

課題番号	LS130
------	-------

**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

甘味／うま味受容体の味認識領域について、進行中である電子顕微鏡解析を完了し、味物質結合に伴う受容体の構造変化の様相を完全解明することを目指す。さらに、味認識の詳細を明らかにするため、受容体の結晶構造解析を行い、味物質の認識機構および細胞内への情報伝達機構を解明することをめざす。また、これまでに本課題にて見いだした、甘味・うま味受容体に結合して機能を制御する可能性がある細胞内タンパク質の生理学的機能解析および構造解析を目指した変異体試料作製と構造・機能解析を行う。これらの知見を統合し、甘味うま味受容体が味物質を認識し生体内に情報伝達する一連の過程のメカニズムの詳細を解明することを目的とする。

また、酸味／辛味受容体や味覚の情報伝達に関わる TRP チャンネルについて、これまでに本課題にてチャンネル活性が細胞内領域の多量体化によって制御されることを明らかにしたファミリータンパク質の1種において、多量体化とチャンネル活性の関係、および動的な離合集散と活性の多様性との関係についてさらに解析し、TRP チャンネルが味覚受容も含めた多様な活性を示す構造原理を解明することを目指す。

2. 研究の実施状況

(1) 甘味・うま味受容体の構造・機能解析: 甘味受容体の味物質認識領域について、X線小角溶液散乱測定を行って前年度より精度の高いデータを取得するとともに、前年度より実施していた電子顕微鏡単粒子解析による構造解析を完了し、味物質結合に伴う受容体の構造変化の様相を明らかにした。これらの構造および構造変化の様相について、共同研究による原子間力顕微鏡観察においても確認した。さらに、同領域の結晶化条件探索を行った結果、板状結晶ならびに棒状結晶が得られる条件を見だし、これらの結晶について大型放射光施設 SPring-8 および Photon Factory において X線回折実験を行って、回折強度データを収集した。また、前年度より解析を進めていた甘味受容体制御タンパク質候補分子について、立体構造情報に基づく変異体の設計と作製を行った。加えて、甘味受容体を制御する可能性がある細胞内タンパク質を新たに見だし、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した。

(2) 酸味・辛味受容体の構造・機能解析: TRP チャンネルの1種について、前年度までにチャンネル活性を制御する多量体形成領域の結晶構造を解明したが、この多量体化によって制御されるチャンネル活性の実態を解明するため、同チャンネルのパッチクランプ解析を共同研究により実施した。この結果、生体膜伸展条件下でのイオンチャンネル電流が観察され、同チャンネルが機械刺激応答チャンネル活性を持つ可能性を見いだした。

様式19 別紙1

3. 研究発表等

<p>雑誌論文 計 6 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 3 件            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." <i>J. Biol. Chem.</i> (2013) <b>288</b>, 15303-15317.            2. 伊原誠、山下敦子「TRP チャンネルがさまざまな刺激に応答できる仕組み」<i>化学と生物</i> (2014) <b>52</b>, 48-53.            3. 山下敦子「膜タンパク質構造解析の新展開」<i>ファルマシア</i> (2013) <b>49</b>, 753-757.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 1 件            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」<i>日薬理誌</i> (2013) <b>141</b>, 235-239.</p> <p>(未掲載) 計 2 件            1. Ihara M, Takano Y, Yamashita A. "General flexible nature of the cytosolic regions of fungal TRP channels, revealed by expression screening using GFP-fusion techniques" <i>Protein Sci.</i> in press.            2. 山下敦子「TRP チャンネルの構造から考える多様な刺激応答」<i>生化学</i> (2014) 印刷中.</p>
<p>会議発表 計 5 件</p>	<p>専門家向け 計 2 件            1. Yamashita A. "Toward molecular understanding of sensory systems by structural biology" The 1st Japan-Korea Joint Symposium on Pharmaceutical Researches in Okayama 2013, Okayama, Dec. 2013.            2. Ihara M, Yamashita A. "Crystallographic analysis of the Ca<sup>2+</sup>-binding sites in the regulatory-bundling region of the fungus TRP channel" 第 51 回日本生物物理学会年会、京都市左京区、2013 年 10 月.</p> <p>一般向け 計 3 件            1. 山下敦子、FIRSTシンポジウム「科学技術が拓く2030年」東京都新宿区、2014年2月。(ポスター展示)            2. 山下敦子「自然がデザインした美しい「かたち」-タンパク質の立体構造と機能、そして薬-」講演会「くすりと芸術」、岡山大学薬学部主催、岡山市、2013年10月.            3. 山下敦子「構造生物学と薬学」岡山大学薬学部公開講演会、岡山市、2013年6月.</p>
<p>図 書 計 1 件</p>	<p>山下敦子「神経伝達物質トランスポーターホモログ」岩田想編「膜タンパク質構造研究」化学同人、(2013) 26-34.</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>理化学研究所プレスリリース「1 つの受容体がさまざまな刺激に応答できる仕組みの一端を解明—感覚受容の重要な役者 TRP チャンネルの理解を進める一歩に—」  <a href="http://www.riken.go.jp/pr/press/2013/20130423_1/">http://www.riken.go.jp/pr/press/2013/20130423_1/</a></p>
<p>国 民 と の 科 学 ・ 技 術 対 話 の 実 施 状 況</p>	<p>1. 岡山大学薬学部公開講演会、2013年6月16日、岡山大学薬学部、高校生・一般、50名、本研究課題の成果について講演した。            2. 講演会「くすりと芸術」、2013年10月14日、岡山コンベンションセンター、大学生・一般、56名、本研究課題の研究内容について講演した。            3. 初富総合大学、2013年11月2日、初芝富田林高校、高校生、約40名、大学の模擬講義の形式で本研究課題の研究内容について講義した。</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載 計 5 件</p>	<p>【ウェブニュース掲載】            「独立行政法人理化学研究所、1 つの受容体がさまざまな刺激に応答できる仕組みの一端を解明」(日経バイオテク)  <a href="https://bio.nikkeibp.co.jp/article/pressrelease/20130424/167613/">https://bio.nikkeibp.co.jp/article/pressrelease/20130424/167613/</a>            「理研、1 つの受容体がさまざまな刺激に応答できる仕組みの一端を解明」(OPTRONICS WEB ジャーナ</p>

