

Sensibilité au PTC : du phénotype au génotype

Place de l'activité dans les programmes : **Thème 1 A – Expression, stabilité et variation du patrimoine génétique**

Objectifs de connaissances : L'ensemble des protéines qui se trouvent dans une cellule (phénotype moléculaire) dépend du patrimoine génétique de la cellule (une mutation allélique peut être à l'origine d'une protéine différente ou de l'absence d'une protéine).
Le phénotype macroscopique dépend du phénotype cellulaire, lui-même induit par le phénotype moléculaire.

Capacités et attitudes :

- Recenser et exploiter des informations permettant de caractériser la diversité allélique d'une population, notamment en utilisant un test simple pour caractériser un phénotype
- Utiliser des logiciels pour caractériser des mutations.

Matériel nécessaire :

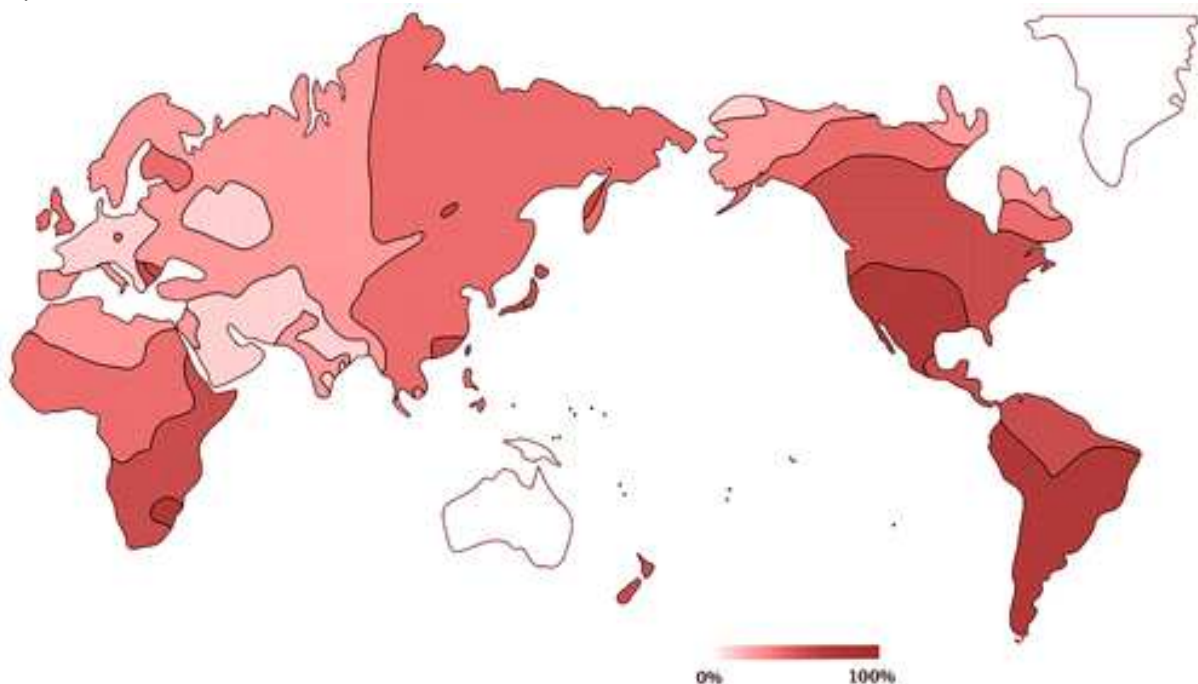
- Kit de test de la sensibilité au PTC, boîtes de Petri, poubelles, morceaux de sucre emballés ;
- Protocole de sécurité ;
- Salle avec postes informatiques ;
- Logiciel d'analyse de séquences (Anagène, ou GenieGen, et Phylogène) ;
- Fichiers des séquences nucléotidiques et protéiques accessibles sur le réseau ou sur les postes.

