

&lt;学術論文&gt;

## 乳酸鏡像異性体に対するショウジョウバエ幼虫嗅覚行動

坂口雅彦 信州大学教育学部理数科学教育講座  
荒井大輔<sup>1</sup> 信州大学大学院教育学研究科理科教育専修  
武田宏美<sup>2</sup> 信州大学教育学部理数科学教育専攻

キーワード：昆虫，感覚，化学受容，誘引物質，走性

### 1. はじめに

動物にとって嗅覚は、餌、交尾相手、捕食者などの発見に必要な感覚であり、個体の生存及び種の存続にとって重要な感覚である。動物は多種多様な嗅物質を嗅覚器で受容し、嗅物質を検出し、識別し、誘引行動や忌避行動などをおこす。動物が各嗅物質を検出し、識別し、行動をおこす機構の解明は、嗅覚研究の大きな目標の1つである。

キイロショウジョウバエは強力な遺伝学的手法が利用できるモデル生物であり、嗅覚研究でも先駆的な研究が多数行われてきている(石元と谷村, 2003; Hallem と Carlson, 2004; Vosshall と Stocker, 2007; Kreher 等, 2008, Benton 等, 2009)。成虫は発酵した植物体を餌及び産卵場所に行っている。発酵植物体から揮発してくる嗅物質に対する嗅覚が餌発見に重要である(Barrows, 1907)。成虫は種々の嗅物質に対して誘引または忌避行動を示す(Barrows, 1907; Fuyama, 1976; Rodrigues と Siddiqi, 1978; Ayyub 等, 1990)。成虫の嗅覚器は触角第3節及び小顎鬚の嗅感覚子であり、感覚子中に存在する2~4個の嗅細胞が嗅物質を受容する。嗅細胞総数は1300個ほどである(Hallem と Carlson, 2004)。

各嗅細胞はそれぞれ嗅物質を受容する受容体を持つが、嗅物質受容体として現在までに少なくとも61種のodorant receptor (OR) (Couto 等, 2005)と少なくとも15種のionotropic receptor (IR) (Benton 等, 2009)が発見されている。成虫において、ORは主に錐状感覚子(basiconic sensilla)と毛状感覚子(trichoid sensilla)中にある嗅細胞に発現している(Couto 等, 2005)。OR発現嗅細胞では、基本的には61種のうちの1種のORが発現し、この特異的ORと嗅細胞に共通に発現するOR83bとが複合体を形成し、嗅物質の結合によって直接開く陽イオンチャンネルを形成することが明らかになっている(Sato 等, 2008)。一方、IRは成虫の窩状感覚子(coeloconic sensilla)中にある嗅細胞に発現しており、1つの嗅細胞に1~3種のIRが発現している(Benton 等, 2009)。

<sup>1</sup>現所属：相模女子大学小学部，<sup>2</sup>現所属：長野信用金庫

キイロショウジョウバエ幼虫は、成虫と同じく発酵した植物体を餌として成長し、各種嗅物質に対して誘引行動または忌避行動を示す (Ayyub 等, 1990 ; Fishilevich 等, 2005 ; Kreher 等, 2008 ; Benton 等, 2009)。幼虫の嗅覚器は、幼虫体前方背側部の Dorsal organ(DO)であり、成虫嗅覚器とは発生起源も形態も異なり、変態時に消失する (Stocker, 1994)。DO 中にあるわずか 21 個の嗅細胞が嗅物質を受容し、中枢へ情報を伝達する (Singh と Singh, 1984; Python と Stocker, 2002)。21 個の嗅細胞にはそれぞれ基本的には 1 種の OR が発現し、この特異的 OR と OR83b が発現している (Kreher 等, 2005 ; Fishilevich 等, 2005)。幼虫で発現する OR には、成虫と共通な OR と幼虫にだけ発現する OR があるが系統による違いがあるようである (Kreher 等, 2005 ; Fishilevich 等, 2005 ; Kreher 等, 2008) このように幼虫の嗅細胞数は成虫に比べ極端に少ないにもかかわらず、各種嗅物質に対して誘引行動または忌避行動を示すため、解析が容易であり研究対象として注目されている。

酵母菌、乳酸菌、プロピオン酸菌、酢酸菌による発酵の最終産物はそれぞれエタノール  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ 、乳酸  $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$ 、プロピオン酸  $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$ 、酢酸  $\text{CH}_3\text{COOH}$  である。乳酸には不斉炭素が 1 つ存在するため、D 体と L 体の 2 種の鏡像異性体が存在する。Barrows(1907)と Fuyama(1976)はそれぞれ、化学合成した DL 乳酸 (D 体と L 体を等量含む、ラセミ体ともいう) を嗅覚刺激源として用いた実験を行い、キイロショウジョウバエ成虫が DL 乳酸に対して誘引行動をおこすことを報告した。飽和蒸気圧からわかるように、乳酸は揮発しにくい物質である (日本化学会, 1996)。にもかかわらず、酢酸やエタノールといった揮発しやすい物質と同じ希釈率の液で同等の成虫誘引行動が解発される (Fuyama, 1976)。このことから、DL 乳酸が高感度に成虫嗅覚行動応答を引き起こすことは明らかである。

