

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：12605

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02532

研究課題名(和文)人工嗅覚受容体ライブラリーを用いた嗅覚センサー開発

研究課題名(英文)Development of olfactory sensor using artificial olfactory receptor library

研究代表者

養王田 正文 (Yohda, Masafumi)

東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・卓越教授

研究者番号：50250105

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：高い構造安定性を有する嗅覚受容体(OR)であるcOR52を無細胞タンパク質合成系で生産し、グラフェン電界効果トランジスタに吸着させることで、リガンド応答を検出することに成功しました。安定なORをもとに人工的に設計した受容体を構築して嗅覚センサーの開発を目指しましたが、細胞膜発現性の低いORでも機能的な発現が可能であることを示す結果を得ることができたため、人工ORを作成しなくても、多様なリガンド応答性を有するORを用いたセンサーの開発が可能であることが明らかになりました。また、グラフェン電界効果トランジスタへの固定方法の検討も行い、ORを用いた嗅覚センサー開発の基盤を構築することができました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

哺乳類の嗅覚による匂い検知能力は感度、識別性ともに非常に優れていることから、嗅覚の匂いセンサーである嗅覚受容体(Olfactory receptor 以下OR)を利用したセンサーの開発が期待されています。しかし、センサーに用いる嗅覚受容体の生産が困難であることから、その開発は遅れています。本研究では、ORが無細胞タンパク質合成系で機能的な発現が可能であり、グラフェン電界効果トランジスタ(GFET)と結合させることでリガンド応答を検出することを示すことができ、その開発の課題を解決することに成功しました。本研究により、多様な嗅覚受容体を用いた実用的な嗅覚センサーの開発が可能になりました。

研究成果の概要(英文)：Using a cell-free protein synthesis system, we have successfully created cOR52, an olfactory receptor (OR) that demonstrates exceptional structural stability. We have discovered that when we immobilize cOR52 onto a graphene field-effect transistor, the ligand of cOR52 elicits a signal response. Our objective was to generate various artificial receptors based on a stable OR, as multiple ORs are necessary for creating a sensing system. However, we have discovered that even ORs with low plasma membrane expressivity can be functionally expressed. This means that it is possible to develop a sensor that responds to diverse ligands without creating artificial ORs. Furthermore, we have researched the technique of attaching ORs to graphene field-effect transistors, which has laid the groundwork for constructing olfactory sensors utilizing ORs.

研究分野：生命工学

キーワード：嗅覚 受容体 センサー グラフェン

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

動物は嗅覚により周囲の環境の様々な化学物質を感知している。鼻腔内へと取り込まれた化学物質が、鼻腔内上部の嗅上皮に発現している嗅覚受容体(Olfactory Receptor, OR)に結合し、膜上のイオンチャネルが開放されることで膜電位が発生し、電気信号として脳の一部である嗅球へと伝えられる。さらに高次の脳領域へ情報が伝えられ、匂いの感覚が生ずる。嗅覚受容体はG蛋白質共役受容体(GPCR)であり、マウスでは1000種類以上、ヒトでは400種類程度存在する。嗅覚受容体と化学物質の対応は多対多の関係にあり、1つの嗅覚受容体が複数の化学物質に応答し、1つの化学物質が複数の嗅覚受容体と結合する。多数の嗅覚受容体の応答のパターンから匂いが認識されている。生物は膨大な種類の化学物質を非常に高い感度で検出できる。現在でも、警察犬、麻薬犬、災害救助のレスキュー犬などが活躍しているように、動物の嗅覚は非常に高感度・高識別性を有し、動物の嗅覚に勝る嗅覚センサは未だに開発されていない。嗅覚受容体を用いた嗅覚センサの開発が行われているが、実用性の高いセンサの開発には至っていない。

嗅覚受容体は他のGPCRと比較しても不安定であり、機能的な発現が難しいことから、機能や構造の研究が遅れている。嗅覚受容体の特異的シャペロンである Receptor transporting protein 1S および 2 (RTP1S/2)が発見され、多くの嗅覚受容体の機能的発現が可能となり、それらのリガンドが特定されてきている。しかし、RTP1S/2を共存させても多くの嗅覚受容体の発現効率は高くない。この発現効率の低さは嗅覚受容体の構造不安定性によるものであり、嗅覚受容体を用いたセンサー開発が進まない原因の1つである。

