



Saveur amère : de la molécule au comportement

Thomas DELOMPRÉ, Christian SALLES, Loïc BRIAND*

INRAE, CNRS, AgroSup Dijon, Université de Bourgogne-Franche Comté, Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation, 21000 Dijon, France.

* Auteur pour correspondance : email: loic.briand@inrae.fr

Manuscrit révisé le 16 janvier 2020 - Publié le 25 février 2020

Résumé : *La saveur amère permet aux mammifères d'éviter l'ingestion d'aliments potentiellement contaminés par des substances amères toxiques fréquemment retrouvées dans notre environnement. La détection de ces molécules aux structures chimiques diverses est réalisée par une famille de récepteurs appelés TAS2R. L'être humain est pourvu de 25 TAS2R aux spectres de reconnaissance plus ou moins larges pour détecter un grand nombre de molécules amères. Des tests fonctionnels in vitro ont été développés afin de déterminer le profil d'activation des TAS2R humains. De nombreuses molécules, d'origines naturelles ou synthétiques ont pu être identifiées comme capable d'activer ces TAS2R. Ces tests fonctionnels ont également permis la découverte d'inhibiteurs d'amertume, agissant de manière compétitive et non compétitive sur un ou plusieurs TAS2R. Bien que partageant des mécanismes de traitement du signal avec les récepteurs à la saveur sucrée et umami, les TAS2R ne possèdent qu'un site de liaison dont la localisation varie. Ces TAS2R ont été identifiés dans la cavité buccale, plus précisément à la surface des cellules réceptrices du goût contenues dans les bourgeons gustatifs. Des TAS2R ont également été découverts dans différents tissus et organes extra-buccaux, tels que le tractus gastro-intestinal, suggérant que leur rôle ne se limite pas à la perception sensorielle. Une variabilité génétique prononcée a été observée pour les gènes codant les 25 TAS2R humains, à l'origine de différences de sensibilité interindividuelles vis-à-vis de certains composés amers.*

Mots clés : *alimentation, amertume, composé amer, goût, récepteur gustatif, TAS2R.*

Abstract : *The bitter taste prevents mammals from ingesting potentially contaminated food with toxic bitter substances, frequently encountered in our environment. Detection of these molecules which are chemically diverse is mediated by a family of receptors called TAS2R. Human beings are equipped with 25 either broadly or narrowly tuned TAS2Rs to detect a multitude of bitter compounds. In vitro functional assays have been developed to determine the binding profile of human TAS2Rs. Several molecules of natural or synthetic origin have been identified as agonists of these TAS2Rs. These functional assays also revealed bitter blockers, acting competitively or non-competitively on one or more TAS2Rs. Although sharing common signal transduction mechanisms with sweet and umami taste receptors, TAS2Rs have only one binding site whose location differs. These TAS2Rs have been identified in the buccal cavity, more precisely on the surface of taste receptor cells contained in the taste buds. TAS2Rs have also been found in various extra oral tissues and organs, such as the gastrointestinal tract, suggesting that their role is not limited to sensory perception. A sharp genetic variability has been observed for the genes encoding human TAS2Rs, causing human sensitivity differences with regard to certain bitter compounds.*

Key words : *bitter compound, bitterness, food, taste, taste receptor, TAS2R.*

I- Introduction

L'ingestion de nourriture est vitale pour la survie de l'Homme et permet d'apporter principalement une quantité suffisante d'énergie (chaînes carbonées) pour assurer le bon fonctionnement physiologique de son organisme. Doté de cinq sens, l'être humain est capable d'identifier, sélectionner et ingérer des sources de nourritures variées. L'un d'eux, le goût, joue un rôle majeur dans l'orientation des comportements alimentaires et permet de détecter des aliments riches en macronutriments, en électrolytes et pauvres en composés potentiellement toxiques. Il est généralement accepté que la perception gustative est limitée à cinq saveurs fondamentales. Chacune de ces saveurs possède un rôle physiologique précis. Les saveurs acide et salée renseignent respectivement sur le degré de maturation des fruits et la présence de sels minéraux indispensables au maintien de notre équilibre électrolytique (Lindemann 1996). Les goûts sucré et umami (délicieux en japonais, saveur du L-glutamate) indiquent la présence d'une nourriture riche en énergie et en protéines, respectivement. L'amertume est un indicateur d'une potentielle toxicité et/ou d'une éventuelle contamination bactérienne (Lindemann 1996). Cette modalité gustative s'apparente donc à un mécanisme de défense, évitant ainsi à l'organisme de s'empoisonner par l'ingestion d'aliments toxiques. Depuis l'identification il y a une vingtaine d'année des récepteurs à l'amertume, la compréhension des mécanismes de détection en bouche des molécules amères a énormément progressé. Avec l'essor des tests cellulaires, des études basées sur l'expression *in vitro* des différents récepteurs gustatifs ont permis de réaliser des avancées majeures dans la compréhension des mécanismes biochimiques et moléculaires à l'origine de la perception de la saveur amère.

Cette synthèse fournit une vue d'ensemble du système gustatif humain. L'organisation anatomique des structures impliquées dans la détection de molécules gustatives sera présentée. L'accent sera porté sur une modalité gustative particulière, l'amertume. Les molécules amères sont présentes en grand nombre dans notre environnement. Leurs principales classes seront décrites, tout comme les récepteurs gustatifs à l'origine de la détection de l'amertume. L'impact du polymorphisme génétique des récepteurs à l'amertume sur les perceptions sensorielles sera présenté. Ces récepteurs ont également été mis en évidence dans de nombreux tissus et organes en dehors de la bouche. Bien que le rôle de ces récepteurs extrabuccaux reste largement méconnu, certaines de leurs fonctions potentielles seront discutées.

II- Les molécules amères

1- *Variété chimique des molécules amères*

De nombreuses familles chimiques contiennent un nombre plus ou moins important de molécules amères. Parmi ces familles, on peut citer des lactones, des flavonoïdes, des pyranosides, des terpènes, des esters, des amides, des flavonoles, des alcaloïdes, des glucosides mais également des acides aminés, des lipides et des minéraux (Laffitte et al. 2016) (Figure 1). Ces molécules sont fréquemment observées dans l'alimentation humaine. Les flavanones et les flavonoles sont respectivement présents dans le pamplemousse (narginine) et dans certains fruits immatures (quercitine) (Bravo 1998). Sur la totalité des molécules amères présentes dans l'alimentation humaine, la famille des alcaloïdes en renferme le plus grand nombre. De la théobromine trouvée dans le chocolat et le thé, à la caféine présente en abondance dans le café, les alcaloïdes contribuent à l'amertume de bon nombre de denrées alimentaires. Extraite de l'écorce d'un arbre appelé quinquina, la quinine est présente dans certaines boissons gazeuses. Cette molécule est également utilisée comme composé de référence pour l'amertume lors d'analyses sensorielles descriptives. Certains composés odorants peuvent également générer une saveur amère, tels que le menthol ou le limonène¹ (Kataoka et al. 2008).

De nombreux sels minéraux comme le chlorure de potassium, le chlorure de magnésium et le chlorure de calcium, mais également le sulfate de cuivre, le sulfate de manganèse ou encore le sulfate de fer, sont caractérisés par une amertume prononcée (Delompré et al. 2019). Certains de ces sels de minéraux, notamment le chlorure de calcium, sont couramment utilisés comme stabilisants ou épaississants dans les processus de fabrication de diverses denrées alimentaires (Laffitte et al. 2016). Le sulfate de cuivre ou de manganèse, peuvent être incorporés dans certaines préparations pharmaceutiques pour pallier une carence avérée. Quelques-uns de ces composés amers sont présents en grande quantité dans certains végétaux tels que les épinards, contribuant ainsi à l'amertume de certains aliments.

Certains acides aminés de la série D et/ou L ont également une saveur amère (Delompré et al. 2019). Pendant de nombreuses années, il a été admis que les acides aminés de la série D étaient

¹ Composé odorant retrouvé en grande quantité dans le citron.

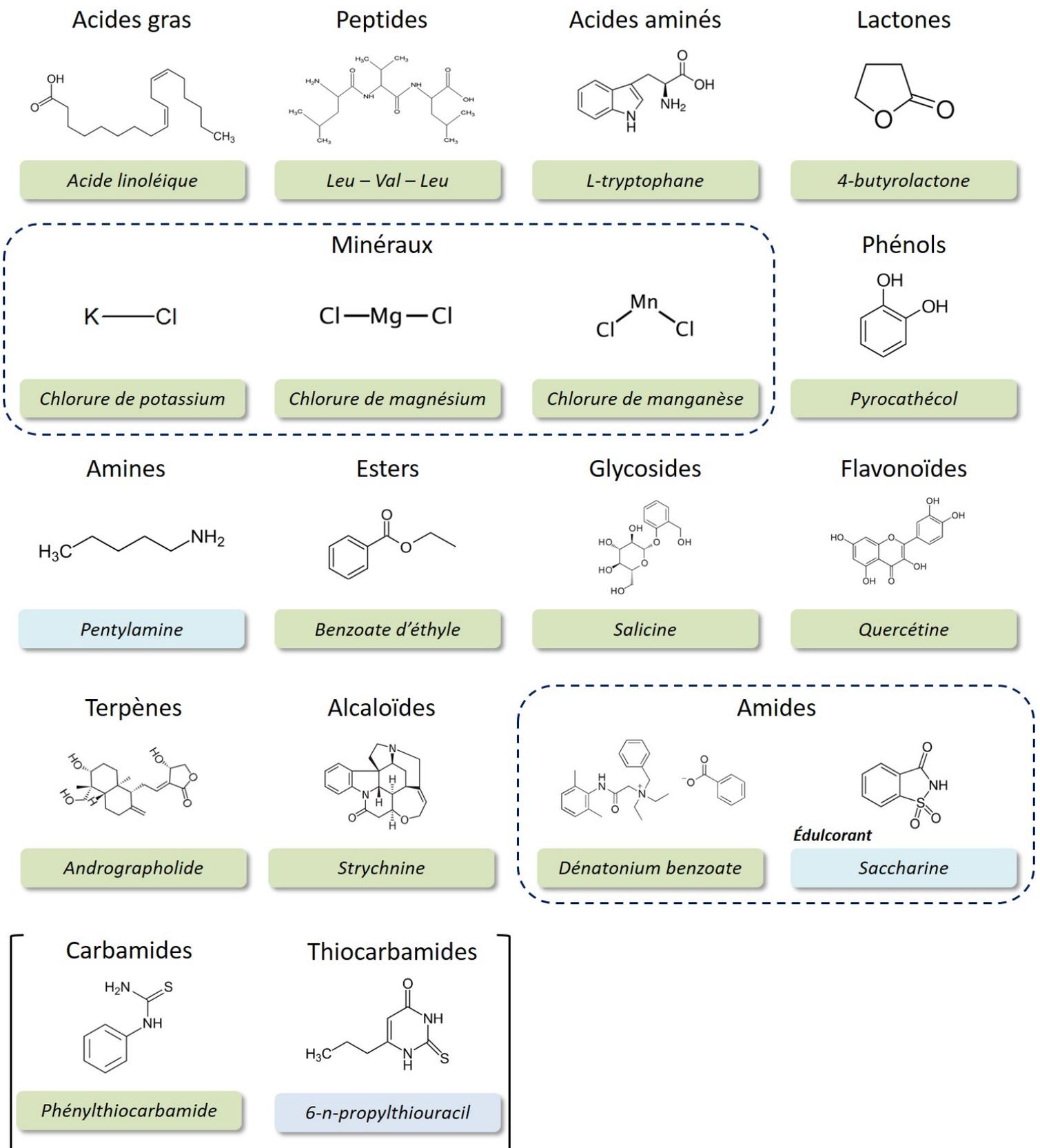


Figure 1 : Présentation des diverses classes chimiques de molécules amères et leur origine (naturelle ou synthétique).