DL 乳酸中の D 乳酸と L 乳酸の両者ともが誘引行動を解発するのか、どちらか一方であるのかを明らかにするため、Saito 等 (2008) は乳酸鏡像異性体 2 種のそれぞれを刺激源として成虫嗅覚行動を研究し、1) D 乳酸も L 乳酸も低濃度では単独で誘引行動を引き起こすこと、2) 濃度上昇に伴い L 乳酸はより強く誘引行動を引き起こすが、D 乳酸は誘引行動解発への効果が減少することを報告した。一方、成虫と異なる嗅覚系をもつ幼虫において、乳酸が嗅覚行動応答を解発するか、乳酸鏡像異性体間でその行動応答への効果に差があるのかについては報告がない。そこで本研究では、乳酸鏡像異性体 2 種それぞれに対するキイロショウジョウバエ幼虫の嗅覚行動応答を調べた。その結果、1) L 乳酸も D 乳酸も単独で誘引行動を解発すること、2) L 乳酸と D 乳酸で誘引行動を解発する閾値に差があること、3) 気相中の密度で考えれば、L 乳酸はプロピオン酸と同等もしくは高感度に誘引行動を解発すること、4) 同濃度の L 乳酸と D 乳酸の 2 選択実験では、

L 乳酸に対して特異的に誘引されることが明らかになったので報告する。

## 2. 材料と方法

### 2.1 キイロショウジョウバエ系統

すべての実験において、標準培地で 25℃にて飼育した Canton-S 系統を用いた。成虫を培地の入った飼育瓶に移し、24 時間産卵させた後、成虫を取り除いた。3 日後、孵化し、3 令幼虫前期～中期に成長した幼虫個体を実験に使用した。

### 2.2 化学物質

今回嗅物質として、用量応答関係を調べる実験では、DL 乳酸、L 乳酸、プロピオン酸、ピルビン酸  $\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$ 、2 プロパノール  $\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_3$  は和光純薬工業の特級を、D 乳酸と L 乳酸に対する応答を比較する実験では、シグマ社特級 (それぞれ L-0625 と L-6402) を用いた。詳細は Saito 等 (2008) と同様である。

### 2.3 幼虫嗅覚行動実験と応答率

Aceves-Pina と Quinn (1979)により考案され、Monte 等 (1989) によって改良された幼虫嗅覚行動実験の方法を用い (図 1)、応答率を算出し、行動応答を数値化し評価した。溶かした 1.1%寒天溶液 10mlを円型シャーレ (直径 90mm×高さ 10mm) に流し入れ、室温で放置し固化させ、アッセイプレートを作製した。幼虫を培地から取り出すため、飼育瓶に 15%スクロース水溶液を加え、筆を使って培地をやさしく攪拌し、浮いてきた幼虫を、先を切りなめしたパストツールピペットでビーカーに移した。幼虫を蒸留水で 2～3 回洗浄し 2.5%寒天プレートに移し、30 分～1 時間休ませた。アッセイプレートの両側に、直径 10mm のろ紙をシャーレの縁から 3mm の位置に置き、その片方 (S 側) に 25  $\mu\text{l}$  の嗅物質液 (希釈する場合は今回蒸留水を用いた) を添加した。反対側のろ紙 (C 側) には同量の蒸留水を添加した。その直後、幼虫 50～100 匹程度をアッセイプレートの中央に置き、蓋をして遮光し放置した。5 分後、アッセイプレートの S 側と C 側にいる

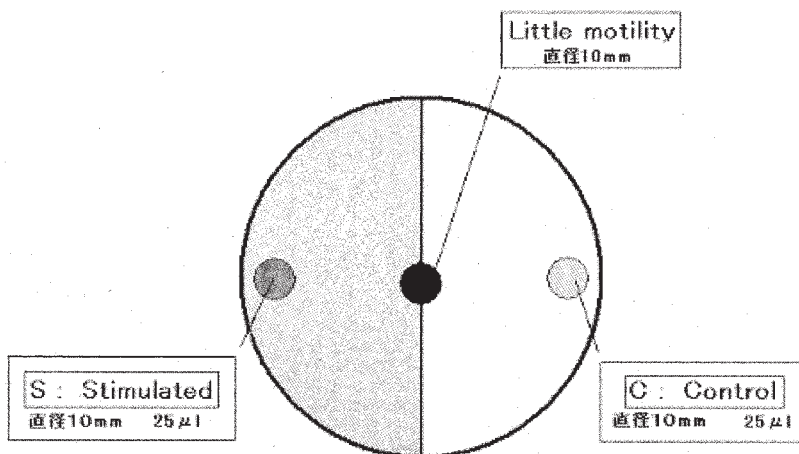


図1 幼虫嗅覚行動実験のアッセイプレート説明図

幼虫を数えた。S側にいた個体数をS、C側にいた個体数をCとして以下の式に示すように応答率 (Response index: R.I.) を算出した。中央の直径1cmのサークル内にとどまっている幼虫 (little motility) は採集の過程で何らかの傷害を受け、動けなくなっている可能性があるため念のため個体数から除外した。

