

解説

匂いとフェロモン受容に関わるタンパク質

佐藤 令一

東京農工大学大学院生物システム応用科学研究科生物相関システム研究室

(平成 10 年 2 月 20 日受理)

Functional Proteins in Odorant and Pheromone Olfactory Reception

Ryoichi SATO

Laboratory of Molecular Mechanism of Bio-Interaction, Graduate School of Bio-Applications & Systems Engineering, Tokyo University of Agriculture and Technology, Koganei, Tokyo 184-0012, Japan

はじめに

脊椎動物や昆虫の匂いとフェロモンの受容機構に関する研究が今ようやく分子のレベルで行われ始めている。ところで脊椎動物と昆虫はそれぞれ後口動物と前口動物の代表的生物であり、それぞれは別々の進化の道を辿った生物として知られる。しかし、昨今の様々な研究の成果により、形態的には明らかに特徴を異にするこれらの生物が、案外類似した分子で構成する類似したシステムを用いて生きていることが明らかになってきた。特に、生物が生きて行く上で根源的な、言い換えるならばこれらの生物が進化の道筋で分岐する以前から用いていたような古くから必要であったシステムについては、かなり共通なものを今でも両者は利用しているようである。一方、匂い受容システムは、例えば走化性に関与する物質認識システムのように単細胞生物にさえある、細胞の周りの環境を認識するための極めて生物に根源的なシステムに由来すると考えられている。よって、匂い受容システムは前口動物にも後口動物にも共通な面を持つものと期待できる。そこで、本稿では前口動物である昆虫と後口動物である脊椎動物に関する昨今の匂いとフェロモンの特異的受容に機能する分子とシステムに関する研究についてまとめることを試みた。この作業が、まだ研究が始まったばかりで混沌としている匂いとフェロモン受容に関する諸説を相補いながら概観するための、あるいは脊椎動物の研究に比べれば遅れている昆虫の匂いとフェロモンの受容システムの研究を展望するための一助になれば幸いである。

哺乳類の匂い結合タンパク質の構造と機能

哺乳動物の匂い受容器官である鼻腔の前方部や側部には約 20 kDa の匂い結合性のタンパク質, odorant binding protein (OBP) が存在することが示された^{1,2)}。その後の遺伝子解析の結果、このタンパク質は retinol binding protein (RBP), β lactoalbumin, probasin 等の ligand binding carrier である lipocalin ファミリー (表 1) の一員であることが明らかになった³⁾。また動物によっては 3 から 9 種類程度 (マウス 5 種⁴⁾, ウサギ 3 種⁵⁾, ヤマアラシ 9 種⁶⁾) のよく似た遺伝子が存在し、OBP サブファミリーを形成することも明らかになってきた。一方、後に述べるように、臭粘膜上にあり、匂い受容体であると考えられる膜 7 回貫通 G タンパク質共役型のタンパク質には数百から一千もの種類があると予想されている。よって、これらのことが事実であるならば、1 種類の OBP は多くの匂いをカバーしており、OBP の匂い分子に対する結合の特異性は低いと予想される。事実、ある一つの OBP はヒトが匂いとして感じる多くの物質に対して高い親和性で結合した。一方、ヒトが匂いとして感じにくい物質に対する結合の親和性は低かった。この結果から、OBP が匂いとして感じる物質の広義の識別に関与していることが示唆された^{7,8)}。また、この様な OBP の性状や機能は X 線回折像を基にして作られた三次構造モデルからも推し量ることが出来る。すなわち、OBP は他の lipocalin と同様 β バレル構造をとっており、 β バレルのほぼ中央の間隙に匂い分子を捕獲するが、その間隙のスペースは広く、様々な脂溶性の物質が入り込むことのできる構造を持っている (図 1)^{9,10)}。

ところで嗅粘膜の匂い受容体は嗅覚を司る匂い細胞の繊

表1 Lipocalin ファミリーに属するタンパク質

タンパク質	種	存在もしくは産生場所	結合物質
Odorant binding protein	ラット他	鼻粘膜 (前部と側部)	脂溶性低分子 (匂い分子)
Odorant binding protein II	ラット	副鼻腔粘膜, 鼻粘膜 (後部)	不明
von Ebner's grand protein	ヒト	舌のエブナー腺, 涙腺	不明
Major urinary protein(s)	マウス	雄の尿, 涙腺, 顎下腺他	不明
Aphrodisin	ハムスター	腔, バルドリン氏腺	不明
Insecticyanin	タバコスズメガ	体液	Biliverdin
Crustacyanin A2	ロブスター	体液	astaxantin
Retinol binding protein	ウシ他	血液	retinol
β lactoglobulin	ウシ他	乳	脂溶性物質 (retinol)
Purpurin	ニワトリ	網膜	retinol, heparin
Probasin	ラット	前立腺	androgen

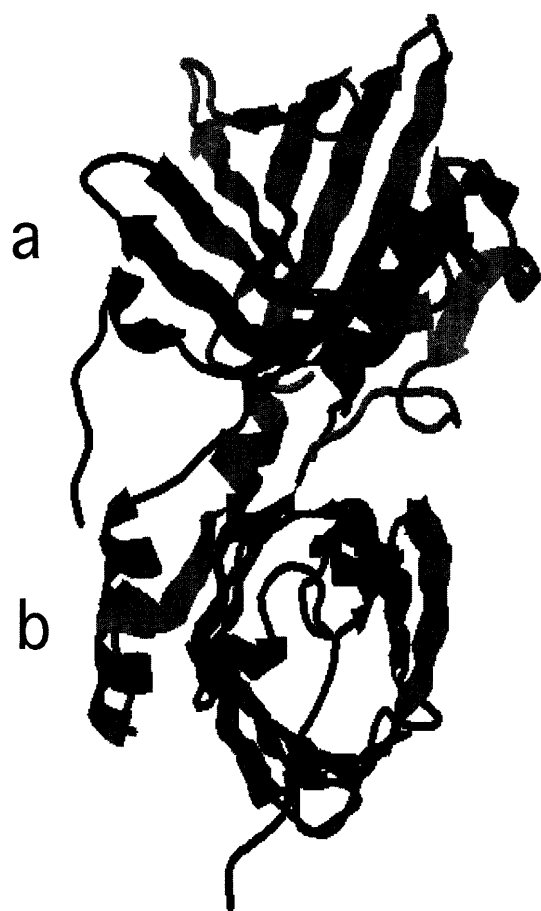


図1 OBP の3次構造モデル

Protein Data Bank pdbu:1PBO より引用した OBP 2 量体の3次構造モデル. a は側方からの概観. b は OBP の逆平行 β バレルの穴の方向からの概観.

毛上に存在する. 当然のことながら, 匂い細胞は細胞であるからには, 体液あるいは粘液に覆われていなくては生存が不可能であり, 事実匂い細胞は粘液で覆われている. 一方, 匂い分子は揮発性で疎水性であり, 水溶性が低い. よって, 絨毛上の匂い受容体のところまで匂いが効率的に行き着くには何らかの機構が必要であると考えられる. この様な匂い受容機構の謎に OBP が関与するとの考えが提唱さ

れている. すなわち, OBP は鼻粘膜の粘液中にあり, しかもそこに存在するタンパク質の1%を占めるほど高濃度で存在するが, OBP は気相に存在する匂い物質を捕らえ, 粘液中を移動して匂い分子を細胞上の匂い受容体に効率的に受け渡す機能を持つと考えられて来た²⁾.

