

UNIVERSITE DES FRERES MENTOURI CONSTANTINE 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Animale
B.P. 25000 - Constantine - ALGERIE



Filière : 3^{ème} ANNEE LMD

PHYSIOTOXICOLOGIE (S6)

MODULE :

BIOLOGIE MOLECULAIRE

Mr: BOULDJADJ.R

E.mail : rbouldjadj@gmail.com

Année Universitaire 2019-2020

CHAPITRE III

LA TRANSCRIPTION DE L'ADN

I.GENERALITES

I.1. DEFINITION DE LA TRANSCRIPTION

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

Tout l'ADN n'est pas transcrit, seules les régions correspondant à des **gènes** le sont. Et encore, cette expression peut être **régulée** selon le stade de développement, le type cellulaire, l'environnement, etc... Dès lors, un acteur doit intervenir pour déterminer à quel endroit une région d'ADN doit commencer à être transcrite : c'est le rôle du **promoteur**.

I.2. DEFINITION D'UN GENE

Le gène est un segment d'ADN, situé sur le chromosome, qui constitue l'unité d'expression menant à la formation régulée d'un produit fonctionnel qui peut être sous la forme d'ARN ou de polypeptide.

I.2. 1. LES GENES DES PROCARYOTES

Chez les procaryotes, un gène est défini structurellement comme une séquence d'ADN comprenant **un promoteur, un site d'initiation** et un **site de terminaison** (Fig 43).

La transcription commence donc en un point précis de l'ADN pour se terminer en un point également précis, l'espace entre les deux constitue une unité de transcription.

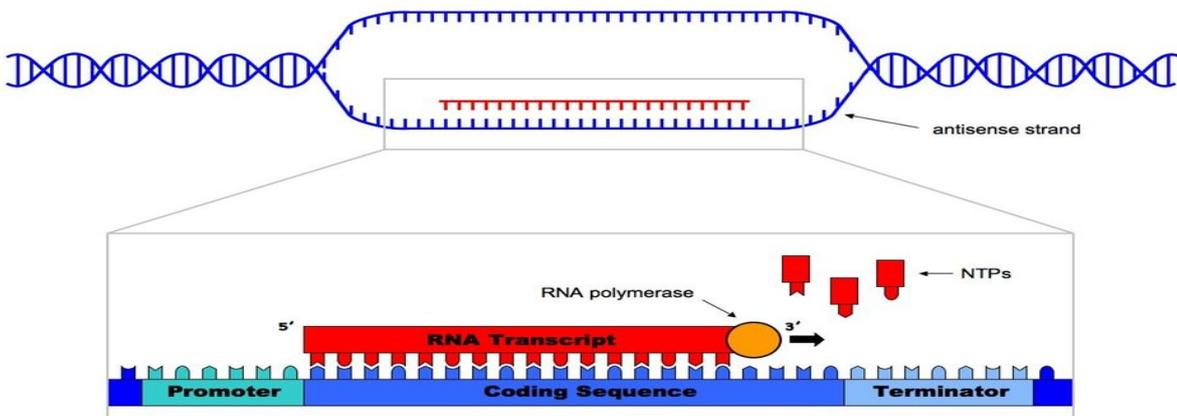


Fig N 43: représentation schématique d'un gène chez les procaryotes

A) Le promoteur

Le promoteur correspond à une région non transcrite de l'ADN, généralement juste en amont du début de la région transcrite, dont la séquence permet le recrutement de l'ARN polymérase.

Chez les procaryotes les promoteurs font environ 40pb (région couverte par l'enzyme) et qui contiennent 2 séquences conservées:

- Une séquence consensus de 6 nucléotides, placée en -35 (-30à-35) du +1 de transcription.

Exp: TTGACA. Le rôle de cette séquence est de donner un signal pour la reconnaissance du promoteur par l'ARN polymérase (**Fig 44**).

- Une séquence de 6 nucléotides en -10 ou -12 du +1 de transcription = **boite TATA box (Pribnow)**. Cette dernière facilite la dissociation des deux brins d'ADN, car riche en A et T.

EXP: TATATT. (**Fig 44**)

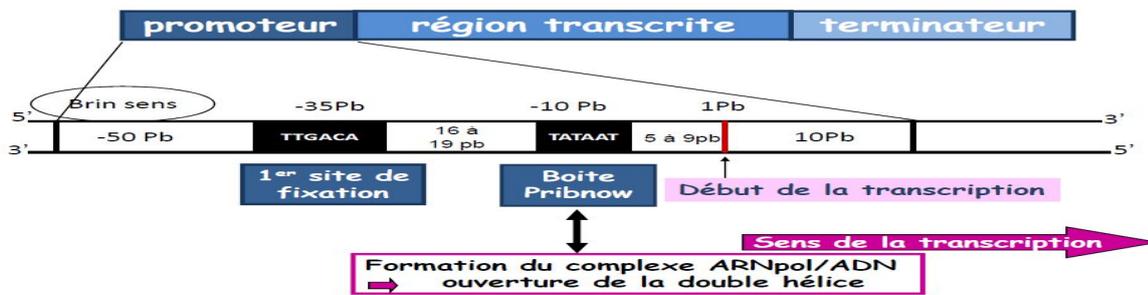


FIG N44 : représentation schématique des promoteurs chez les procaryotes

B) Site d'initiation

Par convention on appelle +1 le premier nucléotide à partir duquel la transcription démarre et -1 qui précède. Le premier nucléotide est très souvent A ou G

C) Sites de terminaison

Ce sont des sites qui indiquent la terminaison de la transcription. Des signaux de fin de transcription sont des régions palindromiques très riches en CG suivie ou non d'une séquence riche en base A (sur l'ADN) (**Fig 45**).

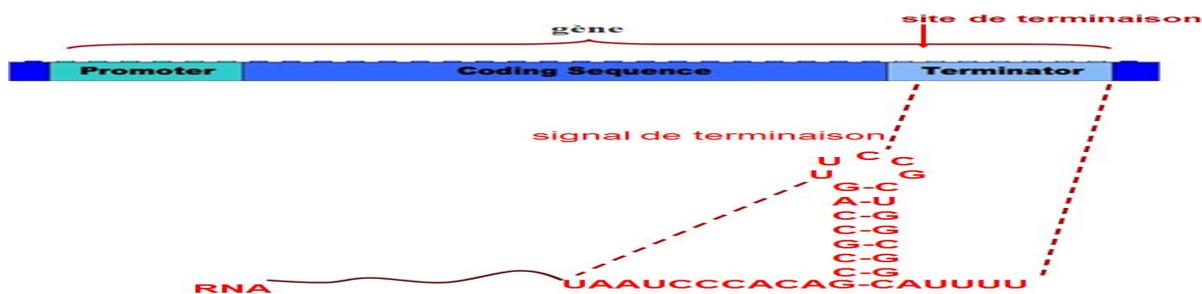


FIG45 : représentation schématique des séquences de terminaison chez les procaryotes

D- Remarque : Les opérons :

Chez les procaryotes, il existe des gènes organisés en opérons (voies métaboliques). Chaque opéron comporte un nombre variable de gènes de structure contigus qui possèdent un même promoteur et donnant des ARN **polycistroniques (donnant naissance à plusieurs protéine en même temps)** (voir Fig 46). Mais on trouve également des gènes de structure plus simple ne contenant, comme chez les eucaryotes, qu'une seule unité de traduction. Chez les eucaryotes, les ARNm sont **monocistroniques**.

Opéron: Unité d'expression de gènes, codant plusieurs enzymes apparentées ou des ARNr, sous le contrôle d'un même promoteur: co-transcrits générant un long ARNm.

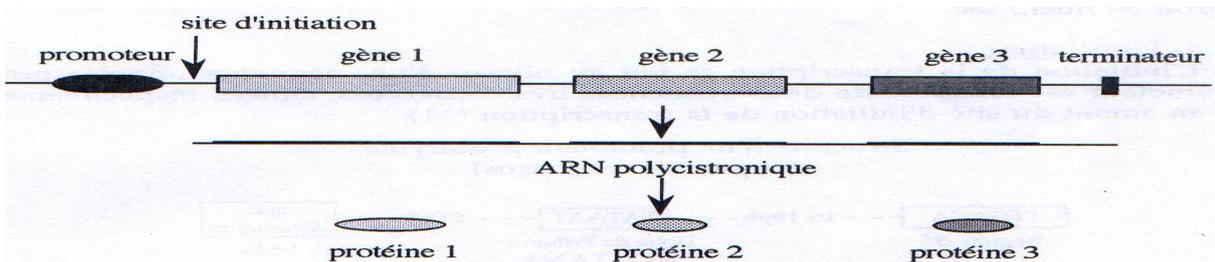


FIG N46 : schémas illustrant l'organisation des gènes en opéron chez les procaryotes

I.2.2. LES GENES DES EUCARYOTES

Chez les eucaryotes, il faut compléter la définition d'un gène par la présence d'introns localisés à l'intérieur de la partie transcrite du gène.

Chez les eucaryotes on dit que quelques gènes sont discontinus car ils comprennent :

= **Les exons**

Qui contiennent l'information héréditaire qui seront transcrits puis traduits en protéines.

= **Les introns**

Sont des séquences non codantes qui se trouvent entre les exons. Ils seront transcrits mais ils ne seront pas traduits (Fig 47).

