

細胞内代謝を可視化するバイオセンサーの開発

(東大院理¹, JST さきがけ²) ○那須 雄介^{1,2}・上條由貴¹・Robert E. Campbell¹

Genetically encoded biosensors for cellular metabolism

(¹*School of Science, The University of Tokyo*, ²*PRESTO, Japan Science and Technology Agency*) ○Yusuke Nasu,^{1,2} Yuki Kamijo,¹ Robert E. Campbell¹

Fluorescent proteins (FPs) have been proven to be versatile scaffolds for development of biosensors¹. Specifically, GCaMP, a calcium ion (Ca^{2+}) biosensor, has been widely employed to monitor neural activities in live model animals. In addition to GCaMP, various FP-based biosensors for non- Ca^{2+} target have been developed. However, few sensors have sensitivity as high as GCaMP, hampering their wide application *in vivo*.

Herein, we present that directed protein evolution and extensive biosensor expression optimization can enable the engineering of FP-based biosensors for a versatile metabolite L-lactate with high sensitivity, specificity, and spatiotemporal resolution in living cultured cells and *in vivo*. L-Lactate, traditionally considered a metabolic waste product, is increasingly recognized as an important intra- and intercellular energy fuel and signaling molecule. This study provides a powerful new optical toolbox, LACCO series, for investigating the emerging roles of extracellular and intracellular L-lactate in live model animals²⁾⁻⁵⁾.

Keywords : *L-Lactate, Fluorescent protein, Genetically encoded biosensor*

蛍光タンパク質は、標的分子依存的な蛍光バイオセンサーの足場としてよく用いられている¹⁾。特にカルシウムイオン (Ca^{2+}) センサーである GCaMP は、生きたモデル動物 (*in vivo*) の神経活動をモニターするために広く使用されている。GCaMP 以外にも様々な標的のバイオセンサーが開発されているが、GCaMP ほど高い感度を持つセンサーはほとんどなく、バイオセンサーの *in vivo* での広範な利用は容易ではなかった。そこで本研究では、directed evolution をはじめとするタンパク質工学手法により、高感度、高特異性、および *in vivo* での高時空間分解能を有する乳酸バイオセンサーの開発を目的とした。これまで代謝副産物と考えられてきた乳酸は、細胞内外のエネルギー分子およびシグナル分子として近年注目されている。本研究は、生きたモデル動物における細胞内外の乳酸の新たな役割を解明するための強力なツール (LACCO シリーズ) を提供する²⁾⁻⁵⁾。

- 1) **Nasu, Y.**, Shen, Y., Kramer, L. & Campbell, R. E. “Structure- and mechanism-guided design of single fluorescent protein-based biosensors.” *Nat. Chem. Biol.* **17**, 509–518 (2021).
- 2) **Nasu Y.**, et al. “A genetically encoded fluorescent biosensor for extracellular L-lactate”, *Nature Communications*, **12**, 7058 (2021).
- 3) Le and Hario et al. “High performance genetically-encoded green fluorescent biosensors for intracellular L-lactate” *bioRxiv* 2022.10.19.512892 (2022).
- 4) **Nasu Y.**, et al. “A red fluorescent genetically encoded biosensor for extracellular L-lactate”, *bioRxiv* 2022.08.30.505811 (2022).
- 5) **Nasu Y.**, et al. “Lactate biosensors for spectrally and spatially multiplexed fluorescence imaging” *Nature Communications*, **14**, 6598 (2023).