

「生物の発生・分化・再生」  
平成13年度採択研究代表者

坂野 仁

(東京大学大学院理学系研究科 教授)

## 「嗅覚系における神経回路形成と再生の分子機構」

### 1. 研究実施の概要

本研究では、高等生物の感覚受容、特に化学情報受容 (chemosensing) を中心に、嗅覚情報処理の分子メカニズムの解明を目ざす。味覚・嗅覚系を介した化学情報の識別は、下等生物の走化性から高等生物のケモセンシングまで、生物の生存に欠かせない摂食行動や、毒物に対する忌避行動、フェロモンを介した性行動などに重要な役割を持つ。

嗅覚系では全遺伝子の約2%を占める約一千種類の嗅覚受容体 (odorant receptor: OR) 遺伝子により、数十万種類の匂い分子が識別されている。匂い分子は、その官能基を介して複数の嗅覚受容体と異なる親和性で結合し、嗅球においてそれら受容体に対応する特定の糸球が結合の度合いに応じて異なる強さで発火し、その発火の二次元的パターンから微妙な匂いの違いを脳が識別すると考えられている。この匂いの地図の形成は、one OR gene - one neuron - one projection site という、基本的ルールによって支えられていることが最近の研究で明らかになってきた。

本研究では、この嗅覚受容体多重遺伝子に見られる mono-allelie な遺伝子選択のメカニズムと、それにより規定される軸索投射の分子機構を明らかにしつつ、嗅覚系における神経回路形成のプロセスの解明を目指している。

### 2. 研究実施内容

#### 1) 遺伝子変換と匂い地図

一般に、同一クラスターに属する相同性の高いOR遺伝子は、嗅球上の近い位置に投射位置を持つ傾向にある。また、化学構造の似た匂い分子に対応する投射先も、嗅球上の特定の場所に局在することが知られている。OR遺伝子は進化の過程で、重複と変異を重ねてその種類を増やし、多様な匂いリガンドに対応してきたと思われるが、嗅球上に形成されると考えられる匂い地図のドメイン構造保持の為、リガンド特異性の類似したOR遺伝子間の塩基配列の差異は、一定の範囲内に保たれる必要がある。当グループでは、遺伝子変換 (gene conversion) が、同一クラスター内に含まれる複数のOR遺伝子の相同性を保つのに積極的に寄与している可能性を指摘した。

## 2) OR遺伝子のクラスターを制御するシス領域

当グループでは、*MOR28*クラスターの上流約90kbのところに、このクラスターに属する複数のOR遺伝子を包括的に制御するシス領域を同定した。この約2kbの領域は、欠失させると下流のOR遺伝子の発現がすべて消失するのみならず、これ迄発現の見られなかった短いコンストラクトにつながると、そこに含まれるOR遺伝子の発現がすべて復活する事が明らかとなった。この制御領域の発見は、OR遺伝子がクラスター単位で制御されていることを示しているが、OR遺伝子が種類選択される際、先ずクラスターが一つ選択される可能性を示唆している。

## 3) 嗅上皮と嗅球のゾーン対応

当グループでは、3' 下流領域を欠失した*MOR29A*遺伝子や、上記のクラスター制御領域を付加した*MOR28*遺伝子ユニット等では、嗅上皮における発現ゾーンの特異性が失われる事を見出した。即ち、これらトランスジーンはすべてのゾーンで発現する。更に、このような遺伝子の嗅球上での投射先を調べてみると、本来の投射先に加えて複数の投射先が新たに出現する事が見出された。これらの観察はOR遺伝子のゾーン特異的な発現が、嗅球上の特定の位置に一对の投射先を持つことと深く関わっている事を示すものとして興味深い。

## 4) 匂いシグナルの制御に関わる新たなタンパク因子

嗅覚受容体に匂い分子が結合したというシグナルは、嗅細胞特異的Gタンパク質 (Golf) と、アデニルサイクラーゼ (ACIII) を経てサイクリックAMP濃度の上昇を引き起こす。それによりサイクリックヌクレオチド依存性チャンネルが開いて、Ca<sup>2+</sup>やNa<sup>+</sup>が流入し、電位差を生じさせる。嗅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タンパク質が複合体を形成していると考えられるが、当グループでは、この繊毛に局在し匂いシグナルの伝達を制御する新たなタンパク質、stomatin-related olfactory (SRO) proteinを同定した。このタンパク質は、興味深いことに嗅上皮特異的に発現し、フェロモン受容に関わる鋤鼻上皮には発現しない。現在このSROタンパク質の機能を解明する為、*sro*遺伝子のノックアウトマウスやdominant-negativeな*sro*遺伝子を持つトランスジェニックマウスの解析を行っている。

## 3. 研究実施体制

坂野 仁グループ

① 研究分担グループ長：坂野 仁（東京大学大学院理学系研究科、教授）

② 研究項目：3サブグループを坂野 仁が総括する

サブグループ1：嗅細胞の分化に伴う嗅覚受容体遺伝子の発現制御機構の解明

サブグループ2：嗅覚系の発生に伴うにおい地図形成の基本原理の解明

サブグループ3：新生・再生時における嗅神経軸索投射の分子機構の解明

#### 4. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

##### （1）論文（原著論文）発表

- Nagawa, F., Yoshihara, S., Tsuboi, A., Serizawa, S., Itoh, K., and Sakano, H.: Genomic analysis of the murine odorant receptor *MOR28* cluster: A possible role of gene conversion in maintaining the olfactory map. *Gene* 292, 73-80 (2002).
- Kobayakawa, K., Hayashi, R., Morita, K., Miyamichi, K., Oka, Y., Tsuboi, A., and Sakano, H.: Stomatin-related olfactory protein, SR0, specifically expressed in the murine olfactory sensory neurons. *J. Neurosci.* 22, 5931-5937 (2002).
- Nagawa, F., Kodama, M., Nishihara, T., Ishiguro, K., and Sakano, H.: Footprint analysis of recombination signal sequences in the 12/23 synaptic complex of V(D)J recombination. *Mol. Cell. Biol.* 22, 7217-7225 (2002).
- Oka, Y., Kobayakawa, K., Nishizumi, H., Miyamichi, K., Hirose, S., Tsuboi, A., and Sakano, H.: O-MACS, a novel member of the medium-chain acyl-CoA synthetase family, specifically expressed in the olfactory epithelium in a zone-specific manner. *Eur. J. Biochem.* 270, 1995-2004 (2002).

##### （2）特許出願

H14年度特許出願件数：0件（研究期間累積件数：1件）