

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-528120

(P2017-528120A)

(43) 公表日 平成29年9月28日 (2017.9.28)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	4 B 0 6 3
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 M	4 B 0 6 5
C 1 2 N 5/0793 (2010.01)	C 1 2 N 5/0793	4 H 0 4 5
A O 1 K 67/027 (2006.01)	A O 1 K 67/027	
C 1 2 N 5/071 (2010.01)	C 1 2 N 5/071	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 51 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2017-501219 (P2017-501219)	(71) 出願人	503083421
(86) (22) 出願日	平成27年8月25日 (2015.8.25)		ユニベルシテ ドゥ ジュネーブ
(85) 翻訳文提出日	平成29年3月10日 (2017.3.10)		スイス国, 1 2 1 1 ジュネーブ 4, リ
(86) 国際出願番号	PCT/EP2015/069454		ュ デュ ジェネラル デュフル, 2 4
(87) 国際公開番号	W02016/030378	(74) 代理人	100094640
(87) 国際公開日	平成28年3月3日 (2016.3.3)		弁理士 紺野 昭男
(31) 優先権主張番号	14182350.0	(74) 代理人	100103447
(32) 優先日	平成26年8月26日 (2014.8.26)		弁理士 井波 実
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人	100111730
			弁理士 伊藤 武泰
		(74) 代理人	100180873
			弁理士 田村 慶政
		(72) 発明者	ロドリゲス、イバン
			スイス国 セーアシュール 1 2 0 4 ジュネ
			ーブ リュ デュ ティル 3
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 リガンドに対する受容体を同定するための方法およびその使用

(57) 【要約】

本発明は、受容体 / リガンドペアを同定するための新規な方法、この方法を実施するために有用なトランスジェニック動物、ならびに例えば食品産業、芳香産業および健康産業におけるリガンドとその受容体との間の相互作用を有するリガンドおよび / またはモジュレーターの使用に関する。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

少なくとも 1 つのリガンドに応答する少なくとも 1 つの化学受容体を同定する方法であって、

a) 少なくとも 1 つの化学受容体を発現する細胞を含む生物学的サンプルを用意する工程であって、前記生物学的サンプルが (i) 少なくとも 1 つの試験化合物に曝露されたものであるか、または (i i) 少なくとも 1 つの試験化合物に曝露された動物から得られたものである工程と、

b) 前記生物学的サンプルにおける少なくとも 1 つの化学受容体をコードする遺伝子の転写のレベルに比例するシグナルを測定する工程と、

c) 工程 b) において決定したシグナルのレベルを、前記生物学的サンプルまたは前記動物が前記少なくとも 1 つの試験化合物に曝露されていない陰性対照を用いて同じ条件において決定したシグナルのレベルと比較する工程と

を少なくとも含んでなり、

工程 b) において決定したシグナルのレベルと、陰性対照を用いて同じ条件において決定したシグナルのレベルとの差異が、前記少なくとも 1 つの試験化合物が、前記少なくとも 1 つの化学受容体のリガンドを構成し、そして前記少なくとも 1 つの化学受容体に結合してその活性をモジュレートすることができることを示すものとすることを特徴とする、方法。

【請求項 2】

前記化学受容体が嗅覚受容体である、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

前記化学受容体が G タンパク質共役受容体 (GPCR) である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

前記化学受容体がトレースアミン受容体 (TAAR) である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 5】

前記化学受容体が非 GPCR である、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 6】

前記化学受容体がにおい受容体である、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 7】

前記におい受容体が、下記からなる群：

OR10A2、OR13C8、OR2AG2、OR2T8、OR4M2、OR52L1、OR5M3、OR7G2、OR10A3、OR13C9、OR2AJ1、OR2V1、OR4N2、OR52M1、OR5M8、OR7G3、OR10A4、OR13D1、OR2AK2、OR2V2、OR4N4、OR52N1、OR5M9、OR8A1、OR10A5、OR13F1、OR2AP1、OR2W1、OR4N5、OR52N2、OR5P2、OR8B12、OR10A6、OR13G1、OR2AT4、OR2W3、OR4P4、OR52N4、OR5P3、OR8B2、OR10A7、OR13H1、OR2B11、OR2Y1、OR4Q3、OR52N5、OR5R1、OR8B3、OR10AD1、OR13J1、OR2B2、OR2Z1、OR4S1、OR52R1、OR5T1、OR8B4、OR10AG1、OR14A16、OR2B3、OR3A1、OR4S2、OR52W1、OR5T2、OR8B8、OR10C1、OR14A2、OR2B6、OR3A2、OR4X1、OR56A1、OR5T3、OR8D1、OR10D3、OR14C36、OR2C1、OR3A3、OR4X2、OR56A3、OR5V1、OR8D2、OR10G2、OR14I1、OR2C3、OR4A15、OR51A2、OR56A4、OR5W2、OR8D4、OR10G3、OR14J1、OR

10

20

30

40

50

2D2、OR4A16、OR51A4、OR56B1、OR6A2、OR8G
1、OR10G4、OR14K1、OR2D3、OR4A47、OR51A7
、OR56B3P、OR6B1、OR8G5、OR10G6、OR1A1、
OR2F1、OR4A5、OR51B2、OR56B4、OR6B2、OR8
H1、OR10G7、OR1A2、OR2F2、OR4B1、OR51B4、
OR5A1、OR6B3、OR8H2、OR10G8、OR1B1、OR2
G2、OR4C11、OR51B5、OR5A2、OR6C1、OR8H3、
OR10G9、OR1C1、OR2G3、OR4C12、OR51B6、O
R5AC2、OR6C2、OR8I2、OR10H1、OR1D2、OR2G
6、OR4C13、OR51D1、OR5AK2、OR6C3、OR8J1、 10
OR10H2、OR1D5、OR2H1、OR4C15、OR51E1、O
R5AN1、OR6C4、OR8J3、OR10H3、OR1E1、OR2H
2、OR4C16、OR51E2、OR5AP2、OR6C6、OR8K1、
OR10H4、OR1E2、OR2J1、OR4C3、OR51F1、OR
5AR1、OR6C65、OR8K3、OR10H5、OR1F1、OR2J
2、OR4C46、OR51F2、OR5AS1、OR6C68、OR8K5
、OR10J1、OR1G1、OR2J3、OR4C5、OR51G1、O
R5AU1、OR6C70、OR8S1、OR10J3、OR1I1、OR2
K2、OR4C6、OR51G2、OR5B12、OR6C74、OR8U1
、OR10J5、OR1J1、OR2L13、OR4D1、OR51H1P、 20
OR5B17、OR6C75、OR8U9、OR10K1、OR1J2、O
R2L2、OR4D10、OR51I1、OR5B2、OR6C76、OR9
A2、OR10K2、OR1J4、OR2L3、OR4D11、OR51I2
、OR5B21、OR6F1、OR9A4、OR10P1、OR1K1、O
R2L5、OR4D2、OR51L1、OR5B3、OR6J1、OR9G1
、OR10Q1、OR1L1、OR2L8、OR4D5、OR51M1、O
R5C1、OR6K2、OR9G4、OR10R2、OR1L3、OR2M2
、OR4D6、OR51Q1、OR5D13、OR6K3、OR9G9、O
R10S1、OR1L4、OR2M3、OR4D9、OR51S1、OR5D
14、OR6K6、OR9I1、OR10T2、OR1L6、OR2M4、 30
OR4E2、OR51T1、OR5D16、OR6M1、OR9K2、OR1
0V1、OR1L8、OR2M5、OR4F15、OR51V1、OR5D1
8、OR6N1、OR9Q1、OR10W1、OR1M1、OR2M7、O
R4F16、OR52A1、OR5F1、OR6N2、OR9Q2、OR10
X1、OR1N1、OR2S2、OR4F17、OR52A5、OR5H1、
OR6P1、OR10Z1、OR1N2、OR2T1、OR4F21、OR
52B1P、OR5H14、OR6Q1、OR11A1、OR1Q1、OR2
T10、OR4F29、OR52B2、OR5H15、OR6S1、OR11
G2、OR1S1、OR2T11、OR4F3、OR52B4、OR5H2、
OR6T1、OR11H1、OR1S2、OR2T12、OR4F4、OR 40
52B6、OR5H6、OR6V1、OR11H12、OR2A1、OR2T
2、OR4F5、OR52D1、OR5I1、OR6X1、OR11H4、
OR2A12、OR2T27、OR4F6、OR52E2、OR5J2、OR
6Y1、OR11H6、OR2A14、OR2T29、OR4K1、OR52
E4、OR5K1、OR7A10、OR11L1、OR2A2、OR2T3、
OR4K13、OR52E6、OR5K2、OR7A17、OR12D2、
OR2A25、OR2T33、OR4K14、OR52E8、OR5K3、O
R7A5、OR12D3、OR2A4、OR2T34、OR4K15、OR5
2H1、OR5K4、OR7C1、OR13A1、OR2A42、OR2T3
5、OR4K17、OR52I1、OR5L1、OR7C2、OR13C2、 50

OR2A5、OR2T4、OR4K2、OR52I2、OR5L2、OR7D2、OR13C3、OR2A7、OR2T5、OR4K5、OR52J3、OR5M1、OR7D4、OR13C4、OR2AE1、OR2T6、OR4L1、OR52K1、OR5M10、OR7E24、OR13C5、OR2AG1、OR2T7、OR4M1、OR52K2、OR5M11、OR7G1より選択されるヒトにおい受容体、および／または、前記ヒトにおい受容体の1つのアミノ酸配列と少なくとも80%の同一性を有するアミノ酸配列を有するそれらの任意の変異体である、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

前記生物学的サンプルが、少なくとも1つの化学受容体を発現する感覚ニューロンを含んでなる、請求項1～6のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項9】

前記生物学的サンプルが、少なくとも1つの化学受容体を発現する嗅覚ニューロンを含んでなる、請求項1～8のいずれか一項に記載の方法。

【請求項10】

前記生物学的サンプルが、嗅覚系由来の組織を含んでなる、請求項1～9のいずれか一項に記載の方法。

【請求項11】

前記生物学的サンプルが、少なくとも1個の外因性化学受容体遺伝子を発現するトランスジェニック非ヒト動物由来の細胞または組織を含んでなる、請求項1～10のいずれか一項に記載の方法。

20

【請求項12】

少なくとも1つの試験化合物に曝露した後の生物学的サンプルにおける工程b)において決定したシグナルのレベルが、試験化合物に曝露されていない陰性対照を用いて同じ条件において決定したシグナルのレベルよりも低いことが、前記少なくとも1つの試験化合物が、前記少なくとも1つの化学受容体のアゴニストとして作用するリガンドを構成することを示すものとすることを特徴とする、請求項1～11のいずれか一項に記載の方法。

【請求項13】

少なくとも1つの試験化合物に曝露した後の生物学的サンプルにおける工程b)において決定したシグナルのレベルが、試験化合物に曝露されていない陰性対照を用いて同じ条件において決定したシグナルのレベルよりも高いことが、前記少なくとも1つの試験化合物が、前記少なくとも1つの化学受容体のアンタゴニストとして作用するリガンドを構成することを示すものとすることを特徴とする、請求項1～11のいずれか一項に記載の方法。

30

【請求項14】

化学受容体をコードする少なくとも5個の遺伝子または少なくとも10個の遺伝子の転写のレベルを決定することを特徴とする、請求項1～13のいずれか一項に記載の方法。

【請求項15】

少なくとも5個の外因性化学受容体遺伝子を発現する、トランスジェニック非ヒト動物。

40

【請求項16】

少なくとも5個または少なくとも10個のヒトにおい受容体遺伝子を発現する、請求項15に記載のトランスジェニック動物。

【請求項17】

請求項15または16に記載のトランスジェニック動物であって、下記からなる群：
OR10A2、OR13C8、OR2AG2、OR2T8、OR4M2、OR52L1、OR5M3、OR7G2、OR10A3、OR13C9、OR2AJ1、OR2V1、OR4N2、OR52M1、OR5M8、OR7G3、OR10A4、OR13D1、OR2AK2、OR2V2、OR4N4、OR52N1、OR5M9、OR8A1、OR10A5、OR13F1、OR2A

50

P 1、 OR 2 W 1、 OR 4 N 5、 OR 5 2 N 2、 OR 5 P 2、 OR 8 B 1 2、
 OR 1 0 A 6、 OR 1 3 G 1、 OR 2 A T 4、 OR 2 W 3、 OR 4 P 4、 O
 R 5 2 N 4、 OR 5 P 3、 OR 8 B 2、 OR 1 0 A 7、 OR 1 3 H 1、 OR 2
 B 1 1、 OR 2 Y 1、 OR 4 Q 3、 OR 5 2 N 5、 OR 5 R 1、 OR 8 B 3、
 OR 1 0 A D 1、 OR 1 3 J 1、 OR 2 B 2、 OR 2 Z 1、 OR 4 S 1、 O
 R 5 2 R 1、 OR 5 T 1、 OR 8 B 4、 OR 1 0 A G 1、 OR 1 4 A 1 6、 O
 R 2 B 3、 OR 3 A 1、 OR 4 S 2、 OR 5 2 W 1、 OR 5 T 2、 OR 8 B 8
 、 OR 1 0 C 1、 OR 1 4 A 2、 OR 2 B 6、 OR 3 A 2、 OR 4 X 1、 O
 R 5 6 A 1、 OR 5 T 3、 OR 8 D 1、 OR 1 0 D 3、 OR 1 4 C 3 6、 OR
 2 C 1、 OR 3 A 3、 OR 4 X 2、 OR 5 6 A 3、 OR 5 V 1、 OR 8 D 2、 10
 OR 1 0 G 2、 OR 1 4 I 1、 OR 2 C 3、 OR 4 A 1 5、 OR 5 1 A 2、
 OR 5 6 A 4、 OR 5 W 2、 OR 8 D 4、 OR 1 0 G 3、 OR 1 4 J 1、 OR
 2 D 2、 OR 4 A 1 6、 OR 5 1 A 4、 OR 5 6 B 1、 OR 6 A 2、 OR 8 G
 1、 OR 1 0 G 4、 OR 1 4 K 1、 OR 2 D 3、 OR 4 A 4 7、 OR 5 1 A 7
 、 OR 5 6 B 3 P、 OR 6 B 1、 OR 8 G 5、 OR 1 0 G 6、 OR 1 A 1、
 OR 2 F 1、 OR 4 A 5、 OR 5 1 B 2、 OR 5 6 B 4、 OR 6 B 2、 OR 8
 H 1、 OR 1 0 G 7、 OR 1 A 2、 OR 2 F 2、 OR 4 B 1、 OR 5 1 B 4、
 OR 5 A 1、 OR 6 B 3、 OR 8 H 2、 OR 1 0 G 8、 OR 1 B 1、 OR 2
 G 2、 OR 4 C 1 1、 OR 5 1 B 5、 OR 5 A 2、 OR 6 C 1、 OR 8 H 3、
 OR 1 0 G 9、 OR 1 C 1、 OR 2 G 3、 OR 4 C 1 2、 OR 5 1 B 6、 O 20
 R 5 A C 2、 OR 6 C 2、 OR 8 I 2、 OR 1 0 H 1、 OR 1 D 2、 OR 2 G
 6、 OR 4 C 1 3、 OR 5 1 D 1、 OR 5 A K 2、 OR 6 C 3、 OR 8 J 1、
 OR 1 0 H 2、 OR 1 D 5、 OR 2 H 1、 OR 4 C 1 5、 OR 5 1 E 1、 O
 R 5 A N 1、 OR 6 C 4、 OR 8 J 3、 OR 1 0 H 3、 OR 1 E 1、 OR 2 H
 2、 OR 4 C 1 6、 OR 5 1 E 2、 OR 5 A P 2、 OR 6 C 6、 OR 8 K 1、
 OR 1 0 H 4、 OR 1 E 2、 OR 2 J 1、 OR 4 C 3、 OR 5 1 F 1、 OR
 5 A R 1、 OR 6 C 6 5、 OR 8 K 3、 OR 1 0 H 5、 OR 1 F 1、 OR 2 J
 2、 OR 4 C 4 6、 OR 5 1 F 2、 OR 5 A S 1、 OR 6 C 6 8、 OR 8 K 5
 、 OR 1 0 J 1、 OR 1 G 1、 OR 2 J 3、 OR 4 C 5、 OR 5 1 G 1、 O
 R 5 A U 1、 OR 6 C 7 0、 OR 8 S 1、 OR 1 0 J 3、 OR 1 I 1、 OR 2 30
 K 2、 OR 4 C 6、 OR 5 1 G 2、 OR 5 B 1 2、 OR 6 C 7 4、 OR 8 U 1
 、 OR 1 0 J 5、 OR 1 J 1、 OR 2 L 1 3、 OR 4 D 1、 OR 5 1 H 1 P、
 OR 5 B 1 7、 OR 6 C 7 5、 OR 8 U 9、 OR 1 0 K 1、 OR 1 J 2、 O
 R 2 L 2、 OR 4 D 1 0、 OR 5 1 I 1、 OR 5 B 2、 OR 6 C 7 6、 OR 9
 A 2、 OR 1 0 K 2、 OR 1 J 4、 OR 2 L 3、 OR 4 D 1 1、 OR 5 1 I 2
 、 OR 5 B 2 1、 OR 6 F 1、 OR 9 A 4、 OR 1 0 P 1、 OR 1 K 1、 O
 R 2 L 5、 OR 4 D 2、 OR 5 1 L 1、 OR 5 B 3、 OR 6 J 1、 OR 9 G 1
 、 OR 1 0 Q 1、 OR 1 L 1、 OR 2 L 8、 OR 4 D 5、 OR 5 1 M 1、 O
 R 5 C 1、 OR 6 K 2、 OR 9 G 4、 OR 1 0 R 2、 OR 1 L 3、 OR 2 M 2
 、 OR 4 D 6、 OR 5 1 Q 1、 OR 5 D 1 3、 OR 6 K 3、 OR 9 G 9、 O 40
 R 1 0 S 1、 OR 1 L 4、 OR 2 M 3、 OR 4 D 9、 OR 5 1 S 1、 OR 5 D
 1 4、 OR 6 K 6、 OR 9 I 1、 OR 1 0 T 2、 OR 1 L 6、 OR 2 M 4、
 OR 4 E 2、 OR 5 1 T 1、 OR 5 D 1 6、 OR 6 M 1、 OR 9 K 2、 OR 1
 0 V 1、 OR 1 L 8、 OR 2 M 5、 OR 4 F 1 5、 OR 5 1 V 1、 OR 5 D 1
 8、 OR 6 N 1、 OR 9 Q 1、 OR 1 0 W 1、 OR 1 M 1、 OR 2 M 7、 O
 R 4 F 1 6、 OR 5 2 A 1、 OR 5 F 1、 OR 6 N 2、 OR 9 Q 2、 OR 1 0
 X 1、 OR 1 N 1、 OR 2 S 2、 OR 4 F 1 7、 OR 5 2 A 5、 OR 5 H 1、
 OR 6 P 1、 OR 1 0 Z 1、 OR 1 N 2、 OR 2 T 1、 OR 4 F 2 1、 OR
 5 2 B 1 P、 OR 5 H 1 4、 OR 6 Q 1、 OR 1 1 A 1、 OR 1 Q 1、 OR 2
 T 1 0、 OR 4 F 2 9、 OR 5 2 B 2、 OR 5 H 1 5、 OR 6 S 1、 OR 1 1 50

