

## GPCR味覚受容体の特徴

藤岡一途 大須賀謙二 宗形芳英  
古山 昭 丸井隆之

### Characteristics of G-Protein Coupled Receptors in Fish Taste

Kazuto FUJIOKA, Kenji OHSUGA, Yoshiei MUNAKATA  
Akira FURUYAMA and Takayuki MARUI

Although fish taste systems are highly sensitive to amino acids, the molecular mechanisms involved in fish taste transduction have been only hardly elucidated. Thus, molecular approaches were primarily attempted in this investigation to know the existence of G-proteins in taste cells of carp, *Cyprinus carpio* L. To identify G-proteins in taste tissues, we used certain primers having sequences of conserved regions of G-protein, -TIVKQM- and -EYQL-. The RT-PCR resulted to amplify DNA fragments of about 300 bp, from which eleven different clones were isolated. Analyses of nucleic acid sequences showed that they are related to partial sequences of two types of G-proteins, rat Gil alpha and Golf. The partial sequence of B11 among the clones mostly resembled to those of rat Gil $\alpha$ , and that of B10 is to Golf.

Therefore, B11 mostly cloned was used with *in situ* hybridization experiments to identify if the partial sequence exactly exists in taste buds.

In conclusion, the B11 clone is definitely derived from the cells in taste buds of the carp. On the other hand, the immunohistochemical experiments using anti-gustducin antibody (rabbit) showed that the suitable partial sequences between rat and carp are widely different.

Key words : G-protein, taste, *in situ* hybridization, fish

### 緒 言

Gタンパク質 (guanine nucleotide-binding protein) はシグナル変換器として知られ、多くのホルモン、神経伝達物質、ケモカイン、あるいは自己分泌・傍分泌において情報の交信機能、すなわち細胞内の生化学的反応のスイッチを切り換えるなどしてその役割を果たしている<sup>1,2)</sup>。また細胞にとって最も重要なシグナル伝達分子とされ、種々の感覚受

容において関与している。感覚膜の受容体には、三量体Gタンパク質と共役して、感覚シグナルを変換するという特殊な細胞機能を発揮しているものがある<sup>3)</sup>。こうした七回膜貫通型のらせん構造をもつG-タンパク質共役型のリセプター (GPCR, G-protein coupled receptor) は、ホルモンや神経伝達物質ばかりではなく、化学感覚における臭い物質や味物質の検知器としても働いている<sup>3-9)</sup>。Gタンパク質は大きな遺伝子ファミリーを形成し

受付：平成20年9月25日，受理：平成20年10月21日  
奥羽大学歯学部口腔機能分子生物学講座  
(指導：丸井隆之教授)

Physiological Division, Department of Oral Function  
and Molecular Biology, Ohu University School of  
Dentistry  
(Director : Prof. Takayuki MARUI)

ており、受容体を含む他の遺伝子ファミリーと比べて、昆虫から哺乳動物まで特によく保存されたアミノ酸配列を含んでいることで知られている<sup>1,2)</sup>。Gタンパク質はGs, Gi, Gq, Gt, Golfなどに分類され、それぞれ役割や働く場所が異なっていたりする。例えばアデニル酸シクラーゼ活性に関わるものでは、Gsのsは「stimulate: 刺激」を意味しており、Giのiは「inhibit: 抑制」を意味している。またGtは視覚受容におけるtransducinと呼ばれるGタンパク質であり、Golfは嗅覚受容に関わるGタンパク質をいう。

これまでに味質によって異なった味受容のトランスダクション機構が提唱されてきているが、未だ分子レベルで確立されたものとはなっていない。また受容体に関する解析も種々行われてきたが、最初に明らかとなった分子メカニズムは、受容体そのものではなく、受容体と共役したGタンパク質の一つであるガストデューシン (gustducin) と名付けられた分子の齧歯類における研究であった<sup>10, 11)</sup>。その後、味覚上皮に発現する甘味や苦味の受容体が次ぎ次ぎと明らかにされた<sup>12-15)</sup>。けれどもこれらの受容体に関してはGタンパク質との関係は完全には解明されていないばかりでなく、それらの機能、シグナル経路、タンパク質相互作用が理解されているとは言い難い。

