化学感覚器における機能的内部環境の形成 受容器周辺領域における主要分泌タンパク質の構造・局在・役割

尾崎 まみこ、前田 徹(神戸大・院理・生物)
E-mail: mamiko@port.kobe-u.ac.jp

1. はじめに

生物は、外界に対し閉じた系ではありえない。自己の周囲に充満する化学物質に曝されながら、積極的に化学物質を摂取したり排出したりを繰り返している。動物は、どの物質が有益か有害かを判別し、栄養物を取り込み、毒物であればこれを避けるように行動することで自己の存続を支えている。そのために発達してきた嗅覚と味覚を総じて「化学感覚(chemical senses)」という。バクテリアや原生動物が走化性を有することから容易に推察されるように、化学感覚は原始的な感覚であり、いいかえれば、生命の根源的な感覚といつてよい。

化学感覚器の主な働きは、外部環境に存在する化学物質の刺激を、刺激の本体が有益なものであれ有害なものであれ、直接接触してこれを受容し、その情報を神経信号に変換することである。従って、化学受容細胞においてセンサー機能を司る受容膜の周辺領域は受容器周辺領域(perireceptor region)と呼ばれ、感覚器のうちにあって、頻繁に外部の化学環境がもち込まれ、それに抗して、生体膜の保護対策が強力に施されている特殊な領域である。

この領域が適切に整えられていなければ、化学感覚が正常に働かない。化学感覚が正常に働かなければ、動物は、栄養物に対する摂食行動、毒物に対する忌避行動、性フェロモンを介する配偶行動などを円滑に行うことができなくなり、たちまち生命の維持に支障をきたすことになる。

本稿では、「化学感覚器における機能的内部環境の形成」と題して、主として昆虫の化学感覚器の受容器周辺領域に高濃度に分泌される水溶性低分子タンパク質の機能的構造や、合成と分解の場を含めた局在について解説し、これらのタンパク質が担う役割を考えるとともに、その分子機能の行動学的意義を考える。

2. 化学感覚器

脊椎動物においては、嗅覚器は鼻腔内壁の嗅上皮を、味覚器は舌上に散在する各種乳頭に集中して存在する味蕾をさす場合が多い(図1A)。嗅上皮には嗅覚受容神経が化学受容部位を外側に向けて並んでいる。この神経細胞は化学受容部位である嗅繊毛と軸索の両方を備える双極性の一次感覚細胞である。一方、味蕾内部には味細胞が格納されているが、この受容細胞は軸索を持たない二次感覚細胞である。嗅上皮は嗅粘膜に覆われ、舌表面は唾液に洗われることによって、それぞれに受容器周辺領域が保護されている。これらの領域の恒常性は、嗅覚器においては嗅上皮細胞から分泌される嗅粘膜や、味覚器においては唾液腺で合成され導管を通して分泌される唾液によって保たれているといえる。

昆虫や甲殻類の化学感覚器における受容器周辺領域の保持は、この領域を満たす受容器リンパ(receptor lymph)へ直接分泌される内分泌の仕組みに負うところが大きい。昆虫や甲殻類においては、嗅覚器は主として触角上に、味覚器は口の周辺や脚の先、羽根の辺縁部に、毛状や錐状の様々な外観を呈するクチ

図1 嗅覚器と味覚器

A: ヒトの嗅覚器(左)と味覚器(右)の模式図。

B: 昆虫の嗅覚器(左)と味覚器(右)の模式図。

昆虫の嗅覚器や味覚器には受容神経が複数個含まれる場合が多いが、ここでは簡略化して1個書き入れてある。

クラ装置として分布する(図1B)。クチクラ壁に鍍われた個々の装置の内部には、支持細胞とともに、数個から数百個の嗅覚受容神経(olfactory receptor neurons, ORNs)、ないし味覚受容神経(gustatory receptor neurons, GRNs)が格納されている。これらはいずれも受容部位と軸索を持つ双極性の一次感覚細胞である。嗅覚器と味覚器を外部形態から見分けるには、クチクラ装置に穿たれた刺激分子導入のためのクチクラ孔の様式の違いに拠るのが簡単である。一般に、嗅覚器のクチクラ壁には多数の微細な嗅孔がみられるのに対し、味覚器はクチクラ装置先端付近に単孔をもつ^{1, 2)}。受容器周辺領域は、受容神経の受容部位を取り囲む領域でクチクラ装置上部の内側に相当する。この領域は、クチクラ装置の基底腔(basal cavity)と実質的に連続しているが、血体腔からは隔離されている³⁾。クチクラ装置の内側と基底腔を満たす受容器リンパの組成は血体腔を満たすヘモリンパの組成と大きく異なっている。このことは、受容器リンパへの内分泌の特殊性を示唆している。