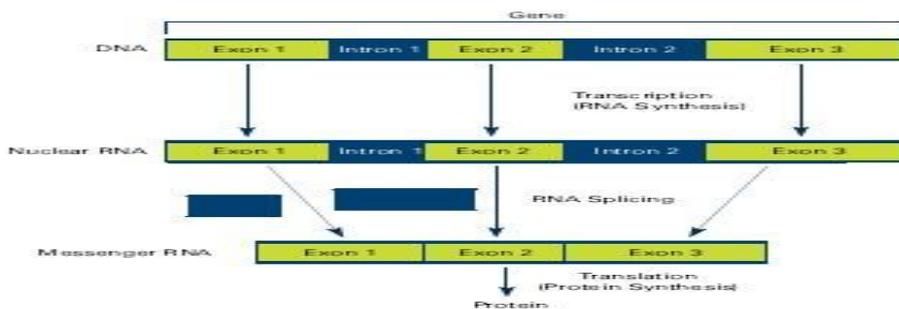


FIG N47 : Schéma général des introns et des exons

A) Les promoteurs des eucaryotes

Chez les eucaryotes les promoteurs sont plus longs et plus complexe que ceux des procaryotes (Fig 48). Les séquences consensus sont :

- ❑ la "boîte TATA" riche en thymine et adénine, la plus importante, est située vers -25 à -30 nt du site de démarrage de la transcription (noté +1) et qui représente le **promoteur minimal**. (séquence consensus = TATAAAA).
- ❑ Des éléments proximaux :
 - la "boîte CAAT" (facultative), contenant de la cytosine, est située vers -120 à -80 nt du site de démarrage de la transcription (séquence consensus = GCCAAT).
 - la "boîte GC" (facultative également), riche en guanine et cytosine, est située à environ 200 nt du site de démarrage de la transcription (séquence consensus = GGGCGG).

Les éléments proximaux avec la boîte TATA box forment un promoteur.

- ❑ Les éléments distaux du promoteur (les sites de régulation) : peuvent être situés à quelques centaines jusqu'à quelques milliers de paires de bases en amont ou en aval du site d'initiation y compris dans le gène qui va être transcrit. Ces éléments peuvent activer la transcription, on les appellera alors 'enhancers', ou la réprimer, on parlera de 'silencers'.

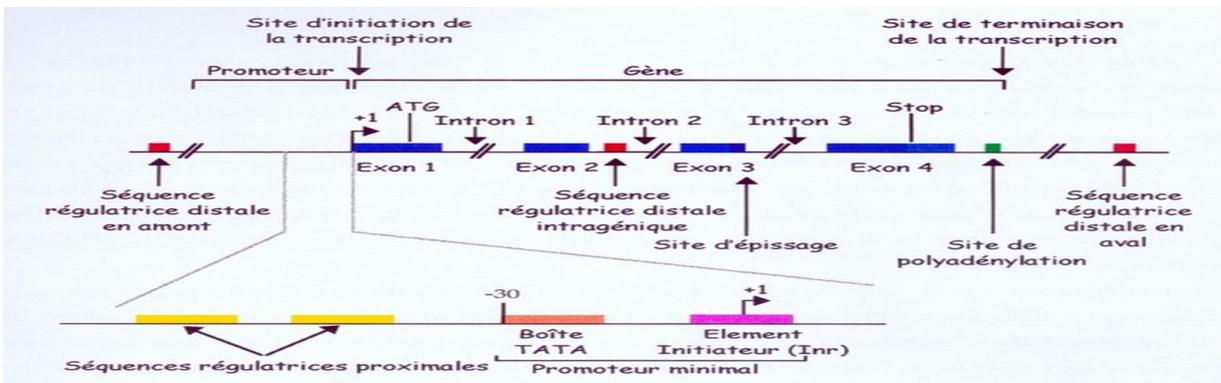


FIG 48 : Représentation schématique des différentes séquences d'ADN impliquées dans la régulation de la transcription.

Remarque

L'unité de transcription d'un gène correspond à la séquence présente dans le transcrit primaire d'ARN. (Fig 49)

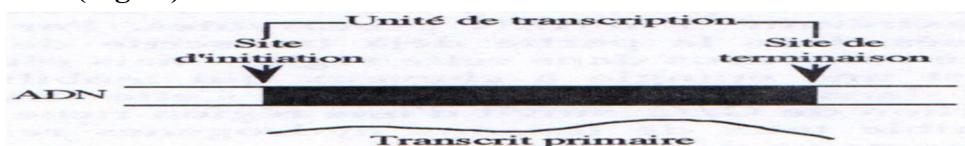


Fig N 49: Représentation schématique d'une unité de transcription

III. LES CARACTERISTIQUES DE LA TRANSCRIPTION

III. 1. SENS DE LA TRANSCRIPTION

La synthèse d'un ARN s'effectue toujours dans le sens 5' vers 3' de façon antiparallèle par rapport au brin d'ADN transcrit et de façon complémentaire (elle nécessite un brin matrice).

III. 2. LE BRIN SENS ET LE BRIN ANTISENS

Tout le DNA n'est pas transcrit seuls les gènes sont transcrits. En plus même si l'ADN est double brin seul un brin est transcrit ou copié en RNA et l'autre pas.

- **Le brin matrice ou anti-sens ou non codant** est le brin d'ADN qui est transcrit par complémentarité des bases (**Fig 50**). C'est sur ce brin que l'ARN polymérase va se déplacer et synthétiser la copie complémentaire de ce brin matrice.

- **Le brin sens ou codant ou informatif** est le brin qui est complémentaire au brin matrice. Ce brin a donc la même séquence de nucléotides que l'ARN en formation (Comme il s'agit d'ARN, l'uracile apparaît à la place de la thymine) (**Fig 50**).



FIG N50 : le brin sens et le brin anti-sens

Ce n'est pas toujours le même brin d'ADN qui est copié toute au long de la molécule d'ADN. Pour certains gènes sera un brin pour l'autre gène se sera l'autre brin. C'est la position du promoteur qui détermine le brin matrice et le brin codon (**Fig 51**).

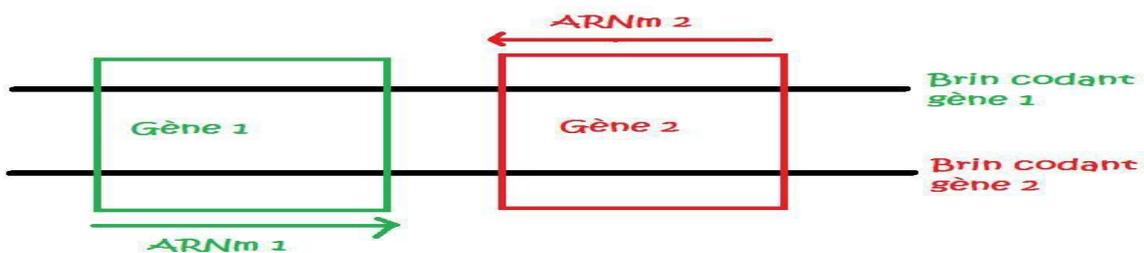


FIG N51 : le brin sens et le brin anti-sens

IV. LES ELEMENTS DE LA TRANSCRIPTION

Pour synthétiser un ARN il faut:

- **Les nucléotides:** ATP, UTP, CTP, GTP .ils doivent être sous forme activé c'est-à-dire sous forme triphosphate.

- **DNA matrice:** les ARN polymérase ont besoin un brin matrice d'ADN (antisens) pour synthétiser un ARN suivant la règle de complémentarité (l'ARN poly est une DNA dépendante)

- **Les ions Mg^{++} ou Mn^{++} :** sont nécessaire à la synthèse d'ARN.

- **L'ARN polymérase:** l'enzyme qui permet de souder les nucléotides les unes aux autres pour former un polymère d'ARN.

IV.1. L'ARN polymérase des procaryotes

Chez E-coli, **une seule ARN-polymérase catalyse la synthèse de tous les ARN** (ARNm, ARNt et ARNr) de la cellule.

L'ARN polymérase est une protéine ADN dépendante, multimérique possédant les sous-unités α , β , β' , ω et σ . Elle est présente sous deux formes l'**enzyme-cœur** ($\alpha 2\beta\beta'$ ω) et l'**holoenzyme** ($\alpha 2\beta\beta'$ ω σ). (Fig 42)

Le facteur σ est très faiblement liée à l'enzyme dont il peut se dissocier temporairement, lors de l'élongation, et responsable de la reconnaissance spécifique des **séquences consensus du promoteur**.

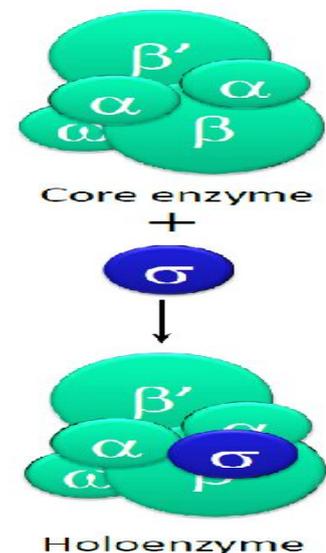


FIG N 52 : Structure de l'ARN Polymérase des procaryotes

IV.2. LES ARN POLYMERASES DES EUCARYOTES

Trois ARN-polymérase eucaryote ont été mis en évidence. Elles diffèrent par leur **localisation** dans le noyau et par la **nature** des ARN formés.

- ❑ **ARN-polymérase I:** dans le nucléole pour les ARNr 5,8 ; 18 et 28 S.
- ❑ **ARN-polymérase II** dans le nucléoplasme qui synthétise les RNA messagers qui contiennent l'information destinée à la traduction et certains des snRNA.
- ❑ **-ARN-polymérase III** dans le nucléoplasme pour les ARNt, ARNr 5 S et pour certains sARN.

Structure Quaternaire très complexe et beaucoup moins connue que chez les procaryotes : la structure des ARN Pol est excessivement variable d'une espèce à l'autre chez les eucaryotes. Elles sont formées de 10 à 15 sous unités réparties en 2 grosses sous unités et 13 petites sous unités.

Ces enzymes sont en elles-mêmes peu efficaces pour la transcription. Pour fonctionner, elles nécessitent l'aide et la coopération de facteurs protéiques supplémentaires : les **facteurs de transcription**. Ils permettent la reconnaissance du site d'initiation mais aussi jouent sur l'élongation.

