1L1045

尿中フェロモンに対するオスラット副嗅球神経細胞応答の性経験に伴う変化

○本田 典子, 坂本 晴海, 稲村 耕平, 柏柳 誠 (北大・院薬・神経科学)

多くの哺乳動物では、フェロモンが性行動の引き金として働いている。たとえば、メスの発情に関する性的な状態をオスに伝達するために、尿中に含まれるフェロモンが用いられる。行動学的な実験から、性経験を有するオスラットは、非発情期の尿よりも発情期のメスの尿を好むことが示されている。一方、性経験の無いオスラットはこのような嗜好を示さない。 鋤鼻器は、性行動に関係したフェロモンを受容している。我々は、先に、メスラットの鋤鼻器感覚上皮の上部に存在する Gi を発現している感覚細胞はオスラットの尿に選択的に応答することを見いだした (Inamura et al., 1999a)。鋤鼻感覚細胞は、副嗅球の僧帽細胞に入力している。メスラットにオスラットの尿を提示すると、副嗅球の前半部に神経活動の指標である Fos 蛋白質の発現を顕著に認めた (Inamura et al., 1999b; Tsujikawa and Kashiwayanagi, 1999)。本研究では、まず、オスラットの副嗅球の前半部にはオスカメスかどちらの尿フェロモン情報が優先的に伝えられるかについて、Fos 陽性細胞の発現を指標として検討した。その結果、オスラットの副嗅球の前半部には、メスラットの尿フェロモンの情報が伝えられることが示唆された。また、性経験を有するラットと持たないラットの発情期と非発情期のメスラットの尿に対する応答性を比較検討して、性経験の尿フェロモンへの応答性に対する影響を解析した。性経験を有するメスラットの副嗅球の特定の領域では、オスの尿フェロモンに特徴的に応答した。この結果は、性経験がオスの尿フェロモンに対する応答性の昂進という形で記憶される可能性が示唆した。

N. Honda, H. Sakamoto, K. Inamura and M. Kashiwayanagi : Changes in responses to urinary pheromones of male rat accessory olfactory bulb neurons with sexual experiences

1L1115

ハエ味覚受容組織に存在する PBP 関連遺伝子群

○小金沢 雅之、嶋田 一郎 (東北大・院理・生物)

ハエ味覚受容に関わる遺伝子群を同定するために、味覚受容組織特異的遺伝子の探索を行った。まずニクバエを用いて味覚毛のあるふ節の cDNA と味覚毛の存在しない腿節と触角の cDNA から、subtraction 法により味覚受容組織特異的な cDNA 断片を得た。次にこの cDNA を陽性のプローブとし、また差し引いた方の組織の cDNA を陰性のプローブとして用い、味覚受容細胞に富んだ組織の cDNA ライブラリーに対して differential screening を行った。陽性プローブのみにシグナルの見られるクローンを単離し味覚受容組織特異的遺伝子候補とした。その過程でフェロモン結合タンパク質 (Pheromone-binding protein=PBP) と高い相同性のある遺伝子が 7 種クローニングされた。これらすべてが唇弁とふ節に強く発現し、そのうちいくつかは触角や腸などに弱い発現が見られた。さらにこれらの配列を元にショウジョウバエのゲノムデータベースを検索したところ、相同性の高い遺伝子候補が見いだされた。そのうち 4 つについて RT-PCR 法により組織特異性を調べたところ、それら全てが味覚受容細胞の存在する唇弁とふ節に発現していることが明らかとなった。今までに報告されている PBP 関連蛋白質の多くは嗅覚受容組織に特異的に発現している。しかしながら今回同定されたような味覚受容組織に多く発現する PBP 関連遺伝子が存在することは、化学感覚受容におけるこれらの蛋白質の役割が多様であることを示唆する。

M.Koganezawa and I.Shimada : Pheromone-binding protein related-genes in taste receptor tissue of fly

1L1100

ラット尿中フェロモンの性質：性経験に伴う変化とその作用

○岡岡 麻由美, 辻川 健一, 山口 尊史, 稲村 耕平, 柏柳 誠 (北大・院薬・神経科学)

