

## 味蕾における情報変換機序

野村浩道

松本歯科大学 口腔生理学教室 (主任 野村浩道 教授)

### Transduction Mechanism in Taste Buds

HIROMICHI NOMURA

*Department of Oral Physiology, Matsumoto Dental College*

*(Chief : Prof. H. Nomura)*

#### Summary

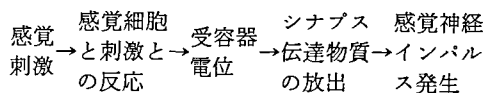
Recent progress of physiological studies on the transduction mechanism of taste was briefly reviewed. The transduction mechanism of taste has been rapidly elucidated by patch-clamp studies, which make it possible to reveal the role of ion channels of taste cell membrane in generating receptor potentials. Recent electrophysiological studies including patch-clamp studies indicate that salty taste is transduced by an influx of Na ions through amiloride-sensitive Na channels in the apical membrane of taste cells and bitter and sour tastes by closure of K channels. Sweet taste and the taste of amino acids may be transduced via intracellular second messengers as cAMP, IP<sub>3</sub> or Ca ions.

#### はじめに

味蕾は、飲食物の味を神経情報に変換する感覚器官である。味には甘い、塩からい、苦い、酸っぱい、旨いなどが区別されるが、これらの味がそれぞれどのような機序で神経情報に変換されるか10年前まではまったく分っていなかった。ところが、ここ10年ほどの間にオオサンショウウオやカエルを実験材料としたパッチクランプ法によって研究が一挙に進み、両生類だけでなくヒトを含む哺乳動物でも、味細胞における情報変換の初期過程は味細胞先端膜にあるイオンチャンネルの開閉によることがほぼ確定的となってきた。そこで、

今回その内容を紹介することにする。

味蕾に限らず、すべての感覚器官における刺激情報は、つぎに示す段階を経由して神経情報に変換される：



味蕾における情報変換過程がすべて明らかとなるためには、(1)味物質と味細胞先端膜との反応、(2)受容器電位発生の機序、(3)シナプス伝達物質放出の機序、および(4)神経インパルス発生の機序のすべてが明かになる必要がある。これらの過程は必ずしも同じレベルで研究されているわけではないが、出来るだけ広い視野からこれらの過程につい

ての研究成果を紹介してみたい。

### パッチクランプ法

パッチクランプ法は、Neher & Sakmann (1976)<sup>42)</sup>によって開発された画期的な電気生理学の技法で、彼らはこの技法の開発によって1991年ノーベル生理学医学賞を受賞している。パッチクランプ法の原理は、コラゲナーゼなどを用いて細胞表面を綺麗にして滑らかし、先端が平らで滑らかなガラス微小電極の先端を細胞表面に接触させて軽く吸引して密着させるという方法で、電極内部と細胞外液の間に1ギガオーム(10億オーム)以上の電気抵抗が形成されると、単一のイオンチャンネルの開閉状態を調べることが出来るという方法である。

味細胞で最初にパッチクランプ法が使用され、かつ現在でも集中的に研究されているのは両生類の味細胞で、カエル<sup>7)</sup>とオオサンショウウオ<sup>34)</sup>の研究である。哺乳動物では、これより少し遅れてマウス<sup>53)</sup>およびラット<sup>3)</sup>で研究されている。哺乳動物ではあまり研究が進んでいないが、これは哺乳動物の味細胞が両生類に比べて結合組織を除去するのが難しいためと考えられる。

### 味蕾の細胞

哺乳動物の味蕾は50~150個の細胞から構成されており、味蕾細胞は4種類(I, II, IIIおよびIV型)が区別されている。しかし、これら4種類の種類の細胞がそれぞれ異なる細胞で別々の役割を果たしているのか、あるいは4種類は同一細胞で、異なるようには見えても単に発達程度が違うだけなのかよくは分っていない<sup>48)</sup>。同一細胞が、基底細胞(IV型)→I型細胞→III型細胞→II型細胞の順で変化すると考えている研究者もいる<sup>18)</sup>。

