

嗅覚受容体遺伝子と嗅覚情報処理

坂野 仁 (生物化学専攻)
sakano@mail.ecc.u-tokyo.ac.jp

哺乳類の嗅覚系は、多種類の匂い分子を識別する能力を備えており、マウスでは少なくとも数十万種類の異なる匂いを嗅ぎ分けられるといわれている。嗅覚受容体遺伝子は、1,000種類に及ぶ類似遺伝子からなる多重遺伝子系を構成し、これが多様な匂い分子を受容識別する遺伝学的基礎となっている。個々の嗅細胞では、これら嗅覚受容体遺伝子の中から1種類が選ばれ、しかも2つの対立形質の中から一方のみが mono-allelic に発現する。嗅覚系には、嗅覚受容体遺伝子の選択的発現制御に加え、嗅球表層への特異的投射というもう1つの重要な問題が存在する。大脳前部に位置する嗅球上には、約2,000個の糸球と呼ばれる構造体が分布し、嗅細胞はそのうちの特定の二対に軸索を投射する。この過程において個々の嗅細胞は、発現している嗅覚受容体の種類に応じて嗅球上の位置を選び、軸索の集束先に糸球構造を形成する。

匂い分子の受容は、嗅上皮に存在する嗅細胞によって行われる。その繊毛上には嗅覚受容体が局在しており、そこで匂い分子との結合が起こると、嗅細胞内の情報伝達系が活性化され活動電位が生じる。嗅細胞は単一の軸索を嗅球に投射し、糸球と呼ばれる構造体において僧帽/房飾細胞とシナプスを形成する。嗅細胞で匂い刺激により生じた電氣的興奮は、嗅球において集約されさらに嗅覚中枢へと伝達されるのである。匂い分子と嗅覚受容体の対応は、複数の類似した分子群と複数の種類の受容体群の関係という、結合の度合いを勘案したグループ対グループの対応であると考えられている。個々の嗅細胞は先に述べた様に嗅覚受容体遺伝子群の中から1種類のみを選択的に発現し、同じ種類の受容体を発現する嗅細胞は、共通の糸球に軸索を集束させている。したがって嗅覚系では、嗅上皮において受容された匂い分子という化学情報が、嗅球表層において二次元的な位置情報に変換されるということができる。

当研究室では、嗅細胞の発生及び再生のメカニズムについて、嗅覚受容体遺伝子の発現制御ならびに嗅球への投射の観点から研究を進めている。嗅覚受容体多重遺伝子を解析するうえで最も興味深いことは、個々の嗅細胞がどのようにして1種類の遺伝子を相互排他的にしかも2つある対立形質のうち一方のみを選んで発現するのかという問題である。このような多重遺伝子間の相互排他的発現制御は、他の系では免疫系の抗原受容体遺伝子にみられるだけできわめて例外的であるが、どのような制御機構が嗅覚系で機能しているのかは今のところ不明である。もう1つの課題は、嗅覚受容体の種類に依存した嗅細胞の嗅球への軸索投射のメカニズムである。最近嗅覚受容体遺伝子のコーディング領域を欠失させたりスワップさせたノックインマウスが作製され、嗅覚受容体それ自体が嗅細胞の軸索投射に関与していることが示唆された。嗅細胞は高等生物の神経系の中でも常時再生される神経細胞としてきわめて例外的な存在である。嗅細胞が再生される際、嗅覚受容体の特異性と糸球への軸索投射の特異性がどのように連携しているのかは、きわめて重要な課題である。

ここに紹介した嗅覚系は、今後神経生理学の分野のみならず、分子生物学の分野にも新たな発見と驚きを提供していくものとその進展が大いに期待される。

参考文献

1. Tsuboi, A., et al. Olfactory neurons expressing closely linked and homologous odorant receptor genes tend to project their axons to neighboring glomeruli on the olfactory bulb. *J. Neurosci.* **19**, 8409-8418 (1999).
2. Serizawa, S., et al. Mutually exclusive expression of odorant receptor transgenes. *Nature Neurosci.* **3**, 687-693(2000).
3. Reed, R.R. Regulating olfactory receptor expression: News and Views. *Nature Neurosci.* **3**, 638-639(2000).

