

Nagroda Nobla za rok 2004: odkrycie genów receptorów węchowych

The 2004 Nobel Prize: Discovery of the olfactory receptor genes

LESZEK BIAŁACZEWSKI

Samodzielny Szpital Wojewódzki im. Mikołaja Kopernika, ul. Rakowska 15, 97-300 Piotrków Trybunalski

Układ węchowy ssaków może wykrywać i rozpoznawać ogromnej różnorodności cząsteczki zapachowe. Zdolności czuciowe nosa były przez długi czas uważane za naukową tajemnicę. W roku 1991 Linda Buck i Richard Axel opublikowali fundamentalny artykuł. Opisali w nim dużą wielogenową rodzinę genów kodujących receptory węchowe, które są receptorami sprzężonymi z białkiem G, posiadającymi siedem domen przenikających błonę komórkową. To przełomowe odkrycie wyjaśniło molekularne i komórkowe mechanizmy wykrywania cząsteczek zapachowych w nosie. Instytut Karoliński zdecydował o przyznaniu Nagrody Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny za rok 2004 wspólnie Richardowi Axelowi i Lindzie Buck za odkrycie receptorów węchowych oraz odkrycia dotyczące organizacji układu powonienia.

W pracy przedstawiono badania laureatów prowadzące do identyfikacji genów receptorów węchowych. Opisano te geny, kodowane przez nie receptory i drogę przepływu sygnałów, obejmującą aktywację białka G i cykazy adenylowej.

Otorynolaryngologia, 2005, 4(4), 163-168

Słowa kluczowe: *geny receptorów węchowych, receptory węchowe, Nagroda Nobla*

The mammalian olfactory system can detect and discriminate a large variety of odor molecules. This sensory capacity of the nose has long been considered as a scientific mystery. Linda Buck and Richard Axel published the fundamental paper in 1991. In that article they described the large multi-gene family of genes for olfactory receptors, which are seven-transmembrane domain G protein-coupled receptors. This landmark discovery elucidated the molecular and cellular mechanisms for the reception of odor molecules in the nose. The Nobel Assembly at Karolinska Institutet has decided to award The Nobel Prize in Physiology or Medicine for 2004 jointly to Richard Axel and Linda Buck for their research on odorant receptors and the organization of the olfactory system.

The purpose of this paper was to present the work of the prize winners that led to the isolation of olfactory receptor genes. The author described these genes, encoded receptors and signaling pathways consisting of G protein activation and stimulation of adenyl cyclase.

Otorynolaryngologia, 2005, 4(4), 163-168

Key words: *olfactory receptor genes, olfactory receptors, The Nobel Prize*

Zmysł powonienia pozostawał przez długie lata tajemnicą naukową. Molekularne podstawy jego funkcjonowania odkryto dopiero w ostatnim czasie. Stało się to możliwe dzięki zastosowaniu nowoczesnych metod biologii molekularnej. Naukowcami, którzy dokonali przełomu w badaniach nad mechanizmem odczuwania zapachów są Amerykanie: Richard Axel i Linda Buck. Za odkrycie receptorów węchowych oraz odkrycia dotyczące organizacji układu powonienia otrzymali wspólnie 4 października 2004 roku Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny [1].

Nbliści

Richard Axel urodził się 2 lipca 1946 roku w Nowym Jorku. Jest lekarzem, absolwentem Uniwersytetu

Columbia w Nowym Jorku. Doktorat uzyskał na Uniwersytecie Medycznym w Baltimore. Od roku 1978 jest profesorem patologii i biochemii na Uniwersytecie Columbia, a od roku 1984 pracownikiem naukowym Instytutu Medycznego Howarda Hughes'a¹.

Linda Buck urodziła się 20 stycznia 1947 roku w Seattle. W roku 1975 ukończyła wydział psychologii oraz

¹ Instytut Medyczny Howarda Hughes'a (*Howard Hughes Medical Institute, HHMI*) jest prywatną organizacją badawczą, która nosi imię swego założyciela. Prowadzi badania dzięki własnym środkom i przy pomocy własnych zespołów naukowych w laboratoriach rozmieszczonych w całych Stanach Zjednoczonych. Stanowi największe prywatne źródło wsparcia dla badań biomedycznych i edukacji naukowej w tym kraju (<http://www.hhmi.org>).

wydział mikrobiologii Uniwersytetu w Seattle. Doktorat z immunologii obroniła na Uniwersytecie w Dallas. W latach 1984–1991 pracowała w Instytucie Medycznym Howarda Hughes'a w Nowym Jorku. Była wówczas członkiem zespołu Richarda Axela. Aktualnie pracuje w Centrum Badania Raka im. Freda Hutchisona w Seattle [1].

