

# 魚類化学受容器に特異的に発現するGタンパク質の局在

福山悦子<sup>1</sup> 大須賀謙二<sup>2</sup> 宗形芳英<sup>2</sup>

## The Localization of G-Proteins in Fish Chemoreceptors

Etsuko FUKUYAMA<sup>1</sup>, Kenji OHSUGA<sup>2</sup> and Yoshiei MUNAKATA<sup>2</sup>

Immunohistochemical experiments were performed to identify the localization of a transducin, a heterotrimeric G-protein, concerning taste transduction in carp, *Cyprinus carpio* L. Antibodies for the  $\alpha$ -subunit of G-proteins were developed against two specific clones, B-10 and B-11, derived from the carp taste epithelium, which share homology with G $\alpha$ lf and  $\alpha$ -gustducin, respectively.

An application of anti-B-10 to the sections of olfactory and taste epithelia revealed that positive reactions were observed on the both, in which non-specific olfactory receptor cells, and the whole epithelium and specific cells in a taste bud of barbell showed immunoreactivity. On the other hand, an application of anti-B-11 indicated that immunoreactivity was observed in specific cells of a taste bud of carp, but in those of rat. In addition, commercially available antibody, anti- $\alpha$ -gustducin, made immunoreactivity on taste cells in mammals, but in carp.

In conclusion, the amino acid sequences of G-proteins conserved among animals with taste transduction mechanisms may be partially different between rodents and carp.

Key words : G-protein, amino acid sequences, clones, carp, taste, immunohistochemistry

### 緒 言

動物は生体を維持するために摂食しなければならないが、カロリーとなる炭水化物などには「甘味を感じて」積極的に摂取し、生体にとって危険な毒物などに対しては「苦味を感じて」拒否して生体を防御している。このような外界からの食物摂取に関わる情報は、口腔内に存在する味蕾中の味細胞により受容されている。味細胞は味覚受容に関与する種々のタンパク質を有しており、と

りわけ、Gタンパク質は種々の酵素と共役して味覚リセプターとして味細胞内の情報伝達系において主要な機能をはたしている<sup>1,2)</sup>。Gタンパク質は、グアニンヌクレオチド結合タンパク質の略称であり、GTPアーゼという大きなグループに属し、セカンドメッセンジャー・カスケードに関連する細胞内の生化学的反応を切り替える「スイッチ」として働いている。また、Gタンパク質はGタンパク質共役受容体 (G-protein coupled receptor, GPCR) により活性化され、生体の細胞で最も重

受付：平成21年3月30日，受理：平成21年5月19日  
奥羽大学大学院歯学研究科顎口腔外科学専攻<sup>1</sup>  
奥羽大学歯学部口腔機能分子生物学講座<sup>2</sup>  
(指導：丸井隆之教授)

Department of Oral Surgery, Ohu University,  
Graduate School of Dentistry<sup>1</sup>  
Department of Oral Function and Molecular Biology,  
Ohu University School of Dentistry<sup>2</sup>  
(Academic supervisor : Prof. Takayuki MARUI)

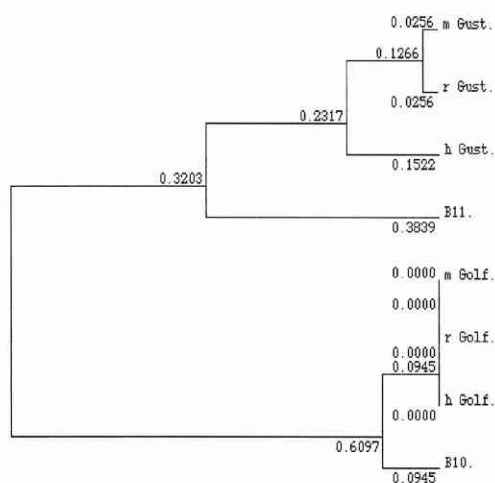


Fig. 1 A evolutionary tree of the similarities by analysis of the partial sequences in the clones of G-proteins obtained from the carp taste epithelia (barbell). The clone B-10 is very similar to Golf family, and the clone B-11 to  $\alpha$ -gustducin. Abbreviation : mGust, mouse gustducin ; rGust, rat gustducin ; hGust, human gustducin ; mGolf, mouse G-protein associated with olfactory reception ; rGolf, rat G-protein associated with olfactory reception ; hGolf, human G-protein associated with olfactory reception ; B10 and B-11, the partial sequences obtained in the clones of G-proteins from the carp taste epithelia (barbell).

