

CHAPITRE.2

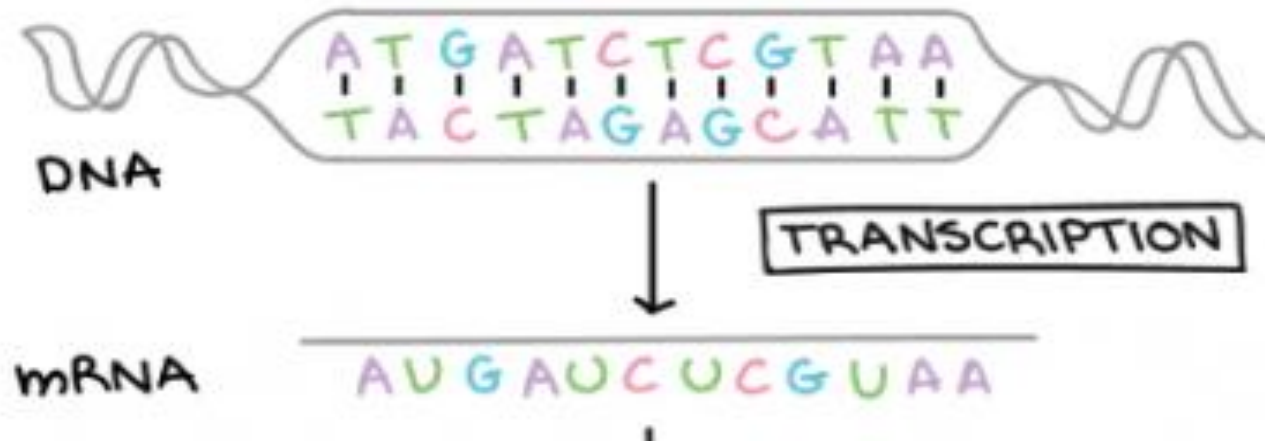
I. Transcription



Transcription

DEFINITION

- La transcription est un mécanisme faisant intervenir un système enzymatique, qui convertit l'information génétique d'un segment d'ADN en un brin d'ARN complémentaire (simple brin).
- Cette molécule est appelée transcrit.



Transcription

Gènes

- Il y a 3 milliards de paires de bases (pb) dans le génome mais toute l'information n'est pas transcrite.
- Les portions qui sont transcrites sont appelées les **gènes**.

Définition:

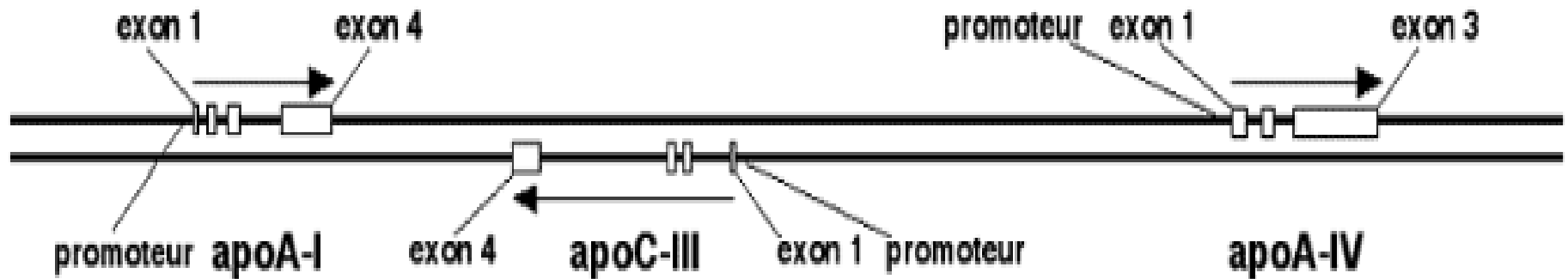
- Le gène est l'unité fonctionnelle de l'information génétique. Il est constitué d'un ensemble de nucléotides qui contient toutes les informations nécessaires pour transcrire un ARNm



Transcription

Brin sens & Brin antisens

- Tout l'ADN n'est pas transcrit seuls les gènes = exons.
- En plus même si l'ADN est double brin seul un brin est transcrit ou copié en ARNm.
- Les gènes sont situés sur les deux brins de l'ADN, de gauche à droite ou de droite à gauche, indifféremment.



Transcription

- Le ARNm est complémentaire et antiparallèle au brin d'ADN transcrit (nommé: Brin antisens)
- Le ARNm est identique à l'autre brin non transcrit (nommé: Brin sens).

5'...AGCTTAACGCGTA... 3'
3'...TCGAATTGCGCAT... 5'



5'...AGCUUAACGCGUA... 3'

brin d'ADN sens=non transcrit
antisens=transcrit.

ARNm



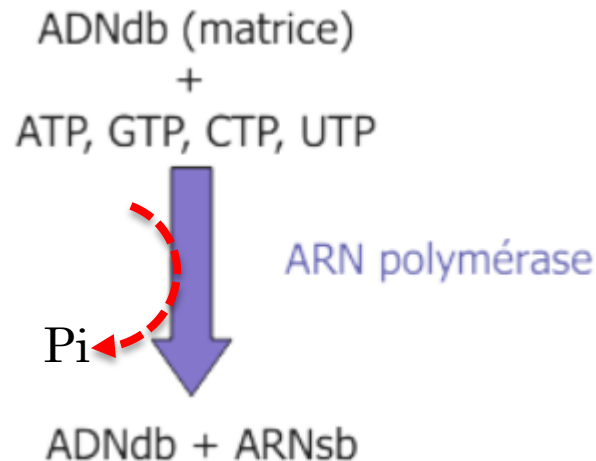
Transcription

Les Elements Necessaires

○ Les Ribonucleotides

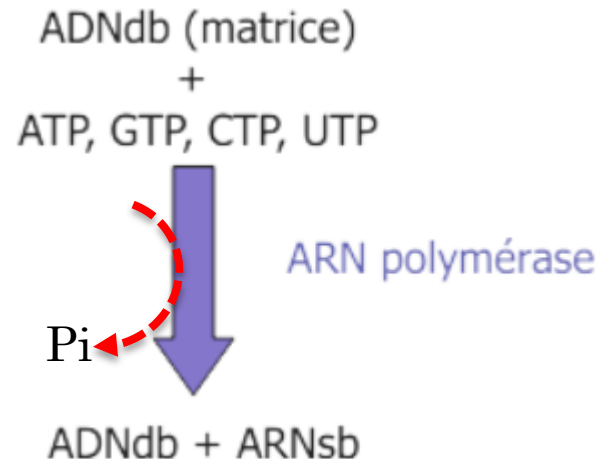
- Pour la synthèse d'ARN, les ribonucléotides rentrent sous forme triphosphate (ATP, CTP, GTP, UTP),

ce qui amène l'énergie nécessaire à la polymérisation par libération d'un pyrophosphate.



Transcription

- **L'ARN polymerase ADN-dependante**
 - L'ADN double brin sert de matrice à l'ARN polymérase qui synthétise un ARN simple brin dans le sens $5' \rightarrow 3'$ grâce à l'énergie apportée par le relargage du phosphate.



[!] L'ARN polymérase n'a pas de fonction d'édition!!

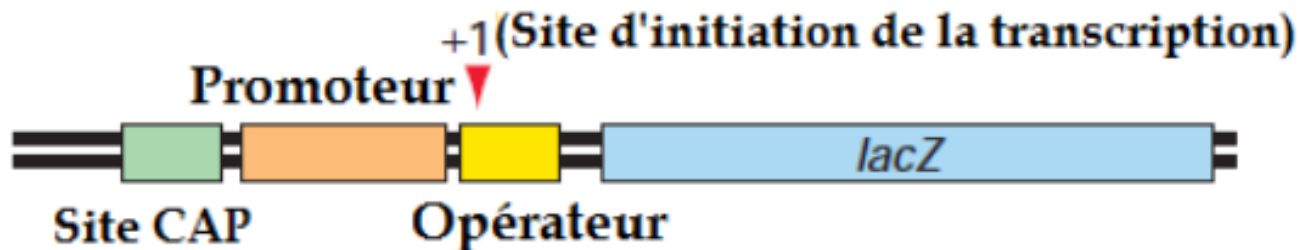
Transcription

- **Rôle ARN polymérase**

L'ARN polymérase assume de multiples fonctions dans le processus de la transcription:

- Elle cherche les promoteurs

Promoteur: Site sur l'ADN d'une centaine de bases auquel l'ARN polymérase (ainsi que les facteurs d'initiation requis) se fixe pour commencer la transcription.



Transcription

○ Rôle ARN polymérase (suite)

- Elle déroule le fragment à transcrire pour produire une matrice simple brin
- Elle sélectionne les NTPs corrects et catalyse la formation des liaisons phosphodiester.
- Elle détecte les signaux de terminaison.
- Elle interagit avec les protéines de régulation de l'expression génétique (activateurs, répresseur).



Transcription

- Les ARN polymérases réalisent les mêmes réactions dans toutes les cellules procaryotes et eucaryotes.