G 2、 O R 1 S 1、 O R 2 T 1 1、 O R 4 F 3、 O R 5 2 B 4、 O R 5 H 2、
O R 6 T 1、 O R 1 1 H 1、 O R 1 S 2、 O R 2 T 1 2、 O R 4 F 4、 O R
5 2 B 6、 O R 5 H 6、 O R 6 V 1、 O R 1 1 H 1 2、 O R 2 A 1、 O R 2 T
2、 O R 4 F 5、 O R 5 2 D 1、 O R 5 I 1、 O R 6 X 1、 O R 1 1 H 4、
O R 2 A 1 2、 O R 2 T 2 7、 O R 4 F 6、 O R 5 2 E 2、 O R 5 J 2、 O R
6 Y 1、 O R 1 1 H 6、 O R 2 A 1 4、 O R 2 T 2 9、 O R 4 K 1、 O R 5 2
E 4、 O R 5 K 1、 O R 7 A 1 0、 O R 1 1 L 1、 O R 2 A 2、 O R 2 T 3、
O R 4 K 1 3、 O R 5 2 E 6、 O R 5 K 2、 O R 7 A 1 7、 O R 1 2 D 2、
O R 2 A 2 5、 O R 2 T 3 3、 O R 4 K 1 4、 O R 5 2 E 8、 O R 5 K 3、 O
R 7 A 5、 O R 1 2 D 3、 O R 2 A 4、 O R 2 T 3 4、 O R 4 K 1 5、 O R 5
2 H 1、 O R 5 K 4、 O R 7 C 1、 O R 1 3 A 1、 O R 2 A 4 2、 O R 2 T 3
5、 O R 4 K 1 7、 O R 5 2 I 1、 O R 5 L 1、 O R 7 C 2、 O R 1 3 C 2、
O R 2 A 5、 O R 2 T 4、 O R 4 K 2、 O R 5 2 I 2、 O R 5 L 2、 O R 7
D 2、 O R 1 3 C 3、 O R 2 A 7、 O R 2 T 5、 O R 4 K 5、 O R 5 2 J 3、
O R 5 M 1、 O R 7 D 4、 O R 1 3 C 4、 O R 2 A E 1、 O R 2 T 6、 O R
4 L 1、 O R 5 2 K 1、 O R 5 M 1 0、 O R 7 E 2 4、 O R 1 3 C 5、 O R 2
A G 1、 O R 2 T 7、 O R 4 M 1、 O R 5 2 K 2、 O R 5 M 1 1、 O R 7 G 1
より選択される少なくとも5個または少なくとも10個のヒトにおい受容体遺伝子、およ
び／または、前記ヒトにおい受容体遺伝子の配列のいずれか1つと少なくとも80%の同
一性を有するそれらの任意の変異体を発現する、トランスジェニック動物。

10

20

【請求項18】

請求項16または17に記載のトランスジェニック動物から単離されてなる、嗅覚ニュー
ロン。

【請求項19】

請求項16または17に記載のトランスジェニック動物の嗅覚系から抽出されてなる、
組織サンプル。

【請求項20】

前記生物学的サンプルが、請求項16または17に記載のトランスジェニック動物から
単離されてなる生物学的サンプルである、請求項1～15のいずれか一項に記載の方法。

30

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0001】**

本発明は、規定の化学分子または化学分子の混合物に応答する化学受容体の同定（すな
わち、受容体／リガンドペアの同定）、および食品産業、芳香産業、健康産業を含む任意
の産業におけるこのような関係の知識の適用に関する。

【背景技術】**【0002】**

動物は、外界を知覚するための様々な種類の化学感覚ツールを進化させてきた。これら
の中では、味覚系および嗅覚系がある。これらの構造において、特別な化学感覚器が発現
される。種に応じて、これらとしては、例えば、Gタンパク質共役受容体（GPCR）、
例えばにおい受容体（odorant receptor）（OR）、鋤鼻受容体（VR
）、トレースアミン受容体（TAAR）、ホルミルペプチド受容体（FPR）、T1Rお
よびT2R味受容体、ならびに非GPCR、例えば一過性受容体電位（Trp）チャネル
、グアニリルシクラーゼ、ならびにイオンチャネル型嗅覚受容体（IR）が挙げられ得る
（Kaupp, 2010, Nature Rev. Neuroscience, 11: 1
88 - 200）。これらの感覚器は、動物が、特にそれらのORを介して非常に様々な外
部刺激を受け止めることを可能にし、数十億の異なる分子を検出および区別することを可
能にする。これらの受容体をコードする遺伝子レパートリーは、所定の種内において多様
であり、サイズおよび内容が種間において変動する。マウスにおいて、例えば、ORレパ
ートリーは1250個のメンバーに及び、これはその総遺伝子数の5%超に相当する。す

40

50

すべての嗅覚ニューロンは単一の嗅覚受容体遺伝子を発現するが、これは、数百の機能的に異なる感覚ニューロン集団が鼻腔に共存することを意味する。これらの各集団は、様々なアゴニストによって活性化され得、各アゴニストは、様々なORによって認識され得る。これは、異なる混合物間の区別を可能にするコンビナトリアルコードをもたらす。

【0003】

過去30年間、脱オーファン化と称される方法において、GPCRの大部分に、リガンドおよびアンタゴニストが割り当てられている。これはORの例外であるが、それらの最大の部分は依然としてオーファンである。例えば、ヒトORの90%超は依然としてオーファンである(Peterlin et al., 2014, J. Gen. Physiol., 143, 527-542)。個々のORの脱オーファン化は重要であるが、さらに興味深いのは、所定の種における所定の化学物質に対応するORのリストを提供することである。今日、マウスまたはヒトにおいて、同族ORの網羅的なリストが定義されている単一におい分子は知られていない。このような知識は、嗅覚の根底にあるコンビナトリアルコードを理解するために非常に有益であり得るが、商業的用途も有し得る。例えば、所定のにおい物質によって活性化されるORレパトリーの知識は、所定の嗅覚刺激(特に、ヒトにおいてポジティブな快楽的価値を有するもの(例えば、チョコレートまたは花))を模倣するために役立つであろう。あるいは、これは、望ましくないにおいまたは風味(例えば、不快な体臭または下水道のにおい)の知覚を妨げるにおい物質アンタゴニストの発見を可能にし得る。全体として、それは、特定の化学的知覚をモジュレートする能力を促進するであろう。

10

20

【0004】

これまでに脱オーファン化されたORの数が限られているのは、努力不足ではなく、むしろ適切なアッセイの欠如によるものである。最も知られている嗅覚アゴニスト-受容体ペアは、インビトロにおいて同定された。これらのアプローチは、アフリカツメガエル卵母細胞、酵母、卵巣、昆虫細胞、バキュロウイルス、ならびに天然または人工HEKおよびHeLa細胞を含む異種系における齧歯類またはヒト化学受容体の発現を伴っていた(Peterlin et al., 2014, 前掲)。これらの発現系は重大な進歩をもたらし、41個のヒトORおよび95個のマウスORの脱オーファン化(少なくとも1つの活性化分子を見出すこと)および特性評価を可能にした。しかしながら、これらの非天然的な方法は、重大な問題を抱えている。第一に、インビトロにおいて生成されたORは、通常は小胞体内に保持されるので、細胞膜に到達することができない。したがって、多くの場合、異種発現のために、非嗅覚タンパク質のセグメントとのそれらの融合が選択されるが、それらの応答プロファイルが改変される可能性がある。第二に、受容体とそれらの潜在的なアゴニストとの間のインタフェースであるにおい結合タンパク質を含有する複合鼻粘液は、インビトロにおいて存在しない。この粘液は、多くのにおい分子を化学的に改変する酵素的役割を果たすので、これは非常に重要である(Nagashima and Touhara, 2010, J. Neurosci., 30, 16391-16398)。第三に、その天然の伝達カスケードへのORの共役(これは通常は、インビトロにおいて再現されない)は、受容体-におい物質の特異性に影響を与えることが公知である(Shirokova et al., 2005, J. Biol. Chem., 280, 11807-11815)。最後に、潜在的なリガンドは、インビトロにおいて気相ではなく液相で提供されるので、自然に鼻前方および鼻後方フラックス中に存在するリガンドとそれらの濃度との関連付けが困難である。

30

40

【0005】

非天然的な異種発現に関する問題のいくつかを回避するために、別のアプローチが採用された。インシリコモデルを開発する努力がなされている(例えば、Bavan et al., 2014, PLoS One 9, e92064)。生理学的条件に近づけて、内因性または外因性ORを発現する嗅覚ニューロンの、化学物質に対する応答が研究された(Araneda et al., 2000, Nat. Neurosci. 3, 1248-1255; Malnic et al., 1999, Cell 96, 713-72

50

3 ; O k a e t a l . , 2 0 0 6 , N e u r o n , 5 2 , 8 5 7 - 8 6 9) 。 規 定 の 嗅 覚 ニューロンが標識された遺伝子ターゲティングマウスに基づく他の方法でも、少数の O R について有効性が証明された。しかしながら、感覚ニューロンに基づくこれらの方法は、エキスピボにおける調製または複雑なマウス手術を伴い、最も重要なことに、一度に 1 つの受容体の脱オーファン化を可能にするにすぎない。

【 0 0 0 6 】

したがって、インビボにおいて特定のにおい化合物に応答する受容体（特に、悪臭中和分子またはにおいモジュレーターのような特別な価値を有するもの）の迅速かつ容易な同定を可能にする方法が依然として必要である。このような方法はまた、アゴニストおよびアンタゴニストの大規模スクリーニングのための重要なツールを構成するであろう。

10

【 発 明 の 概 要 】

【 0 0 0 7 】

本発明者らは、予想外のことに、マウスおよびハエにおいて、インビボまたはエキスピボでの化学刺激への曝露後に、この刺激に応答する嗅覚ニューロンが、それらが発現する嗅覚受容体 (o l f a c t o r y r e c e p t o r) に対応する転写産物の量を迅速にモジュレートする（アップレギュレートまたはダウンレギュレートする）ことを見出した。これらの知見に基づいて、本発明は、mRNA発現の変化に基づいて、特定の化学刺激に応答する受容体の同定を可能にする簡便で高速かつ効率的な方法を提供する。主に嗅覚受容体 / リガンドを用いて説明されているが、本発明は、他の化学受容体 / リガンドペア、他の種、および特定の化学受容体を発現するトランスジェニック種に拡張され得る。

20

【 0 0 0 8 】

本発明の第一の態様は、少なくとも 1 つのリガンドに対する少なくとも 1 つの化学受容体を同定する方法であって、

a) 少なくとも 1 つの化学受容体を発現する細胞を含む生物学的サンプルを用意する工程であって、前記生物学的サンプルが (i) 少なくとも 1 つの試験化合物に曝露されたものであるか、または (i i) 少なくとも 1 つの試験化合物に曝露された動物から得られたものである工程と、

b) 前記生物学的サンプルにおける化学受容体をコードする少なくとも 1 個の遺伝子の転写のレベルに比例するシグナルを測定する工程と、

c) 工程 b) において決定したシグナルのレベルを、前記生物学的サンプルまたは前記動物が前記少なくとも 1 つの試験化合物に曝露されていない陰性対照を用いて同じ条件において決定したシグナルのレベルと比較する工程と

30

を少なくとも含んでなり、

工程 b) において決定したシグナルのレベルと、陰性対照を用いて同じ条件において決定したシグナルのレベルとの差異が、前記少なくとも 1 つの試験化合物が、前記少なくとも 1 つの化学受容体のリガンドを構成し、そして前記少なくとも 1 つの化学受容体に結合してその活性をモジュレートすることができることを示すものとする特徴とする方法を提供する。

【 0 0 0 9 】

本発明の第二の態様は、リガンドおよび / または試験薬剤の存在下および非存在下における、化学受容体をコードする遺伝子の転写のレベルの比較に基づいて、その化学受容体に対するリガンドの結合をモジュレートすることができる薬剤を同定する方法に関する。

40

【 0 0 1 0 】

本発明の第三の態様は、少なくとも 5 個の外因性化学受容体遺伝子を発現するトランスジェニック非ヒト動物に関する。

【 0 0 1 1 】

本発明の第四の態様は、前記トランスジェニック非ヒト動物から抽出された単離された細胞（例えば、感覚細胞）および / または組織（例えば、嗅覚系に存在する組織）に関する。

【 0 0 1 2 】

50

本発明の第五および第六の態様は、前記トランスジェニック非ヒト動物を生産するための方法、および本発明の方法におけるその使用に関する。

【0013】

本発明の第七の態様は、化学受容体に結合するリガンド、ならびにその化学受容体へのリガンドの結合をモジュレートする薬剤であって、本発明の方法によって同定され得る薬剤、ならびに前記リガンドおよび/または薬剤を含む組成物に関する。

【0014】

本発明の第八の態様は、被験体における少なくとも1つの芳香および/または少なくとも1つの味の知覚をモジュレートするための方法であって、前記芳香および/または味の知覚に關与する少なくとも1つの化学受容体の少なくとも1つのリガンド、および/またはは、前記化学受容体に対するリガンドの結合をモジュレートする少なくとも1つの薬剤の使用を含むことを特徴とする方法を提供する。

【0015】

本発明の他の特徴および利点は、以下の詳細な説明から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1AB】ニューロン活性化後の嗅覚受容体の転写モデュレーション。(a)：用いたプロトコルの概略図。(b)～(f)：アセトフェノン(b)、ヘプタナール(c)、テトラデカナール(d)、リラル(e)、イソ酪酸エチル(f)およびバニリン酸(g)による嗅覚刺激後の嗅覚受容体転写産物のレベル。各嗅覚受容体遺伝子について、RT-qPCRによって、嗅覚受容体遺伝子転写産物のレベルを評価し、曝露マウスにおいて得られた値と、対照マウスにおいて得られた値との間の比を示す。左側の領域に存在する嗅覚受容体は、試験した揮発性物質に応答することが以前に示されたものに対応する。右側の領域に存在するものは、前記化学物質に対して非応答性であることが以前に示された。各ドットは、1匹のマウスを表す。中央値は、黒色の水平バーとして示され、囲み枠は、25パーセンタイルから75パーセンタイルに及ぶ。灰色の水平領域は、有意にモジュレートされていないとみなした値に対応する。

【図1CD】図1ABの説明に同じ。ヘプタナール(c)、テトラデカナール(d)による嗅覚刺激後の嗅覚受容体転写産物のレベル。

【図1EF】図1ABの説明に同じ。リラル(e)、イソ酪酸エチル(f)による嗅覚刺激後の嗅覚受容体転写産物のレベル。

【図1G】図1ABの説明に同じ。バニリン酸(g)による嗅覚刺激後の嗅覚受容体転写産物のレベル。

【図2】インビトロにおけるイソ酪酸エチル曝露後の嗅覚受容体転写産物のモデュレーション。各嗅覚受容体遺伝子について、RT-qPCRによって、嗅覚受容体遺伝子転写産物レベルを評価し、曝露マウスにおいて得られた値と、対照マウスにおいて得られた値との間の比を示す。左側の領域に存在する嗅覚受容体は、試験した揮発性物質に応答することが以前に示されたものに対応する。右側の領域に存在するものは、前記化学物質に対して非応答性であることが以前に示された。

【図3A】アセトフェノン曝露後の嗅覚受容体転写産物のダウンレギュレーションのトランスクリプトーム広範評価。1条件当たり3匹のマウスを曝露し、各マウスについて、OR遺伝子のライブラリーを配列決定した。黒色/灰色/白色の長方形は、対照マウスに存在するレベルと比べた、転写産物の減少のレベル(0.1=90%の減少(黒色)～1=0%の減少(白色))を示す。灰色のOlfir名は、その産物がインビトロにおいてアセトフェノンに対して応答性であることが以前に示された受容体遺伝子を表す。ENSEMBLによれば、Olfir391ps、Olfir1025psおよびOlfir1174psは偽遺伝子とみなされる。しかしながら、配列特徴に基づく本発明者ら独自の基準にしたがえば、Olfir391psおよびOlfir1025psは、本明細書において、潜在的に機能的なOR遺伝子とみなされ、Olfir1174psは疑わしいとみなされる。右パネル：5%アセトフェノン曝露後の選択したOR遺伝子候補のRT-qPCR。

10

20

30

40

50

【図 3 B】図 3 A の説明に同じ。

【図 4】その転写産物がにおい物質曝露によってダウンレギュレートされるニューロンは、活性化ニューロンである。受容体転写産物特異的なインサイチューハイブリダイゼーションを実施し、続いて、活性依存性マーカー p S 6 の免疫標識を実施した。アセトフェノンまたはイソ酪酸エチル曝露後の O l f r 9 8 3、O l f r 1 7 1 および O l f r 1 4 5 との P S 6 共発現の定量。

【図 5】アゴニスト刺激後に、ショウジョウバエ O R 転写産物のレベルは減少している。(a) 実施例 6 において記載されている本発明の方法のプロトコルの概略図。5 % 乳酸エチルまたは 5 % 酢酸ゲラニルに 5 時間曝露した後に q P C R によって評価した、ハエの触覚由来の O R 6 7 c (b) および O R 8 2 a (c) m R N A の量。各ドットは、12 匹または 25 匹のハエを含有するバイアルのプール R N A を表す。p 値: *** (p < 0.001)、試験 O R 遺伝子とすべての対照非応答性受容体遺伝子との間の両側マンホイットニー U 検定。

【図 6】ニューロン活性化後の T A A R 転写産物のモデュレーション。実施例 7 において記載されているように、 α -フェニルエチルアミンによる 48 時間の嗅覚刺激後に、嗅覚受容体遺伝子転写産物のレベルを評価した。各受容体遺伝子について、R T - q P C R によって、嗅覚受容体遺伝子転写産物のレベルを評価し、曝露マウスにおいて得られた値と、対照マウスにおいて得られた値との間の比を示す。「T A A R」は、 α -フェニルエチルアミンに応答することが以前に示された嗅覚受容体遺伝子 (トレースアミン受容体遺伝子) に対応し、「o l f r」は、前記化学物質に対して非応答性であることが以前に示された嗅覚受容体遺伝子に対応する。各ドットは、1 匹のマウスを表す。中央値は、黒色の水平バーとして示され、囲み枠は、25 パーセントイルから 75 パーセントイルに及ぶ。灰色の水平領域は、有意にモジュレートされていないとみなした値に対応する。

【発明を実施するための形態】

【0017】

本明細書において定義される「化学受容体」(「化学感覚器」とも称される)は、化学応答を細胞応答に変換する感覚受容体である。より一般的には、化学受容体は、環境中の特定の化学刺激を検出する。脊椎動物において、化学受容体としては、におい受容体 (O R)、トレースアミン受容体 (T A A R)、鋤鼻受容体 1 型 (V 1 R)、鋤鼻受容体 2 型 (V 2 R)、ホルミルペプチド受容体 (F P R)、一過性受容体電位 (T r p) チャネル、グアニリルシクラーゼ D および G (G C D / G)、味受容体 1 型 (T 1 R)、味受容体 2 型 (T 2 R)、内皮電位非依存性ナトリウムチャネル (E N a C)、多発性嚢胞腎疾患 2 様 1 (P K D 2 L 1) チャネルが挙げられる。昆虫において、化学受容体としては、イオンチャネル型 7 T M O R、7 T M G R およびイオンチャネル型 I R が挙げられる (K a u p p, 2010, Nature Reviews Neuroscience, 11: 188 - 200)。化学受容体としては、例えば、嗅覚系由来の嗅覚受容体、味覚系由来の味 (または味覚) 受容体、三叉神経系由来の T r p チャネルが挙げられる。「化学受容体」という用語は、動物において天然に見られるものと同じアミノ酸配列を有するポリペプチド、ならびに生物学的に活性な (すなわち、化学受容体として機能する) その任意の変異体を包含する。

【0018】

本明細書において使用される化学受容体の「変異体」という用語は、天然に見られる化学受容体 (例えば、ヒト化学受容体またはマウス化学受容体) のアミノ酸配列と高度な類似性または高度な同一性を有するポリペプチドであって、生物学的に活性な (すなわち、化学受容体として機能し、化学シグナルを細胞応答に変換する) ポリペプチドを包含する。特に、化学受容体の「変異体」という用語は、異なる種に見られるオルソログポリペプチドもしくはそのアイソフォーム、突然変異体または断片を含む (例えば、特定のアミノ酸配列によって定義される) 参照ポリペプチドと実質的に相同なポリペプチドであって、1 つ以上の欠失、挿入または置換のために参照ポリペプチドのものと異なるアミノ酸配列を有するポリペプチドを包含する。実質的に相同とは、参照アミノ酸配列と少なくとも 8

0 %、少なくとも85 %、少なくとも90 %、少なくとも95 %、少なくとも96 %、少なくとも97 %、少なくとも98 %または少なくとも99 %同一の変異体アミノ酸配列を意味する。「変異体」という用語はまた、化学受容体をコードする核酸配列に適用される。核酸配列に適用される場合、実質的に相同とは、参照核酸配列と少なくとも80 %、少なくとも85 %、少なくとも90 %、少なくとも95 %、少なくとも96 %、少なくとも97 %、少なくとも98 %または少なくとも99 %同一の変異体核酸配列を意味する。2つのアミノ酸配列間または2つの核酸配列間の「同一性の割合」は、目視検査および/または数学的計算によって、あるいはより容易には配列分析に使用される公知のコンピュータプログラム（例えば、Clustal package version 1.83）によって決定され得る。