3. 受容器周辺機構

化学感覚器において、刺激分子が受容膜上の受容タンパク質に結合する前後に受容器周

辺領域でおこる事象を、そのメカニズムを含めて「受容器周辺機構」(perireceptor events)と称する(図2A)。考えられる能動的な事象は、刺激分子の、受容器リンパ中への溶解と運搬、受容膜上の受容タンパク質への引き渡し、その後の除去と分解などである。他に、より受動的な事象として受容膜の保護と局所環境の恒常性維持などがあげられる。

刺激分子が極性が低い親油性物質の場合には受容器周辺機構の果たす役割が特に重要となってくる。改めて嗅覚と味覚の刺激物の特徴を考えてみると、匂い刺激となる分子は常温で揮発性を有するため、一般に極性が低い。それに対して、味刺激となる分子は概して水に溶け易いが、苦味物質の中には比較的極性が低く水に溶けにくいものが多い。極性の低い物質はクチクラ孔から化学感覚器のクチクラ装置内に入ったところで、受容器周辺領域の親水的バリアに直面する。この領域は、受容膜を保護しながらも、受容膜上での刺激分子の受容を実現しなければならない。このジレンマを解決する仕組みを受容器リンパの内容に付与する必要が生じる。

4. 匂い物質結合タンパク質の発見

昆虫の毛状化学感覚器のクチュラ装置を集めて分析することができれば、受容神経の受容部位およびその周辺領域に限定して、その内容物を研究することができる。歴史的には、そのような限定された領域の生化学的研究から、鱗翅目の毛状嗅覚感覚器に多量に存在する「匂い物質結合タンパク質」(odorant-binding proteins, OBPs)が見出された^{4, 5)}。これらの匂い物質結合タンパク質は、膜性のタンパク質ではなく水溶性で、受容器リンパ中に~10mMの高濃度に存在する(図2B)。従って、これらが受容タンパク質でないことは明らかであった。このことは受容タンパク質をターゲットとして探索していた研究者を少なからず落胆させたかもしれないが、この時、報告された匂い物質結合タンパク質は、生体内内外の境界において、受容タンパク質に先ん

図2 受容器周辺領域における匂い物質結合タンパク質

A: 昆虫の嗅覚器の受容器周辺機構の模式図。

B: 金コロイド標識をしたキイロショウジョウバエの匂い物質結合タンパク質 (OS-E) に対する抗体を用いた免疫電子顕微鏡写真。嗅覚器クチクラ装置断面 (左上) と支持細胞に囲まれた基底腔 (右下) に金コロイド標識抗体の存在が認められる。

じて、外界の化学情報をもたらす匂い物質と相互作用をもつ機能分子という位置づけがなされた。その後も様々な昆虫の触角から類似のタンパク質が発見され、受容タンパク質に勝るとも劣らない大きなファミリーを形成していることが明らかになった (表1)^{6,7)}。

匂い物質結合タンパク質は、刺激分子を結合する作用スペクトルの幅から、当初、「フェロモン結合タンパク質」(pheromone-binding proteins, PBP) と「一般的な匂い物質結合タンパク質」(general odorant-binding proteins, GOBPs) に大別された。フェロモン結合タンパク質は、この類のタンパク質発見の皮切りとなったもので、主に鱗翅目の性フェロモンと相互作用をもつ分子の探索から見出されてきた。性フェロモンは同種の雌雄間の交信をとりもつ化学物質である。種間での混信を避けるように種特異的な化学物質が合成され性フェロモンとして使われるため、フェロモン結合タンパク質は種特異的で、多くの場合、その作用スペクトルは単一のフェロモン分子にチューニングされている。他方、フ