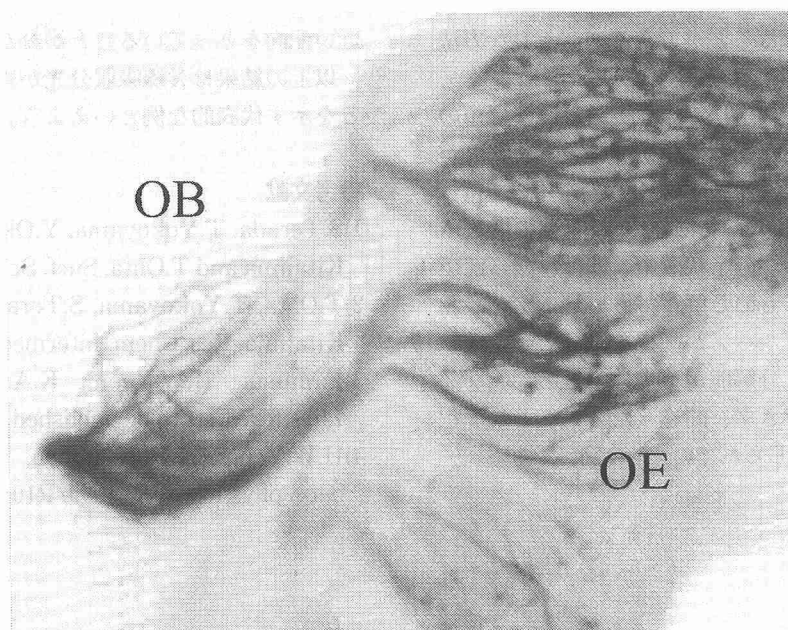
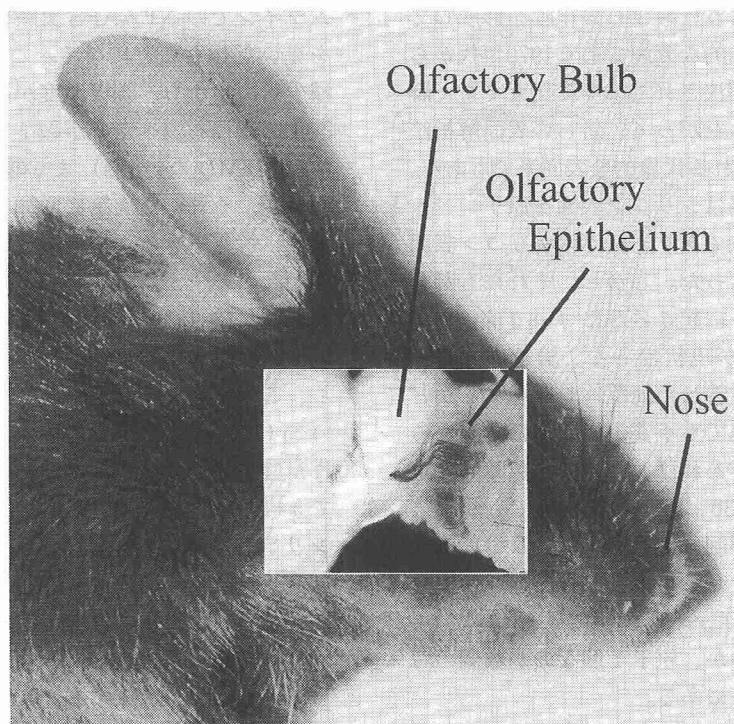


図 マウスの嗅覚器官

特定の嗅覚受容体遺伝子 (*MOR28*) に *lacZ* 遺伝子を標識としてつなぎ、これを受精卵に導入してトランスジェニックマウスを作成した。このマウスの嗅上皮 (olfactory epithelium: OE) と嗅球 (olfactory bulb: OB) を X-gal で染色すると、トランスジーン *MOR28* を発現する嗅神経細胞とその軸索を青く染め出す事が出来る。下の拡大図は嗅上皮から集まってくる *MOR28* 発現細胞の軸索が、嗅球上の特定の位置をターゲットに投射している様子を示している。