魚類はアミノ酸に対して極めて感受性が高く、味覚研究には優れた材料であることはよく知られている<sup>19, 20)</sup>。最近になって、魚類でも味覚受容体のクローニングが行われ、殆どの遺伝子ファミリーがほ乳類のものと同通していることがわかってきたが<sup>3)</sup>、Gタンパク質と受容体との関連を具体的に説明した報告は殆ど見あたらない。また魚類そのものが味覚研究上十分に評価されているとは言えない面がある。一般に、甘・苦味受容あるいはアミノ酸 (ヒトでは旨味) 受容についてGPCRが関与していることはこれまでの知見から確かであるが、分子レベルでの詳細な共役メカニズムに関わる報告は見あたらない。そこで、味覚受容に関わるGタンパク質の構造と機能の解明の一助として、アミノ酸受容に高い感受性をもち、電気生理学的研究からその受容動態について判明している魚類のコイ (*Cyprinus carpio* L.) を材料

として<sup>19)</sup>、分子生物学的方法であるRT-PCR法によりGPCRの部分配列を抽出して同定し、*in situ* hybridizationによってコイの味蕾内に局在していることを確認し、その相同性について哺乳類と比較検討することを本研究の目的とした。

## 材料と方法

### 1. 材料

コイは、養鯉場から購入して1週間以上20℃で飼育したものを使用した。RT-PCR (reverse-transcriptase polymerase chain reaction) によって目的のcDNAの部分配列を検索するために、コイの味蕾の豊富なヒゲと口唇、およびコントロールとして味蕾のない頭皮からmRNAを抽出し鑄型として実験を行った。

なお、実験にあたっては奥羽大学動物実験委員会の承認を得て、奥羽大学実験動物指針を遵守して行った。

### 2. コイの味覚受容体にあるG-タンパク質のクローニング

#### a. プライマーの設計

プライマーの設計は、全動物のGタンパク質の塩基配列に共通して保存されている部分、すなわち48番目から53番目のアミノ酸配列、-TIVKQM- に対する塩基配列の5'-末端側に制限酵素のEcoRIの認識配列をつけたフォワード・プライマーを作成し、一方、リバースプライマーとして145番目から148番目の -EYQL- に対する塩基配列の5'-末端側に制限酵素BamHIの認識配列を付けたものを作成した。これらを使用してRT-PCRで得られた目的のcDNAをクローニングした。

#### b. 鑄型 c DNAの作製

味蕾を豊富に含むコイのヒゲから、mRNAをFastTrack<sup>®</sup> 2.0 Kit (Invitrogen) によって抽出した。コイ味覚上から抽出したpoly(A)<sup>+</sup>RNAは、用いる直前に加熱 (65℃で5分間) して後、氷上で急冷して変成させ一本鎖とした。このRNAから、リバース・プライマーと逆転写酵素 (ReverTra Ace- $\alpha$ -, TOYOBO) によって42℃で1時間処理して鑄型のcDNAを作製した。

#### c. PCRの条件

DNA polymeraseは、TaKaRa *Ex Taq* を使用し、

以下の条件でPCRを行った。

|      |       |           |
|------|-------|-----------|
| 95°C | 5 min |           |
|      | ↓     |           |
| 95°C | 1 min | } 30 サイクル |
| 52°C | 1 min |           |
| 72°C | 2 min |           |

d. 電気泳動によるPCR産物のスクリーニング  
PCR産物であるDNA断片は、アガロースゲル電気泳動によって分離し、目的の300merのDNA断片を回収した。なお電気泳動には、1.5%アガロースゲルとTBE (Tris, Borate, EDTA) バッファーを用いた。

#### e. サブクローニング

電気泳動終了後、目的のDNA断片のバンドを切り出し、Suprec<sup>TM</sup>-01 (Takara) に回収して、定法によりDNA溶液を得た。得られたDNA断片は定法によりプラスミドベクター (pUC18) に入れ、大腸菌 (DH5 $\alpha$ ) にインサートして増幅した。