我々は、嗅覚受容体を用いた嗅覚センサー開発を目的に様々な研究を行ってきた。特に、最も重要な嗅覚受容体の獲得とその応答機構の解明に必要な基盤技術開発を行ってきた。種々の嗅覚受容体の共通配列などから、単独での構造安定性が高く、RTP1S/2による補助を受けずに細胞膜に発現できるコンセンサス嗅覚受容体の構築に成功した(Ikegami K. et al. Proc Natl Acad Sci USA (2020) 117:2957-2967.)。コンセンサス嗅覚受容体の一部は、立体構造解析など進んでいるGPCRであるヒトムスカリン受容体M3-Rに匹敵する細胞膜発現性を持つことを確認している。我々は既に多様なリガンドに応答する数種類のコンセンサス嗅覚受容体の構築に成功している。

嗅覚受容体を用いたセンサー開発の報告はいくつかある。これまでに、表面プラズモン共鳴型水晶マイクロバランス、微小電極、ナノチューブ型電界効果トランジスタセンサー、電気化学インピーダンス分光器、カーボンナノチューブなどのセンシングデバイスと嗅覚受容体を組み合わせ、バイオエレクトロニクスノーズの開発に向けてさまざまな試みが行われてきた。しかし、嗅覚受容体の異種細胞発現の難しさが原因となり、開発は困難を極めている。そのため、ほとんどの人工嗅覚センサーは、ラット嗅覚受容体 I7、ヒト嗅覚受容体 hOR17-4 および hOR2AG1 などの少数の構造が安定で発現しやすい嗅覚受容体を対象として開発されている。

2. 研究の目的

コンセンサス嗅覚受容体を基盤とした嗅覚センサーの開発が本研究の目的である。まず、コンセンサス嗅覚受容体を無細胞タンパク質合成系で機能的に発現する方法を確立する。無細胞タンパク質合成系では他の受容体が共存しないので、精製することなくセンサー開発に利用することが可能である。

さらに、発現した嗅覚受容体をグラフェン FET センサーに固定することで、リガンドの嗅覚受容体への結合を測定する技術を開発する。

また、嗅覚受容体とリガンドの結合は1対1でないことから、嗅覚センサーの開発には多数の嗅覚受容体を機能的に発現することが必要である。多様な受容体を獲得するための技術開発も目的とする。

3. 研究の方法

(1) コムギ胚芽無細胞系による嗅覚受容体のリポソーム上への合成と可溶化

N末端にHAタグとRhoタグを付加した嗅覚受容体をコードする遺伝子をpEU-E01-MCSベクターにクローニングし、SP6 RNA polymeraseを用いてmRNAへの転写反応を行った。ProteoLiposome BD Expression Kitを用いて、合成されたmRNAとアゾレクチンを含む翻訳溶液を混合し、透析カップでの重層反応を用いたタンパク質合成反応を行った。透析カップ内液を回収し、遠心分離でリポソーム画分である沈殿を回収した。沈殿をPBSで懸濁した後、再び遠心分離を行い、沈殿を回収する。この手順を3回行った後、沈殿をPBSで懸濁した。アゾレクチンリポソーム上に発現させたcOR52を可溶化溶液と混合し、ローテーターを用いて4°Cで1時間以上転倒混和して可溶化を行った。混和後、遠心分離を行い、上清と沈殿に分離した。沈殿はPBSで懸濁した。可溶化は、HA抗体を用いたWestern Blottingによって確認した。

(2) GFP-mini-Golfの発現・精製

GFP-mini-Golf遺伝子をpET23bベクターに組み込み、大腸菌で発現し、Niアフィニティ

ークロマトグラフィーとゲル濾過クロマトグラフィーで精製した。

(3) GFP-mini-Golf と嗅覚受容体の相互作用解析

嗅覚受容体を発現させたリポソームと GFP-mini-Golf を混合し、リガンドを添加した。そして、遊離 GDP を分解するアピラーゼを添加し、20°C で 90 分間反応させた。その後、遠心し、上清と沈殿に分けてそれぞれを SDS-PAGE で分離し、GFP 抗体を用いた Western Blotting により検出し、ImageJ で定量した。

