

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 1 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02588

研究課題名(和文)細胞内伝熱機構解明のための超高分解能温度センサシステム

研究課題名(英文)Temperature sensing system with ultra-high resolution for elucidating the intracellular heat transfer mechanism

研究代表者

猪股 直生 (Inomata, Naoki)

東北大学・工学研究科・准教授

研究者番号：40712823

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、作製した単一細胞の温度計測デバイスを用いて、外部加熱時の細胞の温度応答に基づいて、その熱特性を評価した。環境温度や集光赤外線レーザーによる局所加熱の周波数を変化させた際の細胞の温度信号から得た周波数スペクトルは、2Hz未満の帯域での信号強度が他より強度が大きかった。水の応答と類似している25℃時と比べて、37℃時における結果は顕著であった。周囲温度と局所加熱周波数を変えた時の細胞の熱伝導率と比熱は、37℃時での値は水よりも小さくなり、25℃時の値は水と同程度であった。以上より、細胞の熱特性が、環境温度や加熱周期に依存することを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞が環境温度に対して、熱伝導率と比熱を変化させ、周囲の熱的な状況に都度適応していることが明らかになった。特に活性温度である37℃時の熱伝導率は加熱周期にも影響を受けたことから、何かしらの生理現象が誘発され、さらに、加熱周期によって誘発される現象が異なっていることが推測される。また、環境温度25℃時には水の熱物性値と同程度の値となり、これは的には水と大差ないことを意味する。化学固定によって細胞を熱的に不活性な状態にすると、熱伝導率が水と同程度になることは既に報告されており、本研究の成果では環境温度を下げるだけで熱的に不活性な状態を得ることができる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We developed a cellular temperature measurement device with a high temperature resolution. Using this device, the thermal properties of single cells were evaluated based on their temperature responses. Measurements were taken under varying surrounding temperatures and frequencies of local heating with a focused infrared laser on cells prepared on the sensors. Frequency spectra were used to determine the intensities of the temperature signals with respect to heating times. Signal intensities at 37 °C and a frequency lower than 2 Hz were larger than those at 25 °C, which were similar to those of water. The thermal conductivity and specific heat capacity, which were determined at different surrounding temperatures and local heating frequencies, were lower than and similar to those of water at 37 °C and 25 °C, respectively. Our results indicate that the thermal properties of cells depend on both temperatures and physiological activities in addition to local heating frequencies.

研究分野：マイクロナノ工学

キーワード：マイクロナノ温度センサ 細胞 温度信号 MEMS 微細加工技術

1. 研究開始当初の背景

温度は生体内や細胞内機能発現のトリガーとして様々な生理機能や生体リズムに影響を与え、生体の恒常性維持と密接な関わりがある。そのため、生体にとって温度は最も重要なパラメータのひとつであるが、細胞の熱・温度の機構や機能に関する詳細は、熱物性も含めて明らかになっていない。近年、細胞の熱物性は、水では近似できないこと、一般的な熱伝導方程式が当てはまらないこと、内部の温度分布が一様ではないこと等、様々な知見が得られている。

代表者は、微細加工技術を用いた高感度または高温分解能温度計測センサ(以下マイクロ温度センサ)とシステムに関する研究に従事し、生体分子や単一細胞の温度モニタリングを行っている。その過程で、細胞が発する温度信号が周期性を持ち、さらに温度によって観測される周波数と信号強度が変わることを観察した。これらは、これまで報告例がなく、細胞の温度モニタリングにマイクロ温度センサを用いることで、未知の熱的現象の発見や詳細な温度信号の観測が可能になることが示された。細胞の詳細な熱の機構や機能が解明・把握できれば、生体の根本的な原理の解明に大きく貢献できる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、マイクロ温度センサだからこそ計測可能な細胞の温度特性や細胞の熱機構の解明を目指した「単一細胞の温度計測を実現する高温分解能温度計測デバイスの開発」と「周波数特性に着目した細胞内伝熱の定量的評価と機構の解明」である。