Jak doszło do zainteresowania autorów narząd powonienia? W wywiadzie dla czasopisma Cell [2] Linda Buck podaje, iż badania na receptorami węchu rozpoczęła w roku 1985 po lekturze artykułu zespołu Snydera o niezbadanym nadal mechanizmie odczuwania zapachów. Autorzy artykułu ustalili, iż ostra substancja zapachowa – pyrazyna, uzyskiwana z papryki, wiązana jest specyficznie przez nabłonek węchowy krowy i szczura. Zjawisko to nie występuje w odniesieniu do innych tkanek. Nabłonek węchowy wiąże tę substancję 9 razy bardziej niż nabłonek oddechowy. Naukowcy oddzielili czyste białko wiążące pyrazynę. Według nich spełnia ono rolę receptora węchowego [3]. Jak twierdzi Linda Buck, artykuł ten otworzył dla niej nowy, fascynujący obszar badań. W jaki sposób człowiek rozróżnia węchem ponad 10000 różnych związków chemicznych i nawet niewielka zmiana w strukturze związku może dać dramatyczną zmianę odczuwanego zapachu? Buck postawiła hipotezę, iż musi istnieć jakaś rodzina receptorów węchowych różniących się specyfiką ligandów. Od 1988 roku prowadziła intensywne prace badawcze w laboratorium kierowanym przez Richarda Axela, zakładając od początku, iż receptory węchowe są białkami kodowanymi przez odrębną rodzinę genów i że geny te dają selektywną ekspresję w czuciowych neuronach węchowych.

Odkrycie genów

Postępy naukowe wiążą się z rozwojem nowych technologii. Jedne osiągnięcia pociągają za sobą następne. Tak było w przypadku odkrycia genów receptorów węchowych [2]. W latach 70. M. Rodbell stworzył cybernetyczną teorię przenoszenia (transdukcji) informacji przez błonę komórkową – od receptora poprzez przekaźnik (*transducer*) do efektora wewnątrz komórki. W latach 80. A. Gilman wykazał, iż przekaźnikiem jest białko wiążące nukleotyd guaninowy – białko G. W roku 1985 Gilman² dysponował już nie tylko oczyszczonym preparatem białka G, lecz także sprzężonym z nim receptorem β -adrenergicznym [4]. W roku 1986 Pace i Lancet opisali istnienie białka G w rzęskach neuronów hemosensorycznych żaby i szczura [5]. Według nich nie-

zidentyfikowana cząsteczka receptora wchodzi w interakcję z białkiem G, wyzwalając kaskadę enzymatyczną prowadzącą do depolaryzacji neuronu. Do roku 1989 poznano 20 receptorów przekaźników nerwowych i hormonów sprzężonych z białkiem G. Klonowanie genów poznanych receptorów wykazało, iż są one członkami dużej grupy receptorów zbudowanych w postaci łańcucha białkowego posiadającego siedem domen (czyli pełniących określone funkcje rejonów) przenikających błonę komórkową (*seven transmembrane domain structure*) [2].