10

【0019】

本明細書において使用される「Gタンパク質共役受容体タンパク質（GPCR）」（「7回膜貫通ドメイン受容体」、「7TM受容体」、「ヘプタヘリックス受容体」、「セルペンチン受容体」および「Gタンパク質結合受容体（GPLR）」としても公知である）は、細胞外において分子を感知し、細胞内においてシグナル伝達経路および最終的には細胞応答を活性化する受容体の大きなタンパク質ファミリーを示す。GPCRは、酵母および動物を含む真核生物に見られる。これらの受容体に結合してそれを活性化するリガンドとしては、光感受性化合物、におい、フェロモン、ホルモンおよび神経伝達物質が挙げられ、低分子、ペプチド、大型タンパク質によってサイズが異なる。

20

【0020】

本明細書において使用される「嗅覚受容体」という用語は、化学的 合図の検出に關与する嗅覚ニューロンの細胞膜において発現される受容体を示す。活性化嗅覚受容体は、脳に伝達される神経インパルスを最終的に生成するシグナル伝達カスケードにおける初期プレーヤーである。これらの受容体のほとんどは、GPCRスーパーファミリーのメンバーである。嗅覚受容体は、ヒトにおける約400個の潜在的に機能的な遺伝子、およびマウスにおける約1250個の遺伝子からなる多重遺伝子ファミリーを形成する。一般に、哺乳動物において、嗅覚受容体は、におい受容体（OR）、鋤鼻受容体（V1RおよびV2R）、トレースアミン関連受容体（TAAR）、ホルミルペプチド受容体（FPR）および膜グアニルシクラーゼGC-Dを含むいくつかの受容体ファミリーに分類される。

30

【0021】

「嗅覚ニューロン」（OSN）は、本明細書において、主嗅上皮（MOE）、鋤鼻器官（VNO）、中隔臓器（SO）およびグラーエネベルク神経節（GG）を含む、嗅覚系を構成する鼻腔区画に見られる高度に特殊な化学感覚細胞を示す。嗅覚ニューロンは、においおよびフェロモンの知覚を可能にする。

【0022】

本明細書において使用される「味覚受容体」という用語は、T1R、T2R、ENaC、PKD2L1およびGRを含む。

【0023】

「味覚細胞」または「味受容細胞」は、T1R、T2R、ENaC、PKD2L1またはGRなどの味覚受容体を発現する細胞を示す。

40

【0024】

本明細書において使用される「リガンド」または「化学刺激」という用語は、化学受容体に結合し、前記化学受容体の機能をモジュレートし得る（活性化または阻害し得る）分子を指す。リガンドは、その同族化学受容体（例えば、GPCR）の下流シグナル伝達活性、および/または特定の場合には、嗅覚受容体の全体的な嗅覚応答をモジュレートし得ることになる。分子が化学受容体を活性化する場合、それは、前記受容体の「アゴニスト」として認められる。分子が、その同族化学受容体のアゴニストによる活性化を阻害する場合、前記分子は、前記受容体の「アンタゴニスト」として認められる。化学受容体のリガンドは、ペプチド、ポリペプチド（抗体またはその抗原結合断片を含む）、脂質、炭水化物、核酸、有機低分子または非有機低分子、例えば限定されないが、におい物質、芳香

50

性化合物およびフェロモン、合成源または天然源由来の、例えば化学ライブラリーまたはペプチドライブラリー由来の分子を含む様々な化学構造の分子であり得る。嗅覚受容体の機能をモジュレートし得る化学刺激は、「嗅覚刺激」と称される。

【0025】

本明細書において使用される「嗅覚刺激」または「におい物質」という用語は、細胞または組織内において発現されたインビボの嗅覚受容体またはインビトロの嗅覚受容体などの嗅覚受容体系と相互作用し得る揮発性または非揮発性で水溶性または非水溶性の任意の分子または分子群を含む。快適なにおい物質および不快なにおい物質の起源および固有性は、非常に多様である。嗅覚刺激は、アルカン、エステル、直鎖テルペン、環状テルペン、芳香族、アミン、アルコール、アルデヒド、ケトン、ラクトン、チオール、ガスなどの分子であり得る。嗅覚刺激の例としては、不快な体臭、例えば呼気（メタンチオール、硫化水素、硫化ジメチルなど）、足（プロパン酸、イソ吉草酸など）または脇（（E）-3-メチル-2-ヘキセン酸、（S）-3-メチル-3-スルファニルヘキサン-1-オール、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキセン酸、プロピオン酸、アンドロステロンなど）に感じられるものが挙げられる。

10

【0026】

化学受容体の「アゴニスト」および「アンタゴニスト」という用語は、本明細書において、前記化学受容体の機能、したがって前記化学受容体に関係する下流シグナル伝達活性、および/または、例えば嗅覚受容体に結合するリガンドの場合には、前記嗅覚受容体に関係する全体的な嗅覚応答をモジュレートする（それぞれ活性化および阻害する）作用物質を指す。化学受容体のアゴニストおよびアンタゴニストは、その化学受容体に対するリガンドの結合をモジュレートする（それぞれ増強および阻害する）ことによって作用し得る。前記アゴニストおよび前記アンタゴニストは、ペプチド、ポリペプチド、抗体またはその抗原結合断片、脂質、炭水化物、核酸、有機低分子または非有機低分子、例えば限定されないが、におい物質、芳香性化合物およびフェロモン、合成源または天然源由来の、例えば化学ライブラリーまたはペプチドライブラリー由来の分子を含む様々な性質のものであり得る。

20

【0027】

本明細書において使用される「導入遺伝子」または「外因性遺伝子」という用語は、人間の介入によって、例えばマイクロインジェクション、電気ショックによって、または組換えウイルスによる感染によって、外来遺伝子を、例えば新たな受精卵、生殖細胞または初期胚に導入することによって、生物（「トランスジェニック生物」と称される）の細胞の1つ以上に配置される外来遺伝子を指す。したがって、トランスジェニック動物の細胞の1つ以上は、このトランスジェニック動物の遺伝物質の一部である少なくとも1個の外来遺伝子（導入遺伝子）を含む。導入遺伝子が動物の子孫に伝達され得るように、それをトランスジェニック動物の生殖系列に含めることが有利である。「外来遺伝子」という用語は、実験操作によって動物のゲノムに導入される任意の核酸（例えば、遺伝子配列）を指す。外来遺伝子は、一般に、前記導入遺伝子を発現するトランスジェニック動物と異なる動物種由来の遺伝子（例えば、嗅覚受容体などの化学受容体）の遺伝子配列を包含し、例えば、外来遺伝子は、トランスジェニックマウスにおいて発現されるヒト嗅覚受容体遺伝子であり得る。導入遺伝子が、天然に存在する遺伝子と同じ位置に存在しない限り、外来遺伝子はまた、その動物に見られる遺伝子配列を含み得る。外来遺伝子はまた、天然に存在する遺伝子の変異体（例えば、多型または突然変異体）を包含すると定義される「自己遺伝子」であり得る。

30

40

【0028】

化学受容体のリガンド、および/またはその化学受容体に対するリガンドの効果をモジュレートする薬剤を同定する方法

第一の態様において、本発明は、化学受容体を脱オーファン化する（すなわち、少なくとも1つの化学受容体の少なくとも1つのリガンドを同定し、それにより、少なくとも1つのリガンド/化学受容体ペアのメンバーの同定する）方法を提供する。

50

【 0 0 2 9 】

典型的には、その化学受容体に対するリガンドの結合は、前記化学受容体に関する下流シグナリング活性、および / または嗅覚受容体に結合するリガンドの場合には、前記嗅覚受容体に関する全体的な嗅覚応答を発生させる。

【 0 0 3 0 】

一つの実施形態において、本発明は、少なくとも 1 つのリガンドに対する少なくとも 1 つの化学受容体を同定する方法であって、

a) 少なくとも 1 つの化学受容体を発現する細胞を含む生物学的サンプルを用意する工程であって、前記生物学的サンプルが (i) 少なくとも 1 つの試験化合物に曝露されたものであるか、または (i i) 少なくとも 1 つの試験化合物に曝露された動物から得られたものである工程と、

b) 前記生物学的サンプルにおける化学受容体をコードする少なくとも 1 個の遺伝子の転写のレベルに比例するシグナルを測定する工程と、

c) 工程 b) において決定したシグナルのレベルを、前記生物学的サンプルまたは前記動物が前記少なくとも 1 つの試験化合物に曝露されていない陰性対照を用いて同じ条件において決定したシグナルのレベルと比較する工程とを少なくとも含んでなり、

工程 b) において決定したシグナルのレベルと、陰性対照を用いて同じ条件において決定したシグナルのレベルとの差異が、前記少なくとも 1 つの試験化合物が、前記少なくとも 1 つの化学受容体のリガンドを構成し、そして前記少なくとも 1 つの化学受容体に結合してその活性をモジュレートすることができることを示すものとすることを特徴とする方法を提供する。

【 0 0 3 1 】

本発明の方法の一つの実施形態によれば、少なくとも 1 つの試験化合物に曝露した後の生物学的サンプルにおける工程 b) において決定したシグナルのレベルが、試験化合物に曝露されていない陰性対照を用いて同じ条件において決定したシグナルのレベルよりも低い場合、これは、前記少なくとも 1 つの試験化合物が、前記少なくとも 1 つの化学受容体のアゴニストとして作用するリガンドを構成することを示す。

【 0 0 3 2 】

本発明の方法の別の実施形態によれば、少なくとも 1 つの試験化合物に曝露した後の生物学的サンプルにおける工程 b) において決定したシグナルのレベルが、試験化合物に曝露されていない陰性対照を用いて同じ条件において決定したシグナルのレベルよりも高い場合、これは、前記少なくとも 1 つの試験化合物が、前記少なくとも 1 つの化学受容体のアンタゴニストとして作用するリガンドを構成することを示す。

【 0 0 3 3 】

本発明において、生物学的サンプルは、典型的には、単離された細胞または組織内の細胞を含み、前記細胞は、少なくとも 1 つの化学受容体を発現し、前記化学受容体をコードする遺伝子は、前記細胞中に天然に存在していたものであるか、または遺伝子工学によって前記細胞内に導入されたものであるか、または本明細書に記載の少なくとも 1 個の外因性化学受容体遺伝子を発現するトランスジェニック非ヒト動物から前記細胞が得られたことにより、前記細胞中に存在するものである。

【 0 0 3 4 】

本発明によれば、前記化学受容体は、G タンパク質共役受容体タンパク質 (G P C R) または非 G P C R タンパク質の中から選択される。

【 0 0 3 5 】

本発明の特定の実施形態において、前記化学受容体は、G P C R タンパク質、より具体的には嗅覚受容体および味覚受容体からなる群より選択される受容体である。

【 0 0 3 6 】

本発明において有用な非 G P C R タンパク質としては、T r p チャネル、G C D / G、E N a C、P C K D チャネル、イオンチャネル型 7 T M O R、7 T M G R およびイオ

10

20

30

40

50

ンチャンネル型 I R が挙げられる。

【 0 0 3 7 】

特定の実施形態において、前記化学受容体は、嗅覚受容体である。

【 0 0 3 8 】

ヒトにおい受容体の例としては、以下に列挙されているものが挙げられ、括弧内に示されている参照は、公開データベースにおいて利用可能なそれらのアミノ酸配列および核酸配列へのアクセスを提供する：

OR2W1 (ENSG000000229328)、OR3A3 (ENSG000000159961)、OR5P3 (ENSG000000182334)、OR5AN1 (ENSG000000176495)、OR11H4 (ENSG000000176198)、OR10A3 (ENSG000000170683)、OR52I2 (ENSG000000226288)、OR7A5 (ENSG000000188269)、OR6X1 (ENSG000000221931)、OR52I1 (ENSG000000232268)、OR4L1 (ENSG000000176246)、OR5A2 (ENSG000000172324)、OR52B2 (ENSG000000255307)、OR4K17 (ENSG000000176230)、OR8J1 (ENSG000000262796)、OR5P2 (ENSG000000183303)、OR56B4 (ENSG000000180919)、OR5T3 (ENSG000000261897)、OR51D1 (ENSG000000197428)、OR6M1 (ENSG000000196099)、OR2AG2 (ENSG000000188124)、OR8K1 (ENSG000000263328)、OR8J1 (ENSG000000172487)、OR10K1 (ENSG000000173285)、OR4N5 (ENSG000000184394)、OR9G4 (ENSG000000262647)、OR2H2 (ENSG000000229680)、OR4C11 (ENSG000000172188)、OR1J4 (ENSG000000239590)、OR5T2 (ENSG000000262851)、OR4C46 (ENSG000000185926)、OR10R2 (ENSG000000198965)、OR1N1 (ENSG000000171505)、OR5T1 (ENSG000000262784)、AC213223.1 (ENSG000000261958)、OR1N2 (ENSG000000171501)、OR1L8 (ENSG000000171496)、OR4M2 (ENSG000000182974)、OR5V1 (ENSG000000233046)、OR12D2 (ENSG000000235966)、OR2W1 (ENSG000000204704)、OR4F4 (ENSG000000177693)、OR6C75 (ENSG000000187857)、OR10W1 (ENSG000000172772)、OR2B3 (ENSG000000204703)、OR2D3 (ENSG000000178358)、OR51L1 (ENSG000000176798)、OR8U1 (ENSG000000172199)、OR8H2 (ENSG000000181767)、OR1K1 (ENSG000000165204)、OR7C2 (ENSG000000127529)、OR7G3 (ENSG000000170920)、OR2AE1 (ENSG000000244623)、OR4P4 (ENSG000000181927)、OR8K3 (ENSG000000262755)、OR4S2 (ENSG000000174982)、OR52A5 (ENSG000000171944)、OR2Y1 (ENSG000000174339)、OR4C6 (ENSG000000181903)、OR2V1 (ENSG000000185372)、OR8U8 (ENSG000000262315)、OR2V2 (ENSG000000182613)、OR1D5 (ENSG000000262628)、OR2J3 (ENSG000000204701)、OR1D2 (ENSG000000184166)、OR8K3 (ENSG000000181689)、OR4E2 (ENSG000000221977)、OR52A1 (ENSG000000182

070)、OR7D2 (ENSG000000188000)、OR13A1 (ENSG000000256574)、OR2A42 (ENSG000000212807)、OR2A7 (ENSG000000243896)、OR4A47 (ENSG000000237388)、OR5A1 (ENSG000000172320)、OR2J2 (ENSG000000204700)、OR8B2 (ENSG000000204293)、OR6Y1 (ENSG000000197532)、OR6P1 (ENSG000000186440)、OR8B3 (ENSG000000196661)、OR14J1 (ENSG000000234195)、OR10A6 (ENSG000000175393)、OR2H1 (ENSG000000204688)、OR2W1 (ENSG000000206525)、OR8B4 (ENSG000000198657)、OR8B8 (ENSG000000197125)、OR4D6 (ENSG000000166884)、OR8H3 (ENSG000000181761)、OR2AG1 (ENSG000000170803)、OR56A1 (ENSG000000180934)、OR6A2 (ENSG000000184933)、OR8J3 (ENSG000000167822)、OR8D4 (ENSG000000181518)、OR8K5 (ENSG000000181752)、OR2A1 (ENSG000000221970)、OR1E2 (ENSG000000127780)、OR4D5 (ENSG000000171014)、OR2F2 (ENSG000000221910)、OR2B3 (ENSG000000225736)、OR6T1 (ENSG000000181499)、OR10S1 (ENSG000000196248)、OR10G4 (ENSG000000254737)、OR10G9 (ENSG000000236981)、OR52J3 (ENSG000000205495)、OR10G8 (ENSG000000234560)、OR10G7 (ENSG000000182634)、OR4K5 (ENSG000000176281)、OR10X1 (ENSG000000186400)、OR10Z1 (ENSG000000198967)、OR5AP2 (ENSG000000172464)、OR3A1 (ENSG000000180090)、OR3A2 (ENSG000000221882)、OR52E2 (ENSG000000176787)、OR4K1 (ENSG000000155249)、OR2B11 (ENSG000000177535)、OR5K2 (ENSG000000231861)、OR10C1 (ENSG000000204689)、OR5AR1 (ENSG000000172459)、OR5R1 (ENSG000000174942)、OR10J5 (ENSG000000184155)、OR51B6 (ENSG000000176239)、OR8B12 (ENSG000000170953)、OR8A1 (ENSG000000196119)、OR8K1 (ENSG000000150261)、OR52D1 (ENSG000000181609)、OR1I1 (ENSG000000094661)、OR2B3 (ENSG000000206524)、OR2C3 (ENSG000000196242)、OR14A2 (ENSG000000241128)、OR13G1 (ENSG000000197437)、OR10A5 (ENSG000000166363)、OR6B2 (ENSG000000182083)、OR2Z1 (ENSG000000181733)、OR9A2 (ENSG000000179468)、OR2J3 (ENSG000000206522)、OR5M9 (ENSG000000150269)、OR6V1 (ENSG000000225781)、OR1G1 (ENSG000000183024)、OR51B5 (ENSG000000242180)、OR9G1 (ENSG000000174914)、OR13F1 (ENSG000000186881)、OR51Q1 (ENSG000000167360)、OR13C4 (ENSG000000148136)、OR13C3 (ENSG000000204246)、OR6B3 (ENSG000000178586)、OR4N4 (ENSG000000183706)、OR13C8 (ENSG000000186943)、OR51E1 (ENS

G00000180785)、OR6C65(ENSG000000205328)、
 OR4F3(ENSG000000230178)、OR7A10(ENSG00
 000127515)、OR5AC2(ENSG000000196578)、OR
 5H1(ENSG000000231192)、OR8H1(ENSG0000002
 62611)、OR52N2(ENSG000000180988)、OR52N5
 (ENSG000000181009)、OR52K2(ENSG000000181
 963)、OR5B17(ENSG000000197786)、OR5M3(E
 NSG000000174937)、OR13C5(ENSG000000277556
)、OR1F1(ENSG000000168124)、OR52W1(ENSG
 000000175485)、OR9K2(ENSG000000170605)、O
 R51M1(ENSG000000184698)、OR52E4(ENSG0000
 00180974)、OR52B6(ENSG000000187747)、OR5
 1B2(ENSG000000184881)、OR52E8(ENSG000000
 183269)、OR52E6(ENSG000000205409)、OR4F2
 1(ENSG000000176269)、OR52N1(ENSG00000018
 1001)、OR56B1(ENSG000000181023)、OR2F1(E
 NSG000000213215)、OR12D3(ENSG00000011246
 2)、OR6C76(ENSG000000185821)、OR10C1(EN
 SG000000206474)、OR12D2(ENSG000000168787)
 、OR10G2(ENSG000000255582)、OR11H12(ENS
 G000000257115)、OR5V1(ENSG000000243729)、
 OR11G2(ENSG000000196832)、OR11A1(ENSG00
 000204694)、OR1M1(ENSG000000170929)、OR5
 H14(ENSG000000236032)、OR5J2(ENSG0000001
 74957)、OR1Q1(ENSG000000165202)、OR1B1(E
 NSG000000171484)、OR7D4(ENSG000000174667
)、OR11H1(ENSG000000130538)、OR10V1(ENS
 G000000172289)、OR52N4(ENSG000000181074)、
 OR6C70(ENSG000000184954)、OR6C2(ENSG00
 000179695)、OR1E1(ENSG000000180016)、OR2
 AP1(ENSG000000179615)、OR6C68(ENSG000000
 205327)、OR6C4(ENSG000000179626)、OR2J1
 (ENSG000000226931)、OR51A7(ENSG0000001768
 95)、OR51A4(ENSG000000205497)、OR9G4(EN
 SG000000172457)、OR51F1(ENSG000000188069)
 、
 OR4B1(ENSG000000175619)、OR51G1(ENSG00
 000176879)、OR51G2(ENSG000000176893)、OR
 2H2(ENSG000000204657)、OR7A17(ENSG000000
 185385)、OR10A7(ENSG000000179919)、OR2H2
 (ENSG000000206512)、OR11H6(ENSG000000176
 219)、OR6J1(ENSG000000255804)、OR4C13(E
 NSG000000258817)、OR5AU1(ENSG000000169327
)、OR4C12(ENSG000000221954)、OR2J2(ENSG
 000000196231)、OR51F2(ENSG000000176925)、
 OR1L1(ENSG000000173679)、OR1L3(ENSG0000
 0171481)、OR51S1(ENSG000000176922)、OR51
 A2(ENSG000000205496)、OR52R1(ENSG0000001
 76937)、OR8S1(ENSG000000197376)、OR6Q1(E
 NSG000000172381)、OR9I1(ENSG000000172377