caractérisés par une saveur sucrée, tandis que les acides aminés de la série L étaient décrits comme amers. Cette vision simpliste et réductrice n'est plus d'actualité (Schiffman et Dackis 1975 ; Schiffman et al. 1981). En effet, l'amertume des acides aminés semble principalement liée à leur niveau d'hydrophobicité. C'est ainsi que les acides aminés au goût amer le plus pro-

noncé possèdent une chaîne latérale hydrophobe, tels que la L-leucine, la L-isoleucine ou la L-valine. La contribution des acides aminés libres à l'amertume de la nourriture n'est plus à démontrer. Dans le pain au blé entier, le L-tryptophane est l'un des composés à l'origine de la plus forte intensité d'amertume (Jiang et Peterson 2013). D'autre part, la modification chimique des acides aminés au cours du procédé de fabrication peut provoquer une altération des qualités gustatives de l'aliment. De nombreux exemples de peptides amers générés lors du processus de transformation des aliments ont été rapportés dans la littérature scientifique. Certains peptides sont connus pour générer de l'amertume notamment dans la sauce de soja, le fromage ou le saké (Maehashi et Huang 2009). De même, un peptide initialement non-amer peut acquérir une saveur amère après hydrolyse. Pour ne citer qu'un exemple, la glycinine 11S protéine de la graine de soja est scindée en deux peptides amers par la trypsine² (Kim, Kawamura et al. 2003).

De manière assez surprenante, certains acides gras libres tels que les acides stéarique, oléique, linoléique et linolénique, sont perçus comme amers par l'être humain. L'amertume de ces acides gras peut expliquer en partie l'amertume perçue dans certains produits alimentaires. Par exemple, l'acide linoléique contribue au goût amer des graines de pavot (Grosch et Laskawy 1984). D'autre part, la transformation des lipides lors du processus de fabrication de denrées alimentaires peut aussi être à l'origine de composés amers. Ainsi, la lécithine de soja présente un goût amer après hydrolyse, tout comme certains lipides initialement sans qualité gustative particulière (Refsgaard et al. 2000).

De nombreux édulcorants intenses, d'origine naturelle ou synthétique, peuvent générer une amertume qui va être à l'origine d'un arrière-goût désagréable. Parmi ces édulcorants, nous pouvons citer la saccharine, l'acésulfame ou encore le sucralose, largement utilisés par l'industrie agroalimentaire (Horne et al. 2002 ; Kuhn et al. 2004). La sensibilité à cette amertume diffère d'un individu à l'autre et a été corrélée au polymorphisme de certains détecteurs de l'amer (Bartoshuk 1979). Il est également intéressant de noter que certains édulcorants naturels tels que les protéines sucrées comme la brazzéine ne présentent aucune amertume (Poirier et al. 2012).

2- Origine des molécules amères

Les nombreuses molécules amères trouvées dans l'alimentation humaine sont issues pour une majeure partie d'entre elles du règne végétal (Figure 2). De nombreux végétaux tels que les endives, les brocolis et autres crucifères, les artichauts ou certaines préparations à base de plantes (café, thé, chicorée, liqueurs à bases de plantes) ont une saveur amère. Les molécules amères jouent un rôle important dans les mécanismes de défense des végétaux face à leurs prédateurs naturels (insectes, parasites, herbivores). Certaines de ces molécules ont donc pour objectif premier d'altérer les qualités gustatives des parties comestibles des plantes pour en assurer la survie.

² Enzyme présente dans le suc pancréatique et participant à la digestion des protéines.

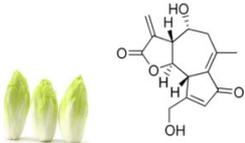
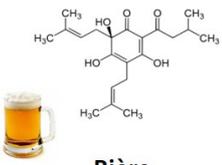
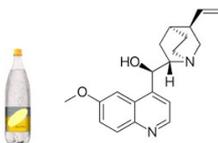
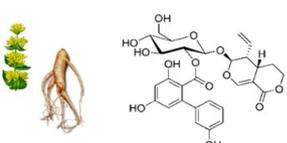
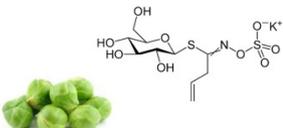
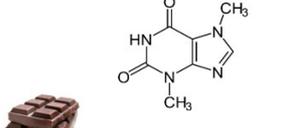
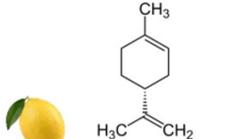
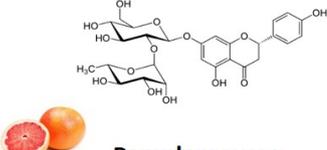
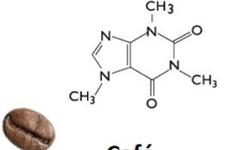
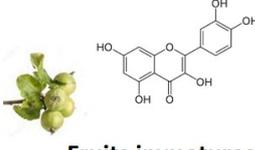
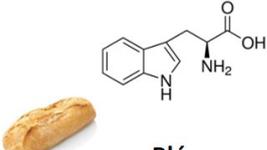
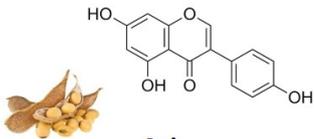
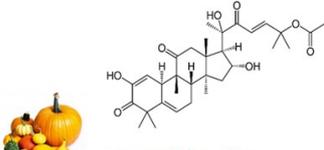
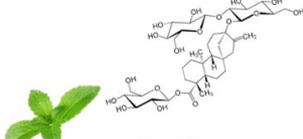
<p>Lactucine</p>  <p>Chicorée Seuil de détection : 6,1 μM</p>	<p>Humulone</p>  <p>Bière Seuil de détection : 14 μM</p>	<p>Quinine</p>  <p>Boissons gazeuses Seuil de détection : 25 μM</p>	<p>Amarogantine</p>  <p>Gentiane Seuil de détection : 30 μM</p>
<p>Sinigrine</p>  <p>Choux de Bruxelles Seuil de détection : 56 μM</p>	<p>Théobromine</p>  <p>Chocolat Seuil de détection : 56 μM</p>	<p>Peptide</p>  <p>Fromage Seuil de détection : 74 μM</p>	<p>Limonène</p>  <p>Citron Seuil de détection : 0,64 mM</p>
<p>Naringine</p>  <p>Pamplemousse Seuil de détection : 0,64 mM</p>	<p>Caféine</p>  <p>Café Seuil de détection : 1,2 mM</p>	<p>Quercétine</p>  <p>Fruits immatures Seuil de détection : 1,7 mM</p>	<p>L-tryptophane</p>  <p>Blé Seuil de détection : 6 mM</p>
<p>Génistéine</p>  <p>Soja Seuil de détection : 14 mM</p>	<p>Cucurbitacine</p>  <p>Cucurbitacés Seuil de détection : ND</p>	<p>Stéviolside</p>  <p>Stevia Seuil de détection : ND</p>	<p>Menthol</p>  <p>Menthe Seuil de détection : ND</p>

Figure 2 : Composés amers présents dans notre alimentation. Leur structure chimique, leur origine alimentaire ainsi que leur seuil de détection gustatif sont indiqués.

L'utilisation de microorganismes dans les procédés de fabrication de denrées alimentaires est à l'origine de diverses molécules amères au fort pouvoir aversif. Différentes bactéries utilisées en agroalimentaire sont connues pour générer des composés amers lors du processus de fabrication de produits fermentés comme la bière, le vin, mais également le fromage (Hagedorn et Kaphammer 1994). Dans le cas de certains fromages, elle est initiée par l'activité protéolytique d'une bactérie, *Lactococcus lactis* (Broadbent et al. 2002). L'amertume peut également résulter, mais dans une moindre mesure, de la production de molécules amères lors de réactions chimiques intervenant dans le traitement des aliments avant leur commercialisation. Par exemple, un composé amer, le 1-oxo-2,3-dihydro-1H-indolizinium-6-olates est généré lors de la réaction de Maillard (réaction thermique) entre le xylose, le rhamnose et la L-alanine (Frank et al. 2003).

Par ailleurs, un stockage au froid prolongé de certaines denrées alimentaires (l'huile de lin par exemple) peut être source d'amertume, principalement liée à la formation d'un peptide oxydé (Brühl et al. 2007).

Actuellement, aucune relation entre la structure d'un composé et son amertume n'a pu être établie. Cependant, en se basant sur la structure chimique d'une molécule donnée, il est dans certains cas possible de prédire son potentiel amer par analogie avec la structure d'une molécule amère connue.

Il est communément admis que les composés amers provoquent une réponse aversive pour la plupart des espèces, permettant ainsi d'éviter l'ingestion de molécules toxiques pour l'organisme. Cependant, la relation entre toxicité et amertume est beaucoup plus complexe que le paradigme énoncé précédemment. En effet, en ce qui concerne notre espèce, toutes les toxines ne sont pas amères et, inversement, tous les composés amers ne sont pas toxiques. Aucune étude n'a permis de mettre en évidence une corrélation entre le seuil de détection de ces molécules amères et leur niveau de toxicité (Drewnowski et Gomez-Carneros 2000). A contrario, de nombreuses molécules amères présentes dans la nourriture que nous ingérons quotidiennement peuvent avoir des effets bénéfiques pour la santé, comme la protection contre certaines formes de cancers. Pour ne citer qu'un exemple, deux molécules présentes dans certains crucifères, les isothiocyanates de phénéthyle et de benzyle, ont montré une activité inhibitrice de la carcinogénèse (Hecht 2000).

