

ニオイと味の計測およびその受容機構

Evaluation of smell and taste and their receptor mechanisms

代表研究者	北海道大学薬学部教授 Prof., Fac. of Pharmaceutical Sci., Hokkaido Univ. Kenzo KURIHARA	栗原 堅 三
協同研究者	北海道大学薬学部助教授 Assoc. Prof., Fac. of Pharmaceutical Sci., Hokkaido Univ. Michihisa MIYAKE	三宅 教 尚
	北海道大学薬学部助手 Assist., Fac. of Pharmaceutical Sci., Hokkaido Univ. Kiyonori YOSHII	吉井 清 哲
	北海道大学薬学部助手 Assist., Fac. of Pharmaceutical Sci., Hokkaido Univ. Ichiro MATSUOKA	松 岡 一 郎
	北海道大学薬学部教務職員 Stuff, Fac. of Pharmaceutical Sci., Hokkaido Univ. Makoto KASHIWAYANAGI	柏 柳 誠
	横浜国立大学教育学部教授 Prof., Fac. of Educ., Yokohama National Univ. Yoshie KURIHARA	栗原 良 枝

The present study purposed to establish a method to evaluate of smell and taste and to elucidate their receptor mechanisms. The results obtained in the present study are as follows.

1. Responses to odorants are seen not only in the olfactory system, but also in such nonolfactory systems such as neuroblastoma and liposomes. The latter systems have no specific receptor proteins for odorants. Changes in lipid composition of liposomes lead to changes in specificity of the liposomes to odorants. Based on these results, mechanism of odor discrimination in olfactory system was proposed. The membrane composition of each olfactory cell is postulated to be different. Different odorants will produce different response profiles in each olfactory cell with odor quality encoded in this response profile.

2. The method to evaluate difference in quality of odor between two odorants was established by application of cross adaptation method to the turtle olfactory system. It was concluded that there were many independent receptor sites for different odorants and the olfactory system discriminates quality of odor of multifarious odorants.

3. The fact that turtle olfactory responses are independent of ion concentrations on the olfactory epithelium and the fact that a large olfactory response appeared after complete elimination of carp olfactory cilia suggested that ionic permeability changes at the apical membrane of olfactory cells, including ciliary membranes, do not contribute to the olfactory receptor potentials.

4. Characteristic of receptor sites for taste stimuli were elucidated. Sweet substances and amino acids are recognized by specific receptor proteins on taste receptor membranes, while the basic lipid-protein structure of membrane is involved in receptor of salts, acids, and bitter substances.

5. Two substances (gymnemic acid and ziziphin) which selectively suppress sweet taste

were purified and their chemical structures were determined. Two proteins (miraculin and curculin) which modify a sour taste into a sweet taste were purified and their primary structures were determined.

6. Receptor mechanisms of umami substances and synergism between monosodium glutamate (MSG) and 5'-guanylate (GMP) were elucidated. It was concluded that umami taste is one of the primary taste. The synergism was explained in term of allosteric model where the receptor protein for umami substances has two binding sites, one for MSG and another for GMP.

7. Effects of changed ionic environment on taste nerve responses were examined. It was concluded that permeability of the taste receptor membrane to ions does not contribute to the taste receptor potential induced by most taste stimuli. Stimulus-induced changes in phase boundary potential lead to depolarization of the apical membrane of taste cells.

研究目的

我々の外部環境には、様々な化学物質が存在する。これらの化学物質はニオイや味の感覚として検知される。このように、ニオイと味は外部環境に存在する化学物質の検知器として重要な役割を果たしている。したがって、生体においてニオイや味がどの様な仕組みで検知されているかを解明することは、極めて重要である。一方、ニオイや味をヒトの感覚で評価する場合、個人差や感覚疲労の問題があり、正確な評価が困難である。

本研究においては、動物に電気生理学的手法を適用することによりニオイや味を正確に計測し、ニオイと味の定量的な評価を行うとともに、ニオイや味の受容機構を分子レベルで明らかにする。