様式19 別紙1

	<p>ル)</p> <p><a href="http://optronics-media.com/news/20130424/5383/">http://optronics-media.com/news/20130424/5383/</a>  「TRP チャンネル、刺激応答の仕組み一端が明らかに」(QLifePro 医療ニュース)</p> <p><a href="http://www.qlifepro.com/news/20130430/how-part-of-the-stimulus-response-trp-channels-revealed.html">http://www.qlifepro.com/news/20130430/how-part-of-the-stimulus-response-trp-channels-revealed.html</a>  「TRP チャンネル」は1種類で多彩な刺激に柔軟に反応することが可能 - 理研」(マイナビニュース)</p> <p><a href="http://news.mynavi.jp/news/2013/04/24/211/index.html">http://news.mynavi.jp/news/2013/04/24/211/index.html</a>  「1つの受容体がさまざまな刺激に反応できる仕組みの一端を解明 [理化学研究所]」(Security Online News)</p> <p><a href="http://ssanet.biz/?p=19913">http://ssanet.biz/?p=19913</a></p>
その他	<p>山陽放送ラジオ「技術の森」(2013年8月28日)に出演し、本課題の研究内容と成果について紹介した。</p>

4. その他特記事項

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	73,722,000	33,278,000	0	0
間接経費	32,100,000	22,116,600	9,983,400	0	0
合計	139,100,000	95,838,600	43,261,400	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	28,350,361	33,278,000	0	61,628,361	61,559,388	68,973	0
間接経費	0	9,983,400	0	9,983,400	9,983,400	0	0
合計	28,350,361	43,261,400	0	71,611,761	71,542,788	68,973	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	50,552,663	等温滴定型カロリメーター、実験試薬・器具類等
旅費	420,070	共同研究打ち合わせ、実験(SPring-8)等
謝金・人件費等	9,180,600	特別契約職員(特任助教)・実験補助員人件費等
その他	1,406,055	論文掲載料、モノクローナル抗体精製費等
直接経費計	61,559,388	
間接経費計	9,983,400	
合計	71,542,788	

## 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
アングルロータ	日立工機社製 P50A3	1	1,008,000	1,008,000	2013/7/31	岡山大学
等温滴定型カロリ メーター	GEヘルスケア社 製iTC200	1	19,204,500	19,204,500	2013/8/30	岡山大学
純粋・超純水製造 装置	メルクミリポア社 製Milli-Q Integral	1	2,500,050	2,500,050	2013/10/21	岡山大学
顕微鏡デジタルカ メラ カメラヘッド	オリンパス社製 DP26-CU	1	614,250	614,250	2013/10/21	岡山大学
クロマトチャンパー	日本フリーザー 社製MC-20EF3	1	724,500	724,500	2013/11/27	岡山大学