

## An Expression Levels Analysis of the Bitter Taste Receptors in the Murine Exocrine Glands

Su-Young Ki<sup>1</sup>, Young-Kyung Cho<sup>1,2</sup>, Ki-Myung Chung<sup>1,2</sup> and Kyung-Nyun Kim<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology and Neuroscience, college of Dentistry, Gangneung-Wonju National University

<sup>2</sup>Research Institute of Oral Sciences, Gangneung-Wonju National University

(received December 13, 2017; revised February 7, 2018; accepted February 8, 2018)

Recent findings indicate that Type 2 taste receptors (*T2Rs*) are expressed outside the gustatory system, including in the gastrointestinal tracts and the exocrine glands, such as the submandibular (SM), parotid (P), lacrimal (L) glands and pancreas (PC). Specifically, *T2Rs* are found in some of the gastrointestinal endocrine cells, and these cells secreted peptide hormones in response to stimulation by bitter-tasting compounds. The results show that *T2Rs* may have significant physiological roles besides bitter taste reception. The functions of the *T2Rs* in the exocrine glands remain poorly understood. An expression levels analysis of *T2Rs* will help to determine those functions in the exocrine glands. The expression levels of the *T2Rs* in the exocrine glands were discovered via the qPCR.

C57BL/6J mice of 42~60-day-old were used. Messenger RNAs were extracted from S, P, L and PC. Cloned DNAs were synthesized by reverse transcription. Quantitative PCRs were performed using the SYBR Green method. The expression levels of the *T2Rs* were calculated as relative expression levels

to that of the GAPDH. The statistical significance among the observed exocrine glands was tested using the variance analysis (ANOVA test).

*Tas2r108*, out of murine 35 *T2Rs*, was the most highly expressed in every observed exocrine gland. This finding was similar to previous results from tongue papillae, but the expression levels were lower than those of the tongue papillae. *Tas2r137* of SM, P, L and PC were expressed a little lower than that of tongue papillae. The *T2Rs* in the exocrine glands may play slightly different roles from those in the tongue. We suggest that physiological studies such as a patch clamp and functional  $Ca^{2+}$  imaging of acinar cells are necessary for understanding the *Tas2r108* functions.

**Key words:** Bitter taste receptor, Exocrine gland, qPCR, *T2Rs*, *T2r108*

### 서론

미각은 영양소를 포함한 유익한 물질을 탐지할 뿐만 아니라 독과 같은 유해한 물질을 탐지할 수 있도록 진화해왔다. 특히 쓴맛은 생명에 치명적인 독성 물질이나 부패한 음식 등의 소화를 지연시킨다.

기본적인 미각은 짠맛, 신맛, 단맛, 쓴맛 그리고 감칠맛으로 구분되며 단맛, 쓴맛, 감칠맛은 미각 감기를 통해 감지된다[1]. 미각 수용체의 종류는 단맛과 감칠맛에 관여하는 1형 미각 수용체(T1R1-3)와 쓴맛에 관여하는 2형 미각 수용체(T2Rs)로 나눌 수 있다. 미각 수용체는 G-protein coupled receptors (GPCRs)의 한 종류로, 특정

\*Correspondence to: Kyung-Nyun Kim, Department of Physiology and Neuroscience, College of Dentistry, and Research Institute of Oral Sciences, Gangneung-Wonju National University, 7, Jukheongil, Gangneung, 25457, Korea  
Tel: +82-33-640-2450  
E-mail: knkim@gwnu.ac.kr  
ORCID : 0000-0001-5429-1358

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

G protein인  $\alpha$ -gustducin에 의해서 단맛, 감칠맛, 쓴맛과 같은 미각 신호가 전달된다[1]. 미각 신경으로 전달할 수 있는 활동전압을 전환하는 방법으로는  $\alpha$ -gustducin이 phospholipase PC $\beta$ 2(PLC $\beta$ 2)를 활성화시켜 생성된 inositol trisphosphate (IP $_3$ )가 세포 내 칼슘이온 저장고의 칼슘이온의 유리를 유도하거나 transient receptor potential 이온통로 M5 (TrpM5)을 열어 세포 외부의 칼슘이온 유입을 유발하는 것이 있다[2].

