

課題番号	LS037
------	-------

**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 24 年度)**

本様式の内容は一般に公表されません

研究課題名	味物質受容の相乗・相殺効果を利用した食品デザインの新展開
研究機関・ 部局・職名	東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授
氏名	三坂 巧

1. 当該年度の研究目的

本研究においては味覚受容体発現細胞を用いて、味の相乗・相殺のメカニズムを味覚受容体とリガンドとの相互作用という観点から解析する。具体的には味覚受容体発現細胞の味物質への応答測定の際に、種々の構造を持つ物質を共存させて活性を測定し、相乗・相殺効果を有する物質の同定を行う。

これまでにヒト甘味受容体安定発現細胞を用いたスクリーニングアッセイを幅広く実施し、甘味受容体活性化に影響を与える物質について複数同定を行った。これらの甘味増強・阻害効果を有する物質について、その作用機序を解明することが研究の一つの目的である。本年度は、分子モデリングの手法を用いることで甘味物質の相互作用部位を推定し、味覚受容体の点変異体を用いることで相互作用についての実験的な検証を行っていく。

一方、食品中には蛍光物質を含む成分が多いため、蛍光色素を用いた培養細胞アッセイ系に食品成分を高濃度添加することができないという問題がある。そこで発光タンパク質を利用することで、蛍光色素を使用せずに測定可能なアッセイ系の確立も行っていく。

2. 研究の実施状況

味の相乗・相殺のメカニズムを理解するためには、味覚受容体とリガンドとの相互作用がどのようにして行われているかを明らかにする必要がある。例えば、ヒトはたった1種類しか甘味受容体を持っていないにも関わらず、構造の大きく異なる多様な物質を受容することで、甘いと感じることができる。しかしながら多様な甘味物質群を、一つしかない受容体でどのようにして認識しているのかについては、十分には理解されていなかった。そこで分子モデリングの手法を用いることで、低分子甘味物質群のリガンド認識に深く関わると予想されるヒト甘味受容体のアミノ酸残基を、10 か所予測することができた。これら残基の役割を明らかにするためにヒト甘味受容体の点変異体を作製し、変異導入によるリガンド受容機能の変化について実験的な検証を行った。その結果、ヒト甘味受容体がリガンド受容ポケット中の10残基を巧妙に使い分け、化学的性質の異なる、多種類の低分子甘味物質を受容している様子が明らかになった。

一方、本実験系においては細胞応答測定を行う際に、カルシウム感受性蛍光指示薬の蛍光強度変化を指標に測定を行っている。前年度より継続して、励起光を照射することなく細胞応答の測定が可能である

様式19 別紙1

発光タンパク質を利用した応答測定系の改良を試みた。前年度、甘味受容体発現細胞において改良を実施した測定系を基に、他の味覚受容体を発現させた場合について利用を試みたところ、他の受容体においても細胞応答が感度よく測定できることが判明した。特に、点変異体を利用する場合など、応答強度が小さくなってしまふ場合の対応策として非常に有用であり、本測定系が呈味強度の測定に大きく貢献する測定手法であることが分かった。

以上の結果を含め、24年度には原著論文を計8報発表することができ、本研究課題について大きく進展したといえる。

3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計9件
計13件	<p>1. Misaka, T.* (Review) “Molecular mechanisms of the action of miraculin, a taste-modifying protein” Semin. Cell Dev. Biol., 24, 222-225 (2013.3) http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1084952113000268</p> <p>2. Maeda, N., Kawakami, S., Ohmoto, M., le Coutre, J., Vinyes-Pares, G., Arigoni, F., Okada, S., Abe, K., Aizawa, H.*, and Misaka, T.* “Differential expression analysis throughout the weaning period in the mouse cerebral cortex” Biochem. Biophys. Res. Commun., 431, 437-443 (2013.2) http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X13000958</p> <p>3. Son, H. J., Kim, M. J., Park, J. H., Ishii, S., Misaka, T., and Rhyu, M. R.* “Methyl syringate, a low-molecular-weight phenolic ester, as an activator of the chemosensory ion channel TRPA1” Arch. Phram. Res., 35, 2211-2218 (2012.12) http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs12272-012-1220-6</p> <p>4. Hata, T., Tazawa, S., Ohta, S., Rhyu, M. R., Misaka, T., and Ichihara, K.* “Artepillin C, a major ingredient of brazilian propolis, induces a pungent taste by activating TRPA1 channels” PLoS One, 7, e48072 (2012.11) http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0048072</p> <p>5. Kawakami, S., Ohmoto, M., Itoh, S., Yuasa, R., Inagaki, H., Nishimura, E., Ito, T., and Misaka, T.* “Accumulation of SNAP25 in mouse gustatory and somatosensory cortices in response to food and chemical stimulation” Neuroscience, 218, 326-334 (2012.8) http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0048072</p> <p>6. Imai, H.*, Suzuki, N., Ishimaru, Y., Sakurai, T., Yin, L., Pan, W., Abe, K., Misaka, T., and Hirai, H. “Functional diversity of bitter taste receptor TAS2R16 in primates” Biol. Lett., 8, 652-656 (2012.8) http://rsbl.royalsocietypublishing.org/content/8/4/652.long</p> <p>7. Okada, S., Abuyama, M., Yamamoto, R., Kondo, T., Narukawa, M., and Misaka, T.* “Dietary zinc status reversibly alters both the feeding behaviors of the rats and gene expression patterns in diencephalon” Biofactors, 38, 203-218 (2012.5) http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/biof.1007/abstract</p> <p>8. Ishii, S., Kurokawa, A., Kishi, M., Yamagami, K., Okada, S., Ishimaru, Y., and Misaka, T.* “The response of PKD1L3/PKD2L1 to acid stimuli is inhibited by capsaicin and its pungent analogs” FEBS J., 279, 1857-1870 (2012.5)</p>

