

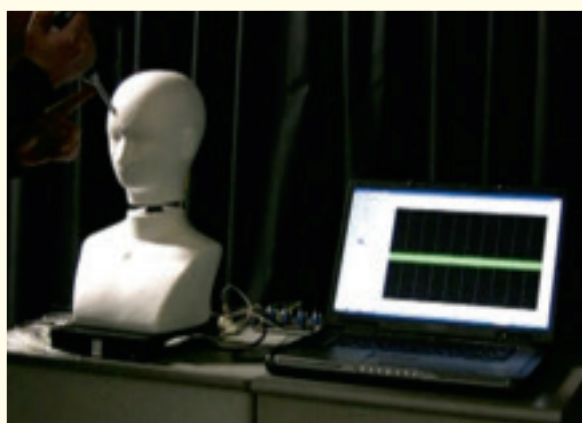
2012
ニュースレター “おかいこさま”

No.22

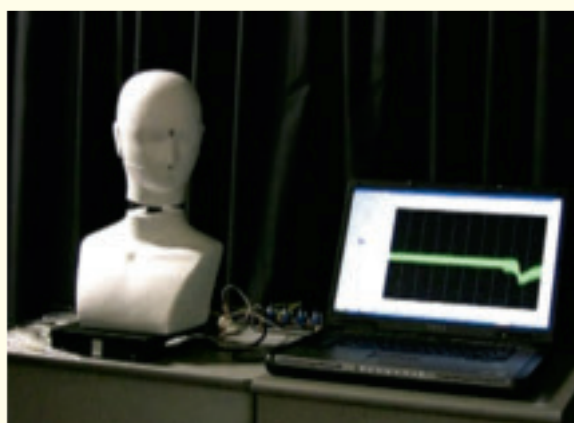
*National
Bio-Resources
Project "Silkworm"*

ナショナルバイオリソースプロジェクト「カイコ」情報誌
平成 24 年 4 月 15 日発行 第 22 号
<http://www.nbrp.jp/index.jsp>

フェロモン刺激前



フェロモン刺激後



匂いセンサを搭載したロボット

マネキンの内部にセットされた匂いセンサがフェロモンを感知すると、モーターが作動して左右に首を振る仕組みになっている。開発した匂いセンサがロボットに搭載しても使用できることが確認できた。

●昆虫の嗅覚受容系を再現した高機能な匂いセンサの開発

ーカイコガ性フェロモン受容体をモデルにー

光野 秀文、神崎 亮平

東京大学先端科学技術研究センター
生命知能システム 神崎一高橋研究室

我々の身の周りには、アロマセラピーの分野でも利用されるハーブや果実の香りのような匂い成分や、人体に悪影響を及ぼす住宅内の塗装やタバコの煙のような匂い成分など、多種多様な揮発性物質が存在します。人体に悪影響を及ぼす匂い成分は、微量で効果を示すものや、瞬時に効果が表れるものなど様々であり、安心・安全な社会づくりのため、これら微量の揮発性物質を正確かつ迅速に検出できるセンサの開発が望まれています。これまでは主に、匂い物質の吸脱着を物理的に検出できる水晶振動体や金属酸化半導体など、工学技術に基づく匂いセンサが開発され、一部は実用化されていますが、温湿度の変化に弱く感度が不十分（水晶振動体）、匂い脱着に高温処理が必要とされ、応答の復元に時間を要する（半導体）などの課題があります(1)。我々はこれらの課題を解決する革新的技術の確立を目指して、昆虫の優れた嗅覚受容機構に着目し、高感度かつ高選択的に匂い物質をリアルタイムに感知できるセンサの開発を進めています。

【何故、昆虫の嗅覚受容機構に注目するのか】

昆虫は、繁殖、採餌、外敵感知など種々の生命活動に匂い情報を利用しているため、環境中に存在する多様な匂い分子を高感度かつリアルタイムに検出する機構を備えています。近年、昆虫のこの優れた嗅覚受容機構が分子レベルで明らかにされ、触角で発現する昆虫に特異な嗅覚受容体によって高感度かつリアルタイムな匂いの検出が成し遂げられることがカイコガ等を材料にした研究で分かってきました。昆虫の嗅覚受容体は、もともと哺乳類と同じGタンパク質共役型の受容体と考えられてきましたが、Orco (olfactory receptor co-receptor) と呼ばれる補助タンパク質とともに機能するイオンチャネル型受容体であることが分かってきました。このタイプの受容体は、リガンドが相互作用する部位とイオンが流入する部位を併せ持ち、リガンド（特定の受容体に特異的に結合する低分子の化合物；ここでは匂い物質を示す）の結合から数10ミリ秒もの速さでイオン流入を引き起こす迅速性があります(図1)(2)。また、匂いを選択的に感知しているのがこの嗅覚受容体であり、その特異性が高いことも明らか