T2Rs는 사람에서 25개, 생쥐에서 35개가 발현하는 것으로 밝혀져 있다[3, 4]. 이와 같이 다양한 유전자를 보유한 2형 미각 수용체는 최근 많은 연구를 통하여 위장[5]과 호흡상피[6], 외분비선[7] 등과 같은 구강 외 조직에서 발현하며 그 기능들을 밝혀내고 있다. 밝혀진 증거들에 의하면 구강 외의 2형 미각 수용체는 소화나 호흡과 관련하여 독성물질과 같은 화학물질을 감지하는 기능을 담당하고 있으며[5, 6] 더 정확한 기능을 확인하기 위하여 많은 연구들이 진행되고 있다. 구강 외 조직에서 시행된 초기 연구에서는 RT-PCR을 통하여 생쥐와 쥐의 타액선과 췌장, 누선에서 미각 수용체의 발현을 확인하였으며 이것은 외분비선에서 쓴맛 물질에 반응하여 분비액의 분비가 일어날 수 있다는 가능성을 시사한다[7]. 이후 연구를 통해서 구강 외에서 발현하는 미각 수용체의 정확한 생리적 역할을 규명하는데 집중하였다. 쓴맛 물질인 denatonium을 흰쥐의 위장에 투여하였을 때, 위장 내 음식물의 배출이 지연되었고 이것은 위장에서 2형 미각 수용체가 발현하며 유해한 물질일 가능성이 있는 화학물질을 감지하여 소화를 지연시켜 생명체를 보호하는 기능을 담당할 것으로 생각된다[8]. STC-1 세포에서 쓴맛 수용체와  $\alpha$ -gustducin이 발현되며, 쓴맛 물질에 대한 반응으로 신경반사를 활성화시키고 인접한 세포들의 활성을 조절하는 신경 전달 물질의 분비를 촉진시키는 것을 확인하였다[9]. 또한 흰쥐의 기도에서도 2형 미각 수용체와 이의 신호전달에 필수적인 요소인  $\alpha$ -gustducin이 발현되며, 이들은 자극적인 물질과 병원균의 흡입 시 감지하여 기도가 손상되지 않도록 보호반사의 기능에 관여하는 것을 확인하였다[10]. 또한 생쥐의 악하선에서 2형 미각 수용체 중 Tas2r108 mRNA가 도관 세포보다 선포세포에서 발현수준이 높은 것으로 확인되었다. 악하선의 선포세포에서 발현하는 Tas2r108이 쓴맛을 감지하여 세포 내 Ca $^{2+}$  신호를 활성화시켜 자체적으로 타액을 생성하고 분비를 조절하는 기전을 갖추고 있을 가능성이 있다[11]. 생체로 들어오는 화학물질 중 유해한 물질을 보다 민감하게 감지하기 위하여 선포세포가 자체적으로 미각을 감지하는 기능을 발달시켰을 가능성이 시사한다.

소화액 중 타액은 미각과의 연관성이 다수의 연구를 통하여 밝혀져 있다. 미각은 타액 형성에 주요 자극원이며 음식물이 미각 수용체 세포를 자극하기 위해서는 타액에 녹아야 하므로 미각을 인식하는데 타액 역시 필수적이다. 타액은 미각세포 미세돌기의 표면에 존재하는 미각 수용체의 미세 환경을 제공하므로 미각 감수성과 밀접한 관계를 갖고 있다[1]. 앞선 연구를 통하여 이하선과 악하선에서 미각 수용체가 발현하는 것을 확인하였고 [7] 이 결과 역시 미각과 타액이 밀접한 관련이 있을 것이라는 근거를 제시하지만 타액선에서 발현하는 미각 수용체의 정확한 생리학적 기능에 대해서는 추가적인 연구가 필요하다.

외분비선의 분비와 미각 수용체의 관계는 타액선을 제외하고 잘 알려져 있지 않다. 미각 자극으로 소화액의 분비가 나타나고 이러한 현상은 대부분 중추 신경계를 경유하는 반사활동에 의한 분비라고 알려져 있지만 미각 물질로 인한 소화액의 분비에 대한 직접 자극 효과는 아직 연구가 부족한 상황이다.

외분비선과 미각 수용체의 연관성에 대해 알려져 있는 연구들은 쓴맛보다는 단맛에 초점이 맞추어진 경우가 많다. 소화관 세포에서 발현하는 단맛 수용체는 단맛 물질을 감지하여 소화관 세포를 활성화 시키고 glucagon-like peptide-1과 glucose-dependent insulinotropic peptide의 분비를 유발하여 sodium-dependent glucose transporter 1(SGLT1)의 발현을 자극하는 것을 확인하였다[12]. 또한 췌장의  $\beta$  세포에서 발현하는 단맛 수용체는 단맛 물질에 반응하여 칼슘과 cAMP 신호전달체계를 활성화시키고 인슐린 분비를 자극하는 것이 확인되었다[13]. 일부 연구에서 쓴맛과 관련하여  $\beta$ 세포에서 진행된 연구로 쓴맛 물질 중 denatonium이 Kir6.2에 직접적으로 작용하여 ATP-potassium 이온통로를 차단하고 그 결과 인슐린 분비를 자극하는 것이 알려져 있다[14]. 하지만 외분비선과 쓴맛 수용체의 연관성과 그것의 정확한 생리학적 역할을 밝히기 위한 연구들은 부족하다.