10

20

30

40

50

)、OR14J1 (ENSG000000237777)、OR51H1P (ENSG000000176904)、OR14J1 (ENSG000000234100)、OR4D10 (ENSG000000254466)、OR9Q1 (ENSG000000186509)、OR51T1 (ENSG000000176900)、OR9A4 (ENSG000000258083)、OR4M1 (ENSG000000176299)、OR4N2 (ENSG000000176294)、OR4Q3 (ENSG000000182652)、OR51E2 (ENSG000000167332)、OR4A16 (ENSG000000181961)、OR51I2 (ENSG000000187918)、OR4A15 (ENSG000000181958)、OR52H1 (ENSG000000181616)、OR51I1 (ENSG000000167359)、OR7E24 (ENSG000000237521)、OR51V1 (ENSG000000176742)、OR13C2 (ENSG000000276119)、OR10A2 (ENSG000000170790)、OR2J3 (ENSG000000229866)、OR6C74 (ENSG000000197706)、OR10A4 (ENSG000000170782)、OR9Q2 (ENSG000000186513)、OR13C9 (ENSG000000136839)、OR52K1 (ENSG000000196778)、OR4D11 (ENSG000000176200)、OR1S2 (ENSG000000197887)、OR4D1 (ENSG000000141194)、OR5B3 (ENSG000000172769)、OR5W2 (ENSG000000187612)、OR6B1 (ENSG000000221813)、OR5I1 (ENSG000000167825)、OR2D2 (ENSG000000166368)、OR1S1 (ENSG000000172774)、OR4D2 (ENSG000000255713)、OR4K15 (ENSG000000169488)、OR2K2 (ENSG000000171133)、OR2A5 (ENSG000000221836)、OR7G2 (ENSG000000170923)、OR6K2 (ENSG000000196171)、OR2S2 (ENSG000000122718)、OR4D9 (ENSG000000172742)、OR5D13 (ENSG000000198877)、OR5H15 (ENSG000000233412)、OR52B4 (ENSG000000221996)、OR7G1 (ENSG000000161807)、OR10C1 (ENSG000000229412)、OR1L4 (ENSG000000136939)、OR12D3 (ENSG000000242022)、OR10AG1 (ENSG000000174970)、OR2A25 (ENSG000000221933)、OR5B2 (ENSG000000172365)、OR2J1 (ENSG000000204702)、OR5K3 (ENSG000000206536)、OR6K3 (ENSG000000203757)、OR4K14 (ENSG000000169484)、OR5H6 (ENSG000000230301)、OR10T2 (ENSG000000186306)、OR10K2 (ENSG000000180708)、OR2AT4 (ENSG000000171561)、OR4X2 (ENSG000000172208)、OR5K4 (ENSG000000196098)、OR5H2 (ENSG000000197938)、OR5D14 (ENSG000000186113)、OR52M1 (ENSG000000197790)、OR12D2 (ENSG000000233481)、OR6K6 (ENSG000000180433)、OR10J1 (ENSG000000196184)、OR4K13 (ENSG000000176253)、OR13D1 (ENSG000000179055)、OR5D18 (ENSG000000186119)、OR4X1 (ENSG000000176567)、OR4S1 (ENSG000000176555)、OR4C3 (ENSG000000176547)、OR4C5 (ENSG000000176540)、OR6C6 (ENSG000000188324)、OR1J1 (ENSG000000136834)、OR4K2

(ENSG000000165762)、OR1A2 (ENSG000000172150)、OR4F29 (ENSG000000278566)、OR2B2 (ENSG000000168131)、OR6C1 (ENSG000000205330)、OR2A12 (ENSG000000221858)、OR2A4 (ENSG000000180658)、OR6C3 (ENSG000000205329)、OR5F1 (ENSG000000149133)、OR1L6 (ENSG000000171459)、OR5AS1 (ENSG000000181785)、OR5L2 (ENSG000000205030)、OR5D16 (ENSG000000205029)、OR5C1 (ENSG000000148215)、OR56A3 (ENSG000000184478)、OR1A1 (ENSG000000172146)、OR13H1 (ENSG000000171054)、OR2J2 (ENSG000000231676)、OR52L1 (ENSG000000183313)、OR4F17 (ENSG000000176695)、OR2A2 (ENSG000000221989)、OR5B12 (ENSG000000172362)、OR6S1 (ENSG000000181803)、OR56A4 (ENSG000000183389)、OR5T2 (ENSG000000181718)、OR5T3 (ENSG000000172489)、OR5M11 (ENSG000000255223)、OR10AD1 (ENSG000000172640)、OR4F16 (ENSG000000273547)、OR6F1 (ENSG000000169214)、OR10D3 (ENSG000000197309)、OR5T1 (ENSG000000181698)、OR5M10 (ENSG000000254834)、OR1C1 (ENSG000000221888)、OR14A16 (ENSG000000196772)、OR11L1 (ENSG000000197591)、OR8H1 (ENSG000000181693)、OR2C1 (ENSG000000168158)、OR8I2 (ENSG000000172154)、OR2W3 (ENSG000000238243)、OR2T8 (ENSG000000177462)、OR2AJ1 (ENSG000000177275)、OR4F15 (ENSG000000182854)、OR4F6 (ENSG000000184140)、OR8D1 (ENSG000000196341)、OR8D2 (ENSG000000197263)、OR2L3 (ENSG000000198128)、OR10P1 (ENSG000000175398)、OR2L13 (ENSG000000196071)、OR2L5 (ENSG000000197454)、OR2AK2 (ENSG000000187080)、OR2L8 (ENSG000000196936)、OR1J2 (ENSG000000197233)、OR2L2 (ENSG000000203663)、OR2M5 (ENSG000000162727)、OR2M2 (ENSG000000198601)、OR2M3 (ENSG000000228198)、OR2M4 (ENSG000000171180)、OR2T33 (ENSG000000177212)、OR10G3 (ENSG000000169208)、OR5M1 (ENSG000000255012)、OR2A14 (ENSG000000221938)、OR5B21 (ENSG000000198283)、OR2T12 (ENSG000000177201)、OR4F5 (ENSG000000186092)、OR2M7 (ENSG000000177186)、OR14C36 (ENSG000000177174)、OR6N2 (ENSG000000188340)、OR5K1 (ENSG000000232382)、OR2T4 (ENSG000000196944)、OR2T6 (ENSG000000198104)、OR2T1 (ENSG000000175143)、OR2T7 (ENSG000000227152)、OR2T2 (ENSG000000196240)、OR2B6 (ENSG000000124657)、OR7C1 (ENSG000000127530)、OR2T3 (ENSG000000196539)、OR2T5 (ENSG000000203661)、OR2G6 (ENSG000000188558)、

OR2T29 (ENSG00000182783)、OR2T34 (ENSG00000183310)、OR2T10 (ENSG00000184022)、OR2T35 (ENSG00000177151)、OR2T27 (ENSG00000187701)、OR14I1 (ENSG00000189181)、OR4C15 (ENSG00000181939)、OR4C16 (ENSG00000181935)。

【0039】

上記ORの配列は、uniprot.orgまたはensembl.org (GRCh38 (GCA__000001405.15) アセンブリ) ウェブサイトから検索され得る。

10

【0040】

特定の実施形態において、前記嗅覚受容体は、ヒトにおい受容体、特に以下のものからなる群より選択されるヒトにおい受容体である：

OR10A2、OR13C8、OR2AG2、OR2T8、OR4M2、OR52L1、OR5M3、OR7G2、OR10A3、OR13C9、OR2AJ1、OR2V1、OR4N2、OR52M1、OR5M8、OR7G3、OR10A4、OR13D1、OR2AK2、OR2V2、OR4N4、OR52N1、OR5M9、OR8A1、OR10A5、OR13F1、OR2AP1、OR2W1、OR4N5、OR52N2、OR5P2、OR8B12、OR10A6、OR13G1、OR2AT4、OR2W3、OR4P4、OR52N4、OR5P3、OR8B2、OR10A7、OR13H1、OR2B11、OR2Y1、OR4Q3、OR52N5、OR5R1、OR8B3、OR10AD1、OR13J1、OR2B2、OR2Z1、OR4S1、OR52R1、OR5T1、OR8B4、OR10AG1、OR14A16、OR2B3、OR3A1、OR4S2、OR52W1、OR5T2、OR8B8、OR10C1、OR14A2、OR2B6、OR3A2、OR4X1、OR56A1、OR5T3、OR8D1、OR10D3、OR14C36、OR2C1、OR3A3、OR4X2、OR56A3、OR5V1、OR8D2、OR10G2、OR14I1、OR2C3、OR4A15、OR51A2、OR56A4、OR5W2、OR8D4、OR10G3、OR14J1、OR2D2、OR4A16、OR51A4、OR56B1、OR6A2、OR8G1、OR10G4、OR14K1、OR2D3、OR4A47、OR51A7、OR56B3P、OR6B1、OR8G5、OR10G6、OR1A1、OR2F1、OR4A5、OR51B2、OR56B4、OR6B2、OR8H1、OR10G7、OR1A2、OR2F2、OR4B1、OR51B4、OR5A1、OR6B3、OR8H2、OR10G8、OR1B1、OR2G2、OR4C11、OR51B5、OR5A2、OR6C1、OR8H3、OR10G9、OR1C1、OR2G3、OR4C12、OR51B6、OR5AC2、OR6C2、OR8I2、OR10H1、OR1D2、OR2G6、OR4C13、OR51D1、OR5AK2、OR6C3、OR8J1、OR10H2、OR1D5、OR2H1、OR4C15、OR51E1、OR5AN1、OR6C4、OR8J3、OR10H3、OR1E1、OR2H2、OR4C16、OR51E2、OR5AP2、OR6C6、OR8K1、OR10H4、OR1E2、OR2J1、OR4C3、OR51F1、OR5AR1、OR6C65、OR8K3、OR10H5、OR1F1、OR2J2、OR4C46、OR51F2、OR5AS1、OR6C68、OR8K5、OR10J1、OR1G1、OR2J3、OR4C5、OR51G1、OR5AU1、OR6C70、OR8S1、OR10J3、OR1I1、OR2K2、OR4C6、OR51G2、OR5B12、OR6C74、OR8U1、OR10J5、OR1J1、OR2L13、OR4D1、OR51

20

30

40

50

H1P、OR5B17、OR6C75、OR8U9、OR10K1、OR1J
 2、OR2L2、OR4D10、OR51I1、OR5B2、OR6C76、
 OR9A2、OR10K2、OR1J4、OR2L3、OR4D11、OR
 51I2、OR5B21、OR6F1、OR9A4、OR10P1、OR1K
 1、OR2L5、OR4D2、OR51L1、OR5B3、OR6J1、O
 R9G1、OR10Q1、OR1L1、OR2L8、OR4D5、OR51M
 1、OR5C1、OR6K2、OR9G4、OR10R2、OR1L3、O
 R2M2、OR4D6、OR51Q1、OR5D13、OR6K3、OR9G
 9、OR10S1、OR1L4、OR2M3、OR4D9、OR51S1、
 OR5D14、OR6K6、OR9I1、OR10T2、OR1L6、OR2
 M4、OR4E2、OR51T1、OR5D16、OR6M1、OR9K2、
 OR10V1、OR1L8、OR2M5、OR4F15、OR51V1、OR
 5D18、OR6N1、OR9Q1、OR10W1、OR1M1、OR2M7
 、OR4F16、OR52A1、OR5F1、OR6N2、OR9Q2、O
 R10X1、OR1N1、OR2S2、OR4F17、OR52A5、OR5
 H1、OR6P1、OR10Z1、OR1N2、OR2T1、OR4F21、
 OR52B1P、OR5H14、OR6Q1、OR11A1、OR1Q1、
 OR2T10、OR4F29、OR52B2、OR5H15、OR6S1、O
 R11G2、OR1S1、OR2T11、OR4F3、OR52B
 4、OR5H2、OR6T1、OR11H1、OR1S2、OR2T12、
 OR4F4、OR52B6、OR5H6、OR6V1、OR11H12、OR
 2A1、OR2T2、OR4F5、OR52D1、OR5I1、OR6X1、
 OR11H4、OR2A12、OR2T27、OR4F6、OR52E2、
 OR5J2、OR6Y1、OR11H6、OR2A14、OR2T29、OR
 4K1、OR52E4、OR5K1、OR7A10、OR11L1、OR2A
 2、OR2T3、OR4K13、OR52E6、OR5K2、OR7A17、
 OR12D2、OR2A25、OR2T33、OR4K14、OR52E8、
 OR5K3、OR7A5、OR12D3、OR2A4、OR2T34、OR
 4K15、OR52H1、OR5K4、OR7C1、OR13A1、OR2A
 42、OR2T35、OR4K17、OR52I1、OR5L1、OR7C2
 、OR13C2、OR2A5、OR2T4、OR4K2、OR52I2、O
 R5L2、OR7D2、OR13C3、OR2A7、OR2T5、OR4K5
 、OR52J3、OR5M1、OR7D4、OR13C4、OR2AE1、
 OR2T6、OR4L1、OR52K1、OR5M10、OR7E24、OR
 13C5、OR2AG1、OR2T7、OR4M1、OR52K2、OR5M
 11、OR7G1。

【0041】

別の特定の実施形態において、前記嗅覚受容体は、ヒトにおい受容体の変異体、特に上
 記ヒトにおい受容体のいずれか1つの変異体、より具体的にはヒトにおい受容体のアミノ
 酸配列と、特に上記ヒトにおい受容体のいずれか1つと少なくとも80%同一性、例えば
 少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくと
 も97%、少なくとも98%または少なくとも99%同一性を有するアミノ酸配列を有す
 る変異体である。

【0042】

一つの実施形態において、GPCRは、非OR GPCRである。

【0043】

特定の実施形態において、前記化学受容体は、ヒト非OR化学受容体、特に味覚受容体
 、Trpチャネル、V1rまたはV2rからなる群より選択されるヒト非OR化学受容体
 である。

【0044】

別の実施形態において、前記化学受容体は、無脊椎動物非GPCR、特にイオンチャネル型7TM OR、7TM GRおよびイオンチャネル型IRからなる群より選択される昆虫化学感覚器である。

【0045】

本発明の方法の特定の実施形態において、前記生物学的サンプルおよび前記化学受容体をコードする遺伝子は、同じ種に由来し、例えば、マウス由来の生物学的サンプルは、マウス化学受容体をコードする遺伝子を発現する細胞を含む。

【0046】

別の特定の実施形態において、所定のリガンドに対する受容体としてのマウス化学受容体の同定は、別の種、特にヒト（マウス受容体とヒト受容体との間の配列相同性が高いため）の1つまたは複数の受容体の同定に拡張され得る。表1は、アミノ酸配列において少なくとも90%の同一性を示すヒトにおい受容体およびマウスにおい受容体の例を提供する。

【表1】

マウス	ヒト	同一性 (%)
Olf727 (ENSMUSG00000059488)	OR4K15 (ENSG00000169488)	93.83
Olf558 (ENSMUSG00000070423)	OR51E1 (ENSG00000180785)	93.67
Olf713 (ENSMUSG00000073898)	OR10A5 (ENSG00000166363)	93.38
Olf78 (ENSMUSG00000043366)	OR51E2 (ENSG00000167332)	93.10
Olf1019 (ENSMUSG00000075208)	OR5AR1 (ENSG00000172459)	93.06
Olf577 (ENSMUSG00000043354)	OR51G2 (ENSG00000176893)	93.01
Olf449 (ENSMUSG00000049168)	OR6B1 (ENSG00000221813)	92.60
Olf1032 (ENSMUSG00000042796)	OR5M3 (ENSG00000174937)	92.48
Olf713 (ENSMUSG00000073898)	OR10A2 (ENSG00000170790)	92.38
Olf734 (ENSMUSG00000045306)	OR4M1 (ENSG00000176299)	91.37
Olf984 (ENSMUSG00000045812)	OR4D5 (ENSG00000171014)	90.45
Olf152 (ENSMUSG00000068816)	OR5I1 (ENSG00000167825)	90.42
Olf1510 (ENSMUSG00000063106)	OR10G2 (ENSG00000255582)	90.32
Olf981 (ENSMUSG00000046678)	OR10G6 (ENSG00000198674)	90.28
Olf554 (ENSMUSG00000073971)	OR52M1 (ENSG00000197790)	90.22
Olf1420 (ENSMUSG00000060878)	OR10V1 (ENSG00000172289)	90.18
Olf2 (ENSMUSG00000070417)	OR6A2 (ENSG00000184933)	90.18
Olf1191-ps1 (ENSMUSG00000081948)	OR4S2 (ENSG00000174982)	90.03
Olf1034 (ENSMUSG00000102091)	OR5M9 (ENSG00000150269)	90.00

【0047】

別の実施形態において、前記生物学的サンプルおよび前記化学受容体をコードする遺伝子は、異なる種に由来し、例えば、齧歯類由来の生物学的サンプルは、ヒト化学受容体をコードする遺伝子を発現する細胞を含む。

【0048】

一つの実施形態において、生物学的サンプルは、上記少なくとも1つの化学受容体を発現する細胞を含む組織を含む。

【0049】

本発明に好適な組織は、典型的には、感覚ニューロン、例えば嗅覚ニューロン、味覚細胞、または三叉神経系由来のニューロンを含む。

【0050】

あるいは、本発明に好適な組織は、昆虫の触覚または口肢に由来する感覚子由来の感覚細胞を含み得る。

【0051】

本発明に好適な組織は、主嗅上皮、鋤鼻器官、中隔器官、グルーエネベルク神経節、三叉神経組織、例えば口腔由来の感覚組織からなる群より選択され得る。

【0052】

特定の実施形態において、前記組織は、主嗅上皮である。

【0053】

別の特定の実施形態において、前記組織は、舌由来の味覚上皮である。

【0054】

別の特定の実施形態において、前記組織は、昆虫の触覚または口肢に由来する感覚子である。

【0055】

前記組織は、当技術分野において公知の方法にしたがって、動物（本明細書に記載のヒト、非ヒト動物またはトランスジェニック非ヒト動物を含む）の生検から得られ得る。

10

【0056】

別の実施形態において、本発明において使用される生物学的サンプルは、上記少なくとも1つの化学受容体を発現する単離された細胞を含む。

【0057】

本発明に好適な細胞は、典型的には、上記組織の1つから単離される。

【0058】

本発明に好適な細胞はまた、Odoraのような嗅覚ニューロン細胞株などの細胞株由来の細胞であり得る（Murrell and Hunter, 1999, J. Neurosci., 19(19): 8260-70）。

【0059】

20

特定の実施形態において、本発明に好適な細胞は、感覚ニューロン、特に動物の主嗅上皮、鋤鼻器官、中隔器官および/またはグルーエネベルク神経節を含む嗅覚系から単離された嗅覚ニューロン、または動物の味覚上皮から単離された味覚細胞である。

【0060】

別の実施形態において、前記嗅覚ニューロンは、主嗅上皮から単離される。

【0061】

さらなる実施形態において、前記嗅覚ニューロンは、鋤鼻器官の上皮から単離される。

【0062】

さらなる実施形態において、前記嗅覚ニューロンはグルーエネベルク神経節から単離される。

30

【0063】

別の実施形態において、前記味覚細胞は、動物の舌の味覚上皮から単離される。

【0064】

代替的な特定の実施形態において、本発明に好適な細胞は、昆虫の触覚または口肢に由来する感覚子から単離された感覚細胞である。

【0065】

またさらなる実施形態において、前記感覚ニューロンは、本明細書に記載のトランスジェニック非ヒト動物由来の組織から単離される。

【0066】

特定の実施形態において、本発明に好適な各細胞は、本明細書に記載の1個の化学受容体遺伝子を発現する。

40

【0067】

前記嗅覚ニューロンを抽出する方法は当技術分野において公知であり、（Bozza et al., 2002, J. Neuro., 22(8): 3033-3043; Riviere et al., Nature 2009 May 28; 459(7246): 574-7）に記載の方法が挙げられる。

【0068】

前記味覚細胞またはニューロンを抽出する方法は当技術分野において公知であり、Huang et al., 2005, J. Neuro., 25(4) 843-847に記載の方法が挙げられる。

50

【0069】

本発明に好適な組織または細胞は、脊椎動物または無脊椎動物であり得る動物から得ることができる。

【0070】

一つの実施形態において、動物は、哺乳動物などの脊椎動物である。

【0071】

特定の実施形態において、動物は、ヒト、齧歯類、ブタまたはウシなどの哺乳動物である。

【0072】

特定の実施形態において、前記動物は、非ヒト動物である。

10

【0073】

さらなる特定の実施形態において、前記動物は、マウス、ラットおよびウサギを含む齧歯類である。

【0074】

別の実施形態において、動物は、ダニ、ハエまたは蚊などの無脊椎動物である。

【0075】

さらに他の特定の実施形態において、前記非ヒト動物は、本明細書に記載のトランスジェニック動物である。

【0076】

特定の実施形態において、前記非ヒト動物は、少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも5個または少なくとも10個のにおい受容体(OR)遺伝子を発現するトランスジェニック動物である。

