

脳における匂い感覚地図形成の分子メカニズム

奈良県立医科大学・先端医学研究機構・生命システム医科学分野

坪井昭夫

MOLECULAR MECHANISM FOR CONSTITUTING THE OLFACTORY SENSORY MAP IN THE BRAIN

AKIO TSUBOI

Department of Medical Science for Neural Systems, Research Institute for Frontier Medicine, Nara Medical University

Received October 16, 2006

Abstract: ヒトの脳の複雑な機能は、多様に特殊化した神経細胞が自らの特異性を踏まえて互いに連絡し合い、無数の神経回路を形成することによって支えられている。脳神経系の研究では、神経細胞の個性獲得と、それに基づく特異的な神経接続の機構解明が重要な課題となっている。嗅覚系は、個々の嗅細胞が発現する嗅覚受容体の種類と、それに基づいて行われる嗅球上での軸索投射の位置が明瞭に定義できるという点で優れたシステムを提供している。したがって、“神経回路がどのようにして形成され維持されるのか、神経回路が何らかの原因で破壊された時、どのようにして再構築されるのか”を、嗅覚系をモデルにして明らかにすることは極めて重要である。本稿では、嗅細胞における嗅覚受容体遺伝子の発現と、それにより規定される嗅球における匂い感覚地図形成の分子メカニズムについて考察する。

Key words: odorant receptor gene, olfactory sensory neuron, monoallelic expression, axonal projection, olfactory sensory map

はじめに

ケミカルセンシング(chemical sensing)、すなわち、匂いやフェロモン、味などの化学情報の受容は、餌となる物質への誘引、危害を及ぼす物質からの忌避、異性や個体の識別など、動物の生存にとって極めて重要な役割を担う¹⁾。これを反映してケモセンサリーレセプター(chemosensory receptor)の遺伝子は、マウスの場合、全遺伝子の数%を占め、免疫系の抗原受容体遺伝子をしのご最大の多重遺伝子ファミリーを形成している²⁾。一方、リガンドについてもその種類は多様で、特に嗅覚系の場合、匂い分子は数万種類あるとされ、個々の匂いが複数の匂い分子の組み合わせと量比によって規定されていることを勘案すると、匂いの種類はほぼ無限といつてよい。したがって、せいぜい一千種類前後のG蛋白質共役型の嗅覚受容体(odorant receptor: OR)を用いて、いかにして多種多様な匂いを識別できるのか、嗅覚研究

における課題の一つである。

ヒトやマウスの嗅覚系では、鼻腔内の嗅上皮(olfactory epithelium)に約一千万個存在する嗅細胞(olfactory sensory neuron)のそれぞれが、一種類のOR遺伝子を相互排他的に発現しており、抗原受容体遺伝子に見られるような対立形質排除(allelic exclusion)が認められる³⁾。また、同じ種類の受容体を発現している嗅細胞の軸索は、互いに収斂しながら嗅球(olfactory bulb)へと伸長し、OR分子の種類に対応した特定の糸球(glomerulus)へと投射する(図1)。したがって、嗅上皮で受容された匂い情報は、嗅球表面では約一千個の糸球を素子とする電光掲示板のように、濃淡を含む発火のパターンとして空間的な位置情報に変換され、その違いによって脳は微妙な匂いの識別を行っていると考えられる⁴⁾(図1)。この匂い情報の変換というプロセスの基礎をなすのが、個々の嗅細胞あたり一種類のOR分子が発現されるという1細胞-1受容体ルールと、ORの種類に対応して投

