は、細胞内の任意の「ナノ空間」について、これまで得ることができなかったさまざまな情報を獲得可能にすると期待され、細胞内事象の分子論的・物理化学的理解に大きく貢献するものと思われる。また、ダイヤ NVC は、応用物理学や量子情報学においても、まだまだ盛んに研究が続いている分野である。今後、NVC の理解がさらに進めば、スピン操作の技術等がいつそう洗練されてゆき、生体計測にも大きな進展が見込まれる。確かに今、ダイヤモンドの輝きが、多くの研究者を魅了しつつある。

### 文 献

- Schirhagl, R., Chang, K., Loretz, M., & Degen, C.L. (2013) *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 83-105.
- Fu, C.-C., Lee, H.-Y., Chen, K., Lim, T.-S., Wu, H.-Y., Lin, P.-K., Wei, P.-K., Tsao, P.-H., Chang, H.-C., & Fann, W. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 104, 727-732.
- Hauf, M.V., Grotz, B., Naydenov, B., Dankerl, M., Pezzagna, S., Meijer, J., Jelezko, F., Wrachtrup, J., Stutzmann, M., Reinhard, F., & Garrido, J.A. (2011) *Phys. Rev. B*, 83, 081304.
- Bradac, C., Gaebel, T., Naidoo, N., Sellars, M.J., Twamley, J., Brown, L.J., Barnard, A.S., Plakhotnik, T., Zvyagin, A.V., & Rabeau, J.R. (2010) *Nat. Nanotechnol.*, 1-5.



