



基于微纳材料与器件测量细胞温度

毛伟¹, 何伟男¹, 杨升¹, 韩懋夏¹, 李艳¹, 顾宁^{1,2*}

1. 东南大学生物科学与医学工程学院, 生物电子学国家重点实验室, 江苏省生物材料与器件重点实验室, 南京 210096;

2. 南京医科大学生物医学工程与信息学院, 南京 211166

* 联系人, E-mail: guning@seu.edu.cn

2020-08-08 收稿, 2020-09-11 修回, 2020-09-14 接受, 2020-09-23 网络版发表

国家自然科学基金(51832001, 61821002, 31800843)和国家重大研发计划(2017YFA0104302)资助

摘要 最近10年里, 科研人员研发了多种微纳尺度测温传感器, 希望能够借此来精确测量细胞内的温度或温度分布, 但由于单个细胞的诸多限制, 这些细胞测温传感器也在不断发展完善. 本文将综述近年来基于微纳材料与器件测量细胞温度的研究进展, 重点介绍微纳热电偶的实时细胞测温技术, 最后介绍此类传感器在药物筛选、疾病诊疗等领域中的应用, 并对细胞测温技术的后续发展进行了展望. 具体而言, 本文指出微纳尺度的细胞测温传感器一般可以分为荧光式细胞温度测量法和探极式细胞温度测量法: 荧光式细胞温度测量法主要有作为温度计的有机化合物、量子点、聚合物和生物分子; 探极式细胞温度测量法主要有作为热探针的热电偶、铂电阻和碳纳米管.

关键词 细胞测温, 荧光式细胞温度测量法, 探极式细胞温度测量法, 药物筛选, 疾病诊疗

温度是生命体重要的物理参数之一, 是生命体内多种生化反应综合的表现. 通过测量生命体的体内温度, 可以获得生命体的相关状态信息. 另一方面, 通过对温度的调控也可以对生理活动产生影响, 从而影响生命体的状态. 温度是对分子热运动剧烈程度的度量, 宏观尺度下, 具体的温度测量技术也已发展完备. 生命体温度的测量包括生命体整体、器官、生理组织等. 因此, 无论是获取还是调控状态信息, 对生命体温度的监测都有具体意义. 对于一般生命体而言, 微纳尺度的温度测量主要包括多细胞^[1~3]、单细胞^[4]及细胞器^[5]. 随着生物学在单细胞水平上的迅速发展, 细胞温度测量已成为近年来研究的热点. 环境温度的变化可能会影响细胞的活动和功能^[6,7]. 细胞内的生物活动, 如酶反应和代谢, 可能反过来引起细胞间的温度波动^[8~10]. 全面了解单个细胞在不同条件下的温度分布和热响应, 有助于回答细胞生热和热调节的基本生物学问题. 这可能为更好地了解许多疾病的潜在机制提

供线索. 因为人们普遍认为, 任何特定疾病(如癌症)的第一个特征就是热奇异性的出现^[11,12]. 例如, 热休克反应能够体现细胞系统对外环境温度变化的适应性^[13,14], 在加热疗法中, 癌细胞在超过40°C时会死亡^[15~17]. 由此可见, 在这类改变细胞温度的研究中, 对细胞温度的监控是不可或缺的.

1 细胞测温技术

温度测量技术可以根据是否需要接触待测物体分为侵入式以及非侵入式^[18]. 侵入式温度计通过直接接触或间接接触(通过某种介质)待测物体进行热传递, 一般能够精确地测量出待测物体的温度, 但是会对待测物体自身的冷热程度产生影响; 非侵入式温度计则通过待测物体或某种介质的物理特性变化(诸如红外光谱、引起折射率等)不直接接触待测物体或介质进行温度测量, 不会与待测物体进行热量交换, 但是一般精度不高. 早期对细胞温度测量的研究多着眼于将宏观

引用格式: 毛伟, 何伟男, 杨升, 等. 基于微纳材料与器件测量细胞温度. 科学通报, 2021, 66: 1874–1885

Mao W, He W N, Yang S, et al. Cell temperature measurement based on micro/nano materials and devices (in Chinese). Chin Sci Bull, 2021, 66: 1874–1885, doi: 10.1360/TB-2020-1001

测温技术直接或间接使用于细胞。微量热法是最早应用于细胞温度的测量方法,其主要应用于对细胞产热量变化的监测^[19]。然而,微量热法每次测试需要用到 $10^4\sim 10^5$ 个细胞且需要杀死细胞,因此温度测量的空间分辨率及测温精度不高。红外热成像技术也曾应用在早期细胞温度测量中,其具有无需接触细胞且不会对细胞造成损伤的优点,也被运用在对细胞热量变化的研究中^[8]。然而,红外热成像法的测温原理注定了其较低的空间分辨率,并且温度测量精度不高^[20]。传统的温度测量技术由于其尺寸原因无法直接套用于细胞温度测量。因此依据细胞的尺寸,细胞温度测量通常需要在微纳尺度开展。此外,现有研究致力于开发细胞温度测量的专用传感器(图1),在测量温度时尽量避免损伤细胞。

近年来随着纳米技术的发展,人们对细胞温度计的研究进行了大量探索,目前已出现了许多新的有效方法。Brites等人^[20]提供了多种纳米温度计的概述。在这些纳米温度计中,可用于测量活细胞温度的温度计比较少。Jaque等人^[21]综述了各种用于细胞内热传感的荧光纳米温度计。Piñol等人^[22]综述了纳米测温技术在热疗中的应用。在此基础上,本文概述了这些细胞测温技术发展。这些方法根据传感原理的分类列于表S1中,表S1根据之前的报告进行了补充和修改,包括有机荧光团、量子点、聚合物、生物分子、热电偶和热电阻等。此外,这些温度计在生物组织中的应用如表S1所示。主流的技术思路之一是光学方法。例如,目前得到最广泛研究的是荧光温度计^[23],通过温敏荧光物质对细胞进行标记后,再使用对应的光学成像系统观察细胞内标记物光学特性的变化来达到测量温度的目的。另一技术思路则是借助微纳加工技术,将诸如热敏电阻、热电偶等宏观测温手段微纳化,从而将其应用于细胞温度测量中。依据细胞温度测量的特殊性,现有的非接触式细胞温度测量技术都是基于光学方法的,而接触式细胞温度测量技术的原理不尽相同。因此,相较于传统温度计的分类方式,本文选择将微纳尺度细胞温度的测量手段分类为荧光式细胞温度测量法以及探极式细胞温度测量法^[20,24]。

为了评估应用于细胞温度测量的传感器性能,除了常规温度计所用的精度、误差等指标,还应考虑其测量对象所在的尺度范围。温度范围是指在正常工作条件下测量最低至最高温度区间的温度变化,而温度分辨率表示最小可检测温度信号,都以 $^{\circ}\text{C}$ 表示。不同