본 연구는 외분비선 중 앞선 연구를 통하여 미각 수용체가 발현하는 것으로 알려진 악하선, 이하선, 누선 및 췌장에서 미각 수용체의 발현량과 발현양상을 비교하여 그 생리적 역할을 추정하는 단서를 얻고자 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 실험 동물

본 연구의 실험계획은 강릉원주대학교 실험동물윤리위

원회의 승인(GWNU-2016-19)을 얻은 후, 위원회의 감독을 받으며 수행하였다. 실험동물은 생후 42-60일령의 수컷 C57BL/6J 생쥐(오리엔트 바이오, 대한민국)를 강릉원주대학교 동물실에서 실험동물용 고형사료와 물을 자유롭게 공급하며 일정 기간 사육한 뒤 실험에 사용하였다.

### 외분비선 분리

실험동물을 경추탈구로 희생시킨 후 즉시 악하선, 이하선, 눈물선 그리고 췌장을 분리하였다. 분리한 조직은 얼음에서 차게 시킨 N-2-hydroxy-ethylpiperazine-N-2-ethanesulfonic acid (HEPES) 완충-Tyrode 용액(140 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 5 mM glucose, 10 mM HEPES, 5 mM pyruvate, pH 7.4)에 보관하였다.

### RNA 준비

분리된 조직을 액체 질소에 얼려 잘게 부순 후, RNeasy Mini kit (Qiagen, 미국)로 RNA를 추출하였다. RNA 추출 과정은 잘게 부순 악하선, 이하선, 눈물선 그리고 췌장을 guanidine thiocyanate이 포함된 RLT 완충용액과  $\beta$ -mercaptoethanol을 100:1 비율로 섞은 혼합액에 넣어 원심분리 한 후, 70% 에탄올과 1:1로 섞었다. 준비한 컬럼에 넣어 부착시킨 후, 에탄올이 포함된 RW1 완충용액으로 2번 세척한 후에 RPE 완충용액으로 다시 한 번 세척하였다. 원심분리로 건조한 후, RNase-free water를 넣어 RNA를 추출하였다.

### cDNA 합성

추출한 RNA에서 ReverTra Ace<sup>®</sup> qPCR RT Master Mix with gDNA Remover (TOYOBO, 일본)를 사용하여 cDNA를 합성하였다. cDNA 합성과정은 0.5 $\mu$ g의 RNA를 준비하여 65°C에서 5분간 변성시킨다. 변성시킨 RNA를 RNase 억제제가 포함된 DN Master Mix, Nuclear free water와 섞어 37°C에서 5분간 배양시킨다. 역전사 효소, RNase 억제제, oligo dT primer가 포함된 RT Master Mix와 섞은 후 다시 37°C에서 15분간 배양시킨다. 98°C에서 5분 가열하여 반응을 중지시킨다.

### Quantitative polymerase chain reaction (qPCR)

100ng의 cDNA와 최의 연구[15]에서 사용한 미각 수용체 유전자에 특이한 primer를 KOD SYBR<sup>®</sup> qPCR Mix (TOYOBO, 일본)와 섞은 후, CFX96<sup>™</sup> (BIO-RAD, 미국)을 사용하여 95°C에서 3분간 변성 과정을 거친 후, 95°C에서 5초, 60°C에서 30초의 과정을 60cycle 반복하였으

며 95°C에서 10초, 65°C에서 95°C까지 5°C 간격으로 5초간의 과정을 거치며 용융 곡선을 그렸다. 모든 과정이 끝나면 그래프를 분석하여 결과를 확인하였다. 모든 과정은 3회 이상 반복하여 재현성을 확인하였다.

### 데이터 분석

총 결과는 항존유전자(housekeeping gene)로 사용한 glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH)에 대해 상대적인 값으로 계산하였다. 계산된 각각의 값은 도식적 표현이 가능한 heatmap 분석을 통해 시각화하였다. 각 실험군 사이의 통계적 유의성은 분산 분석법(ANOVA test)을 사용하여 검증하였다.