- 5) Tisler, J., Balasubramanian, G., Naydenov, B., Kolesov, R., Grotz, B., Reuter, R., Boudou, J.-P., Curmi, P.a, Sennour, M., Thorel, A., Börsch, M., Aulenbacher, K., Erdmann, R., Hemmer, P.R., Jelezko, F., & Wrachtrup, J. (2009) *ACS Nano*, 3, 1959–1965.
- 6) Smith, B.R., Inglis, D.W., Sandnes, B., Rabeau, J.R., Zvyagin, A.V, Gruber, D., Noble, C.J., Vogel, R., Osawa, E., & Plakhotnik, T. (2009) *Small*, 5, 1649–1653.
- 7) Acosta, V.M., Bauch, E., Ledbetter, M.P., Waxman, A., Bouchard, L.-S., & Budker, D. (2010) *Phys. Rev. Lett.*, 104, 070801.
- 8) Chang, Y.-R., Lee, H.-Y., Chen, K., Chang, C.-C., Tsai, D.-S., Fu, C.-C., Lim, T.-S., Tzeng, Y.-K., Fang, C.-Y., Han, C.-C., Chang, H.-C., & Fann, W. (2008) *Nat. Nanotechnol.*, 3, 284–288.
- 9) Smith, B.R., Niebert, M., Plakhotnik, T., & Zvyagin, A.V. (2007) *J. Lumin.*, 127, 260–263.
- 10) Yang, W., Auciello, O., Butler, J.E., Cai, W., Carlisle, J.A., Gerbi, J.E., Gruen, D.M., Knickerbocker, T., Lasseter, T.L., Russell, J.N., Smith, L.M., & Hamers, R.J. (2002) *Nat. Mater.*, 1, 253–257.
- 11) Hens, S.C., Cunningham, G., Tyler, T., Moseenkov, S., Kuznetsov, V., & Shenderova, O. (2008) *Diam. Relat. Mater.*, 17, 1858–1866.
- 12) Krüger, A., Liang, Y., Jarre, G., & Stegk, J. (2006) *J. Mater. Chem.*, 16, 2322.
- 13) Mochalin, V.N., Shenderova, O., Ho, D., & Gogotsi, Y. (2012) *Nat. Nanotechnol.*, 7, 11–23.
- 14) Bumb, A., Sarkar, S.K., Billington, N., Brechbiel, M.W., & Neuman, K.C. (2013) *J. Am. Chem. Soc.*, 0–3.
- 15) Li, X., Shao, J., Qin, Y., Shao, C., Zheng, T., & Ye, L. (2011) *J. Mater. Chem.*, 21, 7966.
- 16) Yu, S.-J., Kang, M.-W., Chang, H.-C., Chen, K.-M., & Yu, Y.-C. (2005) *J. Am. Chem. Soc.*, 127, 17604–17605.
- 17) Schrand, A.M., Huang, H., Carlson, C., Schlager, J.J., Omacr Sawa, E., Hussain, S.M., & Dai, L. (2007) *J. Phys. Chem. B*, 111, 2–7.
- 18) Mohan, N., Chen, C.-S., Hsieh, H.-H., Wu, Y.-C., & Chang, H.-C. (2010) *Nano Lett.*, 3692–3699.
- 19) Neugart, F., Zappe, A., Jelezko, F., Tietz, C., Boudou, J.P., Krueger, A., & Wrachtrup, J. (2007) *Nano Lett.*, 7, 3588–3591.
- 20) Hui, Y.Y., Zhang, B., Chang, Y., Chang, C., Chang, H., Hsu, J., Chang, K., & Chang, F. (2010) *Opt. Express*, 18, 2135–2143.
- 21) Mkandawire, M., Pohl, A., Gubarevich, T., Lapina, V., Appelhans, D., Rödel, G., Pompe, W., Schreiber, J., & Opitz, J. (2009) *J. Biophotonics*, 2, 596–606.
- 22) Weng, M.-F., Chiang, S.-Y., Wang, N.-S., & Niu, H. (2009) *Diam. Relat. Mater.*, 18, 587–591.
- 23) Zhang, B., Li, Y., Fang, C.-Y., Chang, C.-C., Chen, C.-S., Chen, Y.-Y., & Chang, H.-C. (2009) *Small*, 5, 2716–2721.
- 24) Mohan, N., Tzeng, Y.-K., Yang, L., Chen, Y.-Y., Hui, Y.Y., Fang, C.-Y., & Chang, H.-C. (2010) *Adv. Mater.*, 22, 843–847.
- 25) Faklaris, O., Garrot, D., Joshi, V., Druon, F., Boudou, J.-P., Sauvage, T., Georges, P., Curmi, P.a, & Treussart, F. (2008) *Small*, 4, 2236–2239.
- 26) Klar, T.a, Jakobs, S., Dyba, M., Egner, a, & Hell, S.W. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 97, 8206–8210.
- 27) Lindner, M., Nir, G., Medalion, S., Dietrich, H.R.C., Rabin, Y., & Garini, Y. (2011) *Phys. Rev. E*, 83, 011916.