#### f. DNAシーケンシングと解析

目的とするDNA断片の塩基配列の決定には、ダイターミネーター法によりDNAシーケンサー (ABI PRISM<sup>®</sup> 310) を使用した。

### 3. *in situ* hybridization (ISH)

得られたDNA断片が味蕾に由来することを確認するために、合成RNA-組織中RNA間のISHを行った。免疫組織化学的に検討するために、ベクターに組み込まれたcDNAを制限酵素により直鎖化し、アンチセンス・センスのデオキシニゲン標識のRNA (得られたクローンB11) を合成しプローブとした。RNAは精製し定量したものを使用した。

対象組織はコイのヒゲとし、固定液 (4% paraformaldehyde/0.5% glutaraldehyde/1 mM CaCl<sub>2</sub>/1 mM MgCl<sub>2</sub>/0.1M phosphate buffer, pH 7.2~7.4) に4°Cで一晩浸漬し、アルコール脱水の後、パラフィン包埋した。組織は10~15 $\mu$ mに薄切した後にシラン処理したスライドガラスに載せ脱パラフィンした。風乾後、0.01 M クエン酸バッファー (pH 6.0) 中でマイクロウェーブ加熱 (95°C 15分間) し、Proteinase K (4 $\mu$ g/ml in PBS) で (37°C 30分間) 処理してアルコール脱水し乾燥した。その後ただちに70~

75°Cで熱変成したプローブを載せ、カバーガラスをかけ密封し湿箱に入れて37°Cで一晩ハイブリッドさせた。切片は洗浄後ABC法 (ABC Kit, Vector Lab.) で発色させ顕微鏡で観察した。

## 結 果

### 1. DNAシーケンシング

設計したプライマーでRT-PCRを行って電気泳動により得られたDNAの分離を行ったところ、目的とするGPCRのDNA断片が300bp付近に最も濃く得られた。このDNAを切り出して精製してpBR322ベクターにライゲーションし、宿主コンピテントセル (DH-5 $\alpha$ ) にインサートし、一晩培養して増幅した。得られたコロニーから適宜ピックアップしてシーケンサーに掛け、塩基配列を調べ、アミノ酸配列として表した結果がFig. 1に示してある。この図の結果は、シーケンサーで得られた配列を、解析ソフトウェア (Genetyx 6.02, ソフトウエア開発) にて相同性を検討し、特に相同性の高い配列 (70%以上) のものを列挙した。また遺伝子間の機能や関連などの推測を行うために、解析ソフトウェアにて分子系統樹を作成したところ、クローンB10はGolfに最も近縁であり、その他のクローンはGi1 $\alpha$ に最も近縁であった (Fig. 1)。

### 2. B11による*in situ* hybridization

組織中のどの細胞に遺伝子が存在し、また発現しているのかを特定するために、*in situ* hybridization法を適用した。Fig. 2にその結果が示してある。B11から合成したRNAは味蕾内の上方にある細胞とハイブリッドしていることが明らかとなった。このB11クローンが味蕾内のどの種の細胞から由来しているのかはこの結果からは不明であるものの、味覚受容機構に関連したGタンパク質の部分配列であり、GPCRに参与しているDNA分子の断片であることが強く示唆された。

