

助成番号 0915

複数の TRP イオンチャネル欠損マウスの作出とその塩味嗜好性の行動学的評価

石丸 喜朗

東京大学大学院農学生命科学研究科応用生命化学専攻

概要 最近10年の研究から、5基本味のうち、甘味、苦味、うま味に関しては、味覚受容体 T1R・T2R ファミリーと下流のシグナル伝達因子群に関する知見が得られている。一方、塩味と酸味に関しては、いくつかの受容体候補分子が報告されているが、いずれも真の味覚受容体である決定的な証拠は示されていない。

哺乳類の塩味受容機構に関しては、塩溶液刺激に対する味神経の電気生理学的解析から、アミロライド感受性とは異なる非感受性という2種類の経路が存在すると考えられている。ごく最近、アミロライド感受性塩味受容体の分子実体は、以前から候補分子として提唱されてきた ENaC チャネルであることが実証された (Chandrasekar *et al.*, *Nature*, 2010)。アミロライド非感受性の塩味受容体としては、TRPV1t (TRPV1 の味覚バリエント) が候補として挙げられているが、塩味受容における TRPV1t の役割は統一した見解が得られていない。酸味受容機構に関しては、PKD1L3/PKD2L1 が酸味受容体の有力候補であることを研究代表者は世界に先駆けて提唱してきた (Ishimaru Y *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006)。また、TRPV1 は口腔内の体性感覚神経終末に存在し、低 pH にも応答することから、口腔内で体性感覚として酸の受容に関わる可能性も考えられる。本研究では、PKD1L3、PKD2L1、TRPV1 の各遺伝子破壊 (KO) マウス、及び、PKD2L1 と TRPV1 の二重 KO マウスを用いて、塩味や酸味を含む味覚受容におけるこれらの遺伝子の役割を解明することを目的とした。

まず、チャネル機能に重要と推察される推定ポア領域を欠失させた PKD1L3 KO マウスと PKD2L1 KO マウスを作出した。PKD2L1 KO マウスは、購入した TRPV1 KO マウスと交配させて、二重ヘテロマウスを獲得した。この二重ヘテロマウス同士の交配によって、二重 KO マウスを作出した。次に、塩味や酸味を含む味覚受容において、これらの KO マウスがどのような表現型を示すかを調べるために、行動学的な二瓶嗜好テストを行った。その結果、PKD1L3 KO マウス、PKD2L1 KO マウス、及び、PKD2L1 と TRPV1 の二重 KO マウスは、5 基本味溶液に対して野生型マウスと同様の行動を示した。一方、TRPV1 KO マウスは、100 mM と 300 mM の NaCl 溶液と 10 mM のクエン酸溶液を、野生型マウスほど忌避しない傾向が見られた。さらに、味神経応答解析では、PKD2L1 KO マウスのクエン酸、塩酸、酢酸に対する鼓索神経応答が、神経束全体と単一神経繊維の両方の場合で、野生型マウスと比較して有意に抑制された。

以上の結果から、PKD2L1 は生体内で実際に酸味受容体として機能することが実証された。また、塩味や酸味の受容には PKD2L1 や TRPV1 以外の分子機構も存在し、体性感覚など味蕾組織以外を介する受容機構の存在が示唆された。

1. 研究目的

ヒトを含め動物は、食物の栄養価(糖、アミノ酸含量)、毒性(苦味強度)、塩濃度、酸性度(腐敗度)を評価するために味覚系を利用している。口腔内に取り込まれた食物は、主に舌上皮に存在する味蕾という組織でまず受容される。末梢の味蕾において直接味物質を受容する味覚受容体を同定することは、味覚の研究における最重要課題

と言える。味覚は、甘味、旨味、苦味、酸味、塩味の5基本味に分類される。近年、味蕾における甘、旨、苦味受容の分子機構に関しては、受容体からその下流のシグナル伝達因子など、多くの知見が得られている。一方、酸味と塩味の受容に関しては、いくつかの受容体候補分子が報告されているが、いずれも真の受容体である証拠は示されていない。例えば、酸味受容体に関しては、ラット

においてASIC2(Ugawa *et al.*, 1998; Ugawa *et al.*, 2003)、マウスではHCN1とHCN4(Stevens *et al.*, 2001)、two-pore domain K⁺ チャネル(Lin *et al.*, 2004; Richter *et al.*, 2004)、Na⁺/H⁺ exchanger(Vinnikova *et al.*, 2004)といった分子が提唱されていた。しかし、どの候補分子も、甘・旨味受容体 T1R ファミリーと苦味受容体 T2R ファミリーで示された以下の一連の過程によっては証明されていない。証明には、1) 受容体候補分子が味蕾細胞特異的で強い発現を示すこと、2) ヘテロな細胞系を用いた機能解析において味物質に応答すること、3) 受容体をコードする遺伝子破壊(KO)マウスの作出と表現型解析によって *in vivo* において実際に味覚受容体として機能することの実証が不可欠である。酸味・塩味受容体の同定こそ、現在、味覚研究分野で最も必要とされていることの一つであった。

