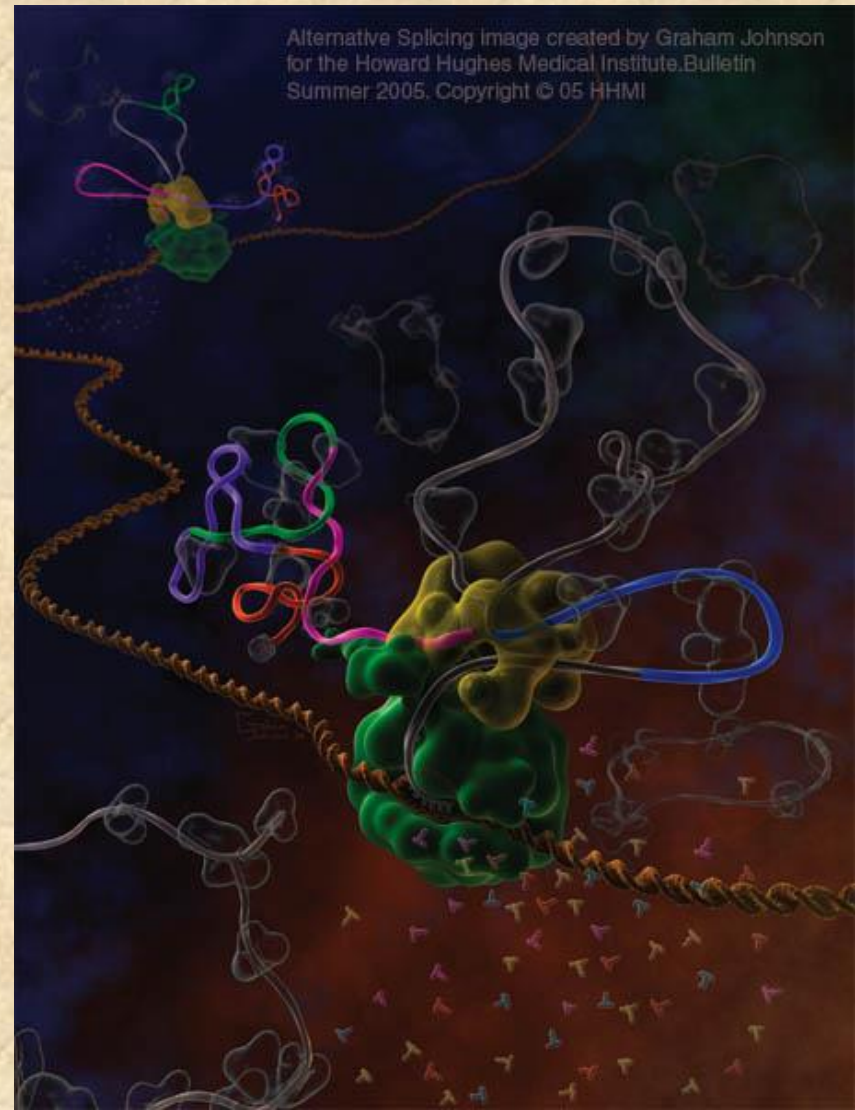


Cours de biologie Moléculaire (L3 Biochimie)