### 3. ラットのgustducinの抗体を用いたコイ味蕾内のGタンパク質の検索

Fig. 1のr $\alpha$ -Gustの四角で囲んだ部分のペプチドを抗原として特異的な抗体を作製し、免疫組織化学的にラットの味蕾内にgustducinが存在していることが確認された<sup>10)</sup>。この抗体は市販されて

```

hg1α -TIVKQMKI IHEAGYSEEECKQYKAVVYSNTIQSIIA IIRAMGR LKIDFGDSARADDARQLFVLGAAEEGFMT-AELAGV I KRLWKDGSVQACFNRSREYQL-
rα-Gust -TIVKQMKI I HKNGYSKQECMEFKAVVYSNTIQSIIA IIVKAMTTLGIDYVNP RSREDGQQLLSMANTLEDGDMTPQ-LAEI I KRLWGDPGIQACFERASEYQL-
E4 -TIVKQMKI I HEDGYSEEECKQYRAVVYSNTIQSIIA I I KAMTNLKI EYEDSARADDARQLFALAGPAEGQVLPDDL ANVVTRLWADGGVQSCLTRAREYQL-
E5 -TIVKQMKI I HEDGYSEEECKQYRAVVYSNTIQSIIA I I KAMTNLKI EYEDSARADDARQLFALAGPAEGQVLPDDL ANVVTRLWADGGVQSCLTRAREYQL-
B1 -TIVKQMKI IHEAGYSEEECKQYKAVVYCCNAIQSIIA IIRAMGR LKIDFGDAARADDARQLFVLGSAEEGFMT-AELAGV I RRLWKDQGVHVCFASREYQL-
B2 -TIVKQMKI I HEDGYPEECKQYRAVVYSNTIQSIIA I I KAMSNLKI EYEDGGRADDARLLFSL-GGAGRG TGLPDDVANV I TRLWADGGVQSCFTRAREYQL-
B4 -TIVKQMKI IHEAGYSEEECKQYKAVVYCN TIQSIIA IIRAMGR LKIDFGDAARADDARQLFVLGSAVEGFMT-AELAGV I KRLWKDGGVQACFSASREYQL-
B7 -TIVKQMKI IHEAGYSEEECKQYRAVVYSNTIQSIIA IIRAMGR LKIDFGADPGRADDARQLFVLGSADEGYMT-SELSG I I LRLWKDGGVQACFSRSREYQL-
B8 -TIVKQMKI IHEAGYSEEECKQYRAVVYSNTEQSIIA IIRAMGR LKIDFGADPGRADDARQLFVLGSADEGYMT-SELSG I I LRLWKDGGVQACFSRSREYQL-
B9 -TIVKQMKI I HEDGYSEEECKQYRAVVYSNTIQSIIA I I KAMTNLKM EYEDSARADDARQLFALAGPAEGQVLPDDL ANVATRLWADGGVQSCLTRAGEYQL-
B11 -TIVKQMKI IHEAGYLEEECKQYKAVVYSNTIQSIIA IIRAMGR LKIDFGDAARADDARQLFVLGSAEEGFMS-DELAGV I KRLWKDGGVQACFSRSREYQL-
B12 -TIVKQMKI I HEDGYSEEECKQYRAVVYSNTIQSIIA I I KAMTNLKI EYEDSARADDARQLFSPGLGGEQGMLPDVLANVVTRLWADGGVQSCLTRAREYQL-

```

54 144

```

rGs2α -TIVKQMRILHVNGFNPEEKQK I LD I RKNVKDA I VTI I SAMST I I PPVPLANPENQFRSDY I KSIAP I TDFEYSQEFFDHVKKLWDDGKV KACFERSNEYQL-
rGolf -TIVKQMRILHVNGFNPEEKQK I LD I RKNVKDA I VTI I SAMST I I PPVPLANPENQFRSDY I KSIAP I TDFEYSQEFFDHVKKLWDDGKV KACFERSNEYQL-
B10 -TIVKQMRILHVNGFNAAEKKQK I LD I RKNVKDA I VTI I VSAMSTLTPPVS I DNPSNQPRAEY I KSIAPL SDFDYTEEFFEHAKNLWDDGKV KACFERSNEYQL-

```

Fig. 1 Partial amino acid sequences of the clones obtained from the carp epithelia. The PCR primer sites are indicated by bold letters. Sequences are aligned with corresponding sequences of 11 clones. Shaded regions are known-sequences of G-proteins in rat or human. The framed rectangle of the sequence in *rα-Gust* is the portion for the antigen by Margolskee<sup>10</sup> to anti-gustducin, and the underlined portion of B11 is corresponding to that of the antigen peptide in *rα-Gust*.  
 Abbreviations: E, epithelia without taste bud ; B, barbell with taste buds ; h, human ; r, rat ; Gust, gustducin.