以上のような研究成果を眺めると OBP の匂い運搬機能については疑う余地がないように見えてくる. しかし, OBP が膜7回貫通 G タンパク質共役型匂い受容体に匂い分子を提示する機構に関しては具体的には何一つ明らかになっていない. X 線回折像から得られた匂い分子と OBP の結合モデルから類推する限り, 匂い分子は OBP の β シートの内側に深く入り込んでいると考えられる⁹⁾. したがって, 匂い受容体が匂い分子を識別する過程には, 匂い分子の OBP からの取り出しの過程と匂い受容体への匂い分子の特異的な結合の過程が必要であるかも知れない. 一方, 匂い受容体は OBP 非存在下でも匂い分子を受容し¹¹⁾, シグナルを G タンパクに伝達できることも示されている^{12,13)}. したがって, OBP が本当に匂いの受容システムに必須の分子であるとの位置づけを得るには, 匂い受容細胞の膜上で匂いのシグナルが電気信号に変換される過程に OBP が必須の役割を果たしていることが明らかにされる必要がある.

ところで, 同じ lipocalin ファミリーの一員である plasma retinol binding protein (RBP) は肝臓から各組織へビタミン A の前駆体として知られる retinol を運搬するタンパク質であり, retinol を結合した RBP はその 60~70 残基領域を中心に構成される構造で目的組織の細胞膜上にある 63 kDa の RBP の受容体に結合して細胞に retinol を渡し^{14,15)}, retinol を渡した後構造が変化して¹⁶⁾, 受容体から解離するとされている^{17,18)}. また, cDNA の解析により, この 63 kDa の RBP 受容体は既知の何れのファミリーにも属さない, α ヘリクスから成るシグナル配列や膜貫通領域が予想できない, たぶん β シート型の全く新しいファミリーの膜タンパク質であることが明らかになった¹⁹⁾. このように lipocalin ファミリータンパク質には結合した脂溶性の物

質を lipocalin ファミリーのタンパク質の受容体を介して細胞に渡す機能が示唆されているものがある。一方、匂い分子に対してではなく、OBP 自体に対する受容体が呼吸器官の上皮細胞や嗅粘膜上に存在するとの報告がある。しかし、この受容体は匂い物質の受容体が存在する嗅纖毛上には見られない²⁰⁾。これらのことから OBP が嗅粘膜上の有害な物質を捕獲・運搬し、上皮細胞がそれを受け取り処理するといった図式も想像できる。

OBP の他にも嗅粘膜に見られる lipocalin としてはマウスから vomeronasal secretory protein (VNSP) が報告されている。VNSP は鼻腔の後部や、それよりもむしろ、後に述べるフェロモンの受容器官であると考えられる鋤鼻器官で多量に産生され、特に乳児や発情期の雌（両者とも何らかのフェロモンで行動が制御されている可能性がある）で多量に産生されていることが明らかにされた。そこで、これらの状況証拠から VNSP はフェロモンの結合タンパク質である可能性が論じられている²¹⁾。一方、ラットでは OBP と高い相同性を持つタンパク質として OBPII が発見されたが、これも VNSP と同様に鼻腔の後部と鋤鼻器官でのみ産生されていた。OBPII に結合する物質も未だに不明であるが、VNSP の場合と同様に生産される場所がフェロモンを受容する場であることから、OBPII についてもフェロモン受容に関わるタンパク質である可能性が論じられている²²⁾。

フェロモン活性を持つ lipocalin

以上には lipocalin ファミリーに属するタンパク質が匂いやフェロモンの受容に関わる可能性を述べてきた。これに対し、lipocalin ファミリーに属するタンパク質の中にはそれ自体がフェロモンとして機能することが示唆されているものも知られている。

マウスでは、成熟した雄の尿中に存在するフェロモンを雌が鋤鼻器官で受容し、生殖器官を成熟させて発情する。一方、雄のマウスは尿中の何らかのフェロモンを鋤鼻器官で受容して攻撃性を獲得する²³⁾。この様な活性を持つ雄のマウスの尿から major urinary protein (MUP) が発見された。その後、MUP は 35 から 40 種の遺伝子によってコードされる lipocalin ファミリーに属するタンパク質で (表 1)、前述の OBP に対しても高い相同性を持つ (図 2) ことが明らかになった^{24,25)}。これまでに明らかにされた MUP サブファミリーの分子の例では、MUP I と III は主に肝臓で作られ尿中に分泌されるが、MUP II は肝臓や乳腺で、MUP IV は涙腺、耳下腺、舌下腺で、また MUP V は涙腺や顎下腺、舌下腺で作られることが示されている²⁶⁾。

X 線回折による 3 次構造解析の結果から、雄のマウスの尿から精製された UMP は他の lipocalin と同様に β バレル構造を持ち、少なくとも雄のマウスに対してフェロモン

OBP	1	---	MYKFL	---	IV	ALGVSCAHHENL	DIS	PSE	VNGD	31
OBP II	1	---	KSRLTLV	---	IG	MAVLKAEAPP	D	Q	DFSG	33
MUP	1	---	K-MLL	---	LL	CGGLTLCVHAEE	SS	TGRNFVNE	KINGE	36
Aphrodisin	1	---	MYKIL	---	LA	AVFSL	---	A	HAQ	25
BBP	1	---	QYLITLAL	---	VAAASANVYH	DGACPEVKPVDNF	WDSNYH	CK		40
OBP	32	---	WRLYIVAGNVE	---	VAEGSL	LAIFYQHMECGDE	CQELKIIF			71
OBP II	34	---	MYKATVCD	---	RNHTDGRPMKVP	MPMTVTALEGGD	LEVRI			71
MUP	37	---	WILILASDKR	---	IEDNENFL	LFLEQIHVLNS	LVLKFH			75
Aphrodisin	26	---	MYIVIAADNL	---	RIEEGPL	FYFRHIDCYKNCSE	MEITF			65
BBP	41	---	WVEVAKYPNSV	---	RYGKCGWAEYTP	EGSKSVKSNYH	VIHKG			80
OBP	72	---	NKLDSE	---	QTHTVGOKHED	RITTDYS	RAYE			108
OBP II	72	---	TFRGKGH	---	HLRRITMH	TDDEPKYT	TFKCKT			109
MUP	76	---	TRD	---	EESELSMVA	DTEKAGE	SVTYD			113
Aphrodisin	66	---	YITNNO	---	SKTTVICYLGK	NETQTQFEN	II			102
BBP	81	---	EYFIEGTAYP	---	VGDSKITKTYHKL	TGGVTK	EIVENVLST			119
OBP	109	---	KTDITF	---	HNHNVN	BESG	R-RQCDL			145
OBP II	110	---	PKOHYI	---	YIKQRHCKSY	LKGLV	RDSKDNPEAM			146
MUP	114	---	DY	---	DNFLMAHLN	EKGDTFQLMG	LYG			150
Aphrodisin	103	---	ITSKIF	---	TNKNMRAQ	QETNMIVAG	KGNAL			140
BBP	120	---	DNKNY	---	IGYCKYB	EDKKGH	QDFVWLSRSKVL			159
OBP	146	---	ELRKAE	---	YNPN	NTQHLVPT	DTQCN			172
OBP II	147	---	EKKFVKSG	---	FRFEN	TVPELL	DECVPGSD			176
MUP	151	---	RFAQCE	---	HGLRNI	DLN	ANRCLQARE			180
Aphrodisin	141	---	ILVQFAH	---	KKPVS	NILILAT	DTCE			167
BBP	160	---	VENY	---	IGSPVDSQ	LVYSDF	SEAAKCVNN			189

図 2 匂いやフェロモン受容に関連する lipocalin のアミノ酸配列の相同性

反転文字は 100%一致部位。網掛け文字は 50%以上の一致部位。

活性を持つ 2-(sec-buthyl)-thiazoline を保持しうる構造を持つ²⁷⁾。また、MUP は OBP と同様に一部の匂い物質にも結合するが、その結合のスペクトルは OBP とは異なっていた²⁸⁾。これらの結果は MUP が OBP と同様に何らかの物質を保持あるいは運搬する機能を持つ可能性を示唆している。