	<p>http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1742-4658.2012.08566.x/abstract</p> <p>9. Masuda, K., Koizumi, A., Nakajima, K., Tanaka, T., Abe, K., Misaka, T.*, and Ishiguro, M.* “Characterization of the modes of binding between human sweet taste receptor and low-molecular-weight sweet compounds” PLoS One, 7, e35380 (2012.4) http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0035380</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 4 件</p> <p>1. 三坂 巧 「ヒト甘味受容体における人工甘味料の認識機構の解明」 Aroma Research、13、242-243(2012)</p> <p>2. 三坂 巧 「新しいヒト味覚計測バイオセンサーの作出:細胞アッセイ」 生物の科学 遺伝、66、655-660(2012)</p> <p>3. 三坂 巧 「人工甘味料-甘味受容体間における相互作用メカニズムの解明」 化学と生物、50、859-861(2012)</p> <p>4. 三坂 巧 「ミラクリンの作用機序」 JOHNS、29、33-36 (2013)</p> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表</p> <p>計 15 件</p>	<p>専門家向け 計 15 件</p> <p>1. 三坂 巧 「味覚受容体における味物質認識機構」 構造活性相関フォーラム 2012、京都、2012 年 6 月 22 日 (日本薬学会 構造活性相関部会 主催)</p> <p>2. 三坂 巧 「味覚受容体による呈味物質の認識機構」 第 5 回レドックス・ライフィノベーションシンポジウム、川崎、2013 年 3 月 7 日 (日本学術振興会レドックス・ライフィノベーション第 170 委員会 主催)</p> <p>3. 幸田 理恵、成川 真隆、山本 遼、岡田 晋治、三坂 巧 「食餌性鉄欠乏ラットにおける味嗜好性の変化」 日本農芸化学会 2013 年度大会、仙台、2013 年 3 月 25 日</p> <p>4. 中北 智哉、三坂 巧 「甘味受容体に対する甘味増強物質の作用機序の評価」 日本農芸化学会 2013 年度大会、仙台、2013 年 3 月 25 日</p> <p>5. 鈴木 あゆ、中北 智哉、三坂 巧 「ヒト甘味受容体における甘味増強物質作用部位の探索」 日本農芸化学会 2013 年度大会、仙台、2013 年 3 月 25 日</p> <p>6. 戸田 安香、三坂 巧 「発光検出法を用いた味覚評価系の開発」 日本農芸化学会 2013 年度大会、仙台、2013 年 3 月 25 日</p> <p>7. 小泉 太一、寺田 透、金田 康平、三坂 巧 「アラニン点変異体を用いた味覚修飾タンパク質ネオクリンの甘味受容体相互作用部位の探索」 日本農芸化学会 2013 年度大会、仙台、2013 年 3 月 26 日</p>