Cours 3

LA TRANSCRIPTION DE L'ADN CHEZ LES EUCARYOTES ET LES PROCARYOTES

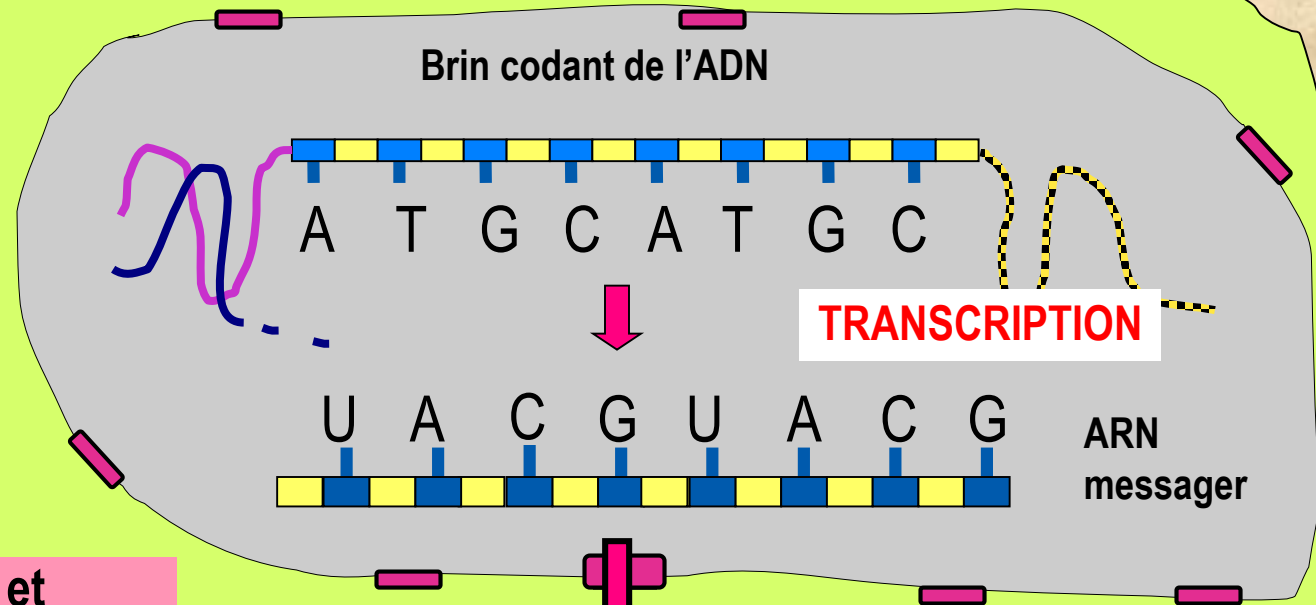
Dr. DAHMANI D I
2020



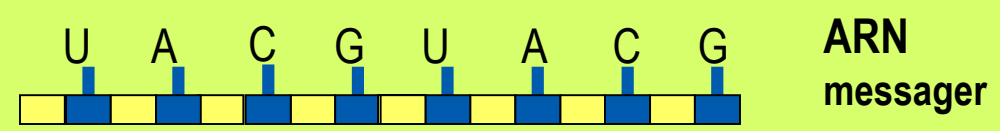
1. La synthèse des protéines, un processus cellulaire, se fait en deux étapes : transcription et traduction.
2. Les instructions nécessaires pour fabriquer une protéine sont codées dans un gène de l'ADN, plus particulièrement dans un gène de structure.
3. La transcription de l'ADN produit trois sortes d'ARN, tous nécessaires à la synthèse des protéines.
 - L'ARN messenger — ARNm
 - L'ARN de transfert — ARNt
 - L'ARN ribosomique — ARNr et les ribosomes
4. La traduction est la synthèse d'un polypeptide à partir de l'ARNm.
5. Quelques précisions sur la synthèse protéique.
6. Les deux populations de ribosomes — libres du cytosol et liés au REG — sécrètent deux groupes de protéines à destinée différente.

1. Un aperçu des 2 étapes de la synthèse des protéines : **TRANSCRIPTION** (dans le noyau) et **TRADUCTION** (dans le cytoplasme)

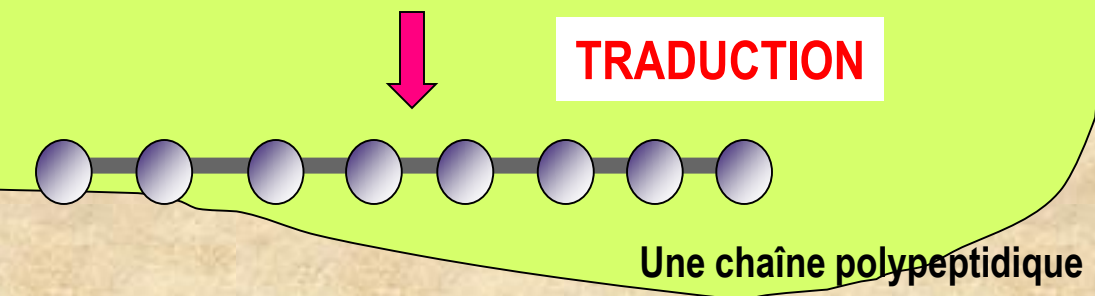
Synthèse d'un ARNm à partir du brin codant d'un gène