研究経過

本研究グループは、従来からにおいと味のメカニズムの研究を行ってきた。本研究助成金がいただけることになり、研究の焦点を上記のテーマにしばって精力的に研究を行った。それでも、研究スタート1年目は思ったより研究の進展が遅く、当初の目標が達成されるかどうかの危惧を抱いた。2年目、3年目には、研究は飛躍的に進展し、当初の目標以上の研究成果が得られた。何としても有難かったのは、研究助成金が3年間継続したことである。通常研究助成金は1年間で切れてしまうので、1年間でまとまるような手堅な研究テーマを選んでしまう。今回は助成金を3年間頂いたおかげで、じっくりと腰を落ち着けて研究ができた感がする。

研究成果

1. 脂質2分子膜によるニオイのセンシング

においの受容蛋白質を単離しようとする試みが多くなされてきたが、現在まで一般的に認められているような受容蛋白質は単離されていない。におい物質の数は膨大にあり、しかもこれらにおいては多種多様である。もしそれぞれのにおいが特異的な受容蛋白質を介して受容されているとすると、嗅細胞は膨大な受容蛋白質を用意しなければならない。果して、嗅細胞は、それぞれのにおいに応じた多数の受容蛋白質を用意しているのであろうか。

筆者らのグループをはじめいくつかのグループは、いろいろな細胞がにおいに応答することを見いだした。たとえば、カタツムリの巨大神経、ハエやカエルの味細胞、粘菌、テトラヒメナなどが各種のにおいに応答することが見いだされた。1984年、我々は神経芽細胞腫(N-18クローン)が各種のにおいに対し膜電位変化を示すことを見いだした。この細胞に外から脂質を添加して脂質組成を変化させると、各種のにおいに対する応答特異性が変化したことから、におい受容に脂質が重要な役割を果たしていることが指摘された。

1987年我々は、アズレクテン(大豆リン脂質)で作製したリポソームが、各種のにおいに対し膜電位変化を示すことを見いだした。ただし、このリポソームの応答感度は、動物の嗅覚器の感度には及ばなかった。

本研究において我々は、脂質組成の異なるリポソームを多数作製し、においに高感度で応答する

リポソームを作製した。フォスファチジルコリン(PC)にいろいろな割合でフォスファチジルセリン(PS)を添加したリポソームを作製し、におい物質に対する膜電位変化を測定した。PSの割合を増やすと、アミルアセテートに低濃度から応答するようになった。カエルおよびカメのアミルアセテートに対する嗅覚閾値は、それぞれ 10^{-4}M および 10^{-8}M である。PCにPSが20%含まれるリポソームは、アミルアセテートに 10^{-10}M から応答し始めるので、動物の嗅覚器よりむしろ高感度である。用いたリポソーム濃度から計算すると、1個のリポソームに平均1個のアミルアセテートが吸着すると膜電位変化が起こる勘定になる。

2. においの質を定量的に評価する方法の確立

我々は、鼻でにおいをかぐことにより、いろいろなにおいの違いを区別することができる。しかしながら、このような方法では、においの質の違いを正確に評価することは困難である。本研究において我々は、動物(カメ)の嗅覚応答(嗅球応答)を測定することにより、動物がどのようなにおいを識別しているかを定量的に調べる方法を確立した。

一般に、におい応答は刺激直後に最大値を示し、刺激を続けているにもかかわらず、すぐに消失してしまう。これは、においによる感覚の“なれ”あるいは脱感作と呼ばれる現象である。例えば、*l*-メントールの応答が消失した後、*d*-メントールを与えても応答は現れない。これに対し、*l*-メントールの後にアミルアセテートを与えると、応答は全く抑制されることなく現れる。以上の結果は、カメが*l*-メントールと*d*-メントールを識別しないが、*l*-メントールとアミルアセテートを完全に独立のにおいとして識別していることを意味している。においの組合せによっては、単独で与えたときの応答に比べて一部抑制した応答が現れる。このような方法(交差順応法)で得られた結果を解析することにより、動物がどのにおいをどの程度識別しているかを定量的に知ることができる。