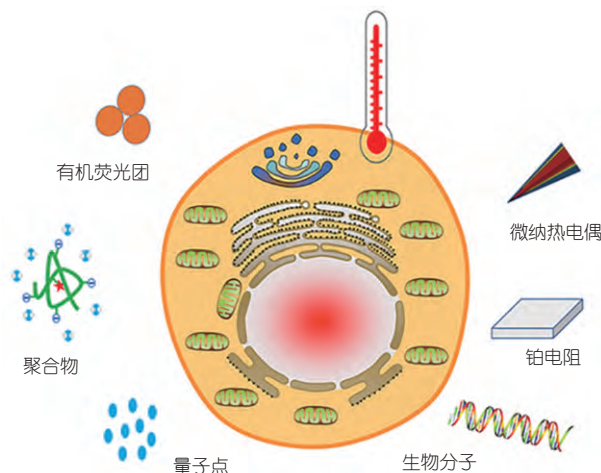


图1 (网络版彩色)细胞测温技术

Figure 1 (Color online) Cell temperature measurement technology

于宏观待测物体,细胞作为测温对象时其温度分布是以微米或纳米计量。因此,空间分辨率(spatial resolution)是细胞温度测量传感器的一个重要的性能衡量指标,通常定义为使温度变化大于温度计灵敏度的最小移动距离^[25,26]。此外,在已有的细胞温度测量研究中,为了结合传感器测温范围以及测温精度这两个指标来更好地衡量传感器性能,还提出了相对灵敏度(relative sensitivity, S)这一指标^[20,27]。相对灵敏度定义为 $S = (\partial Q / \partial T) / Q$,其中 Q 是与温度相关的变量,可以通过实验测定。因此,合格的细胞温度测量传感器应该满足如下条件^[10,21]:合适的测温范围、高温分辨率、高空间分辨率、能够实现实时测量、多环境适应、高可靠性及易用性。本文将围绕这些条件对现有的微纳尺度细胞测温技术进行讨论。

2 荧光式细胞温度测量法

光学成像技术一直是探究生物组织和细胞的强有力手段。近年来,荧光热传感器作为活细胞温度测量工具在生物学领域引起了广泛关注。温敏材料结合现有的成像技术,使得温度测定可以在单细胞水平上进行。荧光式细胞温度测量法通过检测荧光强度、最大发射波长或者荧光寿命变化^[20,23],实现细胞温度变化的实时监测。细胞温度在一定程度上调控着生物体的活动,细胞通过独特的温敏机制来感知周围环境的变化,表明了温度和细胞功能之间有一定的相互作用。此外,通过荧光式细胞温度测量法测温发现,微观尺度下的温度改变与宏观水平有很大不同。为了更好地探索该领

域,迫切需要一种能够将微观尺度下的温度可视化的工具.因此,荧光式细胞温度测量法的应用将有助于揭示细胞内温度变化的新机制.本节描述了荧光式细胞温度测量法的不同种类以及在细胞温度测量中的作用过程.

2.1 有机荧光团

早在1941年,有机荧光团就被发现存在与温度相关的特性而用于温度指示^[28].DyLight549是一种用于测量磁性纳米粒子($MnFe_2O_4$)表面温度的有机荧光团.Huang等人^[29]将磁性纳米颗粒导入到细胞膜上的特定蛋白,利用DyLight549监控被加热后的磁性颗粒,结果表明细胞膜局部产热引起了细胞的行为变化.Zohar等人^[9]利用热敏荧光染料稀土螯合物(Eu-TTA)提出了一种全新的热成像方法.Eu-TTA的荧光强度会随着温度的升高而降低,使得对细胞温度变化进行监测成为可能,该方法成功捕捉到仓鼠卵巢细胞中产生的热波.然而这种方式容易受到细胞内pH的影响,限制了活细胞测温的发展.Suzuki等人^[30]改变了荧光染料的使用方式,通过将Eu-TTA填充在只有微米直径的玻璃管中,实现了在细胞表面的接触式测温,避免了胞内生理环境对荧光探针的影响.实验中,测量单个HeLa细胞的产热发现,胞内钙离子浓度的改变会引起细胞温度的变化,而这极大程度上与胞内 Ca^{2+} -ATPases的功能相关^[31].随着荧光式细胞温度测量法研究的深入,一种用于细胞器测温的小分子温度计被开发出来.Arai等人^[5]筛选出一种针对线粒体测温的荧光染料(Mito thermo yellow),并成功地在不同细胞中检测出线粒体温度的梯度变化.Homma等人^[32]将两种荧光染料(Rhodamine B和CS NIR dye)的优点结合,设计出性能优良的比值温度计.由于两种荧光染料的温敏性不同,通过计算荧光强度的比值变化,可以实时监测细胞器温度.

荧光染料温度计是将未知温度下图像的荧光强度和荧光寿命与室温下的一幅参考图像进行比较,特别是在远离参考温度下,可能存在较大的系统不确定度.对于温度依赖的荧光染料,在整个实验过程中保持精确的光学对准是至关重要的.同时其荧光信号可能会受到分子浓度、光漂白和光串色等因素的影响.因此,这种测温方法的测量精度仍然较低.

2.2 量子点

作为温度传感器,量子点体积小、光稳定性好以

及可塑性高,是一种极具发展前景的细胞温度计.如何在复杂多变的环境中准确传递温度信息,是设计和开发细胞温度测量工具的首要问题.Yang等人^[33,34]在利用量子点进行细胞测温方面取得了很大进展.研究表明,多数量子点的平均值比单个量子点的结果更加精确.对钙刺激和冷休克后的细胞温度检测,可以直接观察到细胞内温度的不均匀上升.Maestro等人^[35]利用双光子激发下的量子点观测单个HeLa细胞,细胞在人工热源的施加下产生了剧烈响应.除了量子点外,掺镧荧光纳米颗粒也可以用于细胞测温,这些纳米粒子可以将近红外光转换为高能光从而测定细胞温度^[36-38].金属纳米团簇具有超小的尺寸、易于合成且生物相容性好,被认为是一种有效的发光温度计.Shang等人^[39]发现金纳米团簇(AuNCs)的荧光寿命在生理范围内会随着温度的升高而显著降低,通过内吞作用进入HeLa细胞后,当细胞周围环境温度改变时,AuNCs显示出了几百纳秒的荧光寿命.同样,铜纳米团簇(CuNCs)也可用于细胞温度成像^[40,41].Wang等人^[40]通过谷胱甘肽稳固CuNCs,使其量子产率高达5.0%.在15~80°C的温度梯度下,结合谷胱甘肽的CuNCs表现出很好的生物相容性,能够有效地检测细胞内温度.

近年来,纳米金刚石作为温度传感器被研究人员开发出来^[42-44].纳米金刚石是线性尺寸<100 nm的纳米颗粒或纳米块状材料.纳米金刚石的温敏特性主要来源于纳米金刚石的氮-空位(NV)色心,而纳米金刚石的NV色心^[45,46]是纳米金刚石中的一种点缺陷.纳米金刚石可以在室温下保持其量子自旋光学性质,当受到温度干扰时,纳米金刚石中碳原子间的距离会改变,此时向晶体照射一束激光,会导致氮替代碳的缺陷发出不同的荧光.它们已经成功地在纳米尺度上测量了温度^[47-49].荧光纳米金刚石可以发射不同波长的光,并显示与温度相关的自旋光学性质,使得(平行的、多色的)成像和温度监测成为可能.纳米金刚石的光稳定性高达几百K,纳米金刚石是无毒的,并且可以针对特定的生物部分进行功能化,这对于生物医学环境中的传感应用具有吸引力.Kucsko等人^[42]将纳米金刚石和金纳米颗粒一同注入人胚胎成纤维细胞WS1细胞内,这样不仅可以控制细胞局部的温度,也可以监测细胞温度的实时变化.这种基于纳米金刚石温度计的温度分辨率能够达到0.044°C,然而,目前将纳米金刚石注入细胞的过程具有侵入性,极大地限制了纳米金刚石作为细胞温度计的发展.尽管量子点具有优良的光学性能,

