Bulletin of Food Technology
Vol.23, No.3, pp. 385-389

미각수용·응답의 분자생물학적 해석과 사람 단맛 계측 세포계 개발

Molecular Biological Analysis of Taste Signaling Pathway and the Development of Sensory Device Using the Cells Expressing the Human Sweet Taste Receptor

류미라 | 기능성 연구단
Mee-Ra Rhyu | Functional Food Technology Research Group

생물이 생명을 유지하기 위해서는 생체 밖에서 생존에 필요한 물질을 함유하는 '식품'을 섭취하지 않으면 안된다. 식품을 섭취하는데 있어 '맛'은 단지 기호성의 문제가 아니라 체내 필요 물질을 선택하거나 그 식품의 가치를 결정하는 매우 중요한 인자이다.

식품 성분의 맛은 단순히 혀에서의 순간적인 감각 포착이 아니라 식품성분의 미각 수용체(taste receptor)에 대한 '화학수용', 세포 내 미각신호의 신경전도로를 통한 '전달', 중추에서의 '지각' 및 식품의 체내 유입여부 '결정'에 이르는 일련의 동적 기작으로 구성되어 있다. 최근 수년간 분자생화학의 급속한 발전은 미각신호를 일으키는 분자물질 및 그 수용체의 작용, 특히 기본맛(단맛, 쓴맛, 신맛, 짠맛, 감칠맛) 물질이 미각세포 표면에 발현된 G protein coupled receptors(GPCRs) 또는 ion channels에 작용함으로써 미각시스템 작동을 유발시키는 것으로 밝혀지고 있어 식품의 '맛' 연구도 새로운 국면을 맞이하고 있다고 하겠다.

또한 최근 맛 수용체(taste receptor)는 구강뿐만 아니라 내장점막, 췌장 소도 등에도 발현되어 있어 섭취된 맛 분자물질의 생체 고차통제계(신경계, 내분비계, 면역계, 소화기계)를 통한 체내 항상성 조절 관여 가능성이 제기되고 있어 식품성분과 미각의 일련의 동적기작을 분자수준 및 동적관점에서 체계적으로 해석하는 기술은 식품연구뿐만 아니라 생물학적 연구에 있어 매우 중요하다 할 수 있다.

일본농예화학회는 바이오사이언스·바이오테크놀로지를 중심으로 하는 다양한 영역의 연구자, 기술자, 학생, 단체 등으로 구성된 학회로 1924년 창립되어 올해로 86주년을 맞는 일본의 3대 학회 중의 하나로 분류되는 권위 있는 학회이다. 본 학회에서는 매년, 농예화학분야 연구 진보에 기여하는 뛰어난 연구를 수행한 장래 발전이 기대되는 만 40세 이하의 회원에게 '농예화학장려상'을 수여하는데, 올해 수상 연구의 하나가 동경대학 대학원 농학생명과학연구과 응용생명화학전공 생물기능개발화학 연구실의 Takumi Misaka 교수의 '미각수용·응답의 분자생물학적 해석과 사람 단맛 계측 세포계 개

발' 이라는 미각 관련 연구이다.

이 연구는 주로 미각 수용체를 이용하여 식품의 '맛' 을 연구하는 새로운 연구기법을 개발하고 적용한 연구로, 우리 연구원에서 향후 추진하고자 하는 미각관련 연구 사업에서 활용하고자 하는 기반기술과 공통된 부분이 있어 이를 소개하고자 한다.

식품의 맛은 식품의 가치를 결정짓는 중요한 인자이며, 맛 인식 기작의 해석은 식품을 대상으로 하는 연구에서 중요한 과제임에 틀림없다. 구강 내 상피층에 존재하는 맛 세포에서는 맛 물질의 수용에 필수적인 분자군을 발현함으로써 맛 물질 인식 능력을 갖게 되며 맛 세포 특이적으로 발현하는 분자의 고정은 바로 그 출발점이 된다. 한편, 맛 물질을 수용하는 미각수용체가 최근 분리 · 동정되어 맛 물질 인식에 관여하는 분자군의 정체가 드디어 베일을 벗고 있다고 할 수 있다.