Contexte scientifique

En 1931 le chimiste Arthur L. Fox découvre que la molécule sur laquelle il travaille, le **PhénylThioCarbamide (PTC)**, a un goût très amer pour certaines personnes, aucun goût pour d'autres, dont lui-même.
A partir de cette observation, de très nombreuses études sont menées. Environ 75 % de la population mondiale est sensible, et 25 % non-sensible. Mais la sensibilité des populations est très inégalement répartie selon les continents :



PhénylThioCarbamide (PTC)



Carte mondiale de la sensibilité des populations humaines au PTC

Il est assez rapidement établi que la sensibilité au PTC dépend d'un gène à 2 allèles : un allèle dominant, qui confère la sensibilité, et un allèle récessif, associé au phénotype d'insensibilité.

En 2003 le gène du récepteur au PTC est cloné. Nommé TAS2R38 il est localisé sur le chromosome 7, en position 7q34. Il est constitué d'un unique exon. Il code pour un récepteur membranaire à 7 domaines transmembranaires, couplé aux protéines G. Il fait partie de la famille des récepteurs TAS2R, qui compte au moins 25 gènes fonctionnels connus. Ces gènes sont portés par les cellules sensorielles des bourgeons du goût situés sur les papilles linguales. Ils sont impliqués dans la détection des substances amères, de la famille des glucosinolates, en particulier celles contenues dans les Brassicacées.

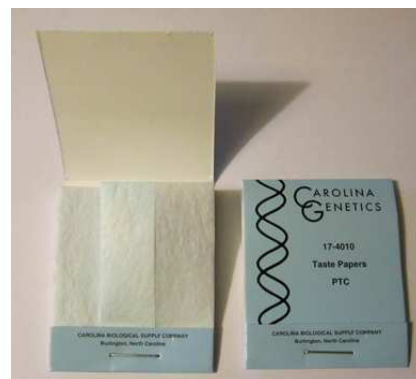
Trois variants ponctuels de l'ADN (=SNP, Single Nucleotide Polymorphism) ont été identifiés dans ce gène, correspondant à l'existence de 5 allèles différents. Parmi ces allèles, 2 sont très largement majoritaires dans la population :

Position du nucléotide	Changement de nucléotide (Sensible -> Non Sensible)	Changement de codon (Sensible -> Non Sensible)	Changement d' acide aminé (Sensible -> Non Sensible)
145	C -> G	CCA -> GCA	Proline -> Alanine
785	C -> T	GCT -> GTT	Alanine -> Valine
886	G -> A	GTC -> ATC	Valine -> Isoleucine

L'allèle conduisant à la combinaison **PAV** est celui qui confère la sensibilité. L'allèle conduisant à la combinaison **AVI** produit un récepteur membranaire qui ne fixe plus le PTC. Par commodité ces allèles sont donc dénommés PAV et AVI.

Kit de test de la sensibilité au PTC

La société Carolina commercialise des bandelettes de test de la sensibilité au PTC, ainsi que des bandelettes de contrôle. Ces produits devraient être disponibles auprès de Jeulin ou de Sordalab.



Pour éviter la manipulation par de multiples personnes du kit et des bandelettes, il est possible de préparer à l'avance des boîtes de Petri ne contenant que 2 bandelettes (si les élèves sont en binôme). Il faut commencer par faire poser la bandelette contrôle sur la langue, et relever les sensations. Il est alors possible de travailler sur la notion de témoin dans un test. Dans un second temps on peut donner les boîtes contenant les bandelettes imprégnées de PTC.

Il faut prendre des précautions pour récupérer les bandelettes imprégnées de salive : récipient avec eau de Javel ; lavage des mains (cf fiche protocole de sécurité)

Pour les personnes les plus sensibles, le goût est vraiment très désagréable. On peut prévoir de donner un petit morceau de sucre.