- 28) Faklaris, O., Garrot, D., Joshi, V., Druon, F., Boudou, J.-P., Sauvage, T., Georges, P., Curmi, P.a, & Treussart, F. (2008) *Small*, 4, 2236–2239.
- 29) Igarashi, R., Yoshinari, Y., Yokota, H., Sugi, T., Sugihara, F., Ikeda, K., Sumiya, H., Tsuji, S., Mori, I., Tochio, H., Harada, Y., & Shirakawa, M. (2012) *Nano Lett.*, 12, 5726–5732.
- 30) Kucsko, G., Maurer, P.C., Yao, N.Y., Kubo, M., Noh, H.J., Lo, P.K., Park, H., & Lukin, M.D. (2013) *Nature*, 500, 54–58.
- 31) McGuinness, L.P., Yan, Y., Stacey, A., Simpson, D.A., Hall, L.T., Maclaurin, D., Prawer, S., Mulvaney, P., Wrachtrup, J., Caruso, F., Scholten, R.E., & Hollenberg, L.C.L. (2011) *Nat. Nanotechnol.*, 6, 358–363.
- 32) Yoshinari, Y., Kalay, Z., & Harada, Y. (2013) *Phys. Rev. B*, 88, 235206.
- 33) Maclaurin, D., Hall, L.T., Martin, a M., & Hollenberg, L.C.L. (2013) *New J. Phys.*, 15, 013041.
- 34) Inomata, K., Ohno, A., Tochio, H., Isogai, S., Tenno, T., Nakase, I., Takeuchi, T., Futaki, S., Ito, Y., Hiroaki, H., & Shirakawa, M. (2009) *Nature*, 458, 106–109.
- 35) Mamin, H.J., Kim, M., Sherwood, M.H., Rettner, C.T., Ohno, K., Awschalom, D.D., & Rugar, D. (2013) *Science* (80), 339, 557–560.
- 36) Staudacher, T., Shi, F., Pezzagna, S., Meijer, J., Du, J., Meriles, C.A., Reinhard, F., & Wrachtrup, J. (2013) *Science*, 339, 561–563.
- 37) Perunicic, V.S., Hall, L.T., Simpson, D.A., Hill, C.D., & Hollenberg, L.C.L. (2014) *Phys. Rev. B*, 89, 054432.
- 38) Balasubramanian, G., Chan, I.Y., Kolesov, R., Al-Hmoud, M., Tisler, J., Shin, C., Kim, C., Wojcik, A., Hemmer, P.R., Krueger, A., Hanke, T., Leitenstorfer, A., Bratschitsch, R., Jelezko, F., & Wrachtrup, J. (2008) *Nature*, 455, 648–651.
- 39) Hall, L.T., Hill, C.D., Cole, J.H., Städler, B., Caruso, F., Mulvaney, P., Wrachtrup, J., & Hollenberg, L.C.L. (2010) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 18777–18782.
- 40) Gali, A., Fyta, M., & Kaxiras, E. (2008) *Phys. Rev. B*, 77, 1–12.
- 41) Hossain, F., Doherty, M., Wilson, H., & Hollenberg, L. (2008) *Phys. Rev. Lett.*, 101, 226403.
- 42) Hauf, M.V., Grotz, B., Naydenov, B., Dankerl, M., Pezzagna, S., Meijer, J., Jelezko, F., Wrachtrup, J., Stutzmann, M., Reinhard, F., & Garrido, J.A. (2011) *Phys. Rev. B*, 83, 081304.
- 43) Petráková, V., Taylor, A., Kratochvílová, I., Fendrych, F., Vacík, J., Kučka, J., Štursa, J., Cígler, P., Ledvina, M., Fišerová, A., Kneppo, P., & Nesládek, M. (2012) *Adv. Funct. Mater.*, 22, 812–819.
- 44) Geiselmann, M., Juan, M.L., Renger, J., Say, J.M., Brown, L. J., de Abajo, F.J.G., Koppens, F., & Quidant, R. (2013) *Nat. Nanotechnol.*, 8, 175–179.
- 45) Horowitz, V.R., Alemán, B.J., Christle, D.J., Cleland, A.N., & Awschalom, D.D. (2012) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109, 13493–13497.



**著者寸描****●柘尾豪人**（とちお ひでひと）

京都大学大学院工学研究科分子工学専攻准教授，博士（理学）。

■**略歴** 1992年大阪大学理学部化学科卒業，98年同大学院理学研究科博士（生物科学専攻），98～2001年香港科技大学研究員，01年横浜市立大学大学院総合理学研究科助手，06年より京都大学大学院工学研究科分子工学専攻助教授，07年より現職。

■**研究テーマと抱負** 専門は核磁気共鳴法（NMR）を使ったタンパク質の構造解析。近年は，細胞内のタンパク質をそのままNMRで解析するという試みを行っている。ダイヤモンドNVCを利用すれば，NMRの圧倒的な感度の低さを克服できるかも知れないと思い，期待を寄せている。

■**ホームページ** [http://www.moleng.kyoto-u.ac.jp/~moleng\\_01/index.htm](http://www.moleng.kyoto-u.ac.jp/~moleng_01/index.htm)

■**趣味** 読書，クライミング。