にされています(3)。嗅覚受容体は現在までに様々な昆虫種から100種類以上同定されており、それぞれが異なる匂い応答特性を示すことも明らかにされてきました(4)。このように、昆虫の嗅覚受容体自体が高感度性とリアルタイム性を併せ持ち、受容体の種類が豊富であることから、昆虫の嗅覚受容体の機能を再現し、匂い応答を検出できるシステムを構築すれば、様々な匂いを高感度かつリアルタイムに検出できる匂いセンサを開発できると考えたわけです。

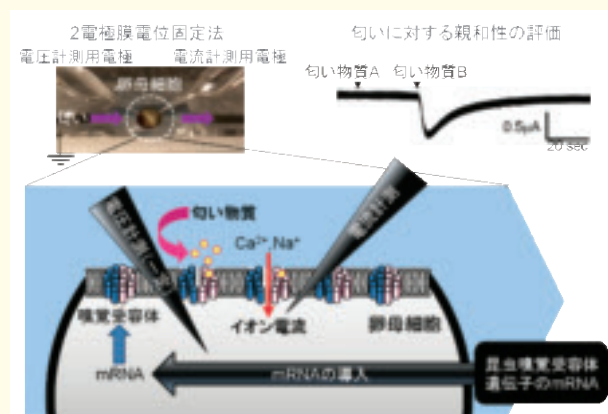


図1. 昆虫の嗅覚受容体の酵母細胞での発現と2電極膜電位固定法による機能解析

【昆虫の機能を再現した匂いセンサ素子の構築】

従来、薬理学の分野では、受容体の機能解析手法としてアフリカツメガエルの酵母細胞（以下、酵母細胞）や培養細胞が利用されています。その中でも酵母細胞は、①目的遺伝子のmRNAを導入するだけで容易に受容体タンパク質を機能発現できる、②直径が1mm程度と大きいため、2電極膜電位固定法と呼ばれる電気生理学的手法で、細胞で生じる微弱なイオン電流を感度良く計測することができる、といった利点があります(図1)。そこで、受容体を発現させた酵母細胞がセンサ素子として利用できるかどうかを評価するために、チップ上で匂いに対する電気応答の計測を試みました。カイコガの性フェロモンであるボンビコールやボンビカールの受容体(BmOR1、BmOR3)、キイロショウジョウバエの一般臭受容体(DOr85b)、コナガの性フェロモン受容体(PxOR1)を発現させた酵母細胞を対象に、2電極膜電位固定法による電気応答の計測を行った結果、酵母細胞は受容体の匂い応答を再現でき、ppbレベルもの高感度で匂い物質を検出できることが分かりました。これらの結果から、受容体を発現させた酵母細胞は匂いセンサ素子として利用できることが分かりました(図2)(5)。