III- Physiologie du goût

Les sensations gustatives sont perçues via l'activation de détecteurs gustatifs qui sont présents dans les bourgeons du goût au niveau des papilles gustatives situées sur la langue. On trouve aussi des bourgeons du goût sur le voile du palais, l'épiglotte, le pharynx et le larynx. Ces papilles gustatives sont classées en fonction de leur morphologie. On distingue les papilles caliciformes (en arrière et formant le V lingual), foliées (en arrière sur les côtés), fongiformes (éparpillées à la surface de la langue) et filiformes (tapissant la face dorsale de la langue) (Chaudhari et Roper 2010) (Figure 3.B). Leur nombre au sein de la cavité buccale, notamment sur la langue, est variable. On dénombre par exemple, entre 22 et 73 papilles fongiformes par cm² contre 8 à 12 papilles caliciformes. Seules les papilles gustatives caliciformes, foliées et fongiformes contiennent des amas cellulaires sphériques appelés bourgeons gustatifs, en nombre plus ou moins élevé (Roper 2013). Les papilles filiformes sont quant à elles impliquées dans la perception des sensations tactiles (Chaudhari et Roper 2010).

L'être humain possède approximativement 5000 bourgeons gustatifs. Chacun de ces bourgeons est constitué d'une centaine de cellules réceptrices gustatives et d'un pore gustatif qui débouche dans la cavité buccale (Figure 3.C). Ce pore gustatif est en contact direct avec la salive et permet l'entrée des molécules sapides dans les bourgeons gustatifs. Les cellules réceptrices appartiennent à la famille des cellules neuro-épithéliales (Breslin et Huang 2006). De forme allongée, elles possèdent la capacité de se renouveler rapidement (dix jours environ).

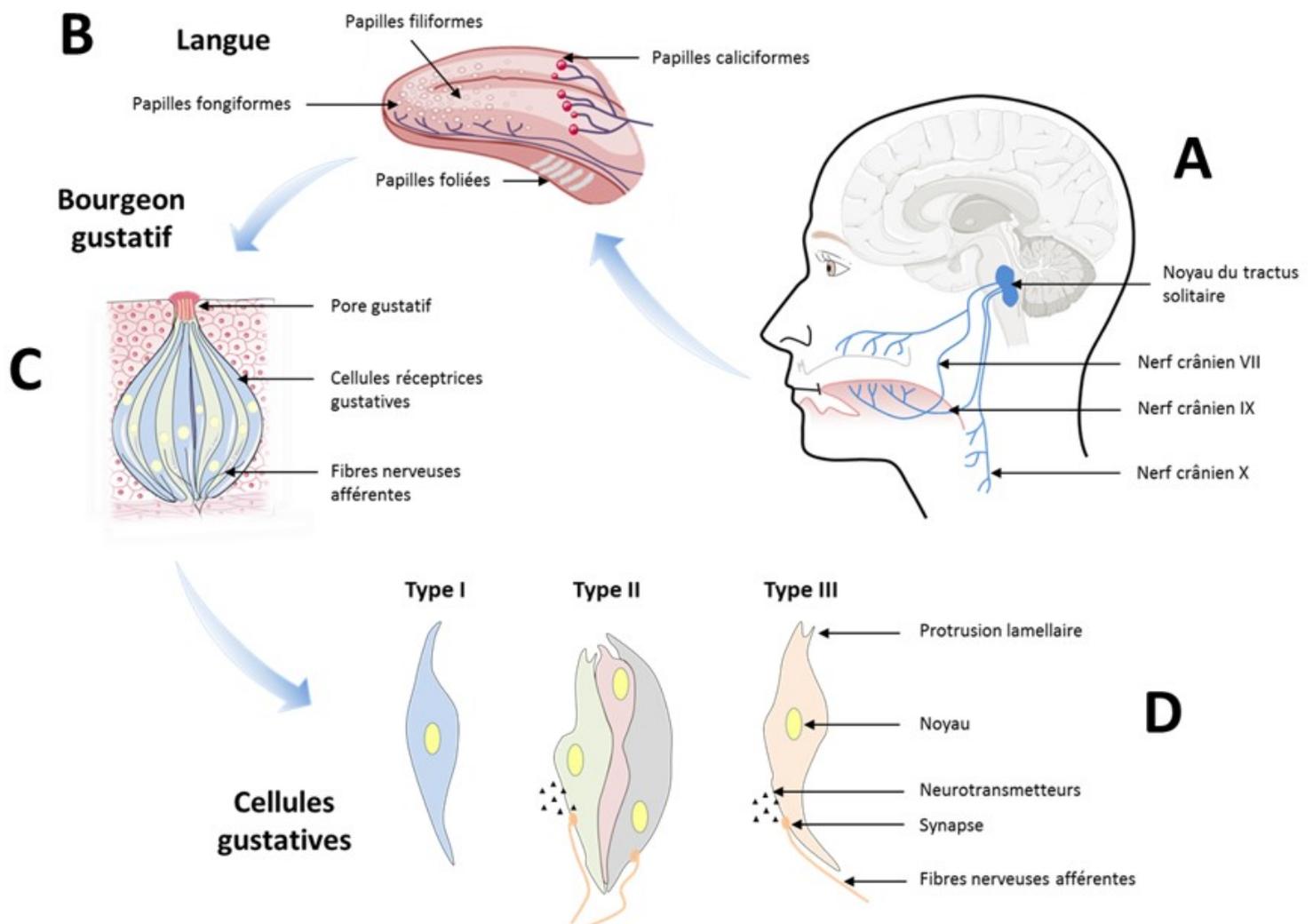


Figure 3 : Anatomie et physiologie du système gustatif.

La détection gustative est initiée par l'activation d'un récepteur gustatif présent dans la membrane plasmique des cellules réceptrices gustatives. Ces cellules réceptrices sont présentes dans les bourgeons gustatifs (C) situés dans les papilles gustatives, notamment au niveau de la langue (B). Cette activation aboutit à la libération d'un neurotransmetteur par les cellules réceptrices (D) qui active les fibres nerveuses afférentes. Le signal est transmis au cerveau via les différents nerfs gustatifs crâniens (A).

On distingue quatre types cellulaires dans les bourgeons gustatifs (Chaudhari et Roper 2010) (Figure 3.D). Les cellules gliales ou de type I, aussi appelées cellules sombres, sont les plus abondantes (50% du total des cellules). Elles assurent le maintien de l'homéostasie³ au sein du bourgeon gustatif. Les cellules réceptrices (ou de type 2), aussi appelées cellules claires, sont impliquées dans la détection des molécules umami, sucrées et amères. Au niveau cytoplasmique, ces cellules renferment l'ensemble des acteurs moléculaires nécessaires à la détection et à la propagation de l'information sensorielle. Les cellules présynaptiques (ou de type III), communément appelées cellules intermédiaires, sont impliquées dans la détection de la saveur acide (Breslin et Huang 2006). Les cellules basales ou de type IV sont des cellules de forme ovoïde, peu différenciées, permettant le renouvellement des différents types cellulaires décrits précédemment.

³ Capacité d'un système à maintenir l'équilibre de son milieu intérieur, quelles que soient les contraintes extérieures.

Une fois stimulées par une molécule sapide, les cellules gustatives transmettent l'information sensorielle au système nerveux central par l'intermédiaire de différents nerfs gustatifs (Figure 3.A). En effet, les informations gustatives sont collectées par les branches périphériques de trois nerfs crâniens. La corde du tympan, qui n'est autre que la branche gustative du nerf facial, innerve les papilles gustatives fongiformes situées sur les deux tiers antérieurs de la langue. Le nerf glosso-pharyngien innerve quant à lui les papilles gustatives fongiformes et foliées présentes sur le tiers postérieur de la langue (en arrière du V lingual). Enfin, le nerf laryngé supérieur, une branche du nerf vague (nerf X), innerve le pharynx et le larynx.

IV- Les récepteurs au goût amer

1- Les différents systèmes de détection du goût

Comme décrit précédemment, les cellules réceptrices gustatives permettent la reconnaissance des différents saveurs par l'intermédiaire des détecteurs gustatifs présents dans leur membrane plasmique. Ces détecteurs gustatifs peuvent être regroupés en deux classes : les canaux ioniques et les récepteurs métabotropiques. Les molécules salées et acides sont respectivement détectées par des canaux sodiques épithéliaux sensibles à l'amiloride (ENaC)(Lindemann 1996 ; Stähler et al. 2008) et des canaux Otopetrine1 (Otop1) (Zhang, Jin et al. 2019).

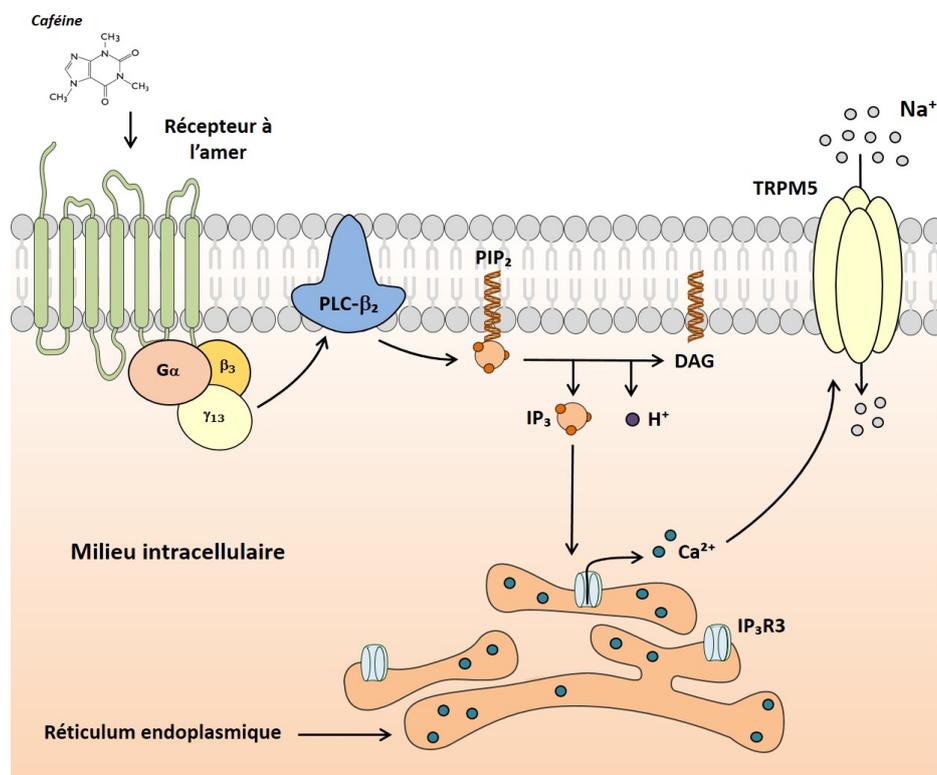


Figure 4 : Représentation schématique de la voie de transduction d'un récepteur métabotrope.

