



# 苦味受体基因家族功能和演化研究的最新进展

胡玲玲, 施鹏\*

中国科学院昆明动物研究所遗传资源与进化国家重点实验室, 进化与功能基因组实验室, 昆明 650223

\* 联系人, E-mail: [ship@mail.kiz.ac.cn](mailto:ship@mail.kiz.ac.cn)

2009-05-28 收稿, 2009-06-24 接受

中国科学院“百人计划”启动基金资助项目

**摘要** 苦味的识别作为一种防御机制, 能帮助动物避免摄入有毒物质, 它在动物的长期进化过程中起着至关重要的作用. 由于不同动物具有不同的生存环境和取食偏好, 使苦味识别能力在动物的长期进化中产生了分化. 苦味的识别源于苦味物质和苦味受体的结合, 所以对编码苦味受体基因的研究成为研究苦味识别的分子基础. 近年来, 随着体外功能实验体系的建立, 越来越多苦味受体的配体被发现. 另一方面, 随着许多脊椎动物基因组的测序完成, 人们对苦味受体基因家族的演化研究也取得了很大的进展. 对演化驱动力的研究, 能够使我们了解不同物种中苦味受体功能的变化趋势, 从而帮助我们发现更多的苦味配体. 本文主要介绍了苦味受体基因家族的功能及其在脊椎动物中演化的最新进展, 并对苦味受体基因家族今后的研究提出了展望.

**关键词**

苦味受体基因家族  
配体  
功能  
演化  
选择

味觉对动物的摄食非常重要——提供了对食物的极其重要的感觉信息. 味觉可以分为甜、苦、酸、咸和鲜 5 种基本感觉形式. 在这 5 种味觉中, 苦味能引起厌恶反应, 被认为是一种抵御有毒物质的防御机制<sup>[1]</sup>. 动物对苦味物质的识别能力对其自身的生存是极其重要的, 因为自然界中很多有毒物质都是苦的, 对苦味的识别能帮助动物避免摄入有毒和有害物质. 动物对苦味物质的识别源于外界环境中苦味物质和味蕾上苦味受体的结合, 进而引发一系列级联放大反应, 使神经细胞兴奋, 神经细胞再将神经冲动传到大脑的味觉皮层最终引起苦味的形成. 苦味受体是一类 7 次跨膜的 G 蛋白偶联受体 (GPCR), 主要在口腔味蕾的受体细胞内表达<sup>[2~4]</sup>. 不同动物生存环境中的苦味物质是多样化的, 相应地与苦味物质结合的苦味受体也应呈现多样化趋势. 而苦味受体多样化的本质是苦味受体基因多样化, 所以对动物苦味辨别能力分化的研究应立足于对苦味受体基因家族的研

究. 近年来, 随着体外功能实验体系的建立, 对苦味受体基因功能的研究取得了不少进展, 已经鉴定出了越来越多苦味受体的配体<sup>[5~12]</sup>. 此外, 随着越来越多脊椎动物基因组的测序成功, 对苦味受体基因演化的研究也取得了很大进展. 对苦味受体基因家族的研究已经从最初的人和小鼠这两个物种扩展到了整个脊椎动物<sup>[13~20]</sup>. 虽然体外功能研究能够使我们获得直接信息, 但由于苦味受体基因和自然界中苦味物质的多样化和膜蛋白在体外功能实验中不易在细胞膜上表达等限制, 功能实验不能使我们获得全面的信息. 相反, 基于分子进化理论和新兴的比较基因组学和进化基因学手段, 能够使我们较全面地理解该基因家族的演化历程和演化驱动力, 从而帮助我们理解该基因家族功能的变化. 因此本文重点阐述对苦味受体基因家族功能和演化研究的最新进展. 随着研究手段的综合, 苦味受体基因家族在整个脊椎动物中功能和演化图景将逐渐清晰地展现在我们

**引用格式:** 胡玲玲, 施鹏. 苦味受体基因家族功能和演化研究的最新进展. 科学通报, 2009, 54: 2472~2482

Hu L L, Shi P. Latest advances on the studies of function and evolution of bitter taste receptor gene (*T2R*) family (in Chinese). Chinese Sci Bull (Ver Chinese), 2009, 54: 2472–2482, doi: 10.1360/972009-1142

面前。

## 1 苦味受体基因简介

### 1.1 苦味受体基因的发现

根据人和小鼠对苦味敏感的基因座位在遗传草图上的位置,两个独立的研究小组于2000年通过对DNA序列数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)进行搜索,发现了相同的苦味受体基因,分别命名为*T2R*和*TRB*<sup>[4,21]</sup>。2003年,本实验室对人和小鼠的基因组序列搜索,又新发现了人的10个和小鼠的30个*T2R*基因<sup>[17]</sup>。自此,苦味受体基因家族在人和小鼠中的所有成员全部被发现。已确定的*T2R*基因,在人基因组中分别位于染色体的12p13,7q31和5p15,而在小鼠中则分别位于与上述人染色体同源的6号和15号染色体上<sup>[4,17,21,22]</sup>。*T2R*基因在染色体上形成典型的多基因簇排列,小鼠6号染色体上的基因簇1和基因簇2分别与人7号染色体和12号染色体上的基因簇同源<sup>[17,23]</sup>。

### 1.2 苦味受体基因的结构

*T2R*基因没有内含子。*T2R*基因家族编码的G-蛋白偶联受体与其他已知的G-蛋白偶联受体在蛋白质序列上差异较大,但这些受体都具有7个跨膜区域(图1),而且在其序列中还具有常出现在G-蛋白偶联受体上的保守氨基酸残基。G-蛋白偶联受体超家族一般都有较大的N末端结构域,而苦味受体的胞外区含有一个短的N末端结构域<sup>[24]</sup>。*T2R*家族各成员间仅有30%~70%序列相似度。虽然它们的序列相似性较小,但在第1~3和7跨膜区和第2胞内区具有高度保守的基序<sup>[4]</sup>。基因家族各成员在不同物种中的序列相似性更小,对人和小鼠的*T2Rs*的研究发现,仅有在位于第5跨膜区且靠近第3胞内区的1个氨基酸残基是完全保守的<sup>[23]</sup>。有趣的是,在*T2R*受体结构中,跨膜区保守性最大,其次是胞内区,而胞外区的变异最大,由此推测胞内区及其邻近的跨膜区片段是与G

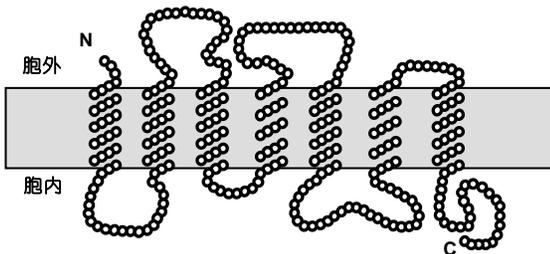


图1 苦味受体的7次跨膜结构

蛋白相互作用的位点,而胞外区则是潜在的与苦味物质结合的区域<sup>[4,25,26]</sup>。这一基于序列的推论被后来的功能实验所证实。例如,人*T2R16*受体和苦味物质结合的区域就位于第2胞外区<sup>[8]</sup>。

