

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔令和5（2023）年度 中間評価用〕

令和5年3月31日現在

研究期間：2021～2025
課題番号：21H05006
研究課題名：アロステリーを利用した新規味覚センサの研究開発
研究代表者氏名（ローマ字）：都甲 潔（TOKO Kiyoshi）
所属研究機関・部局・職：九州大学・五感応用デバイス研究開発センター・特任教授
研究者番号：50136529

研究の概要：

味を測る装置である味覚センサは脂質と可塑剤、高分子（ポリ塩化ビニル）からなる受容部を有し既に実用に供されているが、膜電位計測であるため、電荷を有しない味物質（糖類や非荷電苦味物質）の計測は不可能であった。本研究課題は、これらの課題を解決すべく、アロステリーを利用することで味覚センサの非連続的かつ飛躍的深化を図る。

研究分野：電気電子材料工学、計測工学、応用物性

キーワード：味覚センサ、アロステリー、脂質高分子膜、非荷電味物質、広域選択性、膜電位計測

1. 研究開始当初の背景

生体系での酵素や受容体などのタンパク質ではアロステリーが数多くの局面で働いている。アロステリーとは、ある部位への化学物質（エフェクター）結合が、離れた別の部位での働き（基質親和性、酵素活性など）を制御すること、また化学物質と受容体の複合体形成が次段の複合体形成を促進・抑制することである。味物質の受容体であるGタンパク質共役型受容体（GPCR）でもアロステリーが働いている。アロステリーの工学的応用も試みられているが、多くはまだ基礎研究の段階に留まっている。他方、味を測る装置である味覚センサは脂質と可塑剤、高分子（ポリ塩化ビニル）からなる受容部（脂質高分子膜）を有し、既に実用に供されているが、膜電位計測であるため、電荷を有しない味物質（糖類や非荷電苦味物質）の計測は不可能であった。近年では特定の化学構造を有した化学物質を表面修飾することで、糖類（甘味）の計測も可能となりつつあるが、甘味への選択性も低く、かつ応答メカニズムも不明である。非荷電苦味物質を計測できない、味物質や味質間の相互作用（塩味エンハンス効果、相乗効果）の検知ができない、等の欠点を有していた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、これまで必ずしも完全とは言えなかった味覚センサの欠点を克服し、味覚センサの非連続的かつ飛躍的深化を図ることにある。膜を構成する分子（脂質、可塑剤、膜修飾分子）の表面での配列・配向を制御し、新しい電気化学的特性を発現させ、非荷電苦味物質を初めとする味物質への応答機能を実現する。その際、生体味覚受容体のアロステリーを模倣し、味覚受容膜にそのメカニズムを取り込み、高次組織構造体の膜構造と膜物性、そして味応答機能との相関を明らかにする。その結果、アロステリーを利用した味覚センサの実現及び一般のバイオセンシングデバイス応用への学術創成を目指す。

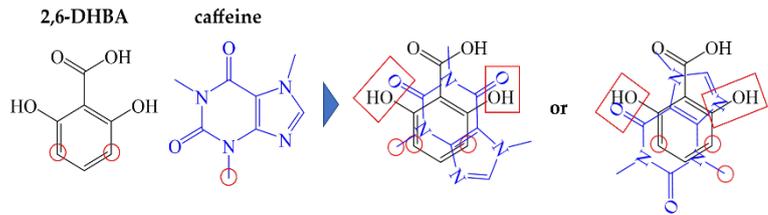
3. 研究の方法

本研究課題は電気電子工学、味覚生理学、食品機能分析学、臨床製剤学を専門とする5つのグループ(G)から構成される。基礎研究と応用研究開発を互いにフィードバックさせながら、味覚という生物科学的な機能を発揮する新規味覚センサの創出を行う。都甲・巫Gはアロステリーを利用した味覚センサの研究開発を担当し、①非荷電苦味物質の検知、②糖類の検知、③塩味エンハンス効果の検知、④うま味の相乗効果の検知を実現する受容膜を開発する。重村Gは生体受容メカニズムの味覚センサへの設計・応用を担当し、培養味細胞のカルシウムイメージングと分子シミュレーションを活用することで、アロステリーによる受容体活性メカニズムの解明を行い、味覚センサの味覚受容膜設計の指針を見出す。松井Gはリガンドとセンサ膜間に働く分子間相互作用の状態解析を担当し、溶液系で非破壊での状態解析が可能な¹H-NMR法を用い、種々の味物質とセンサ膜との分子間・分子内相互作用の評価を行う。内田Gはセンサ膜の創薬応用を担当し、臨床で苦味を有する医療用医薬品原末のうち非荷電物質を対象とし、非荷電用苦味センサの開発支援と創薬応用を行う。

4. これまでの成果

1)非荷電苦味物質カフェインと2,6-DHBAとの相互作用様態の解明 非破壊での状態分析が可能なNMR法（対象核種：¹H）の1つである nuclear Overhauser effect spectroscopy (NOESY)を用いて溶液中のカフェインと2,6-DHBAの分子間相互作用の解析を松井Gと共同で行った。その結果、カフェインは2,6-DHBAとスタッキングし、水素結合およびπ電子相互作用を介して安定な会合体を形成していることが分かった。