一方、MUP や MUP の N 末端の 6 残基に相当する合成ペプチドには雌のマウスの性的成熟を誘導する活性が認められた^{24,29)}。また、雄の尿から精製した、MUP に結合性の雌マウスに対してはフェロモンとして機能する可能性が示唆されていた dehydro-exo-brevicomin (DHB) と sec-butyl-dihydrothiazole (SBT) だけでは雌のマウスに性的成熟を誘導できないのに対し、これらに MUP を加えたカクテルには強い誘導活性が認められた³⁰⁾。これらの実験結果は、MUP やその部分構造がフェロモンとして機能すること、および鋤鼻器官の細胞上には MUP の部分構造を認識する受容体分子が存在することを意味するのであろうか。

どのタイプの MUP が雌のマウスの鋤鼻器官にどうやって到達し、どのような役割を果たすのかについてはまだ判然とししない。今後は大腸菌で生産した組換え型のタンパク質を使うなどして、これらの疑問が解明されるものと期待される。雌マウスへの性的成熟誘導に関与する受容体が、もし、MUP 自体の部分構造を認識するものであるならば、MUP 受容体は既に述べた RBP 受容体や OBP 受容体と類縁関係を持つ分子である可能性がある。一方、後に述べる通り、光やある種の味分子、さらには匂い分子は膜 7 回貫

通 G タンパク質共役型受容体に受容され、そのシグナルは G タンパク、adenylyl cyclase やそれと関連するイオンチャネルを介して電気信号に変換されて神経軸索上を脳に向けて移動する。ところで、鋤鼻器官の受容細胞には $G\alpha o$ と $G\alpha i2$ タイプの G タンパクと adenylyl cyclase II, およびこれらと関連すると考えられるイオンチャネルの存在が示されているので、膜 7 回貫通 G タンパク質共役型のフェロモン受容体の存在が期待される³¹⁾。したがって、鋤鼻器官に存在すると予想される MUP の受容体と膜 7 回貫通 G タンパク質共役型受容体とがどのように結びつくのかについて興味を持たれる。

一方、ハムスターでは雄に交尾行動を誘導する活性が雌の膺の分泌物中のタンパク質に認められた。この活性はステロイドをキャリアタンパクから分離する方法ではそのタンパク質から分離できず、一方、熱やプロテアーゼで失活した^{32,33)}。よって、低分子の揮発性物質が強固に結合している可能性は否定できないものの、むしろタンパク質そのものに活性があると考えられた。ちなみに、ハムスターの場合には他にも雄を刺激して、交尾行動の前段階に見られる行動である、雌に対する接触・探索行動を誘起する揮発性のフェロモン (dimethyl disulfide がその 1 成分であることが示されている) の存在が報告されており³⁴⁾、そのフェロモンが誘起した接触・探索行動により、雄は雌の分泌物に接触するに至る。この交尾行動の誘導に関与するタンパク質、aphrodisin も lipocalin ファミリーに属するタンパク質であり (表 1)、上記の OBP や MUP と高い相同性を持つタンパク質であることが明らかになった (図 2)。aphrodisin はマウスにおける MUP とは異なる作用を持つが、MUP と同様に鋤鼻器官で機能する可能性が指摘されており³⁵⁾、そこにおける特異的なペプチド受容システムにも共通の機構の存在が予想される。

節足動物の lipocalin

以上のように脊椎動物では lipocalin ファミリーのタンパク質が匂いやフェロモンの受容、あるいはフェロモン活性にまで関わっている可能性が示されてきた。では、lipocalin ファミリーのタンパク質は昆虫をはじめとする節足動物には存在するであろうか。また、存在するならば、どのような役割を果たしているであろうか。このような疑問に従ってデータベースを検索すると、節足動物からは 4 種類 (ただし insecticyanin には 2 種類知られている) のタンパク質が見つかる (表 1)。insecticyanin はタバコスズメガ *M. sexta* の表皮細胞中や体液、あるいは卵に見られる色素結合タンパク質で³⁶⁻³⁸⁾、この昆虫の幼虫や卵を保護色である緑色にする役割を果たすと考えられている。X 線回折像からの解析では他の lipocalin と良く類似した β バレル構造を持つことが示され、そのバレル構造中には緑色

色素 biliverdin IX γ が折り曲がって捕捉されていた³⁹⁾。一方、オオモンシロチョウ *Pieris brassicae* からよく似た色素結合タンパク質、bilin binding protein、が報告されている^{40,41)}。さらには、エビの仲間 *Homarus gammarus* からは、青色のカロテノイド色素 astaxanthin の結合タンパク質であり、やはり体色決定に関与すると考えられる crustacyanin が報告されている^{42,43)}。これらのタンパク質は何れも水溶性の低い物質を体液中、あるいは細胞中で保持する役割を果たしており、脊椎動物の lipocalin と類似した機能を持つと考えられる。一方、バッタから報告された lipocalin ファミリーのタンパク質 lazarrillo は神経細胞で産生され、神経細胞の細胞膜上に存在して神経軸索の伸長やその方向付けに関与していると考えられた^{44,45)}。lazarrillo のリガンドは未決定であり、脊椎動物の lipocalin の中に相同の機能を持つものがあるのか否かも明らかではない。

ところで、何れにせよ、節足動物の lipocalin からは匂いやフェロモンの受容に関与するものは見つからない。また、後述する昆虫の pheromone binding protein や general odorant binding protein と lipocalin との間には相同性は見あたらぬ。よって、昆虫の lipocalin は脊椎動物のそれと類似した機能を保持しながらも、異なる役割を果たしつつ進化してきたものと考えられる。

昆虫のフェロモン結合タンパク質

昆虫のフェロモンに対する感度は哺乳動物の匂いに対する感度よりも更に高い例が知られているが、昆虫のフェロモン受容も哺乳類と同様に神経細胞によって行われている。よって、細胞の周りには必然的に体液が必要であり、揮発性で疎水性のフェロモンが感度良く受容されるには哺乳類の場合と同様に何らかの仕組みが必要である。しかし、既に述べたように、昆虫では哺乳類で見られるような役割を果たす lipocalin は見つからない。そこで、昆虫には独特の効率的なフェロモンの受容機構が存在する可能性が考えられる。

昆虫のフェロモンは主に触角上の毛状感覚子 (sensilla trichodea) 中の受容細胞により感知され⁴⁶⁻⁴⁸⁾、そのシグナルは電気信号に変換されて軸索を介して脳へと伝達される。これらの感覚子の内腔は体液 (感覚子液) で満たされており、感覚細胞やその樹状突起の表面は感覚子液で覆われている。この感覚子液中から Vogt と Riddiford⁴⁹⁾によってフェロモンに結合する約 15 kDa のタンパク質、pheromone binding protein (PBP) が発見された。その後の研究により PBP は受容細胞を取り囲んで位置する trichogen cell (毛生細胞) と tomogen cell (膜生細胞) で生産分泌され、最終的には受容細胞や thecogen cell (鞘生細胞) の飲食作用により再吸収されることが明らかになった^{50,51)}。また、PBP 遺伝子の発現はいかにもフェロモン受容に備えるが

如く羽化の数日前から始まり羽化後まで継続することも示された^{52,53}。一方、カイコや *Antheraea polyphemus*, *A. pernyi* (サクサン) では毛状感覚子ばかりか錐状感覚子 (sensilla basiconica) 中にも PBP が存在することが示された^{54,55}。ところで、PBP は雄の感覚子だけにしか見られない場合もあるが⁵⁶、昆虫の種類によっては雌の感覚子から認められる場合のあることも報告されている⁵⁷⁻⁵⁹。したがって、もし PBP がフェロモン受容に関わるものであるならば、雌も性フェロモンを受容して何らかの情報として利用している可能性が考えられる。

