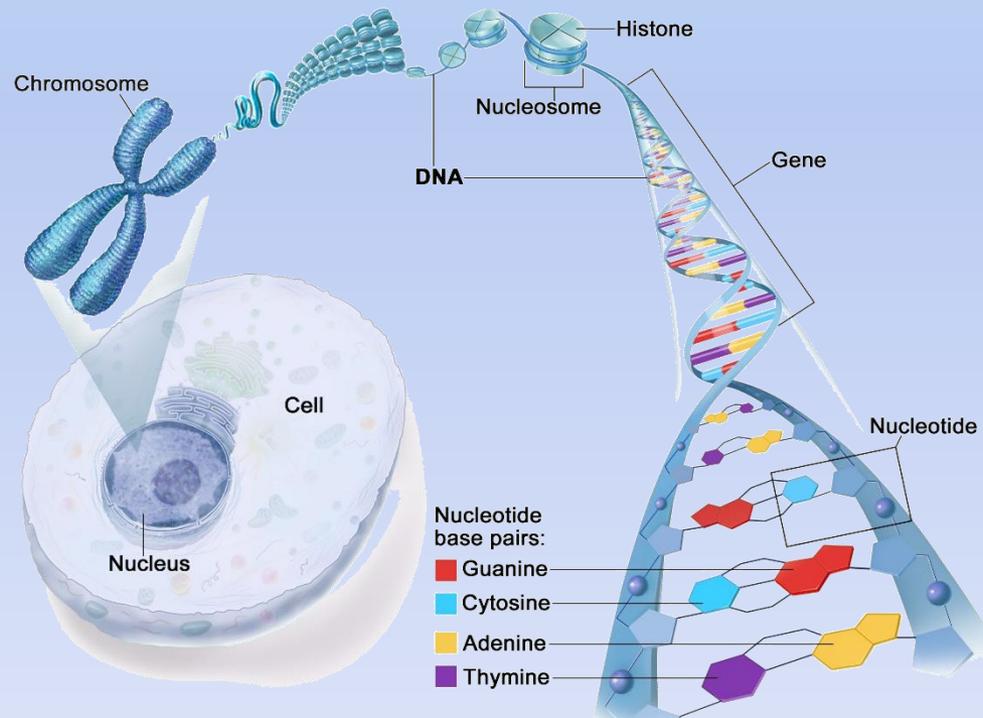


Module : **Biologie moléculaire**

Responsable du module : **Dr. AROUSSI Abdelkrim**

Classe : **Licence 3^{ème} année Biochimie**



4. L'expression de l'information génétique et son contrôle

- *La transcription et la maturation de l'ARN*
- *La traduction et la maturation des protéines*
 - *Régulation de l'expression des gènes*

Le code génétique: correspondance entre codons et acides aminés

Le code génétique

		Second letter				
		U	C	A	G	
First letter	U	UUU } Phe	UCU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	U
		UUC } Leu	UCC } Ser	UAC } Tyr	UGC } Cys	C
		UUA } Leu	UCA } Ser	UAA Stop	UGA Stop	A
		UUG } Leu	UCG } Ser	UAG Stop	UGG Trp	G
	C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	U
		CUC } Leu	CCC } Pro	CAC } His	CGC } Arg	C
		CUA } Leu	CCA } Pro	CAA } Gin	CGA } Arg	A
		CUG } Leu	CCG } Pro	CAG } Gin	CGG } Arg	G
	A	AUU } Ile	ACU } Thr	AAU } Asn	AGU } Ser	U
		AUC } Ile	ACC } Thr	AAC } Asn	AGC } Ser	C
		AUA } Ile	ACA } Thr	AAA } Lys	AGA } Arg	A
		AUG Met	ACG } Thr	AAG } Lys	AGG } Arg	G
	G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp	GGU } Gly	U
		GUC } Val	GCC } Ala	GAC } Asp	GGC } Gly	C
		GUA } Val	GCA } Ala	GAA } Glu	GGA } Gly	A
		GUG } Val	GCG } Ala	GAG } Glu	GGG } Gly	G

Caractéristiques du code génétique:

- Les 64 codons possibles ont un sens
- redondance (dégénéré sur la 3^{ème} base)
- pas d'ambigüité
- Codons stop
- Un codon d'initiation=Met (toutes les protéines commencent par Met)

Introduction

➤ Les fonctions et les caractéristiques de chaque type cellulaire sont déterminées par les protéines qui les composent.

Qui choisit les types de protéines exprimées par les cellules ?

Qui détermine le taux d'expression de ces protéines ?

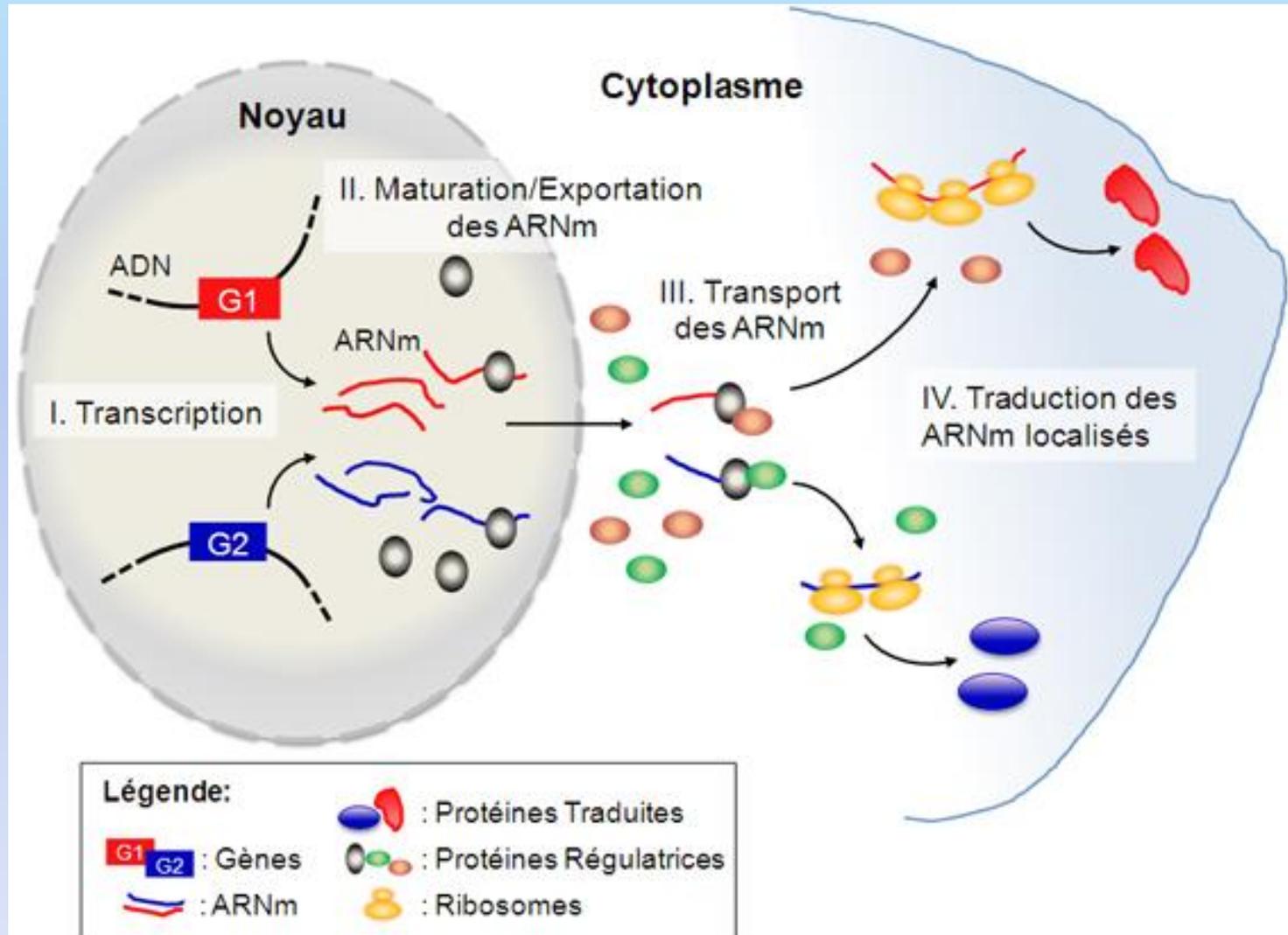
Comment un organisme unicellulaire s'adapte aux différents milieux ?

➤ Les facteurs déterminant sont:

- La concentration en ARNm propre à chaque protéine, qui dépend de la nature du gène transcrit et de la vitesse à laquelle il est transcrit dans une cellule donnée;
- La fréquence à laquelle il est traduit;
- Et la stabilité, la demi-vie de la protéine.

C'est donc principalement la transcription différentielle des gènes en ARNm dans une cellule qui détermine ses caractéristiques (propriétés et fonctions).

Expression d'un gène : processus entier qui décode l'information portée par un gène donné et la traduit en protéine.



