

高濃度塩に対する不快な塩味受容体分子の同定

若林 篤光

岩手大学理工学部化学生命理工学科

概要 動物にとって味覚は、食物の栄養価、毒性等の性質を評価し、摂取すべきかどうかを判断する重要な感覚機能のひとつである。ヒトをはじめとする哺乳類の味覚は、主として基本五味と呼ばれる5つの味(甘味、苦味、うま味、酸味、塩味)の組み合わせによって生じるとされる。塩味は、調理に使用する程度の低濃度(100 mM 以下)では好ましい味として感じられ、一方で海水レベルに近い高濃度では不快な味として感じられる。最近の研究により、好ましい塩味と不快な塩味に対しては、細胞レベルでも分子レベルでも、異なる受容経路が存在することが示されている。低濃度塩に対する味覚受容は味蕾中の専用細胞によって検出され、その受容体候補としてアミロライド感受性の上皮性 Na⁺イオンチャネル、ENaC が見つかっている。高濃度塩に対する不快な塩味については、細胞レベルでは味蕾中の苦味細胞、酸味細胞という2種類の不快な味の受容細胞によって検出されることが報告されているが、それらの細胞における分子レベルでの受容機構については全くわかっていない。本研究では我々が独自に見出した高濃度塩味の受容体候補遺伝子に関し、変異体マウスに対する二瓶選択嗜好実験による味覚応答行動の評価、*in situ* hybridization による味蕾における発現の検討、線虫発現系を用いた機能解析を行った。この結果、今回の研究では候補遺伝子産物の味蕾における発現を確認することはできなかったが、候補遺伝子の変異体マウスにおいては野生型に比べ不快な塩味応答行動、苦味、酸味応答行動が弱くなっていること、すなわち味に対する感受性が低下していることが明らかとなった。またマウス由来の候補遺伝子産物を線虫の化学感覚ニューロンに発現させた場合、細胞外の高濃度食塩に対し遺伝子導入依存的な神経応答が観察された。以上の結果は本遺伝子産物が高等動物における味覚受容体であるか、あるいは少なくとも味覚シグナルの伝達に関与することを示唆している。

1. 研究目的

1.1 味覚受容体

動物にとって味覚は、食物の栄養価、毒性等の性質を評価し、摂取すべきかどうかを判断する重要な感覚機能のひとつである。ヒトをはじめとする哺乳類の味覚は、主として基本五味と呼ばれる5つの味(甘味、苦味、うま味、酸味、塩味)の組み合わせによって生じるとされる。われわれは普段、当たり前のように味を感じているが、味を感じる分子メカニズムには、未解明な点が数多く残されている。

基本五味の受容の分子機構のうち、甘味、うま味と、苦味の受容体がそれぞれ、T1R1-T1R3(甘味、うま味)、T2Rs(約 40 種類、苦味)と呼ばれる GPCR(G タンパク質共役型受容体)であることは 2000 年代の初頭に相次いで

明らかにされ⁽¹⁻⁴⁾、またその後の研究によって下流で働く因子(PLCβ2, TRPM5 チャネル)も見つかっている⁽⁵⁾。また酸味については、有力な受容体候補分子として TRP ファミリーに属するイオンチャネルのひとつである PKD1L3/PKD2L1 が報告されている⁽⁶⁻⁸⁾。

塩味は、体内の塩分濃度を適切な範囲に調節する目的からか、調理に使用する程度の低濃度(100 mM 以下)では好ましい味として感じられ、一方で海水レベルに近い高濃度では不快な味として感じられる。最近の研究により、好ましい塩味と不快な塩味に対しては、細胞レベルでも分子レベルでも、異なる受容経路が存在することが示されている。低濃度塩に対する味覚受容は味蕾中の専用細胞によって検出され、その受容体候補としてアミロライド感

受性の上皮性 Na⁺イオンチャネル, ENaC が見つまっている⁹⁾。またこれまでに、高濃度塩に対する不快な塩味が、細胞レベルでは、味蕾中の苦味細胞、酸味細胞という 2 種類の不快な味の受容細胞によって検出されることが報告されたが¹⁰⁾、それらの細胞における分子レベルの受容機構については全くわかっていないと言ってよい。