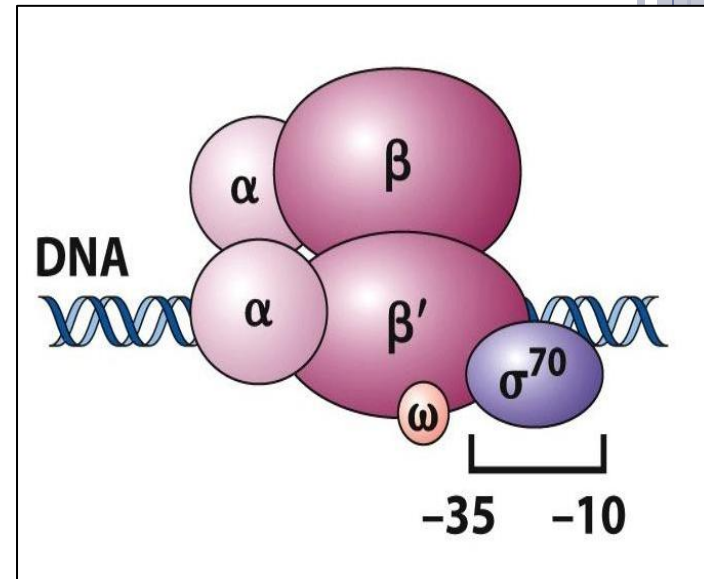
Chez les procaryotes

- Il n'existe qu'une seule ARN polymérase, constituée de plusieurs sous unités: α_2 , β , β' et σ (\rightarrow c'est un complexe multimérique).
- Cette enzyme a deux dénominations: enzyme cœur ou holoenzyme, selon sa constitution



Transcription

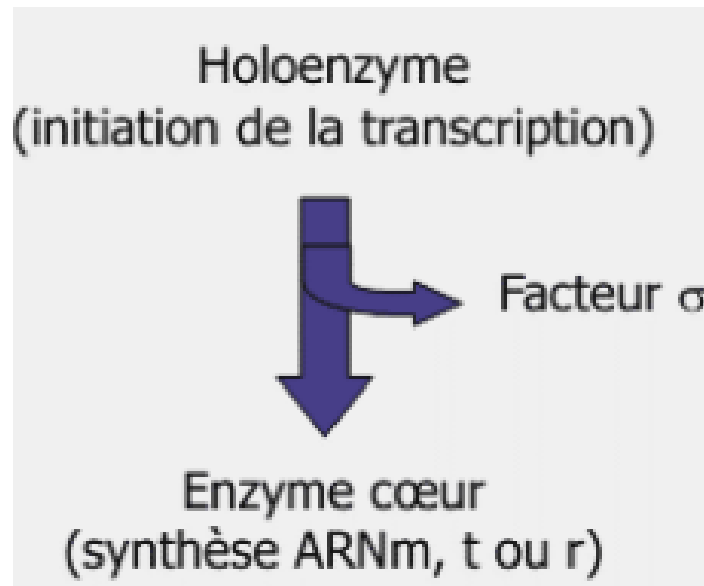
- Au niveau de ARN polymérase II existe :
- **2 α** : Assemblage de l'enzyme, assure la liaison au promoteur.
- **1 β** : Assure la liaison des nucléotides.
- **1 β'** : Assure la liaison à la matrice d'ADN.
- **1 σ** : Assure la reconnaissance du promoteur, initiation de la transcription.



Transcription

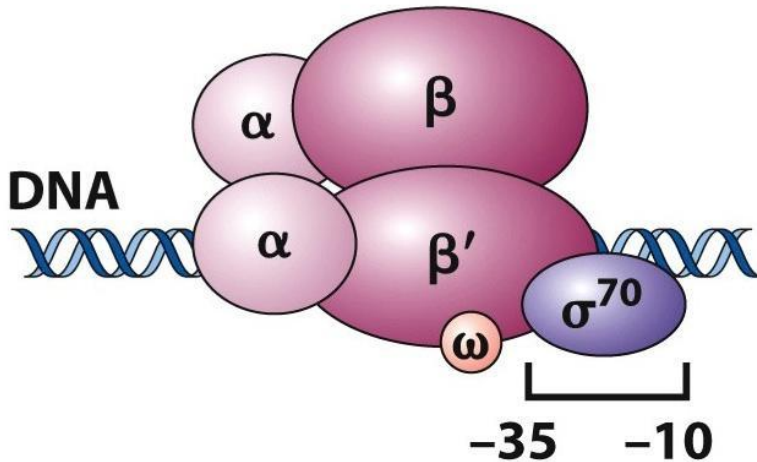
Chez les procaryotes (suite)

- Le complexe **holoenzyme** correspond à l'association des sous unité, α_2 , β , β' et σ . Il initie la transcription.
- Puis le facteur σ est relargué pour former l'**enzyme cœur** (constituée des sous unités α_2 , β et β'), qui synthétise tous les ARN



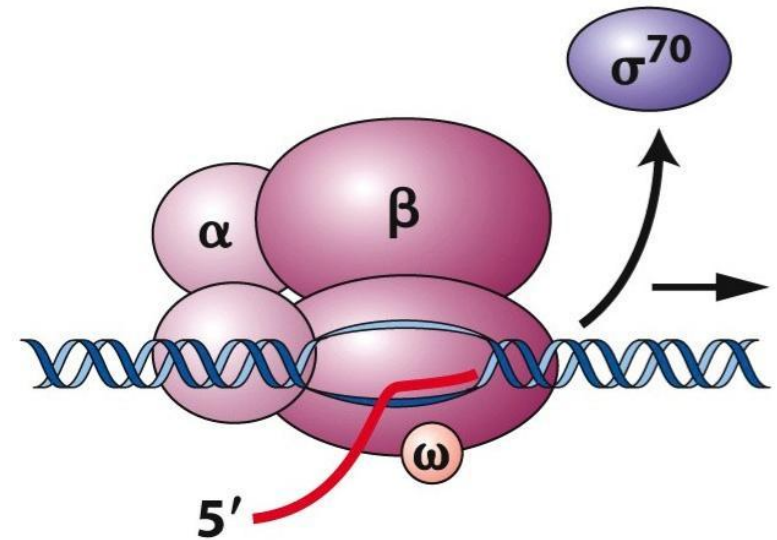
Transcription

(a) RNA polymerase binding to promoter



Complexe Holoenzyme

(b) Initiation



Enzyme Cœur

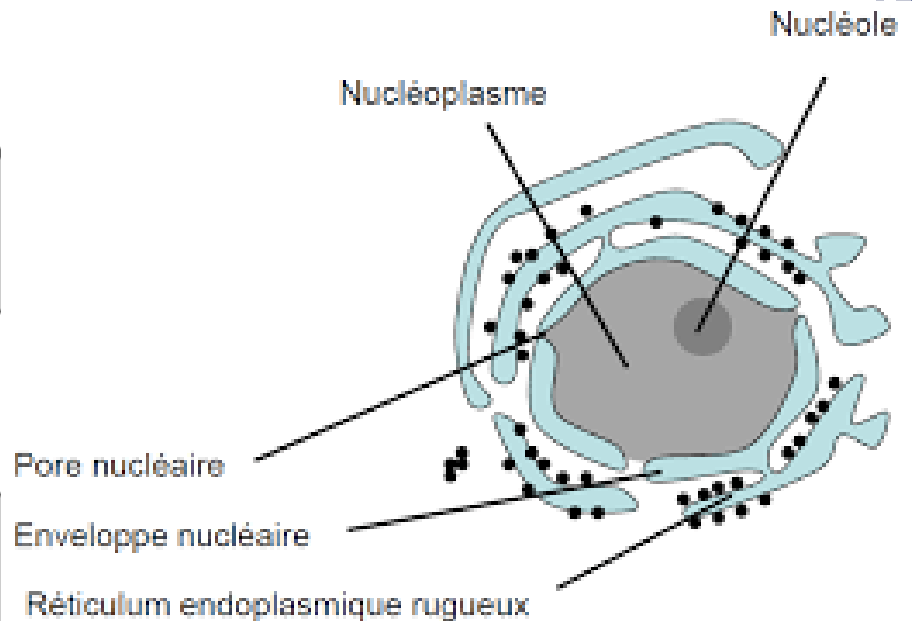


Transcription

ARN polymérase Chez les eucaryotes

- Il existe 3 ARN polymérase différentes, localisées dans le noyau cellulaire. Chacun de ces ARN est spécialisé dans la synthèse de certains transcrits.

3 Enzymes	Localisation nucléaire
ARN Polymérase I	Nucléole
ARN Polymérase II	Nucléoplasme
ARN Polymérase III	Nucléoplasme



Transcription

- **ARN-polymérase I** synthétise les ARN ribosomiques (18 S, 5.8 S, 28 S).
- **ARN-polymérase II** synthétise les RNA messagers qui contiennent l'information destinée à la traduction et certains des ARNsn.
- **ARN-polymérase III** synthétise les petits ARN (ARNt, ARNr 5 S, ARNsn).
- **RNA-polymérase IV** spécialisé dans la transcription de l'ADN mitochondrial.