次にリポソームにおけるにおいの識別を検討し

た。PC単独およびPS/PC=0.1のリポソームは、シトラルに応答するが、PS/PC=0.05およびPS/PC=0.2のリポソームは、シトラルに応答しない。アミルアセテートに対する応答は、PS/PC=0.2のリポソームが最も大きい。このように脂質組成が変化すると、においの応答特異性が大きく変化する。またリポソームに赤血球の膜蛋白質やコンカナバリンAを添加した場合も、においに対する応答特異性はさらに大きく変化した。

以上の結果をもとに、我々はおいの識別機構に対し次のような説を提唱している。におい物質は、生体膜中の疎水性部位に吸着する。疎水性部位には、生体膜中の脂質層と蛋白質(この蛋白質はあるにおいに対する特異的蛋白質を意味するのではない)の疎水性ポケットが含まれる。嗅上皮には、膨大な数の嗅細胞が存在するが、これら嗅細胞の細胞膜組成は少しずつ違っていると仮定する。上のリポソームの実験結果から推測されるように、各嗅細胞はいろいろなにおいに対し異なった応答特異性を示す。嗅細胞での膜電位変化の大きさは、嗅神経においてインパルス頻度に変換される。各神経は異なったにおいに対し異なった応答を示すので、神経束全体での応答パターンはにおい物質ごとに異なる。各においに特徴的な応答パターンは、脳により情報処理され、各においが識別される。

3. 嗅線毛のイオンチャネルは嗅覚受容に関与するか

近年ランセット(D. Lancet)らは、嗅覚受容にcAMPが関与しているとの説を提唱した。すなわち、におい分子が嗅線毛膜に存在する受容蛋白質に結合すると、GTP結合蛋白質を介してアデニレートシクラーゼが活性化される。これにより生成したcAMPは、嗅線毛膜に存在する陽イオンチャネルに直接作用しこれを開く。陽イオンがこのチャネルを介して、嗅線毛外液から嗅線毛内に流入すると脱分極が起こる。この脱分極は、嗅細胞の細胞体の伝わり、軸索小丘からインパルスが発生する。

一方、上記の説だけでは説明できない現象も多く報告されている。エール大学のラーナー(M. R.

Lerner) らは、アフリカツメガエルの皮膚に存在する色素細胞のアデニレートシクラーゼが、各種のにおい物質により活性化されることを見いだした。色素細胞のアデニレートシクラーゼを活性化する各におい物質濃度は、カエル嗅線毛のアデニレートシクラーゼを活性化するにおい物質濃度とほぼ同じであった。色素細胞は嗅細胞とは無縁の細胞であるから、においに対し特異的受容蛋白質を持っている筈がない。したがって、上記の実験は、におい物質によるアデニレートシクラーゼの活性化は、特別な受容蛋白質を介さなくても（おそらく生体膜の疎水の物質におい物質が吸着することにより）、起こることを示している。

本研究において我々は、コイの嗅上皮を 10% エタノール溶液と高濃度の CaCl_2 溶液で処理して、嗅線毛を根元から完全に除去した。この状態で嗅上皮にアミノ酸（アミノ酸は魚の嗅覚器の強力な刺激物質である）を与え、嗅線毛除去前後の嗅覚応答を比較した。この結果、嗅線毛の除去により嗅覚応答はほとんど変化しなかった。このことは、少なくともコイの場合は、嗅線毛におい受容に直接的には関与していないことを示唆した。

嗅線毛膜の陽イオンチャンネルが嗅覚応答に寄与しているとすれば、嗅上皮の表面液（嗅線毛の周辺はこの液に囲まれている）から陽イオンを取り除くと、嗅覚応答は消失する筈である。我々は、カメの嗅上皮を塩を含まない液で灌流し、嗅覚応答に対する影響を調べた。この結果、いろいろなにおい物質に対する嗅覚応答の大きさは、嗅上皮を塩を含まない液で灌流しても塩が存在するときとほとんど同じであった。このことは、嗅線毛に存在する陽イオンチャンネルは嗅覚応答発現に寄与していないことを示している。