$$R.I. = \frac{S - C}{S + C}$$

応答率は理論的に-1~1の間の値をとる。1は完全に嗅物質 (S側) に誘引されたこと、-1は完全に嗅物質 (S側) を忌避したことを示す。0は嗅物質を知覚したが誘引も忌避も示さなかったか、嗅物質を感じるができなかったことを示す。2選択嗅覚行動実験の場合はS側とC側にそれぞれ嗅物質液を添加した。この場合、正の応答率は嗅物質 (S側) に対する誘引もしくは嗅物質 (C側) に対する忌避を表し得るが、本研究では単独で誘引行動を解発する嗅物質2種を用いたので、正の応答率は嗅物質 (S側) への誘引、負の応答率は嗅物質 (C側) への誘引を示すことになる。

各嗅物質に対する応答率の差に関する統計的検定にはノンパラメトリック検定であるウィルコクソンの検定法を用いた。有意水準には5%を用いた。

### 3. 結果

#### 3.1 乳酸及び乳酸関連物質に対する幼虫嗅覚行動応答

本研究で用いた幼虫嗅覚行動実験の手法により、プロピオン酸が誘引行動を解発することが報告されている (Ayyub 等, 1990)。そこで最初に、乳酸と類似した化学構造 (官能基) を一部持つプロピオン酸、ピルビン酸、2-プロパノールの行動応答に及ぼす効果とDL乳酸、L乳酸の効果と比較検討した (図2)。刺激源として各化学物質の原液、及び蒸留水を溶媒とした $10^{-1}$ 希釈液、 $10^{-2}$ 希釈液、 $10^{-3}$ 希釈液、 $10^{-4}$ 希釈液25 $\mu$ lをアッセイプレートのS側に添加し、C側に蒸留水25 $\mu$ lを添加し、嗅物質への誘引行動及び忌避行動を応答率で評価した。ただし、プロピオン酸、ピルビン酸、2-プロパノールの飽和蒸気圧は、乳酸の飽和蒸気圧のそれぞれ34.3倍、14.3倍、467倍であり (日本化学会, 1996)、同じ希釈倍率の液から揮発していく各分子数は大きく異なり、多い順に2-プロパノール>プロピオン酸>ピルビン酸>乳酸である。プロピオン酸は先行研究の通り、幼虫の誘引行動を解発し、濃度増加とともに応答率は増大した。ピルビン酸も同様の用量応答曲線を $10^{-4}$ 希釈液から $10^{-1}$ 希釈液まで示したが、原液では応答率は却って減少した。2-プロパノールはより多くの分子が揮発しているはずであるが、原液でさえ、応答率は $0.10 \pm 0.04$  (平均値  $\pm$  標準誤差, n=8; 以後同様の表記とする) であり、幼虫は、2-プロパノールに対しては誘引行動も忌避行動も示さなかった。

L乳酸とDL乳酸は幼虫の嗅覚誘引行動を解発し、濃度増加とともに応答率は

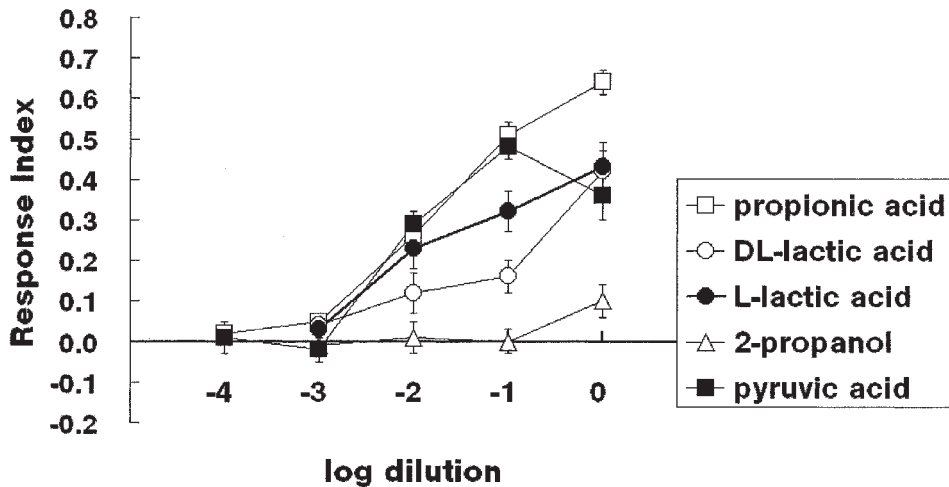


図2 乳酸及び乳酸関連物質に対する幼虫嗅覚行動応答の用量応答曲線

各化学物質の原液 (0),  $10^{-1}$  希釈液 (-1),  $10^{-2}$  希釈液(-2),  $10^{-3}$  希釈液(-3),  $10^{-4}$  希釈液(-4)を刺激源として得られた行動応答の応答率 (Response Index) の平均値(n=8)と標準誤差を示す (□プロピオン酸, ○; DL 乳酸, ●; L 乳酸, △; 2-プロパノール, ■; ピルビン酸)。