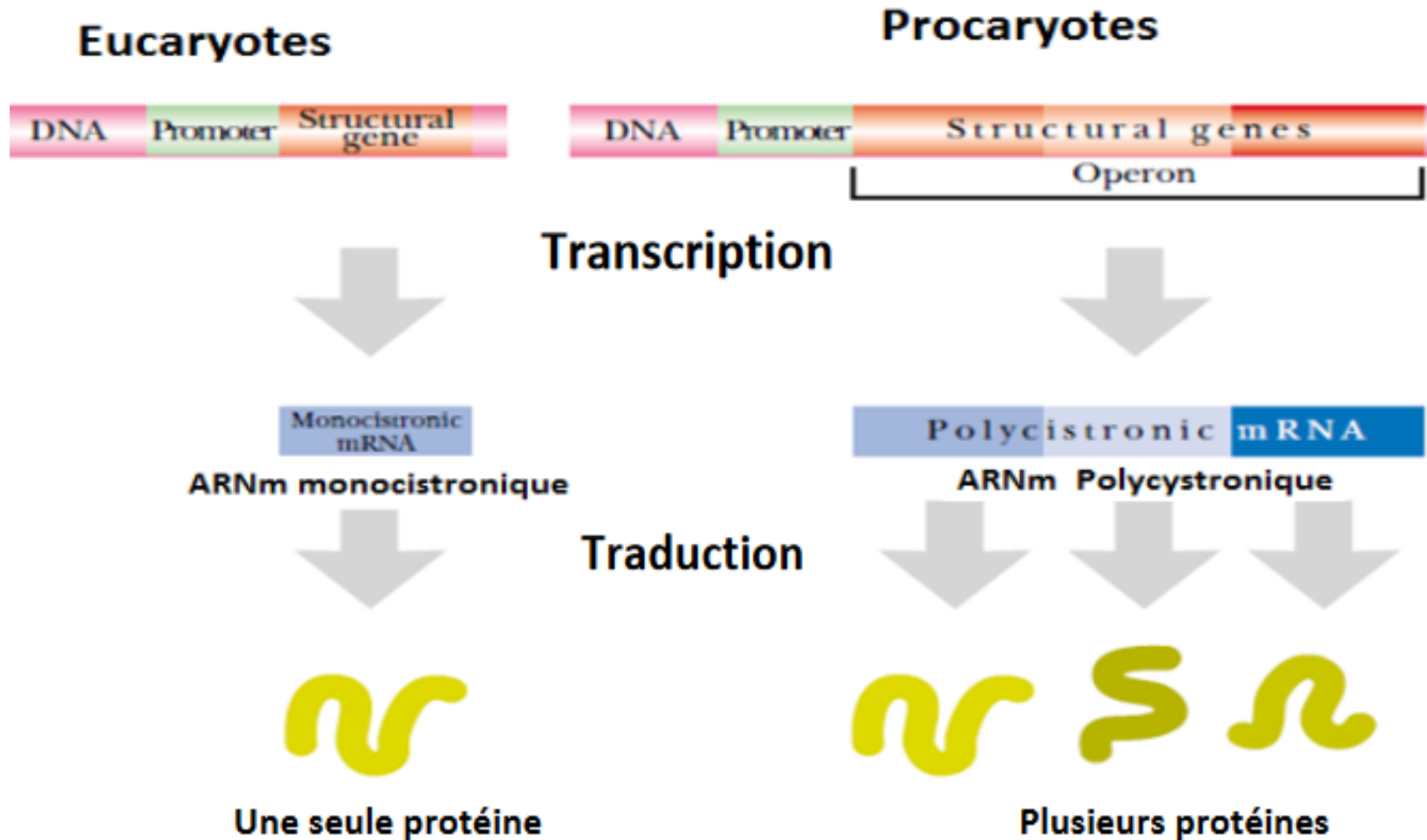


Transcription

- [!] La transcription chez les **procaryotes**
 - ce fait au niveau du **cytoplasme**,
 - elle est **polycistronique**→car plusieurs gènes peuvent être transcrit par la même polymérase.
- [!] Par contre chez les **eucaryotes**
 - elle se fait au niveau du **noyau**,
 - et une polymérase transcrit un seul gène, on dit qu'elle est **monocistronique**



Transcription



: Synthèse monocistronique (eucaryotes) et polycistronique (procaryotes) de l'ARNm (Clark, 2005).

Transcription

- La synthèse de l'ARN:
 - Ne nécessite pas d'amorce
 - Se fait dans le sens 5' → 3'
 - Se fait de manière antiparallèle à l'ADN matrice et complémentaire de l'un des deux brins de l'ADN
 - Incorpore des ribonucléotides
 - Hybride ARN/ADN grâce à des liaisons hydrogènes entre dNT et NT



Transcription chez les procaryotes

- La synthèse de l'ARN, comme presque toutes les réactions biologiques de polymérisation comprend trois étapes:
- l'**initiation**,
- l'**élongation**,
- et la **terminaison**.

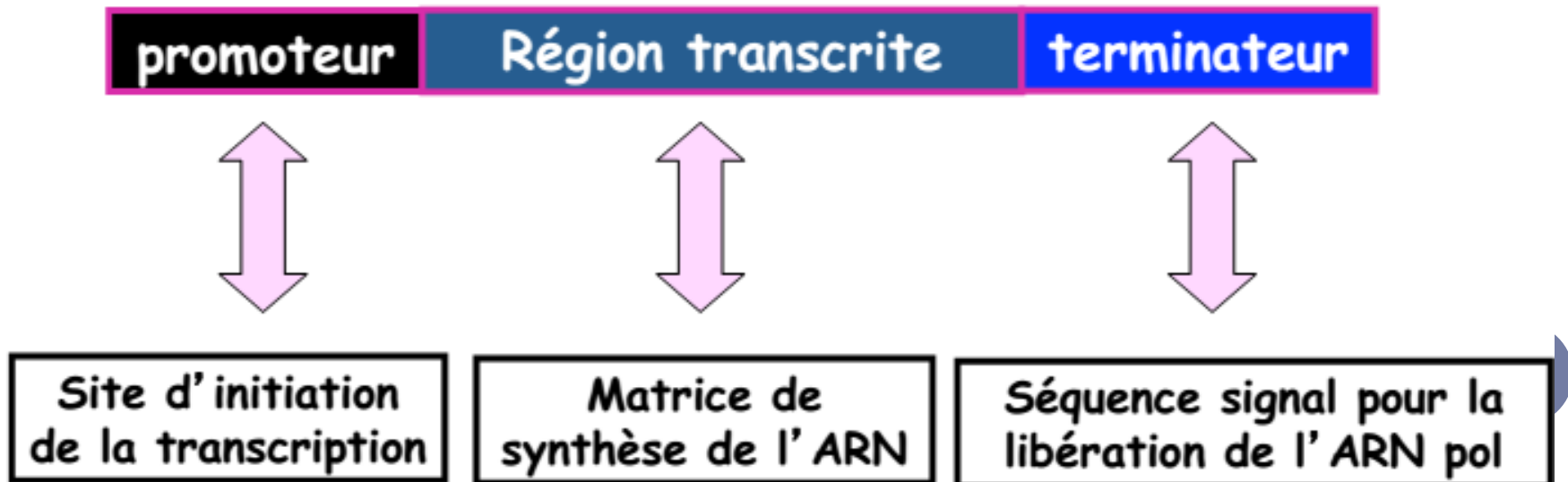


Transcription chez les procaryotes

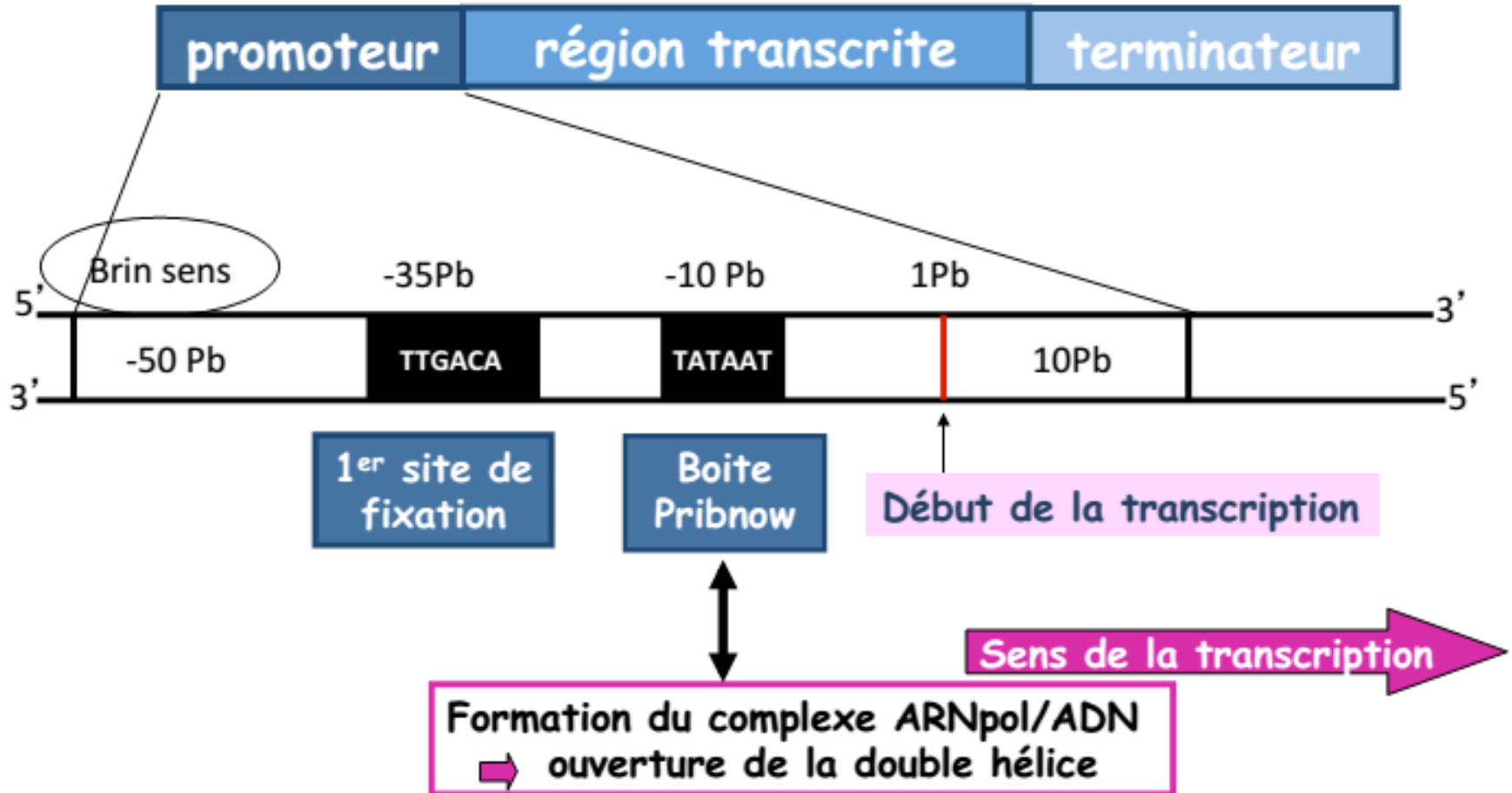
1. Initiation

- ARN polymérase se fixe à l'ADN au niveau d'une courte séquence d'ADN placée juste avant le début du gène = **promoteur** reconnu par le facteur σ .