### 1.3 苦味受体基因的表达

虽然苦味受体基因间的序列相似性不大,但苦味受体基因都在受体细胞表面表达,Adler等人<sup>[4]</sup>研究发现,这些受体细胞存在于口腔的味蕾中。这些味蕾主要分布在舌头的轮廓乳头、叶状乳头和菌状乳头中,同时也在味觉上皮的geschmackstreifen和会厌中分布。*T2R*克隆产物的表达模式显示,在轮廓乳头、叶状乳头和会厌的所有味蕾中,约有15%~20%的味觉受体细胞中发现有*T2R*受体;而在菌状乳头的味蕾中,含有*T2R*受体的味觉细胞受体不到10%<sup>[27]</sup>。除了在口腔的味蕾中表达外,*T2R*还在其他的组织器官中表达,如鼻、小肠<sup>[30~32]</sup>,说明苦味受体基因除了感受苦味物质外,可能还在其他化学感受中起作用。混合或单一的*T2R*探针在原位杂交实验中已确定了大量相同的味觉细胞受体,提示着大部分甚至是全部的*T2R*受体在相同的味觉细胞受体中表达;而且这些表达*T2R*受体的受体细胞同时也表达味导素。在轮廓乳头、叶状乳头中大约2/3含有味导素的味觉受体细胞中也含有*T2R*受体,但在菌状乳头中大部分味导素阳性的味觉受体细胞不含*T2R*受体。表明在这些特殊的细胞中,也许有其他受体的表达<sup>[4,21]</sup>。多个苦味受体在单个味觉受体细胞内共表达的这种特殊的表达方式<sup>[4]</sup>,可能是引起人类对许多结构不同的有毒物质都产生相同反应的原因<sup>[3]</sup>。除了共表达外,苦味受体基因的另一种表达方式是在表达味导素的细胞中选择性表达<sup>[4]</sup>。这个现象与Chandrashekar等人<sup>[3]</sup>的假设是一致的,他们认为苦味受体基因是一种味导素相关受体,所以苦味受体基因在表达味导素的细胞中选择性表达。

### 1.4 苦味受体基因的信号转导

在味觉受体细胞对苦味物质的反应中,味导素起到了重要作用,并存在由 $\alpha$ -味导素和 $\beta$ - $\gamma$ -味导素分别介导的两条信号转导通路(图2)。第一条信号转导通路是 $\alpha$ -味导素 $\rightarrow$ 磷酸二酯酶 $\rightarrow$ cNMP,使胞内cNMP的浓度降低,进而调控味觉细胞受体中的蛋白激酶或直接调控在味觉细胞受体中表达的cNMPs门控的离子通道活性<sup>[22,25,26,33~36]</sup>。第二条信号转导通路

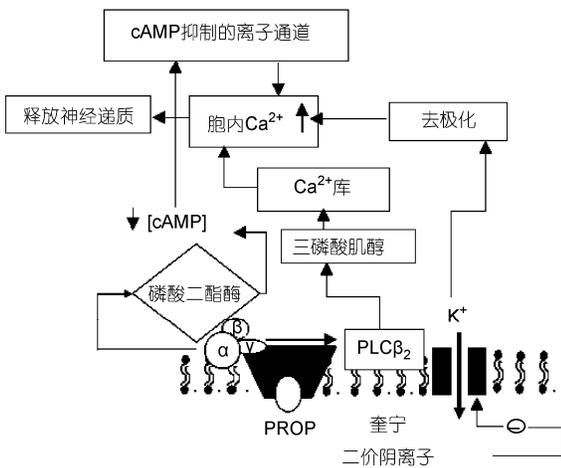


图2 苦味受体基因的信号转导示意图(改自文献[25,26])

是β-γ-味导素→磷脂酶→三磷酸肌醇和甘油二酯。三磷酸肌醇能在胞内与其受体结合，动员细胞内源Ca<sup>2+</sup>库到细胞质中，导致胞内Ca<sup>2+</sup>浓度升高，从而引起苦味受体细胞的去极化<sup>[22]</sup>。

除了味导素介导的信号通路外，还可能存在着其他通路。最有力的证据来自于缺失味导素基因的突变型小鼠，它们对苦味物质的反应并没有完全丧失<sup>[2]</sup>。另外，G蛋白的其他α亚基可能也参与了苦味的信号转导<sup>[25,26,37-39]</sup>，因为味觉受体细胞除了表达α-味导素外，还表达Gai-3, Ga14, Ga15, Gaq, GaS和α-转导素。除了通过结合G蛋白偶联受体传导苦味外，一些苦味化合物能够和G蛋白直接作用，而不需要通过受体来介导。例如，奎宁(quinine)等苦味物质能够透过细胞膜直接活化G蛋白，诱导细胞膜上阳离子通道开放而产生反应，此过程可能与G蛋白级联反应无关<sup>[40]</sup>。另外，奎宁还能阻断K离子通道直接引起味觉受体细胞去极化<sup>[1,41,42]</sup>。咖啡因和甲基黄嘌呤在透过细胞膜后能使胞内磷酸二酯酶的失活并使环化酶活化，使cGMP浓度增加<sup>[43]</sup>。

## 2 苦味受体基因的功能

### 2.1 苦味受体基因的功能检测

目前，在T2R基因家族中，人们已经鉴定了12个基因的功能并确定了它们的表达产物对苦味物质的反应，这些受体能被不同的苦味物质激活。其中，有10个基因是人的苦味受体基因，它们分别是hT2R4, hT2R16, hT2R7, hT2R10, hT2R14, hT2R43, hT2R44, hT2R38, hT2R47和hT2R46<sup>[5-12]</sup>，另外2个基

因分别是小鼠的mT2R5<sup>[3]</sup>和大鼠的rT2R9<sup>[5]</sup>。目前普遍使用鉴定苦味受体基因功能的方法是体外功能实验体系，具体方法是首先构建含有苦味受体基因的表达载体，然后将带有目的基因的载体转染至合适细胞系(如HEK293)并表达苦味受体基因，最后利用钙离子成像技术测定成功表达苦味受体的细胞对不同浓度苦味物质溶液的反应灵敏度<sup>[3,5]</sup>。例如，通过对含有视紫红质氨基端39个氨基酸残基的T2R/TRB嵌合受体的异源表达实验表明，小鼠mT2R5受体在55种测试物质中仅对放线菌酮(Cyclohexamide)有反应<sup>[3,27]</sup>，同样大鼠rT2R9受体也对放线菌酮有反应<sup>[5]</sup>。这套体外功能检测系统的有效性也得到了其他体内实验的验证。例如，在体外钙离子功能实验中，发现人T2R38受体能够被苯基硫脲(Phenylthiocarbamide, PTC)激活，提示着38号受体可能是PTC受体。通过连锁分析，发现人群中能识别PTC人群的PAV(38号受体的第49, 262和296位氨基酸分别是脯氨酸(P)、丙氨酸(A)和缬氨酸(V))和不能识别PTC人群的AVI(38号受体的第49, 262和296位氨基酸分别是丙氨酸(A)、缬氨酸(V)和异亮氨酸(I))两种主体单倍型的存在<sup>[28]</sup>，进一步证明了T2R38受体就是PTC的特异性受体。另外，通过对表达人T2R38受体的小鼠行为实验研究，发现这种转基因小鼠特异地对PTC产生厌恶反应<sup>[29]</sup>。通过基因连锁分析和转基因小鼠的行为实验再次证明了体外钙离子功能实验的实验结果。同样，基因敲除T2R5基因的小鼠丧失了对放线菌酮(Cyclohexamide)的识别能力<sup>[29]</sup>，这个结果也进一步证明了小鼠的体外功能实验的有效性<sup>[3]</sup>。综上，连锁分析、行为实验和基因敲除动物实验等体内实验都验证了苦味功能实验体系的高通量性、有效性和可行性。