Oprócz najnowszej wiedzy dotyczącej receptorów Richard Axel i Linda Buck wykorzystali w swej pracy nowoczesne techniki genetyczne, w tym łańcuchową reakcję polimerazy (*polymerase chain reaction*, PCR) [6]. Reakcja ta, opracowana przez K. Mullisa³ i wprowadzona w roku 1985 [7-9] pozwala na kopiowanie *in vitro* wybranych sekwencji DNA w jednej reakcji enzymatycznej. Odcinki DNA, zwykle odpowiadające genomowi czy fragmentom genów, mogą być namnażane z próbek chromosomowego DNA. Otrzymuje się ilości DNA potrzebne do szczegółowej analizy lub manipulacji genetycznych. Istota reakcji polega na tym, iż dzięki obecności enzymu – polimerazy, na jednoniciowym DNA dobudowywana jest druga komplementarna do niej nić. Do reakcji potrzebne są cztery składniki. Pierwszy to matryca DNA, czyli pojedyncza nić zawierająca sekwencje przeznaczone do namnożenia. Drugim są startery oligonukleotydowe – krótkie jednoniciowe cząsteczki DNA (zwykle około 20 nukleotydów) otrzymywane na drodze syntezy chemicznej, komplementarne do sekwencji graniczących z końcami 3' kopiowanego fragmentu kwasu deoksyrybonukleinowego. Trzeci składnik to polimeraza – enzym, który bierze udział w powielaniu DNA poprzez włączanie nowych nukleotydów. Może on rozpocząć działanie tylko wtedy, gdy natrafi na fragment dwuniciowy, dlatego potrzebne są oligonukleotydy jako startery. Czwartym składnikiem są trifosforany deoksynukleotydów – elementy budulcowe.

Każdy cykl syntezy DNA składa się z trzech etapów: 1. Podgrzanie do 95°C powoduje, że helisa DNA ulega denaturacji, czyli rozplata się na pojedyncze nici; 2. Schłodzenie do 50°C. To pozwala starterom na przyłączenie się na zasadzie komplementarności do sekwencji ograniczających pożądany fragment; 3. Podgrzanie do 72°C – w tej temperaturze polimeraza wykazuje największą aktywność. Enzym buduje komplementarną nić na matrycy, począwszy od miejsc przyłączonych starterów. Tworzy się konstrukcja dwuniciowa. Cykle są powtarzane, za każdym razem podwajając ilość DNA. Jest to reakcja łańcuchowa. Po 25 cyklach w próbce jest 34 miliony razy więcej wybranego fragmentu, niż na

² W roku 1994 Martin Rodbell i Alfred Gilman otrzymali Nagrodę Nobla w dziedzinie fizjologii i medycyny za odkrycie białek G i wyjaśnienie ich roli w przekazywaniu informacji w komórce [4].

³ Kary Mullis otrzymał w roku 1993 Nagrodę Nobla z chemii za wynalezienie łańcuchowej reakcji polimerazy [8].

początku. Proces zmiany temperatur sterowany jest elektronicznie w urządzeniu zwanym termocyklerem [8].

Axel i Buck postawili tezę, iż detekcja sygnału zapachowego jest analogiczna do mechanizmów komórkowych rozpoznania i przenoszenia sygnału w przypadku hormonów czy przekaźników nerwowych. Aby tego dowiedzieć, zaprojektowali eksperyment mający na celu znalezienie genów kodujących receptory węchowe [6]. Jego strategia oparta była na trzech założeniach: 1. Receptory węchowe należą do białek receptorowych przekazujących sygnały do wnętrza komórki dzięki sprzężeniu z białkami wiążącymi GTP (białkami G); 2. Ogromna liczba strukturalnie odmiennych cząsteczek zapachowych sugeruje, iż receptory w obrębie swej grupy wykazują zmienność, więc muszą być kodowane przez rodzinę wielogenową; 3. Ekspresja receptorów ograniczona jest do nabłonka węchowego.

Przebieg eksperymentu był następujący [6]: z nabłonka węchowego szczura autorzy wyodrębnili RNA, który posłużył im do uzyskania, za pomocą odwrotnej transkryptazy, komplementarnego DNA (cDNA). Uzyskane w ten sposób łańcuchy cDNA powielili, stosując opisaną wyżej łańcuchową reakcję polimerazy (PCR). Z produktu tej reakcji – stanowiącego dużą ilość mieszaniny łańcuchów DNA – oddzielili za pomocą elektroforezy w żelu łańcuchy o długościach spodziewanych dla rodziny receptorów, czyli od 600 do 1300 par zasad. Tę frakcję DNA ponownie „namnożyli” za pomocą reakcji PCR. Produkt tej reakcji poddali elektroforezie, otrzymując 64 frakcje. Jedna z nich musiała zawierać poszukiwane geny. W celu jej identyfikacji autorzy zastosowali oryginalną metodę. Łańcuchy DNA w każdej po kolei frakcji cięto enzymami, uzyskując liczne fragmenty. Następnie sumowano masy cząsteczkowe wszystkich różniących się między sobą fragmentów i porównywano je z masą cząsteczkową łańcucha DNA przed pocięciem, poszukując frakcji, w której suma mas cząsteczkowych różniących się fragmentów przewyższy masę łańcucha pierwotnego. Zjawisko takie zaistniało we frakcji 13, gdzie suma mas fragmentów była kilkakrotnie większa od masy łańcucha przed pocięciem. Oznaczało to, że łańcuchy DNA w tej frakcji są genami receptorów węchowych. Znaczny nadmiar różniących się fragmentów w stosunku do potrzeby skonstruowania jednego genu oznaczał, według autorów, istnienie wielu różniących się genów w obrębie rodziny, a więc obecność rodziny wielogenowej. Badacze ustalili sekwencję 10 łańcuchów DNA z tej frakcji i na tej podstawie poznali kolejność aminokwasów w łańcuchach białkowych kodowanych przez DNA. Analizując strukturę pierwszorzędową utworzonych tak modeli białek pod względem właściwości aminokwasów stwierdzili, iż każdy z łańcuchów zawierał po siedem hydrofobowych odcinków reprezentujących domeny przenikające błony komórkowe, co jest charakte-