Etapes-clé de la découverte de l'ARNm

L'intuition de la transcription

Chez les eucaryotes:

ADN dans le noyau



Machinerie de synthèse dans
le cytoplasme

Hypothèse d'un l'intermédiaire ARN



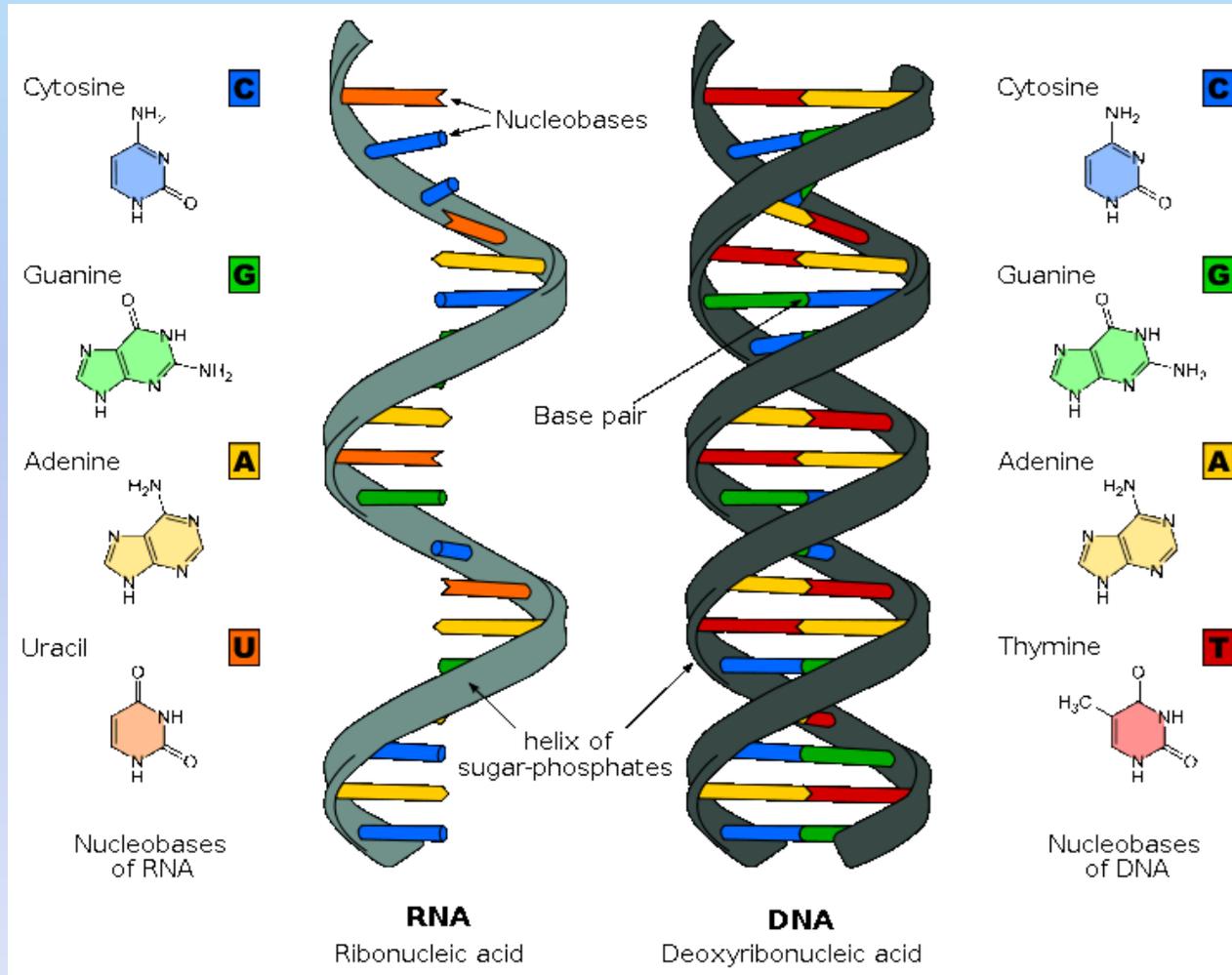
ARN messenger (ARNm)

Étapes-clé de la découverte de l'ARNm

- 1957: concept d'un « adaptateur ARN » (Crick)
- 1956-57: Découverte progressive d'une nouvelle fraction d'ARN
- 1959-60: découverte d'une « ARN polymérase » capable de synthétiser de l'ARN à partir d'ADN.
- 1961. Mise au point des techniques d'hybridation ADN-ARN sur filtre de nitrocellulose. -> l'ARN est complémentaire d'un seul brin d'ADN
- 1961. Démonstration de l'existence d'un ARN messenger (Jacob & Monod)
- 1961. Purification d'ARN polymérase bactérienne et synthèse *in vitro* d'ARN à partir de matrice ADN

La transcription

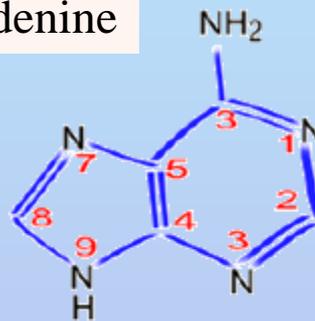
➤ La transcription est le processus de copie du matériel génétique (ADN) en ARN.



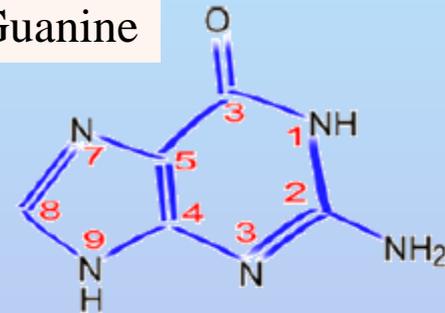
Les bases de l'ADN et de l'ARN

Base puriques

Adénine

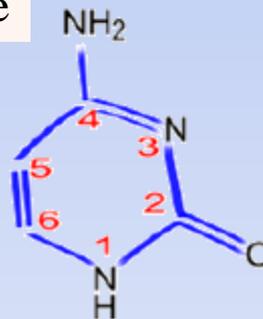


Guanine

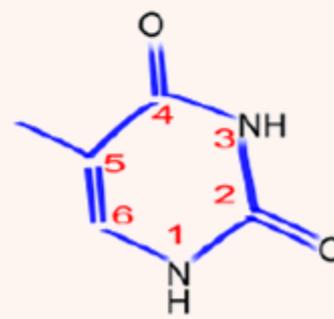


Base pyrimidiques

Cytosine

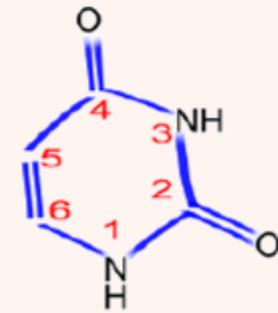


ADN



Thymine

ARN



Uracile

Les bases de l'ADN et de l'ARN

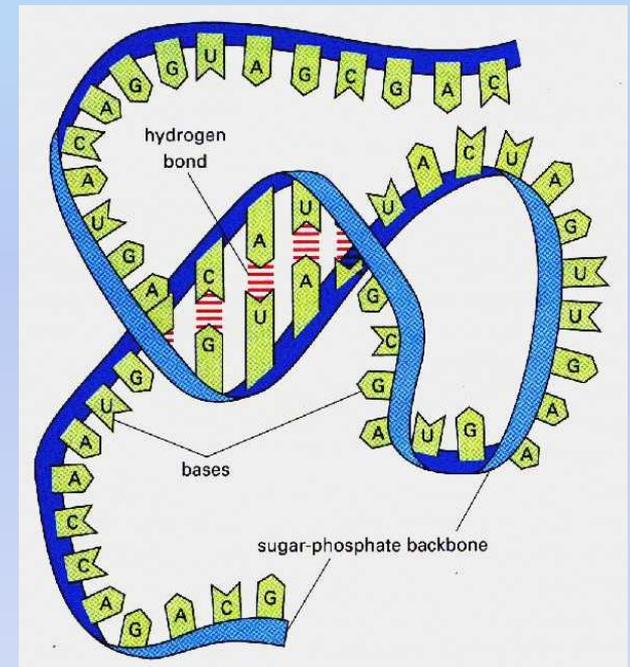
- Les ARN sont des polyribonucléotides. Par rapport à l'ADN la base pyrimidique Thymine (T) est remplacée par une autre base pyrimidique l'Uracile (U).
- On les trouve dans le noyau et le cytoplasme.
- Un ARN est monocaténaire, orienté 5'P→3'OH mais sa chaîne peut se replier, *ie* former une structure secondaire stable (épingle à cheveu) en formant des liaisons hydrogène entre les bases.

Les ARN majoritaires de la cellule sont:

ARNr 83%

ARNt + petits ARN 15%

ARNm 2%.



L'ARN est un produit de la transcription de l'ADN par l'ARN polymérase ADN dépendante.

Les fonctions cellulaires de l'ARN

- ARN messagers
- ARNt
- ARN viraux
- *ARN régulateurs: miARN*

Fonctions génétiques

- Autoépissage d'ARN viraux
- Maturation ARN (ribonucléase P)
- Epissosome (snRNA)
- ARN ribosomiques

Fonctions enzymatiques
=ribozymes

Les Mécanismes de la Transcription

La séquence informative de l'ADN, pour être convertie en une séquence protéique, doit être réécrite (transcrite) en une séquence d'ARN.