このような状況で、2006年、本研究代表者らのグループを含む2つのグループがそれぞれ独立に、新しい酸味受容体の有力な候補 TRP チャネル分子に関する論文を発表した(Huang *et al.*, 2006; Ishimaru *et al.*, 2006)。研究代表者らは、33種類ある広義の TRP チャネルファミリー分子に関して、マウス有郭乳頭味蕾における網羅的な発現解析を行った結果、これまで報告されていた *TRPM5* に加えて、2つの分子 *PKD1L3* と *PKD2L1* が味蕾特異的に発現することを発見した。*PKD1L3* と *PKD2L1* は味蕾中の同じ細胞(約 20%)に共発現し、これらの細胞は、甘・苦・旨味を受容する細胞とは異なる細胞であった。抗 *PKD2L1* 抗体を用いた免疫組織染色から、*PKD2L1* タンパク質は実際に味を受容する味孔付近に局在した。HEK293 細胞に発現させた場合、*PKD1L3* と *PKD2L1* はヘテロマーを形成し、両分子の共発現が、細胞膜表面における機能的な発現に必要であった。HEK293 細胞を用いた機能解析(Ca²⁺ イメージング法とパッチクランプ法)では、両分子を共発現させた場合にのみ、酸味物質による刺激に応答したが、他の 4 基本味物質には応答しなかった。以上の実験結果に基づいて、*PKD1L3/PKD2L1* が酸味受容体候補であることを初めて提唱した。

一方、Zuker らのグループは、*PKD2L1* を発現する細胞を毒素によって特異的に死滅させる遺伝子導入マウスを作製して、各種味物質に対する味神経応答を計測し、遺伝子導入マウスは酸味物質だけに応答しないことを示した。2つのグループの実験結果を合わせて考察すると、

PKD1L3/PKD2L1 が酸味受容体であることが強く推察された。なお、味蕾における両遺伝子の発現に関しては、さらに別のグループによっても報告されていた(LopezJimenez *et al.*, 2006)。

哺乳類の塩味受容機構に関しては、塩刺激に対する味神経の電気生理学的解析から、アミロライド感受性と非感受性という 2 種類の経路が存在すると考えられている。それぞれの塩味受容体としては、ENaC と TRPV1t (TRPV1 の味覚バリエント)が候補として挙げられている。後者に関しては、ENaC 特異的阻害剤ベンザミル存在下の塩刺激に対する鼓索神経応答が、野生型では観察されたのに対して、*TRPV1* KO マウスでは消失したという実験結果が根拠となっている(Lyall *et al.*, 2004)。これに反して、二瓶嗜好テストによる行動学的解析では *TRPV1* KO マウスは高濃度の NaCl と KCl を野生型よりも嗜好した(Ruiz *et al.*, 2006)。また、塩感知の閾値は、野生型では ENaC 阻害剤アミロライド存在下で1桁上昇(つまり感度は低下)するのに対して、*TRPV1* KO マウスではアミロライド存在下でも、アミロライド非存在下における野生型と同程度を維持していた。このように、TRPV1t の塩味受容における役割は現時点で統一した見解が得られていない。さらに、TRPV1 は口腔内の体性感覚神経終末に存在し、低 pH にも応答することから、口腔内で体性感覚として酸の受容に関わる可能性も考えられる。

本研究では、*PKD1L3*、*PKD2L1*、*TRPV1* の各遺伝子破壊(KO)マウス、及び、*PKD2L1* と *TRPV1* の二重 KO マウスを用いて、塩味や酸味を含む味覚受容におけるこれらの遺伝子の役割を解明することを目的とした。

2. 研究方法

2.1 *PKD1L3* KO マウス、*PKD2L1* KO、及び、*PKD2L1/TRPV1* 二重 KO マウスの作出

まず、*PKD1L3* と *PKD2L1* の遺伝子破壊(KO)マウスを作出した。*PKD1L3* と *PKD2L1* のコード領域は、それぞれ約 60 kb と約 45 kb というゲノム上の広範囲を占める。両遺伝子の KO マウスを作出する際に、コード領域全長を欠失させることは困難であるため、機能に必要な不可欠と予想される推定ポア領域を含む、7 番目の膜貫通領域から 11 番目の膜貫通領域までと、1 番目の膜貫通領域から 6 番目の膜貫通領域までをそれぞれ欠失させた(図 1)。交配し