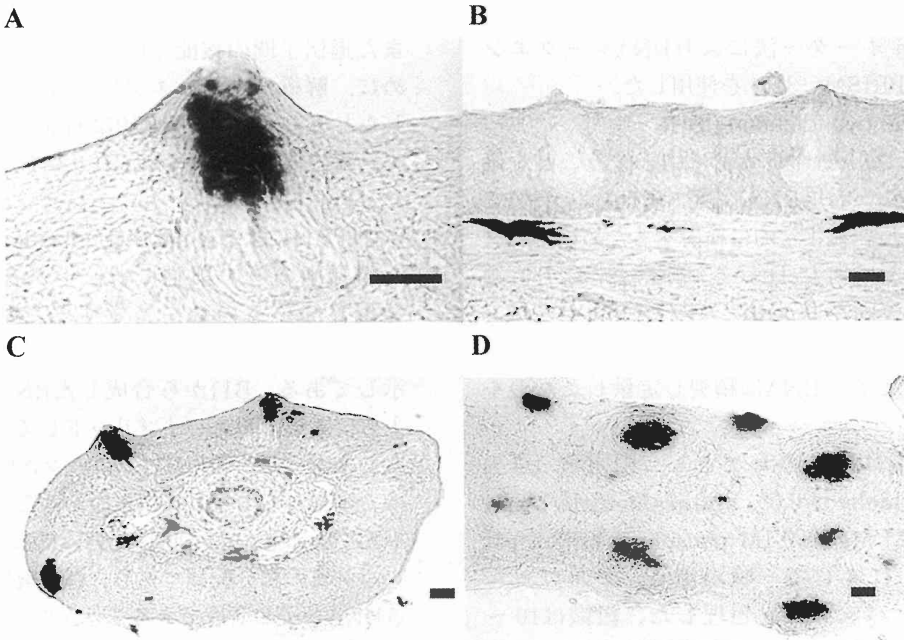


Fig. 2 *In situ* hybridization for the G-protein concerning taste transduction in barbells of the carp. A, C and D are reaction of the anti-senses, and B is that of the sense. Each bar in the photos indicate 10 μm.  
 A. Representative expression of the RNA-RNA hybridization in a taste bud.  
 B. Hybridization without synthesized RNA from B11 in the procedure.  
 C. A transverse section of a barbell.  
 D. A longitudinal section of a barbell.

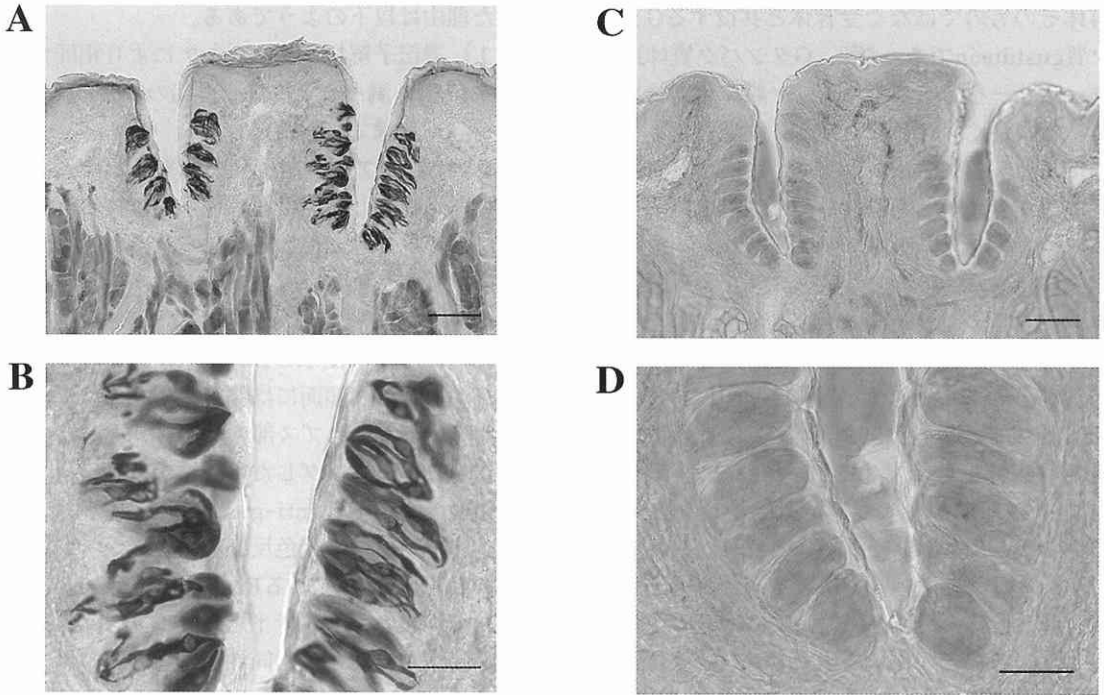


Fig. 3 Immunohistochemistry for the anti-gustducin in rat circumvallate papilla.