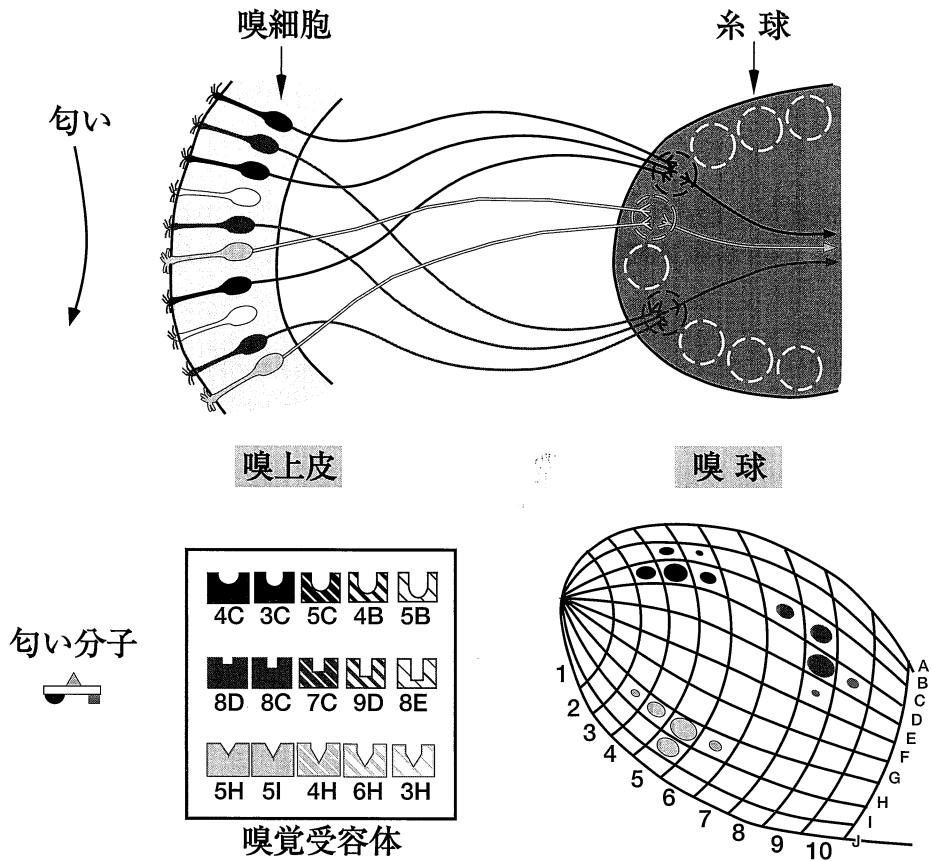


図1. 嗅上皮での匂い情報の受容と嗅球での位置情報への変換
 嗅上皮において同じ種類の嗅覚受容体(OR)を発現する嗅細胞(同じパターンで示す)は、その軸索を互いに収斂させ、嗅球において同一の糸球に投射する。したがって、嗅上皮で受容された匂い情報は、嗅球表面では、活性化された糸球という位置情報に変換される。匂い分子は複数種類のORに対し様々な親和性を持つので、嗅上皮で受容された匂い情報は、嗅球上であたかも電光掲示板に映し出される画像のように、複数の糸球の発火パターンとして表示されることになる。

射先である糸球が決まるという1糸球 - 1受容体ルールである。しかしながら、これらルールの分子的な実体はいまだ明らかにされていない。また、ヒトやマウスの嗅細胞は神経細胞の中でも、生涯にわたって再生するというユニークな特性を備えている。再生の際、新たに生じる嗅細胞は、相互排他的にOR遺伝子を発現し、その軸索を特定の糸球に投射し、元どおりに神経回路が再構築されることから、嗅覚研究は神経再生の観点からも極めて重要である。

嗅覚受容体遺伝子の発現制御

ゲノム上での構成と嗅上皮での発現

OR 遺伝子は最初ラットで同定され、齧歯類では1,400種類に及ぶ巨大な多重遺伝子ファミリーを形成している⁹⁾。マウスでは約2割の偽遺伝子を含むこれら多数のOR遺伝子が、約50個のクラスターをなして、大部分の染色体に散在している⁹⁾。各クラスターに含まれるOR遺伝子の数は様々で、100個以上の巨大クラスターがある一方、単独で存在する遺伝子も見受けられる。脊椎動物のORは分子系統樹において二つのクラス、IとIIに分類され

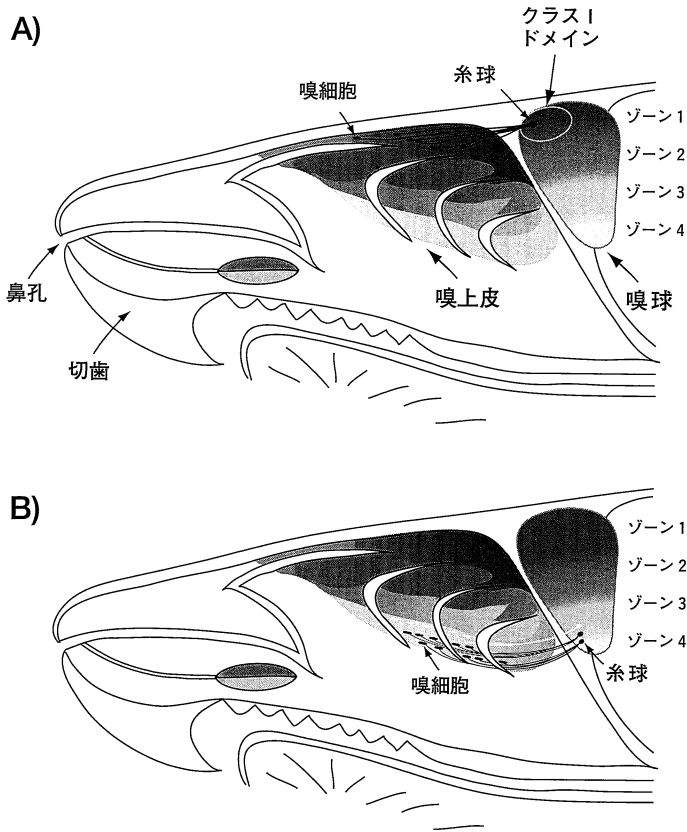


図2. 嗅細胞の嗅上皮から嗅球への領域特異的な軸索投射

齧歯類の上顎断面から見た鼻腔の構造を示す。嗅上皮は鼻腔の奥に位置し、入り組んだ構造をした鼻甲介 (turbinate) の表面に付着して存在する。(A)クラスI受容体遺伝子は嗅上皮において、最も背内側部のゾーン1内で一様に発現している。クラスI受容体を発現する嗅細胞の投射先は、嗅球におけるゾーン1の中でも外側・前部の糸球(クラスIドメイン)に集中している。(B)クラスII受容体遺伝子は嗅上皮において、それぞれに固有な限局した発現領域を持つ。これら発現領域は、嗅上皮の背側-内側の領域を中心とした同心円状のひだ構造上を、連続的にかつ重複しながら、腹側-外側の領域へと分布している。図はゾーン3からゾーン4にかけて発現・投射する例を示す。

る。一つは水溶性のリガンドを受容する魚類のORと相同性を示すクラスI受容体(~150種類)で、もう一つは、揮発性のリガンドを認識するといわれる陸生動物に固有なクラスII受容体(~1250種類)である。