2) 応答感度の向上 他の膜修飾材料を検討した。方針は低いpKaと高いlogP（疎水性の指標）を持つ材料を用いることである。その結果、カフェインやテオブロミンに高い感度を得ることに成功した。



3) 塩味エンハンス効果の検知

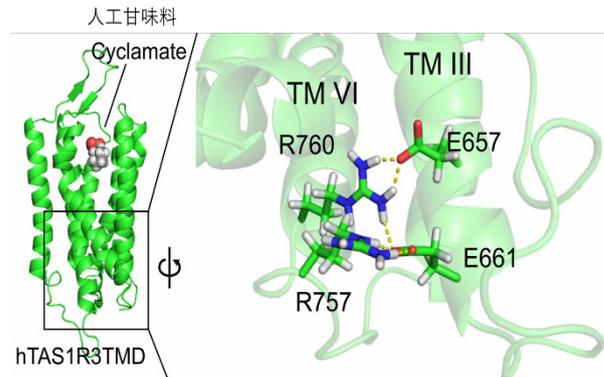
Na イオノフォアと完全解離脂質 tetrakis[3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl]borate sodium salt dehydrate (TFPB) から成る混合膜で塩味エンハンス効果の検知に成功した。

4) 甘味受容膜の応答メカニズムの解明

洗浄液中で甘味センサ受容膜のトリメリット酸へ Na⁺や K⁺の金属イオンが結合し、糖類測定の際に、結合した金属イオンが糖と錯体形成するという糖検知メカニズムが明らかとなった。

5) アロステリーによる受容体活性メカニズムの解明

味覚受容体遺伝子を培養細胞に発現させた人工味細胞のカルシウムイメージングと、分子動力学等の分子シミュレーションを用いることで、味物質や味覚修飾物質の作用でアロステリーが受容体の上部（生体膜外側）と下部（膜内側）で生じ、甘味情報伝達に重要な役割を果たしていることを明らかにした。



5. 今後の計画

R3～4年度の成果を元に次の研究を遂行する。

非荷電苦味物質の検知とセンサの創薬応用

アロステリーを利用したセンサの応用拡張性を確認するため、まずはカフェインやテオブロミン以外のキサンチン類の計測を行う。さらにプレドニゾロン、デキサメタゾン、アセトアミノフェンといったステロイド剤の計測も行う。また、果実の苦味成分であるポリフェノール類（非荷電）、ナリンギンやヘスペリジン、の計測も試みる。結果を創薬応用へと結びつける。

甘味受容膜の開発

糖類に選択的に結合する物質を受容体に用い、受容部と脂質分子のマトリックス構造の形成、出力に電圧、非荷電味物質（糖類）受容から電位変化への変換にアロステリーの利用、というストラテジーで研究を進める。

うま味受容膜の開発

基本、生体のうま味受容に倣い、うま味検知の研究を進める。例えば、カルボキシ基とアミノ基を有する脂質分子の活用等を試みる。これら甘味とうま味受容膜の研究では、生体受容体活性メカニズムを参考にする。

6. これまでの発表論文等（受賞等も含む）

1. Prediction of Dynamic Allostery for the Transmembrane Domain of the Sweet Taste Receptor Subunit, TAS1R3, *K. Sanematsu, M. Yamamoto, Y. Nagasato, Y. Kawabata, Y. Watanabe, S. Iwata, S. Takai, K. Toko, T. Matsui, N. Wada, and *N. Shigemura, *Communications biology*, in press (2023)
2. Development and Optimization of a Highly Sensitive Sensor to Quinine-Based Saltiness Enhancement Effect, *Y. Jing, K. Watanabe, T. Watanabe, S. Kimura and *K. Toko, *Sensors*, 23(6), 3178 (2023)
3. Elucidation of Response Mechanism of a Potentiometric Sweetness Sensor with a Lipid/Polymer Membrane for Uncharged Sweeteners, Z. Ye, T. Ai, X. Wu, T. Onodera, H. Ikezaki and *K. Toko, *Chemosensors*, 10(5), 166 (2022)
4. Identification of the Principle of Taste Sensors to Detect Non-Charged Bitter Substances by ¹H-NMR Measurement, *M. Ishida, H. Ide, K. Arima, Z. Zhao, T. Matsui and K. Toko, *Sensors*, 22(7), 2592 (2022)
5. The Inhibitory Effect of Adenylic Acid on the Bitterness of the Antibacterial Combination Drug Trimethoprim/Sulfamethoxazole, J. Kawahara, M. Yoshida, H. Kojima, R. Uno, M. Ozeki, I. Kawasaki, M. Habara, H. Ikezaki, and *T. Uchida, *Chem. Pharm. Bull.*, 71(3), 198-205 (2023)
(受賞) 都甲 潔: 経済産業大臣賞 (第 11 回技術経営・イノベーション大賞)「世界初の味覚センサ技術による食品業界のイノベーション」

7. ホームページ等

<http://ultrabio.ed.kyushu-u.ac.jp/>, <https://www.rdcetos.kyushu-u.ac.jp/>