味蕾細胞のうち、先端が味腔に面しているのはI型、II型およびIII型の細胞で、I型は先端に発達したミクロビリを有し、電顕で黒く染る(electron-dense)分泌顆粒を多数含んでいてdark cellとよばれる。分泌顆粒はムコ多糖を主成分とし、エクソサイトosisで味腔内に分泌されることが分っている<sup>60)</sup>。II型はミクロビリが発達しておらず滑面小胞体を多く含んでいてlight cellとよばれる。III型はI型とII型の中間の形態的特徴を有しているが、Murray<sup>40)</sup>によるとIII型細胞は瓶状の

細胞で棍棒状の突起を味腔内に突き出しており、また基底部に化学的シナプス構造を有するので、この細胞が真の味細胞であると述べている。しかし、神経線維と味蕾細胞の接触はI型、II型および基底細胞にもみられるので、Murrayの見解を否定する研究者も少なくない<sup>35)</sup>。

基底細胞は、前述したごとく味蕾の底部にある円形の細胞で、従来は未分化の細胞と考えられていた。しかし、オオサンショウウオでは、基底細胞に相当する位置にあるメルケル様細胞が、他の味蕾細胞や神経線維と化学的および電気的シナプス構造を作っているため、味蕾内情報の統合を行っていると考えられている<sup>59)</sup>。また、哺乳動物においても味蕾細胞同志のあいだに電気的結合が見られると報告されている<sup>59,61)</sup>ので、哺乳動物の基底細胞も両生類のメルケル細胞のように味蕾内情報の統合を行っている可能性がある。

### 味腔における味物質の輸送

味物質のうち、水溶性の甘味、塩味および酸味物質は単純拡散によって味細胞先端に到達すると考えられるが、脂溶性の苦味物質については担体の存在が示唆されている。この担体は、有郭・葉状乳頭の溝の底に開口しているエブネル腺から分泌される18 kdの蛋白質であるという<sup>50)</sup>。また、疎水性アミノ酸であるプロリンを多く含む蛋白がエブネル腺から分泌されることが分っている<sup>10)</sup>。

I型、II型およびIII型細胞の一端はいずれも味腔に接しているが、味物質はこれら細胞の受容膜のある先端部で作用して、従来は側底部には入らないと考えられていた<sup>29)</sup>。その理由は、これら細胞の先端部近くに閉鎖帯(tight junction)が発達しているからである<sup>4,54)</sup>。しかし、最近の研究によると、味物質はtight junctionを越えて味蕾内部にも浸透するといわれる<sup>28,52)</sup>。

### 味細胞における受容機序

視覚や聴覚では、刺激は同一の次元(dimension)に入り、視覚では電磁波の周波数の違いによって赤、黄、青などが区別され、聴覚では音波の周波数によってド、レ、ミ、ファが区別される。しかし、味覚では、甘味、塩味、苦味、酸味の4基本味(最近は旨味を加えて5基本味とする考え方が主流となりつつある)が区別されるが、この

4つの味は同一の次元には入らないので、情報変換過程もそれぞれの味質ごとに異なると考えられている。

### 1. 受容分子

一般に、糖やアミノ酸については、味細胞先端膜に存在する受容蛋白分子が受容に関与すると考えられている<sup>33)</sup>。一方、塩味、酸味および苦味物質の受容には、特定の受容蛋白分子は存在しないとする考えが一般的であり、受容膜界面電位の変化が関与するとの説とイオンチャンネルが関与するとの説がある。栗原ら<sup>1,37)</sup>は、粘菌細胞の細胞内電位が細胞膜の界面電位変化に一致して決まることから、味細胞においても味細胞先端膜の界面電位の変化によって味細胞に電流が流れ、それによってシナプス伝達物質の放出が起り、塩味および酸味の受容が起ると考えた。また、苦味の受容機序についても、苦味物質はウシ有郭乳頭から抽出した脂質単分子膜の表面張力を苦味の強さに比例して増すことから、苦味物質が受容膜を構成する磷脂質層に侵入して受容膜を固くすることによって起ると考えている<sup>36)</sup>。これに対し、単離味細胞を用いたパッチクランプ法による研究の結果は、以下に述べるごとく、塩味の受容にはアミロライド感受性 Na チャンネルが、酸味および苦味の受容には電位依存性 K チャンネルが関与することを示している。