PBP は感覚子液中に 10 mM という高濃度で存在し⁶⁰、当初は触角の感覚子中の受容体に結合したフェロモンの除去に機能するのではないかと考えられた⁴⁹。ところで、PBP には 6 個のシステイン残基が保存されており、酸化型と還元型の二つの形態が存在する。そして、酸化型はフェロモンに対して結合性を持つが、樹状突起の膜上で還元型に変換され、フェロモンとの結合性を失うことが示唆された⁶¹。この実験結果は、PBP がフェロモンを外気から感覚子液中に受け取り、受容細胞上の受容体までフェロモンを運搬する機能を持つと解釈するのに都合がよい。

一方、昆虫のフェロモンは一般に複数の成分で構成されており、その構成成分の違いや構成成分のブレンド比が種の識別に重要な働きをしていると考えられている。これに対応するかのように、これまでにいくつかの鱗翅目昆虫の感覚子液から、互いに類縁性が高いが一部の構造の異なるタンパク質群として幾つかの PBP が発見された。また、1 種類の昆虫から複数種の PBP が見つかる例も示されてきた^{58,62}。例えば、2 種類のエステル、6E,11Z-16:Ac と E4,Z9-14:Ac は *A. polyphemus* と *A. pernyi* の両種の共通の性フェロモン成分である。*A. polyphemus* の PBP, Apol-3 と *A. pernyi* の PBP, Aper-1 は互いに類似性が高い (相同性 92%) が、これらの PBP は 6E,11Z-16:Ac には高い親和性を示して結合することが明らかになった。一方、*A. polyphemus* にとってはマイナーな成分であるが、*A. pernyi* にとってはメジャーな性フェロモン成分である E4,Z9-14:Ac に対しては Apol-3 と Aper-1 は低い親和性を示して結合したが、*A. pernyi* のもう一種の PBP である Aper-2 は高い親和性を示して結合した⁶³。また、*Mamestra brassicae* のメジャーな性フェロモン構成成分である Z11-16:Ac はこの昆虫の PBP の一つである Mbra1 には結合したがもう一つの PBP, Mbra2 には結合しなかった⁶⁴。これらの状況証拠から、PBP は各昆虫のフェロモンの構成成分に対応してそれらを識別するために存在する可能性が考えられた。しかし、PBP とフェロモンの間には確かにある程度の特異性が存在するが、これまで知られている組み合わせにおいてはそれはあまり高いものではない。むしろ、PBP は多少の親和性の違いを示しながらも複数の性フェロモン構成成分や

その類縁化合物、さらには構造的にかなりかけ離れた化合物にも結合する⁶⁵⁻⁶⁷。このような性状を鑑みると、PBP は厳密に性フェロモン構成成分を識別する役割を果たすというよりは、むしろ複数の構成成分を効率的に受容体まで運搬する役割を持つと考える方が理解が容易である。

昆虫の中でも蛾類の雄は、夜間の暗闇の中で匂いだけを頼りに雌を探し当てなくてはならないが、彼らは実際に数 km 離れたところから雌を探すことが可能である。それを可能にする仕組みとして、蛾類の雄は 1 cm³ に一万個のフェロモン分子があるだけでそれを感知することの出来る高感度の器官として触角を持つ⁶⁸。したがって、感覚子にはそのような能力を触角に持たせることを可能にする機構があるはずである。外気と感覚子液との界面におけるフェロモン捕捉の機構や、受容体へのフェロモンの引き渡しの機構など、PBP の機能に関する今後の研究展開には多に興味を持たれる。

PBP ファミリーの構成員の概要

PBP は分子量が約 15 kDa の酸性タンパク質で、通常雌よりも雄の感覚子液中に多量に存在することを目安にして、native PAGE や SDS-PAGE で容易に分離することが

B mori PBP	1	MSIQGGIALAEMNMVAGVSVDASQVMMNLSNFGKALDE	40
A pernyi PBP1	1	MLGKISL-LTPVFAVAINLVHSSPEIKNLSONECKAMDQ	39
A pernyi PBP2	1	MIRKVLSSVLAFLMTINLGOASPEVNNKLCMNYCKAMDQ	40
A polyphemus PBP	1	MLRKISL-LTPVFAVAINLVHSSPEIKNLNNECKAMDQ	39
B mori GOBP1	1	M-WKL--VV-VLTNNLQGLTQVYVKKDVTLGFGQALEQ	36
B mori GOBP2	1	--MFSF-LIIVFVASVADSVIGTAEMSHVTAHEGKLEE	37
A pernyi GOBP1	1	MAHTLQTVVLELGTSLHPILADVNNKDVTLGFGQALEK	40
A pernyi GOBP2	1	--M-GYKLLMYIAIVDSVIGTAEMSHVTAHEGKLEE	37
B mori PBP	41	CKKEMTDAINEDRYNFWKEGYEIKNRFTGCCAEMCLSTR	80
A pernyi PBP1	40	CKQELNIPDSVIADLYNFWKDDVYMTDRLAGCAINCLSTR	79
A pernyi PBP2	41	CKQELNIPDSVIADLYNFWKDDVYMTDRLAGCAINCLSTR	80
A polyphemus PBP	40	CKDELSPDSVADLYNFWKDDVYMTDRLAGCAINCLSTR	79
B mori GOBP1	37	CREESQTEEKMEEFHFHNDQFKFEHRELGCALICISRH	76
B mori GOBP2	38	CREESGSVDILDEKHFHSDDFDVVHRELGCALICISRH	77
A pernyi GOBP1	41	CREESQTEEKMEEFHFHSEDFKFEHRELGCALICISRH	80
A pernyi GOBP2	38	CRDESQSPLEILNEKHFHSEDFDVVHRELGCALICISRH	77
B mori PBP	81	LNMLDPEGNLHHGNAMFAAMKHGADETMAQQLIDIVHGCE	120
A pernyi PBP1	80	LDVVDPDGNLHHGNAMFAAMKHGADASMAQQLIDIVHGCE	119
A pernyi PBP2	81	LDIVDPDGNLHHGNAMFAAMKHGADGMAHLELVIVHGCE	120
A polyphemus PBP	80	LDVVDPDGNLHHGNAMFAAMKHGADETMAQQLIDIVHGCE	119
B mori GOBP1	77	FNLLTDSRRMHENTDKELKSFNPNGEILSQKIMIDITCE	116
B mori GOBP2	78	FSLMDDDVRMHVMDYEYLGFPNGOVLKEMKYLINCE	117
A pernyi GOBP1	81	FNLLTDSRRMHENTDKELKSFNPNGEVLKHMVNLINCE	120
A pernyi GOBP2	78	FSLLKDDTRIHHVMDHDYVKSFPNGEVLKAKMVNLINCE	117
B mori PBP	121	KSTPANDDKCWTGLGATCFKAEIHLNWDSPHOVAVGEI	160
A pernyi PBP1	120	KSAPPNDKCKMTIDVAMCFKKEIHLNWDSPHOVVLGEV	159
A pernyi PBP2	121	KSSPPNDKCKIKTMDIAMCFKKEIHLNWDSPHOVVLGEV	160
A polyphemus PBP	120	KSAPPNDKCKMTIDVAMCFKKEIHLNWDSPHOVVLGEV	159
B mori GOBP1	117	ITFDESDCHWRILRLAEFCQACNKSGLPSMELILAEF	156
B mori GOBP2	118	KQFDTEITDDCTRVVKKMAACFKKDSRKEGTAPEVAMIEA--	155
A pernyi GOBP1	121	QQHDADLDHWRILRLAEFCFKRSQEQAGVAPSMELLMAEF	160
A pernyi GOBP2	118	KQYDDITDECDRVVKKMAACFKVDKKEGTAPEVAMIEA--	155
B mori PBP	161	LAIV----	164
A pernyi PBP1	160	LAIV----	163
A pernyi PBP2	161	LAIV----	164
A polyphemus PBP	160	LAIV----	163
B mori GOBP1	157	IMSEADK	164
B mori GOBP2	156	VI--KY--	160
A pernyi GOBP1	161	IMSEIN-	167
A pernyi GOBP2	156	VI--KY--	160