Transcription = Processus de synthèse d'ARN à partir d'une matrice ADN

Chaîne d'ARN synthétisée:

{ identique à un brin de l'ADN (brin matrice)
{ complémentaire de l'autre brin d'ADN (brin codant ou brin complémentaire)

ADN { 5' ATTACGACCTACGCAT 3' Brin matrice
{ 3' TAATGCTGGATGCGTA 5' Brin codant
(Brin complémentaire)

ARN 5' AUUACGACCUACGCAU 3'

Les Mécanismes de la Transcription

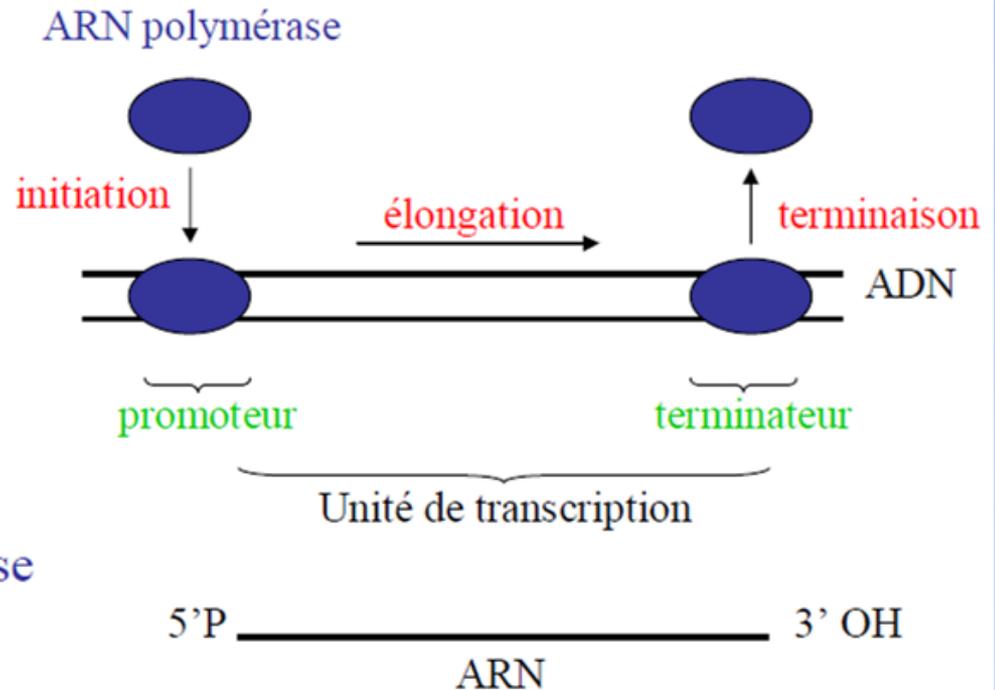
Ne concerne qu'une portion de l'ADN

- Démarre à un « promoteur »
- S'arrête à un « terminateur » (pas chez les eucaryotes)

3 grandes étapes :

- initiation (début)
- élongation
- terminaison

Enzyme responsable : ARN polymérase



Les ARN Polymérase

Synthétisent l'ARN dans le sens 5' vers 3'

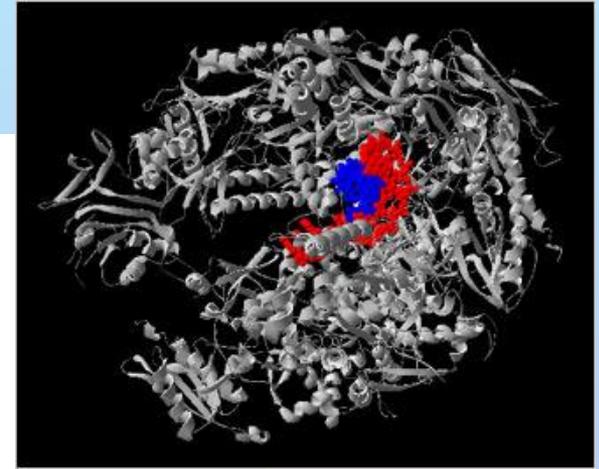
Ne nécessitent pas d'amorces

Se déplacent le long du brin matrice dans le sens 3' vers 5'

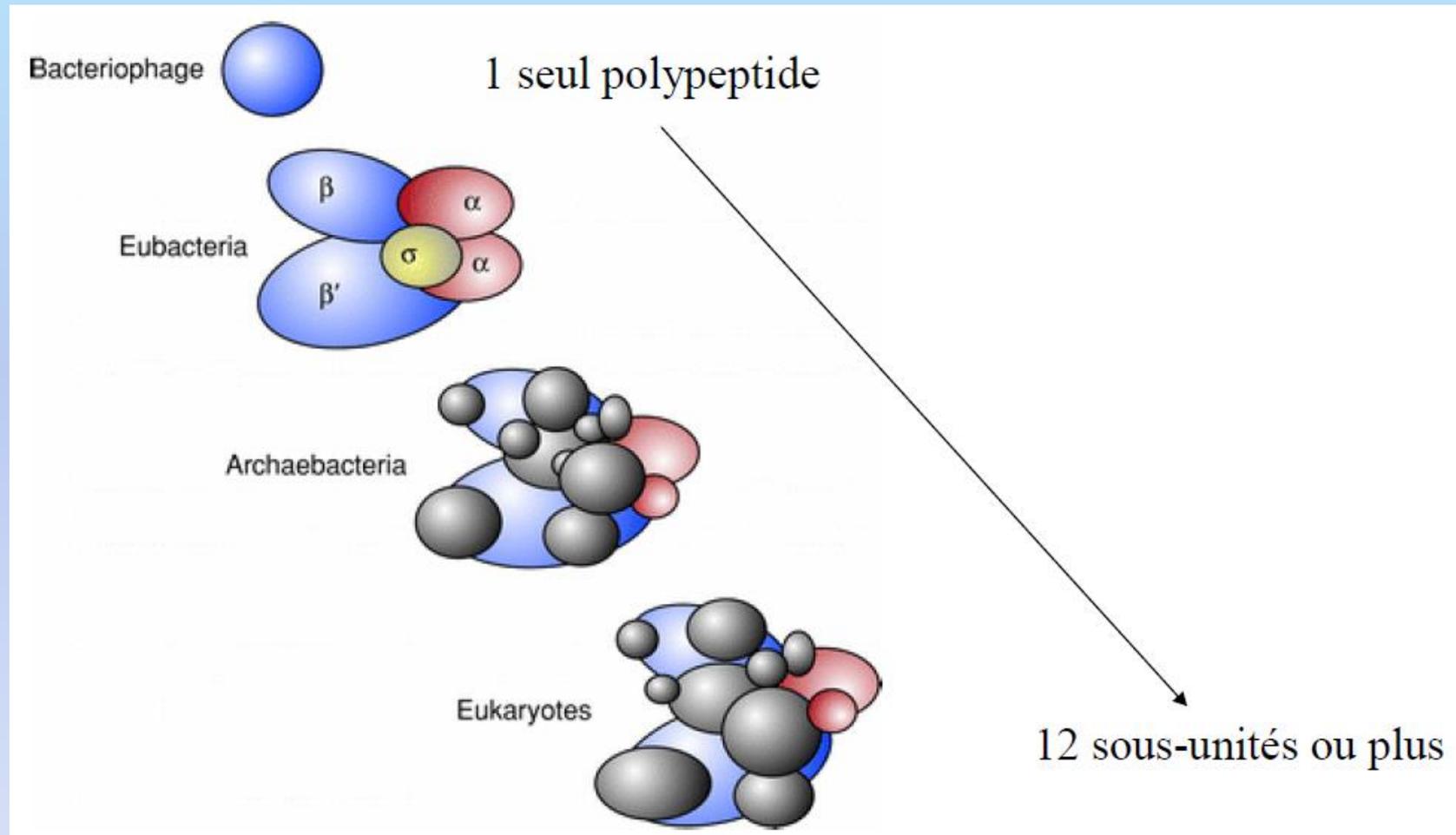
Structure en « pince de crabe »

1 seule ARN polymérase chez les procaryotes

3 ARN polymérases chez les eucaryotes : I, II et III



Les ARN Polymérase: complexité



Le Cycle de Transcription

Transcription = réaction très conservée entre procaryotes et eucaryotes

Fixation de l'ARN polymérase sur les éléments du promoteur

→ Formation d'un complexe stable : **complexe fermé**

Enroulement de l'ADN correspondant au promoteur autour de l'ARN polymérase

→ **Complexe intermédiaire**

Séparation des brins d'ADN : formation de la « bulle » de transcription

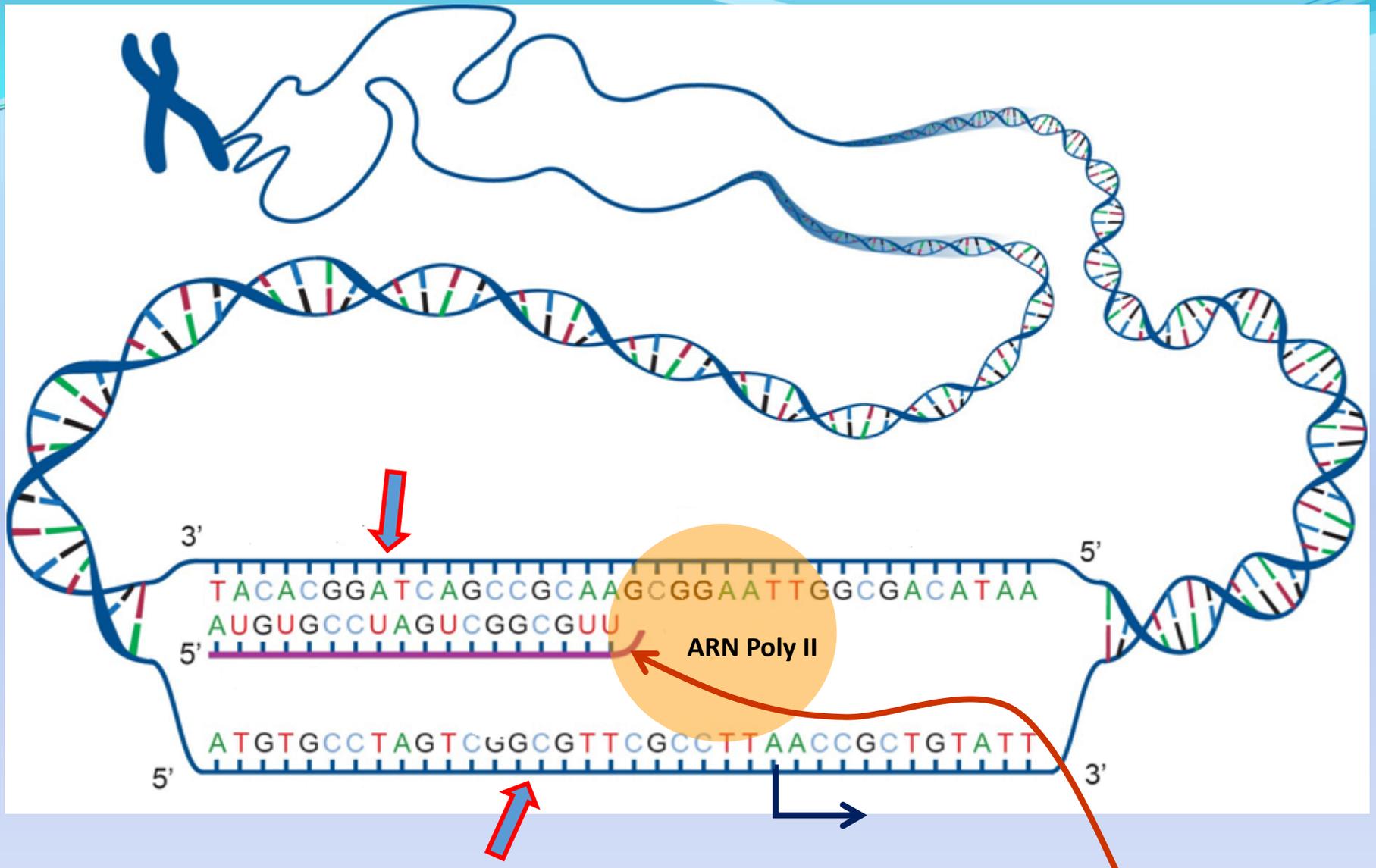
→ **Complexe ouvert**

Initiation de la synthèse de l'ARN en présence de NTP

→ Formation d'un hybride ARN-ADN

Libération du promoteur et **élongation**: progression de l'ARN polymérase le long de l'ADN