맛 인식 기작의 전체상을 이해하기 위해서는 먼저 맛 물질의 미각 수용체에 대한 작용기작을 해석하는 일이 가까운 길이라고 생각하고, 본 연구에서는 사람을 포함하는 척추동물에서 유래되는 미각 수용체 기능을 배양세포 발현계를 이용하여 객관적으로 평가하는 것을 주요 연구기법으로 해석해 왔으며, 이하에서 이 실험법으로 얻어진 주요한 연구의 개요를 소개한다.

미각 수용체 발현세포를 이용한 맛 물질 수용기작 해석

이 실험법은 G protein coupled receptors(G 단백질 공역형 수용체) family에 속하는 미각 수용체를 G protein chimera와 같이 배양세포에 발현시켜 맛 물질에 대한 세포응답을 형광 imaging으로 측정하는 것으로 미각 수용체가 활성화 되는 것을 객관적 지표로 측정할 수가 있다(fig. 1). Chimera G protein으로 세포 내 calcium 농도 변화를 일으키는 것(G15나 G16의 C 말단부분을 다른 G protein의 것으로 치환한 것이 범용되고 있다.)을 사용함으로써 수용체가 활성화되면 세포 내 calcium 농도의 상승이 일어나고 이 변화를 형광 calcium 지시약(Fura-2 등)의 형광강도 변화를 측정함으로써, 맛 물질 투여에 대한 응답을 나타낸 세포를 가시화할 수 있다. 따라서 투여한 물질에 대한 수용체 활성화의 정도를 응답한 세포수에 따라 수치화할 수가 있는 것이다.

이 실험법으로 각 수용체가 수용하는 맛 물질의 종류나 응답농도의 범위를 결정할 수 있다는 것이 첫 번째 장점이라 할 수 있다. 그 실험성과의 하나로 저자들은 model 동물로 사용한 소형어류(medaka, zebra fish)에서 유래된 미각 수용체에 대해 그 ligand 동정에 성공하였다. 포유류에서는 단맛을 수용하는 미각 수용체(T1R2+T1R3) 조합이 이런 어류에서는 다종의 L-amino acid를 ligand로 하고 있다는 사실을 밝힐 수 있었다. 어류는 amino acid를 기호하는 한편, 단맛을 기호하지 않으나 이것이 미각수용체가 수용할 수 있는 맛 물질에 기인한다는 가설을 지지하는 결과인 것이다.

미각 수용체 발현세포를 이용한 객관적 평가계의 두 번째 장점으로는 관능평가에 의존하지 않고 맛 물질의 평가가 가능하다는 사실을 들 수 있다. 각 맛 물질에 대응하는 미각 수용체의 활성화를 수치화함으로써 각 맛 물질에 대해 보다 상세한 비교가 가능할 뿐만 아니라 미각 수용체에 기인하는 다양한 미각현상의 mechanism을 밝힐 수 있다.