体内の性的な状況変化に関する情報は、個体間でフェロモンを介してやり取りされている。受容されたフェロモン情報は、性的な成長や興奮などを引き起こす。現在のところ、ラットのフェロモンは同定されていない。フェロモンは、鋤鼻器で受容され、一次中枢である副嗅球にその情報が送られる。我々は、フェロモン情報が入力する副嗅球の神経興奮を Fos 蛋白質の発現を指標として、尿中のフェロモンを同定しようと試みている。まず、尿をプロテアーゼで処理したところ、その活性は消失したために、少なくともフェロモンの一部は蛋白質であることが示唆された。次に、フェロモンの分子量を推定するために 500 Da 以上と以下の分子を分離する膜で透析したところ、500 Da 以上および 500Da 以下の画分には活性が見られなかった。しかしながら、500 Da 以上および 500Da 以下の画分を混合して刺激すると活性が見られたことから、高分子と低分子が共存することがフェロモン活性を発現させることに必要であることが示唆された。さらに、尿中の蛋白質について SDS PAGE により調べた。性経験を持たないラットの尿を調べたところ、個体間にはパターン之差が見られなかった。この尿をメスラットに与えたところ、Fos 陽性細胞は副嗅球内であり見られなかった。一方、性経験を有するラットの尿中の蛋白質を調べたところ、未経験のラットでは見られなかった蛋白質が認められた。また、個体間でその蛋白質の発現に大きな差が見られた。性経験を有するラットの尿をメスラットに与えたところ、未経験ラットの尿と比べて数多くの Fos 陽性細胞を副嗅球に認めた。これらの結果は、分泌される尿中フェロモンが性経験により変化することを示唆した。

M. Tomioka, K. Tsujikawa, T. Yamaguchi, K. Inamura and M. Kashiwayanagi : Pheromones in rat urine: changes in sexual experiences and their effects

1L1130

蔗糖レセプターチャネルによる昆虫糖情報変換機構

○村上 緑¹、稲垣 壮² (¹名古屋大・理・物理、²名古屋大・環境医学研)

無脊椎動物味覚受容の研究のモデルとしてニクバエ味細胞を用いて精力的な研究がなされてきた。我々は初めて味細胞感覚突起へパッチクランプ法を適用し、糖情報変換機構について新たな知見を得た事を昨年度の年会までに報告した。その主な点は、1) 蔗糖溶液の局所投与により味細胞受容膜を通して非選択性陽イオン電流が流入する事、2) 蔗糖によって開くチャネルの開時間が 0.2ms と非常に短い事、3) 蔗糖によって開くチャネルとは別に果糖、アミノ酸によって開くチャネルが糖受容膜上に存在している事、である。我々が得た一連の結果は、蔗糖に対するレセプター・チャネル複合型情報変換チャネルの存在を示唆している。今回、以下の結果を報告する。

パッチ電極内液に G 蛋白質阻害剤 GDP β S を加えても、蔗糖応答電流が繰り返し損なわれる事なく生じた。実験に用いたアウトサイドアウトパッチ標本は非常に安定で最高約 40 分間、平均的な標本でも 20 分以上蔗糖に対して応答を示した。これらの事実から、蔗糖応答電流が生じるには G 蛋白質や細胞内代謝系が必要でない事が確かめられた。

さらに、蔗糖情報変換チャネルの単一チャネル電流を速度論的に解析し、得られた速度定数からマクロ電流のカイネティクスを推定し実験値と比較した。その結果、この蔗糖レセプターチャネルの活性化が味覚受容膜で蔗糖応答電流を生じている事が示された。

以上により、昆虫の甘味情報変換の分子機構として、感覚突起先端の糖受容膜に局在している蔗糖レセプターチャネルの開口が情報変換の主経路であり、細胞内情報伝達系は必要でない結論付けた。

M.Murakami and T.Inagaki : Sweet transduction mechanism based on sugar-gated ion channels in the insect taste cells.