

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：14303

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15053

研究課題名（和文）ナノ量子センサーによるAll-opticalな細胞内熱伝導計測

研究課題名（英文）All-optical intracellular thermal conductivity measurement using nanoquantum sensors

研究代表者

外間 進悟（Sotoma, Shingo）

京都工芸繊維大学・分子化学系・助教

研究者番号：00757635

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：カーボン量子ドット（CQD）は従来の重金属を含む量子ドットに代わる毒性の低い量子ドットとして近年注目されている。本研究では、新規All-optical細胞温度センサーとしてAnthraquinone derivativesを骨格とするCQDの開発を行った。研究の結果、合成に使用するアントラキノンの構造を変化させることにより、蛍光強度、レシオ、寿命温度計など、さまざまなタイプの温度計として機能させることに成功した。CQDと蛍光寿命イメージング技術を組み合わせることにより、細胞内の蛍光寿命マッピングに成功し、CQDの細胞温度計としての可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで細胞内の温度計測結果にはプローブに内在する問題から疑義（高周波磁場による細胞温度への干渉・細胞環境への好ましくない応答）があった。この問題を解決するCQD温度センサーはこれまでのセンサーに取って代わる可能性を秘めており有用性が高い。また本研究結果により、細胞内局所に形成される異常な高温は真に生命現象に由来するものか、あるいはプローブの特性に由来するアーティファクトか、という生物学的な重要な問いに対する答えを得られる可能性があり大きなインパクトを持つと考える。合成が容易であることから、様々な研究者が研究に取り入れることが可能であり、波及効果が大きい。

研究成果の概要（英文）：Carbon quantum dots (CQDs) have recently gained attention as low-toxicity quantum dots, serving as alternatives to conventional heavy metal-containing quantum dots. In this study, we developed CQDs based on anthraquinone derivatives as novel all-optical cellular temperature sensors. The results of our research demonstrated that by altering the structure of the anthraquinone used in the synthesis, we successfully created various types of thermometers, such as fluorescence intensity, ratiometric, and lifetime thermometers. By combining CQDs with fluorescence lifetime imaging technology, we achieved intracellular fluorescence lifetime mapping, demonstrating the potential of CQDs as cellular thermometers.

研究分野：生物物理

キーワード：カーボン量子ドット 細胞 温度

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

温度は細胞の恒常性や生理機能を担う重要な物理パラメータのひとつである。我々のこれまでの研究では、蛍光性ナノダイヤモンド (FND) を用いた量子センシング技術を利用することにより、細胞内ナノ領域の熱伝導率は、 $0.11 \pm 0.04 \text{ W/m} \cdot \text{K}$ となり水の値 ($0.6 \text{ W/m} \cdot \text{K}$) より著しく小さく、また細胞全体に渡って大きなばらつきを持つことを明らかにした。しかし一方、FND の量子計測では高周波磁場を利用するため、センシング中に水の温度上昇を引き起こす可能性も指摘されており、改良が求められていた。

2. 研究の目的

カーボン量子ドット (CQD) を用いることにより、All-optical に温度・熱伝導率を計測する技術を開発し、実際に細胞計測に応用することを目的として研究をすすめた。

3. 研究の方法

本研究では、新規 All-optical 細胞温度センサとして Anthraquinone derivatives を骨格とする CQD の開発を行い、細胞温度計測を実践した。

4. 研究成果

CQDs は、Anthraquinone derivatives と L-システインを 180 度 12 時間の条件で水熱合成することにより得た。本研究では、10 種類の Anthraquinone derivatives を試した(図 1)。

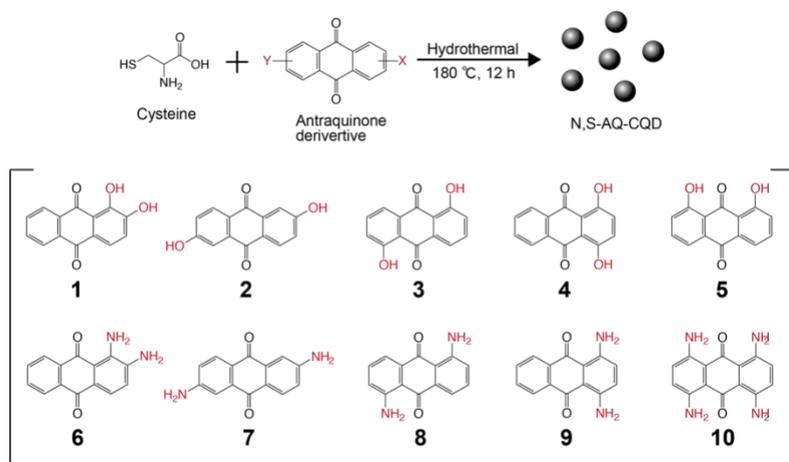


図 1. CQD の合成

いずれの CQD も蛍光を発していたが、その発光は Anthraquinone derivatives の構造によって変化していた (図 2)。その中で優れた性質を示した Anthraflavic acid、1,4-Diaminoanthraquinone、1,5-Diamino-4,3-dihydroxy anthraquinone、から合成された CQD-2、CQD-9、CQD-10 について注目した。