### 2.2 苦味基因受体的配体

通过以上方法鉴定出的这些苦味基因受体配体大部分是自然界存在的苦味物质，少数是人工合成的化学物质(图3)。更有趣的是，在这12个苦味基因受体中，只有4个是仅有单一配体的苦味基因受体，它们是mT2R5, rT2R9, hT2R7和hT2R10。如前文所述，mT2R5受体和rT2R9受体的配体都是放线菌酮，而hT2R7受体和hT2R10受体的配体是土的宁(Strychnine)<sup>[5,44]</sup>。其他8个苦味受体的配体都在2种或2种以上，说明人的苦味受体基因家族的25个成员<sup>[17]</sup>的受体能检测出的苦味物质是多样化的(表1)。这8个

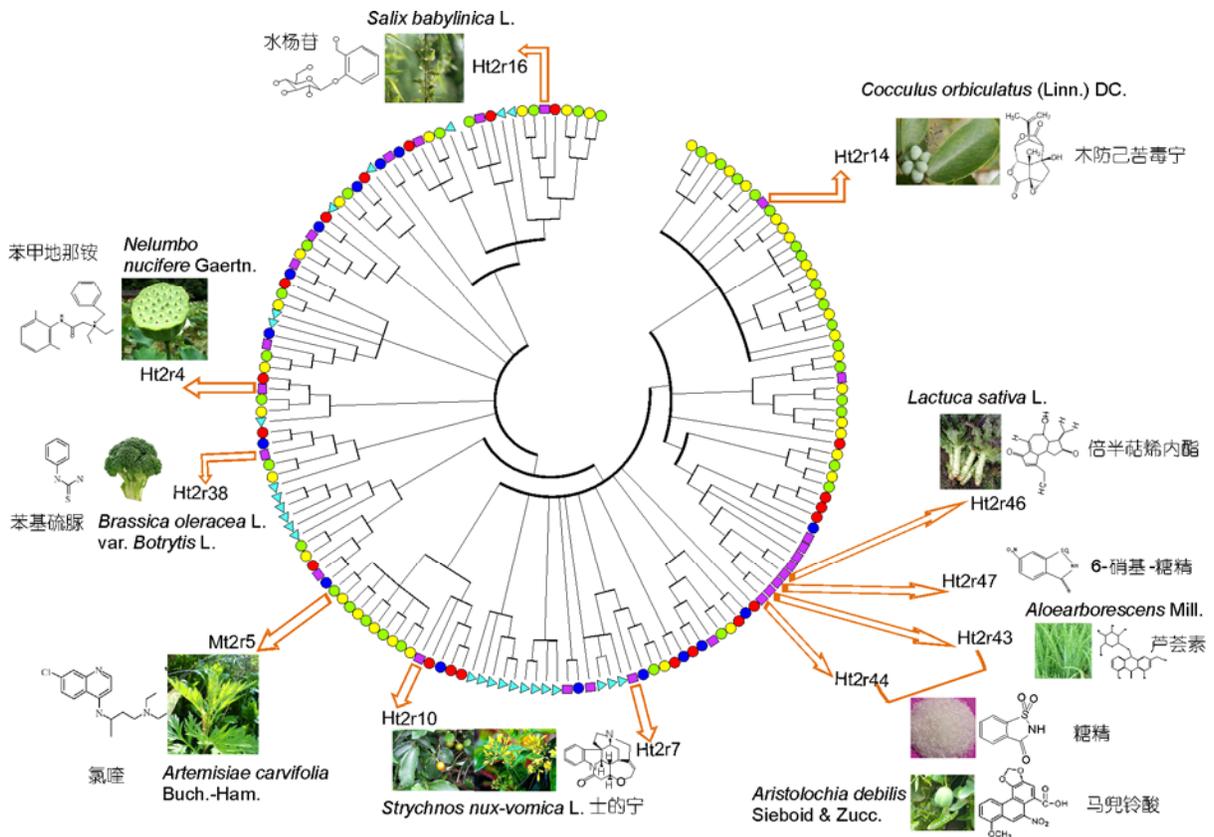


图3 苦味受体基因的配体

最内层为苦味受体基因的系统发育树，支的末端代表不同的物种。其中绿色圆形代表大鼠，黄色圆形代表小鼠，红色圆形代表牛，方形代表人，蓝色三角形代表负鼠，紫色圆形代表狗。最外层是基因名和它的配体，图片代表含有配体的植物，其中糖精是人工合成的化学物质，图片为糖精的结晶

表1 目前已知的苦味基因受体的配体

基因名	配体名	参考文献
<i>hT2R7</i>	土的宁	[42]
<i>hT2R10</i>	土的宁	[5]
<i>mT2R5</i>	放线菌酮	[3]
<i>rT2R9</i>	放线菌酮	[5]
<i>hT2R4</i>	苯甲地那铵、6-N-丙基-2-硫脲嘧啶(PROP)	[3]
<i>hT2R14</i>	苦艾药理学的活性成分、木防己苦毒素、苯甲酸钠、苦亭、胡椒基酸、一硝基萘、一萘甲酸、1,8-naphthalaldehydic acid	[6]
<i>hT2R16</i>	水杨苷、含有 $\beta$ -吡喃葡萄糖苷结构的物质	[5]
<i>hT2R38</i>	含有 $N-C=S$ 基团的化学物质，如 6-N-丙基-2-硫脲嘧啶(PROP)和苯基硫脲(PTC)	[8,9]
<i>hT2R43</i>	糖精、安赛蜜、马兜铃酸、芦荟素	[6,7,10,12]
<i>hT2R44</i>	糖精、安赛蜜、马兜铃酸	[6,7,10]
<i>hT2R46</i>	倍半萜内酯、克罗登烷型二萜、劳丹烷型二萜、土的宁、苯甲地那铵	[11]
<i>ht2r47</i>	苯甲地那铵、苯甲地那铵的派生物、6-硝基-糖精	[10]

有多种配体的受体分别是 *hT2R4*, *hT2R16*, *hT2R14*, *hT2R43*, *hT2R44*, *hT2R38*, *hT2R47* 和 *hT2R46*。

在这 12 个苦味受体中，根据它们是否属于化学结构特异性受体可以将它们分为两类。一类是能与

某种化学结构物质特异结合的受体，它们是 *hT2R16* 受体和 *hT2R38* 受体。 *hT2R16* 受体是第一个被鉴定的能被天然的苦味物质结合的苦味受体，能对水杨苷 (salicin) 和其他具有  $\beta$ -吡喃葡萄糖苷 ( $\beta$ -glucopy-

ranosides)结构的物质起反应<sup>[5]</sup>,而且化学结构专一性很高.另外一个能检测具有特异化学结构的苦味物质的受体是hT2R38受体.虽然该受体能够结合多种苦味物质,但这些苦味物质都含有N-C=S化学基团,如6-*N*-丙基-2-硫脲嘧啶(PROP)和苯基硫脲(PTC)<sup>[8,9]</sup>,提示着这些受体在功能上的专一性.

