

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 25 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

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っていく。

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実施し、味覚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、分子モデリングによる相互作用部位の推定、点変異体発現細胞を用いた応答測定、有効物質類縁体を用いた機能解析を組み合わせることで、味覚受容体の分子メカニズム解明に関しての実験的な検証を行っていく。

一方、発光タンパク質を利用した発光アッセイ系の確立により、高感度な味覚受容体の機能解析が可能となった。これを有効に利用することで、甘味受容体以外の受容体についても、受容機構に関する分子メカニズムの解明を目指す。

2. 研究の実施状況

受容体の活性制御が起因する味の相乗・相殺のメカニズムを理解するため、ヒト甘味受容体の活性制御に深く関わる hT1R3 サブユニットの膜貫通領域を対象とした解析を実施した。多数のアミノ酸残基を対象に点変異体をデザインし、それらの安定発現細胞株の構築を行った。多種類の活性調節物質に対して、変異導入による活性調節能の変化について実験的な検証を行ったところ、ヒト甘味受容体の膜貫通領域に存在する複数のアミノ酸残基が活性調節に関与していることが判明した。また膜貫通領域で受容されるアゴニストによる活性化能についても検証したところ、リガンドの分子構造により作用する残基が異なるといった知見も明らかになった。

一方、細胞応答測定を行う際に、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発光タンパク質を利用した応答測定系の改良を試みた。この系を、細胞応答が非常に弱くしか測定できない旨味受容体に適用したところ、蛍光検出系よりも検出感度が格段に向上することが分かった。さらにヒトとマウスの旨味受容体においてはリガンドとなるアミノ酸の種類が大きく異なることが知られていたが、このリガンド選択性を決定する受容体側の残基についても、点変異体を用いた解析で明らかにすることができた。

以上の結果を含め、24 年度には原著論文を計7報発表することができ、本研究課題について大きく進展

したということができる。

3. 研究発表等

雑誌論文 計 7 件	<p>(掲載済み一査読有り) 計 6 件</p> <p>1. Yao, R., Yasuoka, A.*, Kamei, A., Ushiyama, S., Kitagawa, Y., Rogi, T., Shibata, H., Abe, K., and Misaka, T.* “Nuclear receptor-mediated alleviation of alcoholic fatty liver by polyphenols contained in alcoholic beverages.” <i>PLoS One</i>, 9, e87142 (2014.2) http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0087142</p> <p>2. Toda, Y., Nakagita, T., Hayakawa, T., Okada, S., Narukawa, M., Imai, H., Ishimaru, Y., and Misaka, T.* “Two distinct determinants of ligand specificity in T1R1/T1R3 (the umami taste receptor).” <i>J. Biol. Chem.</i>, 288, 36863–36877 (2013.12) http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24214976</p> <p>3. Son, H. J., Kim, Y., Misaka, T., Noh, B. S., and Rhyu, M. R.* “Activation of the chemosensory ion channels TRPA1 and TRPV1 by hydroalcohol extract of <i>Kalopanax pictus</i> leaves.” <i>Biomol. Ther.</i>, 20, 550–555 (2013.11) http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24009849</p> <p>4. Yamazaki, T., Narukawa, M., Mochizuki, M., Misaka, T., and Watanabe, T.* “(-)-Epigallocatechin gallate and (-)-epicatechin gallate activate the human bitter-taste receptor hTAS2R14.” <i>Biosci. Biotechnol. Biochem.</i>, 77, 1981–1983 (2013.9) http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24018685</p> <p>5. Misaka, T. (Review) Development of a cultured cell-based human-taste evaluation system <i>Biosci. Biotechnol. Biochem.</i>, 77, 1613–1616 (2013.8) http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23924737</p> <p>6. Ieki, T., Okada, S., Aihara, Y., Ohmoto, M., Abe, K., Yasuoka, A.*, and Misaka, T.* “Transgenic labeling of higher-order neuronal circuits linked to phospholipase C-β 2-expressing taste bud cells in medaka fish.” <i>J. Comp. Neurol.</i>, 521, 1781–1802 (2013.6) http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23124957</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 0 件</p> <p>(未掲載) 計 1 件</p> <p>1. Narukawa, M., Toda, Y., Nakagita, T., Hayashi, Y., and Misaka, T.* “L-Theanine elicits umami taste via the T1R1+T1R3 umami taste receptor.” <i>Amino Acids</i>, in press (2014.) http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24633359?dopt=AbstractPlus</p>
-------------------	---

