

\*\*\*\*\*

## 味覚修飾タンパク質ミラクリンによるヒト甘味受容体の 活性制御機構の解析

東京大学大学院農学生命科学研究科・応用生命化学専攻・准教授 三坂 巧

\*\*\*\*\*

### ■ 目的

ミラクリンは、熱帯植物であるミラクルフルーツの果実に含まれるタンパク質である。ミラクリンをあらかじめ味わっておくと、その後に摂取した酸っぱいものが非常に甘く感じるという、いわゆる「味覚修飾活性」という活性が存在することが古くより知られている。我々は、ミラクリンの示す活性について、ヒト甘味受容体発現細胞を用いて客観的に評価することに最近成功した。その結果、ミラクリンがpH低下によって強い甘味を示すだけでなく、中性条件下ではヒト甘味受容体の阻害剤として機能するという、新たな知見を得ることができた。本研究においては、pHを変化させたときに、ミラクリンがヒト甘味受容体に対してどのように機能しうるかについて、培養細胞発現系を用いたヒト甘味受容体の活性評価系によって解析を実施した。

### ■ 方法

ヒト甘味受容体ならびにキメラGタンパク質を哺乳類培養細胞に発現させ、蛍光カルシウム指示薬を負荷することにより、蛍光顕微鏡下で甘味応答が測定可能な甘味受容体発現細胞を準備した。ミラクリンのpH依存的な甘味強度を測定する際には、ヒト甘味受容体発現細胞にミラクリンをプレインキュベーションし、洗浄後、pHの低いバッファーやリガンドにて刺激を行った。

### ■ 結果および考察

実際に口で味わう官能評価ではなく、ヒト甘味受容体発現細胞により評価することで、外液のpHを厳密に調節することが可能である。その結果、pHが7.4から6.5までの酸刺激は、ヒト甘味受容体発現細胞の細胞応答をほとんど誘導しなかった一方、pH6.5よりも低い場合には、酸刺激のみでヒト甘味受容体をpH依存的に活性化することが示された。しかしながら酸刺激のみではヒト甘味受容体を活性化できないpH6.5という条件下において、ヒト甘味受容体の他の甘味物質に対する甘味活性を、ミラクリンが有意に増強するという結果を得ることができた。

すなわち、ミラクリンがあらかじめヒト甘味受容体に結合することで、中性条件下では甘味受容体の阻害剤として機能している一方で、弱酸性条件下においては他の甘味物質に対する活性増強剤として機能し、さらに低いpHにおいては酸刺激のみで甘味受容体を活性化しうることから、ミラクリンは中性～酸性において甘味受容体への作用様式が大きく異なることが示された。

### ■ 結語

弱酸性領域におけるpH変化によって生ずるミラクリンの機能変化は、ミラクリンの立体構造が変化することが主たる要因であることが推察される。しかしながら、それを実証する実験的データは得られていない。今後はミラクリンの構造的側面からの検討を行っていくことで、その詳細が明らかになることが期待される。