シリコン表面はどのように酸化していくのか

太田 俊明 (化学専攻)

ohta@chem.s.u-tokyo.ac.jp

「シリコン表面がどのように酸化し酸化膜を形成していくか」は表面科学の基本的な課題であり1970年代から数多くの研究が行われ、解決されたように見えてまだ謎の多い研究課題である。したがって、新しい表面解析法が開発されるとまず適用される代表的な表面系でもある。特に、最近のSTMの出現はシリコン表面を原子レベルで観察できる新しい実験法であり、盛んにシリコン表面の研究が行われるようになった。しかし、それにも関わらず、初期酸化がどのように起こるかについてはいくつ議論が分かれているのが現状である。論争的は、 O_2 がSi表面に分子状に吸着した前駆体が存在するかどうかにある。前駆体が低温でも不安定ですぐに解離すると報告しているグループがあれば、室温でも数時間安定に存在する、あるいは、 230° のような高温でも前駆体が存在し、安定位置を飛び回っていると報告しているグループなど様々である。なぜこのような食い違いが出来るかという、STMでスポットが鮮明に見えていても、それがどのような化学種なのか、原子1個なのか数個の塊なのか判然としないところにある。

我々はX線吸収分光法を用いて金属や半導体表面に吸着した分子の構造や電子状態を調べる研究を行っている^{1,2)}。特に、吸収端の微細構造(NEXAFS)は吸着種の状態を敏感に見分けることができるユニークな方法である。そこで、我々は、OK-NEXAFS法によってSi(111)の初期酸化の状態を調べた³⁾。実験はつくば市の高エネルギー加速器研究機構放射光研究施設で、我々が施設と共同で開発した軟X線高分解能分光器を用いて行った。その結果、低温(135K)で酸素K吸収端の低エネルギー側に微弱ではあるが分子状酸素、即ち、酸素前駆体の $1s \rightarrow \pi^*$ 遷移によるものと解釈できるピークを観測した。10年前ドイツのグループが同様なNEXAFS実験を行っているが、強度、分解能が不十分でこのような前駆体を見いだすことができず、間違ったスペクトル解釈をして今日までそれが信じられていた。今回、高性能ビー

ムラインでのNEXAFS実験によって初めて前駆体状態を見いだしたことになる。この π^* ピークは時間と共に減少し、しかも、基板温度が高いと存在しない。詳細な酸化の過程を調べたのが図1である。図から分かるように、0.15ML(分子層)まで酸素を付けても π^* ピークは現れず、それから次第に増加していく。このことは次のように解釈できる。初期酸化の過程では、まず酸素の解離が起こり、Si-Si結合にOが割り込んでいく。その結果、電気陰性度の高い酸素に電子を取られたSiに孤立電子対を持った酸素分子が前駆体として吸着する。しかし、この状態も準安定であり、時間と共に解離して新しいSi-O-Si結合を作っていく。それによって更に導入された酸素分子が結合できるSiの量が増加し、結果として π^* ピーク強度が増加していく。別の言い方をすれば、シリコン表面の酸化は酸素分子が解離して均一に Si^+ を作り、次に、更に酸化が進んで Si^{2+} , Si^{3+} そして最後に Si^{4+} になるのではなく、局所的に Si^+ あるいは、 Si^{2+} のサイトに酸素分子が吸着し、島状に酸化が進行していくことを意味する。これは高分解能光電子分光で $Si2p$ スペクトルを観測することでも確かめられた³⁾。更に、NEXAFSの偏光依存性から前駆体の配向を調べたところ、図2に示すように酸素分子はほぼ基板に平行に近い配向をとっていることが分かった。

以上の結果はX線吸収分光が表面研究に有用であることを示す代表的な例といえよう。

参考文献

- 1) S.Terada, T.Yokoyama, Y.Okamoto, M.Kiguchi, Y.Kitajima and T.Ohta, Surf. Sci. **442**(1999) 141-148
- 2) T.Ohta, T.Yokoyama, S.Terada, A.Imanishi and Y.Kitajima, Res. Chem. Intermed. **26**(1999) 29-43
- 3) F.Matsui, H.W.Yeom, K.Amemiya and T.Ohta, Phys.Rev.Lett to be published
- 4) H.W.Yeom, H.Hamamatsu, T.Ohta and R.I.G.Uhrberg, phys.Rev. **B59**(1999) R10413