1. *Organisation d'un gène bactérien*



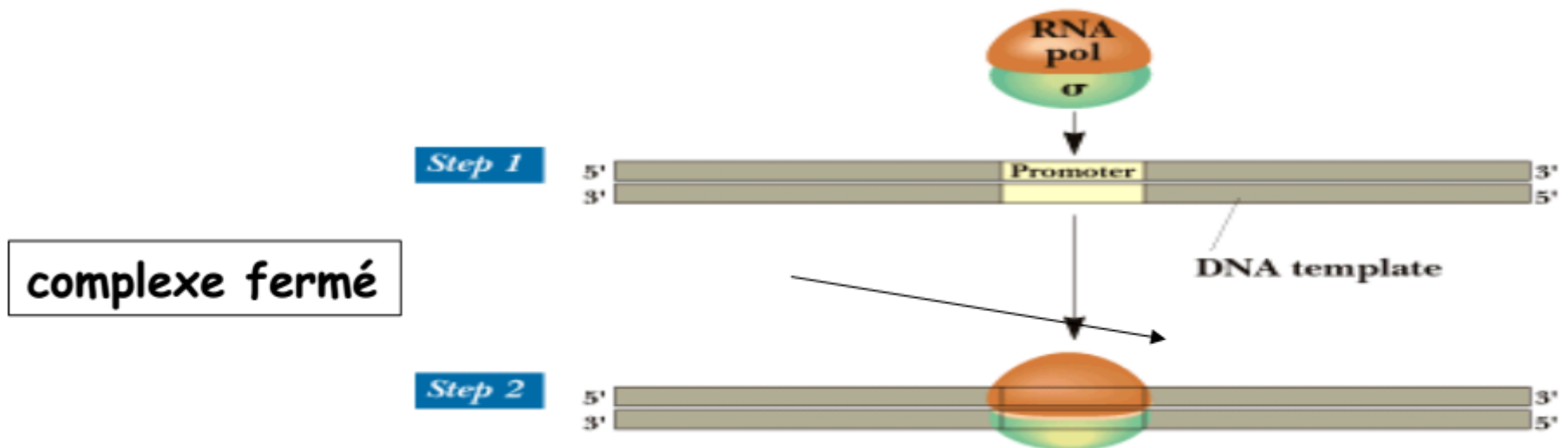
Transcription chez les procaryotes



Transcription chez les procaryotes

Reconnaissance des séquences promotrices

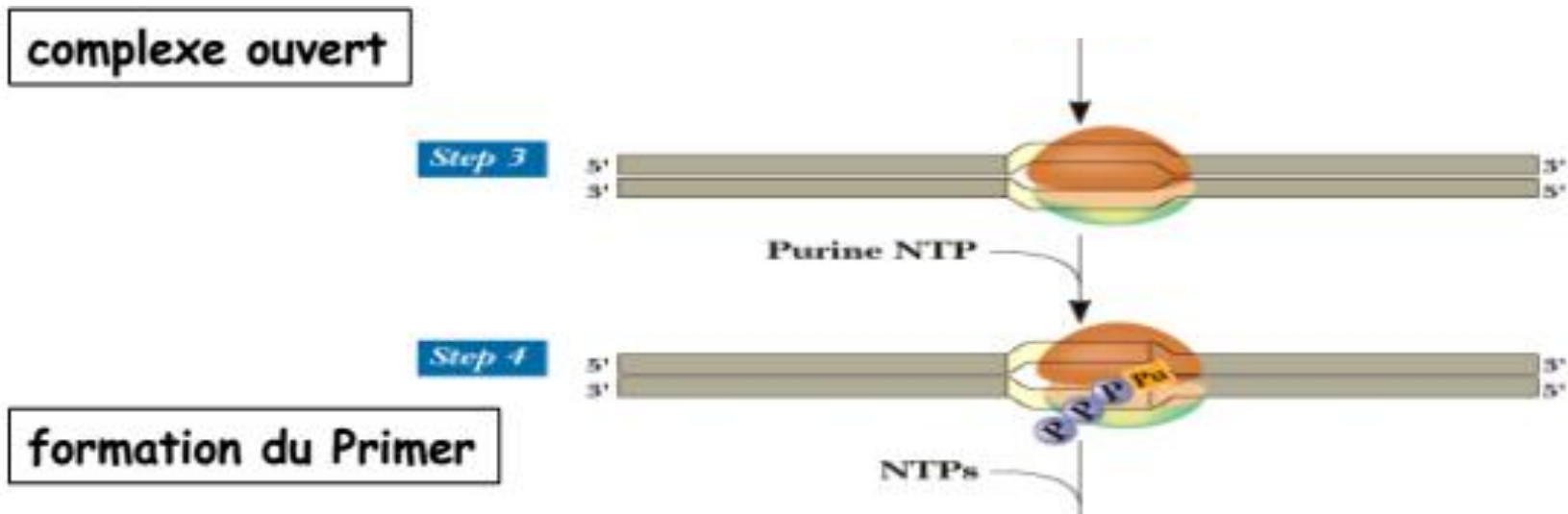
- L'ARN polymérase sous forme **holoenzyme** reconnaît et se fixe sur la séquence **-35** de l'ADN génomique, on obtient un complexe binaire (dit fermé) : enzyme+ ADN.
- Ensuite, l'ARN polymérase migre et se déplace jusqu'au promoteur **-10** (boîte de Pribnow).



Transcription chez les procaryotes

Début de la polymérisation

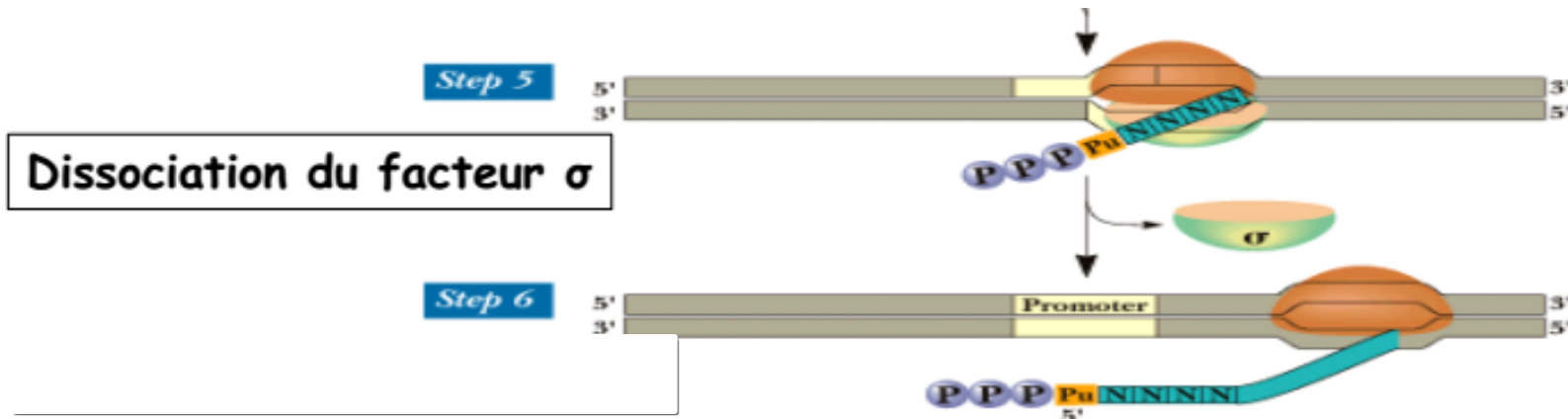
- L'ARN polymérase ouvre la double hélice de l'ADN génomique sur une courte région.
- On a donc un passage à l'état simple brin, pour permettre la lecture de l'ADN par l'ARN polymérase



Transcription chez les procaryotes

Début de la polymérisation

- L'initiation va durer le temps que la polymérase associe 7 ou 8 ribonucléotides sous forme d'un polymère hybridé au brin matrice.
- Le facteur σ va être libéré.
- L'ARN polymérase adopte donc sa conformation cœur, pour poursuivre la synthèse de l'ARN.



Transcription chez les procaryotes

2. Élongation

- La synthèse par l'ARN polymérase cœur dans le sens $5' \rightarrow 3'$,
 - avec une progression de l'ARN polymérase et de la **boucle de transcription** en supprimant les liaisons hydrogène.
 - Une fois la séquence transcrite, l'ADN se renature spontanément.
- La polymérase parcourt le gène entier jusqu'à rencontrer une séquence dite de **terminaison**.



Unité de transcription



- [!] Topoisomérases précèdent et suivent la polymérase
- [!] La transcription par la polymérase se fait à une vitesse d'environ 30 nucl/sec.
- [!] Le premier NT est sous forme triphosphate.

Transcription chez les procaryotes

3. Terminaison de la transcription

- Processus conduisant à la dissociation des sous unités de l'ARNp après la rencontre des signaux de terminaison.

Deux mécanismes:

- **Mécanisme direct** : Rho indépendant.
- **Mécanisme indirect** avec une protéine Rho à activité ATPasique: Rho dépendant.