1. 2 線虫の化学感覚受容

近年、分子生物学、分子遺伝学的な研究によく用いられるモデル生物、線虫 (*Caenorhabditis elegans*) は、ヒトでいう嗅覚や味覚に相当する化学感覚に加え、触覚や温度感覚など高等動物と共通する様々な感覚機能を備えている。とりわけ、目や耳に対応する感覚器を持たない線虫にとって化学感覚は、外部の環境をモニタリングするうえできわめて重要な意味を持つ。実際、線虫ゲノムには嗅覚受容体と考えられる GPCR ファミリーの遺伝子がヒトよりも多く存在する(ヒト:約 350 遺伝子, 線虫:約 500 遺伝子)。

線虫は環境中に存在する種々の化合物を、アンフィド (amphid) と呼ばれる感覚器を用いて検出する。この感覚器は左右 12 対、計 24 個の感覚神経細胞からなり、これらの細胞は、線虫の体の前方の咽頭部付近にある細胞体から頭部前端まで突起を伸ばしている。突起の先端には感覚繊毛が存在し、この部分で水溶性、揮発性の様々な化学的な感覚刺激を検出する。12 種類の感覚神経のうちのいくつかは、線虫にとって誘引性の水溶性化合物の検出に関わるものが明らかになっており、また別のいくつかは忌避性の化合物の検出に関わるなど、細胞ごとに比較的明瞭な役割分担がなされているが¹¹⁾、神経によってはどのような刺激を検出しているのかははっきりわかっていないものもある。線虫にとって食塩の刺激は、通常の飼育条件下(食塩の存在下で十分なエサを与えた場合)では強い誘引性の刺激となり、野生型の線虫は食塩に対して強い正の走化性を示す。

1. 3 これまでの研究

線虫のモデル生物としての大きな特徴のひとつは、変異体を用いた遺伝学的な研究を行いやすい点である。上で述べた食塩に対する強い正の走化性行動に関しても、すでに多くの変異体が得られており、1 遺伝子の機能異常によって感覚器の形態形成や感覚情報のシグナル伝達その他、化学感覚の様々な過程に異常を持つ変異体が数多く報告されている¹²⁾。今回我々は、このような線虫

変異体のうち、線虫の食塩の検出に直接関与すると考えられている遺伝子に異常を持つ系統に注目した。線虫の食塩の検出に関わる遺伝子のマウスの相同遺伝子を cDNA ライブラリから単離し、線虫の化学感覚神経に導入したところ、マウス相同遺伝子は線虫変異体の走化性行動の異常を部分的に回復させることができた。このことは導入した遺伝子の産物が、線虫の感覚神経細胞において細胞外の食塩の検出を行っていることを強く示唆していた。本報告では以降、マウスの相同遺伝子を受容体候補遺伝子と呼ぶ。

そこで次に我々は受容体候補遺伝子の変異体マウスを手し、マウスの味覚応答行動を観察することで、この変異体マウスの高濃度塩類に対する忌避的な味覚応答が部分的に低下していることを示す予備的な結果を得た。

1. 4 本研究の目的

一般に、ある遺伝子産物が味覚受容体であることを証明するためには、

- その遺伝子産物が味蕾にも発現していること。
- 外来発現系においてその遺伝子産物が味物質に対して何らかの生理学、生化学的な応答を示すこと。
- その遺伝子の変異体が特定の味に対する応答を選択的に失うこと。

を明らかにする必要がある。本研究では、我々が見出した受容体候補遺伝子がマウスにおいて上の条件を満たすかどうかについて検討を進めた。

2. 研究方法

2. 1 マウス行動実験

変異体マウスの味覚応答は、味覚機能の検討に広く用いられる二瓶選択嗜好実験 (Two-Bottle Preference Test) と呼ばれる行動実験により評価した^{9, 13)}。十分なエサを与えて飼育したマウスに対し、味物質を含まない水と、何らかの味物質を含む水とを同時に与え、24 時間の間の摂水量を測定した。特定の味に対する感受性は、A: 味物質を含む水の摂取量(グラム)、B: 味物質を含まない水の摂取量(グラム)としたとき、Preference Index = A/(A+B) の式で得られる値を用いて比較した。この方法では味物質がマウスにとって好ましい場合には値は 1 に近づき、好ましくない場合には 0 に近づくこととなり、マウスが味を感じない場合や特に好きでも嫌いでもない場合には値は 0.5