Terminaison et dissociation du complexe ADN-ARN-ARN polymérase



Brin d'ADN codant

Brin d'ARN néo-synthétisée:

- complémentaire au brin d'ADN matrice
- identique au brin d'ADN codant

Initiation de la transcription : les éléments sur l'ADN

+1 = nucléotide où commence la transcription
——→ site de démarrage de la transcription

Promoteur :

signal pour initier la transcription

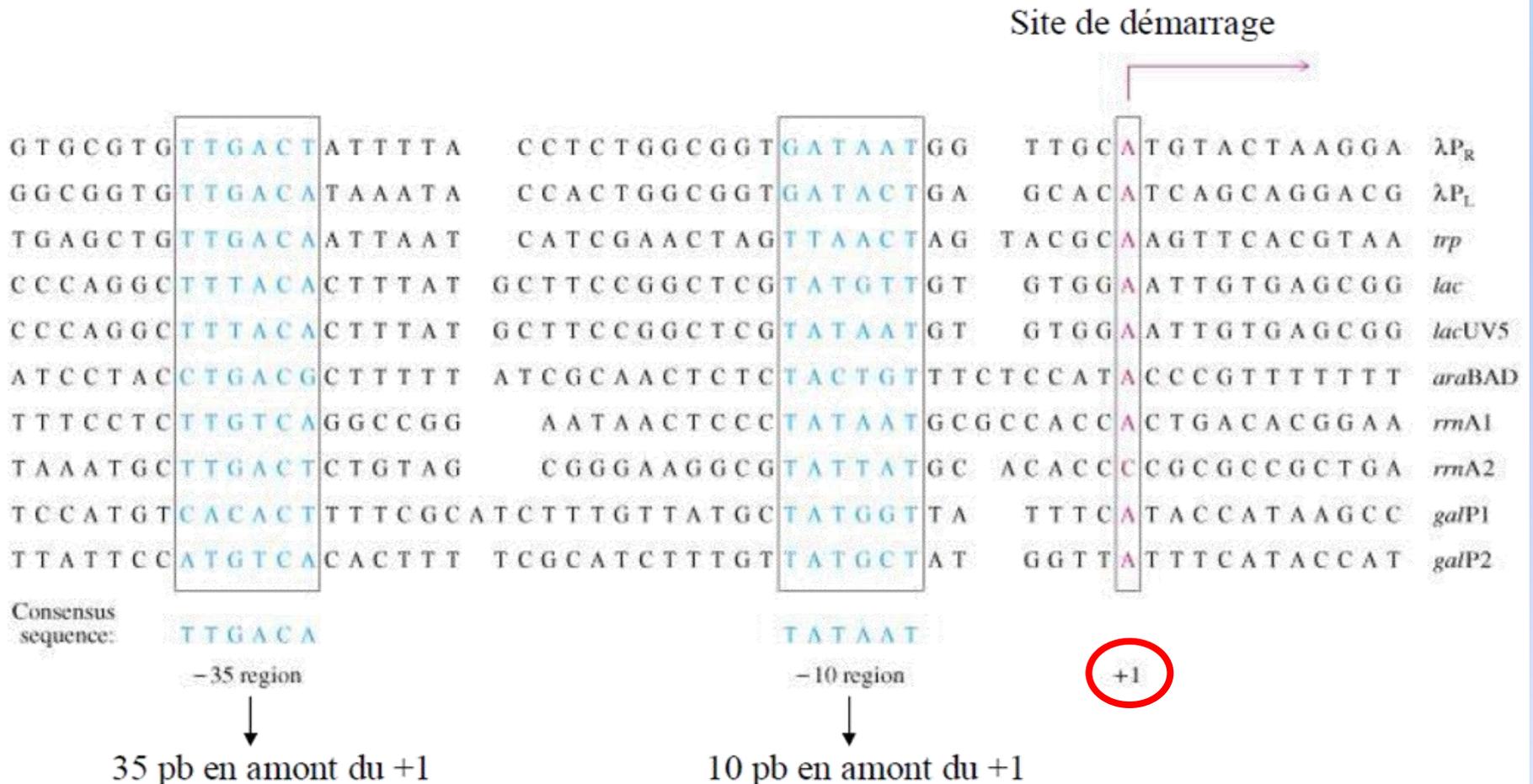
localisé en amont (avant) du site +1

n'est pas transcrit

Les séquences consensus du promoteur chez les procaryotes

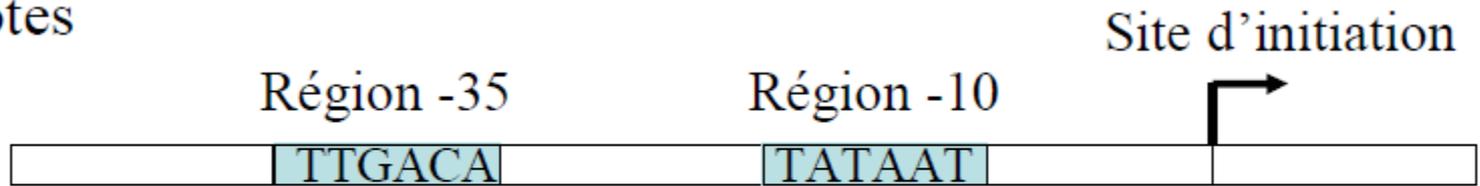
Comparaison de plusieurs promoteurs

→ 2 régions conservées : région -35 et région -10

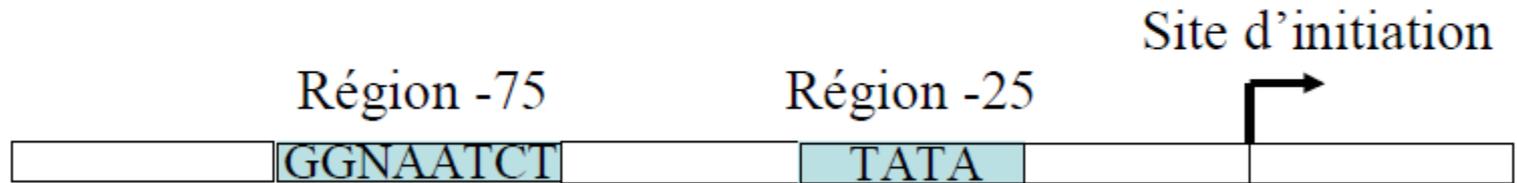


Promoteurs procaryotes versus eucaryotes

Procaryotes



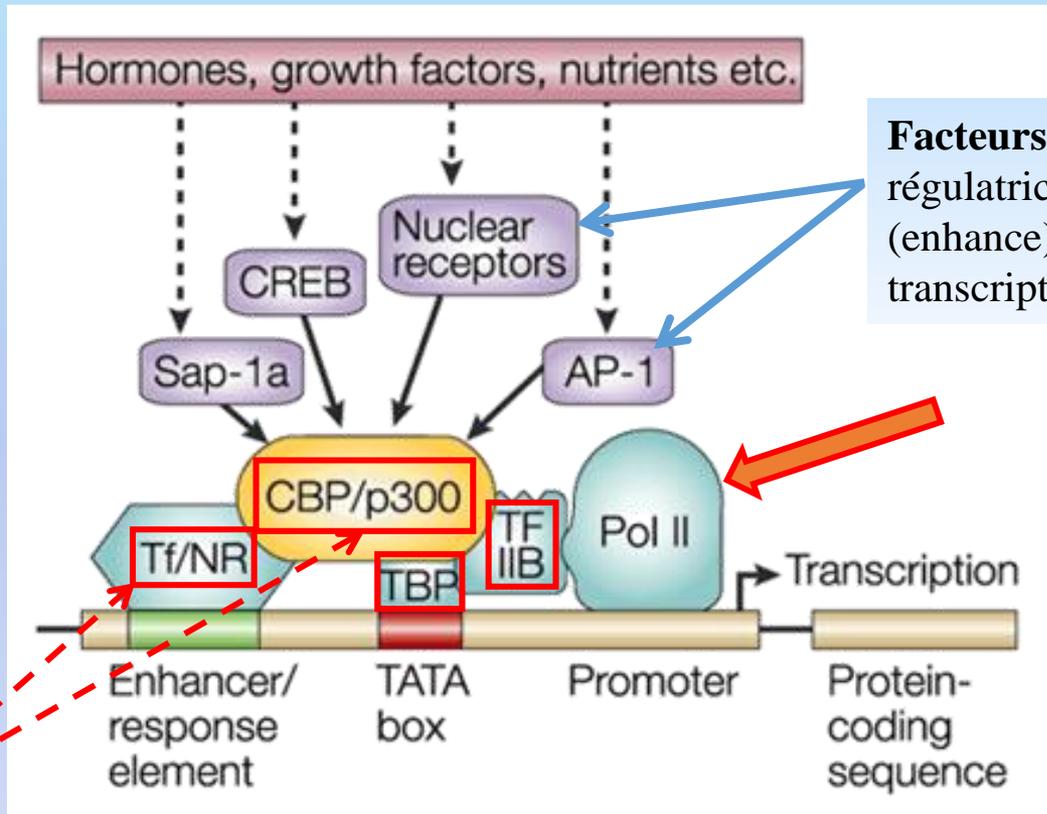
Eucaryotes



(parfois présente)