### 2. アミロライド感受性 Na チャンネルと塩味

味蕾における受容機序にイオンチャンネルが関与することが最初に提唱されたのは、アミロライドによる塩味応答の抑制が、イヌ<sup>20,21)</sup>、ヒト<sup>49)</sup>、ラット<sup>19,24)</sup>、カエル<sup>62)</sup>、ハムスター<sup>26)</sup>、サル<sup>25)</sup>など多くの動物で見出されたことによる。アミロライド (N-amidino-3,5-diamino-6-chloropyrazine carboxamide) は、カエルの皮膚、ラットやウサギの尿細管などで見出された受動性 Na イオン輸送を可逆的に抑制する薬物で、Na および Li イオン輸送には効果があるが、K イオンの輸送には効果がない<sup>23)</sup>。アミロライド感受性の Na イオン輸送は受動的 Na チャンネルを介して行われ、この Na チャンネルはニューロンや筋細胞で活動電位を発生させる電位依存性 Na チャンネルとは異なり、電位非依存性である。味細胞先端膜にはこの電位非依存性の受動性 Na チャンネルが存在すると考えられ<sup>33)</sup>、口腔内に高濃度の食塩溶液がある

と、Na イオンがこのチャンネルを通して味細胞中に流入して味細胞を脱分極させ、味細胞を興奮させると考えられている。

味細胞先端膜にある電位非依存性の受動性 Na チャンネルは、齧歯類では Na イオン特異性が高いが、他の動物ではあまり特異性が高くなく、K イオンやプロトンなども透過させるといわれている<sup>33)</sup>。しかし、K イオンチャンネルの阻害剤である 4-aminopyridine がラットの高張塩化カリウム応答を抑制する<sup>32)</sup>ので、ヒトや哺乳動物の高張塩化カリウム溶液による味覚は、アミロライド感受性 Na チャンネル以外のイオンチャンネルが関与しているかも知れない。

### 3. 酸味および苦味と K イオンチャンネル

ニューロンや筋肉細胞が興奮する際の脱分極はイオンの透過性の増大によって起るため、膜抵抗は減少するが、味細胞の脱分極の場合味質によって膜抵抗が増大する場合と減少する場合がある。例えば、塩応答では膜抵抗は減少するが、苦味応答や酸応答などでは膜抵抗は増大する (ラット苦味応答<sup>46)</sup>；カエル Ca 応答<sup>12)</sup>；オオサンショウウオ苦味、酸味応答<sup>15)</sup>)。オオサンショウウオの研究<sup>15)</sup>によると、味細胞先端膜には Ca 依存性 (細胞内 Ca イオン濃度の上昇で開く) および ATP 依存性 (細胞内 ATP 濃度の上昇で閉じる) の 2 種類の電位依存性 K チャンネルがある。このチャンネルはともに脱分極で開くが、チャンネルを開くのに要する脱分極の大きさは前者の方が大きいので、両者は異なる K チャンネルとみなされている。苦味および酸味物質が細胞外に与えられると、両 K チャンネルは共に閉じて味細胞に脱分極性の受容器電位を発生する。なお、苦味刺激による K チャンネルの閉鎖には、IP<sub>3</sub> が関与するらしい<sup>2)</sup>。ただし、ラットではアミロライドが食塩応答と共に酸応答も抑制することから、哺乳動物の酸応答ではプロトンがアミロライド感受性 Na チャンネルを通して味細胞内に流入することによるとも考えられている<sup>33)</sup>。

### 4. 甘味の情報変換機序

甘味や旨味物質の中にはペプチドや核酸のごとき大型の分子があり、甘味や旨味物質は味細胞先端膜にある受容蛋白と結合するだけで味細胞には入らないと考えられている。Dastoli & Price (1966)<sup>16)</sup>はウシの有郭乳頭から、Hiji et al.

