

## 先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 実施状況報告書(平成23年度)

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	味覚受容体による味認識機構の構造生物学的解明
研究機関・ 部局・職名	独立行政法人理化学研究所・ 播磨研究所放射光科学総合研究センター分子シグナリング研究チーム・チームリーダー
氏名	山下 敦子

### 1. 当該年度の研究目的

味覚受容体である甘味・うま味受容体の味認識を担う細胞外ドメインについて、立体構造解明を目指し、試料調製条件の至適化と結晶構造解析を行う。また、味覚受容体味認識領域の機能の詳細を解明するため、生化学的機能解析系の確立を行う。また、酸味・辛味受容体について、味認識領域の発現系構築と精製条件の検討を行い、同領域の結晶構造解析を可能にする試料調製条件の確立を目指す。さらに、味覚受容体全長の試料スクリーニングに着手する。加えて、味覚受容体機能のさらなる理解を目指し、味覚受容体関連試料の構造・機能解析を行う。具体的には、味覚受容体からのシグナル伝達に関わるタンパク質の構造・機能解析を行い、味覚受容体機能の理解につながる知見を得ることを目指す。

### 2. 研究の実施状況

(1) 甘味・うま味受容体の構造・機能解析: 甘味・うま味受容体の味認識ドメインについては、これまでは構造解析のための試料調製が困難で、試料の安定性や収量が十分でなかった。そこで今年度試料調製条件を改善した結果、十分な安定性を持ち、構造解析の妨げとなる領域(糖鎖や、タンパク質精製には必要だが構造解析には不要なタグ領域等)を除いた性質のよい試料を、構造解析に十分な量得られる系を確立することに初めて成功し、構造解析達成への道筋をつけた。得られた試料を用いて、電子顕微鏡法および X 線溶液散乱法を用いた構造解析を行ったところ、この味認識ドメインが味物質の結合によって構造変化を起こす可能性が明らかになった。また、蛍光測定により味物質の結合を解析する系を確立し、味物質の種類や濃度の違いによって味覚受容体に多様な作用を引き起こす可能性を見いだした。さらに全長受容体の試料スクリーニング条件を検討し、試験的に行ったスクリーニングでは、構造解析に適した良好な性質を示すものを見いだした。また、細胞内カルシウム濃度変化という細胞内状態の変化によって甘味受容体への結合状態を変えるタンパク質を見だし、結合実験を行うとともに、同タンパク質が甘味受容体に結合した状態の結晶構造解析に着手した。

(2) 酸味・辛味受容体の構造・機能解析: 酸味・辛味受容体と同じファミリーに属する TRP チャネルの一種について、当該チャネルがカルシウムによって活性化され、生体膜を構成する特定のリン脂質の一種によって阻害されるなど、細胞内情報伝達分子によって制御されていることを見だし、同チャネルの機能が細胞内の状態によって調節されていることを明らかにした。さらに、同チャネル細胞内領域の機能解析と結晶構造解析からリン脂質が結合する領域やカルシウムが結合する部位を同定した。