## 결 과

### 1형 미각 수용체

1형 미각 수용체의 GAPDH에 대한 상대적인 발현량을 확인한 결과, 악하선은  $0.58 \times 10^{-6} \sim 194.35 \times 10^{-6}$ 배, 이하선은  $0.02 \times 10^{-6} \sim 382.23 \times 10^{-6}$ 배, 눈선은  $7.42 \times 10^{-6} \sim 739.41 \times 10^{-6}$ 배, 췌장은  $0.05 \times 10^{-6} \sim 52.95 \times 10^{-6}$ 배의 발현량을 보였다(Table 1).

3가지의 1형 미각 수용체는 조직 간에 서로 다른 양이 발현한 것처럼 보였으나, 유의성을 발견하지 못하였다( $p=0.208$ ). 또한 각 조직 내에서 1형 미각 수용체의 발현도 유의한 차이를 발견하지 못하였다( $p=0.187$ ).

### 2형 미각 수용체

2형 미각 수용체는 췌장, 이하선, 악하선, 눈선 순으로 많이 발현하였다(Fig. 1, Table 1). 악하선, 이하선, 눈선, 췌장 모두에서 가장 많이 발현한 2형 미각 수용체는 Tas2r108 였으며 그 다음으로 Tas2r137이 많이 발현하였다(Fig. 1). 4가지 조직에서 Tas2r108은  $0.3 \times 10^{-1} \sim 0.5$ 배 발현하였고, Tas2r137은  $0.31 \times 10^{-9} \sim 1.12 \times 10^{-3}$ 배 범위 내에 발현하였다(Table 1).

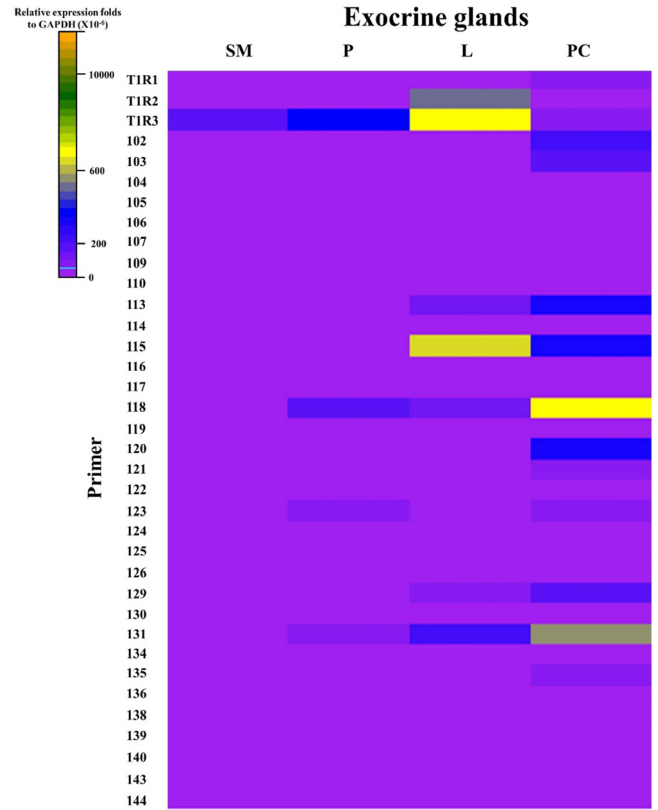
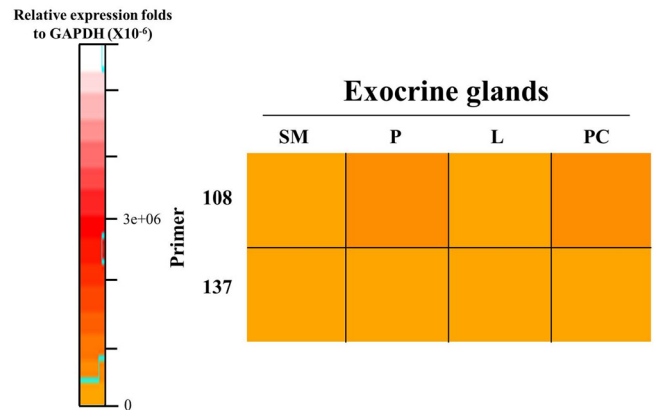
2형 미각 수용체의 GAPDH에 대한 상대적인 발현량을 확인한 결과, 4가지 조직 모두에서 Tas2r108이 가장 많이 발현하였다(Fig. 2). 또한 이하선을 제외한 3가지 조직에서 Tas2r137도 많은 발현량을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

조직 간 2형 수용체의 발현에는 유의한 차이를 발견하지 못하였다( $p=0.605$ ). 조직 내 유의성을 확인한 결과, 악하선과 이하선에서는 유의한 차이를 발견하지 못하였지만(악하선,  $p=0.181$ ; 이하선,  $p=120$ ) 눈선과 췌장 내에서 유의한 차이를 확인하였다(눈선,  $p<0.0001$ ; 췌장,  $p<0.0001$ ).

