

# Die Biodiversität des Geruchssinns

## Mit neuen Methoden die molekulare Funktion der Geruchsrezeptoren erfassen

Dietmar Krautwurst (Freising/Weihenstephan)

Der Geruchssinn ist ein besonders eindrucksvolles Beispiel für Biodiversität – sowohl was die Anzahl der verschiedenen Geruchsrezeptoren (rund 390) betrifft als auch ihre individuell unterschiedliche Ausprägung. Welcher Geruchsstoff nun welchen Rezeptor am wirkungsvollsten aktiviert, ist für die allermeisten menschlichen Geruchsrezeptoren noch immer nicht bekannt. Neue, gentechnisch etablierte Zellsysteme und auf Fluoreszenz und Lumineszenz basierende bildgebende Verfahren erlauben es, die Funktion der Geruchsrezeptoren auf molekularer Ebene zu untersuchen.



### Wie Riechen funktioniert

Riechen ist eine Sinnesleistung ähnlich wie das Sehen. Beim Sehen wird Lichtenergie von wenigen, speziellen Rezeptoren (z. B. Rhodopsin) in den Sehzellen aufgefangen und die Information über Nervenzellen ins Gehirn weitergeleitet. Beim Riechen sind es hunderte verschiedenartige Geruchsrezeptoren, die sich wie biomolekulare Schalter an der Oberfläche von Sinnesnervenzellen der Riechschleimhaut befinden, und tausende von flüchtigen, chemischen Signalen der Außenwelt auffangen. Von dort werden die Geruchsinformationen in Form elektrischer Signale an das Gehirn weitergeleitet und ermöglichen es uns, eine Vielzahl unterschiedlichster Gerüche zu erkennen, zu unterscheiden und hinsichtlich ihrer Qualität und Stärke zu analysieren.

Man kann drei Geruchsrezeptorfamilien unterscheiden, deren Gene für Rhodopsin-ähnliche, G-Protein koppelnde Rezeptoren kodieren:

1. Geruchsrezeptoren der Riechschleimhaut,
2. Vomeronasal-Typ-1 Rezeptoren,
3. Rezeptoren, die flüchtige Amine erkennen (sog. 'Trace Amine-Associated Receptors').

Die Erkennung einer Vielzahl von Geruchsstoffen – allein in Lebensmitteln sind ca. 8 000 flüchtige Substanzen bekannt – ist hauptsächlich durch die große Familie der Geruchsrezeptoren gewährleistet, die beim Menschen von rund 390 Genen kodiert werden (vgl. Tab. 1), die für entsprechend viele Rezeptorproteine stehen. Dabei kann ein Rezeptor durch mehrere Geruchsstoffe aktiviert werden, und ein Geruchsstoff kann unterschiedliche Rezeptoren aktivieren. Die kombinatorische Herausforderung ist also enorm, auch wenn man annimmt, dass nur eine überschaubare Anzahl biologisch relevanter Geruchsstoffe die besten Aktivatoren unserer Geruchsrezeptoren darstellen – zum Beispiel Pheromone aus dem Achselschweiß, oder die rund 5 % aller flüchtigen Verbindungen in Lebensmitteln, welche Schlüsselaromastoffe darstellen.

Schlüsselaromen sind diejenigen Geruchsstoffe, anhand derer wir Lebensmittel erkennen und bewerten. Sie kommen im Lebensmittel in Konzentrationen oberhalb der menschlichen Geruchsschwelle vor und bestimmen maßgeblich das Aroma des jeweiligen Produkts. Obwohl Schlüsselaromastoffe in allen publizierten Tests mit menschlichen Geruchsrezeptoren nur zu 30 % repräsentiert waren, sind die

besten Aktivatoren für bislang 19 identifizierte Rezeptoren zu 50 % Schlüsselaromastoffe (Abb. 1).

An der Deutschen Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie (DFA) in Freising haben wir uns deshalb zum Ziel gesetzt, die molekularen Mechanismen zwischen Schlüsselaromastoffen und ihren Rezeptoren – und damit auch die Grundlagen des Geruchssinns – zu verstehen.