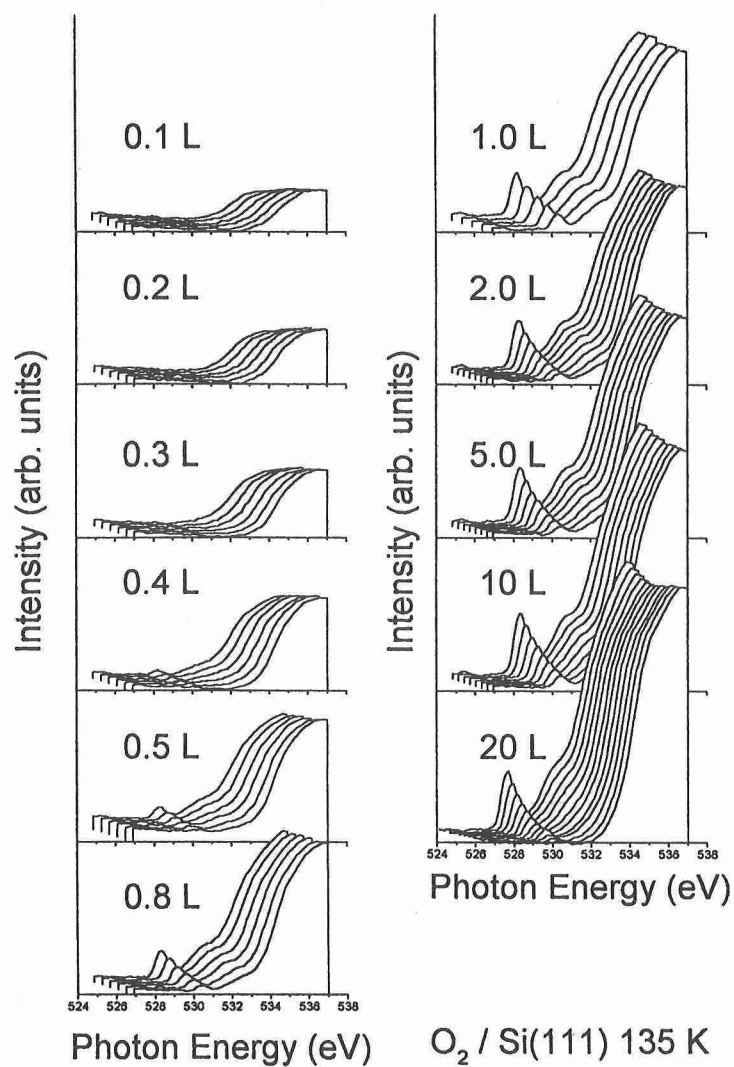


図1 様々な酸素ドーズ量での $O_2 \pi^*$ ピーク強度の時間変化
 基板温度135K, スペクトルは5分おきに測定。(1 L = 10^6 Torr · sec)