另一类苦味受体是化学结构多样性的受体,它们是mT2R5, rT2R9, hT2R4, hT2R7, hT2R10, hT2R14, hT2R43, hT2R44, hT2R46和hT2R47.如上所述, mT2R5受体和rT2R9受体的配体是放线菌酮,而T2R7受体和hT2R10受体的配体分别是土的宁.第一个被鉴定有功能的苦味受体是hT2R4受体,它被高浓度的苯甲地那铵(Denatonium)和6-*N*-丙基-2-硫脲嘧啶(6-*N*-propyl-2-thionracil, PROP)的组合混合物激活<sup>[3]</sup>.而与此相反的是, hT2R14受体能结合8种苦味物质,分别是苦艾药理学的活性成分( $\alpha$ -thu- jone)、木防己苦毒素(Picrotoxinin)、苯甲酸钠(Sodium benzoate)、苦亭(Picrotin)、胡椒基酸(Piperonylic acid)、一硝基萘(1-Nitronaphthalene)、一萘甲酸(1-Naphthoic acid)和1,8-naphthalaldehydic acid<sup>[6]</sup>.这些苦味物质具有不同的化学结构,提示着单个苦味受体所能结合配体的化学结构呈现多样化趋势.另外, hT2R43受体和hT2R44受体的功能相近,它们都能被2种人工合成的磺酰基氯化物糖精(Saccharin)和安赛蜜(Acesulfame K)以及植物类苦味物质马兜铃酸(Aristolochic acid)激活<sup>[6,7,10]</sup>.除此之外, hT2R43受体还能被芦荟素(Aloin)激活<sup>[12]</sup>.而hT2R46受体的配体是倍半萜内酯(Sesquiterpene lactones)、克罗登烷型二萜(Clerodane diterpenoids)、劳丹烷型二萜(Labdane diterpenoids)、土的宁(Strychnine)和苯甲地那铵(Denatonium)<sup>[11]</sup>.类似地, hT2R47受体也能被苯甲地那铵(Denatonium)激活,它的配体还有6-硝基-糖精(6-nitrosaccharin)和苯甲地那铵的派生物<sup>[10]</sup>.苦味基因受体在功能上的这种分化,提示着苦味受体基因家族经历了复杂的演化历史.因此,对该基因家族演化动力的理解能为更有效地研究苦味基因受体功能提供一定的帮助.

### 2.3 其他苦味受体基因的功能

虽然目前只有一部分苦味受体基因的功能被鉴定,但其他证据充分显示,其他T2R受体也有作为苦味受体的作用<sup>[4]</sup>.这些苦味受体基因都位于对苦味敏

感的基因座位附近,如对苦味物质PROP敏感的基因座位,位于人5p15和7q31染色体上<sup>[45]</sup>,而人ht2r1受体(位于5p15上)能对PROP的刺激产生反应,同样的情况也出现在人7q31上<sup>[4,21]</sup>.对八辛乙酸蔗糖(sucrose octaacetate, SOA)敏感的基因位点,位于人染色体12p13上,而位于小鼠6号染色体末端<sup>[46,47]</sup>;人12p13上的T2R基因簇包含6个富含脯氨酸(PRP)的蛋白基因<sup>[48]</sup>,这些基因与小鼠中已知的4个影响苦味敏感性的基因位点(Soa, Rua, Cyx和Qui)连锁<sup>[4,47,49-51]</sup>.虽然这些苦味受体基因位点和一些苦味敏感性基因位点相近,但是这些苦味受体基因功能的鉴定还需要更多功能实验证实.目前已经有研究小组从序列相似性入手,通过已知序列相似的苦味基因受体配体的信息,探索未知苦味受体基因的功能<sup>[10]</sup>.

## 3 苦味受体基因的演化

众所周知,钙离子成像实验体系是检测膜蛋白受体与配体结合有效的功能检测手段.因此,该检测手段也被应用于检测苦味受体与配体结合的研究中.但这种功能体系一个很大的缺点是将膜蛋白成功表达达到细胞膜上存在一定的困难性,这个缺点限制了该体系的广泛运用.另外,由于苦味物质的多样性以及苦味受体的多样化,用钙离子成像实验体系很难高效地从众多的苦味物质中筛选出特异性配体.基于以上两点,传统单细胞钙离子检验远远不能满足鉴定苦味受体功能的需要,而对苦味受体基因演化的研究能从一定程度上克服体外功能检测的缺点.这主要是因为不同动物有不同的生存环境,苦味受体基因复杂的演化历史动态能反映该基因受到的不同功能压力.因此,对苦味受体基因家族演化的研究能对我们研究该基因家族功能产生一定的提示作用.对苦味受体基因家族演化的研究主要集中在脊椎动物中,已经取得了很大的进展.

### 3.1 苦味受体基因家族在脊椎动物中的分化

至今, T2R基因家族已经在人科亚目的所有物种,旧大陆猴亚目的恒河猴、叶猴,新大陆猴亚目的绒猴、僧帽猴,原始猴亚目的狐猴、婴猴、懒猴,啮齿目的小鼠、大鼠,食肉类的狗,偶蹄目的牛,奇蹄目的马,后兽亚纲的负鼠,食虫目的树鼩,翼手目的蝙蝠,鸟纲的鸡,爬行纲的蜥蜴,原兽亚纲的鸭嘴兽,两栖纲的蛙,鱼纲的斑马鱼和河豚等物种中被鉴定

