

**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	国立大学法人岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科・教授
氏名	山下 敦子

1. 当該年度の研究目的

本研究は、味覚受容体の立体構造と機能を解析し、味覚受容の第一段階である味認識のメカニズムを明らかにすることを目的とする。甘味／うま味受容体の味認識領域については、非常に不安定で発現量・精製収量も低く試料調製が困難だったところ、これまでに安定な試料を大量に調製できる発現・精製条件を確立することに成功した。そこで平成24年度は、甘味／うま味受容体の味認識領域について、確立した試料調製条件をもとに、構造解析や機能解析を行って、味認識機構および味物質結合情報を細胞内に情報伝達する機構を明らかにすることを目的とした。また、機能制御タンパク質の情報伝達制御機構を構造生物学的手法から明らかにすることを目的とした。また、酸味／辛味受容体や味覚の情報伝達に関わるTRPチャネルについて、これまでにファミリータンパク質の1種についてチャネル活性制御に重要な領域を見だし、種々の細胞内・細胞外刺激や情報伝達分子によるチャネルの制御の様相を構造解析および機能解析の両面から明らかにすることに成功した。そこで平成24年度は、特に情報伝達分子と制御領域との相互作用を構造解析によって明らかにし、情報伝達分子によるチャネル制御機構への理解を深めることを目指した。さらに、これらの味覚受容体について、膜貫通領域を含めた立体構造を明らかにすることを目的とした試料調製に着手した。

2. 研究の実施状況

(1) 甘味・うま味受容体の構造・機能解析: 甘味受容体の味物質認識領域について、分光学的な解析およびX線小角溶液散乱測定や電子顕微鏡単粒子解析による構造解析を行い、同領域の立体構造上の特徴と、機能との関連を明らかにした。また、これまでに得られた受容体解析に関する情報を統合し、受容体への味物質結合を分子レベルで正確に解析する系を初めて確立し、いくつかの味物質について結合定数を決定することに成功した。現在さらに詳細な解析および論文発表の準備を進めている。さらに、味認識領域および全長受容体の結晶構造解析に向け、抗甘味受容体抗体を作製した中から、良質の結晶作製に有用な構造特異的認識抗体を複数種選抜することに成功した。加えて、本研究で見いだした甘味受容体制御タンパク質候補分子について、表面プラズモン共鳴法により結合解析を行い、甘味受容体に対する結合定数を決定するとともに、複合体構造解析に向け変異体を作製した。