但其大小和形状分布会导致发光不均匀,在细胞内酸性环境下存在不稳定性及毒性^[50-52]。

2.3 聚合物

研究表明,聚丙烯酰胺如聚*N*-异丙基丙烯酰胺(NIPAM)或聚*N*-正丙基丙烯酰胺(NNPAM),其结构会随着温度的变化而变化^[53]。因此,它能够作为一种细胞温度测量手段。通过将反应性聚合物与荧光团结合,可以调节温度感知范围。Gota等人^[54]开发了由聚丙烯酰胺与水敏荧光团组成的聚合物。在低温状态下,聚合物会吸收水分子使内部的水敏荧光团淬灭。而当温度升高时,聚合物收缩成纳米颗粒使水分子排出,此时水敏荧光团发生荧光变化。他们通过微注射的方式将荧光聚合物导入COS7细胞中,成功检测了外部化学刺激下的细胞温度变化。上节提到Eu-TTA作为细胞温度计容易受到pH影响,Oyama等人^[55]为了克服这一缺点,将Eu-TTA作为温度感感染料嵌入到聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)中。利用聚合物网络来保护荧光染料不会受pH和离子浓度变化的影响,观察到HeLa细胞受激光照射后的温度升高现象。Qiao等人^[56]报道了一种基于聚合物的细胞内温度计,由荧光分子和温度响应单元组成。聚合物中的热致团聚体导致荧光强度随温度梯度增加(24~44℃)而减小。然而,由于聚合物的尺寸较大,阻碍了其在细胞内的扩散。Okabe等人^[57]开发了一种新型荧光聚合物温度计,可以扩散到整个细胞中。利用荧光寿命成像显微镜测量荧光聚合物的荧光寿命作为温度依赖变量,该方法具有较高的空间分辨率和温度分辨率。通过对单个COS7细胞进行温度绘图发现,细胞中不同细胞器之间的温度截然不同,其中细胞核、线粒体以及中心体的温度都明显高于细胞质,同时也观测到细胞处于不同周期时,各细胞器之间的温度差也会发生变化。这种方法使在细胞中进行温度绘图成为现实,明确地揭示了细胞内温度梯度和特异性产热的生物现象。为了进一步扩大此方法的适用范围,Hayashi等人^[58]改进了这种温度计,使其能够从细胞外基质直接吸收到一个活细胞中,从而用于各种细胞温度测量。基于聚合物的温度计由于迟滞相变而具有缓慢的响应,难以提供高温度分辨率^[59]。

2.4 生物分子

利用生物分子进行细胞温度检测是一个全新的尝试。此类技术主要利用DNA、RNA、脂质等在热量变

化时会影响其生物化学过程^[60,61],亦或是发生不同于荧光分子探针的电学变化^[54,62]。绿色荧光蛋白作为细胞成像的荧光标记物已经得到广泛使用。不同于前面提到的非生物分子荧光探针,绿色荧光蛋白能够准确地定位到细胞器中,而且不会对细胞产生任何干扰。Donner等人^[63]将绿色荧光蛋白作为一种适用于细胞内温度作图的荧光探针,温度相对灵敏度为-0.4%/℃。首先,通过对细胞周围的金纳米棒加热,在转染了绿色荧光蛋白的海拉细胞中证实了绿色荧光蛋白的温度响应特性。除此之外,他们还将这种方法扩展到活的生物体中,首次对秀丽隐杆线虫进行了体内温度成像^[64]。Kiyonaka等人^[65]进一步研究了绿色荧光蛋白,开发了一种基因编码的热敏传感器,它能够显示活细胞中离散细胞器的产热过程。特异性靶向的荧光蛋白能够使棕色脂肪细胞的线粒体和内质网产热可视化。同时,HeLa细胞中以线粒体为靶点的荧光蛋白表现出与电化学梯度相关的产热不均一性。相似的是,Nakano等人^[66]也报道了一种基于基因编码的比值荧光蛋白温度计,利用两种不同荧光蛋白的温度敏感性差异,该测温方法能够以50 ms的时间分辨率快速跟踪温度变化,并提供了-2.6%/℃的高温度灵敏度。利用该方法测量细胞质与细胞核之间的温度变化,并对单个细胞中线粒体的产热过程进行量化,证实了在活细胞中进行温度测量的可行性。除了荧光蛋白,分子信标作为一种核酸分子,可以特异性地与目标遗传物质相互作用。Ke等人^[67]则报道了一种基于DNA分子信标的细胞温度计。这种分子信标通常具有发夹式结构,两端分别标记有荧光物质和淬灭剂,当细胞内温度变化时,分子信标的两个端点的距离发生变化,导致信标荧光强度发生变化。

总而言之,基于生物分子的荧光热传感器可以在细胞或活体动物中无创表达,并通过附加定位信号序列来监测这些细胞器的亚细胞热变化,从而明确定位于已知的细胞器中。然而,基于生物分子的温度计设计复杂且繁琐,需要对其进行选择性地、频繁地校准。

3 探极式细胞温度测量法

如前文讨论,探极式细胞温度测量法并不借助某种光学性质转换或传递温度信息,因此目前已有的多数探极式细胞温度测量法都需要通过与待测物体的直接接触来进行热交换才能测量温度。应用于细胞温度测量的探极式细胞温度测量法种类繁多,除了通常意义的温度计,还有诸如阈值型温度计、针对某种或某

些类型细胞开发的专用温度计. 然而从严格意义上, 许多温度计或者传感器并不具备通用性以及可发展性, 因此本文对此类温度计不进行讨论.

3.1 热电偶

热电偶利用异种金属或半导体构成的测温异质结, 可以直接将温度转变为电压信号, 目前已广泛应用在生产、生活环境中. 结合热电偶的构成方式及微细加工技术, 热电偶的测温异质结可以做到远小于细胞的尺寸, 从而可以应用于细胞温度测量. 由于热电偶的测温异质结通常为点状, 多数应用于细胞温度测量的热电偶传感器都是与探针技术相结合, 测温节点可以制作在探针尖端. 最早的关于此类热电偶的报道是Williams和Wickramasinghe^[68]在STM(scanning tunneling microscope, 扫描隧道显微镜)探针上做出了尺寸约100 nm的热电偶, 并进行温度测量, 他们将此技术命名为SThM(scanning thermal microscopy, 扫描热显微技术). 除此之外, 还有将SThM技术应用于AFM(atomic force microscope, 原子力显微镜)探针的报道^[69-72]. 然而, 目前SThM技术的局限在于探针尖端与样品的热传导非常复杂, 因此多用于空气或真空环境中, 生物体系内特殊的溶液环境使其难以用于细胞温度测量^[71]. Watanabe等人^[73]最早将热电偶测温技术应用于细胞, 他们使用微加工技术及镀膜技术, 在玻璃毛细管探针的尖端制作了铂和金构成的薄膜热电偶测温节点. Shrestha等人^[74]进一步拓展了该技术, 通过在玻璃毛细管探针内灌注基于锡的合金, 在毛细管探针外部用物理气相沉积的方法制备金属镍的镀层, 制作了新型的玻璃毛细管热电偶探针. 该类玻璃毛细管热电偶探针的空间分辨率通常为4 μm, 温度分辨率为0.01°C. 然而, 基于玻璃毛细管的热电偶探针极易损坏, 甚至振动就可能导致针尖部分断裂, 并不符合高可靠性及易用性要求. 在后续研究中, Gu研究组^[4,24,75,76]改进了此类基于热电偶的细胞温度测量技术, 首次提出了一种三明治结构的同轴热电偶. 该热电偶(W-Pt微纳热电偶)的灵敏度与外极的高纯铂层厚度有关, 他们通过标定实验发现当铂层厚度=100 nm时, 热电偶的Seebeck系数与宏观状态下W-Pt热电偶性质一致; 当铂层厚度为<100 nm时, Seebeck系数会有所下降. 这种热电偶的温度分辨率可以达到0.1°C, 并且具有较好的稳定性. Gu研究组^[4,24,75,76]使用该W-Pt微纳热电偶对抗癌药物喜树碱(Camptothecin, CPT)和阿霉素(Doxorubicin, DOX)与

U251肿瘤细胞的相互作用进行研究, 发现当加入喜树碱后, U251细胞内温度升高了约0.5°C; 当加入阿霉素后, U251细胞内温度不会发生变化(图2).

