International Journal of Oral Biology, Vol. 33, No. 1, March 31 2008, p. 13~23
Copyright ⓒ 2008, *The Korean Academy of Oral Biology*

**International Journal of Oral Biology**

# Distribution of Taste Receptors in Submandibular and von Ebner Salivary Glands

**Yong-Ku Jun[1], Se-Nyun Kim[2], Cil-Han Lee[1], Young-Kyung Cho[1,3], Ki-Myung Chung[1,3], Stephen D. Roper[4], and Kyung-Nyun Kim[1,3]***

[1]*Department of Physiology and Neuroscience, College of Dentistry, Kangnung National University.*
[2]*Department of Pharmacology and Mechnism, Research Institute, Oscotec Inc.*
[3]*Research Institute of Oral Science, Kangnung National University.*
[4]*Department of Physiology and Biophysics, Miller School of Medicine, University of Miami.*

*(Received January 16, 2008 ; Accepted February 4, 2008)*

**Taste is a critically important sense for the survival of an organism. However, structure and distribution of taste receptors were only recently investigated. Although expression of the ion channels responsible for the sense of salty taste and acidity was observed in the non-taste cells, receptors for sweet and bitter taste were only identified in taste cells. Salivary glands are involved in the sensing of taste and plays important roles in the transduction of taste. The purpose of this study is to examine whether taste receptors are present in the salivary glands and to provide clues for the investigation of the taste-salivary glands interaction. Using microarray and RT-PCR analyses, the presence of taste receptor mRNAs in the rat von Ebner gland and submandibular gland was confirmed. Type I taste receptors were preferentially expressed in von Ebner gland, whereas type II taste receptors were expressed in both von Ebner gland and submandibular gland. The taste-specific signal tranducing proteins, $G_{\alpha}$gustducin and phospholipase C β2, were also detected in both salivary glands by immunohistochemistry. Finally, the activation of the calcium signal in response to bitter taste in the acinar cells was also observed. Taken together, these results suggest that taste receptors are present in the von Ebner gland and submandibular gland and that type II taste receptors are functionally active in both salivary glands.**

**Key words: taste receptor, microarray, submandibular gland, von Ebner salivary gland, $Ca^{2+}$ imaging.**

*Corresponding author: Kyung-Nyun Kim, Department of Physiology and Neuroscience, College of Dentistry, Kangnung National University, 123 Chibyun-dong, Kangnung, Kangwon-do, 210-702, Korea. Tel.: +82-33-640-2450; Fax.: +82-33-642-6410; E-mail: knkim@kangnung.ac.kr

## 서 론

모든 생물은 환경의 변화를 감지할 수 있는 감수기를 갖고 있으며, 이 감수기는 섭취하는 음식물의 탐색, 짝짓기 상대 및 위험의 탐지와 같은 생존에 필수적인 요소를 감지하는 기능을 수행하고 있다(김과 천, 2005). 심지어 박테리아 같은 단세포 생물의 경우에도 다양한 화학물질에 반응하는 표면 화학 감수기를 갖고 있으며, 무척추 동물의 화학 감수성은 특화된 화학 감수기를 통하여 이루어진다. 공기로 호흡하는 척추동물의 경우에는 화학 감수성 감각은 둘로 구분되어 접촉성 감각인 미각과 원거리 감각인 후각으로 구성된다. 미각은 화학물질이 타액에 녹아 감수기에 접촉하여 이루어지는데 반하여, 후각은 흡기에 포함된 화학물질을 감지함으로써 이루어진다. 놀랍게도 미각과 후각은 같은 기원을 갖는 화학 감수성 감각임에도 불구하고 사람에서는 감수기의 구조, 기능, 중추 신경 전도로 등은 완전히 구분되어 있다. 포유류의 미각 기관은 구강, 인두 및 후두에 존재하며 연수, 뇌교 및 시상의 미각 중계핵으로 전달되는 데 반하여, 후각 기관은 비강에 위치하고 후각과 관련되어 특별이 분화된 뇌 부위인 후구(olfactory bulb)를 통하여 1차 후각피질로 불리는 종뇌(telencephalon)부위로 투사된다(김과 천, 2005). 이와 같이 미각을 느끼기 위해서는 화학물질이 타액에 녹아 미각 감수기에 접촉하는 것이 필수적이다.

미각은 음식물의 섭취와 밀접한 관계를 맺고 있으며, 섭취

하는 음식물의 종류, 영양 상태 및 건강 상태에 의하여도 많은 영향을 받는다. 적절한 에너지와 영양분을 섭취하는 것은 생명을 유지하는데 필수적인 요소이며, 사람의 미각은 이런 공급 가능한 영양분과 에너지원 및 대사에 필수적인 물질의 탐색과 섭취에 핵심적인 역할을 수행한다(김과 천, 2005).

타액은 정상적인 미각기능을 수행하는데 필수적이다. 타액은 음식 안에 포함되어 있는 미각물질을 녹여낼 뿐만 아니라 미각세포까지 운반해 주는 역할을 담당한다(Spielman, 1990; Bradley와 Beidler, 2003). 음식을 먹거나 마실 때 근육은 턱, 혀 및 얼굴근육을 조화롭게 움직여 음식물에 포함된 미각물질을 녹여낸다. 이런 활동은 특히 고랑 안에 존재하는 성곽유두(circumvallate papilla)와 잎새유두(foliate papilla)의 맛봉오리의 작용에 중요하다.

안정 시에 미각세포 미세돌기의 표면은 타액으로 덮여 있어서 타액이 미각 감수기 미세 환경을 결정한다. 즉 버섯유두(fungiform papilla)에 위치하는 미각세포는 전타액(혼합타액)으로 둘러싸여 있을 것으로 생각되며, 성곽유두와 잎새유두의 맛봉오리는 von Ebner 타액선에서 분비되는 타액으로 둘러싸여 있다. 구개, 후두 및 인두의 미각세포는 상피 표면으로 침을 분비하는 작은 타액선에서 분비되는 타액이 덮고 있다. 그러나 미공주위의 미세 환경은 상피표면의 타액층과는 다른 조성을 갖고 있을 가능성이 있다(Schmale 등, 1990). 더욱이 미각 자극 자체가 타액분비와 성분을 변화시키기 때문에 미각 전환 중 미세 환경이 변화할 수도 있다. 이처럼 미각을 감지하는데 있어서 타액은 미각 물질을 운반하는 피동적인 역할만을 수행할 가능성도 있고, 한편으로는 능동적으로 미각 전환에 관여할 가능성도 있다. 즉 미공 주위의 성분이 미각 물질의 접근과 제거를 조절하여 감수기-자극 상관관계를 조절할 가능성이 있다. 혀를 둘러싸고 있는 환경이 중요한 것은 타액에 포함된 $Na^+$의 농도에 따라 짠맛의 역치가 달라지는 것으로 쉽게 확인할 수 있다. 예를 들면, 혀를 증류수에 적응시킨 후 짠맛에 노출 시킬 경우 짠맛의 인식 역치가 가장 낮게 나타난다(Bradley와 Beidler, 2003).

이와 같이 타액이 미각과 밀접한 관계를 갖고 있으므로 타액분비량이 줄어들거나 없어지면 미각 장애가 동반된다. 뿐만 아니라 타액에 포함되어 있는 상피성장인자(epidermal growth factor, EGF)도 맛봉오리의 유지에 매우 중요하다(Morris-Wiman 등, 2000). Sjögren 증후군의 환자나 항암치료로 방사선 조사를 받은 환자에서 타액선 기능장애에 의해 식욕과 미각 기능이 저하되는 현상을 흔히 볼 수 있다(Bromley와 Doty, 2003).

미각 감수기는 주로 맛봉오리에 존재하고, 이 맛봉오리는 대개 혀의 등 쪽 표면에 형성되며 일부가 구개혀궁, 구개, 후두덮개(epiglottis)의 뒷면, 입인두의 뒤쪽에 존재한다. 혀에는 실유두(filiform papilla), 버섯유두, 잎새유두 및 성곽유두의 4 종류 유두가 존재한다(김과 천, 2005). 맛봉오리는 이 중 실유두를 제외한 3가지 유두에 분포하고 있으며, 단맛과 감칠맛은 혀의 앞쪽 끝 부위, 쓴 맛은 혀의 뒤쪽, 신맛은 혀의 양쪽 가장자리, 짠맛은 혀의 앞쪽 가장자리에서 예민하게 반응하는 것을 볼 수 있다. 일반적으로 단맛은 당분과 여러 아미노산등을 포함하는 영양분을, 그리고 짠맛은 나트륨을, 신맛은 산을, 그리고 쓴맛은 독성이 있다는 것을 의미한다.