DAG = diacylglycérol; $G\alpha$ = sous-unité α de la protéine G; $G\beta\gamma$ = sous unités β et γ de la protéine G; IP₃R3 = récepteur à l'inositoltriphosphate; PIP₂ = phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate; IP₃ = inositoltriphosphate; PLC β_2 = phospholipase C β_2 ; TRPM5 = canaux ionique membranaire perméable au Na⁺.

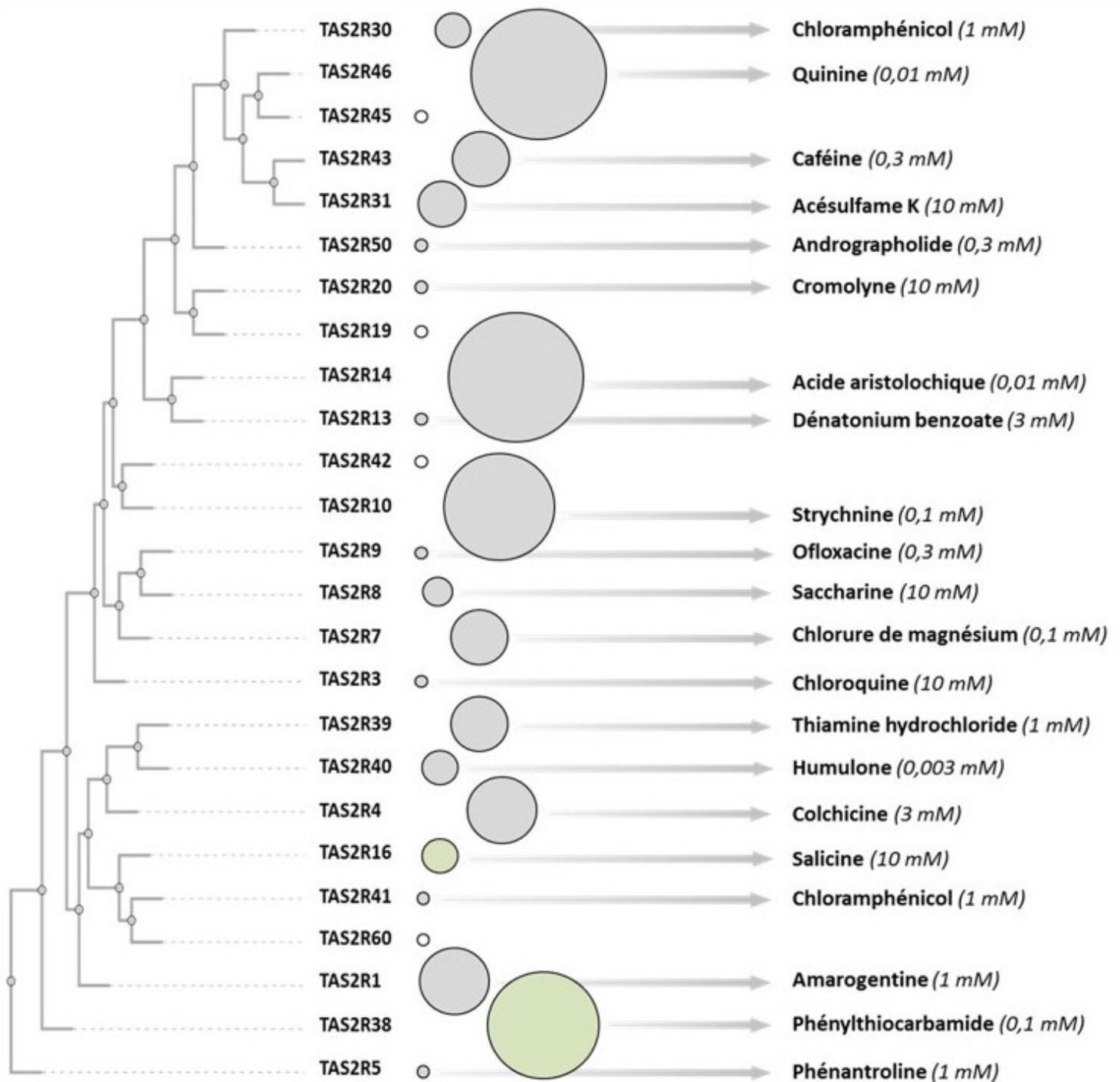


Figure 5 : La famille des récepteurs gustatifs à l'amer (TAS2R).

Dendrogramme des 25 récepteurs à l'amer (TAS2R) incluant un agoniste pour chacun d'entre eux ainsi que la valeur d' EC_{50} (mM). La valeur EC_{50} correspond à la concentration nécessaire en molécule amère pour provoquer la moitié de l'activation du récepteur. Les spectres d'activation de chacun des 25 récepteurs TAS2R est indiquée par la taille des cercles associées. Les récepteurs orphelins sont indiqués par la présence d'un cercle blanc. Le profil de détection des récepteurs TAS2R16 et TAS2R38, qui répondent à des classes particulières de composés chimiques, est indiqué par un cercle vert.

Les récepteurs métabotropiques sont quant à eux impliqués dans la détection des molécules sucrées, umami et amères. Ils sont formés de l'assemblage d'un récepteur et d'une protéine G⁴ (récepteurs couplés aux protéines G, ou RCPG) (Behrens et Meyerhof 2011). Les RCPG sont des protéines membranaires partageant des caractéristiques structurales et des mécanismes com-

⁴ Protéine qui permet le transfert d'information à l'intérieur de la cellule.

munis de transduction du signal⁵ (Figure 4) (Behrens et al. 2016). La liaison d'une molécule sapide à un ou plusieurs de ces récepteurs provoque la dissociation de la sous-unité G α spécifique des cellules gustatives (α -gustaducine) du complexe formé par les sous-unités G $\beta\gamma$ de la protéine G hétéro-trimérique. Ce complexe G $\beta\gamma$ interagit alors avec la phospholipase C- β 2 (PLC- β 2) et aboutit à la formation d'inositol 1,4,5-triphosphate (IP3) (Rossler 1998). Cette augmentation d'IP3 engendre l'ouverture de canaux calciques au niveau du réticulum endoplasmique et par conséquent, une libération de calcium dans le milieu intracellulaire (Simon et al. 2006). L'augmentation des concentrations de calcium intracellulaire aboutit à l'ouverture de canaux sodiques (TRPM5) et à un afflux de sodium à l'origine de la dépolarisation membranaire des cellules gustatives (Huang et al. 2007).

2- Vingt-cinq récepteurs à l'amertume chez l'être humain

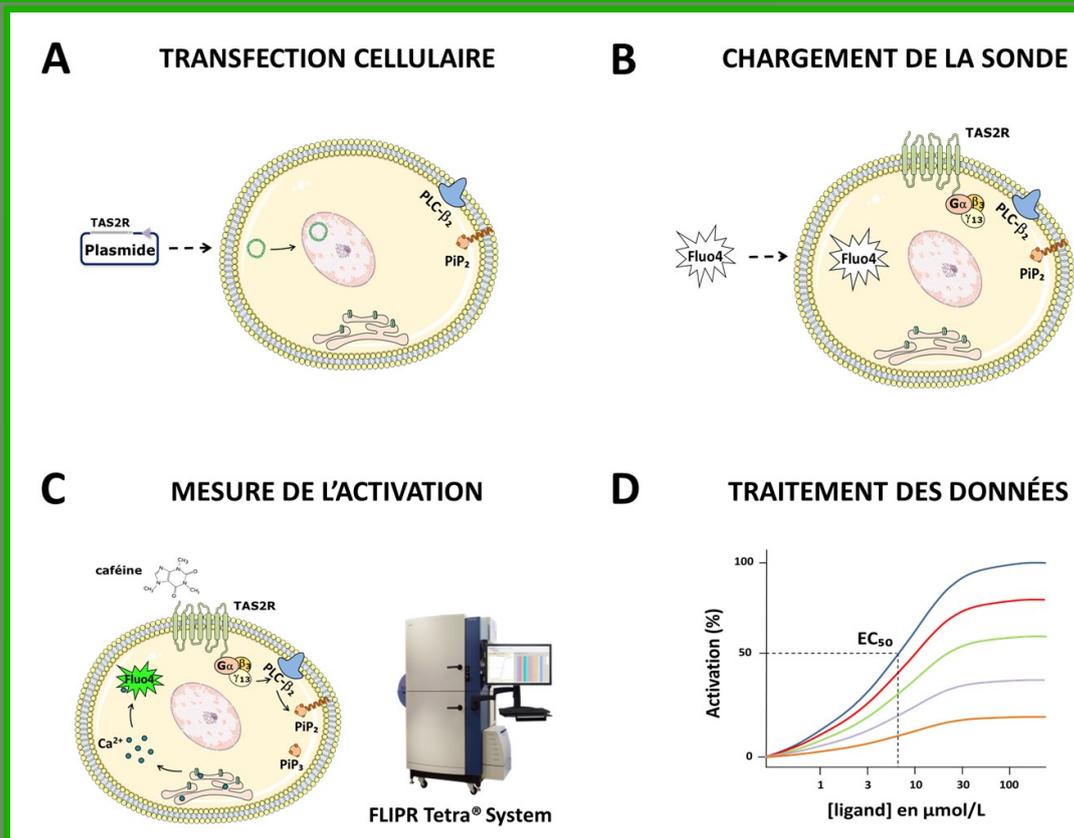
Les espèces de vertébrés possèdent un nombre très variable de gènes fonctionnels codant les récepteurs à l'amertume. Ces récepteurs sont appelés TAS2R (taste receptor type 2) (Chandrasekar et al. 2000). Le faible nombre de gènes codant les TAS2R dans certaines espèces est le reflet d'un régime alimentaire particulier, dépourvu de toxines, ou d'une grande capacité de détoxification. C'est le cas par exemple du chat, animal carnivore strict qui possède 6 TAS2R (Lei et al. 2015). À l'inverse, un grand nombre de gènes TAS2R permet à l'espèce d'éviter l'ingestion de toxines, délétères pour l'organisme, et favoriser ainsi un régime alimentaire plus diversifié. Le génome humain code 25 récepteurs TAS2R fonctionnels, présents sur trois chromosomes distincts (5, 7 et 12) (Matsunami et al. 2000). Ce sont des glycoprotéines membranaires possédant la capacité de s'oligomériser, pour former des homo et/ou hétéro-oligomères. D'une longueur pouvant aller de 291 à 334 acides aminés, les récepteurs TAS2R appartiennent à la famille des RCPG de classe A. Comme l'ensemble des RCPG de classe A, les récepteurs TAS2R possèdent sept domaines transmembranaires, trois boucles extracellulaires et trois boucles intracellulaires, ainsi que des domaines N- et C-terminaux de petite taille (Meyerhof 2005).

