

審査の結果の要旨

氏名 戸田 安香

嗜好味である甘味、旨味はGタンパク質共役型受容体（GPCR）であるT1Rにより受容される。T1Rには3つのサブユニットがあり、旨味はT1R1とT1R3、甘味はT1R2とT1R3のヘテロダイマーにより受容される。産業界における人工甘味料に対するニーズなどを背景に、培養細胞を用いた甘味受容体の機能解析が近年、盛んに行われてきた。一方で評価系構築の難しさなどを原因に、旨味受容体の機能解析は後れを取っている。本研究では新規検出技術の導入により、高感度かつハイスループットな旨味評価系の開発に成功し、更にこの評価系を利用することで、哺乳類における旨味受容機構の一端を解明した。論文は5章からなり、第1章は序論、第2、3、4章が本論、第5章が総括と今後の展望である。

第2章では新規旨味評価系の開発を行った。味覚評価系における一般的な細胞応答の検出方法は、蛍光Ca²⁺指示薬を用いる蛍光検出法である。本研究では、これに代わる方法として、蛍光検出法よりも高いS/N比が期待されるCa²⁺結合型発光タンパク質を用いた発光検出法の導入を行った。まずは安定的かつ強い細胞応答の検出が可能な、甘味受容体安定発現細胞を用いて発光検出法の導入検討を行い、その最適化条件を用いて旨味評価系の開発を行った。その結果、発光タンパク質にミトコンドリア局在化 clytin-IIを用いることで、高感度に旨味受容体発現細胞の応答を検出することが可能になった。発光値の検出にはプレートリーダーが用いられるため、ハイスループットに細胞応答の検出が可能であった。また、発光検出系では検出に際し、励起光の照射が不要であるため、蛍光検出系では不可能だった蛍光を有するサンプルの測定も可能であり、有用な味覚評価系であると考えられた。

第3章では構築した旨味評価系を用いて、T1R1/T1R3のリガンド特異性を決定する分子メカニズムの解明を行った。T1R1/T1R3の受容するアミノ酸には動物種差があり、ヒトT1R1/T1R3がL-Gluに対し高感度であるのに対し、マウスT1R1/T1R3はL-Gluよりもその他の幅広いL-アミノ酸に対し強く応答することが知られていた。そこで、ヒトとマウスのキメラT1R1や点変異体の機能解析を行い、アミノ酸受容の動物種差を引き起

こす因子を探索した。その結果、T1R1/T1R3 のリガンド特異性が 1) アミノ酸結合部位 (オルソステリック部位) により決定される「アミノ酸選択性」と 2) 非オルソステリック部位の残基により調整される「受容体の活性の強さ」の 2 つの因子の組み合わせで決定されるという仮説が得られた。この仮説は、両因子にまたがる多重変異体の機能解析や、非ヒト霊長類 T1R1 を用いた実験により妥当性が証明された。T1R1/T1R3 のリガンドは、オルソステリック部位および非オルソステリック部位の両方の性質の違いにより多様化していると考えられた。

第 4 章では茶に特有なアミノ酸である L-テアニン (5-*N*-ethylglutamine) の旨味受容機構の解明を行った。これまでに、L-テアニンが旨味を有すること、L-テアニンと核酸系旨味物質 IMP の間で旨味の相乗効果が生じることが、ヒトの官能評価試験やマウスを用いた行動実験により明らかになっていた。これらの知見に加え、L-テアニンが L-Glu 誘導体であることから、L-テアニンの旨味は T1R1/T1R3 を介して受容されると推察された。そこで、構築した発光検出系を用いて検証した結果、L-テアニンが T1R1/T1R3 活性化能を有することが明らかとなり、更に、IMP との同時添加により T1R1/T1R3 が相乗的に活性化されることも確かめられた。このことから、L-テアニンの旨味感覚が T1R1/T1R3 を介して得られることが明らかとなった。また、変異体の機能解析により、L-テアニンが T1R1 の細胞外領域に存在する既知の L-アミノ酸結合部位で受容されることが明らかになった。

現在、旨味受容体の活性化剤として知られる物質は、L-アミノ酸および核酸以外には殆どない。本研究で開発した旨味の高感度・ハイスループットアッセイは新たな旨味修飾物質の発見に貢献することと期待される。また、近年、動物の食性と T1R に密接な関わりがあることが明らかになってきた。更に、口腔内以外に発現する味覚受容体の機能にも注目が集められている。したがって本研究で開発された旨味評価系は、様々な動物種における T1R1/T1R3 の機能と生態の結びつきを解明するのにも役立つことと期待される。これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。