に近くなる。実験中のマウスには常に十分なエサを与え、水は2つのボトルから自由に摂取可能な状態とした。ただし、高濃度塩に対する忌避的応答の観察では実験前に約 12 時間の断水を行い、低濃度塩味に対する誘引的応答の実験では、実験の 12 時間前から低 Na 飼料を用いて飼育し、水の摂取量は 1 時間後に計測した。実験に用いた味物質は以下の通り。甘味:アセスルファム K (0.2 mM ~ 20 mM), うま味:グルタミン酸カリウム (0.5 mM ~ 50 mM) + 0.5 mM イノシン 1リン酸, 苦味:塩酸キニーネ (0.01 mM ~ 1 mM), 酸味:クエン酸 (0.2 mM ~ 20 mM), 低濃度塩味:食塩 (30 mM ~ 120 mM), 高濃度塩味:塩化カリウム (120 mM ~ 480 mM), NMDG-Cl (60 mM ~ 240 mM)。実験は 8 から 15 個体に対し複数回実施した。統計的有意差は Student の t 検定により評価した。

2. 2 *in situ* hybridization

受容体候補遺伝子の cDNA 配列から 2 か所のプローブ領域を選び、マウス胎児切片に対して常法に従って *in situ* hybridization を行うことでプローブの評価を行った。プローブはジゴキシゲニンでラベルした RNA プローブを用い、検出は NBT/BCIP を基質とし、二次抗体に結合したアルカリフォスファターゼによる発色反応を用いた。2 か所のプローブ領域のうち、センスプローブによる非特異的な反応が少なかった方のひとつを用いてマウス成体の舌の有核乳頭領域の切片に対して同様の *in situ* hybridization を行った。

2. 3 特異的抗体の作製

受容体候補遺伝子は膜貫通型のタンパク質で比較的長い細胞外領域を持つ。受容体候補遺伝子の細胞外ドメインに対応する約 200 アミノ酸のコード配列を大腸菌用の組み換えタンパク質発現ベクターに組み込み、抗原用には GST (グルタチオン-S-トランスフェラーゼ) 融合型組み換えタンパク質を、アフィニティ精製用には His タグ融合型組み換えタンパク質を調製した。常法に従い、発現プラスミドを用いて形質転換を行った大腸菌 BL21DE3 株に対して IPTG による発現誘導を行い、組み換え蛋白を得た。GST 融合型組み換えタンパク質、His タグ融合型組み換えタンパク質はいずれも不溶性の封入体を形成した。今回は、抗原には非イオン型の界面活性剤を含む緩衝液で複数回洗浄した、組み換えタンパク質に富む不溶性画分をそのまま用いた。アフィニティ精製の His タグ融合型

組み換えタンパク質は 6M グアニジンを用いて可溶化し、変性剤の存在下で Ni アフィニティクロマトグラフィーを行うことで精製した。通常のプロトコルに従って、ニワトリに対して免疫を行い、卵黄からのアフィニティ-精製によって精製抗体を得た。得られた抗体を用いて、受容体候補遺伝子を導入した培養細胞、していない培養細胞のライセート、あるいは野生型と変異体マウスの組織のライセートに対するウェスタンブロットングを行ったが、いずれの場合も、今回得た抗体では特異的なシグナルは得られなかった。

2. 4 線虫発現系を用いた機能解析

線虫の 12 種の化学感覚ニューロンのなかから、本来は食塩に対する感受性を持たない感覚神経細胞を選択するために、4 種類の感覚ニューロン、ASG, ASK, ASJ, ADL (いずれもニューロンの名称) にカルシウムプローブ型組み換えタンパク質, GCaMP2 を発現するトランスジェニック線虫系統を作出し、カルシウムイメージングを行った。カルシウムイメージングには専用のイメージングチャンバーを用い⁽¹⁴⁾, 150 mM あるいは 300 mM の NaCl 刺激を行った。上記の 4 種類の感覚神経のうち、ASG ニューロンと ADL ニューロンでは NaCl 刺激に対する応答が観察されなかった。そこで次にこれらの感覚神経細胞特異的プロモーターの下流にマウスの受容体候補遺伝子の cDNA を連結した線虫用発現プラスミドを構築し、これらプラスミドを顕微注入によって線虫に導入することで ASG に GCaMP2 と受容体候補遺伝子産物を同時に発現するトランスジェニック線虫系統を得た。トランスジェニック個体に対し食塩刺激を行いカルシウムイメージングによってこれらの感覚神経細胞の活動を観察した。刺激には 150 mM あるいは 300 mM の NaCl を用い、刺激の前後で浸透圧が変化しないように NaCl を含まない溶液には等浸透圧となるようグリセロールを添加した。