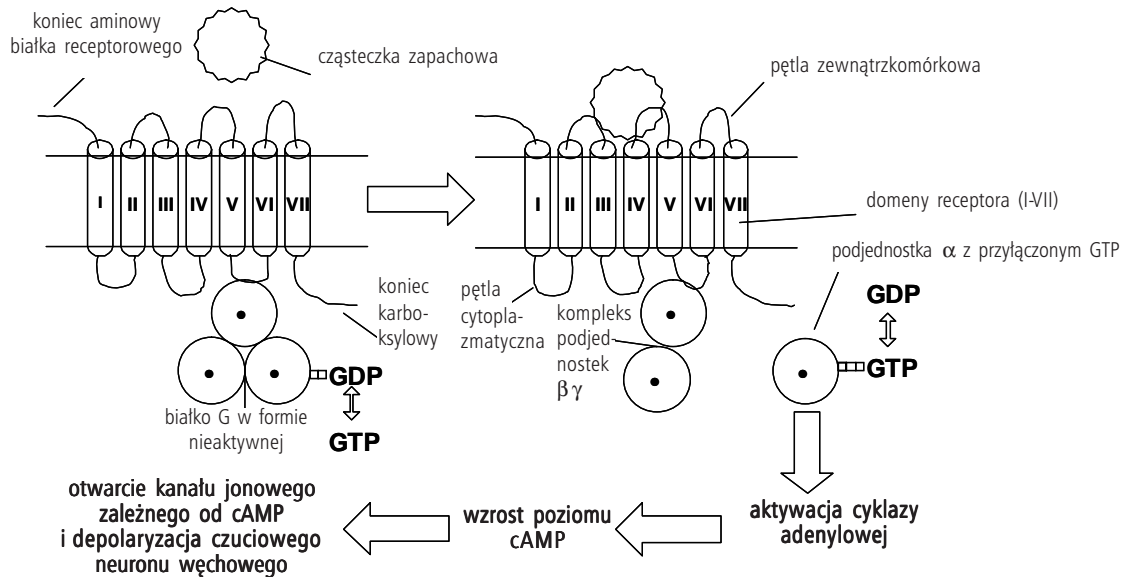
rystyczne dla receptorów sprzężonych z białkiem wiążącym nukleotyd guaninowy (białkiem G). Na tej podstawie zbudowali model łańcucha białkowego receptora.

Wyniki badań autorzy opublikowali w kwietniu 1991 roku [6]. Ich odkrycie było przełomowe. Wyjaśniło odczuwanie zapachów na poziomie molekularnym i zapoczątkowało nowe kierunki badań nad genetycznym uwarunkowaniem węchu oraz funkcjonowaniem układu powonienia od receptorów po wyższe ośrodki w mózgu.