IV.3. CARACTERISTIQUES DES ARN POLYMERASES

Les ARN polymérase ne nécessitent pas d'amorce et ne possèdent pas d'activité exonucléasique et donc de correction d'erreur, le taux d'erreur est ainsi plus important que pour les ADN-polymérase, mais ce taux est supporté.

Les nucléotides triphosphates sont additionnés à l'extrémité 3' de la chaîne en cours de synthèse par complémentarité de la matrice d'ADN. L'hydrolyse de la liaison anhydride fournit l'énergie pour la synthèse de la liaison phosphodiester.

V. LA TRANSCRIPTION CHEZ LES PROCARYOTES

La transcription chez les procaryotes est divisée en 3 étapes : **L'initiation, l'élongation et la terminaison.**

V.1. L'INITIATION

Elle peut être divisée en plusieurs étapes :

A- L'ARN polymérase (holoenzyme) se fixe au hasard sur l'ADN et reste attachée. Le core-enzyme a une affinité faible pour les séquences d'ADN double brin. Par contre la présence du facteur σ dans l'holoenzyme confère à l'ARN polymérase une très forte affinité pour le promoteur.

B- Après s'être lié à l'ADN, l'holoenzyme procède à une recherche d'un promoteur (en glissant sur la molécule d'ADN double brin).

C- Quand un promoteur est trouvé, l'ARN polymérase et le promoteur forme un complexe d'initiation :

- L'ARN polymérase s'attache en général aux promoteurs sur une zone d'environ 60 pb entre les positions -40 et +20.

- Les séquences -10 et -35 sont reconnues par la sous unité sigma σ de l'ARN polymérase.

- L'attachement se fait en deux temps: D'abord à la région -35 où une liaison est relativement faible s'établit, puis à une région -10 où une liaison très forte se produit (**Fig 53**).

- **Rôle de la séquence -35** : donner un signal pour la reconnaissance du promoteur par l'ARN polymérase et l'orientation de l'ARN polymérase (pour déterminer le brin matrice).

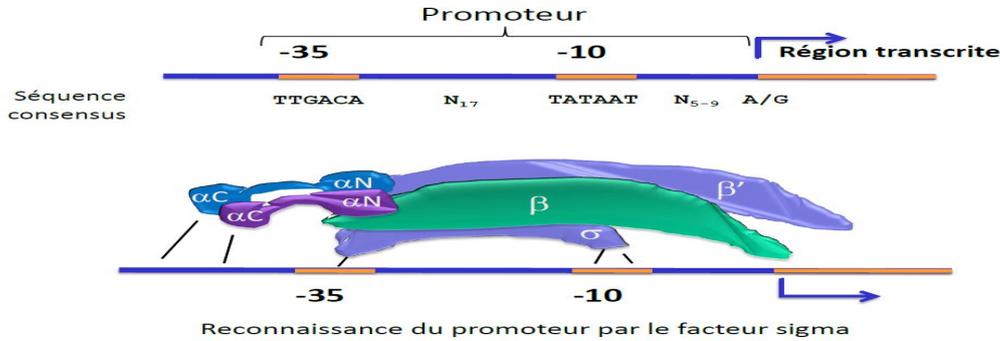


FIG N 53 : reconnaissance du promoteur par le facteur sigma σ

D) Cette deuxième liaison se traduit par une ouverture de la double hélice en position -10 (très riche en A et T) sur 15 paires de base environ (c'est le complexe promoteur ouvert)(**Fig 54**).

E) C'est le début de la transcription du brin non-sens. Lorsque l'ARN Polymérase aura synthétisé une dizaine de nucléotide, la sous unité σ se dissocie, l'ARN polymérase s'éloigne du promoteur et La protéine NusA vient alors se lier au complexe servira à passer à l'étape d'élongation (**Fig 54**).

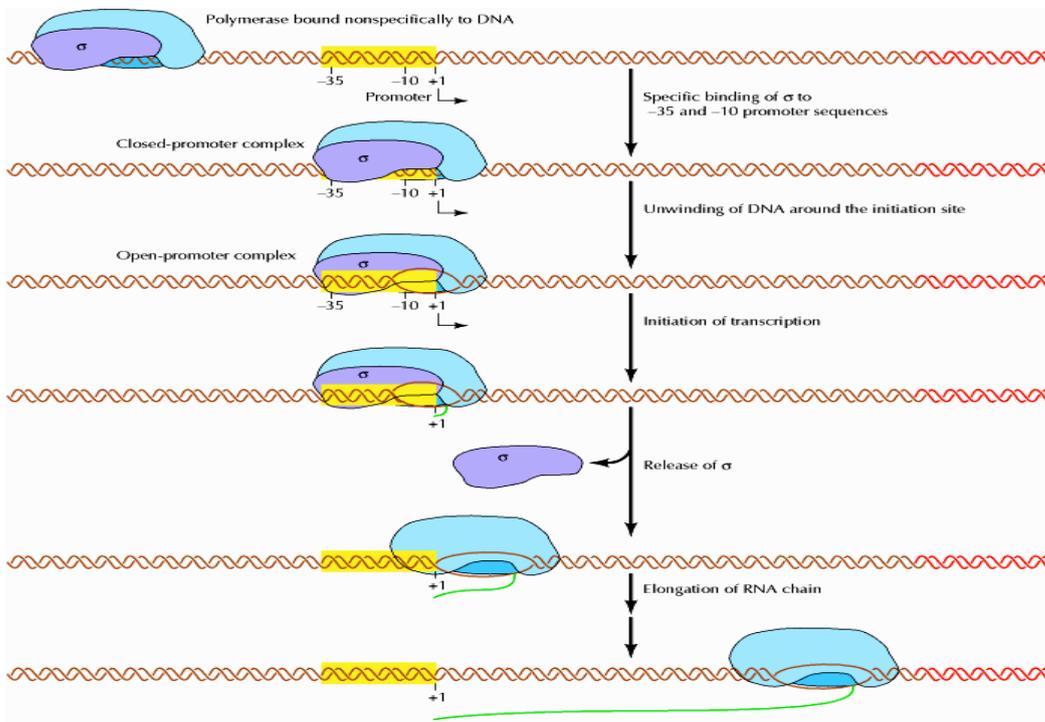


FIG N 54 : schéma général de l'initiation et l'élongation de la transcription

V.2. L'ELONGATION

Durant l'élongation, l'ARN polymérase se déplace le long de la molécule d'ADN en détruisant les liaisons H et en déroulant la double hélice au cours de sa progression. L'enzyme ajoute des ribonucléotides à l'extrémité 3' de la molécule d'ARN en croissance avec un ordre d'addition déterminé par l'ordre des bases sur le brin matrice (anti sens) (règle de complémentarité).

On notera que la synthèse d'ARN se fait selon le même principe que celle d'ADN, c'est-à-dire avec une orientation 5' vers 3' (pour l'ARN synthétisé) et la formation des liaisons ester de C3' en C5'.

L'énergie nécessaire pour former les liaisons Esters entre les différents nucléotides est apportée par les nucléotides eux même qui doivent être présent sous forme de nucléosides triphosphates (ATP, GTP, UTP et CTP)

Les nucléosides triphosphates apportent à la fois le nucléoside monophosphate et aussi l'énergie nécessaire pour relier chaque nucléotide au précédent.

Il est à remarquer que seul le premier nucléotide d'ARN conservera son Groupement triphosphate

Durant la transcription, seule une petite portion de la double hélice est déroulée à la fois. La zone déroulée comporte un hybride ADN-ARN transitoire d'environ 12 à 17 bases. Cette zone doit rester de faible longueur car dérouler la double hélice dans une région implique de superenroulement dans les régions adjacentes, ce qui impose des tensions au niveau de la molécule d'ADN. Pour résoudre le problème, l'ARN est détaché de l'ADN matrice au fur et à mesure de sa synthèse, ce qui permet à la double hélice de se reformer.

V.2. LA TERMINAISON

La terminaison se fait lorsque l'enzyme arrive au niveau d'une séquence spécifique appelée **terminateur**. Il existe deux moyens d'arrêter la transcription :

1- Terminaison Rhô-indépendante: Structure en « Epingle à cheveux » :

Il va y avoir reconnaissance d'une séquence terminateur : elle sera palindromique et riche en Guanine et Cytosine suivie d'une série d'Adénine. L'ARN transcrit aura une structure en « tige boucle » maintenue par un appariement intra-brin maintenu par des liaisons G \equiv C. Cette configuration facilite la libération de la molécule d'ARN et celui de l'ARN Polymérase au niveau

de la série de paires A=U formées entre le brin d'ADN et l'ARN transcrit. Le signal de terminaison est donc reconnu après avoir été transcrit (**Fig 55**).