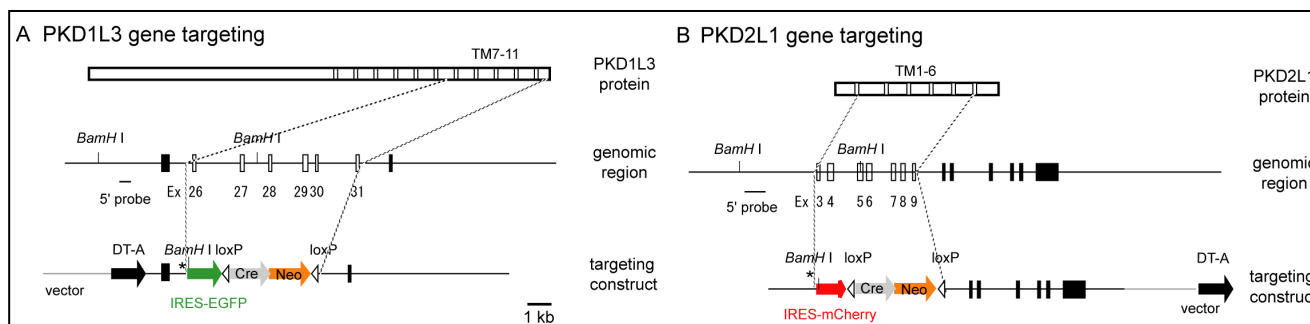


図 1

て得られた仔マウスの尻尾からゲノム DNA を抽出し、サザンブロット法や PCR 法を用いて、*PKDIL3* や *PKD2L1* に関する各個体の遺伝子型を判定した。

次に、*PKD2L1* KO マウスとジャクソン研究所から購入した *TRPV1* KO マウス(系統 #3770)を交配し、二重ヘテロマウス(*PKD2L1* (+/-); *TRPV1* (+/-))を獲得した。この二重ヘテロマウス同士の交配によって、二重 KO マウス(*PKD2L1* (-/-); *TRPV1* (-/-))が得られた。

2. 2 KO マウスの有郭乳頭味蕾における *PKD1L3*、*PKD2L1*、*TRPM5* の mRNA 発現解析

PKDIL3 KO マウスと *PKD2L1* KO マウスの有郭乳頭味蕾における *PKDIL3*、*PKD2L1*、及び、甘・苦・旨味受容細胞に発現する *TRPM5* の mRNA 発現を *in situ* ハイブリダイゼーション法を用いて解析した。

2. 3 各 KO マウスを用いた二瓶嗜好テスト

クエン酸(酸味物質)、NaCl(塩味物質)、グルタミン酸ナトリウム(旨味物質)、デナトニウム(苦味物質)、スクロース(甘味物質)を各基本味の代表として用いて、*PKDIL3*(+/+), (+/-), (-/-)マウス、*PKD2L1*(+/+), (+/-), (-/-)マウス、*TRPV1*(-/-)マウス、*PKD2L1*(-/-)/*TRPV1*(-/-)マウスの5基本味に対する嗜好性を二瓶嗜好テストによって調べた。ここでは、48 時間に摂取した水と味物質溶液の合計に対する味物質溶液の摂取量の割合を、マウスのその味物質溶液に対する嗜好率と定義して評価した。味物質溶液に対する嗜好率は、それぞれの遺伝子型ごとに2群間で、スチューデントの *t* 検定を行った。

2. 4 各 KO マウスを用いた味神経応答解析

PKDIL3 KO マウスと *PKD2L1* KO マウスを用いて、酸味物質を含む様々な味物質を摂取した際の味神経(鼓索神経、舌咽神経)の電気応答を記録する味神経応答解析を行った。

3. 研究結果

3. 1 *PKD1L3* KO マウスと *PKD2L1* KO マウスの作出

研究代表者らが世界に先駆けて発見した酸味受容体候補 *PKD1L3* と *PKD2L1* の KO マウスの獲得に成功した。*PKDIL3* と *PKD2L1* のヘテロ変異とホモ変異マウスはいずれも、同腹子の野生型マウスと比較して、加齢に伴って同程度に体重が増加し、異常な外見や行動も観察されなかった。また、乳頭上皮と味蕾や味細胞の形態も野生型と比較して正常であった。