出来<sup>[13-20]</sup>。在这些物种中,人、大鼠、小鼠、狗、牛、马、蝙蝠、蛙和负鼠中存在完整的苦味受体基因家族,其他物种的苦味受体基因家族不完整。比较这些物种的 $T2R$ 基因家族,发现苦味受体基因家族成员在数目上有很大变异(图4),从鸡最少的3个成员<sup>[19]</sup>到哺乳类和两栖类的20~50个成员<sup>[13]</sup>。其中,蛙的基因数目最多,共有64个成员,哺乳类的基因数目也很多,如大鼠中有42个基因,小鼠中有36个基因<sup>[13,15,17,23]</sup>。苦味受体基因家族成员数目的这种变异,可能和不同动物迥异的取食环境以及取食偏好有关<sup>[15]</sup>。相对于具有单一食物来源的动物来说,杂食性动物倾向于含有更大的基因家族,可能是因为它们的食物是动物性食物和植物性食物的混合,可能会遇到更多的有毒物质;而对具有单一食物来源的草食性动物和肉食性动物 $T2R$ 家族成员数目的比较发现,肉食性动物比草食性动物具有更少的功能苦味基因数目,原因可能是动物性食物比植物性食物含有更少的有毒物质<sup>[14]</sup>。不仅整个基因家族成员数目在不同物种中有差异,而且假基因占整个基因家族的比例在不同物种中也有很大差异(图4)。假基因占整个基因家族的比例从啮齿类的12%~15%到犬和人的25%和31%,再到蝙蝠的35%和牛的45%<sup>[13,15,17,18]</sup>。有趣的是,牛假基因的比例高达45%,提示着与其他动物相比,反刍动物在摄食过程中检测有毒物质的能力有所下降,这可能和牛体内反刍微生物有较强的解毒能力有关<sup>[13]</sup>。当然,对这种现象的解释还需要更多实验的验证。

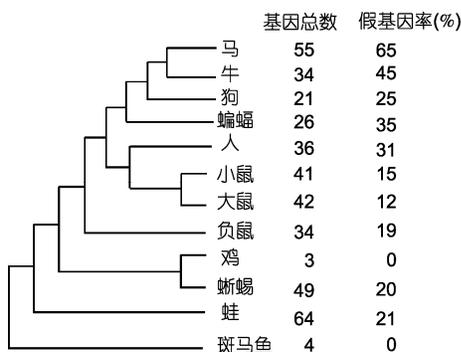


图4 苦味受体基因的分化

基因总数表示目前在物种鉴定的苦味受体基因的数目,假基因率(%)表示该物种中所含的苦味受体的假基因的数目占苦味基因总数的数目。部分物种由于基因组覆盖率较低,无确切的苦味受体基因数目和假基因率的数据,未在图中标出

### 3.2 苦味受体基因的演化动态

苦味受体基因之所以在不同物种中变异较大,可能和该家族复杂的演化动态有关。从 $T2R$ 基因家族长期的演化进程上看,该基因家族的系统发生呈现出一些有趣的演化模式。

第一,硬骨鱼和四足类的共同祖先可能已经存在多样化的苦味受体基因<sup>[13]</sup>,提示着苦味受体基因家族在脊椎动物的共同祖先是就产生了分化。第二, $T2R$ 基因家族演化遵循“birth-and-death”的模式<sup>[23]</sup>,所谓的“birth-and-death”的模型是指多基因家族的演化先通过基因复制产生新基因,随后复制产生的新基因有些得以保持原来的功能,有些获得了新功能而发生了分化;而其他没发生基因复制的基因通过积累和取代变异的方式演化<sup>[52]</sup>。第三, $T2R$ 基因家族在四足类的共同祖先发生过比较大的扩张,随后在蛙类和哺乳类也分别发生了独立的扩张,而 $T2R$ 基因家族在鸟类发生了缩小<sup>[13,23]</sup>。

### 3.3 苦味受体基因的演化动力

苦味受体基因复杂的演化动态提示存在着复杂的演化动力驱使着该基因家族的演化。我们将从 $T2R$ 整个基因家族、不同类型苦味受体基因和单个苦味受体基因这3个方面来阐述 $T2R$ 的演化动力。

第一,对灵长类和啮齿类的 $T2R$ 基因家族的比较研究发现,灵长类 $T2R$ 家族受到了选择压力放松。同时,在灵长类中人类 $T2R$ 家族的选择压力又小于大猿 $T2R$ 家族的选择压力<sup>[14-16,54]</sup>。相关的证据来自于以下两方面,首先小鼠的 $T2R$ 家族假基因比例是15%,它低于大猿的21%~28%;而大猿 $T2R$ 家族假基因比例又低于人的31%<sup>[14,15]</sup>。其次,灵长类的苦味受体基因有相同的同义取代率和异义取代率,表明灵长类 $T2R$ 家族受到的选择压力低于啮齿类 $T2R$ 家族的选择压力<sup>[14,15,56]</sup>。灵长类 $T2R$ 家族选择压力放松的一种可能的解释是,灵长类有效群体大小的减小使灵长类 $T2R$ 家族受到了纯化选择<sup>[14]</sup>,因为纯化选择使灵长类苦味受体基因的多样性降低,这就是一种选择压力放松的表现。另一种可能的解释是灵长类的生存环境、饮食结构的改变以及火的使用等,导致了灵长类降低了对苦味识别能力的需求度<sup>[15]</sup>。Wang等人<sup>[56]</sup>的研究更加强了第二种解释,他们发现人类饮食结构发生过较大改变。例如,在人类进化的某个阶段,人类食物构成中,动物性食物的比例有所

增加而植物性食物的比例有所降低。人类用火加工食物后，减少了食物中有毒物质的含量。这两种因素都使人类降低了对苦味识别能力的需求度，从而使人类苦味受体基因家族的选择压力放松。

第二，对人和小鼠的比较基因组分析发现，T2R基因家族可以分为物种或世系特异基因(Group A)和

直系同源基因(Group B和 Group C)两类(图 5)，其中物种特异基因包括那些通过短片段重复产生的新基因，这些新基因在染色体上集中分布。同一物种的这些基因在系统发生树上聚在一个 Cluster 内；而直系同源基因是由于物种分化形成的，从它们系统发生树的聚集方式可以看出，这些基因可以分为一对一