除了同轴式热电偶, Rajagopal等人^[77]借助MEMS (micro-electro-mechanical system, 微机电系统)技术先在硅基底上制备一层氮化硅作为热电偶底层, 之后通过沉积法制备出平面结构的Au-Pd热电偶以及Au热电阻. 该传感器能够进行自校准, 通过Au热电阻对Au-Pd

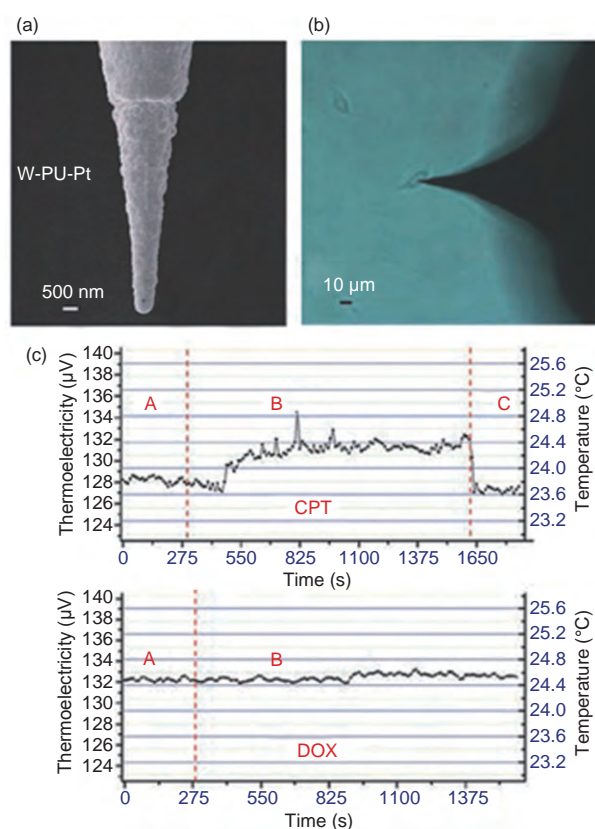


图2 (网络版彩色)使用W-Pt微纳热电偶测量U251细胞温度. (a) 使用扫描电子显微镜(SEM)拍摄的W-Pt微纳热电偶图片, 基极为高纯度钨探针, 介质层为聚氨酯绝缘层, 外极为高纯铂镀层. (b) 光学显微镜下, 借助微纳操作系统以及W-Pt微纳热电偶测量U251细胞内温度. (c) 添加喜树碱(CPT, 上图)以及阿霉素(DOX, 下图)后细胞内温度变化. A为未添加药物状态下细胞内温度; B为添加药物喜树碱或阿霉素后细胞内温度; C为W-Pt微纳热电偶移出细胞后的温度^[4]

Figure 2 (Color online) Intracellular temperature determination of U251 cells by a thermocouple method. (a) SEM image of the thermocouple: Tungsten tip (inner core), polyurethane film (interlayer), and platinum film (outer layer). (b) Optical microscopic image of a living U251 cell inserted by the thermocouple probe. (c) Intracellular temperature changes of a single U251 cell after the treatment of camptothecin (CPT, upper) and doxorubicin (DOX, lower). A: The thermocouple was inserted into the cell; B: After the addition of CPT or DOX to the culture medium; C: The thermocouple was withdrawn from the cell^[4]

热电偶进行标定即可得到热电系数。最后再通过腐蚀将部分硅层去除,即形成可置入细胞内的热电偶针尖。然而,目前该热电偶的Seebeck系数仅为 $1.18 \mu\text{V/K}$,灵敏度不高;并且目前仅有此种热电偶的制备技术,并未有在生物学应用上的报道。微纳热电偶具有尺寸小、响应快、温度分辨率高等特点,但测量时要求检测电路动态响应特性良好,且具有较强的抗干扰能力。

3.2 铂电阻

热电阻大都由金属材料制成,比较常用的金属材料包括铂、铜、镍等。热电阻是利用导体或半导体的电阻值随温度变化而改变这一特性来测量温度及与温度有关的参数。基于薄膜铂热电阻的测温传感器方法是一种重要的温度检测手段。铂薄膜热电阻是由厚度为微米或亚微米的铂膜及其依附的基板构成,总体尺寸较小,长度和宽度小于 3 mm ,同时具有制作简单、灵敏度高、稳定性好等优点,因而被广泛应用于细胞温度测量领域。神经干细胞贴壁生长过程中的温度监测对于研究其增殖和分化具有重要意义,然而现有技

术手段很难做到保持细胞活性的同时长时间监测其温度变化。Gu研究组^[1~3]以薄膜铂热电阻作为温度传感器,搭建了用于检测神经干细胞贴壁生长温度的无线实时监测系统,并将其用于监测药物刺激下神经干细胞温度变化(图3)。待测神经干细胞连同温度监测系统一同放进细胞培养箱中,确保待测神经干细胞处于最合适的生存环境。然而,由于体积的原因,热电阻不太适合测量小体积和瞬态温度。作为具有毫安级电源的有源器件,它们的自热效应可能会干扰原始温度分布。

3.3 碳纳米管

碳纳米管温度计由Gao和Bando^[78]最先提出,其通过测量金属镓在碳纳米管中的体积膨胀大小来测量温度,类似于微纳尺度的水银温度计。他们指出 $23\sim 773 \text{ K}$ 的温度范围内,碳纳米管温度计内镓的热膨胀系数呈线性变化并且具有可重复性,该变化与宏观状态下一致。Gao和Bando^[79]还利用热力学分析,从数值上解释了直径为 75 nm 的一维液态镓为什么会具有和宏观金属镓一致的膨胀系数。如图4所示,碳纳米管温度计中

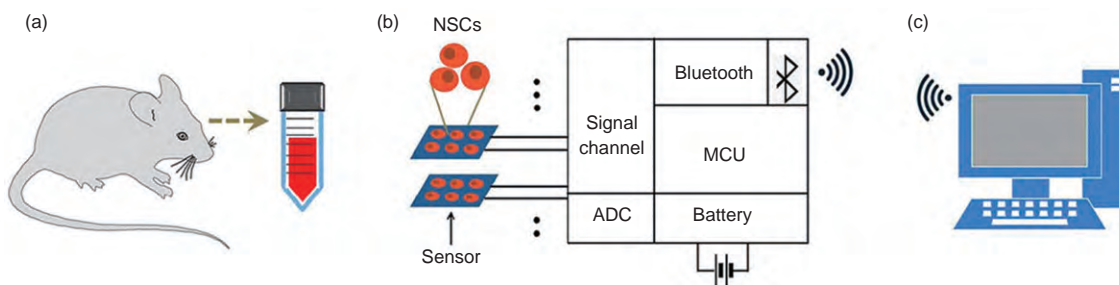


图3 (网络版彩色)薄膜铂电阻传感器和实时温度测量系统上的细胞培养示意图。(a)从小鼠中提取神经干细胞;(b)神经干细胞在铂电阻器的表面生长并被实时检测;(c)主机接口,记录温度变化^[3]