要なシグナル伝達分子の一つとして位置づけられる<sup>3-5)</sup>。

アミノ酸や苦味・甘味・旨味物質の味覚受容には、GPCRが関与していることが近年の分子生物学的研究の進展によって明らかにされ、これまでに同定された嗅覚や味覚に関わるGPCRは、他の細胞にあるものとは異なり、嗅覚や味覚の受容細胞で特異的に発現するタイプとして報告されている<sup>6-12)</sup>。これまでに、丸井ら<sup>13-15)</sup>は、魚類がアミノ酸に対して極めて味覚感受性が高いことを電気生理学的に明らかにし、動物界において広く保存されているGタンパク質のアミノ酸配列に着目し、コイ味蕾に発現するGPCRの部分配列のクローニングを行い、*in situ* hybridizationなどで味蕾に特異的に発現していることを明らかにしてきている<sup>16-17)</sup>。

そこで、本研究では、それらのクローンの中から、他の動物とは異なる特徴的なアミノ酸部分配列のペプチドに対して抗体を作り、コイにおけるそのGタンパク質の局在を免疫組織化学的に検索した。

## 材料および方法

### 1. 実験材料

実験動物には購入後、2週間以上実験室で飼育し、環境に十分適応した体重150～200グラムのコイ (*Cyprinus carpio* L.) を用いた。

### 2. 実験方法

#### 1) 抗体の作成

コイの味上皮組織からクローニングされたGタンパク質のうち、ホモロジー検索の結果 (Fig. 1) から、クローンB-10のアミノ酸配列中のペプチド“PVSIDNPSNQPRAE”とクローンB-11のアミノ酸配列中のペプチド“IDFGDAARADDARQLFVLG”をそれぞれ抗原ペプチドとしてウサギ抗血清 (シグマアルドリッチジャパン株式会社に委託) を作製した。これらの抗体は、MAbTrap Kit (Amersham) のセファロース・プロテインを充填したカラムにより精製した。精製の際には、抗体を含む分画は1 mlずつ回収し、A<sub>280</sub>で最も高い吸光度の値を示した部位のIgG分画を一次抗体として本研究で使用した。これらの抗体は、哺乳類の嗅細胞に特異的に見られるGタンパク質であるGolfと相同性の高いB-10の抗体をanti-B-10とし、哺乳類の味細胞に特異的に見られるGタンパク質である $\alpha$ -gustducinに高い相同性を持つB-11の抗体をanti-B-11とした。

また、市販の齧歯類で作製された抗体、anti- $\alpha$ -gustducin (G $\alpha$  gust, I-20, Santa Cruz Bio. Inc.) を魚類と哺乳類のG蛋白質の差を検定するために免疫組織化学実験に使用した。

#### 2) 標本切片作製

コイは、8,000倍に希釈したMS-222 (Ethyl-3-aminobenzoate methansulfonate, Sigma) で浸漬麻酔後、味蕾の豊富に存在するヒゲと嗅上皮を採取し、4%パラホルムアルデヒドと0.25%グルタルアルデヒドの混合液 (0.1Mリン酸緩衝

液)にて、4℃で一晩固定した。固定後、0.1Mリン酸緩衝液で切片は十分に洗浄し、OTC compound (Tissue-Tek®, Sakura) で包埋を行い、クリオスタット (HM505E, MICROM) にて厚さ12～14μmの連続凍結切片を作製し、24穴の培養プレート (Nunc®) に順次分配して免疫組織化学実験に供した。