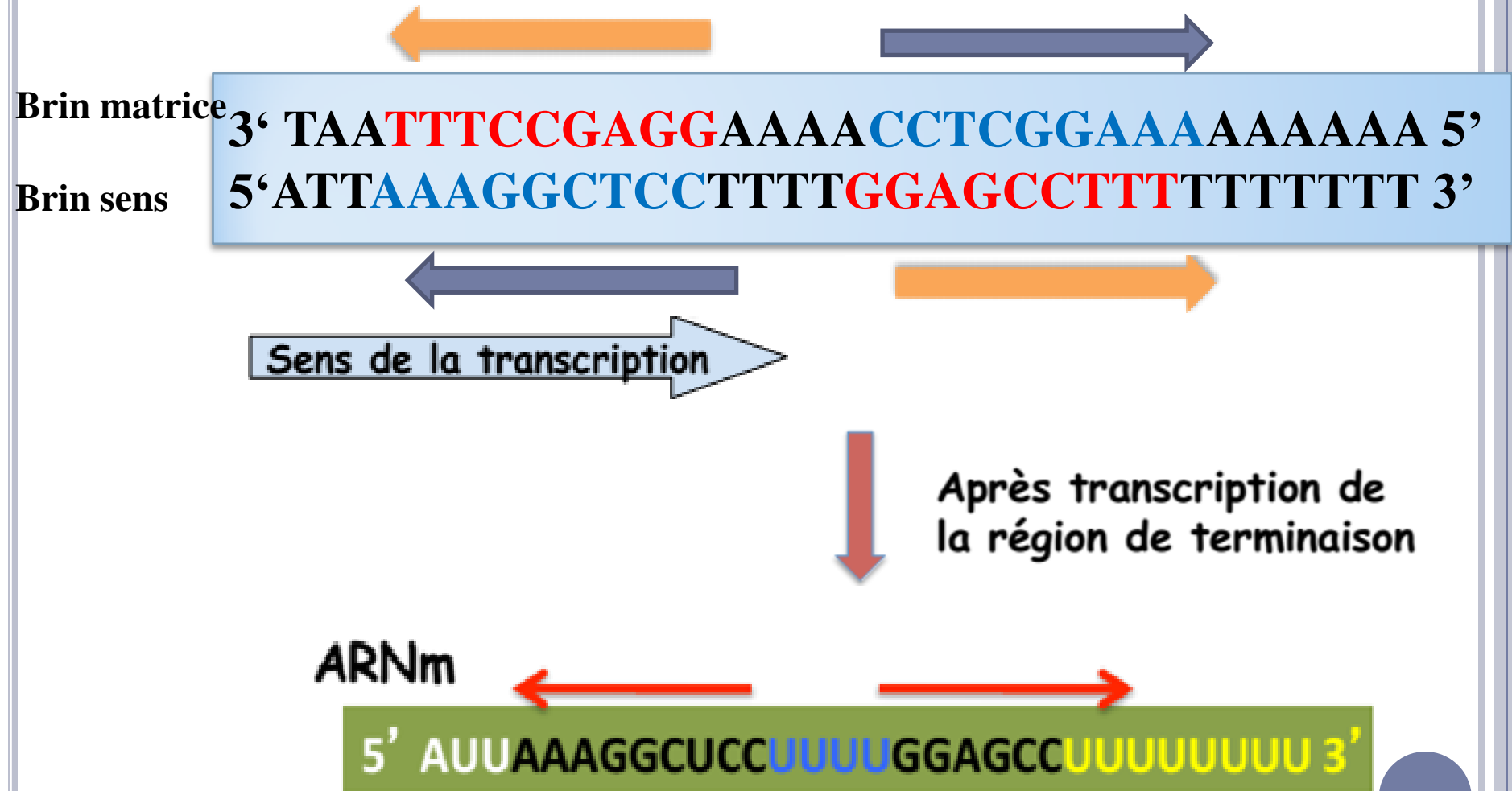
Transcription chez les procaryotes

Mécanisme direct : Rho indépendant

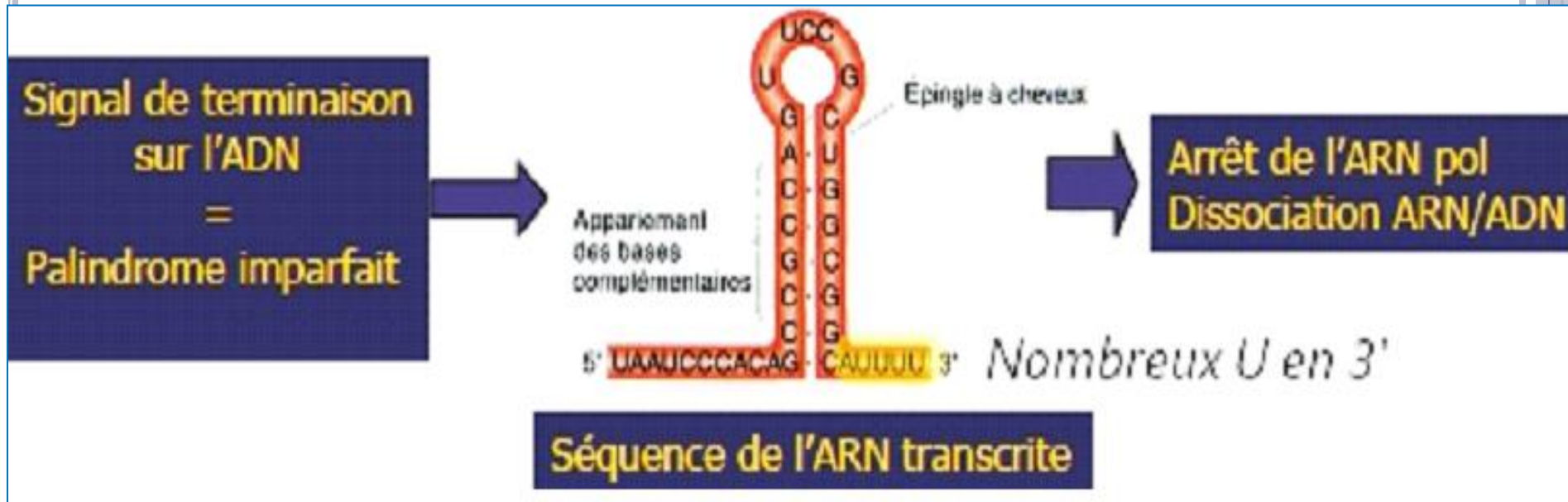
- Termineur intrinsèque
- Sites spécifiques de terminaison: constitué de 3 segments caractéristiques (**région palindromique**)
- Deux séquences répétées inversées particulièrement riches en G et C, séparées par un court segment
- cette région **palindromique** est terminée par un segment de bases répétées d'une série de 6 à 8 bases A sur le brin matrice codant pour un poly-U (région de faible énergie)



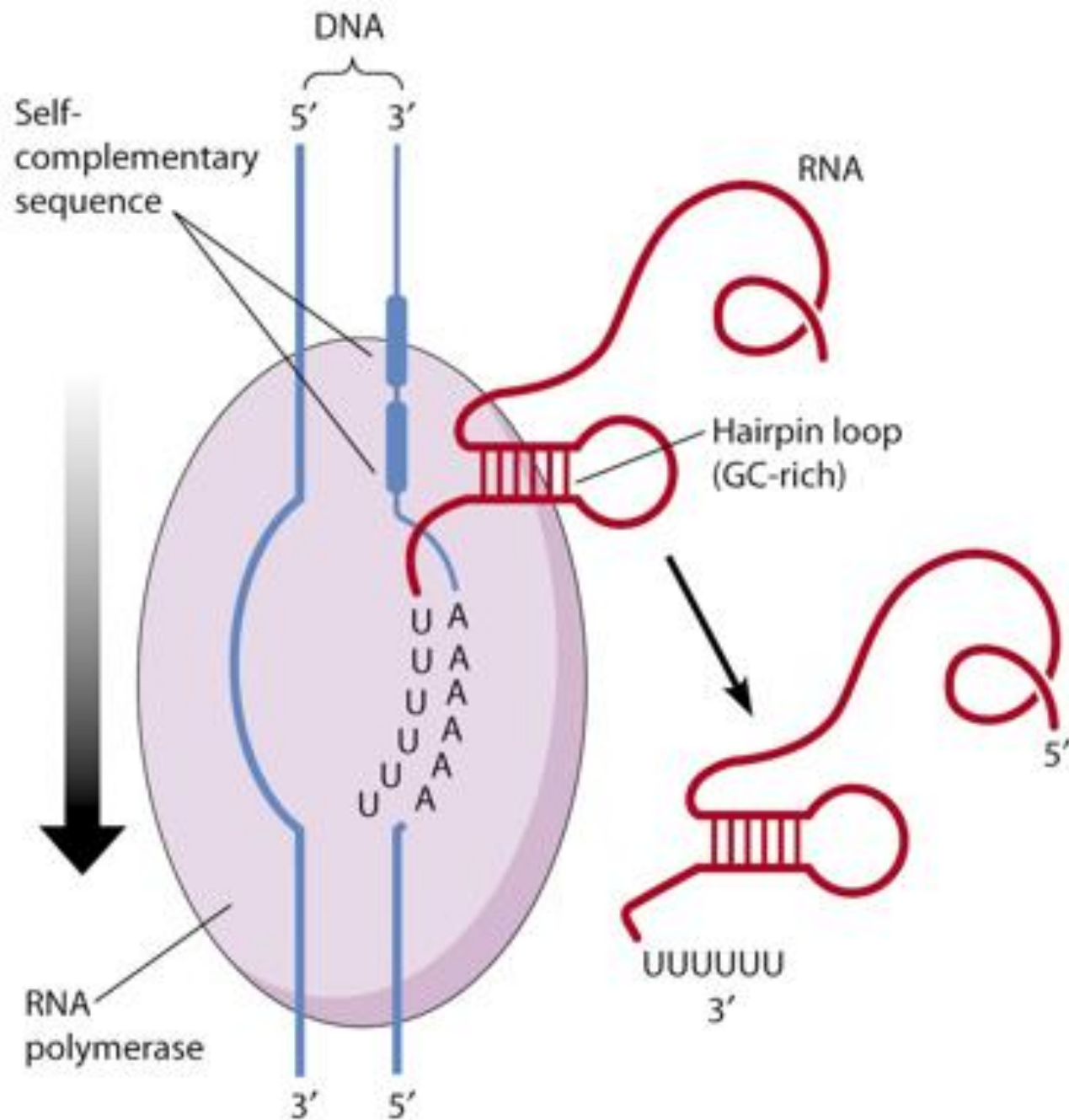
Transcription chez les procaryotes



Transcription chez les procaryotes



- Structure en tige-boucle ou en épingle à cheveux → déstabilise le complexe.
 - Séquence ARN se termine par un poly U (région de faible énergie).
- détachement de l'ARN polymérase.



