

国立大学法人 京都工芸繊維大学
国立大学法人 大阪大学
国立大学法人 東京大学
国立大学法人 広島大学

カーボン量子ドットが切り拓く「細胞温度計測」：細胞内の微小な温度変化を検出

1. 発表者：

加藤祐基(大阪大学 理学部 学部3回生)：筆頭著者
嶋崎幸穂(大阪大学 大学院理学研究科 修士1回生)
中馬俊祐(大阪大学 蛋白質研究所 日本学術振興会特別研究員(PD))
白矢昂汰(京都工芸繊維大学 大学院工芸科学研究科 修士1回生)
中根有梨奈(広島大学 大学院統合生命科学研究科 修士1回生)
杉拓磨(広島大学 大学院統合生命科学研究科 准教授)
岡部弘基(東京大学 大学院薬学系研究科 特任准教授)
原田慶恵(大阪大学 蛋白質研究所 教授)
外間進悟(京都工芸繊維大学 分子化学系 助教)

2. 発表のポイント：

- ◆ナノサイズのカーボン量子ドット(CQD)^{注1)}を用いて、細胞内部の温度を高精度に測定する技術を開発しました。
- ◆異なる計測モード(蛍光強度・蛍光寿命^{注2)}・比率)を持つナノ温度計を実現し、相互検証によりより正確な測定が可能になりました。これにより、ミトコンドリア脱分極に伴う細胞内部の温度上昇を計測することに成功しました。
- ◆温度と生命現象の関係を紐解く新しい生命科学分野の開拓に貢献することが期待されます。

3. 発表概要：

京都工芸繊維大学・外間進悟助教、大阪大学・原田慶恵教授、東京大学・岡部弘基特任准教授、広島大学・杉拓磨准教授らの共同研究チームは、カーボン量子ドット(CQD)を用いた新しい蛍光ナノ温度計を開発しました。CQDは従来型の量子ドットと同様に量子サイズ効果に由来する蛍光を発する性質があります。一方で、CQDの構成成分は主に炭素であり、従来型量子ドット(QD)のように重金属(カドミウムなど)を含まないため、細胞に対する毒性が低く、バイオセンサとしての利用が期待されています。しかし、CQDの蛍光特性・温度応答性を精密に制御することが難しく、これまでに生化学反

応に伴う温度変化の計測には成功していませんでした。本研究では、アントラキノンを骨格とする新規 CQD を合成し、青～緑色で発光し、蛍光強度・蛍光寿命・比率型の温度計として機能する CQD の開発に成功しました。蛍光寿命型の温度計は、pH などの環境変化に耐性があり、細胞内でも温度計として機能することがわかりました。実際に、ミトコンドリアの膜電位を脱分極させることによって引き起こされる細胞内の温度上昇を計測することに成功しました。さらに、蛍光強度と蛍光寿命の異なる手法で相互検証することによる、信頼性の高い細胞温度計測法を確立しました。この技術により、細胞内部の微小な温度変化を計測することが可能になり、細胞活動と温度の関係をより正確に分析できるようになりました。

本研究成果は「Nano Letters」に 2025 年 3 月 26 日 14 時 00 分（日本時間）に掲載されました。

4. 発表内容：

研究の背景

細胞内の温度は、生命現象に深く関わっています。例えば、がん細胞の増殖や神経細胞のシグナル伝達は温度変化と密接に関連していることが知られています。私達のこれまでの研究からも、「細胞内の熱伝導率が従来考えられていた水とは著しく異なること(参考文献 1)」や「細胞内局所における自発的な発熱が、神経細胞が分化する際の突起伸長の駆動力として働くこと(参考文献 2)」を明らかにしています。これまでに、低分子、ポリマー、タンパク質、量子ドット、蛍光性ナノダイヤモンドなど様々な温度計が開発されてきました。一方で、これらの温度計にはそれぞれ一長一短があり、その用途や研究室の設備によって利用する温度計が限られていました。そこで本研究では、