(1973)<sup>27)</sup>はラットから抽出した蛋白質を用いて、甘味物質によって抽出蛋白の紫外線吸光度が変化することや甘味物質とこの抽出蛋白との結合度が甘味の強さと相関があることなどを報告している。また行動学的研究から、ハムスターには8種類以上の甘味受容分子があると報告されている<sup>22)</sup>。しかし、純粋の糖受容蛋白質が得られていないため、この実験結果を疑問視する見解も少なくない<sup>14)</sup>。

甘味の情報変換機序としては、現在細胞内セカンドメッセンジャーが関与するという説と、甘味や旨味物質が直接イオンチャンネルを開閉させるという2つの説が提唱されている。第1の説は、Koyama & Kurihara (1972)<sup>36)</sup>がウシの有乳郭頭のホモジネートでアデニルシクラーゼ活性を見出したのが最初である。その後、ウサギを用いたアデニル酸シクラーゼ活性の組織化学的研究によって、われわれは味覚の情報変換機序に環状AMPが関与するのではないかではないかという示唆をしている<sup>5,43)</sup>。その後、Tonosaki & Funakoshi (1988)<sup>56)</sup>が環状AMPをマウス味細胞内に注入すると脱分極が生じることを見出されたことから、現在では一般に甘味の情報変換過程には環状AMPまたは環状GMPが関与すると考えられている。

Cummings & Kinnamon (1992)<sup>15)</sup>は、ラット茸状乳頭細胞でサッカリンが電位依存性K電流を減少させることによって脱分極させることを見出し、環状AMPはKチャンネルを閉じて味細胞に脱分極性の受容器電位を発生させると考えている。ただし、イヌでは甘味応答がアミロライドで抑制され<sup>39)</sup>、環状AMPはイヌ味細胞の甘味応答に影響しないので、Simon et al. (1989)<sup>51)</sup>は、イヌの甘味受容機序はラットやマウスの甘味受容機序と異なる機序によるのではないかと考えている。ヒトでも、食塩の添加によって甘味が強くなることは周知の事実であり、ヒトの甘味受容機序にはアミロライド感受性Naチャンネルが関与しているかも知れない。

#### 5. 旨味の情報変換機序

旨味は、アミノ酸であるグルタミン酸と核酸であるイノシン酸で生じる味覚である。前者は昆布の旨味、後者はカツオブシの旨味で、どちらも日本の科学者によって同定されたものである。最近

までは欧米では旨味を基本的味質とはみなしていなかったが、現在は旨味は基本的味質の一つとみなされているようである<sup>31)</sup>。

多くの動物でアミノ酸が味質として感受される例が知られている。例えば、サメは8種類のアミノ酸受容体を有するといわれている<sup>58)</sup>。Kalinowski et al. (1989)<sup>30)</sup>によると、このうちL-アラニンの受容過程には細胞内セカンドメッセンジャー（環状AMPおよびイノシトール3リン酸(IP<sub>3</sub>))が関与するという。一方、L-アルギニンやL-プロリンの受容はこれらアミノ酸が直接非選択性陽イオンチャンネルを開くことによるらしい<sup>55)</sup>。哺乳動物における旨味の受容機序についてはまだ十分な研究が為されていないが、グルタミン酸は後者の機序によるらしいと報告されている<sup>13)</sup>。

