

うま味物質感知の構造基盤の解明

山下 敦子

岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科

うま味受容の第一段階は、食物などに含まれるうま味物質を、口腔内に存在するうま味受容体が感知することから始まる。うま味受容体は T1r1 と T1r3 の 2 つの T1r タンパク質のヘテロ二量体で構成されており、その細胞外領域がうま味物質の感知を担っている。受容体によるうま味物質認識を理解するためには、受容体とうま味物質との分子間相互作用の詳細を知る必要があるが、そのために必須の情報となる構造情報は全く得られていない。これは、うま味受容体構造解析のための試料調製が困難で、解析が不可能だったからである。

発表者らはこれまで、T1r タンパク質が構成するもう 1 つの受容体で、哺乳類などで甘味受容を担う、T1r2 と T1r3 のヘテロ二量体についても構造研究を進めてきた。そして、ヒト受容体も含めた多くは同様に試料調製が不可能であったところ、メダカ由来の T1r2a/T1r3 ヘテロ二量体を用いることで、味覚受容体として初めて、味物質感知部位である細胞外領域の試料調製と結晶構造解明に成功した¹⁻³⁾。そこで、同じ戦略を用いて、T1r1/T1r3 細胞外領域について研究を進めたところ、試料調製を達成し、結晶を得ることに成功した。この結晶からは分解能約 6 Å 程度の X 線回折を確認しており、結晶の質を向上させ、分解能を上げることができれば、構造を決定し、うま味物質感知の理解を大きく推し進めることができる。そこで本研究は、うま味受容体細胞外領域結晶の結晶性を向上させ、X 線結晶構造解析により同領域の立体構造を決定し、うま味物質感知の構造基盤を解明することを目的として研究を行った。

T1r2a/T1r3 で実施したのと同様に、蛍光タンパク質を融合させた T1r1/T1r3 細胞外領域を作製し、蛍光共鳴エネルギー移動法による味物質結合解析を行った。その結果、解析に用いている T1r1/T1r3 受容体が、アミノ酸をリガンドとし、アミノ酸結合に伴いその細胞外領域が構造変化を引き起こすことを明らかにした。また、試料の精製過程にイオン交換クロマトグラフィーを導入することで、精製度を向上することができた。一方でこのタンパク質には、プロテアーゼで切断されやすい領域や、反応性の高いフリーのシステイン残基が存在することが判明し、これらが結晶性低下の要因となっていることが考えられた。そこで現在、これらの問題点を改善する変異導入を行い、発現系構築を進めている。残念ながら研究期間内の構造決定には至らなかったが、今後得られた試料を用いて構造解析を進めていきたい。

References: 1) Nango *et al. Sci. Rep.* 6, 25745, 2016. 2) Nuemket, Yasui *et al. Nat. Commun.* 8, 15530, 2017. 3) Yamashita *et al. Prot. Sci.* 26, 2291, 2017.