## Gentechnisch erstellte ‚riechende‘ Zellen

Die Natur der Sache erfordert einen ganzheitlichen Forschungsansatz – das Klonieren aller menschlichen Geruchsrezeptoren sowie die Etablierung genetisch modifizierter Zelllinien und neuer Screening-Assays für das funktionelle Testen hunderter biologisch relevanter Geruchsstoffe gegen hunderte Rezeptoren. Zu diesem Zweck haben wir gentechnisch menschliche Zelllinien (HeLa/Olf) entwickelt, denen wir Geruchsrezeptorgene einpflanzen können (Abb. 2). Die entsprechenden Geruchsrezeptoren werden dann von den Zellen auf ihrer Zelloberfläche eingebaut, und sind damit in der Lage,

**Tab. 1: Odorant-Rezeptor-Gene und ‚Pseudogene‘ im Genom ausgewählter Arten**

Spezies	Proteinkodierende Geruchsrezeptor-Gene	Nicht-proteinkodierende Geruchsrezeptor-‚Pseudogene‘
Rind	1152	977
Maus	1063	328
Hund	822	278
Mensch	388	414
Biene	163	7
Zebrafisch	155	21

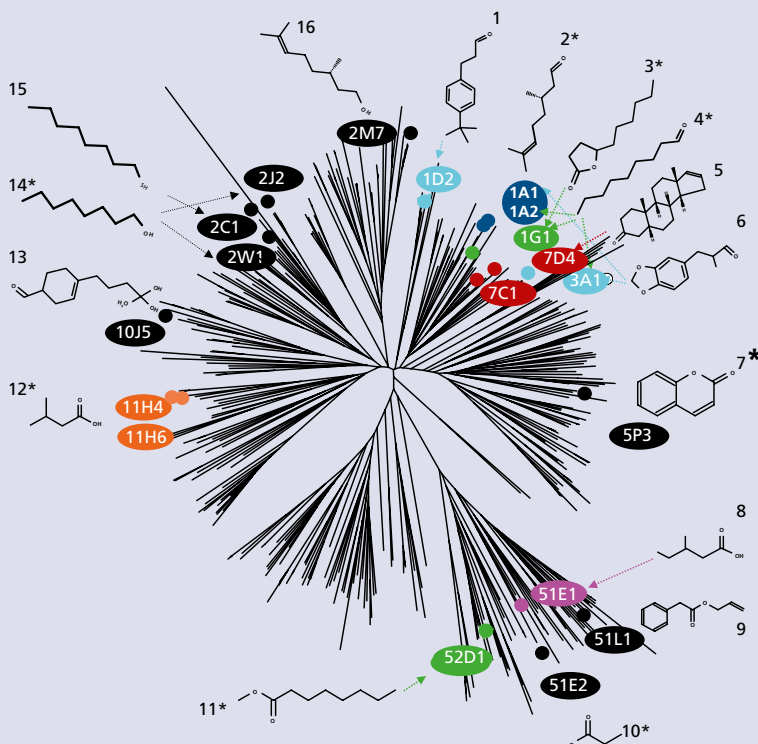
Geruchsstoffe zu erkennen. Darüber hinaus besitzen diese Zellen für die Umwandlung eines chemischen Geruchsreizes in ein zelluläres Signal dieselben Biomoleküle wie auch die Sinnesnervenzellen der Nase. Bei einer solchen, durch einen Geruchsstoff ausgelösten Signalumwandlungskaskade entstehen in den HeLa/Olf-Zellen die Signalmoleküle Ca<sup>2+</sup> und cAMP. Hier kann dann mit Hilfe einer gentechnisch in die Zellen eingebauten, cAMP-gesteuerten Luciferase Lumineszenz, bzw. nach Beladung mit Ca<sup>2+</sup>-sensitiven Fluoreszenzfarbstoffen Fluoreszenz gemessen werden (Abb. 2).

75 % der proteinkodierenden Gensequenzen aller menschlichen Geruchsrezeptoren haben wir mittlerweile molekular kloniert. Mit einem automatisierten, bildgebenden Fluoreszenzmikroskop können wir nun hunderte von Zellen, denen wir gentechnisch denselben Geruchsrezeptor eingebaut haben, gegen viele Geruchsstoffe testen, oder denselben Geruchsstoff gegen Zellen mit zurzeit bis zu 290 verschiedenen Geruchsrezeptoren testen. Damit sind wir in der Lage, auch die unterschiedlichen Ausprägungen desselben Geruchsrezeptorgens bei verschiedenen Individuen auf molekularer Ebene zu untersuchen.