Les individus PAV / PAV sont très sensibles, les PAV / AVI sont sensibles, et les AVI / AVI sont insensibles. Mais les allèles PAV et AVI ne rendent compte que d'environ 90 % des phénotypes de sensibilité au PTC. Les 10 % restants sont dépendants des autres allèles, mais aussi de l'environnement : la sensibilité est conditionnée par l'état de sécheresse de la bouche, par ce qui a été mangé auparavant, et décroît généralement avec l'âge.

Alignements de séquences

Les séquences des ADNc et des protéines pour les allèles PAV et AVI sont fournies.

Liste des fichiers au format .EDI utilisables avec **Anagène** ou **GeniGen** :

- **Recepteurs_PTC_adn.edi** : contient les séquences ADN des allèles PAV et AVI
- **Recepteurs_PTC_proteine.edi** : contient les séquences protéiques des produits des allèles PAV et AVI
- **Recepteurs_PTC.edi** : contient les séquences ADN et les produits protéiques des allèles PAV et AVI

Ces séquences peuvent être utilisées pour réaliser des alignements (exemple ici avec GenieGen) :

The screenshot displays two windows from the GenieGen software. The top window, titled 'Séquences', shows the DNA sequence for TAS2R38_PAV and TAS2R38_AVI. The amino acid sequence is displayed below the DNA: ProLeuSerAsnSerAspCysValLeuLeuCysLeuSerIleSerArgLeuP. The bottom window, titled 'Alignement de Séquences', shows a detailed alignment of the two sequences, highlighting a GAGGCAGCCACTGAGCAACAGTGATTGTGTGCTGTGTCTCAGCATCAGCCGGCTTTT region.

Aspect évolutif

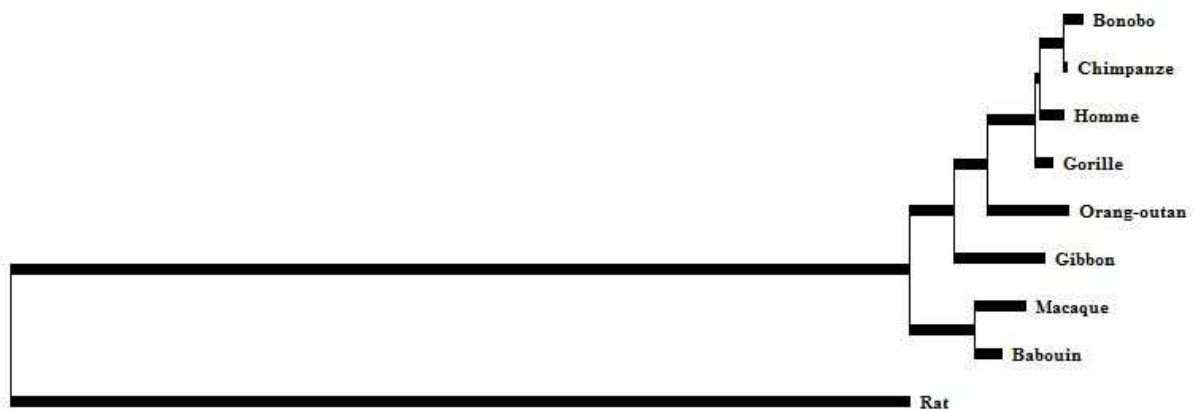
L'allèle PAV est considéré comme l'allèle ancestral dans l'espèce humaine car on retrouve les trois mêmes acides aminés (Proline, Alanine, Valine) aux mêmes positions dans le produit du gène homologue des chimpanzés, des gorilles, des orangs-outangs, , d'un gibbon, d'un macaque et d'un babouin. Ceci peut être mis en évidence en alignant les séquences avec **Anagène** ou **GenieGen** : fichier **Recepteurs_PTC_Primates_adn.edi**

Exemple pour le SNP en position 785 :

The screenshot displays a multiple sequence alignment of TAS2R38 sequences from various primates. The alignment highlights a SNP at position 785, where the PAV allele has a T and the AVI allele has a G. The sequences shown are: Homo_sapiens_TAS2R38_PAV, Homo_sapiens_TAS2R38_AVI, Pan_paniscus_TAS2R38.adn, Pan_troglodytes_TAS2R38.a, Gorilla_gorilla_TAS2R38.a, Pongo_pygmaeus_TAS2R38.ad, Hylobates_klossii_TAS2R38, Macaca_mulatta_TAS2R38.ad, and Papio_hamadryas_TAS2R38.

