

## 細胞内局所環境を複数の因子について同時計測する手法の開発

(京大エネ研<sup>1</sup>・京大化研<sup>2</sup>) ○芝野 佑哉<sup>1</sup>・Zhang Zhengxiao<sup>1</sup>・中田 栄司<sup>1</sup>・  
廣瀬 久昭<sup>2</sup>・二木 史朗<sup>2</sup>・森井 孝<sup>1</sup>

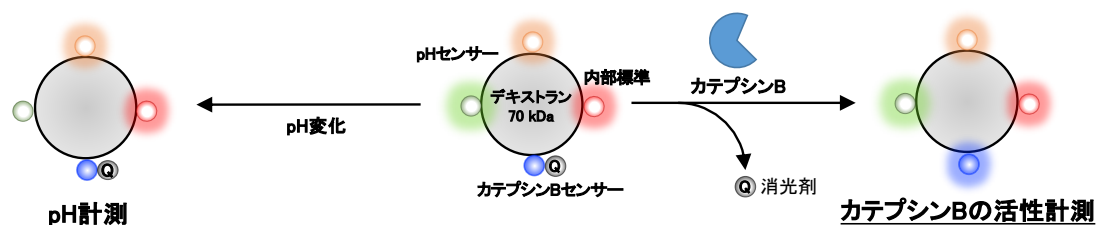
Development of a method for simultaneous measurement of multiple factors in the intracellular local environment (<sup>1</sup>*Institute of advanced energy, Kyoto University*, <sup>2</sup>*Institute for Chemical Research, Kyoto University*) ○Yuya Shibano,<sup>1</sup> Zhang Zhengxiao,<sup>1</sup> Eiji Nakata,<sup>1</sup> Hisaaki Hirose,<sup>2</sup> Shiro Futaki,<sup>2</sup> Takashi Morii<sup>1</sup>

Cells take up extracellular fluids and solids actively into the cell. One of such uptake pathways, macropinocytosis enables the uptake of large substances, but the details of this process have not yet been elucidated. Realtime measurements of environmental changes around substances during this uptake process provide necessary information to elucidate the process. In this study, the macropinocytosis marker dextran 70 kDa was used as a scaffold to construct a multi-tasking sensor for macropinocytosis-mediated uptake. By labeling dextran 70 kDa with multiple fluorophores and a FRET-type cathepsin B sensor, a multi-tasking sensor that simultaneously measures pH changes and enzyme activity during the macropinocytosis process was constructed. Synthesis, characterization, and cellular uptake of the multi-tasking macropinocytosis sensor will be discussed.

**Keywords :** biosensor; pH sensor; enzyme sensor; nanostructure; macropinocytosis

細胞は細胞外の液体や固体を細胞内に能動的に取り込む。この取り込み経路の一つであるマクロピノサイトーシスは大きな物質の取り込みを可能とするが、その詳細は未だに解明されていない。この過程において、細胞に取り込まれる物質周辺の環境変化を複数の因子について計測することがその解明の一助となる。

本研究では、マクロピノサイトーシスを介した取り込みが検証されているデキストラン 70 kDa<sup>1)</sup>を用いて、多元同時センサーを構築した。デキストラン 70 kDa に複数種類の蛍光色素と FRET 型カテプシン B センサーを修飾することで、マクロピノサイトーシスによって取り込まれる物質周辺の pH 変化と酵素活性を同時に計測するセンサーを開発した。多元同時センサーの合成、機能検証と細胞への取り込みについて報告する。



1) Lei Li, Tao Wan, Min Wan, Bei Liu, Ran Cheng, Rongying Zhang, *Cell Biol. Int.*, **2015**, 39, 531.