

バイオセンサーによるドーパミンの可視化 ～記憶の分子メカニズム解明への道のり～

中本 千尋

「晩ごはんはどこで何を食べたか」といった、ささいな日常の記憶は海馬と呼ばれる脳領域に形成され、その多くは1日のうちに忘れさらることが知られている。一方で、「晩ごはんに行く途中で学生時代に好きだった人に偶然出会った」など新奇で思いがけない出来事(新奇体験)は、ささいな日常の記憶を長期にわたり保持させる。この新奇体験による記憶強化には、海馬に放出される脳内化学物質ドーパミンが重要な役割を担っていることが知られている。ドーパミンは、ドーパミン産生神経細胞により合成され、新奇体験中に海馬内に放出される。海馬内に放出されたドーパミンは、海馬の神経細胞に発現しているドーパミン受容体に結合することでシグナル伝達が行われる。よって、新奇体験中のドーパミンの放出動態の詳細を明らかにすることは、新奇体験による記憶強化のメカニズムを明らかにするうえで非常に重要である。

しかし、生きた動物の脳内のドーパミンを、選択的、かつ高い時間・空間分解能で検出する方法はこれまでのところ確立されていない。「マイクロダイアリシス法」は、特定の脳領域にドーパミンが透過できる膜でできた管を挿入し、灌流することで細胞外液を回収し、高速液体クロマトグラフィーでドーパミンを分離し検出を行う。ピコモルレベルの非常に高い感度でドーパミンを検出することができるが、時間分解能が1～30分と低いという問題点がある(図1)。

「高速走査サイクリックボルタンメトリー法」は、脳に挿入した電極によりドーパミンを電気化学的に検出する。この方法もナノモルレベルのドーパミンを検出ことができ、さらに、ミリ秒単位の高い時間分解能を持つ。しかしながら、ドーパミンと、その構造がドーパミンと類似しているノルアドレナリンとを区別することができない、すなわち選択性に問題がある。近年、このよ

うな問題を克服可能な新たなツールとして、遺伝子組換え技術を応用した「ドーパミン・バイオセンサー」が注目されている。

ドーパミン・バイオセンサーとは、ドーパミン感受性蛍光タンパク質センサーであり、その基本構造は、ヒトのドーパミン受容体の細胞内領域に蛍光タンパク質を融合させたものである(図1)。ドーパミンがドーパミンセンサーに結合すると構造変化が起こり、蛍光タンパク質の蛍光強度が変化する。この蛍光強度変化を光計測することで、脳内のドーパミンの濃度変化を検出することが可能である。現在までに、緑色蛍光タンパク質、あるいは赤色蛍光タンパク質を使用したドーパミン・バイオセンサーが報告されている^{1,2)}。これらのドーパミンセンサーを、ウイルスベクターを用いて生きた動物の脳内に発現させることによって、細胞外のドーパミンをナノモルレベルの高い感度、ミリ秒レベルの高い時間分解能、およびマイクロメートルレベルの高い空間分解能で検出できることが示されている。しかし、既報のドーパミン・バイオセンサーは、ドーパミンに対する親和性とノルアドレナリンに対する親和性の間に10～60倍程度の違いしかなく、その選択性は高くない。海馬ではドーパミンよりもノルアドレナリンの濃度が高いことが知られており、これらのドーパミン・バイオセンサーでは、海馬のドーパミンを選択的に検出することは困難である。そこでNakamotoらは、ドーパミンへの親和性の高い赤色蛍光タンパク質ドーパミン・バイオセンサーの開発を試みた。その結果、ドーパミンへの親和性がノルアドレナリンへの親和性より143倍高く、既存のバイオセンサーの中でもっとも高い選択性を持つドーパミン・バイオセンサーの開発に成功した。この赤色蛍光ドーパミン・バイオセンサーと、既報のノルアドレナリンに高い親和性を持つ緑色蛍光ノルアドレナリン・バイオセンサー³⁾を海馬の初代培養神経細胞に共発現させることにより、培養神経細胞における細胞外のドーパミンとノルアドレナリンの同時光計測に世界で初めて成功した⁴⁾。

この新規ドーパミン・バイオセンサーという新たなツールによって、生きた動物の海馬のドーパミンの放出動態を高い時間・空間分解能で光計測することが可能になり、新奇体験による記憶強化の分子メカニズムの解明につながることを期待される。

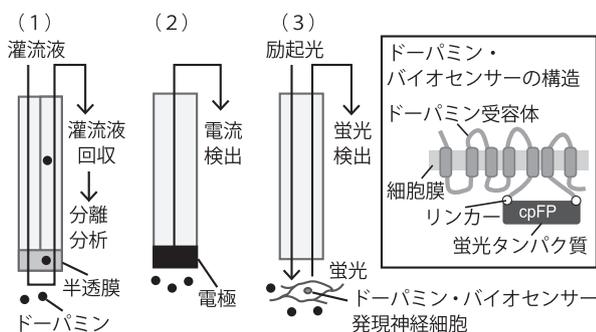


図1. 脳内ドーパミンの検出法。(1) マイクロダイアリシス法。(2) 高速走査サイクリックボルタンメトリー法。(3) ドーパミン・バイオセンサーによる蛍光検出法。ドーパミン・バイオセンサーの構造(黒枠内)。

- 1) Ravotto, L. *et al.*: *Front. Cell. Neurosci.*, **14**, 67 (2020).
- 2) Sun, F. *et al.*: *bioRxiv*, doi: 10.1101/2020.03.28.013722 (2020).
- 3) Feng, J. *et al.*: *Neuron*, **102**, 4 (2019).
- 4) Nakamoto, C. and Goto, Y. *et al.*: *bioRxiv*, doi: 10.1101/2020.05.25.115162 (2020).