図3 代表的な PBP と GOBP のアミノ酸配列の相同性
反転文字は 100%一致部位、網掛け文字は 50%以上の一致部位。

経たチャネルの活性化⁸⁴⁾といった一連の経路の存在することが示されていた。一方、このような G タンパクをシグナルの伝達器とした経路では膜 7 回貫通 G タンパク質共役型受容体が外来刺激の受容体として存在することが視覚受容体やホルモン受容体、神経伝達物質受容体の研究によって明らかになっていた。そこで、脊椎動物の匂い受容体も膜 7 回貫通 G タンパク質共役型の受容体であろうと予測されていた。

このような背景の元で Buck と Axel⁸⁵⁾は膜 7 回貫通 G タンパク質共役型受容体スーパーファミリー内の分子に保存された共通のアミノ酸配列をもとにプライマーを作製し、ラットの嗅粘膜の cDNA から PCR 法で類縁遺伝子のクローニングを試み、サブファミリーを構成する多数のクローンを得ることに成功した。ところで、このようにサブファミリーを構成する多数の遺伝子が存在する事実は、嗅粘膜上には多様な匂い分子に対応して多種類の匂い受容体が存在するであろうとの予想に合致した。そこで、さらにクローニングしたそれらの部分遺伝子をプローブにして cDNA ライブラリーから完全長の cDNA のクローニングを試みたところ、310 から 333 残基のアミノ酸から成る膜 7 回貫通 G タンパク質共役型のタンパク質をコードし、嗅上皮だけに発現する、互いに相同性の高い 18 クローンの遺伝子がクローニングされた。また、これらの遺伝子をプローブにしたサザンハイブリダイゼーションにより、これらの遺伝子と高い相同性を持つ遺伝子は数百を越えて存在し、巨大なファミリーを作っていることが明らかになった。これらの結果より、得られた遺伝子は匂い受容体の遺伝子であろうと考えられた。その後、これらの遺伝子と相同性を持つ遺伝子が類似した方法を用いて、ヒト^{86~88)}、ラット^{12,89)}、マウス⁹⁰⁾、イヌ⁹¹⁾、ニワトリ⁹²⁾、アフリカツメガエル⁹³⁾、魚類^{94~96)}から釣り上げられた。結果として、これら匂い受容体候補遺伝子群は巨大なファミリーを構成していることが明らかになってきた(図 5)。また、それらの匂い受容体ファミリーを構成する遺伝子の数はヒトでは 200⁸⁶⁾、魚類では 100⁹⁶⁾と概算されたが、これらの数値はそれぞれの生物における嗅覚システムの重要性あるいはそれらの生物が利用している匂いの多様性にマッチしているかのように見受けられる⁹⁷⁾。

一方、バキュロウイルスの系を用いてラットの匂い受容体候補 OR5 を発現した昆虫の培養細胞 Sf9 では、匂い物質である lyral や lilial の刺激により、シグナルの伝達に関与するセカンドメッセンジャー IP3 の産生が誘導された。また、大腸菌で生産し、人口脂質膜中に再構成した OR5 と GST との融合タンパク質に lyral や lilial が結合することが示された⁹⁸⁾。さらには、線虫 (*Caenorhabditis elegans*) のゲノム解析の結果第 2 染色体と第 3 染色体上から発見された膜 7 回貫通 G タンパク質共役型受容体をコードする

遺伝子群の多くが嗅覚細胞をはじめとした化学感覚細胞上に発現していることが明らかになった⁹⁹⁾。さらにまた、匂い物質 diacetyl に応答しない線虫のミュータントを応答型に復帰させる遺伝子として発見された *odr-10* は嗅覚細胞の樹上突起上に発現する膜 7 回貫通 G タンパク質共役型受容体をコードする遺伝子であり、培養細胞に発現させる系でも匂い受容体である可能性が示された¹³⁾。また、この遺伝子は脊椎動物の匂い受容体候補遺伝子と低いながらも相同性を持つことが明らかになった¹⁰⁰⁾。また、これらに加え、Zebrafish の匂い受容体候補遺伝子についても培養細胞を用いた類似した系で、それが匂い受容体であることが示唆された¹³⁾。これらの結果から上記の膜 7 回貫通 G タンパク質共役型受容体遺伝子群のうちの少なくとも一部は、多様な匂い物質に対応する、匂い受容体をコードする遺伝子であろうと考えられている。しかし、後に述べるように、このファミリー遺伝子は嗅粘膜だけで発現しているわけではないことが明らかになってきた。このことはいったい何を意味するのであろうか。

匂い受容体ファミリーの構成員の概観

匂い受容体と相同性を持つが独立したサブファミリーを形成する、少なくとも 60 から成る遺伝子群がラットの舌の上皮組織で発現していることが示された¹⁰¹⁾。ところで、これらの遺伝子のうち *GUST* 27 は舌表面の上皮組織上の味覚細胞ばかりかその他の細胞でも発現していた¹⁰²⁾。一方、ウシの舌で発現する匂い受容体ファミリーの遺伝子は味蕾が存在する舌の組織でも発現していたが、嗅粘膜や腎臓で発現しているもの (*TSA3*, 4, 38) も見つかった¹⁰³⁾。味覚細胞における甘味や苦味情報の電気信号への変換においても IP3 や adenylate cyclase の関与が示されており^{104,105)}、これらに対応する味覚受容体も膜 7 回貫通 G タンパク質共役型受容体であると考えられている。したがって、*GUST* 27 をはじめとしたこれらの遺伝子が味覚受容体の遺伝子である可能性は十分考えられる。しかし、発現組織の多様性の面からは他の機能を持つ可能性も同時に指摘される。

一方、このような匂い受容体遺伝子ファミリーが匂いや味などの外来の化学物質に依存した情報の受容のためだけに機能するものではないことが明らかになってきた。すなわち、ヒトやイヌ、マウス、ラットでは精子だけで、あるいは精子と嗅上皮の両方で、産生されている匂い受容体ファミリーに属するタンパク質が見つかった^{90,106,107)}。このうち、イヌから見つかった *DTMT* は精子が成熟する時期には鞭毛の基部に存在していることから、精子形成に関与するホルモンの受容体あるいは卵細胞への走化性を司るフェロモン受容体の可能性が示唆された¹⁰⁸⁾。また、ニワトリでは雛鳥から成鳥の時期においては嗅粘膜上で発現しているが、胚子発生時の原基から鼻が形成される過程では嗅

覚神経の移動や嗅覚神経のネットワーク形成に関連して神経以外の細胞で発現する匂い受容体ファミリーのタンパク質, COR1~7が発見された(図5)^{92,109}。したがって, これらのタンパク質は匂いの受容ばかりか嗅覚システムの形成に関与すると考えられた。さらには, ハムスターでは新生児期以降では嗅粘膜上でしか産生されていない匂い受容体 OL1 が, 胚子発生期には心筋でも産生されていることが示され, 本受容体が心臓形成時の筋細胞の増殖制御に関与している可能性が示された¹¹⁰。このように匂い受容体ファミリーの遺伝子は細胞の分化や増殖, 移動にも関与している可能性がある。