3. 研究の方法

(1) デバイスの設計と作製

高い温度分解能と速い応答速度を特徴とするマイクロ温度センサは、熱伝導率のみでなく、時間パラメータであるが故にこれまで報告例がない比熱も求めることが可能である。本研究では、細胞一つの温度計測に特化したマイクロサーミスタを軸としたデバイスを作製した。センサ部の大きさを細胞一つと同程度の $50\mu\text{m}$ とした。また、集光した赤外線レーザーを用いて細胞を外部加熱するため、センサ中央を鍵穴状に抜いた形状とした。材料は、先行研究で実績のある酸化バナジウム(センサ部)とチタン(電極部)を用いた。デバイス上面にポリマー製の培養チャンバを設け、一面に細胞を培養し、偶発的にセンサ上にとった細胞の温度を計測する構想とした。

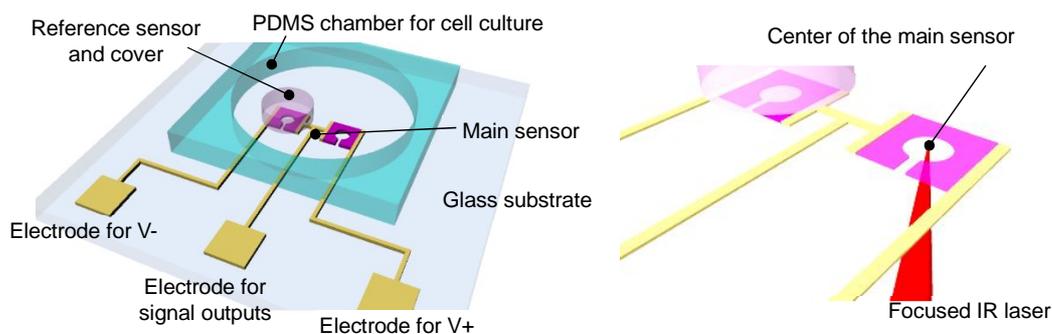


図1 デバイスのコンセプト図

(2) デバイスの周波数応答解析

外部加熱用の赤外線レーザーを周波数変調した際、デバイスに予期せぬ周波数応答が存在しないことを解析的に確認した。

(3) デバイスの特性評価

デバイスの評価項目として、デバイスの温度感度と、電気ノイズをもとにした温度分解能を実験的に確認した。

(4) デバイスを用いた単一細胞の温度計測

環境温度 $25, 37, 45^\circ\text{C}$ にて、外部加熱をしない状態での、つまり、細胞自身の温度信号を計測した。その時間ドメインの結果から周波数スペクトルを得た。さらに、周波数変調した赤外線レーザーで細胞を局所的に加熱した際の細胞の温度信号を計測した。その時の細胞の温度応答を定量的に計測し、細胞の周波数的温度特性や熱物性(熱伝導率と比熱)の評価を行った。

4. 研究成果

(1) デバイスの設計と作製

微細加工技術を用いてデバイスを作製した。作製したデバイスに細胞培養した結果を図 2 に示す。センサ上に細胞が位置したことがわかる。

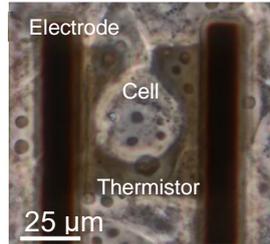


図 2. センサ上に位置した細胞

(2) デバイスの周波数応答解析

図 3(a)の解析モデルにおいて、環境温度 37°C に設定して、熱源の周波数を 0.25, 0.60, 3.00 Hz に変調した場合のセンサ部の温度応答を解析した結果、変調周波数のピークのみが周波数スペクトルに現れた(図 3(b))。熱源周波数 0.60 Hz で環境温度 25, 45°C の場合でも同様の結果であった(図 3(c)(d))。以上より、デバイスに予期せぬ応答が出ないことを確認した。