A & B are sections with reaction for the antibody, and C&D with control. Bars in the all photoes are 100  $\mu$ m.

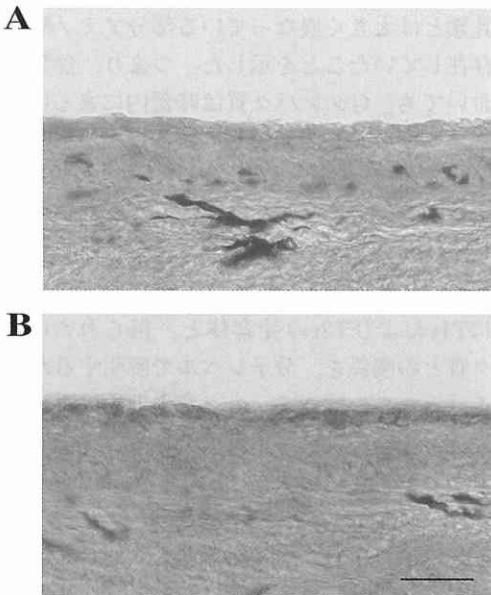


Fig. 4 The immunohistochemical reactions were not observed between taste buds on barbells of carp and the anti-gustducin antibody derived from the partial amino acid sequence of the rat. The bar in B indicates 100  $\mu$ m. The magnification of the photograph in A is the same in that of B. B is a control.

いるので (Santa Cruz), この抗体を使用してコイの味蕾にラットのgustducinが発現しているかを検討した。その結果をFig. 3と4に示す。Fig. 3は、ラットの有郭乳頭にある味蕾について、市販されているanti-gustducinを用いてgustducinの存在を確認したものである。AとBに、味蕾内の細胞の一部にgustducinが存在していることを示している。

Fig. 4では、コイのヒゲを試料として市販のanti-gustducinを使って反応が起きるかどうか検討した結果である。この抗体はコイの味蕾内の細胞に反応を呈することはなく、少なくともラットのgustducinの抗体を作製したペプチドは、同部分のコイのペプチドとは異なっていることが示唆された。

## 考 察

味覚受容機構の解明は、これまで様々な試みが行われてきた。1990年代になって分子のレベルで遺伝子工学を駆使して研究が行われ、甘味との関係が最初に明らかにされた<sup>10,11)</sup>。しかしそれは

受容体そのものではなく受容体と共役するGタンパク質gustducinであった<sup>21)</sup>。Gタンパク質は遺伝子ファミリーを形成しており、一般に全動物を通じて特別に良く保存されたアミノ酸配列をもった分子である<sup>2)</sup>。1992年にその保存された配列に対するPCRプライマーを設計し、RT-PCRによってGタンパク質のクローニングが行われ、味蕾の存在する組織からGタンパク質をコードする遺伝子がクローニングされgustducinと名付けられた<sup>10)</sup>。またこの遺伝子を破壊したノックアウトマウスでは、甘味と苦味の感受性が著しく低下することが報告されている<sup>22)</sup>。1999年以降、ほ乳類において味覚受容体遺伝子であるT1rとT2rファミリーがクローニングされ、新しい遺伝子ファミリー(Tas1RとTas2R)として分類された<sup>12)</sup>。これらの分子のヘテロマーの組合せによる複合体は、前者では甘味と旨味の受容を、後者では苦味の受容に関与していることが解明されている<sup>23)</sup>。魚類においても、これらの受容体の基本的な機能は前述したように共通性が存在することが予測された。しかしながら、これらのほ乳類と魚類の報告はいずれもGPCRであることを強く示唆しているとはいえ、共役しているGタンパク質との分子レベルでの動態とその下流にあるシグナル伝達因子との関連は未だよく分かっていない<sup>3)</sup>。