(4) 化学気相成長法 (CVD 法) によるグラフェンの合成

本研究では、CVD 法によるグラフェン成長の際の金属触媒として銅板を使用した。グラフェン成長に使用する銅板は、銅板上の炭素源を除去するために管状炉を用いて、大気中で 300°C、20 分アニールし銅板を酸化した。3% H₂・97% Ar を 500 sccm 流して 1056°C で 40 分間アニールし、酸化した Cu を還元し、不純物を除去した。この Cu を触媒として、3% H₂・97% Ar を 1500 sccm 及び 5% CH₄・95% Ar を 15 sccm 流し、1055°C で 50 分間加熱してグラフェンの合成を行った。

(5) GFET の作製

フォトリソグラフィ、金属蒸着、リフトオフプロセスを用いて、Si/SiO₂ 基板上に Ti/Au 電極を作製した。その後、PMMA をグラフェンの保護膜として使用する PMMA 転写法により CVD で作製したグラフェン単層膜を金属蒸着後の基板上に転写した。余分なグラフェンは、酸素プラズマでエッチングした。チャンネルの長さは約 5 μm、幅は約 10 μm であった。

(6) GFET への嗅覚受容体固定化

GFET 上に残ったフォトレジストを除去するため、Ar/H₂ 中で 300°C、1 時間のアニールを行った。GFET 上にシリコンゴムプールを作り、チャンネルを囲んだ。厚さ 5 mm のシリコンゴムシートを 15 mm×6.5 mm となるようにカッターナイフで切断し、溶液を入れる部分をくり抜いた。4°C で一晩インキュベートすることにより、可溶化した嗅覚受容体溶液を GFET に吸着させた。その後、GFET を PBS で数回洗浄し、固定化されていない嗅覚受容体を除去した。

(7) 嗅覚受容体修飾 GFET によるリガンド検出

嗅覚受容体修飾 GFET のゴムプールに 1% DMSO を含む PBS を導入した。ゴムプール内は、匂い分子として用意したノナン酸、バニリンの濃度を導入した。濃度調製は PBS (DMSO 1%含有) を用いて行った。参照電極には Ag/AgCl 電極を用いた。GFET の転送特性は、ソースメジャーユニットを用いて、ドレイン電圧 50 mV・5 分間隔で測定した。

4. 研究成果

(1) コンセンサス嗅覚受容体 cOR52 のコムギ胚芽無細胞系によるリポソーム上への合成

コムギ胚芽無細胞タンパク質合成システム ProteoLiposome BD Expression Kit を用いて、コンセンサス嗅覚受容体 cOR52 をアゾレクチンリポソーム存在下で合成した。その後、リポソーム画分を簡易精製した。cOR52 のリポソーム膜上の発現を、SDS-PAGE と anti-HA-HRP-linked 抗体を用いた Western Blotting で行った。cOR52 はアミノ酸 8 残基からなる HA-tag、20 残基からなる Rho-tag が N 末に付加されており、分子量は 35.3 kDa である。目的の位置にメインバンドが確認できたため、小麦胚芽無細胞タンパク質発現系で cOR52 を発現させ、リポソーム膜に挿入することが確認できた。

(2) *in vitro* で合成した cOR52 の機能解析

相互作用実験系により、沈殿するリポソーム画分と上清に分離し、anti-GFP-HRP-linked 抗体を用いた Western Blotting により、リポソーム画分に含まれる GFP-mini-Golf 量を ImageJ により定量評価した。その結果、リポソーム画分中の GFP-mini-Golf の割合は、アゴニストであるノナン酸の濃度が高くなるにつれて増加した (Fig. 1 A, B)。一方で、非アゴニストであるバニリン添加条件では GFP-mini-Golf の割合は変化しなかった (Fig. 1 C, D)。これらの結果から、*in vitro* で合成した cOR52 は機能的であることが確認できた。