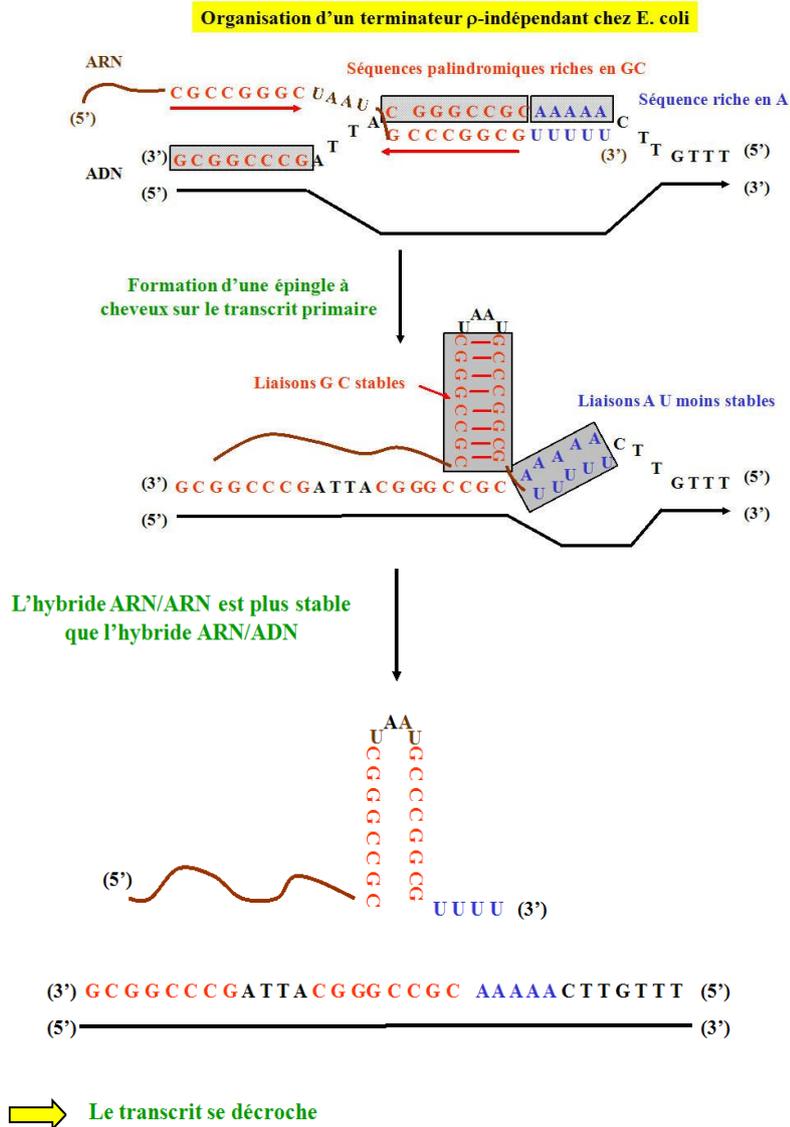


FIG N 55 : Structure du site de terminaison de certains gènes chez les procaryotes

2- Terminaison Rhô (ρ) dépendante :

Pour les terminateurs rho dépendant on trouve une structure en épingle à cheveux plus courte et qui n'est pas riche en paires de bases G-C et qui est non-suivie d'une séquence poly-U. Il y a donc nécessité du facteur rho qui a une affinité pour les ARN en court de synthèse, le parcourant de 5' vers 3' jusqu'à trouver l'ARN-polymérase. Le facteur rho est ATP dépendante, dont l'hydrolyse permettra la dissociation du complexe (**Fig56**).

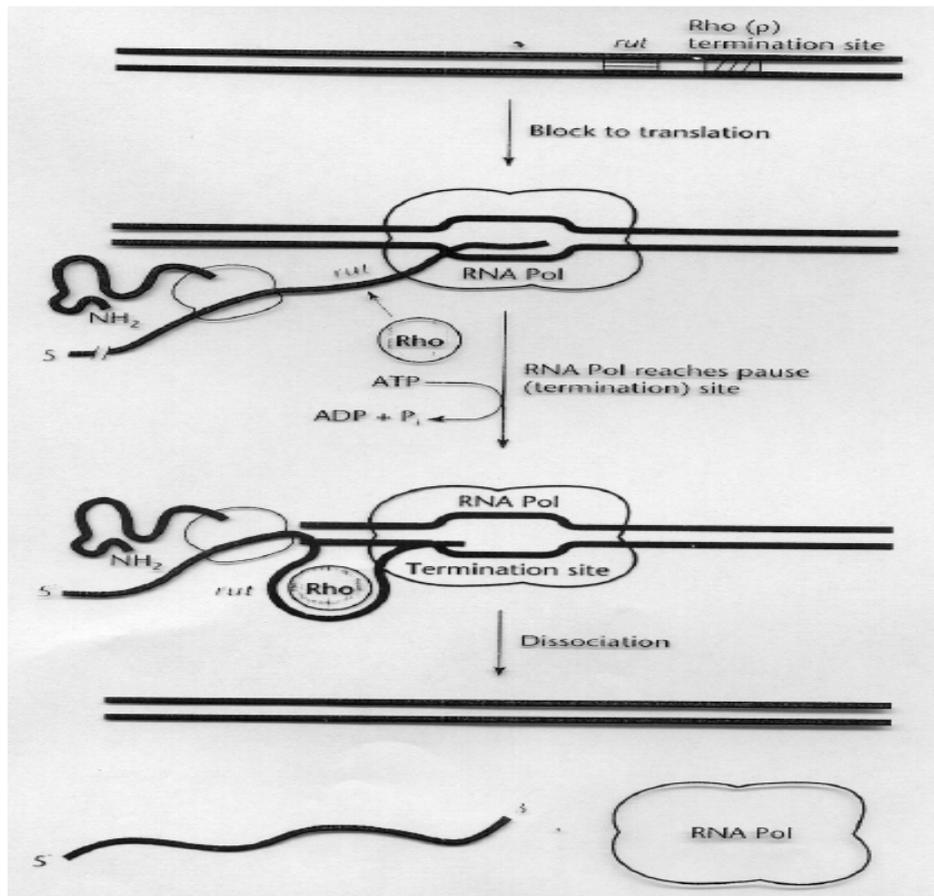


FIG N 56 : schéma général de la terminaison Rhô (ρ) dépendante

Quels sont les produits de la transcription?

La transcription consiste à produire un ARN complémentaire d'un brin d'ADN mais la transcription ne produit pas toujours des ARNm mais:

- Des ARNm → protéine
- Des précurseurs d'ARNt
- Des précurseurs d'ARNr

V.4. Les modifications post-transcriptionnelle

a) Les ARNm

Il n'existe pratiquement pas de modifications d'ARNm. D'ailleurs chez les procaryotes la traduction démarre (en 5' d'ARNm) avant même que la transcription en 3' soit terminée.

b) Les ARNt et les ARNr

Chez les procaryotes les gènes codant pour les ARNt et les ARNr sont organisés en opérons.

EXP: 7 opérons dispersés dans le génome d'E.Coli

Le précurseur d'ARNt contient plusieurs séquences d'ARNt, et dans certain cas, des séquences d'ARNr.

Le précurseur d'ARNr contient plusieurs séquences d'ARNr, et dans certain cas, des séquences d'ARNt (**Fig 57**).

La transcription d'un gène d'ARNt ou d'ARNr donne en fait un précurseur qui devra être modifié pour donner l'ARNt ou l'ARNr final.

Les ARNt subissent une maturation qui correspond à un clivage additionnel à partir de précurseurs et des modifications:

- Addition des 3 nucléotides CCA à l'extrémité 3'.
- Des modifications des bases azotées:
 - Méthylation des bases azotées : Méthylation de l'uracile la transformant en thymine, Formation de 5 méthylcytosine...etc.
 - Réduction de l'uracile en dihydro-uracile.
 - Transformation de l'uridine en pseudo-uridine.

Les ARNr subissent également une maturation qui correspond à un clivage et élagage à partir de précurseurs.

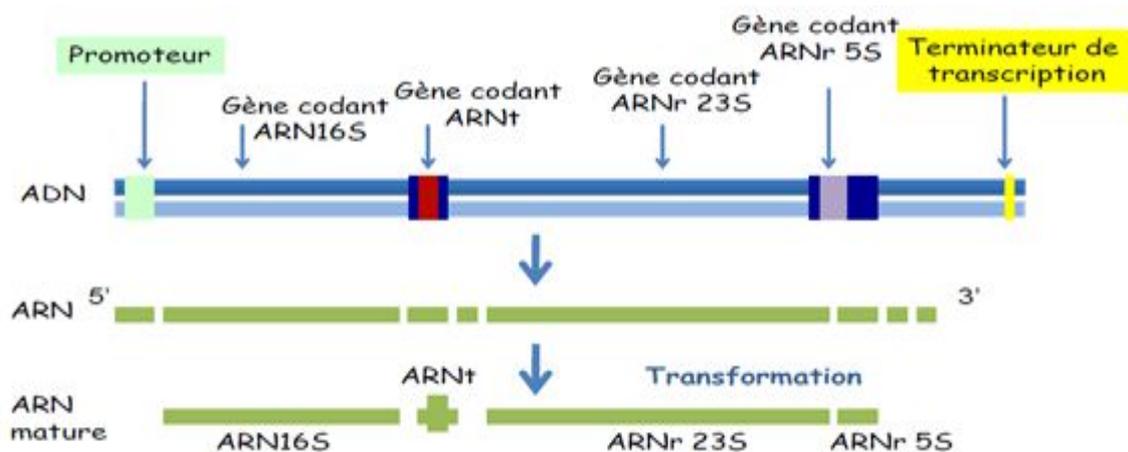


FIG N 57 : Opéron ARNr et sa transformation : unité bactérienne de transcription des ARNr

VI. LA TRANSCRIPTION CHEZ LES EUCARYOTES

La transcription a lieu chez les eucaryotes de la même manière que chez les procaryotes. Toutefois, **l'initiation** est plus complexe, **la terminaison** ne fait pas intervenir de structure en épingle de cheveux et la **transcription s'effectue au niveau du noyau** et est réalisée par **3 ARN polymérases** dont chacune transcrit un certain type de gènes d'une façon légèrement différente.

VI. 1. Les ARN-polymérases eucaryotes

Trois ARN-polymérases eucaryote ont été mis en évidence. Elles diffèrent par leur localisation dans le noyau et par la nature des ARN formés.

- ARN-polymérase I: dans le nucléole pour les ARNr 5,8 ; 18 et 28 S
- ARN-polymérase II dans le nucléoplasme qui synthétise les RNA messagers qui contiennent l'information destinée à la traduction et certains des snRNA
- ARN-polymérase III dans le nucléoplasme pour les ARNt, ARNr 5 S et pour certains snARN.

Ces polymères ne fonctionnent correctement qu'en présence de très nombreuses protéines supplémentaires appelées facteurs de transcription.