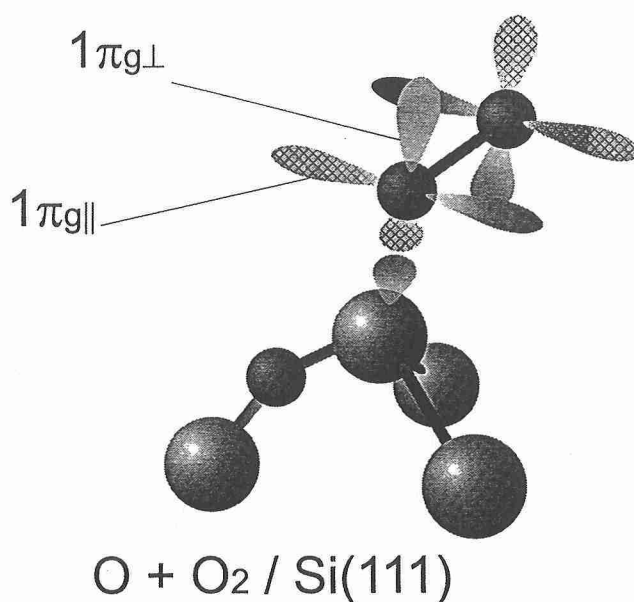


図2 酸素分子前駆体の構造モデル
 解離した酸素と結合したシリコンは電荷が少なくなって、酸素分子が比較的安定に吸着できると考えられる。

走査トンネル顕微鏡 (STM) による金属 酸化物上の表面水素原子 (水酸基) の観察

福井 賢一 (化学専攻)
fukui@chem.s.u-tokyo.ac.jp

岩澤 康裕 (化学専攻)
iwasawa@chem.s.u-tokyo.ac.jp

金属酸化物は触媒、ガスセンサー、電子材料、光学材料、半導体デバイスの絶縁被膜など、実に様々な工業分野に応用されている。これらの応用の一つの基礎となる物理的・化学的表面現象の理解を目指し、金属酸化物の表面科学は最近になって急速に発展しつつある研究領域である[1]。酸化物表面上の酸素と結びついた水素原子 (表面水酸基) は表面物性・反応性を制御する重要な因子の一つである。例えば、有機金属錯体と反応して表面上に固定することで新たな金属活性サイトを作ったり、表面上での原子の拡散を変化させることで粒子や膜の成長様式を変える。ごく最近、我々は典型的な金属酸化物 TiO_2 上の表面水素原子 (水酸基) が走査トンネル顕微鏡 (STM) で直接画像化できることを明らかにした。

図 1 (a) は $\text{TiO}_2(110)$ 表面上の酸素原子にトラップされた水素原子の典型的な STM 像である[2]。 $\text{TiO}_2(110)$ 表面は図 1 (c) のモデルに示したように Ti イオンと酸素イオンがそれぞれ [001] 方向に伸びた列からなる。STM では試料バイアス電圧が正のとき探針から試料の Ti イオンに局在する非占有軌道へ電子がトンネルし、図 1 (a) でも [001] 方向に伸びた Ti イオンの列が輝線として観察されている。一方、その間の酸素イオンの列は逆バイアスでも画像化できない。図 1 (a) では列の間をまたぐように均一な単原子サイズの輝点 (被覆率 0.14) が見える。この輝点は通常の観察条件より少し高いバイアス電圧を印可して探針を動かすと試料表面にダメージ

を与えずに綺麗に取り除けることから、表面酸素イオンの欠陥などではなく酸素イオン上の吸着種と考えるのが妥当である。また、X線光電子分光 (XPS) によりこの被覆率に相当するような不純物元素が検出されなかったことから、XPS で検出不能な水素原子が有力となる。 TiO_2 表面に 20 eV の低速電子を照射すると電子刺激脱離 (ESD) により酸素に吸着した水素原子を選択的に脱離させられることが報告されており、これを適用した。図 1 (b) は 20 eV の電子を 6 時間照射後の表面の STM 像である[2]。ESD 過程により水素原子が脱離して輝点が大幅に減少し、Ti イオンの列が観察されているのが分かる。さらにこの表面を原子状の水素に露出すると同種の輝点が増加すること、それらの ESD 挙動が同一であることが確認できた。

金属酸化物表面上の個々の水酸基が STM で直接画像化できること、さらに ESD や探針の操作によりそれらの空間的配置が制御できることが示され、今後、酸化物表面の反応性の制御への利用が期待できる。

参考文献

- [1] V. E. Henrich and P.A. Cox, *The Surface Science of Metal Oxides* (Cambridge University Press, Cambridge, 1994).
- [2] S. Suzuki, K. Fukui, H. Onishi, and Y. Iwasawa, *Phys. Rev. Lett.* 84(2000)2156.