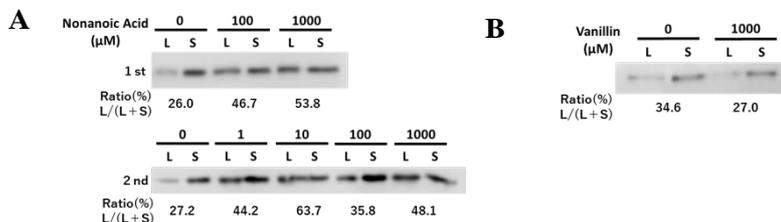


Fig. 1 リポソーム上での cOR52-GFP-mini-Golf 相互作用解析結果

L: Liposome 画分 S: 上清画分

A. ノナン酸添加時の Western Blotting の結果と Liposome 画分の GFP-mini-Golf の割合

B. バニリン添加時の Western Blotting の結果と Liposome 画分の GFP-mini-Golf の割合 (image J により画像解析)

(3) グラフェン電界効果トランジスタ (GFET) への cOR52 の固定化

cOR52 を物理吸着により GFET に固定化することを試みた。まず、GFP と結合した cOR52(cOR52-GFP)を用い、cOR52-GFP をリポソーム膜に発現させ、cOR52-GFP を可溶化した。グラフェン層付きまたはグラフェン層なしの Si/SiO₂ 基板上に、基板上にチャネルを囲むようにシリコンゴムプールを作り、そこへ 1 μM の可溶性 cOR52-GFP を 100 μL 流し込み吸着させた。4°C で一晩インキュベートした後 PBS で洗浄し、蛍光顕微鏡を用いて、基板上に固定化された cOR52-GFP を解析した(Fig.2A)。グラフェン層がある基板とない基板の両方で GFP 蛍光が観察された。グラフェン層のない基板上の蛍光と比較して、グラフェン層で覆われた基板上の蛍光は比較的弱い、これはグラフェンによる消光作用と思われる。同じ手順で、GFET 上に cOR52 を固定化した。AFM 観察により、高分子が GFET 上に固定化されていることが確認できた(Fig. 2B)。

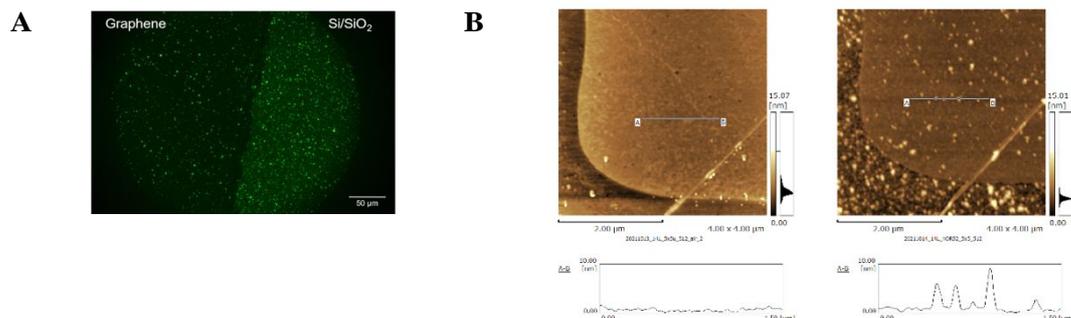


Fig.2 GFET への GFP-cOR52/hOR52 の固定化

- A. グラフェン層有り (左) 無し (右) Si/SiO₂ 基板上の GFP-cOR52 の蛍光顕微鏡観察結果
 B. cOR52 で修飾する前 (左) と後 (右) のグラフェンの AFM 画像

(4)cOR52 固定化グラフェン電界効果トランジスタ(GFET)でのリガンド検出

作製した cOR52-GFET にアゴニストである ノナン酸を 10 nM から 1 mM の濃度で添加した。参照電極として Ag/AgCl 電極を使用した。GFET の伝達特性は、ソースメジャーユニットを用いて、ドレイン電圧 50 mV で、5 分間隔で測定した。cOR52-GFET の伝達特性は、ノナン酸を導入するとゲート電圧が正方向側にシフトすることがわかった(Fig. 3A)。この伝達特性のシフトは、リガンドによる受容体の構造変化により、受容体の電位が変化したことと起因すると考えられる。しかし、非リガンドである匂い分子バニリンは、伝達特性に影響を与えなかった (Fig. 3B)。さらに cOR52 修飾 GFET のディラックポイント電圧 (DPV) のノナン酸濃度依存性を検討した。伝達特性は 5 分ごとに測定し、DPV をプロットした。Fig. 3C は、ノナン酸導入前後の DPV の時間依存性を示している。この結果から、ノナン酸の濃度が高くなるにつれて DPV がシフトしていることがわかる。Fig. 3D は、DPV シフトのノナン酸濃度依存性を示したものである。100 nM から 100 μM の濃度範囲において、直線的な依存性を示している。しかし、1 mM でシフトの著しい増大が見られた。このシフトが cOR52 へのノナン酸の結合によるものであるかを確認するために、100 μM と 1 mM のノナン酸を未修飾 GFET に導入した (Fig. 3E)。その結果、100 μM 導入時は、伝達特性には影響がないことがわかった。一方、1 mM を導入すると、伝達特性が正方向にシフトすることが確認された。これらの結果から、ノナン酸は 1 mM でグラフェン表面に非特異的に吸着している可能性が示唆された。