3- Profil de liaison des 25 récepteurs TAS2R

L'utilisation de tests cellulaires *in vitro* a permis de révéler le profil de liaison de la majorité des TAS2R. Au cours d'un criblage réalisé sur les 25 TAS2R humains avec plus d'une centaine de molécules, naturelles ou synthétiques, il a été démontré que les profils d'activation diffèrent en fonction du TAS2R considéré (Meyerhof et al. 2010) (figure 5). Quelques récepteurs possèdent un spectre de détection large et sont qualifiés de TAS2R généralistes (récepteurs TAS2R10, -R14 et -R46). Ils sont capables de détecter à eux seuls, plus de la moitié des composés testés. De nombreux récepteurs aux spectres de détection étroits, appelés récepteurs spécialistes, ont été identifiés (TAS2R3, -R5, -R8, -R13, -R20 et R50), tout comme de multiples récepteurs qualifiés d'intermédiaires (TAS2R1, -R4, -R7, -R9, -R39, -R40, -R43, -R31 et -R30) aux spectres de détection plus ou moins larges ou étroits. Deux autres récepteurs, TAS2R16 et TAS2R38, ont été identifiés comme étant impliqués dans la détection de classes de composés aux caractéristiques chimiques communes. Alors que TAS2R16 est activé par les β -glucopyranosides, TAS2R38 reconnaît le motif N-C=S des isothiocyanates. Bien que ces récepteurs se comportent comme des

⁵ Mécanisme par lequel une cellule répond à l'information qu'elle reçoit.

Test cellulaire utilisé pour étudier les récepteurs TAS2R



Les tests cellulaires réalisés *in vitro* avec des cellules HEK293T-Gα16-Gust44 ont permis de mesurer les interactions molécules-récepteurs dans des conditions proches de leur environnement physiologique. Cette lignée cellulaire, issue d'un rein humain, exprime une protéine Gα chimère contenant les 44 acides aminés C-terminaux de la protéine Gα gustducine, principale protéine G mise en évidence dans les cellules gustatives. Ces cellules sont cultivées dans des boîtes de culture cellulaire pendant 3-4 jours, à 37°C sous atmosphère contrôlée

(6,7% CO₂), dans un milieu nutritif supplémenté en glucose et en antibiotiques. Pour effectuer le test cellulaire, les cellules sontensemencées dans des microplaques noires de 96 puits à raison de 35 000 cellules/puits dans un volume de 100µL/puits. Après 24h, les cellules sont transfectées de manière transitoire avec l'ADN plasmidique correspondant à un TAS2R, à l'aide d'un agent de transfection polycationique (lipofectamine™ 2000) (A). Une transfection correctement réalisée aboutit à la production d'un TAS2R fonctionnel et correctement enchâssé dans la membrane plasmique. Au bout de 24h d'incubation sous atmosphère contrôlée, le milieu de transfection est éliminé et remplacé par 50 µL/puits d'un tampon contenant une sonde calcique (Fluo-4-acétoxy-méthyl-ester ou Fluo4-AM) (B). L'excès de sonde est éliminé 1h après son chargement par deux rinçages avec 100 µL/puits de tampon. Comme décrit précédemment, l'activation du TAS2R exprimé à la surface de la membrane plasmique provoque une cascade de signalisation à l'origine d'une libération de calcium dans le milieu intracellulaire (C). Le signal calcique suite à l'ajout d'une molécule est mesuré à 28°C à l'aide d'un lecteur de microplaque multimodal (FLIPR Tetra® System) (C). L'intensité de fluorescence (excitation à 485 nm, émission à 525 nm) est enregistrée sur une période de 90 secondes pour chaque série de 8 puits. Les courbes doses-réponses sont déterminées en soustrayant la valeur de fluorescence observée dans les puits contrôles (cellules non transfectées) à la valeur de fluorescence correspondant aux puits contenant les cellules transfectées par le TAS2R d'intérêt. Les courbes dose-réponse sont réalisées en traçant les amplitudes du signal en fonction de la concentration en molécule testée (D). L'EC₅₀, concentration nécessaire en ligand pour déclencher moitié de l'activation du récepteur, est déterminée par l'équation $f(x) = 100 / (1 + (EC_{50}/x)^n)$.

TAS2R spécialistes, le nombre d'agonistes amers présentant ces structures est important. Quatre TAS2R (TAS2R19, -42, -45 et -60) sont qualifiés d'orphelins, puisqu'actuellement aucun agoniste n'a pu être identifié malgré les différents criblages réalisés.

V- Relations structure-fonction des TAS2R

La capacité de certains TAS2R à détecter de nombreuses substances structurellement différentes est étonnante et soulève quelques questions. Découvrir les mécanismes moléculaires qui régissent la détection de ces composés amers a donc été l'une des grandes questions du domaine de recherche de la gustation au cours de ces dernières années.

Il a longtemps été admis que les TAS2R, particulièrement les TAS2R à spectre « large », étaient dotés de plusieurs sites de fixation, leur permettant la détection de composés amers variés. Une analyse des relations structure-fonction conduite sur 3 TAS2R apparentés mais aux profils de liaison différents, TAS2R31, TAS2R43 et TAS2R46, a permis la mise en évidence d'une seule et unique poche de liaison (Brockhoff et al. 2010). Alors que TAS2R46 est activé par de nombreux composés de la famille des sesquiterpène lactones, mais également par la strychnine et le dénatonium benzoate, TAS2R31 et TAS2R43 permettent la détection de l'amertume de certains édulcorants (saccharine ou acésulfame potassium) et de l'acide aristolochique. Des mutations ont été réalisées sur le récepteur TAS2R46, afin d'identifier les résidus d'acides aminés responsables de la fixation de la strychnine. Les résidus et les positions identifiés ont ensuite été transférés à TAS2R31 et TAS2R43. Leur capacité à détecter la strychnine a été observée et mesurée par imagerie calcique. Curieusement, en plus de la détection de cette molécule, il a été observé une sensibilité de ces deux récepteurs chimères à l'ensemble des autres agonistes connus de TAS2R46, suggérant bien l'existence d'une seule et unique poche de liaison au niveau de ces TAS2R. D'autres études conduites sur les interactions molécule-récepteur ont pu démontrer l'importance des domaines transmembranaires dans la fixation de l'agoniste. Des expériences de mutagenèse réalisées sur TAS2R16 ont révélé l'importance de 3 domaines transmembranaires dans la détection de molécules amères et la formation du complexe molécule-récepteur (Sakurai et al. 2010). En prenant comme exemple la salicine, agoniste avéré de TAS2R16, l'implication des domaines transmembranaires III, V et VI dans la reconnaissance de l'agoniste et dans la formation du site de fixation a pu être démontrée (Figure 6).

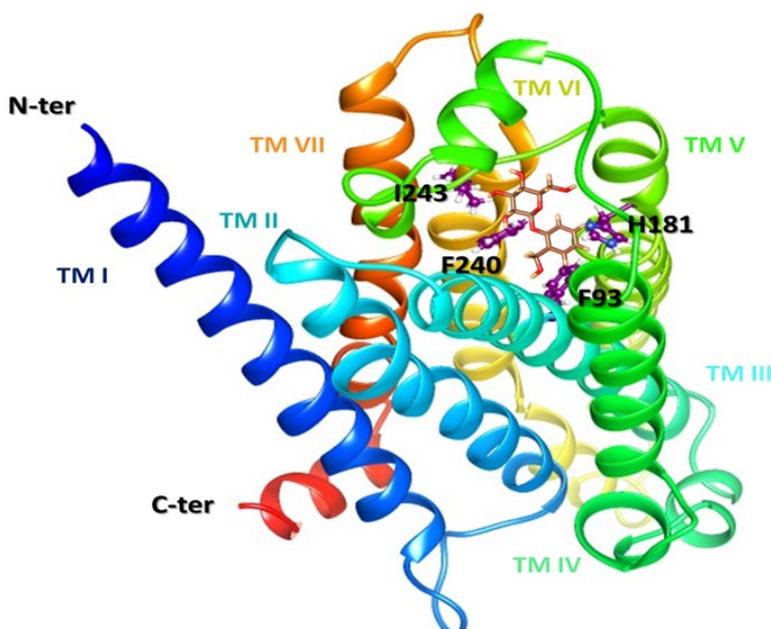


Figure 6 : Modélisation 3D de l'interaction entre TAS1R16 et la salicine. Les domaines transmembranaires (TM) apparaissent comme des structures hélicoïdales, de différentes couleurs et numérotés de I à VII. Les quatre résidus d'acides aminés représentés sur cette figure sont impliqués dans l'interaction de la salicine avec le récepteur. Les atomes de carbone de la molécule de salicine sont représentés en rouge.

Les domaines transmembranaires occupent donc un rôle primordial dans la détection de certaines molécules amères. Cependant, des investigations conduites sur les récepteurs apparentés et possédant 89% d'homologie dans leur séquence protéique, TAS2R43 et TAS2R31, ont permis de mettre en évidence l'importance d'autres structures secondaires telles que les boucles extracellulaires 1 et 2 (Pronin 2004). Suite à la réalisation d'un TAS2R chimère (substitution de la boucle extracellulaire 1 (ECL1) du TAS2R31 par celle du TAS2R43), il a été observé une réponse à un agoniste connu de TAS2R43. Ces données ont permis de démontrer le rôle crucial des boucles extracellulaires, notamment d'ECL1, dans l'interaction de l'agoniste amer avec le récepteur.

Bien que l'ensemble des TAS2R ne possèdent qu'une poche de liaison, sa localisation varie en fonction du récepteur considéré. La majorité des études récentes sur les interactions récepteur-agoniste ont permis l'identification de résidus cruciaux pour la détection et la fixation d'un composé, principalement au niveau des régions supérieures des différents domaines transmembranaires (TM).

VI- Variations interindividuelle des récepteurs TAS2R

La population humaine présente une variabilité vis-à-vis de la perception de l'amertume. Ces différences de sensibilité peuvent avoir un impact non négligeable sur la prise alimentaire. Quelques-unes de ces variations sont connues pour avoir une origine génétique. Les progrès récents réalisés dans la compréhension des mécanismes moléculaires impliqués dans la détection de l'amertume ont permis l'identification des gènes à l'origine de cette variabilité phénotypique interindividuelle.