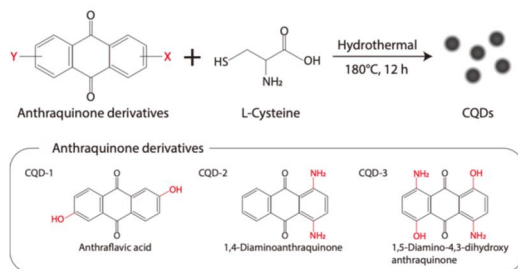
- ① 合成が容易である
- ② 細胞への毒性が低い
- ③ 膜透過性が高く細胞導入が容易である
- ④ 蛍光波長の調整が可能であり、また、蛍光強度・蛍光寿命・比率など温度計測モードの調整も可能であることから研究への導入が容易である
- ⑤ 異なる測定モードで相互検証することにより信頼性の高い温度計測が可能である

これらの性質をすべて満たす新しい細胞温度計の開発を目的に研究を行いました。

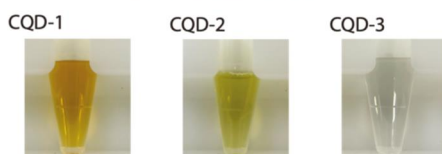
研究内容

本研究では、カーボン量子ドット (CQD) を用いた新しい蛍光ナノ温度計を開発しました。構造の異なるアントラキノ誘導体とシステインから簡便な水熱法によって、発光波長の異なる 3 つの CQD を合成しました (図 1)。図 1 では性質の良い 3 つを記載していますが、論文内では全部で 11 種類のアントラキノ誘導体の蛍光特性を評価しています。

水熱法による CQD の合成



合成した CQD



CQD の蛍光特性

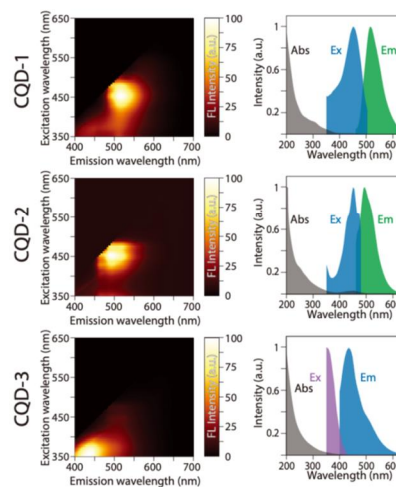


図 1. CQD の合成とその蛍光特性。

3つの CQD の温度特性を評価したところ、ユニークな性質が見えてきました (図 2)。CQD-1 は蛍光強度増強型、CQD-3 と CQD-2 はそれぞれ波長が異なる強度減少型として機能しました。更に CQD-1 は比率型、CQD-2 は寿命型の温度計としても機能することが明らかとなりました。この中で、CQD-2 が示す蛍光寿命測定による温度計測は、細胞内の環境 (塩・pH・タンパク質など) を受けにくく、 1°C 程度の温度変化を計測する高精度な測定が可能であることを示しました。またこれらの CQD は細胞膜を透過し、容易に細胞内に移行すること、細胞に対する毒性が低いことを明らかにしました。