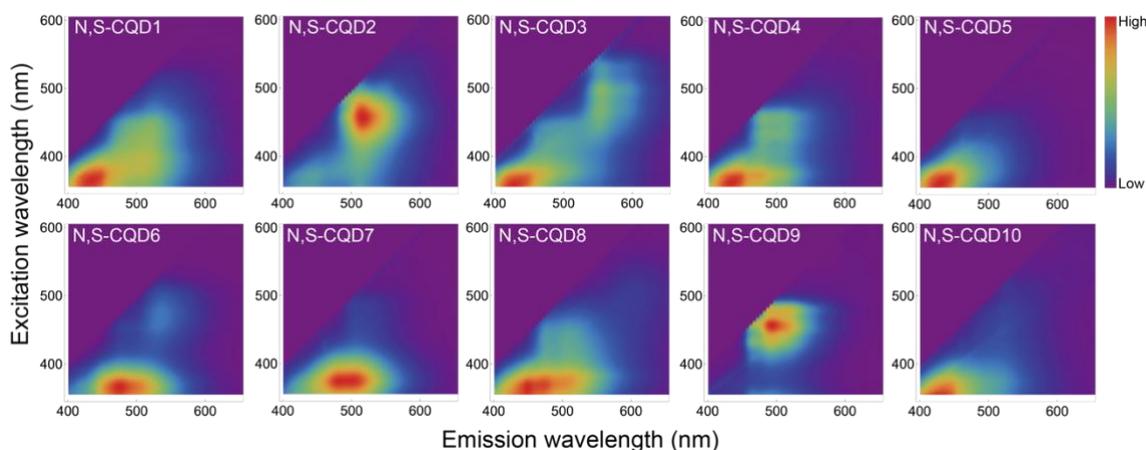


図 2. CQD の蛍光特性

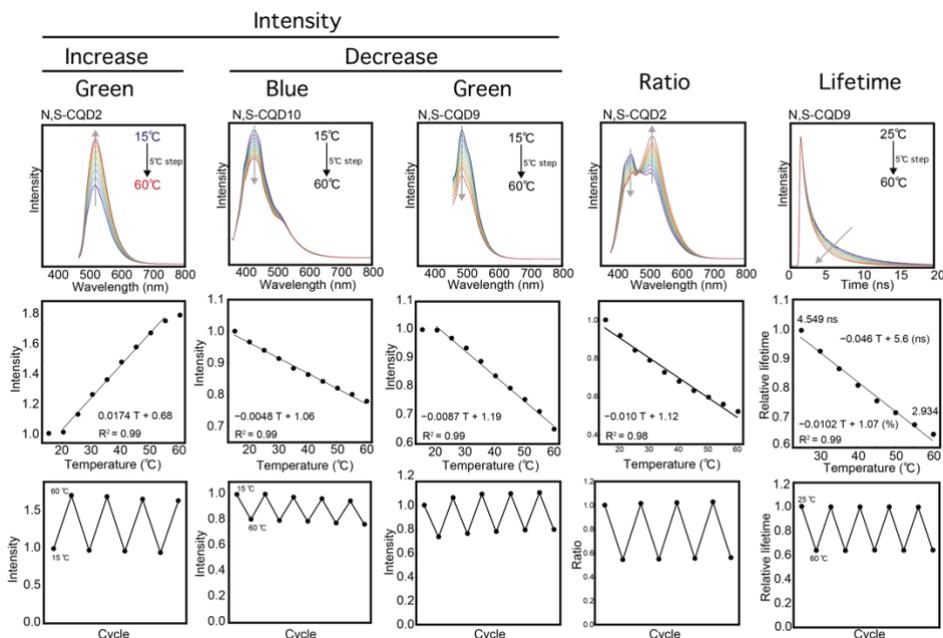


図 4. CQD の温度計としての性質

図 3 は、CQD の温度計としての性質をまとめたものである。CQDs は蛍光増強型 (CQD-2)、蛍光減少型(CQD-10, 9)、レシオ型(CQD-2)、蛍光寿命型(CQD-9)の温度計として機能することが明らかとなった。図 3 上段のグラフは、15~60°C の温度範囲で、5°C のステップで取得した CQD-2, CQD-9, CQD-10 の蛍光スペクトルもしくは蛍光寿命スペクトルである。CQD-2 は青色のレーザーで励起すると 510 nm の発光ピークを持つスペクトルが得られ、このピークの強度は温度が上がることにより 1.5 %/°C (15°C ~ 60°C)で線型に増加する。この性質により、CQD-2 は青色のレーザーで励起すると蛍光増強型の温度計として機能する。CQD-10,9 はそれぞれ UV、青色レーザーで励起すると、460 nm、500 nm の発光ピークを持つスペクトルが得られ、このピークの強度は温度によりそれぞれ 0.6 %/°C (15°C ~ 60°C)、0.9 %/°C (30°C ~ 60°C)で線型に減少する。この性質により CQD-10 は UV で励起、CQD-9 は青色レーザーで励起すると蛍光減少型の温度計として機能する。CQD-2 は、UV で励起すると、450 nm と 510 nm の発光ピークを持つスペクトルが得られる。低波長側のピークの強度は温度によって下がる一方、高波長側のピークの強度は温度によって上がる。この 2 つのピークの強度比は温度によって線型に 1.0 %/°C (15°C ~ 60°C)で変化することから、レシオ型の温度計として機能する。レシオ型の温度計は、CQDs の濃度変化による影響を軽減した温度計測に応用できることが知られている。25~60°C の温度範囲で、5°C のステップで取得した CQD-9 の時間分解 PL データを示している。得られた蛍光減衰曲線は、二重指数関数でフィッティングし蛍光寿命を算出した。蛍光寿命は温度によって線型に 1 %/°C で (25°C ~ 60°C)で変化した。これは蛍光寿命型の温度計として機能する。これまで議論した CQDs の温度計のすべてで優れた繰り返し耐性が確認された(Fig3 下段)。以上より、合成に使用するアントラキノン誘導体前駆体を変化させることにより、蛍光強度、レシオ、寿命温度計など、さまざまなタイプの CQD 温度計を作ることができることが分かった。CQD-9 を利用した細胞の蛍光寿命マッピングにも成功し、CQD-9 の細胞温度計としての可能性を示した。

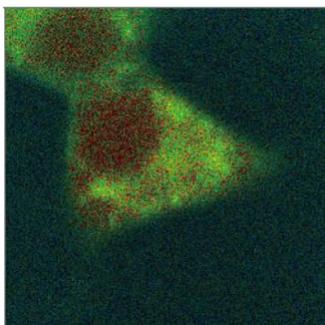


図 3. CQD による細胞内の蛍光寿命マッピング像

以上の研究は、生体毒性のない CQD が All-optical に駆動する細胞内温度計として利用できることを示した点で重要な成果である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4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 Sotoma Shingo, Okita Hiroataka, Chuma Shunsuke, Harada Yoshie	4. 巻 19
2. 論文標題 Quantum nanodiamonds for sensing of biological quantities: Angle, temperature, and thermal conductivity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 n/a ~ n/a
