

## 研究成果報告書

|                               |   |          |          |         |              |
|-------------------------------|---|----------|----------|---------|--------------|
| 研究テーマ<br>(和文) AB              | 超精密温度計測による幹細胞分化時の生理学的活性化状態の検出   |          |          |         |              |
| 研究テーマ<br>(欧文) AZ              | Accurate temperature probing of stem cells for the detection of their activated states in the differentiation processes   |          |          |         |              |
| 研究氏<br>代<br>表<br>名<br>者       | カカナ CC  | 姓)フジワラ   | 名)マサズミ   | 研究期間 B  | 2018 ~ 2021年 |
|                               | 漢字 CB   | 藤原       | 正澄       | 報告年度 YR | 2020年        |
|                               | ローマ字 CZ   | Fujiwara | Masazumi | 研究機関名   | 大阪市立大学       |
| 研究代表者 CD<br>所属機関・職名           | 大阪市立大学 大学院理学研究科 物質分子系専攻 ・ 講師  |          |          |         |              |
| 概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。) | <p>生命活動を構成する無数の化学反応は熱を外部とやりとりして進行する。呼吸や代謝だけでなく遺伝子の転写なども含めて、これらの生命活動が活性化する状態では、細胞レベルでも必ず熱が発生（吸収）している。本研究はこのような生体内で生み出される熱をミクروسケールで超高感度に捉える温度顕微鏡技術を実現し、分子生物学的な理解に、個々の化学反応の熱力学にもとづいた知見を加えることを目標とする。具体的には、代表者らが最近成功した蛍光ナノダイヤモンド（FND粒子）を用いたマウス脂肪由来単一幹細胞の温度測定を発展させ、顕微鏡下でリアルタイムに超高精度（±0.1℃）な温度計測が可能なシステムを実現し、幹細胞の分化誘導時に示す細胞の活性化状態を検出することを目指した。</p> <p>本研究の結果、①細胞のダイナミックな動きに追従可能な高速温度計測技術を実現し、サンプリングレート1秒で温度精度0.14℃の顕微温度計測技術を実現することに成功した。②また、試料が動的な環境にあり光透過率が時間的に大きく変動する場合に発生するアーティファクトが本蛍光ND温度計測に存在することを明らかにした（Phys. Rev. Res. (2020).）。これらの技術開発の結果、③細胞よりも動きの大きい線虫体内の温度測定にもした（Sci. Adv. (2020).）。④幹細胞研究に関しても、細胞温度と再生因子産生量の関係性を解明することに成功した。</p> <p>このように、幹細胞が分化する際の活性化状態検出に向けて大きな進展を得ることができた。今後の課題としては、一週間以上の長期間、細胞の培養観察を行いつつ、温度計測を行うプロトコル開発が必要である。また、現在は相対温度計としての動作であるため、絶対温度を測定する校正技術の確立も必要と考えられる。</p> |          |          |         |              |
| キーワード FA                      | ナノダイヤモンド  | 幹細胞      | 温度       | 顕微鏡     |              |

(以下は記入しないでください。)

|            |  |  |  |  |           |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|------------|--|--|--|--|-----------|--|--|--|--|--|--|--|--|--|
| 助成財団コード TA |  |  |  |  | 研究課題番号 AA |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| 研究機関番号 AC  |  |  |  |  | シート番号     |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

| 発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。） |                    |   |                   |                          |   |   |   |                    |   |
|-----------------------------------|--------------------|---|-------------------|--------------------------|---|---|---|--------------------|---|
| 雑誌                                | 論文標題 <sup>GB</sup> | Real-time nanodiamond thermometry probing in vivo thermogenic responses   |                   |                          |   |   |   |                    |   |
|                                   | 著者名 <sup>GA</sup>  | Fujiwara et al.   | 雑誌名 <sup>GC</sup> | Science Advances         |   |   |   |                    |   |
|                                   | ページ <sup>GF</sup>  | eaba9636  | 発行年 <sup>GE</sup> | 2                        | 0 | 2 | 0 | 巻号 <sup>GD</sup>   | 6 |
| 雑誌                                | 論文標題 <sup>GB</sup> | Real-time estimation of the optically detected magnetic resonance shift in diamond quantum thermometry toward biological applications |                   |                          |   |   |   |                    |   |
|                                   | 著者名 <sup>GA</sup>  | Fujiwara et al.   | 雑誌名 <sup>GC</sup> | Physical Review Research |   |   |   |                    |   |
|                                   | ページ <sup>GF</sup>  | 043415  | 発行年 <sup>GE</sup> | 2                        | 0 | 2 | 0 | 巻号 <sup>GD</sup>   | 2 |
| 雑誌                                | 論文標題 <sup>GB</sup> |   |                   |                          |   |   |   |                    |   |
|                                   | 著者名 <sup>GA</sup>  |   | 雑誌名 <sup>GC</sup> |                          |   |   |   |                    |   |
|                                   | ページ <sup>GF</sup>  |   | 発行年 <sup>GE</sup> |                          |   |   |   | 巻号 <sup>GD</sup>   |   |
| 図書                                | 著者名 <sup>HA</sup>  |   |                   |                          |   |   |   |                    |   |
|                                   | 書名 <sup>HC</sup>   |   |                   |                          |   |   |   |                    |   |
|                                   | 出版者 <sup>HB</sup>  |   | 発行年 <sup>HD</sup> |                          |   |   |   | 総ページ <sup>HE</sup> |   |
| 図書                                | 著者名 <sup>HA</sup>  |   |                   |                          |   |   |   |                    |   |
|                                   | 書名 <sup>HC</sup>   |   |                   |                          |   |   |   |                    |   |
|                                   | 出版者 <sup>HB</sup>  |   | 発行年 <sup>HD</sup> |                          |   |   |   | 総ページ <sup>HE</sup> |   |

欧文概要<sup>EZ</sup>

This research was aimed for developing a novel thermometric microscope based on quantum sensors to detect the activated state of stem cells during their differentiation. Quantum sensors are nanodiamond particles that possess optically accessible quantum spins, which have emerged as promising candidates of nanoscale biological thermometers. It exhibits ultimate robustness, ultralow toxicity, various functionalized surfaces, and quantum-enhanced high sensitivity. During the research period, we have significantly improved the measurement speed of this thermometric microscope and it is now possible to measure nanoscale temperature in the real time scale [Phys. Rev. Res. (2020)]. With this system, we characterized the relationship between intracellular temperature of adipose tissue-derived stem cells and their regeneration ability. In addition, we succeeded in monitoring the temperature dynamics inside live nematode worms [Sci. Adv. (2020).]