

研究種目：特定領域研究

研究期間：2006～2010

課題番号：18077001

研究課題名（和文） 個体生存戦略における匂い・フェロモンセンサーの環境応答機能

研究課題名（英文） Studies on structure and function of odorant and pheromone receptors sensing various external signals

研究代表者

東原 和成 (TOUHARA KAZUSHIGE)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・准教授

研究者番号： 00280925

研究分野：生物化学

科研費の分科・細目：生物科学・機能生物化学

キーワード：匂い、フェロモン、嗅覚受容体、センサー、チャネル、誘引、カイコ、マウス

1. 研究計画の概要

生物は、匂いやフェロモンなど外部環境からの情報分子を受容・伝達・情報統合して、生存のための個体応答として出力する高感度・高選択性の嗅覚センサーをもつ。センサー分子である嗅覚受容体とフェロモン受容体は、昆虫から哺乳類まで多くの生物において多重遺伝子ファミリーを形成しており、進化の過程で、情報分子の性質の変化とともに、その構造・発現空間・機能を適応させてきた。本研究では、独自の嗅覚システムを進化させた齧歯類と昆虫に着目して、匂いとフェロモンのセンサー機能、センサー間相互作用、センサーを介した情報伝達経路、センサー情報を統合する神経回路網、センサー刺激による行動・内分泌変化などの個体応答を解析して、細胞感覚モジュールとしての嗅覚センサーの分子動態の全貌を明らかにする。

2. 研究の進捗状況

(1) マウスの脳匂い応答をセンサーレベルで解析する手法を開発：嗅覚の一次中枢である嗅球における匂い応答を指標として、様々な匂い物質を高感度で認識する嗅覚受容体の遺伝子を機能的に同定クローニングする手法を立ち上げた。マウスの匂いセンサーの多様性および特異性を生理的条件下で解析できる新手法であり、Neuron 誌に発表した。

(2) マウスペプチド性フェロモン ESP1 のセンサーの同定：マウス涙腺から分泌されるオス特異的フェロモン ESP1 の受容体 V2Rp5 を同定した。マウスの不揮発性フェロモンセンサーの機能解析に世界ではじめて成功した成果であり現在投稿準備中である。

(3) 昆虫の嗅覚センサーはイオンチャネル

であることを発見：ショウジョウバエ、蚊、カイコなど昆虫の嗅覚受容体の情報伝達機構を解析したところ、ヘテロマーを形成し、リガンド作動性の非選択的カチオンチャネルであることがわかった。マウスと昆虫の嗅覚受容機構の違いは、種を超えたセンサー機能のモーダルシフトである。本研究成果は 7 回膜貫通型センサーの新規機能であり、Nature 誌に発表した。

(4) カイコの桑誘引物質と特異的嗅覚センサーの同定：桑の葉に含まれるカイコ誘引匂い物質を明らかにした。アフリカツメカエル卵母細胞を用いて、その匂いを特異的に認識する嗅覚受容体を同定した。カイコ蛾幼虫の摂食行動に関わる誘引物質とそのセンサーが見つかったことにより、食環境要因による嗅覚センサーの分子進化と機能的なモーダルシフトを議論することができると考える。

3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進展している。

(理由)

当初計画はすべて順調に達成され、Neuron, Nature などの一流雑誌に報告した。さらにカイコの桑誘引物質とセンサーを見つけるなど当初計画になかった成果もでている。

4. 今後の研究の推進方策

昨年度まで、嗅覚センサーのモーダルシフトに焦点を置き、マウスの匂いセンサー、マウスのフェロモンセンサー、カイコなど昆虫の匂いやフェロモンのセンサーの機能解析を推進してきた。21 年度以降は、これらのプロジェクトを継続して推進して発展させる。具体的には、(1)昆虫嗅覚センサーのチャネル

活性およびリガンド結合の分子基盤の解明、(2)昆虫の餌誘引行動に関わる味覚センサーの解析、(3)マウスの精子に発現する匂いセンサーの機能解明、(4)マウスフェロモンセンサーのアクセシ系の確立、の4つを平行して推進する。推進方策は以下のとおりである。