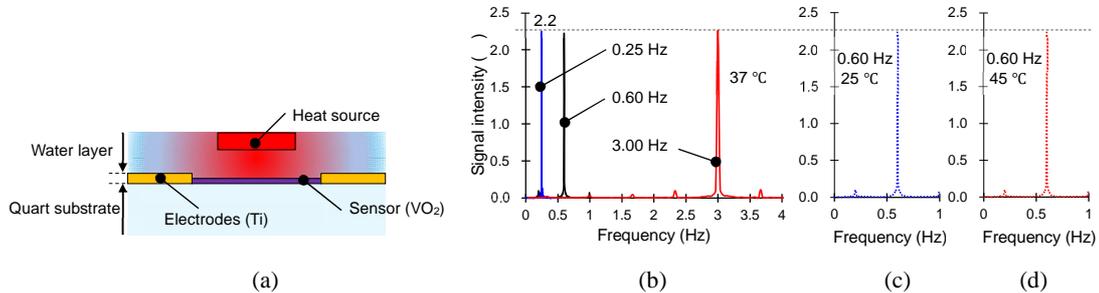


図 3. デバイスの周波数応答の解析結果, (a)解析に用いた系の断面図, (b)環境温度 37°C 時における各変調周波数での周波数スペクトル, (c)環境温度 25°C 時, (d)環境温度 45°C 時における変調周波数 0.60 Hz 時の周波数スペクトル,

(3) デバイスの特性評価

デバイスの温度感度(抵抗温度係数)が 20 ~ 45°C の範囲で 3.9%/°C(図 4(a)), 電気ノイズ 84.0 μV(図 4(b))をもとに温度分解能を計算すると 1.17 m°C となった。

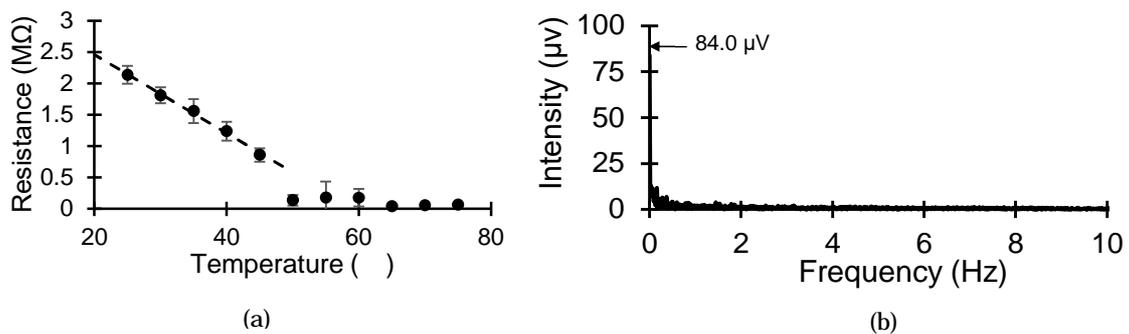


図 4. デバイスの特性評価, (a)デバイスの温度感度, (b)デバイスの電気ノイズ

(4) デバイスを用いた単一細胞の温度計測

(i) 細胞自身が発する温度信号の取得と解析

環境温度 25, 37, 45°C において、外部加熱をしない状態で、つまり、細胞自身の温度信号を計測し、その時間ドメインの結果から周波数スペクトルを得た。いずれの温度でも 2 Hz 以下の帯域での信号強度が他の帯域よりも大きかった。25°C と 45°C では同様の結果であったが、37°C では他の 2 温度と比較して信号強度は著しく大きくなった。以上より、細胞が発する温度信号には周波数成分が含まれていること、そして、それが温度依存的事であることを確認した。なお、これは先行研究でも同様の結果が得られている。