OR遺伝子の嗅上皮における発現に関しては、これまで様々なOR遺伝子のプローブを用いた *in situ* hybridization によって詳細に解析されてきた。当初、BuckやAxelのグループにより、嗅上皮はOR遺伝子の発現パターンによって四つのゾーンに分けられ、OR遺伝子はこれら四つのゾーンの内の一つに限局して、その中では一様に分散して発現すると報告されていた^{7,8)}。しかし最近、

筆者らが *in situ* hybridization 実験を体系的に行ったところ、クラスIOR遺伝子は最も背内側部のゾーン1内で一様に発現するのに比べて、クラスIIOR遺伝子は、四つのゾーンのいずれか1つに限局して発現するのではなく、それぞれのORに固有な発現領域を持つことが明らかになった^{9,10)}(図2)。すなわち、クラスII受容体には、嗅上皮には個々の遺伝子に対応した発現ゾーンがあり、それらは背内側の領域を中心とした同心円状のひだ構造上を、腹外側の領域に向かって連続的にかつ重なり合いながら分布していると考えられる。

遺伝子の単一発現制御

個々の嗅細胞は分化の過程で、OR 多重遺伝子群から一種類の OR 遺伝子を相互排他的に発現している。この際、父方と母方、2つのアレル(allele)の間においては抗体受容体遺伝子に見られるような対立形質排除が認められ、さらに、同一の OR 遺伝子を複数個トランスジェンとして導入した場合にも、厳密に一つのアレルからのみ発現する(monoallelic expression)ことが知られている^{11, 12)}。類似遺伝子が多数含まれる多重遺伝子ファミリーの中から一つのメンバーを選んで monoallelic に活性化する機構は、DNA 組換えを伴う抗原受容体遺伝子、遺伝子変換をとまなうトリパノソーマの表面糖蛋白質遺伝子などでよく調べられている³⁾。DNA の不可逆的変化をとまなう単一遺伝子の発現制御は、OR 遺伝子の発見以来、終始この分野の研究者の関心を集めてきたが、嗅細胞の核から作られたクローンマウスの解析により、その可能性は完全に排除された^{13, 14)}。それではヒトやマウスの嗅覚系は数多くの OR 遺伝子の中からどのようにして一種類のみを活性化し、残りの遺伝子の発現を抑制しているのでしょうか？

クラスターをなす関連遺伝子群の相互排他的な発現を制御する機構としては、グロビン遺伝子の系で解析の進んでいる *locus control region* (LCR) による制御がある¹⁵⁾。OR 遺伝子系における LCR の例としては、マウス 14 番染色体に存在する *MOR28* を含む OR 遺伝子クラスターにおいて、ヒトとマウスの間で相同性の高い“H”と呼ばれるシス領域が最初に報告された¹⁶⁾。グロビン遺伝子の LCR と同様、H 領域に形成される転写活性化複合体がその支配下にある複数のプロモーターの一つと相互作用することにより、そのクラスターにおける OR 遺伝子の単一活性化が保障されると考えられている(図3)。同様な LCR を介した相互排他的発現制御の例は、ヒトの X 染色体に位置する赤と緑の光受容体遺伝子について報告されている¹⁷⁾。ただし OR 遺伝子系の場合、大部分のクラスターは常染色体上にあって対立形質を持ち、また競合するクラスターも数多くあるので、早晚、別のクラスターの LCR が活性化され、その支配下にある OR 遺伝子が新たに共発現するようになると考えられる。したがって、最初に OR の偽遺伝子が選択された場合は別であるが、機能的な OR 遺伝子が選択された場合には、他のクラスターの活性化は直ちに中止されなければならない。そこで、OR 分子それ自体が、他の OR 遺伝子の活性化を阻止するインヒビターとして働くというフィードバック制御の考え方が必要となってくる(図3)。事実、コーディ

ング領域を欠失させた OR 遺伝子や、フレームシフト型の偽遺伝子を選択した嗅細胞では、別の OR 遺伝子の共発現が許容されており、OR 分子によるフィードバック制御の考え方が実験的に支持されている^{16, 18)}。それではこの負の制御の実態はどのようなものなのであるか？抗体重鎖遺伝子の対立形質排除の場合、pre-B 細胞で μ 鎖が発現すると Syk ファミリーのチロシンキナーゼがリクルートされ、それによってリン酸化された蛋白質が重鎖遺伝子座のクロマチン構造を閉じる方向に働くと考えられている¹⁹⁾。嗅覚系においても、機能的な OR の発現が LCR の活性化にかかわる因子を不活化する、もしくは嗅細胞の分化段階を先に進めて新たな LCR の活性化をおこなうなどの可能性が考えられる。このように、OR 遺伝子の単一発現は、LCR による正の制御と OR 分子による負の制御の連携によって維持されていることが明らかになってきた(図3)。

遺伝子発現制御に関わる因子

OR 遺伝子の相互排他的な単一発現は、どのようなシス配列とトランス因子によって制御されているのでしょうか？これまで、完全長 cDNA 配列や 5'-RACE (rapid analysis of cDNA ends) 法などの解析によって、同一クラスターに属する OR 遺伝子の転写開始点上流の配列が比較検討されたが、共通の配列は見出されていない。最近、マウスにおける OR ミニジーン発現系を用いて、複数の OR 遺伝子の転写開始点近傍に、ホメオドメイン(homeodomain)因子と Olf-1/EBF (O/E) の結合配列が同定された²⁰⁾。ホメオドメイン配列には、LIM-homeodomain 蛋白質である Lhx2 が、O/E 配列には、helix-loop-helix 転写因子である O/E ファミリーが結合することが知られている^{21, 22)}。ホメオドメインと O/E 配列の両者に変異を導入すると、OR ミニジーン発現が失われるので、これらの配列が嗅上皮における OR 遺伝子の活性化に関与していると考えられている²³⁾。