Figure 3 (Color online) Schematic diagram of the cell culture on the thin-film platinum resistance sensor and the real-time temperature measurement system. (a) Extraction of neural stem cells from mouse; (b) neural stem cells grow on the surface of platinum resistor and are detected in real-time; (c) host computer interface: Recording the history of temperature changes^[3]

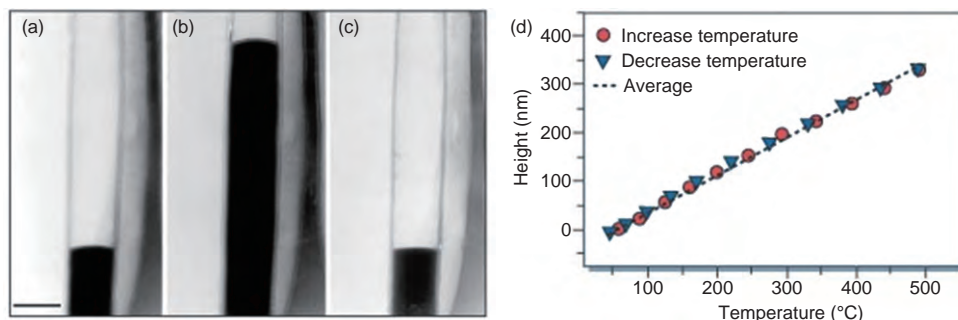


图4 (网络版彩色)碳纳米管内镓的高度随温度发生变化。(a) 58°C ; (b) 490°C ; (c) 45°C 。(d) 碳纳米管内镓弯液面高度随温度变化的关系^[78]

Figure 4 (Color online) The height of gallium in carbon nanotubes changes with temperature. (a) 58°C ; (b) 490°C ; (c) 45°C 。(d) The relationship between the height of the gallium meniscus in the carbon nanotube and the temperature^[78]

的镓在323~773 K的高度会发生近似线性的变化^[78]。类似的温度计还有使用诸如锆等低熔点金属制成^[80~82]。然而,在目前的报道中,此类温度计的相对灵敏度都不高,且其中一些温度测量范围并不适合在细胞温度测量中使用,所以并未有在细胞测温领域的报道。尽管如此,此类方法具有非常好的稳定性和可重复性,未来将其应用于细胞温度测量的研究中,仍具有很好的前景。

4 应用前景

4.1 药物筛选

在复杂、分隔的细胞环境中,细胞为了维持浓度梯度和本身的动态平衡,内部时刻都会发生许多生化反应,释放自由能以驱动各种细胞活动。细胞活动所带来的能量变化,将会导致细胞内的温度发生变化,不仅会加速动力学速率并改变化学平衡,还会改变DNA和蛋白质的物理状态。在细胞活动过程中,很多能够反映细胞活动特征的信息传递给外界,其中温度变化的信息已经在细胞测温领域引起了很多科研人员的兴趣^[56]。在最近的10年里,科研人员研发了各种各样的微纳尺度测温传感器,希望能够借此来精确测量细胞内的温度或温度分布^[83]。在悬浮的细胞溶液中,细胞经过离子霉素处理后,引起Ca²⁺的内流,从而导致细胞内内质网的生热作用^[84]。研究表明,羰基氰化物4-(三氟甲氧基)苯肼(FCCP)和羰基氰化物3-氯苯肼(CCCP)通过将质子转运穿过线粒体内膜,抑制线粒体内ATP合成和氧化磷酸化的偶联,从而诱导热的释放^[32,65,85]。细胞核和细胞质之间的温度差异在COS7和Hela细胞中被观察到,这可能是由于细胞核的剧烈活动(如DNA复制、转录和RNA处理)或核膜的结构分离,也可能是在G2期细胞的代谢活性增加,因为细胞必须在细胞分裂前制备细胞质量,例如脂质和蛋白质^[57,58]。

细胞在受到外界刺激时(光热刺激^[9,28]、药物刺激^[36,37,65]、离子浓度变化^[8,9]等)会产生温度变化。细胞温度与药物作用效果之间的关系有望为药物筛选提供一种新的评估方式。Gu研究组^[4]通过微纳热电偶进行细胞测温的研究表明,抗癌药物喜树碱(CPT)处理单个人脑胶质瘤细胞(U251)后能够引起癌细胞体内的温度变化,可能是由于细胞凋亡的早期反应,如DNA断裂所致。喜树碱(CPT)是DNA拓扑异构酶I抑制剂,对在细胞周期S期阶段的细胞具有更明显的影响,这可能解释了一些癌症复发的原因:由于癌细胞没有进行细胞分

裂而处于休眠状态,使得抗癌药物无法有效地杀死所有的癌细胞。Zohar等人^[9]利用热成像技术发现,乙酰胆碱在中国仓鼠卵巢细胞内激活代谢型m1-毒蕈碱受体后,引起了被阿托品阻断的双相热波。阿托品单独应用在细胞中产生单相热波,表明它与受体的相互作用激活细胞内一些代谢途径。化学药物通过抑制或激活细胞内一些代谢途径引起了细胞内的温度变化。近年来,在这些微纳尺度下测温传感器的帮助下,许多研究致力于揭示线粒体、内质网、中心体等细胞器内和细胞核内的热发生机制^[83,86]。我们认为,通过温度信息来对药物进行筛选有较大发展潜力,例如通过测量细胞内细胞器的温度来对药物靶点进行精准定位。单细胞水平的药物筛选和药物分析可以大幅度地提高药物研发效率,从而加速新型药物研发进程。

4.2 疾病诊疗

癌症是人类一直想要攻克疾病,已有的癌症治疗手段多集中于癌症中期,甚至晚期。早期癌症检测和治疗几乎是未开发的领域。热疗是癌症治疗的一个有效手段,通过将癌细胞区域的局部温度加热到40°C以上来杀死癌细胞,但温度超过42°C也会杀死周围健康组织的细胞。因此,监测癌细胞区域的温度是热疗治疗癌症的一个关键步骤。随着细胞内测温技术的不断发展,基于发光纳米粒子(NPs,几纳米尺寸)的测温传感器提供了高灵敏度和高分辨率单个癌细胞成像。通过仔细选择金纳米粒子尺寸和激光功率,Bendix等人^[87]可以精确地控制金纳米粒子周围的升温过程,并测量了脂质双层膜上的单个金纳米颗粒周围的温度。Li等人^[88]利用纳米量子点(QDs)定量测量了局部纳米加热器在溶液中引起的动态微尺度热梯度,揭示了动态热平衡过程。纳米温度计(CdSe-QD)是一种多功能、高效和精确的纳米温度计,用于实时监测光学捕获的微小物体和单个活细胞周围的局部环境温度。此外,Maestro等人^[89]一直致力于热疗温度监测方面的研究,使用量子点(CdSe)实时监测血浆介导的HeLa癌细胞高温期间的细胞内温度。他们用含有纳米温度计(CdSe-QD)和金属纳米加热器(GNR)的溶液孵育HeLa癌细胞,然后用紧密聚焦的808 nm激光束照射在该细胞内的金纳米棒(GNR),引起了GNR的纵向表面等离子体共振,从而引起相关的细胞内加热。实时温度读数是通过QDs的光谱分析实现的。红外激发GNR引起的细胞内温度增量的精确测量将指导热疗治疗,从而可以动态调整照射

参数. Kucsko等人^[42]将局部光致热源纳米金颗粒与敏感的纳米尺度温度计金刚石纳米晶体一同注入到人胚胎成纤维细胞WS1细胞内,体现了亚细胞水平的温度梯度控制和温度分布,从而在生命科学中实现了独特的潜在应用.例如,将热消融疗法与这种温度传感器相结合,可以在不损伤周围组织的情况下选择性识别和杀死恶性细胞.因此,细胞内温度的实时监测提供了提高热疗治疗效率的可能性,避免了对周围健康细胞和组织不可逆的热损伤,对患者的实际临床治疗至关重要.