3. 研究結果

3. 1 2 瓶選択嗜好試験による受容体候補遺伝子の変異体マウスの味覚応答行動の評価

本研究の受容体候補遺伝子が実際に味覚受容体として機能するのであれば、本遺伝子の機能を欠く変異体においては、味覚応答に異常が生じることが期待された。そこで我々は受容体候補遺伝子の変異体マウスを入手し Two-Bottle Preference Test によって変異体の味覚応答行

動を評価した。常法に従って行動試験を行ったところ、甘味、うま味、および誘引性の塩味については野生型マウスと変異体マウスとの間に有意な差は認められなかった (Fig. 1)。一方、忌避性の塩味応答行動については、様々な濃度の KCl に対して有意な感受性の低下が、また NMDG-Cl に対しては KCl の場合と同様の感受性の低下

に加えて低濃度域では NMDG-Cl をより好む傾向が観察された (Fig. 2)。また、この変異体は忌避性の塩味応答に加えて、酸味応答、苦味応答においても野生型と比較して有意な感受性の低下が認められた (Fig. 2)。ただし、いずれの場合も忌避応答が完全に失われるのではなく、変異の影響は部分的なものであった。

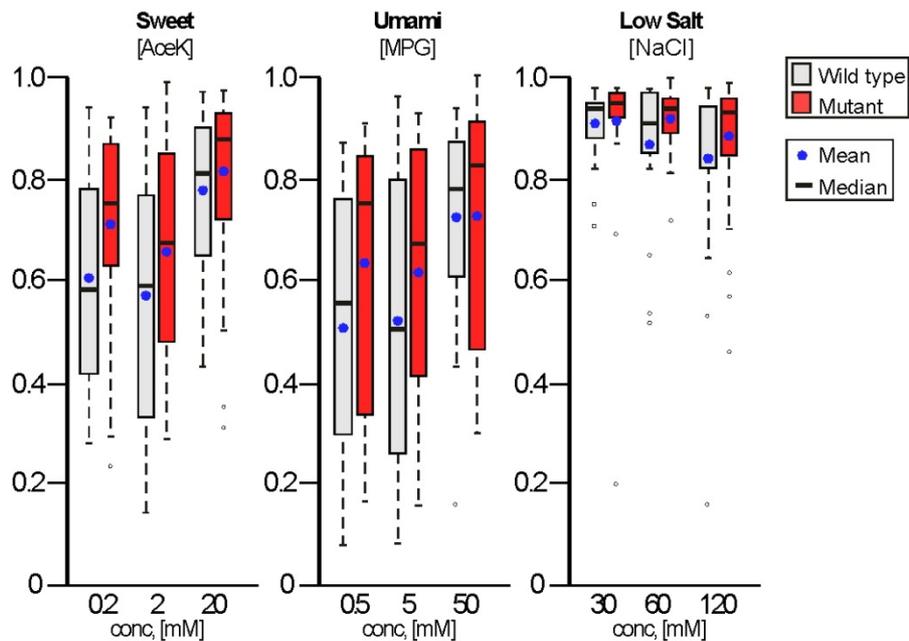


Fig.1 Attractive taste responses of the mutant mouse

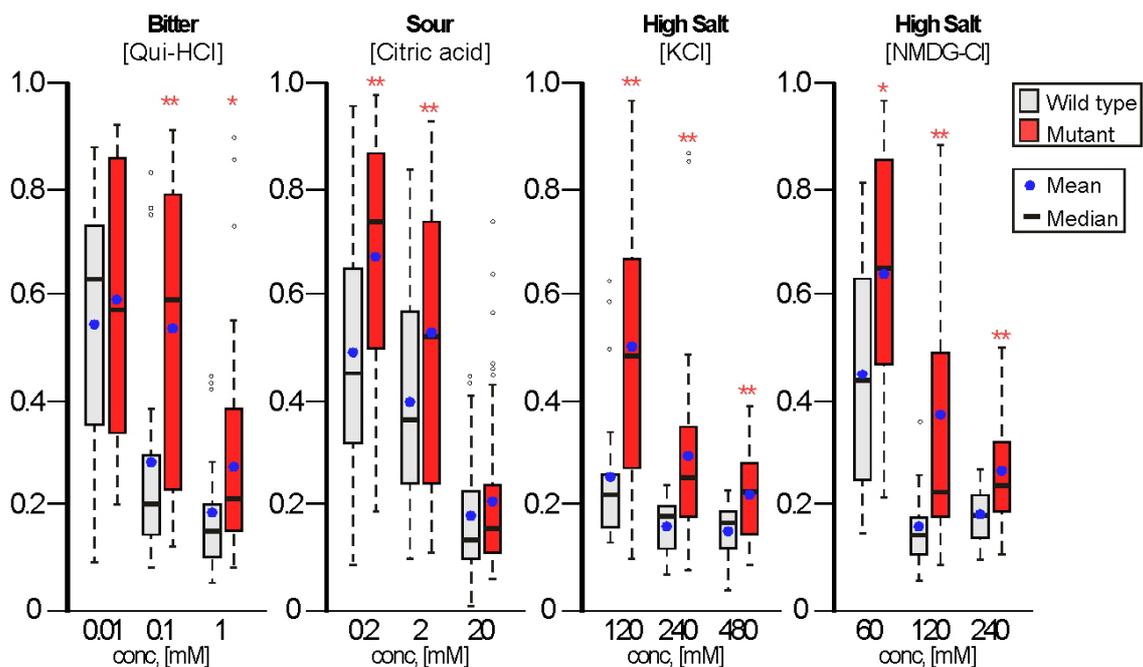


Fig.2 Aversive responses of the mutant mouse

3. 2 味蕾における受容体候補遺伝子の発現の *in situ* hybridization による検討

受容体候補遺伝子が味蕾にも発現しているかどうかを検討するため、*in situ* hybridization を行った。味蕾以外の組織ではシグナルが得られる、28 時間の発色反応を行ったが、味細胞からはシグナルが得られなかった (Fig. 3)。プローブの作成に用いたプライマーを用いて行った RT-PCR では、舌の total RNA サンプルからの cDNA の増幅が認められたものの、バンドは 35 サイクルの PCR 反応後に初めて検出されたことから、発現量は必ずしも高くないことが示唆された (Fig. 4)。本研究では同様の目的で特異的抗体の作製も行ったが、今回の抗体作成では良好な抗体が得られなかった。