ェロモン結合タンパク質とは異なる性質をもった類似タンパク質の発見が相次ぎ、これらに対して、一般的な匂い物質結合タンパク質という呼称が与えられた^{8,9)}。こちらのサブファミリーに属するタンパク質は、フェロモン結合タンパク質に比べより広範な作用スペクトルをもつと推察されているが、結合実験をもとに実証された例は多くない。

その間、味覚器からも匂い物質結合タンパク質ファミリーに属するタンパク質が見出された。最初の記載は、クロキンバエ (*Phormia regina*) の唇弁から集められた味覚器のクチクラ装置の主要蛋白質として報告されたもので、味覚器と嗅覚器に共通して存在していた (図3)¹⁰⁾。最近、嗅覚器ではなく味覚器だけに存在するものもあることがわかってきた。後述するように、味覚器に存在するこの類のタンパク質は、苦味受容神経によって検出される味物質の受容を助けていることが明らかにされてきた^{10,11)}。しかし当初、昆虫の苦味受容神経が同定されていなかったこともあり、これらのタンパク質が、匂い物質結合タンパク質と分子構造的特徴を共有していたために、「味覚器に存在する匂い物質結合タンパク質」などと称されることがあり、いささか混乱をきたすところである。

図3 味覚器に存在する匂い物質結合タンパク質

A: クロキンバエ唇弁から単離された毛状味覚器のクチクラ装置。

B: クチクラ装置の水溶性タンパク質の二次元電気泳動展開。CRLBPとその類似タンパク質CHOPSを示す。

C: 抗CHOPS 血清を用いた免疫染色によって、唇弁毛状味覚器のクチクラ装置の断面から内部にCHOPSが存在することがうかがえる。

5. 匂い物質結合タンパク質の構造

匂い物質結合タンパク質ファミリーに属するタンパク質に共通する分子構造の特徴の第一は、6つのシステイン残基が保存されていることである。これらのシステイン残基による3か所の分子内ジスルフィド結合によってある程度規定されるアルファヘリックスの配置を基礎として立体構造が構築されている(図4A)¹²⁾。その立体構造は外側に親水的のアミノ酸残基を配し、内側に疎水的なりガンドを結合する部位を持つと推定されている。匂い物質結合タンパク質分どうしでアミノ酸配列の同一性は高くないが、親水部分、疎水部分のパターンを示すハイドロパシープロットは互いに類似している場合がある¹⁰⁾。

2000年には、カイコ(*Bombyx mori*)の性フェロモンの一成分、ボンピコールを結合する匂い物質結合タンパク質の立体構造がX線結晶解析から明らかにされた¹³⁾。このフェロモン結合タンパク質の立体構造をみると、アルファヘリックスに囲まれた中に、ボンピコール結合部位が確保されている。これを皮きりに、X線結晶解析やNMRを用いた、匂い物質結合タンパク質の立体構造とリガンド結合に関する研究が、キイロショウジョウバエのアルコール結合タンパク質といわれているLUSH、ハマダラカの産卵フェロモン結合タンパク質などでも相次いでいる^{14, 15)}。

余談ながら、ヒトや他の哺乳類の嗅粘膜において同様な働きをしていると考えられている匂い物質結合タンパク質は、リポカリンフ

ファミリーに属し、ベーターシートを基本とするバレル構造によって親油性のリガンドを包含する部位を形成しているが、その機能や役割については、昆虫ほどには調べられていないように思われる^{16, 17)}。

6. 匂い物質結合タンパク質の局在

匂い物質結合タンパク質が働く場は、受容器リンパの親水的環境の中である。ポリフェムス蚕(*Anthelaea polyphemus*)のフェロモン結合タンパク質の抗血清を使って組織学的局在を電子顕微鏡レベルで追った研究から、このタンパク質が、クチクラ装置内部および基底腔を満たしている受容器リンパ中に多量に存在すること、また、受容神経細胞とこれを囲むようにして存在する支持細胞の細胞質中に小胞に包まれて存在したり、多胞体に取り込まれて存在したりしていることが分かった¹⁸⁾。支持細胞の基底腔に面している部分には微絨毛がみられ、細胞内外の物質の往来が盛んに行われていることが暗示される。おそらく匂い物質結合タンパク質は支持細胞で合成され、直接受容器リンパ中へ分泌されて、受容器周辺機構において重要な役割を果たした後、再び、支持細胞や受容神経細胞に取り込まれて細胞内のタンパク質分解システムで分解されるという運命を辿るのであろう。

