

明 細 書

発明の名称：悪臭抑制素材のスクリーニング方法

技術分野

[0001] 本発明は、悪臭抑制素材の候補物質をスクリーニングする方法に関する。

背景技術

[0002] 近年、消費者の嗜好性の多様化や生活環境の多様化が進むにつれ、身の回りの臭気・悪臭に対して敏感な人が増えている。その範囲は、食品中に含まれるわずかな異臭（オフフレーバー）から生活空間中の好ましくないニオイ（マルオーダー）に至るまで多岐にわたっており、これら悪臭（オフフレーバー・マルオーダー）を有効に低減又は消臭させる技術の開発が、生活の質の向上のために求められている。

[0003] 食品中や生活空間における重要悪臭の一つとして、「ほこり臭」が挙げられる。インターネット上で「味 ほこりっぽい」と検索すると、様々な場面で多くの人がこの「ほこり臭」を異味異臭として捉えていることが窺える。この「ほこり臭」が存在すると、ほこりっぽく、土臭く、青臭く、粉っぽく、薬くさく、又はカビ臭く感じられる。例えば、特許文献1には、高感度甘味料アスパルテムをある種のフルーツ香料と組み合わせたチューインガム等の菓子類は、ホコリっぽく、土臭く、粉っぽく、薬くさく、カビ臭くなってしまう「青臭み」、すなわち「ほこり臭」、が経時的に発生する問題が記載されている。この「ほこり臭」は、土臭い (Earthy) - ほこりっぽい (Dusty) - カビっぽい (Musty, Moldy) - 煙っぽい (Smokey) - ゴボウ様 (Galbanum) - ピーマン様 (Bell pepper) - 野菜臭 (Vegetable) - 豆臭 (Green pea)、等々の表現の組み合わせによってさまざまに記述され、文献等においては、「Earthy-Dusty」、「Earthy-Musty」、又は「Dusty-Moldy」のような2語縮約された形（「主香調-副香調」）で表現されることが多く、感覚的には理解されているものの、感覚的ゆえに表現としては統一されていない。

[0004] 「ほこり臭」の原因物質は、例えば、加工食品中では、加工プロセスにおいて、食品中に存在するアミノ酸、香料及び添加物等の化学反応により生じるピリジン類又はピラジン類が主な原因物質の一つと考えられている。また、加工プロセスだけではなく、自然界に存在する環境微生物の作用によって「ほこり臭」が発生する場合もある。例えば、飲料水においては、池や川に存在する環境微生物による代謝分解により生じる2-イソプロピル-3-メトキシピラジン及び2-イソブチル-3-メトキシピラジン等のアルキルメトキシピラジン類が飲料水に混入することで、ほこりっぽく、土臭く、青臭く、生臭く、かび臭いような「ほこり臭」を感じる原因となる（非特許文献1）。また、生活空間において、「ほこり臭」に該当するものとして、たばこ臭、焼肉臭、調理臭、キッチン臭、生ごみ臭、河川悪臭等に含まれる一部のピラジン類が原因であるとして多くの文献で言及されている。

ピリジン類及びピラジン類は「ほこり臭」の主な原因物質と考えられるが、全ての「ほこり臭」がピリジン類又はピラジン類であると断定されているわけではなく、また、全てのピラジン類が「ほこり臭」を有するわけでもない。非特許文献2によれば、ピラジン化合物の匂いは、少しの側鎖構造の違いによりハーブ様、焦げ臭、ナッツ様、チョコレート様、土臭さ、青臭さ、など鋭敏に変化し、特にメトキシ基の入ったピラジンは、非常に青臭く（ピーマン様）、ホコリっぽく、土臭い匂い、すなわち、「ほこり臭」となることが知られている。

[0005] このような「ほこり臭」の発生は、食品においては商品価値を損ない、生活空間においては不快感を惹起するため、「ほこり臭」を感じにくくする香料素材の探索は、衣食住の両側面から生活の質の向上のために非常に重要である。このような悪臭の低減又は消臭物質の探索法は、一般的には、悪臭の原因物質を特定したのち、匂いの評価の専門家が、膨大な数の悪臭抑制素材の候補物質を官能評価により一つ一つ確認する手法がとられている。この一般的な従来法はスループット性が低いという問題点がある。近年確立された分子生物学的な手法においては、特定された悪臭原因物質に応答する嗅覚受

容体を探索し、その嗅覚受容体の応答を抑制するアンタゴニストたる悪臭抑制素材の候補物質を一斉に *in vitro* でスクリーニングすることで、特定の悪臭原因物質に対する嗅覚受容体のアンタゴニストを該悪臭ブロッカーとして、迅速に悪臭抑制素材を特定することができる。但し、特定の嗅覚受容体応答を抑制する悪臭抑制剤のスクリーニングは、一般的には該悪臭の原因物質を特定せねば該悪臭に応答する嗅覚受容体を特定出来ないため、悪臭原因物質の特定自体が第一の課題となる。

[0006] ヒトの嗅覚受容体は約400種類が存在し、一つの匂い物質は、数種類の嗅覚受容体に応答することが多く、特定の香調及び構造を認識する香調特異性の高いNarrowly-Tuned嗅覚受容体と、幅広い匂い物質を区別なく認識するBroadly-Tuned嗅覚受容体との複合的な応答のCombinatorial Codeによって識別されている（非特許文献3）。そのため、悪臭抑制素材の探索においては、悪臭原因物質が応答する数種類の嗅覚受容体の中でも、Broadly-Tuned嗅覚受容体でない、該悪臭の認識に真に関連している嗅覚受容体を特定することは重要である。例えば、非特許文献4では、アンドロステノンに応答する数個の嗅覚受容体のうち、嗅覚受容体OR7D4がアンドロステノン臭の悪臭認識に関する真に重要な嗅覚受容体として報告されている。

[0007] また、Narrowly-Tuned嗅覚受容体は、応答の強弱こそあれ、ある程度類似構造を持つ化合物に選択的に応答することが多く、かつ、同じ香調であれば異なる構造化合物群であっても同じ嗅覚受容体に応答する香調特異性を有する場合がある事が報告されている。例えば、非特許文献5には、ムスク香に極めて高い香調特異性を持つNarrowly-Tuned嗅覚受容体OR5AN1が、構造の異なる化合物群である大環状ムスク群、及びニトロムスク群に応答することが示されており、主香調が同じであれば同一の嗅覚受容体に認識されることが示されている。

[0008] 現在までに、「ほこり臭」と明確に紐づけられている嗅覚受容体は特定されていないが、非特許文献6には、2-イソプロピル-3-メトキシピラジン、2-メトキシ-3-(1-メチルプロピル)ピラジン、及び2-イソブ