5 结论与展望

本文强调了温度在细胞生理活动中的重要性,并指出了在单细胞水平上进行温度分析测量的意义.在生物学中,温度和温度梯度决定了细胞的行为,因为温度变化要么是细胞活动的结果,要么是对外部刺激的

反应.因此,以高空间(约nm)和时间(约 μs)分辨率监测温度的能力成为了解特定生化过程和理想地设计目标特定的诊断和治疗策略(包括热疗和免疫疗法)的重要工具.最近的10年里,科研人员研发了各种微纳尺度测温传感器,实验结果表明,细胞内微米级甚至亚微米级的温度梯度是真实存在的.但由于单个细胞的诸多限制,这些细胞测温传感器也在不断发展完善.本文也详尽描述了荧光式细胞温度测量法和探极式细胞温度测量法的具体研究.细胞温度计的实现需要生物学、微电子学、材料学、热力学以及纳米技术等多学科的结合.多领域不同技术的交叉结合将是未来细胞测温发展的主要趋势.细胞测温技术需要充分发掘其潜在的价值,将细胞内温度信号转化成有效的生物信息,应用到药物筛选、疾病诊疗和生物热力学分析等方面.在不久的将来,细胞测温技术将会为研究细胞内热力学原理作出重大贡献.

参考文献

- 1 Li C, Yan S, He W, et al. Real-time temperature measurements of hmc-1 cells during inflammation production and repair detected by wireless thermometry. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2018, 66: 1898–1904
- 2 Li C, Sun J, Wang Q, et al. Wireless thermometry for real-time temperature recording on thousand-cell level. *IEEE Trans Biomed Eng*, 2019, 66: 23–29
- 3 Ding J, Li J, Yang F, et al. A multi-channel system for temperature sensing of neural stem cells in adherent culture. *Anal Chem*, 2020, 92: 3270–3275
- 4 Wang C, Xu R, Tian W, et al. Determining intracellular temperature at single-cell level by a novel thermocouple method. *Cell Res*, 2011, 21: 1517–1519
- 5 Arai S, Suzuki M, Park S J, et al. Mitochondria-targeted fluorescent thermometer monitors intracellular temperature gradient. *Chem Commun*, 2015, 51: 8044–8047
- 6 Kamei Y, Suzuki M, Watanabe K, et al. Infrared laser-mediated gene induction in targeted single cells *in vivo*. *Nat Methods*, 2009, 6: 79–81
- 7 Vogl T J, Eichler K, Straub R, et al. Laser-induced thermotherapy of malignant liver tumors: General principals, equipment(s), procedure(s)—Side effects, complications and results. *Eur J Ultrasound*, 2001, 13: 117–127
- 8 Paulik M A, Buckholz R G, Lancaster M E, et al. Development of infrared imaging to measure thermogenesis in cell culture: Thermogenic effects of uncoupling protein-2, troglitazone, and β -adrenoceptor agonists. *Pharm Res*, 1998, 15: 944–949
- 9 Zohar O, Ikeda M, Shinagawa H, et al. Thermal imaging of receptor-activated heat production in single cells. *Biophys J*, 1998, 74: 82–89
- 10 Sakaguchi R, Kiyonaka S, Mori Y. Fluorescent sensors reveal subcellular thermal changes. *Curr Opin Biotechnol*, 2015, 31: 57–64
- 11 Stark A M, Way S. The use of thermovision in the detection of early breast cancer. *Cancer*, 1974, 33: 1664–1670
- 12 Weaver J B. Hot nanoparticles light up cancer. *Nat Nanotechnol*, 2010, 5: 630–631
- 13 Lindquist S. The heat-shock response. *Annu Rev Biochem*, 1986, 55: 1151–1191
- 14 Velichko A K, Markova E N, Petrova N V, et al. Mechanisms of heat shock response in mammals. *Cell Mol Life Sci*, 2013, 70: 4229–4241
- 15 Wust P, Hildebrandt B, Sreenivasa G, et al. Hyperthermia in combined treatment of cancer. *Lancet Oncol*, 2002, 3: 487–497
- 16 Hildebrandt B. The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2002, 43: 33–56
- 17 Moreau D, Lefort C, Burke R, et al. Rhodamine B as an optical thermometer in cells focally exposed to infrared laser light or nanosecond pulsed electric fields. *Biomed Opt Express*, 2015, 6: 4105–4117
- 18 Childs P R N, Greenwood J R, Long C A. Review of temperature measurement. *Rev Sci Instrum*, 2000, 71: 2959–2978
- 19 Feng Y, Luo Z, Qu S, et al. Study on the thermosensitivity of a tumor cell by microcalorimetry. *Thermochim Acta*, 1997, 303: 203–207
- 20 Brites C D S, Lima P P, Silva N J O, et al. Thermometry at the nanoscale. *Nanoscale*, 2012, 4: 4799–4829
- 21 Jaque D, Rosal B D, Rodríguez E M, et al. Fluorescent nanothermometers for intracellular thermal sensing. *Nanomedicine*, 2014, 9: 1047–1062