3. 3 線虫発現系による受容体候補分子の機能解析

味覚受容体分子の機能解析では、対象となる味物質に対して何の応答も示さない、言い換えると、本来その味を感じない細胞に受容体候補遺伝子を人為的に発現させる必要がある。我々はこのような目的でこれまでに HEK293T 細胞, Hela 細胞, CHO-K1 細胞などの哺乳類培養細胞に受容体候補遺伝子を発現させる実験系の構築を試みたが、いずれの細胞でも遺伝子導入非依存的に細胞外食塩濃度の変化に対する応答が観察された。このことは種々の細胞における Na^+ イオン濃度の調節の重要性を反映しているのかもしれない。

この結果をふまえ本研究では、線虫を外来発現系とし

て使用することを検討した。線虫は本来、体外の NaCl を高感度で検出することが可能であるが、その検出は 12 種類の感覚神経のうち主に ASE と呼ばれる感覚神経が行っている。先行研究では ASE に加えて ASH, ADF などの感覚ニューロンも食塩感受性を示すことが報告されていたが、これら以外のニューロンについては未検討あるいは食塩応答がないことが報告されていた。そこで本研究ではそのような感覚ニューロンの中から ASG, ASK, ASJ, ADL の 4 種類のニューロンのいずれか 1 種類にカルシウムプローブ型の組み換えタンパク質 GCaMP2 を発現するトランスジェニック線虫系統を作出した。線虫ゲノムには電位依存性 Na^+ イオンチャネル遺伝子は存在せず、神経の興奮は基本的に電位依存性 Ca^{2+} イオンチャネルによって生じる。これらの線虫系統に対し、環境中に NaCl のない状態から、 NaCl のある状態へと変化させる NaCl 投与実験、および一

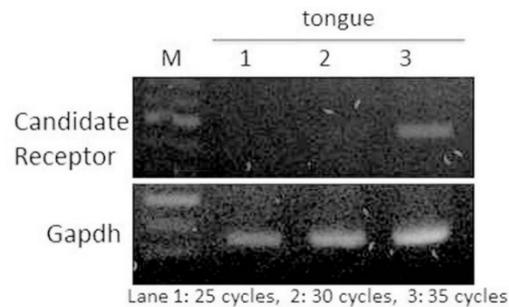


Fig. 4 Expression of the candidate receptor gene in tongue examined by RT-PCR.