VI.2. La transcription par ARN polymérase II

VI.2. 1. L'initiation

a) Complexe protéique nécessaire à la transcription

Le promoteur de beaucoup de gènes des eucaryotes comporte une séquence similaire à la séquence TATAA, siégeant de 25 à 30 nucléotide en amont du site de démarrage de la transcription ; cette séquence est appelée boîte TATA ressemble à l'élément -10 du promoteur bactériens (**Fig 58**).

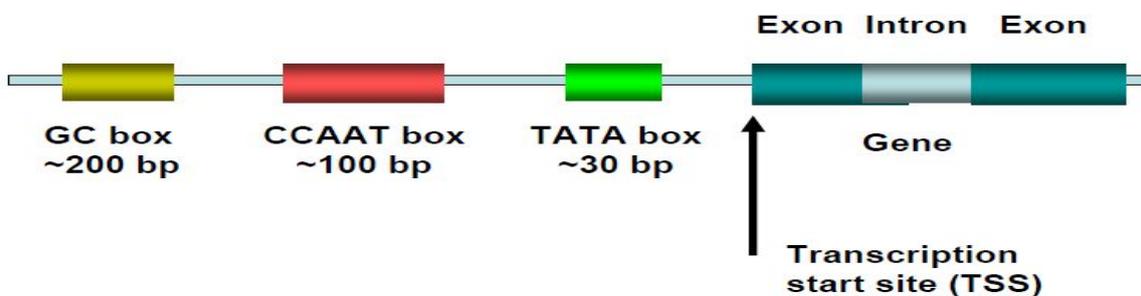


FIG N 58 : Présentation schématique des promoteurs proximaux de certains gènes chez les eucaryotes

L'ARN-polymérase II n'étant pas suffisante pour démarrer la transcription, elle nécessite d'autres protéines interagissant avec l'ADN du promoteur, appelées **TFII** (pour *transcription factor II*, facteurs de transcriptions interagissant avec l'ARN-polymérase II) (**Fig 59**).

Il faut au **moins 6 facteurs de transcription généraux différents** pour amorcer la transcription par l'ARN polymérase II :

TFII D

TFII A

TFII B

TFII F

TFII E

TFII H.

- 1- La formation d'un complexe transcriptionnel débute par la fixation d'un facteur de transcription général appelé TFIID à la boîte TATA.

La protéine TFIID comporte elle-même plusieurs protomères, dont:

- une protéine appelée TBP (TATA binding protein) se fixant à la boîte TATA, qui reconnaît spécifiquement la séquence consensus TATAA.
- ainsi que d'autres polypeptides appelés facteur associés à TBP (TAF).

- 2- Une fois TFIID associé au promoteur, il recrute les autres facteurs de transcription. Ainsi, TFIIA vient stabiliser le complexe TFIID/TATA en interagissant directement avec l'ADN en amont de la TATA (augmente la liaison de la TFIID à la boîte TATA)

- 3- TBP recrute alors un autre facteur de transcription TFIIB, pour former un complexe TBP-TFIIB collé au promoteur. Ce facteur est certainement responsable du recrutement de la polymérase ainsi que de TFIIIF grâce à de multiples interactions avec ceux-ci.

- 4- A son tour, TFIIB recrute l'ARN polymérase, qui vient s'ancrer au complexe TBP-TFIIB de concert avec un 3^{ème} facteur TFIIIF.

- 5- Une fois l'ARN polymérase est attachée au promoteur, il faut encore la fixation de deux autres facteurs (TFIIE et TFIIH) pour que la transcription s'amorce.

- 6- La liaison directe de TFIIE avec la polymérase recrute le complexe TFIIH.

TFIIH est un facteur qui semble jouer au moins deux rôles importants: deux de ces protomères sont des hélicases, qui détordent l'ADN au site d'amorçage ; un autre protomère de TFIIH est une protéine kinase (qui sert à phosphoryler l'ARN-polymérase) qui libère la polymérase

de son association avec le complexe d'amorçage et lui permette de commencer à glisser sur la matrice pour allonger la chaîne d'ARN naissant.

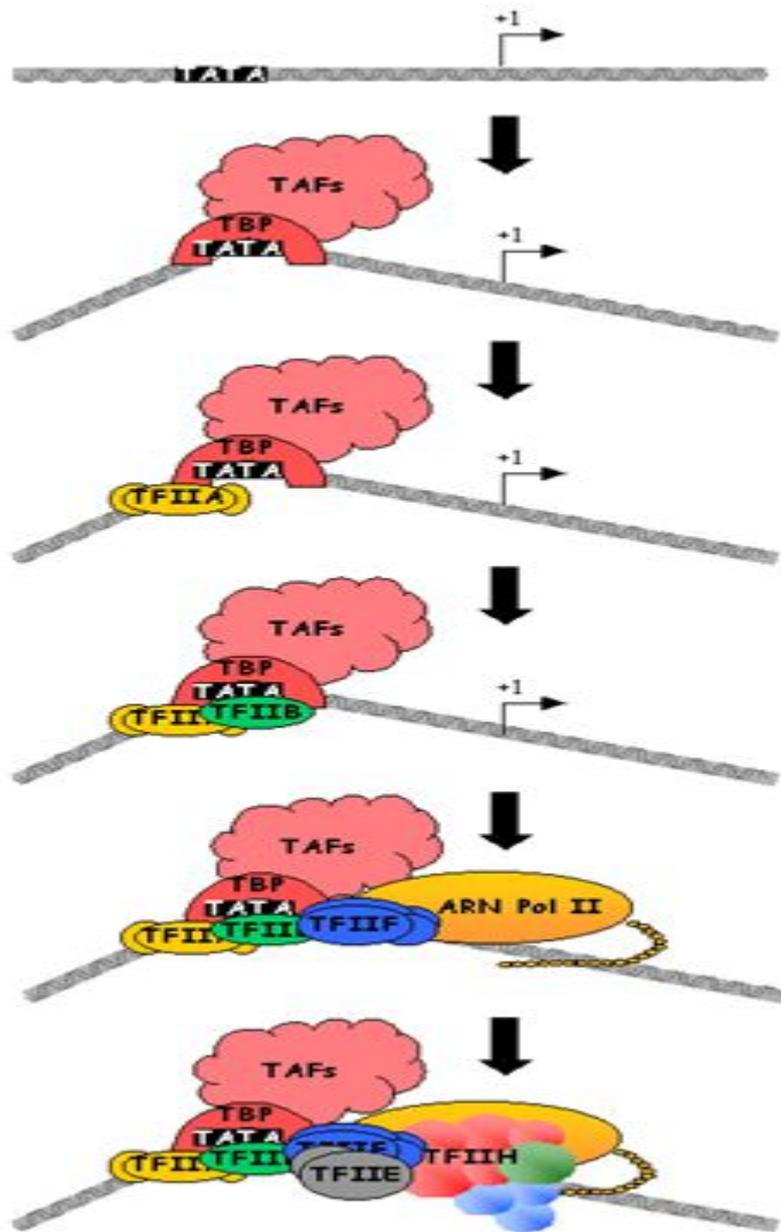


FIG N 59 : Représentation schématique du modèle d'assemblage séquentiel du complexe de pré-initiation sur le promoteur

B. Intervention de facteurs spécifiques de la transcription

Le complexe d'initiation composé de l'ARNpol II et des différents TFII est suffisant pour obtenir une activité transcriptionnelle *in vitro* mais à très faible taux. L'augmentation de cette activité basale (ou sa répression) est sous la dépendance de facteurs spécifiques qui vont interagir avec le complexe d'initiation. Ces protéines activatrices ou inhibitrices se lient à des promoteurs distaux, séquences spécifiques de l'ADN, appelées enhancer lorsqu'ils recrutent des cofacteurs

activateurs, ou silencer lorsqu'ils recrutent des cofacteurs inhibiteurs. Ces promoteurs distaux peuvent être situés à des milliers de nucléotides du promoteur proximal et agissent sur le promoteur proximal par le jeu de courbures de l'ADN.

Malgré la distance qui sépare les promoteurs proximaux des promoteurs distaux, ces derniers agissent sur le promoteur proximal comme activateurs (enhancers) ou represseurs (silencers) par le jeu de courbures de l'ADN, des facteurs de transcription et du médiateur qui maintient liés tous ces acteurs (**Fig : 60**).

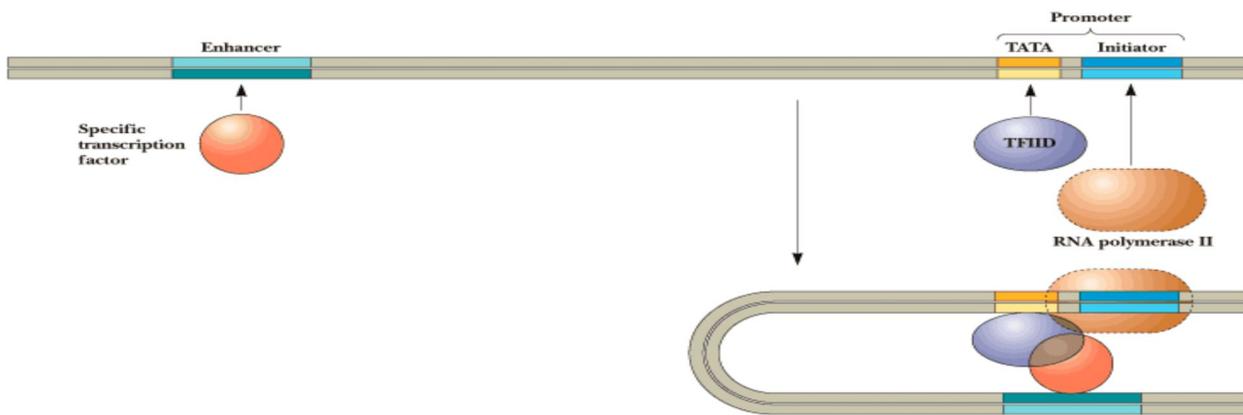


FIG N 60 : Représentation schématique d'un activateur de la transcription

C. L'étape de l'initiation

Tous les facteurs d'initiation de la transcription étant correctement assemblés au niveau du promoteur, ce complexe est alors prêt à entrer dans la phase d'initiation de la transcription proprement dite. Il est maintenant établi que l'initiation se déroule en trois étapes distinctes :

- **L'ouverture de l'ADN** au niveau du site d'initiation (appelée 'bulle' de transcription). Cette ouverture fait intervenir les activités hélicases de TFIIF (**Fig 61**).
- **L'allongement** de la bulle par synthèse d'une chaîne de quelques nucléotides **le relargage** des facteurs d'initiation (échappement du promoteur) (**Fig 61**).
- **Recrutement** des facteurs d'élongation (**Fig 61**).