チルー 3-メトキシピラジンが嗅覚受容体 OR 2 A G 1 に応答すること、これらの物質が、青臭さ (Green)、カビっぽさ (Musty)、ピーマン様 (Bell pepper)、ゴボウ様 (Galbanum) の臭気を持つ、いわゆる「ほこり臭」の香気特徴を有することが示されている。しかしながら、非特許文献 6 においては、OR 2 A G 1 応答をブロックする匂い物質 (アンタゴニスト) により「ほこり臭」が低減されるか否かの *in vitro* 受容体抑制実験と官能評価が実施されておらず、「ほこり臭」が OR 2 A G 1 以外の嗅覚受容体を介して認識されている可能性は否定できず、OR 2 A G 1 が「ほこり臭」の香調と結びついているか依然不確かである。

[0009] また、「ほこり臭」と似たような香調表現を持つ匂いで、カビ臭く、土っぽく、泥っぽい匂いと表現され、「カビっぽい (Musty, Moldy) - 土臭い (Earthy)」のような 2 語縮約表現されることの多い重要悪臭物質として、ジオスミン及び 2-メチルイソボルネオールが挙げられるが、これらの匂いは、主香調に基づいてカビ臭と表現するのが正確であり、「ほこり臭」とは別質である。これら 2 物質は、おのおの嗅覚受容体 OR 1 1 A 1 および OR 2 M 3 に特異的に応答することが知られている (特許文献 2)。

また、側鎖長 C 1 ~ C 2 のピラジン類は OR 5 K 1 に応答するとされているが (非特許文献 6、特許文献 3)、この OR 5 K 1 応答性の側鎖長 C 1 ~ C 2 のピラジン類は、一部のみしか「ほこり臭」の香気特徴を有していない。

先行技術文献

特許文献

[0010] 特許文献 1 : 特開 2 0 0 9 - 1 3 1 2 2 8 号公報

特許文献 2 : 特開 2 0 1 4 - 2 3 5 0 9 8 号公報

特許文献 3 : 特表 2 0 1 5 - 5 1 2 0 3 2 号公報

非特許文献

[0011] 非特許文献 1 : Journal of Chromatography A, 1428 (2016) 72-85

非特許文献 2 : 井上重治, 微生物と香り: ミクロ世界のアロマの力, p. 60-61 (2

002)

非特許文献3: Journal of Neuroscience 22 June 2011, 31 (25) 9179-9191

非特許文献4: Nature. 2007 Sep 27;449(7161):468-72

非特許文献5: The Journal of Neuroscience, April 20, 2016, 36(16):4482-44

非特許文献6: ECRO XXV Istanbul: "Functional characterization of human olfactory receptors responding to pyrazine odorants". September 1, 2015, Posters

非特許文献7: Nature Communications 10:209 (2019)

非特許文献8: J Vis Exp. 2019 Apr 23; (146): 10.3791/59446

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0012] 「ほこり臭」は食品中や生活環境中に存在する重要悪臭にも関わらず、原因物質の一部しか知られておらず、その化学的な実体は不明瞭である。また、「ほこり臭」の香気特徴を有する一部の化合物に応答する嗅覚受容体は開示されているものの、「ほこり臭」の認識を真に関連付けられたNarrowly-Tuned嗅覚受容体であるか不明である。

このような状況の下、「ほこり臭」の化学的な実体を明らかにし、「ほこり臭」に特異的に応答する嗅覚受容体を特定し、該「ほこり臭」抑制素材の候補物質を効率的にスクリーニングする方法等を提供することが望まれている。

課題を解決するための手段

[0013] 本発明は、上記状況を考慮してなされたもので、以下に示す、悪臭抑制素材の候補物質をスクリーニングする方法を提供するものである。

[0014] [1] 悪臭抑制素材のスクリーニング方法であって、

嗅覚受容体OR2AG2、及び前記嗅覚受容体が有するアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつ悪臭原因物質に対して応答性を示すポリペプチドからなる群より選択される少なくとも1種の嗅覚

受容体ポリペプチドに、試験物質及び悪臭原因物質を作用させること；

前記悪臭原因物質に対する前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定すること；及び

測定された応答に基づいて前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を抑制する試験物質が、悪臭抑制素材の候補物質であると同定することを含む方法。

〔2〕前記悪臭が、「ほこり臭」と表現される悪臭であって、

ほこりっぽく、場合によって、土臭い、青臭い、粉っぽい、薬臭い及びカビ臭いからなる群より選ばれる少なくとも1つの香気特徴を有し、

前記香気特徴を表現する記述子として、「ほこりっぽい（Dusty／ダスティー）」、「土臭い（Earthy／アーシー）」及び「青臭い（bell pepper／ピーマン様又はvegetable／野菜様）」からなる群より選ばれる表現、もしくはそれに準ずる類似表現を少なくとも1つ主香調に含む匂いであって、

場合により、ヒトに不快感を与える匂いである、前記〔1〕に記載の方法。

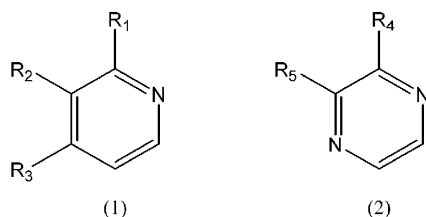
〔3〕前記悪臭が、前記香気特徴を表現する記述子として、「ほこりっぽい（Dusty／ダスティー）」、「青臭い（bell pepper／ピーマン様）」及び「青臭い（vegetable／野菜様）」からなる群より選ばれる表現を少なくとも1つ主香調に含む匂いである、前記〔2〕に記載の方法。

〔4〕前記悪臭が、前記香気特徴を表現する記述子として、「ほこりっぽい（Dusty／ダスティー）」及び「青臭い（bell pepper／ピーマン様）」からなる群より選ばれる表現を少なくとも1つ主香調に含む匂いである、前記〔3〕に記載の方法。

〔5〕前記悪臭が、前記嗅覚受容体OR2AG2応答性の悪臭である、前記〔1〕から〔4〕のいずれか一項に記載の方法。

〔6〕前記悪臭原因物質が、下記式（1）又は（2）：

[化1]



〔式（１）中、 R_1 は、水素原子、炭素数１～３の分岐しないアルキル基、炭素数４～６の分岐してもよいアルキル基、又は炭素数１～３のアルコキシ基を表し、 R_2 及び R_3 は、それぞれ独立して、水素原子、炭素数１～６の分岐してもよいアルキル基、又は炭素数１～３のアルコキシ基を表し、

式（２）中、 R_4 及び R_5 は、それぞれ独立して、水素原子、炭素数１～６の分岐してもよいアルキル基、又は炭素数１～３のアルコキシ基を表す。〕
で示される化合物からなる群より選ばれる１種以上を含む、前記〔１〕から〔５〕のいずれか一項に記載の方法。