増大した。L 乳酸は揮発する分子数が少ないにも関わらず、 $10^{-2}$  希釈液では、プロピオン酸に対する応答率 ( $0.26 \pm 0.05$ , n=8) 及びピルビン酸に対する応答率 ( $0.29 \pm 0.03$ , n=8) と同等の応答率 ( $0.23 \pm 0.05$ , n=8) を示した。 $10^{-1}$  希釈液では L 乳酸に対する応答率 ( $0.32 \pm 0.05$ , n=8) はプロピオン酸に対する応答率 ( $0.51 \pm 0.03$ , n=8) 及びピルビン酸に対する応答率 ( $0.48 \pm 0.03$ , n=8) の約 64%の値を示した。嗅覚器での嗅覚刺激に有効な気相中の嗅物質分子数で比較して考えれば、これらの結果は、L 乳酸がプロピオン酸及びピルビン酸と同等もしくはより高感度に誘引行動を解発する嗅物質であることを示している。

鏡像異性体の飽和蒸気圧は同じで揮発性は同等である。従って、同じ希釈倍率の液からは、L 乳酸の場合も DL 乳酸の場合も同じ分子数の乳酸が揮発する。ただし DL 乳酸の場合は揮発する乳酸分子数の半分が L 乳酸であり、残り半分が D 乳酸である。DL 乳酸に対する応答率は、 $10^{-1}$  及び  $10^{-2}$  希釈時、L 乳酸に対する応答率より低い値であり、 $10^{-1}$  希釈液での L 乳酸と DL 乳酸に対する応答率はそれぞれ  $0.32 \pm 0.05$  (n=8) と  $0.16 \pm 0.04$  (n=8) であり、その差は統計的に有意である ( $P=0.038$ )。これらの結果は、少なくとも  $10^{-1}$  希釈時、D 乳酸が L 乳酸と等価な誘引行動解発効果を持たないことを示している。

### 3.2 乳酸鏡像異性体に対する幼虫嗅覚行動応答とその濃度依存性

D 乳酸が幼虫嗅覚行動応答を解発するか否か、乳酸鏡像異性体に対する幼虫嗅



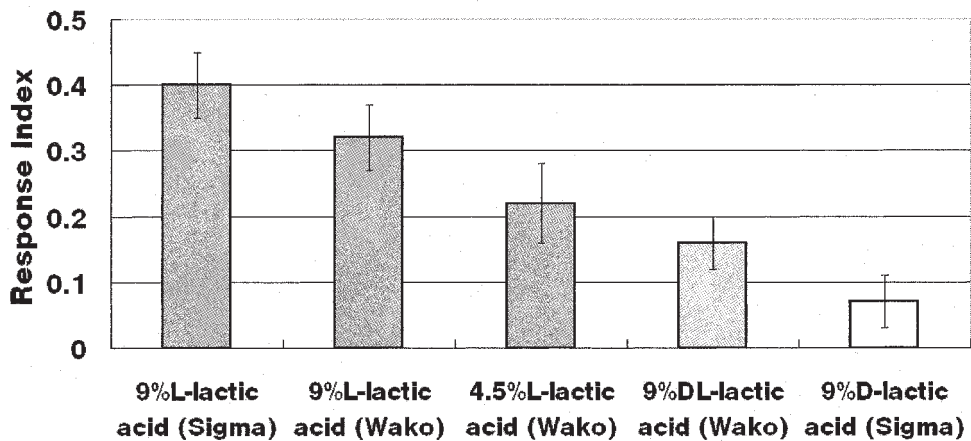


図3 9%乳酸に対する応答率の比較

9%L 乳酸, 9%D 乳酸, 9%DL 乳酸 (4.5%L 乳酸と 4.5%D 乳酸を含む) を刺激源として得られた行動応答の応答率の平均値(n=8)と標準誤差を示す。比較のため 4.5%L 乳酸の場合のデータも示す。

覚行動応答に差がみられるかを調べるために, L 乳酸に対する行動実験と D 乳酸に対する行動実験とを濃度を変えて行い, 応答率を比較した。9%L 乳酸に対する応答率は  $0.40 \pm 0.05$  (n=8)と高い値を示したが, 9%D 乳酸に対する応答率は  $0.07 \pm 0.04$  (n=8)と 0 に近い値を示した (図 3)。この濃度での L 乳酸と D 乳酸に対する応答率の差は統計的に有意である ( $P < 0.01$ )。9%L 乳酸と 9%D 乳酸からはそれぞれ同じ分子数の各乳酸鏡像異性体が揮発しているので, この結果は, 9%濃度では D 乳酸が誘引行動を解発することはほとんどできないことを示している。また, 9%DL 乳酸 (この液は 4.5%L 乳酸と 4.5%D 乳酸を含んでいる) に対する応答率は  $0.16 \pm 0.04$  (n=8)であり, 4.5%L 乳酸に対する応答率 ( $0.22 \pm 0.06$ , n=8)とほぼ同じ応答率を示した。この結果は, 4.5%濃度の D 乳酸は誘引行動を解発することができないことを示している。