#### 6. カルシウム応答

カエルは通常の水道水や池の水によく応答する水受容器とよばれる味覚受容器を有するが、この受容器は水道水や池の水に含まれているカルシウムイオンを敏感に感じている<sup>44)</sup>。Avenet et al. (1988)<sup>9)</sup>は、カルシウム応答の際、電位非依存性Kチャンネルが環状AMPによって閉じることを見出している。従って、カエルでは、低濃度のカルシウムイオンが味細胞先端膜の受容分子に触れると、哺乳動物の甘味受容機序と同様に、アデニルシクラーゼが賦活されて細胞内に環状AMPが作られ、Kチャンネルが閉じて受容器電位が発生すると考えられる。

#### 味細胞の活動電位

味細胞はニューロンや筋細胞と同様に活動電位を発生することができる。最初に味細胞で活動電位を記録したのはRoper (1983)<sup>47)</sup>で、材料はオオサンショウウオの味細胞である。その後、Avenet & Lindemann (1987)<sup>8)</sup>はカエルで、Behe et al. (1990)<sup>11)</sup>はラット味細胞の活動電位を記録している。今日では、味細胞は上皮細胞と神経細胞の両者の性質を兼ね備えていて、先端膜には上皮細胞の特徴であるアミロライド感受性のNaチャンネルを有する一方、側底膜には神経や筋肉細胞の特徴である電位依存性NaおよびCaチャンネルを有すると考えられる<sup>8,11,47)</sup>。

## 受容器シナプス

味蕾細胞と神経線維との間に受容器シナプスのあることが最初に示されたのはカエルの茸状乳頭で、カテコラミンを伝達物質とするシナプス顆粒と思われる有芯小胞が味細胞側に密集しているのが観察されている<sup>57)</sup>。その後、蛍光顕微鏡による観察で、カテコラミンと思われるモノアミンの存在がカエルや哺乳動物で確かめられている<sup>17,41)</sup>。

最初に、シナプス電位と思われる局所電位を記録したのは著者である<sup>45)</sup>。カエルの舌から摘出した単一の茸状乳頭を用いて、茸状乳頭—神経標本を作って乳頭基部の神経から電位を記録すると、求心性神経インパルスに混じって時間経過の長い局所電位が記録される。ただし、この電位は神経インパルスと常に同期して発生している訳ではないので、単なるシナプス電位とは考えられず、その発生の機序はまだよく分っていない。

## おわりに

Nehe & Sackmann (1976)<sup>42)</sup>のパッチクランプ法の最初の論文を見たとき、これはすばらしい実験方法であると思った。パッチクランプ法の機器は、最初西ドイツで作られたが、この時点でパッチクランプの機器を購入して実験を始めていれば、われわれもこの総説に引用出来るような論文の1つ2つは出来たかも知れない。残念ながらその時点では無理をしてまでそれら機器を購入する勇気がなかった。その後、日本のメーカーでもパッチクランプ用の機器が作られるようになり、パッチクランプの技法もドイツやアメリカで習熟した人達が帰国して普及したため、最近では日本国内でも広く行われるようになった。

味細胞のパッチクランプ法による研究が、米国のコロラド州立大学とその付属研究所で発展したのは、オオサンショウウオを実験材料として用いたことによるところが大きいと思われる。イモリやサンショウウオの類（両生類有尾目）は細胞が大きいという特徴があり、細胞学や発生学の研究に古くから広く用いられてきた。味細胞も大きく使いやすかったものと思われる。神経線維の活動電位の解析にイカの巨大神経線維が貢献したことはあまりにも有名であるが、それぞれの研究に適切な材料を選ぶことは研究を発展させる上で重要

