

## 論文内容の要旨

論文題名            嗅神経細胞の繊毛に局在する stomatin-related  
                         olfactory protein SRO

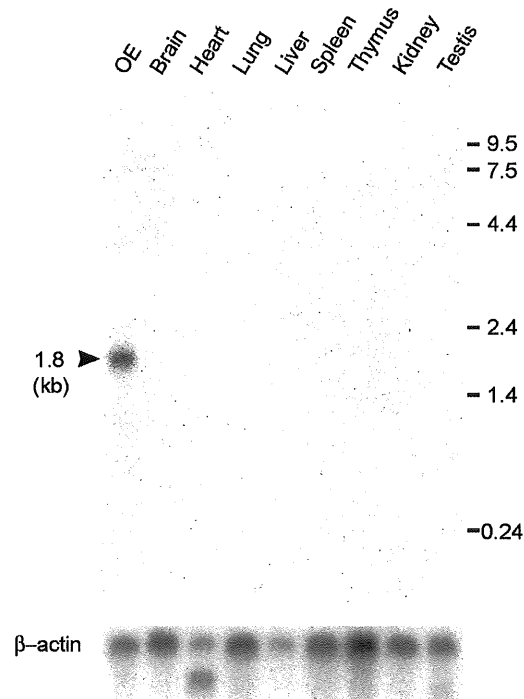
氏名                小 早 川   高

匂い分子は鼻腔上部に位置する嗅上皮に存在する嗅神経細胞によって受容される。嗅神経細胞は双極性の神経細胞で、細胞体から1本の樹状突起と1本の軸索を伸ばしている。樹状突起の先端には匂い情報変換の場となる嗅繊毛が見られ、そこには G タンパク質と共役する7回膜貫通型タンパク質である嗅覚受容体(OR)が発現している。ORによって匂い分子が受容されたというシグナルは、嗅神経細胞特異的 G タンパク質 Golf と、アデニル酸サイクラーゼタイプ III(ACIII)を経て cAMP 濃度の上昇を引き起こし、CNG チャンネルを開かせる。嗅神経細胞の繊毛にはこの一連のカスケードで機能する複数の遺伝子産物が見られるが、本研究においては、この繊毛に局在する新たなタンパク質、stomatin-related olfactory protein (SRO)を同定した。

マウス SRO は、287 アミノ酸からなる分子量 32kDa の 2 回膜貫通型タンパク質で、マウス stomatin とは 82%のアミノ酸配列の相同性、線虫の MEC-2 とは 78%、線虫の UNC-1 とは 77%の相同性を持っている。マウスの sro 遺伝子は他のストマチンファミリーに属する遺伝子

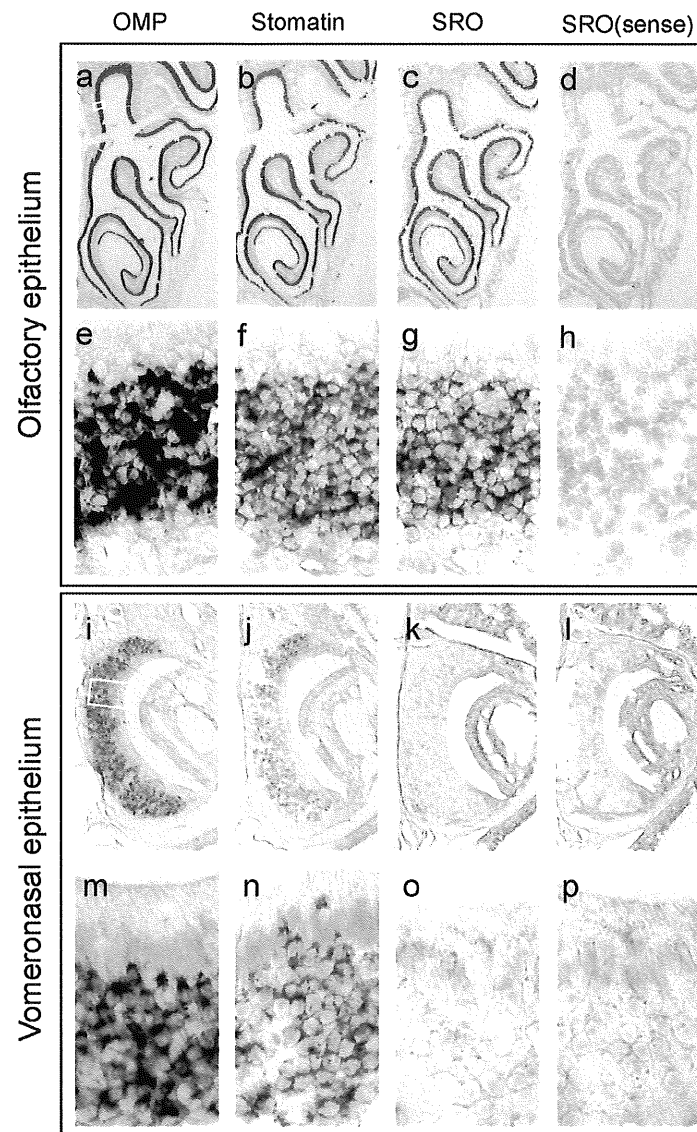
とは異なり、嗅上皮の嗅神経細胞で特異的に発現していて、鋤鼻嗅覚神経での発現は見られない(図 1,2)。SRO タンパク質は、嗅纖毛を含む最も先端部に顕著に局在しており(図 3)、免疫沈降法による解析の結果、嗅纖毛由来の低密度膜画分においてACIII やカベオリン-1と結合していることが明らかになった。興味深いことに、抗 SRO 抗体は嗅纖毛膜画分における cAMP 産生活性を上昇させることが見出され、SRO の抑制的機能が示唆された。今回同定された SRO は、嗅纖毛の脂質ラフトにおいて、匂いシグナルの調整に重要な役割を果たす嗅神経特異的タンパク質であると考えられ、本研究は嗅覚情報の受容伝達の理解に新しい道を拓くものとして重要である。