혀 이외에도 구강, 인두 및 후두에서도 맛봉오리가 관찰되는데, 혀 이외의 위치에서 발견되는 맛봉오리가 혀의 맛봉오리와 같은 기능을 하는지에 대해서는 아직 잘 알려져 있지 않지만, 후두덮개와 구개의 맛봉오리는 상기도 반사의 시작과 인후두 수분반사에 관여하며 염소이온의 고갈에 대한 신호를 중계할 가능성도 제기되고 있다(Gilbertson, 2002). 비슷하게 후두의 맛봉오리는 미각에 관련된 기능을 수행하기 보다는 다른 화학물질을 감지하는 것으로 추정된다(Sbarbati 등, 2004). 미각기관이 아닌 곳에서의 미각 감수기 발현에 대하여는 연구된 바가 거의 없지만, 최근 쓴맛 감수기인 2형 미각 감수기가 흰쥐와 생쥐의 위와 소장에서 발현된다는 보고가 있다(Wu 등, 2002). 이는 2형 미각 감수기가 소화기관에서 화학물질의 조성을 감시하는 기능을 담당한다는 것을 시사한다. 또한 비강 내 상피의 후각세포에서도 2형 미각 감수기와 이의 신호전달 단백질 α-gustducin이 발견되었는데, 이들은 숨을 들이마실 때 자극적인 물질이 들어오는 것을 막아주는 보호반사의 기능에 관여할 것으로 추측된다(Finger 등, 2003).

이처럼 미각 감수기의 역할은 단순한 맛의 감지에 그치는 것이 아니라, 동물의 생존에 중요한 역할을 담당하는 것으로 추정되지만, 혀를 제외한 기관에서의 미각 감수기의 분포에 대해서는 정확하게 알려지지 않고 있다. 짠맛과 신맛에 관여하는 이온 통로는 미각세포 외에도 다른 조직에서도 관찰되지만 단맛, 쓴맛, 감칠맛을 담당하는 미각 감수기가 다른 조직에 존재한다는 보고는 거의 없다. 특히, 타액선은 미각과 밀접한 관계를 갖는 장기로 미각의 전환에 매우 중요한 역할을 담당하지만, 타액선에서 미각 감수기의 존재 여부와 기능에 대해서는 알려진 바 없다. 그러므로 본 연구에서는 타액선에서 미각 감수기의 존재여부를 확인하여, 미각-타액 상호 작용의 생리적 기능을 밝히는 단서를 제공하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험동물

본 연구는 강릉대학교 치과대학 실험동물위원회의 승인을 얻은 후, 위원회의 감독을 받으며 수행 되었다. 실험동물은 생후 45~60일의 수컷 Sprague-Dawley계 흰쥐(셈타코, 대한민국)를 강릉대학교 동물실에서 실험동물용 고형 사료와 물을 자유롭게 공급하며 일정기간 사육한 뒤 실험에 사용하였다.

**조직의 분리**

선포세포의 분리를 위하여 실험동물을 이신화탄소로 전신마취 하에서 희생시킨 후 즉시 혀와 악하선을 절제하였다. 절제한 조직은 즉시 100% 산소가스로 포화 시키고 얼음으로 냉각시킨 N-2-hydroxy-ethylpiperazine-N-2-ethane-sulfonic acid (HEPES) 완충-Tyrode용액(140 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM $MgCl_2$, 1 mM $CaCl_2$, 5 mM Glucose, 10 mM HEPES, 5 mM Pyruvate, pH 7.3)에 보관하였다. von Ebner 타액선을 얻기 위하여 vibratome (vibroslice, Campden, 영국)을 이용하여 혀 성곽유두와 주위의 von Ebner 타액선이 포함되도록 500~1,000 μm 두께로 잘라내었다. 잘라낸 절편을 해부 현미경으로 관찰하며 von Ebner 타액선 부위만을 절제하여 차게 식힌 완충용액에 보관하였다.

**RNA 분리**

분리된 조직을 분쇄기(Wheaton, 미국)와 초음파 파쇄기(Vibra cell, Sonics & Materials INC, 미국)로 잘게 부순 후, QIAGEN RNeasy Mini kit(Qiagen, 미국)로 RNA를 추출하였다. 분리된 RNA는 Bioanalyzer 2100(Agilent, 미국)을 이용하여 완전성을 확인하였다.

**유전자 검색**

유전자 검색은 CodeLink Rat Whole Genome Bioarray와 CodeLink Expression Assay Reagent Kit(GE Healthcare, 미국)를 이용하여 수행하였다. 추출한 RNA와 제조사에서 제공한 박테리아 대조군 RNA를 섞어서 42°C에서 2시간 동안 역전사(reverse transcription) 반응을 통해 일차 단선 cDNA를 제조하였다. 이후 표준 방법에 의해 16°C에서 2시간 동안 중합 반응을 통해 복선 cDNA를 제조하였다. 이를 QIAquick PCR Purification kit(Qiagen, 미국)를 이용하여 분리한 후 37°C에서 14시간 동안 *in vitro* transcription 반응을 통해 biotin으로 표지된 cRNA를 얻었다. RNeasy Mini kit(Qiagen, 미국)를 이용하여 cRNA를 정제한 후, 10 μg의 cRNA를 hybridization에 이용하였다. Hybridization 후, 비특이적으로 결합한 cRNA를 세척하여 제거한 후, streptavidin-Cy5 결합체를 반응시킨 후, Axon 4000B(Axon instruments, 미국)로 scanning하여 데이터를 얻었다. 이후 GenePix 6.0으로 각 유전자에 대한 데이터를 정량화하였다.

**면역조직화학적 염색**

실험동물을 urethane 체중 kg 당 1.5 g을 복강내 주사하여 유도된 전신마취 하에서 흉강과 복강을 노출시켜 좌심실을 통하여 peristaltic pump (Gilson, 미국)에 연결된 19 gauge 바늘을 삽입하고, 1 : 20의 heparin이 첨가된 phosphate buffered saline (PBS; 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 4.3 mM $NaHPO_4$, 1.4 mM $KH_2PO_4$)과 PBS에 녹인 4% paraformaldehyde 고정액을 동물체중의 2 배 정도의 양으로 관류시켰다. 심장 관류를 통해 조직을 고정한 후 즉시 혀와 악하선을 제거하고, 혀에서 von Ebner 타액선과 악하선 선포세포, 잎새유두를 포함한 조직 절편을 떼어내어 같은 용액으로 후고정 하였다. 고정된 조직을 파라핀에 포매하여 4 μm 두께의 조직 표본을 제작하였다. 조직 표본을 미각 특이 G-단백질 α-subunit인 gustducin ($G_{\alpha}$gust)과 Phospholipase C $\beta$2 (PLC$\beta$2)를 특이적으로 인식하는 토끼 항체(Santa Cruz, 미국)와 반응시키고, 토끼 항체를 인식하는 바이오틴화된 염소 항체와(Vector, 미국), streptavidin-peroxidase를 순서대로 반응시켰다. 3', 3' Diamino-benzidine으로 발색 반응을 일으키고 hematoxylin으로 대조염색을 한 후, xylene으로 투명화하여 E-600 광학현미경(Nikon, 일본)으로 관찰하였다.

**RT-PCR**

RT-PCR은 역전사와 PCR을 한 반응으로 수행하는 Accupower RT/PCR PreMix(Bioneer, 대한민국)를 이용하여 수행하였다. 1 μg의 RNA와 유전자에 특이적인 primer를 RT/PCR PreMix와 섞은 후, Gene Amp PCR system 9700(PE Applied Biosystems, 미국)을 사용하여 42°C에서 60분, 95°C에서 5분으로 역전사 반응을 한 후, 94°C에서 45초, 45°C에서45초, 72°C에서 1분의 과정을 40 주기 반복하였다. 이 때 양성대조군으로 잎새유두에서 추출한 RNA를 사용하였다. 얻어진 cDNA를 2% agarose gel에서 전기영동 한 후, ethidium bromide로 염색하여 결과를 확인하였다.

