

講演番号：2C01p05

講演日時、会場：3月28日 14:44～ C校舎01会場

混ぜるだけで導入可能な細胞内温度計測用の新規蛍光性温度センサーの開発

Novel fluorescent thermometers with the ability to enter cells for intracellular temperature measurement.

○辻 俊一<sup>1</sup>、吉田 聡<sup>2</sup>、吉田 有人<sup>1</sup>、内山 聖一<sup>3</sup> (<sup>1</sup>キリン・基盤研、<sup>2</sup>キリン・酒類研、<sup>3</sup>東大院・薬)

○Toshikazu TSUJI<sup>1</sup>, Satoshi YOSHIDA<sup>2</sup>, Aruto YOSHIDA<sup>1</sup>, Seiichi UCHIYAMA<sup>3</sup> (<sup>1</sup>Kirin Company, Ltd., Central Lab. for Key Technologies, <sup>2</sup>Kirin Company, Ltd., Research Lab. for Brewing Technologies, <sup>3</sup>University of Tokyo)

細胞内温度は、古くより細胞の複雑な機能と密接な関係にあると考えられている。例えば、お酒などの発酵品の製造工程では、微生物の働きを制御するために細かな温度調整をしており、細胞温度の重要性は経験的に理解されている。また、医学分野においても、がん細胞などの病態細胞は、正常細胞と比較して高温であることが指摘されている。このように細胞の温度計測は生物を扱う多くの学問に新しい視点をもたらす技術である。最近、アクリルアミド系高分子の蛍光温度プローブを用いて、細胞内の温度分布を高精度で測定可能とする温度計測技術が開発された (Okabe et al., 2012 *Nature Commun.*)。しかし、このプローブは細胞内への導入に、特別な装置・技術を要するマイクロインジェクション法を必要とし、酵母細胞などの小さい細胞には利用しにくいという課題を抱えていた。

今回、我々は酵母細胞に自発的に導入されるプローブの開発を目指して、高分子にカチオン性ユニットを組み込んだ新たな蛍光温度プローブ CFPT (Cationic Fluorescent Polymeric Thermometer) を合成した。CFPT は細胞懸濁液に混ぜるだけで 10 分以内に酵母細胞質内へ導入され、そこに留まった。そして、CFPT の 1 つである NN-AP2.5 は、25°C から 35°C で蛍光強度が約 2 倍、蛍光寿命も 6.2ns から 8.6ns へと変化し、最高で 0.09°C ものわずかな酵母細胞の温度差を検出できた。

さらに CFPT は、哺乳類浮遊細胞である MOLT-4 細胞 (ヒト T 細胞系白血病細胞) にも酵母と同様に利用可能であった。NN-AP とは機能する温度範囲の異なるプローブの NN/NI-AP2.5 は、30°C から 40°C で蛍光強度が約 2 倍、蛍光寿命も 5.4ns から 8.1ns へと変化することを確認した。そして、HEK293T 細胞 (ヒト胎児腎由来細胞) を用いた顕微鏡観察により、CFPT の蛍光強度が細胞内温度の上昇に伴って高くなることが確認され、接着細胞でも利用できることが明らかとなった。

自発的に起こる CFPT の細胞内への導入は、細胞の活性が抑えられた低温条件下でも常温条件下と同程度に起こり、エンドサイトーシスに関与する遺伝子を欠損させた酵母株でも認められた。加えて、10 分以内という短時間でも CFPT が細胞内に導入されたことから、CFPT の細胞内への導入は、化学的な細胞膜の透過によると考えられた。

以上の結果より、新たに開発した CFPT は酵母細胞、哺乳類細胞の懸濁液に混ぜるだけで導入可能な高感度の細胞内温度測定ツールであることが示された (Tsuji et. al., 2013 *Anal. Chem.*)。今後、本技術の活用により細胞内温度やエネルギー産生・消費という視点から、農芸化学をはじめ、医学、薬学、基礎生物学で新たな知見が得られることを期待している。

intracellular temperature measurement, yeast cells, mammalian cells