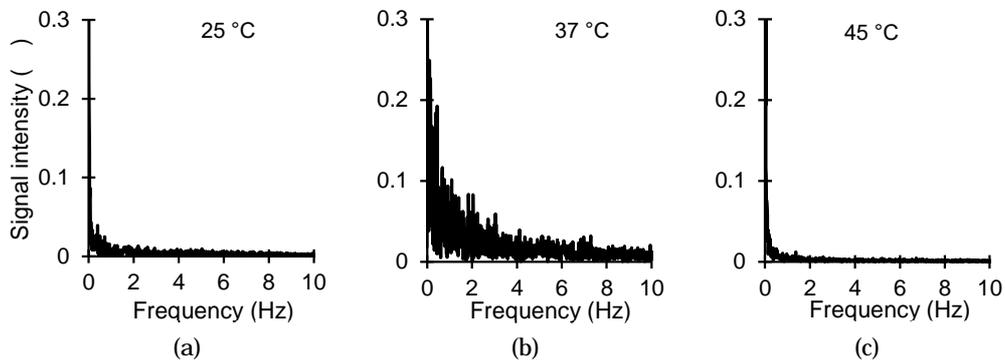


図 5. 細胞自身が発する温度信号の周波数スペクトル, (a)25°C, (b)37°C, (c)45°C.

(ii)変調した外部加熱時における細胞の温度信号の取得と解析

環境温度 25, 37°Cにおいて, 0.25~7.0Hzの範囲で変調した赤外線レーザーで細胞を局部的に加熱した際の細胞の温度信号を計測した. その周波数スペクトルにおける変調周波数ピークの信号強度を, 各変調周波数でまとめた結果を図 6 に示す. 信号強度が変調周波数で一定ではないことと周囲温度によって信号強度が変わることを確認した. 環境温度 37°C時は, 特に 1Hz 以下の帯域で信号強度が大きく, 温度の影響によって強度が大きく変化するのもこの帯域であった. 環境温度 37°Cの水で同様の計測を行ったところ, 信号強度は周波数に依らず, 一定であった. 環境温度 25°Cにおける細胞での計測結果は, 水の結果と同程度であった.

以上より, 集光した赤外線レーザーを用いて細胞を局部的かつ周期的に加熱し, 細胞のもつ周波数スペクトルを再現することに成功した.

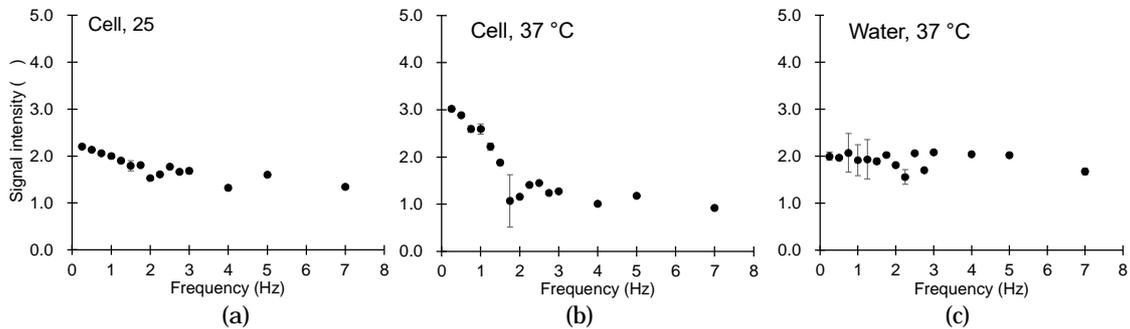


図 6. 周波数変調した赤外線レーザーで細胞および水を局部的に加熱した際の各変調周波数における温度変化, (a)環境温度 25°C時の細胞, (b)37°C時の細胞, (c)37°C時の水.

(iii)単一細胞の熱伝導率と比熱

細胞を局部的に加熱した時の到達温度から熱伝導率を, 立ち上がり時間(時定数)から比熱を求めた. 図 7 に, 環境温度 37°C, 変調周波数 0.25Hz で細胞を局部的に加熱した際の挙動を一例として示す. 環境温度と変調周波数を変えた際の熱伝導率及び比熱を比較した結果を図 8 に示す. 細胞の熱伝導率と比熱は周囲温度に依存した. 25°C時における計測結果は, 水と同程度の値であった. さらに, 最も活性が高い温度である 37°C時は, 加熱周波数によって熱伝導率と比熱が異なった.

以上より, 細胞一つの熱挙動を詳細に追うことができる温度センサシステムの開発に成功し, 単一細胞の特殊な熱特性を明らかにした.