Geny, receptory węchowe, białko G

Poznanie liczby i rozmieszczenia genów receptorów węchowych u człowieka stało się możliwe dzięki publikacjom wyników Projektu Sekwencjonowania Genomu Człowieka (*Human Genome Project*, HGP) [8,10]. Dane te są wciąż aktualizowane wraz z ukazywaniem się coraz dokładniejszych wersji sekwencji genomu. Długość genów receptorów węchowych człowieka wynosi około 1000 par zasad. Są one, podobnie jak u pozostałych kręgowców, pozbawione intronów [11,12]. Wielkość tej wielogenowej rodziny jest różna u różnych gatunków. U ryb wynosi ona około 100, u myszy ponad 1000, a u człowieka 636 genów [10]. Jest to największa rodzina w genomie człowieka – stanowi ponad 2% z około 30 tysięcy wszystkich genów. Spośród 636 ludzkich genów receptorów węchowych funkcjonuje jedynie 339 genów. Pozostałe 297, czyli 47% genów to niezdolne do kodowania białka pseudogeny, które utraciły swą czynność podczas ewolucji [10]. U zwierząt odsetek pseudogenów jest niższy. U myszy wynosi on 20% [13], a u psa 18% [14]. Geny receptorów węchowych człowieka występują pojedynczo lub w grupach w 51 miejscach rozlokowanych w 21 chromosomach. Po jednym genie zawierają chromosomy: 21 i X, zaś największą ich liczbę – 318 genów, posiada chromosom 11. Genów tych brak w chromosomach: 8, 20 oraz Y [10].

Jak wykazali Axel i Buck, białka receptorów węchowych należą do dużej rodziny receptorów sprzężonych z białkiem G o siedmiu domenach przenikających błonę komórkową (*seven-transmembrane domain G protein-coupled receptors*). Odcinki zanurzone w środowisku lipidowym błony mają strukturę drugorzędową helisy alfa (*alfa helix*) i właściwości hydrofobowe [15]. Pozostałe części łańcucha tworzą trzy pętle zewnątrzkomórkowe i trzy cytoplazmatyczne. Koniec aminowy białka receptorowego (N-koniec) znajduje się na zewnątrz komórki, zaś koniec karboksylowy (C-koniec) w cytoplazmie [6]. Receptory węchowe w odróżnieniu od innych receptorów zawierają w swej grupie zmienne sekwencje aminokwasów, szczególnie w środkowych odcinkach wewnątrz błonowych, co może wskazywać, iż miejsca te odpowiadają za wiązanie różnych substancji zapachowych [6,7,11]. W roku 2003 Wang i wsp. [16]



Ryc. 1. Schemat działania układu: receptor węchowy-białko G. Przyłączenie cząsteczki zapachowej do receptora powoduje zamianę GDP na GTP w podjednostce α i dysocjację białka G na podjednostkę α z przyłączonym GTP oraz na kompleks podjednostek $\beta\gamma$. Podjednostka α z przyłączonym GTP aktywuje cyklazę adenylową

opublikowali swe spostrzeżenia, iż druga pętla zewnątrzkomórkowa stanowi miejsce wiązania atomu cynku lub miedzi. Po przyłączeniu jonu metalu pętla przybiera postać helisy alfa i penetruje do błony komórkowej. Kontakt z substancją zapachową swoistą dla receptora powoduje wyrzucenie tej pętli z powrotem na zewnątrz. Taka zmiana konformacji receptora aktywuje białko G.

Sprzężone z receptorami węchowymi białka G wiążą nukleotydy guaninowe (GTP lub GDP) i stąd ich nazwa. Zbudowane są z trzech różnych podjednostek: α , β oraz γ (ryc. 1). Podjednostki te są ze sobą połączone, gdy białko G znajduje się w postaci nieaktywnej. Do podjednostki α jest wtedy przyłączony GDP. Pobudzenie receptora wpływa na białko G i prowadzi do zamiany w nim GDP na GTP. Jest to przyczyną rozpadu (dysocjacji) białka na podjednostkę α i na kompleks $\beta\gamma$. Podjednostka α , z przyłączonym GTP, jest białkiem stymulatorowym wiążącym i aktywującym białko efektorowe – cyklazę adenylową, enzym katalizujący wytwarzanie cyklicznego AMP z ATP. Dochodzi do wzrostu poziomu cAMP, a to prowadzi do otwarcia kanałów kationowych zależnych od cAMP i w następstwie do depolaryzacji czuciowego neuronu węchowego. Sygnał chemiczny zostaje zamieniony w impuls elektryczny. Białko stymulatorowe posiada dodatkowo zdolność hydrolizy GTP do GDT. Zamiana GTP na GDP w podjednostce α powoduje ponowne połączenie się (reasocjację) kompleksu $\beta\gamma$ z podjednostką α i unieczynnienie układu [4,7,17].