1- Une sensibilité différente au PTC

Les gènes codant les 25 TAS2R possèdent un nombre important de variations alléliques, lesquelles reflètent une adaptation évolutive permettant d'éviter l'ingestion de plantes toxiques. L'exemple le plus documenté concerne la différence de sensibilité observée dans la population pour deux composés amers, le phénylthiocarbamide (PTC) et le propylthiouracile (PROP) (Guo et Reed 2001). On dénombre approximativement 65% de la population capable de détecter l'amertume du PTC/PROP contre 35% incapable de la percevoir. Il a été démontré que cette différence phénotypique était liée à un polymorphisme du récepteur TAS2R38. Deux variants ont pu être identifiés, TAS2R38-PAV (proline-alanine-valine) et TAS2R38-AVI (alanine-valine-isoleucine), caractérisés par la présence de résidus d'acides aminés différents en position 49, 262 et 296 (Figure 7) (Kim, Jorgenson et al. 2003). Dans des expériences d'expression fonctionnelle, il a été observé une réponse du variant TAS2R38-PAV suite à la stimulation par une solution de PTC à une concentration de quelques micromolaires (Bufe et al. 2005 ; Meyerhof et al. 2011). À l'inverse, aucune réponse pour le variant TAS2R38-AVI n'a pu être mesurée. Les résultats obtenus par analyse sensorielle sur un panel de personnes sensibles ou non sensibles au PTC ont permis de corréler les données génétiques aux données sensorielles. Les personnes PAV homozygotes ont montré une forte sensibilité au PTC (et au PROP), une réponse non observable pour les personnes AVI homozygotes. L'hétérozygotie AVI-PAV quant à elle aboutit à une sensibilité au PTC moindre que

l'homozygotie PAV, mais néanmoins présente (Hayes et al. 2010). Ce polymorphisme, qui affecte la perception de l'amertume du PTC, joue également un rôle sur d'autres sensations gustatives telles que celle de la perception épicée (Karrer et Bartoshuk 1991), la masse corporelle (Goldstein et al. 2005) ou les préférences alimentaires (Bell et Tepper 2006 ; Duffy et al. 2010).

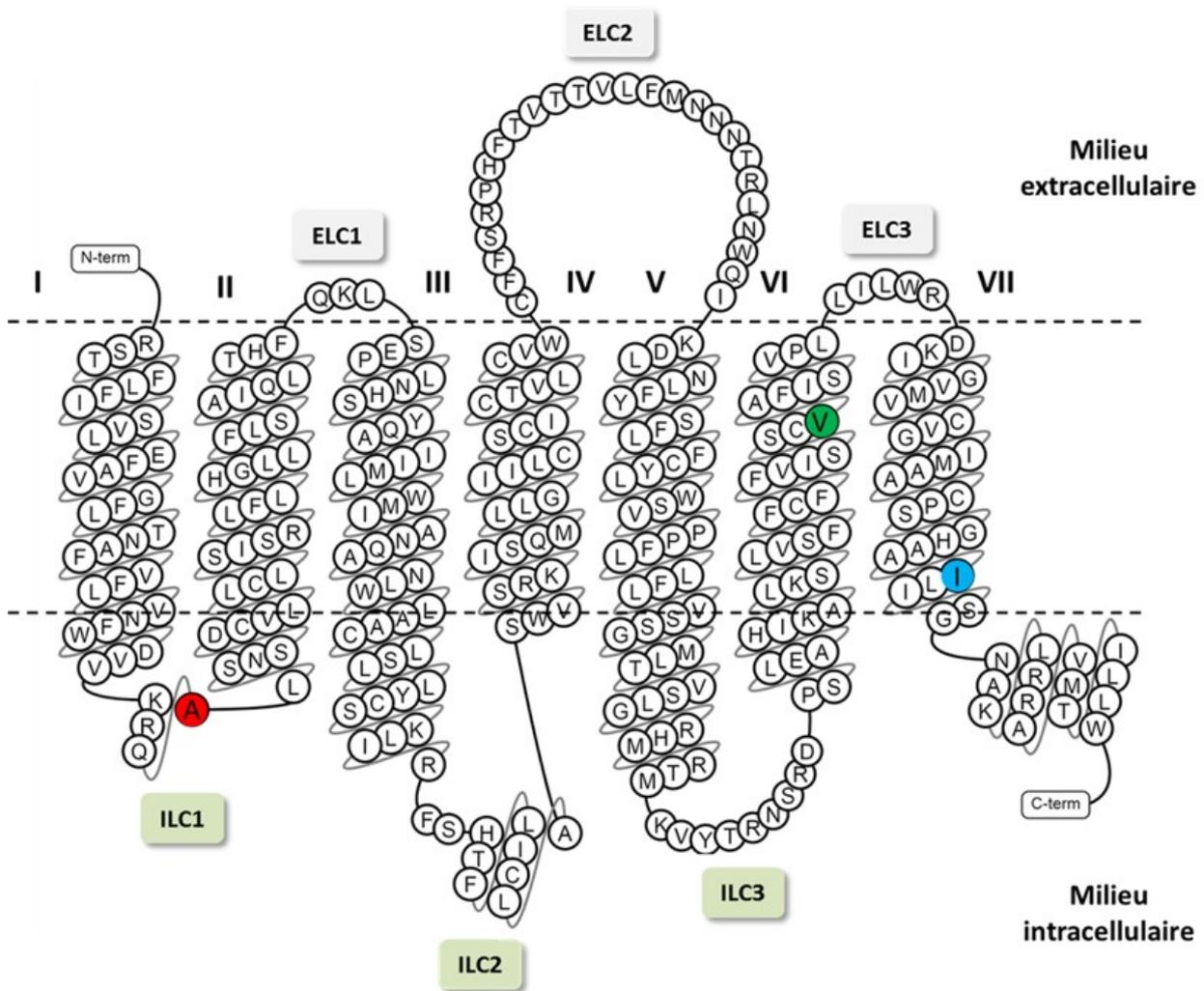


Figure 7 : Représentation schématique du récepteur TAS2R38-AVI non sensible au PTC. Les lignes horizontales représentent la membrane cellulaire. Les positions variables (49, 262 et 296) sont indiquées par des cercles de couleurs. ELC : boucle extracellulaire ; ILC : boucle intracellulaire ; Numérotation des domaines transmembranaires en chiffres romains.

Plus surprenant, une corrélation positive a pu être établie entre les différences de sensibilité au PTC et le risque de développer certaines maladies. La sensibilité au PTC est un facteur aggravant d'apparition de cancer du côlon chez l'homme (Basson et al. 2005), alors que la non sensibilité au PTC peut être à l'origine de l'apparition de troubles thyroïdiens (de Araújo et al. 1972). Différentes hypothèses ont été émises sur l'utilité de conserver dans le génome humain les séquences codantes pour un variant TAS2R38-AVI non sensible à l'amertume des agonistes connus du TAS2R38-PAV. La plus plausible étant que les agonistes de ce TAS2R38-AVI n'ont pas encore été découverts, ce qui dans ce cas constituerait un avantage évolutif pour les porteurs de ce variant (Wooding et al. 2004).

2- Génétique des TAS2R, sensibilité à l'amertume et des perceptions des aliments

Outre le polymorphisme observé sur TAS2R38 et décrit précédemment, il existe de nombreux autres exemples de variants génétiques pour différents TAS2R (Kim et al. 2005). Ces variations dans les séquences codantes de certains récepteurs amers n'ont pas toujours été associées à des différences de perceptions sensorielles et/ou phénotypiques et/ou comportementales aussi marquées que pour TAS2R38. Dans ce paragraphe, nous présenterons différents polymorphes de TAS2R connus à ce jour, ainsi que leurs conséquences sur les perceptions sensorielles de certains aliments.

Le gène TAS2R9, codant le récepteur TAS2R9 sensible à l'ofloxacine, possède un variant allélique caractérisé par la substitution d'une alanine par une valine en position 187. Cette substitution d'un résidu d'acide aminé entraîne la perte de sensibilité du TAS2R9 à l'ofloxacine (Dotson et al. 2008). La présence du polymorphe V187 dans certaines populations aboutit à une dérégulation de l'homéostasie glucidique et insulinémique de l'organisme (Dotson et al. 2008). Un deuxième exemple de polymorphisme génétique concerne les récepteurs TAS2R31 et TAS2R43, impliqués dans la détection de l'amertume de deux édulcorants intenses, la saccharine et l'acésulfame de potassium (Kuhn et al. 2004). Au cours de diverses études fonctionnelles et sensorielles, une différence de perception vis-à-vis de ces deux composés, dépendante de la présence ou l'absence de certains variants alléliques dans la population ciblée a été observée (Pronin et al. 2007). Un troisième exemple de l'impact des variations alléliques sur les perceptions sensorielles concerne le gène codant le récepteur TAS2R16 (Soranzo et al. 2005). Une substitution, en position 172 (K172N) dans la boucle extracellulaire 2, confère à ce récepteur une sensibilité plus importante pour ses agonistes, à savoir la salicine et les composés de la famille des β -glucopyranosides. La prévalence de cet allèle N172 dans la population varie grandement, notamment en fonction des zones géographiques considérées, reflet de l'adaptation à divers biotopes (Soranzo et al. 2005). Dans notre environnement actuel, où la recherche de plantes comestibles n'est plus primordiale pour la survie, l'allèle ancestral TAS2R16-K172 semble être un facteur aggravant de la consommation non raisonnée d'alcool et joue un rôle dans la mise en place des phénomènes de dépendance (Hinrichs et al. 2006). Moins documenté que les exemples précédents, un polymorphisme du gène codant TAS2R19 (C299R), est à l'origine d'une diminution de la sensation d'amertume ressentie lors de l'ingestion de certains jus de raisins mais également d'un de ses agonistes connus comme la quinine hydrochloride (Hayes et al. 2010). Les variants alléliques des gènes TAS2R3, -R4 et -R5 sont quant à eux responsables des variabilités interindividuelles d'amertume ressenties suite à la consommation de café (Hayes et al. 2010). Ces informations montrent donc que ce nombre élevé de polymorphisme génétique est à l'origine de perceptions sensorielles différentes, jouant un rôle potentiel important dans le comportement alimentaire et la santé humaine.

VII. Expression ectopique⁶ des récepteurs du goût amer

Au cours de ces dernières années, de nombreux récepteurs gustatifs, dont les TAS2R, ont été découverts dans différents tissus extraoraux, suggérant que leur rôle ne se limite pas exclusivement à la perception sensorielle des aliments en bouche. Ces récepteurs gustatifs ont dans un premier temps été identifiés dans le tractus gastro-intestinal ainsi que dans le système respiratoire des mammifères, puis dans le système reproducteur et enfin dans le cerveau et le cœur (Behrens et al. 2017).

