

## ヌタウナギの嗅覚受容

大井 雄介 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 鈴木 大地 (筑波大学 生命環境系)

## 【背景と目的】

美味しそうな匂いに食欲をそそられたり、悪臭が漂う路地を避けたりといった経験は誰しもあるだろう。このように匂いの感知は、我々ヒトを含めた脊椎動物において、餌や生殖相手の探索、危険の回避などの行動を引き起こす。つまり、嗅覚は脊椎動物が世界を認識し、応答する過程において重要な役割を担っている。では、なぜ我々や脊椎動物は匂いを感じるのだろうか。この問いに答えるアプローチのひとつは、脊椎動物が進化の過程でどのように匂いを感知する仕組みを獲得してきたか、つまり脊椎動物の進化における嗅覚系の起源と多様化を調べることである。

現生の脊椎動物は、哺乳類、爬虫類、両生類、魚類を含む顎口類と呼ばれる系統と、円口類という系統の大きく二つに分けられる。脊椎動物の初期の段階で分岐したとされる円口類はヤツメウナギとヌタウナギからなり、顎をもたないなどの原始的な特徴を多く残す系統群である。したがって脊椎動物の嗅覚系の起源を明らかにするために、円口類の嗅覚系を調べるのが鍵となる。

ところが円口類において、ヤツメウナギとヌタウナギはそれぞれの生態を反映して嗅覚系に大きな違いがある。とくにヌタウナギは深海適応のため嗅覚系がよく発達しており、円口類の祖先的な形質とヌタウナギ独自の派生的な形質を見極める必要がある。

以上の背景のもと、本研究ではヌタウナギの嗅覚受容メカニズムの解明を目指し、嗅覚受容体遺伝子の探索と系統解析、発現解析を行った。加えて、電気生理的手法による嗅覚受容における嗅上皮の電気的な応答を調べた。

## 【材料と方法】

## ・遺伝子探索と系統解析

Ensembl のヌタウナギ *Eptatretus burgeri* のゲノムデータベースから、脊椎動物の嗅覚受容体遺伝子 (mOR, TAAR, V1R, V2R) を対象として Reciprocal Blast Hit を抽出し、ヌタウナギ嗅覚遺伝子の候補遺伝子を探索した。見つかった候補遺伝子について、他の脊椎動物の嗅覚受容体遺伝子を含めた分子系統解析を行い、脊椎動物の嗅覚受容体遺伝子の分子系統樹におけるヌタウナギ嗅覚受容体候補遺伝子の位置を調べた。

・*in situ* hybridization 法を用いた遺伝子発現解析

遺伝子探索で見つかった mOR、V1R、V2R 候補遺伝子の一部について、ヌタウナギ成体の嗅上皮を用いて切片 *in situ* hybridization を行い、発現を調べた。

## ・嗅電図 (EOG) の記録

ヌタウナギとカワヤツメ *Lethenteron camtschaticum* 成体の嗅上皮を採取し、生理食塩水で灌流した。参照電極を嗅上皮の下部に配置し、記録電極を嗅上皮表面に接触させその周辺の細胞の神経活動を記録した。いくつかのアミノ酸溶液 (Gln/Arg,  $10^{-3}$  M) を記録電極付近の嗅上皮に噴射し、におい物質に対する嗅細胞の膜電位の変化を測定した。

## 【結果】

## ・遺伝子探索と系統解析

遺伝子探索では、ヌタウナギの嗅覚受容体遺伝子の候補として 19 個の mOR、1 個の V1R、約 40 個の V2R が見つかった。TAAR は今回の探索法では見つからなかった。

mOR の系統解析では、ヌタウナギ mOR 候補遺伝子は、mOR type1 のサブファミリーに含まれることがわかった。V1R の系統解析では、ヌタウナギ V1R 候補遺伝子は V1R3 と V1R4 サブファミリーの外側に位置した。V2R の系統解析では、ヌタウナギ V2R 候補遺伝子の多くが単系統群を成し、既知のサブファミリーの姉妹群となった。

## ・発現解析

発現解析を試みた嗅覚受容体候補遺伝子の少なくとも一部で、嗅上皮において嗅細胞特異的と思われる発現パターンが観察された (下図)。

## ・嗅細胞の応答の測定

ヤツメウナギでは、Gln  $10^{-3}$  M を繰り返し噴射した際に、嗅細胞の応答を記録できた。さらにヌタウナギでも、Arg  $10^{-3}$  M を噴射した際に、嗅細胞の応答を記録できた。

## 【考察・展望】

今回の系統解析の結果および先行研究を踏まえると、mOR、V1R、V2R (および TAAR) は脊椎動物の共通祖先の段階で獲得されたと考えられる。とくに V2R はヌタウナギにおいて大幅に増加しており、深海適応に伴う嗅覚の発達との関連が示唆される。

嗅覚受容体候補遺伝子の発現については、一部で嗅細胞特異的と思われる発現パターンが観察されたが、確証を得るためにはさらなる実験が必要である。また、蛍光 *in situ* hybridization 法を用いて嗅細胞マーカーとの多重染色を行い、嗅覚受容体遺伝子が嗅細胞で特異的に発現が見られるかを検証する計画である。

嗅電図については、ヤツメウナギとヌタウナギの嗅細胞の応答が確認され、アミノ酸の嗅覚受容を行なっていることが確かめられた。今後はアミノ酸の種類や濃度を変えた際の嗅細胞の応答を記録することにより、嗅覚受容の特性を調べる予定である。

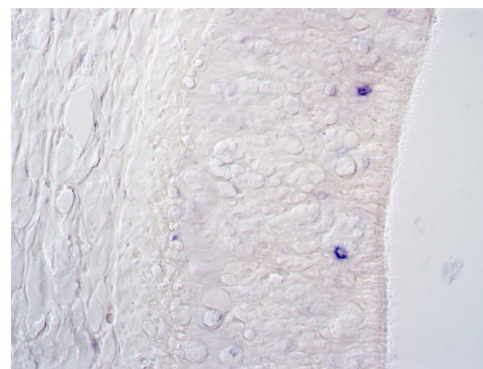


図: 嗅上皮における mOR7 の発現