また、触角上の嗅覚器クチクラ装置を別個に観察したとき、形状の違うクチクラ装置が異なる匂い物質結合タンパク質を含んでいる免疫電子顕微鏡像も紹介されている。このことは、触角上の嗅覚器が機能分化しており、機能に即した匂い物質結合タンパク質が適材適所に存在して働いていることを示唆する¹⁸⁾。

以降に、3通りの基本的な動物行動を例として挙げ、それぞれの行動発現のきっかけとなる化学受容と、その受容器周辺機構における匂い物質結合タンパク質の重要性について紹介する。

7. 配偶行動と性フェロモン受容

多くの鱗翅目昆虫、特に夜行性の蛾の配偶

図4 X線結晶解析にもとづく昆虫と脊椎動物の匂い物質結合タンパク質の立体構造

A: カイコのフェロモン結合タンパク質(塩基性型)。
B: 脊椎動物の匂い物質結合タンパク質。

図5 カイコの雌雄間の交信

A: フェロモンを放出する雌に誘引される雄。
B: ボンビコールで刺激した時のフェロモン嗅覚器の応答。

行動は、メスが合成して放出するフェロモンをオスが受容し誘引される、嗅覚依存的なステップがきっかけとなって進む(図5A)。フェロモン受容を行う嗅覚器はオスの触角に数多く存在する。カイコの場合、各クチクラ装置に2個の嗅覚受容神経が備わっており、それぞれの受容神経が性フェロモンの2成分、ボンビコールとボンビカルに対して応答する(図5B)。この嗅覚器の受容器リンパ中にフェロモン結合タンパク質が存在している。前述のように、受容神経の受容膜を保護しながらも受容膜上でのフェロモン分子受容を実現しなければならないジレンマから脱出するために、フェロモン結合タンパク質に期待される働きは、受容器周辺の親水領域にあってフェロモンを受容膜へ運搬する役割であろう。

ボンビコールを結合したカイコのフェロモン結合タンパク質を中性環境から酸性環境に移すと、C末端のアルファヘリックスがpH依存的に変化してリガンド結合部位へ入り込みボンビコールを解放する構造変化が生じることが推定されている(図4B)。このことは、受容膜の表面が酸性に傾いているならば、フェロモン結合タンパク質が、中性pHの受容器リンパの親水環境の中をフェロモン分子を運搬して拡散移行し、受容膜近傍でこれを解放する可能性を支持する^{12, 19, 20)}。

一方、雄の触角上にあつてフェロモン受容に特化した嗅覚器のクチクラ装置を電子顕微鏡で観察すると、クチクラ壁に穿たれた嗅孔から連続するようにクチクラチューブが受容器リンパの中を伸び出してきているのがみら

れる。このチューブが、外界から侵入してきたフェロモン分子を親水的環境から隔離しつつ受容膜の近傍まで導きうるという考えもあった。そこで、フェロモン結合蛋白質のもう一つの働きとして、一旦、受容膜上の受容タンパク質を活性化したフェロモン分子を受容タンパク質から解離させ、これと結合して不活性化し分解酵素に引き渡す役割も考慮された。この説は、フェロモン受容神経の応答の経時変化とフェロモンの分解速度を考慮した理論的カイネティクスによって支持された²¹⁾。

現在はカイコのフェロモン受容タンパク質²²⁾、フェロモン分解酵素の実体も既に明らかとなっている²³⁾。

8. 食物選択と苦味・毒物検出

味覚に基本味という考え方があるというのは周知のことである。甘味、塩から味、酸味、苦味、現在ではこの4基本味に、日本の伝統の“だし”の研究から定説となったうま味を加えた5基本味説を以て、ヒトの味覚が説明されている²⁴⁾。中間的な味は基本味の混合により、味のバリエーションは混合比の違いにより実現されると考えられている。しかし、それぞれの基本味を司る受容細胞の機能的な同定と配置については、今もって諸説論の分かれるところがある。

