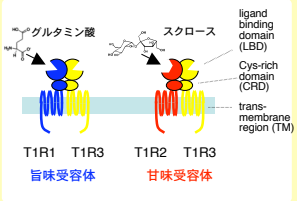
新規味物質・味評価法開発に重要な味覚受容体の構造・機能解析

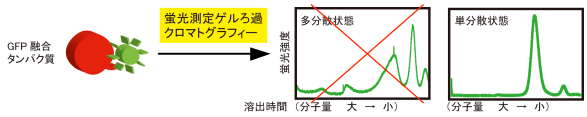
芦川　雄二、松浦　紀子、伊原　誠、○山下　敦子*（(独)理化学研究所）
清水　真都香、日下部　裕子**（(独)農研機構・食品総合研究所）
(*代表、**分担機関代表)

【研究目的】
味覚受容体である甘味受容体および旨味受容体は、味蕾の味細胞に存在する膜タンパク質で、Gタンパク質共役型受容体(GPCR)ファミリーに属する。これらの受容体は、T1Rファミリーと呼ばれる３種類のタンパク質(T1R1, T1R2, T1R3)がヘテロ二量体を構成して機能しており，T1R1/T1R3二量体が旨味受容を，T1R2/T1R3二量体が甘味受容を担っている．またこれらの分子には細胞外ドメインが存在し，多くの味物質の結合・認識部位となっている．本課題では甘味・旨味受容体の安定調製系を確立し、Ｘ線結晶構造解析を行って立体構造を明らかにすることを第一の目標とする。さらに、得られた構造情報に基づいて機能解析を行い、構造生物学的および分子生理学的研究両面から、味物質認識の機構を分子レベルで解明することを最終目標とする。



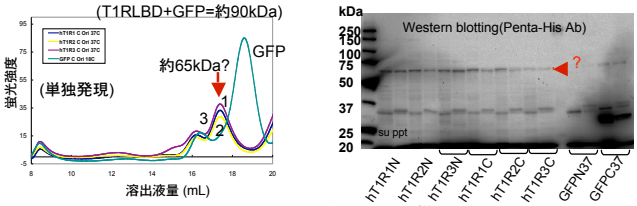
構造研究G（理研）の成果

結晶構造解析に適した受容体発現コンストラクト・発現系の探索



1. 大腸菌での発現の結果

● ヒトT1Rリガンド結合領域(LBD)-大腸菌Origami(DE3)pLysSでの発現

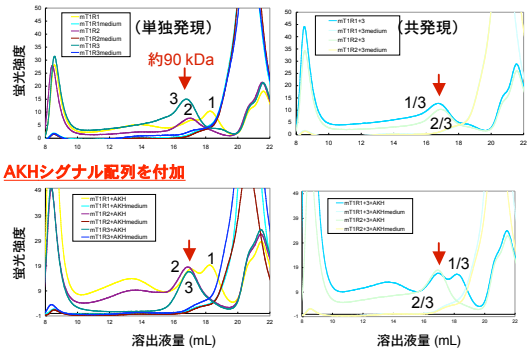


（※T1R1/T1R3, T1R2/T1R3の共発現でも同様の結果）

大腸菌では期待するT1R試料の発現が見られなかった

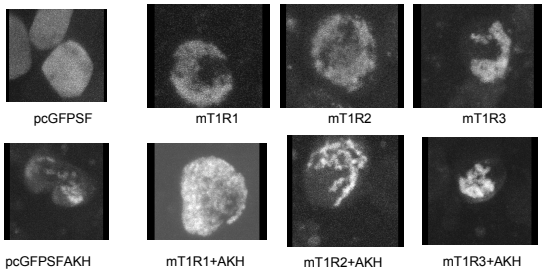
2. 昆虫培養細胞での発現の結果

● マウスT1Rリガンド結合領域(LBD)-Sf9細胞での発現



AKHシグナル配列を付加

<発現の細胞内局在>

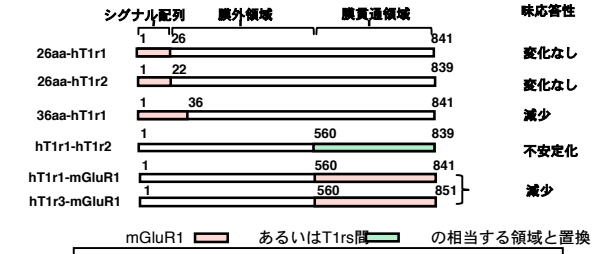


生理的発現条件に近い輸送経路を経由し適切な翻訳後修飾を行わせることが、結晶化に適したT1R試料調製のために重要
→性質がよいものをピックアップ、大量発現、調製へ

機能研究G（食総研）の成果

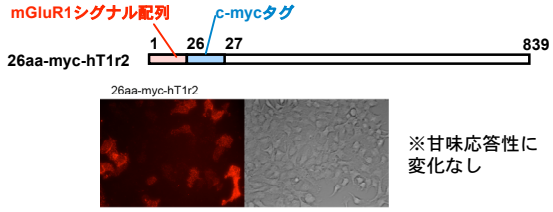
1. 味覚受容体変異体の作製およびその解析

1-1. キメラ変異体の解析



膜貫通領域置換：味応答性が減少又は不安定化
シグナル配列のみ置換：味応答性に変化なし

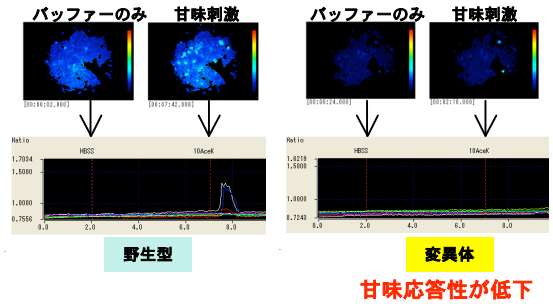
1-2. 味覚受容体膜移行性評価系の作製



※甘味応答性に変化なし

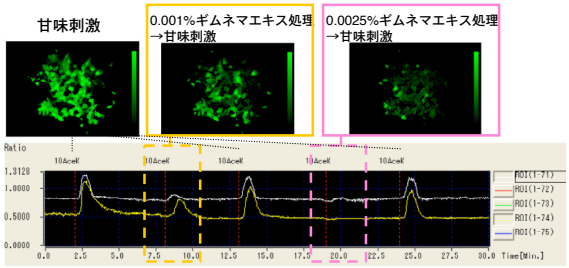
細胞膜に移行している受容体分子を可視化
→応答特性と膜移行性の関連について解析が可能

1-3. １残基変異体解析



甘味応答性が低下

2. 甘味阻害物質と甘味受容体の相互関係の解析



【研究進捗上の問題点】
受容体発現について解決できていない問題点がある …… タンパク質の膜移行性に依然として問題がある
タンパク質がアグリゲーションする

【今後の展望】
現在進めている構造解析のための試料調製条件を確立し、結晶化条件を見いだして構造解析に進める。また、応答性が変化した変異体や阻害剤の作用機序解明をすすめ、これらの構造・機能情報を統合して味覚受容体の味物質認識機構の理解を目指す。