

## イモリ嗅上皮における揮発性匂い物質に対する応答の電気生理学的解析

齊藤 美佳 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 中谷 敬 (筑波大学 生命環境系)

## 【導入】

嗅覚は外界の化学物質を受容・感知する感覚で、生命維持に必要な行動をとるために重要な役割を担う。エサの確保や天敵からの逃避行動、生殖活動など個や種の存続に関わる。そのため、嗅覚の受容やシグナル経路について、様々な動物種で研究が進められてきた。

外界には様々なにおい物質が混在している。今回は単一の匂い物質、混合した匂い物質をそれぞれ投与し、その応答性の違いを明らかにするために、電気生理学的解析を行った。

## 【材料と方法】

動物業者から購入した成体のアカハライモリ (*Cynops pyrrhogaster*) を雌雄区別することなく使用した。まずイモリを断頭し、すぐに針で脊髄を破壊した。切り落とした頭を、イモリ Ringer 溶液 (組成: NaCl 110 mM, KCl 3.7 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, CaCl<sub>2</sub> 3 mM, Na-HEPES 2 mM, Na-pyr 1 mM, D-Glucose 15 mM, pH 7.2) で満たしたチャンバーに移し、針で頭を固定した。実体顕微鏡下ではさみを使用して鼻孔から切り込みを入れ、両頬上皮を除去し、嗅上皮を露出させた。

嗅上皮からの電気シグナルは EOG (electro-olfactogram) 記録法によって記録した。露出させた嗅上皮にガラス電極を密着させることで、電極周辺の複数の細胞の応答を加算した電流を記録できる方法である (Ottoson, 1956)。ガラス電極は micropipette puller (Sutter instrument; P-97) を用いて作製し、電極内は Ringer 溶液で満たした。ガラス電極内と不関電極には、分極を抑えるために塩化銀でコートした銀線を使用した。

匂い物質には揮発性匂い物質である n-amyl acetate、isoamyl acetate、cineole、limonene の 4 種を用いた。単一匂い物質溶液・混合溶液ともに Ringer 溶液で 0.05% に調製した。

匂い刺激は、Ringer 溶液を刺激溶液に素早く交換することでイモリ嗅上皮に投与した。Ringer 溶液は、刺激溶液投与時以外は常にチャンバー内に供給され、吸引ポンプで素早く排出した。刺激物質溶液は記録開始 1 秒後に、1 秒間投与し、素早く吸引した。

## 【結果と考察】

嗅上皮に刺激溶液を投与すると、電位応答が観察され、刺激がなくなると次第に元の電位に戻っていった (図 1)。

単一の匂い物質を投与したときの応答の大きさは、n-amyl acetate (N) では  $523 \pm 24 \mu\text{V}$  (平均  $\pm$  標準誤差)、isoamyl acetate (I) では  $494 \pm 60 \mu\text{V}$  であった。一方、混合匂い物質を投与したときの応答の大きさは、N-I 混合液では  $264 \pm 40 \mu\text{V}$  であった。以上の結果から、単一の匂い物質に対する応答よりも混合匂い物質に対する応答の方が小さくなることが明らかになった。

脊椎動物の嗅覚受容体遺伝子は、1 つの嗅細胞に 1 種類の嗅覚受容体が発現する「1 細胞 1 受容体」という発現様式をとってい

る。また、嗅上皮に存在する嗅細胞で匂い物質を受容すると、嗅細胞はその軸索を嗅球へ投射し、糸球体という構造を形成する。以上のことから、1 つの糸球体は同じ嗅覚受容体を発現する嗅細胞に神経支配されている。混合溶液の場合は嗅細胞自体、あるいは近接する嗅細胞や糸球体間で抑制作用が働くことで、匂いの識別が行われていると考えられる。

## 【今後の展望】

イモリは両生類であり、揮発性匂い物質だけではなく水溶性物質のアミノ酸なども嗅覚で知覚することが知られている。アミノ酸投与においても同様の応答が見られるのか、検証が必要である。また揮発性匂い物質の受容機構は、アデニル酸シクラーゼを媒介したシグナル経路が明らかになっている。今後はニューロンの相互作用の同定や機能解明が期待される。

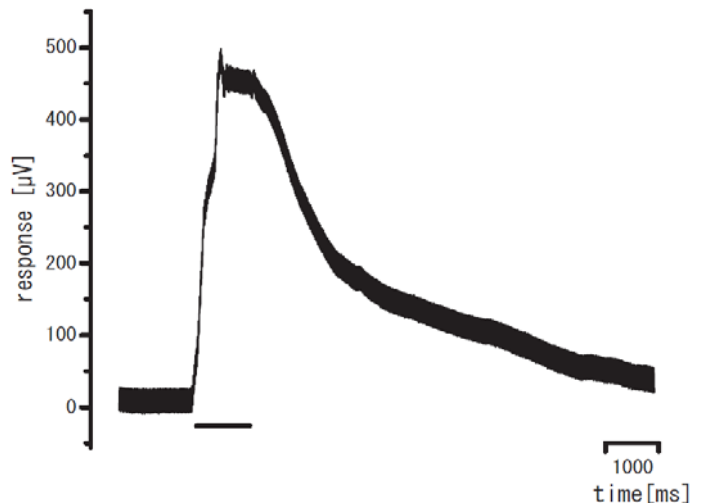


図 1. 揮発性匂い物質に対する嗅上皮の応答。バーは刺激物質を与えた時間を示す。