

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 関 根 寿 樹

本研究は、植物が発するいわゆる「みどりの香り」を構成する匂い物質である葉緑体膜由来の 8 つの脂肪族アルデヒドおよびアルコールをリガンドとしてマウス嗅細胞の匂い応答性を解析し、応答細胞から嗅覚受容体を単離を試みたものである。嗅覚は視覚と同様に G タンパク質共役型受容体 (G-protein coupled receptor, GPCR) が刺激受容分子となっている。この嗅覚受容体は鼻腔に露出した嗅細胞の繊毛に存在し、げっ歯類で約 1,000 種類の遺伝子ファミリーを形成する。しかし、嗅覚受容体が 1991 年に同定されてから現在までのところ特異的なリガンドが同定された嗅覚受容体はわずかであり、嗅覚受容体の構造とリガンド特異性の相関関係についてはほとんど知られていない。さらに嗅覚刺激は個体にさまざまな心理学的、生理学的な影響を与えるが、これらの嗅覚神経系の高次な生物学的作用の分子メカニズムについても多くの謎が残されている。そこで、本研究ではみどりの香りをリガンドとして、嗅細胞の応答特性を解析し、そこに発現している嗅覚受容体を単離した。本研究によって得られた結果は以下の三点である。

1. マウス嗅上皮にみどりの香りにカルシウム応答を示す嗅細胞が合計 81 個観察された。みどりの香りに応答する細胞はそれぞれの応答特性に則って匂い物質に応答を示した。応答特性別に見ると *n*-hexanal と *trans*-2-hexanal に応答する細胞が最も多く観察され全応答細胞数の 38.3%であり、次に *n*-hexanal に応答するもので 27.2%であった。応答特性は大きく、アルデヒドに応答するもの、アルコールに応答するもの、その両方に応答するものの三群に分けられた。みどりの香り構成物質が持つお互いの構造的相違点は、官能基、二重結合、旋光性が挙げられるが、このうち官能基の種類が嗅細胞の応答特性を決める最大の要

因であることが示唆された。

2. 一つの嗅細胞は複数のみどりの香り物質に応答した。一つのみどりの香り物質は複数の応答特性を持つ嗅細胞によって認識された。ほとんど全ての嗅細胞は一種類の嗅覚受容体を発現していると考えられることから、嗅細胞の応答特性はそこに発現する嗅覚受容体タンパク質のリガンド特異性を間接的に示している。すなわち、嗅覚受容に於いて、複数の匂い物質にさまざまな強さで親和性を持つ複数の嗅覚受容体が活性化され、それらの組み合わせが匂いの識別に重要であることを強く示唆している。

3. みどりの香りのうち、特に *n*-hexanal に応答する単一の嗅細胞から RT-PCR 法によって一種類の嗅覚受容体遺伝子が増幅された。増幅された部分配列プローブとして、嗅上皮 cDNA ライブラリーをスクリーニングして全長と考えられる cDNA を単離した。この受容体は 7 回細胞膜を貫通する GPCR に保存された構造を持った新規の嗅覚受容体 (mGOR1) 遺伝子で、既知の嗅覚受容体を高い相同性を有していた。RT-PCR による臓器別発現解析の結果この受容体は嗅上皮に選択的に強い発現が見られた。嗅球にも非常に弱いながら発現が見られた。さらに培養細胞発現系での嗅覚受容体の機能解析のため、この受容体に緑色蛍光タンパク質およびヘマグルチニンエピトープタグを標識したタンパク質を培養細胞に発現させ細胞内での局在を解析したところ、mGOR1 は培養細胞発現系では効果的に細胞膜に輸送されないことが示された。

以上、本研究では構造的に類似性をもつ 8 つの脂肪族アルデヒドおよびアルコールを用いて、嗅細胞の匂い応答特性を明らかにした。さらに、応答細胞から単一細胞 RT-PCR 法によって嗅覚受容体遺伝子増幅し、全長と考えられる cDNA を単離した。現在のところ培養細胞発現系では mGOR1 の機能的再構築は成功していないが、培養細胞内での局在を明らかにし、今後の機能解析の基礎的データを得た。嗅覚神経系の最大の謎は数十万とも言われる匂い物質を約 1,000 種類の嗅覚受容体をもっていかにして識別しているかということであり、その詳細なメカニズムの解明が待たれる。本研究は構造的に似通った少数の匂い物質に注目して、系統的にこの問題に取り組むものであり、今後の嗅覚受容

メカニズムの解明に重要な貢献を果たすものと考えられる。以上のことから、本研究は学位の授与に値するものと考えられる。