- 22 Piñol R, Brites C D S, Silva N J, et al. Nanoscale thermometry for hyperthermia applications. In: Raluca F, Jesús M D L F, eds. *Nanomaterials for Magnetic and Optical Hyperthermia Applications*. Amsterdam: Elsevier, 2019. 139–172
- 23 Jaque D, Vetrone F. Luminescence nanothermometry. *Nanoscale*, 2012, 4: 4301–4326
- 24 Bai T, Gu N. Micro/Nanoscale thermometry for cellular thermal sensing. *Small*, 2016, 12: 4590–4610
- 25 Lee J, Kotov N A. Thermometer design at the nanoscale. *Nano Today*, 2007, 2: 48–51
- 26 McCabe K M, Hernandez M. Molecular thermometry. *Pediatr Res*, 2010, 67: 469–475
- 27 Zhou H, Sharma M, Berezin O, et al. Nanothermometry: From microscopy to thermal treatments. *ChemPhysChem*, 2016, 17: 27–36
- 28 Ross D, Gaitan M, Locascio L E. Temperature measurement in microfluidic systems using a temperature-dependent fluorescent dye. *Anal Chem*, 2001, 73: 4117–4123
- 29 Huang H, Delikanli S, Zeng H, et al. Remote control of ion channels and neurons through magnetic-field heating of nanoparticles. *Nat Nanotechnol*, 2010, 5: 602–606
- 30 Suzuki M, Tseeb V, Oyama K, et al. Microscopic detection of thermogenesis in a single HeLa cell. *Biophys J*, 2007, 92: L46–L48
- 31 Uchida K, Sun W, Yamazaki J, et al. Role of thermo-sensitive transient receptor potential channels in brown adipose tissue. *Biol Pharm Bull*, 2018, 41: 1135–1144
- 32 Homma M, Takei Y, Murata A, et al. A ratiometric fluorescent molecular probe for visualization of mitochondrial temperature in living cells. *Chem Commun*, 2015, 51: 6194–6197
- 33 Yang J M, Yang H, Lin L. Quantum dot nano thermometers reveal heterogeneous local thermogenesis in living cells. *ACS Nano*, 2011, 5: 5067–5071
- 34 Li S, Zhang K, Yang J M, et al. Single quantum dots as local temperature markers. *Nano Lett*, 2007, 7: 3102–3105
- 35 Maestro L M, Rodríguez E M, Rodríguez F S, et al. CdSe quantum dots for two-photon fluorescence thermal imaging. *Nano Lett*, 2010, 10: 5109–5115
- 36 Vetrone F, Naccache R, Zamarrón A, et al. Temperature sensing using fluorescent nanothermometers. *ACS Nano*, 2010, 4: 3254–3258
- 37 Rodríguez-Sevilla P, Zhang Y, Haro-González P, et al. Thermal scanning at the cellular level by an optically trapped upconverting fluorescent particle. *Adv Mater*, 2016, 28: 2421–2426
- 38 Savchuk O, Carvajal Marti J J, Cascales C, et al. Bifunctional $\text{Tm}^{3+}, \text{Yb}^{3+}:\text{GdVO}_4@\text{SiO}_2$ core-shell nanoparticles in HeLa cells: Upconversion luminescence nanothermometry in the first biological window and biolabelling in the visible. *Nanomaterials*, 2020, 10: 993
- 39 Shang L, Stockmar F, Azadfar N, et al. Intracellular thermometry by using fluorescent gold nanoclusters. *Angew Chem Int Ed*, 2013, 52: 11154–11157
- 40 Wang C, Ling L, Yao Y, et al. One-step synthesis of fluorescent smart thermo-responsive copper clusters: A potential nanothermometer in living cells. *Nano Res*, 2015, 8: 1975–1986
- 41 Huang H, Li H, Wang A J, et al. Green synthesis of peptide-templated fluorescent copper nanoclusters for temperature sensing and cellular imaging. *Analyst*, 2014, 139: 6536–6541
- 42 Kucsko G, Maurer P C, Yao N Y, et al. Nanometre-scale thermometry in a living cell. *Nature*, 2013, 500: 54–58
- 43 Neumann P, Jakobi I, Dolde F, et al. High-precision nanoscale temperature sensing using single defects in diamond. *Nano Lett*, 2013, 13: 2738–2742
- 44 Zurbuchen M A, Lake M P, Kohan S A, et al. Nanodiamond landmarks for subcellular multimodal optical and electron imaging. *Sci Rep*, 2013, 3: 2668
- 45 Manson N B, Harrison J P, Sellars M J. Nitrogen-vacancy center in diamond: Model of the electronic structure and associated dynamics. *Phys Rev B*, 2006, 74: 104303
- 46 Bradac C, Gao W, Forneris J, et al. Quantum nanophotonics with group IV defects in diamond. *Nat Commun*, 2019, 10: 5625
- 47 Kong F, Zhao P, Yu P, et al. Kiloherz electron paramagnetic resonance spectroscopy of single nitrogen centers at zero magnetic field. *Sci Adv*, 2020, 6: eaaz8244
- 48 Yang Z, Kong X, Li Z, et al. Structural analysis of nuclear spin clusters via 2D nanoscale nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Adv Quantum Technol*, 2020, 3: 1900136
- 49 Li R, Kong F, Zhao P, et al. Nanoscale electrometry based on a magnetic-field-resistant spin sensor. *Phys Rev Lett*, 2020, 124: 247701
- 50 van Sark W G J H M, Frederix P L T M, Bol A A, et al. Blueing, bleaching, and blinking of single CdSe/ZnS quantum dots. *ChemPhysChem*, 2002, 3: 871–879
- 51 Isnaeni Kim K H, Nguyen D L, Lim H, et al. Shell layer dependence of photoblinking in CdSe/ZnSe/ZnS quantum dots. *Appl Phys Lett*, 2011, 98: 012109
- 52 Nakamura M, Ozaki S, Abe M, et al. One-pot synthesis and characterization of dual fluorescent thiol-organosilica nanoparticles as non-photoblinking quantum dots and their applications for biological imaging. *J Mater Chem*, 2011, 21: 4689–4695

- 53 Pelton R. Temperature-sensitive aqueous microgels. *Adv Colloid Interface Sci*, 2000, 85: 1–33
- 54 Gota C, Okabe K, Funatsu T, et al. Hydrophilic fluorescent nanogel thermometer for intracellular thermometry. *J Am Chem Soc*, 2009, 131: 2766–2767
- 55 Oyama K, Takabayashi M, Takei Y, et al. Walking nanothermometers: Spatiotemporal temperature measurement of transported acidic organelles in single living cells. *Lab Chip*, 2012, 12: 1591–1593
- 56 Qiao J, Qi L, Shen Y, et al. Thermal responsive fluorescent block copolymer for intracellular temperature sensing. *J Mater Chem*, 2012, 22: 11543–11549
- 57 Okabe K, Inada N, Gota C, et al. Intracellular temperature mapping with a fluorescent polymeric thermometer and fluorescence lifetime imaging microscopy. *Nat Commun*, 2012, 3: 705
- 58 Hayashi T, Fukuda N, Uchiyama S, et al. A cell-permeable fluorescent polymeric thermometer for intracellular temperature mapping in mammalian cell lines. *PLoS One*, 2015, 10: e0117677
- 59 Gota C, Uchiyama S, Ohwada T. Accurate fluorescent polymeric thermometers containing an ionic component. *Analyst*, 2007, 132: 121–126
- 60 Klinkert B, Narberhaus F. Microbial thermosensors. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66: 2661–2676
- 61 Albanesi D, Martín M, Trajtenberg F, et al. Structural plasticity and catalysis regulation of a thermosensor histidine kinase. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 16185–16190
- 62 Chapman C F, Liu Y, Sonek G J, et al. The use of exogenous fluorescent probes for temperature measurements in single living cells. *Photochem Photobiol*, 1995, 62: 416–425
- 63 Donner J S, Thompson S A, Kreuzer M P, et al. Mapping intracellular temperature using green fluorescent protein. *Nano Lett*, 2012, 12: 2107–2111
- 64 Donner J S, Thompson S A, Alonso-Ortega C, et al. Imaging of plasmonic heating in a living organism. *ACS Nano*, 2013, 7: 8666–8672
- 65 Kiyonaka S, Kajimoto T, Sakaguchi R, et al. Genetically encoded fluorescent thermosensors visualize subcellular thermoregulation in living cells. *Nat Methods*, 2013, 10: 1232–1238
- 66 Nakano M, Arai Y, Kotera I, et al. Genetically encoded ratiometric fluorescent thermometer with wide range and rapid response. *PLoS One*, 2017, 12: e0172344
- 67 Ke G, Wang C, Ge Y, et al. L-DNA molecular beacon: A safe, stable, and accurate intracellular nano-thermometer for temperature sensing in living cells. *J Am Chem Soc*, 2012, 134: 18908–18911
- 68 Williams C C, Wickramasinghe H K. Scanning thermal profiler. *Appl Phys Lett*, 1986, 49: 1587–1589
- 69 Aigouy L, Saïdi E, Lalouat L, et al. AC thermal imaging of a microwire with a fluorescent nanocrystal: Influence of the near field on the thermal contrast. *J Appl Phys*, 2009, 106: 074301
- 70 Aigouy L, Lalouat L, Mortier M, et al. Note: A scanning thermal probe microscope that operates in liquids. *Rev Sci Instrum*, 2011, 82: 036106
- 71 Dai Z, King W P, Park K. A 100 nanometer scale resistive heater-thermometer on a silicon cantilever. *Nanotechnology*, 2009, 20: 095301
- 72 Kim S, Kim K C, Kihm K D. Near-field thermometry sensor based on the thermal resonance of a microcantilever in aqueous medium. *Sensors*, 2007, 7: 3156–3165
- 73 Watanabe M, Kakuta N, Mabuchi K, et al. Micro-thermocouple probe for measurement of cellular thermal responses. In: 2005 IEEE Engineering in Medicine and Biology 27th Annual Conference, 2005. 4858–4861
- 74 Shrestha R, Choi T, Chang W, et al. Micropipette-based thermal sensor for biological applications. In: 2010 IEEE Sensors Conference, 2010. 442–445
- 75 Rajagopal M C, Valavala K V, Gelda D, et al. Fabrication and characterization of thermocouple probe for use in intracellular thermometry. *Sens Actuat A-Phys*, 2018, 272: 253–258
- 76 Yang S, He W, Li C, et al. A new approach of electrochemical etching fabrication based on drop-off-delay control. *Rev Sci Instrum*, 2019, 90: 074902
- 77 Tian W, Wang C, Wang J, et al. A high precision apparatus for intracellular thermal response at single-cell level. *Nanotechnology*, 2015, 26: 355501
- 78 Gao Y, Bando Y. Carbon nanothermometer containing gallium. *Nature*, 2002, 415: 599
- 79 Gao Y, Bando Y. Nanothermodynamic analysis of surface effect on expansion characteristics of Ga in carbon nanotubes. *Appl Phys Lett*, 2002, 81: 3966–3968
- 80 Wu Y, Yang P. Germanium/carbon core-sheath nanostructures. *Appl Phys Lett*, 2000, 77: 43–45
- 81 Li Y, Bando Y, Golberg D. Indium-assisted growth of aligned ultra-long silica nanotubes. *Adv Mater*, 2004, 16: 37–40
- 82 Dorozhkin P S, Tovstonog S V, Golberg D, et al. A liquid-Ga-filled carbon nanotube: A miniaturized temperature sensor and electrical switch. *Small*, 2005, 1: 1088–1093
- 83 Okabe K, Sakaguchi R, Shi B, et al. Intracellular thermometry with fluorescent sensors for thermal biology. *Pflugers Arch*, 2018, 470: 717–731
- 84 Arai S, Lee S C, Zhai D, et al. A molecular fluorescent probe for targeted visualization of temperature at the endoplasmic reticulum. *Sci Rep*, 2014,