それでは、嗅受容器電位はどのような機構で発生するのであろうか。現在のところ、どのような機構で嗅受容器電位が発生するかは不明であり、今後の研究で明らかにされるであろう。

4. 味受容サイトの特性

においを原香(臭)に分類するのは困難であるが、味は一般に塩味、酸味、苦味、甘味、うま味

の基本味に分類されている。カエルやラットの舌を蛋白質酵素で処理すると、塩、酸、苦味物質に対する味神経応答は影響を受けないが、糖やアミノ酸に対する応答は消失する。このことは、糖やアミノ酸に対する受容体が蛋白質であることを示唆している。

一方、各種の味物質のうち、塩、酸、苦味物質は嗅細胞や神経芽細胞腫のような味細胞以外の細胞にも応答を引き起こす。これに対し、甘味物質は受容蛋白質を有する味細胞のみしか応答を引き起こさない。また各種のアミノ酸も、受容蛋白質を有する細胞（味細胞および水生動物の嗅細胞）のみにしか応答を引き起こさない。以上のことから、甘味物質やアミノ酸は特異的蛋白質を介して受容され、塩、酸、苦味物質の受容には生体膜の基本構造そのものが関与しているものと我々は推定している。

5. 甘味抑制物質

最近、我々のグループの栗原良枝らは、甘味のみを選択的に抑制する 2 種の物質の構造を決定した。甘味抑制物質の一つは、インド産の植物の葉に存在するギムネマ酸であり、もう一つはナツメの葉に存在するジジフィンである。両者のうち、ジジフィンはより選択的に甘味のみを抑制する。ジジフィンは、糖をはじめ各種の人工甘味剤の甘味をすべて抑制する。先に述べたように、甘味受容体は複数存在するが、これらの甘味受容体には、ジジフィンで抑制される共通の構造が存在するものと考えられる。

6. 味覚修飾蛋白質

味覚機能を修飾する 2 種の蛋白質が知られている。一つは、西アフリカ原産の植物の実の成分で、ミラクリンと呼ばれる蛋白質である。この蛋白質自体は味が無いが、これを口に入れてからすっぱいものを味わうと非常に甘くなる。例えば、レモンは甘いオレンジのような味になる。本研究グループの栗原良枝らは、ミラクリンを完全精製し、その全構造を決定した。これによると、ミラクリンは 191 個のアミノ酸からなる一本鎖のポリペプチドである。約 14% の糖を含み、分子量は 24,600 である。面白いことに、ミラクリ

ンは大豆トリブシンインヒビターと高い相同性を有するアミノ酸配列を有する。

東南アジア原産の植物の果実の成分であるクルクリンも、すっぱいものを甘くする作用を有する。本研究において栗原良枝らは、クルクリンを完全精製し、その構造を決定した。これによると、クルクリンは12,000のポリペプチドの2量体であり、糖を含まない。ミラクリンと違って、クルクリンはそれ自身甘味を有する。しばらく口に含んでいると甘味が消失するが、水を味わうとふたたび甘味を感じる。酸を口に含むと、さらに強い甘味が誘導される。

ミラクリンとクルクリンの作用機構は、次のように説明される。ミラクリンは味細胞に強く結合するが、酸のない状態ではその活性中心は甘味受容サイトに結合できない。酸が舌に与えられると、味細胞膜のコンフォメーションが変化し、ミラクリンの活性中心が甘味受容サイトと結合する。この結果、強い甘味が誘導される。ミラクリンは味細胞に強く結合するので、舌を水でゆすいでもはずれない。したがって、酸を味わうと何度でも甘味が誘導される。