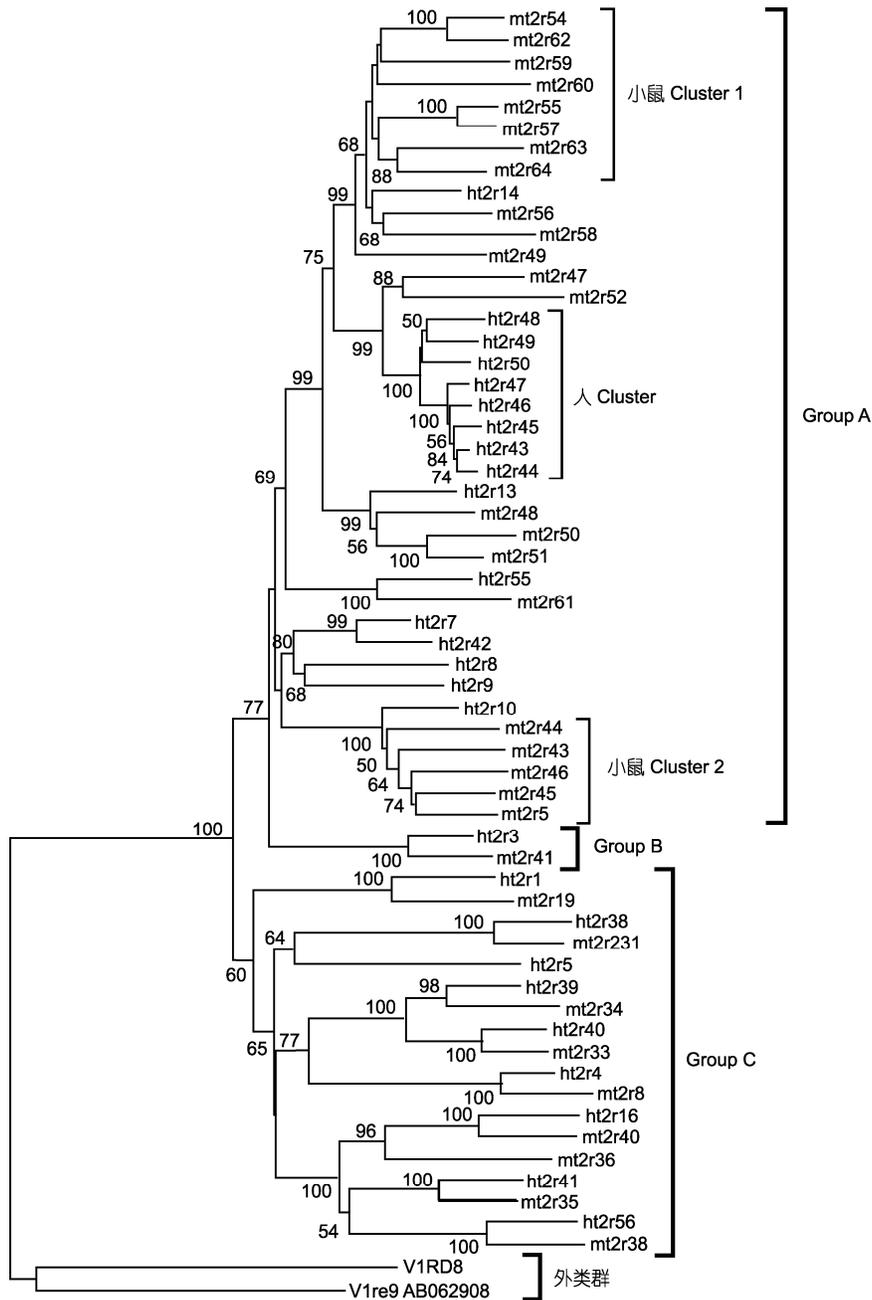


图 5

Group A, 物种或种系特异基因; Group B和Group C直系同源基因<sup>[42]</sup>. 该树为NJ树, 内支的数值代表Bootstrap值, 该树的Bootstrap值均在 50%以上

的直系同源基因和一对多的直系同源基因两类。物种或世系特异基因可能在物种特异苦味物质的检测中起作用<sup>[3]</sup>；而直系同源基因可能在检测不同物种共有的苦味物质中起到关键作用<sup>[15,17]</sup>，这是因为一对一的直系同源基因比物种或世系特异基因更保守，功能更重要，因此受到了更强的选择压力<sup>[3]</sup>。虽然T2R基因家族直系同源基因和物种或世系特异基因的这种分类假说起初只在人和小鼠这2个物种中适用，但有证据表明T2R基因家族的这种分类假说可以从人和小鼠这两个物种推广到9种脊椎动物<sup>[13,14]</sup>，当然这个分类假说的推广需要更多功能实验和其他研究的证实。

第三，虽然有很多证据支持人和大猿的T2R基因家族受到了选择压力放松，但不排除苦味受体基因家族中有个别成员受到选择的可能。例如，人T2R16，已经被证明是 $\beta$ -吡喃葡萄糖苷的受体<sup>[5]</sup>，就受到了正选择。分析比较来自60个人群的T2R16序列，发现除了非洲群体外，其他所有群体都在一个突变的等位基因上发现了显著的正选择<sup>[53]</sup>。这种现象的产生可能是在早期进化阶段，人类提高了对有害的生氰类植物和其他如熊果苷、水杨苷等天然有毒物质的防御——这些物质共有的结构是 $\beta$ -吡喃葡萄糖苷，说明T2R16检测苦味物质的灵敏度有所提高<sup>[53]</sup>。同时，蝙蝠苦味受体基因也受到了正选择，说明正选择在蝙蝠苦味受体基因的功能分化和特定苦味受体基因的形成过程中起到了重要的作用<sup>[18]</sup>。除正选择外，个别T2R还受到了平衡选择的作用。T2R38的配体是苯基硫脲(PTC)，研究表明这个等位基因受到了平衡选择的作用<sup>[55]</sup>。这个基因的变异导致识别PTC人群和不能识别PTC人群的分化<sup>[54]</sup>，正是平衡选择使不能识别PTC的T2R38等位基因能够保持其功能。有趣的是，黑猩猩群体中也存在能识别PTC和不能识别PTC个体的分化，但黑猩猩群体中不能识别

PTC个体产生的原因和人类不能识别PTC人群的产生原因不同。黑猩猩某些个体的能识别PTC的受体基因发生了突变，形成辣舞不能识别PTC的受体。所以，T2R38在人和黑猩猩中是独立演化的<sup>[57]</sup>。

随着对苦味受体基因家族各个成员研究的逐渐深入，对苦味受体基因家族演化动力的理解会更接近真实。

## 4 展望

目前，对苦味受体基因家族功能和演化研究已经取得了很大的进展，但仍有一些问题需要解决。从苦味受体基因家族功能研究的角度来看，以前对苦味受体基因家族功能研究多采用单一的生物化学、神经和进化的手段，使研究有一定的局限性，能否结合这几种手段，产生高通量的研究途径，高效地研究苦味受体的功能？另一方面，从苦味受体基因家族演化研究的角度来看，该基因家族通过“birth-and-death”的演化模式，不断丢失和产生基因，这种演化模式是否与环境改变有关？从进化的角度如何解释这种演化模式？有理由相信，随着以上问题的解决，我们对苦味受体基因家族的功能和演化会有更全面和系统的了解。另外，脊椎动物苦味受体基因的起源问题至今还没有一个确切的答案，最新研究发现，软骨鱼类的鲨鱼基因组中发现有味觉基因的存在，但在圆口纲七鳃鳗基因组中未发现味觉基因的存在<sup>[58]</sup>，提示着苦味受体基因起源可能在无颌类之后。那么，脊椎动物苦味基因的起源和苦味感觉的起源是否相关？研究表明，果蝇等昆虫也有识别苦味的能力<sup>[59]</sup>，提示着苦味感觉早在昆虫出现时已经出现了。有意思的是，脊椎动物的苦味基因和无脊椎动物的苦味基因是独立起源的，那么相同的苦味感觉为什么需要完全不同的受体来介导呢？人们对苦味受体基因起源和苦味感觉起源的了解还需要更多更深入的研究。

致谢 感谢杨晖博士在本文写作过程中给予的帮助，感谢刘振、叶志强、鲍学群、王维、余蕊和张志刚博士，他们的讨论和评论为本文的修改提供了许多帮助。

## 参考文献

- 1 Herness M S, Gilbertson T A. Cellular mechanisms of taste transduction. *Annu Rev Physiol*, 1999, 61: 873—900<sup>[DOI]</sup>
- 2 Wong G T, Gannon K S, Margolskee R F. Transduction of bitter and sweet taste by gustducin. *Nature*, 1996, 381: 796—800<sup>[DOI]</sup>