20

【0077】

より具体的には、前記非ヒト動物は、少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも5個または少なくとも10個の異種OR遺伝子、例えばヒトOR遺伝子を発現するトランスジェニック動物である。

【0078】

さらなる特定の実施形態において、前記非ヒト動物は、非OR化学受容体をコードする少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも5個または少なくとも10個の遺伝子を発現するトランスジェニック動物である。

30

【0079】

より具体的には、前記非ヒト動物は、少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも5個または少なくとも10個の異種非OR化学受容体遺伝子、例えばヒト非OR化学受容体遺伝子を発現するトランスジェニック動物である。

【0080】

本発明によれば、生物学的サンプルまたは動物が曝露された試験化合物は、ペプチド、ポリペプチド、脂質、炭水化物、有機低分子または非有機低分子、例えば限定されないが、におい物質、芳香性化合物、嗜好性化合物または非嗜好性化合物、フェロモン、合成源または天然源由来の、例えば化学ライブラリーまたはペプチドライブラリー由来の分子を含む様々な性質のものであり得る。

40

【0081】

感覚ニューロンが少なくとも1つの嗅覚受容体を発現する特定の実施形態において、試験化合物は、エステル、直鎖状テルペン、環式テルペン、芳香族アミン、アルコール、アルデヒド、ケトン、ラクトン、チオール、硫酸化合物アルカン、ガスからなる群より選択される。

【0082】

感覚ニューロンが少なくとも1つの味覚受容体を発現する特定の実施形態において、試験化合物は、糖、酸または脂肪族化合物からなる群より選択される。

【0083】

別の実施形態において、一つまたはそれ以上の試験化合物は、いくつかの試験化合物の

50

混合物として試験され得る。

【0084】

特定の実施形態において、本発明は、以下の試験化合物の混合物を使用する：

- 口臭のにおいを模倣するために：硫化水素、メタンチオール（メチルメルカプタン）、ジメチルスルフィドを含む揮発性硫黄化合物
- 「コーヒー息」のにおいを模倣するために：3-メルカプト-メチルブチルホルメート
- ニンニク息のにおいを模倣するために：アリルメチルスルフィド
- 鼓腸によって引き起こされるにおいを模倣するために：硫化水素、メタンチオール、硫化ジメチルのような硫黄含有化合物
- 腋窩臭を模倣するために：3-メチル-2-ヘキセン酸、3-ヒドロキシ-3-メチルヘキセン酸、3-メチル-3-スルファニルヘキサン-1-オール
- 足のにおいを模倣するために：メタンチオール、プロパン酸、イソ吉草酸。

10

【0085】

本発明の方法に先立って、生物学的サンプルに含まれる細胞を少なくとも1つの試験化合物に曝露する。

【0086】

前記曝露は、エキスピボにおいて（すなわち、少なくとも1つの化学受容体を発現する細胞または組織が前記試験化合物に曝露される）またはインピボにおいて（すなわち、少なくとも1つの化学受容体を発現する細胞または組織が前記試験化合物に曝露された動物に由来する）行われ得る。

20

【0087】

一般に、本発明の方法に先立って、生物学的サンプルまたは動物を試験化合物に曝露し、これを数時間程度（例えば、約5時間）継続する。

【0088】

本発明の方法の一つの実施形態において、化学受容体をコードする少なくとも1個の遺伝子の転写のレベルが決定される。特に、化学受容体をコードする少なくとも5個、少なくとも10個、少なくとも50個または少なくとも100個の遺伝子の転写のレベルが決定される。

【0089】

本発明の方法の別の実施形態において、化学受容体をコードする約10～2000個の遺伝子、例えば約20～約300個、約20～約200個の遺伝子の転写のレベルが決定される。

30

【0090】

遺伝子の転写のレベルは、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）、mRNAシーケンシングに基づく方法を含む、前記遺伝子の転写産物の定量に関する分野における標準的な方法にしたがって決定され得る。ORの転写のレベルを決定するための方法の例としては、実施例のセクションにおいて示されているように、定量的RT-PCR（本明細書において「RT-qPCR」と略される）およびハイスループットmRNAシーケンシングが挙げられる。

40

【0091】

第二の態様において、本発明は、その化学受容体に対するリガンドの作用をモジュレートすることができる薬剤を同定する方法であって、

（a）少なくとも1つの化学受容体を発現する細胞を含む同じ生物学的サンプル由来の3つのサブサンプルを用意する工程であって、前記サブサンプルが以下のように処理されている工程と、

（i）第一のサブサンプルは、前記化学受容体のリガンドに曝露されており、

（ii）第二のサブサンプルは、（i）と同じ前記化学受容体のリガンドおよび試験薬剤に曝露されており、

（iii）第三のサブサンプルは、前記化学受容体のリガンドおよび試験薬剤のいず

50

れにも曝露されておらず、陰性対照を構成する、

(b) 前記3つの各サブサンプルにおいて、前記化学受容体をコードする遺伝子の転写のレベルに比例するシグナルを測定する工程と、

(c) 前記3つの各サブサンプルについて決定したシグナルのレベルを比較する工程であって、

(i) 前記第二のサブサンプルにおいて決定したシグナルのレベルが、前記第一のサブサンプルにおいて決定したシグナルのレベルよりも低いこと、および前記第一のサブサンプルにおいて決定したシグナルのレベルが、前記第三のサブサンプルにおいて決定したシグナルのレベルよりも低いことが、前記薬剤が、前記化学受容体に対する前記リガンドの結合を増強し、前記化学受容体のアゴニストであることを示し、

(ii) 前記第二のサブサンプルにおいて決定したシグナルのレベルが、前記第三のサブサンプルにおいて決定したシグナルのレベルと同等または同程度であること、ならびに前記第二のサブサンプルおよび/または前記第三のサブサンプルにおいて決定したシグナルのレベルが、前記第一のサブサンプルにおいて決定したシグナルのレベルよりも高いことが、前記薬剤が、前記化学受容体に対する前記リガンドの結合を阻害し、前記化学受容体のアンタゴニストであることを示し、

(iii) 前記第一のサブサンプルにおいて決定したシグナルのレベルが、前記第二のサブサンプルにおいて決定したシグナルのレベルと同等または同程度であること、ならびに前記第一のサブサンプルおよび/または前記第二のサブサンプルにおいて決定したシグナルのレベルが、前記第三のサブサンプルにおいて決定したシグナルのレベルよりも低いことが、前記薬剤が、前記化学受容体に対する前記リガンドの結合をモジュレートしないことを示すものとする特徴とする工程とを少なくとも含んでなる方法を提供する。

【0092】

特定の実施形態において、その化学受容体に対するリガンドの結合をモジュレートすることができる薬剤を同定する前記方法は、前記生物学的サンプルを、前記化学受容体のリガンド単独に、および、試験薬剤と組み合わせて前記化学受容体のリガンドに曝露する工程をさらに含む。

【0093】

より具体的な実施形態において、その化学受容体に対するリガンドの結合をモジュレートすることができる薬剤を同定する方法であって、

(a) 少なくとも1つの化学受容体を発現する細胞を含む生物学的サンプルを用意する工程と、

(b) 前記生物学的サンプルを3つのグループに分ける工程と、

(c) (i) 前記生物学的サンプルの第一のグループを、前記化学受容体のリガンドに曝露する工程と、

(ii) 前記第一のグループにおいて、前記化学受容体をコードする遺伝子の転写のレベルに比例するシグナルを測定する工程と、

(d) (i) 前記生物学的サンプルの第二のグループを、(c)と同じ前記化学受容体のリガンドおよび試験薬剤に曝露する工程と、

(ii) 前記第二のグループにおいて、前記化学受容体をコードする遺伝子の転写のレベルに比例するシグナルを測定する工程と、

(e) (i) 前記化学受容体のリガンドおよび試験薬剤のいずれにも曝露せずに、前記生物学的サンプルの第三のグループを陰性対照として保持する工程、

(ii) 前記第三のグループにおいて、前記化学受容体をコードする遺伝子の転写のレベルに比例するシグナルを測定する工程と、

(f) 工程(c)、(d)および(e)において決定したシグナルのレベルを比較する工程であって、

(i) 工程(d)において決定したシグナルのレベルが、工程(c)において決定したシグナルのレベルよりも低いこと、および工程(c)において決定したシグナルのレベル

10

20

30

40

50

が、工程（e）において決定したシグナルのレベルよりも低いことが、前記薬剤が、前記化学受容体に対する前記リガンドの結合を増強し、前記化学受容体のアゴニストであることを示し、

（ii）工程（d）において決定したシグナルのレベルが、工程（e）において決定したシグナルのレベルと同等または同程度であること、ならびに工程（d）および／または（e）において決定したシグナルのレベルが、工程（c）において決定したシグナルのレベルよりも高いことが、前記薬剤が、前記化学受容体に対する前記リガンドの結合を阻害し、前記化学受容体のアンタゴニストであることを示し、

（iii）工程（c）において決定したシグナルのレベルが、工程（d）において決定したシグナルのレベルと同等または同程度であること、ならびに工程（c）および／または（d）において決定したシグナルのレベルが、工程（e）において決定したシグナルのレベルよりも低いことが、前記薬剤が、前記化学受容体に対する前記リガンドの結合をモジュレートしないことを示すものとすることを特徴とする工程とを少なくとも含んでなる方法が提供される。

【0094】

本発明の第一の態様について上記に詳述されている化学受容体、生物学的サンプル、組織、細胞、化学受容体をコードする遺伝子の転写のレベルの決定に関する特定の実施形態は、この第二の態様の本発明の方法についても同様に適用される。

【0095】

その化学受容体に対するリガンドの結合をモジュレートすることができる薬剤を同定する本発明の方法の特定の実施形態において、前記生物学的サンプルは、感覚ニューロンを含み、または、感覚ニューロン、特に嗅覚ニューロンを含む組織を含み、または、嗅神経細胞を含む組織を含む。

【0096】

前記方法の別の特定の実施形態において、前記化学受容体は、嗅覚受容体、より具体的にはヒト嗅覚受容体である。

【0097】

前記方法のさらなる特定の実施形態において、前記生物学的サンプルは、嗅覚ニューロンを含み、または、嗅覚ニューロンを含む組織を含み、前記ニューロンは、少なくとも1個、少なくとも5個または少なくとも10個のヒト嗅覚受容体遺伝子を発現する。

【0098】

特定の実施形態において、試験薬剤および／またはリガンドへの曝露の持続時間は、数時間程度、例えば約5時間である。

【0099】

本発明の方法において試験すべき薬剤は、ペプチド、ポリペプチド、抗体またはその抗原結合断片、脂質、炭水化物、核酸、有機低分子または非有機低分子、例えば限定されないが、におい物質、芳香性化合物およびフェロモン、合成源または天然源由来の、例えば化学ライブラリーまたはペプチドライブラリー由来の分子を含む様々な性質のものであり得る。

【0100】

トランスジェニック動物およびその使用

本発明はまた、少なくとも1個の外因性化学受容体遺伝子、例えばヒト化学受容体遺伝子、例えばヒトにおい受容体遺伝子もしくはヒト非におい受容体遺伝子、または前記非ヒト動物において通常発現されない化学受容体遺伝子を発現するトランスジェニック非ヒト動物を提供する。

【0101】

当業者であれば理解するように、トランスジェニック動物が少なくとも1個の外因性化学受容体遺伝子を発現するとの記載は、前記動物のゲノム、または前記動物の少なくともいくつかの細胞が、前記少なくとも1個の外因性化学受容体遺伝子またはそのコード配列を含むことを意味する。

10

20

30

40

50

【 0 1 0 2 】

特定の態様において、本発明のトランスジェニック非ヒト動物は、脊椎動物または無脊椎動物である。

【 0 1 0 3 】

より具体的な態様において、本発明のトランスジェニック非ヒト動物は、哺乳動物を含む脊椎動物である。

【 0 1 0 4 】

より具体的な態様において、本発明のトランスジェニック非ヒト動物は、齧歯類、ブタまたはウシなどの哺乳動物である。

【 0 1 0 5 】

より具体的な態様において、本発明のトランスジェニック非ヒト動物は、マウスまたはラットなどの齧歯類である。

【 0 1 0 6 】

より具体的な実施形態において、本発明のトランスジェニック非ヒト動物は、マウスである。

【 0 1 0 7 】

別の特定の態様において、本発明のトランスジェニック非ヒト動物は、無脊椎動物、特にハエおよび蚊を含む昆虫である。

【 0 1 0 8 】

特定の実施形態において、本発明のトランスジェニック非ヒト動物は、少なくとも 1 個、特に少なくとも 2 個、少なくとも 5 個、少なくとも 10 個、少なくとも 50 個、少なくとも 100 個、例えば 10 ~ 2000 個、より具体的には約 20 ~ 約 300 個または約 20 ~ 約 200 個の外因性化学受容体遺伝子を発現する。

【 0 1 0 9 】

より具体的な実施形態において、本発明のトランスジェニック非ヒト動物は、少なくとも 5 個または少なくとも 10 個の外因性化学受容体遺伝子を発現する。

【 0 1 1 0 】

特定の実施形態において、本発明のトランスジェニック非ヒト動物は、下記からなる群：

OR 1 0 A 2、 OR 1 3 C 8、 OR 2 A G 2、 OR 2 T 8、 OR 4 M 2、 OR 5 2 L 1、 OR 5 M 3、 OR 7 G 2、 OR 1 0 A 3、 OR 1 3 C 9、 OR 2 A J 1、 OR 2 V 1、 OR 4 N 2、 OR 5 2 M 1、 OR 5 M 8、 OR 7 G 3、 OR 1 0 A 4、 OR 1 3 D 1、 OR 2 A K 2、 OR 2 V 2、 OR 4 N 4、 OR 5 2 N 1、 OR 5 M 9、 OR 8 A 1、 OR 1 0 A 5、 OR 1 3 F 1、 OR 2 A P 1、 OR 2 W 1、 OR 4 N 5、 OR 5 2 N 2、 OR 5 P 2、 OR 8 B 1 2、 OR 1 0 A 6、 OR 1 3 G 1、 OR 2 A T 4、 OR 2 W 3、 OR 4 P 4、 OR 5 2 N 4、 OR 5 P 3、 OR 8 B 2、 OR 1 0 A 7、 OR 1 3 H 1、 OR 2 B 1 1、 OR 2 Y 1、 OR 4 Q 3、 OR 5 2 N 5、 OR 5 R 1、 OR 8 B 3、 OR 1 0 A D 1、 OR 1 3 J 1、 OR 2 B 2、 OR 2 Z 1、 OR 4 S 1、 OR 5 2 R 1、 OR 5 T 1、 OR 8 B 4、 OR 1 0 A G 1、 OR 1 4 A 1 6、 OR 2 B 3、 OR 3 A 1、 OR 4 S 2、 OR 5 2 W 1、 OR 5 T 2、 OR 8 B 8、 OR 1 0 C 1、 OR 1 4 A 2、 OR 2 B 6、 OR 3 A 2、 OR 4 X 1、 OR 5 6 A 1、 OR 5 T 3、 OR 8 D 1、 OR 1 0 D 3、 OR 1 4 C 3 6、 OR 2 C 1、 OR 3 A 3、 OR 4 X 2、 OR 5 6 A 3、 OR 5 V 1、 OR 8 D 2、 OR 1 0 G 2、 OR 1 4 I 1、 OR 2 C 3、 OR 4 A 1 5、 OR 5 1 A 2、 OR 5 6 A 4、 OR 5 W 2、 OR 8 D 4、 OR 1 0 G 3、 OR 1 4 J 1、 OR 2 D 2、 OR 4 A 1 6、 OR 5 1 A 4、 OR 5 6 B 1、 OR 6 A 2、 OR 8 G 1、 OR 1 0 G 4、 OR 1 4 K 1、 OR 2 D 3、 OR 4 A 4 7、 OR 5 1 A 7、 OR 5 6 B 3 P、 OR 6 B 1、 OR 8 G 5、 OR 1 0 G 6、 OR 1 A 1、 OR 2 F 1、 OR 4 A 5、 OR 5 1 B 2、 OR 5 6 B 4、 OR 6 B 2、 OR 8

10

20

30

40

50

H 1、 O R 1 0 G 7、 O R 1 A 2、 O R 2 F 2、 O R 4 B 1、 O R 5 1 B 4、
 O R 5 A 1、 O R 6 B 3、 O R 8 H 2、 O R 1 0 G 8、 O R 1 B 1、 O R 2
 G 2、 O R 4 C 1 1、 O R 5 1 B 5、 O R 5 A 2、 O R 6 C 1、 O R 8 H 3、
 O R 1 0 G 9、 O R 1 C 1、 O R 2 G 3、 O R 4 C 1 2、 O R 5 1 B 6、 O
 R 5 A C 2、 O R 6 C 2、 O R 8 I 2、 O R 1 0 H 1、 O R 1 D 2、 O R 2 G
 6、 O R 4 C 1 3、 O R 5 1 D 1、 O R 5 A K 2、 O R 6 C 3、 O R 8 J 1、
 O R 1 0 H 2、 O R 1 D 5、 O R 2 H 1、 O R 4 C 1 5、 O R 5 1 E 1、 O
 R 5 A N 1、 O R 6 C 4、 O R 8 J 3、 O R 1 0 H 3、 O R 1 E 1、 O R 2 H
 2、 O R 4 C 1 6、 O R 5 1 E 2、 O R 5 A P 2、 O R 6 C 6、 O R 8 K 1、
 O R 1 0 H 4、 O R 1 E 2、 O R 2 J 1、 O R 4 C 3、 O R 5 1 F 1、 O R 10
 5 A R 1、 O R 6 C 6 5、 O R 8 K 3、 O R 1 0 H 5、 O R 1 F 1、 O R 2 J
 2、 O R 4 C 4 6、 O R 5 1 F 2、 O R 5 A S 1、 O R 6 C 6 8、 O R 8 K 5
 、 O R 1 0 J 1、 O R 1 G 1、 O R 2 J 3、 O R 4 C 5、 O R 5 1 G 1、 O
 R 5 A U 1、 O R 6 C 7 0、 O R 8 S 1、 O R 1 0 J 3、 O R 1 I 1、 O R 2
 K 2、 O R 4 C 6、 O R 5 1 G 2、 O R 5 B 1 2、 O R 6 C 7 4、 O R 8 U 1
 、 O R 1 0 J 5、 O R 1 J 1、 O R 2 L 1 3、 O R 4 D 1、 O R 5 1 H 1 P、
 O R 5 B 1 7、 O R 6 C 7 5、 O R 8 U 9、 O R 1 0 K 1、 O R 1 J 2、 O
 R 2 L 2、 O R 4 D 1 0、 O R 5 1 I 1、 O R 5 B 2、 O R 6 C 7 6、 O R 9
 A 2、 O R 1 0 K 2、 O R 1 J 4、 O R 2 L 3、 O R 4 D 1 1、 O R 5 1 I 2
 、 O R 5 B 2 1、 O R 6 F 1、 O R 9 A 4、 O R 1 0 P 1、 O R 1 K 1、 O 20
 R 2 L 5、 O R 4 D 2、 O R 5 1 L 1、 O R 5 B 3、 O R 6 J 1、 O R 9 G 1
 、 O R 1 0 Q 1、 O R 1 L 1、 O R 2 L 8、 O R 4 D 5、 O R 5 1 M 1、 O
 R 5 C 1、 O R 6 K 2、 O R 9 G 4、 O R 1 0 R 2、 O R 1 L 3、 O R 2 M 2
 、 O R 4 D 6、 O R 5 1 Q 1、 O R 5 D 1 3、 O R 6 K 3、 O R 9 G 9、 O
 R 1 0 S 1、 O R 1 L 4、 O R 2 M 3、 O R 4 D 9、 O R 5 1 S 1、 O R 5 D
 1 4、 O R 6 K 6、 O R 9 I 1、 O R 1 0 T 2、 O R 1 L 6、 O R 2 M 4、
 O R 4 E 2、 O R 5 1 T 1、 O R 5 D 1 6、 O R 6 M 1、 O R 9 K 2
 、 O R 1 0 V 1、 O R 1 L 8、 O R 2 M 5、 O R 4 F 1 5、 O R 5 1 V 1、
 O R 5 D 1 8、 O R 6 N 1、 O R 9 Q 1、 O R 1 0 W 1、 O R 1 M 1、 O R 2
 M 7、 O R 4 F 1 6、 O R 5 2 A 1、 O R 5 F 1、 O R 6 N 2、 O R 9 Q 2、 30
 O R 1 0 X 1、 O R 1 N 1、 O R 2 S 2、 O R 4 F 1 7、 O R 5 2 A 5、 O
 R 5 H 1、 O R 6 P 1、 O R 1 0 Z 1、 O R 1 N 2、 O R 2 T 1、 O R 4 F 2
 1、 O R 5 2 B 1 P、 O R 5 H 1 4、 O R 6 Q 1、 O R 1 1 A 1、 O R 1 Q 1
 、 O R 2 T 1 0、 O R 4 F 2 9、 O R 5 2 B 2、 O R 5 H 1 5、 O R 6 S 1、
 O R 1 1 G 2、 O R 1 S 1、 O R 2 T 1 1、 O R 4 F 3、 O R 5 2 B 4、 O
 R 5 H 2、 O R 6 T 1、 O R 1 1 H 1、 O R 1 S 2、 O R 2 T 1 2、 O R 4 F
 4、 O R 5 2 B 6、 O R 5 H 6、 O R 6 V 1、 O R 1 1 H 1 2、 O R 2 A 1、
 O R 2 T 2、 O R 4 F 5、 O R 5 2 D 1、 O R 5 I 1、 O R 6 X 1、 O R 1
 1 H 4、 O R 2 A 1 2、 O R 2 T 2 7、 O R 4 F 6、 O R 5 2 E 2、 O R 5 J
 2、 O R 6 Y 1、 O R 1 1 H 6、 O R 2 A 1 4、 O R 2 T 2 9、 O R 4 K 1、 40
 O R 5 2 E 4、 O R 5 K 1、 O R 7 A 1 0、 O R 1 1 L 1、 O R 2 A 2、 O
 R 2 T 3、 O R 4 K 1 3、 O R 5 2 E 6、 O R 5 K 2、 O R 7 A 1 7、 O R 1
 2 D 2、 O R 2 A 2 5、 O R 2 T 3 3、 O R 4 K 1 4、 O R 5 2 E 8、 O R 5
 K 3、 O R 7 A 5、 O R 1 2 D 3、 O R 2 A 4、 O R 2 T 3 4、 O R 4 K 1 5
 、 O R 5 2 H 1、 O R 5 K 4、 O R 7 C 1、 O R 1 3 A 1、 O R 2 A 4 2、
 O R 2 T 3 5、 O R 4 K 1 7、 O R 5 2 I 1、 O R 5 L 1、 O R 7 C 2、 O R
 1 3 C 2、 O R 2 A 5、 O R 2 T 4、 O R 4 K 2、 O R 5 2 I 2、 O R 5 L 2
 、 O R 7 D 2、 O R 1 3 C 3、 O R 2 A 7、 O R 2 T 5、 O R 4 K 5、 O R
 5 2 J 3、 O R 5 M 1、 O R 7 D 4、 O R 1 3 C 4、 O R 2 A E 1、 O R 2 T
 6、 O R 4 L 1、 O R 5 2 K 1、 O R 5 M 1 0、 O R 7 E 2 4、 O R 1 3 C 5 50