次に, 18%と 36%濃度での乳酸鏡像異性体 2 種に対する応答率を比較した (図 4)。L 乳酸に対する応答率は 18%濃度では  $0.44 \pm 0.03$  (n=12), 36%濃度では  $0.54 \pm 0.05$  (n=12)と, 9%濃度に比べ濃度上昇に伴い応答率が少しではあるが増大し, 引き続き高い応答率を示した。これに対して D 乳酸に対する応答率は, 9%時と大きく異なり, 18%濃度では  $0.35 \pm 0.03$  (n=12), 36%濃度では  $0.37 \pm 0.04$  (n=12)と, 9%時に比べかなり高い値を示した。36%濃度での L 乳酸と D 乳酸に対する応答率の差は統計的に有意であるが ( $p=0.006$ ), 18%濃度での L 乳酸と D 乳酸に対する応答率の差は統計的に有意で無かった。これらの結果は, 18%及び 36%濃度では D 乳酸は誘引行動を解発できることを示している。以上の結果を総合すると, L 乳酸も D 乳酸もともに単独で誘引行動を解発することができるが, その

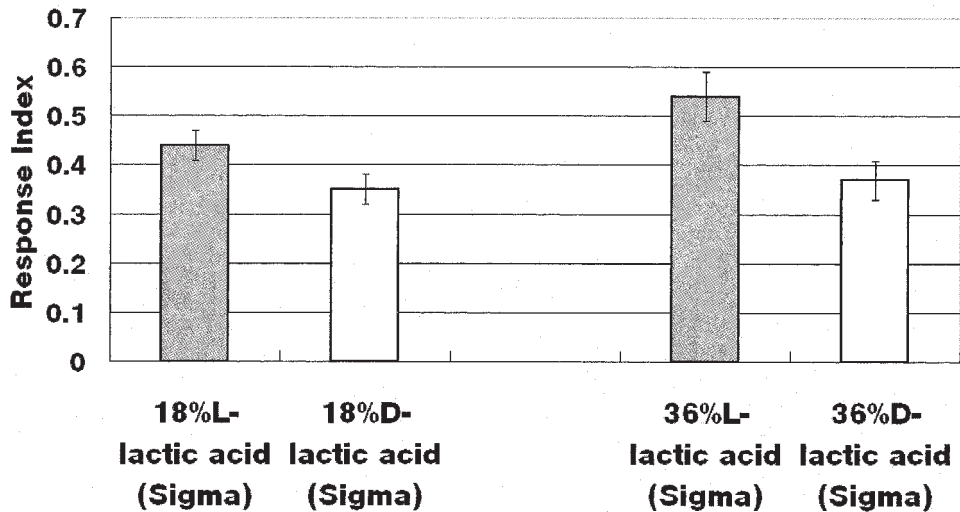


図4 18%、36%乳酸鏡像異性体に対する応答率の比較

L乳酸とD乳酸をそれぞれ刺激源として得られた行動応答の応答率の平均値(n=12)と標準誤差を示す。

閾値に差があり、L乳酸はより低濃度から誘引行動を解発することが明らかとなった。

### 3.3 L乳酸とD乳酸の2選択嗅覚行動実験

上記のように、18%濃度でのL乳酸とD乳酸に対する応答率に統計的な差はなく、どちらも単独でほぼ同等の誘引行動を解発した。そこで、18%L乳酸と18%D乳酸をアッセイプレートの2箇所それぞれにそれぞれ添加し、キイロシヨウジョウバエ幼虫がどちらに誘引されるか2選択嗅覚行動実験を行った(図5)。18%L乳酸にも18%D乳酸にも、同等に誘引され誘引率は0になると予測したが、実験の結果、幼虫はD乳酸ではなく、L乳酸への特異的な誘引行動を示し、応答率は、 $0.38 \pm 0.02$  (n=12)と高い値を示した。この応答率は18%L乳酸単独呈示に対する応答率とほぼ同等である(図4)。このように、L乳酸への誘引行動に対する、D乳酸による阻害効果(マスキングと呼ばれている; Kreher等, 2008参照)はみられなかった。逆に、D乳酸への誘引行動に対する、L乳酸によるほぼ完全な阻害効果がみられた。

## 4. 考察

嗅覚研究では、各嗅物質をパラフィンオイルや水などの溶媒に同じ倍率で希釈した溶液を刺激源とし、嗅物質への応答(行動応答、嗅細胞の活動電位発生頻度など)を比較する研究が広く行われている。各嗅物質ごとに揮発性が異なるため、この方法では嗅覚器に到達する気相中の各嗅物質密度は大きく異なる。例えば酢