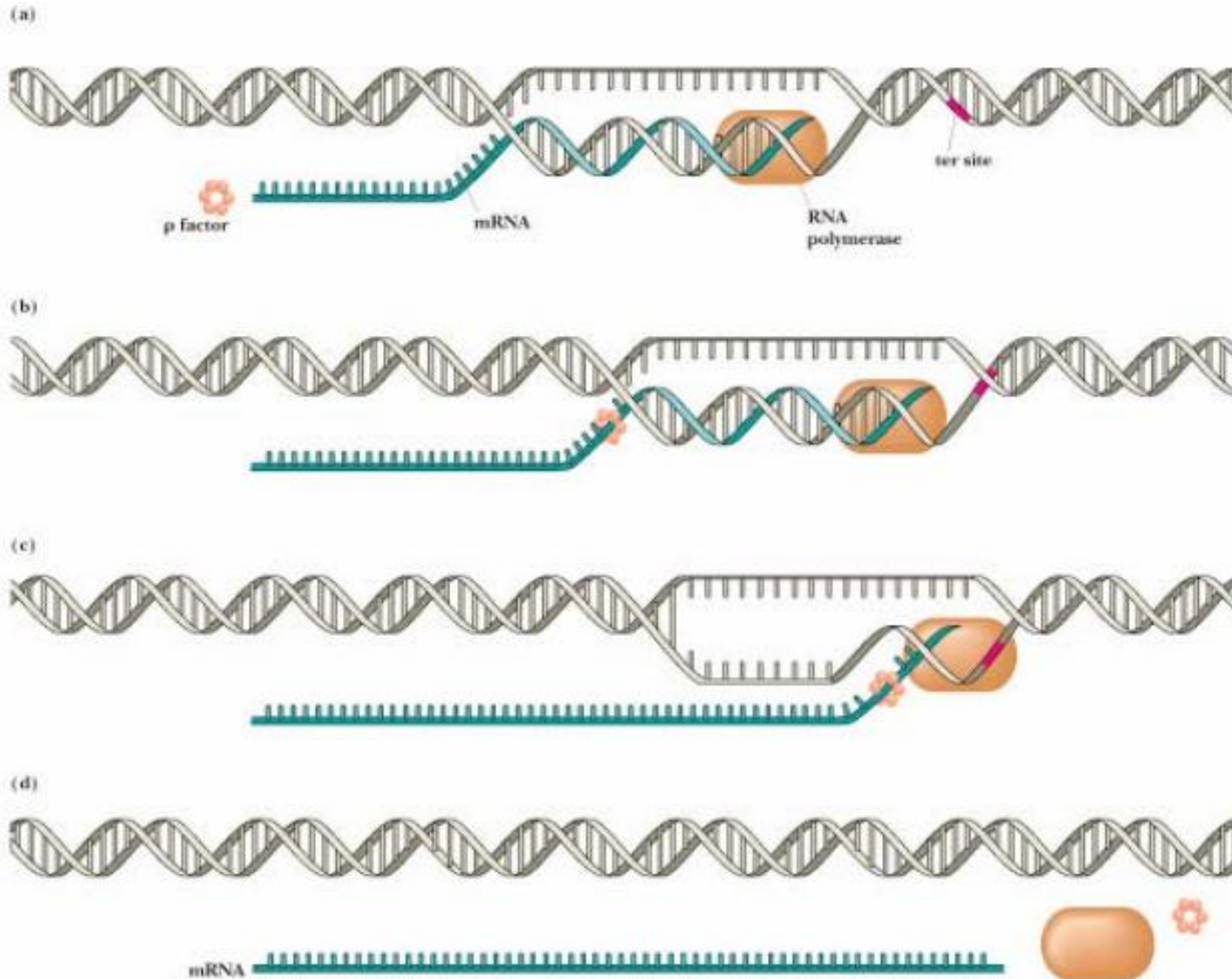
Transcription chez les procaryotes

Mécanisme indirect: Terminaison Rho dépendante

- Hélicase ATP dépendante
 - Fixation à l'extrémité 5' de l'ARN,
 - Migration le long de l'ARN,
 - Localisation du complexe de transcription et le déroule
- **Libération de l' ARN nouvellement synthétisé**



Transcription chez les procaryotes



Transcription chez les Eucaryotes

Les inhibiteurs spécifiques de la transcription

- **Groupe Rifamycines:**

Inhibiteur de l'ARNp en se fixant sur la sous unité β .

- **Streptomycines:**

Inhibiteur de l'ARNp en se fixant sur la sous unité β (site différent des rifamycines)

- **Actinomycines:**

Inhibition de l'élongation en se fixant à l'ARN sur les paires de bases GC



Transcription chez les Eucaryotes

Différences entre la transcription chez les eucaryotes et les procaryotes:

- *Localisation cellulaire :*

- Chez la bactérie, elle s'effectue dans le cytoplasme.
- Chez les eucaryotes, elle s'effectue dans le noyau cellulaire.

- *ARN polymérase :*

- Chez les procaryotes : 1 seule.
- Chez les eucaryotes : 3 (+1 extra nucléaire)



Transcription chez les Eucaryotes

- Chez les eucaryotes uniquement :

1-Trois étapes: Initiation, élongation et terminaison.

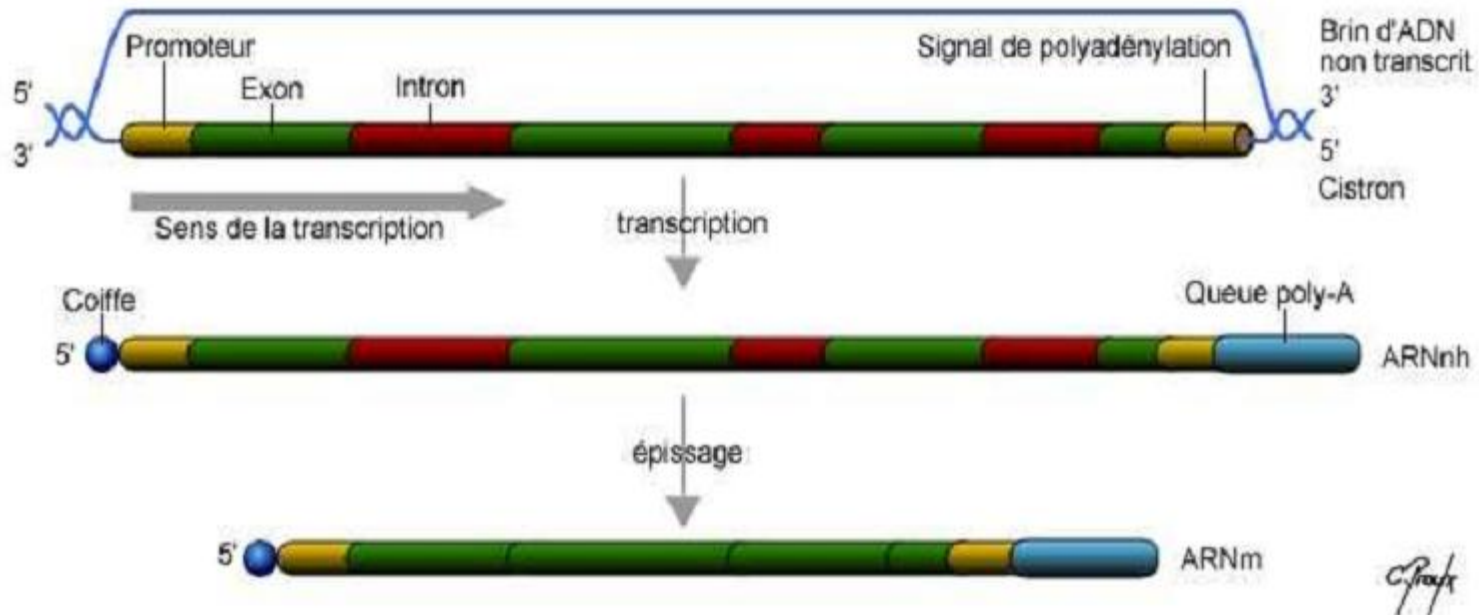
2- Les modifications post-transcriptionnelles

- Événement de **maturation** d'un précurseur d'ARN, qui est appelé transcrit primaire et qui nécessite des modifications pour devenir mature donc fonctionnel.



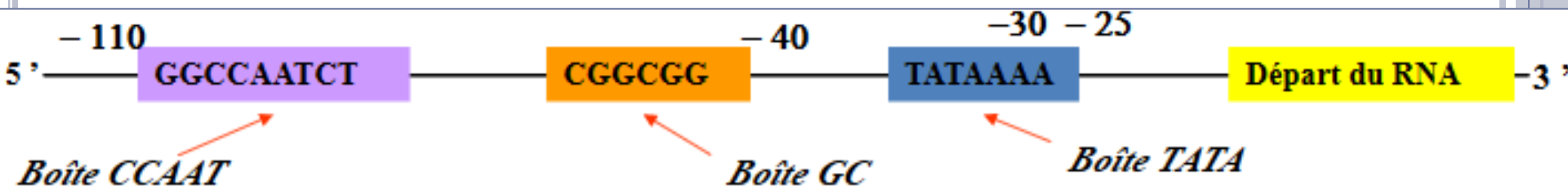
Transcription chez les Eucaryotes

- Particularités du génome des eucaryotes
 - Diploïde
 - Éclaté ou en mosaïque: introns et exons
 - Unité de transcription est monocystronique



Transcription chez les Eucaryotes

- Structure de promoteur de l'ARN polymérase II



- Boîte TATA riche en thymine et adénine: **TATAAAA**
→ la plus importante, est située vers -25 à -30 nucléotides du site de démarrage de la transcription (noté +1) ;
- Des éléments proximaux : Boîte CAAT et Boîte GC

Transcription chez les Eucaryotes



- Boîte CCAAT (facultative), contenant de la cytosine, est située vers -120 à -80 nucléotides du site de démarrage de la transcription.
 - Boîte GC (facultative également), riche en guanine et cytosine (-40) peut être présente entre la boîte CCAAT et la boîte TATA.
- stabilisation du complexe ADN-ARNp
- régulent la fréquence d'initiation de la transcription.



Transcription chez les Eucaryotes

Initiation

- 6 facteurs de transcription généraux ("**Transcription Factor**" : TFII-A, TFII-B, TFII-D, TFII-E, TFII-F et TFII-H) doivent d'abord médier la fixation des ARN polymérases et l'initiation de la transcription.
- Le complexe complet [**ARN polymérase**+**facteurs de transcription**+**séquence ADN du promoteur**]
→ est appelé **complexe de pré-initiation de la transcription**.