**Table 1.** Relative expression levels of *T1rs*, *T2rs* to those of GAPDH in observed exocrine glands( $\times 10^{-6}$ )

Gene	SM	P	L	PC
T1R1	0.58	7.30	7.42	50.17
T1R2	29.23	0.03	541.06	0.06
T1R3	194.35	382.23	739.41	52.95
102	0.93	0.58	0.91	200.43
103	0.01	6.70	0.34	189.46
104	0.21	0.01	0.02	0.02
105	0.08	0.01	0.58	0.09
106	*	*	*	*
107	0.01	0.03	0.16	2.46
108	36933	413070	65083	537300
109	1.61	1.76	3.47	4.90
110	0.00	*	0.02	0.02
113	10.42	39.42	112.64	312.08
114	*	6.31	0.40	0.02
115	1.62	1.34	648.26	302.67
116	0.02	*	0.00	0.03
117	0.06	0.16	9.58	6.09
118	20.94	147.90	145.42	715.97
119	0.22	19.38	13.21	42.27
120	3.71	31.72	27.09	333.40
121	0.47	1.52	0.59	51.19
122	1.63	*	*	*
123	4.14	50.22	31.10	92.67
124	*	0.65	0.40	0.68
125	0.62	0.04	*	*
126	0.45	0.04	*	*
129	4.86	13.31	94.62	174.24
130	0.02	1.04	0.05	0.04
131	18.34	73.55	215.25	560.40
134	0.47	0.14	3.43	27.28
135	29.16	28.96	16.48	75.80
136	1.99	0.02	0.03	0.02
137	33.48	0.000319	1127	419
138	*	0.03	0.05	*
139	0.01	3.57	0.18	5.06
140	*	45.11	0.05	0.26
143	2.43	24.22	11.49	46.73
144	0.77	9.55	26.25	9.36

\* means that the relative levels of T2Rs were  $10^{-6}$  less than that of GAPDH.

**Fig. 1.** The heatmap represents relative expression levels to GAPDH in SM, P, L and PC in C57BL/6J mice. SM, submandibular glands; P, parotid glands; L, lacrimal glands; PC, pancreas.**Fig. 2.** *Tas2r108* was the most highly expressed *T2r* in every observed exocrine glands. *Tas2r137* of SM, P, L and PC were expressed lower than *Tas2r108*.

## 고 찰

미각은 음식물의 섭취와 밀접한 관계를 맺고 있으며, 섭취하는 음식물의 종류, 영양 및 건강 상태에 의해서도 많은 영향을 받는다. 적절한 에너지와 영양분의 섭취는

생존에 필수적인 요소이며, 미각은 이러한 영양분과 에너지원 및 대사에 필수적인 물질의 감지와 섭취에 핵심적인 역할을 한다.

맛봉오리는 혀 이외에 구강, 인두 및 후두에서도 발견되었으며 현재 많은 연구들을 통하여 소화와 관련된 조직[5, 8]과 호흡상피[6, 10] 등에서도 발견되었다. 조직학적으로는 모든 부위의 맛봉오리가 비슷하게 보이지만 혀와 다른 부위에 존재하는 맛봉오리에는 생리학적 역할에 중요한 차이가 있을 것으로 추측된다.

맛봉오리를 구성하는 세포는 형태학적 특징에 따라 4가지의 세포(1-4형)로 구분할 수 있다[16]. 그 중 주로 맛봉오리의 가장자리에 위치하고 있는 2형 미각세포는 G-protein coupled protein(GPCR)에 속하는 1형 미각 수용체(T1R1-3)와 2형 미각 수용체(T2Rs)를 통하여 단맛, 감칠맛, 쓴맛을 감지하는 역할을 한다[2]. 이 세포는 신호전달물질을 pannexin 통로를 통하여 ATP를 분비하여 3형 미각세포인 시냅스세포를 흥분시킨다[1].