TATA box

Etapes Préliminaires de la Transcription

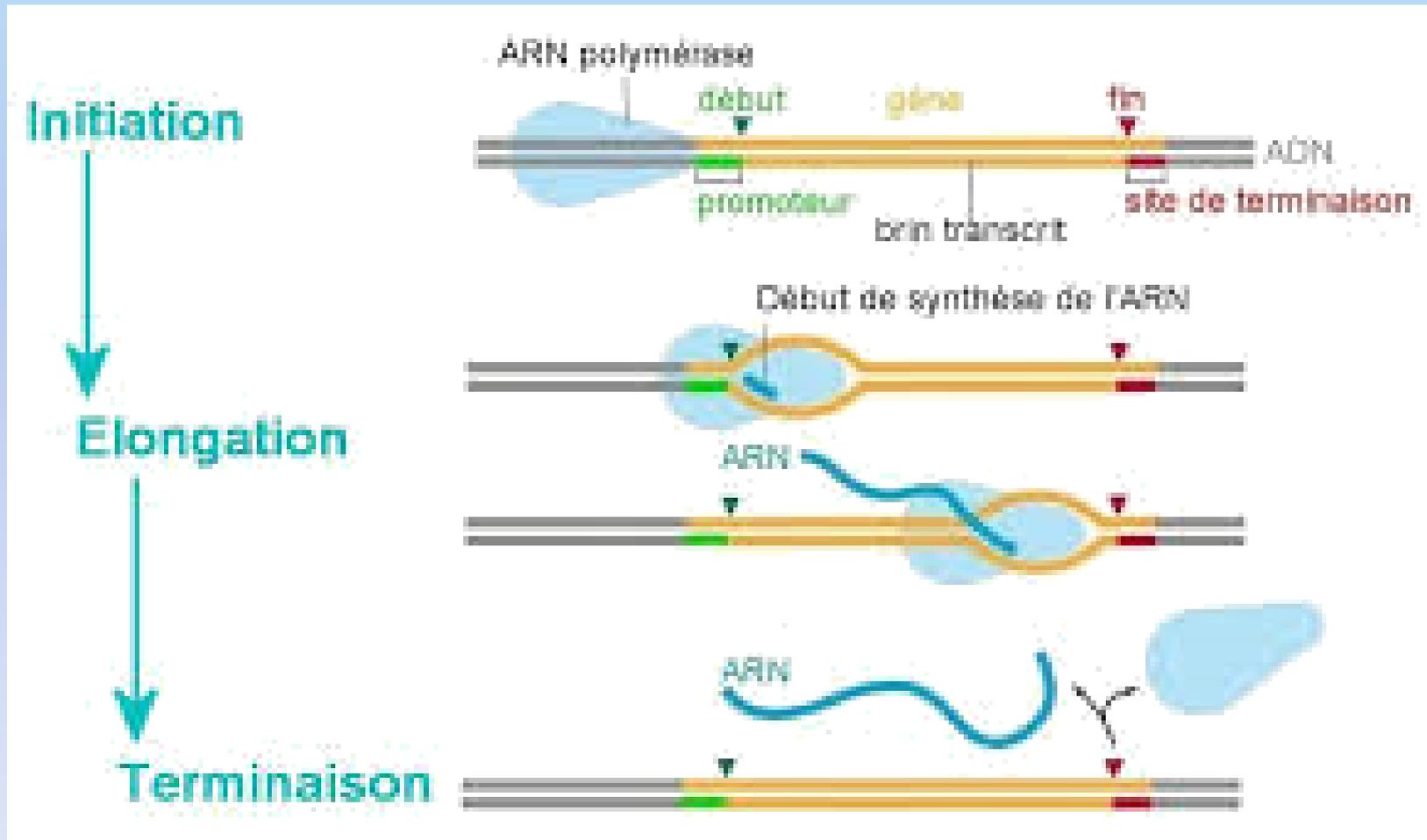


Facteurs de transcription: protéines régulatrices qui peuvent activer (enhance) et/ou réprimer (silence) la transcription.

Facteurs associés à la transcription

Mécanismes généraux de la Transcription par l'ARN polymérase II

La transcription des gènes se déroule selon trois phases principales: phases d'initiation, d'élongation et de terminaison.

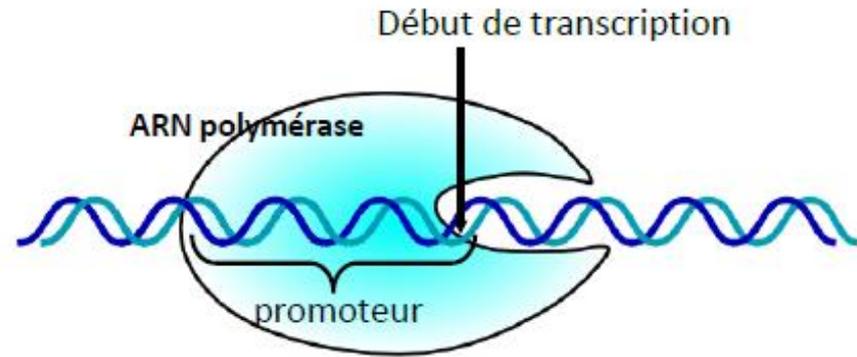


Phase d'initiation:

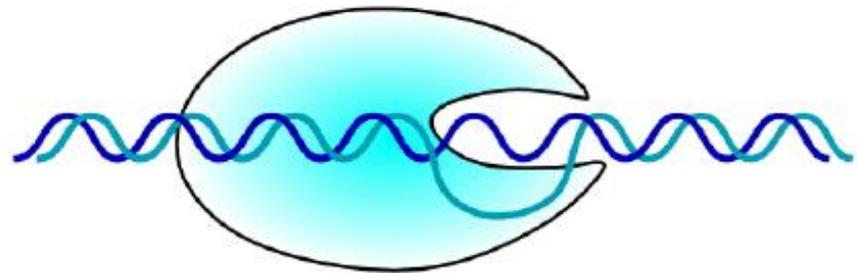
- L'initiation de la transcription par l'ARN polymérase II est assurée par des facteurs transcriptionnels (protéines).
- Ces facteurs s'assemblent sur une région située en amont de l'ADN à transcrire qui porte le nom de promoteur (ex. TATA box chez les eucaryotes).
- Cet assemblage entraîne la formation d'un complexe d'activation qui permet la liaison de l'ARN polymérase II.
- L'ensemble forme le complexe d'initiation de la transcription.
- La transcription débute à 20-30 paires de base (pb) en aval de la boîte TATA, au site d'initiation de la transcription (ATG), qui par convention est appelé +1.
- Le complexe d'initiation de la transcription va catalyser la formation de la première liaison phosphodiester entre les deux premiers nucléotides de l'ARN messager (ARNm).
- L'ARN polymérase II se déplace ensuite le long de l'ADN en ouvrant une partie de la molécule d'ADN par déroulement de la double hélice sur une courte distance en formant une boucle de transcription.

Initiation

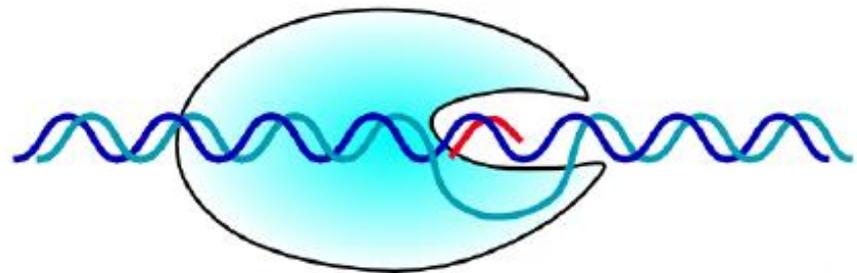
- La polymérase se fixe au promoteur sur l'ADN duplex



- La polymérase dénature le duplex. Formation de la bulle de transcription



- La polymérase catalyse la liaison phosphodiester des deux premiers rNTP



Phase d'élongation:

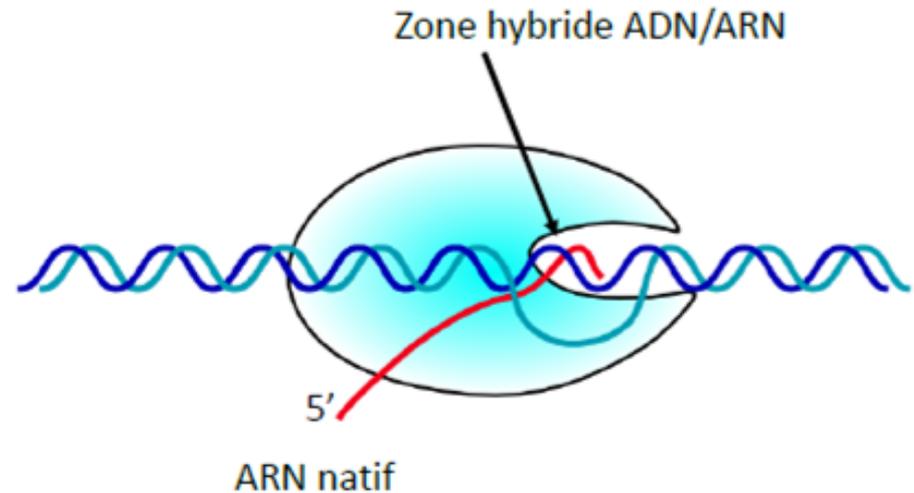
- La boucle de transcription se déplace dans le sens 3'-5' du brin matriciel et la chaîne d'ARNm s'allonge dans le sens 5'-3'.
- L'élongation de la molécule d'ARNm se fait par l'appariement des bases complémentaires et par l'addition successive de nucléotides 5' triphosphates.
- Des facteurs supplémentaires appelés facteurs d'élongation sont nécessaires au déplacement de l'ARN polymérase II.
- L'ADN lu se rembobine immédiatement après la lecture.