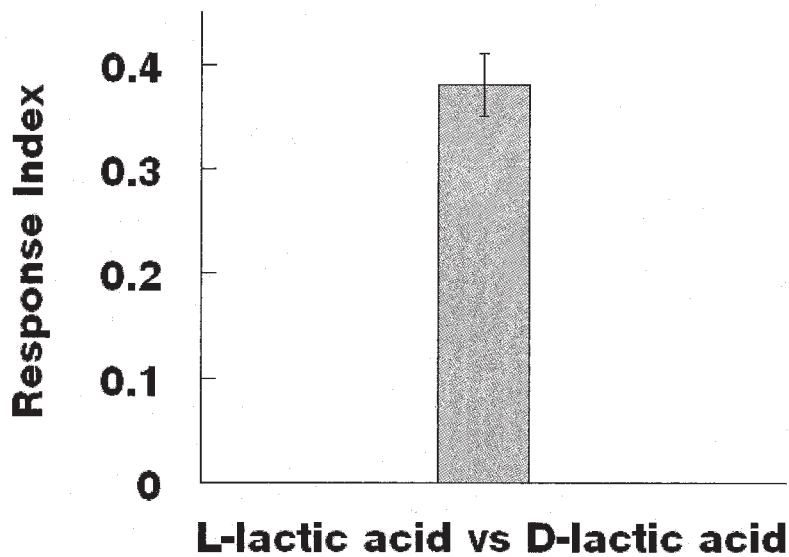


図5 L 乳酸と D 乳酸の 2 選択実験における L 乳酸への特異的誘引行動応答

18%L 乳酸を S 側, 18%D 乳酸を C 側に添加し, 刺激源として得られた行動応答の応答率の平均値 ( $n=12$ )と標準誤差を示す。正の応答率は L 乳酸への誘引もしくは D 乳酸への忌避を表し得るが, D 乳酸への忌避行動はみられなかったため (図 4), 正の応答率は L 乳酸への特異的な誘引を示している。

酸エチル  $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$  とプロピオン酸はキロシヨウジョウバエ成虫に誘引性の嗅覚行動応答を引き起こし, その用量応答曲線は同等であるが (Ayyub 等, 1990), 飽和蒸気圧を  $20^\circ\text{C}$  で比べてみると, 酢酸エチルは  $75.8\text{mmHg}$ , プロピオン酸は  $2.4\text{mmHg}$  と, 実に 31.6 倍もの差があり, プロピオン酸の方が揮発しにくく, 従って気相中の密度が低いことがわかる (日本化学会, 1996)。すなわち嗅物質の揮発性を考慮しないと, プロピオン酸の方がより低い気相中密度で高感度に嗅覚行動応答を解発していることに気がつかない。この例で明らかのように, 嗅覚研究では各嗅物質の化学構造の差異に起因する違いと, 各嗅物質の気相中の密度の差 (刺激濃度差) に起因する違いが混在及び混同されている場合が多い。同じ倍率で希釈した溶液を刺激源とした場合, 揮発性の高い嗅物質 A に対する応答 ( $R_A$ ) と揮発性の低い嗅物質 B に対する応答 ( $R_B$ ) が  $R_A < R_B$  であれば, 嗅物質 B がより高感度に応答を引き起こすことは明らかである。 $R_A \approx R_B$  であれば, 上記の例のように飽和蒸気圧から推定した気相密度を考慮に入れて, 嗅物質 B がより高感度に応答を引き起こすことがわかる。 $R_A > R_B$  の場合は, 気相密度を同じにして比較しなければ, どちらが高感度に応答を引き起こすかは厳密には不明である。また自然界における餌での濃度を比較し, 揮発性の低い嗅物質 B の方が高濃度であれば, 嗅物質 A に比べて嗅物質 B の方が餌発見に有効であるか, 餌発見に同程度に



有効である可能性がある。キイロショウジョウバエの場合、乳酸やプロピオン酸などの発酵の最終産物はこの例にあてはまる可能性がある。このように餌発見にかかわると考えられる嗅覚刺激としての各嗅物質の有効性は、その物質の餌での濃度、揮発性、嗅覚応答を引き起こす感度、などを総合的に評価する必要がある。

各嗅物質に対する嗅覚応答（嗅細胞の興奮性や行動応答など）の感度を厳密に比較するためには、各嗅物質の気相中の密度を同じにして実験する必要がある。つまり、直接の刺激源である各嗅物質の気相中の密度を同じにして、化学構造に起因する違いのみを比較する必要がある。このためには、計算により各嗅物質の飽和蒸気中の密度を求め、飽和蒸気の一定量を個別に空気希釈したり (Dethier と Yost, 1952)、嗅物質の気相中の密度を測定したりして (Asahina 等, 2009)、気相中の密度を人為的に制御・計測する必要があるが、各嗅物質ごとにこれを行うのは非常に困難である。この問題を解決する方法の1つとして鏡像異性体の利用が考えられる。各鏡像異性体2種は旋光能や、嗅物質受容体への結合性など以外の物理化学的性質は一般に同じである。つまり飽和蒸気圧は同じ、すなわち揮発性は同等である。従って、同じ希釈率の液を刺激源として用いても、その溶液から揮発して嗅覚器に到達する鏡像異性体2種の密度は同じである。