〔７〕前記嗅覚受容体を内因的に発現する細胞上、又は前記嗅覚受容体を遺伝子操作により人為的に発現させた細胞上で、前記悪臭原因物質に対する前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定する、前記〔１〕から〔６〕のいずれか一項に記載の方法。

〔８〕前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を、レポーターアッセイ又はカルシウムイメージングにより測定する、前記〔１〕から〔７〕のいずれか一項に記載の方法。

発明の効果

〔００１５〕 本発明の方法を用いることにより、食品中や生活空間における重要悪臭である「ほこり臭」の原因物質と嗅覚受容体OR2AG2との結合を阻害する「ほこり臭」抑制素材の候補物質をスクリーニングすることができる。

また、本発明の一実施形態によれば、感覚的、抽象的、又は主観的に「ほこり臭」と表現される悪臭の化学的な実体が、嗅覚受容体OR2AG2応答性悪臭であることが特定されたことにより、原因物質未知の「ほこり臭」で

あっても、「ほこり臭」を有する混合物中に必ず含まれる原因物質が嗅覚受容体OR2AG2に結合することを利用でき、「ほこり臭」の原因物質を特定することなく、「ほこり臭」の抑制素材の候補物質をスクリーニングすることができる。

図面の簡単な説明

[0016] [図1] 2-イソブチル-3-メトキシピラジンに対する嗅覚受容体スクリーニング結果を示す図である。

[図2] 1367種類の匂い物質に対する嗅覚受容体OR2AG2の応答をスクリーニングし、a) OR2AG2に対してFold Increase値3以上、b) OR2AG2に対してFold Increase値50以上、で応答したものの割合とその主香調割合を示す図である。

[図3] a) 3-エチル-2-ペンチルピリジン (3E2P-ピリジン)、b) 2-メトキシ-3-イソプロピルピラジン (2M3IP-ピラジン)、c) 2-イソブチル-3-メトキシピラジン (2IB3M-ピラジン)、d) 2-sec-ブチル-3-メトキシピラジン (2sB3M-ピラジン) に対する嗅覚受容体OR2AG2の濃度依存的応答の測定結果を示す図である。

[図4] a) 3-エチル-2-ペンチルピリジン、b) 2-メトキシ-3-イソプロピルピラジン、c) 2-イソブチル-3-メトキシピラジン、d) 2-sec-ブチル-3-メトキシピラジンに対する嗅覚受容体OR2AG2の各アンタゴニストによる、濃度依存的なOR2AG2応答抑制の測定結果を示す図である。

[図5] a) 3-エチル-2-ペンチルピリジン (3E2P-ピリジン)、b) 2-メトキシ-3-イソプロピルピラジン (2M3IP-ピラジン)、c) 2-イソブチル-3-メトキシピラジン (2IB3M-ピラジン)、d) 2-sec-ブチル-3-メトキシピラジン (2sB3M-ピラジン) に対する嗅覚受容体OR2AG2の各アンタゴニストが、「ほこり臭」を抑制することを示す官能試験結果を示す図である。

[図6] 構成成分未知の「ほこり臭」を有する抽出物に対する嗅覚受容体OR2

A G 2 の濃度依存的応答の測定結果を示す図である。

[図7]構成成分未知の「ほこり臭」を有する抽出物に対する嗅覚受容体 O R 2 A G 2 のアンタゴニストによる、濃度依存的な O R 2 A G 2 応答抑制の測定結果を示す図である。

[図8]構成成分未知の「ほこり臭」を有する抽出物に対する嗅覚受容体 O R 2 A G 2 のアンタゴニストが、「ほこり臭」を抑制することを示す官能試験結果を示す図である。

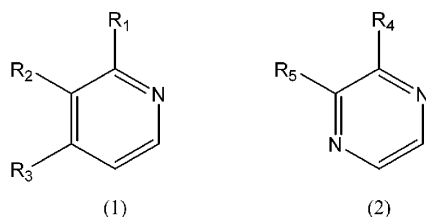
発明を実施するための形態

[0017] 本発明の概要

本発明においては、「ほこり臭」と表現される悪臭の原因物質に、特異的応答を示す嗅覚受容体 O R 2 A G 2 を特定し利用することで、該「ほこり臭」抑制素材の候補物質を効率的にスクリーニングする方法、ひいては、該「ほこり臭」の不快感を低減する「ほこり臭」抑制組成物を提供する。

[0018] 本発明者らは、感覚的、抽象的又は主観的に「ほこり臭」と表現される悪臭の化学的な実体を解明するために、「ほこり臭」の代表物質として 2-イソブチル-3-メトキシピラジンのヒト嗅覚受容体 396 個のスクリーニングを実施し、「ほこり臭」の代表物質 2-イソブチル-3-メトキシピラジンが嗅覚受容体 O R 2 A G 2 に特徴的に強く応答することを特定した（図 1）。さらに、本発明者らは、さまざまな構造・さまざまな香調をもつ 1367 種類もの匂い物質に対する該嗅覚受容体 O R 2 A G 2 の応答をスクリーニングし、O R 2 A G 2 応答と香調との関係を集約した。その結果、（i）O R 2 A G 2 に応答する匂い物質の多くが「ほこり臭」の特徴を有していること、（i i）特に強く応答する匂い物質は全て「ほこり臭」の特徴の強い化合物であること、とりわけ、（i i i）下記式（1）又は（2）で表される化合物の一群が O R 2 A G 2 に強い応答を示すこと、の新規知見を得た（図 2、3）。

[化2]



[式(1)中、 R_1 は、水素原子、炭素数1～3の分岐しないアルキル基、炭素数4～6の分岐してもよいアルキル基、又は炭素数1～3のアルコキシ基を表し、 R_2 及び R_3 は、それぞれ独立して、水素原子、炭素数1～6の分岐してもよいアルキル基、又は炭素数1～3のアルコキシ基を表し、

式(2)中、 R_4 及び R_5 は、それぞれ独立して、水素原子、炭素数1～6の分岐してもよいアルキル基、又は炭素数1～3のアルコキシ基を表す。]

[0019] ここで、炭素数1～6の分岐してもよいアルキル基としては、メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、*n*-ペンチル、イソペンチル、*sec*-ペンチル、*tert*-ペンチル、ネオペンチル、*n*-ヘキシル、1-メチルペンチル、2-メチルペンチル、3-メチルペンチル、2-エチルブチルなどが挙げられる。中でも、メチル、エチル、イソプロピル、イソブチル、*sec*-ブチル、*n*-ペンチルが好ましい。