、 OR2AG1、 OR2T7、 OR4M1、 OR52K2、 OR5M11、
OR7G1

より選択される少なくとも1個、特に少なくとも2個、少なくとも5個、少なくとも10個、少なくとも50個、少なくとも100個、例えば10～384個のヒトにおい受容体遺伝子、および/または、前記ヒトにおい受容体遺伝子の配列のいずれか1つと少なくとも80%の同一性、例えば少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の同一性を有するそれらの任意の変異体を発現する。

【0111】

さらなる特定の実施形態において、本発明のトランスジェニック非ヒト動物は、下記からなる群：

OR1I1、 OR10H5、 OR8H1、 OR13G1、 OR8G5、 OR2S2、 OR10AD1、 OR5T1、 OR6Y1、 OR52B2、 OR7C1、 OR4D9、 OR8H2、 OR11L1、 OR4D2、 OR11H1、 OR5B3、 OR52A1、 OR8G1、 OR13C5、 OR1J1、 OR10W1、 OR6B2、 OR2T6、 OR13A1、 OR13C9、 OR10K1、 OR5P3、 OR2L3、 OR13C2、 OR1L4、 OR1L1、 OR2V2、 OR5B21、 OR11H12、 OR4D1、 OR2Y1、 OR4Q3、 OR2M2、 OR9A4、 OR13C4、 OR7D4、 OR2T29、 OR10Z1、 OR11H2、 OR5C1、 OR5M3、 OR4F15、 OR2T5、 OR5M9、 OR10A6、 OR4M2、 OR2L2、 OR4K1、 OR52W1、 OR2T11、 OR6K3、 OR1Q1、 OR11H4、 OR51B4、 OR13C3、 OR1K1、 OR11H6、 OR5P2、 OR8B2、 OR4K2、 OR4K17、 OR52L1、 OR2H2、 OR10A5、 OR4K13、 OR56A4、 OR11A1、 OR2D2、 OR4F21、 OR2T10、 OR14J1、 OR51E2、 OR5AN1、 OR1D2、 OR2J2、 OR51I1、 OR4F17、 OR4N5、 OR2J3、 OR51Q1、 OR51L1、 OR56A3、 OR6C1、 OR8J3、 OR51G2、 OR51M1、 OR52E6、 OR2C1、 OR2T33、 OR51B2、 OR5K3、 OR12D2、 OR2AJ1、 OR6A2、 OR2F1、 OR13J1、 OR2T8、 OR6C70、 OR6B1、 OR10G3、 OR2B11、 OR4F16、 OR2A5、 OR6F1、 OR4F4、 OR2V1、 OR3A2、 OR5AU1、 OR2D3、 OR7A17、 OR1C1、 OR4K14、 OR6B3、 OR4F5、 OR2F2、 OR9K2、 OR13D1、 OR9Q1、 OR2A25、 OR10A3、 OR9A2、 OR9Q2、 OR2A14、 OR10A4、 OR6C4、 OR10H1、 OR4E2、 OR2AG1、 OR6C2、 OR2AK2、 OR52B4、 OR1M1、 OR3A1、 OR2T27、 OR6V1、 OR8B12、 OR10Q1、 OR52B6、 OR52I2、 OR2K2、 OR10K2、 OR51I2、 OR2M3、 OR2M4、 OR51E1、 OR7D2、 OR4F3、 OR1L6、 OR56B4、 OR2AG2、 OR5K2、 OR1L3、 OR56A1、 OR7A5、 OR52I1、 OR1B1、 OR52E4、 OR2G6、 OR5K1、 OR1N2、 OR52N2、 OR2L13、 OR5H15、 OR1N1、 OR52N1、 OR2C3、 OR4F29、 OR2AT4、 OR52N5、 OR10S1、 OR5H14、 OR52A5、 OR56B1、 OR8D1、 OR7E24、 OR5A1、 OR52N4、 OR8B3、 OR2W3、 OR5A2、 OR5AK2、 OR14A16、 OR1J4、 OR5B12、 OR6T1、 OR52K1、 OR5V1、 OR5B2、 OR8D4、 OR2L8、 OR2AE1、 OR9I1、 OR52D1、 OR8B8、 OR4D10、 OR6Q1、 OR52H1、 OR1J2、 OR10G4、 OR9G4、 OR8K3、 OR

10

20

30

40

50

6 N 1、 O R 5 M 1 0

より選択される少なくとも1個、特に少なくとも2個、少なくとも5個、少なくとも10個、少なくとも50個、少なくとも100個、例えば10～209個のヒトにおい受容体遺伝子、および/または前記ヒトにおい受容体遺伝子の配列のいずれか1つと少なくとも80%の同一性、例えば少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%もしくは少なくとも99%の同一性を有するそれらの任意の変異体を発現する。

【0112】

209個の遺伝子の上記リストは、ほとんどのヒトにおいて発現されるOR群に対応する。

10

【0113】

さらなる実施形態において、本発明の前記トランスジェニック非ヒト動物は、少なくとも1個のヒト非OR化学受容体遺伝子、例えば少なくとも1個、少なくとも2個、少なくとも5個、少なくとも10個のヒトTAAR受容体遺伝子を発現する。より具体的には、本発明の前記トランスジェニック非ヒト動物は、少なくとも5個のヒト非OR化学受容体遺伝子を発現する。

【0114】

またさらなる実施形態において、本発明のトランスジェニック動物は、上記群から選択される少なくとも1個、少なくとも5個、少なくとも10個、少なくとも50個、少なくとも100個、例えば10～209個のヒトにおい受容体遺伝子を発現するマウスである。より具体的な実施形態において、本発明の前記トランスジェニック動物は、上記群から選択される少なくとも5個のヒトにおい受容体遺伝子を発現するマウスである。

20

【0115】

少なくとも1個の外因性化学受容体遺伝子を発現する本発明のトランスジェニック非ヒト動物は、エレクトロポレーション、ウイルスベクター、リポフェクションまたはトランスフェクションによって、前記少なくとも1個の化学受容体遺伝子を含む少なくとも1つの核酸を卵母細胞の前核に注入し、または卵母細胞もしくは生殖細胞に送達した後に、前記少なくとも1個の化学受容体遺伝子が前記動物のゲノムに組み込まれることを含め、当技術分野における標準的な手順によって作製され得る。

【0116】

限定されないが、受精卵の前核への導入遺伝子のマイクロインジェクションおよび胚性幹細胞の操作を含むいくつかの技術が、導入遺伝子を動物の遺伝物質に導入するために使用され得る（例えば、Palmiter and Brinster, 1986, Ann. Rev. Genet., 20: 465 - 499）。トランスジェニック動物は、それらの全細胞において導入遺伝子を有し得るか、または遺伝的にモザイクであり得る。

30

【0117】

従来の遺伝子導入方法によれば、正常遺伝子または改変遺伝子の追加コピーが接合子の前核の1つに注入され、レシピエント動物のゲノムDNAに組み込まれる。確立されたトランスジェニック系統において、導入遺伝子は、メンデル様式によって伝達される。導入遺伝子は、構成的に発現され得るか、または組織特異的であり得るか、もしくは特に外因性薬物に対して応答性であり得る。1個の導入遺伝子または複数の導入遺伝子を発現するトランスジェニック動物は、それらの子孫がすべての導入遺伝子を有して発現するように、第二の導入遺伝子または複数の導入遺伝子を発現する第二のトランスジェニック動物と交配され得る。

40

【0118】

一つの態様によれば、本発明のトランスジェニック動物は、本発明の方法にしたがって、特定のリガンドに応答する化学受容体を同定するためのツールとして使用される。

【0119】

したがって、さらなる態様において、本発明は、少なくとも1つの外因性化学受容体を発現するトランスジェニック動物を作製するための方法であって、少なくとも1つの外因

50

性化学受容体遺伝子またはそのコード配列を含む核酸を前記動物のゲノムに導入することを含む方法を提供する。

【0120】

特定の実施形態において、前記少なくとも1個の外因性化学受容体遺伝子を含む前記核酸は、典型的には前記少なくとも1個の化学受容体遺伝子を含む80～300kbの細菌人工染色体(BAC)である。

【0121】

より具体的な実施形態において、前記少なくとも1個のヒトにおい受容体遺伝子を含む前記核酸は、典型的には前記少なくとも1個のヒトにおい受容体遺伝子を含む80～300kbの細菌人工染色体(BAC)である。

10

【0122】

代替的な実施形態において、前記少なくとも1個の外因性化学受容体遺伝子を含む前記核酸は、前記化学受容体遺伝子のプロモーター、続いて5'UTR、イントロン、前記化学受容体遺伝子のコード配列およびポリAシグナルを含む短い導入遺伝子である。

【0123】

特定の実施形態において、前記少なくとも1個のヒトにおい受容体遺伝子を含む前記核酸は、前記ヒトにおい受容体遺伝子のプロモーター、続いて5'UTR、イントロン、前記ヒトにおい受容体遺伝子のコード配列およびポリAシグナルを含む短い導入遺伝子である。

【0124】

20

特定の実施形態において、少なくとも1個、少なくとも5個、少なくとも10個、少なくとも50個、少なくとも100個、少なくとも200個のヒトにおい受容体遺伝子を発現する本発明のトランスジェニック非ヒト動物は、下記からなる群：

CTD-2184G2、RP11-160E10、RP11-378I20、RP11-635I20、RP11-81H21、RP11-1000I9、RP11-163E6、RP11-379F1、RP11-652F7、RP11-826F2、RP11-100F1、RP11-177D5、RP11-382A12、RP11-656I18、RP11-846G12、RP11-1029E16、RP11-203G14、RP11-384C21、RP11-659M23、RP11-910P5、RP11-1040N14、RP11-206D24、RP11-409C1、RP11-65A10、RP11-918H8、RP11-1042J13、RP11-21N2、RP11-429J13、RP11-661M13、RP11-947H5、RP11-1044H15、RP11-236L12、RP11-42G15、RP11-663K1、RP11-950A2、RP11-105B16、RP11-23F9、RP11-430I15、RP11-681D10、RP11-952I8、RP11-1069J21、RP11-242C5、RP11-432E18、RP11-696P18、RP11-960L8、RP11-1105A4、RP11-243N6、RP11-438H8、RP11-69E17、RP11-98N22、RP11-1107C18、RP11-24N17、RP11-452G22、RP11-69N15、RP11-98P19、RP11-110A12、RP11-252I5、RP11-454O22、RP11-720H19、RP4-669L17、RP11-1115M8、RP11-259N2、RP11-456D1、RP11-74B15、RP11-1144E12、RP11-27N2、RP11-462C5、RP11-759P17、RP11-1150B23、RP11-297D12、RP11-466F22、RP11-75J4、RP11-115H4、RP11-299I2、RP11-585F1、RP11-76K18、RP11-1205H24、RP11-30H21、RP11-599O3、RP11-777K22、RP11-126P23、RP11-320A14、RP11-62C23、RP11-79N3、RP11-144C16、RP11-345A24、RP1

30

40

50

1 - 630D14、 RP11 - 806H4、 RP11 - 146C10、 RP11 - 361I19、 RP11 - 632E19、 RP11 - 806P5

より選択される少なくとも1個、少なくとも5個、少なくとも10個、少なくとも50個、少なくとも90個の細菌人工染色体を前記動物のゲノムに組み込むことによって作製される。

【0125】

上記BACの配列は、www.ncbi.nlm.nih.gov/clone/の公開データベースから検索され得る。

【0126】

さらなる特定の実施形態において、上記209個のヒトにおい受容体遺伝子を発現する本発明のトランスジェニック非ヒト動物は、上記94個の細菌人工染色体を前記動物のゲノムに組み込むことによって作製される。

10

【0127】

本発明のさらなる態様は、前記トランスジェニック非ヒト動物から単離された細胞、特に感覚ニューロン（例えば、前記トランスジェニック非ヒト動物から単離された嗅覚ニューロン）、および前記トランスジェニック非ヒト動物から抽出された組織サンプル、特に前記トランスジェニック動物の嗅覚系から抽出された組織サンプルを提供する。

【0128】

前記細胞および組織は、先のセクションにおいて記載されているように単離され得る。

【0129】

本発明の別の態様は、少なくとも1つのリガンドに対する少なくとも1つの化学受容体を同定する本発明の方法における、および/または、その化学受容体に対するリガンドの結合をモジュレートすることができる薬剤を同定する本発明の方法における、本明細書に記載のトランスジェニック非ヒト動物またはその細胞もしくは組織の使用を提供する。

20

【0130】

本発明において有用な組成物

別の態様において、本発明は、化学受容体、特に嗅覚受容体に結合するリガンド、およびその化学受容体に対するリガンドの結合をモジュレートする薬剤（これらは、本発明の方法によって同定され得る）を提供する。

【0131】

少なくとも1つの化学受容体のリガンド、およびその化学受容体に対するリガンドの結合をモジュレートする薬剤は、本発明の方法によって同定されるもののように、知覚される芳香および/または味を制御するために有用である。例えば、望ましくない芳香は、嗅覚受容体のアンタゴニストを使用することによって遮断、遮蔽または変化され得、望ましい芳香は、嗅覚受容体のリガンドおよび/またはアゴニストを使用することによって増強され得る。

30

【0132】

少なくとも1つの嗅覚受容体のリガンド、およびその嗅覚受容体に対するリガンドの結合をモジュレートする薬剤は、本発明の方法によって同定されるもののように、化学受容体が関与する障害を治療および/または予防する方法において有用である。

40

【0133】

したがって、本発明は、少なくとも1つの化学受容体の少なくとも1つのリガンド、および/またはその化学受容体に対するリガンドの結合をモジュレートする少なくとも1つの薬剤を含む組成物を提供する。

【0134】

特定の実施形態において、本発明は、被験体における芳香および/または味の知覚を模倣または軽減する組成物であって、(a)少なくとも1つの第一の化学受容体に対する少なくとも1つのリガンド、および/または、第一の化学受容体に対するリガンドの結合をモジュレートする少なくとも1つの薬剤を含む組成物を提供する。

【0135】

50

本発明のリガンドおよび薬剤の使用

本発明は、被験体における少なくとも1つの芳香および/または少なくとも1つの味の知覚をモジュレートするための方法であって、前記芳香および/または味の知覚に關与する少なくとも1つの化学受容体の少なくとも1つのリガンド、および/または、前記化学受容体に対するリガンドの結合をモジュレートする少なくとも1つの薬剤の使用を少なくとも含んでなる方法を提供する。

【0136】

特定の実施形態において、本発明は、被験体における少なくとも1つの芳香の知覚をモジュレートするための方法であって、前記芳香の知覚に關与する少なくとも1つの嗅覚受容体の少なくとも1つのリガンド、および/または、前記嗅覚受容体に対するリガンドの結合をモジュレートする少なくとも1つの薬剤の使用を少なくとも含んでなる方法を提供する。

10

【0137】

より具体的な実施形態において、本発明は、被験体における少なくとも1つの芳香の知覚を増強するための方法であって、前記芳香の知覚に關与する少なくとも1つの嗅覚受容体の少なくとも1つのリガンド、および/または、前記嗅覚受容体の少なくとも1つのアゴニストの使用を少なくとも含んでなる方法を提供する。

【0138】

別の特定の実施形態において、本発明は、被験体における少なくとも1つの芳香の知覚を軽減するための方法であって、前記芳香の知覚に關与する少なくとも1つの嗅覚受容体の少なくとも1つのアンタゴニストの使用を少なくとも含んでなる方法を提供する。

20

【0139】

被験体における少なくとも1つの芳香および/または少なくとも1つの味の知覚をモジュレートするための本発明の方法において、前記被験体を前記リガンドおよび/またはアンタゴニストに曝露するための様々な手段が使用され得、例えば、前記成分をエアロゾル形態に微粉化すること、または固体形態もしくは液体形態の前記成分を前記被験体の食料もしくは飲料に組み込むことが挙げられる。

【0140】

本明細書において使用される被験体は、ヒト、齧歯類、ウシ、ブタまたは昆虫を含む任意の動物を包含する。

30

【0141】

特定の実施形態において、前記リガンドおよび/または前記アゴニストおよび/またはアンタゴニストは、本明細書に記載の本発明の方法を用いて同定されたものである。

【0142】

本明細書に引用される参考文献は、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。本発明は、本明細書に記載の特定の実施形態（これは、本発明の個々の態様の単なる例示を意図する）によって範囲が限定されるものではなく、機能的に同等な方法および要素は本発明の範囲内である。実際、上記説明および添付の図面から、当業者であれば、本明細書に示され記載されているものに加えて、本発明の様々な改良が明らかになるであろう。このような改良は、添付の特許請求の範囲内に含まれることを意図する。

40

【0143】

本発明についてこれまで説明してきたが、以下に本発明を限定しない実施例を例示する。

【実施例】

【0144】

動物

7週齢の雄性C57BL/6マウスは、Charles River Laboratories (www.criver.com) に発注した。到着後、それらを、二重フィルタを備える使い捨てプラスチック製ケージ (Innovive) に5~6つのグループで5日間入れた。それらを、「実験的におい物質を含まない」加圧室において飼育した。

50

5日後、実験に必要なまで、マウスを同一のケージに分離した(1~7日間)。

【0145】

ショウジョウバエ(W1118)は、孵化の0~14時間後に収集した。オスおよびメスを別個に曝露した。性別はそれらの応答に影響を与えず、両方の性別に関するデータをプールした。