合成した CQD の温度計としての性質

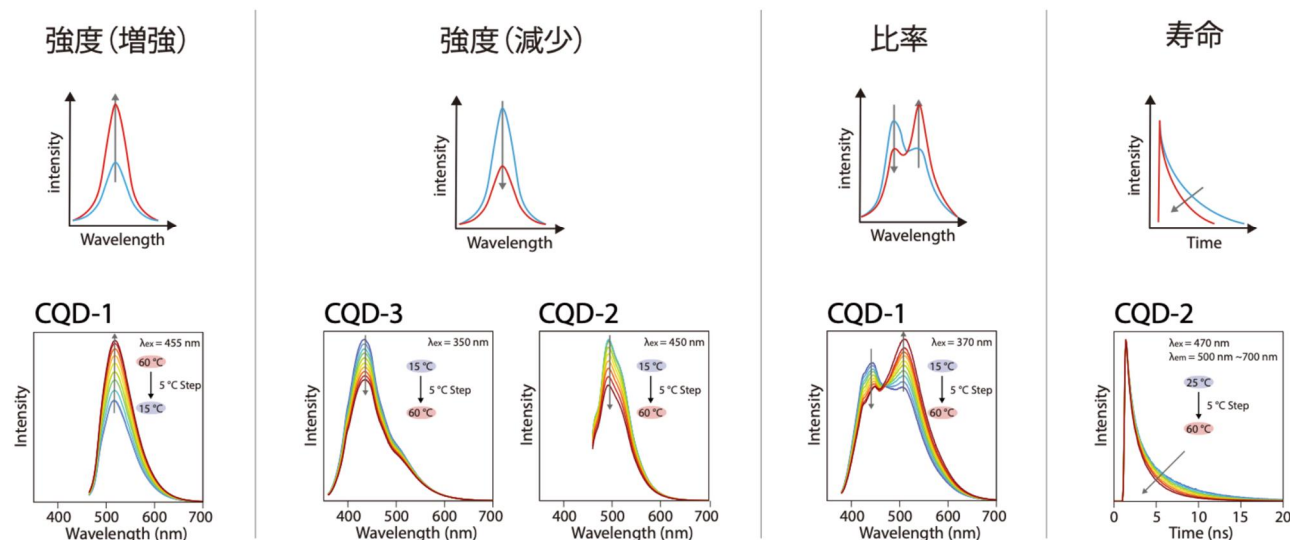
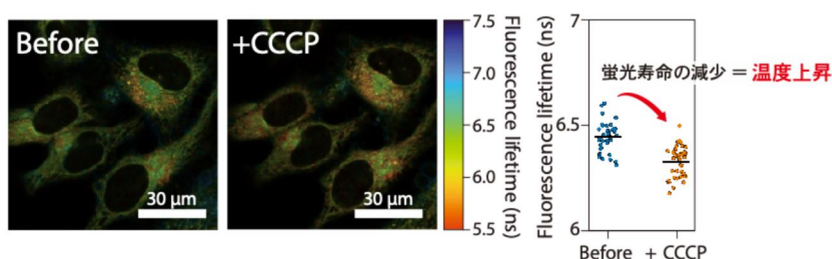


図 2. CQD-1, CQD-2, CQD-3 の温度応答性。

CQD-2 を用いて細胞の温度計測を行いました（図3）。実験では、まず CQD-2 を取り込んだ細胞の培地の温度を変化させることによって、細胞内であっても CQD-2 が温度計として機能することを示しました。次に、ミトコンドリア脱分極剤による細胞内の温度変動を計測可能かを検証しました。

CCCP(Carbonyl cyanide m-chlorophenyl hydrazone)はミトコンドリアの内膜を隔てた膜電位を脱分極することが知られています。実験では、この脱分極に伴う細胞の温度上昇を1細胞レベルで計測可能かを検証しました。その結果、CCCP 処理による明確な蛍光寿命の減少、すなわち温度上昇（1～2℃程度）が確認されました。この温度上昇は、CQD-2 の蛍光強度変化からも同様に確認することができました。生命現象に伴う温度変化を蛍光寿命と蛍光強度という2つの異なる計測モードで相互検証することが可能であり、より正確な細胞内の温度計測が可能であることを示しました。本研究成果は CQD が細胞温度計として優れた性質を持つことを示すと同時に、細胞がどのように熱を発生させるのかを理解する上で非常に重要な成果です。

