

新規機能解析技術を用いた 嗜好味受容体 T1R の機能と食物成分との関わりの解明

戸田 安香

明治大学農学部農芸化学科 特任講師

緒 言

味覚は、食物を摂食可能であるかを決定する上で重要な化学感覚である。味は旨味、甘味、苦味、酸味、塩味の五基本味からなり、口腔中の味蕾にはそれぞれの味に対応した受容体タンパク質が存在する¹⁾。そのうち嗜好味である旨味と甘味の受容はクラスCのGタンパク質共役型受容体（GPCR）であるT1Rファミリーが担っており、旨味受容体と甘味受容体はそれぞれT1R1とT1R3あるいはT1R2とT1R3のヘテロ二量体から構成される。

味覚受容体と味物質の相互作用を解析する手法として、細胞内カルシウムアッセイが広く用いられてきた。この評価系では、培養細胞に味覚受容体およびGタンパク質を強制発現させ、味物質添加時の受容体の活性化の強さを細胞内カルシウムイオン濃度の変化量として数値化する。細胞内カルシウムイオンの検出には、カルシウム感受性蛍光指示薬が広く用いられてきた。しかし、サンプル中にビタミン類やメイラード反応物質などの蛍光物質が含有される場合、この蛍光検出系を利用することができない。そのため、蛍光物質を含有するサンプルでも測定が可能な新規味覚評価系の開発が望まれていた。また、味覚受容体発現細胞では、味物質添加時にごくわずかにしか細胞内カルシウムイオン濃度が変化しないことから、検出感度の高い評価系の開発が求められていた。

実験方法と結果

1. 味覚受容体の新規機能解析技術の開発とおいしさに寄与する成分の同定

従来用いられてきた蛍光検出系の有する課題を解決するために、筆者は新たにカルシウム結合型蛍光タンパク質²⁾を用いた蛍光検出系を導入した（図1）。蛍光検出系では、検出の際に励起光の照射が不要なため、サンプル自体が蛍光特性を有する場合も影響を受けずに測定が可能である。また、蛍光検出系では培養細胞内に存在する

弱い蛍光物質による干渉が生じるのに対し、蛍光検出系では事実上バックグラウンドがない状態での測定が可能なたため、蛍光検出系に比べ高いシグナル/バックグラウンド比を実現することも可能である。

用いる蛍光タンパク質の種類を検討し、蛍光タンパク質をミトコンドリア内に局在化させる等の工夫を重ねた結果、味覚受容体の活性化の強さを蛍光値として検出することに成功した。新しく構築した蛍光検出系は、蛍光物質を含む食品由来サンプルの測定にも用いることができた³⁾。また、蛍光検出系では蛍光値の検出にスループットの高いマイクロプレートリーダーを用いることから、味覚修飾作用を有する食品成分の大規模スクリーニングにも役立つものとなった。さらに、世界でもほとんど例のない旨味受容体の高感度評価系構築に成功したことから、世界をリードした旨味受容体研究の推進が可能となった⁴⁾。

これまで旨味受容体の天然リガンドはアミノ酸とヌクレオチドしか知られていなかった¹⁰⁾。筆者は開発した蛍光検出系を用いることで、醤油やトマト、チーズの主要香気成分の一つであるメチオナルが旨味受容体活性化能を有することを発見した。さらに、受容体の変異体解

