

助成研究タイトル

うまみ受容体タンパク質の味覚センサーへの実装

氏名 押鐘 浩之

よみがな

おしかね ひろゆき

所属 明治薬科大学薬学部（申請時：大阪大学大学院薬学研究科）

要旨

<研究背景>

本研究はうま味受容体タンパク質のうま味センサーへの実装に関し、ヒト由来うま味受容体タンパク質を SPR（表面プラズモン共鳴）の系に供することにより、うま味物質に対してヒトが感知するのにより近い形でのうま味物質の定量化を目的としている。

うま味受容体タンパク質は T1R1、T1R3 のヘテロダイマーからなり、双方ともに GPCR（G タンパク質共役受容体）に属し、GPCR に共通の構造的特徴である N 末端の受容体部位と 7 回膜貫通ドメイン、C 末端の細胞内部位から成ることが知られている。一方うま味センサー

については、人工膜における膜電位の変化を検知することで電気化学的にうま味を定量化するシステムが報告されている。そこで発表者は T1R1、T1R3 を SPR に実装することによって、従来の人工膜によるセンサーに勝る、生体条件に近い形での特異性を実現できるのではないかと考えた。しかしながら、一般に膜タンパク質は難溶性であるためリコンビナント発現が極めて技術的に難しい。そこで更に発表者は可溶性が高いと予想される N 末端の受容体部位のみ（以下 Δ T1R1、 Δ T1R3 とする）を人工的に作製することで、タンパク質科学的な解決を図ることを着想した。他方、本研究で採用する SPR による定量プラットフォームの特長として、うま味物質に対する結合定数 (K_a) だけではなく解離定数 (K_d) も実験的に求めることが可能である。したがって、“うま味の強さ” (K_a) だけではなく、“うま味の余韻” (K_d) といったこれまで人間の感覚に任されていたものについても定量化できることが期待される。

<研究進捗状況>

本研究におけるクリアすべき技術的課題は、構造的に安定なうま味受容体タンパク質を獲得することであり、タンパク質の設計と発現・精製条件が本研究達成の最大の鍵と考えられる。発表者はうま味受容体に対する生化学的報告や立体構造予測を基にヒト由来の Δ T1R1、 Δ T1R3 タンパク質の設計を行い、その設計したアミノ酸配列を基に人工遺伝子合成によるコドン最適化を行うことによって発現量を賄うこととした。現在、 Δ T1R1、 Δ T1R3 の発現・精製には成功している。しかし、アッセイのためには生理条件下でのタンパク質の安定（中性付近の pH+150 mM 程度の塩濃度）が望ましいと考えられるが、生理条件下では何れのコンストラクトにおいても凝集・沈殿してしまうという問題点があり、可溶化・固相化条件を再度考えるなどタンパク質の安定化に向けた更なる対策が必要であると考えている。