**선포세포의 분리**

분리된 von Eber 타액선 및 악하선 조직을 세포배양용기(Falcon, 미국)에 옮겨 100% 산소가스로 포화 시키고 얼음으로 냉각시킨 HEPES 완충 Tyrode 용액에 보관하였다. 얻어진 타액선 절편을 김(2000)의 방법을 참고로 pH 7.4의 HEPES 완충 Tyrode 용액에 녹인 0.4 mg/ml trypsin으로 15분간, 60 U/ml collagenase와 2 mg/ml trypsin inhibitor 혼합용액으로 10분간 37°C에서 순차적으로 처리하여 단일세포 또는 선포세포군을 얻었다. 얻어진 세포는 medium 199 (Sigma, 미국) 배양액에 넣어 5% 이산화탄소 배양기에서 37°C에 보관하고 추후 실험에 사용하였다.

**$Ca^{2+}$활성도 확인**

분리된 선포세포에서 자극물질로 유발된 세포 내 칼슘이온 농도의 변화를 칼슘의 농도에 반응하여 형광을 내는 fura-2 acetoxymethyl ester (fura-2 AM, Molecular probe, 미국)를 이용하여 측정하였다. 분리된 조직을 10 μM fura-2 AM이 녹아있는 500 μl HEPES 완충 Tyrode 용액에 넣고 상온에서 분당 60회로 흔들면서 세포 내로 주입하였다. 2 시간 뒤 동일한 완충 용액으로 3회 세척

한 뒤 다시 상온에서 배양하여 세포내의 fura-2 AM이 fura-2로 전환되도록 하였다. Fura-2가 주입된 선포세포를 Cel-Tek (BD Biosciences, 미국)으로 도포한 실리콘과 cover glass를 이용하여 제작한 용적 200 μl의 용기에 옮겨 세포가 배양 용기의 바닥에 부착되도록 하고 형광현미경(TE-2000, Nikon, 일본)을 사용하여 관찰하였다. Fura-2의 형광을 발생시키기 위하여 Xenon 전구를 광원으로 한 빛을 파장 선택기(DG-4, Sutter, 미국)를 사용하여 340 nm 와 380 nm가 60 Hz의 빈도로 교대로 비추도록 하였다. 이 자외선에 의하여 유발된 형광을 510 nm에서 모아서 CCD camera (HQ, Roper, 일본)로 영상을 얻어 분석에 사용하였다.

미각 감수기의 자극물질로서 쓴맛은 quinine, cycloheximide, denatonium, phenylthiourea (PTU), sucrose octaacetate를 사용하였고, 단맛은 saccharine을 사용하였으며, 양성 대조 자극물질로는 carbachol (CCh)을 사용하였다. 얻어진 형광 영상은 MetaFluor (version 5.0, Universal Imaging Corporation, 미국)를 사용하여 분석하였다.

### 시약

사용한 시약은 특별히 명시한 경우를 제외하고는 미국 Sigma사의 분석용 등급 이상의 것을 사용하였다.

## 실험결과

### 유전자 검색

von Ebner 타액선과 악하선에서 발현되는 미각 감수기 유전자를 검색하기 위하여, CodeLink Rat Whole Genome Bioarray를 이용한 유전자 microarray 시험을 수행하였다. 또한, 대조군으로 선포세포 주위의 근육조직을 분석하였다. 실험에 사용된 조직이 실험의 목적에 맞게 잘 분리되었는지 확인하기 위하여 von Ebner 타액선의 표지 유전자의 발현 정도를 microarray에서 확인하였다(Table 1, Fig. 1). 첫 번째 표지 유전자인 VEGP1 (von Ebner gland protein 1)은 von Ebner 타액선에서 악하선 보다는 약 3배, 근육조직보다는 약 6배 높게 발현되었다. 두 번째 표지 유전자인 VEGP2 (von Ebner gland protein 2)는 von Ebner 타액선에서 악하선보다는 약 4배, 근육조직보다는 약 6배 높게 발현되었다. 이러한 결과를 통하여 본 실험에 사용한 조직이 상당히 순수하게 분리되었음을 확인하였다.

von Ebner 타액선과 악하선에서 미각 감수기의 유전자의 발현 양상을 조사하기 위하여, 유전자 검색 결과에서 미각 감수기 유전자의 발현 정도를 확인하였다. 유전자 검색에 사용한 CodeLink Rat Whole Genome Bioarray에는 6개의 1형 미각 감수기 유전자와 8개의 2형 미각 감수기 유전자가 포함되어 있었다(Table 1).

**Table 1.** Taste receptor genes and marker protein genes of von Ebner gland examined in microarray analysis.

| Protein | Gene | GenBank accession number |
|---|---|---|
| Taste receptor, type 1, member 2 | Tas1r2 | AF127390.1 |
| Taste receptor, type 1, member 2 | Tas1r2 | CB771131.1 |
| Taste receptor, type 1, member 2 | Tas1r2 | AW143851.1 |
| Taste receptor, type 1, member 2 | Tas1r2 | AI011510.1 |
| Taste receptor, type 1, member 2 | Tas1r2 | AF127390.1 |
| Taste receptor, type 1, member 2 | Tas1r2 | BG374977.1 |
| Taste receptor , type 2, member 1 | T2R1 | NM_023993.1 |
| Taste receptor T2R5 | T2R5 | NM_023996.1 |
| Taste receptor rT2R6 | T2R6 | AF240766.1 |
| Taste receptor T2R7 | T2R7 | NM_023997.1 |
| Taste receptor, type 2, member 13 | Tas2r13 | NM_023998.1 |
| Taste receptor, type 2, member 14 | Tas2r14 | NM_173336.1 |
| Taste receptor, type 2, member 41 | Tas2r41 | NM_139335.1 |
| Taste receptor, type 2, member 105 | Tas2r105 | NM_023999.1 |
| von Ebner gland protein 1 | VEGP1 | NM_022945.1 |
| von Ebner gland protein 2 | VEGP2 | NM_053574.1 |

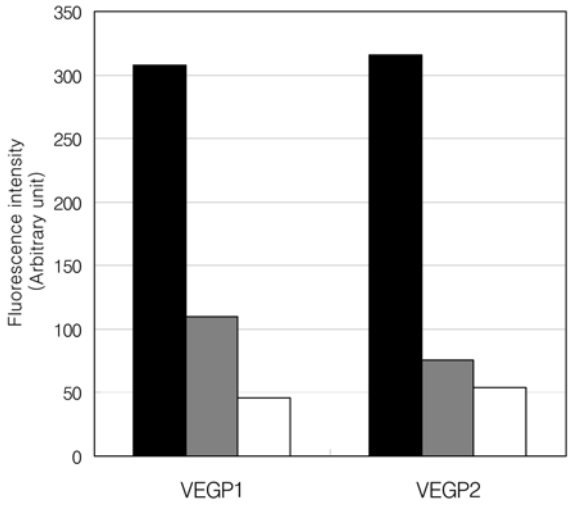


**Fig. 1.** Expression levels of von Ebner gland marker genes. Messenger RNA levels of von Ebner gland marker genes were measured using CodeLink Rat Whole Genome Bioarray. Values are expressed with arbitrary unit representing relative fluorescence intensity. Filled bar: von Ebner gland; Gray bar: submandibular gland; Empty bar: muscular tissue around von Ebner gland.

1형 미각 감수기 유전자 중 AF127390, CB771131, AW143851, BG37977은 von Ebner 타액선이나 악하선에서 근육조직보다 2 배 이상 높은 발현을 보였다. 반면 AI011510과 AF127390은 von Ebner 타액선과 악하선에서 근육조직보다 낮거나 동일한 수준의 발현을 보였다(Fig. 2). 특히, CB771131은 von Ebner 타액선에서 악하선이나 근육보다 현저하게 높은 수준의 발현을 보여서 해당 미각 감수기는 von Ebner 타액선에서 특이적으로 발현되는 것을 알 수 있었다(Fig. 2). 2형 미각 감수기 유

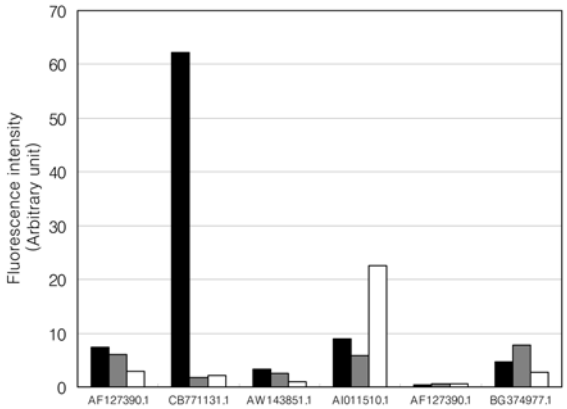


**Fig. 2.** Expression levels of type I taste receptor genes. Messenger RNA levels of type I taste receptor genes were measured using CodeLink Rat Whole Genome Bioarray. Values are expressed with arbitrary unit representing relative fluorescence intensity. Filled bar: von Ebner gland; Gray bar: submandibular gland; Empty bar: muscular tissue around von Ebner gland.