3. 2 KO マウスの有郭乳頭味蕾における *PKD1L3*、*PKD2L1*、*TRPM5* の mRNA 発現解析

次に、有郭乳頭味蕾における *PKDIL3*、*PKD2L1* および甘・苦・旨味受容細胞に発現する *TRPM5* の mRNA 発現を *in situ* ハイブリダイゼーション法を用いて解析した(図 2, 図 3)。*PKDIL3*(+/+), (+/-), (-/-)マウスでは、*PKDIL3* に関しては、ヘテロ変異マウスでは野生型マウスと比べてシグナルが弱く、ホモ変異マウスではシグナルが観察されなかった。一方、*PKD2L1* と *TRPM5* に関しては、ヘテロ変異とホモ変異マウス共に、野生型マウスと同程度の割合の味蕾細胞に、同程度の強さのシグナルが観察された。また、*PKD2L1*(+/+), (+/-), (-/-)マウスでは、*PKD2L1* に関しては、ヘテロ変異マウスでは野生型マウスと比べてシグナルが少し弱く、ホモ変異マウスではシグナルが観察されなかった。一方、*PKDIL3* と *TRPM5* に関しては、ヘテロ変異とホモ変異マウスともに、野生型マウスと同程度の割合の味蕾細胞に、同程度の強さのシグナルが観察された。以上の結果は、両遺伝子のホモ変異マウスにおいて、それぞれ欠失させた遺伝子は発現しないがそれ以外の遺伝子の発現は正常で、甘・苦・旨味受容細胞と酸味受容細胞自体は、野生型と比較して正常であることを示している。