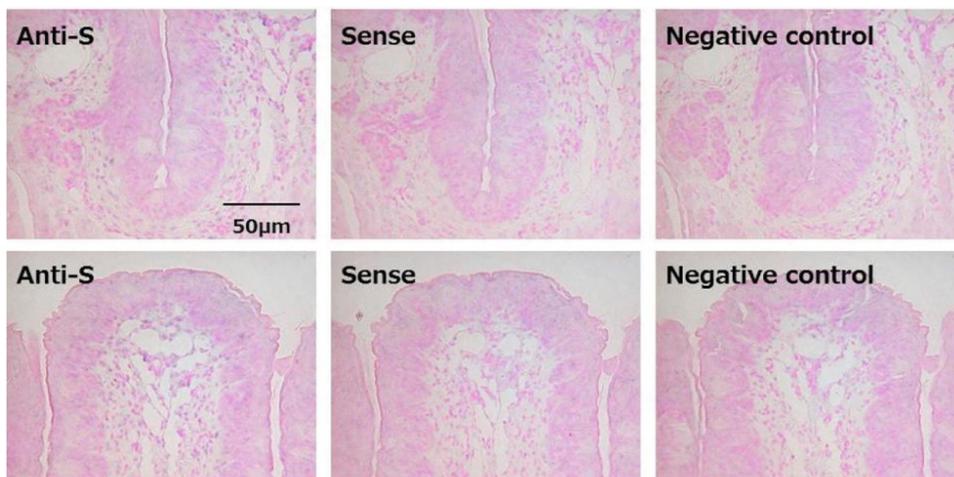


Fig. 3 *In situ* hybridization of the candidate receptor gene in circumvallate papillae

定時間 NaCl のある状態に置いたのちに NaCl のない状態に変える NaCl 除去実験を行った。この結果 ASK ニューロンでは NaCl の除去時に興奮性の応答が観察され、ASJ ニューロンでは刺激の有無とは無関係な自発的なニューロンの興奮が比較的高頻度で観察された。一方、ASG と ADL ニューロンでは NaCl に対する応答はほとんどあるいはまったく観察されなかった。そこで今回は ASG ニューロンに受容体候補遺伝子と GCaMP2 を発現するトランスジェニック系統を作出し NaCl 刺激の際のカルシウムイメージングを行った。この結果、ASG ニューロンに対してヒトが不快に感じ始めるとされる 150 mM NaCl の除去実験を行った場合には 20 個体中 2 個体で明瞭な応答が観察されたが、その頻度は決して高いとは言えなかった。ただし 150 mM の NaCl は我々が口にした場合でも常に不快に感じるような濃度ではない。そこで次に我々にとって不快の程度が高い 300 mM の NaCl を使って同様の実験を行ったところ、受容体候補遺伝子を発現したトランスジェニック線虫

20 個体中 7 個体が NaCl 刺激の除去時に明瞭な興奮性の応答を示した (Fig. 5)。受容体候補遺伝子の導入に依存的に細胞外 NaCl 濃度変化に伴う神経応答が観察されたこと、また濃度依存的に反応する個体が増加したことは本遺伝子産物が不快なレベルの高濃度塩を検出する機能を持つことを強く示唆している。

4. 考 察

我々の見出した高濃度塩味の受容体候補遺伝子の変異体マウスの行動実験の結果より、本遺伝子の異常が甘味とうま味、好ましい塩味の受容には大きな影響を与えず、一方で高濃度塩に対する不快な塩味、同じく不快な味である苦味と酸味に対する感受性を低下させることが明らかとなった。このことは同時に、変異体マウスの味覚器や神経経路、脳における情報処理の過程には異常がないことを示しており、したがって本遺伝子産物が末梢における味覚受容体であるか、少なくとも不快な味のシグナル伝達にか