なことである。

## References

- 1) Aiuchi, A., Kamo, N., Kurihara, K. and Kobatake, Y. (1976) Physicochemical studies of taste reception IV: Interpretation of anion influences on taste response. *Chemical Senses and Flavor*, **2**: 107—119.
- 2) Akabas, M. H., Dodd, J. and Al-Awqati, Q. (1988) A bitter substance induces a rise in intracellular calcium in a subpopulation of rat taste cells. *Science*, **242**: 1047—1050.
- 3) Akabas, M., Dodd, J. and Al-Awqati, Q. (1990) Identification of electrophysiologically distinct subpopulations of rat taste cells. *J. Membrane Biol.* **114**: 71—78.
- 4) Akisaka, T. and Oda, M. (1978) Taste buds in the vallate papillae of the rat studied with freeze-fracture preparation. *Arch. histol. Jap.* **41**: 87—98.
- 5) Asanuma, N. and Nomura, H. (1982) Histochemical localization of adenylate cyclase and phosphodiesterase activities in the foliate papillae of the rabbit. II. Electron microscopic observations. *Chemical Senses*, **7**: 1—9.
- 6) Avenet, P. (1992) Role of amiloride-sensitive sodium channels. *In* *Sensory Transduction*, 272—279. Rockefeller University Press, New York.
- 7) Avenet, P. and Lindemann, B. (1986) Patch-clamp experiments with isolated chemosensory cells of the frog's taste bud. *Pflügers Arch.* **406**: R19.
- 8) Avenet, P. and Lindemann, B. (1987) Action potentials in epithelial taste receptor cells induced by mucosal calcium. *J. Membr. Biol.* **95**: 265—269.
- 9) Avenet, P., Hoffmann, F. and Lindemann, B. (1988) Transduction in taste receptor cells requires cAMP-dependent protein kinase. *Nature*, **331**: 351—354.
- 10) Azen, E. A., Lush, I. E., and Taylor, B. A. (1986) Close linkage of mouse genes for salivary proline-rich proteins (PRPs) and taste. *Trends Genet.* **2**: 199—200.
- 11) Behe, P., DeSimone, J. A., Avenet, P. and Lindemann, B. (1990) Membrane currents in taste cells of the rat fungiform papilla: Evidence for two types of Ca currents and inhibition of K currents by saccharin. *J. Gen. Physiol.* **96**: 1061—1084.
- 12) Bigiani, A. R. and Roper, S. D. (1991) Mediation of responses to calcium in taste cells by modu-