炭素数1～3の分岐しないアルキル基としては、メチル、エチル、プロピルが挙げられる。

炭素数4～6の分岐してもよいアルキル基としては、*n*-ブチル、イソブチル、*sec*-ブチル、*tert*-ブチル、*n*-ペンチル、イソペンチル、*sec*-ペンチル、*tert*-ペンチル、ネオペンチル、*n*-ヘキシル、1-メチルペンチル、2-メチルペンチル、3-メチルペンチル、2-エチルブチルなどが挙げられる。

炭素数1～3のアルコキシ基としては、メトキシ、エトキシ、プロポキシ、イソプロポキシが挙げられる。

[0020] また、本発明者らは該嗅覚受容体OR2AG2の応答をブロックするアン

タゴニストは「ほこり臭」の抑制効果を有していること（図4、図5）から、該嗅覚受容体OR2AG2は「ほこり臭」認識と強く紐づいたNarrowly-Tuned嗅覚受容体であることを見出した。

これらの知見により、これまで感覚的、抽象的又は主観的に「ほこり臭」と表現されてきた悪臭の化学的な実体が、嗅覚受容体OR2AG2応答性悪臭であることが特定された。

本発明者らはさらに検討を進め、「ほこり臭」の原因物質単体だけでなく、構成成分未知の「ほこり臭」であっても、該嗅覚受容体OR2AG2の応答を確認し、該嗅覚受容体OR2AG2アンタゴニストを探索し、そのマスキング効果を利用することで、悪臭抑制素材の評価及び選択が可能であることを見出した（図6、7及び8）。

本発明はこれらの新規知見に基づいて見出されたものである。

[0021] 以下、本発明に係る悪臭抑制素材の候補物質のスクリーニング方法（以下、本発明のスクリーニング方法という）について具体的に説明する。

前述したとおり、本発明のスクリーニング方法は、悪臭抑制素材のスクリーニング方法であって、

嗅覚受容体OR2AG2、及び前記嗅覚受容体が有するアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつ悪臭原因物質に対して応答性を示すポリペプチドからなる群より選択される少なくとも1種の嗅覚受容体ポリペプチドに、試験物質及び悪臭を作用させること；

前記悪臭に対する前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定すること；及び

測定された応答に基づいて前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を抑制する試験物質が、悪臭抑制素材の候補物質であると同定することを含むものである。本発明において「悪臭」は、上記方法によって抑制素材の候補物質をスクリーニングできる悪臭であって、より好ましくは「ほこり臭」と表現される悪臭を意味する。

[0022] 本発明は、例えば、以下の実施形態にしたがって実施することができる。

[0023] 一実施形態として、本発明は、「ほこり臭」原因物質に対して応答性を示す嗅覚受容体を用いて、試験物質の中から「ほこり臭」抑制素材の候補物質をスクリーニングする方法であって、

(i) 嗅覚受容体OR2AG2、及び前記嗅覚受容体が有するアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつ「ほこり臭」原因物質に対して応答性を示すタンパク質（ポリペプチド）からなる群より選択される嗅覚受容体と「ほこり臭」とを作用させ、「ほこり臭」原因物質を作用させる以前の嗅覚受容体の基礎活性応答（T0）及び「ほこり臭」原因物質作用後の任意の時間での「ほこり臭」に対する嗅覚受容体の応答（Tx）を測定する工程と、

(ii) 工程(i)における測定結果の「ほこり臭」原因物質を作用させる以前の嗅覚受容体の基礎活性応答（T0）と、「ほこり臭」原因物質作用後の任意の時間での「ほこり臭」に対する嗅覚受容体の応答（Tx）とを比較して、応答性の変化値を計算して求める工程と、

(iii) 工程(i)において「ほこり臭」原因物質に試験物質を作用させて、工程(ii)と同様に応答性の変化値を計算して求める工程と、

(iv) 工程(ii)と比較して工程(iii)の値が低減した試験物質を、「ほこり臭」抑制素材の候補物質として選択する工程とを含むことを特徴としている。

[0024] 本発明のスクリーニング方法は、嗅覚受容体OR2AG2、及び前記嗅覚受容体が有するアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつ悪臭又は「ほこり臭」原因物質に対して応答性を示すタンパク質（ポリペプチド）からなる群より選択される嗅覚受容体に対する試験物質の応答性を指標として、試験物質の中から悪臭又は「ほこり臭」抑制素材の候補物質を選択するものである。

[0025] 一般に、1つの匂い物質が複数の嗅覚受容体を活性化した結果、好き嫌い、誘引や忌避などの情動や行動が引き起こされることが知られており、非特許文献7によれば、一つ一つの嗅覚受容体には匂いの「質」が規定されてい

ることが示されている。さまざまな構造及びさまざまな香調をもつ1367種類もの匂い物質に対するOR2AG2応答を測定し、OR2AG2応答と香調との関係を鋭意検討集約したところ、OR2AG2に応答する物質は少なからず「ほこり臭」の匂い要素を有していること、OR2AG2のアнтаゴニスト化合物が「ほこり臭」の不快感を低減せしめることから、OR2AG2は嫌いや忌避のような情動を引き起こす、不快な匂い（「ほこり臭」）の「質」と関連付けられるNarrowly-Tuned嗅覚受容体であることが分かる。このことから、嗅覚受容体OR2AG2に対する試験物質の応答性を評価することによって、試験物質の中から「ほこり臭」が該嗅覚受容体OR2AG2と作用することを妨げることができる候補物質を選択することができる。

なお、本明細書において、試験物質とは、特に限定するものではないが、悪臭抑制効果の調査対象をいい、化合物、組成物または混合物をいうものとする。また、本明細書において悪臭抑制素材とは、特に限定するものではないが、悪臭を抑制することができる化合物、組成物または混合物をいうものとする。以下、本発明のスクリーニング方法の各工程（前述の工程（i）～（iv））について説明する。

[0026] <工程（i）>

工程（i）では、嗅覚受容体OR2AG2、及び前記嗅覚受容体が有するアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつ「ほこり臭」原因物質に対して応答性を示すタンパク質（ポリペプチド）からなる群より選択される嗅覚受容体と「ほこり臭」原因物質とを作用させ、「ほこり臭」原因物質を作用させる以前の嗅覚受容体の基礎活性応答（T0）及び「ほこり臭」原因物質作用後の任意の時間での「ほこり臭」に対する嗅覚受容体の応答（Tx）を測定する。基礎活性応答（T0）における測定結果と応答（Tx）における測定結果とを適切に比較するために、「ほこり臭」原因物質の作用の有無を除いて、測定条件は同じであることが好ましい。

[0027] 嗅覚受容体としては、OR2AG2、及びOR2AG2が有するアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつ「ほこり臭」

