

令和 2 年 4 月 30 日現在

機関番号：32682

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14427

研究課題名（和文）旨味受容体の味・栄養素センサーとしての生理的意義解明

研究課題名（英文）The function of the umami taste receptor as a taste and nutrient sensor

研究代表者

戸田 安香（Toda, Yasuka）

明治大学・研究・知財戦略機構（生田）・研究推進員

研究者番号：10802978

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）： ヒト旨味受容体の特徴である「高グルタミン酸活性」及び「ヌクレオチド受容能」がどのような食品成分の味・栄養素検出と結びついているかを解明する目的で、ヒトと多系統の動物種の間で、旨味受容体の機能の比較を行った。複数の非ヒト霊長類および非霊長類哺乳類について、旨味受容体遺伝子の配列決定を完了し、旨味受容体の機能解析を開始した。今後、旨味受容体の機能解析を進めることで、グルタミン酸やヌクレオチド受容能獲得が進化的にどのタイミングで起こったのかを明らかにできると考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脊椎動物における祖先型T1R受容体は幅広い種類のアミノ酸に対する受容体だったと考えられており、旨味受容体は食物中のタンパク質の存在を検知するための味センサーと従来考えられてきた。しかし、旨味受容体が単に「タンパク源検出のための味センサー」であれば、ヒト旨味受容体がグルタミン酸受容に特化した理由は上手く説明できない。また、ヒト旨味受容体はヌクレオチドによっても活性化されるが、その生理的意義も未解明である。

近年、旨味受容体は口腔内だけでなく全身の様々な組織に発現することが明らかとなり、旨味受容体のリガンド特性がどのような食物成分と関連し、決定されているのかを明らかにすることは重要である。

研究成果の概要（英文）： To elucidate why human T1R1/T1R3 can be activated by L-glutamate and nucleotides, we compared the function of the umami taste receptor, T1R1/T1R3, among various animals. We succeeded to determine the nucleotide sequences of both Tas1r1 and Tas1r3 of multiple mammals, and started analyzing their function.

研究分野：食品科学

キーワード：味覚受容体 GPCR 食性 旨味

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

味覚は、食物が摂食可能か否かを判断する上で重要な化学感覚である。味は甘味、旨味、苦味、酸味、塩味の五基本味からなり、それぞれの味は口腔中の味蕾に発現する受容体タンパク質により受容される。そのうち嗜好味である甘味と旨味はGタンパク質共役型受容体(GPCR)であるT1Rファミリーのヘテロ2量体で受容される。

脊椎動物における祖先型のT1R受容体は幅広い種類のアミノ酸に対する受容体だったと考えられており(Chandrashekar et al. *Nature*, 2006; Kuang et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 2006)、旨味受容体は「食物中のタンパク質の存在を検知するための味センサー」と従来考えられてきた。一方で、我々はこれまでに鳥類を対象とした研究を行い、花蜜食のハチドリにおいては旨味受容体が糖受容体として機能していることを明らかにし、動物の食性に応じて旨味受容体が柔軟に機能を変化させてきたことを示した(Baldwin, Toda et al. *Science*, 2014)。

ヒトの旨味受容体はグルタミン酸に特化したアミノ酸選択性を示す。仮に旨味受容体が単に「タンパク源検出のための味センサー」であれば、ヒト旨味受容体が幅広い種類のアミノ酸に対する受容能を低下させ、グルタミン酸受容に特化した理由は上手く説明できない。また、ヒトやマウスの旨味受容体はヌクレオチドによっても活性化されるが、その生理的意義も未解明である。

2. 研究の目的

本研究ではヒト旨味受容体がなぜ【研究1】高グルタミン酸活性及び【研究2】ヌクレオチド受容能を獲得したのかを明らかにすることを目的とする。そこで、ヒトとヒト以外の脊椎動物間で旨味受容体の塩基配列と機能、食物成分、嗜好性の比較解析を行う。

3. 研究の方法

【研究1: 高グルタミン酸活性の獲得】

霊長類の祖先は昆虫食であったが、ヒトを含む一部の霊長類の系統は体サイズの増大に伴い、必要量が増加した食物を安定的に確保するために植物食への依存度を高めたと考えられている(Kay et al. *Int. J. Primatol.*, 1980)。我々は既にヒト以外の霊長類4種の旨味受容体を解析し、共通の2アミノ酸残基に生じた変異によって、複数の系統に属する植物食傾向の強い種(アカゲザル、マントヒヒ、クモザル)の旨味受容体がヒト旨味受容体と同様に高グルタミン酸活性を有するのに対して、昆虫食傾向の強いリスザルの旨味受容体は高グルタミン酸活性を獲得していないことを見出した(Toda et al. *J. Biol. Chem.*, 2013)。そこで、本研究では対象とする霊長類の種類を増やし、昆虫食種と植物食種の間における旨味受容体の機能の違いを詳細に検証した。