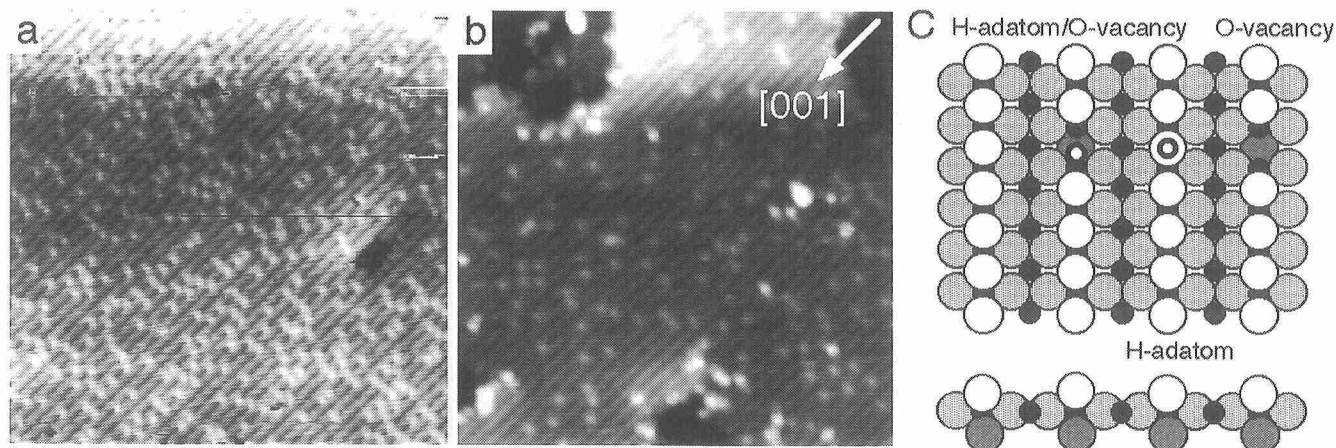


図 1. (a) $\text{TiO}_2(110)$ 表面上の水酸基 (列間の輝点) の STM 像と (b) (a) の表面から ESD (20 eV, 6 h) により水酸基の水素原子を脱離させた表面の STM 像: $25 \times 25 \text{ nm}^2$, $V_s = +1.5 \text{ V}$, $I_t = 0.05 \text{ nA}$ 。(c) 表面水酸基および酸素原子欠陥を含む $\text{TiO}_2(110)$ 表面のモデル図。小さな黒丸が Ti^{4+} イオン、大きな丸が O^{2-} イオン、小さな白丸は水素原子。

“他”から“非自己”へ

野中 勝 (生物科学専攻)
mnonaka@biol.s.u-tokyo.ac.jp

生命の歴史において多細胞生物の誕生は最も画期的な出来事の一つだったと言え、それに伴い細胞間の役割分担やコミュニケーションなど数多くの新たな生物機能が獲得されたと思われます。免疫機能もその一つで、会うもの全てが“他”である単細胞生物と違って、多細胞生物には自他を識別して自身を守る必要があります。免疫系はヒトを始めとする高等脊椎動物では、高度に組織化され極めて複雑な生体反応系になっておりますが、私たちの研究室では、高等脊椎動物から進化の過程を逆に遡って免疫系の発展の歴史を、主に分子レベルで明らかにしようとしています。

高等動物の免疫系は獲得免疫と自然免疫に大別されますが、両者は異物を認識する原理をまったく異にします。獲得免疫が用いる異物認識の原理は“非自己”であり、簡単に言えば、先ず体細胞レベルでの組み替えにより高度の多様性を示す受容体レパートリーを用意しておいて、個体発生の過程でそのうち自己反応性のものを除去することにより“非自己”に対する特異性を獲得します。未知の病原体とも対処しうる先見性を備えた極めて賢いシステムとすることができますが、反面大がかりになりすぎており、その制御機構の破綻は自己免疫疾患を引き起こします。一方、自然免疫は、細菌やウイルスに存在し寄主には存在しない多糖などの特徴的な分子構造を認識する受容体を用います。積極的に“他”を認識するシス

テムで、融通がきかない代わりに、単純で破綻しにくいと言えます。私たちは高等脊椎動物に存在する自然免疫のうち、補体系が原索動物のホヤにも存在するのを見いだしました。現在、その全貌解明を目指していますが、“他”の認識にはレクチンを用いているようです。

また、免疫系の進化過程でいかにして認識原理が“他”から“非自己”に切り替えられたかに興味をもたれますが、獲得免疫系の誕生に際しては、既存の多くの遺伝子が流用されると共に、新たに獲得免疫特異的な遺伝子が創造されたはずで、これら特異的遺伝子の起源をたどると、例外なくサメ等の軟骨魚類までは遡れますが、現存する最も下等な脊椎動物と言われる円口類では痕跡すら認められなくなり、顎の進化と同調して、この時期に獲得免疫特異的な遺伝子が一斉に出現したと考えられます。脊椎動物がその進化初期に二度経験したと言われる、ゲノム全体の倍化である四倍体化が素材提供に大きな役割を果たしたことは創造に難しくありません。しかしながら、単に素材が提供されただけで多くの遺伝子が有機的に機能する反応系が誕生するとは考えにくく、この過程には近接する遺伝子の協調進化を助けるゲノム構造自体が深く関わっていたと思われます。私たちは比較ゲノム学的手法によりこの問題に取り組んでおり、獲得免疫系の進化をモデルに、一的に生体反応系の成立過程を理解できればと考えています。