原因物質に対して応答性を示すタンパク質（ポリペプチド）からなる群より選択される嗅覚受容体が用いられる。

OR2AG2は、GenBankにNM_001004490として登録されており、配列番号1で示される塩基配列の第893番目から第1843番目のDNAによってコードされるアミノ酸配列（配列番号2）からなるタンパク質である。

該嗅覚受容体OR2AG2は、「ほこり臭」原因物質に選択的に応答することから、OR2AG2を用いたスクリーニング方法は、「ほこり臭」抑制素材の開発に貢献できるものと期待される。

[0028] 嗅覚受容体として、OR2AG2が有するアミノ酸配列と80%以上、好ましくは85%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上、特に好ましくは98%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつ「ほこり臭」原因物質に対して応答性を示すタンパク質からなる群より選択される嗅覚受容体を用いてもよい。なお、本明細書においてアミノ酸配列の配列同一性は、BLAST検索アルゴリズム（NCBIより公に入手できる）によって算出される。また「ほこり臭」原因物質に対して応答性を示すとは、「ほこり臭」原因物質を作用させる以前の嗅覚受容体の基礎活性応答（T0）と、「ほこり臭」原因物質作用後の任意の時間での「ほこり臭」に対する嗅覚受容体の応答（Tx）とを比較して、応答値に変化があることをいう。

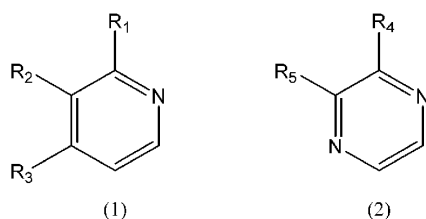
嗅覚受容体は、一種で用いてもよく、二種以上を組み合わせ用いてもよい。

[0029] 本発明において、「ほこり臭」とは、ほこりっぽく、場合によって、「土臭い」、「青臭い」、「粉っぽい」、「葉臭い」及び「カビ臭い」からなる群より選ばれる少なくとも1つの香気特徴を有する匂いであって、前記香気特徴を表現する記述子として、「ほこりっぽい（Dusty/ダスティー）」、「土臭い（Earthy/アーシー）」及び「青臭い（bell pepper/ピーマン様又はvegetable/野菜様）」からなる群より選ばれる表現、もしくはそれに準ずる

類似表現を少なくとも1つ主香調に含む匂いであって、場合により、ヒトに不快感を与える匂いである。ここで、「それに準ずる類似表現」とは、当業者が同じ香気特徴を表現する記述子として認識しうる表現であればよく、特に限定されない。例えば、「土臭い (Earthy/アーシー)」の類似表現としては、「ゴボウ様 (Galbanum)」、「煙っぽい (Smokey)」が挙げられる。また、例えば、「青臭い (bell pepper/ピーマン様又はvegetable/野菜様)」の類似表現としては、「野菜臭い (vegetable/ベジタブル)」、「ピーマン様/ピーマンっぽい (Bell pepper)」が挙げられる。本定義によれば、例えば、主香調が「カビっぽい (Musty, Moldy)」の記述子で表されるような、ジオスミンや2-メチルイソボルネオールは「ほこり臭」とは認められない。

悪臭原因物質、特に「ほこり臭」原因物質としては、例えば、下記式(1)又は(2)：

[化3]



[式(1)中、 R_1 は、水素原子、炭素数1～3の分岐しないアルキル基、炭素数4～6の分岐してもよいアルキル基、又は炭素数1～3のアルコキシ基を表し、 R_2 及び R_3 は、それぞれ独立して、水素原子、炭素数1～6の分岐してもよいアルキル基、又は炭素数1～3のアルコキシ基を表し、

式(2)中、 R_4 及び R_5 は、それぞれ独立して、水素原子、炭素数1～6の分岐してもよいアルキル基、又は炭素数1～3のアルコキシ基を表す。]で示される化合物が挙げられ、これらのピリジン類又はピラジン類の1種又は2種以上を含むことができる。式中の官能基の具体例については、前述したとおりである。

[0030] 本発明において、「ほこり臭」は、「ほこり臭」原因物質単体からなる「

ほこり臭」でもよく、「ほこり臭」を有する画分の抽出物等の「ほこり臭」を有する複合臭でもよい。「ほこり臭」を有してさえいれば、「ほこり臭」の原因物質が必ず含まれており、「ほこり臭」の原因物質が特定されている必要はない。

また、本発明において、嗅覚受容体と「ほこり臭」原因物質とを作用させるとは、「ほこり臭」の原因物質単体の溶液、もしくは「ほこり臭」を有する画分の抽出物などの「ほこり臭」を有する複合臭の溶液を嗅覚受容体発現細胞上に接触又は添加することだけでなく、気相による暴露も含まれる。嗅覚受容体発現細胞に匂いを暴露することで応答を取得できる方法は、非特許文献8などで知られている。

[0031] 本発明において、嗅覚受容体と「ほこり臭」原因物質とを作用させ、「ほこり臭」原因物質に対する嗅覚受容体の応答を測定する方法は特に制限されない。例えば、嗅覚受容体を発現している生体から単離された細胞に「ほこり臭」原因物質を作用させ、嗅覚受容体の応答を測定してもよいし、嗅覚受容体を遺伝子操作により人為的に発現させた細胞上で嗅覚受容体と「ほこり臭」原因物質とを作用させ、嗅覚受容体の応答を測定してもよい。嗅覚受容体と「ほこり臭」原因物質とを作用させる時間は、「ほこり臭」原因物質の濃度にも依存するため一概には言えないが、本発明におけるルシフェラーゼアッセイ法においては0～4時間、カルシウムイメージング法では数秒から数分程度である。

[0032] 嗅覚受容体を遺伝子操作により人為的に発現させた細胞は、嗅覚受容体をコードする遺伝子を組み込んだベクターを用いて細胞を形質転換することで作製することができる。

[0033] 本発明の好ましい態様では、嗅覚受容体と共に、ウシロドプシンのN末端20アミノ酸残基を組み込んでもよい。ウシロドプシンのN末端20アミノ酸残基を組み込むことにより、嗅覚受容体の細胞膜発現を促進することができる。

ウシロドプシンは、NCBI (GenBank) のウェブサイト「Accession number

: NM_001014890.2」や「Accession number : NP_001014890.1」として登録されている。ウシロドプシンは、配列番号3で示される塩基配列の第1番目から第1047番目のDNAによってコードされるアミノ酸配列（配列番号4）からなるタンパク質（ポリペプチド）である。

また、ウシロドプシンに代えて、配列番号4で示されるアミノ酸配列と80%以上、好ましくは85%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上、特に好ましくは98%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつ嗅覚受容体の細胞膜発現を促進することができるタンパク質（ポリペプチド）を用いてもよい。