Phase de terminaison:

- La terminaison de la transcription est encore mal connue.
- L'ARN polymérase II continue à transcrire jusqu'à plus de 1000pb (non traduit), jusqu'à ce qu'elle rencontre des sites localisés dans des régions dont la nature est peu connue.

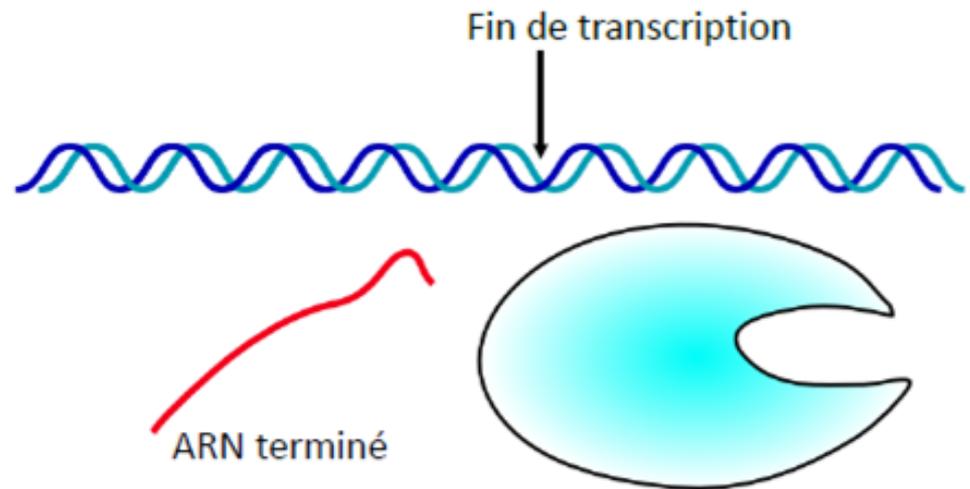
Elongation

- La polymérase avance 3'>5' sur le brin matrice en dénaturant le duplex et en ajoutant des rNTP à l'ARN



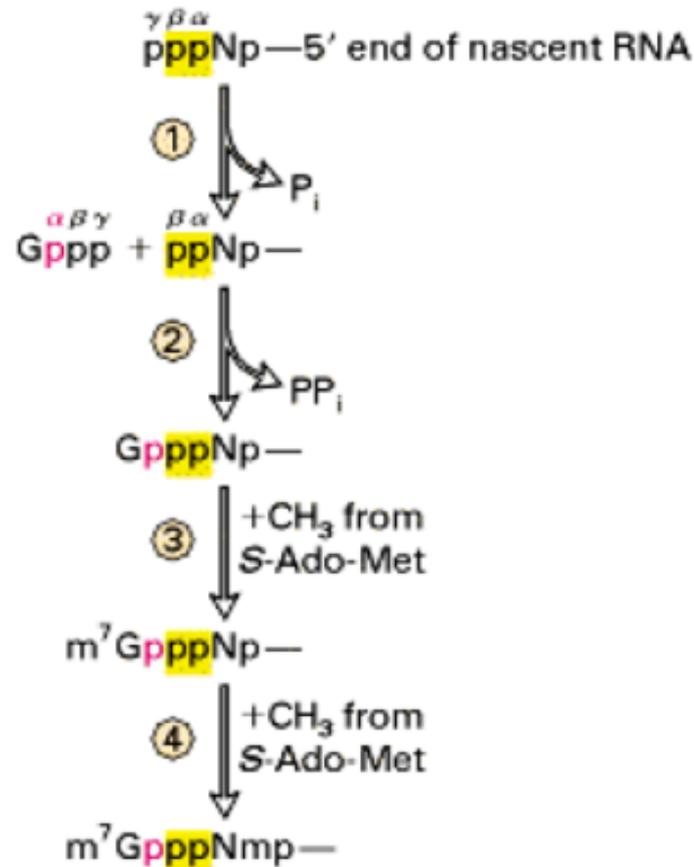
Terminaison

- Au site d'arrêt de transcription, la polymérase relargue l'ARN terminé et se dissocie de l'ADN



Maturation de l'ARNm (spécificité des eucaryotes):

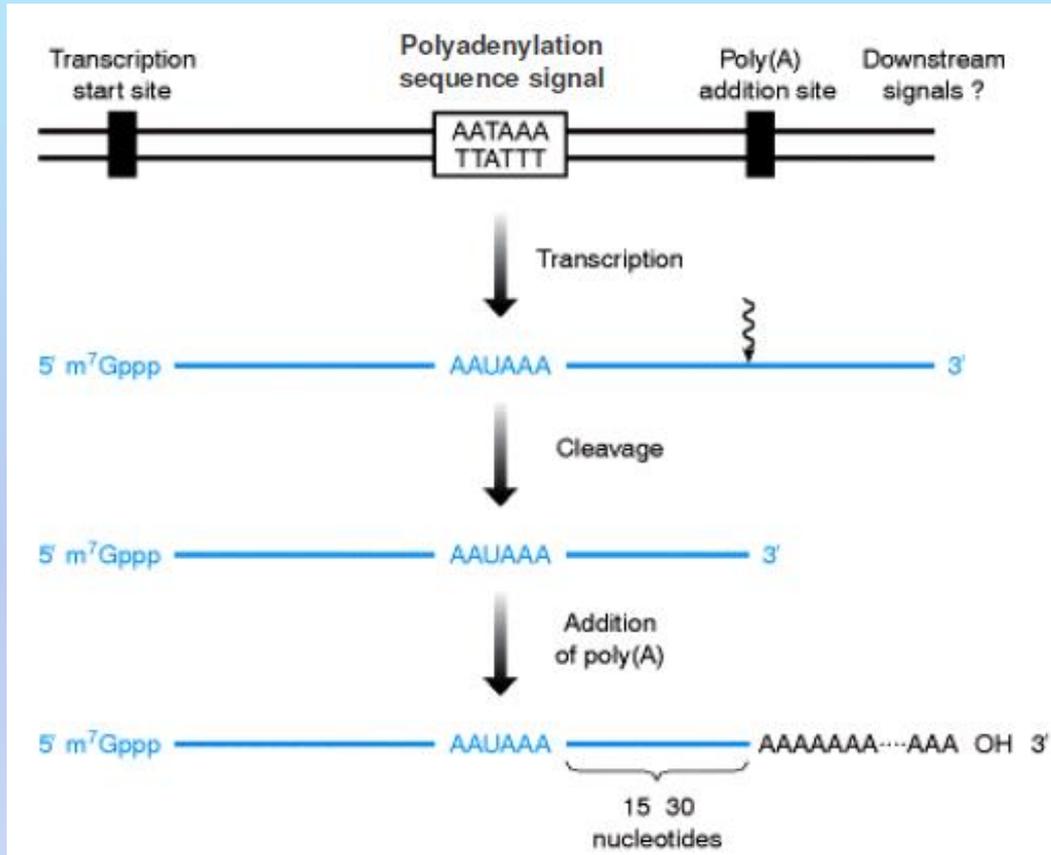
1) L'ajout de la coiffe en 5' (Capping)



Ajout de la coiffe du côté 5' des ARN naissants. Cette coiffe consiste en une 7-méthylguanylate (m^7G), c'est-à-dire une guanidine modifiée. Les deux premières réactions sont catalysées par une enzyme de capping qui s'associe à l'ARN polymérase peu après l'initiation de la transcription. Deux méthyltransférases différentes catalysent les réactions 3 and 4. La S-adénosylméthionine (S-Ado-Met) est la source du groupement méthyle (CH_3) pour les deux dernières étapes de méthylation. Le capping est nécessaire à l'exportation des ARNm hors du noyau.

!!! Cette coiffe empêche la dégradation de l'ARN par une exonucléase 5'3' (ce qui augmente sa demi-vie).

2) La polyadénylation en 3' des ARNm



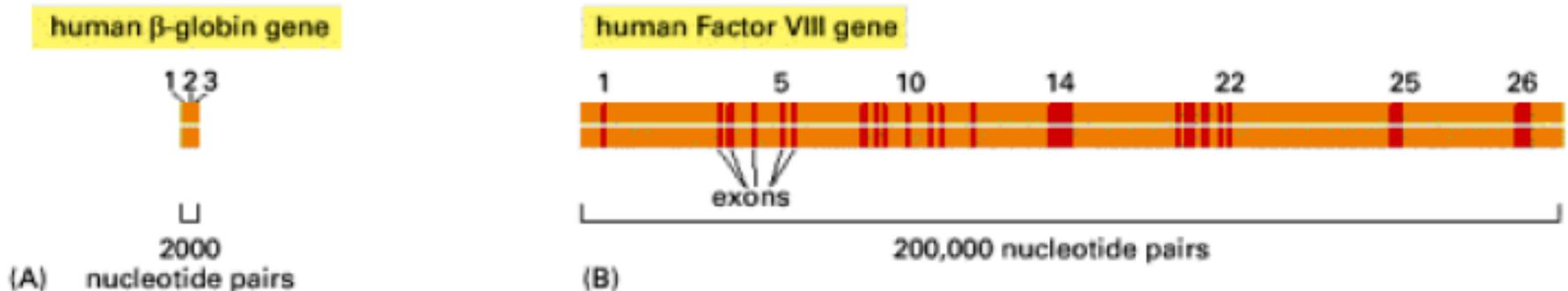
L'extrémité 3' de la plupart des ARNm eucaryotes est polyadénylée.