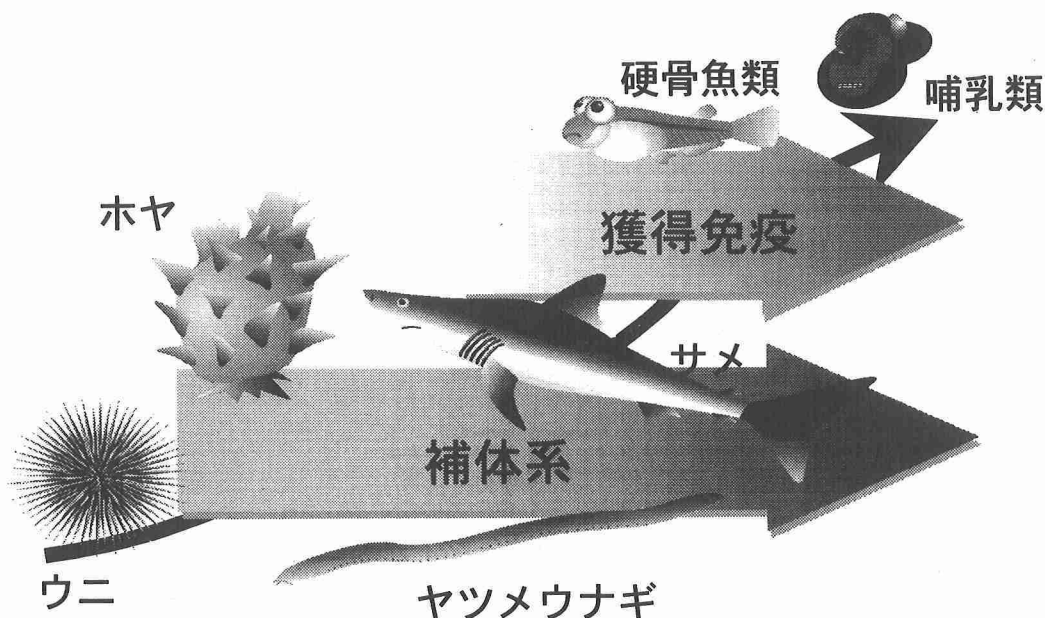


図 脊椎動物と免疫系の進化

Rh血液型システムの遺伝子構成

数 藤 由美子 (生物科学専攻)
suto@biol.s.u-tokyo.ac.jp

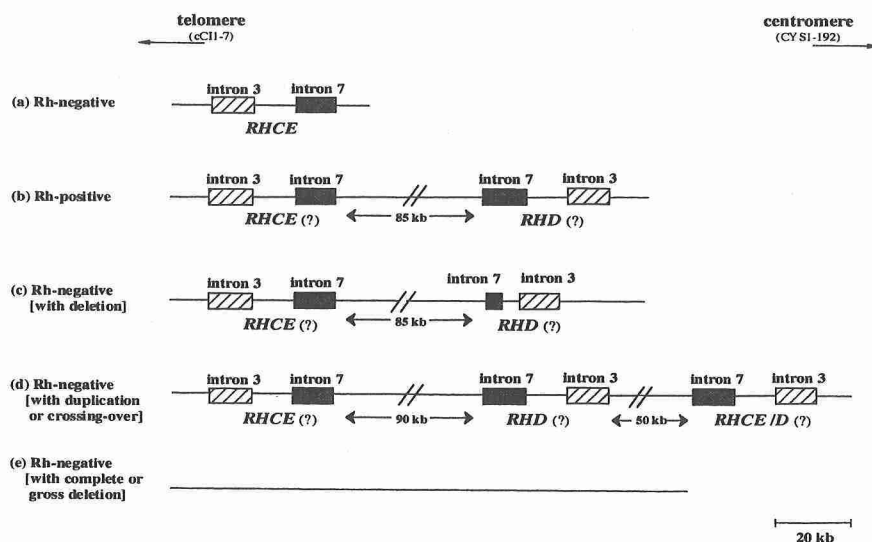
Rh血液型 [Rh(+), Rh(-)] は赤血球膜表面の抗原型で、輸血・母子(胎児)間の血液型不適合に関連して重要なものである。主要5抗原 C/c、E/e、D から成るが、血清学的に D の発現のみられない人が Rh(-) と判定される。Rh(-) の出現頻度には集団差があり、日本人で 0.5% であるのに対し、コーカソイド(白人)では 15% と高い値である。遺伝子構成に関しては第 1 番染色体上の高い相同性を示す 2 つの遺伝子 *RHCE* と *RHD* が見出されており、前者が C/c と E/e 抗原を、後者が D 抗原をコードすると推測され、Rh(-) では *RHD* 遺伝子が欠失していると考えられてきた。近年、血液型適合性を調べるためのスクリーニング法として、血清を用いた抗原・抗体反応による判定に代わり、PCR(ポリメラーゼ連鎖反応)法による *RH* 遺伝子の部分的増幅・検出に基づく DNA タイピング法が開発され、臨床的に用いられるようになった。しかしこの方法ではコーカソイドの集団では問題がないが、彼らとは異なる表現型構成をもつ日本人集団では従来の血清学的タイピングとの不一致がみられる症例があり、混乱が生じている。さらに、C、D、E 融合型をはじめとする変異型も 45 以上見出されてきた。このように、Rh 血液型システムは実は非常に複雑で多様性に富むことがわかり、詳細な解析の国際的競争が行われている。

