

生命と化学

2020 年度採択研究者

2021 年度 年次報告書

福谷 洋介

東京農工大学 大学院工学研究院

助教

共有結合修飾を伴う哺乳類嗅覚受容体の新規活性化機構

§ 1. 研究成果の概要

哺乳類嗅覚受容のニオイ分子応答において、ニオイ分子と嗅覚受容体間におきる共有結合修飾が活性化を引き起こす新規活性化機構の検証を目的に、前年度に引き続きチアゾリン応答嗅覚受容体のリガンド応答に重要なシステイン残基の同定と合成したアルキル化チアゾリン化合物に対する嗅覚受容体の応答解析とクリック反応試験を行った。また、コムギ胚芽無細胞タンパク質合成法による嗅覚受容体合成法と新規活性化評価法を構築し、その手法をチアゾリン応答嗅覚受容体に対しても試験した。また、トリメチルチアゾリンや低級アルデヒドに対して強く応答する嗅覚受容体の探索を進めた。

まず、2-Methyl-2-thiazoline 応答するマウス Olfr1132 の Alphafold2 による立体構造予測モデルと構築したシステイン変異体の細胞膜局在性などから、N 末端のシステインが分子内ジスルフィド結合を形成する重要残基である可能性が高まった。N 末端のシステインの嗅覚受容体の構造形成への寄与はこれまで報告がなく、他の受容体にも同様の構造形成をするものがあるか調査を進めている。一方、Olfr1132 の第 3 膜貫通ドメインに位置するユニークなシステインが 2-Methyl-2-thiazoline のリガンド結合部位であると示唆された。前年度に合成したアルキル化 2MT を用い、2MT 刺激後にクリック反応を行うことでビオチン化し、プルダウンによって Olfr1132 の検出ができるか検証した。その結果、HEK293T 細胞でのタンパク質発現量の低さなどから明確な評価をすることができなかった。現在、質量分析や構造解析を利用した検証を進めている。また、評価対象候補の嗅覚受容体を広げるため、アルデヒド化合物やトリメチルチアゾリン(TMT)に特徴的な応答をする嗅覚受容体の同定に成功した。これら嗅覚受容体に対して、変異体解析やクリック反応による検出などを行い、分子認識機構解明を進める。

【代表的な原著論文情報】

- 1) *Yoshii T, *Takayama I, *Fukutani Y, Ikuta T, Maehashi K, Yohda M., Development of an odorant sensor with a cell-free synthesized olfactory receptor and a graphene field-effect transistor. *Anal Sci.* 38(2):241-245. (2022) * Equal contribution.
- 2) Fukutani Y, Nakamura Y, Muto N, Miyanaga S, Kanemaki R, Ikegami K, Noguchi K, Ohsawa I, Matsunami H, Yohda M. Hot Spot Mutagenesis Improves the Functional Expression of Unique Mammalian Odorant Receptors. *Int J Mol Sci.*:23(1):277. (2021)
- 3) Fukutani Y, Koshizawa T, Yohda M, Application of Vapor Phase Stimulation Method for Screening of Human Odorant Receptors Responding to Cinnamaldehyde, *Sens. Mater.*, 33(12), 4203-4210. (2021)