

平成30年度「杉山産業化学研究所研究助成」報告書

研究題目 味蕾オルガノイドを用いた”美味しさ評価法”の構築

東京農業大学食品安全健康学科 岩槻健

#### 【研究目的】

客観的に美味しさを測定する方法とは存在するのだろうか。現在、最も信頼のおける“美味しさの評価法”として、官能評価法が用いられている。しかし、これも評価者のバックグラウンドによって評価が分かれる事が多く、絶対的な方法ではない。そこで、官能評価のみに頼らない新たな方法が求められていた。本研究は、霊長類の舌より味蕾オルガノイドを作出し、様々な呈味物質に対する応答に利用できる細胞系を構築することを目的とする。これまでに味を評価する“霊長類のバイオセンサー”は存在しないため、本研究は全く新しい評価方法となる可能性が高い。

#### 【方法、結果】

まず、京都大学霊長類研究所にて採取したニホンザルの舌有郭乳頭下部のトレンチ部位より味幹細胞を含む画分を採取し、トリプシン/EDTAにより単一細胞まで分離し、マトリゲルに包埋後、Wnt/R-Spondin/Noggin/EGFを含有するDMEM/F12培地を添加し6-8日間培養する。直径100-300  $\mu\text{m}$ まで細胞塊が育った後、トリプシン/EDTAにより消化し再びマトリゲルの中で培養することを繰り返す。徐々に結合組織や筋細胞が消失し上皮だけの細胞塊となり、これを我々は味蕾オルガノイドと呼んでいる。同オルガノイドは、継代を繰り返すことが可能であり、半年以上継代を繰り返しても形態は変化なかった。II型味細胞のマーカーであるPLCbeta2に対する特異抗体で染色すると、味蕾オルガノイドの中心部にPLCbeta2陽性細胞が典型的な味細胞の形にて存在することが分かった（図1）。つまり少なくとも甘味、うま味、苦味を受容するII型味細胞の存在が明らかになった。

その後、呈味物質に反応するかを $\text{Ca}^{2+}$ アッセイ法により検証した。味蕾オルガノイドに $\text{Ca}^{2+}$ 濃度により蛍光強度が変化するFluo4およびFra2などの蛍光指示薬を取り込ませ、苦味物質であるデナトニウムが反応するかを確認した。現在までに、5-10 mMのデナトニウムに味蕾オルガノイドは反応することが分かっている

(図2)。今後、このアッセイ系を使いうま味や脂肪酸などの味を評価できる系かどうかを調べていく予定である。

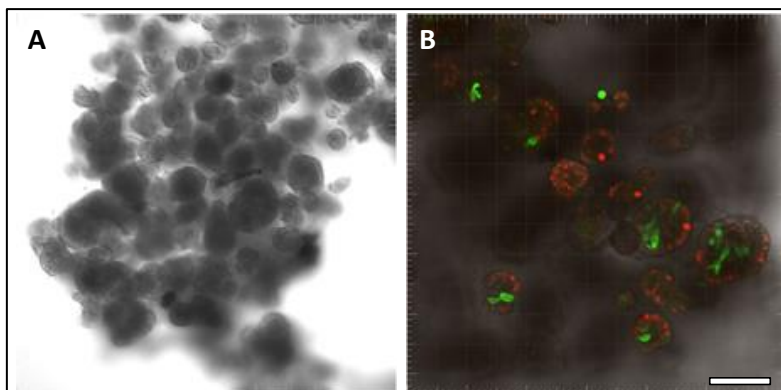


図1. サル味蕾オルガノイド

(A) 明視野像、(B) PLCb2抗体による免疫染色像。Bar: 100  $\mu$ m。

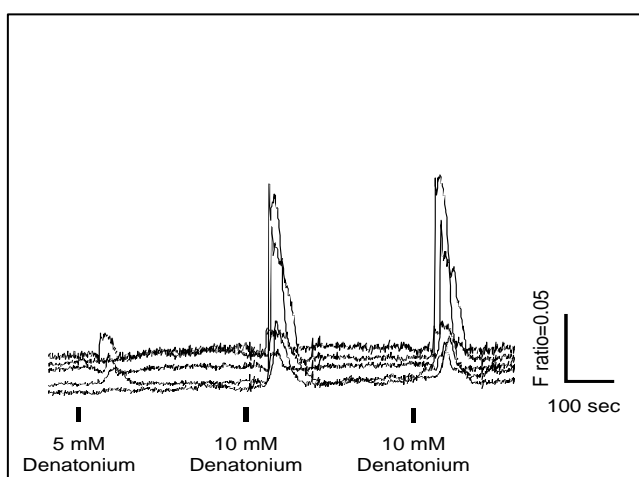


図2.  $\text{Ca}^{2+}$ イメージング法を用いたデナトニウムに対する味蕾オルガノイドの応答

5 mMおよび10 mMデナトニウムをFra2-AMを取り込ませた味蕾オルガノイドに反応させた結果、特異的な反応が検出された。

当研究により、我々が作製したサル味蕾オルガノイドは、少なくとも生体内味蕾と同様に成熟した味細胞を含有し、苦味物質に反応することが明らかとなった。今後、うま味、甘味物質など5基本味に関わる呈味物質に対する反応を取得していきたい。本研究が進むことで、天然物や新規化学物などの“未知の味”を客観的に評価できることが可能となる。将来は、新たな調味料や食品の開発や、客観的な美味しさ評価系の構築に貢献すると期待される。