ところで, 以上に述べてきた匂い受容体ファミリーとは別のサブファミリーを作る, やはり膜7回貫通 G タンパク質共役型受容体スーパーファミリータンパク質群がラットの鋤鼻器官の上皮組織に存在することが明らかになった¹¹¹。このサブファミリーの構成員としてこれまでに約30のタンパク質が見つかったが, それらのタンパク質と匂い受容体ファミリーのタンパク質との間に見られる相溶性は極めて低いものであった。一方, 魚類の中にはプロスタグランジンをフェロモンとしているものが知られるが¹¹², このサブファミリーのなかには部分構造においてラットのプロスタグランジン受容体と相溶性を持つものが見つかった。既に述べたとおり, 鋤鼻器官はフェロモンを受容する器官であると考えられている²³。そこで, これらのサブファミリーを構成するタンパク質群はフェロモン受容に関わる受容体群である可能性がある。

昆虫の匂い受容体研究

節足動物の受容細胞におけるフェロモンや匂い信号の電気的信号への変換過程においても, G タンパク質¹¹³や, イノシトール三リン酸¹¹⁴などを介した経路の存在が示唆されている。よって, 昆虫のフェロモンや匂いの受容体も脊椎動物と同様に膜7回貫通 G タンパク質共役型受容体スーパーファミリーに属することが予想された。そこで, 脊椎動物で行われてきたのと同様の戦略で受容体の研究が可能であろうと考えられる。

これまでに少なくとも2グループの試みにおいてフェロモンもしくは匂いの受容体候補として膜7回貫通 G タンパク質共役型受容体の遺伝子が触角の cDNA から釣り上げられている^{115,116}。このうち, ミツバチの働きバチから得られた4クローンの遺伝子がコードするタンパク質は哺乳類の匂い受容体に対して相溶性を持つことが示された(図5, 6)。

ところで, 上で述べたように, 脊椎動物の匂い受容体と線虫のそれとは相溶性が非常に低い。一方, 膜7回貫通 G タンパク質共役型受容体スーパーファミリーに属するミツバチのそれらのタンパク質は線虫の匂い受容体とは相溶性

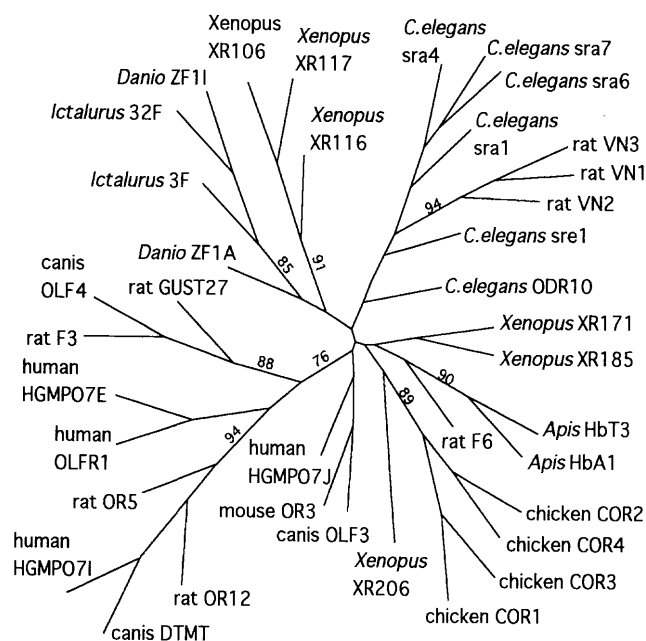


図5 匂い受容体ファミリー分子の系統樹

CLUSTAL X と PHYLIP を用いてアミノ酸配列を基に近隣結合法で作成した無根系統樹。膜貫通領域 III の C 末端部から VII の C 末端部を含む領域について比較した。

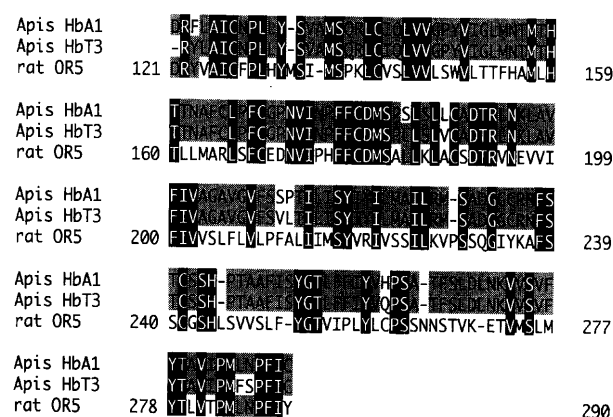


図6 ミツバチの匂い受容体候補とラットの匂い受容体のアミノ酸配列の相溶性

膜貫通領域 III の C 末端部から VII の C 末端部を含む領域について比較した。反転文字は 100%一致部位。網掛け文字は 50%以上の一致部位。

が低く, むしろ哺乳類の匂い受容体に高い相溶性を示す。このような事実は匂い受容体ファミリーの分子系統進化がどのように進んだことを意味するのだろうか。まだ知られていない先祖型の受容体があり, それから進化した分子が前口動物と後口動物の両者において類似した役割を果たしているのだろうか。匂い受容体ファミリーの各分子の機能については不明な点が多く, 全てが匂いや味などの外来の化学物質を情報として受容するためだけに存在するとは限らないようである。したがって, 昆虫の触角の cDNA からクローニングされた遺伝子が匂いやフェロモンの受容体

をコードするものであるとの結論を下すには、これらの遺伝子産物が匂いやフェロモンに結合することを示すなど、哺乳類の受容体の研究で行われてきたような実証的な研究が行われる必要がある。

お わ り に

以上に述べてきたように、匂いとフェロモン受容に関わるタンパク質の研究はどちらかと言えば遺伝子の解析を中心に進められてきた。それらの仕事は、知識と技術の粋を集結し、独創的かつ先駆的に行われ、この分野に新しい火を灯したとすることができよう。しかし、筆者がますます知りたいのはこれから先の問題である。匂いとフェロモンを高感度で認識するシステムの全貌である。そこには匂いとフェロモンの結合タンパク質やそれらの受容体ばかりか様々な分子が関与した、巧妙なシステムが存在するはずである。昨今の技術の向上により、遺伝子工学は一般化し、また遺伝子情報の普及により遺伝子がコードするタンパク質に関する情報も得やすいものになってきた。しかし、個々のタンパク質の機能やそれらが作り出すシステムについては遺伝子だけからでは答えを出すことは不可能である。遺伝子工学を利用してタンパク質を作製して各タンパク質の機能に迫り、さらには個々の構成タンパク質からシステム全体を再構成するといった地道な作業が必要とされ、それに対応した仕事も既に始まっている。それらの仕事を通して、昆虫をも含めた匂いとフェロモンの受容システムが解明され、医学、害虫管理学、新しい匂いセンシングシステムを含む工学、等の諸分野に新しい応用の道が開かれる日が到来するのもそう遠くないものと期待している。