Le rôle potentiel des TAS2R dans le tractus gastro-intestinal est peu connu. Tout laisse à penser que les récepteurs amers exercent la même fonction que dans notre bouche, c'est-à-dire la protection de l'organisme contre l'absorption de composés potentiellement toxiques. De nombreuses études ont pu démontrer chez les mammifères l'existence de cellules possédant la machinerie nécessaire à la détection, l'intégration et la transmission d'une information gustative. Ces cellules, appelées cellules en brosse, sont notamment observées au niveau de l'épithélium stomacal et intestinal de la souris et de l'Homme (Howitt et al. 2016). Bien que la présence de récepteurs au goût sucré et umami ait été démontrée au niveau de ces cellules intestinales chez la souris, aucune étude n'a pu mettre en évidence la présence de TAS2R. Cependant, des expérimentations conduites sur un modèle murin ont permis l'identification d'un gène codant TAS2R131 au niveau d'un autre type cellulaire présent dans l'intestin et le côlon (Jeon et al. 2008). Les rôles potentiels des récepteurs amers au niveau du tractus gastro-intestinal sont peu connus, principalement par manque de connaissances sur leur localisation et sur les cellules à l'origine de leur expression. Il a été démontré que l'ingestion de substances amères (10 mM de dénatonium benzoate) provoquait chez la souris une diminution de la motilité intestinale et une perte d'appétit (Janssen et al. 2011). Les effets observés sont indépendants des mécanismes satiétogènes classiques, faisant intervenir différentes hormones anorexigènes. Caractérisées chez la souris, les fonctions des TAS2R dans le tractus gastro intestinal de l'Homme restent obscures. Seule leur implication dans la libération de fluide ionique a pu être observée, suite à l'ajout de PROP à des extraits de muqueuses de côlon (Kaji et al. 2009).

Des récepteurs TAS2R ont également été découverts dans le système respiratoire. D'abord identifiés au niveau des voies respiratoires supérieures (cavité nasale) chez le rongeur puis chez l'humain, ces récepteurs amers sont exprimés par des cellules appelées cellules chimiosensorielles solitaires (Finger et al. 2003). Les TAS2R exprimés y exercent diverses fonctions, de la détection des composés toxiques inhalés au ralentissement de la fréquence respiratoire, via des connections synaptiques entre des fibres du nerf trigéminal et des cellules chimiosensorielles solitaires (Finger et al. 2003). Plus récemment, il a été démontré que certaines molécules d'origine bactérienne, comme des acyl-homosérine lactones, pouvaient être détectées par ces TAS2R, suggérant leur implication dans la défense de l'organisme contre les pathogènes (Tizzano et al. 2010). Des TAS2R ont également été mis en évidence au niveau des épithéliums des voies

⁶ Qualifie quelque chose, généralement un organe, qui n'est pas à sa place habituelle.

respiratoires inférieures, plus précisément sur la surface des cellules ciliées. La stimulation de ces TAS2R par une molécule amère aboutit à une augmentation de la fréquence de battements des cils (Shah et al. 2009). Il a été observé que TAS2R38 était impliqué dans la détection des acyl-homosérine lactones. La présence de son variant allélique non fonctionnel est positivement corrélée à l'apparition d'infections nasales d'origine bactérienne (Lee et al. 2012). Les récepteurs TAS2R occupent donc une fonction protectrice, de lutte contre les pathogènes, en contribuant à leur élimination rapide.

L'expression de TAS2R dans certains tissus isolés et protégés de l'environnement extérieur est plus surprenante. Des études réalisées chez le rongeur ont mis en évidence l'expression de TAS2R dans le cerveau, plus précisément dans le tronc cérébral, le cervelet, le cortex et le noyau accumbens. Il s'agit des récepteurs orthologues TAS2R4, -R10 et -R38 (Singh et al. 2011). Bien que fonctionnels, le rôle de ces récepteurs n'est pas clairement défini. Quelques corrélations ont été établies entre certaines maladies neurodégénératives (Alzheimer et Parkinson) et la diminution de l'expression des gènes TAS2R (Ansoleaga et al. 2013). L'expression de TAS2R a également été mise en évidence par des techniques de quantification d'ADN dans le tissu cardiaque, à un niveau relativement élevé (Foster et al. 2013). L'identification de TAS2R14, un récepteur à spectre large capable de détecter de nombreuses molécules à usage thérapeutique, laisse supposer un rôle de ces TAS2R dans la physiologie cardiaque qui reste à identifier (Levit et al. 2014).

VIII. Perspectives de masquage de l'amertume

Dans les années 2010, le premier inhibiteur du goût amer a été décrit (Slack et al. 2010). Appelé GIV3727 (ou 4-(2,2,3-triméthylcyclopentyl) butanoic acid), ce composé s'est avéré capable d'inhiber de manière compétitive l'activation de TAS2R31. Cet antagoniste engendre également l'inhibition de 5 autres récepteurs amers, TAS2R4, -R7, -R40, -R43 et -R49. Le composé GIV3727 agit donc sur de multiples récepteurs amers, une caractéristique partagée avec certains agonistes décrits précédemment. Il a été proposé que la fonction carboxylique (-COOH) est une fonction chimique importante pour ses capacités d'inhibition, puisque sa substitution par un groupement ester ou alcool abolit totalement son action inhibitrice sur les différents TAS2R. Peu de temps après cette première découverte, le probénécide, un inhibiteur connu des transporteurs Multidrug Resistance Protein 1 (MRP1), a été décrit comme capable d'inhiber les récepteurs TAS2R16, -R38, -R43 (Greene et al. 2011). Contrairement à l'inhibiteur GIV3727, le probénécide agit comme un modulateur non compétitif de l'activité de ces récepteurs amers. Après la mise en évidence d'inhibiteurs synthétiques, deux antagonistes naturels et compétitifs de TAS2R46 ont été découverts (Brockhoff et al. 2011). Présents à l'état naturel dans certaines plantes comestibles, le 3 β -Hydroxydihydrocostunolide (3HDC) et le 3 β -Hydroxypelenolide (3HP) appartiennent à la famille des lactones sesquiterpènes. Ces molécules sont également impliquées dans l'inhibition d'autres récepteurs au profil de liaison se chevauchant. Alors que le 3HDC permet la modulation de l'activité de TAS2R30 et TAS2R40, le 3HP est un inhibiteur des

récepteurs TAS2R30, -R31 et -R43. Des études plus récentes ont permis la caractérisation de nouveaux inhibiteurs d'amertume, tels que l'acide γ -aminobutyrique, l'acide abscissique et le Na,Na-bis(carboxyméthyl)-L-lysine. Ces composés agissent comme des antagonistes compétitifs de la quinine, une molécule amère détectée entre autre par le récepteur TAS2R4 (Pydi et al. 2014). Les recherches se poursuivent et de nouveaux inhibiteurs sont identifiés régulièrement, comme ces trois flavonones, 4'-fluoro-6-méthoxyflavanone, 6,3'-diméthoxyflavanone et 6-méthoxyflavanone, impliquées dans l'inhibition des récepteurs TAS2R39 et TAS2R14 (Roland et al. 2014), ou encore certains peptides dérivés de protéines de bœuf et de poule, capables de moduler l'activité de TAS2R4 (Zhang et al. 2018).

IX. Conclusion

Les progrès en biochimie, génétique et biologie cellulaire ont permis d'identifier les différentes structures et les principaux acteurs moléculaires impliqués dans la détection des différentes saveurs, dont l'amertume. Ces progrès récents ont également conduit à l'identification de gènes responsables de la variabilité phénotypique interindividuelle vis-à-vis de la perception de l'amertume. Des tests fonctionnels *in vitro* ont été développés afin de déterminer le profil d'activation des 25 TAS2R humains. De nombreuses molécules, d'origines naturelles ou synthétiques ont pu être déterminées comme ligands de ces récepteurs amers. Ces tests cellulaires ont également permis la découverte d'inhibiteurs d'amertume, pouvant agir sur un ou plusieurs TAS2R. Ces travaux suscitent l'intérêt des industries agroalimentaires, dans l'optique de développer de nouveaux bloqueurs d'amertume adaptés à leurs besoins. Bien que le rôle des TAS2R dans certains tissus extraoraux comme le cœur ou le cerveau ne soit pas clairement établi, ces récepteurs constituent des cibles thérapeutiques potentielles et intéressantes pour l'industrie pharmaceutique.

Bibliographie

- Ansoleaga, B., P. Garcia-Esparcia, et al. (2013). Dysregulation of brain olfactory and taste receptors in AD, PSP and CJD, and AD-related model. *Neuroscience* 248: 369-382.
- Bartoshuk, L. M. (1979). Bitter taste of saccharin related to the genetic ability to taste the bitter substance 6-n-propylthiouracil. *Science* 205(4409): 934-935.
- Basson, M. D., L. M. Bartoshuk, et al. (2005). Association between 6-n-propylthiouracil (PROP) bitterness and colonic neoplasms. *Digestive Diseases and Sciences* 50(3): 483-489.
- Behrens, M. and W. Meyerhof (2011). Gustatory and extragustatory functions of mammalian taste receptors. *Physiology & Behavior* 105(1): 4-13.
- Behrens, M., W. Meyerhof, et al. (2016). The vertebrate gustatory system. *Wiley Online Library*: 57-78.
- Behrens, M., S. Prandi, et al. (2017). Taste Receptor Gene Expression Outside the Gustatory System. *Taste and Smell*, Springer International Publishing: 1-34.
- Bell, K. I. and B. J. Tepper (2006). Short-term vegetable intake by young children classified by 6-n-propylthiouracil bitter-taste phenotype. *The American Journal of Clinical Nutrition* 84(1): 245-251.
- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56(11): 317-333.
- Breslin, P. A. and L. Huang (2006). Human taste: peripheral anatomy, tastetransduction, and coding. *Taste and Smell*, Karger Publishers. 63: 152-190.