最近、未熟な helper T 細胞において、11 番染色体上の *IL* (interleukin)-4 遺伝子座と 10 番染色体上の γ -*IFN* (interferon) 遺伝子座が、*IL*-4 遺伝子座の LCR を介して、競合的かつ相互排他的に活性化されていることが報告された²⁴⁾。また最近、このような LCR を介した染色体間の相互作用は helper T 細胞に限らず、嗅細胞の OR 遺伝子系にも適用される可能性が Axel のグループにより示唆されている²⁵⁾。もし彼らが主張するように、14 番染色体上の *MOR28* クラスターの H 領域が、別の染色体上に存在する OR 遺伝子座とトランスに相互作用するとすれば、クラスター毎に LCR を想定する必要性は

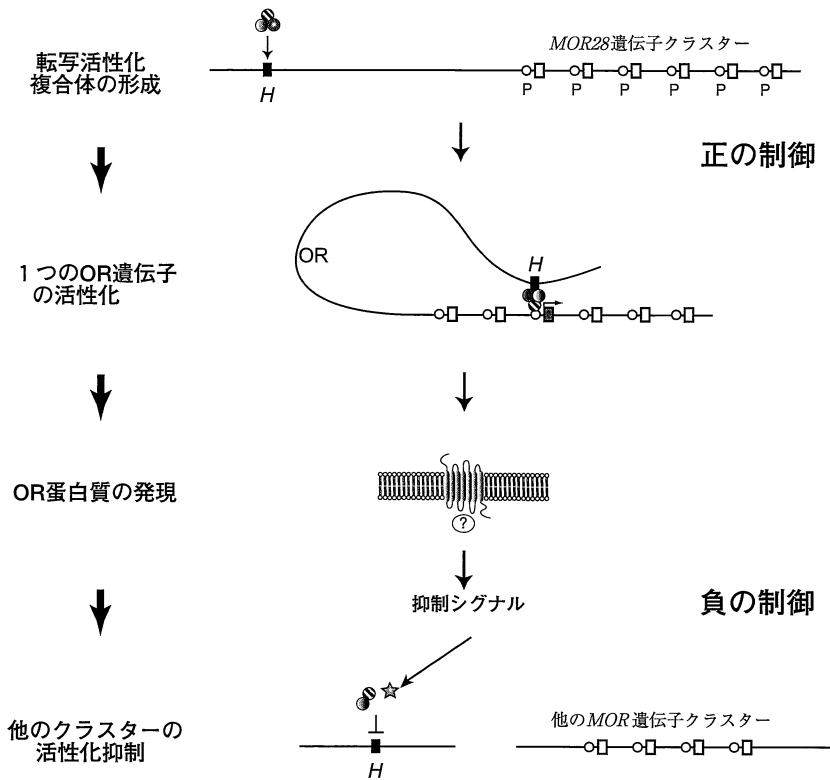


図3. 嗅覚受容体遺伝子の単一発現制御

マウス嗅覚受容体遺伝子 *MOR28* クラスターは14番染色体に存在し、6個のOR遺伝子を含んでいる。*MOR28* 遺伝子の約75 kb上流に、ヒトとマウスの間で相同性の高い“H”と呼ばれるシス領域が同定されている。このH領域には転写活性化複合体が形成され、これがクラスター内にある6個のプロモーター(P)の一つと会合して、一つのOR遺伝子を活性化すると考えられる(正の制御)。ただし、OR遺伝子クラスターは複数存在するので、ひとつのORが機能的に発現した場合、直ちに他の*MOR*クラスターの活性化を阻止する必要がある。発現されたOR分子が何らかの抑制シグナルを発生し、H領域に転写活性化複合体が形成されないという、負のフィードバック制御が想定されている(負の制御)。

なくなり、したがってLCRの数を極力抑えることによって、複数のクラスターが同時に活性化されるリスクを下げることができると考えられる。

嗅球における匂い感覚地図の形成

嗅細胞の軸索投射における嗅覚受容体の関与

ORを発現するようになった嗅細胞は基底側から一本の軸索を嗅球に向けて伸長させる。軸索は脳と嗅上皮を隔てる篩板(cribriform plate)という骨を通過して、脳の前方下部にある嗅球へ到達する。嗅球の表面には投射先として糸球と呼ばれる構造体が構築され、嗅細胞の軸索はそこで二次神経細胞である僧帽/房飾細胞(mitral/tufted cell)とシナプスを形成する。これら二次

神経細胞の軸索は、嗅索(lateral olfactory tract)を通過して脳の嗅皮質(olfactory cortex)と呼ばれる領域に投射する。

マウスやラットの嗅球には、OR分子の種類に対応して約1,000対の糸球が存在する。OR遺伝子のプロンプを用いた嗅球切片の*in situ* hybridization^{26, 27)}や、特定のOR遺伝子を*tau-lacZ*や*tau-GFP* (green fluorescent protein) 遺伝子で標識したマウスを用いた実験²⁸⁾によって、同種のORを発現する嗅細胞の軸索は共通の糸球に収斂することが示されている。これら嗅球表面での投射位置は、個体差なく概ね定まっており、嗅上皮でどの嗅細胞が活性化したかという匂い分子の結合情報は、嗅球上でどの糸球が活性化したかという位置情報に変換