4: 6701

- 85 Sugimura T, Kajimoto S, Nakabayashi T. Label-free imaging of intracellular temperature by using the O–H stretching Raman band of water. *Angew Chem Int Ed*, 2020, 59: 7755–7760
- 86 Yu S, Li C, Ding Y, et al. Exploring the ‘cold/hot’ properties of traditional Chinese medicine by cell temperature measurement. *Pharm Biol*, 2020, 58: 208–218
- 87 Bendix P M, Reihani S N S, Oddershede L B. Direct measurements of heating by electromagnetically trapped gold nanoparticles on supported lipid bilayers. *ACS Nano*, 2010, 4: 2256–2262
- 88 Li C, Gan X, Li X, et al. Dynamic microscale temperature gradient in a gold nanorod solution measured by diffraction-limited nanothermometry. *Appl Phys Lett*, 2015, 107: 121105
- 89 Maestro L M, Haro-González P, Iglesias-de la Cruz M C, et al. Fluorescent nanothermometers provide controlled plasmonic-mediated intracellular hyperthermia. *Nanomedicine*, 2013, 8: 379–388
-

补充材料

表S1 活细胞和生物组织热传感和成像的不同温度计

本文以上补充材料见网络版csb.scichina.com. 补充材料为作者提供的原始数据, 作者对其学术质量和内容负责.

Summary for “基于微纳材料与器件测量细胞温度”

Cell temperature measurement based on micro/nano materials and devices

Wei Mao¹, Weinan He¹, Sheng Yang¹, Yuexia Han¹, Yan Li¹ & Ning Gu^{1,2*}

¹ Jiangsu Key Laboratory for Biomaterials and Devices, State Key Laboratory of Bioelectronics, School of Biological Science & Medical Engineering, Southeast University, Nanjing 210096, China;

² School of Biomedical Engineering and Informatics, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

* Corresponding author, E-mail: guning@seu.edu.cn

In a complex, compartmentalized cellular environment, in order to maintain the concentration gradient and the dynamic balance of the cell itself, many biochemical reactions will take place inside the cell all the time, releasing free energy to drive various cellular activities. During cellular activity, a lot of information reflecting the detailed characteristics of cell activity is transmitted to the outside world, among which temperature information has sparked the increasing interest of many researchers in the field of cell temperature measurement. In the last decade, a number of researchers have developed a variety of micro-nanometer temperature sensors that would pave the pathway for accurate measurement of temperature or temperature distribution within cells and further unravel the mechanism of heat generation in mitochondria, endoplasmic reticulum, centrosome and other organelles or in the nucleus. Cell temperature sensors of micro-nano scale can be generally divided into cell temperature measurement by luminescence method and by pole probing method. Cell temperature measurement by luminescence method mainly includes organic compounds, quantum dots, polymers and biomolecules used as thermometers. Cell temperature measurement by pole probe method mainly includes thermocouple, platinum resistance and carbon nanotubes. This paper reviews the development of cell temperature measurement sensors at the micro- and nano-scale in recent years, and then focuses on the real-time cell temperature measurement technology of micro- and nano-thermocouple, and finally introduces the application of such sensors in the fields of drug screening, disease diagnosis and treatment, and foresees the prospect of the subsequent development of cell temperature measurement technology.

This review lays emphasis on the importance of temperature in the physiological activities of cells and outlines the significance of temperature analysis and measurement at the single cell level. In biology, it is well known that temperature changes are susceptible to either cellular activity or responses to external stimuli, thus enabling the temperature and temperature gradient to determine the behavior of cells. Therefore, the kind of capability to monitor temperature with high spatial resolution (nm) and temporal resolution (μ s) has become an essential tool for understanding specific biochemical processes and ideally designing target-specific diagnostic and therapeutic strategies such as hyperthermia and immunotherapy.

To date, substances such as organic compounds, quantum dots, polymers and biomolecules that are particularly apt for making temperature measurement tools have made great progress, yet it is worth noting that problems still persist. For example, there is a dearth of consideration of the photo bleaching impact when it comes to the temperature measurement tools that are dependent on the fluorescence intensity; the quantum dot temperature measurement method itself also has enduring problems such as uneven luminescence and cytotoxicity; the process of introducing nano-diamonds into cells needs to take into account factors such as interference and complicated operational processes; biomolecules, issues surrounding its accuracy, must be addressed. The temperature measurement method, represented by the pole probe, is often limited by its preparation. The development of cell thermometers is dependent on cross-disciplinary efforts such as biology, microelectronics, materials science, thermodynamics, and nanotechnology. The concerted effort stands at the core of its future development of cell temperature measurement. Cell temperature measurement technology needs to fully explore its potential value, transforming the intracellular temperature signal into effective biological information, and applying it to drug screening, disease diagnosis and treatment, and bio-thermodynamic analysis. In the near future, cell temperature measurement technology will make tremendous contribution to the study of the principles of intracellular thermodynamics.

cell temperature measurement, cell temperature measurement by luminescence method, cell temperature measurement by pole probe method, drug screening, disease diagnosis and treatment

doi: 10.1360/TB-2020-1001