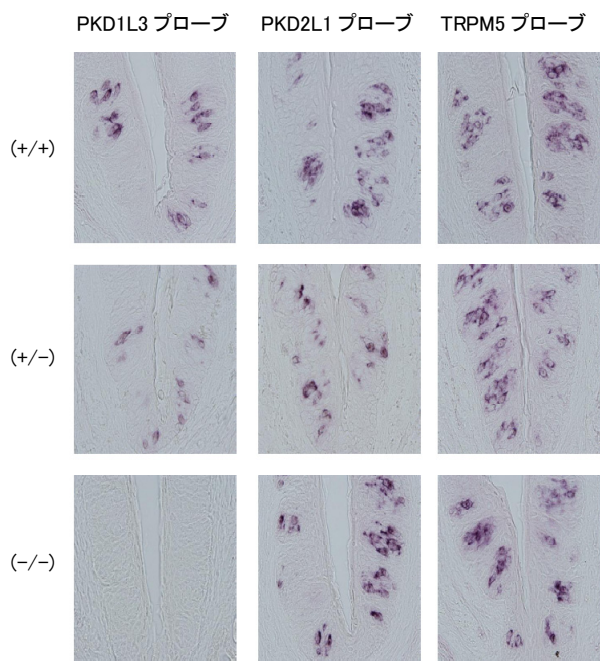


図 2. PKD1L3 (+/+), (+/-), (-/-)マウス

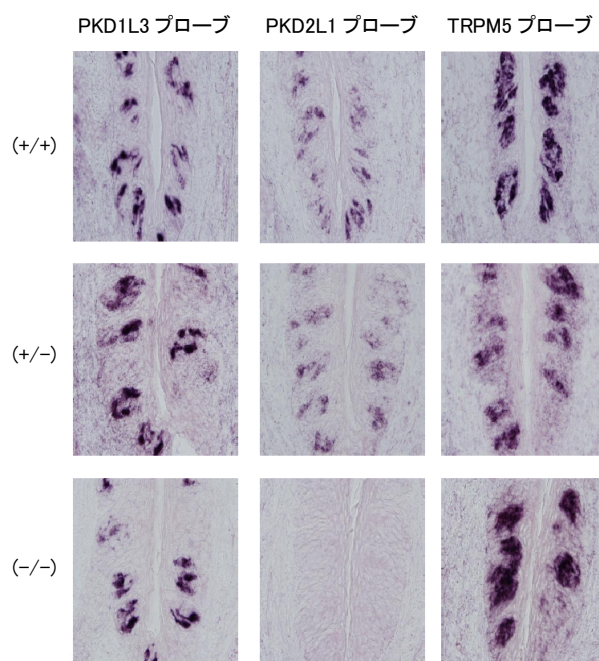


図 3. PKD2L1 (+/+), (+/-), (-/-)マウス

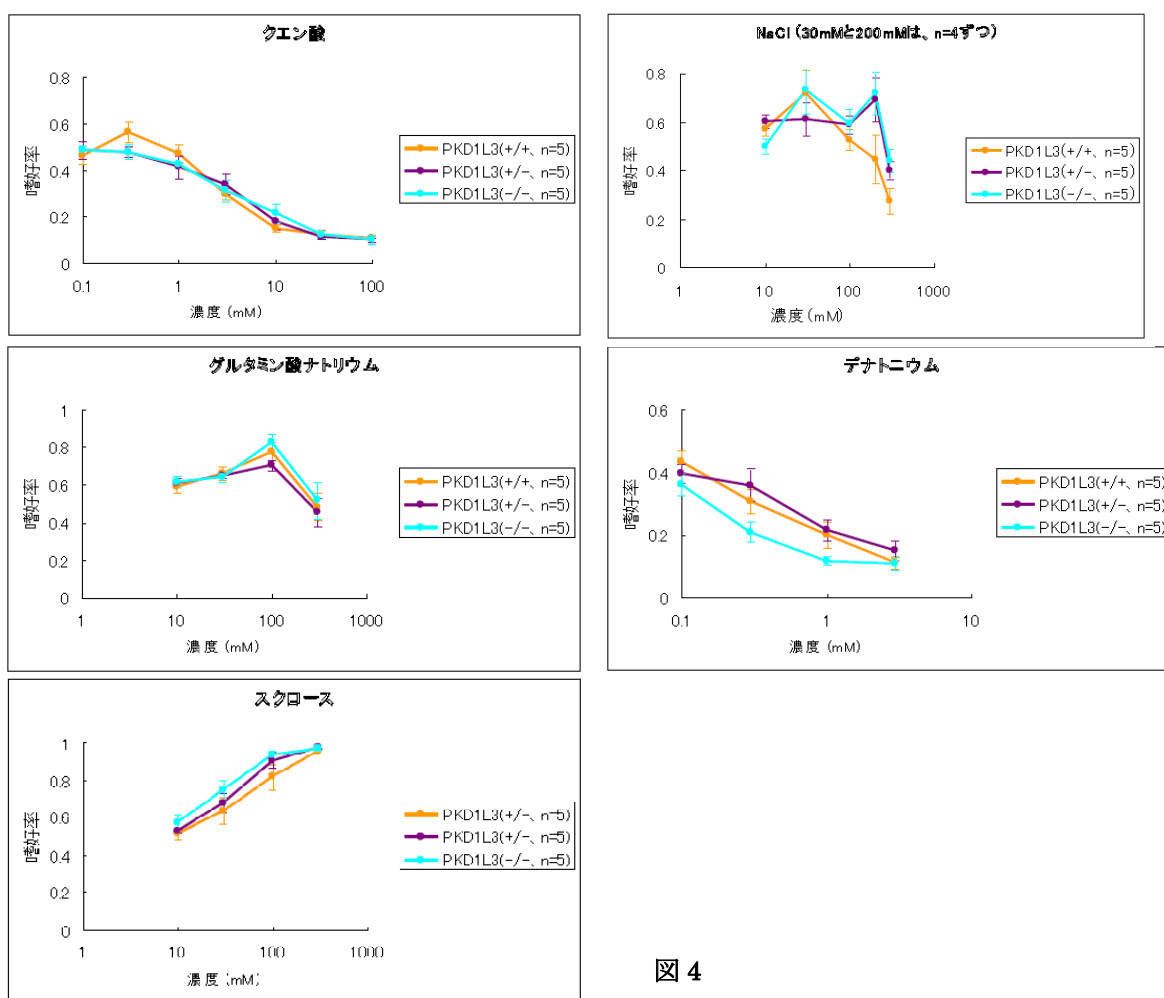


図 4

3.3 各 KO マウスを用いた二瓶嗜好テスト

PKD1L3 (+/+), (+/-), (-/-)マウスでは、10 mM NaCl と 0.3 mM、1 mM デナトニウムに関して、ヘテロ変異マウスとホモ変異マウス間に有意差 ($p < 0.05$) が見られ、300 mM NaCl において、野生型とホモ変異マウス間に有意差 ($p < 0.05$) が見られた (図 4)。

一方、PKD2L1 (+/+), (+/-), (-/-)マウスでは、全ての味物質溶液に関して遺伝子型間で有意差は見られなかった (図 5)。

TRPV1 KO マウスは、100 mM と 300 mM の NaCl 溶液と 10 mM のクエン酸溶液を、野生型マウスほど忌避しない傾向が見られた (図 6)。PKD2L1 と TRPV1 の二重 KO マウスは、クエン酸と NaCl 溶液に関して野生型マウスと同様の行動を示した。

3.4 味神経応答解析

酸味物質を含む様々な味物質を投与した際の味神経

(鼓索神経と舌咽神経)の電気応答を記録する味神経応答解析を行った。その結果、PKD2L1 KO マウスでは、クエン酸、塩酸、酢酸に対する鼓索神経応答が、神経束全体と単一神経繊維の両方の場合で、野生型マウスと比較して有意に抑制されたのに対して、PKD1L3 KO マウスでは酸刺激応答が野生型マウスと同様に観察された。これは、鼓索神経が投射する茸状乳頭と口蓋の味蕾における両遺伝子の発現の有無を反映していると考えられる。一方、味神経以外の体性感覚神経などを鼓索神経よりも多く含む舌咽神経では、いずれの KO マウスでも野生型マウスと同様の酸刺激に対する応答を示した。さらに、塩味、甘味、苦味、うま味物質に対しては、鼓索神経と舌咽神経の両方で、いずれの KO マウスも野生型と同様の応答を示した。以上の実験結果から、PKD2L1 は、生体内で実際に酸味受容体として機能することが実証された (投稿準備中)。