L'ARN m quitte le noyau et entre dans le cytoplasme

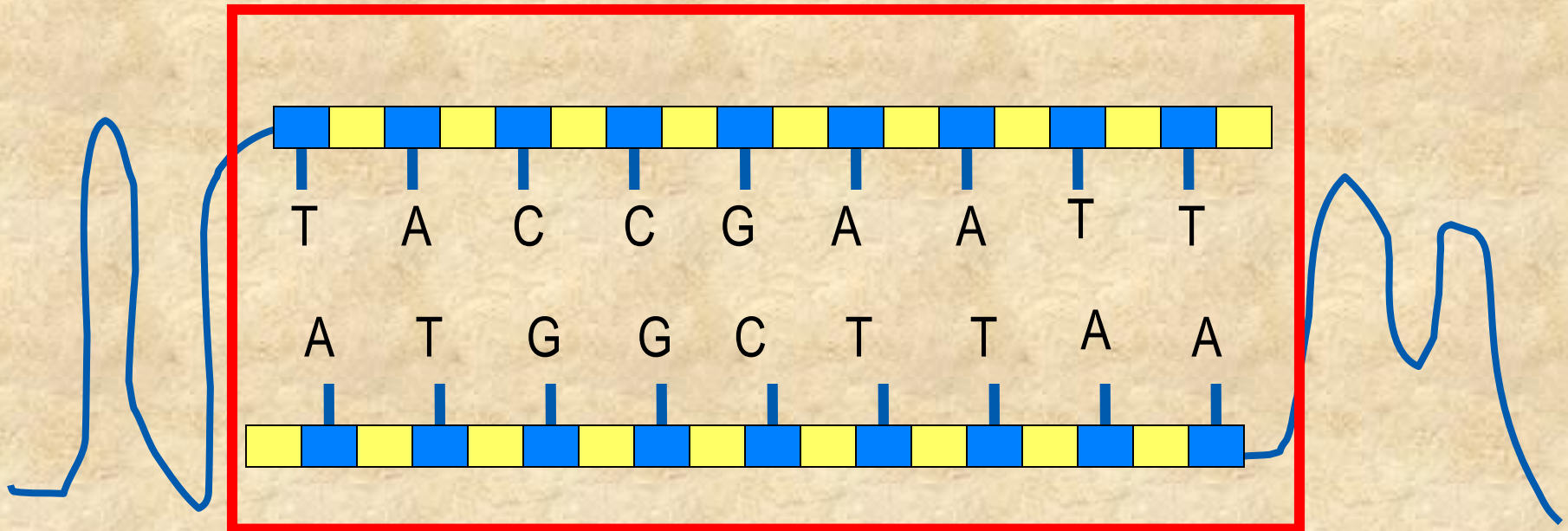


Synthèse d'un polypeptide à partir de l'ARNm



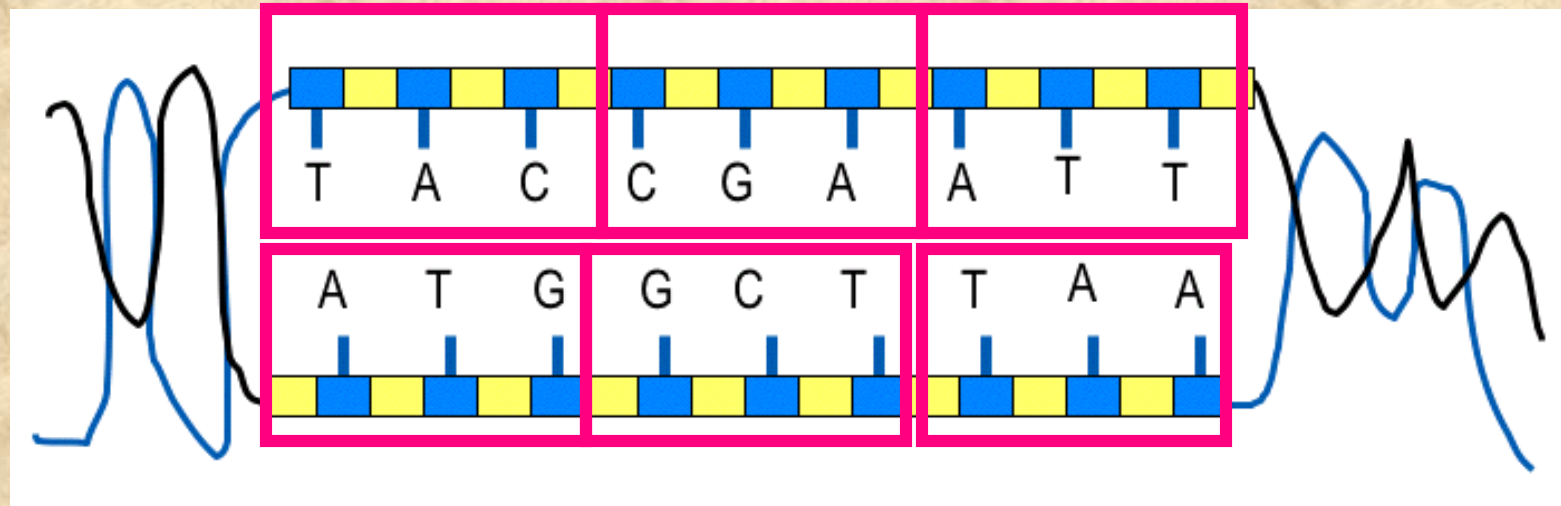
2. Les instructions nécessaires pour fabriquer une protéine sont codées dans un gène de structure

Le **gène de structure** est une portion d'ADN produisant l'ARN messager nécessaire à la fabrication d'une protéine particulière .