### 3) 免疫組織化学

24穴の培養プレート中の切片は、0.3%過酸化水素水にて90分間処理することにより内因性ペルオキシターゼを不活性化し、10%正常ヤギ血清 (G9023, Sigma) で非特異的な免疫反応を除去するブロッキング処理 (室温で3時間) を行った。

精製した抗血清 (抗体) は、あらかじめ500倍、1,000倍、2,000倍、3,000倍、4,000倍、6,000倍希釈した濃度で反応させて、各抗体の免疫組織化学実験における最適濃度を決定しておいた。その結果、B-10で作製した抗体の濃度は1,000倍希釈、B-11で作製した抗体は4,000倍希釈で用いることとした。

一次抗体の反応は4℃で48時間反応させて行い、洗浄後、二次抗体としてHRP (horse-radish peroxidase) 標識されたヤギ抗ウサギIgG抗体 (A0545, Sigma) を200倍に希釈したものを室温で2時間反応させて行った。洗浄後、0.02%過酸化水素水を添加した0.02% DAB (3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride) で発色を行い、光学顕微鏡で観察を行った<sup>18,19)</sup>。なお、発色は、切片の発色の様子を観察しながら9～12分の範囲で行った。発色反応は蒸留水によって止め、グリセリンで封入した。なお、切片の洗浄および抗体の希釈には0.1% Tween 20 (Sigma) 含有の0.1Mリン酸緩衝液 (PBST, pH7.2) を用いた。

組織切片の免疫反応の対照試験として、一次抗体を使用しないblank試験を行った。さらに、組織切片の免疫反応の特異性を検定するために免疫吸収試験を行った。免疫吸収試験は、0.2M PBSTに100mgの抗原ペプチドを入れて一次抗体を加え、4℃で一晩振盪させながら反応させたものを1時間遠心分離 (10,000×g) にかけて、その上清を対照反応液として用いた<sup>7)</sup>。

### 4) クローンのホモロジー解析

既得のクローンのホモロジー検索は、遺伝情報処理ソフトウェア (GENETYX®-MAC, ver.14, Genetyx Corp.) にて行い、解析した。

## 結 果

### (1) コイ味覚上皮のGタンパク質クローンの部分アミノ酸配列のホモロジー検索

コイの味上皮組織からクローニングされたGタンパク質部分配列のうち、2種類の特徴的な配列であるα-サブユニットをB-10とB-11を選んだ。広く動物界に保存されているG蛋白質の2つの部分塩基配列の -TIVQKM- と -EYQL- から設計したプライマーを使用し、RT-PCRによって得られたアミノ酸配列に対してホモロジー解析を行い、その結果から選択した。すなわち、B-10は哺乳類の嗅細胞に特異的に見られるGタンパク質のα-サブユニットであるGolfと (Fig. 1) 相同性が高く、B-11は哺乳類の味細胞に特異的に見られるGタンパク質であるα-gustducin (Fig. 1) と高い相同性を持つことが認められたからである。

ラットやマウスなどの齧歯類のGolfと相同性の高いB-10と、α-gustducinと相同性の高いB-11のアミノ酸配列を比較するとTable 1のようであり、それぞれ相同性が高く、Fig. 1の結果と良く符号していることが分かる。

### (2) 免疫組織化学

#### 1) Golfに相同性の高いB-10の抗体の反応

味上皮に由来する十数個のクローン中の一つであるB-10は、Golfに相同性が高いこと (Fig. 1) が判明したので、Golfと相同性の高いこのB-10から作製したanti-B10に対して免疫組織化学実験を行った。その結果、コイの嗅細胞では免疫陽性反応を示し、嗅上皮の切片中の嗅細胞群に特異的に反応を呈した (Fig. 2A)。一方、anti-B10に対しては、味上皮 (ヒゲ) の切片中で味蕾の局限された細胞に陽性反応を示すものが観察された。しかし、非特異的に上皮細胞も染められていた (Fig. 2C 矢印)。この事実は、Golfが味覚受容の分子機構に関与している可能性があることを示唆しているが、味細胞が上皮細胞由来で、10日余でターンオーバーすることを考えると、このGolfが上皮細胞に非特異的に発現している可能性

Table 1 Comparison of G-protein’s partial sequences involving in chemoreception among several kinds of species.