전자 중 NM_023993, NM_023996, NM_023997, NM_139335, NM_023999는 von Ebner 타액선이나 악하선에서 근육조직보다 2 배 이상 높은 발현을 보였다. 반면

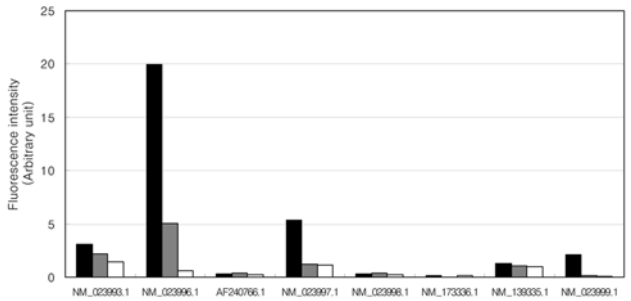


**Fig. 3.** Expression levels of type II taste receptor genes. Messenger RNA level of type II taste receptor was measured using CodeLink Rat Whole Genome Bioarray. Values are expressed with arbitrary unit representing relative fluorescence intensity. Filled bar: von Ebner gland; Gray bar: submandibular gland; Empty bar: muscular tissue around von Ebner gland.

AF240766, NM_023998, NM_173336는 von Ebner 타액선과 악하선에서 근육조직보다 낮거나 동일한 수준의 발현을 보였다(Fig. 3). 특히 NM_023996, NM_023997, NM_023999 세 개의 유전자는 von Ebner 타액선에서 악하선이나 근육보다 현저하게 높은 수준의 발현을 보였다.(Fig. 3). 이러한 결과는 von Ebner 타액선과 악하선

**Table 2.** Primers used in RT-PCR and expected product sizes

| Gene | | | Sequence | Product (bp) |
|---|---|---|---|---|
| Tas1r2 | AF127390 | Sense | CAG TCA GTT CCG AGT GCG | 432 |
| | | Antisense | TTA ATG TAG GTT AGC CTC TTG C | |
| Tas1r2 | CB771131 | Sense | CTG CAC GTC TCA TGG TAT | 182 |
| | | Antisense | GCT ATT CTC CTC ATC CCT | |
| Tas1r2 | AW143851 | Sense | CGC TGA GCC AGT GAT T | 297 |
| | | Antisense | CAG AGG AGG GTC GGT AT | |
| Tas1r2 | AI011510 | Sense | TCG CTG GCA GTT CGT T | 247 |
| | | Antisense | GGG CTA CCC TCA TCA CTC T | |
| Tas1r2 | AF0127390 | Sense | CTG CCG ACA GGC TTT CTT | 288 |
| | | Antisense | CCG TTG CGG TAG TTA GGG | |
| Tas1r2 | BG374977 | Sense | CCA GGT AGA TGC TAC AAT G | 193 |
| | | Antisense | GAT GAA GGA CCA GGA AAC | |
| T2R1 | NM023993 | Sense | TTT TGC CTG GCG ACT TCT | 369 |
| | | Antisense | ATG CCC TGT TCC GAC TTG | |
| T2R5 | NM023996 | Sense | CCT TCC TGQA TAG GGT GCT | 375 |
| | | Antisense | CTG GGA CTA ACA GAC AAA TGA C | |
| T2R6 | AF240766 | Sense | GGG CTG GAT GAA TAG | 349 |
| | | Antisense | AGT GAC TGG GAG GCT AAA | 349 |
| T2R7 | NM023997 | Sense | AAA GTG CTC CTG CTG ATT | 451 |
| | | Antisense | AAA GGC TTG AAG GGT AGA | |
| Tas2r13 | NM023998 | Sense | ATC AAT ATG GAG GAA ACA C | 140 |
| | | Antisense | GAA GAT TAG CAG GAG AAA A | |
| Tas2r14 | NM173336 | Sense | GAG TTA TCT GGG TAG TGG | 349 |
| | | Antisense | AAG AGT GAG TTG ATG GGT | |
| Tas2r41 | NM139335 | Sense | GTG CGT TGG GCT GGT GAA | 182 |
| | | Antisense | GGA AGG CAG GAT GGG AGA | |
| Tas2r105 | NM023999 | Sense | GAA GCT GGG CTG GGA GTT | 271 |
| | | Antisense | AGA TGC TGA GGC TGG TGG | |

에서 1형 과 2형 미각 감수기가 모두 발현되며, 타액선에서 미각을 인지하는 활성이 존재할 가능성을 시사한다.

**RT-PCR**

유전자 검색에서 확인된 미각 감수기의 발현정도를 더 자세히 검증해보기 위하여 Table 2에 정리된 primer를 이용하여 RT-PCR을 수행하였다. 1형 미각 감수기 유전자는 von Ebner 타액선에서 높게 발현되었으며, 악하선에서는 거의 발현이 확인되지 않았다(Fig. 4). 반면 2형 미각 감수기 유전자는 von Ebner 타액선과 악하선에서 큰 발현의 차이를 보이지 않았다(Fig. 5). 이러한 결과는 von Ebner 타액선과 악하선에 미각 감수기가 발현되며, von Ebner 타액선과 악하선에 존재하는 미각 감수기의 분포가 차이가 있음을 보여준다.

**면역조직화학적 염색**

유전자 검색과 RT-PCR 결과를 통하여 타액선에 미각 감수기가 발현된다는 것을 확인하였다. 미각 감수기의 존재 여부를 직접적으로 확인하기 위해서는 단백질의 존재를 확인해야 하지만, 각 미각 감수기를 특이적으로 인지하는 항체는 아직 존재하지 않는다. 간접적으로 이들 조직에 미각 감수기가 존재하는지 확인하고, 미각 감수기 신호 전달에 필수적인 하부 신호전달 단백질의 존재하는지를 확인하기 위하여 미각 신호의 전달에 필수적인 역할을 담당하는 $G_{\alpha}$gust와 PLC$\beta$2의 존재 여부를 면역조직화학법으로 조사하였다. von Ebner 타액선과 악하선 조직의 파라핀 절편에서 $G_{\alpha}$gust와 PLC$\beta$2 항체를 이용하여 면역조직화학염색을 한 결과, 두 조직 모두에서 양성 대조군인 잎새유두와 비슷한 정도의 강한 염색을 관찰할 수 있었다. 반면 1차 항체를 사용하지 않은 음성대조군에서는 2차 항체에 의한 면역 양성반응이 나타나지 않았다(Fig. 6). 이러한 결과로 von Ebner 타액선과 악

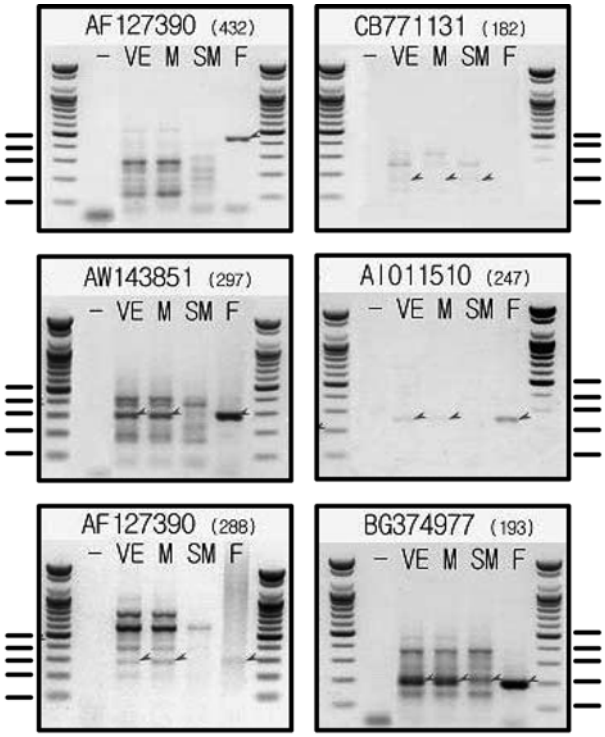


**Fig. 4.** RT-PCR measurement of type I taste receptor expression. Gene expressions of type I taste receptor in von Ebner gland (VE), submandibular gland (SM), muscular tissue (M), and foliate papilla (F) were measured with RT-PCR. Expected size of PCR product was shown next to the GenBank accession number in the parenthesis. Arrowheads indicate PCR products of exact sizes. Foliate papilla was included as a positive control. Arrow heads indicate PCR products of expected size from primers. Size markers of 500, 400, 300, 200, and 100 bp were marked with bars in each data.