される(図1)。このようなOR分子の種類に依存した軸索の収斂や神経の接続には、OR分子自体の関与も指摘されている。最近、幾つかのグループで、ORに対する抗体が作製され、これを用いた免疫染色によって嗅細胞の軸索末端にもOR蛋白質の存在が確認されている^{29, 30}。ただし、OR蛋白質が、どのようにして軸索の収斂や投射にかかわっているのかは判っておらず、今後のさらなる検討を要する。

嗅覚受容体遺伝子のゲノム上での連鎖と嗅球上での投射先の相関

上述したように、OR遺伝子はマウスにおいて約1,400種類の多重遺伝子系を形成し、大部分の染色体上に約50個のクラスターをなして存在する。筆者らは、マウスOR遺伝子*MOR28*クラスターを含めた複数のクラスターに関して、受容体遺伝子を発現する嗅細胞の投射先を解析した³⁰。その結果、“同一クラスター上に隣接して存在し、相同性の高いOR遺伝子ファミリーを発現する嗅細胞は、嗅上皮において同じ領域に局在し、嗅球において局所的な糸球ドメインに軸索投射する”ことが示唆された。その一例を示すと、マウスゲノム解析から*MOR28*遺伝子クラスターは、6つのメンバー(*MOR28-10-83-29A-29B-30*)から構成されている³⁰。これらOR遺伝子群はアミノ酸配列の相同性から、二つの異なるファミリー、*MOR28, 10, 83*と*MOR29A, 29B, 30*に分類され、各々のファミリーは嗅上皮において異なる領域で発現していることが明らかになった(図4)。さらに、嗅球切片に関する*in situ* hybridization解析より、*MOR28, 10, 83*の発現細胞は腹側後方の糸球ドメインへ、*MOR29A, 29B, 30*の発現細胞は背側前方の糸球ドメインへ、局所的に軸索投射していることが判明した(図4)。同様なことは、他のクラスターについても見られることから、“一般に、同一クラスター上に隣接して存在し、相同性の高いOR遺伝子ファミリーを発現する嗅細胞は、嗅球において局所的な糸球ドメインに軸索投射する傾向にある”と考えられる。これらの解析は、OR遺伝子の染色体上での連鎖(linkage)と、嗅球上での投射先の位置の間に一定の相関性のあることを示唆するものであり、匂い感覚地図の形成を遺伝学的に理解する上で極めて有用であると考えられる。またこれらの観察は、嗅球の光学的イメージング(optical imaging)解析より得られた、特定の官能基を有する匂い分子は嗅球表面において局所的なドメイン内の糸球を興奮させるという知見^{33, 34, 35}を勘案すると、“嗅上皮において、類似した匂い分子はその官能基を介して、相同性の高いOR群により受容され、嗅球上の

特定のドメインに属する糸球を興奮させる”と考えられる。

嗅上皮上の発現領域と嗅球上の投射領域の相関

O-MACS (olfactory specific medium-chain acyl-CoA synthetase)³⁶とOCAM (olfactory cell adhesion molecule)³⁷に対する抗体を用いて嗅球切片の免疫染色を行うと、それぞれ背側(ゾーン1)と腹側の領域(ゾーン2, 3, 4)に存在する糸球を染め分けることができる。この観察は嗅細胞の軸索投射にはzone-to-zoneの対応があるとする仮説^{26, 27}と符号するものである。しかしながら、これは従来のゾーン1とそれ以外の領域との境界を示すだけで、嗅上皮の場合と同様、ゾーン2と3、ゾーン3と4の境界は明らかではない。最近の筆者らの研究によって、嗅細胞が軸索を収斂させて嗅球上に投射する際、クラスI受容体の場合は、嗅球のゾーン1内の外側・前部の領域に集中するのに対し、クラスII受容体の場合は、嗅上皮における個々のOR遺伝子の発現領域(ゾーン1からゾーン4)が、嗅細胞の嗅球上での投射先である糸球の位置を、背側から腹側(背腹軸)の方向に規定しているように見られる^{9, 10}(図2)。それでは、嗅球における投射位置の前後軸は、何によって規定されているのであろうか?これまでAxelのグループにより、*ephrin-A3/A5*遺伝子のダブルノックアウトマウスにおいて、特定のORを発現する嗅細胞の投射位置が野生型に比べ後方へシフトすることが示された³⁸。最近、Mombaertsのグループは、M71とM72という非常に相同性の高い2つのOR遺伝子のコーディング領域を部分的にスワップさせることにより、OR分子が嗅細胞の軸索投射位置の決定に主導的な役割を果たすことを示した³⁹。また彼らの研究において、M71遺伝子座に $\beta 2$ アドレナリン受容体遺伝子のコーディング領域をスワップした場合にも、嗅細胞における相互排他的な発現とそれにとりなう投射が見られたことから、OR下流のシグナル伝達系を共有し得るG蛋白質共役型受容体が嗅細胞に提示されれば、その軸索の収斂には充分であると考えられる⁴⁰。さらに最近、今井らにより、OR下流のシグナル伝達分子の発現を強めたり弱めたりしたところ、その嗅細胞におけるcAMPシグナルの強弱にとりなうって、投射先が前後軸に沿ってシフトすることが示された⁴¹。今後、OR分子がcAMPシグナルを介して、どのように軸索ガイダンス分子と連携して、嗅球上の投射位置の決定に関与しているのかを検討する必要がある。