La réaction d'initiation s'achève enfin par le départ des facteurs d'initiation de la bulle de transcription. TFIIB, partira le premier, suivi de TFIIE et TFIIF.

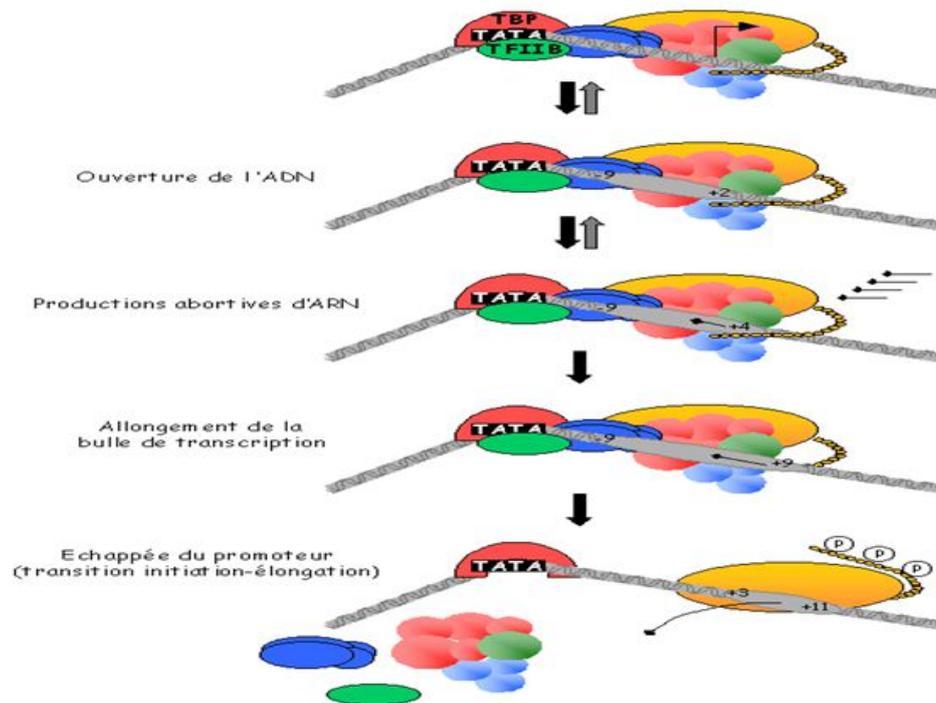


FIG N 61 : les différentes étapes de l'initiation de la transcription

VI.2. 2. Phase d'élongation

L'ARN Polymérase 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.

Au fur et à mesure de l'avancée de l'ARN Polymérase, l'ADN se reforme. L'ARNm est lui libéré au fur et à mesure de sa transcription.

Cette élongation nécessite des facteurs supplémentaires appelés facteurs d'élongation nécessaires au déplacement de l'ARN polymérase II.

L'ADN lu se rembobine immédiatement après la lecture.

VI.2. 3. La terminaison

L'ARN pol II est également équipé de facteurs protéiques de terminaison. Vers la fin du gène elle rencontre une séquence 3'-TTATTT-5' qu'elle reconnaît comme un signal de fin d'activité. La transcription s'arrête en effet peu après ce signal qui est transcrit en AAUAAA.

La RNA-polymérase quitte l'ADN et libère le transcrit d'ARN qui contient l'information génétique recopiée pour permettre l'expression du gène sous forme de protéine.

VI.3. Les modifications post-transcriptionnelle

La transcription de l'ARN polymérase II consiste à produire un transcrit primaire; **un ARN pré-messager** complémentaire d'un brin d'ADN qui doit subir une maturation dans le noyau de la cellule

Des ARN pré-messager → ARNm matures → protéine

Maturation des transcrits primaires

Le transcrit primaire (pré-ARNm) n'est pas utilisé tel quel pour la synthèse protéique (la traduction). Il doit subir des modifications qui répondent à plusieurs impératifs (augmentation de la demi-vie, modification de la séquence).

La maturation des transcrits primaires a lieu dans le noyau de la cellule et dure environ une heure.

Chez les procaryotes ce phénomène n'existe pas, le début de la traduction de l'ARNm se faisant avant la fin de la transcription, la cellule procaryote ne possédant pas de noyau.

Il existe trois grands types de modifications, catalysées chacune par des enzymes de nature protéique ou ribonucléique:

- Addition de la coiffe en 5' (ou capping)**
- Poly-adénilation en 3' par la poly-A polymérase**
- Excision des introns et épissage des exons (ou splicing)**

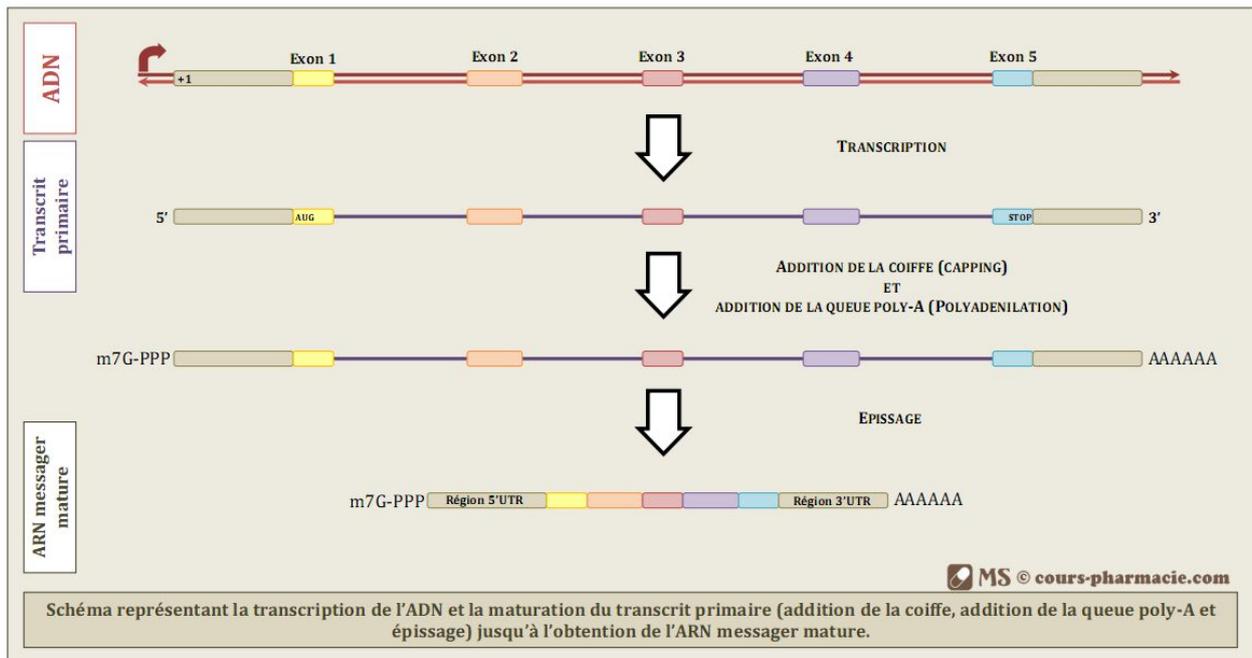


FIG N 62 : les différents étapes de la maturation du transcrit primaire

a) Addition de la coiffe en 5' (ou capping)

La coiffe correspond à l'ajout d'un groupement, dit « m7G », par une liaison 5'-5' triphosphate. Ce groupement m7G correspond à l'élimination de trois groupements phosphates et l'addition d'une molécule de Guanosine au niveau de l'extrémité 5' du transcrit primaire grâce à l'énergie libérée par l'hydrolyse de la molécule de GTP. Le nucléotide G va ensuite être méthylyé sur le septième carbone (C7) pour donner la 7-méthyl-guanosine, ainsi que de la méthylation en 2' du ribose des un ou deux premiers nucléotides du transcrit primaire (Fig : 63).

La coiffe est ajoutée grâce à un complexe protéique appelé « Cap-Binding-Complex »

Cet ensemble sert de coiffe protectrice à l'extrémité 5' de l'ARNm. Elle est également nécessaire à l'exportation de l'ARNm vers le cytoplasme et à la liaison de ce dernier avec la petite sous-unité du ribosome lors de l'étape d'initiation de la traduction.