昆虫の味覚研究は歴史が長く、ハエをモデルに、受容神経の機能分化と配置についての基礎研究が行われてきた^{2, 25)}。クロキンバエの唇弁の味覚クチクラ装置には4個の味覚受容神経が含まれている。それぞれの受容神経が適刺激を受けたときに発生する活動電位の形を比較し、刺激に用いた化学物質の味質と活動電位の形を対応させることで、それぞれの受容神経の区別がまず明らかにされてきた。ハエの糖受容神経は、様々な糖質に応答するだけでなく、いく種類かのアミノ酸や核酸、その他の非糖物質にも応答し、摂食行動を誘起することから、甘味受容とともにうま味受容をも担当しているといつてよいだろう(図6A)。4個の味覚受容神経の残る3個のうち一

図6 クロキンバエの食物と毒物検出

- A: ショ糖で味覚器を刺激した時のクロキンバエの行動と味覚器からの応答。吻伸展反射がみられ(左)、主に糖受容神経からの味覚応答が記録される(右)。
- B: D-リモネンで味覚器を刺激した時の行動と味覚器からの応答。嘔吐反射と排泄がみられ(左)、主に苦味受容神経からの応答が記録される(右)。

つは水受容細胞、もう一つは塩受容神経である。そして最後の一つは、 K^+ 、 Rb^+ 、 Cs^+ などに応答することが知られていたため第二の塩受容細胞と呼ばれていた。

しかし2000年になって、ルリキンバエ(*Protophormia terraenovae*)を使った電気生理学的実験から、第二の塩受容細胞と呼ばれてきた味覚受容神経が、苦味受容神経に相当する証拠が得られた²⁶⁾。次いで、クロキンバエにおいて、強い経口毒性を示す植物二次代謝物質の精油成分テルペノイドの一種、D-リモネンの味刺激が嘔吐や排泄を引き起こすこと、D-リモネンに対して苦味受容神経が応答することが明らかになった(図6B)。その際、味覚器で働く匂い物質結合タンパク質の一種、「化学感覚に関わる親油性物質結合タンパク質」(chemical sense-related lipophilic ligand-binding protein, CRLBP)とともにD-リモネンを刺激液に分散させて味覚器に投与したとき、苦味受容神経の味応答が観測されたことから、味覚による食物選択、特に苦味による毒物の摂取回避に、味覚器で働く匂い物質結合タンパク質が重要な働きを担っていることが示唆された¹¹⁾。クロキンバエの味覚器をリンゴジュースで刺激すると糖(甘味)受容神経と苦味受容神経が応答し2種類の特徴的な活動電位が発生する。ところが、あら

かじめCRLBPの抗血清をこの味覚器の受容器リンパへ注入しておくと、糖受容神経の応答は変わらず苦味受容神経の応答が特異的に抑制された¹⁰⁾。実際、クロキンバエがリンゴジュースを摂取するかどうか、実際の食物選択の場面では、糖受容細胞と苦味受容細胞の活動電位がともに中枢へ送られ、行動の決定が行われると考えられる。苦味物質には極性の低いものが多い。CRLBPのようなタンパク質の助けを借りて苦味物質を受容器リンパ中へうまく分散させることができれば、毒物検出の鍵となる味質として発達してきたといわれる苦味の神経信号が適切に生成されず、脳における摂食回避の判断が甘くなる。苦味物質の毒性の強さ如何によっては死んでしまう。従って、苦味受容を助ける匂い物質結合タンパク質は、生死にかかわる重要な働きをしているということになる。