クルクリンは、ミラクリンと同様に味細胞膜に強く結合する。ミラクリンと異なり、酸のない状態でも活性中心は甘味受容サイトと結合し甘味を誘導する。口に含んでからしばらくすると、唾液中のカルシウムやマグネシウムイオンの作用により、クルクリンの活性中心が甘味受容サイトに結合できなくなり、甘味が消失する。水を含むと唾液が洗い流され2価陽イオンが除かれるので、クルクリンの活性中心は再び甘味受容サイトに結合できるようになり、甘味が誘導される。酸が舌に与えられると、ミラクリンと同様に、クルクリンの活性中心は甘味受容サイトとさらに強く結合するようになり、強い甘味が誘導される。

7. うま味の受容機構

うま味物質の代表的なものは、コンブのうま味成分のグルタミン酸ナトリウム (MSG), かつおぶしのうま味成分の5'-イノシン酸 (IMP), しいたけのうま味成分の5'-グアニル酸 (GMP) である。MSG とヌクレオチド (IMP または GMP) を混合

すると、うま味が著しく増強される。

うま味に関する電気生理学的実験は、いろいろなグループにより行われてきた。MSG, GMP, IMP などは塩の形 (例えばナトリウム塩) でうま味を発現するので、うま味物質を動物の舌に与えたときに味神経に生じる応答が、うま味応答なのか塩応答なのかを区別することが困難であった。本研究において我々は、うま味物質に対するイヌの味神経応答を測定した。後に述べるようにアミロライドという薬物は、イヌの塩応答を選択的に抑制する。MSG と GMP の混合物により発現する大きなうま味応答は、アミロライドにより影響を受けなかったことから、うま味応答は塩応答とは独立の応答であることを明らかにした。

MSG とヌクレオチドの相乗作用は、動物の味覚器でも観測される。我々は、イヌの味覚器はMSG とヌクレオチドの間に大きな相乗作用を示すことを見いだした。例えば、MSG にわずか0.2 mM という低濃度のGMPの共存により、イヌ味神経応答は顕著に増大する。MSG はGMP やIMP との間のみで大きな相乗作用を示し、他の基本味物質とは相乗作用を示さないことも観測された。以上の結果から、我々は、次のような相乗作用の機構を提唱している。味細胞膜には、MSG とヌクレオチドが結合する二つのサイトを有するうま味受容蛋白質が存在する。一方のサイトにリガンドが結合すると他方の親和性が増大し、これにより相乗作用が発現する。

8. 塩による味細胞の電位変化

1984年、バージニア大学のディサイモン (J. A. DeSimone) らは、切り出したイヌ舌上皮をNaClで刺激したときに上皮を横切って流れる電流 (I_s) (彼らはこの電流は味受容器電位を反映するものと考えた) が、アミロライドで選択的に抑制されることを見いだした。また、アミロライドは、ラットのNaClに対する味応答をかなり選択的に抑制した。アミロライドは、もともと上皮や腎臓におけるある種のNaチャンネルの阻害剤として知られているので、彼らは「NaClに対する味応答は、 Na^+ が味受容膜のNaチャンネルを介して味細胞内に流入することにより発現する」との説を提

唱した。

本研究において我々は、イヌの味神経応答に対するアミロライドの効果を直接調べ、アミロライドはNaClの応答のみならずNH₄ClやKClのような一価陽イオンの塩応答をも同じように抑制することを見いだした。したがって、I₅の測定結果を基礎に提出されたディサイモンらの説はその根拠を失ったことになる。

ラットの味覚器は、一価陽イオンの塩のみならずLaCl₃やCaCl₂にも応答する。同じ濃度のこれらの塩を与えたときの味応答の大きさの順序は、LaCl₃>CaCl₂>NaClであった。すなわち、イオン半径が大きくて膜を透過しにくい陽イオンほど、むしろ大きな応答を与えた。またラットの味覚器は、コリンやトリスのような大きな分子量を有する有機陽イオンの塩にも応答した。以上のことは、ラットの塩応答は陽イオンがイオンチャネルを透過するために起きるのではなく、塩の吸着によって起こる可能性を示唆した。

9. 味応答に対する共存塩の効果

塩以外の味物質の応答発現にも、受容膜のイオン透過が関与している可能性が指摘されている。もしこの考えが正しいなら、舌上の塩濃度を増加させるチャネルを透過すべきイオン濃度が増加するので、味応答が増大する筈である。