	<p>8. 金田 康平、小泉 太一、三坂 巧 「システイン変異体を用いた味覚修飾タンパク質ネオクリンの機能解析」 日本農芸化学会 2013 年度大会、仙台、2013 年 3 月 26 日</p> <p>9. 山本 遼、岡田 晋治、三坂 巧 「短期亜鉛欠乏におけるラットの味嗜好性変化の解析」 日本農芸化学会 2013 年度大会、仙台、2013 年 3 月 26 日</p> <p>10. 姚 瑞卿、安岡 顕人、櫛木 智裕、北川 義徳、柴田 浩志、阿部 啓子、三坂 巧 「セサミンとエピセサミンの経口投与によるマウス肝臓の遺伝子発現変動の比較解析」 日本農芸化学会 2013 年度大会、仙台、2013 年 3 月 26 日</p> <p>11. 松田 龍星、笠原 洋一、櫻井 敬展、石丸 喜朗、三坂 巧、阿部 啓子、朝倉 富子 「塩味受容体 hENaC 発現細胞系による化合物ライブラリーを用いた塩味増強剤の探索」 日本農芸化学会 2013 年度大会、仙台、2013 年 3 月 27 日</p> <p>12. 伊藤 俊輔、青地 俊亮、藍澤 広行、三坂 巧 「食刺激が離乳期のマウス大脳皮質味覚野・体性感覚野へ及ぼす影響の解析」 日本農芸化学会 2013 年度大会、仙台、2013 年 3 月 27 日</p> <p>13. 猫橋 茉莉、小川 真奈、中澤 京子、加藤 久典、三坂 巧、荻原 琢男、阿部 啓子、小林 彰子 「フラボノイドのコレステロール腸管吸収阻害機構の解析」 日本農芸化学会 2013 年度大会、仙台、2013 年 3 月 27 日</p> <p>14. Toda, Y., Okada, S., and Misaka, T. “Establishment of a new cell-based assay to measure the sweetness intensities of ligands including fluorescent substances” XVI International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT), Stockholm (Sweden), 2012/6/25</p> <p>15. Narukawa M., Hayashi Y., Watanabe T., and Misaka T. “Taste properties of functional components in green tea” The 10th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception (ISMNTOP2012), Fukuoka (Japan), 2012/11/3</p> <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図 書 計 0 件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状 況 計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件 (出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>生物機能開発化学研究室ホームページ、 http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/biofunc/</p> <p>「ヒト甘味受容体における人工甘味料の認識機構の解明」、 東京大学 農学生命科学研究科 プレスリリース 2012/4/23、 http://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2012/20120423-1.html</p> <p>「離乳期の食経験は大脳皮質味覚領域に大きな変化を与える」、 東京大学 農学生命科学研究科 プレスリリース 2012/8/30、 http://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2012/20120830-1.html</p>

様式19 別紙1

<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>・出張サイエンスカフェ「味覚の不思議 ～味を感じる仕組みとは?～」 2012年9月29日・10月6日、東京・池袋・豊島岡女子学園高等学校 豊島岡女子学園高等学校の高校生(9/29 27名、10/6 30名)に対して、ミラクリン体験の実演、ならびに食品科学に関連する最先端研究の一端を紹介した。高校生に対して、食品科学への興味を喚起することができただけでなく、食品科学研究が行われている農学部、さらにはその後、企業での食品開発にまで興味を持たせることができた。また大人数の講義ではなく30名までの人数制をとり、サイエンスカフェという形式で行ったことにより、講義の途中で質問や感想を述べるのが可能となり、全体として積極性を持った会となった。研究内容のアウトリーチと、その背景にある食品科学研究の重要性を若い世代に伝えることができ、アウトリーチ活動としてはとても効果的だったと考えられる。</p> <p>・宮城県宮城第一高等学校 2年4組 研究室訪問 東京大学大学院農学生命科学研究科、2012年12月3日 修学旅行の一環として、大学の研究室見学を企画した高校生(2年4組の一部、16名)に対して、ミラクリン体験の実演、ならびに食品科学に関連する最先端研究の一端を紹介した。</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載計4件</p>	<p>新聞掲載 ・「甘味受容体のナゾ解明」 読売新聞 2012年4月29日 朝刊 27面</p> <p>・「人工甘味料でやせるは甘い？」 日本経済新聞 2012年8月5日 朝刊 15面</p> <p>・「味覚を形成する離乳期の食体験」 毎日新聞 2012年9月25日 朝刊 20面</p> <p>雑誌取材記事 ・「進展した味覚研究、甘味の数値化にも成功」 “解体新書”Report 生命科学のフロンティア その55 千里ライフサイエンス振興財団ニュース、68、7-9 (2013.2)</p>
<p>その他</p>	<p>なし</p>

4. その他特記事項

特に記載すべきものはない。

実施状況報告書(平成24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せん

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	135,000,000	67,400,000	33,800,000	33,800,000	0
間接経費	40,500,000	20,220,000	10,140,000	10,140,000	0
合計	175,500,000	87,620,000	43,940,000	43,940,000	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	15,195,778	33,800,000	0	48,995,778	48,920,183	75,595	0
間接経費	20,220,000	10,140,000	0	30,360,000	10,110,000	20,250,000	0
合計	35,415,778	43,940,000	0	79,355,778	59,030,183	20,325,595	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	33,879,480	細胞実験用試薬、分子生物学実験用試薬 等
旅費	538,740	研究成果発表旅費(国内学会) 等
謝金・人件費等	9,409,635	研究員給与、特定有期雇用職員給与 等
その他	5,092,328	論文出版・別刷費、英文校閲費 等
直接経費計	48,920,183	
間接経費計	10,110,000	
合計	59,030,183	

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
データ取得装置	バイオリサーチセンター PowerLab 4/35	1	841,050	841,050	2012/4/10	東京大学
純水製造システム	日本ミリポア社 MilliQ Integral	1	2,597,700	2,597,700	2012/4/27	東京大学
マウス飼育装置	オリエンタル技研MD-7 -10-140S	1	2,730,000	2,730,000	2012/7/25	東京大学
凍結切片作製装置	サーモフィッシャー社クリ オスター NX	1	5,844,783	5,844,783	2012/9/26	東京大学