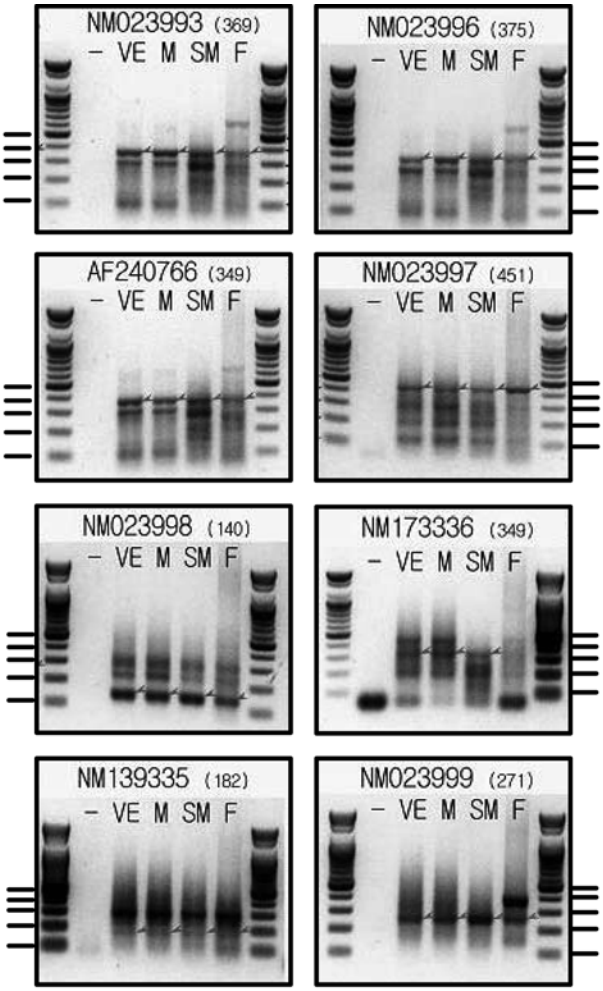


**Fig. 5.** RT-PCR measurement of type II taste receptor expression. Gene expressions of type II taste receptor in von Ebner gland (VE), submandibular gland (SM), muscular tissue (M), and foliate papilla (F) were measured with RT-PCR. Expected size of PCR product was shown next to the GenBank accession number in the parenthesis. Arrowheads indicate PCR products of exact sizes. Foliate papilla was included as a positive control. Size markers of 500, 400, 300, 200, and 100 bp were marked with bars in each data.

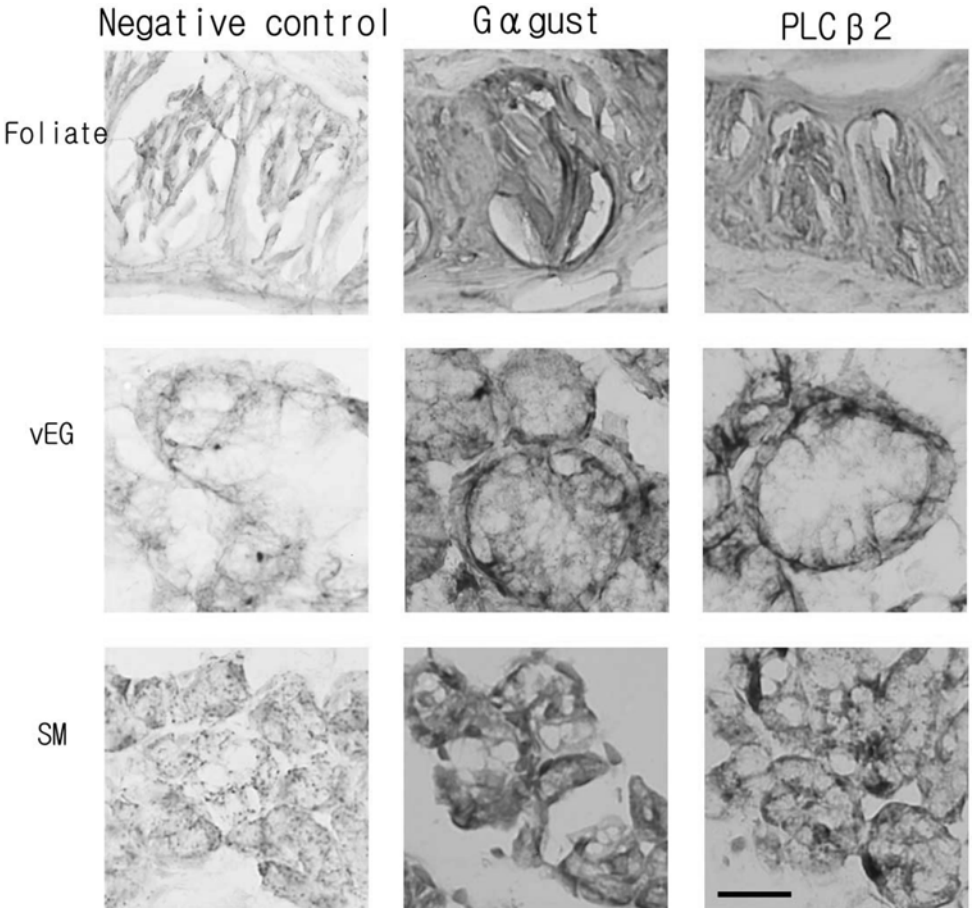


**Fig. 6.** Immunohistochemical detection of $G_{\alpha}$gust and PLC$\beta$2. $G_{\alpha}$gust and PLC$\beta$2 were detected in foliate, von Ebner gland (vEG), submandibular gland (SM) by immunohistochemistry. Primary antibody was omitted in negative control. Scale bar: 20 μm.

하선에서 미각 신호전달에 필요한 하부 신호전달 단백질이 존재한다는 것을 확인하였다.

### $Ca^{2+}$활성도 확인

유전자 검색과 RT-PCR에 의해 확인된 미각 감수기가 미각자극에 반응하여 실제 활성을 나타내는지 조사하기 위하여 Von Ebner 타액선과 악하선 선포세포에서 $Ca^{2+}$ 활성도를 조사하였다. 미각 감수기를 자극하는 물질로는 1형 미각 감수기에 인지되는 Saccharine과 2형 미각 감수기에 인지되는 quinine (10 μM~30 mM), cycloheximide (0.1~3 mM), denatonium (1~30 mM), sucrose octaacetate (0.5~5 mM), PTU(1~30 mM)를 이용하였으며, 양성대조군으로 CCh을 사용하였다.

1형 미각 감수기에 인지되는 물질인 saccharine에 대해서는 von Ebner 타액선과 악하선에서 분리된 선포세포 모두에서 반응을 보이지 않았다. 이러한 결과는 타액선에서 발현되는 1형 미각 감수기가 미각 신호를 전달하는 활성을 갖지 않을 가능성을 시사한다.

2형 미각 감수기에 인지되는 물질들에 대해서는 두 조직의 선포세포가 모두 반응을 보였으며, 특히 quinine과 PTU에 대해 민감한 반응을 보였다(Fig. 7A와 8A). 여러 가지 농도의 quinine과 PTU에 대한 반응성을 조사하였을 때, 두 조직의 선포세포 모두 농도 의존적으로 반응하였으며, 특히 von Ebner 타액선에서 분리된 선포세포가 더 민감하게 반응하였다(Fig. 7B와 8B). 이러한 결과는 von Ebner 타액선과 악하선에 존재하는 2형 미각 감수기가 실제 쓴맛의 신호를 전달하는 활성을 가지고 있으며, 특히 von Ebner 타액선에서 쓴맛의 미각 신호 전달이 더 민감하게 이루어지고 있음을 시사한다.