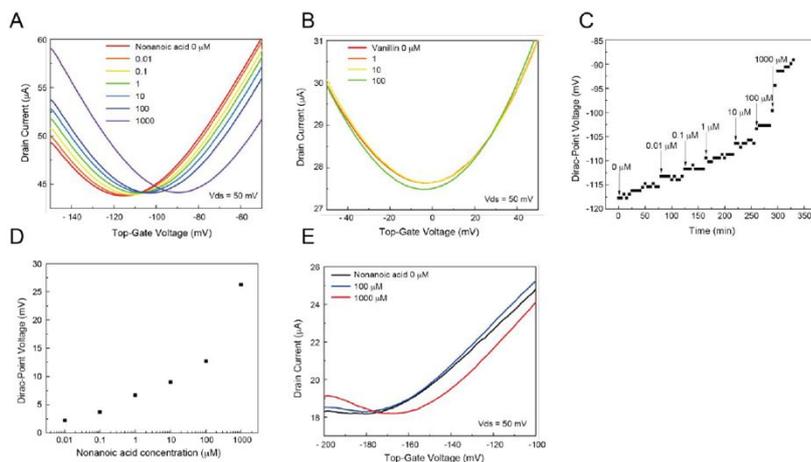


Fig. 3 cOR52 固定化 GFET でのリガンド検出

- A. ノナン酸導入時の伝達特性への影響
- B. パニリン導入時の伝達特性への影響。
- C. ノナン酸濃度の変化に伴うディラックポイント電圧の時間変化
- D. ノナン酸濃度とディラックポイント電圧の相関。
- E. 未修飾 GFET に対するノナン酸の伝達特性への影響

(5) 様々な嗅覚受容体の機能的発現

様々な嗅覚受容体の機能的発現

コンセンサス嗅覚受容体のうち細胞膜発現性の異なる cOR1(膜発現性:高)と cOR6(膜発現性:低)をコムギ胚芽無細胞合成系を用いてアゾレクチンリポソーム膜上へ合成した。その結果、cOR1 と cOR6 でタンパク質合成量に大きな差はなかった。リポソーム上での OR のリガンド応答性確認のため、GFP-mini-Golf 共沈実験を行った。cOR6 のリガンドである S(+)-Carvone および Strawberry aldehyde 添加時に、リポソーム画分における GFP-mini-Golf の存在量比が増えたことから機能性を確認した。また細胞での応答性と同様に Strawberry aldehyde 添加時に強く応答していた。この結果から、細胞膜発現性の低い OR でも、リポソーム膜上に機能的に合成できることを確認した。

野生型嗅覚受容体の機能的な無細胞合成が可能かどうか調べるため、RTP 依存性が異なるマウス由来 Olfir78 (RTP 非依存型) と Olfir978 (RTP 依存型) をプロテオリポソームを含む反応液中で合成した。リポソーム膜上に合成された嗅覚受容体の量は、RTP1S の有無では違いは見られなかった。また、RTP1S の共発現の有無に関わらず Olfir978 はリガンドであるオイゲノール添加により GFP-mini-Golf と結合した。以上の結果から、野生型の嗅覚受容体でも無細胞系で機能的に発現が可能であることが明らかになった。

