
うま味強度の客観的提示を目指した ヒト うま味受容体安定発現細胞の作出

東京大学大学院農学生命科学研究科・准教授 三坂 巧

■ 目的

甘味受容体とうま味受容体は、クラス C GPCR ファミリーに属する T1Rs のヘテロダイマー(それぞれ T1R2/T1R3、T1R1/T1R3)から構成される。我々はすでに、T1R2・T1R3・キメラ G タンパク質を安定発現させた、応答性の高いヒト甘味受容体安定発現細胞株の作出に成功している。その一方で、発現コンストラクト中の T1R2 を T1R1 に入れ替えたヒト うま味受容体安定発現細胞株については、うま味物質であるグルタミン酸に対する応答が全く得られていなかった。そこで本研究では、新たなコンセプトのもと、ヒト うま味受容体安定発現細胞株を複数種類作出し、うま味物質に応答しうる細胞株が得られるかどうかについて検討した。

■ 方法

応答測定に感度の良い発光検出法を用いることを念頭に入れ、新規安定発現細胞株のデザインを行った。具体的には安定発現細胞の母体細胞の変更、および受容体のみを安定発現する細胞株を作出するという2点の変更を加えることにした。既存の甘味受容体安定発現細胞における基本的なデザインは維持したまま、hT1R1 と hT1R3 の挿入順序やプロモーターの種類を変更した発現コンストラクトを、計8種類作製した。CRISPR/Cas9 システムによってゲノム中の一ヶ所に FRT 配列を組み込んだ HEK293T 細胞に、構築した発現コンストラクトを配列特異的組換えによって導入し、それぞれの安定発現細胞株を作出した。8種類の受容体安定発現細胞株にキメラ G タンパク質とアポ発光タンパク質をそれぞれ遺伝子導入し、リガンド添加時の発光強度変化の検出を行った。

■ 結果および考察

作出した8種類の安定発現細胞株のうち1種類については、キメラ G タンパク質とアポ発光タンパク質を遺伝子導入した後の応答測定において、グルタミン酸に対する濃度依存的な応答を確認することができた。この応答強度は、すでに報告されている受容体・キメラ G タンパク質・アポ発光タンパク質のすべてを一過的に発現させた細胞を用いた測定系と同等以上であったことから、構築した細胞株がうま味強度測定へ利用可能なことが明らかとなった。

しかしながら、その他の7種類の安定発現細胞株については、グルタミン酸に対する応答が全くない、あるいは非常に弱いという結果となった。すなわち、発現コンストラクトにおけるプロモーターの種類や発現カセットの順序について網羅的な検討を行うことは、受容体の応答性向上を志向する上で有用な手段の一つになりうるということが、今回の結果からも示唆された。

■ 結語

今後は、今回作出したヒト うま味受容体安定発現細胞株を活用し、より簡便なうま味強度の測定方法を目指した改良を加えていく計画である。うま味は我々の嗜好性を決定する主要な判断材料の一つであり、うま味強度の客観的提示が可能となれば、「おいしい食品」のデザインに新たな方法論を提案できることが期待される。