【0146】

におい物質の曝露

インビボでのにおい物質への曝露：実験の48時間前から、マウスを、純粋DMSOを含むコットンボールに慣れさせた。200 μ lをコットンに直接ピペティングしてケージに入れ、巣作りのためにケージ内に既に存在していたコットンと交換した。次いで、DMSOコットンボールを、実験開始まで毎日交換した。

10

【0147】

実験日に、におい物質を投与したマウスを別の部屋に移し、純粋DMSOによって希釈した200 μ lのにおい物質を付着させたコットンボールに曝露した。午前8~10時(すなわち、日の出の2時間後)に曝露を開始し、午前1~3時にマウスを屠殺および解剖した。マウスは、におい物質またはDMSOのみを含有するコットンボールに対して異なる応答をしなかった。同じ実験において、いくつかの異なるにおい物質を試験する場合、においの相互汚染を防ぐために、各におい物質について、別の加圧室を常に使用する。

【0148】

インビトロでのにおい物質への曝露：生きている脊椎動物または最近死亡した脊椎動物の嗅覚粘膜を採取し、インビトロにおいて生存状態で維持した。感覚ニューロンを放置または解離する。次いで、チューブ内の液相中において、におい物質への曝露をインビトロにおいて実施する。生理学的媒体(例えば、145mM NaCl、5mM KCl、1mM CaCl₂、1mM MgCl₂、10mM HEPES、10mMグルコース)中において、外植片/ニューロンを生存状態で維持する。次いで、インビボ曝露に使用したものと類似する手順では、採取した感覚ニューロンを2つの別個の集団に分けて、これらの集団の一方を活性化し(2~5時間、しかしこれは変動し得る)、他方を陰性対照として使用する。次いで、2つの集団間のmRNAレベルの潜在的なモデュレーションを、qPCR(図2)、RNAseqまたは他の技術によって評価して、活性化した受容体を同定する。

20

30

【0149】

RNA抽出

におい物質への曝露後に、頸椎脱臼によってマウスを殺処分し、直ぐに断頭した。主嗅上皮(MOE)全体を回収し、600 μ lの溶解緩衝液および-メルカプトエタノール(RNAeasy kit, Qiagen、製造業者のプロトコルに従う)ならびに直径0.5cmのスチールボールを含むチューブに移し、次いで、氷上に置いた。次いで、FastPrep(登録商標)24 instrument(MP Biomedicals)を使用して、サンプルを6m/秒で30秒間ホモジナイズし、氷上に置いた。製造業者の説明書にしたがってQiagen RNeasy Mini(登録商標)kitを使用して、すべてのサンプルにおいて、RNA抽出を同時に実施した。すべてのサンプルにおいて、2回のDNase処理を実施した：最初に、Qiagen RNase-Free DNase Set(登録商標)を使用し、次いで、Life Technologies Ambion DNase I(登録商標)kitを使用する。次いで、RNAサンプルを等分し、-80において保存した。

40

【0150】

ハエの場合、曝露後に、動物を含むバイアルを、-80の冷凍庫に逆さまにして5分間置き、次いで、解剖まで-20の冷凍庫内において保持した。手によって頭部全体を切除し、1mlのトリゾール(Ambion)および直径0.5cmのスチールボールを含むスクリーキャップチューブに入れ、氷上において保持した。FastPrep(登録商標)-24 instrument(MP Biomedicals)による6m/

50

秒、15秒間のランを4回使用して、サンプルをホモジナイズした。各ランの間に、サンプルを氷上において冷却した。製造業者の説明書のトリゾールプロトコールにしたがって、5 μ gのRNaseフリーグリコーゲンとRNA沈殿のキャリアとして使用して、RNA抽出を行った。RNAペレットを20 μ lのRNaseフリー水に再懸濁し、DNase処理(Life Technologies Ambion DNase I (登録商標))を実施した。

【0151】

qPCR

Amersham Ultraspec (登録商標) 3100 Pro spectrophotometerを使用して、RNA濃度を決定し、Agilent Technologies 2100 Bioanalyzer (登録商標)を用いて、RNAの品質を評価した。Takara Primerscript (登録商標) kitを使用して、10 μ lの最終容量において、0.5 μ gのRNAを用いて、各逆転写を実施した。逆転写用のプライマーは、ポリTヌクレオチドおよびランダムヘキサマーの等量混合物であった。各サンプルについて、(逆転写酵素を除いた)陰性対照を実施した。cDNA調製物の1/14を、トリプリケートの各qPCR反応に使用した。qPCR反応を行うための順方向プライマーおよび逆方向プライマーを以下の表2に示した。

【表2】

遺伝子の名称	ENSMUST アクセッション番号	配列番号 順方向プライマー	配列番号 逆方向プライマー
Olfr160	00000104875	1	2
Olfr556	00000098219	3	4
Olfr1377	00000075177	5	6
Olfr983	00000050996	7	8
Olfr1079	00000111582	9	10
Olfr609	00000055787	11	12
Olfr611	00000078108	13	14
Olfr2	00000094109	15	16
Olfr168	00000078554	17	18
Olfr167	00000054606	19	20
Olfr109	00000031086	21	22
Olfr15	00000080917	23	24
Olfr16	00000038432	25	26
Olfr73	00000099838	27	28
Olfr171	00000079891	29	30
Olfr1019	00000102634	31	32
Omp	00000098281	33	34
Adcy3	00000020984	35	36
β Actin	00000100497	37	38

【0152】

Applied Biosystems社製の7900HT SDS (登録商標) thermocyclerによって、RT-qPCRを実施した。すべての反応をトリプリケートで体系的に行った。条件は、以下の通りであった：SYBR Green (登録商標) dyeを使用して、50℃において2分間、95℃において10分間、(95℃において15秒間、60℃において1分間)を40回。

【0153】

SDS (登録商標) 2.2.1 softwareを使用して、生データを分析した。検出閾値は、 $R_n = 0.3$ (この限界は常に、遺伝子の $2n$ 指数関数的増幅期にある) に設定した。非特異的生成物について解離曲線をチェックし、このような生成物が検出された場合には、サンプルを廃棄した。

【0154】

独自に開発したMicrosoft Excel（登録商標）のマクロファイルを使用して、qPCRのCt値を分析した。トリプリケートの値を比較し、異常値（最近傍に対して0.5Ctよりも高い差異を有する値）を除外した。外れ値の条件の数は常に、条件の総数の10%未満であった。所定の各遺伝子について、Ct値を、最大値に対する量に変換した。次いで、geNorm algorithmを使用して、選択した参照遺伝子を分散分析した。嗅覚組織特異的遺伝子OmpおよびAdcy3を用いて、すべての値を正規化した。サンプル間の解剖の差異をコントロールするために、非組織特異的な参照遺伝子として、 α -アクチンを使用した。

【0155】

RNAseq

（前記のように）RNA抽出前に、動物を5%アセトフェノンに5時間曝露した。ポリA含有mRNAの選択後に、Truseq RNA and DNA sample preparation kitsを用いて、cDNAライブラリーを作製した。RNAseq多重化のためのアダプタをcDNAに加えた。HiSeq（登録商標）2500 Sequencing systemを用いて、cDNAライブラリーを配列決定した。28bpシードのBowtie2を使用して、100bpのリードをマッピングした。DESeq2を用いて、差次的遺伝子発現分析を実施した。OR遺伝子パラログ間の配列類似性は高いので、いくつかのリードは、複数のOR遺伝子にマッピングされる。これらのリードを分析から除外した。

【0156】

実施例1：インビボでのにおい物質への曝露を用いた、マウスにおけるにおい受容体を脱オーファン化するための本発明の方法

成体C57BL/6マウスを5%イソ酪酸エチルに5時間曝露し、材料および方法のセクションにおいて記載されているように、これらのマウス由来の嗅覚上皮の抽出物において、におい受容体遺伝子の転写産物のレベルをRT-qPCRによって測定した。

【0157】

成体C57BL/6マウスの感覚神経上皮において、5%イソ酪酸エチルに5時間曝露すると、Olfmr171およびOlfmr167のmRNA濃度は有意に減少した（イソ酪酸エチルは、Olfmr171およびOlfmr67のアゴニストであることが以前に示された）（非曝露対照と比べてそれぞれ74%および47%、 n = マウス7匹）（図1a、f）（図1a、f）。対照におい受容体遺伝子（8個の遺伝子）の濃度はいずれも、イソ酪酸エチルへの曝露によって影響を受けなかった（インビボ曝露アプローチについて、対照マウスと比べて $\pm 20\%$ の誤差は、非有意であるとみなした、図1の灰色の領域）。

【0158】

活性化によって誘導される転写産物のダウンレギュレーションが、イソ酪酸エチル応答性嗅覚ニューロンに特異的であったか、または、活性化嗅神経細胞に共通の一般的特徴であったかを試験するために、7個のさらなるにおい受容体遺伝子の転写応答を評価した。

【0159】

これらの遺伝子の産物は、アゴニスト（50 μ M未満のEC50を有する）、アセトフェノン（Olfmr1377、Olfmr556およびOlfmr983は、HEK細胞において発現される場合にこれに対して応答性であり、Olfmr160は、解離ニューロンにおいてこれに対して応答性である）、ヘプタナール（Olfmr2は、HEK細胞においてこれに応答する）、リラル（Olfmr16は、解離ニューロンにおいてこれに応答する）およびバニリン酸（Olfmr609は、HEK細胞においてこれに対して応答性である）であることが以前に示された。マウス（ n = 21）を上記4つの各5%化合物に個々に5時間曝露した。曝露の直後に、それらの対応する受容体のmRNA濃度をRT-qPCRによって評価した。7つの受容体-リガンドペアについて、非曝露対照と比べたmRNAレベルの減少が観察された（図1b~e）。対照受容体遺伝子（その産物は、特定のリガンドに応答しないことがインビトロにおいて以前に示された）のいずれにおいても、本発明者らは、におい受容体転写産物のレベルのこのような減少を観察しなかった（1条件当

10

20

30

40

50

たり 6 ~ 9 個の遺伝子、図 1)。

【 0 1 6 0 】

次いで、リガンド曝露を 4 8 時間継続した以外は、O R に使用したものと同一方法を使用して、T A A R 遺伝子 (これは、哺乳動物の鼻粘膜に存在する第二のクラスの嗅覚受容体をコードする) のアゴニスト曝露に対する電位応答を試験した。

【 0 1 6 1 】

- フェニルエチルアミンによる 4 8 時間の嗅覚刺激後に、嗅覚受容体遺伝子転写産物のレベルを評価した。各受容体遺伝子について、嗅覚受容体遺伝子転写産物のレベルを R T - q P C R によって評価し、曝露マウスにおいて得られた値と、対照マウスにおいて得られた値との比を図 6 に示す。T A A R 3 および T A A R 4 をコードする転写産物の数の減少が観察された (2 個の T A A R 遺伝子は、このリガンドに应答することが以前に示された) (Z h a n g e t a l , J . N e u r o s c . 2 0 1 3 , 3 3 (7) , 3 2 2 8 - 3 2 3 9)。陰性対照 T A A R 6 および O l f r 5 5 6 は、- フェニルエチルアミンによって影響を受けなかった (図 6)。

【 0 1 6 2 】

これらの結果は、インビトロにおいて同定した受容体 / リガンドペアと、対応する受容体遺伝子を発現するニューロンに対してこれらの各リガンドが与えた特定のインビボ転写効果と間の顕著な相関関係を証明している。したがって、これは、転写産物ベースの受容体脱オーファン化アプローチを使用して、インビボにおいて新規受容体 / リガンドペアを同定し得ること、および本技術は、受容体型全体にわたる非常に多種多様な化学受容体に適用されることを実証している。

【 0 1 6 3 】

実施例 2 : エクスビボでのにおい物質への曝露を用いた、マウスにおけるにおい受容体を脱オーファン化するための本発明の方法

マウス嗅覚上皮を採取し、インビトロにおいて A C S F 培地中において維持し、5 0 μ M イソ酪酸エチルに 2 時間曝露した。次いで、O l f r 遺伝子の転写産物の数を q P C R によって評価したところ、アゴニスト曝露後において、O l f r 1 6 7 および O l f r 1 7 1 のものは両方とも抑制されていた。イソ酪酸エチルは、O l f r 1 6 7 および O l f r 1 7 1 のアゴニストであることが以前に示された。

【 0 1 6 4 】

実施例 3 : 本発明の方法によるにおい受容体の大規模な脱オーファン化

実施例 1 および 2 は、嗅神経細胞の活性化と、嗅覚受容体 m R N A のダウンレギュレーションとの間の確かな相関関係を実証している。本実施例は、嗅覚刺激後の受容体の大規模な脱オーファン化方法としての本発明の方法の実行可能性を実証することを目的とした。嗅覚受容体遺伝子転写産物の潜在的なモデレーションを評価するために、R N A s e q アプローチを選択した。

【 0 1 6 5 】

O l f r 1 3 7 7、O l f r 5 5 6、O l f r 9 8 3 および O l f r 1 6 0 のメッセンジャーレベルをダウンレギュレートするアセトフェノンを試験した (図 1)。

【 0 1 6 6 】

マウス (n = 6) を 5 % アセトフェノンまたは「中立」対照条件に 5 時間曝露した。各動物に対応する嗅覚 c D N A ライブラリーをディープシーケンシングし、対照に対するにおい受容体 m R N A 濃度の比をプロットした (図 3)。一貫して 2 0 % 超の転写減少を示したにおい受容体遺伝子をダウンレギュレートされたとみなした。アセトフェノン曝露後に R N A s e q によって観察された転写ダウンレギュレーションレベルに基づいて、2 6 個の応答性 O R 候補のリストを決定した (図 3) (対照と比べて 7 4 % の減少 (O l f r 1 4 5) またはさらに 8 0 % 超の減少 (O l f r 1 6 9) に達した)。同定した受容体遺伝子のうち、以前から公知の最も感受性の高いアセトフェノン受容体に対応する 4 個 (O l f r 1 3 7 7、O l f r 5 5 6、O l f r 9 8 3 および O l f r 1 6 0) はすべてダウンレギュレートされており、実施例 1 において R T - q P C R によって得られたデータ

とよく一致していた(図1b)。RNAseqによって得られた26個の嗅覚受容体候補のうち21個の転写産物のダウンレギュレーションを、qPCRによって確認した。残りの5個の候補は、偽RNAseq陽性候補(すなわち、アセトフェノン曝露後に実際にはmRNAがダウンレギュレートされなかったOR候補)であった(表3)。

【0167】

RNAseqアプローチを用いて得られたアセトフェノン受容体の同一性を独立して検証するために、アセトフェノン曝露後の神経活性マーカー(リン酸化リボソームタンパク質S6(pS6))(Knight et al., 2012, Cell, 151, 1126-1137)および特定の嗅覚受容体の潜在的な共局在性を評価した。この目的のために、受容体mRNAをターゲティングするプローブを用いて、嗅覚組織の切片において、インサイチュハイブリダイゼーションを実施し、続いて、pS6の免疫標識を実施した。使用したプローブは、(公知のアセトフェノン受容体をコードする)Olf983転写産物、(公知のイソ酪酸エチル受容体をコードする)Olf171転写産物、およびRNAseqによって新たに同定した受容体をコードするOlf145転写産物を含め、応答性であると決定したほとんどのORの転写産物に対するものであった。分析前に、マウスを5%アセトフェノン、5%イソ酪酸エチルまたは陰性対照条件のいずれかに60分間曝露した。結果は、イソ酪酸エチル曝露が、pS6のシグナルを示す多数のOlf171発現ニューロンをもたらした(67%)一方、Olf983およびOlf145発現ニューロンは、各ケースのわずか12%および28%においてpS6の共標識を示したことを示している(図4)。ニューロンの66%(Olf983)および70%(Olf145)が、アセトフェノン曝露後にpS6陽性であった一方、Olf171発現ニューロンのわずか11%が、この化合物への曝露後にpS6陽性であった。におい物質刺激後に神経活性化を示した(すなわち、一部のニューロンにおけるpS6シグナルが、対照と比べて15%超であった)OSN集団(すなわち、同じにおい受容体遺伝子を発現するOSN)のリストを表3に示す。嗅覚mRNAの減少とpS6陽性シグナルとの間の完全な対応が、試験した全15個のOSN集団について観察され、mRNAモデュレーションおよびpS6シグナルは、試験した全5個のOSN集団について観察されなかった。

【0168】

したがって、まとめると、本発明の脱オーファン化アプローチは、インビボにおいてアゴニストとして揮発性化学物質に応答するニューロンを忠実に同定する。

【0169】

したがって、本発明の方法は、嗅覚刺激後の受容体の大規模な脱オーファン化方法である。

【表 3】

	OR 候補 (RNAseq)	qPCR による確認	ps6 陽性	
アセトフェノン	olfr145	ダウンレギュレーションあり	陽性	10
	olfr736	ダウンレギュレーションあり	データなし	
	olfr901	ダウンレギュレーションあり	陽性	
	olfr983	ダウンレギュレーションあり	陽性	
	olfr556	ダウンレギュレーションあり	陽性	
	olfr476	ダウンレギュレーションあり	データなし	
	olfr1501	ダウンレギュレーションあり	データなし	
	olfr1448	ダウンレギュレーションあり	データなし	
	olfr478	ダウンレギュレーションあり	陽性	
	olfr922	ダウンレギュレーションあり	陽性	
	olfr229	ダウンレギュレーションあり	陽性	20
	olfr19	ダウンレギュレーションあり	陽性	
	olfr160	ダウンレギュレーションあり	陽性	
	olfr935	ダウンレギュレーションあり	陽性	
	olfr745	ダウンレギュレーションあり	陽性	
	olfr47	ダウンレギュレーションあり	データなし	
	olfr109	ダウンレギュレーションあり	陽性	
	olfr1377	ダウンレギュレーションあり	陽性	
	olfr143	ダウンレギュレーションあり	陽性	
	olfr1054	ダウンレギュレーションあり	データなし	30
	olfr30	ダウンレギュレーションあり	陽性	
	olfr378	ダウンレギュレーションなし	陰性	
	olfr750	ダウンレギュレーションなし	陰性	
	olfr490	ダウンレギュレーションなし	陰性	
	olfr1135	ダウンレギュレーションなし	陰性	
	olfr1350	ダウンレギュレーションなし	陰性	

【0170】

実施例 4：少なくとも 10 個のヒトにおい受容体遺伝子を発現するトランスジェニックマウスの生産

少なくとも 10 個のヒトにおい受容体遺伝子を発現するトランスジェニックマウスを作製する。ヒトにおい受容体遺伝子（本明細書の段落 0110 に引用されている 384 個の遺伝子）を使用し得る。特に、少なくとも 250 個の遺伝子の OR 遺伝子レパトリーを有するヒトの 90% 超において発現される 209 個のヒトにおい受容体遺伝子（本明細書の段落 0111 に引用されている）を標的とする。

【0171】

この目的のために、2 つの別個の独立したアプローチを採用した：

1) 標準的な手順にしたがって、ヒト OR を含む 80 ~ 300 kb の細菌人工染色体（BAC）をマウスゲノムに組み込む。

【0172】

核酸を卵母細胞の前核に注入する（あるいは、卵母細胞または生殖細胞のエレクトロポレーション、ウイルス送達、リポフェクションまたはトランスフェクションによって、核酸を細胞に送達し得る）。レシピエント種は必ずしもマウスではなく、任意の脊椎動物種、特にラットであり得る。導入遺伝子は、頭尾がオーガナイズされる際に組み込まれることが多い。異なる導入遺伝子がゲノムに同時挿入されるので、これらの多量体挿入物は、百～数百個の異種性の導入遺伝子を含む。使用すべき標的は、10 ~ 200 個の導入遺伝子を含む挿入物であり得る（15 匹のファウンダーの約 1 匹において起こることが公

40

50

知の状況)。すべてのF0ファウンダーを多重組み込みについて試験し、組み込みの同一性を定義する。相補的ファウンダーを交配して、ほとんどのヒトOR遺伝子を発現する単一マウスを作製する。

【0173】

目的の209個のにおい受容体遺伝子をカバーするために、94個のBACを同時注入する。

【0174】

2)それぞれがORプロモーター、続いて5'UTR(例えば、Vassalli et al., 2002, Neuron, 35(4):681-96)、イントロン、ヒトORコード配列(209個のOR遺伝子の1個)およびポリAシグナルを含む従来の導入遺伝子も作製する。プロモーターはキメラであり得、例えば、Vassalli et al., 2011, Mol. Cell. Neurosci., 46:381-96におけるエンハンサー/安定化/選択要素を含み得る。ヒトOR遺伝子のほとんどを発現するマウスを得るために、これらの導入遺伝子を、上記のようにマウスの卵母細胞に同時注入する。