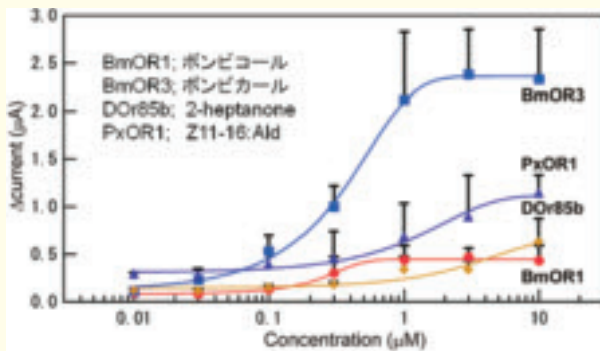


図2. 昆虫の嗅覚受容体を発現させた卵母細胞のチップ上での濃度依存応答（参考文献5から改変して引用）

【匂い物質を識別できるセンサの開発】

さて、複数の匂い物質を検出できる匂いセンサを開発するためには、匂い応答を電気情報に変換できるセンサ素子である複数の卵母細胞から、同時に電気情報を検出できるシステムを構築する必要があります。一般に匂いセンサは、検出対象となる匂い物質に反応する複数のセンサ素子のアレイによって構成されています。つまり、異なる嗅覚受容体を別々に発現させた卵母細胞（センサ素子）を、チップ上でアレイ化（並列化）し、それぞれの細胞からの応答を検出できれば、1つのチップで複数の匂いを検出できる匂いセンサを構築できるわけです。そこで、東京大学生産技術研究所の竹内昌治准教授、三澤宣雄特任助教（現、豊橋技術科学大学）と共同し、卵母細胞をアレイ化しました（図3）。図3の匂いセンサチップでは、カイコガの2種類の性フェロモン受容体（BmOR1、BmOR3）を導入しました。このチップに対してボンビコール刺激した場合はBmOR1を発現する卵母細胞のみ、ボンビカール刺激ではBmOR3を発現する卵母細胞のみの電気情報が検出できました（図3）（5）。つまり、1つのチップで2種類の匂い物質を識別できる匂いセンサが構築できたわけです。

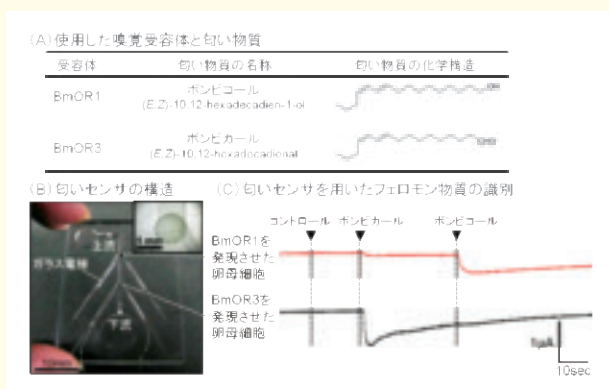


図3. 昆虫の嗅覚受容体を発現させた卵母細胞を利用した匂いセンサの構造と応答（参考文献5から改変して引用）

本研究の匂いセンサは、嗅覚受容体の中でも特に特異性の高いカイコガの性フェロモン受容体をモデルとすることで初めて実現できたものです。一般臭受容体にも応用可能ですが、一般臭受容体は複数の匂い物質に対してそれぞれ異なる強さの電気応答を示すので、今後、それぞれの卵母細胞から取得される応答パターンを解析できれば、希望する匂い物質を嗅ぎ分けられる匂いセンサが開発できるものと期待できます。

【今後の課題】

現状の卵母細胞を利用した匂いセンサでは、ライフタイム、電気計測の安定性が今後の課題として挙げられます。細胞を利用した匂いセンサの実用化のためには、ライフタイムが長く、安定した計測を可能にする匂いセンサ素子が要求されます。我々はこの課題を解決するために、ヨトウガ卵巣由来の培養細胞（Sf21細胞）を利用した匂いセンサ素子の開発も進めています。Sf21細胞は無限分裂する細胞であり、導入した遺伝子を永続的に発現する安定発現システムを樹立できる細胞として知られています。現在、昆虫の嗅覚受容体とカルシウム感受性蛍光タンパク質を発現させることで、匂いを蛍光変化量として容易に検出できるSf21細胞システムの樹立に成功しており、この細胞システムが卵母細胞と同等の感度及びリアルタイム性をもつ匂いセンサ素子として利用できることが分かってきました。今後、このような長期間かつ容易に応答を検出することができる細胞を利用することで、細胞を利用した匂いセンサ実現の可能性が飛躍的に高まるものと確信しています。

（本研究は、東京大学生産技術研究所の竹内昌治准教授、三澤宣雄特任助教（現、豊橋技術科学大学）との共同研究で行ったものです。）

参考文献

- (1) Arshak K. et al., Sensor Review, 24(2), 181-198 (2004).
- (2) Sato K. et al., Nature, 452(7190), 1002-1006 (2008).
- (3) Wang G. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 107(9), 4418-4423 (2010).
- (4) Glatz R. and Bailey-Hill K., Prog. Neurobiol., 93(2), 270-296 (2011).
- (5) Misawa N. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 107(35), 15340-15344 (2010).

