

研究区分	教員特別研究推進 国際共同研究・国際交流の推進
------	-------------------------

研究テーマ	ヒト匂い物質結合タンパク質を介した嗅覚知覚メカニズムの解明				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	伊藤 圭祐
	研究分担者	所属・職名	Duke University・Professor	氏名	Hiroaki Matsunami
		所属・職名	日本学術振興会・特別研究員	氏名	尾城 一恵
		所属・職名	食品栄養科学部・助教	氏名	寺田 祐子
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	伊藤 圭祐

講演題目	出芽酵母を用いたヒト匂い物質結合タンパク質の組み替え生産
------	------------------------------

**研究の目的、成果及び今後の展望**

ヒトは、鼻をつまんで匂いを遮断すると、食べている食品の味（風味）をほとんど区別できなくなる。このように嗅覚は食品のおいしさの知覚に大きく寄与していることから、嗅覚研究は、ヒトが感じるおいしさの評価・設計に極めて重要である。匂いは、嗅上皮に発現しているヒト嗅覚受容体（OR）を活性化させることで感知される。ORは約400種類存在し、匂い物質が活性化させるORのパターンによって、「レモンの香り」のような匂いの“質”が規定されるが、OR応答パターンを匂いの“質”と紐付ける試みは未だ成功していない。

ヒトが匂いを感知する過程では、気体状の匂い物質が嗅粘液に溶解した後にORに作用する。その際、匂い物質は嗅粘液中でodorant-binding protein II a（OBPIIa）に結合し、嗅覚受容体に運ばれると考えられている。そのため、OBPIIaの機能を解明することは、ヒトの嗅覚知覚システムの理解に不可欠である。しかし現状では、OBPIIaと匂い物質の結合特異性や結合メカニズムの詳細はほとんど明らかとされていない。そこで本研究では、OBPIIaの匂い物質受け渡し機能やORとの相互作用を詳細に解析するため、OBPIIaの組み替え生産系を構築した。

本研究では、出芽酵母（*Saccharomyces cerevisiae*）を宿主としたOBPIIa発現系を構築し、分泌生産量を増やすための検討を進めた。その結果、液胞プロテアーゼ（PRB1、PRC1、PEP4）欠損株である*S. cerevisiae* BY 2777株を宿主として、N末端に*S. cerevisiae* CWP1由来の分泌シグナル配列を付加し、30℃で48時間発現誘導する条件が適していることが明らかとなった。HiBiTタグ（定量検出用）、Hisタグ（定性検出、精製用）の配置が異なる6種類のコンストラクト①、②、⑥、⑧、⑨、⑩でのhOBP2a発現量を解析した結果、コンストラクト①【CWP1-His\*12-hOBPIIa-HiBiT】、コンストラクト②【CWP1-His\*8-hOBPIIa-HiBiT】、コンストラクト⑧【CWP1-hOBPIIa-HiBiT-His\*8】の発現量が高いことが明らかとなった。コンストラクト①を用いて発現させたOBPIIaのHisタグ精製を検討した結果、SDS-PAGEによってOBP2IIaタンパク質を検出することができた。