同じ希釈率の溶液を呈示して得られた、鏡像異性体2種に対する嗅覚応答が異なる場合、その嗅覚応答を動物行動実験やヒトでの匂いの知覚表明実験でみていたとしても、応答の差異は、鏡像異性体2種における、個々の嗅物質受容体との結合性の違い（結合する受容体群のパターンの違い）などの末梢の嗅覚器段階での差異に元々起因するはずである。各鏡像異性体が、それぞれ異なる嗅物質受容体群に結合し、別々の嗅細胞が中枢にそれぞれの嗅覚情報を伝達していれば、鏡像異性体の識別機構を容易に研究することができる可能性がある。ヒト、猿、ラットでは鏡像異性体識別が報告されている (Laska と Teubner, 1999; Laska 等, 1999; Rubin と Katz, 2001)。

Asahina 等(2009)が行った、フーリエ変換赤外分光器で気相の嗅物質密度を測定した実験結果を考えると、本研究の2選択実験でも、同濃度のD乳酸液とL乳酸液のそれぞれの添加部位から、同じ分子数のD乳酸とL乳酸が揮発し、添加部位から周囲へ同様の密度勾配が形成されると考えられる。18%D乳酸単独呈示では、18%L乳酸単独呈示と同程度の誘引行動が解発されるにもかかわらず、2選択実験で幼虫は、共存する18%D乳酸のマスクング効果もなく、18%L乳酸へ誘引された。逆に、18%D乳酸への誘引行動は、18%L乳酸でほぼ完全に阻害された。このL乳酸への特異的誘引行動のメカニズムは不明であるが、幼虫がL乳酸とD乳酸を識別する機構を持ち、L乳酸を選択した結果であれば興味深い。

L乳酸及びD乳酸が結合する嗅物質受容体及び嗅細胞は、現在のところ成虫でも幼虫でも不明である。Hallem と Carlson (2006) は、 $\Delta$ hallo 系統と分子生物学

的技術を使い、ORが発現していない成虫触角 ab3A 嗅細胞 (empty neuron) に、成虫触角の他の嗅細胞に発現している 24 種の各 OR を異所的に発現させた。そして、DL 乳酸を含む 100 種類の嗅物質を同じ希釈率で希釈した液から揮発させ、各異所発現 OR を介した化学受容によって生じる嗅覚応答を、ab3A 嗅細胞の活動電位発生頻度で調べた。その結果、24 種の各 OR を介した興奮性応答は、DL 乳酸では検出されなかった (プロピオン酸でも検出されなかったが、ピルビン酸では OR7a が 50~100 発/秒の興奮性応答を示した。OR7a は成虫及び幼虫に発現する OR である)。Kreher 等 (2008) は幼虫に発現する 21 種の各 OR について、Hallem と Carlson (2006) と同様の実験を 26 種の嗅物質を用いて行ったが、乳酸については行っていない (プロピオン酸については行ったが、応答は検出されなかった。ピルビン酸は行っていない)。Yao 等 (2005) は、乳酸、ピルビン酸は含んでいないがプロピオン酸を含む 45 種の嗅物質を用いて、成虫触角の窩状感覚子中の嗅細胞の応答を調べ、 $10^2$  希釈水溶液から揮発させたプロピオン酸刺激に対して高頻度 (113~180 発/秒) 活動電位を発生させる嗅細胞が存在することを報告した。最近、この嗅細胞が IR を嗅物質受容体として発現していることが明らかになった (Benton 等, 2009)。従って、幼虫で IR を発現する嗅細胞が存在するかは現在のところ不明であるが、IR 発現嗅細胞がプロピオン酸と同様に、成虫そして幼虫で乳酸に対する嗅覚に関係している可能性も考えられる。

本研究では、モデル生物であるキイロショウジョウバエ幼虫で初めて、鏡像異性体が異なる閾値で嗅覚行動応答を引き起こし、さらに単独呈示では鏡像異性体 2 種両方に同等の誘引行動を示す濃度での 2 選択実験で、鏡像異性体の一方にのみ誘引行動をおこすことを示した。乳酸鏡像異性体を用いたキイロショウジョウバエでの嗅覚研究は、鏡像異性体の識別機構ひいては嗅物質全般の識別機構研究への足がかりとなる可能性があり、今後、乳酸鏡像異性体を用いた細胞レベル、分子レベルでの嗅覚研究が待たれる。

## 引用文献

Aceves-Pina, E. O., and Quinn, W. G. (1979) Learning in normal and mutant *Drosophila* larvae. *Science*, 206, 93-96.

Asahina, K., Louis, M., Piccinotti, S., and Vosshall, L. B. (2009) A circuit supporting concentration-invariant odor perception in *Drosophila*. *J. Biol.*, 8, article 9.