## 고 찰

모든 생물은 환경의 변화를 감지할 수 있는 감수기를 갖고 있으며, 이 감수기는 생물의 생존에 필수적인 요소를 감지하는 기능을 수행하고 있다. 공기로 호흡하는 척추동물의 경우 화학 감수성 감각은 둘로 구분되는데 접촉성 감각인 미각과 원거리 감각인 후각으로 구성된다. 후각은 흡기에 포함된 화학물질을 감지함으로써 이루어지는데 반하여 미각은 화학물질이 타액에 녹아 감수기에

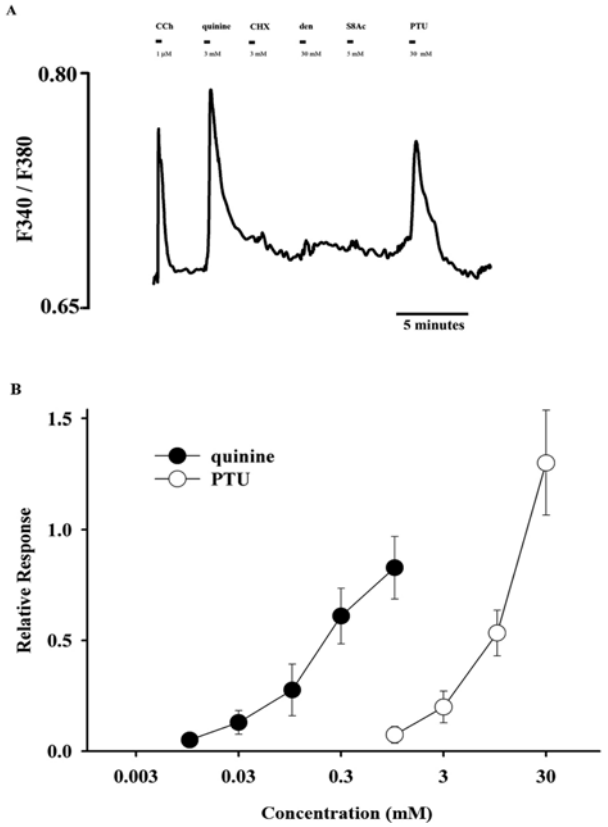


**Fig. 7.** $Ca^{2+}$ activity in response to bitter taste in von Ebner acinar cells. Representative change in $Ca^{2+}$ activity in von Ebner acinar cells (A). Quinine and phenylthiourea(PTU) elicited increase of $Ca^{2+}$ activity, however cycloheximide(CHX), denatonium(den), and sucrose octaactate(S8AC) did not. The changes in intracellular $Ca^{2+}$ activity elicited by quinine and phenylthiourea (PTU) were dose-dependent (B). Relative response in B means percent change of response elicited by 1 μM carbachol (CCh).

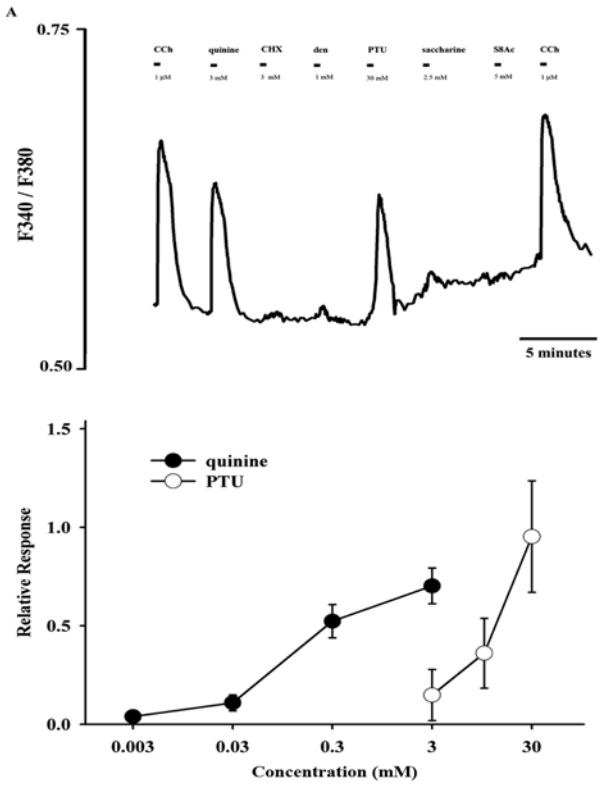


**Fig. 8.** $Ca^{2+}$ activity in response to bitter taste in submandibular acinar cells. Representative change in $Ca^{2+}$ activity in submandibular acinar cells A). Quinine and phenylthiourea(PTU) elicited increase of $Ca^{2+}$ activity, however cycloheximide(CHX), denatonium (den), and sucrose octaactate(S8AC) did not. The changes in intracellular $Ca^{2+}$ activity elicited by quinine and PTU were dose-dependent (B). Relative response in B means percent change of response elicited by 1 μM carbachol (CCh).

접촉하여 이루어진다(Spielman, 1990; Lindemann, 1996). 미각 감수기는 주로 맛봉오리에 존재하고, 이 맛봉오리는 대개 혀의 등 쪽 표면에 형성되며 일부가 구개혀궁, 구개, 후두덮개의 뒷면, 입인두의 뒤쪽에 존재한다. 혀에는 실유두, 버섯유두, 잎새유두 및 성곽유두 4가지가 존재하며, 혀의 맛봉오리는 이 중 실유두를 제외한 3가지 유두에 분포하고 있다. 혀의 위치에 따라 각기 다른 종류의 맛에 주로 반응하는데, 단맛과 감칠맛은 혀의 앞쪽 끝부위, 쓴 맛은 혀의 뒤쪽, 신맛은 혀의 양쪽 가장자리, 짠맛은 혀의 앞쪽 가장자리에서 예민하게 반응한다. 구조적으로 다양한 분자들이 미각 감수기를 자극하여 미각반응을 유발하지만, 이들 화학물질들은 맛에 따라 크게 몇 가지로 나누어 볼 수 있다. 단맛을 내는 물질은 일반적으로 당분과 많은 아미노산으로서 체내에서 영양분으로 쓰이기 때문에 동물들을 유혹하는 신호로 작용한다. 짠맛은 주로 나트륨을 인지하는 것으로 저염식을 하는 동물들에게 특별한 중요성을 갖고 있다. 또한, 신맛은 산성을 경고하고, 쓴맛은 일반적으로 독성을 의미한다.

이러한 미각물질에 대한 감수기는 주로 구강, 인두 및 후두에 존재하고 있으며, 짠맛과 신맛에 관여하는 감수기인 이온통로는 미각세포 외에도 다른 조직에서도 관찰되는 것으로 보고 되었다. 반면, 단맛과 감칠맛, 또는 쓴맛을 담당하는 감수기가 다른 조직에 존재한다는 보고는 거의 없다.

단맛과 감칠맛, 쓴맛을 인지하는 감수기는 구조적으로 7-transmembrane-domain G-protein coupled receptor (GPCR)에 속하지만(Hoon 등, 1999), 전체적인 구조에 있어서는 뚜렷한 차이를 나타내고 있다. 최근 분자생물학적 연구에 의해 밝혀진 바에 따르면 포유류의 미각 감수기는 크게 1형과 2형으로 분류할 수 있다. 1형 미각 감수기는 GPCR type C family에 속하며, metabotropic glutamate receptor (mGluR)와 γ-amino butyric acid B ($GABA_B$) receptor와 유사하게 N-말단 쪽에 라이간드가 결합하는 커다란 세포외 부위를 갖는 것으로 알려져 있다(Nelson 등, 2001). 이들은 T1R1, T1R2, 그리고 T1R3의 3개 유전자로 나누어지며, T1R1과 T1R3 감수기는 함께 아미노산 감수기로 작용하는 것으로 밝혀졌고, T1R2와 T1R3 감수기는

단맛 감수기로 작용한다는 것이 보고되었다(Nelson 등, 2001; Li 등, 2002). 2형 미각 감수기는 쓴맛을 인지하는데 관여하며(Adler 등, 2000; Matsunami 등, 2000) 약 30가지의 유전자가 알려져 있다. 이들은 구조적으로 opsin 유전자 족과 약간의 유사성이 있는 것으로 알려져 있다.

본 연구에서는 첫 번째 단계로 미각의 전환에 중요한 역할을 담당하는 타액선에서 미각 감수기의 존재여부를 확인하기 위하여 알려져 있는 미각 감수기의 유전자 발현 정도를 유전자 microarray를 이용하여 조사하였다. von Ebner 타액선에서 CodeLink Rat Whole Genome Bioarray를 이용한 유전자 검색 결과 von Ebner 타액선과 악하선에 1형과 2형 미각 감수기가 모두 발현되는 것을 확인하였다(Fig. 2와 3). 유전자 검색에 사용된 탐침의 종류에 따라 발현의 상대적인 정도는 차이를 보였지만, 대체적으로 1형과 2형 미각 감수기 모두 von Ebner 타액선에서 악하선이나 주위 근육조직보다 더 높은 수준으로 발현되는 것으로 추정되었다.