- 3 Chandrashekar J, Mueller K L, Hoon M A, et al. T2Rs function as bitter taste receptors. *Cell*, 2000, 100: 703—711 [\[DOI\]](#)
- 4 Adler E, Hoon M A, Mueller K L, et al. A novel family of mammalian taste receptors. *Cell*, 2000, 100: 693—702 [\[DOI\]](#)
- 5 Bufe B, Hofmann T, Krautwurst, et al. The human TAS2R16 receptor mediates bitter taste in response to beta-glucopyranosides. *Nat Genet*, 2002, 32: 397—401 [\[DOI\]](#)
- 6 Behrens M, Brockhoff A, Kuhn C, et al. The human taste receptor hTAS2R14 responds to a variety of different bitter compounds. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004, 319: 479—485 [\[DOI\]](#)
- 7 Kuhn C, Bufe B, Winnig M, et al. Bitter taste receptors for saccharin and acesulfame K. *J Neurosci*, 2004, 24: 10260—10265 [\[DOI\]](#)
- 8 Bufe B, Breslin P A, Kuhn C, et al. The molecular basis of individual differences in phenylthiocarbamide and propylthiouracil bitterness perception. *Curr Biol*, 2005, 15: 322—327 [\[DOI\]](#)
- 9 Kim U K, Jorgenson E, Coon H, et al. Positional cloning of the human quantitative trait locus underlying taste sensitivity to phenylthiocarbamide. *Science*, 2003, 299: 1221—1225 [\[DOI\]](#)
- 10 Pronin A N, Tang H, Connor J, et al. Identification of ligands for two human bitter T2R receptors. *Chem Senses*, 2004, 29: 583—593 [\[DOI\]](#)
- 11 Brockhoff A, Behrens M, Massarotti A, et al. Broad tuning of the human bitter taste receptor hTAS2R46 to various sesquiterpene lactones, clerodane and labdane diterpenoids, strychnine, and denatonium. *J Agric Food Chem*, 2007, 55: 6236—6243 [\[DOI\]](#)
- 12 Pronin A N, Xu H, Tang H, et al. Specific alleles of bitter receptor genes influence human sensitivity to the bitterness of aloin and saccharin. *Curr Biol*, 2007, 17: 1403—1408 [\[DOI\]](#)
- 13 Shi P, Zhang J. Contrasting modes of evolution between vertebrate sweet/umami receptor genes and bitter receptor genes. *Mol Biol Evol*, 2006, 23: 292—300
- 14 Fischer A, Gilad Y, Man O, et al. Evolution of bitter taste receptors in humans and apes. *Mol Biol Evol*, 2005, 22: 432—436
- 15 Go Y, Satta Y, Takenaka O, et al. Lineage-specific loss of function of bitter taste receptor genes in humans and nonhuman primates. *Genetics*, 2005, 170: 313—326 [\[DOI\]](#)
- 16 Parry C M, Erkner A, Le Coutre J. Divergence of T2R chemosensory receptor families in humans, bonobos, and chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 14830—14834 [\[DOI\]](#)
- 17 Shi P, Zhang J, Yang H, et al. Adaptive diversification of bitter taste receptor genes in mammalian evolution. *Mol Biol Evol*, 2003, 20: 805—814 [\[DOI\]](#)
- 18 Zhou Y, Dong D, Zhang S, et al. Positive selection drives the evolution of bat bitter taste receptor genes. *Biochem Genet*, 2009, 47: 207—215 [\[DOI\]](#)
- 19 Go Y. Proceedings of the SBE Tri-National Young Investigators' Workshop 2005. Lineage-specific expansions and contractions of the bitter taste receptor gene repertoire in vertebrates. *Mol Biol Evol*, 2006, 23: 964—972 [\[DOI\]](#)
- 20 Dong D, Jones G, Zhang S. Dynamic evolution of bitter taste receptor genes in vertebrates. *BMC Evol Biol*, 2009, 9: 12 [\[DOI\]](#)
- 21 Matsunami H, Montmayeur J P, Buck L B. A family of candidate taste receptors in human and mouse. *Nature*, 2000, 404: 601—604 [\[DOI\]](#)
- 22 叶萍. 苦味受体及其传导机制的研究进展. *国外医学口腔医学分册*, 2003, 30: 453—454
- 23 Conte C, Ebeling M, Marcuz A, et al. Evolutionary relationships of the Tas2r receptor gene families in mouse and human. *Physiol Genomics*, 2003, 14: 73—82
- 24 Hoon M A, Adler E, Lindemeier J, et al. Putative mammalian taste receptors: a class of taste-specific GPCRs with distinct topographic selectivity. *Cell*, 1999, 96: 541—551 [\[DOI\]](#)
- 25 Margolske R F. Molecular mechanisms of bitter and sweet taste transduction. *J Biol Chem*, 2002, 277: 1—4 [\[DOI\]](#)
- 26 Gilbertson T A, Damak S, Margolske R F. The molecular physiology of taste transduction. *Curr Opin Neurobiol*, 2000, 10: 519—527 [\[DOI\]](#)
- 27 张丁丁. 苦味受体 T2R. *国外医学情报*, 2002, 23: 25
- 28 Kim U K, Jorgenson E, Coon H, et al. Positional cloning of the human quantitative trait locus underlying taste sensitivity to phenylthiocarbamide. *Science*, 2003, 299: 1221—1225 [\[DOI\]](#)
- 29 Mueller L K, Hoon M A, Erlenbach I, et al. The receptors and coding logic for bitter taste. *Nature*, 2005, 434: 225—229 [\[DOI\]](#)
- 30 Finger T E, Bottger B, Hansen A, et al. Solitary chemoreceptor cells in the nasal cavity serve as sentinels of respiration. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 8981—8986 [\[DOI\]](#)
- 31 Hofer D, Asan E, Drenckhahn D. Chemosensory perception in the gut. *News Physiol Sci*, 1999, 14: 18—23
- 32 Wu S V, Rozengurt N, Yang M, et al. Expression of bitter taste receptors of the T2R family in the gastrointestinal tract and enteroendocrine STC-1 cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 2392—2397 [\[DOI\]](#)