The underlines in r, m and hGust indicate the portion of peptides as an antigen to commercially produce antibody. Squared peptides in B-10 and B-11 are used as antigens to make their antibodies, respectively. Bold letters in the beginning and end of the sequences show portions of the peptides designing primers.

Abbreviations : Golf, gustducin typically expressed on olfactory epithelia ; Gust,  $\alpha$ -gustducin typically expressed in taste epithelia of rodents, B : taste tissues (barbells) of carp, r : rat, m : mouse, h : human.

<b>B-10</b>
-T <b>I</b> V <b>K</b> Q <b>M</b> R LHVNGFNAEEKKQK LDIRKNVKDA VTIVSAMSTL <b>PPVSI</b> <b>DNPSNQ</b> PRAEY KS APLSDFDYTEEFFEHAKNLWDDEGVKACFERSNEYQL-
<b>rG<sub>olf</sub></b>
-T <b>I</b> V <b>K</b> Q <b>M</b> R LHVNGSNPEEKKQK LDIRKNVKDA VTIVSAMSTI PPVPLANPENQFRSDY KS APITDFEYSQEFFDHVKKLWDDEGVKACFERSNEYQL-
<b>mG<sub>olf</sub></b>
-T <b>I</b> V <b>K</b> Q <b>M</b> R LHVNGFNPEEKKQK LDIRKNVKDA VTIVSAMSTI PPVPLANPENQFRSDY KS APITDFEYSQEFFDHVKKLWDDEGVKACFERSNEYQL-
<b>hG<sub>olf</sub></b>
-T <b>I</b> V <b>K</b> Q <b>M</b> R LHVNGFNPEEKKQK LDIRKNVKDA VTIVSAMSTI PPVPLANPENQFRSDY KS APITDFEYSQEFFDHVKKLWDDEGVKACFERSNEYQL-
<b>B-11</b>
-T <b>I</b> V <b>K</b> Q <b>M</b> K IHEAGYLEEECKQYKAVVYSNT QSIIATIRAMGR <b>LIDFGDAARADDARQLFVLAG</b> SAEEGFMS-DELAGV KRLWKDGGVGQACFSRSREYQL-
<b>rGust</b>
-T <b>I</b> V <b>K</b> Q <b>M</b> K IHKNGYSKQECMEFKAVVYSNTLQSILAIVKAM <b>TTLGIDYVN</b> PRSREDQQLLSMANTLEDGMTQ-LAE IKRLWGDPGIQACFERASEYQL-
<b>mGust</b>
-T <b>I</b> V <b>K</b> Q <b>M</b> K IHKNGYSKQECMEFKAVIYSNTLQSILAIVKAM <b>ATLGIDYVN</b> PRSREDQEQLHSMANTLEDGMTQ-LAE IKRLWGDPGIQACFERASEYQL-
<b>hGust</b>
-T <b>I</b> V <b>K</b> Q <b>M</b> K IHKNGYSKQECMEFKAVIYSNTLQSILAIVKAM <b>ATLGIDYVN</b> PSAEDQRQLYAMANTLEDGGMTQ-LAEV KRLWRDPGIQACFERASEYQL-