Une fois la transcription achevée, l'ARNm sera clivé 15-30 nucléotides en aval de la séquence signal, puis des AMP seront ajoutés par une poly(A) polymérase pour former une queue poly(A).

La polyadénylation facilite l'exportation des ARNm hors du noyau, les protège des dégradations une fois dans le cytosol et facilite la traduction.

3) L'épissage des introns (le splicing)

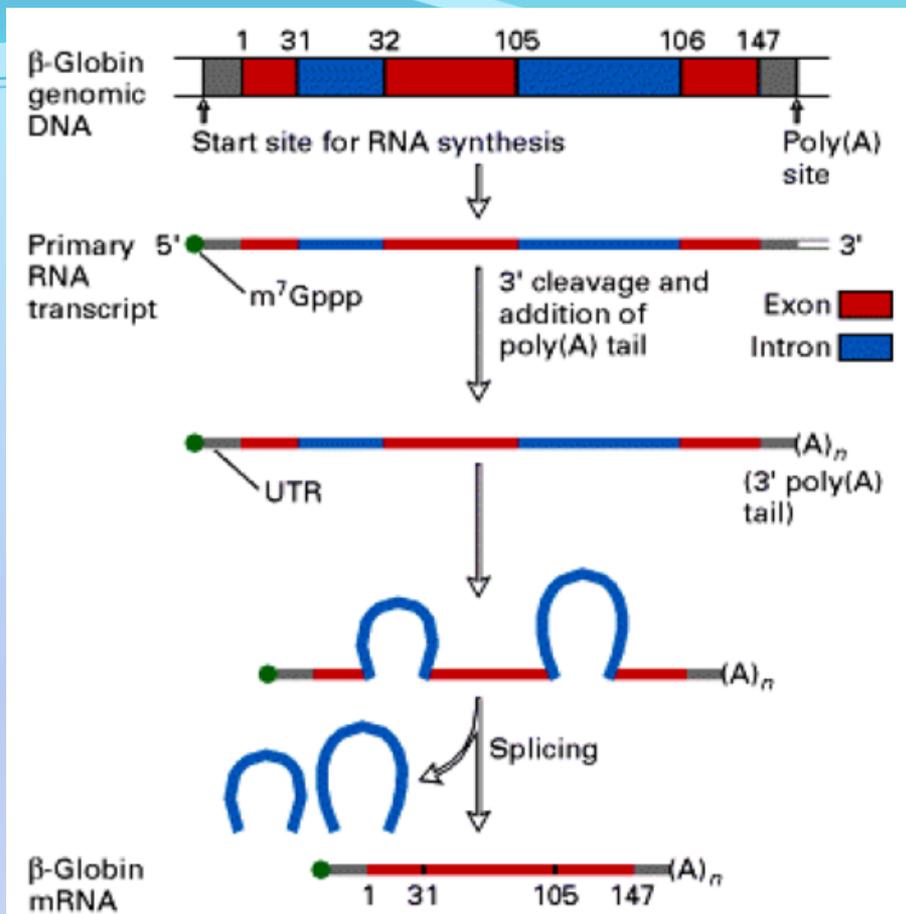
***La plupart des gènes eucaryotes sont morcelés:
La séquence codante est interrompue par des séquences non
codantes, appelées introns. Par extension, les séquences
codantes ont été appelées exons.***



Structure de deux gènes humains montrant leur organisation en introns et exons.

(A) Le gène codant la beta-globine, de petite taille, est composé de 3 exons et 2 introns.

(B) Le gène codant le facteur VIII, beaucoup plus grand, est composé de 26 exons et 28 introns.



Les gènes sont d'abord transcrits sous forme d'un ARN pré-messager, lequel sera ensuite cappé, polyadénylé, puis les séquences introniques seront éliminées par un mécanisme appelé épissage pour générer l'ARNm mature.

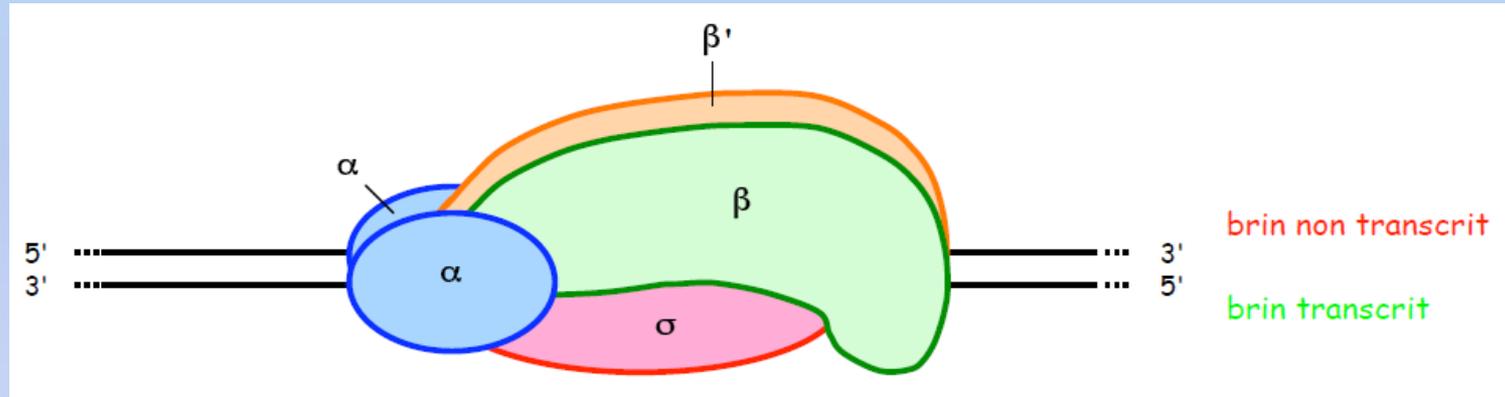
Exemple du gène β-globine. Ce gène comprend 3 exons (rouge) et 2 introns (bleu). Les introns interrompent la séquence codante au niveau des codons correspondant aux acides aminés 31 et 32, et 105 et 106. La transcription commence un peu en amont de l'exon 5' et s'étend en aval de l'exon 3', produisant un ARN pré-messager contenant les séquences introniques et exoniques ainsi que deux régions non codantes supplémentaires (gris) aux deux extrémités du transcrit primaire (régions UTR). Les régions introniques seront éliminées secondairement par le mécanisme d'épissage. Les régions UTR ne sont pas concernées par l'épissage.

NB: Les **régions UTR** (*untranslated regions* en anglais), sont les parties de l'ARNm issues de la transcription de l'ADN qui ne sont pas traduites en protéines.

Transcription chez les procaryotes.

L'ARN polymérase ADN dépendante de E.Coli comporte 4 sous unités de 3 sous type différents **α , α' , β** = core enzyme.

Une 5^{ème} sous unité ou facteur est nécessaire à l'initiation de la transcription = **σ** (*sigma*), lorsqu'elle est associée avec le core enzyme on obtient l'**Holoenzyme**.



Ces 5 sous-unités s'organisent pour former 3 domaines fonctionnels de l'enzyme :

- 2 domaines d'interactions avec l'ADN
- 1 site catalytique pour la formation des liaisons phosphodiester.

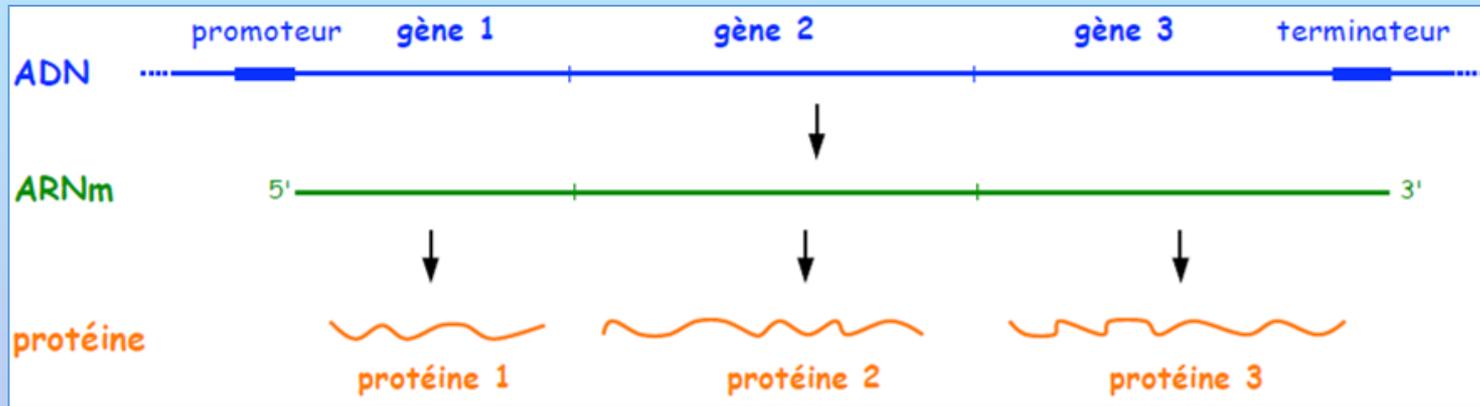
Transcription chez les procaryotes (suite)

La transcription se déroule en 5 étapes :