様式19 別紙1

<p>会議発表 計 13 件</p>	<p>専門家向け 計 12 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 三坂 巧 「味の嗜好性と脳機能との関連」 応用脳科学アカデミー、東京、2013 年 10 月 1 日 2. 原田 尚志、姚 瑞卿、牛尼 翔太、岡田 由紀、三坂 巧、伊藤 隆司、三浦 史仁、安岡 顕人、白髭 克彦、阿部 啓子、中井 雄治 「食品ポリフェノールによる代謝ストレスの緩和に関わるエピゲノム調節領域の解析」 日本農芸化学会 2014 年度大会、東京、2014 年 3 月 28 日 3. 鈴川 縁、三坂 巧 「レポーターアッセイを用いた客観的味評価系の開発」 日本農芸化学会 2014 年度大会、東京、2014 年 3 月 29 日 4. 家木 誉史、池永 直弥、吉田 晃子、岡田 晋治、三坂 巧 「メダカにおける味覚関連遺伝子群の発現様式」 日本農芸化学会 2014 年度大会、東京、2014 年 3 月 29 日 5. 池永 直弥、吉田 晃子、家木 誉史、岡田 晋治、三坂 巧 「メダカ味覚受容体 T1R1 の転写制御配列の取得」 日本農芸化学会 2014 年度大会、東京、2014 年 3 月 29 日 6. 吉本 靖東、岡田 晋治、山上 圭吾、三坂 巧 「マウス有郭乳頭における味蕾マーカーとしての <i>Ulex europaeus agglutinin-1</i> の有用性」 日本農芸化学会 2014 年度大会、東京、2014 年 3 月 29 日 7. 寺田 育生、三坂 巧 「ヒト甘味受容体に作用する新規天然化合物の探索と機能評価」 日本農芸化学会 2014 年度大会、東京、2014 年 3 月 29 日 8. 野尻 健介、藤原 聡、山本 直人、中北 智哉、三坂 巧 「ヒト甘味受容体を活性調節するフレーバー化合物の探索」 日本農芸化学会 2014 年度大会、東京、2014 年 3 月 29 日 9. 戸田 安香、中北 智哉、岡田 晋治、成川 真隆、石丸 喜朗、三坂 巧 「旨味受容体 T1R1/T1R3 の L-Glu 活性を決定する因子の同定」 日本農芸化学会 2014 年度大会、東京、2014 年 3 月 29 日 10. 柳澤 琢也、木村 義治、久能 昌朗、高宮 満、三坂 巧 「レタス苦味成分のヒト苦味受容体発現細胞を用いた評価」 日本農芸化学会 2014 年度大会、東京、2014 年 3 月 29 日 11. 成川 真隆、三坂 巧 「ポリフェノールに応答する苦味受容体の同定」 日本農芸化学会 2014 年度大会、東京、2014 年 3 月 29 日 12. 匂坂 美輝、成川 真隆、三坂 巧 「離乳期マウスの大脳皮質味覚野・体性感覚野におけるカプサイシン応答領域の解析」 日本農芸化学会 2014 年度大会、東京、2014 年 3 月 30 日 <p>一般向け 計 1 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 三坂 巧 「人間の感じる味を味覚受容体により評価する」 サイエンス&テクノロジーセミナー、東京、2013 年 9 月 20 日
------------------------	--

様式19 別紙1

<p>図書</p> <p>計 0 件</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>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>「小型魚類メダカをモデルとした味の情報伝達・処理に関わる神経回路の標識」、 東京大学 農学生命科学研究科 研究成果 2013/4/15、 http://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2013/20130415-1.html</p> <p>「旨味受容体 T1R1/T1R3 のアミノ酸選択性を決定する分子メカニズムの同定」、 東京大学 農学生命科学研究科 研究成果 2014/1/9、 http://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2014/20140109-1.html</p> <p>「ポリフェノールがアルコール摂取による脂肪肝を緩和させる — 肝臓でのポリフェノールの作用をマウスで明らかに —」、 東京大学 農学生命科学研究科 プレスリリース 2014/3/10、 http://www.a.u-tokyo.ac.jp/topics/2014/20140310-1.html</p>
<p>国民との科 学・技術対 話 の実施状況</p>	<p>・高校理科教師 教員研修 「農学における食品味覚研究の現状」 東大弥生キャンパス 2013年6月2日(東京・文京区弥生) 参加人数 49名(午前の回 21名、午後の回 28名) 首都圏に位置する高校の理科担当の教員に対し、教員研修の一環として、食品科学および味覚科学に関する研究の現状について説明するとともに、研究室の見学をしていただいた。大学の研究に対するイメージを高校生に的確に伝えていただくため、研究生生活の現場について紹介を行った。</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?～」 前橋女子高等学校 2013年9月21日(群馬・前橋市) 参加人数 35名(高1 21名、高2 13名、高3 1名) 前橋女子高等学校の高校生 35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。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た。</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?～」 都立竹早高等学校 2013年9月27日(東京・文京区小石川) 参加人数 26名(高2 3名、高3 23名) 都立竹早高等学校の高校生 26名に対して、前橋と同様に、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。生物クラスの特別授業の一環として行った。高3生が多かったため、進路に関する質問も多くだったが、農学部についての興味を喚起することができた。</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載</p> <p>計 1 件</p>	<p>新聞掲載</p> <p>・「味の不思議 脳を感わず「おいしさ」」 日本経済新聞 2014年1月19日 朝刊 15面</p>
<p>その他</p>	<p>2013年4月15日 フジテレビ「情報プレゼンター とくダネ！」 「なぜ味音痴になってしまうの」コーナー中、インタビューで登場</p>

様式19 別紙1

4. その他特記事項

記載すべき事項は特になし。

実施状況報告書(平成25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	101,200,000	33,800,000	0	0
間接経費	40,500,000	30,360,000	10,140,000	0	0
合計	175,500,000	131,560,000	43,940,000	0	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	75,595	33,800,000	0	33,875,595	33,875,595	0	0
間接経費	20,250,000	10,140,000	0	30,390,000	30,390,000	0	0
合計	20,325,595	43,940,000	0	64,265,595	64,265,595	0	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	21,633,172	細胞実験用試薬、分子生物学実験用試薬 等
旅費	116,000	研究打ち合わせ旅費(国内)
謝金・人件費等	9,193,421	研究員給与、特定有期雇用職員給与 等
その他	2,933,002	論文出版・別刷費、英文校閲費 等
直接経費計	33,875,595	
間接経費計	30,390,000	
合計	64,265,595	

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
リトラーム	YAMATO社・ REM-710・SU	1	999,915	999,915	2013/6/26	東京大学
				0		
				0		