- lation of a potassium conductance. *Science*, **252**: 126–128.
- 13) Brand, J. G., Teeter, J. H., Kumazawa, T., Huque, T. and Baylay, D. L. (1991) Transduction mechanisms for the taste of amino acids. *Physiology and Behavior*, **49**: 899–904.
  - 14) Cagan, R. H. (1981) Recognition of taste stimuli at the initial binding interaction. *In* *Biochemistry of Taste and Olfaction*, Cagan, R. H. and Kare, M. R. (editors), 1st ed., 175–203. Academic Press, New York.
  - 15) Cummings, T. A. and Kinnamon, S. C. (1992) Apical  $K^+$  channels in *Necturus* taste cells: Modulation by intracellular factors and taste stimuli. *J. Gen. Physiol.* **99**: 591–613.
  - 16) Dastoli, F. R. and Price, S. (1966) Sweet-sensitive protein from bovine taste buds: Isolation and assay. *Science*, **154**: 905–907.
  - 17) DeHan, R. S. and Graziadei, P. (1973) The innervation of frog's taste organ "A histochemical study". *Life Sci.* **13**: 1435–1449.
  - 18) Delay, R. J., Kinnamon, J. C. and Roper, S. D. (1986) Ultrastructure of mouse vallate taste buds II. Cell types and cell lineage. *J. Comp. Neurol.* **253**: 242–252.
  - 19) DeSimone, J. A. and Ferrell, F. (1985) Analysis of amiloride inhibition of chorda tympani taste response of rat to NaCl. *Am. J. Physiol.* **249**: R52–R61.
  - 20) DeSimone, J. A., Heck, G. L. and DeSimone, S. K. (1981) Active ion transport in dog tongue: a possible role in taste. *Science*, **214**: 1039–1041.
  - 21) DeSimone, J. A., Heck, G. L., Mieson, S. and DeSimone, S. K. (1984) The active ion transport properties of canine lingual epithelia in vitro. Implication for gustatory transduction. *J. Gen. Physiol.* **83**: 633–656.
  - 22) Faurion, A. and Vayssettes-Courchay, C. (1990) Taste as a highly discriminative system: a hamster single unit study with 18 compounds. *Brain Res.* **512**: 317–332.
  - 23) Garty, H. and Benos, D. J. (1988) Characteristics and regulatory mechanisms of the amiloride-blockable  $Na^+$  channel. *Physiol. Rev.* **68**: 309–373.
  - 24) Heck, G. L., Mieson, S. and DeSimone, J. A. (1984) Salt taste transduction occurs through an amiloride-sensitive sodium transport pathway. *Science*, **223**: 403–405.
  - 25) Hellekant, G., DuBois, G. E., Roberts, T. W. and Van der Wel, H. (1988) On the gustatory effect of amiloride in the monkey (*Macaca mulatta*). *Chemical Senses*, **13**: 98–93.
  - 26) Herness, M. S. (1987) Effect of amiloride on bulk flow and iontophoretic taste stimuli in the hamster. *J. Comp. Physiol. A* **160**: 281–288.
  - 27) Hiji, Y. and Sato, M. (1973) Isolation of the sugar-binding protein from rat taste buds. *Nature New Biology*, **244**: 91–93.
  - 28) Holland, V. F., Zampighi, G. A. and Simon, S. A. (1991) Tight junctions in taste buds: Possible role in perception of intravascular gustatory stimuli. *Chemical Senses*, **16**: 69–80.
  - 29) Jahnke, K. and Baur, P. (1979) Freeze-fracture study of taste bud pores in the foliate papillae of the rabbit. *Cell Tissues Res.* **200**: 245–256.
  - 30) Kalinoski, E. L., Huque, T. and LaMorte, V. J. (1989) Second-messenger events in taste. *In* *Chemical Senses, Vol. I: Receptor Events and Transduction in Taste and Olfaction*, ed. J. G. Brand, J. H. Teeter, R. H. Cagan, M. R. Kare. 85–101. Dekker, New York.
  - 31) Kawamura, Y. and Kare, M. R. (editors) (1987) *Umami: A Basic Taste*, 1st ed. Marcel Dekker, New York.
  - 32) Kim, M. and Mistretta, C. M. (1986) 4-aminopyridine depresses KCl taste responses recorded from rat chorda tympani nerve. *Society of Neuroscience, Abstract*, **12**: 1351.
  - 33) Kinnamon, S. C. and Cummings, T. A. (1992) Chemosensory transduction mechanisms in taste. *Annu. Rev. Physiol.* **54**: 715–731.
  - 34) Kinnamon, S. C. and Roper, S. D. (1986) Whole cell currents in isolated taste receptor cells of the mudpuppy. *Chemical Senses*, **11**: 623–624.
  - 35) Kinnamon, J. C., Sherman, T. A. and Roper, S. D. (1988) Ultrastructure of mouse vallate taste buds: III. Patterns of synaptic connectivity. *J. Comp. Neurol.* **270**: 1–10.
  - 36) Koyama, N. and Kurihara, K. (1972) Mechanism of bitter taste reception: Interaction of bitter compounds with monolayers of lipids from bovine circumvallate papillae. *Biochim. Biophys. Acta*, **288**: 22–26.
  - 37) Kurihara, K., Kamo, N. and Kobatake, Y. (1978) Transduction mechanism in chemoreception. *Adv. Biophys.* **10**: 27–95.
  - 38) Kurihara, K. and Koyama, N. (1972) High activity of adenyl cyclase in olfactory and gustatory organs. *Biochim. Biophys. Acta*, **288**: 22–23.
  - 39) Mieson, S., DeSimone, S. K., Heck, G. L. and DeSimone, J. A. (1988) Sugar activated ion transport in canine lingual epithelium. *J. Gen.*

Physiol. 92: 87—111.