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.bppb-v19.0034	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 Sotoma Shingo	4. 巻 9
2. 論文標題 Polyglycerol/Polydopamine-Coated Nanoparticles for Biomedical Applications	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Materials	6. 最初と最後の頁 878455
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmats.2022.878455	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 Sotoma Shingo, Abe Hiroshi, Miyanoiri Yohei, Ohshima Takeshi, Harada Yoshie	4. 巻 15
2. 論文標題 Highly Dispersed 3C Silicon Carbide Nanoparticles with a Polydopamine/Polyglycerol Shell for Versatile Functionalization	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 ACS Applied Materials & Interfaces	6. 最初と最後の頁 21413 ~ 21424
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnano.3c00194	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 Sotoma Shingo, Harada Yoshie	4. 巻 4
2. 論文標題 Composite Quantum Sensors Based on Fluorescent Nanodiamonds for Intracellular Controlled Heating in Living Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Applied Nano Materials	6. 最初と最後の頁 3969-3976
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsnano.1c00334	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 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 外間進悟
2. 発表標題 生体計測応用に向けた炭化ケイ素ナノ粒子の高機能化
3. 学会等名 第16回ダイヤモンドシンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 外間進悟
2. 発表標題 ポリマーコートされたダイヤモンドナノ粒子によるバイオセンシング
3. 学会等名 第60回生物物理学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 外間進悟
2. 発表標題 ダイヤモンドナノ粒子による 細胞イメージング・センシング
3. 学会等名 日本化学会
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
---------	---------