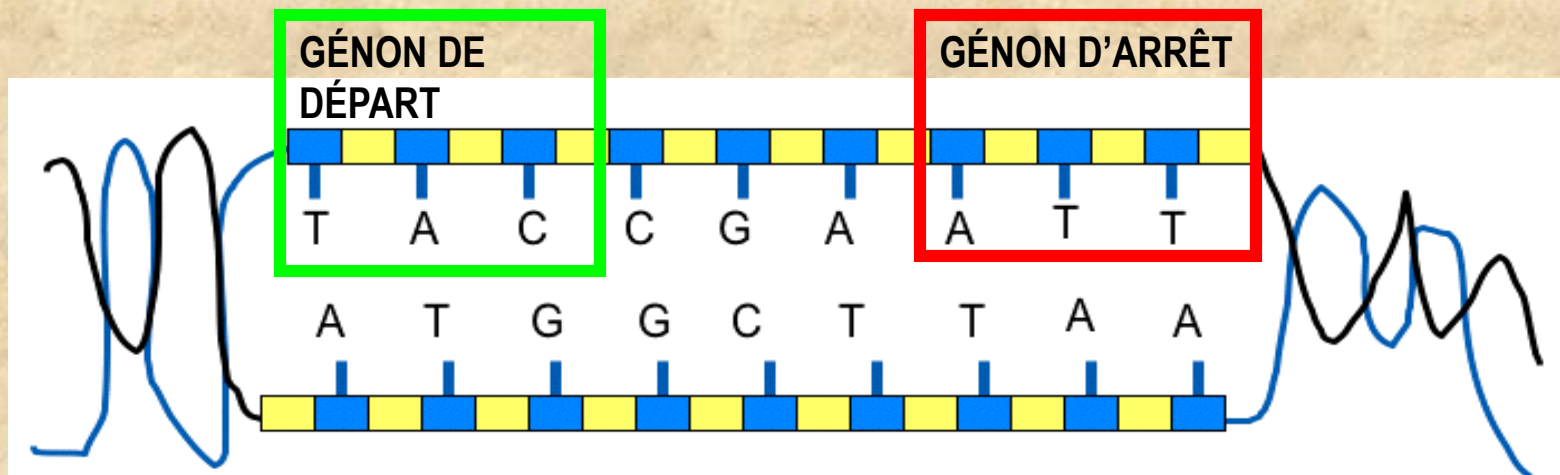


Il existe d'autres gènes que les gènes de structure. Ceux-ci remplissent diverses fonctions.

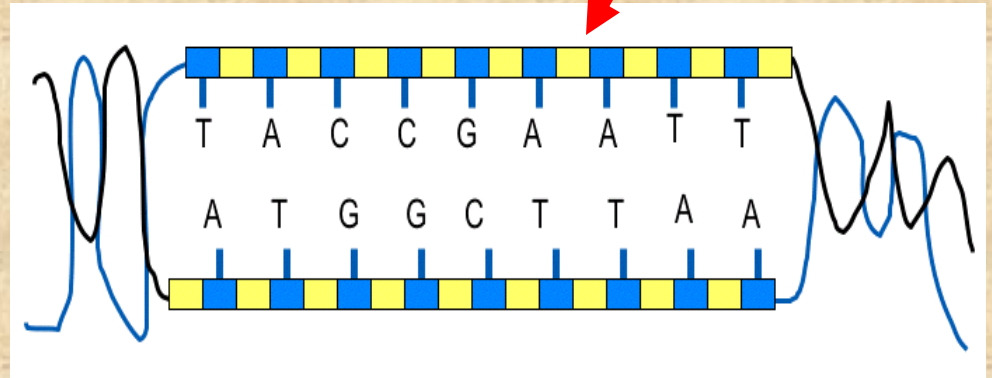
Le gène est constitué d'un ensemble de gènes : des triplets de nucléotides ADN.



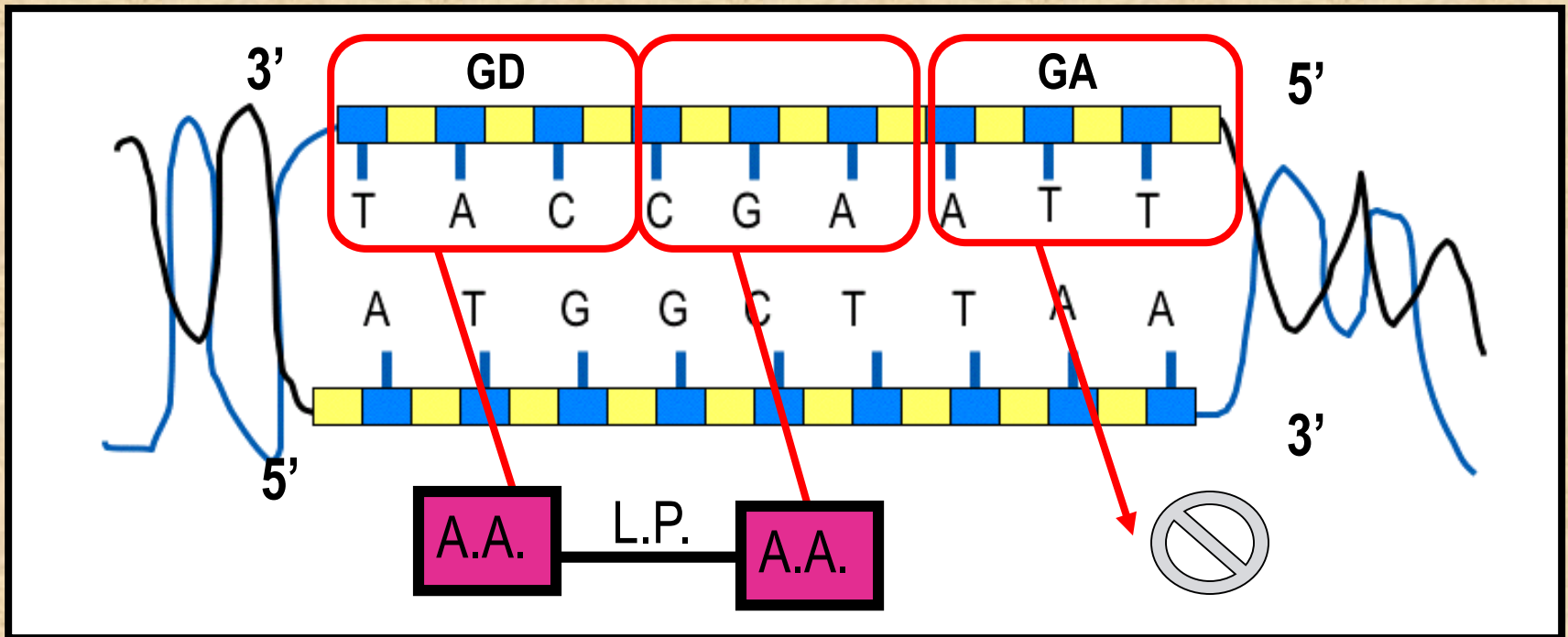
Le gène est délimité des gènes voisins par des gènes de départ et d'arrêt.