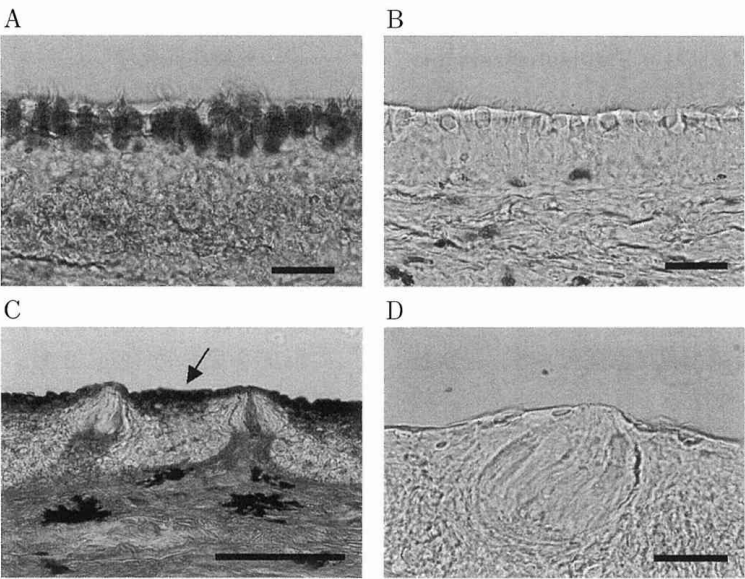


Fig. 2 Immunohistochemical reaction for anti-B10 in the olfactory (A & B) and taste (C & D) epithelia. B & D are the control without using the antibody. Scales in A, B & D are 30  $\mu$ m, and that in C 100  $\mu$ m. An arrow in C indicates non-specific reaction on the taste epithelium.

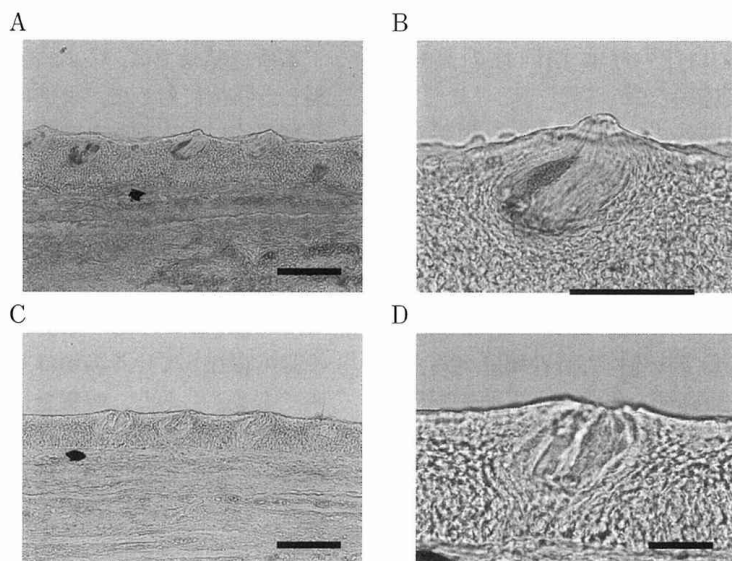


Fig. 3 Immunohistochemical reaction (A & B) for anti-B11 in the taste cells of the carp barbell. C & D are the control without using the antibody. Scales in all photos are 100  $\mu$ m.

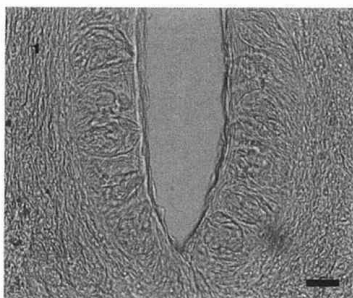


Fig. 4 Immunohistochemical reaction for anti-B-11 was not observed in the taste cells of circumvallate papillae of the rat. Scales are 100  $\mu$ m.

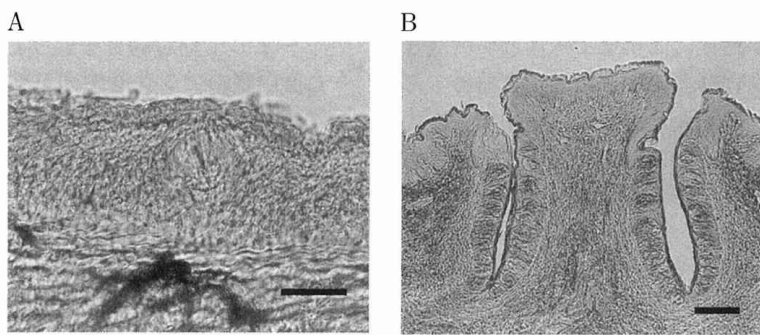


Fig. 5 Immunohistochemical reaction for anti-gustducin in the carp (A) and rat (B) taste epithelia, where the immuno-reaction was observed only in the rat (B). Scales are 10  $\mu$ m in A and 30  $\mu$ m in B.