- Broadbent, J. R., M. Barnes, et al. (2002). Contribution of *Lactococcus lactis* cell envelope proteinase specificity to peptide accumulation and bitterness in reduced-fat Cheddar cheese. *Applied and Environ Microbiology* 68(4): 1778-1785.
- Brockhoff, A., M. Behrens, et al. (2010). Structural requirements of bitter taste receptor activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107(24): 11110-11115.
- Brockhoff, A., M. Behrens, et al. (2011). Receptor Agonism and Antagonism of Dietary Bitter Compounds. *The Journal of Neuroscience* 31(41): 14775-14782.
- Brühl, L., B. Matthäus, et al. (2007). Identification of bitter off-taste compounds in the stored cold pressed linseed oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(19): 7864-7868.
- Bufe, B., P. A. Breslin, et al. (2005). The molecular basis of individual differences in phenylthiocarbamide and propylthiouracil bitterness perception. *Current Biology* 15(4): 322-327.
- Chandrashekar, J., K. L. Mueller, et al. (2000). T2Rs function as bitter taste receptors. *Cell* 100(6): 703-711.
- Chaudhari, N. and S. D. Roper (2010). The cell biology of taste. *The Journal of Cell Biology* 190(3): 285-296.
- de Araújo, H. M. M., F. Salzano, et al. (1972). New data on the association between PTC and thyroid diseases. *Humangenetik* 15(2): 136-144.
- Delompré, T., E. Guichard, et al. (2019). Taste Perception of Nutrients Found in Nutritional Supplements: A Review. *Nutrients* 11(9): 2050.
- Dotson, C. D., L. Zhang, et al. (2008). Bitter taste receptors influence glucose homeostasis. *PLoS One* 3(12): e3974.
- Drewnowski, A. and C. Gomez-Carneros (2000). Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *The American Journal of Clinical Nutrition* 72(6): 1424-1435.
- Duffy, V. B., J. E. Hayes, et al. (2010). Vegetable intake in college-aged adults is explained by oral sensory phenotypes and TAS2R38 genotype. *Chemosensory Perception* 3(3-4): 137-148.
- Finger, T. E., B. Böttger, et al. (2003). Solitary chemoreceptor cells in the nasal cavity serve as sentinels of respiration. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100(15): 8981-8986.
- Foster, S. R., E. R. Porrello, et al. (2013). Expression, Regulation and Putative Nutrient-Sensing Function of Taste GPCRs in the Heart. *PLoS One* 8(5): e64579.
- Frank, O., M. Jezussek, et al. (2003). Sensory activity, chemical structure, and synthesis of Maillard generated bitter-tasting 1-oxo-2, 3-dihydro-1 H-indolizinium-6-olates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(9): 2693-2699.
- Goldstein, G. L., H. Daun, et al. (2005). Adiposity in middle-aged women is associated with genetic taste blindness to 6-n-propylthiouracil. *Obesity Research* 13(6): 1017-1023.
- Greene, T. A., S. Alarcon, et al. (2011). Probenecid Inhibits the Human Bitter Taste Receptor TAS2R16 and Suppresses Bitter Perception of Salicin. *PLoS One* 6(5): e20123.
- Grosch, W. and G. Laskawy (1984). Contribution of linoleic acid to the bitter taste of poppy seeds (*Papaver somniferum*). *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung* 178(4): 257-259.
- Guo, S.-W. and D. R. Reed (2001). The genetics of phenylthiocarbamide perception. *Annals of Human Biology* 28(2): 111-142.
- Hagedorn, S. and B. Kaphammer (1994). Microbial biocatalysis in the generation of flavor and fragrance chemicals. *Annual Review of Microbiology* 48(1): 773-800.
- Hayes, J. E., M. R. Wallace, et al. (2011). Allelic variation in TAS2R bitter receptor genes associates with variation in sensations from and ingestive behaviors toward common bitter beverages in adults. *Chemical Senses* 36(3): 311-319.
- Hecht, S. S. (2000). Inhibition of carcinogenesis by isothiocyanates. *Drug metabolism reviews* 32(3-4): 395-411.
- Hinrichs, A. L., J. C. Wang, et al. (2006). Functional variant in a bitter-taste receptor (hTAS2R16) influences risk of alcohol dependence. *American Journal of Human Genetics* 78(1): 103-111.

- Horne, J., H. T. Lawless, et al. (2002). Bitter taste of saccharin and acesulfame-K. *Chemical Senses* 27(1): 31-38.
- Howitt, M. R., S. Lavoie, et al. (2016). Tuft cells, taste-chemosensory cells, orchestrate parasite type 2 immunity in the gut. *Science* 351(6279): 1329-1333.
- Huang, Y.-J., Y. Maruyama, et al. (2007). The role of pannexin 1 hemichannels in ATP release and cell-cell communication in mouse taste buds. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104(15): 6436-6441.
- Janssen, S., J. Laermans, et al. (2011). Bitter taste receptors and α -gustducin regulate the secretion of ghrelin with functional effects on food intake and gastric emptying. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108(5): 2094-2099.
- Jeon, T.-I., B. Zhu, et al. (2008). SREBP-2 regulates gut peptide secretion through intestinal bitter taste receptor signaling in mice. *The Journal of Clinical Investigation* 118(11): 3693-3700.
- Jiang, D. and D. G. Peterson (2013). Identification of bitter compounds in whole wheat bread. *Food Chemistry* 141(2): 1345-1353.
- Kaji, I., S.-i. Karaki, et al. (2009). Secretory effects of a luminal bitter tastant and expressions of bitter taste receptors, T2Rs, in the human and rat large intestine. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology* 296(5): G971-G981.
- Karrer, T. and L. Bartoshuk (1991). Capsaicin desensitization and recovery on the human tongue. *Physiology & Behavior* 49(4): 757-764.
- Kataoka, M., E. Tokuyama, et al. (2008). The taste sensory evaluation of medicinal plants and Chinese medicines. *International Journal of Pharmaceutics* 351(1-2): 36-44.
- Kim, I. M. R., Y. Kawamura, et al. (2003). Isolation and Identification of Bitter Peptides of Tryptic Hydrolysate of Soybean 11S Glycinin by Reverse-phase High-performance Liquid Chromatography. *Journal of Food Science* 68(8): 2416-2422.
- Kim, U.-k., E. Jorgenson, et al. (2003). Positional cloning of the human quantitative trait locus underlying taste sensitivity to phenylthiocarbamide. *Science* 299(5610): 1221-1225.
- Kim, U., S. Wooding, et al. (2005). Worldwide haplotype diversity and coding sequence variation at human bitter taste receptor loci. *Human Mutation* 26(3): 199-204.
- Kuhn, C., B. Bufe, et al. (2004). Bitter taste receptors for saccharin and acesulfame K. *Journal of Neuroscience* 24(45): 10260-10265.
- Laffitte, A., F. Neiers, et al. (2017). Characterization of taste compounds: chemical structures and sensory properties. Wiley-Blackwell, Oxford, UK: 154-191.
- Lee, R. J., G. Xiong, et al. (2012). T2R38 taste receptor polymorphisms underlie susceptibility to upper respiratory infection. *The Journal of Clinical Investigation* 122(11): 4145-4159.
- Lei, W., A. Ravoninjahary, et al. (2015). Functional analyses of bitter taste receptors in domestic cats (*Felis catus*). *PLoS One* 10(10): e0139670.
- Levit, A., S. Nowak, et al. (2014). The bitter pill: clinical drugs that activate the human bitter taste receptor TAS2R14. *The FASEB Journal* 28(3): 1181-1197.
- Lindemann, B. (1996). Taste reception. *Physiological Reviews* 76(3): 719-766.
- Maehashi, K. and L. Huang (2009). Bitter peptides and bitter taste receptors. *Cellular and Molecular Life Sciences* 66(10): 1661-1671.
- Matsunami, H., J.-P. Montmayeur, et al. (2000). A family of candidate taste receptors in human and mouse. *Nature* 404(6778): 601.
- Meyerhof, W. (2005). Elucidation of mammalian bitter taste. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology*: 37-72.
- Meyerhof, W., C. Batram, et al. (2010). The molecular receptive ranges of human TAS2R bitter taste receptors. *Chemical Senses* 35(2): 157-170.
- Meyerhof, W., S. Born, et al. (2011). Molecular biology of mammalian bitter taste receptors. A review. *Flavour and Fragrance Journal* 26(4): 260-268.

- Poirier, N., N. Roudnitzky, et al. (2012). Efficient production and characterization of the sweet-tasting brazzein secreted by the yeast *Pichia pastoris*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60(39): 9807-9814.
- Pronin, A. (2004). Tang H, Connor J, and Keung W. Identification of ligands for two human bitter T2R receptors. *Chemical Senses* 29: 583-593.
- Pronin, A. N., H. Xu, et al. (2007). Specific alleles of bitter receptor genes influence human sensitivity to the bitterness of aloin and saccharin. *Current Biology* 17(16): 1403-1408.
- Pydi, S. P., T. Sobotkiewicz, et al. (2014). Amino acid derivatives as bitter taste receptor (T2R) Blockers. *Journal of Biological Chemistry* 289(36): 25054-25066.
- Refsgaard, H. H., P. M. Brockhoff, et al. (2000). Free polyunsaturated fatty acids cause taste deterioration of salmon during frozen storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48(8): 3280-3285.
- Roland, W. S. U., R. J. Gouka, et al. (2014). 6-Methoxyflavanones as Bitter Taste Receptor Blockers for hTAS2R39. *PLoS One* 9(4): e94451.
- Roper, S. D. (2013). Taste buds as peripheral chemosensory processors. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 24(1):71-79.
- Rosler, P. (1998). Identification of a phospholipase C beta subtype in rat taste cells. *European Journal of Cell Biology* 77: 253-261.
- Sakurai, T., T. Misaka, et al. (2010). Characterization of the β -d-glucopyranoside binding site of the human bitter taste receptor hTAS2R16. *Journal of Biological Chemistry* 285(36): 28373-28378.
- Schiffman, S. S. and C. Dackis (1975). Taste of nutrients: Amino acids, vitamins, and fatty acids. *Perception & Psychophysics* 17(2): 140-146.
- Schiffman, S. S., K. Sennewald, et al. (1981). Comparison of taste qualities and thresholds of D-and L-amino acids. *Physiology & Behavior* 27(1): 51-59.
- Shah, A. S., Y. Ben-Shahar, et al. (2009). Motile Cilia of Human Airway Epithelia Are Chemosensory. *Science* 325(5944): 1131-1134.
- Simon, S. A., I. E. de Araujo, et al. (2006). The neural mechanisms of gustation: a distributed processing code. *Nature Reviews Neuroscience* 7(11): 890.
- Singh, N., M. Vrontakis, et al. (2011). Functional bitter taste receptors are expressed in brain cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 406(1): 146-151.
- Slack, J. P., A. Brockhoff, et al. (2010). Modulation of bitter taste perception by a small molecule hTAS2R antagonist. *Current Biology* 20(12): 1104-1109.
- Soranzo, N., B. Bufe, et al. (2005). Positive selection on a high-sensitivity allele of the human bitter-taste receptor TAS2R16. *Current Biology* 15(14): 1257-1265.
- Stähler, F., K. Riedel, et al. (2008). A role of the epithelial sodium channel in human salt taste transduction? *Chemosensory Perception* 1(1): 78-90.
- Tizzano, M., B. D. Gulbransen, et al. (2010). Nasal chemosensory cells use bitter taste signaling to detect irritants and bacterial signals. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107(7): 3210-3215.
- Wooding, S., U.-k. Kim, et al. (2004). Natural selection and molecular evolution in PTC, a bitter-taste receptor gene. *The American Journal of Human Genetics* 74(4): 637-646.
- Zhang, C., A. M. Alashi, et al. (2018). Beef protein-derived peptides as bitter taste receptor T2R4 blockers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 66(19): 4902-4912.
- Zhang, J., H. Jin, et al. (2019). Sour sensing from the tongue to the brain. *Cell* 179(2): 392-402. e315.