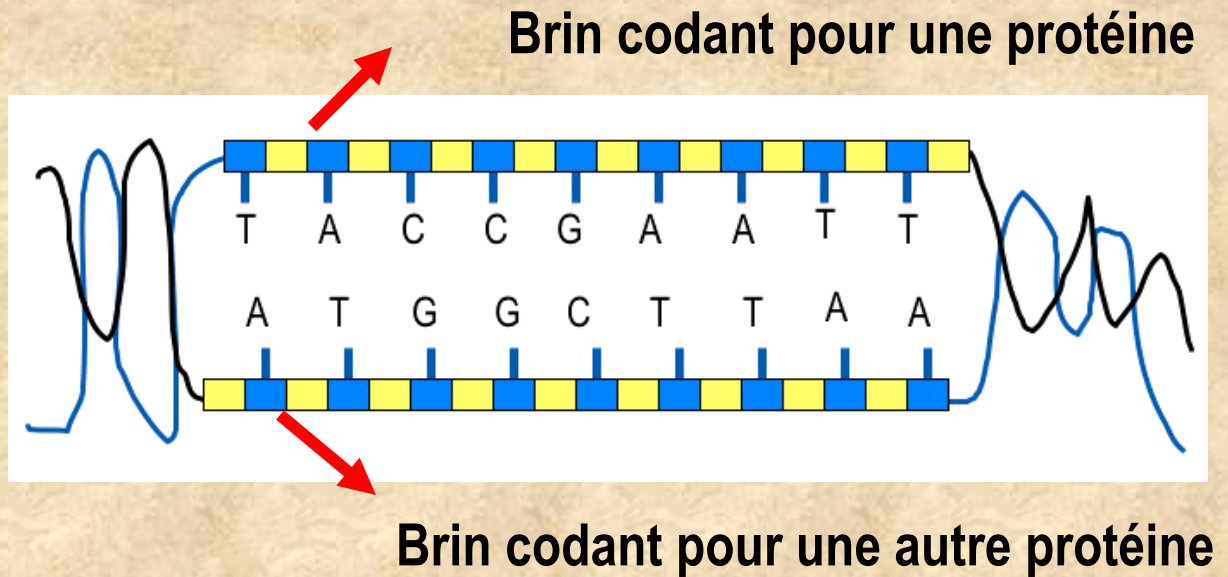
Seule une chaîne du gène sert de matrice pour la production d'un ARN messager (le brin codant).