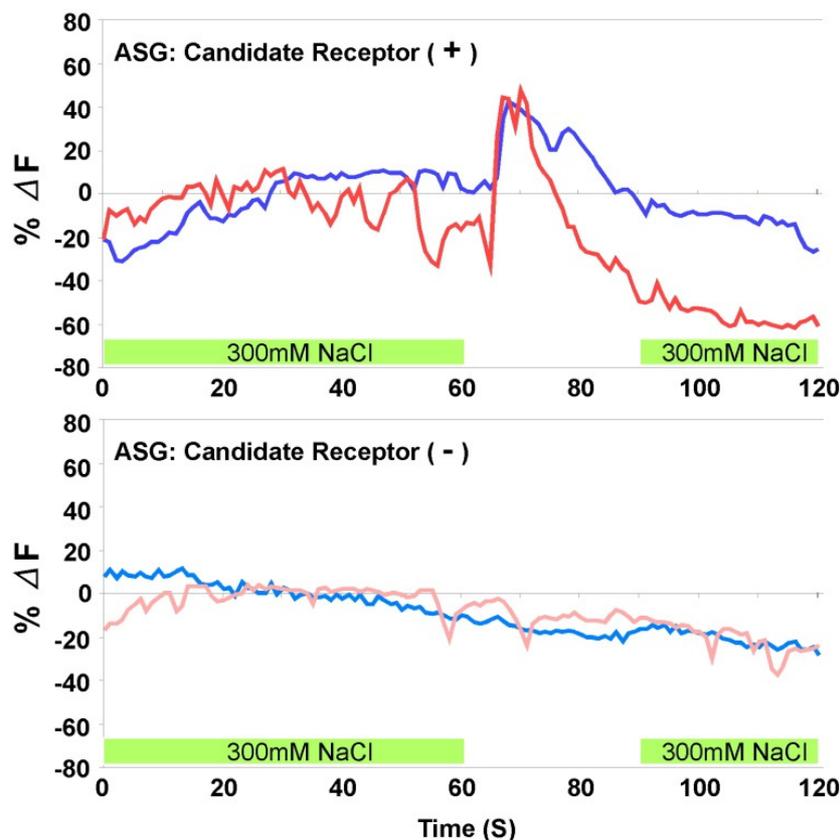


Fig.5 Neuronal calcium responses of ASG chemosensory neuron of transgenic *C. elegans* harboring candidate mammalian taste receptor upon NaCl removal.

かわる分子であることを強く示唆する結果であると考えられる。味覚応答行動に異常がある以上、本遺伝子が味覚と無関係ということはありえない。今回、変異体が複数の不快な味に異常を示したことに関しては幾通りかの可能性が考えられる。一つ目は、甘味受容体である T1R1/T1R3 複合体が様々な甘味物質を受容するように、本遺伝子産物が複数の不快な味を検出することができるという可能性である。ただし、塩味と酸味、苦味は味物質の性質が著しく異なるためこの可能性は高くはないと思われる。もう一つの可能性は、本遺伝子産物が高濃度塩味に対しては受容体として機能し、酸味や苦味に対しては直接の受容体ではなくシグナル伝達の調節に関わる因子であるという可能性である。今回我々は外来発現系に線虫を用いることで本遺伝子産物が細胞外の高濃度塩を検出できることを示す結果を得ている。同実験系における酸味刺激や苦味刺激への応答を観察する必要がある。

今回我々は本遺伝子産物が味細胞に発現することを確かめることはできなかった。ただし、霊長類の味細胞と、味細胞でない口腔上皮をマイクロダイセクションによって回収し、マイクロアレイを用いて網羅的にトランスクリプトーム解析を行った先行研究では、少なくとも霊長類では味細胞において他の味覚受容体と同程度の比較的高い発現が認められている⁽¹⁵⁾。マウスでも同様である可能性は高い。

本研究で観察されたマウス変異体の不快な味に対する感受性の減少は部分的なものであった。不快な味の受容機構は今回の候補遺伝子以外にも存在するものと思われる。

5. 今後の課題

上にも述べたように、今後はまず本遺伝子産物が味細胞においても発現することを明らかにする必要がある。本遺伝子産物に対する特異的抗体を作製し、免疫組織化学的な解析を行うことはもちろん、マウス舌切片からマイクロダイセクションによって味細胞を回収し、RT-PCR を行うなどして発現を確認したい。

今回報告した線虫発現系では、味刺激に対する応答を示す個体の割合が十分に高いとは言えなかった。この原因の一つとしては、線虫の感覚神経における導入遺伝子の発現の効率が低い可能性が考えられる。現在はこの問

題を解決するために cDNA のコドン usage を線虫に合わせて最適化した発現プラスミドを準備中である。過去にもコドンの最適化によって、発現の効率が改善されたことがある。より発現量が高いトランスジェニック系統を用いることで、より説得力の高い結果を得られることが期待される。