ヘキサン酸やオクタン酸を含むモリンダの果汁はタヒチアンノニジュースとして知られている。セシリアジョウバエ(*Drosophila sechellia*)はモリンダの果実に誘引されて集まり、配偶、産卵し、幼虫はこの果実を食べて成長する。別種のショウジョウバエ、例えば、キイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*)は、この果実の毒に耐性をもたないためこれを忌避する²⁷⁾。2007年、松尾らによって、セシリアジョウバエでは、2種類の匂い物質結合タンパク質が変異していることが報告された。これらの*Obp57d*と*Obp57e*遺伝子をノックアウトしたキイロショウジョウバエにセシリアジョウバエの*Obp57d*と*Obp57e*遺伝子を導入すると、ヘキサン酸やオクタン酸への忌避を示さなくなった。ショウジョウバエの前脚には匂い物質結合タンパク質*Obp57d*、*Obp57e*を含む毛状味覚器があり、キイロショウジョウバエではこれらの匂い物質結合タンパク質が苦味受容神経の応答を助けると予想された^{28, 29)}。地理的隔離されたセイシェル諸島における進化の過程で、セシリアジョウバエが、モリンダ果汁に苦味を感じ忌避するメカニズ

ムを失うとともに、モリンダの果実の毒に耐性をもつような解毒や代謝のシステムを獲得したとすれば、本種は、他種が利用できない食物資源を独占することに成功した種といえることができる^{30~32)}。

9. 攻撃行動と相手の識別

匂い物質結合タンパク質のほかに、化学感覚器の受容器リンパ中に分泌される低分子タンパク質群が知られるようになってきた。「化学感覚タンパク質」(chemosensory proteins, CSPs)である^{33, 34)}。4個のシステイン残基をもち、名前のとおり、様々な化学感覚器から発見されたが、その分子機能は化学受容周辺機構に関係があるとされながらも、長く推測の域を出ることがなかった。

2005年に尾崎らによって、代表的な社会性昆虫であるアリの、仲間識別を司る特殊な嗅覚器中に化学感覚タンパク質が存在することが示され、コロニー特異的体表炭化水素の混合パターンの識別に重要な働きをしていることが証明された³⁵⁾。クロオオアリ (*Camponotus japonicus*) の働きアリは体表面に18種類の炭化水素を分泌して体を保護している。体表炭化水素は、虫体を乾燥から守るため有効なだけでなく、コロニー特有の混合比が個体のコロニー帰属性を示す化学信号として働く。自分と同じ体表炭化水素組成比をもつ個体は巣仲間として、異なる組成比をもつ個体は非巣仲間として認識される。働きアリにおいては、非巣仲間に対する攻撃行動の発現を以て、非巣仲間のもつ、自分と異なる体表炭化水素パターン認識の証拠とされた(図7A)。

働きアリの触角上に見出された炭化水素感受性の錐状嗅覚器は、自分の体表炭化水素と同じ炭化水素パターンに対しては応答を示さず、異なる炭化水素パターンに応答した。この電気生理学の実験には、炭化水素混合物を、当該感覚器の受容器リンパ中に存在する化学感覚タンパク質とともに刺激液に分散させて用いた(図7B)。この化学感覚タンパク質は、

図7 クロオオアリの仲間識別

A: 異巣の働きアリどうしの攻撃行動。
B: 体表炭化水素混合物で錐状嗅覚器を刺激した時の受容神経応答。溶媒として100mM CSPを10 mM NaClに溶かして用い、その溶媒に異巣アリの炭化水素(non-nestmate CHCs)を溶かした刺激液に対しては応答が見られるが(中段左)、同巣の炭化水素(nestmate CHCs)を溶かした刺激液に対しては応答が見られない(中段右)。CSPを用いなかったり(上段)、CSPのかわりにBSA(牛の血清アルブミン)を用いても(下段)応答は見られない。

遭遇した相手の体表炭化水素をその組成比を保ったまま、受容器周辺領域の親水環境へ持ち込む働きがある。巣仲間と協力し合い、非巣仲間を排撃する行動の切り替えは、働きアリの社会的な振る舞いの基礎となる。非巣仲間を的確に識別し、即座に攻撃を仕掛けるには、化学感覚タンパク質を備えた化学感覚器が不可欠であった。

10. おわりに

視覚動物であるといわれるヒトにおいて、化学感覚の重要性は、なかなか意識に上らないかもしれないが、多くの動物にとって、化学的な情報は、配偶、摂食、攻撃など、生命の根源に関わる行動を始めるきっかけを与え、また、制御する鍵となる。