쓴맛을 감지하는 2형 미각 수용체는 단량체 기능을 하며 종에 따라 유전자의 분포가 다르게 나타나는데 포유류에서는 20-35가지의 종류가 발견되었다[17-19]. 이와 같이 다양한 유전자의 분포를 나타내는 2형 미각 수용체는 구강 외의 조직에서 발견되며 맛을 감지하는 기능보다는 소화나 호흡과 관련한 생리적 기능을 할 것으로 생각된다. 흰쥐의 기도에서도 2형 미각 수용체와  $\alpha$ -gustducin이 발현하는 것을 확인하였으며 이것들은 자극적인 물질과 병원균 흡입 시 기도가 손상되지 않도록 보호반사의 역할을 할 것으로 추측된다[10]. 또한 흰쥐의 위장에서 발현하는 2형 미각 수용체는 쓴맛 물질이 위장에 들어오면 유해물질로 감지하여 소화를 지연시켜 생물체의 생명유지에 기여할 것으로 생각된다[8]. 췌장 내분비선에서도 2형 미각 수용체 및  $\alpha$ -gustducin의 존재를 확인하였는데 이것은 혈중 쓴맛 미각 물질을 감지하여 호르몬의 분비에 관여할 수 있다고 제안하였다[5]. 외분비선인 타액선과 누선 등에서도 2형 미각 수용체를 RT-PCR를 통하여 발현을 확인하였으며 이는 섭취한 음식 중 유해한 성분을 지닌 쓴맛 물질을 보다 민감하게 감지하여 외분비선을 자극하여 분비액의 분비를 증가시키는 기능을 발달시켰을 가능성이 있다[7].

최근 최의 연구결과에서 생쥐의 혀의 버섯유두, 잎새유두, 성곽유두 모두에서 3종의 1형 미각 수용체와 35종의 2형 미각 수용체가 모두 발현하는 것을 확인하였으며 각각의 미각 수용체의 발현량과 발현 양상이 다르게 나타났다[15]. 2형 미각 수용체의 경우, 버섯유두보다는 잎새유두와 성곽유두에서 더 많은 발현량을 나타내었고, 쓴맛에 더 예민하다고 알려진 혀 뒤쪽의 잎새유두와 성곽

유두가 존재하는 것이 반영된 결과로 생각된다. 특히 Tas2r108과 Tas2r137의 발현량은 다른 2형 미각 수용체에 비해 많았다. 이와 같이 본 연구에서 사용한 모든 외분비선에서도 Tas2r108이 가장 많이 발현하였다(table 1, figure 2). Tas2r108은 dentonium, quinine, cholchicine 등과 같이 다양한 쓴맛 물질을 감지하는 광범위한 쓴맛 수용체의 역할을 하는 것으로 알려져 있어[20, 21] Tas2r108의 발현량이 현저히 많은 것은 추측이 가능하나 Tas2r137이 많이 발현되는 것에 대해서는 아직까지 추측이 불가능하다. 특정 2형 미각 수용체가 많이 발현하는 것에 대한 정확한 생리학적 의미에 대해서는 추가적인 연구가 필요한 상황이다.

외분비선 중 미각과 밀접한 관련이 있는 타액선에서 안정 시와 수면 시 가장 분비가 활발하여 혼합 타액의 성분에 가장 큰 영향을 주는 악하선[1]과 크기가 가장 큰 이하선, 앞선 연구를 통해 미각 수용체가 발현하는 것으로 알려진 누선과 췌장 조직으로 qPCR을 시행하여 외분비선에서 발현하는 미각 수용체의 생리학적 역할을 규명하기 위하여 본 연구를 수행하였다.

qPCR은 DNA 주형을 DNA 증합효소를 사용하여 반복적으로 복제된 산물의 양이 증폭될 때마다 측정하는 방법이다. 증폭이 일어나는 구간에서의 반응을 실시간으로 확인할 수 있으므로 측정하려고 하는 유전자의 최소량을 정확하게 확인할 수 있으며, GAPDH와 같은 내부 표준 물질을 사용하여 실험군의 mRNA 발현량을 정량할 수 있다[15, 22].

본 연구에서 사용한 primer는 권[7]과 최[15]의 연구에서 단일 미각 수용체 유전자에 대한 특이성을 단일 RT-PCR과 qPCR을 통하여 확인하였으므로 본 연구의 qPCR을 통하여 얻은 결과 또한 미각 수용체 유전자에 해당하는 결과로 생각할 수 있다.