**図 1 嗅上皮特異的な *sro* の発現**



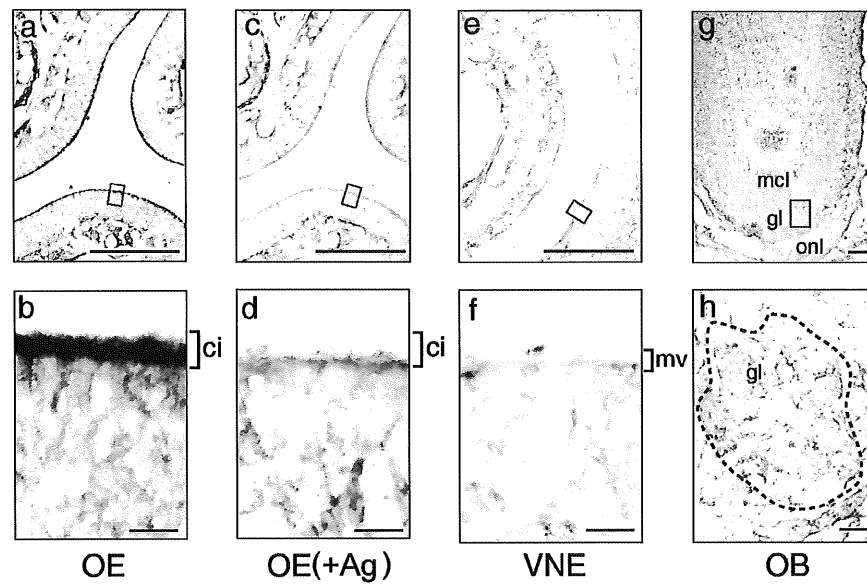
(図 1) *sro* 転写産物のノーザンブロット解析。3 $\mu$ g の polyA+RNA をマウスの様々な組織から抽出し、アガロースゲル電気泳動で分離し、ナイロンメンブレンにトランスファーし、 $^{32}$ P 標識した *sro* cDNA とハイブリダイゼーションを行った。プローブを洗い落とした後に、同じナイロンメンブレンを $\beta$ -actin プローブとハイブリダイゼーションを行なった。

**図 2 嗅神経細胞特異的な *sro* の発現**



(図 2) 嗅上皮および鋤鼻上皮の切片をジゴキシジェニンでラベルした、OMP(olfactory marker protein) (a, e, i, m), ストマチン(stomatin)(b, f, j, n)、及び *sro*(c, g, k, o)のアンチセンス RNA プローブとハイブリダイゼーションを行った。ネガティブコントロールとして *sro* のセンスプロブをハイブリダイゼーションした(d, h, l, p)。低倍率(a-d, i-l)と高倍率(e-h, m-p)の像を示した。*sro* 遺伝子の発現は成熟した嗅神経細胞でのみ見られた。鋤鼻神経細胞ではストマチンと OMP 遺伝子の発現は検出されたが、*sro* 遺伝子の発現は見られなかった。

図 3 免疫組織化学法を用いた SRO タンパク質の検出



(図 3) マウス嗅上皮(OE),(a,b), 鋤鼻上皮(VNE),(e,f), 嗅球(OB), (g,h)の 16 $\mu$ m 厚の組織切片における SRO タンパク質の局在を SRO 抗体による免疫染色で検出した。ネガティブコントロールとして、SRO 抗体溶液に抗原ペプチドを加え免疫染色を行った(+Ag)。低倍率の像を上段に、高倍率の像を下段に示した。免疫組織化学法により SRO タンパク質は嗅上皮において嗅神経細胞の嗅繊毛(cilia),(ci)に検出され、鋤鼻上皮の絨毛(microvilli)(mv)には検出されなかった。SRO タンパク質は OE において嗅繊毛に最も顕著に存在していると考えられる。