## Individuelle Ausprägungen von Geruchsrezeptoren

Untersuchungen haben gezeigt, dass über 90 % der Menschen eine unterschiedliche Ausprägung des Genrepertoirs an Geruchsrezeptoren aufweisen – dies wird nur noch von den Genen unseres Immunsystems übertroffen. Eine wichtige Erkenntnis der letzten Jahre war, dass die von Mensch zu Mensch punktuell auftretenden Unterschiede in der Primärstruktur der meisten Geruchsrezeptoren – sogenannte Einzelnukleotidpolymorphismen oder SNPs (single nucleotide polymorphism) – ein Grund für individuell unterschiedliche Geruchswahrnehmungen sein können, weil die Rezeptoren nicht mehr auf gleiche Weise arbeiten. Darüber hinaus besagen Genanalysen der Arbeitsgruppe um Ida Menashe am Weizmann-Institut in Rehovot, Israel, dass in Individuen oder ganzen Bevölkerungsgruppen aufgrund von SNPs ein Drittel unser 390 proteinkodierenden Geruchsrezeptoren nicht mehr funktionieren, beziehungsweise in ihrer Funktion so stark verändert sein könnten, dass einzelne Gerüche nicht mehr, nur noch schwach, oder sogar besser wahrgenommen werden können.

**Abb. 1: Stammbaum 391 menschlicher Geruchsrezeptoren und bislang identifizierte Geruchsstoff-Rezeptor-Paare**



Jeder Rezeptor ist durch eine Linie repräsentiert, deren Länge die Divergenz zwischen den Rezeptoren widerspiegelt.  
\* Schlüsselaromastoff.

Farbkodierte Geruchsstoff-Rezeptor-Paare sind eigene, sowie der Literatur entnommene Daten. 1) Bourgeonal, 2) Citronellal, 3)  $\gamma$ -Decalacton, 4) Nonanal, 5) Androstenon, 6) Lilial, 7) Coumarin, 8) Methylpentensäure, 9) Allylphenylacetat, 10) Propionsäure, 11) Octansäuremethylester, 12) Methylbutansäure, 13) Lyrall, 14) 1-Octanol, 15) 1-Octanthiol, 16) (-)- $\beta$ -Citronellol.

Sind individuelle Genveränderungen durch SNPs so ungünstig, dass sie den genetischen Code unterbrechen, können Pseudogene entstehen, die keine Proteine mehr kodieren, was den Verlust einzelner Geruchsrezeptoren bedeutet. Dies könnte bei den betroffenen Menschen zum Verlust bzw. Abschwächung der Wahrnehmung einzelner Gerüche führen. Umgekehrt wurde gezeigt, dass Mutationen aus Pseudogenen auch wieder Baupläne für funktionelle Rezeptorproteine machen können. Individuell unterschiedliche Wahrnehmung einzelner Geruchsstoffe sind seit Langem bekannt – zum Beispiel eine Anosmie (Wahrnehmungsverlust) für das schweißig-urinös riechende Androstenon (Stoffwechselprodukt des Sexualhormons Testosteron, verantwortlich u. a. für den unangenehmen Geruch von Eberfleisch). Jedoch erst seit einigen Jahren beginnt man zu verstehen, dass Veränderungen in der Gensequenz einzelner Geruchsrezeptoren die molekulare Ursache individueller Abweichungen des Riechvermögens sein können.

Auf der Ebene der Schlüsselaromastoffe und ihrer Rezeptoren bedeutet dies, dass eine individuelle Ausstattung mit unterschiedlich funktionierenden Geruchsrezeptoren eine unterschiedliche Wahrnehmung von Lebensmittelaromen bewirkt, und damit auch die Lebensmittelauswahl und das Ernährungsverhalten jedes Einzelnen beeinflussen könnte.