qPCR을 시행한 결과, 악하선, 이하선, 누선, 악하선에서 3종의 1형 미각 수용체 및 일부 2형 미각 수용체를 제외하고 발현하였다(table 1, Figure 1). 1형 미각 수용체의 경우 Tas1r1은 췌장에서, Tas1r2과 Tas1r3는 누선에서 가장 많이 발현하였다. 1형 미각 수용체 중 Tas1r3의 경우, 단맛과 감칠맛 모두에 관여하기 때문에 가장 많이 발현할 것으로 예상할 수 있었는데 실험 결과, 4가지 조직에서 1형 미각 감수기 중 가장 많이 발현하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 혈당 조절과 관련이 있는 췌장에서 단맛 수용체인 Tas1r2과 Tas1r3가 다른 조직에 비해 많이 발현할 것으로 예상하였는데 두 가지 수용체 모두 누선에서 가장 많이 발현하였다. 이 결과가 생리학적으로 어떠한 의미가 있는지는 후속 연구를 통하여 알아볼 필요가 있다. 분산분석법 결과, 1형 미각 수용체는

조직 내 그리고 조직 간에서 발현한 것이 유의한 차이가 없었다.

2형 미각 수용체의 경우, 4가지 조직 중 췌장에서 가장 많은 발현량을 나타내었다(table 1, figure 1). 특히 Tas2r108과 Tas2r137의 발현량은 다른 2형 미각 수용체들에 비해 많았다(table 1, figure 2). 2형 미각 수용체의 GAPDH에 대한 상대적인 발현 양상을 확인한 결과, 대부분 2형 미각 수용체가 GAPDH보다 낮은 발현 양상을 보였으나 4가지 조직의 Tas2r108과 이하선을 제외한 3가지 조직의 Tas2r137은 GAPDH보다 많은 발현 양상을 보였다. 혀의 버섯유두, 잎새유두 및 성곽유두에서 1형 및 2형 미각 감수기의 발현정도를 확인한 최의 연구에서도 가장 많이 발현한 미각 수용체는 Tas2r108이었으며 Tas2r137이 두 번째로 많이 발현하는 것이 알려져 있다[15]. 본 연구에 사용한 4가지 조직과 혀의 유두에서 발현하는 2형 미각 수용체의 발현 양상이 유사한 것을 확인할 수 있었다. 분산분석법 결과, 2형 미각 수용체가 누선과 췌장 내에서는 유의한 차이를 보였으나, 악하선과 이하선 내에서는 유의한 차이를 발견하지 못하였다. 또한 2형 미각 수용체에서 조직 간의 유의한 차이를 발견하지 못하였다.

qPCR을 통하여 악하선, 이하선, 누선, 췌장에서 발현하는 미각 수용체에 대한 발현량과 발현양상을 확인할 수 있었지만 각 조직에서 미각 수용체가 생리학적으로 정확히 어떠한 역할을 하는지 규명하지 못하였다. 혀의 유두에서 확인한 것과 같이 Tas2r108과 Tas2r137이 다른 미각 수용체에 비하여 현저히 많이 발현하는 것을 확인하였지만 정확한 생리학적 역할을 확인하기 위해서는 패치 클램프나  $Ca^{2+}$  imaging과 같은 추가적인 연구를 통하여 규명할 필요가 있다. 또한 외분비선과 혀에서 가장 많이 발현하는 Tas2r108의 녹아웃 생쥐를 생산하여 그 기능을 더 명확히 알아보는 연구가 필요하다.

## Acknowledgements

The work is supported by Basic science Research Program through the National Research Foundation in Korea (NRF) funded by the Ministry of Science, ICT and Future Planning (2017R1D1A1A02017522)