- 40) Murray, R. G. (1986) The mammalian taste bud type III cell: A critical analysis. *J. Ultrastruct. Molec. Struct. Res.* 95: 175—188.
- 41) Nada, O. and Hirata, K. (1975) The occurrence of the cell type containing a specific monoamine in the taste bud of the rabbit's foliate papilla. *Histochemistry*, 43: 237—240.
- 42) Neher, E. and Sakmann, B. (1976) Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibers. *Nature*, 260: 799—802.
- 43) Nomura, H. (1978) Histochemical localization of adenylate cyclase and phosphodiesterase activities in the foliate papillae of the rabbit. I. Light microscopic observations. *Chemical Senses and Flavour*, 3: 319—324.
- 44) Nomura, H. and Sakada, S. (1965) On the "water response" of frog's tongue. *Jpn. J. Physiol.* 15: 433—443.
- 45) Nomura, H. and Sakada, S. (1969) Local potential changes at sensory nerve fiber terminals of the frog tongue. *Olfaction and Taste*, 3: 345—351.
- 46) Ozeki, M. (1971) Conductance change associated with receptor potentials of gustatory cells in rat. *J. Gen. Physiol.* 58: 688—699.
- 47) Roper, S. (1983) Regenerative impulses in taste cells. *Science*, 220: 1311—1312.
- 48) Roper, S. (1989) The cell biology of vertebrate taste receptors. *Annu. Rev. Neurosci.* 12: 329—353.
- 49) Schiffman, S. S., Lockhead, E. and Maes, F. W. (1983) Amiloride reduces the taste intensity of Na<sup>+</sup> and Li<sup>+</sup> salts and sweeteners. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 80: 6136—6140.
- 50) Schmale, H., Holtgreve-Grez, H. and Christiansen, H. (1990) Possible role for salivary gland protein in taste reception indicated by homology to lipophilic ligand carrier proteins. *Nature*, 343: 366—369.
- 51) Simon, S. A., Labarca, P. and Robb, R. (1989) Activation by saccharides of a cation-selective pathway on canine lingual epithelium. *Am. J. Physiol.* 256: R394—402.
- 52) Simon, S. A. and Verburgge, J. (1990) Transport pathways in canine lingual epithelium involved in sweet taste. *Chemical Senses*, 15: 1—26.
- 53) Spielman, A. I., Mody, I., Brand, J. G., Whitney, G., MacDonald, J. F. and Salter, M. W. (1989) A method for isolating and patch-clamping single mammalian taste receptor cells. *Brain. Res.* 503: 326—329.
- 54) Staehelin, L. A. (1973) Further observations on the fine structure of freeze-cleaved tight junctions. *J. Cell Sci.* 13: 765—786.
- 55) Teeter, J. H., Brand, J. G. and Kumazawa, T. (1990) A Stimulus-activated conductance in isolated taste epithelial membranes. *Biophys. J.* 58: 253—259.
- 56) Tonosaki, K. and Funakoshi, M. (1988) Cyclic nucleotides may mediate taste transduction. *Nature*, 331: 354—356.
- 57) 宇賀茂三 (1966) カエル味覚器におけるシナプス. *細胞化学シンポジウム*, 16: 75—85.
- 58) Wegert, S. and Caprio, J. (1991) Receptor sites for amino acids in the facial taste system of the channel catfish. *J. Comp. Physiol.* 168A: 201—211.
- 59) West, C. H. and Bernard, R. A. (1978) Intracellular characteristics and responses of taste bud and lingual cells of the mudpuppy. *J. Gen. Physiol.* 72: 305—326.
- 60) Whitear, M. (1976) Apical secretion from taste bud and other epithelial cells in amphibians. *Cell Tiss. Res.* 172: 389—404.
- 61) Yong, J. and Roper, S. D. (1987) Dye-coupling in taste buds in the mudpuppy *Necturus maculosus*. *J. Neurosci.* 7: 3561—3565.
- 62) Yoshii, K., Kiyomoto, Y. and Kurihara, K. (1986) Taste receptor mechanism of salts in frog and rat. *Comp. Biochem. Physiol.* 85A: 501—505.