Kod węchowy

W każdym czuciowym neuronie węchowym ma miejsce ekspresja tylko jednego genu spośród całej rodziny genów receptorów węchowych zawartych w genomie. Jeden gen koduje jeden typ receptora. Tak więc każdy neuron węchowy ma w swych rzęskach receptory tylko jednego typu, pochodzące od jednego genu. Człowiek posiada 339 czynnych genów receptorów węchowych, co daje 339 populacji komórek węchowych, różniących się typem receptora. Komórki tych populacji są rozproszone w nabłonku węchowym. Mysz posiada około 1000 czynnych genów receptorów węchowych.

Cechą danego typu receptora jest rozpoznawanie specyficznego spektrum cząsteczek zapachowych z różnym do nich powinowactwem. Pojedynczy receptor jest aktywowany przez wiele zapachów, a dana substancja zapachowa może być rozpoznawana przez wiele receptorów [11, 18]. Różne substancje dają pobudzenie różnych zestawów receptorów. Powstaje kod kombinacyjny, w którym działanie wielu typów receptorów łączy się w kodowaniu poszczególnej cząsteczki zapachowej. Można tu przedstawić analogię do narządu wzroku, gdzie do kodowania obrazu wystarczają tylko trzy typy receptorów, a każdy z nich odbiera najlepiej inne spektrum barw [11]. Zapachy kodowane są jako charakterystyczne wzory aktywności receptorów. Wzory te mogą zmieniać się nie tylko wraz ze zmianą rodzaju, lecz także wraz ze zmianą stężenia substancji zapachowej. Przy wzroście stężenia dochodzi do dodatkowej aktywacji receptorów

o mniejszym powinowactwie. Dla przykładu, rozcieńczony indol pachnie jaśminem, zaś stężony – cuchnie fekaliami [11]. Zapachy o prawie identycznej budowie chemicznej są rozpoznawane za pomocą różnych, choć nakładających się zestawów receptorów.

Opierając się na odkryciach Axela i Buck, autorzy Mori, Nagao i Yoshihara wyjaśnili funkcję opuszki węchowej. Pojedynczy kłębuszek opuszki określili jako zbiorcze centrum sygnałów docierających z czuciowych neuronów węchowych posiadających ten sam typ receptora [19]. U myszy w każdym kłębuszku aksony kilku tysięcy czuciowych neuronów łączą się synapsami z 25 do 50 neuronami opuszki. Taka integracja sygnałów sprzyja rozpoznawaniu zapachów o niewielkim stężeniu. Populacje neuronów węchowych o podobnych typach receptorów dają projekcję do kłębuszków zlokalizowanych w sąsiedztwie [11]. W opuszcze powstaje przestrzenna mapa sygnałów wejściowych, która jest prawie identyczna u różnych osobników [20,21]. Neurony opuszki oddają wypustki do kory węchowej. Stwierdzono, iż sygnał wejściowy z receptorów danego typu dociera do różnych obszarów kory węchowej i że dany zapach jest reprezentowany przez pewną grupę neuronów rozproszonych w obrębie kory. Wzory pobudzanych neuronów korowych są charakterystyczne dla poszczególnych substancji zapachowych i są podobne u różnych osobników [21]. Opracowany w korze węchowej sygnał przesyłany jest następnie do kory nowej (*neocortex*) i układu limbicznego [22].

Wspólna praca Richarda Axela i Lindy Buck owocująca odkryciem genów receptorów węchowych zapoczątkowała erę molekularną w dziedzinie badań na układem powonienia. Od roku 1991 nobliści pracują niezależnie. Richard Axel zajmuje się badaniami nad reprezentacją informacji węchowej w mózgu i nad tym, jakie mechanizmy kierują wyborem jednego z kilkuset genów do jego ekspresji w czuciowym neuronie węchowym [23]. W laboratorium prowadzonym przez Axela w Nowym Jorku wyhodowano klon myszy wywodzący się z komórki jajowej, której jądro zastąpiono jądrem neuronu węchowego. Wykazano, iż wzór ekspresji receptorów węchowych w sklonowanych myszach był identyczny jak w grupie kontrolnej. Jądro czuciowego neuronu węchowego może ponownie wejść do cyklu komórkowego i podlegać przeprogramowaniu w kierunku wszechstronnego rozwoju [24].