(1) 昆虫嗅覚センサーのイオンチャネル活性部位およびリガンド結合部位の同定：イオンチャネル活性を生み出す部位およびリガンド結合部位を特定するために、種々のアミノ酸に部位特異的変異を導入し、イオンやリガンド選択性が変化する変異体を探索する。

(2) カイコ幼虫の味覚組織に発現する味覚センサーの機能解析：カイコゲノム上に存在する味覚受容体遺伝子に対して、カイコおよび幼虫の脳に発現するものを同定し、アフリカツメカエル卵母細胞に導入して機能解析を行い、味リガンドを決定する。

(3) マウスの精子に発現する匂いセンサーのリガンド探索：メスとオスの生殖器官（卵・露胞液、精囊腺、精巣）の抽出物のなかから、精子嗅覚受容体の内在性リガンドの精製およびスクリーニングをおこなう。

(4) マウスフェロモンセンサーのアクセシ系の確立：マウスペプチド性フェロモンのセンサーを培養細胞 HEK293 に発現させ、カルシウムイメージング法によってフェロモン応答を再構成する。

5. 代表的な研究成果

〔雑誌論文〕(計8件)

1. Yoshikawa, K., and Touhara, K. "Myr-Ric8A enhances G α 15-mediated Ca²⁺ response of vertebrate olfactory receptors" *Chem. Senses* 34, 15-23 (2009)査読有り
2. Kato, A., Katada, S., and Touhara, K. "Amino acids involved in conformational dynamics and G-protein coupling of an odorant receptor: targeting gain-of-function mutation" *J. Neurochem.* 107, 1261-1270 (2008)査読有り
3. Sato, K., Pellegrino, M., Nakagawa, T., Nakagawa, T., Vosshall, L.B., and Touhara, K. "Insect olfactory receptors are heteromeric ligand-gated channels" *Nature* 452, 1002-1006 (2008)査読有り
4. Kimoto, H., Sato, K., Nodari, F., Haga, S., Holy, T., and Touhara, K. "The mouse ESP family: sex and strain differences, and implications in the vomeronasal sensory system" *Current Biology* 17, 1879-1884 (2007)査読有り
5. Oka, Y., Katada, S., Omura, M., Suwa, M., Yoshihara, Y. and Touhara, K. "Odorant receptor map in the mouse olfactory bulb: in vivo sensitivity and specificity of

receptor-defined glomeruli" *Neuron* 52, 857-869 (2006)査読有り

〔学会発表〕(計88件)

1. Touhara, K. 'Chemosensory receptor and behavior' Keystone Symposium on Chemical Senses (Tahoe City, CA, USA) 2009.3.17
2. Touhara, K. 'Emerging view of insect olfactory receptor signaling' International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT) (SFO, CA, USA) 2008.7.25
3. Touhara, K. 'Molecular mechanisms for odorant and pheromone reception' International symposium of National Institute of Biological Sciences in Beijing (Beijing, China) 2007.10.19
4. Touhara, K. 'Molecular mechanisms underlying sex pheromone reception' Keystone Symposium on Chemical Senses (Snowbird, Utah, USA) 2007.1.23
5. Touhara, K. 'Pharmacology of mouse olfactory receptors' 28th Annual meeting for Association for Chemoreception Society (Sarasota, Florida, USA) 2006.4.26

〔図書〕(計8件)

1. Touhara, K. and Vosshall, L.B. 'Sensing odorants and pheromones with chemosensory receptors' *Annu. Rev. Physiol.* 71, 307-332 (2009)
2. Touhara, K. 'Structure, Expression, and Function of Olfactory receptors' In: *The Senses: a comprehensive reference*, Vol. 4, Olfaction & Taste 4, 527-544 (2008)
3. Touhara, K. 'Molecular Biology of Peptide Pheromone Production and Reception in Mice' *Advances in Genetics* 59, 147-171 (2007)
4. 東原和成 '香りを感知する嗅覚のメカニズム' 八十一出版 2007

〔その他〕

研究グループホームページアドレス：
<http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/molecular-recognition/touhara/kyukaku.html>