もある。

## 2) $\alpha$ -gustducin (G 1- $\alpha$ ) に相同性の高い B-11 の抗体の反応

$\alpha$ -gustducin と相同性の高い B-11 から作製した anti-B11 では、味蕾を構成する一部の細胞でのみ特異的に免疫陽性反応が観察された (Fig. 3 A & B)。しかし、コイの嗅上皮では、この抗体に対して免疫陽性反応は観察されなかった。

一方、B-11 に対して今回作製した抗体が魚類において特異的なものであるかどうか確認するために、ラットの味上皮組織である有郭乳頭を同様の方法で反応を観察した。しかし、ラットの味上皮組織である有郭乳頭の味蕾内の細胞で陽性反応を呈するものは観察されず (Fig. 4), anti-B11 はラットには無いアミノ酸配列であると結論された。

## 3) 市販の anti- $\alpha$ -gustducin に対する コイ 味細胞の反応

市販されているラットの  $\alpha$ -gustducin では、コイでは抗原抗体反応を示さず (Fig. 5 A), ラットの味蕾では免疫陽性反応を示した (Fig. 5 B) ことから、市販されているラットの  $\alpha$ -gustducin に対する抗体の部分配列が齧歯類と魚類では異なっていることが裏付けられた。

## 考 察

コイ科の魚類は味覚が特殊に発達しており<sup>20~23)</sup>、味覚研究において適した材料と考えられ、本研究では頭部「体表」にも味蕾が存在しているコイを材料とした<sup>23)</sup>。

脊椎動物の化学感覚には嗅覚と味覚とが区別され、嗅覚を遠隔受容器、味覚を接触受容器として分類されている。魚類などの水棲脊椎動物でも、受容器の形態とロケーションから同様に区別されているが、臭い物質も味物質も水中に溶けた状態で刺激物質として働くため、どちらも遠隔受容器として機能しているものと考えられている<sup>15,20)</sup>。魚類の嗅・味覚システムは、双方ともにアミノ酸に対して極めて感受性の高いことが電気生理学的研究から知られ<sup>13~15)</sup>、応答スペクトラムの差異から機能としては異なっていることが明らかとなっている<sup>15)</sup>。けれども、両者が摂餌行動に関わり重

要な働きをもっていることも示唆されている<sup>15,20)</sup>。

本研究結果では、Golf と相同性の高い B-10 で作製した抗体に対して、コイの嗅細胞ばかりでなく、非特異的に上皮細胞と味細胞の一部にも免疫陽性反応が認められた (Fig. 2)。このことは、味細胞がもともと上皮細胞由来で、10 日余でターンオーバーすること<sup>20)</sup>を考えると、上皮細胞には同じアミノ酸配列の Golf が何らかのリセプター (GPCR) として存在していることが考えられるが、なぜ味細胞に存在しているのかは本実験からだけでは不明である。しかし、嗅細胞に存在している G タンパク質<sup>1)</sup>と共通の G タンパク質が味上皮組織にも存在し、味覚情報受容に関与している可能性も伺える。

齧歯類やヒトの味覚受容に関わる GPCR には、 $\alpha$ -gustducin が味覚情報伝達機構に介在するトランスデューサーとして機能している<sup>3,6,11)</sup>。この味蕾に特異的に見られる  $\alpha$ -gustducin は<sup>2)</sup>、苦味受容体 T2Rs と共発現していることから、 $\alpha$ -gustducin は苦味情報の伝達に関わっていると考えられている<sup>7,12,24,25)</sup>。B-11 を用いた本研究の免疫組織化学実験結果より、コイ味上皮において、味蕾の中の一部の細胞に免疫陽性反応が見られたことから (Fig. 3)、この抗体がコイに特異的であることが分かった。すなわち、魚類にも哺乳類と同様に、味細胞に特異的に発現する G タンパク質 (GPCR) が存在し、特定の味細胞によって苦味の味覚の受容が行われている可能性が示唆された。しかし、この anti-B11 抗体では、ラットの味細胞は全く陽性反応を示さず、トランスデューサーとして同じ働きをもっている、動物により G 蛋白質のアミノ酸配列が部分的に異なっていること (Table 1) が再確認された。これらのことから、トランスデューサーとして働く G タンパク質は、広く動物界に保存されたアミノ酸配列を持ってはいるが、動物種によりアミノ酸配列が異なっていることが判明した。