今後、様々な嗅覚受容体を GFET に固定することで実用的な嗅覚センサーを開発する計画である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Ryosuke Inoue, Yosuke Fukutani, Tatsuya Niwa, Hiroaki Matsunami and Masafumi Yohda	4. 巻 24
2. 論文標題 Identification and Characterization of Proteins That Are Involved in RTP1S-Dependent Transport of Olfactory Receptors	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 7829
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms24097829	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Fukutani Yosuke, Koshizawa Tomoyo, Yohda Masafumi	4. 巻 33
2. 論文標題 Application of Vapor Phase Stimulation Method for Screening of Human Odorant Receptors Responding to Cinnamaldehyde	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sensors and Materials	6. 最初と最後の頁 4203 ~ 4203
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18494/SAM.2021.3588	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Miyagi Mitsuki, Takiguchi Sotaro, Hakamada Kazuaki, Yohda Masafumi, Kawano Ryuji	4. 巻 22
2. 論文標題 Single polypeptide detection using a translocon EXP2 nanopore	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PROTEOMICS	6. 最初と最後の頁 2100070 ~ 2100070
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/pmic.202100070	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kurokawa Nina, Midorikawa Rio, Nakamura Manami, Noguchi Keiichi, Morishima Ken, Inoue Rintaro, Sugiyama Masaaki, Yohda Masafumi	4. 巻 22
2. 論文標題 Oligomeric Structural Transition of HspB1 from Chinese Hamster	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 10797 ~ 10797
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms221910797	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Fukutani Yosuke, Nakamura Yuko, Muto Nonoko, Miyanaga Shunta, Kanemaki Reina, Ikegami Kentaro, Noguchi Keiichi, Ohsawa Ikuroh, Matsunami Hiroaki, Yohda Masafumi	4. 巻 23
2. 論文標題 Hot Spot Mutagenesis Improves the Functional Expression of Unique Mammalian Odorant Receptors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 277 ~ 277
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23010277	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Yoshii Tomoya, Takayama Ikumi, Fukutani Yosuke, Ikuta Takashi, Maehashi Kenzo, Yohda Masafumi	4. 巻 38
2. 論文標題 Development of an odorant sensor with a cell-free synthesized olfactory receptor and a graphene field-effect transistor	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 241 ~ 245
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s44211-022-00073-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hakamada Kazuaki, Nakamura Manami, Midorikawa Rio, Shinohara Kyosuke, Noguchi Keiichi, Nagaoka Hikaru, Takashima Eizo, Morishima Ken, Inoue Rintaro, Sugiyama Masaaki, Kawamoto Akihiro, Yohda Masafumi	4. 巻 21
2. 論文標題 PV1 Protein from Plasmodium falciparum Exhibits Chaperone-Like Functions and Cooperates with Hsp100s	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 8616 ~ 8616
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms21228616	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Komatsu Kei, Kumon Kento, Arita Mayuno, Onitsuka Masayoshi, Omasa Takeshi, Yohda Masafumi	4. 巻 130
2. 論文標題 Effect of the disulfide isomerase PD1a4 on the antibody production of Chinese hamster ovary cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 637 ~ 643
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2020.08.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hu Xiaoyang Serene, Ikegami Kentaro, Vihani Aashutosh, Zhu Kevin W., Zapata Marcelo, de March Claire A., Do Matthew, Vaidya Natasha, Kucera Gary, Bock Cheryl, Jiang Yue, Yohda Masafumi, Matsunami Hiroaki	4. 巻 7
2. 論文標題 Concentration-Dependent Recruitment of Mammalian Odorant Receptors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 eneuro	6. 最初と最後の頁 1~18