【研究2: ヌクレオチド受容能の獲得】

魚類(Oike et al., *J. Neurosci.*, 2007)や鳥類(未発表データ)といった哺乳類以外の種では、旨味受容体はヌクレオチド受容能を有しないことから、ヌクレオチド受容は哺乳類に特有の機能である可能性が考えられる。そこで、ヌクレオチド活性が脊椎動物の進化の過程でいつ獲得されたのかを明らかにするために、様々な哺乳類及び非哺乳類の旨味受容体遺伝子の配列解析と機能解析を行うこととした。

4. 研究成果

【研究1: 高グルタミン酸活性の獲得】

ゲノムDNAを元に、チンパンジー、ゴリラ、オランウータン、クモザル、メガネザル、オオガラゴ、ワオキツネザルの旨味受容体遺伝子(*Tas1r1*及び*Tas1r3*、各エキソン6個)のクローニングを行った。

これまでに、我々はヒトとマウスの比較解析から、ヒト旨味受容体のグルタミン酸受容能の獲得には、T1R1のアミノ酸結合部位に存在する170番及び302番のアミノ酸残基の負電荷の消失が重要なことを明らかにしている(Toda et al. *J. Biol. Chem.*, 2013)。今回、配列解析を行った7種の霊長類のうち、チンパンジー、ゴリラ、オランウータン、クモザル、ワオキツネザルでは、この2つのアミノ酸残基の負電荷が共に消失していることが明らかとなった。一方で、メガネザル及びオオガラゴでは少なくとも一方のアミノ酸残基が祖先型の酸性アミノ酸残基であったことから、旨味受容体のグルタミン酸活性は低いと推測された。

各霊長類における旨味受容体遺伝子のエキソン断片をPCR法により繋ぎ合わせ、培養細胞発現用プラスミドを作製した。作製したプラスミドを培養細胞(HEK293T細胞)に遺伝子導入し、発光検出系にてアミノ酸応答性を評価した。クローニングが完了した非ヒト霊長類のうち、クモザルT1R1/T1R3の機能解析を完了した。結果、クモザルT1R1/T1R3がグルタミン酸で強く活性化されることが確かめられた。このことより、幅広い系統に属する霊長類において、T1R1の170番・302番の負電荷消失が高グルタミン酸活性獲得に寄与していると強く示唆された。

【研究2: ヌクレオチド受容能の獲得】

複数種の非霊長類哺乳類の旨味受容体遺伝子(*Tas1r1*及び*Tas1r3*、各エキソン6個)のクローニングを完了した。

今後、これらの旨味受容体の培養細胞発現用プラスミドを作製し、機能解析を行うことで、脊椎動物の進化の過程でいつヌクレオチド受容能が獲得されたのかが明らかになると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 三坂 巧、戸田安香	4. 巻 19
2. 論文標題 醤油に含まれる香気成分が旨味を増強する	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Aroma Research	6. 最初と最後の頁 86-87
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 戸田安香	4. 巻 52
2. 論文標題 機能解析技術が明らかにした味覚受容体と食物成分のかかわり・味の感じ方は生き物それぞれ	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 化学と生物	6. 最初と最後の頁 115-120
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 戸田安香、石丸喜朗	4. 巻 133
2. 論文標題 さまざまな脊椎動物における味覚の進化	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 臨床栄養	6. 最初と最後の頁 2-7
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Toda Y, Nakagita T, Hirokawa T, Yamashita Y, Nakajima A, Narukawa M, Ishimaru Y, Uchida R, Misaka T.	4. 巻 8
2. 論文標題 Positive/Negative Allosteric Modulation Switching in an Umami Taste Receptor (T1R1/T1R3) by a Natural Flavor Compound, Methional.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11796
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-30315-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 戸田 安香、石丸 喜朗、三坂 巧
2. 発表標題 旨味受容体T1R1/T1R3と食性との関わり
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yasuka Toda
2. 発表標題 Molecular mechanisms of ligand recognition in the umami taste receptor, T1R1/T1R3
3. 学会等名 The 7th International Conference on Food Factors（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 戸田安香、早川卓志、中北智哉、河村正二、今井啓雄、石丸喜朗、三坂巧
2. 発表標題 霊長類旨味受容体における高いグルタミン酸感受性獲得の分子機構
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 戸田安香、早川卓志、中北智哉、河村正二、今井啓雄、石丸喜朗、三坂巧
2. 発表標題 霊長類T1R1/T1R3におけるグルタミン酸受容能獲得の分子基盤：クモザルに注目した検討
3. 学会等名 日本農芸化学会2019年度大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 戸田安香
2. 発表標題 味覚受容体の新しい機能解析技術の開発と味覚受容の分子機構の解明
3. 学会等名 日本農芸化学会2018年度第1回関東支部例会（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----