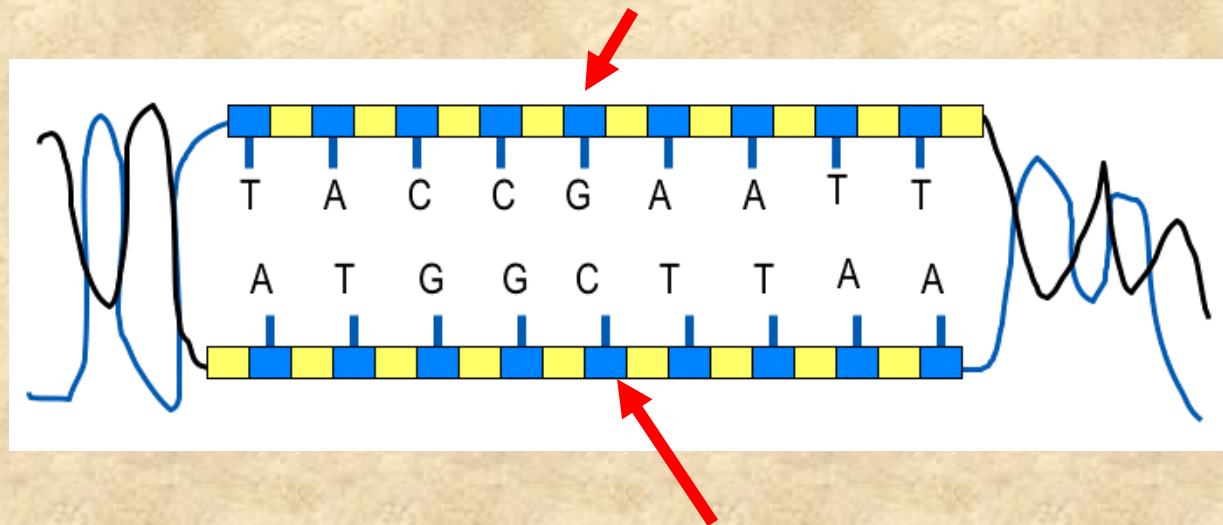
Chaque géron du brin codant détermine la mise en place d'un acide aminé dans la chaîne polypeptidique (sauf le géron d'arrêt).



Un brin non codant pour un gène peut l'être pour un autre.



Les deux brins servent de matrice lors de la synthèse de l'ADN.



La transcription : chez les eucaryotes


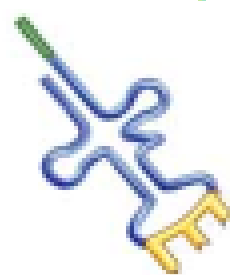

TRANSCRIPTION

- Lecture d'un gène par une RNA-polymérase qui synthétise un acide ribonucléique dont la structure primaire reproduit celle du brin "sens" de ce gène.