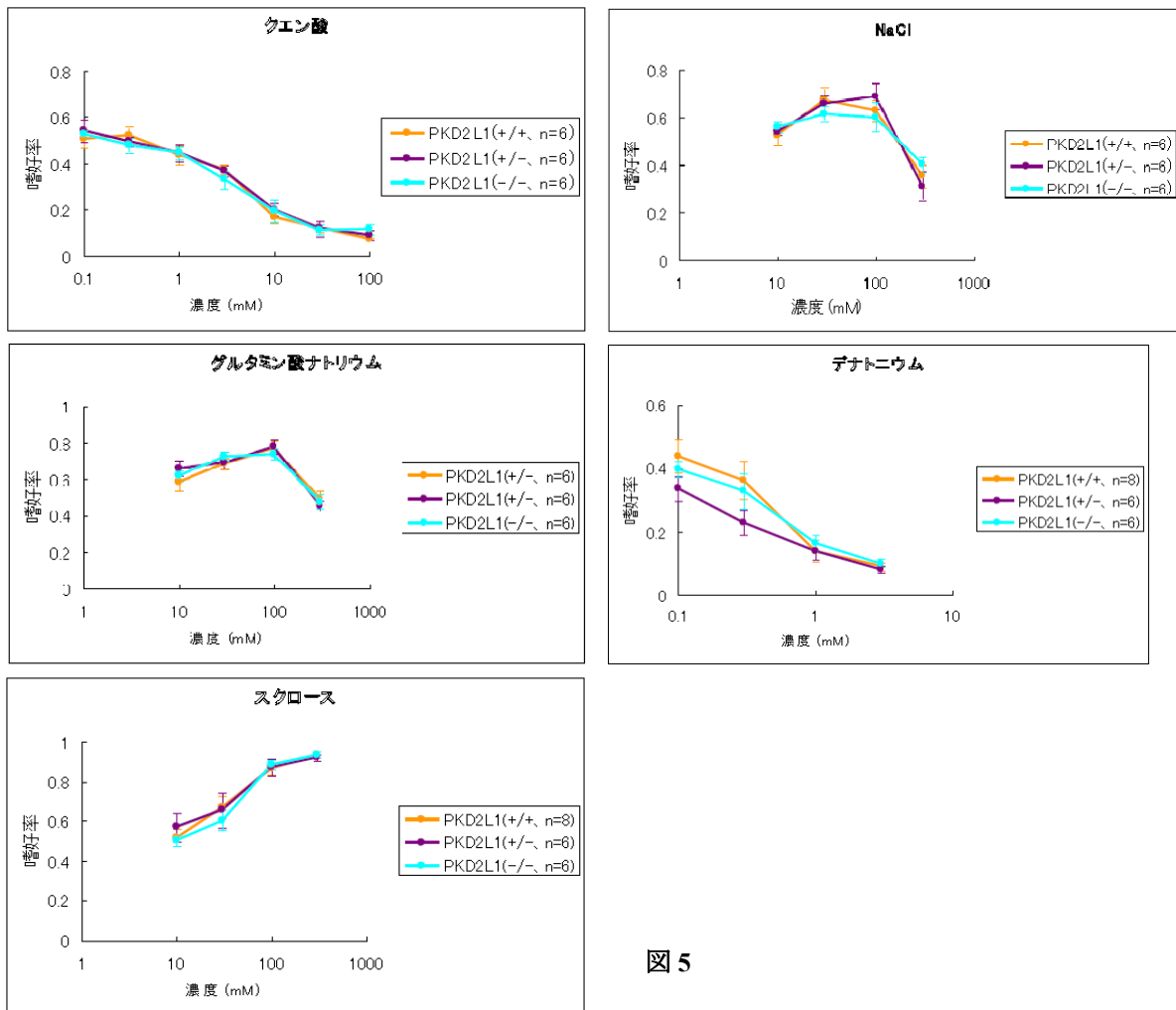


図 5

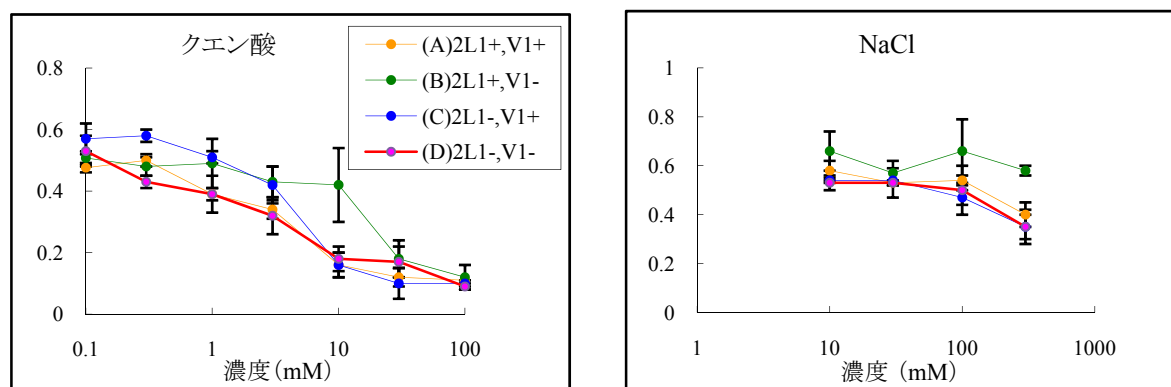


図 6

4. 考察

本研究では、*PKD1L3*、*PKD2L1*、*TRPV1* の各遺伝子破壊(KO)マウス、及び、*PKD2L1*と*TRPV1*の二重KOマウスを用いて、塩味や酸味を含む味覚受容におけるこれらの遺伝子の役割を解明することを目的とし、まず、二瓶嗜好テストという味覚行動に関する解析を行った。本研究で行った行動解析から、*PKD1L3* KOマウス、*PKD2L1* KOマウスおよび*PKD2L1*と*TRPV1*の二重KOマウスは、塩味と酸味物質を含むいずれの味物質溶液に対しても野生型と同様の行動を示すと総合的に判断した。

次に、電気生理学的な味神経応答解析によって、KOマウスの表現型解析を行った。味神経応答解析では、*PKD2L1* KOマウスのクエン酸、塩酸、酢酸に対する鼓索神経応答が、神経束全体と単一神経繊維の両方の場合で、野生型マウスと比較して有意に抑制された。酸味に関しては、酸味刺激に対する味神経応答が消失するにも関わらず、二瓶嗜好テストやリッキングテストでは野生型と同様に忌避行動を示す遺伝子破壊マウスが報告されている(Finger *et al.*, 2005)。ATP受容体であるP2X₂/P2X₃二重KOマウスを用いた解析から、ATPが味細胞から味神経へ放出される神経伝達物質として用いられていることが示された。P2X₂/P2X₃二重KOマウスでは、クエン酸を含む5基本味物質いずれの味刺激に対しても、味神経(鼓索神経と舌咽神経)応答が消失した。しかし興味深いことに、二瓶嗜好テストでは、二重KOマウスは甘味、苦味、旨味物質に対する感受性が低下したが、高濃度のクエン酸に対しては野生型と同様に忌避する行動を示した。この実験結果から、味蕾を介した機構だけではなく、喉頭、咽頭、食道、小腸など味蕾以外に存在する受容体によっても酸

が感知されることが示唆された。