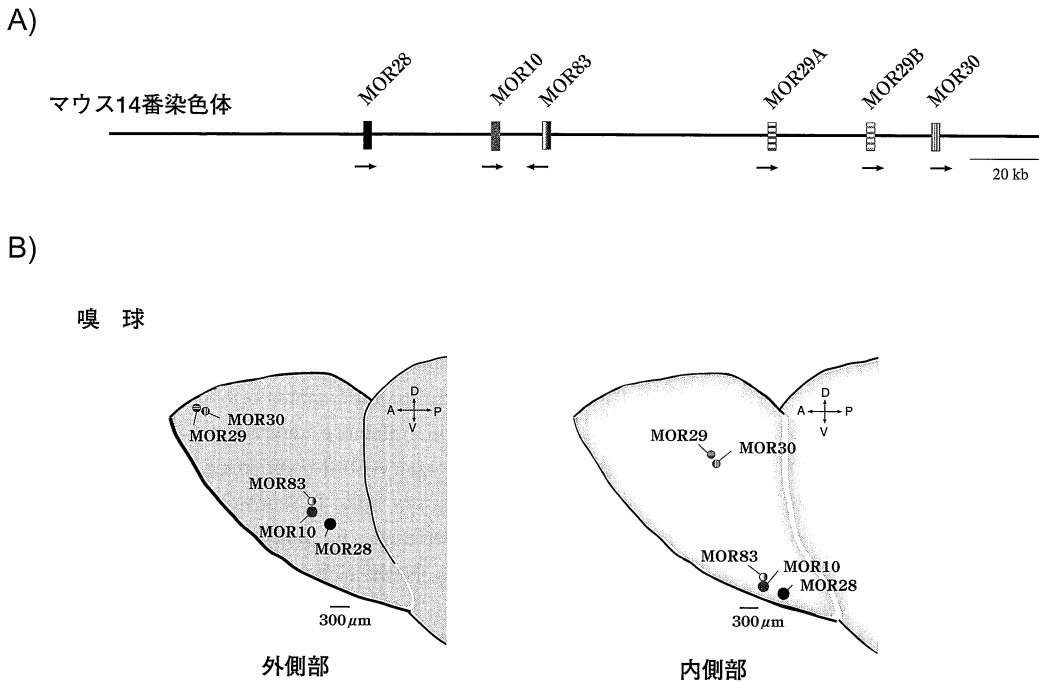


図4. MOR28 クラスターに属する受容体遺伝子に関する解析

(A) MOR28 遺伝子クラスターのゲノム構造. クラス II に属するこのクラスターは、6つのメンバーから構成され、アミノ酸配列の相同性から、これら OR 遺伝子は二つの異なるファミリー、MOR28, 10, 83 と MOR29A, 29B, 30 に分類される. 嗅上皮切片に関する *in situ* hybridization 解析より、MOR28, 10, 83 と MOR29A, 29B, 30 のファミリーは、それぞれ異なる領域で発現していることが判明した.

(B) MOR28 クラスター遺伝子を発現する嗅細胞の嗅球への投射. 嗅球切片に関する *in situ* hybridization 解析より、MOR28, 10, 83 の発現細胞は腹側後方の糸球ドメインへ、MOR29A, 29B, 30 の発現細胞は背側前方の糸球ドメインへ、軸索投射していることが判明した.

おわりに

本稿では、嗅球における匂い感覚地図の形成について、OR 遺伝子の発現制御とそれにより規定される嗅球への投射制御を中心に考察した. OR 多重遺伝子系の発現を解析する上で最も興味深いのは、個々の嗅細胞がどのようにして一種類の遺伝子を選び、しかも二つある対立形質の中の一つのみを発現させるのかという問題である. この遺伝子系で monoallelic な発現が保持されていなければ、遺伝的多型 (genetic polymorphism) による対立形質間の相異が、受容体のリガンドに対する親和性や特異性の相異となって表現されることになり、軸索の収斂や投射、さらには匂い情報の処理に混乱をきたす可能性が出てくる. 実際に、ヒトの OR 遺伝子について、多くの allelic variant の存在が報告されている⁴²⁾. このような多重遺伝子系における相互排他的かつ monoallelic な発現

制御は、これまで免疫系の抗原受容体遺伝子など数例が報告されているのみで極めて例外的である. 現在のところ、MOR28 クラスターの“H”領域によるシスやトランスの活性化と OR 分子によるネガティブフィードバックによって、OR 遺伝子の単一発現が保障されていると考えられている^{16, 25)}.

嗅覚系におけるもう一つの重要な課題は、OR の種類に依存しておこる嗅球への投射のメカニズムの解明である. 上述したように、OR 分子の一次構造および OR 下流の cAMP シグナルの変化が、軸索の投射に影響を及ぼすことが知られている^{12, 39, 40, 41)}. また最近、嗅細胞の軸索投射およびその維持に神経の自発発火が必要であるという知見も報告されており、神経活動に依存した軸索投射という観点から注目を集めている⁴³⁾. 今後、嗅細胞の神経活動も勘案して、OR 分子がどのようにして嗅球上の軸索投射の位置決めに関与しているのかを解析する必要

がある。

さらに、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ユニークな存在である。嗅細胞が再生される際、OR 遺伝子の選択に何らかの拘束があるのか、また発現される OR の種類が投射の際、どう軸索末端に表現されるのかは、今後解明されるべき重要な課題である。さらに再生の際、嗅細胞の前駆細胞において、将来どの OR 遺伝子が発現されるのか既に決まっているのかどうか、もしそうだとすれば、先代の嗅細胞から受け継いだ遺伝子選択に関する“commitment”の実体は何なのかについても、エビジェネティックな観点から非常に興味深い。