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 3 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Ashikawa Y, Ihara M, Matsuura N, Fukunaga Y, Kusakabe Y, Yamashita A. “GFP-based evaluation system of recombinant expression through the secretory pathway in insect cells and its application to the extracellular domains of class C GPCRs” <i>Protein Science</i> (2011) <b>20</b>, 1720-1734.</li> </ol> <p>(掲載済み一査読無し) 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>山下敦子 「基質と阻害剤のあいだ：神経伝達物質トランスポーターホモログ LeuT の結晶構造から」 <i>細胞工学</i>(2012) <b>31</b>, 527-528.</li> <li>伊原誠、山下敦子 「FN-PAGE 法：膜タンパク質の性状の簡便かつ迅速な解析法」 <i>実験医学</i>(2011)<b>29</b>, 2291-2297.</li> </ol> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 7 件</p>	<p>専門家向け 計 7 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Ihara.M Okajima.T Yamashita.A Matsuda.K “Crystal structures of <i>Lymnaea stagnalis</i> AChBP in complex with neonicotinoid insecticides: imidacloprid and clothianidin” Nicotinic Acetylcholine Receptors 2011, Hinxton, UK, 2011年5月</li> <li>山下 敦子「神経伝達物質トランスポーターホモログLeuTの構造・機能解析」第58回ITPセミナー、岡山、2011年8月</li> <li>芦川 雄二、伊原 誠、松浦 紀子、福永 優子、日下部 裕子、山下 敦子”GFP-based evaluation system of recombinant expression through the secretory pathway in insect cells”第 49 回日本生物物理学会年会、姫路 2011 年 9 月</li> <li>松井 美佳奈 浅野 拓也 伊原 誠 山下 敦子 岡島 俊英 松田 一彦「ニコチン性アセチルコリン受容体のネオニコチノイド感受性決定に対する非古典的loopの寄与」2011年度日本農芸化学会 関西・中部支部合同大会(関西支部第471回講演会、中部支部第162回例会)、京都、2011年10月</li> <li>浅野 拓也 松井 美佳奈 伊原 誠 山下 敦子 岡島 俊英 松田 一彦「ニコチンとネオニコチノイドの活性に対するニコチン性受容体の古典的および非古典的ループ構造の影響」日本農芸化学会2012年度大会、京都市、2012年3月</li> <li>山下 敦子 伊原 誠 “Structure basis of a regulatory module of TRP channel homolog”第 85 回日本薬理学会年会、京都、2012 年 3 月</li> <li>Nuemket N. Matsuura N &amp; Yamashita A “Interaction of CIB1 and cytosolic C-terminus of Sweet Taste Receptor (T1R2): an implication in signal transduction” Sapporo Symposium on Advanced Protein Crystallography, Sapporo, 2012 年 3 月</li> </ol> <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図書 計 2 件</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>山下敦子 DOJIN BIOSCIENCE SERIES 01「化学受容の科学-匂い・味・フェロモン 分子から行動まで」 (東原和成編) 第 12 章・化学感覚受容体の構造生物学 化学同人、2012 年、p.134-145. ISBN978-4-7598-1501-6</li> <li>Yamashita A., Ihara, M. “Structure basis of a regulatory module of TRP channel homolog” <i>Journal of Pharmacological Sciences</i>, 118, Suppl. 1, 12P, 2012.</li> </ol>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件</p> <p>(出願中) 計 0 件</p>

様式19 別紙1

Webページ (URL)	特になし。
国民との科学・技術対話の実施状況	夏休み自由研究(小・中学生)のための科学実験教室「味覚の不思議を科学する！」平成23年8月4日、三日月文化センター、対象者:小学生、参加者数:8名、内容:味覚修飾食品を用いた実験を交えながら、味覚受容についての基礎や本研究課題の概要をわかりやすく説明した。
新聞・一般雑誌等掲載 計0件	特になし。
その他	テレビ放映:平成23年12月11日放映BSフジ「ガリレオX」(「加速器」最前線宇宙・物質・生命現象の謎を解く)にて、本研究課題を推進する立場からの加速器利用に関するコメントを行った。

4. その他特記事項

特になし。

## 実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	107,000,000	36,130,000	0	70,870,000	0
間接経費	32,100,000	10,839,000	0	21,261,000	0
合計	139,100,000	46,969,000	0	92,131,000	0

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	36,069,825	0	0	36,069,825	19,352,958	16,716,867	0
間接経費	10,839,000	0	0	10,839,000	10,839,000	0	0
合計	46,908,825	0	0	46,908,825	30,191,958	16,716,867	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	15,784,500	蛍光分光高度計、実験試薬、実験器具等
旅費	229,200	研究成果発表旅費(薬理学会年会・京都)等
謝金・人件費等	2,188,954	パートタイマー人件費
その他	1,150,304	成果発表論文掲載料、モノクローナル抗体作製等
直接経費計	19,352,958	
間接経費計	10,839,000	
合計	30,191,958	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
蛍光分光高度計	堀場製作所 FluoroMax-4	1	4,179,000	4,179,000	2012/3/22	理化学研究所
モノクローナル抗体 作製	ミクリ免疫	1	630,000	630,000	2012/3/16	理化学研究所
				0		