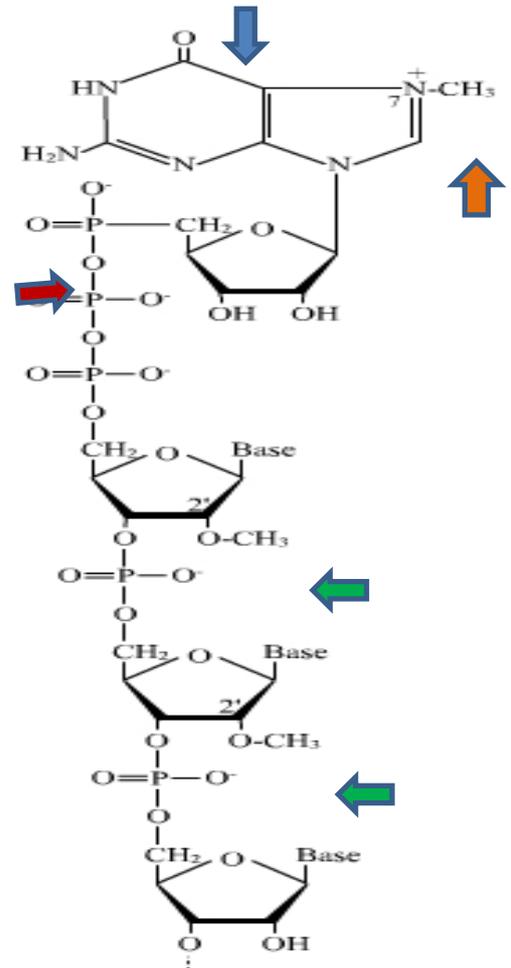


Figure 63 : Structure de la coiffe d'un ARN.

b) Poly-adénilation en 3' par la poly-A polymérase (PAP)

La poly-adénilation correspond à l'ajout de jusqu'à 200 adénines à l'extrémité 3' du transcrit primaire et ceci sans matrice par la poly-A-polymérase (Fig : 64).

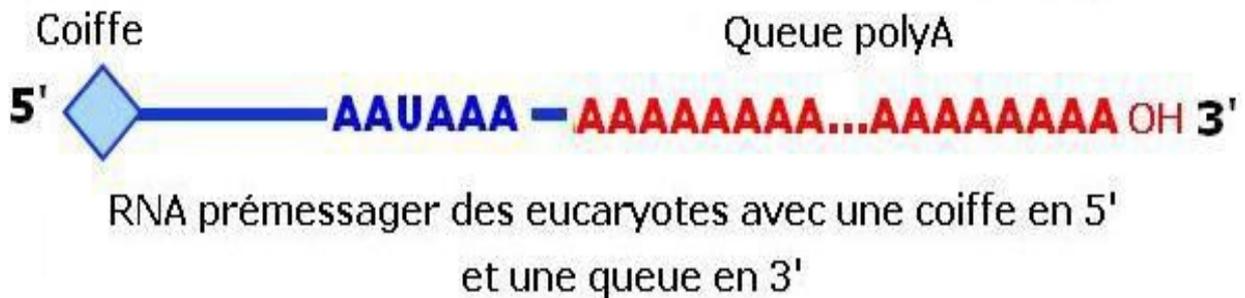


FIG N 64 : Pré-ARNm des eucaryotes avec une coiffe en 5' et une queue en 3'

Cette modification nécessite la présence des séquences signaux dans le pré-ARNm:

- **la séquence signale de polyadénylation AAUAAA** située au niveau de l'extrémité 3' du pré-ARNm qui permet le recrutement de la PAP (**Fig : 64**).

- **La séquence CA** se rencontre dans les 11 à 20 bases en aval de la séquence signale de polyadénylation qui représente le site de clivage du pré-ARNm qui servira ensuite de site d'addition de poly A.

- **une séquence riche en GU** situé en aval du site de coupure (**Fig : 65**).

De nombreuses protéines spécifiques reconnaissent et fixent ces séquences signaux et forme un complexe qui clive le pré-ARNm au site de clivage.

La poly-A-polymérase utilise son activité endo-nucléasique qui va cliver la molécule de préARN au niveau du site de clivage et son activité A-polymérasique pour additionner une queue poly A d'une taille de 100 à 200 nucléotides A.

Il est intéressant de noter que cette polymérase n'utilise pas de matrice ADN pour créer cette séquence poly(A). La queue Poly(A) n'est donc pas codée par le génome.

Cette queue poly(A) confère de la stabilité au futur ARNm et se perd au fur et à mesure qu'il est traduit (protège l'ARNm d'une dégradation de la séquence codante en 3' par des nucléases. Elle est également nécessaire à l'exportation de l'ARNm vers le cytoplasme.

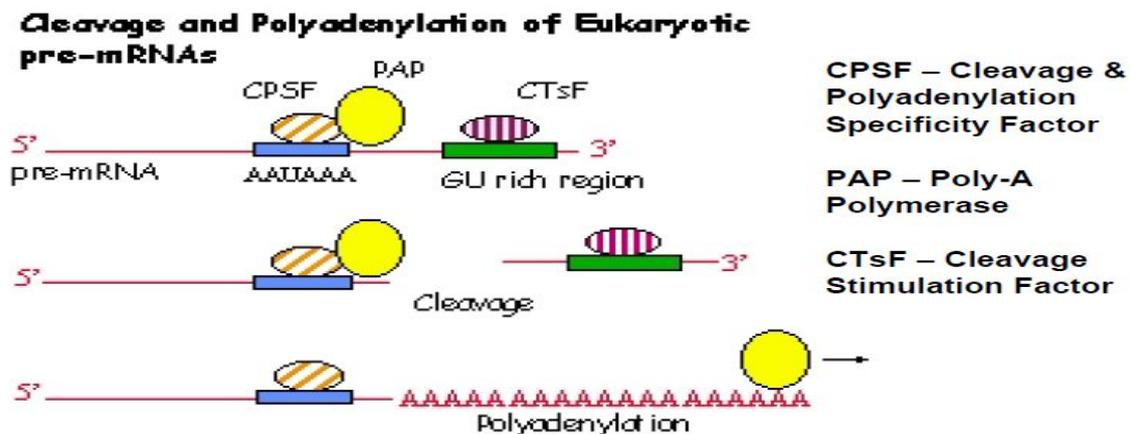


FIG N 65 : Le complexe de clivage impliqué dans la maturation en 3' du préARNm.

C) Excision des introns et épissage des exons (ou splicing)

Après l'addition de la coiffe et la poly-adénylation, le transcrit primaire est encore soumis à l'excision des introns et l'épissage des exons ; les introns sont ainsi éliminés

Ceci est possible par la présence de:

- **Site donneur d'épissage** (dinucléotide GU) à l'extrémité 5' des introns.
- **Site accepteur d'épissage** (dinucléotide AG) à l'extrémité 3' des introns.
- **Point de branchement** (séquence branchpoint) qui est une Adénine située près de l'extrémité 3' de l'intron à environ -10 à -40 nucléotides (**Fig 66**).

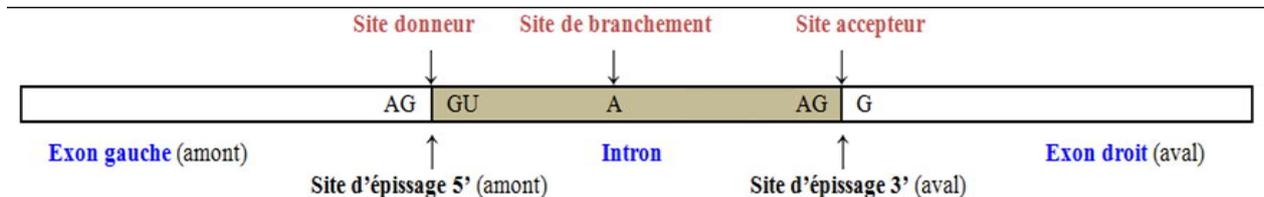


FIG N 66: les sites impliqués dans l'étape d'excision et d'épissage

Les jonctions d'épissage sont reconnues par plusieurs ribonucléoprotéines ou **snRNP** (ou **snurps** pour *Small-Nuclear-Ribonucleo-protein-Particules*) (**Fig :67**).

Les snRNP correspondent à l'association de snRNA et de protéines et l'ensemble des snRNP

Elles sont organisées en une structures complexe appelée le **spliceosome**(**Fig :67**).

Ce splicéosome comporte 5 snRNP: U1, U2, U4, U5, U6. en plus de ces snRNP , d'autres protéines du splicéosome interviennent pour stabiliser l'édifice.

L'excision des introns et l'épissage des exons se fait en plusieurs étapes (**Fig 67**):

- 1- Le U1 se fixe sur le site donneur (5' de l'intron)
- 2- Le U2 se fixe sur le point de branchement, puis les protéines U4 et U6 s'associent à U2
- 3- le U5 se fixe près du site accepteur.
- 4- formation d'un complexe « splicéosome » qui conduit l'intron à faire une boucle qui sera éliminée par la suite.
- 5- la 1^{ère} transestérification se produit avec ouverture de la liaison phosphodiester 3'5' de la jonction exon-intron et formation d'un lasso; Ce lasso forme une liaison avec le site de branchement (il se forme alors une liaison 2'-5' entre l'adénine (site de branchement) et la guanine (5' de l'intron))
- 6- changement de conformation de la position de U4-U6.
- 7-deuxième transesterification : attaque par le 3' de la fin de l'exon n sur l'extrémité 5' de l'exon n+1, formation d'une liaison phosphodiester entre l'extrémité 3'OH de l'exon n et l'extrémité 5'P de l'exon n+1.