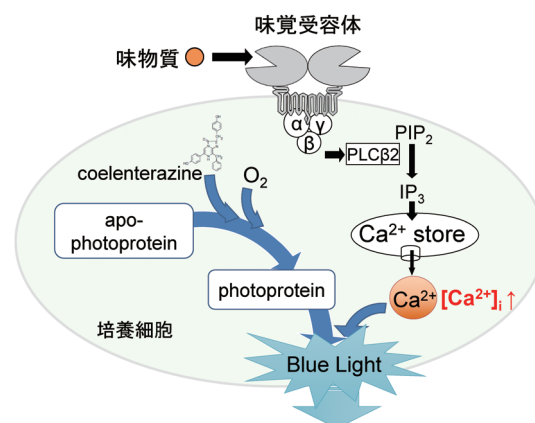


図1 カルシウム結合型蛍光タンパク質を用いた味覚受容体の機能解析技術

析を行うことで、メチオナールが旨味受容体の活性を調節する分子機構を解明した⁵⁾。

2. 旨味受容体の機能と食物成分の関わり の 解 明

近年、様々な生物のゲノム配列が解読され、味覚受容体遺伝子と動物の食性に深い関わりがあることがわかってきた。しかし、これまでの研究は、肉食動物であるネコでは甘味受容体⁶⁾が、肉食から竹食に転向したパンダでは旨味受容体が偽遺伝子化している⁷⁾といった、遺伝子配列のみを解析したものがほとんどだった。そこで、味覚受容と動物の食性の関わりをより深く理解するために、様々な脊椎動物を対象に味覚受容体の機能を解析することとした。

2.1 鳥類における旨味受容体の糖受容能獲得

肉食恐竜を祖先とする鳥類は、甘味受容体が偽遺伝子化しており、甘味を感じないと考えられてきた。しかし、鳥類の中には花蜜を食するものが多く存在し、花蜜食鳥類がどのように花蜜の味を感知しているかは謎だった。筆者は、Maude Baldwin博士（Max Planck鳥類研究所）と共同研究を行い、花蜜を主食とするハチドリ（アマツバメ目）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た⁸⁾（図2）。この結果は、動物の食性に応じて旨味受容体が新たな機能を獲得した例を世界で初めて示したものだ。しかし、ハチドリは近縁種のアマツバメと分岐した後に旨味受容体の糖受容能を獲得しており、ハチドリ以外の鳥類が花蜜の味をどう検出しているかは不明だった。

そこで、筆者とBaldwin博士は、現在生息する鳥類の約半数を占める鳴禽類（スズメ亜目）を次なる研究対象とした。その結果、鳴禽類の共通祖先の旨味受容体が、ハチドリとは異なる分子機構で糖受容能を獲得していた

ことを明らかにした（図2）。鳴禽類の共通祖先はオーストラリアに生息していたと考えられているが、現在は日本を含む全世界に分布している。本研究から、祖先の旨味受容体に生じた遺伝子変異によって、長距離移動（渡り）時や主食が不足する季節の重要な食糧源として花蜜を有効利用できるようになり、鳴禽類が鳥類最大勢力へと繁栄するのに貢献した可能性が示された⁹⁾。

2.2 ヒトにおけるグルタミン酸の旨味の起源解明

ヒトの旨味受容体は昆布の旨味成分であるグルタミン酸に強く応答する。また、鰹だしの旨味成分であるイノシン酸や干しシイタケの旨味成分であるグアニル酸といったヌクレオチドによって、グルタミン酸の旨味応答が増強される^{10,11)}。しかし、魚類やマウスの旨味受容体はグルタミン酸では活性化されないため^{10,12)}、グルタミン酸を検出する能力がいつ、どのような理由で獲得されたかは不明だった。そこで筆者は、ヒトとマウスの旨味受容体を比較解析することで、グルタミン酸受容能獲得の分子基盤を明らかにした⁴⁾。さらに、早川卓志助教（北海道大学）らとの共同研究により、ヒトを含む17種の霊長類を解析対象としたところ、旨味受容体がグルタミン酸で強く活性化される霊長類は、葉を主要なタンパク質供給源として利用していることを示した¹³⁾。一方、旨味受容体がグルタミン酸で強く活性化されない霊長類は、体が小さく、昆虫にタンパク質供給を頼っていることを見出した。さらに、霊長類の共通祖先の旨味受容体はグルタミン酸ではなくヌクレオチドセンサーとして機能していたことも示した。また、成分分析を行うことで、昆虫にはヌクレオチドとグルタミン酸の両方が豊富に含まれているのに対し、葉にはグルタミン酸は含まれているもののヌクレオチドがほとんど含まれていないことを見出した¹³⁾。つまり、体が小さく昆虫食だった