味蕾の構造を有するのは脊椎動物に限られているので、魚類が進化系統学的に脊椎動物の中で最も速く分岐して、ほ乳類とは最も離れていることから、味覚研究における魚類の重要性は高く、研究対象としては有用である。さらにゼブラフィッシュやメダカのゲノムプロジェクトも完了しており、受容体の解明には強力なツールといえる。しかし魚類の味覚受容の分子機構に関しては、味細胞内シグナル伝達の分子基盤について、ほ乳類と比べて不明なままである<sup>3, 22)</sup>。そのため本研究では、未だ不明な味覚受容体の一端に焦点をあてるために、さらに将来的に味覚受容関連分子の構造や、発現様式、さらにそれらの機能などを比較解析するのに役立つものと考えて、味覚受容機構に関わるGタンパク質の分子生物学的な分析に取り組むこととした。

本研究で、B11を*in situ* hybridizationに適用

した理由は以下のものである。

1) 遺伝子解析ソフトウェアにより相同性と分子系統樹を調べたところ、B10のみがGolfに相同性が高く近縁であった。

2) B10のアミノ酸配列の特異的な配列に対して抗体を作製し、免疫組織化学的に検索したところ、嗅上皮では発色反応が見られたが、ヒゲでは反応が観察されなかった(データ未発表)。

3) 顔面皮膚に由来するクローンE4とE5の部分配列は、ヒゲ由来のBクローンと極めて相同性が高かったが、顔面には側線器(孔器)が多数存在し<sup>23)</sup>、そのシナプス部の受容体からのGタンパク質をクローニングした可能性が大きい。

市販のラットのanti-gustducin抗体がコイの味覚上組織において発色反応を示さなかった理由は、その抗原となっているFig. 1の $\alpha$ -Gustの列の四角で囲まれたペプチドとB11の下線部のペプチドを比べてみると、相同性が低いので、コイの味蕾内の細胞が反応しなかったものと考えられる。

本研究で得られた結果は、Gタンパク質が味蕾内の細胞に存在するが、相同性が高いとはいえ、ほ乳類とは大きく異なっている部分アミノ酸配列が存在していたことを示した。つまり、魚類味覚においても、Gタンパク質は味蕾内にあるGPCRのサブセットとして発現していることが判明した。しかし本研究はまだ端緒に過ぎず、この後B11クローンから、このGタンパク質の全塩基配列を決定し、GPCRとして受容体とどのように関連して機能しているのかを検討しなければならない。さらにT1rおよびT2rの受容体と、得られたGタンパク質との関係を、分子レベルで解明するだけでなく、それらの機能チェックを生理的に正常な状態で行ってゆくことが不可欠である。

## 結 論

RT-PCRにより、コイの味細胞にはGタンパク質が存在して味覚受容機構に関わっているものと考えられたが、ラットの味細胞に発現するGタンパク質(gustducin)にたいして作製された抗体を使って免疫組織化学的に検討した結果、ほ乳類と魚類では相同性が高いものの、一部のアミノ酸配列が異なっていることが判明した。