近年、味覚受容体の分子生物学的研究が飛躍的に進んでおり、哺乳類においては甘味受容体 T1Rs と苦味受容体 T2Rs はそれぞれ味蕾内の別の細胞に存在していることから<sup>7,24,25)</sup>、甘味と苦味を受容する細胞は別であると考えられている。魚類

の味細胞においてもこれらのことはおそらく同様であろうと推測されるが、どの種類の細胞が味細胞としてのどのような機能を持つのかは未だ明確ではない。

本研究で得られた結果を基にして、今後さらにこれらの細胞の特定を行い、そのタイプを同定することにより、味覚の細胞内伝達機構をさらに解明してゆく足掛かりになると考えている。

## 結 論

コイの味上皮組織からクローニングにより得られた数種のアミノ酸部分配列のうち、哺乳類のGタンパク質であるGolfおよび $\alpha$ -gustducinと相同性の高いクローンを選び、それらの抗体を作製して、そのGタンパク質の局在を調べることを目的に免疫組織化学的検索を行い、以下の結果を得た。

1. 哺乳類のGolfと相同性の高いB-10から作製した抗体では、コイの嗅細胞に免疫陽性反応を認めた。また、コイのヒゲ上皮には非特異的に免疫陽性を示し、一部の味細胞にも陽性反応が観察された。

2. 哺乳類の $\alpha$ -gustducinと相同性の高いB-11から作製した抗体 (anti-B11) では、コイ味上皮の味蕾の中の一部の細胞に免疫陽性反応が見られた。このことから、魚類にも哺乳類と類似した味細胞に特異的に発現するGタンパク質が存在し、特定の味細胞によって味質の受容が行われていることが示唆された。

3. ラットの味上皮では、味蕾中の細胞がanti-B11に対して特異的に染まらなかったことから、作製した抗体がコイ味上皮に特異的に発現しており、哺乳類とは異なった塩基配列をもつことが確認された。

## 謝 辞

稿を終えるに臨み、終始御指導、御校閲を賜りました奥羽大学歯学部口腔機能分子生物学講座口腔生理学分野丸井隆之教授に深甚なる謝意を表します。また、本研究を遂行するにあたり、御協力をいただいた教員各位に感謝いたします。