Ayyub, C., Paranjape, J., Rodrigues, V., and Siddiqi, O. (1990) Genetics of olfactory behavior in *Drosophila melanogaster*. *J. Neurogenet.*, 6, 243-262.

Barrows, W. M. (1907) The reaction of the pomace fly, *Drosophila ampelophila* Loew, to odorous substances. *J. Exp. Zool.*, 4, 515-537.

Benton, R., Vannice, K. S., Gomez-Diaz, C., and Vosshall, L. B. (2009) Variant ionotropic glutamate receptors as chemosensory receptors in *Drosophila*, *Cell*, 136, 149-162.

Couto, A., Alenius, M., and Dickson, B. J. (2005) Molecular, anatomical, and functional organization of the *Drosophila* olfactory system. *Curr. Biol.*, 15, 1535-1547.

Dethier, V. G. and Yost, M. T. (1952) Olfactory stimulation of blowflies by homologous alcohols. *J. Gen. Physiol.*, 35, 823-839.

Fishilevich, E., Domingos, A. I., Asahina, K., Naef, F., Vosshall, L. B., and Louis, M. (2005) Chemotaxis behavior mediated by single larval olfactory neurons in *Drosophila*. *Curr. Biol.*, 15, 2086-2096.

Fuyama, Y. (1976) Behavior genetics of olfactory responses in *Drosophila*. I. Olfactometry and strain differences in *Drosophila melanogaster*. *Behav. Genet.*, 6, 407-420.

Hallem, E. A., and Carlson, J. R. (2004) The odor coding system of *Drosophila*. *Trends Genet.*, 20, 453-459.

Hallem, E. A., and Carlson, J. R. (2006) Coding of odors by a receptor repertoire. *Cell*, 125, 143-160.

石元広志と谷村禎一 (2003) ショウジョウバエ化学感覚受容機構の分子遺伝学的解析, *日本味と匂い学会誌*, 10, 235-241.

Kreher, S. A., Kwon, J. Y., and Carlson, J. R. (2005) The molecular basis of odor coding in the *Drosophila* larva. *Neuron*. 46, 445-456.

Kreher, S. A., Mathew, D., Kim, J., and Carlson, J. R. (2008) Translation of sensory input into behavioral output via an olfactory system. *Neuron*, 59, 110-124.

Laska, M. and Teubner, P. (1999) Olfactory discrimination ability of human subjects for ten pairs of enantiomers. *Chem. Senses*, 24, 161-170.

Laska, M., Liesen, A. and Teubner, P. (1999) Enantioselectivity of odor perception in squirrel monkeys and humans. *Am. J. Physiol.*, 277, R1098-R1103.

Monte, P., Woodard, C., Ayer, R., Lilly, M., Sun, H., and Carlson, J. (1989) Characterization of the larval olfactory response in *Drosophila* and its genetic basis. *Behav. Genet.*, 19, 267-283.

日本化学会 (1996) 化学便覧基礎編Ⅱ 第4版, 丸善

Python, F., and Stocker, R. F. (2002) Adult-like complexity of the larval antennal lobe of *D. melanogaster* despite markedly low numbers of odorant receptor neurons. *J. Comp. Neurol.*, 445, 374-387.

Rodrigues, V., and Siddiqi, O. (1978) Genetic analysis of chemosensory pathway. *Proc. Indian Acad. Sci.*, 87B, 147-160.

Rubin, B.D. and Katz, L.C. (2001) Spatial coding of enantiomers in the rat olfactory bulb. *Nat. Neurosci.*, 4, 355-356.

Saito, Y., Aoki, Y., Karaki, R., and Sakaguchi, M. (2008) Olfactory-mediated Behavioral Responses to Lactic Acid Enantiomers in Adult *Drosophila melanogaster*. 信州大学教育学部紀要, 121, 103-114.

Sato, K., Pellegrino, M., Nakagawa, T., Nakagawa, T., Vosshall, L. B., and Touhara, K. (2008) Insect olfactory receptors are heteromeric ligand-gated ion channels. *Nature*, 452, 1002-1006.

Singh, R. N., and Singh, K. (1984) Fine structure of the sensory organs of *Drosophila melanogaster* Meigen larva (Diptera: Drosophilidae). *Int J. Insect Morphol. Embryol.*, 13, 255-273.

Stocker, R. F. (1994) The organization of the chemosensory system in *Drosophila melanogaster*: a review. *Cell Tissue Res.*, 275, 3-26.

Vosshall, L. B, and Stocker, R. F. (2007) Molecular architecture of smell and taste in *Drosophila*. *Annu. Rev. Neurosci.*, 30, 505-533.

Yao, C. A., Ignell, R., and Carlson, J. R. (2005) Chemosensory coding by neurons in the coeloconic sensilla of the *Drosophila* antenna. *J. Neurosci.*, 25, 8359-8367.

(2009年5月26日 受付)

(2009年12月17日 受理)