Microarray를 이용한 유전자 검색 방법은 빠른 시간에 여러 가지 유전자의 발현 정도를 확인할 수 있다는 장점이 있으나, 개별 유전자의 정확한 발현 수준의 비교를 위해서는 RT-PCR이나 Northern blot과 같은 다른 실험방법에 의한 검증이 필요하다. 따라서 본 연구에서는 RT-PCR을 이용하여 미각 감수기 유전자의 발현수준을 재확인 하였다. RT-PCR 결과 1형 미각 감수기는 von Ebner 타액선에서 많이 발현되지만, 악하선에서는 거의 발현되지 않았으며(Fig. 4), 2형 미각 감수기는 von Ebner 타액선과 악하선 모두에서 유사한 수준으로 발현되었다(Fig. 5). 이러한 두 가지 실험의 결과에서 차이는 유전자 검색에서 사용한 탐침과 RT-PCR에서 사용한 PCR primer의 차이에 기인할 가능성이 있다. 또한, RT-PCR에서는 PCR의 증폭과정을 통해 더 민감하게 유전자 발현을 탐지할 수 있어서, 악하선에서의 2형 미각 감수기의 발현을 유전자 검색 방법보다 더 민감하게 탐지하였을 것으로 추정된다.

흥미롭게도 두 가지 실험 방법 모두에서 근육 조직에서도 미각 감수기 유전자의 발현이 확인되었다. 이러한 결과의 정확한 해석을 위해서는 실제 근육세포에서 이들 미각 감수기의 발현과 기능에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

유전자 발현 분석을 통해 von Ebner 타액선과 악하선에서 미각 감수기의 존재를 확인하였지만, 실제로 미각 감수기가 미각 신호를 전달하기 위해서는 감수기뿐만 아니라 하부의 신호 전달 단백질이 필요하다. 미각 신호 전달에 필수적인 단백질로는 $G_{\alpha}$gust와 PLC$\beta$2가 대표적으로 알려져 있다. $G_{\alpha}$gust는 G-protein α-subunit로서 미각 감수기에 라이간드가 결합하면 하부로 신호를 전달하는 신호 전달 단백질이다(Margolskee, 1993a; McLaughlin 등, 1992). 비록 $G_{\alpha}$gust는 미각세포뿐만 아니라 다른 조직에도 존재하지만(Hofer 등, 1996; Hofer 등, 1998; Adler 등; 2000), 미각세포에서 상대적으로 높은 수준으로 $G_{\alpha}$gust가 존재하고, $G_{\alpha}$gust 유전자가 제거된 쥐에서 쓴맛과 단맛을 내는 물질에 대하여 유별난 행동 차이를 보이는 것(Ruiz-Avila 등, Wong 등, 1996)을 고려할 때, $G_{\alpha}$gust가 미각의 전달에서 중요한 역할을 담당하고 있는 것으로 추정된다. 또한, 미각세포에 신호전달 단백질인 PLC$\beta$2와 TRPM5(transient receptor potential cation channel, subfamily M, member 5)가 존재하며(Perez 등, 2002), 단맛과 쓴맛을 인식하는데 필수적인 역할을 담당한다는 것이 밝혀졌다(Zhang 등, 2003).

이와 같이 미각 신호의 전달에 필수적인 $G_{\alpha}$gust와 PLC$\beta$2의 항체를 이용한 면역조직화학적 염색 결과, von Ebner 타액선과 악하선 모두 양성대조군으로 사용한 잎새유두와 비슷한 정도로 두 가지 단백질이 존재함을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 von Ebner 타액선과 악하선에 미각 감수기 뿐만이 아니라 미각 신호 전달에 필요한 신호 전달 단백질들이 존재한다는 것을 의미하며, 실제로 이들 조직에서 미각 신호를 인식하여 신호를 전달할 가능성이 높다는 것을 시사한다.

미각 감수기 유전자 발현 조사 결과와 면역조직화학 실험 결과에 기반을 두어, von Ebner 타액선과 악하선 선포세포에서 단맛과 쓴맛의 미각 신호의 전달이 일어나는지 확인하고자 하였다. 미각 감수기에서 인지된 미각 신호는 $G_{\alpha}$gust를 통해 세포막의 phosphodiesterase(PDE)를 활성화시켜 cAMP 농도를 감소시키고(Yan 등, 2001) inositol triphosphate($IP_3$)의 농도를 증가시켜 세포질 내 $Ca^{2+}$농도를 증가시키는 것이 알려져 있다(Huang 등, 1999; Gilbertson, 2000). 또한, PLC$\beta$2는 G protein subunit $\beta2/\gamma$ 13에 의해 활성화되어, $IP_3$의 농도를 증가시키고, 순차적으로 Ca2의 농도를 증가시킴으로써 미각 신호를 전달한다(Rossler 등, 1998). 따라서 세포내에서 미각 자극에 의한 $Ca^{2+}$ 활성을 조사하면 미각 신호의 전달이 실제로 일어나는지를 확인할 수 있다.

유전자 발현 분석과 면역조직화학 실험 결과에서 기대되었던 것과 같이 von Ebner 타액선과 악하선의 선포세포는 2형 미각 감수기를 자극하는 쓴맛을 내는 물질에 반응하여 $Ca^{2+}$ 활성을 나타내었다. 이러한 결과는 타액선의 선포세포에 존재하는 2형 미각 감수기가 쓴맛의 자극에 반응하여 신호를 세포 내부로 전달한다는 것을 의미한다. 흥미롭게도 von Ebner 타액선에서 분리된 선포세포는 악하선에서 분리된 선포세포에 비해 더 민감한 반응을 보이는 것을 확인하였다(Fig. 7과 8). 이러한 두 가지 종류의 선포세포의 미각의 감지에 대한 기능적인 차이의 원인을 규명하기 위해서는 미각 감수기 및 하부 신호전달 단백질에 대한 정량적인 연구가 추가적으로 필요할 것으로 생각된다.

쓴맛에 대한 반응과 달리, 두 타액선에서 분리된 선포

세포는 1형 미각 감수기에 인지되는 물질인 saccharine에 반응하지 않았다. 이러한 결과는 다음의 세 가지 가설로 설명될 수 있다. 첫째는, 타액선에서 기능적인 T1R2 미각 감수기가 발현되지 않을 가능성이다. 본 연구에서는 T1R2 미각 감수기의 발현을 mRNA 수준에서 확인하였지만 미각 감수기에 특이적인 항체가 존재하지 않기 때문에 단백질 수준에서 발현을 확인할 수 없었다. 둘째는 T1R2는 발현 되지만 단맛의 인지에 필요한 상대 감수기인 T1R3가 발현되지 않을 가능성이다. 셋째는, 미각 감수기는 문제없이 발현이 되지만 하위의 신호 전달이 이루어지지 않을 가능성이다. 그러나, 본 연구에서 타액선 선포세포에 미각의 전달에 필수적인 신호전달 단백질인 $G_{\alpha}$gust와 PLC$\beta$2가 발현됨을 확인하였고, 쓴맛의 신호는 정상적으로 $Ca^{2+}$ 활성을 나타내기 때문에 세 번째 가능성은 낮을 것으로 추정된다. 타액선에서 1형 미각 감수기에 의한 미각신호 전달에 대한 정확한 분석을 위해서는 다른 종류의 1형 미각 감수기인 T1R1과 T1R3의 mRNA 수준에서의 발현 조사가 필요하며, 더 나아가서 각 미각 감수기에 특이적인 항체를 제조하여 단백질 수준에서 발현을 확인하는 것이 필요할 것으로 사료된다.

타액선에 미각 감수기가 존재한다는 것은 본 연구에서 처음 밝힌 것으로, 아직까지 타액선에서 미각 감수기가 어떤 역할을 수행하는지는 전혀 알려진 바 없다. 타액은 화학물질을 미각 감수기로 운반하는 역할을 할 뿐만 아니라 미각의 전환과정에서도 매우 중요한 역할을 담당한다. 타액 분비의 조절은 개체가 미각이나 후각 등 여러 가지 자극에 반응하여 중추신경계를 통하여 이루어지는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 타액선의 선포세포가 자체적으로 쓴맛을 감지하여 세포내 $Ca^{2+}$신호가 활성화되는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 중추신경계를 경유하지 않고 선포세포가 미각 감수기를 통하여 쓴맛에 반응하여 자체적으로 타액의 분비를 조절하는 기전이 존재할 가능성 을 시사한다. 특히 생명체가 생체로 들어오는 독성 물질을 보다 민감하게 인지하기 위하여 선포세포가 자체적인 미각을 감지하는 기능이 발달되었을 가능성이 있다. 이러한 가능성의 검증을 위해서는 선포세포에서 쓴맛의 감지와 타액의 분비가 연계되어 일어나는지에 대한 기능적인 연구가 추가로 필요할 것으로 생각된다.

