2SD0

嗅覚・味覚情報のコーディングをはじめに

○嶋田 一郎（東北大・院理・生物）

1991年にBuckとAxelが嗅覚の分野に分子生物学的な手法を導入して受容体候補遺伝子を同定して以来、化学感覚の分子識別に関して画期的な前進が見られた。膨大な匂物質に対して約1000種の受容体遺伝子の存在が推定され、同一受容体を発現している嗅覚ニューロンが、1次中枢に限られたニューロン群に投射していることが判明した。最近の受容体遺伝子の機能的発現の成功により、匂い応答を引き起こす特異的リガンドが明らかになり、受容体から1次中枢に至る嗅覚情報のコーディングが解明される段階に達した。また、行動学的研究が主流であった脊椎動物のフェロモン受容が、分子・細胞・神経回路レベルで解明されつつある。最近、味覚においても受容体遺伝子の同定と機能的発現の段階に達し、味細胞-味神経間の1次シナプスの特異性が解明されようとしている。そこで本シンポジウムでは、1990年代に飛躍的に発展した化学感覚の知見を総括し今後の展望を語る。

Ishimada : Coding in olfactory and taste information

2SD2

フェロモン情報のコーディング

○柏柳 誠（北大・院薬・神経科学）

一般的な匂いを受容する主嗅覚器は、40万種類におよぶと推定される揮発性の匂い物質を受容する。一方、フェロモンは時として流産を引き起こすように生体に重要な生理的な変化を引き起こすことから、厳密に受容されることが推測される。我々は、フェロモンを受容する器官である鋤鼻器に存在する感覚上皮からスライスを作成することにより、個々のフェロモン受容細胞からフェロモン応答を測定することに成功した。各種フェロモンに対する応答特異性を調べたところ、Wistar系メスラットの個々のフェロモン受容細胞は異なるフェロモンに特異的に応答した(Inamura et al., 1999)。この結果は、一つの嗅細胞が非常に多種多様な匂い物質に応答する幅広い選択性(Kashiwayanagi et al., 1996)と比べて大きく異なっていた。感覚上皮に層状に存在する感覚細胞の細胞体の位置とフェロモン特異性を検討したところ、感覚上皮の上部に存在する細胞は、Wistar系オスラットの尿フェロモンに特異的に応答した。一方、感覚上に下部に存在する細胞は、Wistar系メスラットおよびDonryu系オスラットの尿フェロモンに特異的に応答した。フェロモン特異的な細胞の分布は、GiおよびGoを特異的に発現している細胞の分布と一致した。また、尿フェロモンは、ラットの感覚上皮膜標品にGTP依存的なIP3の産生を促す。各種尿フェロモンの百日毒素によるG蛋白質に対するADPリボシル化の阻害から、Wistar系オスラットの尿フェロモンはGiを、Wistar系オスラットの尿フェロモンはGoを介することが示唆された(Sasaki et al., 1999)。この結果は、電気生理学に得られた結果と一致した。これらの結果は、フェロモンの受容が非常に特異的に行われていることを示唆した。

M. Kashiwayanagi : Coding of pheromonal information

2SD1

嗅覚受容体／嗅細胞におけるニオイコーディング

○佐藤 孝明¹、廣野 順三¹、Bettina Malnic²、浜名 洋³、Linda Buck²（¹電子技術総合研究所大阪 LERC、²ハーバード大、³科学技術振興事業団）

ゲッ歯類のニオイレセプタは、約1000種類存在すると推定されており、個々のレセプタのニオイ応答性が次第に明らかになりつつある。我々は、これまで、Tissue-printing法を用いて高密度に調整した単離嗅細胞を対象に、fura-2をプローブとした光学的計測による細胞内カルシウム濃度上昇を指標にした細胞応答計測を行い、嗅細胞のニオイ分子応答特異性を調べてきた。n-脂肪酸系ニオイ物質（炭素数：4～9）を用いて、個々のマウス嗅細胞の応答感受性を構造的に類似するニオイ分子種間で比較した結果、嗅細胞は、1～3の連続する炭化水素鎖長（分子長）に最も高い感受性を示し、異なる官能基に対しては様々の相対感度を示すなど、ニオイ分子の分子構造的特徴を濃度依存的に識別出来る能力を持つことが明らかになった。さらに、ニオイ分子応答特異性を調べた嗅細胞から、single-cell RT-PCRによってニオイレセプタの遺伝子を増幅／同定し、ニオイ応答性とレセプタのアミノ酸配列の類似性を比較した結果、1) 個々の嗅細胞で発現しているニオイレセプタは1種類である、2) 一般的に、各ニオイレセプタは構造的に類似性を持つ複数のニオイ分子種に応答する、3) ニオイレセプタのTM3-TM6のアミノ酸配列の同一性が22-50%の場合でも同じニオイ分子種に応答出来る、4) 個々のニオイ分子種は複数種のニオイレセプタを活性化出来る、5) 各ニオイ分子種が活性化するニオイレセプタの組み合わせはオーバーラップを持ちながらニオイ分子種に依存して異なることなどが明らかになった。これらの結果は、嗅覚におけるニオイ情報のコーディングがニオイレセプタの組み合わせに基づいていることを直接的に裏付ける初めてのデータであり、また、ニオイ分子との結合特異性を決定する為に必要なニオイレセプタのアミノ酸配列は多くないことを示唆するものである。

T.Sato, J.Hirono, B.Malnic, H.Hamana and L.Buck : Odor coding of odorant receptor/olfactory receptor neuron

2SD3

トランスジェニック発現系を用いたマウス嗅覚受容体遺伝子の解析

○名川 文清、芹沢 尚、石井 智浩、中谷 洋子、吉原 誠一、坪井 昭夫、坂野 仁（東大・院理・生化）

嗅覚受容体遺伝子は、マウスにおいては一千種に及ぶ多重遺伝子系を形成し、複数の染色体上に数十のクラスターをなして存在する。個々の嗅神経細胞はこれら受容体遺伝子群の中から一種類のみを選び、かつmono-allelicに発現している。また嗅球への投射に関しては、発現する嗅覚受容体に対応して、約2000個ある糸球と呼ばれる投射先の中から、特定の2つを選んでその軸索を伸長する。我々は、嗅覚受容体遺伝子の選択的発現調節と、それに依存して生じる軸索投射のメカニズムを解明するため、マウス嗅覚受容体遺伝子 *MOR28* を含むクラスターを詳細に解析（*J. Neurosci.*, 19, 8409）、この領域をYACベクターに導入してトランスジェニックマウスを作成した（*Nature Neurosci.*, 3, 687）。*GFP* で differential tagging した2種類の *MOR28* 遺伝子の発現を二重染色法により解析したところ、それぞれが異なる嗅神経細胞で相互排他的に発現することが示された。この結果は、これら2つのトランスジーンが同じ遺伝子構造と制御領域を持つにも拘わらず、それぞれが単独に発現することを実験的に示した最初の例として注目される。我々はまた、内在性 *MOR28* 遺伝子を *GFP* で標識したノックインマウスを作製し、これをトランスジェニックマウスや種々の野生型マウス株と掛け合わせ、genetic backgroundやtaggingの異なる様々な *MOR28* 遺伝子の組み合わせを持ったマウスを作製した。これら遺伝子操作マウスを用いた実験結果をもとに、嗅覚受容体遺伝子の選択的発現調節と嗅神経細胞の軸索投射のメカニズムについて考察する。

F.Nagawa, S. Serizawa, T.Ishii, H.Nakatani, S.Yoshihara, A.Tsuboi and H. Sakano : Mutually exclusive expression of odorant receptor transgenes.