なお、嗅覚受容体の細胞膜発現を促進できるものであれば、ウシロドプシンに限らず、他のタンパク質（ポリペプチド）のアミノ酸残基を用いてもよい。

[0034] 嗅覚受容体の応答を測定する方法は特に制限されなく、当分野で用いられている任意の方法を用いることができる。例えば、香気化合物が嗅覚受容体へ結合すると、細胞内のGタンパク質を活性化し、Gタンパク質がアデニル酸シクラーゼを活性化して、ATPを環状AMP（cAMP）へと変換し、細胞内のcAMP量を増加させることが知られている。したがって、cAMP量を測定することで嗅覚受容体の応答を測定することができる。cAMP量を測定する方法としては、ELISA法やレポーターアッセイ法等が用いられる。中でも、ルシフェラーゼなどの発光物質を用いたレポーターアッセイ法により嗅覚受容体の応答を測定することが好ましい。

[0035] <工程(i i)>

工程(i i)では、工程(i)における測定結果の「ほこり臭」原因物質を作用させる以前の嗅覚受容体の基礎活性応答(T0)と、「ほこり臭」原因物質作用後の任意の時間での「ほこり臭」に対する嗅覚受容体の応答(Tx)とを比較して、応答性の変化値を計算して求める。

本発明の一実施形態によれば、応答性の変化は、工程(i)における「ほこり臭」原因物質作用後の任意の時間での「ほこり臭」原因物質に対する嗅

覚受容体の応答 (Tx) における測定結果を、「ほこり臭」原因物質を作用させる以前の嗅覚受容体の基礎活性応答 (T0) における測定結果で割ることで求められる Fold Increase 値を指標として評価してもよい。例えば、ルシフェラーゼなどの発光物質を用いたレポーターアッセイ法により嗅覚受容体の応答を測定する場合、Fold Increase 値が好ましく 2 以上、より好ましくは 4 以上、さらに好ましくは 5 以上、あるいは 10 以上、15 以上、20 以上、25 以上、30 以上、40 以上、45 以上、又は 50 以上となる「ほこり臭」を使用して評価することができる。

[0036] <工程 (iii)>

工程 (iii) では、工程 (i) において「ほこり臭」原因物質に試験物質を作用させて、工程 (ii) と同様に応答性の変化値を計算して求める。基礎活性応答 (T0) における測定結果と応答 (Tx) における測定結果とを適切に比較するために、「ほこり臭」原因物質及び試験物質の作用の有無を除いて、測定条件は同じであることが好ましい。

[0037] <工程 (iv)>

工程 (iv) では、工程 (ii) と比較して工程 (iii) の値が低減した試験物質を、「ほこり臭」抑制素材の候補物質として選択する。

本発明では、工程 (ii) および (iii) における変化値の測定結果を比較して応答性の変化値の低減が見られた場合、工程 (iii) で用いた試験物質を、「ほこり臭」の抑制素材の候補物質として評価することができる。

[0038] 上記のようにして、試験物質の中から悪臭、特に「ほこり臭」と表現される悪臭の抑制素材の候補物質をスクリーニングすることができる。本発明によれば、人間の嗅覚によって行う官能評価による嗅覚疲労や個人差などによる問題を生じることなく、多数の試験物質の中から「ほこり臭」の抑制素材の候補物質を選択することができる。

選択された物質は、「ほこり臭」抑制素材の候補物質として用いることができる。選択された物質を基に必要に応じて改変等を行い、最適な匂いのす

る新規な化合物を開発することもできる。さらには、選択された物質を他の香料素材とブレンドして「ほこり臭」を抑制することができ、かつ最適な匂いのする香料素材を開発することも可能である。本発明のスクリーニング方法を用いることにより、「ほこり臭」抑制素材としての新しい香料素材の開発に貢献することができる。

実施例

[0039] 以下、実施例を挙げて本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例に何ら制限されるものではない。

[0040] [実施例 1]

「ほこり臭」の代表物質：2-イソブチル-3-メトキシピラジンに応答する嗅覚受容体の特定

(1-1) 嗅覚受容遺伝子クローニング

ヒト嗅覚受容体遺伝子は前述したNCBI(GenBank)のウェブサイトに登録されている塩基配列情報(配列番号1を参照)を基に、Human Genomic DNA: Female (Promega社)よりPCR法にてクローニングすることで得た。pME18SベクターにウシロドプシンのN末端20アミノ酸残基をコードするDNA(配列番号3の塩基配列の第1番目～第60番目の塩基からなるDNA)を組み込み、さらにその下流に、得られたヒト嗅覚受容体遺伝子を組み込むことで、ヒト嗅覚受容体遺伝子発現ベクターを得た。

[0041] (1-2) HEK293T細胞での嗅覚受容体遺伝子の発現

ヒト嗅覚受容体遺伝子発現ベクター0.05 μ g、RTP1Sベクター0.01 μ g、cAMP応答配列プロモーターを含むホタルルシフェラーゼベクターpGL4.29(Promega社)0.01 μ g、およびチミジンキナーゼプロモーターを含むウミシイタケルシフェラーゼベクターpGL4.74(Promega社)0.005 μ gをOpti-MEM 1(gibco社)10 μ Lに溶解して遺伝子溶液(1穴分)とした。HEK293T細胞を、24時間後にコンフルエントに達する細胞数で96穴プレート(

Biocoat、Corning社)に100 μ Lずつ播種し、Lipofectamine 3000の使用法に従ってリポフェクション法によって遺伝子溶液を各穴に添加して、細胞に遺伝子導入を行い、37℃、5%二酸化炭素雰囲気下で24時間培養した。

[0042] (1-3) ルシフェラーゼレポータージーンアッセイ

培養液を除去した後に、検体となる香気化合物を測定する濃度になる様にCD293 (gibco社) 培地 (20 μ M L-グルタミン添加) で調製したものを60 μ Lずつ添加し、3時間の刺激を行った後に、Dual-Luciferase Reporter Assay System (Promega社) の使用方法に従ってルシフェラーゼ活性を測定した。嗅覚受容体の応答強度は、香気化合物の刺激によって生じたルシフェラーゼ活性を、香気化合物を含まない試験系で生じたルシフェラーゼ活性で割ることで求められるFold Increase値を指標とした。

[0043] (1-4) 2-イソブチル-3-メトキシピラジンの嗅覚受容体スクリーニング

上記(1-1)～(1-3)に基づき、ヒト嗅覚受容体396種をそれぞれ発現させたHEK293細胞を作製し、1mMの2-イソブチル-3-メトキシピラジンを添加することで各嗅覚受容体396種の応答をFold Increase値として求めた。結果を図1に示す。

[0044] [実施例2]