## 文 献

- 1) 宇井理生, 野村靖幸 編集:「廣川ニューロサイエンス, 5. 情報変換物質-G蛋白質」 廣川書店 東京 1994.
- 2) Neves, S. R., Ram, P. T. and Iyenger, R. : G-protein pathways. *Science* **296** ; 1636-1639 2002.
- 3) 永井俊匡: 魚類味覚レセプター T1RおよびT2Rを用いた脊椎動物の化学受容機構の解析, 東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻, 博士論文 2007.
- 4) Kinnamon, S. C. and Margolskee, R. F. : Mechanisms of taste transduction. *Current Opinion Neurobiol* **6** ; 506-513 1996.
- 5) Bruch, R. C. and Kalinoski, D. L. : Interaction of GTP-binding regulatory proteins with chemosensory receptors. *J Biol Chem* **262** ; 2401-2404 1987.
- 6) Buck, L. and Axel, R. : A novel multigene family may encode odorant receptors : a molecular basis for odor recognition. *Cell* **65** ; 175-187 1991.
- 7) Abe, K., Kusakabe, Y., Tanemura, K., Emori, Y. and Arai, S. : Multiple genes for G protein-coupled receptors and their expression in lingual epithelia. *FEBS Letter* **316** ; 253-256 1993.
- 8) Abe, K., Kusakabe, Y., Tanemura, K., Emori, Y. and Arai, S. : Primary structure and cell-type specific expression of a gustatory G protein-coupled receptor related to olfactory receptors. *J Biol Chem* **268** ; 12033-12039 1993.
- 9) Matsuoka, I., Mori, T., Aoki, J., Sato, T. and Kurihara, K. : Identification of novel members of G-protein coupled receptor superfamily expressed in bovine taste tissue. *Biochem Biophys Res Commun* **194** ; 504-511 1993.
- 10) MacLaulin, S.K., MacKinnon, P.J. and Margolskee, R.F. : Gustducin is a taste cell specific G protein closely related to the transducins. *Nature* **357** ; 563-569 1992.
- 11) Hoon, M.A., Northup, J.K., Margolskee, R.F. and Ryba, N.J.P. : Functional expression of the taste specific G-protein,  $\alpha$ -gustducin. *Biochem J* **309** ; 629-636 1995.
- 12) Hoon, M. A., Adler, E., Lindemeier, J., Battey, J. F., Ryba, N. J. P. and Zuker, C. S. : Putative mammalian taste receptors : a class of taste specific GPCRs with distinct topographic selectivity. *Cell* **96** ; 541-551 1999.
- 13) Adler, E., Hoon, M. A., Mueller, K. L., Chandrashekar, J., Ryba, N. J. P. and Zuker, C. S. : A novel family of mammalian taste receptors. *Cell* **100** ; 693-702 2000.
- 14) Chandrashekar, J., Mueller, K. L., Hoon, M. A., Adler, E., Feng, L., Guo, W., Zuker, C. S. and Ryba, N. J. P. : T2Rs function as bitter taste receptors. *Cell* **100** ; 703-711 2000.
- 15) Zhao, G. Q., Zhang, Y., Hoon, M. A., Chandrashekar, J., Erlenbach, I., Ryba, N. J. P. and Zuker, C. S. : The receptors for mammalian sweet and umami taste. *Cell* **115** ; 255-266 2003.
- 16) Nelson, G., Hoon, M. A., Chandrashekar, J., Zhang, Y., Ryba, N. J. P. and Zuker C. S. : Mammalian sweet taste receptors. *Cell* **106** ; 381-390 2001.
- 17) Nelson, G., Chandrashekar, J., Hoon, M. A., Feng, L., Zhao, G., Ryba, N. J. and Zuker, C. S. : An amino acid taste receptor. *Nature* **416** ; 199-202 2002.
- 18) Ueda, T., Ugawa, S., Yamamura, H., Imaizumi, Y. and Shimada, S. : Functional interaction between T2R taste receptors and G-protein  $\alpha$  subunits expressed in taste receptor cells. *J Neurosci* **23** ; 7376-7380 2003.
- 19) Marui, T., Harada, S. and Kasahara, Y. : Gustatory specificity for amino acids in the facial taste system of the carp, *Cyprinus carpio* L. *J Comp Physiol A* **153** ; 299-308 1983.
- 20) Marui, T. and Caprio, J. : Teleost gustation. In *Fish chemoreception* (Ed. Hara, T. J.) ; 171-198, Chapman & Hall, New York, 1992.
- 21) Wang, G. T., Gannon, K. S. and Margolskee, R. F. : Transduction of bitter and sweet taste by gustducin. *Nature* **381** ; 796-800 1996.
- 22) Zhang, Y., Hoon, M. A., Chandrashekar, J., Mueller, K. L., Cook, B., Wu, D., Zuker, C. S. and Ryba, N. J. P. : Coding of sweet, bitter, and umami tastes : Different receptor cells sharing similar signaling pathways. *Cell* **112** ; 293-301 2003.
- 23) Sugiki, M., Fujii, S., Isari, T., Yagi, H., Tsuji, M., Amagai, Y. and Marui, T. : Responses of the anterior lateral line nerves of the carp to chemical stimulation. *J Oral Biol* **36** ; 623-635 1994.

著者への連絡先：藤岡一途, (〒605-0973)京都市東山区泉涌寺門前町29 藤岡歯科医院  
 Reprint Requests : Kazuto FUJIOKA  
 29 Sennyouji-Monzencho, Higashiyama County, Kyoto City, 605-0973, Japan