## References

1. National Dental Institute physiology professors' association. Physiology for dentistry. 3rd ed. Seoul: DaehanNarae

- Publishing; 2016. p. 587-599.
2. Zhang Y, Hoon MA, Chandrashekar J, Mueller KL, Cook B, Wu D, Zuker CS, Ryba NJ. Coding of sweet, bitter, and umami tastes: different receptor cells sharing similar signaling pathways. *Cell*. 2003;112:293-301. DOI: 10.1016/S0092-8674(03)00071-0
3. Wong GT, Gannon KS, Margolskee RF. Transduction of bitter and sweet taste by gustducin. *Nature*. 1996;381:796-800. DOI: 10.1038/381796a0
4. Adler E, Hoon MA, Mueller KL, Chandrashekar J, Ryba NJ, Zuker CS. A novel family of mammalian taste receptors. *Cell*. 2000;100:693-702. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80705-9
5. Höfer D, Drenckhahn D. Identification of taste cell G-protein  $\alpha$ -gustducin in brush cells of rat pancreatic duct system. *Histochem Cell Biol*. 1998;110:303-309. DOI: 10.1007/s004180050292
6. Finger TE, Bottger B, Hansen A, Anderson KT, Alimohammadi HM, Silver WL. Solitary chemoreceptor cells in the nasal cavity serve as sentinels of respiration. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:8981-8986. DOI: 10.1073/pnas.1531172100
7. Kwoen SB. Physiology of Taste Receptors in Exocrine Glands. Ph.D., Gangneung-Wonju National University, Gangneung, Korea, 2012
8. Glendinning JI, Yiin Ym, Ackroff K, Sclafani A. Intra-gastric infusion of denatonium conditions flavor aversions and delays gastric emptying in rodents. *Physiol Behav*. 2008;93:757-765. DOI: 10.1016/j.physbeh.2007.11.029
9. Wu SV, Rozengurt N, Yang M, Young SH, Sinnott-Smith J, Rozengurt E. Expression of bitter taste receptors of the T2R family in the gastrointestinal tract and enteroendocrine STC-1 cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99.4:2392-2397. DOI: 10.1073/pnas.042617699
10. Tizzano M, Cristofolletti M, Sbarbati A, Finger TE. Expression of taste receptor in solitary chemosensory cells of rodent airways. *BMC Pulm Med*. 2011;11(1):3. DOI: 10.1186/1471-2466-11-3
11. Ki SY, Chung KM, Cho YK, Kim KN. In situ Hybridization for the Detection and Localization of the Bitter Taste Receptor Tas2r108 in the Murine Submandibular Gland. *Int J Oral Biol*. 2016;41.2:97-103. DOI: 10.11620/IJOB.2016.41.2.097
12. Margolskee RF, Dyer J, Kokrashvili Z, Salmon Ksh, Ilegems E, Daly K, Malillet EL, Ninomiya Y, Mosinger B, Shirazi-Beechey PS. T1R3 and gustducin in gut sense sugars to regulate expression of Na<sup>+</sup>-glucose cotransporter 1. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104.38:15075-15080. DOI: 10.1073/pnas.0706678104
13. Nakagawa Y, Nagasawa M, Yamada S, Hara A, Mogami H, Nikolaev VO, Lohse M, Shigemura N, Ninomiya Y, Kojima I. Sweet taste receptor expressed in pancreatic  $\beta$ -cells activates the calcium and cyclic AMP signaling systems and stimulates insulin secretion. *PloS one*. 2009;4.4:e5106. DOI: 10.1371/journal.pone.0005106
14. Straub SG, Mulvaney-Musa J, Yajima H, Weiland GA, Sharp GW. Stimulation of insulin secretion by denatonium, one of

- the most bitter-tasting substances known. *Diabetes*. 2003;52.2:356-364. DOI: 10.2337/diabetes.52.2.356
15. Choi, HJ, Cho YK, Chung KM, Kim KN. Differential Expression of Taste Receptors in Tongue Papillae of DBA Mouse. *Int J Oral Biol*. 2016;41(1):25-32. DOI: 10.11620/IJOB.2016.41.1.025
  16. Chaudhari N, Roper SD. The cell biology of taste. *J cell biol*, 2010;190(3): 285-296. DOI: 10.1083/jcb.201003144
  17. Chandrashekar J, Mueller KL, Hoon MA, Aler E, Feng L, Guo W, Zuker CS, Ryba NJ. T2Rs function as bitter taste receptor. *Cell*. 2000;100:703-711. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80706-0
  18. Matsunami H, Montmayeur JP, Buck LB. A family of candidate taste receptors in human and mouse. *Nature*. 2000;404:601-604. DOI: 10.1038/35007072
  19. 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. DOI: 10.1093/molbev/msj028
  20. Foster SR, Porrello ER, Purdue B, Chan HW, Voigt A, Frenzel S, Hannan RD, Moritz KM, Simmons DG, Molenaar P, Roura E, Boehm U, Meyerhof W, Thomas WG. Expression, Regulation and putative nutrient-sensing function of taste GPCRs in the heart. *PLoS ONE*. 2013;8:e64579. DOI: 10.1371/journal.pone.0064579
  21. Foster SR, Blank K, See Hoe LE, Behrens M, Meyerhof W, Peart JN, Tomas WG. Bitter taste receptors agonists elicit G-protein-dependent negative inotropy in the murine heart. *The FASEB J*. 2014;28:4497-4508. DOI: 10.1096/fj.14-256305
  22. Nygard AB, Jogensen CB, Cirera S, Fredholm. Selection of reference genes for gene expression studies in pig tissues using SYBR green qPCR. *BMC Mol Biol*. 2007;8:67. DOI: 10.1016/j.jbiotec.2010.09.949