今後、嗅覚系の研究は、神経細胞の個性を踏まえた回路形成という神経科学全般の問題にかかわる可能性も含め、新たなサプライズを生み出すことが期待される。それと同時に、アロマセラピーに代表されるような免疫機能の高揚および精神安定効果、また記憶の想起など、ヒトの健康や社会行動にも深くかかわるのみならず、嗅細胞の再生という観点からも、嗅覚障害の治療や再生医療など、臨床医学への応用も期待される。

文 献

- 1) **Axel, R.** : The molecular logic of smell. *Sci. Am.* **273** : 154-159, 1995.
- 2) **Mombaerts, P.** : Genes and ligands for odorant, vomeronasal and taste receptors. *Nat. Rev. Neurosci.* **5** : 263-278, 2004.
- 3) **Serizawa, S., Miyamichi, K. and Sakano, H.** : One neuron-one receptor rule in the mouse olfactory system. *Trends Genetics* **20** : 648-653, 2004.
- 4) **Mori, K., Nagao, H. and Yoshihara, Y.** : The olfactory bulb: coding and processing of odor molecule information. *Science* **286** : 711-715, 1999.
- 5) **Buck, L. and Axel, R.** : A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odorant recognition. *Cell* **65** : 175-187, 1991.
- 6) **Zhang, X. and Firestein, S.** : The olfactory receptor gene superfamily of the mouse. *Nat. Neurosci.* **5** : 124-133, 2002.
- 7) **Ressler, K.J., Sullivan, S.L. and Buck, L.B.** : A zonal organization of odorant receptor gene expression in the olfactory epithelium. *Cell* **73**, 1993.
- 8) **Vassar, R., Ngai, J. and Axel, R.** : Spatial segregation of odorant receptor expression in the mammalian olfactory epithelium. *Cell* **74**, 309-318, 1993.
- 9) **Tsuboi, A., Miyazaki, T., Imai, T. and Sakano, H.** : Olfactory sensory neurons expressing class I odorant receptors converge their axons on an antero-dorsal domain of the olfactory bulb in the mouse. *Eur. J. Neurosci.* **23** :1436-1444, 2006.
- 10) **Miyamichi, K., Serizawa, S., Kimura, H.M. and Sakano, H.** : Continuous and overlapping expression domains of odorant receptor genes in the olfactory epithelium determine the dorsal/ventral positioning of glomeruli in the olfactory bulb. *J. Neurosci.* **25** : 3586-3592, 2005.
- 11) **Serizawa, S., Ishii, T., Nakatani, H., Tsuboi, A., Nagawa, F., Asano, M., Sudo, K., Sakagami, J., Sakano, H., Ijiri, T., Matsuda, Y., Suzuki, M., Yamamori, T., Iwakura, Y. and Sakano, H.** : Mutually exclusive expression of odorant receptor transgenes. *Nat. Neurosci.* **3** : 687-693, 2000.
- 12) **Ishii, T., Serizawa, S., Kohda, A., Nakatani, H., Shiroishi, T., Okumura, K., Iwakura, Y., Nagawa, F., Tsuboi, A. and Sakano, H.** : Monoallelic expression of the odourant receptor gene and axonal projection of olfactory sensory neurons. *Genes Cells* **6** : 71-78, 2001.
- 13) **Eggan, K., Baldwin, K., Tackett, M., Osborne, J., Gogos, J., Chess, A., Axel, R. and Jaenisch, R.** : Mice cloned from olfactory sensory neurons. *Nature* **428** : 44-49, 2004.
- 14) **Li, J., Ishii, T., Feinstein, P. and Mombaerts, P.** : Odorant receptor gene choice is reset by nuclear transfer from mouse olfactory sensory neurons. *Nature* **428** : 393-399, 2004.
- 15) **Li, Q., Peterson, K.R., Fang, X. and Stamatoyannopoulos, G.** : Locus control regions. *Blood* **100** : 3077-3086, 2002.
- 16) **Serizawa, S., Miyamichi, K., Nakatani, H., Suzuki, M., Saito, M., Yoshihara, Y. and Sakano, H.** : Negative feedback regulation ensures the one receptor-one olfactory neuron rule in mouse. *Science* **302** : 2088-2094, 2003.
- 17) **Smallwood, P.M., Wang, Y. and Nathans, J.** : Role of a locus control region in the mutually ex-