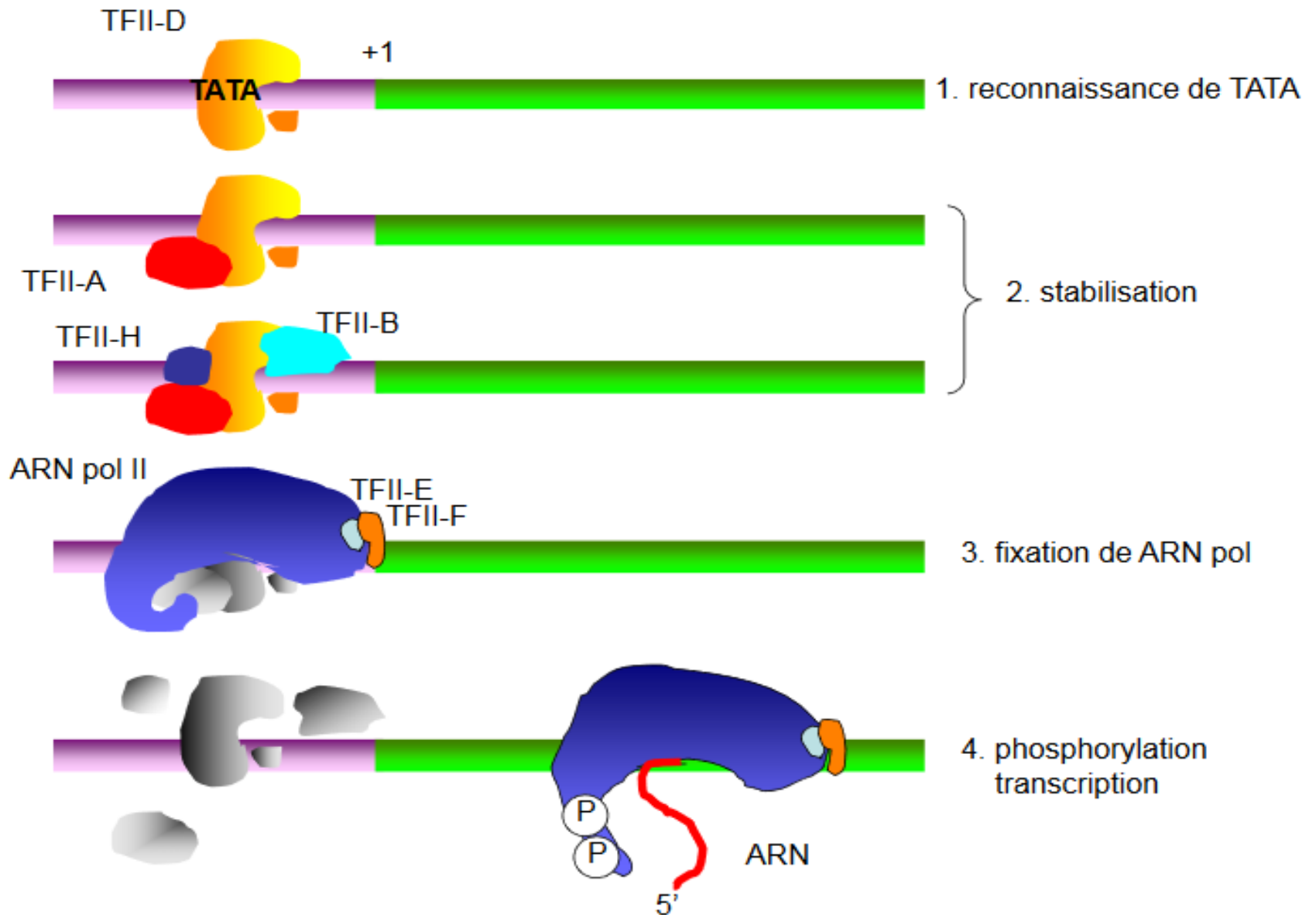


Transcription chez les Eucaryotes

- Ce complexe assure :
 - le chargement précis de l'ARN polymérase II (Pol II) sur le bon site de démarrage de la transcription
 - la déshybridation (ouverture) de l'ADN au niveau du promoteur
 - le relargage de ARN Pol II du promoteur

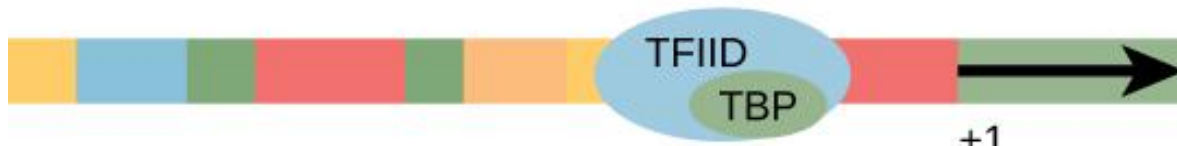


Transcription chez les Eucaryotes

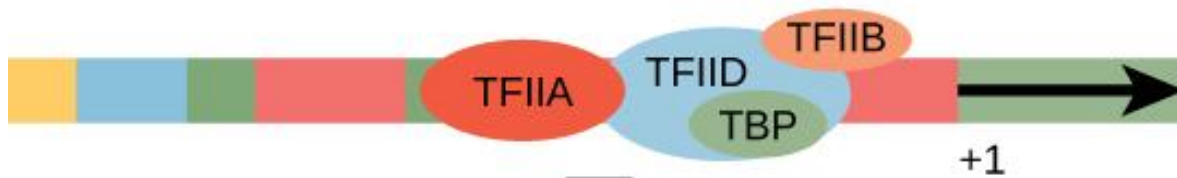


Transcription chez les Eucaryotes

- Certains de ces facteurs ont un rôle particulier :
 - Le facteur TFIID: est la première protéine qui reconnaît la séquence de l'ADN initiatrice de la transcription (la boîte TATA).



- Le facteur TFIIB semble impliqué dans la sélection précise du site d'initiation (nucléotide à partir duquel se déroule la transcription).

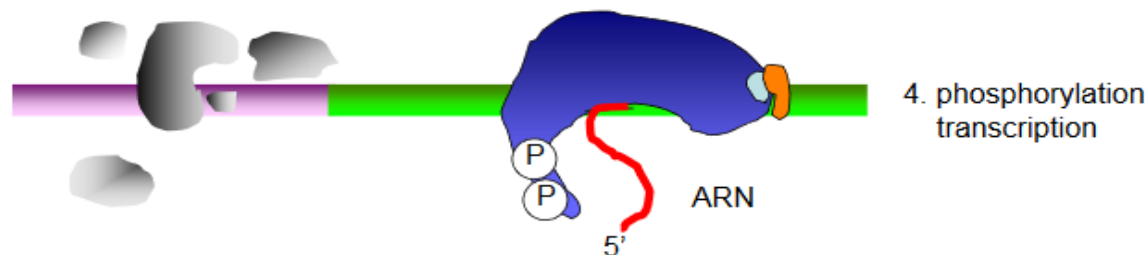


Transcription chez les Eucaryotes

- Le facteur TFIID

- une activité **hélicase**: permettant l'ouverture de la double hélice d'ADN au niveau du promoteur,
- et une activité **kinase** responsable de la phosphorylation de l'ARN polymérase II.

→ Cette phosphorylation provoque une modification de la structure tridimensionnelle de l'ARN polymérase qui entraîne la dissociation du complexe d'initiation et le début de la transcription.



Transcription chez les Eucaryotes

Élongation fait intervenir :

- Des facteurs protéiques d'élongation, qui permettent le maintien le plus longtemps possible de l'ARN polymérase II sur l'ADN matrice : ils augmentent la processivité.
- Des topoisomérases, qui permettent l'élimination des surenroulements positifs créés par l'avancée de l'ARN pol II.
- Des facteurs protéiques de correction, qui stimulent la fonction de correction de l'ARN pol II.



Transcription chez les Eucaryotes

La terminaison de la transcription

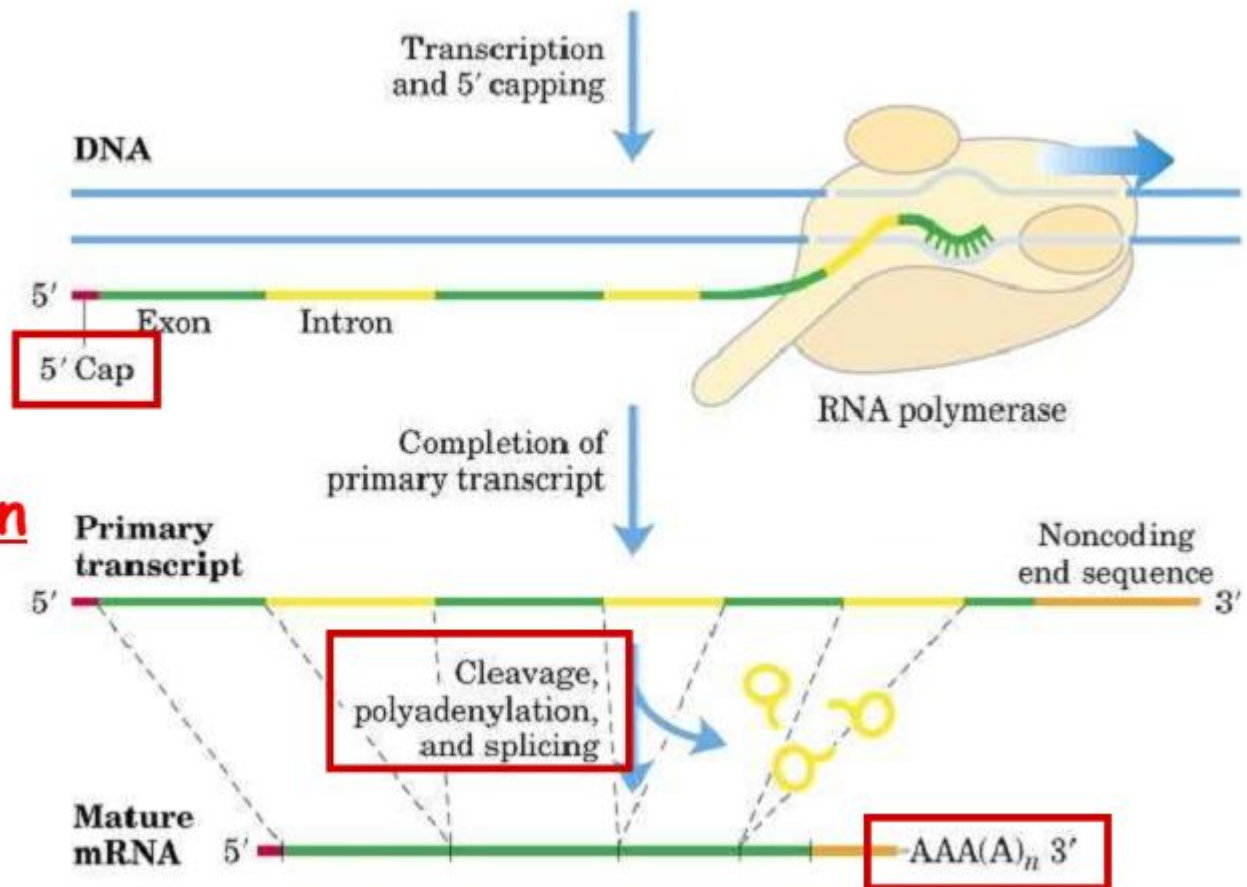
- Elle s'effectue selon différents processus, qui dépendent de la polymérase employée.
- En ce qui concerne Pol II le signal de terminaison → séquence de 6 pb à la fin du gène reconnue par ARN-endonucléase.
- La terminaison est couplée à la maturation des ARNm (modification post-transcriptionnelle).