그 성과의 하나는 열대식물과실 유래의 단백질

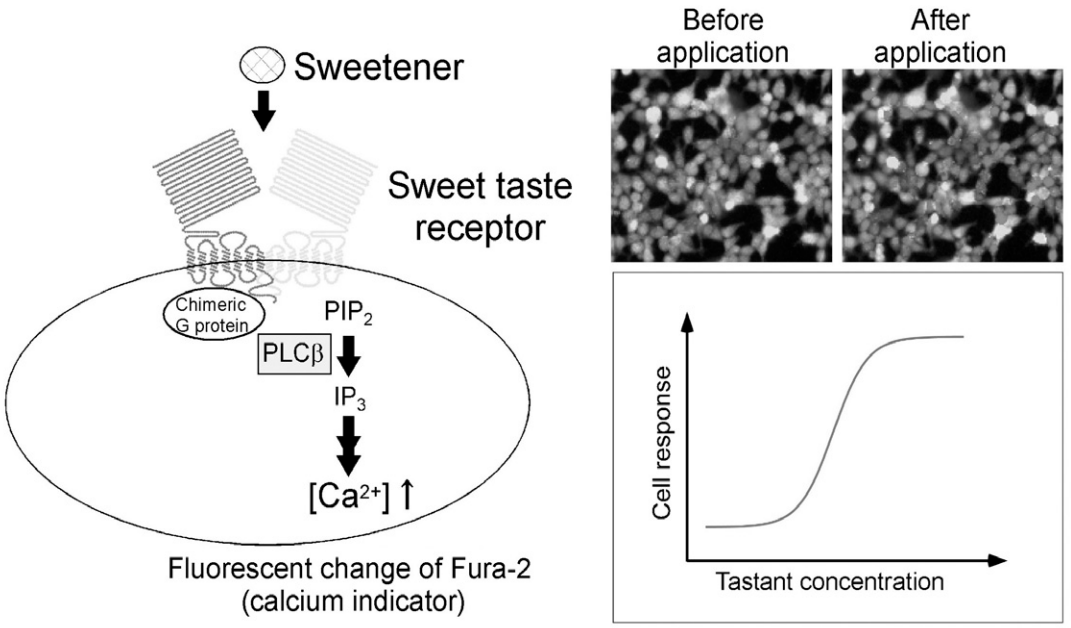

Fig. 1. Responses of the cells stably expressing the human sweet taste receptor to 100 or 200 mM of sucrose. The top and bottom columns show the representative ratiometric images obtained before and after sucrose application, respectively.

neoculin의 맛 활성에 관한 것으로, neoculin은 그 자체가 약한 단맛을 가질 뿐만 아니라 이것을 먹은 뒤 연이어 신맛이 있는 것을 맛보면 강한 단맛을 띠게 하는 미각수식작용을 갖고 있다. 이 불가사의한 활성의 상세한 mechanism에 대해서는 오랜 기간 밝혀지지 않은 채 남아있었다. 본 연구에서는 사람 단맛 수용체를 발현시킨 세포평가계를 이용하여 각종 pH 조건하에서 neoculin의 단맛강도에 대해 측정해 보았다. 그 결과 neoculin은 pH 의존적으로 단맛 수용체를 활성화시키는 작용, 즉 낮은 pH에서 단맛 수용체를 강하게 활성화시킨다는 사실을 밝힐 수 있었다. 또한 neoculin이 단맛 수용체에 대해 중성에서는 antagonist로서, 산성에서는 agonist로서 작용하는 산유도성의 단맛활성발현에 대해 새로운 분자 model을 제창할 수 있었다.

또한 산업계에서 매우 흥미를 가지는 쓴맛 억제에 대해 쓴맛 수용체 발현세포를 이용한 해석으로 그 일단을 밝힐 수 있었다.

지금까지는 관능평가에 의해 쓴맛 억제물질의 screening이 이루어졌으나 쓴맛 수용체 발현세포를 이용하여 평가해본 결과 산성 물질이 사람 쓴맛 수용체에 대해 일과적 저해를 일으킨다는 결과를 얻을 수 있었다. 지금까지 알려져 있던 산성 dipeptide 뿐만 아니라 광범위한 산성 물질 첨가로 외액의 pH 저하에 의해 복수의 사람 쓴맛 수용체에서 ligand 응답이 유의적으로 감소하였다. 따라서 적당량의 산성물질의 첨가로 쓴맛 억제가 달성 가능하다는 가능성을 확인할 수 있었다.

상기의 예와 같이 미각 수용체 발현세포를 이용하여 미각수식활성이나 쓴맛억제현상의 설명이 가능하다는 사실은 이와 같은 복잡한 미각현상의 이해를 위해 맛 물질과 미각 수용체의 작용기작 해석이 유용하다는 것을 나타내는 결과라 할 수 있을 것이다. 앞으로 본 실험법을 이용함으로써 여러 가지 다양하고 복작한 미각현상에 대한 해석이 진전될 것으로 기대된다.

사람 단맛 감각 계측 세포계의 개발

앞서 설명한 미각 수용체 발현세포에 의한 기능해석에 있어서 평가계 개량 시험을 지속적으로 실시하여 왔다. 이런 중에, 사람 단맛 수용체 subunit(hT1R1 및 hT1R3) 및 chimera G protein(G16gust44)의 3자를 일정비율로 발현시키는 신규 발현 구조를 설계하였으며, 또한 이들을 안정적으로 발현시키는 세포주 구축에 성공하였다. 얻어진 사람 단맛 수용체 안정 발현 세포주를 이용한 평가계는 기존 실험법과 비교하여 응답세포빈도 · 감도 모두 현저한 상승이 나타났을 뿐만 아니라 장기간에 걸쳐 안정적인 측정이 가능하다는 장점을 발견할 수 있었다.