以上の結果から、*PKD2L1*は生体内で実際に酸味受容体として機能することが実証された。また、塩味や酸味の受容には*PKD2L1*や*TRPV1*以外の分子機構も存在する。これまでに解明された甘味、苦味、旨味の受容機構とは異なり、味蕾で感知される以外にも、体性感覚や喉頭の孤立化学感覚、あるいは嗅覚などのより複雑で多元的な機構から構成されていると考えられる。

5. 今後の課題

塩味や酸味の受容における*PKD2L1*や*TRPV1*、ENaC以外の分子機構と、味蕾以外で感知される仕組みを解明することが今後の課題として挙げられる。塩味や酸味に関して、味覚受容体、味細胞内シグナル伝達系、味細胞と味神経のシナプス連絡、中枢神経系での味認識処理といった哺乳類における塩味や酸味感覚の全体像を分子細胞生物学的に解明することが待ち望まれる。

文献

- Finger, T.E., Danilova, V., Barrows, J., Bartel, D.L., Vigers, A.J., Stone, L., Hellekant, G., and Kinnamon, S.C. (2005). ATP signaling is crucial for communication from taste buds to gustatory nerves. *Science* 310, 1495-1499.
- Huang, A.L., Chen, X., Hoon, M.A., Chandrashekar, J., Guo, W., Trankner, D., Ryba, N.J., and Zuker, C.S. (2006). The cells and logic for mammalian sour taste detection. *Nature* 442, 934-938.
- Ishimaru, Y., Inada, H., Kubota, M., Zhuang, H., Tominaga, M., and Matsunami, H. (2006). Transient receptor