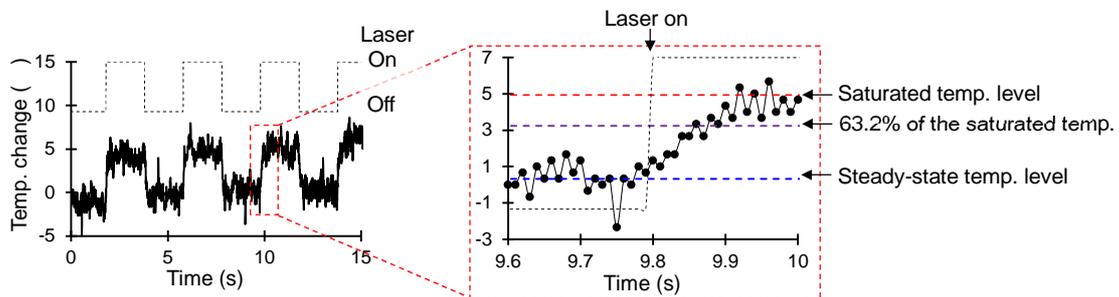


図 7. 環境温度 37°C, 変調周波数 0.25Hz で細胞を局部的に加熱した時の温度変化.

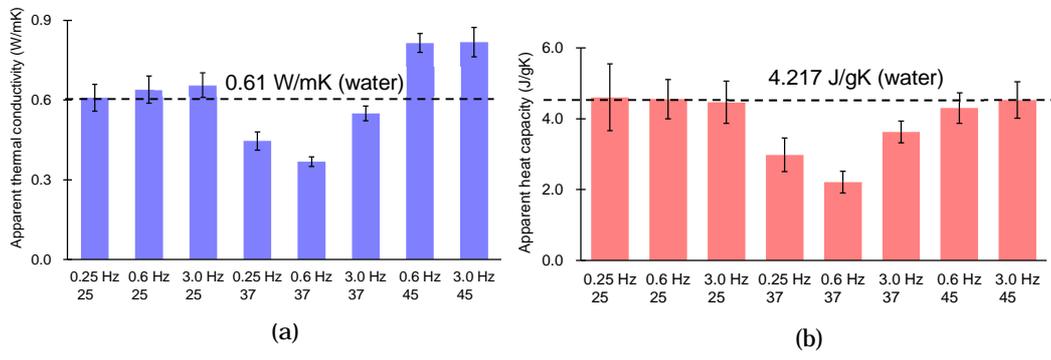


図 8.各環境温度，各変調周波数における細胞の熱特性，(a)熱伝導率，(b)比熱．

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Inomata Naoki, Tonsho Yuka, Ono Takahito	4. 巻 12
2. 論文標題 Quality factor control of mechanical resonators using variable phononic bandgap on periodic microstructures	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 392
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-04459-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Inomata Naoki, van Toan Nguyen, Ono Takahito	4. 巻 316
2. 論文標題 Temperature-dependence of the electrical impedance properties of sodium hydroxide-contained polyethylene oxide as an ionic liquid	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sensors and Actuators A: Physical	6. 最初と最後の頁 112369 ~ 112369
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.sna.2020.112369	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 Inomata Naoki, Miyamoto Takumi, Okabe Kohki, Ono Takahito	4. 巻 23
2. 論文標題 Measurement of cellular thermal properties and their temperature dependence based on frequency spectra <i>via</i> an on-chip-integrated microthermistor	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Lab on a Chip	6. 最初と最後の頁 2411 ~ 2420
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d2lc01185a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 猪股 直生, 頓所 侑夏, 小野 崇人
2. 発表標題 微小周期構造体の周期変化時における機械振動子のQ値評価
3. 学会等名 第38回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 猪股 直生, 宮本 拓実, 小野 崇人, 岡部 弘基
2. 発表標題 高感度マイクロサーミスタを用いた単一細胞の熱物性評価
3. 学会等名 2023(令和5)年度電気学会E部門総合研究会
4. 発表年 2023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