本研究において我々は、舌上に与えた塩が他の味物質の応答に及ぼす影響を調べた。第1のタイプは、塩濃度を変化させても味神経応答は全く影響を受けない。ラットの糖応答、ウナギのアミノ酸応答、多くの動物の苦味応答がこれに属する。第2のタイプは、低濃度の塩では応答が増強され、高濃度の塩で抑制される。イヌの糖応答がこれに属する。第3のタイプは、塩濃度の増加により抑制されるタイプで、カエルのアミノ酸応答、カエルの糖応答、多くの動物の水応答（通常味細胞は塩を含む唾液に覆われているが、この状態で塩を含まない溶液を与えると、味細胞は脱分極し、味神経に応答が生じる）がこれに属する。いろいろな塩による応答抑制曲線は、イオン強度を横軸にとると一本の曲線に重なる。第2のタイプに分類した高濃度領域におけるイヌの糖応答は、

第3のタイプといえる。

気1のタイプは、味応答が塩濃度変化に影響を受けないので、受容膜のイオン透過性は味受容器電位に寄与しないことを示している。第2のタイプは、塩の低濃度領域で味応答が増強するので一見イオン透過性が受容器電位発生に寄与しているようにみえる。しかしながら、イヌの場合は、Naイオンのみならず、コリンやトリスイオンのような膜を透過しない大きな分子量を有する陽イオンも同じような増強効果を示すので、塩の効果は陽イオンの透過では説明できない。第3のタイプは、塩濃度の増加により味応答が抑制されるので、イオン透過では全く説明できない。

10. 味受容器電位に対する界面電位の寄与

一般に、生体膜表面には負荷電が存在するので、溶液の陽イオンはこれに引きつけられ電気2重層を形成している。このため、膜表面と溶液との間には電位差が存在する。この電位差を電気2重層電位または表面電位と呼ぶ。また、膜内には双極子が存在し、膜表面と膜層内で電位差が存在する。この電位差を“boundary potential”と呼ぶ。表面電位と“boundary potential”を合わせて界面電位と総称する。表面電位は、外液のイオン強度が増加すると抑制される性質があるのに対し、“boundary potential”は膜層内の電位であり、イオン強度に影響されない。膜電位はもともと、膜を隔てた両液間の電位差として定義されている。したがって、膜電位は膜の両側における界面電位と膜内のイオンの拡散電位（イオンが透過することにより発生する電位）の3成分から構成されている。

我々は、味受容器電位は界面電位変化で発現するとの説を提唱している。塩や酸は、味受容膜の表面に結合し表面電位を変化させる。先に示した第3のタイプであるアミノ酸、糖、水に対する応答も表面電位変化により発現するので、イオン強度の増加により抑制されるものと考えられる。第1のタイプは、“boundary potential”の変化で発現するので、イオン強度の影響を受けない。

今後の課題と発展

1. 本研究では、においの質を定量的に評価す

る方法を確立した。この方法を用いて、各種のにおいの質を定量的に評価し、においの構造-相関に関する研究を系統的行う。

2. 脂質 2 分子膜が、各種のにおい到高感度で応答することを見いだしたので、これを基礎に各種のにおい到高感度で検知・識別する人工膜センサーを開発する。

3. すっぱいものを甘くする 2 種の蛋白質の精製法を確立したので、この蛋白質を低カロリーの安全な甘味剤として応用する研究をはじめ。

4. 嗅細胞および味細胞において、受容膜を介するイオン透過は受容器電位発現に寄与しないことが示唆された。今後受容器電位がどのような機構で発現するかを明らかにする必要がある。

発表論文

K. Kurihara (1990): Molecular mechanisms of reception and transduction in olfaction and taste. *Jpn. J. Physiol.*, **40**, 305-324.

T. Kumazawa and K. Kurihara (1990): Large synergism between monosodium glutamate and 5'-nucleotides in canine taste nerve responses. *Am. J. Physiol.*, **259**, R420-R426.

