

[ 別紙 2 ]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 若林嘉浩

多くの哺乳類には主嗅覚系と鋤鼻系という二つの嗅覚系が存在しており、匂い分子は前者でまたフェロモン分子は後者でそれぞれ受容されると考えられている。齧歯類では鋤鼻器特異的に3種の受容体遺伝子ファミリー (V1Rs、V2Rs および V3Rs) が発現しており、いずれもフェロモン受容体をコードしているであろうことが最近の研究から推察されている。しかし、他の哺乳類のフェロモン受容体遺伝子に関する情報はほとんど得られておらず、系統進化における嗅覚系の多様性という観点からも、比較動物学的研究の進展が待たれていた。本研究は、機能的な鋤鼻器を有しており、また雄効果とよばれる明瞭なフェロモン効果の存在が知られているシバヤギを対象に、そのフェロモン受容機能に関する検討を分子生物学的手法を用いて行ったものである。本論文は以下のように5章から構成されている。

第1章は総合緒言であり、これまで行われてきた哺乳類のフェロモン受容機構に関する研究が概観され、本論文の目的が述べられている。

第2章では、これまでの主に齧歯類を対象にした研究から同定された2種類のフェロモン受容体遺伝子ファミリー (V1Rs、V2Rs) のそれぞれに対するホモログ遺伝子の探索が試みられ、その結果、V1Rs ホモログ遺伝子2種と V2Rs ホモログ遺伝子8種類が同定された。これらの遺伝子の中で V1R ホモログ遺伝子の一つ (gV1R1) だけが open reading frame (ORF) を持っており、また Genomic Southern Hybridization の結果からシバヤギ V1Rs ファミリーの遺伝子数は齧歯類に比べてかなり少ないことが明らかにされている。

続く第3章では、検出感度に優れた新たな RT-PCR/Southern hybridization 法を用いて、前章で同定されたホモログ遺伝子の種々の組織における発現が検討された。さらに ORF を有する V1R1 遺伝子については鋤鼻器における発現細胞の同定および情報伝達系の G 蛋白  $\alpha$  サブユニット遺伝子の発現との関係について in situ hybridization による解析が行われ

ている。G蛋白 $\alpha$ サブユニットのうち、Goの発現は検出されなかったが、Gi2は鋤鼻神経細胞層全体に発現しており、さらにGi2およびgV1R1遺伝子のdouble labelled in situ hybridizationの結果から、シバヤギ鋤鼻神経細胞においてこれら2種類の遺伝子が同一細胞で発現していることが明らかにされた。またシバヤギでは齧歯類などとは異なり、V1Rs-Gi2の受容機構のみが機能している可能性が示唆されている。

第4章では、シバヤギの嗅上皮にもフェロモン受容体が存在するかどうかについてRT-PCR/Southern hybridization法を用いた解析が行われている。その結果、嗅上皮においてgV1R1mRNAの発現していることが明らかとなり、シバヤギでは齧歯類と異なり、フェロモン受容体遺伝子が鋤鼻器だけでなく嗅上皮においても発現しており、主嗅覚系がフェロモン受容にも関与している可能性が示された。

第5章は総合考察であり、本研究で得られた結果を中心に、哺乳類だけでなく脊椎動物全般に及ぶ既報の様々な知見を援用しながら、フェロモン受容機構の進化が分子生態学的観点から考察されている。本研究では、シバヤギにおけるフェロモン受容体遺伝子の発現様式が、これまでに主な研究対象とされてきた齧歯類におけるそれとは大きく異なる結果が得られており、様々な動物を対象とした比較動物学的検討が、フェロモン受容系の包括的理解には欠かせないであろうという考えが提唱されている。

以上、要するに本研究は、高等哺乳類であるシバヤギにおいても2種類のフェロモン受容体遺伝子ファミリーはゲノム上に存在しており、また実際に機能を持つと考えられるフェロモン受容体遺伝子の嗅覚系における発現様式は、これまでに齧歯類で得られた知見とは大きく異なっていることを明らかにしたもので、得られた研究成果は今後の哺乳類におけるフェロモンや鋤鼻系に関する研究に新たな道を切り開くための基盤的情報となりうるものであり、学術上貢献するところが少なくない。よって審査員一同は申請者に対して博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。