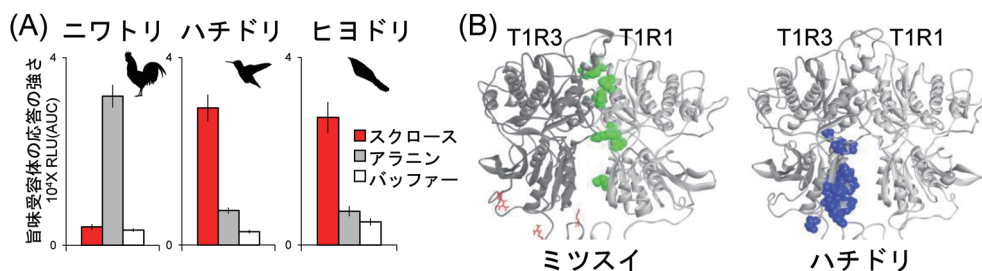


図2 鳥類 T1R1/T1R3 における糖受容能獲得

(A) ハチドリやヒヨドリ（鳴禽類）の旨味受容体は糖に応答する。

(B) メジロキバネミツスイでは T1R1 の細胞外領域、ハチドリでは T1R3 の細胞外領域に、糖受容能獲得に寄与したアミノ酸変異が同定された。

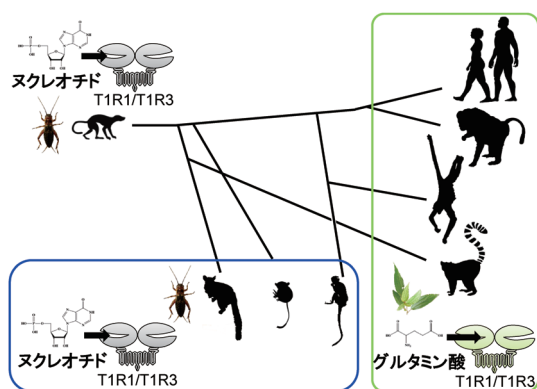


図3 霊長類における旨味受容体の機能とタンパク質供給源の比較

霊長類の共通祖先を含む小型昆虫食霊長類の旨味受容体は、昆虫に豊富に含まれるヌクレオチドに高感受性だった。一方、ヒトの祖先を含む、葉にタンパク質供給源を頼る大型霊長類の旨味受容体は、葉に豊富に含まれるグルタミン酸のセンサーへと機能転換した。

霊長類の祖先は、昆虫に豊富に含まれるヌクレオチドを検出するのに最適な旨味受容体を持っていた。一方、ヒトを含む一部の大型化した霊長類は、昆虫だけではタンパク質の量を補い切れなかったため、葉をタンパク質供給源として利用する必要があった。旨味受容体をヌクレオチドセンサーからグルタミン酸センサーへと変化させたことで、ヌクレオチドを含まない葉をおいしく味わえるようになったと考えられる(図3)。これまで筆者は、緑茶中のアミノ酸であるテアニンが旨味受容体を活性化し、緑茶のおいしさに貢献していることも見出している¹⁴⁾。ヒトが緑茶を苦くても「おいしい」と感じるのと似たような感覚で、森の中の霊長類たちは葉をおいしく味わい、有用なタンパク質供給源として活用しているのではないだろうか。

考 察

筆者は自らが開発した機能解析技術を用いることで、食品中のおいしさに寄与する成分の同定や分子機構解明および、味覚が食物選択に果たす役割の重要性を示してきた。今後は、研究対象を脊椎動物全般へと拡大し、旨味受容体へも応用展開していくことで、「おいしさ」に欠かすことができない嗜好味(旨味・甘味)の起源を全貌解明したいと考えている。

また、近年、味覚受容体は口腔内だけでなく、全身の様々な組織に発現し、栄養素や異物の検出にも貢献していることがわかってきた。味覚受容体の機能解明を通じて、味覚受容体の味受容以外の未知機能解明へと研究を