最近筆者は、日本赤十字社中央血液センターとの共同研究により、約 200kb におよぶ *RH* 遺伝子領域のゲノム構成を、fiber-FISH(スライドガラス上に細胞核の DNA ファイバーを直線的に流出・展開させた標本に、複数種類の蛍光標識 DNA プローブをハイブリダイズさせ蛍光顕微鏡下で検出する方法:写真参照)により解析し、DNA タイピングと血清学的タイピングとの不一致

の理由を明らかにした。即ちこの遺伝子領域で欠失、重複といったゲノム再配列が生じることで遺伝子発現の異常がもたらされることを示した [Suto et al. (2000), Human Genetics 106: 164-171]。

具体的には、*RH* 遺伝子のイントロン 3 あるいは 7 を含む 2 種類のプローブを作製し、異なる蛍光標識を施して DNA ファイバーにハイブリダイズさせ、*RH* 遺伝子の数・方向・遺伝子長・遺伝子間距離の解析を行った。その結果、日本人に代表的な表現型の Rh(+) 個体では、2 遺伝子 (*RHCE*、*RHD*) が近接してしかも互いに逆向きに配列していること(図 b)、代表的な Rh(-) 個体 [D-C-c+E+e+] では *RHD* が完全に欠失していることが証明され(図 a)、従来の推測を裏付けた。DNA タイピングでは *RHD*(+) だが血清学的に Rh(-) と判定された個体については、複雑な遺伝子構成が見出された。例えば [D-C+c+E+e+] の個体では相同染色体の一方の座位に *RHCE* のみ(図 a)、他方に *RHCE* と約 15kb の欠失を生じた *RHD* 遺伝子(図 c)とがみられた。[D-C+c+E+e+] の個体では 3 個の *RH* 遺伝子をもつ座位(図 d)と全て欠失した座位(図 e)のヘテロ接合を示した。これらは遺伝子の欠失、重複、組み換えといった再配列により生じたものであり、そのような変化が *RHD* 遺伝子の発現異常をもたらしたものと考えられる。

以上のような結果は、*RH* 遺伝子領域内に構造変化を生じやすいホットスポットが存在する可能性を示唆する。今後さらに表現型とゲノムの再配列の関連を調べていくとともに、遺伝子重複のモデルとして *RH* 遺伝子領域の進化の研究を進める予定である。



(図の説明)

- 第 1 番染色体上の *RH* 遺伝子座の遺伝子構成
- (a) 代表的な Rh(-) 個体の例。
 - (b) 代表的な Rh(+) 個体の例。
 - (c) *RHD* 遺伝子の部分欠失(約 15kb)例: DNA タイピングで *RHD*(+) を示した Rh(-) 個体から検出。
 - (d)(e)ゲノムの再配列により生じた *RH* 遺伝子の重複[(d)]と完全欠失[(e)]のヘテロ接合の例: DNA タイピングで *RHD*(+) を示した Rh(-) 個体から検出。