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1523/ENEURO.0103-19.2019	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計42件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Masafumi YOHDA
2. 発表標題 Development of an odorant sensor with a cell-free synthesized olfactory receptor and a graphene field-effect transistor
3. 学会等名 Asian Congress on Biotechnology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤芽生、福谷洋介、江口諒、田澤寿明、養王田正文
2. 発表標題 アンモニア応答Gタンパク質共益型受容体の同定
3. 学会等名 第22回日本蛋白質学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤遥、福谷洋介、阿部雅司、江口諒、田澤寿明、松波宏明、養王田正文
2. 発表標題 揮発性硫黄化合物応答哺乳類嗅覚受容体の悪臭抑制香料の探索と抑制原理
3. 学会等名 第22回日本蛋白質学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金牧怜奈、養王田正文、福谷洋介
2. 発表標題 マウス嗅覚受容体のシャペロン非依存的な機能発現に重要なアミノ酸部位の同定
3. 学会等名 第22回日本蛋白質学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 武藤野乃子、福谷洋介、中村祐子、養王田正文
2. 発表標題 ヒトコンセンサス嗅覚受容体のN末端およびC末端欠損の機能的発現に与える影響
3. 学会等名 第22回日本蛋白質学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 武藤野乃子、越澤知世、福谷洋介、養王田正文
2. 発表標題 哺乳類嗅覚受容体のN末端システインの機能発現における役割
3. 学会等名 2022年度 日本味と匂学会第56回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 武藤野乃子、福谷洋介、養王田正文
2. 発表標題 哺乳類嗅覚受容体の細胞膜輸送におけるN末端部位の役割
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤芽生、福谷洋介、江口諒、田澤寿明、養王田正文
2. 発表標題 アンモニア応答Gタンパク質共役型受容体の同定と機能解析
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤遥、福谷洋介、阿部雅司、江口諒、田澤寿明、de March Claire A
2. 発表標題 ヒト嗅覚受容体に対する拮抗作用による硫黄系悪臭知覚の抑制
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 宮良俊汰、福谷洋介、大脇健、黒田浩介、養王田正文
2. 発表標題 嗅覚受容体の機能分析に関わる匂い分子溶媒の検証
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 金牧怜奈、福谷洋介、江口諒、田澤寿明、養王田正文
2. 発表標題 動物種間で保存されている低級アルデヒド応答嗅覚受容体の同定
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高山郁美、福谷洋介、吉井智哉、生田昴、前橋兼三、養王田正文
2. 発表標題 哺乳類嗅覚受容体とグラフェンセンサーを使用した匂い検出システムの構築
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 佐野聖友、高山郁美、福谷洋介、養王田正文
2. 発表標題 無細胞タンパク質合成系を用いたRTP1S依存性嗅覚受容体の生産
3. 学会等名 第95回日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 高山 郁美、福谷 洋介、養王田 正文
2. 発表標題 コムギ胚芽無細胞合成哺乳類嗅覚受容体のmini-G タンパク質を利用した機能解析法の開発
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐野 聖友、福谷 洋介、養王田 正文
2. 発表標題 哺乳類嗅覚受容体のコムギ胚芽無細胞タンパク質合成系におけるReceptor transporting protein の効果
3. 学会等名 第21回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福谷 洋介, 阿部 雅司, 斉藤 遥, 江口 諒, 田澤寿明, 松波 宏明, 養王田 正文
2. 発表標題 気相刺激法を利用した悪臭応答ヒト嗅覚受容体の同定と実用的な阻害剤探索
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高山 郁美, 福谷 洋介, 吉井 智哉, 生田 昂, 前橋 兼三, 養王田 正文
2. 発表標題 mini-G タンパク質およびグラフェンセンサーを利用した哺乳類嗅覚受容体のリガンド検出技術開発
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮良 俊汰, 福谷 洋介, 中村 祐子, 池上 健太郎, 松波 宏明, 養王田 正文
2. 発表標題 部位特異的変異による哺乳類嗅覚受容体の機能発現向上
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 神津 涼奈, 福谷 洋介, 越澤 知世, 廣橋 良彦, 鳥越 俊彦, 養王田 正文
2. 発表標題 大腸がん幹細胞における嗅覚受容体OR7C1の機能解析
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 佐野 聖友、福谷 洋介、養王田 正文
2. 発表標題 哺乳類嗅覚受容体のコムギ胚芽無細胞タンパク質合成系におけるReceptor transporting protein の効果
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 越澤 知世、福谷 洋介、Xiaoyang Hu、松波 宏明、養王田 正文
2. 発表標題 チアゾリン化合物応答嗅覚受容体におけるシステイン残基の機能
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 金牧 怜奈、養王田 正文、福谷 洋介
2. 発表標題 単独で高発現するマウス嗅覚受容体のアゴニスト選択性解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 斉藤 遥、福谷 洋介、阿部 雅司、江口 諒、田澤 寿明、松波 宏明、養王田 正文
2. 発表標題 揮発性硫黄化合物応答哺乳類嗅覚受容体の悪臭抑制香料の探索
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤 芽生、福谷 洋介、養王田 正文、江口 諒、田澤 寿明
2. 発表標題 気相刺激アッセイによるTrace amine-associated receptorsのトリメチルアミン応答解析
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武藤 野乃子、福谷 洋介、中村 祐子、養王田 正文
2. 発表標題 ヒトコンセンサス嗅覚受容体の機能活性におけるN末端およびC末端領域の役割
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高山 郁美、福谷 洋介、佐野 聖友、吉井 智哉、生田 昴、前橋 兼三、養王田 正文