嗅覚受容体OR2AG2が「ほこり臭」原因物質の香調特異的受容体であることの証明

(2-1) OR2AG2に応答する匂い物質のスクリーニング

ヒト嗅覚受容体OR2AG2遺伝子発現ベクターをクローニングし、HEK293T細胞に嗅覚受容体OR2AG2遺伝子を発現させた細胞に、細胞障害が生じない終濃度1 μ M～1mMの濃度範囲の最大適正濃度となるように計1367種類の匂い物質をおのおの調整・添加し、ルシフェラーゼレポータージーンアッセイを実施した。使用した計1367種類全ての匂い物質

には匂いの専門家による香調情報が付されており、ルシフェラーゼレポータージーンアッセイにより応答値が所定以上の匂い物質について、香調情報中の主香調を抽出し、各香調の占める割合を求めた。結果を図2に示す。

[0045] (2-2) 「ほこり臭」化合物がOR2AG2に濃度依存的に応答することの確認

ヒト嗅覚受容体OR2AG2遺伝子発現ベクターをクローニングし、HEK293T細胞に嗅覚受容体OR2AG2遺伝子を発現させた細胞に、図2にて示されたOR2AG2応答性化合物である「ほこり臭」を有する匂い物質の代表検体として、a) 3-エチル-2-ペンチルピリジン、b) 2-メトキシ-3-イソプロピルピラジン、c) 2-イソブチル-3-メトキシピラジン、d) 2-sec-ブチル-3-メトキシピラジンを終濃度が3 μ M、10 μ M、30 μ M、100 μ M、300 μ M、700 μ Mとなるように添加し、ルシフェラーゼレポータージーンアッセイを実施した。結果を図3に示す。

[0046] (2-3) 「ほこり臭」化合物に対するOR2AG2アンタゴニストの同定

ヒト嗅覚受容体OR2AG2遺伝子発現ベクターをクローニングし、HEK293T細胞に嗅覚受容体OR2AG2遺伝子を発現させた細胞を用い、試験物質がOR2AG2の応答を抑制する効果を、ルシフェラーゼレポータージーンアッセイによって測定するアンタゴニストスクリーニングを実施した。ルシフェラーゼレポータージーンアッセイにおいて、検体である各「ほこり臭」化合物に対し、約500種類の試験物質を各々混合して用い、各試験物質を混合しなかった試験でのFold Increase値を1とした際の、各試験物質を混合した試験でのFold Increase値をNormalized Responseとして求めた。検体に用いた各「ほこり臭」化合物の濃度は、a) 3-エチル-2-ペンチルピリジンは300 μ M、b) 2-メトキシ-3-イソプロピルピラジンは500 μ M、c) 2-イソブチル-3-メトキシピラジンは500 μ M、d) 2-sec-ブチル

ー3-メトキシピラジンは $500\mu\text{M}$ とし、各試験物質の濃度は、細胞障害が生じない終濃度 $1\mu\text{M}\sim 1\text{mM}$ の濃度範囲内に各々適正に調整した。各試験物質のNormalized Responseが1より小さい試験物質をOR2AG2の応答を抑制するアンタゴニスト物質とし、Normalized Responseがより小さい値を取る試験物質は強いアンタゴニスト物質と判断することが出来る。これにより特定した、「ほこり臭」化合物a)～d)の各アンタゴニストの一例として、a) 2, 4-デカジエナール、b) トランス-2-ノネナール、c) 2, 4-ウンデカジエナール、d) 2, 4-デカジエナールが濃度依存的に各検体物質のOR2AG2の応答を抑制する効果を、ルシフェラーゼレポータージーンアッセイによって測定した。検体の濃度は、a) 3-エチル-2-ペンチルピリジンは $300\mu\text{M}$ 、b) 2-メトキシ-3-イソプロピルピラジンは $500\mu\text{M}$ 、c) 2-イソブチル-3-メトキシピラジンは $500\mu\text{M}$ 、d) 2-sec-ブチル-3-メトキシピラジンは $500\mu\text{M}$ とし、各検体に対するアンタゴニストの濃度を $0\mu\text{M}$ 、 $10\mu\text{M}$ 、 $30\mu\text{M}$ 、 $100\mu\text{M}$ 、 $300\mu\text{M}$ として実施した。結果を図4に示す。

[0047] (2-4) OR2AG2アンタゴニストによる「ほこり臭」マスキング能力の評価

「ほこり臭」を有する各検体に対するOR2AG2アンタゴニストの「ほこり臭」抑制能を、官能評価によって確認した。各検体：a) 3-エチル-2-ペンチルピリジン、b) 2-メトキシ-3-イソプロピルピラジン、c) 2-イソブチル-3-メトキシピラジン、d) 2-sec-ブチル-3-メトキシピラジン、の 100mM 水溶液を $10\mu\text{L}$ ミューエット紙に滴下し、同時に滅菌水 $10\mu\text{L}$ （コントロール）または $200\mu\text{M}$ の各検体に対するOR2AG2アンタゴニスト：a) 2, 4-デカジエナール、b) トランス-2-ノネナール、c) 2, 4-ウンデカジエナール、d) 2, 4-デカジエナールを $10\mu\text{L}$ 滴下した。官能評価試験はパネル5名以上（検体a：7名、検体b-d：5名）で行い、「ほこり臭」化合物に蒸留水を滴下した場

合の匂いの強さを3～5とし、試験物質を滴下した場合の「ほこり臭」の強さを0（悪臭を感じない）から5（非常に強く悪臭を感じる）として評価した。得られた数値より平均値を算出した。結果を図5に示す。

[0048] 〔実施例3〕

未知の「ほこり臭」のOR2AG2応答を利用したマスキング剤探索への応用

（3－1）未知の「ほこり臭」のOR2AG2応答確認

原因物質が未知の「ほこり臭」としてよく知られている特許文献1に記載の、アスパルテームをある種のフルーツ香料と組み合わせた際に発生する「ほこり臭」を抽出するため、アスパルテーム、トランス－2－ヘキセナール、およびヘキサナールを1：1：1（質量比）にて混合し、60℃で1週間、穏やかに加温した反応物をヘキサンで抽出した。本抽出物を、ヘキサンと酢酸エチルを用いたシリカゲルカラムで中圧HPLCにより分画したのち、水とアセトニトリルを用いたODSカラムによる中圧HPLCにて分画し、さらに、水とアセトニトリルを用いたODSカラムによる高圧HPLCによる分画に供すことで、「ほこり臭」を含む匂い溶液を得た。この、構成成分未知の「ほこり臭」溶液を、終濃度0.05質量%、0.1質量%、0.2質量%となるようにHEK293T細胞に嗅覚受容体OR2AG2遺伝子を発現させた細胞に添加し、ルシフェラーゼレポータージーンアッセイを実施した。結果を図6に示す。

