

論文審査の結果の要旨

氏名 加藤 綾

本研究では、五感のひとつである嗅覚感覚において、嗅覚受容体が、匂いや香りと結合してシグナルを伝達し、その後定常状態にもどる機構を解明することが目的とされている。本論文は、嗅覚受容体と G タンパク質との共役に関わるアミノ酸の同定、嗅覚受容体の活性型への構造変化に関わるアミノ酸の同定、嗅覚受容体の脱感作機構の解析の三章からなる。

第一章では、嗅覚受容体が G タンパク質と共役するさいに相互作用するアミノ酸を同定したことが述べられている。具体的には、嗅覚受容体のなかで、G タンパク質と相互作用すると予想される細胞内領域に存在するアミノ酸の部位特異的変異体を作製し、培養細胞での匂い応答解析を行った。その結果、細胞内第 3 ループおよびカルボキシル末端 (C 末端) に位置する複数のアミノ酸変異体において、G タンパク質との共役によるセカンドメッセンジャー産生量が顕著に低下するという表現型が認められた。これらのアミノ酸が G タンパク質との共役に関与することが示唆された。また、8 番目のヘリックス構造が嗅覚受容体と G タンパク質の相互作用に必須の機能を担うことが示された。

第二章では、嗅覚受容体の構造変化に関わるアミノ酸を同定したことが述べられている。具体的には、第六膜貫通部位に位置する Ser240 の変異体で、匂い応答が野生型に比べ顕著に上昇するという結果が得られた。いくつか複数の嗅覚受容体においても同部位への変異導入により匂い応答性の上昇が認められた。この Ser は嗅覚受容体ファミリーに高く保存されたモチーフの中に位置しており、嗅覚受容体が活性型へと構造変化するさいに重要な役割をするアミノ酸であると考えられた。

第三章では、嗅覚受容体は、匂いのシグナルを細胞内に伝えた後、リン酸化をうけることによって脱感作し、定常状態にもどることを明らかにしたことが述べられている。具体的には、嗅覚受容体を発現させた培養細胞を匂い物質で前処理しておくこと、その後

の匂い刺激応答が減弱したことが示された。次に、その減弱には、G タンパク質共役型受容体リン酸化酵素 3 (GRK3) が関わることがわかった。実際、嗅覚受容体が匂い刺激依存的にリン酸化を受けることは、抗リン酸化 Ser 抗体を用いて実証された。

本研究は、嗅覚受容体の活性化メカニズムとその脱感作（順応）機構を、初めて分子レベルで示したものである。本審査における、論文提出者の口頭発表は、非常にわかりやすく、明快に研究成果が説明された。審査の質疑で集中した点は、嗅覚受容体が脱感作してすばやく定常状態にもどる意味について、リン酸化が本当に匂いに対する順応に必要なかどうかについて、匂い応答のアッセイ系について、などであったが、論文提出者は適確に答えた。一方、*In vivo* において本当にリン酸化がおきるかどうかの実証が、今後の課題として残されている。また、博士論文は、審査員全員の共通コメントとして、大変わかりやすく、理路整然と説得力ある形で書かれているという評価があった。

なお、本論文は、当研究室出身の堅田明子博士の実験技術指導のもとおこなった研究であるので、原著論文では共著者となっているが、すべての結果は、論文提出者がだしたものなので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

以上の結果、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。