(2) 酸味・辛味受容体の構造・機能解析: 酸味／辛味受容体の属するTRPチャネルの1種について、チャネル活性の制御領域の多量体形成の様相と結合定数を、分析型超遠心分析により正確に決定した。また、この多量体形成の様相を、共同研究にて行ったNMR解析で確認し、同領域の会合がチャネル制御に重要であることを立証した。また、共同研究者によって、このチャネルのカルシウムイオンによる制御が明らかになったことを受け、制御領域のX線結晶構造解析を行い、同領域におけるカルシウムイオン結合部位を解明した。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計 3 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 0 件</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 3 件</p> <p>1. Ihara M, Hamamoto S, Miyanoiri Y, Takeda M, Kainosho M, Yabe I, Uozumi N, Yamashita A.” Molecular bases of multimodal regulation of a fungal transient receptor potential (TRP) channel.” J Biol Chem. in press.</p> <p>2. 山下敦子「結晶構造解析における「静止画」から「動画」への試み」日薬理誌 (2013) 印刷中.</p> <p>3. 山下敦子「膜タンパク質構造解析の新展開」ファルマシア (2013) 印刷中.</p>
<p>会議発表</p> <p>計 9 件</p>	<p>専門家向け 計 9 件</p> <p>1. 伊原誠, 浜本晋, 宮ノ入洋平, 武田光広, 甲斐荘正恒, 矢部勇, 魚住信之, 山下敦子「真菌由来 TRP チャンネルのマルチモーダル制御の分子基盤」第 8 回 TRP チャンネル研究会、愛知県岡崎市、2012 年 6 月.</p> <p>2. Nipawan Nuemket, Noriko Matsuura, Atsuko Yamashita “Interaction of CIB1 and cytosolic C-terminus of Sweet Taste Receptor (T1R2): an implication in signal transduction” 第 12 回日本蛋白質科学会年会、愛知県名古屋、2012 年 6 月.</p> <p>3. 日下部 裕子、進藤 由美子、河合 崇行、山下 敦子「T1r3 の膜移行機序に関する解析」日本味と匂学会第 46 回大会、大阪府吹田市、2012 年 10 月.</p> <p>4. Atsuko Yamashita “Structural basis of dynamic regulation of ion channel function” よこはま NMR 構造生物学研究会第 3 回国際シンポジウム「Drug Discovery and Design by NMR」、神奈川県横浜市、2012 年 10 月.</p> <p>5. 山下敦子 「神経伝達物質トランスポーターホモログ LeuT の構造に見るイオンと基質の共役輸送機構」日本生体エネルギー研究会第 38 回討論会、岡山市、2012 年 12 月.</p> <p>6. Nipawan Nuemket, Noriko Matsuura, Atsuko Yamashita ”Interaction of CIB1 and cytosolic C-terminus of Sweet taste receptor (T1R2):an implication in signal transduction” Nagoya Symposium Frontiers in Structural Physiology, Nagoya, 2013 年 1 月.</p> <p>7. Makoto Ihara, Shin Hamamoto, Yohei Miyanoiri, Mitsuhiro Takeda, Masatsune Kainosyo, Isamu Yabe, Nobuyuki Uozumi, Atsuko Yamashita ” Mechanism of the multimodal regulation of Fungal TRP channel” Nagoya Symposium Frontiers in Structural Physiology, Nagoya, 2013 年 1 月.</p> <p>8. Atsuko Yamashita “GFP-based precrystallization screening for membrane protein structure analysis A light on the road to synchrotron” International Workshop on Biointerface and Biomedical Engineering, 2013 Opening New Field of Biology through Cutting-edge Technologies, Okayama, 2013 年 3 月.</p> <p>9. 山下 敦子 「膜タンパク質の機能構造解析- 神経伝達物質トランスポーターホモログの輸送と阻害の構造基盤-」第 2 回補綴若手研究会、岡山県倉敷市、2013 年 3 月.</p> <p>一般向け 計 0 件</p>
<p>図書</p> <p>計 0 件</p>	<p>特になし.</p>
<p>産業財産権 出願・取得状 況</p> <p>計 0 件</p>	<p>(取得済み) 計 0 件</p> <p>(出願中) 計 0 件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>特になし。</p>

様式19 別紙1

国民との科学・技術対話の実施状況	標題:第53回科学技術週間サイエンスカフェ「味覚の科学」、実施日:平成24年4月22日、場所:大阪会場(大阪科学技術センター)、対象者:小学生～一般、参加者数:27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	特になし。

4. その他特記事項

特になし。

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	37,592,000	33,278,000	0
間接経費	32,100,000	10,839,000	11,277,600	9,983,400	0
合計	139,100,000	46,969,000	48,869,600	43,261,400	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	16,716,867	37,592,000	0	54,308,867	25,958,506	28,350,361	0
間接経費	0	11,277,600	0	11,277,600	11,277,600	0	0
合計	16,716,867	48,869,600	0	65,586,467	37,236,106	28,350,361	0

3. 当該年度の執行額内訳 (単位:円)

	金額	備考
物品費	15,735,642	画像撮影解析装置、実験試薬・器具類等
旅費	488,110	研究成果発表旅費(名古屋大学)等
謝金・人件費等	8,916,963	博士研究員人件費、実験補助員人件費等
その他	817,791	モノクローナル抗体作製、論文英文校閲等
直接経費計	25,958,506	
間接経費計	11,277,600	
合計	37,236,106	

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
画像撮影解析装置	BIO-RAD社製 ChemiDocXRS	1	2,612,400	2,612,400	2013/1/22	岡山大学
紫外可視分光光度 計	島津製作所製 UV-1800	1	871,500	871,500	2013/2/1	岡山大学
プレハブ冷凍室	パナソニックヘルス ケア社製低温室2坪	1	1,700,000	1,700,000	2013/2/28	岡山大学
高圧連続式ホモジ ナイザー	Avestin社製 EmulsiFlex-C5	1	3,638,250	3,638,250	2013/3/11	岡山大学