展開し、食を通じた健康な生活に貢献したいと考えている。

要 約

味は甘味、旨味、苦味、酸味、塩味の五基本味からなり、口腔中に存在するセンサー分子(味覚受容体)により受容される。筆者は、味覚受容体の新しい機能解析技術を開発した。特に、世界でもほとんど成功例のない旨味受容体の高感度ハイスループットアッセイ系の構築に成功することで⁴⁾、身近な食品中に旨味受容体活性を有する成分を見出した。例えば、醤油やチーズ、トマトの主要香気成分であるメチオナルが旨味受容体を活性化することを明らかにした⁵⁾。また、一般的なモデル実験動物に限らない、幅広い脊椎動物へと研究対象を広げることで、食嗜好性形成における旨味感覚の重要性を明らかにした。例えば、鳥類は旨味受容体が偽遺伝子化しており、甘味を感じないと考えられてきたが、花蜜を食するハチドリ⁸⁾や鳴禽類⁹⁾においては旨味受容体が糖受容体として機能し、花蜜の味検出に貢献していることを明らかにした。また、ヒトは昆布の旨味成分であるグルタミン酸に強い旨味を感じるが、このグルタミン酸嗜好性は、霊長類の進化の過程でタンパク質供給源として苦い葉をおいしく利用するために獲得されたことを示した¹³⁾。

謝 辞

本研究は東京大学大学院農学生命科学研究科ならびに明治大学農学部農芸化学科において行ったものです。本研究の機会を与えて下さった阿部啓子先生(東京大学)、三坂巧先生(東京大学)、石丸喜朗先生(明治大学)に心より感謝いたします。また、貴重なサンプルを御提供いただき、研究に関する多くの御助言を頂きました今井啓雄先生(京都大学)、河村正二先生(東京大学)、Maude W. Baldwin博士(Max Planck鳥類研究所)、早川卓志先生(北海道大学)をはじめとした多くの共同研究者の皆様へ心より御礼申し上げます。また本研究を三島海雲学術賞にご選出下さいました選考委員の先生方、公益財団法人三島海雲記念財団の関係者の皆様ならびに、本賞にご推薦下さいました日本農芸化学会・松山旭会長に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 戸田安香・石丸喜朗: 臨床栄養, 133, 2-7, 2018.

- 2) O. Shimomura, et al.: *J. Cell Physiol.*, **59**, 223, 1962.
- 3) Y. Toda, et al.: *J. Agric. Food. Chem.*, **59**, 12131–12138, 2011.
- 4) Y. Toda, et al.: *J. Biol. Chem.*, **288**, 36863–36877, 2013.
- 5) Y. Toda, et al.: *Sci. Rep.*, **8**, 11796, 2018.
- 6) Li, et al.: *PLoS Genet.*, **1**, 27–35, 2005.
- 7) Li, et al.: *Nature*, **463**, 311–317, 2010.
- 8) M. W. Baldwin, Y. Toda et al.: *Science*. **345**, 929–933, 2014.
- 9) Y. Toda, et al.: *Science*. **373**, 226–231, 2021.
- 10) G. Nelson, et al.: *Nature*, **416**, 199–202, 2002.
- 11) F. Zhang, et al.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 20930–20934, 2008.
- 12) H. Oike, et al.: *J. Neurosci.*, **27**, 5584–5592, 2007.
- 13) Y. Toda, T. Hayakawa et al.: *Curr. Biol.*, **31**, 4641–4649, Correction 4675–4676, 2021.
- 14) M. Narukawa, Y. Toda et al.: *Amino Acids*, **46**, 1583–1587, 2014.

著者紹介



戸田 安香 (トダ ヤスカ)

埼玉県生まれ
2007年3月 東京大学農学部獣医学課程卒業
2007年4月 キッコーマン株式会社研究開発本部研究員
2014年12月 博士（農学）
2017年5月 明治大学農学部農芸化学科研究員
2018年4月 日本学術振興会特別研究員PD
2021年4月 明治大学農学部農芸化学科特任講師

専門分野：
食品機能学。おいしさ研究を通じて、食と健康に貢献できればと思います。また、女性研究者の良きロールモデルとなれるよう、研究と教育活動に日々精進いたします。