En utilisant les fichiers **SequencesPrimates.pir** (séquences non alignées) et **SequencesPrimates.aln** (séquences déjà alignées), on peut dans **Phylogène** comparer les séquences et construire un arbre phylogénétique (l'extra-groupe est ici le rat) :

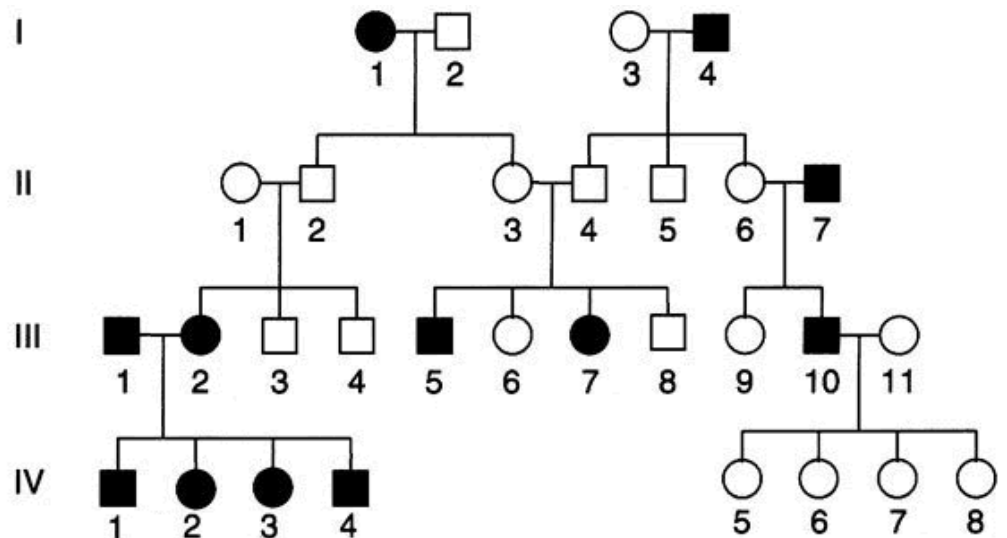
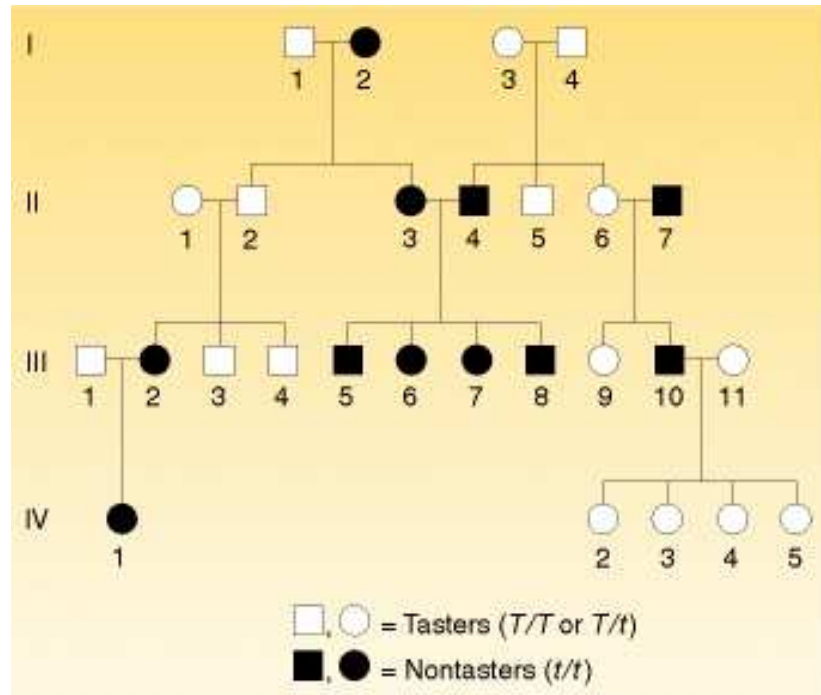
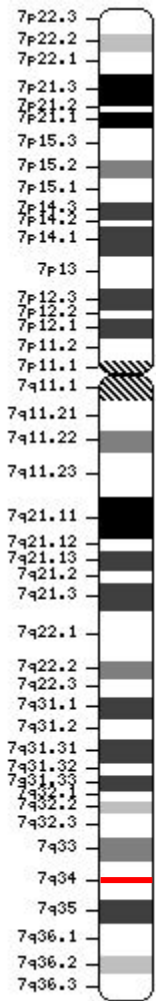
				5				10				15			20			25										
Homme	A	T	G	T	T	G	A	C	T	C	T	A	A	C	T	C	G	C	A	T	C	C	G	C	A	C	T	G
Bonobo	A	T	G	T	T	G	A	C	T	C	T	A	A	C	T	C	G	C	A	T	C	C	A	C	A	C	T	G
Chimpanze	A	T	G	T	T	G	A	C	T	C	T	A	A	C	T	C	G	C	A	T	C	C	A	C	A	C	T	G
Gorille	A	T	G	T	T	G	A	C	T	C	T	A	A	C	T	C	G	C	A	T	C	C	G	C	A	C	T	G
Orang-outan	A	T	G	T	T	G	A	C	T	C	T	A	A	C	T	C	A	C	A	T	C	T	G	C	G	C	T	G
Gibbon	A	T	G	T	T	G	A	C	T	C	T	A	A	C	T	C	G	C	A	T	C	T	G	C	A	C	T	G
Babouin	A	T	G	T	T	G	A	C	T	C	T	A	A	C	T	C	A	C	A	T	C	T	G	C	A	C	T	G
Macaque	A	T	G	T	T	A	A	C	T	C	T	A	A	C	T	C	A	C	A	T	C	T	G	C	A	C	T	G
Rat	A	T	G	T	T	G	A	C	T	C	T	G	A	C	T	C	C	G	T	C	T	T	A	A	C	T	G	