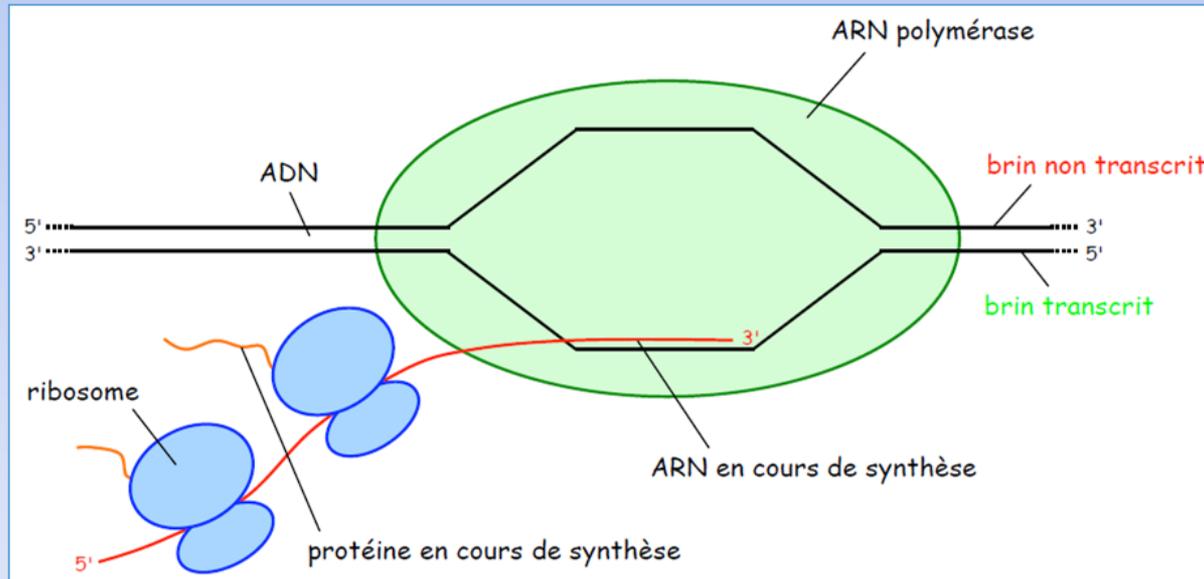
1. Interaction de l'holoenzyme avec l'ADN au niveau du promoteur. Formation d'une bulle de transcription et déroulement de l'ADN sur environ 17pb.
2. Initiation de la polymérisation de la chaîne d'ARN.
3. Libération du facteur σ .
4. Elongation de la chaîne ARN.
5. Terminaison de la transcription (**deux mécanismes possibles**)

Particularités de la Transcription Procaryote

Transcription polycistronique



Couplage avec la traduction



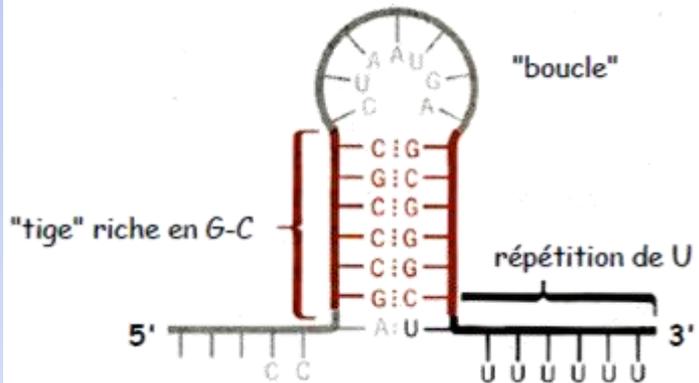
La Terminaison de la Transcription chez les procaryotes (Rho-indépendante)

- Terminaison dépendante d'un facteur intrinsèque :

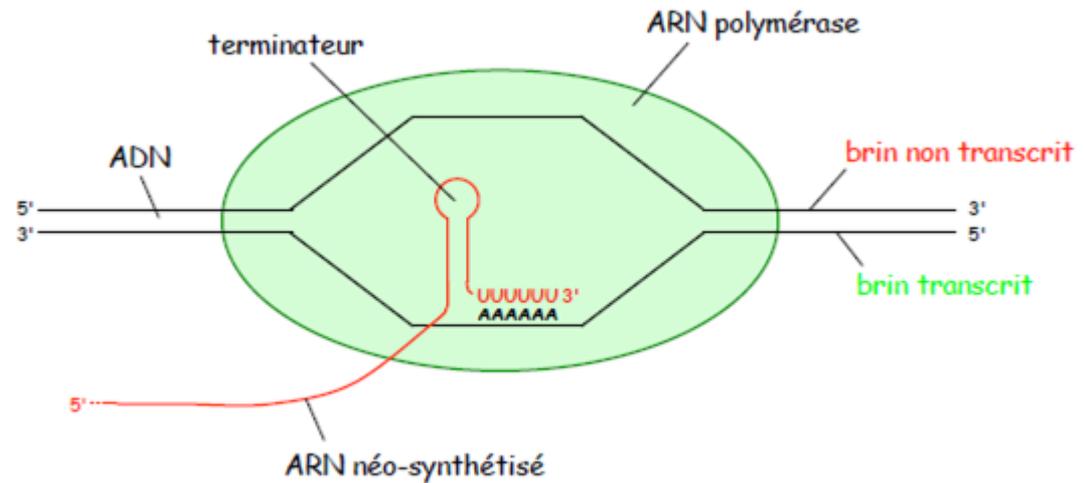
Formation dans le transcrit d'une tige boucle riche en G et C, suivie d'une série de U (= terminateur)

Pause de l'ARN polymérase puis décrochage → arrêt de la transcription

Structure du terminateur, séquence d'ARN



Mécanisme de terminaison de la transcription



Le terminateur déstabilise les liaisons faibles entre les sous-unités de l'ARN polymérase et entraîne leur séparation et l'arrêt de la transcription.

La Terminaison de la Transcription chez les procaryotes (Rho-dépendante)

- Terminaison dépendante d'un facteur extrinsèque :

Fixation de la protéine Rho sur une séquence spécifique du transcrit

Progression de Rho le long du transcrit

Contact entre Rho et ARN polymérase → arrêt de la transcription

Protéine Rho : 6 sous unités identiques formant un anneau

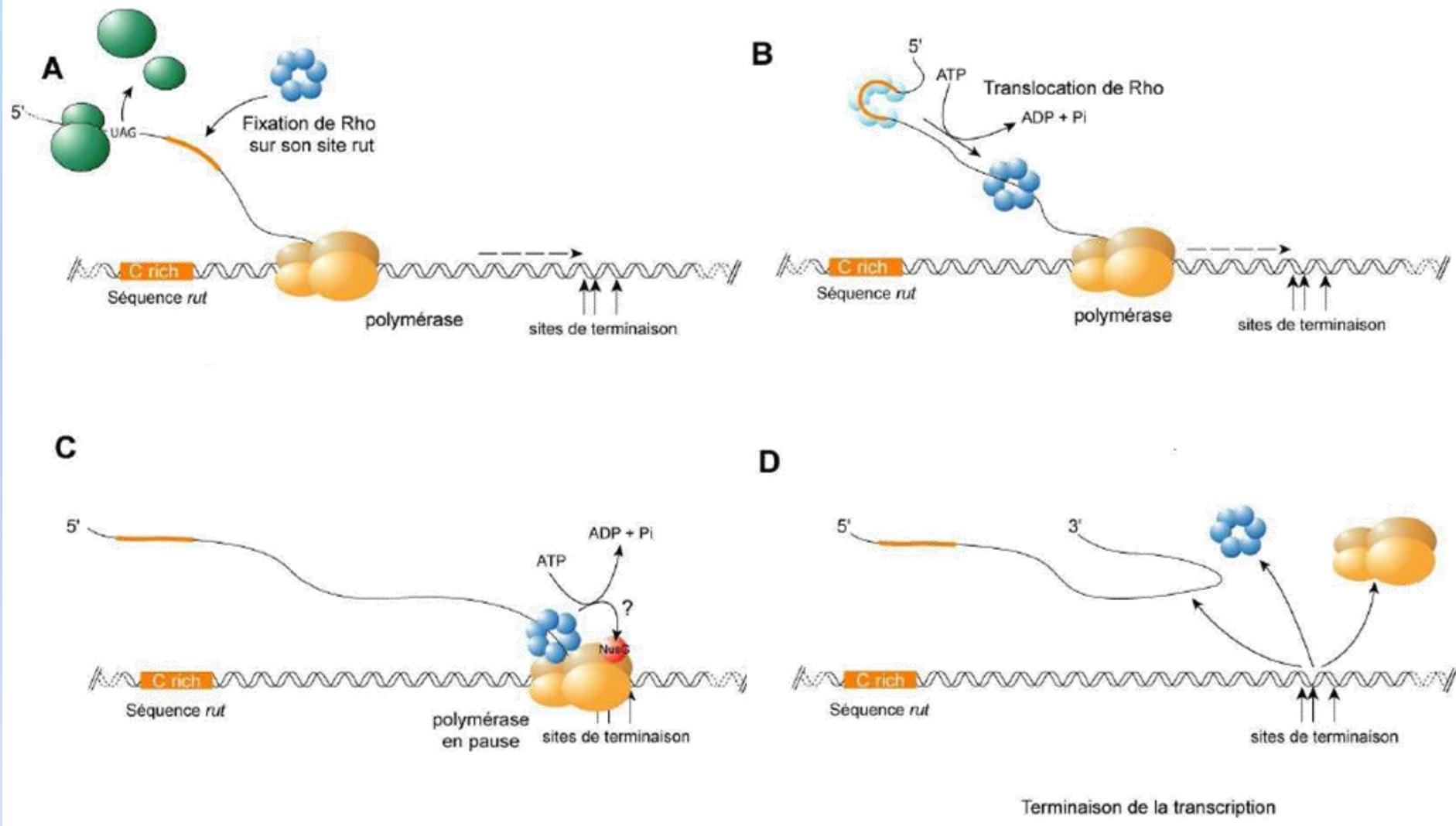
Fixation de Rho sur un site appelé *rut* (rho ut ilization site)

→ site *rut* : région de 40 à 60 nucléotides sur le transcrit, riche en C, simple brin

Progression de Rho le long du transcrit (nécessite hydrolyse ATP)

Pas de point précis de terminaison : un site où l'ARN polymérase pause

La Terminaison de la Transcription chez les procaryotes (Rho-dépendante)





Merci pour votre attention