引 用 文 献

- 1) P. Pelosi, N. E. Baldaccini & A. M. Pisanelli: *Biochem. J.* **201**, 245 (1982)
- 2) J. Pevsner, P. M. Hwang, P. B. Sklar, J. C. Venable & S. H. Snyder: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**, 2383 (1988)
- 3) J. Pevsner, R. R. Reed, P. G. Feinstein & S. H. Snyder: *Science* **241**, 336 (1988)
- 4) D. Pes & P. Pelosi: *Comp. Biochem. Physiol.* **112B**, 471 (1995)
- 5) M. Garibotti, A. Navarrini, A. M. Pisanelli & P. Pelosi: *Chem. Senses* **22**, 383 (1997)
- 6) M. Ganni, M. Garibotti, A. Scaloni, P. Pucci & P. Pelosi: *Comp. Biochem. Physiol.* **117B**, 287 (1997)
- 7) J. Pevsner, R. R. Trifiletti, S. M. Strittmatter & S. H. Snyder: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**, 3050 (1985)
- 8) J. Pevsner, V. Hou, A. M. Snowman & S. H. Snyder: *J. Biol. Chem.* **265**, 6118 (1990)
- 9) M. A. Bianchet, G. Bains, P. Pelosi, J. Pevsner, S. H. Snyder, H. L. Monaco & M. Amzel: *Nature Struct. Biol.* **3**, 934 (1996)
- 10) M. Tegoni, R. Ranomi, E. Bignetti, S. Spinelli & C. Cambillau: *Nature Struct. Biol.* **3**, 863 (1996)
- 11) H. Kiefer, J. Kriger, J. D. Olszewski, G. von Heijne, G. D. Prestwich & H. Breer: *Biochemistry* **35**, 16077 (1996)
- 12) K. Raming, J. Kreiger, J. Strotmann, I. Boekhoff, S. Kubick, C. Baumstark & H. Breer: *Nature* **361**, 353 (1993)
- 13) C. Wellerdieck, M. Oles, L. Pott, S. Korsching, G. Gisselmann & H. Hatt: *Chem. Senses* **22**, 467 (1997)
- 14) C. O. Bavik, U. Eriksson, R. A. Allen & P. A. Peterson: *J. Biol. Chem.* **266**, 14978 (1991)
- 15) C. O. Bavik, C. Busch & U. Eriksson: *J. Biol. Chem.* **267**, 23035 (1992)
- 16) G. Zanotti, R. Berni & H. L. Monaco: *J. Biol. Chem.* **268**, 10728 (1993)
- 17) A. Sivaprasadarao & B. C. Findlay: *Biochem. J.* **255**, 561 (1988)
- 18) A. Sivaprasadarao & B. C. Findlay: *Biochem. J.* **255**, 571 (1988)
- 19) C. O. Bavik, F. Levy, U. Hellman, C. Wernsted & U. Eriksson: *J. Biol. Chem.* **268**, 20540 (1993)
- 20) M. Boudjelal, A. Sivaprasadarao & J. B. Findlay: *Biochem. J.* **317**, 23 (1996)
- 21) A. Miyawaki, F. Matsushita, Y. Ryo & K. Mikoshiba: *EMBO J.* **13**, 5835 (1994)
- 22) K. Ohno, Y. Kawasaki, T. Kubo & M. Tohyama: *Neuroscience* **71**, 355 (1996)
- 23) A. N. Clancy, A. Coquelin, F. Macrides, R. A. Gorski & E. P. Noble: *J. Neurosci.* **4**, 2222 (1984)
- 24) A. J. Clark, P. Hazal, R. W. Bingham, D. Barrett & J. O. Bishop: *EMBO J.* **4**, 3159 (1985)
- 25) K. Shahan, M. Gilmartin & E. Derman: *Mol. Cell. Biol.* **7**, 1938 (1987)
- 26) K. Shahan, M. Denaro, M. Gilmartin & E. Derman: *Mol. Cell. Biol.* **7**, 1947 (1987)
- 27) Z. Boeskei, C. R. Groom, D. R. Flower, C. E. Wright, E. V. Phillips, A. Cavaggion, B. C. Findlay & A. C. T. North: *Nature* **360**, 186 (1992)
- 28) A. Cavaggioni, J. B. C. Findlay & R. Tirindelli: *Comp. Biochem. Physiol.* **96B**, 513 (1990)
- 29) C. Mucignat-Caretta, A. Caretta & A. Cavaggioni: *J. Physiol.* **486**, 517 (1995)
- 30) J. Guo, A. Zhou & R. L. Moss: *Neuroreport* **8**, 1679 (1997)
- 31) A. Berghard & L. B. Buck: *J. Neurosci.* **16**, 909 (1996)
- 32) A. G. Singer, A. N. Clancy, F. Macrides & W. C. Agosta: *Physiol. Behav.* **33**, 639 (1984)
- 33) A. G. Singer, F. Macrides, A. N. Clancy & W. C. Agosta: *J. Biol. Chem.* **261**, 13323 (1986)
- 34) A. G. Singer, W. C. Agosta, D. V. Bowen & F. H. Field: *Science* **191**, 948 (1976)
- 35) J. B. Powers & S. S. Winans: *Science* **187**, 961 (1975)
- 36) C. T. Riley, B. K. Barbeau, P. S. Keim, F. J. Kezdy, R. L. Heinrikson & J. H. Law: *J. Biol. Chem.* **259**, 13159 (1984)
- 37) W. Li & M. Riddiford: *Eur. J. Biochem.* **205**, 491 (1992)
- 38) W. G. Goodman, B. Adams & J. T. Trost: *Biochemistry* **24**, 1168 (1985)
- 39) H. M. Holden, W. R. Rypniewski, J. H. Law & I. Rayment: *EMBO J.* **6**, 1565 (1987)
- 40) R. Huber, M. Schneider, I. Mayr, R. Muller & R. Deutzmann: *J. Mol. Biol.* **198**, 499 (1987)
- 41) F. S. Schmidt & A. Skerra: *Eur. J. Biochem.* **219**, 855 (1994)
- 42) J. N. Keen, I. Caceres, E. E. Eliopoulos, P. F. Zagalsky & B. C. Findlay: *Eur. J. Biochem.* **202**, 31 (1991)
- 43) J. N. Keen, I. Caceres, E. E. Eliopoulos, P. F. Zagalsky & B. C. Findlay: *Eur. J. Biochem.* **197**, 407 (1991)