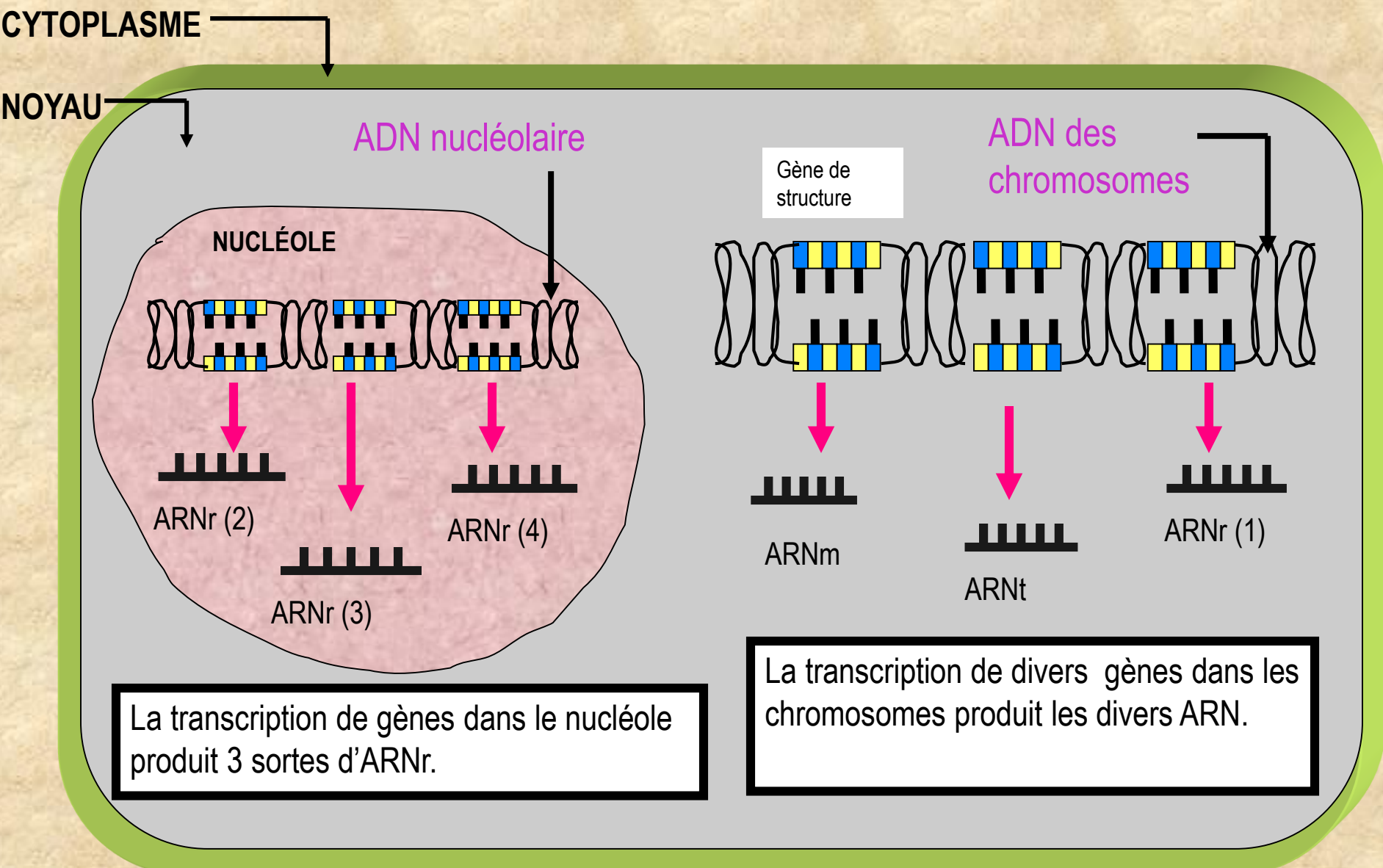
La transcription : chez les eucaryotes

- Mécanisme similaire, mais beaucoup plus complexe
- Plusieurs ARN polymérase :
 - ARN polymérase I (A) qui synthétise les RNA cytoplasmiques: RNA ribosomiques (18S - 5,8S - 28S)
 - ARN polymérase II (B) : qui synthétise les RNA messagers certains des snRNA
 - ARN polymérase III (C) : qui synthétise les petits RNA (tRNA, rRNA5S, snRNA, 7SL-RNA).
 - ARN polymérase IV spécialisé dans la transcription de l'ADN mitochondrial et la synthèse de l'hétérochromatine chez les plantes.
- Nombreux cofacteurs protéiques nécessaire à la fixation de l'ARN polymérase sur l'ADN.
- Structure des gènes des eucaryotes :
 - Gènes fragmentés
 - Exons : ADN contenant l'information génétique (traduit en acides aminés)
 - Introns : séquences intercalaires, fonctions ?

Rôle des différents ARNs

Type d'ARN	Fonctionne dans	Fonction
ARN messager (ARNm) 	Noyau, migre dans le cytoplasme (ribosomes)	Transporte l'information de la séquence ADN vers le ribosome
ARN de transfert (ARNt) 	Cytoplasme	Lie l'ARNm avec les acides aminés
ARN ribosomal (ARNr) 	Cytoplasme	Structure des ribosomes

3. La transcription de l'ADN (chez les eucaryotes) produit : de nombreux **ARN messager** — un pour chaque protéine différente, 4 types **d'ARN ribosomique** et environ 45 types **d'ARN de transfert**. Tous sont nécessaires à la synthèse des protéines.



La transcription de gènes dans le nucléole produit 3 sortes d'ARNr.

La transcription de divers gènes dans les chromosomes produit les divers ARN.

1. Les différentes phases de la transcription

➤ Étapes nucléaires :

- Transcription intégrale du gène (exons + introns)
- Addition du « cap » en 5' :
 - GMP méthylé sur l'azote 7 (donc charge +)
 - Mise en place rapide (avant la fin de la transcription)
 - Liaison au 1^{er} nucléotide par une liaison anhydride
 - Protection de l'ARNm des enzymes de dégradation
- Addition de polyA
 - Après transcription, addition d'environ 250 A
 - Aide passage vers cytoplasme

➤ Étapes cytoplasmiques :