本論文の要旨は、第45回奥羽大学歯学会（平成20年6月 郡山市）において発表した。

## 文 献

- 1) Bruch, R. C. and Kalinoski, D. L. : Interaction of GTP-binding regulatory proteins with chemosensory receptors. *J. Biol. Chem.* **263** ; 2401-2404 1987.
- 2) McLaughlin, S. K., McKinnon, P. J. and Margolskee, R. F. : Gustducin is a taste-cell-specific G protein closely related to the transducins. *Nature* **357** ; 563-569 1992.
- 3) Neves, S. R., Ram, P. T. and Iyengar, R. : G protein pathways. *Science* **296** ; 1636-1639 2002.
- 4) 芳賀達也, 麻川武雄, 榎本恵一, 佐藤幸市 :  $G\alpha$  の機能. 情報変換物質-G蛋白質 廣川ニューロサイエンス 5 (宇井理生, 野村靖幸 編) ; 19-71 廣川書店 東京 1995.
- 5) 伊東 広 : G蛋白質遺伝子ファミリー. 情報変換物質-G蛋白質 廣川ニューロサイエンス 5 (宇井理生, 野村靖幸 編) ; 93-103 廣川書店 東京 1995.
- 6) Kinnamon, S. C. and Margolskee, R. F. : Mechanisms of taste transduction. *Current Opinion Neurobiol.* **6** ; 506-513 1996.
- 7) 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.
- 8) Chandrashekar, J., Mueller, K. L., Hoon, M. A., Adler, E., Feng, L., Guo, W., Zuker, C. S. and Ryba, N. J. : T2Rs function as bitter taste receptors. *Cell* **100** ; 703-711 2000.
- 9) Li, X., Staszewski, L., Xu, H., Duric, K., Zoller, M. and Adler, E. : Human receptors for sweet and umami taste. *PNAS* **99** ; 4692-4696 2002.
- 10) 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.
- 11) Caicedo, A., Pereira, E., Margolskee, R. F. and Roper, S. D. : Role of the G-protein subunit  $\alpha$ -gustducin in taste cell responses to bitter stimuli. *J. Neurosci.* **23** ; 9947-9952 2003.
- 12) Roper, S. D. : Signal transduction and information processing in mammalian taste buds. *Eur J. Physiol.* **454** ; 759-776 2007.
- 13) 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.* **153** ; 299-308 1983.
- 14) Marui, T., Harada, S. and Kasahara, Y. : Mul-

- tiplicity of taste receptor mechanisms for amino acids in the carp, *Cyprinus carpio* L. In Umami : A Basic Taste (Ed., Kawamura, Y. and Kare, M. R.) ; 185-199 Marcell Dekker, Inc. 1987.
- 15) Marui, T. and Caprio, J. : Teleost gustation. In Fish Chemoreception (Ed., Hara, T. J.) ; 171-198 Chapman and Hall New York 1992 .
- 16) 藤岡一途, 大須賀謙二, 宗形芳英, 古山 昭, 丸井隆之 : GPCR味覚受容体の特徴. 奥羽大歯学誌 **35** ; 169-175 2008.
- 17) 天貝裕地, 辻 満, 丸井隆之 : コイ味蕾細胞にみられるG蛋白質. 日本味と匂学会誌 **2** ; 399-401 1995.
- 18) 渡辺慶一, 中根一穂 : 第3章光学的酵素抗体法染色の実際. 酵素抗体法 改訂四版 ; 122-237 学際企画株式会社 東京 2002.
- 19) 水口国雄 : I-T 免疫組織化学. 新染色法のすべて ; 200-211 医歯薬出版株式会社 東京 1999.
- 20) 佐藤昌康 : 第8章 魚類の味覚器. 味覚の科学 ; 86-102 朝倉書店 東京 1981.
- 21) 大須賀謙二, 丸井隆之 : 魚類の味覚受容. 日本味と匂学会誌 **10** ; 29-42 2003.
- 22) Ohkubo, Y., Masubuchi, M., Fujioka, K., Tomita, Y., Matsushita, T., Ohsuga, K. and Marui, T. : Distribution and morphological features of taste buds in the zebrafish, *Danio rerio*. J. Oral Biosci. **47** ; 77-82 2005.
- 23) 川喜田健司, 丸井隆之, 船越正也 : 鯉味蕾の走査型電子顕微鏡的研究. 歯基礎誌 **20** ; 103-113 1978.
- 24) Wong, G. T., Gannon, K. S. and Margolskee, R. F. : Transduction of bitter and sweet taste by gustducin. Nature **381** ; 796-800 1996.
- 25) Ruiz-Avila, L., McLaughlin, S. K., Wildman, D. and McKinnon, P. J. : Coupling of bitter receptor to phosphodiesterase through transducin in taste receptor cells. Nature **376** ; 80-85 1995.
- 著者への連絡先 : 福山悦子, (〒963-8611)郡山市富田町字三角堂31-1 奥羽大学歯学部口腔外科学講座  
Reprint requests : Etsuko FUKUYAMA, Department of Oral Surgery, Ohu University School of Dentistry 31-1 Misumido, Tomita, Koriyama, 963-8611, Japan