- potential family members PKD1L3 and PKD2L1 form a candidate sour taste receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* *103*, 12569-12574.
- Lin, W., Burks, C.A., Hansen, D.R., Kinnamon, S.C., and Gilbertson, T.A. (2004). Taste receptor cells express pH-sensitive leak K^+ channels. *J Neurophysiol* *92*, 2909-2919.
- LopezJimenez, N.D., Cavenagh, M.M., Sainz, E., Cruz-Ithier, M.A., Battey, J.F., and Sullivan, S.L. (2006). Two members of the TRPP family of ion channels, Pkd1l3 and Pkd2l1, are co-expressed in a subset of taste receptor cells. *J Neurochem* *98*, 68-77.
- Lyall, V., Heck, G.L., Vinnikova, A.K., Ghosh, S., Phan, T.H., Alam, R.I., Russell, O.F., Malik, S.A., Bigbee, J.W., and DeSimone, J.A. (2004). The mammalian amiloride-insensitive non-specific salt taste receptor is a vanilloid receptor-1 variant. *J Physiol* *558*, 147-159.
- Richter, T.A., Dvoryanchikov, G.A., Chaudhari, N., and Roper, S.D. (2004). Acid-sensitive two-pore domain potassium (K2P) channels in mouse taste buds. *J Neurophysiol* *92*, 1928-1936.
- Ruiz, C., Gutknecht, S., Delay, E., and Kinnamon, S. (2006). Detection of NaCl and KCl in TRPV1 knockout mice. *Chem Senses* *31*, 813-820.
- Stevens, D.R., Seifert, R., Bufe, B., Muller, F., Kremmer, E., Gauss, R., Meyerhof, W., Kaupp, U.B., and Lindemann, B. (2001). Hyperpolarization-activated channels HCN1 and HCN4 mediate responses to sour stimuli. *Nature* *413*, 631-635.
- Ugawa, S., Minami, Y., Guo, W., Saishin, Y., Takatsuji, K., Yamamoto, T., Tohyama, M., and Shimada, S. (1998). Receptor that leaves a sour taste in the mouth. *Nature* *395*, 555-556.
- Ugawa, S., Yamamoto, T., Ueda, T., Ishida, Y., Inagaki, A., Nishigaki, M., and Shimada, S. (2003). Amiloride-insensitive currents of the acid-sensing ion channel-2a (ASIC2a)/ASIC2b heteromeric sour-taste receptor channel. *J Neurosci* *23*, 3616-3622.
- Vinnikova, A.K., Alam, R.I., Malik, S.A., Ereso, G.L., Feldman, G.M., McCarty, J.M., Knepper, M.A., Heck, G.L., DeSimone, J.A., and Lyall, V. (2004). Na^+H^+ exchange activity in taste receptor cells. *J Neurophysiol* *91*, 1297-1313.

No.0915

Generation and Behavioral Analysis of Knockout Mice for Multiple TRP Ion Channels

Yoshiro Ishimaru

Department of Applied Biological Chemistry, Graduate School of Agricultural and Life Sciences,
The University of Tokyo

Summary

Among five basic taste qualities, much progress has been made in studies on molecular mechanisms of sweet, bitter, and umami (savory) taste including two families of taste receptors, T1R and T2R, and the downstream signal transduction molecules in the last decade. In contrast, none of candidate receptors had been demonstrated to be required for salt or sour taste detection *in vivo*, although several candidate salt and sour taste receptors have been reported.

In electrophysiological analyses of gustatory nerves, two pharmacologically distinct components of responses, amiloride-sensitive and amiloride-insensitive, were observed upon stimulation with NaCl, suggesting at least two different mechanisms for the detection of salty tastants. Recently, it has been proved that epithelial Na⁺ channels (ENaCs) function as amiloride-sensitive salt taste receptors (Chandrashekar *et al.*, *Nature*, 2010). Although TRPV1t, a variant of TRPV1, has been proposed as a candidate amiloride-insensitive salt taste receptor, the role of TRPV1t in salt taste remains controversial. We have been proposed PKD1L3/PKD2L1 as a candidate sour taste receptor (Ishimaru Y *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006). TRPV1 is expressed in the nerve terminals of somatosensory neurons and responds to low pH, raising the possibility that TRPV1 may have a role in sour detection as a somatosensor. In this study, we attempted to clarify the role of *PKD1L3*, *PKD2L1*, and *TRPV1* genes in taste detection including salt and sour taste using *PKD1L3*, *PKD2L1*, *TRPV1* KO mice and *PKD2L1/TRPV1* double KO mice.

We generated *PKD1L3* KO and *PKD2L1* KO mice, in which predicted pore regions which are supposed to be important for channel function are deleted. Double heterozygote mice were generated by crossing *PKD2L1* KO and commercially available *TRPV1* KO. Double KO mice were generated by crossing the double heterozygote mice. To examine the phenotype of these KO mice in taste detection including salt and sour taste, we next performed behavioral analysis such as two-bottle preference test. As a result, *PKD1L3*, *PKD2L1*, and *PKD2L1/TRPV1* double KO mice showed normal preference or avoidance behavior similar to the wild-type littermates for all the five basic taste qualities. In contrast, *TRPV1* KO mice consumed more 100 mM NaCl, 300 mM NaCl, and 10 mM citric acid solution than the wild-type mice. In gustatory nerve recording, both whole-nerve and single-fiber chorda tympani nerve responses of *PKD2L1* KO to sour solutions such as citric acid, HCl, and acetic acid significantly reduced compared with the wild-type mice.

Collectively, these results demonstrate that *PKD2L1* functions as a sour taste receptor *in vivo* and suggest that there are multiple mechanisms underlying sour and salt taste detection such as somatosensation other than via taste buds.