Il a été établi que la sensibilité au PTC est parfaitement corrélée à la sensibilité à une substance naturelle, la 1-5-vinyl-2-thio-oxazolidone, produite par les Brassicacées et responsable de goûters en cas de surconsommation. La sensibilité à l'amertume permettrait donc d'éviter l'ingestion de toxines végétales, qui sont souvent amères (exemples : strychnine, quinine, ricine, caféine).

L'allèle AVI, bien que ne permettant plus la sensibilité au PTC et aux molécules chimiquement proches, produirait un récepteur sensible à d'autres substances amères. Ceci expliquerait la persistance de l'allèle dans la population, car il conférerait un avantage aux hétérozygotes, leur permettant de détecter une plus grande variété de composés amers.

Données complémentaires



Références

Phenylthiocarbamide: A 75-Year Adventure in Genetics and Natural Selection, Stephen Wooding, *Genetics* 172: 2015–2023 (2006)

Positional Cloning of the Human Quantitative Trait Locus Underlying Taste Sensitivity to Phenylthiocarbamide, Un-kyung Kim, Eric Jorgenson, Hilary Coon, Mark Leppert, Neil Risch, Dennis Drayna, *Science* 299, 1221-1225 (2003)

Séquence génomique de référence : http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NG_016141.1

Séquence ARNm de référence : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/261490644>

Séquence protéique de référence : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/261490645>