Transcription chez les Eucaryotes

Maturation des Transcrits

- Capping
- Polyadénylation
- Epissage



Transcription chez les Eucaryotes

Maturation des Transcrits

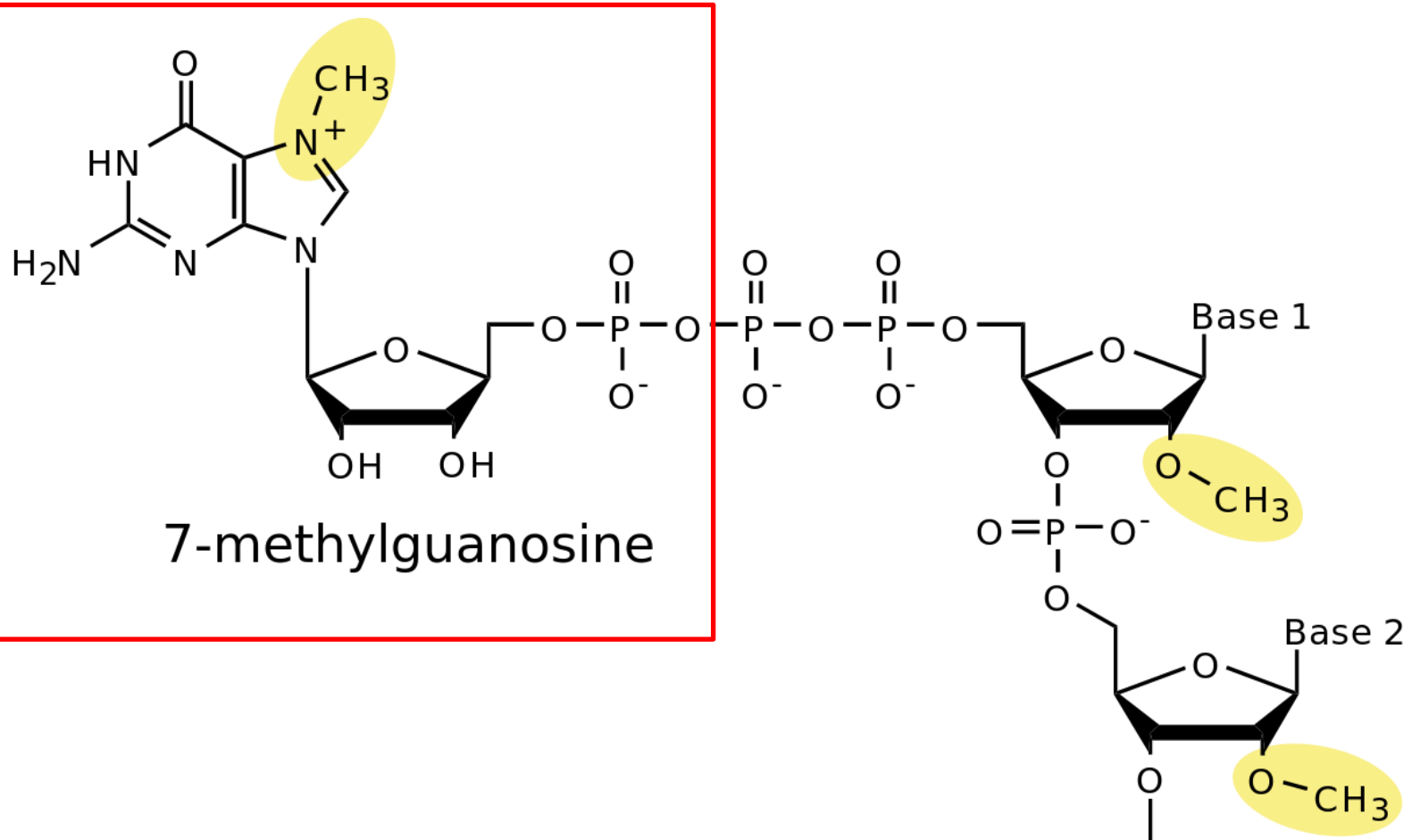
La maturation de la plupart des transcrits primaires porte sur 3 points :

- la formation d'une structure particulière (coiffe) en 5'.
- l'adjonction d'une séquence polyadénylée en 3'
- l'épissage : excision des introns et jonction des exons.



Transcription chez les Eucaryotes

a. Ajout de la coiffe en 5' (= cap)



Transcription chez les Eucaryotes

a. Ajout de la coiffe en 5' (= cap)

Au cours de la transcription, lorsque les ARN atteignent 20 à 30 nucléotides de longueur,

1. Élimination d'un phosphate en 5' du premier nucléotide triphosphate
2. Soudure d'une 7-méthyl-guanine (GMP méthylée sur l'azote en 7)
3. Méthylation en 2' sur les riboses des 2 premiers nucléotides dans la plupart des ARNm.



Transcription chez les Eucaryotes

- La coiffe a pour rôle de permettre :
 - ✓ La **distinction** (au niveau de la cellule) entre les ARNm et les autres ARN
 - ✓ **L'export** dans le cytoplasme de l'ARNm pour traduction
 - ✓ Augmente **l'efficacité** de la **traduction**
 - ✓ **Stabilise** l'extrémité 5' des ARNm



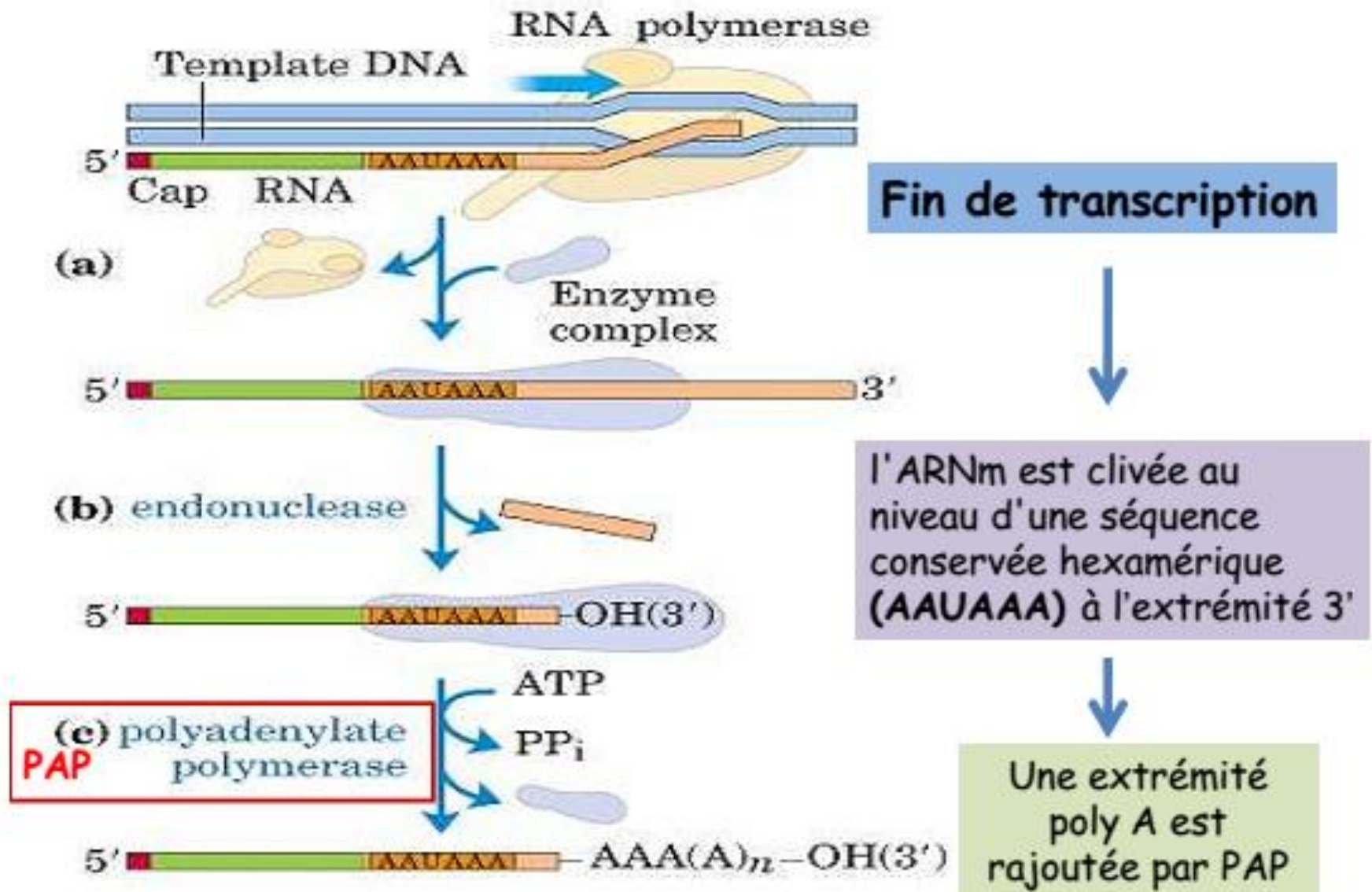
Transcription chez les Eucaryotes

b. La queue poly(A) : coupure et polyadénilation des ARNm

- A la fin de la transcription, l'extrémité 3' de l'ARNm est clivé au niveau d'une séquence conservée hexamérique (AAUAAA)
- Puis une extrémité poly A est rajoutée.



Transcription chez les Eucaryotes



Transcription chez les Eucaryotes

b. La queue poly(A) : coupure et polyadénilation des ARNm

- La longueur de la queue poly A varie de 100 à 200 nucl.
- Absente chez les ARNt, les ARNr et les ARNm codant pour les protéines histones
- La queue polyA sera raccourcie dans le cytoplasme



Transcription chez les Eucaryotes

Rôle de la queue poly(A)

- **Attachement** de l'ARNm à la membrane de RE
- **Transfert** de l'ARNm au cytoplasme
- **Stabilisation** de l'ARNm