## 결 론

미각은 동물의 생존에 필수적인 감각으로, 영양분의 섭취 뿐 아니라 유해한 물질의 섭취를 방지하는 역할을 하고 있다. 이러한 기능을 하는 미각 감수기의 구조 및 분포에 대해서는 최근 들어서야 규명되고 있다. 미각 감수기는 주로 맛봉오리에 존재하고, 이 맛봉오리는 대개 혀의 등 쪽 표면에 형성되며 일부가 구개혀궁, 구개, 후두덮개의 뒷면, 입인두의 뒤쪽에 존재한다. 미각 감수기는 이와 같이 주로 미각기관 존재하고, 비 미각기관에 존재한다는 보고는 거의 없다. 타액선은 미각과 밀접한 관계를 갖는 장기로 미각의 전환에 중요한 역할을 하고 있다. 본 연구는 타액선에 미각 감수기의 존재여부를 확인하기 위하여, 유전자 검색 및 RT-PCR, 면역조직화학적 염색, 세포내 $Ca^{2+}$활성도 검사를 통하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

첫째, 유전자 검색과 RT-PCR을 통하여 von Ebner 타액선과 악하선에서 미각 감수기 mRNA가 발현되는 것을 관찰하였다.

둘째, 면역조직화학적 염색을 통해 미각 감수기의 신호전달 단백질인 $G_{\alpha}$gust와 PLC$\beta$2 의 존재를 확인하여, 미각신호 전달을 위한 신호전달계가 존재하는 것을 관찰하였다.

셋째, 세포내 $Ca^{2+}$활성도 검사를 통하여, von Ebner 타액선과 악하선의 선포세포가 쓴맛에 반응하여 $Ca^{2+}$ 활성이 증가하였다. 그러나 단맛에는 반응을 보이지 않았다.

이상의 결과를 종합해 볼 때, von Ebner 타액선과 악하선에 미각 감수기가 존재하며 실제 이중 2형 미각 감수기에 의한 쓴맛이 감지되어 신호전달이 일어나는 것으로 판단된다. 추가적인 연구를 통해 선포세포에서 미각 감수기의 역할과 타액분비와의 기능적 관계에 대한 규명이 이루어져야 할 것으로 생각된다.

## 감사의 글

본 연구는 2004년도(KRF-2004-042-E00122) 한국학술진흥재단 협동 연구 지원에 의하여 연구되었음.

## 참 고 문 헌

김경년, 천상우 : 특수감각, 전국치과대학(원)생리학교수협의회 저 : 치의학을 위한 생리학 , pp 404-414,188-201, 대한 나래출판사, 서울 2005.

김경년 : Patch clamp 를 위한 von Ebner 선포세포분리방법의 개발. 대한치과의사협회지, 38:378-384, 2000.

Adler E, Hoon MA, Mueller KL, Chandrashekar J, Ryba NJ, Zuker CS: A novel family of mammalian taste receptors. Cell 100:693-702, 2000.

Bradely RM, and Beidler LM: Saliva: its role in taste function. in Handbook of olfaction and gustation, 2nd ed. edited by Doty, RL, pp 639-650, Marcel Dekker, NewYork, 2003.

Bromley SM, and Doty RL: Clinical disorders affecting taste: Evaluation and management. in Handbook of olfaction and gustation, 2nd ed. edited by Doty, RL, pp 935-958, Marcel Dekker, NewYork, 2003.

Finger TF, Bottger B, Hansen A, Anderson KT, Alimohammadi, and Silver WL: Solitary chemoreceptor cells in the nasal cavity serve as sentinels of respiration. PNAS 100:8981-

8986, 2003.

Gilbertson TA, Damak S, and Margolskee RF: The molecular physiology of the taste transduction. Curr Opin Neurobiol. 10: 519-527, 2000.

Gilbertson TA: Hypoosmotic stimuli activate a chrolide conductance in rat taste cells Chem Senses, 27:383-394, 2002.

Hofer D, and Drenckhahn D: Identification of the taste cell G-protein, alpha-gustducin, in brush cells of the rat pancreatic duct system. Histochem Cell Biol. 110: 303-309, 1998.

Hofer D, Puschel B, and Drenckhahn D: Taste receptor-like cells in the rat gut identified by expression of alpha-gustducin. PNAS 93: 6631-6634, 1996.

Hoon MA, Adler E, Lindemeir J, Battey JF, Ryba NJ, and Zuker CS: Putative mammalian taste receptors: a class of taste-specific GPCRs with distinct topographic selectivity. Cell 96:541-551, 1999.

Huang L, Shanker YG, Dubauskaite J, Zheng JZ, Yan W, Rosenzweig S, Spielman AI, Max M, and Margolskee RF: Gγ13 colocalized with gustducin in taste receptor cells and mediates IP3 responses to bitter denatonium. Nature Neurocsi 2:1055-1062, 1999

Li X, Staszewski L, Xu H, Durick K, Zoller M, and Adler E: Human receptors for sweet and umami taste. PNAS 99: 4692-4696, 2002.

Lindemamm B: Taste reception. Physiol. Rev. 76:719-766, 1996.

McLaughlin SK, McKinnon PJ, and Margolskee RF: Gustducin is a taste-cell-specific G protein closely related to the transducins. Nature. 357:563-569, 1992.

Margolskee RF: The biochemistry and molecular biology of taste transduction. Curr Opin Neurobiol 3, 526, 1993a.

Mtsunami H, Montmayeur JP, and Buck LB: A family of candidate taste receptors in human and mouse. Nature 404:601-604 2000.

Morris-Wiman J, Sego R, Brinkley L, and Dolce C: The effect of sialoadenectomy and exogenous EGF on taste bud morphology and maintenance. Chem Senses 25:9-19, 2000.

Nelson G, Hoon MA, Chandrashekar J, Zhang Y, Ryba NJ, and Zuker CS: Mammalian sweet taste receptors. Cell 106:381-390, 2001.

Perez CA, Huang L, Rong M, Kozak JA, Preuss AK, Zhang H, Max M, and Margolskee RF: A transient receptor potential channel expressed in taste receptor cells. Nat Neurosci 5:1169-1176, 2002.

Rossler P, Kroner C, Freitag J, Nobe J, and Breer H,: Identification of a phospholipase C beta subtype in rat taste cells. Eur J Cell Biol 77:253-261, 1998.

Ruiz-Avila L, Wong GT, Damak S, and Margolskee RF: Dominant loss of responsiveness to sweet and bitter compounds caused by a single mutation in •·-gustducin. PNAS 98: 8868-8873, 2001.

Sbarbati A, Merigo F, Benati D, Tizzano M, Bernardi P, and Osculati F: Laryngeal chemosensory clusters. Chem Sens. 29:683-92, 2004.

Schmale H, Holtgreve-Grez H, and Christiansen H: Possible role for salivary gland protein in taste reception indicated by homology to lipophilic-ligand carrier proteins. Nature 343: 366-369, 1990.

Spielman AI: Interaction of saliva and taste. J Dent Res 69: 838-843, 1990.

Wong,GT, Gannong KS, and Margolskee RF: Transduction of bitter and sweet taste by gustducin. Nature 381:796-800, 1996

Wu SV, Rozengurt N, Yang M, Young SH, Sinnett-Smith J, and Rozengurt E: Expression of bitter taste receptors of T2R family in the gastrointestinal tract and enterendocrine STC-1 cells. PNAS 99:2392-2397, 2002.

Yan W, Sunavala G, Rosenzweig S, Dasso M, Brand JG, and Spielman AI: Bitter taste transduced by PLCβ2-dependent rise in IP3 and α-gustducin -dependent fall in cyclic neucleotides. Am J Physiol Cell Physiol 280:C742-C751, 2001

Zhang Y, Hoon MA, Chandrashekar J, Mueller KL, Cook B, Wu D, Zuker CS, and Ryba NJ: Coding od sweet, bitter, and umami tastes: different receptor cells sharing similar signaling pathways. Cell 112:293-301, 2003.