W laboratorium kierowanym przez Lindę Buck w Seattle badana jest rola integracyjna kory węchowej oraz organizacja połączeń między opuszką a korą. W tym celu metodami genetycznymi stworzono klon myszy, u którego ma miejsce ekspresja znacznika na całym odcinku drogi nerwowej od receptora do kory mózgowej. Wykazano istnienie precyzyjnej mapy sygnałów wejściowych z receptorów do kory. Mapa ta jest identyczna u różnych osobników. Wyjaśnia to podobieństwo percepcji zapachów u różnych osób [18,21,22,].

Piśmiennictwo

1. Press Release: The Nobel Prize in Physiology or Medicine 4 October 2004. (w publikacji elektronicznej) <http://www.nobelprize.org/medicine/laureates/2004/press.html>
2. Buck LB. The search for odorant receptors. *Cell* 2004; 116: 117-119.
3. Pevsner J, Trifiletti RR i wsp. Isolation and characterization of an olfactory receptor protein for odorant pyrazines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82: 3050-3054.
4. Barańska J. Nobel dla białek G. (w) Receptory. Nowak JZ, Zawilska JB (red.). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1997: 28-41.
5. Pace U, Lancet D. Olfactory GTP-binding protein: signal transducing polypeptide of vertebrate chemosensory neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 4947-4951.
6. Buck L, Axel R. A novel multigene family may encode odorant receptors: a molecular basis for odor recognition. *Cell* 1991; 65: 175-187.
7. Passarge E. Genetyka Ilustrowany Przewodnik. Wydawnictwo Lekarskie PZWL Warszawa 2004: 66-67.
8. Watson JD. DNA Tajemnica Życia. Wydawnictwo CiS, Wydawnictwo W.A.B. Warszawa 2005: 187-190.
9. Winter PC, Hickey GI, Fletcher HL. Krótkie wykłady. Genetyka. Wydawnictwo Naukowe PWN Warszawa 2004: 301-305.
10. Malnick B, Godfrey PA, Buck LB. The human olfactory receptor gene family. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 2584-2589.
11. Breer H. Olfactory receptors: molecular basis for recognition and discrimination of odors. *Anal Bioanal Chem* 2003; 377: 427-433.
12. Mombaerts P. Seven-transmembrane proteins as odorant and chemosensory receptors. *Science* 1999; 286: 707-710.
13. Niimura Y, Nei M. Evolution of olfactory genes in the human genome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 12235-12240.
14. Quignon P, Kirkness E i wsp. Comparison of the canine and human olfactory receptor gene repertoires. *Genome Biol* 2003; 4: 1-9.
15. Gaillard I, Rouquier S, Giorgi D. Olfactory receptors. *Cell Mol Life Sci* 2004; 61: 456-469.
16. Wang J, Luthey-Schulten ZA, Suslick KS. Is the olfactory receptor a metalloprotein? *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 3035-3039.
17. Ward RJ, Milligan G. Analysis of function of receptor-G protein and receptor-RGS fusion proteins. *Methods Mol Biol* 2004; 259: 225-247.
18. Kajiya K, Inaki K i wsp. Molecular bases of odor discrimination: reconstitution of olfactory receptors that recognize overlapping sets of odorants. *J Neurosci* 2001; 21: 6018-6025.

19. Mori K, Nagao H, Yoshihara Y. The olfactory bulb: coding and processing of odor molecule information. *Science* 1999; 286: 711-715.
20. Buck LB. Olfactory receptors and odor coding in mammals. *Nutr Rev* 2004; 62: 184-188.
21. Zou Z, Li F, Buck LB. Odor maps in the olfactory cortex. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 7724-7729.
22. Zou Z, Horowitz LF i wsp. Genetic tracing reveals a stereotyped sensory map in the olfactory cortex. *Nature* 2001; 414: 173-179.
23. Shykind BM, Rohani SC i wsp. Gene switching and the stability of odorant receptor gene choice. *Cell* 2004; 117: 801-815.
24. Axel R. Representations of olfactory information in the brain. (w publikacji elektronicznej) <http://www.hhmi.org/research/investigators/axel.html>