10

【0175】

実施例5:マウスにおけるにおい受容体のアンタゴニストを同定するための本発明の方法
成体C57BL/6マウスを5%アセトフェノンに5時間曝露し、材料および方法のセクションにおいて記載されているように、これらのマウス由来の嗅覚上皮の抽出物において、におい受容体遺伝子の転写産物のレベルをRT-qPCRによって測定した。5%アセトフェノンに曝露すると、Olf1178およびOlf730のmRNA濃度は有意に増加した(1.5および1.4の倍率変化がそれぞれ観察された)。

20

【0176】

実施例6:ショウジョウバエにおける化学受容体を脱オーファン化するための本発明の方法

24時間齢のキロショウジョウバエをプラスチックチューブ内において飼育し、DMSOによって希釈した5%乳酸エチル、またはDMSOによって希釈した5%酢酸ゲラニルのいずれかに曝露した。におい物質を紙にスポットし、これをプラスチックチューブに入れた。1条件当たり10匹のハエを使用した(1条件当たり8つの独立した抽出物)。曝露の5時間後に頭部を回収し、RNAを抽出した。

30

【0177】

Or67c(乳酸エチルの公知の受容体)およびOr82a(酢酸ゲラニルの公知の受容体)の転写産物のレベルをRT-qPCRによって評価した。乳酸エチル曝露後に、Or67c mRNAレベルは、対照ORと比べてダウンレギュレートされており(0.7倍)、酢酸ゲラニル曝露後に、Or82a mRNAレベルは、対照ORと比べてダウンレギュレートされていた(0.6倍)(図5)。

【0178】

OR67cおよびOR82aは、それぞれ乳酸エチルおよび酢酸ゲラニルに応答することが以前に示されており(Hall et al., 2006, Cell, 125(1):143-60)、分析した3個の陰性対照嗅覚受容体のうち、Or2aは、3つのエステルにのみ弱く応答することが以前に示されており、Or49bは、いくつかの芳香族化合物に応答し、Or67aは、いくつかのにおい物質(酸、アルデヒド、ケトン、芳香族、アルコールおよびエステル)に強く応答した(Hall et al., 2006、前掲)。

40

【0179】

これらの昆虫ORは非GPCR嗅覚受容体であるので、これらのデータは、本技術が、無脊椎動物を含む種全体にわたる非常に多種多様な化学受容体に適用されることを示している。

【 表 4 】

配列表

配列番号	順方向プライマー
1	GAGGGCTAACTAACAGGCCA
3	ATGCACAGTGGAAGGCTTTG
5	TGAAGATACCATCTGCCCGC
7	ACCTGCAGCTCTCACATGAT
9	CCTGATCATCCTTGGCTCCT
11	CGCTTCTAAGACTGAACGCC
13	ATGGCCTTCGATCGGTATGT
15	AAGGAACCACACTGGGAGAG
17	CTATCCTTACCCCCATGCTCA
19	ATTCTAGGGCGGGGAAGAAG
21	CAACCTTCTCTCGAGGCGTA
23	AGGAGACAGATGCAAAGCCT
25	TTTTTGTCACCTTGGCCACC
27	TTGGGATCCTATGCTTGGGG
29	GAGTGCCTTCTCTTGGCAGT
31	ACCTGCGGGTCTCATCTTAC
33	CGCCATGGATTGGAATGAGG
35	GGTGCCTTCCAAGTACTCCA
37	CTAAGGCCAACCGTGAAAAGAT
配列番号	逆方向プライマー
2	TCAAGGTGATCATGCCCAGA
4	CCTAGCCAGGCCACATAGAT
6	GAAGGACGCATGTAGACACC
8	ATCCACTGACCCAACAGGAG
10	CAGAAACCACGGTCAGATGG
12	CACTTGCCAAATCGGTGGAT
14	CTCAAGAGGATAGGGGCAGG
16	CACGTAGGCCAACAGAGAAA
18	TTCATGGAAGAGAATGTCCCAAG
20	AGGTGTAAGCAAATGGTGCG
22	GCCTCCGTACTTCCCAGAAA
24	CTTGCTGGTCCCTTTTGCAT
26	ACCAACAAGGCACACATTCC
28	GACAGATGTGTCAGAGCGTG
30	GAGCCTGCAGCCAGGAGCCC
32	TGTAGAACACAGAGGCCAC
34	TCGCCAAAGGTGATGAGGAA
36	AGTGTTCTGGGCCAGTTTTTC
38	CACAGCCTGGATGGCTACGT

10

20

30

40

【図 1 A B】

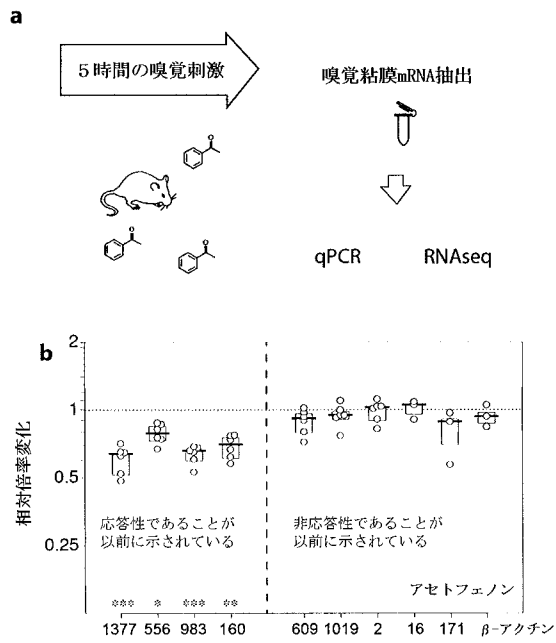


Figure 1

【図 1 C D】

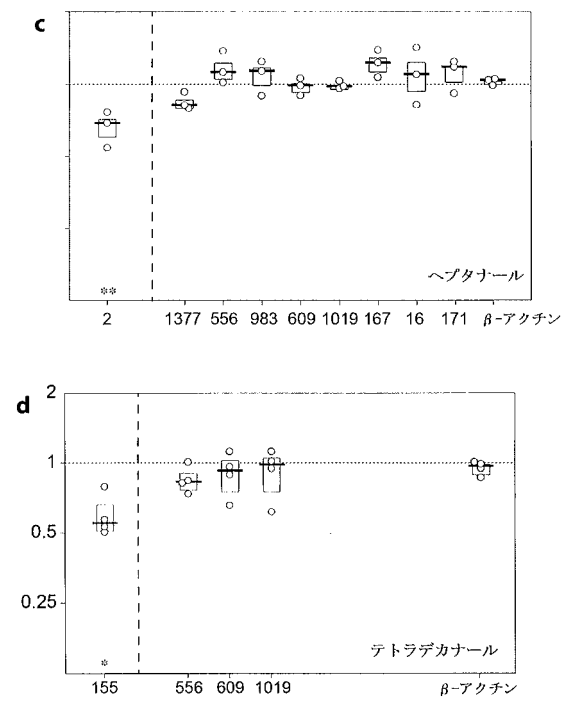


Figure 1 (continued)

【図 1 E F】

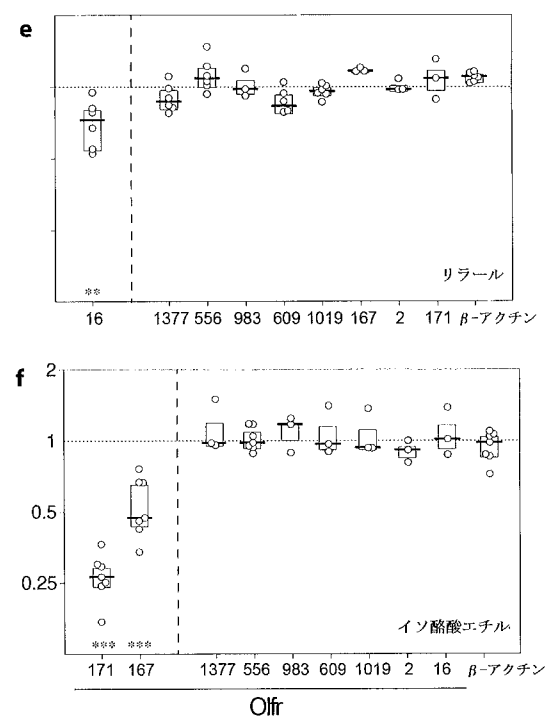


Figure 1 (continued)

【図 1 G】

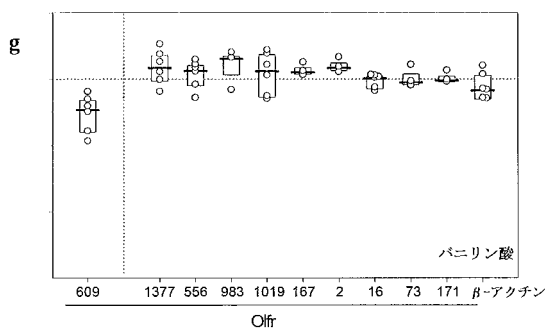


Figure 1 (continued)

【図 2】

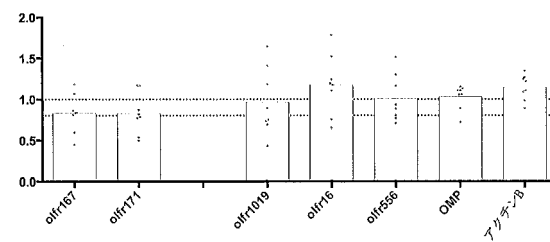


Figure 2

【図 3 A】

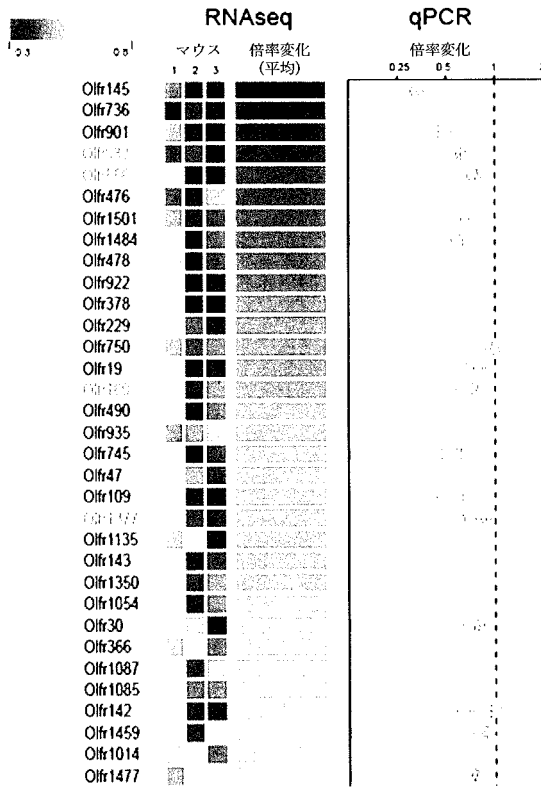


Figure 3

【図 3 B】

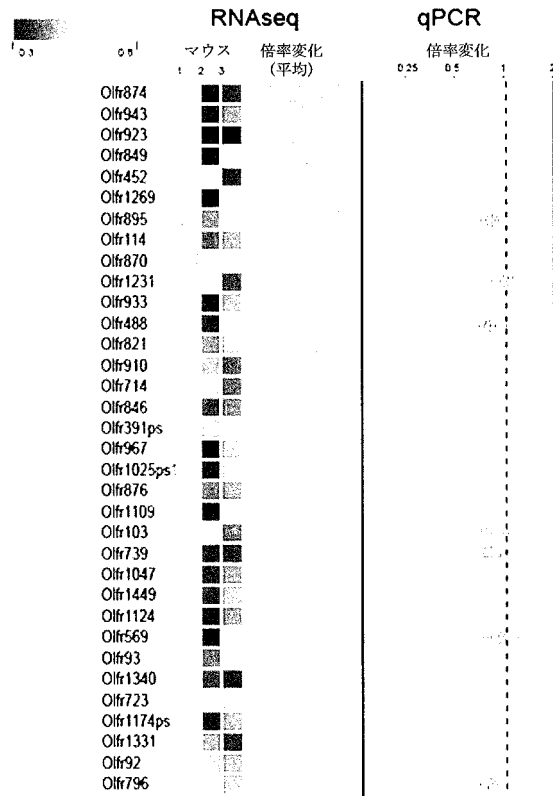


Figure 3 (continued)

【図 4】

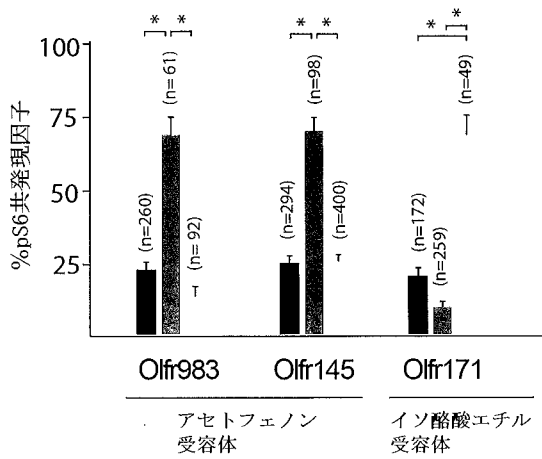


Figure 4

【図 5】

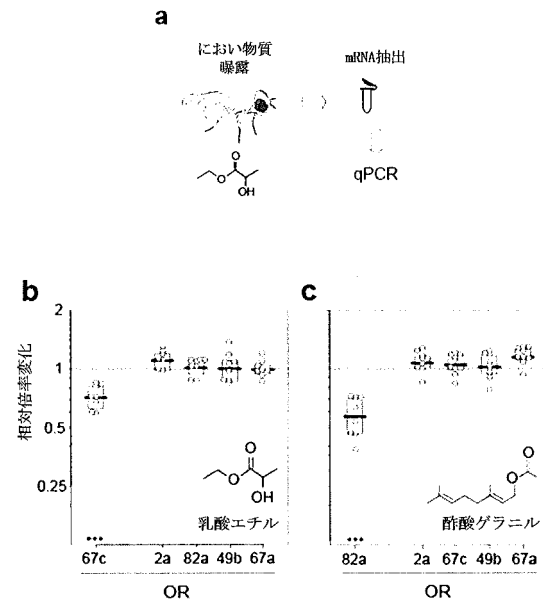


Figure 5

【図 6】

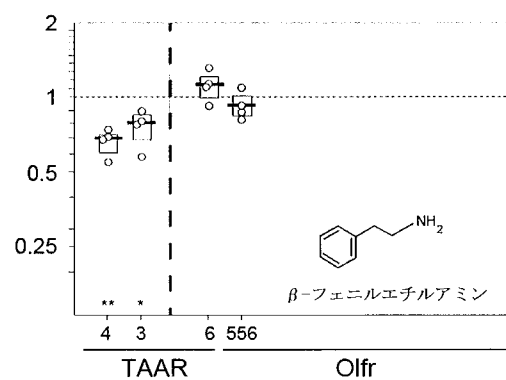


Figure 6

【配列表】

2017528120000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP2015/069454**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 2 of first sheet)**

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☒ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

1-20(partially)

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☒ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/069454

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. G01N33/68 A01K67/027 G01N33/566
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N A01K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, BIOSIS, EMBASE, INSPEC, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>CASEY TRIMMER ET AL: "High-throughput Analysis of Mammalian Olfactory Receptors: Measurement of Receptor Activation via Luciferase Activity", JOURNAL OF VISUALIZED EXPERIMENTS, no. 88, 2 June 2014 (2014-06-02), XP55225547, DOI: 10.3791/51640 the whole document In particular: Title; Abstract; Protocol section; Figures 1 and 2.</p> <p>----- -/--</p>	1-20

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 February 2016

Date of mailing of the international search report

18/02/2016

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

C.F. Angioni

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/069454

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	DAVID C. RINKER ET AL: "Novel high-throughput screens of Anopheles gambiae odorant receptors reveal candidate behaviour-modifying chemicals for mosquitoes", PHYSIOLOGICAL ENTOMOLOGY, vol. 37, no. 1, 23 February 2012 (2012-02-23), pages 33-41, XP55225549, GB	1-14,20
A	ISSN: 0307-6962, DOI: 10.1111/j.1365-3032.2011.00821.x the whole document In particular: Title; Abstract; Introduction, last section with title "High throughput approach to insect control by modifying behaviour"; Materials and methods section; Figures 1-4	15-19
X	WO 03/020913 A2 (SENTIGEN CORP [US]; LEE KEVIN J [US]; ONG JANE [US]; NGUYEN THUY-AI T) 13 March 2003 (2003-03-13)	1-14,20
Y	the whole document In particular: Table 2, 5th item; Page 13, line 10-22; Claims 75-118.	15-19
X	P. K. RICHGELS ET AL: "Genetic Variation in Odorant Receptors Contributes to Variation in Olfactory Behavior in a Natural Population of Drosophila melanogaster", CHEMICAL SENSES., vol. 37, no. 3, 29 October 2011 (2011-10-29), pages 229-240, XP55225245, GB	1-14,20
A	ISSN: 0379-864X, DOI: 10.1093/chemse/bjr097 the whole document In particular: Abstract; Materials and methods section; Figure 5d + page 235-236, bridging paragraph.	15-19
A	NICOLAS THIEBAUD ET AL: "Odorant Metabolism Catalyzed by Olfactory Mucosal Enzymes Influences Peripheral Olfactory Responses in Rats", PLOS ONE, vol. 8, no. 3, 26 March 2013 (2013-03-26), page e59547, XP55225408, DOI: 10.1371/journal.pone.0059547 the whole document In particular: Abstract; Materials and methods section.	1-20

-/--		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2015/069454

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	W0 01/68805 A2 (SENO MYX INC [US]) 20 September 2001 (2001-09-20)	1-14,20
Y	the whole document In particular: p.1, field of invention; p. 19-21, detailed description of invention; p. 74-75, bridging paragraph; p. 170, AOLFR207 (SEQ ID NOs: 385 and 386); Claims 85-124. -----	15-19
Y	EP 1 391 508 A1 (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; GIVAUDAN SA [CH]) 25 February 2004 (2004-02-25) the whole document In particular: Claims 1-28. -----	1-20
Y	W0 00/35274 A1 (UNIV JOHNS HOPKINS MED [US]; REED RANDALL R [US]; KRAUTWURST DIETMAR []) 22 June 2000 (2000-06-22) the whole document In particular: Claims 29-40. -----	1-20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2015/069454

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03020913	A2	13-03-2003	AU 2002326834 A1 WO 03020913 A2	18-03-2003 13-03-2003
WO 0168805	A2	20-09-2001	AU 4736601 A CA 2401406 A1 EP 1299528 A1 JP 2004504010 A WO 0168805 A2	24-09-2001 20-09-2001 09-04-2003 12-02-2004 20-09-2001
EP 1391508	A1	25-02-2004	NONE	
WO 0035274	A1	22-06-2000	AU 2196200 A US 6492143 B1 US 2003082615 A1 US 2003175744 A1 US 2006094047 A1 WO 0035274 A1	03-07-2000 10-12-2002 01-05-2003 18-09-2003 04-05-2006 22-06-2000

International Application No. PCT/ EP2015/ 069454

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-20(partially)

A screening method as defined in claim 1, wherein the receptor to be tested is OR10a.

2-386. claims: 1-20(partially)

A screening method as defined in claim 1, wherein the receptor to be tested is one of the remaining genes listed in claim 7.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	A
C 1 2 N 15/00 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	Z N A
C 0 7 K 14/705 (2006.01)	C 0 7 K 14/705	

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), EP(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(72)発明者 カールトン、アラン ジャック アンリ サイラス
 スイス国 セーアシュ - 1 0 2 6 ダンジュ シュマン デュ モンテイロン 1

(72)発明者 ロスィエ、ダニエル
 スイス国 セーアシュ - 1 2 0 8 ジュネーブ シュマン フランク - トマ 4 0

F ターム(参考) 4B063 QA01 QA20 QQ02 QQ79 QR08 QR32 QR36 QS34 QX02
 4B065 AA90X AC20 CA41 CA43 CA44 CA46 CA51
 4H045 AA10 BA10 BA17 CA40 DA50 EA01 EA15 EA20