- clusive expression of human red and green cone pigment genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **99** : 1008-1011, 2002.
- 18) **Lewcock, J.W.** and **Reed, R.R.** : A feedback mechanism regulates monoallelic odorant receptor expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **101** : 1069-1074, 2004.
- 19) **Chowdhury, D.** and **Sen, R.** : Mechanisms for feedback inhibition of the immunoglobulin heavy chain locus. *Curr. Opin. Immunol.* **16** : 235-240, 2004.
- 20) **Vassalli, A., Rothman, A., Feinstein, P., Zapotocky, M.** and **Mombaerts, P.** : Minigenes impart odorant receptor-specific axon guidance in the olfactory bulb. *Neuron* **35** : 681-696, 2002.
- 21) **Hirota, J.** and **Mombaerts, P.** : The LIM-homeodomain protein Lhx2 is required for complete development of mouse olfactory sensory neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **101** : 8751-8755, 2004.
- 22) **Wang, S.S., Lewcock, J.W., Feinstein, P., Mombaerts, P.** and **Reed, R.R.** : Genetic disruptions of O/E2 and O/E3 genes reveal involvement in olfactory receptor neuron projection. *Development* **131** : 1377-1388, 2004.
- 23) **Rothman, A., Feinstein, P., Hirota, L.** and **Mombaerts, P.** : The promoter of the mouse odorant receptor gene M71. *Mol. Cell. Neurosci.* **28** : 535-546, 2005.
- 24) **Spilianakis, C.G., Lalioti, M.D., Town, T., Lee, G.R.** and **Flavell, R.A.** : Interchromosomal associations between alternatively expressed loci. *Nature* **435** : 637-645, 2005.
- 25) **Lomvardas, S., Barnea, G., Pisapia, D.J., Mendelsohn, M., Kirkland, J.** and **Axel, R.** : Interchromosomal interactions and olfactory receptor choice. *Cell* **126** : 403-413, 2006.
- 26) **Vassar, R., Chao, S.K., Sitchera, R., Nunez, J.M., Vossahl, L.B.** and **Axel, R.** : Topographic organization of sensory projections to the olfactory bulb. *Cell* **79** : 981-991, 1994.
- 27) **Ressler, K.J., Sullivan, S.L.** and **Buck, L.B.** : Information coding in the olfactory system: evidence for a stereotyped and highly organized epitope map in the olfactory bulb. *Cell* **79** : 1245-1255, 1994.
- 28) **Mombaerts, P., Wang, F., Dulac, C., Chao, S.K., Nemes, A., Mendelsohn, M., Edmondson, J.** and **Axel, R.** : Visualizing an olfactory sensory map. *Cell* **79** : 1245-1255, 1996.
- 29) **Barnea, G., O'Donnell, S., Mancina, F., Sun, X., Nemes, A., Mendelsohn, M.** and **Axel, R.** : Odorant receptors on axon termini in the brain. *Science*, **304** : 1468, 2004.
- 30) **Strotmann, J., Levai, O., Fleischer, J., Schwarzenbacher, K.** and **Breer, H.** : Olfactory receptor proteins in axonal processes of chemosensory neurons. *J. Neurosci.* **24** : 7754-7761, 2004.
- 31) **Tsuboi, A., Yoshihara, S., Yamazaki, N., Kasai, H., Asai-Tsuboi, H., Komatsu, M., Serizawa, S., Ishii, T., Matsuda, Y., Nagawa, F.** and **Sakano, H.** : 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.
- 32) **Nagawa, F., Yoshihara, S., Tsuboi, A., Serizawa, S., Itoh, K.** and **Sakano, H.** : Genomic analysis of the murine odorant receptor MOR28 cluster: a possible role of gene conversion in maintaining the olfactory map. *Gene* **292** : 73-80, 2002.
- 33) **Rubin, B.D.** and **Katz, L.C.** : Optical imaging of odorant representations in the mammalian olfactory bulb. *Neuron* **23** : 499-591, 1999.
- 34) **Uchida, N., Takahashi, Y.K., Tanifuji, M.** and **Mori, K.** : Odor maps in the mammalian olfactory bulb: domain organization and odorant structural features. *Nat. Neurosci.* **3** : 1035-1043, 2000.
- 35) **Mori, K., Takahashi, Y.K., Igarashi, K.M.** and **Yamaguchi, M.** : Maps of odorant molecular features in the mammalian olfactory bulb. *Physiol. Rev.* **86** : 409-433, 2006.
- 36) **Oka, Y., Kobayakawa, K., Nishizumi, H., Miyamichi, K., Hirose, S., Tsuboi, A.** and **Sakano, H.** : O-MACS, a novel member of the medium-chain acyl-CoA synthetase family, specifically expressed in the olfactory epithelium in

- a zone-specific manner. *Eur. J. Biochem.* **270** : 1995-2004, 2003.
- 37) **Yoshihara, Y., Kawasaki, M., Tamada, A., Fujita, H., Hayashi, H., Kagamiyama, H. and Mori, K.** : OCAM: A new member of the neural cell adhesion molecule family related to zone-to-zone projection of olfactory and vomeronasal axons. *J. Neurosci.* **17** : 5830-5842, 1997.
- 38) **Cutforth, T., Moring, L., Mendelsohn, M., Nemes, A., Shah, N. M., Kim, M. M., Frisen, J. and Axel, R.** : Axonal ephrin-As and odorant receptors: coordinate determination of the olfactory sensory map. *Cell* **114** : 311-322, 2003.
- 39) **Feinstein, P. and Mombaerts, P.** : A contextual model for axonal sorting into glomeruli in the mouse olfactory system. *Cell* **117** : 817-831, 2004.
- 40) **Feinstein, P., Bozza, T., Rodriguez, I., Vassalli, A. and Mombaerts, P.** : Axon guidance of mouse olfactory sensory neurons by odorant receptors and the beta2 adrenergic receptor. *Cell* **117** : 833-846, 2004.
- 41) **Imai, T., Suzuki, M. and Sakano, H.** : Odorant receptor-derived cAMP signals direct axonal targeting. *Science* **314** : 657-661, 2006.
- 42) **Menashe, I. and Lancet, D.** : Signaling in the chemosensory systems: variations in the human olfactory receptor pathway. *Cell. Mol. Life Sci.* **63** : 1485-1493, 2006.
- 43) **Yu, C.R., Power, J., Barnea, G., O'Donnell, S., Brown, H.E., Osborne, J., Axel, R. and Gogos, J.A.** : Spontaneous neural activity is required for the establishment and maintenance of the olfactory sensory map. *Neuron* **42** : 553-566, 2004.