2. 発表標題 mini-Gタンパク質およびグラフェンセンサーを利用した哺乳類嗅覚受容体のリガンド検出技術開発
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Keiichi Noguchi, Kosuke Kanamaru, Yosuke Fukutani, Hirotohi Matsumura, Masafumi Odaka, Masafumi Yohda
2. 発表標題 Study on the Encapsulation Mechanism of Guest Proteins into Bacterial Nanocompartment
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ryosuke Inoue, Yosuke Fukutani, Ryohei Tamaki, Hiroaki Matsunami, Masahumi Yohda
2. 発表標題 Functional and Structural Characterization of RTP1S, a Chaperone of Olfactory Receptors
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masashi Abe, Masashi Asakawa, Hiroyuki Takeda, Hiroaki Matsunami, Masafumi Yohda
2. 発表標題 Functional analysis of mammalian odorant receptor produced with the wheat germ cell-free expression system
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomoyo Koshizawa, Yosuke Fukutani, Aiko Murai, Hiroaki Matsunami, Yoshihiko Hirohashi, Toshihiko Torigoe, Masafumi Yohda
2. 発表標題 Functional analysis of OR7C1 expressed in Colon Cancer-Initiating Cells
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kyoka Shibata, Yumi Goto, Yasuhiro Onoue, Kaori Tsukakoshi, Kazunori Ikebukuro, Masato Hasegawa, Teru Ogura, Masafumi Yohda, Kyosuke Shinohara
2. 発表標題 Direct observation of Hsp104-driven disassembly of α -synuclein fibril
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Natsuki Ohsako, Yui Jin, Yoshinori Ohsumi, Masafumi Yohda
2. 発表標題 Analysis of Autophagy-dependent Degradation Mechanism of Cytoplasmic Chaperonin CCT
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Reona Higuchi, Yoshihiro Tanaka, Jianzhong He, Masafumi Yohda
2. 発表標題 Expression and functional characterization of reductive dehalogenase from Dehalococcoides mccartyi CG4
3. 学会等名 第20回日本蛋白質科学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 足立 拓弥、 渡部 雄斗、 森下 史、 櫻井 香里、 養王田 正文、 若林 貞夫、 佐々木 桂奈江、 吉田 秀郎
2. 発表標題 ゴルジ体ストレス応答コレステロール経路の分子機構
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 黒川 丹那、 中村 真奈美、 守島 健、 井上 倫太郎、 杉山 正明、 養王田 正文
2. 発表標題 CHO細胞由来sHsp, CgHspB1のオリゴマー構造とその温度依存的変化
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 緑川 莉緒、菅野 愛史紗、養王田 正文
2. 発表標題 メタン菌由来sHSPの温度依存性を決定するアミノ酸の同定
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 福谷 洋介、池上 健太郎、養王田 正文、松波 宏明
2. 発表標題 アミノ酸変異による哺乳類嗅覚受容体の異所発現系での機能発現向上
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 越澤 知世、福谷 洋介、村井 愛子、松波 宏明、廣橋 良彦、鳥越 俊彦、養王田 正文
2. 発表標題 大腸癌幹細胞に発現するOR7C1の機能解析
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西島 瑠衣、養王田 正文、池田 秀雄、澤上 一美、古谷 哲也
2. 発表標題 geneLEAD VIIIを用いたqPCRウイルス検出プロトコルにおける、感染性ウイルスの熱不活化の評価
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大迫 菜月、川俣 朋子、神 唯、大隅 良典、養王田 正文
2. 発表標題 細胞質シャペロニンCCTのオートファジー依存的な分解機構の解析
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 和栗 一真、野井 健太郎、柴田 京華、養王田 正文、小椋 光、篠原 恭介
2. 発表標題 Hsp104の開いたコンフォメーションの役割
3. 学会等名 第43回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Masafumi Yohda, Kyosuke Shinohara, Kentaro Noi, Akihiro Kawamoto, Kyoka Shibata, Keiichi Namba, Teru Ogura
2. 発表標題 Structural dynamics and amyloid disaggregation mechanism of Hsp104 from the thermophilic fungus, Chaetomium thermophilum
3. 学会等名 The 2020 virtual meeting on PROTEIN HOMEOSTASIS IN HEALTH & DISEASE (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 組換え嗅覚受容体を搭載したケミカルセンサ素子ないしケミカルセンサアレイ、該ケミカルセンサアレイを用いるケミカルセンサ、及び、該ケミカルセンサ素子を構成する感応膜の生産方法	発明者 福谷洋介、前橋兼三、養王田正文、生田昂、高山郁美、吉	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-136417	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	前橋 兼三 (MAEHASHI Kenzo) (40229323)	東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・教授 (12605)	
研究分担者	福谷 洋介 (FUKUTANI Yosuke) (50747136)	東京農工大学・工学(系)研究科(研究院)・助教 (12605)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
米国	Duke University Medical Center			