M. Nakamura and K. Kurihara (1990): Non-specific inhibition by amiloride of canine chorda tympani nerve responses to various salts: Do Na⁺-specific channels exist in canine taste receptor membranes? *Brain Res.*, **524**, 42-48.

T. Kumazawa and K. Kurihara (1990): Large enhancement of canine taste responses to sugars by salts. *J. Gen. Physiol.*, **95**, 1007-1018.

M. Sugawara, M. Kashiwayanagi and K. Kurihara (1990). Water response of frog olfactory system is induced by a decrease in osmotic pressure. *Brain Res.*, **510**, 326-328.

栗原堅三 (1990): "味覚・嗅覚" 化学同人。

栗原堅三 (1990): "味覚受容機構", 蛋白質核酸酵素, **35**, 1075-1084.

栗原堅三 (1990): "においと味のメカニズム", サイエンス, **1**, 58-69.

K. Kurihara, M. Kashiwayanagi and K. Yoshii (1989): Discrimination of chemical stimuli by specific and nonspecific receptors and their transduction mechanisms. in "Physiology and Pharmacology of Transmembrane Signalling", ed. by T. Segawa, M. Emdo, M. Ui and K. Kurihara, Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdam, pp. 363-377.

T. Nomura and K. Kurihara (1989): Similarity of ion dependence of odorant responses between

lipid bilayer and olfactory system. *Biochem. Biophys. Acta*, **1005**, 260-264.

K. Kurihara, M. Kashiwayanagi, K. Yoshii and Y. Kurihara (1989): Molecular mechanisms of taste and odor reception. *Comments Agric. & Food Chemistry*, **2**, 1-50.

K. Yoshii and K. Kurihara (1989): Inward rectifier produced by *Xenopus oocytes* injected with mRNA extracted from carp olfactory epithelium. *Synapse*, **3**, 234-238.

K. Kurihara, M. Kashiwayanagi, T. Nomura, K. Yoshii and T. Kumazawa (1989): Chemical stimulus discrimination by specific and non-specific receptor mechanisms and their transduction sequences. in "Chemical Senses", ed. by J. Brand *et al.*, Marcel Dekker Inc., New York, pp. 55-84.

M. Sugawara, M. Kashiwayanagi and K. Kurihara (1989): Mechanism of the water responses in frog gustation: Possible significance of surface potential. *Brain Res.*, **486**, 269-273.

Y. Kato and K. Kurihara (1989): Mechanism of desensitization in taste responses: Prolongation of frog taste nerve responses to bitter substances by adapting the tongue to CaCl₂ solution. *Comp. Biochem. Physiol.*, **92A**, 107-109.

栗原堅三 (1990): "化学感覚のトランスダクション機構・刺激識別と電位発生機構", 医学のあゆみ, **148**, 643.

吉井清哲, 栗原堅三 (1989): "感覚受容器", 日本臨床, **47**, 1413-1418.

K. Kurihara (1989): Transduction mechanisms in chemoreception, in "Biosignal Transduction Mechanisms", ed. by M. Kasai *et al.*, Japan Sci. Soc. Press, Tokyo, pp. 181-205.

M. Kashiwayanagi, T. Shoji and K. Kurihara (1988): Large olfactory responses of the carp after complete removal of olfactory cilia. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **154**, 437-442.

M. Nakamura and K. Kurihara (1988): Temperature dependence of amiloride-sensitive and -insensitive components of rat taste nerve response to NaCl. *Brain Res.*, **444**, 159-164.

T. Kumazawa, T. Nomura and K. Kurihara (1988): Liposomes as model for taste cells: Receptor sites for bitter substances including N=C=S substances and mechanism of membrane potential changes. *Biochemistry*, **27**, 1239-1244.

野村 直, 栗原堅三 (1988): "生体膜における化学センサーをモデルとした人工膜センサー", 膜, **13**, 144-151.

栗原堅三 (1988): "感覚受容の分子機構", バイオセンシングとそのシステム 季刊 化学総説, **1**, 38-52.