近年、嗅覚や味覚の化学感覚器の受容タンパク質と、その活性化に続く情報変換機構の分子基盤についての研究が紹介される機会が、ますます多くなってきた。しかし、それに先立つ受容器周辺機構についての知見は、我が国では、受容神経細胞内の分子機構ほどには注目されていないように思う。1980年代から、欧米では匂い物質結合タンパク質の研究

が順調に発展してきた。この機会に、匂い物質結合タンパク質に代表される、受容器リンパ中の主要分泌タンパク質の構造、局在、役割に着目して、化学感覚器における機能的内部環境の形成と、それによって支えられる動物行動について紹介した。

文 献

- 1) Steinbrecht RA, 1999. Olfactory receptors. In: Eguchi E, Tominaga Y (Eds), Atlas of arthropod sensory receptors, Springer-Verlag, Tokyo, pp.155-176.
- 2) Ozaki M, Tominaga Y, 1999. Contact chemoreceptors. In: Eguchi E, Tominaga Y (Eds), Atlas of arthropod sensory receptors, Springer-Verlag, Tokyo, pp.143-154.
- 3) Keil TA, Steinbrecht RA, 1887. Diffusion barriers in silkmoth sensory epithelia: application of lanthanum tracer to olfactory sensilla of *Antheraea polyphemus* and *Bombyx mori*. *Tissu Cell*, **19**, 119-134.
- 4) Vogt RG, Riddiford LM, Prestwich GD, 1981. Pheromone-binding and inactivation by moth antennae. *Nature*, **293**, 161-163.
- 5) Klein U, 1987. Sensillum lymph proteins from antennal olfactory hairs of the moth *Antheraea polyphemus* (saturniidae). *Insect Biochem*, **17**, 1193-1204.
- 6) Graham L, Davies P, 2002. The odorant-binding proteins of *Drosophila melanogaster*: annotation and characterization of a divergent gene family. *Gene*, **292**, 43-55.
- 7) Sanchez-Gracia A, Vieira FG, Rozas J, 2009. Molecular evolution of the major chemosensory gene families in insects. *Heredity*, **103**, 208-216.
- 8) Vogt RG, Prestwich GD, Lerner MR, 1991. Odorant-binding protein subfamilies associate with distinct classes of olfactory receptor neurons in insects. *J Neurobiol*, **22**, 74-84.
- 9) Lescop E, Briand L, Pernollet JC, Guittet E, 2009. Structural basis of the broad specificity of a general odorant-binding protein from honeybee. *Biochemistry*, in press.
- 10) Ozaki M., Morisaki K, Idei W, Ozaki K, Tokunaga F, 1995. A putative lipophilic stimulant carrier protein commonly found in the taste and olfactory system: A unique member of the pheromone-binding protein superfamily. *Eur J Biochem.*, **230**, 298-308.
- 11) Ozaki M, Takahara T, Kawahara Y, Wada-Katsumata A, Seno K, Amakawa T, Yamaoka R, Nakamura T, 2003. Perception of noxious compounds by contact chemoreceptors of the blowfly, *Phormia regina*: Putative role of an odorant-binding protein. *Chemical Senses*, **28**, 349-359.
- 12) Tegnani M, Campanacci V, Cambillau C, 2004. Structural aspects of sexual attraction and chemical communication in insects. *TRENDS Biochem Sci*, **29**, 257-264.
- 13) Sandler BH, Nikonova L, Leal WS, Clardy J, 2000. Sexual attraction in the silkworm moth: structure of the pheromone-binding protein-bombykol complex. *Chem Biol*, **7**, 143-151.
- 14) Thode AB, Kruse SW, Nix JC, Johns DN, 2008. The role of multiple hydrogen-bonding groups in specific alcohol binding sites in proteins: insights from structural studies of LUSH. *J Mol Biol*, **376**, 1360-1376.
- 15) Xu X, Xu W, Ishida Y, Li, Y, Leal WS, Ames JB, 2009. (1) H, (15) N, and (13) C chemical shift assignments of the mosquito odorant binding protein-1 (Cqui OBP1) bound to the mosquito oviposition pheromone. *Biomol NMR Assign*, **3**, 195-197.
- 16) White SA, Briand L, Scott DJ, Borysik AJ, 2009. Structure of rat-odorant-binding protein OBP1 at 1.6 Å resolution. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, **65**, 43-410.
- 17) Tegnani M, Pelosi P, Vincent F, Spinelli S, Campanacci V, Grolli S, Ramoni R, Cambillau C, 2000. Mammalian odorant-binding proteins. *Biochim Biophys Acta*, **1842**, 229-240.
- 18) Steinbrecht RA, Ozaki M, Ziegelberger G, 1992. Immunocytochemical localization of pheromone-binding protein in moth antennae. *Cell Tissue Res*, **270**, 287-302.
- 19) Wojtasek H, Leal WS, 1999. Conformational change in pheromone-binding protein from *Bombyx mori* induced by pH by interaction with membranes. *J Biol Chem*, **274**, 30950-30956.
- 20) Lautenschlager C, Leal WS, Clardy J, 2005. Coil-to helix transition and ligand release of *Bombyx mori* pheromone-binding protein. *Biochem Biophys Res Commun*, **335**, 1044-1050.
- 21) Kaissling K-E, 2009. Olfactory perireceptor and receptor events in moths: a kinetic model revised. *J Comp Physiol A*, in press.