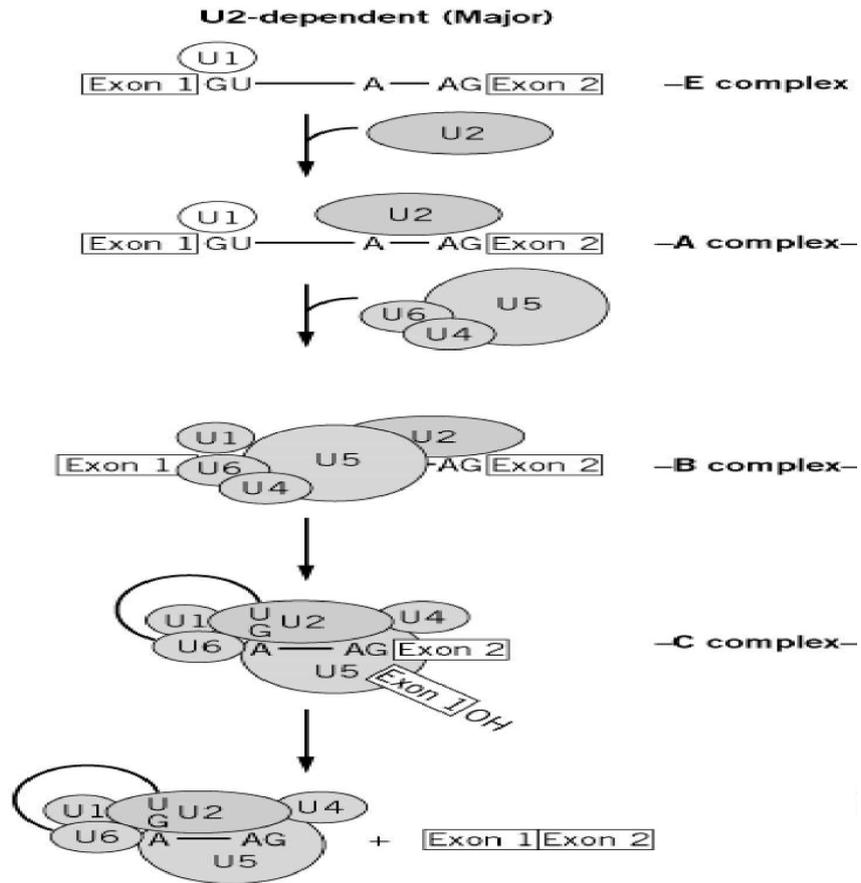


FIG N 67: Excision de l'intron par formation d'un lasso : le splicéosome

d) L'épissage alternatif

A partir d'un transcrit primaire on peut avoir deux ou plus ARNm matures qui seront à l'origine de la formation des protéines-isoformes. Ceci est possible grâce à l'épissage alternatif qui consiste en l'élimination de certains exons. En effet certains exons sont constants au niveau des différents ARNm matures et d'autres sont variables et spécifiques du tissu dans lequel se trouve la protéine isoforme (Fig 68).

Exemple :

Au niveau du gène de la tropomyosine on met en évidence 12 exons au total dont 7 sont constants et 5 sont alternatifs.

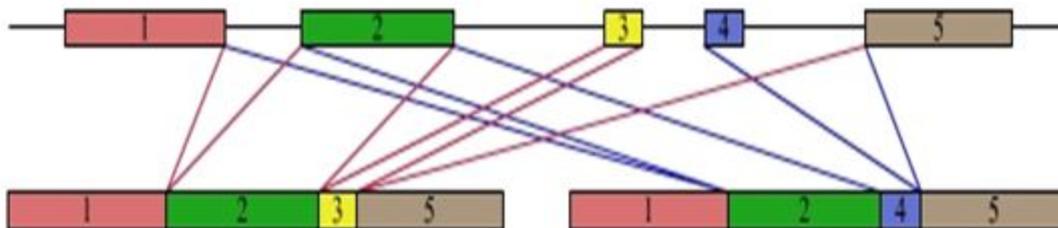


Figure 68 : Exemple d'épissage alternatif.

VII. LA TRANSCRIPTION PAR L'ARN POLYMERASE I ET III

- L'ARN polymérase I transcrit les gènes codant pour 3 des 4 ARN ribosomiaux (18S, 28S, 5,5S).
- L'ARN polymérase III transcrit les gènes codant pour les ARNt, ARNsn et ARN ribosomal 5S.
- Les séquences promotrice des gènes reconnues par la polymérase I sont différents que ceux de la polymérase II
- L'ARNpolymérase III qui transcrit les ARNt et les petits ARN reconnaît un promoteur à l'intérieur du gène.
- Les deux types d'ARN polymérase nécessitent des cofacteurs protéiques pour l'initier la transcription (FTI et FTIII)

Les modifications post-transcriptionnelle

- L'ARN 5S, et ARNsn pas de maturation
- Les ARNr et les ARNt: les deux types de modification post-transcriptionnelle observées chez les eucaryotes pour la formation des ARNr et des ARNt sont comparables à ceux des procaryotes. Certains ARNt et ARNr possèdent des introns qui sont éliminés par des mécanismes différents de ceux mis en jeu par les introns des ARNm.
- La synthèse et la maturation des ARNr 18S, 28S, 5,5S s'effectue au niveau des nucléoles.

DIFFERENCES ENTRE PROCARYOTES ET EUCARYOTES

- Les procaryotes ont 1 ARN pol; les eucaryotes ont 3 ARN pol qui produisent différents types d'ARN.
- L'initiation de la transcription est simple pour les procaryotes, complexe pour les eucaryotes. Elle est dépendante du promoteur qui chez les procaryotes est une séquence systématique courte en amont du gène; chez les eucaryotes c'est une séquence longue très éloignée du gène avec site régulateur.
- La transcription et la traduction des ARNm sont simultanées chez les procaryotes; différées dans le temps chez les eucaryotes. Chez les eucaryotes, il y a d'abord la copie du transcrit primaire puis maturation de l'ARNm (coiffe, queue polyA et epissage). La transcription dans le noyau traduction dans le cytosol.

EXERCICES ET QCM

Exercice 1

Soit le polydésoxiribonucléotide suivant :



1. Pourquoi le reste nucléotidique de l'extrémité 5' porte-t-il un groupement triphosphoryl ?
2. Ecrire la séquence synthétisée, brin (c), en réponse de la RNA poly quand le polydésoxiribonucléotide complémentaire au brin (a) sert de matrice.

Exercice 2

La figure ci-après présente une portion de séquence nucléotidique retrouvée sur six ARNm pré-messager d'origines différentes :

Exon	Intron	Exon		
...UGGGCAG	GUGAGC.....	CUUUUUAG	GCUGCUG	
...CUUCACG	GUGAGU.....	UCCUACAG	CUCCUGG	
...UCAAAAG	GUAGGC.....	GUAUUCAG	UGUGGCA	
...UGAGCAG	GUAUAU.....	CCUUGCAG	CUUGAGA	
...ACAAAUG	GUAAGU.....	UCUAAAAG	GAAUUAU	
...AAUAAG	GUGAGC.....	AAUUACAG	GUUGUUC	

1. Indiquer le(s) point(s) commun(s) à tous ces ARNm.
2. Au vu des constats précédents, schématisez la structure d'un pré-ARNm.
3. Quel rôle physiologique attribue-t-on à ce(s) point(s) commun(s) ?
4. Ces ARNm messenger sont-ils d'origine eucaryote ou procariote ?

Exercice 3 (QCM)

QCM 1: Parmi les propositions suivantes, Quelle(s) est (sont) celle(s) qui concerne(nt) à l'ARNm des procaryotes et à l'ARNm des eucaryotes:

- A. Code généralement pour une seule chaîne polypeptidique.
- B. Code généralement pour plusieurs chaînes polypeptidiques.
- C. Est très instable.
- D. Possède généralement une séquence polyadénylique à l'extrémité 3'.
- E. Possède une structure « CAP » à l'extrémité 5'.

QCM 2 : Parmi les composés suivants, cocher celui (ceux) qui participe(nt) à la synthèse de l'ARN pré-messager chez les eucaryotes :

- A. dATP.
- B. ATP.
- C. CTP.
- D. ARN polymérase II.
- E. ADN.

QCM 3: Cocher la (les) proposition(s) exacte(s) concernant les ARNm :

- A. Transportent les acides aminés.
 B. Portent toujours une séquence poly A.
 C. Présentent un rapport G/C = 1.
 D. Absorbent la lumière à 260 nm.
 E. Contiennent la séquence du promoteur.
 F. Sont porteurs en 3' du nucléotide 7 mG.
 G. Ont un coefficient de sédimentation constant de 4 S.
 H. Subissent toujours épissage au cours de leur maturation.

QCM 4: Parmi les propositions suivantes concernant la transcription chez les procaryotes quelle(s) est (sont) celle(s) qui est (sont) inexacte(s) ?

- A. L'ARN polymérase se fixe sur une séquence spécifique de l'ADN à transcrire.
 B. Le promoteur est transcrit.
 C. Le promoteur est une séquence spécifique de l'ADN.
 D. Le promoteur est une séquence spécifique de l'ARNm.
 E. L'élongation d'un ARN se fait dans le sens 3' • 5'.
 F. Les ribonucléotides sont ajoutés sur l'extrémité 3' OH de l'ARN en cours d'élongation.

QCM 5: Parmi les propositions suivantes concernant la transcription chez les eucaryotes quelle(s) est (sont) celle(s) qui est (sont) exacte(s) ?

- A. Le complexe de l'ARN polymérase II interagit avec la séquence d'ADN « TATA ».
 B. La « TATA Box » est une séquence retrouvée dans tous les ARN.
 C. Plusieurs ARNm peuvent être transcrits à partir d'un même gène.
 D. Après la transcription les ARNm subissent une maturation.
 E. La séquence poly A est synthétisée par une poly A polymérase.
 F. Le signal de polyadénylation (AATAAA) est une séquence non transcrite.

QCM 6: Parmi les propositions suivantes relative à l'épissage des pré-ARNm, indiquez la (ou les) proposition(s) exacte(s) :

- A. Il combine deux réactions de trans-estérification.
 B. Le lasso est formé par l'établissement d'une liaison 5-2 phosphodiester entre le nucléotide Adénosine du site de branchement et un résidu guanosine situé à l'extrémité 3' de l'intron.
 C. Il met en œuvre 6 ribonucléoprotéines.
 D. Le site 5' donneur est reconnu et fixé par U2.
 E. L'épissage de tous les introns est nécessaire pour la production d'un ARN messager susceptible d'être traduit dans le cytoplasme.