[0049] （3－2）未知の「ほこり臭」の対するOR2AG2アンタゴニストの同定

実施例2の（2－3）と同様、HEK293T細胞に嗅覚受容体OR2AG2遺伝子を発現させた細胞を用い、検体である「ほこり臭」を含む構成成分未知の匂い溶液によるOR2AG2の応答を試験物質が抑制する効果を、ルシフェラーゼレポータージーンアッセイによるアンタゴニストスクリーニングにより求めた。検体である「ほこり臭」を含む構成成分未知の匂い溶液0.1質量%に対し、終濃度1μM～1mMの約500種類の試験物質を混

合し、Normalized Responseを算出することで、Normalized Responseが1より小さくなるような構成成分未知の「ほこり臭」に対するOR2AG2アンタゴニストを得ることが出来た。アンタゴニストの一例として、トランス-2-ノネナールが、該構成成分未知の「ほこり臭」溶液のOR2AG2応答を抑制する効果を、ルシフェラーゼレポータージーンアッセイによって測定した。検体は終濃度0.1質量%とし、検体に対するトランス-2-ノネナールの濃度を0 μ M、1 μ M、2 μ M、4 μ Mとして実施した。結果を図7に示す。

[0050] (3-3) 構成成分未知の「ほこり臭」のOR2AG2アンタゴニストによるマスキング能の評価

構成成分未知の「ほこり臭」溶液を10 μ Lミューエット紙に滴下し、同時に滅菌水10 μ L (コントロール) または200 μ Mのトランス-2-ノネナールを10 μ L滴下した。官能評価試験はパネル5名で行い、「ほこり臭」溶液に蒸留水を滴下した場合の匂いの強さを3~5とし、トランス-2-ノネナールを滴下した場合の「ほこり臭」の強さを0 (悪臭を感じない) から5 (非常に強く悪臭を感じる) として評価した。得られた数値より平均値を算出した。結果を図8に示す。

[0051] 実施例の結果

396種類の嗅覚受容体について、「ほこり臭」の代表物質として2-イソブチル-3-メトキシピラジン (1 mM) に対する応答を測定した結果、嗅覚受容体OR2AG2が極めて強い応答を示した (図1)。OR2AG2の、さまざまな構造・さまざまな香調をもつ1367種類もの匂い物質に対する応答は、「ほこり臭」特異的であった (図2)。特に、式(1a)又は(1b)で表される化合物の一群がOR2AG2に応答を示し、各種「ほこり臭」化合物のOR2AG2応答は、濃度依存的であった (図3)。各種「ほこり臭」化合物のOR2AG2応答は、OR2AG2アンタゴニストにより濃度依存的に抑制され (図4)、ヒト生体においては、OR2AG2アンタゴニストは各種「ほこり臭」化合物の持つ「ほこり臭」を著しく感じにく

くした（図5）。このことから、OR2AG2を介して「ほこり臭」が認識されていることが明らかとなった。OR2AG2は、これまで生体的な機能が全く見出されていない新規の「ほこり臭」受容体である。

同様に、成分未知の「ほこり臭」を含む混合抽出物であっても、「ほこり臭」を有していればOR2AG2に濃度依存的応答を示した（図6）。構成成分未知の「ほこり臭」のOR2AG2応答は、OR2AG2アンタゴニストにより濃度依存的に抑制され（図7）、「ほこり臭」を著しく感じにくくした（図8）。このことから、原因物質が未同定であっても、OR2AG2応答を利用した「ほこり臭」の抑制素材の候補物質をスクリーニングすることができる。

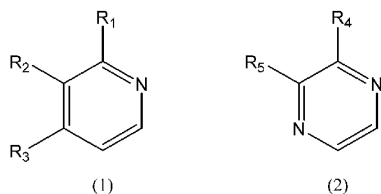
産業上の利用可能性

[0052] 本発明のスクリーニング方法を用いることにより、多数の試験物質の中から悪臭抑制素材、特に「ほこり臭」抑制素材の候補物質を選択することができる。本発明のスクリーニング方法は、悪臭抑制素材、特に「ほこり臭」抑制素材の開発に貢献できるものと期待される。

請求の範囲

- [請求項1] 悪臭抑制素材のスクリーニング方法であって、
嗅覚受容体OR2AG2、及び前記嗅覚受容体が有するアミノ酸配列と80%以上の同一性を有するアミノ酸配列を含み、かつ悪臭原因物質に対して応答性を示すポリペプチドからなる群より選択される少なくとも1種の嗅覚受容体ポリペプチドに、試験物質及び悪臭原因物質を作用させること；
前記悪臭原因物質に対する前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定すること；及び
測定された応答に基づいて前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を抑制する試験物質が、悪臭抑制素材の候補物質であると同定することを含む方法。
- [請求項2] 前記悪臭が、「ほこり臭」と表現される悪臭であって、
ほこりっぽく、場合によって、土臭い、青臭い、粉っぽい、葉臭い及びカビ臭いからなる群より選ばれる少なくとも1つの香気特徴を有し、
前記香気特徴を表現する記述子として、「ほこりっぽい（Dusty／ダスティー）」、「土臭い（Earthy／アーシー）」及び「青臭い（bell pepper／ピーマン様又はvegetable／野菜様）」からなる群より選ばれる表現、もしくはそれに準ずる類似表現を少なくとも1つ主香調に含む匂いであって、
場合により、ヒトに不快感を与える匂いである、請求項1に記載の方法。
- [請求項3] 前記悪臭が、前記嗅覚受容体OR2AG2応答性の悪臭である、請求項1に記載の方法。
- [請求項4] 前記悪臭原因物質が、下記式（1）又は（2）：

[化1]



[式(1)中、 R_1 は、水素原子、炭素数1～3の分岐しないアルキル基、炭素数4～6の分岐してもよいアルキル基、又は炭素数1～3のアルコキシ基を表し、 R_2 及び R_3 は、それぞれ独立して、水素原子、炭素数1～6の分岐してもよいアルキル基、又は炭素数1～3のアルコキシ基を表し、

式(2)中、 R_4 及び R_5 は、それぞれ独立して、水素原子、炭素数1～6の分岐してもよいアルキル基、又は炭素数1～3のアルコキシ基を表す。]

で示される化合物からなる群より選ばれる1種以上を含む、請求項1に記載の方法。

[請求項5]

前記嗅覚受容体を内因的に発現する細胞上、又は前記嗅覚受容体を遺伝子操作により人為的に発現させた細胞上で、前記悪臭原因物質に対する前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を測定する、請求項1に記載の方法。

[請求項6]

前記嗅覚受容体ポリペプチドの応答を、レポーターアッセイ又はカルシウムイメージングにより測定する、請求項1に記載の方法。