CQD による細胞内温度計測



寿命と強度による相互検証実験

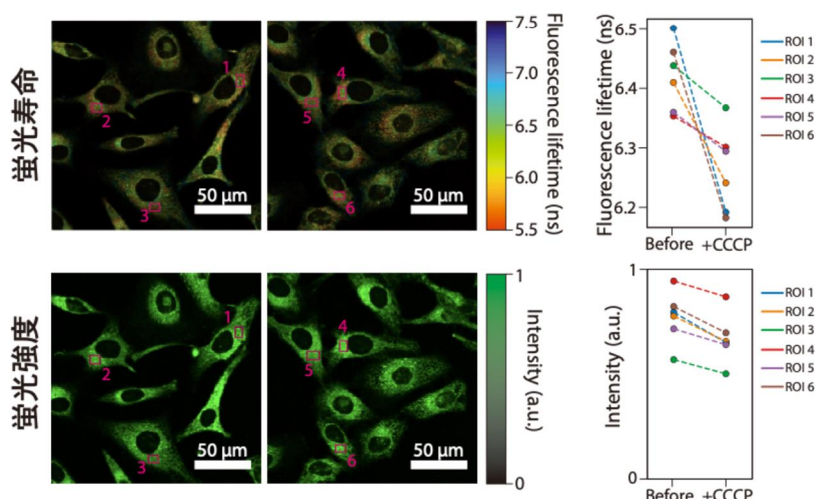


図3. CQD-2 による細胞の温度計測。CCCP によるミトコンドリア刺激時の細胞内温度変化を計測した。

今後の展開

CQD を用いた細胞温度計測によって、細胞の分化に細胞内の温度がどのように関わっているのかを明らかにする研究を進めていきたいと考えております。特に、CQD は線虫のような個体内部であってもその蛍光を明瞭に計測できることが分かっており、多階層で温度と生命現象の関わりを明らかにできる可能性があります。本研究によって開発した技術は、細胞内温度を指標とした新たな生命現象の理解を深めることや、細胞機能の解明や再生医療、創薬といった幅広い分野への応用が期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：Nano Letters

論文タイトル：Fluorescent Thermometers Based on Carbon Quantum Dots with Various Detection Modes for Intracellular Temperature Measurement

著者：Yuki S. Kato, Yukiho Shimazaki, Shunsuke Chuma, Kota Shiraya, Yurina Nakane, Takuma Sugi, Kohki Okabe, Yoshie Harada*, Shingo Sotoma*

*：責任著者

DOI 番号：10.1021/acs.nanolett.4c06642

アブストラクト URL：<https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.4c06642>

6. 参考文献：

1. Shingo Sotoma, Chongxia Zhong, James Chen Yong Kah, Hayato Yamashita, Taras Plakhotnik, Yoshie Harada, Madoka Suzuki, In situ measurements of intracellular thermal conductivity using heater-thermometer hybrid diamond nanosensors, Science Advances, 7, eabd7888, 2021.
2. Shunsuke Chuma, Kazuyuki Kiyosue, Taishu Akiyama, Masaki Kinoshita, Yukiho Shimazaki, Seiichi Uchiyama, Shingo Sotoma, Kohki Okabe, Yoshie Harada, Nature Communications, 15, 3473, 2024.

7. 用語解説：

注 1) カーボン量子ドット(CQD)：ナノメートルサイズ(約 1~10 nm)の炭素系ナノ粒子で、優れた蛍光特性を持つ。生体適合性が高く、バイオイメージングやバイオセンシングに適している。

注 2) 蛍光寿命：蛍光物質が発光を続ける時間。本研究ではこの時間の温度依存性を利用して細胞内の温度を計測している。CQD の濃度や細胞内の塩・pH、励起光強度の影響を受けにくいという性質がある。

8. 研究助成：

本研究は、日本学術振興会科研費(課題番号:19K16089, 21K15053, 22H02583, 23H03845, 24H00577, 24H02306)、日本学術振興会学術変革領域研究 B (JP23H03845)、公益財団法人豊田理研スカラー制度、公益財団法人住友財団基礎科学研究助成 (2300179)、文部科学省 光・量子飛躍フラッグシッププログラム (Q-LEAP) (JPMXS0120330644)、科学技術振興機構創発的研究支援事業 (JPMJFR214R)、科学技術振興機構 CREST (JPMJCR24B6) の支援により実施されました。

9. 問い合わせ先：

< 研究に関する事 >

京都工芸繊維大学・分子化学系

外間進悟（そとましんご）

TEL：075-724-7457 E-mail：shsotoma@kit.ac.jp

大阪大学・蛋白質研究所

原田慶恵（はらだよしえ）

TEL：06-6879-4877 E-mail：yharada@protein.osaka-u.ac.jp

< 報道担当 >

京都工芸繊維大学総務企画課広報係

TEL：075-724-7016 E-mail：kit-kisya@jim.kit.ac.jp

※京都工芸繊維大学では、メールによるリリースを行っております。メールによるリリースを希望される場合は、kit-kisya@jim.kit.ac.jp まで①社名、②氏名、③登録するメールアドレスをご連絡ください。

大阪大学蛋白質研究所 研究戦略推進室

TEL：06-6879-8592. E-mail：uraoffice@protein.osaka-u.ac.jp

東京大学大学院薬学系研究科 庶務チーム

TEL：03-5841-4702 E-mail：shomu@mol.f.u-tokyo.ac.jp

広島大学広報室

TEL：082-424-6762 E-mail：koho@office.hiroshima-u.ac.jp