그뿐만 아니라 지금까지 단맛 수용체 발현세포계에 의한 측정이 곤란하였던 sucrose에 대해서도 측정 가능한 충분히 강한 응답이 나타나는 것으로

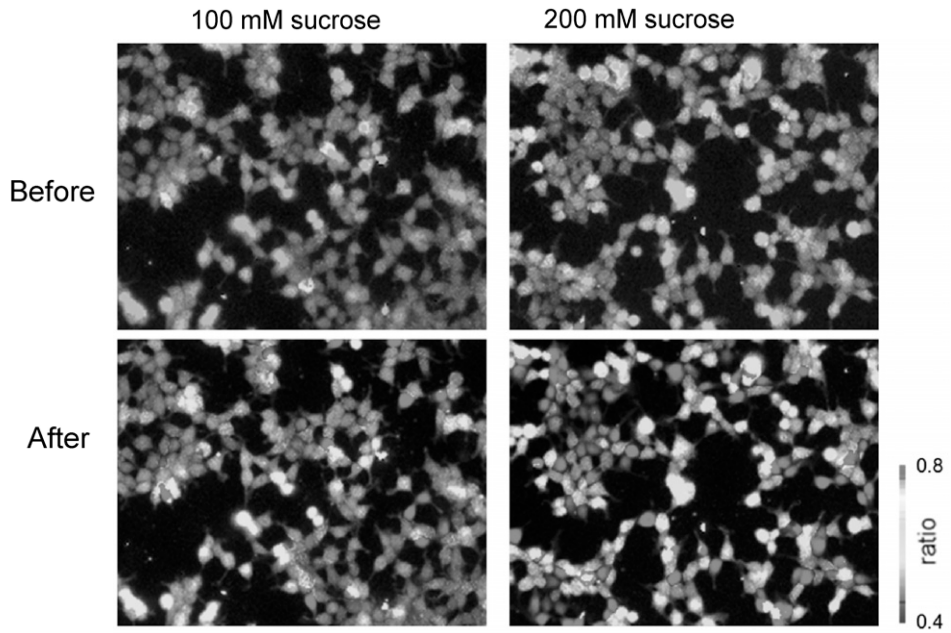

Fig. 2. Sensory device using the cells expressing the taste receptor. Figure shows the cells expressing the human sweet taste receptor. Color images shows the representative ratiometric images obtained before and after ligand application, respectively. Cell responses are strengthened as the tastant concentrations are increased.

확인되어 사람의 관능역치를 대변할 수 있는 평가가 가능하였다(fig. 2). 또한 본 발현 구조는 수용체 subunit의 점변이체를 이용한 해석에서도 유효하며, 20종류를 넘는 점변이체에 대해서 안정발현세포주의 구축을 실시해왔으나, 모든 경우에 양호한 응답을 나타내는 사실도 확인하였다.

단맛은 에너지원으로서 본능적으로 원하는 것인 동시에 식품 중의 맛 인자로서도 중요한 맛이다. 본 연구팀이 구축한 사람 단맛 수용체 안정발현 세포주는 기초연구의 영역에서 뿐만 아니라 산업적 이용에서도 매우 유익한 평가 tool이 될 것으로 확신한다.

끝으로, 맛 물질의 객관적 평가계를 중심으로 한 본 연구는 장래에는 생체가 실제 감지하는 맛 물질의 질적 · 양적측정을 실시하는 sensor 제작으로도 발전할 수 있는 매우 가치 있는 연구라 할 수 있다. 우리가 개발한 사람 단맛 감각 계측 세포계에 대해서는 '단맛' 이라고 하는 가장 중요한 미각정보를 현시점에서도 수치화할 수 있도록 되어있다. 본 연구는 '사람 미각 수용체를 이용한 객관적 평가계에 의한 맛의 설계' 라고 하는 완전히 새로운 방법론을 낳는 획기적인 연구 성과라 할 수 있다.

자료출처

三坂 巧, 味覚受容・応答の分子生物学的解析とヒト甘味感覚計測細胞系の開発, 日本農芸化学芸受賞者講演要旨, 35-36, 2010

류 미 라 농학박사

소　　속 : 한국식품연구원 기능성연구단

전문분야 : 식품화학, 식물성여성호르몬, 식품의 맛과 미각 연구

E-mail : mrrhyu@kfri.re.kr

T　E　L : 031-780-9268

본 내용은 2010년도 일본농예화학회 강연요지집 수상강연(p.35)에 게재된 내용의 일부입니다.