- 33 Kolesnikov S S, Margolskee R F. A cyclic-nucleotide-suppressible conductance activated by transducin in taste cells. *Nature*, 1995, 376: 85—88[DOI]
- 34 Misaka T, Ishimaru Y, Iwabuchi K, et al. A gustatory cyclic nucleotide-gated channels CNG<sub>gust</sub>, is expressed in the retina. *Neuroreport*, 1999, 10: 743—746
- 35 Misaka T, Kusakabe Y, Emori Y, et al. Molecular cloning and taste bud-specific expression of a novel cyclic nucleotide-gated channel. *Ann N Y Acad Sci*, 1998, 855: 150—159[DOI]
- 36 Misaka T, Kusakabe Y, Emori Y, et al. Taste buds have a cyclic nucleotide-activated channel, CNG<sub>gust</sub>. *J Biol Chem*, 1997, 272: 22623—22629[DOI]
- 37 McLaughlin S K, McKinnon P J, Margolskee R F. Gustducin is a taste-cell-specific G protein closely related to the transducins. *Nature*, 1992, 357: 563—569[DOI]
- 38 Ruiz-Avila L, McLaughlin S K, Wildman D, et al. Coupling of bitter receptor to phosphodiesterase through transducin in taste receptor cells. *Nature*, 1995, 376: 80—85[DOI]
- 39 Kusakabe Y, Yamaguchi E, Tanemura K, et al. Identification of two alpha-subunit species of GTP-binding proteins, Galpha15 and Galphaq, expressed in rat taste buds. *Biochim Biophys Acta*, 1998, 1403: 265—272[DOI]
- 40 Naim M, Seifert R, Nurnberg B, et al. Some taste substances are direct activators of G-proteins. *Biochem J*, 1994, 297: 451—454
- 41 Kinnamon S C, Margolskee R F. Mechanisms of taste transduction. *Curr Opin Neurobiol*, 1996, 6: 506—513[DOI]
- 42 Lindemann B. Chemoreception: Tasting the sweet and the bitter. *Curr Biol*, 1996, 6: 1234—1237[DOI]
- 43 Rosenzweig S, Yan W, Dasso M, et al. Possible novel mechanism for bitter taste mediated through cGMP. *J Neurophysiol*, 1999, 81: 1661—1665
- 44 Sainz E, Cavenagh M M, Gutierrez J, et al. Functional characterization of human bitter taste receptors. *Biochem J*, 2007, 403: 537—543[DOI]
- 45 Reed D R, Nanthakumar E, North M, et al. Localization of a gene for bitter-taste perception to human chromosome 5p15. *Am J Hum Genet*, 1999, 64: 1478—1480[DOI]
- 46 Lush I E, Hornigold N, King P, et al. The genetics of tasting in mice. VII. Glycine revisited, and the chromosomal location of Sac and Soa. *Genet Res*, 1995, 66: 167—174
- 47 Capeless C G, Whitney G, Azen E A. Chromosome mapping of Soa, a gene influencing gustatory sensitivity to sucrose octaacetate in mice. *Behav Genet*, 1992, 22: 655—663[DOI]
- 48 Azen E A, Lush I E, Taylor B A. Close linkage of mouse genes for salivary proline-rich proteins (PRPs) and taste. *Trends Genet*, 1986, 2: 199—200[DOI]
- 49 Lush I E. The genetics of tasting in mice. III. Quinine. *Genet Res*, 1984, 44: 151—160
- 50 Lush I E. The genetics of tasting in mice. IV. The acetates of raffinose, galactose and beta-lactose. *Genet Res*, 1986, 47: 117—123
- 51 Lush I E, Holland G. The genetics of tasting in mice. V. Glycine and cycloheximide. *Genet Res*, 1988, 52: 207—212
- 52 Nei M, Gu X, Sitnikova T. Evolution by the birth-and-death process in multigene families of the vertebrate immune system. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1997, 94: 7799—7806[DOI]
- 53 Soranzo N, Bufe B, Sabeti P C, et al. Positive selection on a high-sensitivity allele of the human bitter-taste receptor TAS2R16. *Curr Biol*, 2005, 15: 1257—1265[DOI]
- 54 Floriano W B, Hall S, Vaidehi N, et al. Modeling the human PTC bitter-taste receptor interactions with bitter tastants. *J Mol Model*, 2006, 12: 931—941[DOI]
- 55 Wooding S, Kim U K, Bamshad M J, et al. Natural selection and molecular evolution in PTC, a bitter-taste receptor gene. *Am J Hum Genet*, 2004, 74: 637—646[DOI]
- 56 Wang X, Thomas S D, Zhang J. Relaxation of selective constraint and loss of function in the evolution of human bitter taste receptor genes. *Hum Mol Genet*, 2004, 13: 2671—2678[DOI]
- 57 Wooding S, Bufe B, Grassi C, et al. Independent evolution of bitter-taste sensitivity in humans and chimpanzees. *Nature*, 2006, 440: 930—934[DOI]
- 58 Wendy E, Zhang J. Origin of the Genetic components of the vomeronasal system in the common ancestor of all extant vertebrates. *Mol Biol Evol*, 2009, 26: 407—419[DOI]
- 59 Amrein H, Thorne N. Gustatory Perception and Behavior in *Drosophila melanogaster*. *Curr Biol*, 2005, 25: R673—R684[DOI]

## Latest advances on the studies of function and evolution of bitter taste receptor gene (*T2R*) family

HU LingLing & SHI Peng

State Key Laboratory of Genetic Resources and Evolution, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China

The perception of bitter taste, as a defensive mechanism against ingestion of toxins, plays a very vital role in animal's life because it can help animals avoid intake of poisonous substances. The ability of bitter taste detecting is extremely differential among vertebrates, which may mainly be due to their diverse living environment and dissimilar food preference. The bitter taste perception is initially mediated by the interaction between bitter tastants and their receptors. Thus, the studies of bitter taste genes (*T2R*) provide us an opportunity to understand the molecular basis of bitter taste perception. More recently, more and more ligands of bitter taste receptors were described *in vitro* functional assays. On the other hand, with the available of many vertebrate genome sequences, the study on the evolution of bitter taste receptor gene has got great progress. Studying evolutionary force can trace the change patterns of the function of bitter taste receptors in different species which can help us find more ligands of bitter taste receptors. In this review, we focus on the latest advances on the function and evolution of *T2R* gene family in vertebrates. Then, we propose some visions on the future studies of *T2R* gene family.

T2R, ligand, Function, Evolution, selection

doi: 10.1360/972009-1142

---

· 动态 ·

### 中国科学院生物物理研究所招聘博士后及副研究员

中国科学院生物物理研究所范祖森课题组主要从事免疫活性细胞发育分化调控、免疫细胞发育的信号转导、免疫活性细胞介导的抗肿瘤机制和肿瘤诊断靶标的鉴定及免疫治疗等领域的研究。近年来,在 *Cell*, *Nat Immunol*, *Curr Opin Immunol*, *Blood*, *Mol Cell Biol*, *Cell Death Different*, *J Immunol*, *J Biol Chem* 等国际著名期刊发表近 20 篇学术论文。抗肿瘤机制的研究工作曾被 *Science* 杂志推荐介绍。现因工作需要特招聘 2 名博士后和 1 名副研究员。受聘者应在分子生物学、免疫学、遗传学及生物医学等相关领域获得博士学位,在一流实验室接受过博士或博士后训练,具有良好的研究论文发表和英语写作交流能力,并要求具有良好的组织协调能力。能胜任的申请者将享受有竞争力的薪酬。请应聘者将个人简历、研究设想及 3 封推荐信发送至 E-mail: fanz@moon.ibp.ac.cn, Tel: 010-64888457。