- 44) M. D. Ganfornina, D. Sanchez & M. J. Bastiani: *Development* **121**, 123 (1995)
- 45) D. Sanchez, M. D. Ganfornina & M. J. Bastiani: *Development* **121**, 135 (1995)
- 46) H. Ljungberg, P. Anderson & B. S. Hansson: *J. Insect Physiol.* **39**, 253 (1993)
- 47) E. Hallberg, B. S. Hansson & R. A. Steinbrecht: *Tissue Cell* **26**, 489 (1994)
- 48) M. Renou & P. Lucas: *J. Insect Physiol.* **40**, 75 (1994)
- 49) R. G. Vogt & L. M. Riddiford: *Nature* **293**, 161 (1981)
- 50) R. A. Steinbrecht, M. Ozaki & G. Ziegelberger: *Cell Tissue Res.* **270**, 287 (1992)
- 51) R. Maida, A. Steinbrecht, G. Ziegelberger & P. Pelosi: *Insect Biochem. Mol. Biol.* **23**, 243 (1993)
- 52) T. K. Gyorgyi, A. J. Roby-Shemkovitz & M. R. Lerner: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **85**, 9851 (1988)
- 53) R. G. Vogt, A. C. Kohne, J. T. Dubnau & G. D. Prestwich: *J. Neurosci.* **9**, 3332 (1989)
- 54) R. A. Steinbrecht, M. Laue & G. Ziegelberger: *Cell Tissue Res.* **282**, 203 (1995)
- 55) R. A. Steinbrecht: *Chem. Senses* **21**, 719 (1996)
- 56) R. G. Vogt, G. D. Prestwich & M. R. Lerner: *J. Neurobiol.* **22**, 74 (1991)
- 57) M. Laue, R. A. Steinbrecht & G. Ziegelberger: *Naturwissenschaften* **81**, 178 (1994)
- 58) P. Nagnan-Le Meillour, J.-C. Huet, M. Maibeche, J.-C. Pernollet & C. Descoins: *Insect Biochim. Mol. Biol.* **26**, 59 (1995)
- 59) J. Krieger, E. Nickisch-Rosenegk, M. Mameli, P. Pelosei & H. Breer: *Insect Biochem. Mol. Biol.* **26**, 297 (1996)
- 60) U. Klein: *Insect Biochem.* **17**, 1193 (1987)
- 61) G. Ziegelberger: *Eur. J. Biochem.* **232**, 706 (1995)
- 62) J. Krieger, K. Raming & H. Breer: *Biochim. Biophys. Acta* **1088**, 277 (1991)
- 63) G. Du & G. D. Prestwich: *Biochemistry* **34**, 8726 (1995)
- 64) M. Maibeche-Coisne, F. Sobrio, T. Delaunay, M. Lettere, J. Dubroca, E. Jacquin-Joly & P. Nagnan-Le Meillour: *Insect. Biochem. Mol. Biol.* **27**, 213 (1997)
- 65) G. D. Prestwich: *Insect Biochem.* **21**, 27 (1991)
- 66) G. D. Prestwich: *Protein Sci.* **2**, 420 (1993)
- 67) J. Feixas, G. D. Prestwich & A. Guerrero: *Eur. J. Biochem.* **234**, 521 (1995)
- 68) D. Schneider, G. Kasang & K. E. Kaissling: *Naturwissenschaften* **55**, 395 (1968)
- 69) K. Raming, J. Krieger & H. Breer: *FEBS Lett.* **256**, 215 (1989)
- 70) K. Raming, J. Krieger & H. Breer: *J. Comp. Physiol.* **160B**, 503 (1990)
- 71) J. Krieger, H. Ganble, K. Raming & H. Breer: *Insect Biochem. Mol. Biol.* **23**, 449 (1993)
- 72) L. Feng & G. D. Prestwich: *Insect Biochem. Mol. Biol.* **27**, 405 (1997)
- 73) M. P. McKenna, D. S. Hekmat-Scafe, P. Gaines & J. R. Carlson: *J. Biol. Chem.* **269**, 16340 (1994)
- 74) S. W. Pikielny, G. Hasan, F. Rouyer & M. Rosbash: *Neuron* **12**, 35 (1994)
- 75) M. Ozaki, K. Morisaki, W. Idei, K. Ozaki & F. Tokunaga: *Eur. J. Biochem.* **230**, 298 (1995)
- 76) A. Tuccini, R. Maida, P. Rovero, M. Mazza & P. Pelosi: *Insect Biochem. Mol. Biol.* **26**, 19 (1996)
- 77) M. Mameli, A. Tuccini, M. Mazza, R. Petacchi & P. Pelosi: *Insect Biochem. Mol. Biol.* **26**, 875 (1996)
- 78) D. T. Jones & R. R. Reed: *Science* **244**, 790 (1989)
- 79) H. A. Bakalyar & R. R. Reed: *Science* **250**, 1403 (1990)
- 80) U. Pace, E. Hanski, Y. Salmon & D. Lancet: *Nature* **316**, 255 (1985)
- 81) U. Pace & D. Lancet: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**, 4947 (1986)
- 82) P. B. Sklar, R. R. H. Angolt & S. H. Snyder: *J. Biol. Chem.* **261**, 15538 (1986)
- 83) T. S. Dhallan, K.-W. Yau, K. A. Schrader & R. R. Reed: *Nature* **347**, 184 (1990)
- 84) T. Huque & R. C. Bruch: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **137**, 36 (1986)
- 85) L. Buck & R. Axel: *Cell* **65**, 175 (1991)
- 86) N. Ben-Arie, D. Lancet, C. Taylor, M. Khen, N. Walker, D. H. Ledbetter, R. Crozzo, K. Patel, D. Sheer, H. Lechre & M. A. North: *Hum. Mol. Genet.* **3**, 229 (1993)
- 87) G. Glusman, S. Clifton, B. Roe & L. Doron: *Genomics* **37**, 147 (1996)
- 88) M. L. Crowe, B. N. Perry & I. F. Connerton: *Gene* **169**, 247 (1996)
- 89) A. Chess, L. Buck, M. M. Dowling, R. Axel & J. Ngai: *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* **57**, 505 (1992)
- 90) H. Asai, H. Kasai, Y. Matsuda, N. Yamazaki, F. Nagawa, H. Sakano & A. Tsuboi: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **221**, 240 (1996)
- 91) L. Issel-Tarver & J. Rine: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 10897 (1996)
- 92) S. Nef, I. Allaman, H. Fiumelli, E. D. Castro & P. Nef: *Mech. Dev.* **55**, 65 (1996)
- 93) J. Freitag, J. Krieger, J. Strotmann & H. Breer: *Neuron* **15**, 1383 (1995)
- 94) J. Ngai, M. M. Dowling, L. Buck, R. Axel & A. Chess: *Cell* **72**, 657 (1993)
- 95) C. A. Byrd, J. T. Jones, J. M. Quattro, M. E. Rogers, P. C. Brunjes & R. G. Vogt: *J. Neurobiol.* **29**, 445 (1996)
- 96) F. Weth, W. Nadler & S. Korsching: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 13321 (1996)
- 97) J. G. Hildebrand & G. M. Shepherd: *Annu. Rev. Neurosci.* **20**, 595 (1997)
- 98) H. Kiefer, J. Kriger, J. D. Olszewski, G. von Heijne, G. D. Prestwich & H. Breer: *Biochemistry* **35**, 16077 (1996)
- 99) E. T. Troemel, J. H. Chou, N. D. Dwyer, H. A. Colbert & C. I. Bargmann: *Cell* **83**, 207 (1995)
- 100) P. Sengupta, J. H. Chou & C. I. Bargmann: *Cell* **84**, 899 (1996)
- 101) K. Abe, Y. Kusakabe, K. Tanemura, Y. Enori & S. Arai: *FEBS Lett.* **316**, 253 (1993)
- 102) K. Abe, Y. Kusakabe, K. Tanemura, Y. Emori & S. Arai: *J. Biol. Chem.* **268**, 12033 (1993)
- 103) I. Matsuoka, T. Mori, J. Aoki, T. Sato & K. Kurihara: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **194**, 504 (1993)
- 104) B. J. Striem, U. Pace, U. Zehavi, M. Naim & D. Lancet: *Biochem. J.* **260**, 121 (1989)
- 105) P. M. Hwang, A. Verma, D. S. Bredt & S. H. Snyder: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **87**, 7395 (1990)
- 106) M. Permentier, F. Libert, S. Schurmans, S. Schiffmann, A. Lefort, D. Eggerickx, C. Ledent, C. Mollereau, C. Gerard, J. Perret, A. Grootegoed & G. Vassart: *Nature* **355**, 453 (1992)
- 107) P. Vanderhaeghen, S. Schurmans, G. Vassart & M. Permentier: *Genomics* **39**, 239 (1997)
- 108) P. Vanderhaeghen, S. Schurmans, G. Vassart & M. Par-

- mentier: *J. Cell Biol.* **123**, 1441 (1993)
- 109) S. Nef & P. Nef: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**, 4766 (1997)
- 110) G. Drutel, J.-M. Arrang, J. Diaz, C. Wisnewsky, K. Schwartz & J.-C. Schwartz: *Receptor Channel* **3**, 33 (1995)
- 111) C. Dulac & R. Axel: *Cell* **83**, 195 (1995)
- 112) P. W. Sorensen, T. J. Hara, N. E. Stacey & F. W. Goetz: *Biol. Reprod.* **39**, 1039 (1988)
- 113) I. Boekhoff, K. Raming & H. Breer: *J. Comp. Physiol.* **160B**, 99 (1990)
- 114) H. Hatt & W. Ache: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 6264 (1994)
- 115) A. Nighorn, D. B. Morton & J. G. Hildebrand: *Soc. Neurosci. Abstr.* **20**, 139 (1994)
- 116) E. Danty, J.-M. Cornuet & C. Masson: *C.R. Acad. Sci. Paris* **317**, 1073 (1994)