- 22) Sakurai T, Nakagawa T, Mitsuno H, Mori H, Endo, Y, Tanou S, Yasukochi Y, Touhara K, 2004. Identification and functional characterization of a sex pheromone receptor in the silk moth *Bombyx mori*. *Proc Natl Acad Sci USA*, **101**, 16653-16658.
- 23) Ishida Y, Leal WS, 2002. Cloning of putative odorant-degrading enzyme and integumental esterase cDNAs from the wild silk moth *Antheraea polyphemus*. *Insect Biochem Mol Biol*, **32**, 1775-1780.
- 24) Kurihara K, 2009. Gutamate: from discovery as a food flavor to roles as a basic taste (umami). *Am J Clin Nutr*, **90**, 719S-722S.
- 25) Dethier VG, 1968. Chemosensory input and taste discrimination in the blowfly. *Science*, **161**, 389-391.
- 26) Liscia, A, Solari P, 2000. Bitter taste recognition in the blowfly: Electrophysiological and behavioral evidence. *Physiol Behav*, **70**, 61-65.
- 27) Jones CD, 2005. The genetics of adaptation in *Drosophila sechellia*. *Genetica*, **123**, 137-145.
- 28) Matsuo T, Sugaya S, Yasukawa J, Aigaki T, Fuyama Y, 2007. Odorant-binding proteins OBP57d and OBP57e affect taste perception and Host-plant preference in *Drosophila sechellia*. *PLoS Biol*, e118.
- 29) Harada E, Haba D, Aigaki T, Matsuo T, 2008. Behavioral analyses of mutants of two odorant-binding protein genes, Obp57d and Obp57e in *Drosophila melanogaster*. *Genes Genet Syst*, **83**, 257-264.
- 30) Matsuo T, 2008. Genes for host-plant selection in *Drosophila*. *J Neurogenet*, **22**, 195-210.
- 31) Matsuo T, 2008. Rapid evolution of two odorant-binding protein genes, Obp57d and Obp57e, in the *Drosophila melanogaster* species group. *Genetics*, **178**, 106-172.
- 32) Dworkin I, Jones CD, 2009. Genetic changes accompanying the evolution of host specialization in *Drosophila sechellia*. *Genetics*, **181**, 721-736.
- 33) Wanner KW, Willis LG, Theilmann DA, Isman MB, Feng Q, Plettner E, 2004. Analysis of the insect os-d like gene family. *J Chem Ecol*, **30**, 889-911.
- 34) Pelosi P, Zhou JJ, Ban LP, Calvello M, 2006. Soluble proteins in insect chemical communication. *Cell Mol Lie Sci*, **63**, 1658-1676.
- 35) Ozaki M, Wada-Katsumata A, Fujikawa K, Iwasaki M, Yokohari F, Satoji Y, Nisimura T, Yamaoka Y, 2005. Ant nestmate and non-nestmate discrimination by a chemosensory sensillum. *Science*, **309**, 311-314.