分譲可能なリソースの紹介

●九州大学（中核機関）

NEW！ 2012年度の飼育スケジュール

表を目安に連絡を頂ければ分譲します。時期が合わない場合には中核機関九州大学までご連絡下さい。

時期	孵化日	幼虫時期	蛹時期
1期	5月11日	5月11～31日	5月31～6月10日
2期	6月29日	6月29～7月19日	7月19～29日
3期	8月17日	8月17～9月6日	9月6～16日
4期	10月4日	10月4～24日	10月24～11月3日
5期	11月21日	11月21～12月11日	12月11～21日

リソース情報はSilkwormBaseをご利用下さい。

カイコリソースの総合データベースとして、SilkwormBaseを遺伝学研究所と共同で作成して公表しています。系統の持つ特性情報や遺伝子記号、文献に関する情報が検索できます。

<http://www.shigen.nig.ac.jp/silkwormbase/index.jsp>

SilkwormBaseのご不明な点はいつでもお問い合わせください。

●農業生物資源研究所（サブ機関）

ゲノム改変カイコ

他生物の遺伝子を導入する事により、新たな遺伝資源の作出と利用を図る目的で収集を行っています。GAL4-UASシステムを用い、GEPを用いた蛍光カルシウムセンサーであるG-CaMPを生体内に発現するカイコの収集を行っています。種々のゲノム改変カイコを保有しているため希望者には必要な手続きの上、分譲が可能となっています。

〈問い合わせ先〉瀬筒秀樹 hsezutsu@affrc.go.jp

●東京大学（サブ機関）

カイコのBACクローン、fosmidクローン、cDNAクローン、クワコのfosmidクローン、およびエリサンのcDNAクローンを分譲しています。カイコとエリサンのcDNAについては、以下のウェブサイトではBLASTなどにより検索することができます。

<http://morus.ab.a.u-tokyo.ac.jp/> ほかに未整理の情報もあるので、不明な点は下記へお問い合わせください。

〈問い合わせ先〉嶋田 透 toru@ss.ab.a.u-tokyo.ac.jp

●信州大学（サブ機関）（野蚕関係）

卵100粒以上、幼虫・蛹・成虫のいずれか20頭以上をご希望の場合は予めご相談ください。これらの場合は準備の都合上ご利用予定の一か月以上前にご連絡くださいますようお願い申し上げます。管理、質の向上に一層の努力を重ねたい思いを強くしてお

ります。お問い合わせは下記までお願いします。

〈問い合わせ先〉梶浦善太 zkajiur@shinshu-u.ac.jp

種名	ステージ	時期	提供
ヤママユガ	卵（休眠状態）	9月～翌年6月	～100粒
	幼虫	6月	～20頭
	蛹	7月～8月	～20頭
サクサン	成虫	8月	～20頭
	卵（非休眠）	4月～8月	～100粒
	幼虫	6月～8月	～20頭
エリサン	蛹（休眠）	9月～翌年4月	～20頭
	成虫	4月～8月	～20頭
	卵（非休眠）	隔月	～100粒
エリサン	幼虫	隔月	～20頭
	蛹（非休眠）	隔月	～20頭
	成虫	隔月	～20頭

卵は微粒子病検査済みです。

ニュースレター“おかいこさま”について

日本では蚕（かいこ）は国の財政を支える重要な農業生物でした。農家で大切に飼育される蚕は家のお座敷で養われる程で、いつの頃からか、一介の昆虫に過ぎないカイコは「おかいこさま」「お蚕（こ）様」と呼ばれ今日に至っています。カイコは日本人にとって特別な昆虫です。皇居内のご養蚕所では皇后様が毎年、「おかいこさま」を養われているのだそうです。

「おかいこさま」は世界の何処にもない日本独自のバイオリソースです。日本発のライフサイエンス素材からオリジナルな研究を展開する情報誌の名前として用いています。

●災害に備えて—蚕種庫用発電機設置—

2011年度の特別予算で蚕種庫（蚕卵保存用冷蔵庫）の電源喪失を防ぐ一環として設置しました。



ニュースレター“おかいこさま”編集・発行

☎812-8581

福岡市東区箱崎6-10-1九州大学大学院農学研究院

遺伝子資源開発研究センター内

ナショナルバイオリソースプロジェクト

「カイコ」中核機関代表 伴野 豊

TEL 092-624-1011 banno@agr.kyushu-u.ac.jp