### Komplexe Funktionen von Geruchsrezeptoren

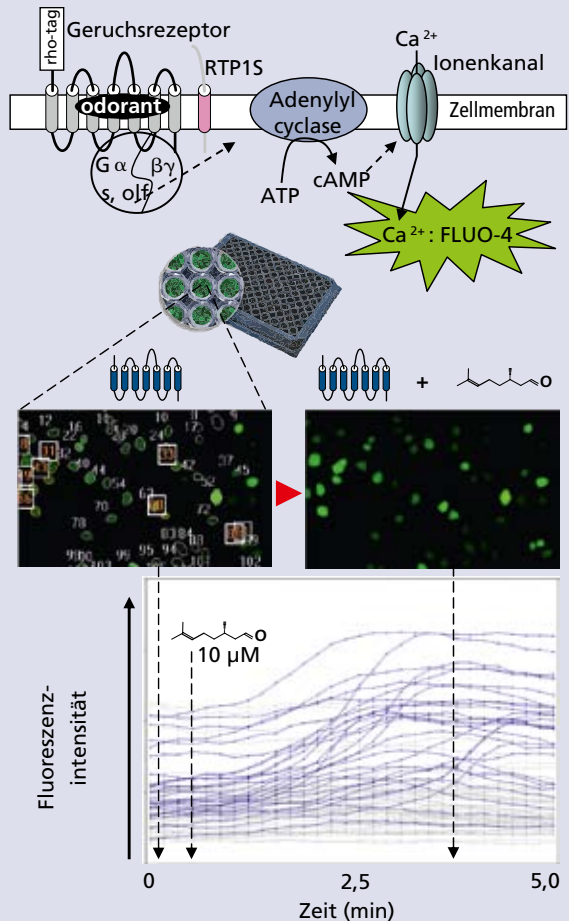
Durch experimentelle Befunde mehrerer internationaler Arbeitsgruppen weiß man, dass Geruchsrezeptoren nicht nur in der Nase, sondern in zahlreichen weiteren Organen und Geweben vorkommen (Tab. 2). Geruchsrezeptoren könnten damit auch außerhalb der Nase, in einem anderen Zellhintergrund völlig neue, wenn auch chemosensorische, Aufgaben erfüllen, z.B. die Chemotaxis von Spermien im Uterus (Chemotaxis – gerichtete Zellbewegung entlang eines chemischen Gradienten), oder die Regulierung der Darmmotilität durch geruchsrezeptorgesteuerte Serotoninausschüttung.

Fast 20 Jahre nach der Entdeckung der Geruchsrezeptoren in der Nase hat sich die Komplexität des Wissensstandes über ihr Vorkommen, ihre genetischen Ausprägung und ihre möglichen Funktionen enorm erhöht. Nun gilt es, die Suche nach den jeweils besten Geruchs- bzw. Wirkstoffen zu intensivieren, um die Funktion der Geruchsrezeptoren in der Nase und den verschiedenen Geweben zu verstehen.

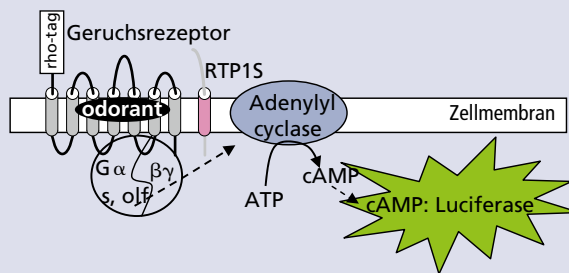
Tab. 2: Aktive Geruchsrezeptor-Gene in nicht-olfaktorischen Organen/Geweben	
Herz	108
Lunge	93
Hoden	83
Leber	58
Geschmackspapillen der Zunge	7
Niere (Maus)	6
Darm	4
Prostata-Krebszellen	1

**Abb. 2: HeLa/Olf-Zellen für die Fluoreszenz- und Lumineszenz-technische Messung von Geruchsstoffrezeptor-Signalen**

#### A) HeLa/Olf-Zellen Fluoreszenz



#### B) HeLa/Olf-Zellen Lumineszenz



A) In Zellen, die den menschlichen Odorant-Rezeptor OR1A1 tragen, kann nach Applikation des Geruchsstoffs (-)-Citronellal ein Anstieg der Fluoreszenzintensität über die Zeit gemessen werden. B) Alternativ kann geruchsstoffinduzierte Lumineszenz gemessen werden.



Dr. Dietmar Krautwurst, Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie (DFA), Lise-Meitner-Str. 34, 85354 Freising/

Weihenstephan.

E-Mail: [dietmar.krautwurst@lrz.tu-muenchen.de](mailto:dietmar.krautwurst@lrz.tu-muenchen.de)