また今後は変異体マウスへの味刺激の際の鼓索神経応答や脳活動の観察など、まだ着手できていない実験に関しても検討する。

6. 文献

1. Chandrashekar, J. *et al.* T2Rs function as bitter taste receptors. *Cell* **100**, 703–711 (2000).
2. Matsunami, H., Montmayeur, J. P. & Buck, L. B. A family of candidate taste receptors in human and mouse. *Nature* **404**, 601–604 (2000).
3. Li, X. *et al.* Human receptors for sweet and umami taste. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **99**, 4692–4696 (2002).
4. Peng, Y. *et al.* Sweet and bitter taste in the brain of awake behaving animals. *Nature* **527**, 512–515 (2015).
5. Zhang, Y. *et al.* Coding of sweet, bitter, and umami tastes: Different receptor cells sharing similar signaling pathways. *Cell* **112**, 293–301 (2003).
6. Huang, A. L. *et al.* The cells and logic for mammalian sour taste detection. *Nature* **442**, 934–938 (2006).
7. Kawaguchi, H. *et al.* Activation of Polycystic Kidney Disease-2-like 1 (PKD2L1)-PKD1L3 complex by acid in mouse taste cells. *J. Biol. Chem.* **285**, 17277–17281 (2010).
8. Inada, H. *et al.* Off-response property of an acid-activated cation channel complex PKD1L3-PKD2L1. *EMBO Rep.* **9**, 690–697 (2008).
9. Chandrashekar, J. *et al.* The cells and peripheral representation of sodium taste in mice. *Nature* **464**, 297–301 (2010).
10. Oka, Y., Butnaru, M., von Buchholtz, L., Ryba, N. J. P. & Zuker, C. S. High salt recruits aversive taste pathways. *Nature* **494**, 472–5 (2013).
11. Bargmann, C. I. & Horvitz, R. H. Chemosensory neurons with overlapping functions direct chemotaxis to

- multiple chemicals in *C. elegans*. *Neuron* **7**, 729–742 (1991).
12. Ward, S. Chemotaxis by the nematode *Caenorhabditis elegans*: identification of attractants and analysis of the response by use of mutants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **70**, 817–21 (1973).
13. Tordoff, M. G. & Bachmanov, A. a. Influence of test duration on the sensitivity of the two-bottle choice test. *Chem. Senses* **27**, 759–768 (2002).
14. Chronis, N., Zimmer, M. & Bargmann, C. I. Microfluidics for in vivo imaging of neuronal and behavioral activity in *Caenorhabditis elegans*. *Nat. Methods* **4**, 727 (2007).
15. Hevezi, P. *et al.* Genome-wide analysis of gene expression in primate taste buds reveals links to diverse processes. *PLoS One* **4**, (2009).

Identification of a Gustatory Receptor for an Aversive High Salt

Tokumitsu Wakabayashi

Department of Chemistry and Biological Sciences, Iwate University

Summary

Gustatory taste perception has an important role on evaluating the nutritional value, quality and toxicity of food. Mammals can detect five basic tastes; sweet, umami, bitter, sour and salty. Among these tastes, sweet, umami and low concentrations of salt are innately attractive, whereas bitter, sour and high concentrations of salt are aversive to animals. Salty is unique that the taste triggers two opposing behavioral responses. Recent studies revealed that the cellular and molecular basis of these two salty tastes (i.e. attractive low salt and aversive high salt tastes) are quite distinct each other. Low salt taste employs dedicated taste receptor cells (TRCs) and epithelial sodium channel (ENaC) is considered as a receptor. While high salt does not have dedicated TRCs and uses bitter and sour cells to detect the aversive taste. Gustatory receptor molecule(s) for the aversive high salt taste are still unknown.

In this study, we found a candidate taste receptor for high salt and examined the function and expression of the gene product. The gustatory behavior of mouse mutant for the candidate receptor was examined by two-bottle preference test widely used for evaluating taste response. The mutant showed reduced aversive responses against high salt, bitter and sour, and showed normal response to sweet, umami, and attractive low salt. The molecular function of the candidate receptor was examined by using *Caenorhabditis elegans* as an exogenous expression system. In the ASG chemosensory neuron of the transgenic worm harboring mammalian candidate receptor acquired a neuronal response against 300 mM NaCl that elicits no response in the neuron of wild-type worm. Although, we could not detect the expression of the candidate receptor gene in taste tissue by *in situ* hybridization in this attempt, these results suggested the candidate receptor, which can detect extracellular high salt, might be involved in gustatory aversive taste perception.