- Maturation du pré-ARNm
- Épissage = coupure et élimination des introns

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

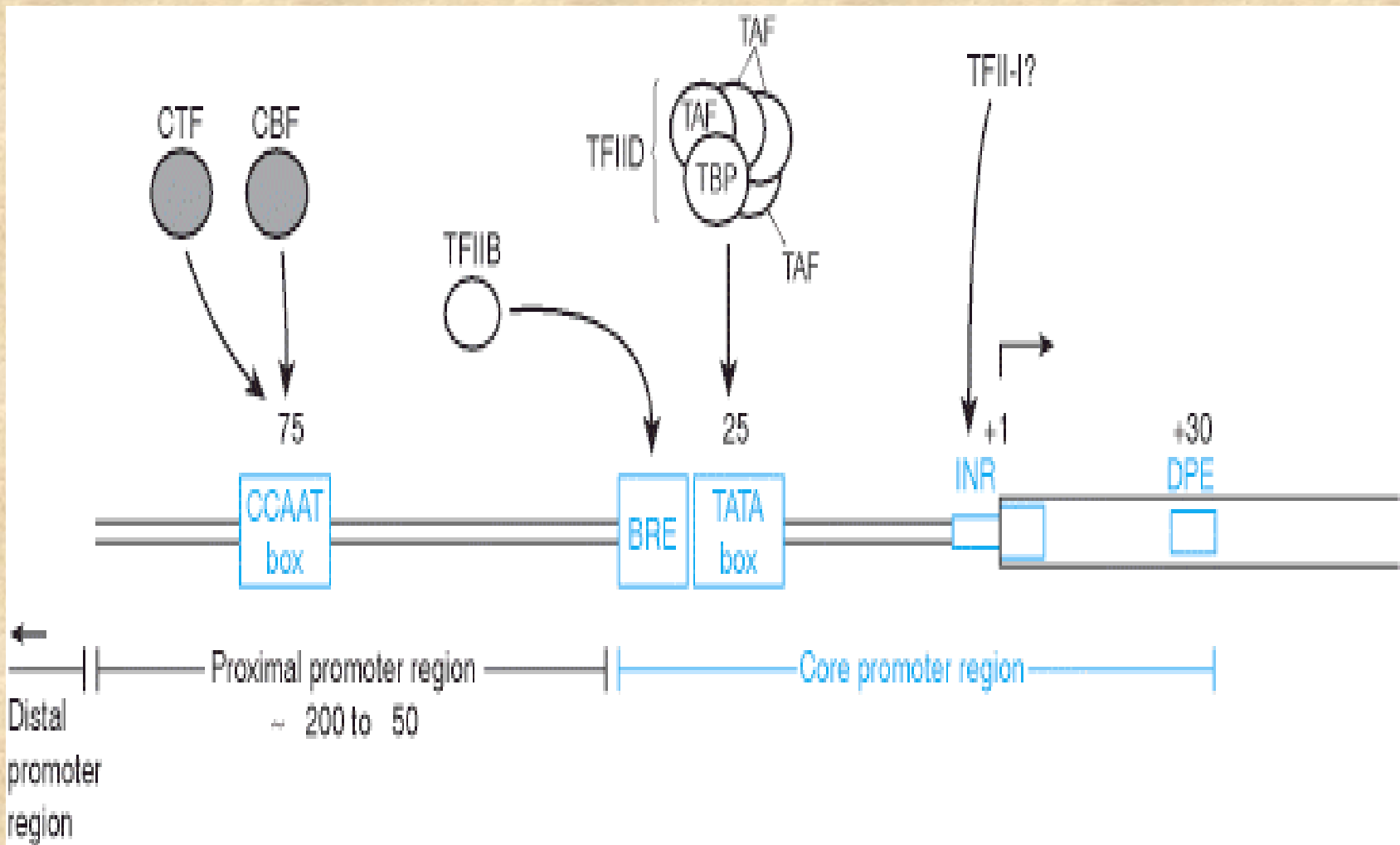


LES FACTEURS EN AMONT

TATAA : située à environ -25 pb du site +1

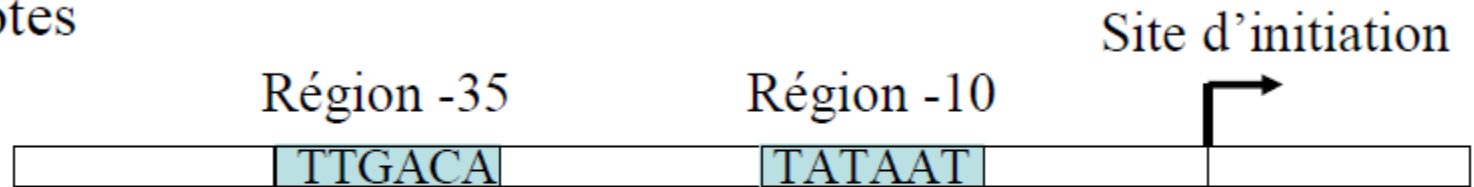
Initiateur (Inr) Py2CAPy5: -3 - +5

DPE (*Downstream promoter element*): +28 - +32

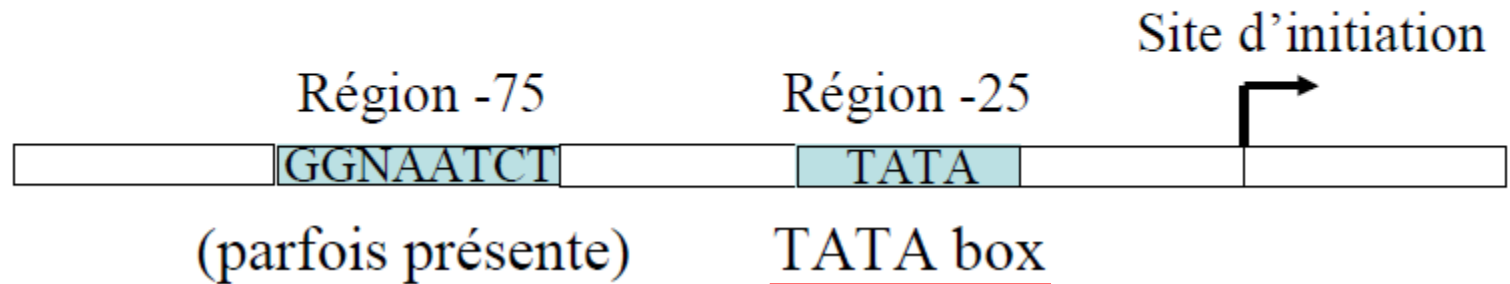


Promoteurs procaryotes versus eucaryotes

Procaryotes



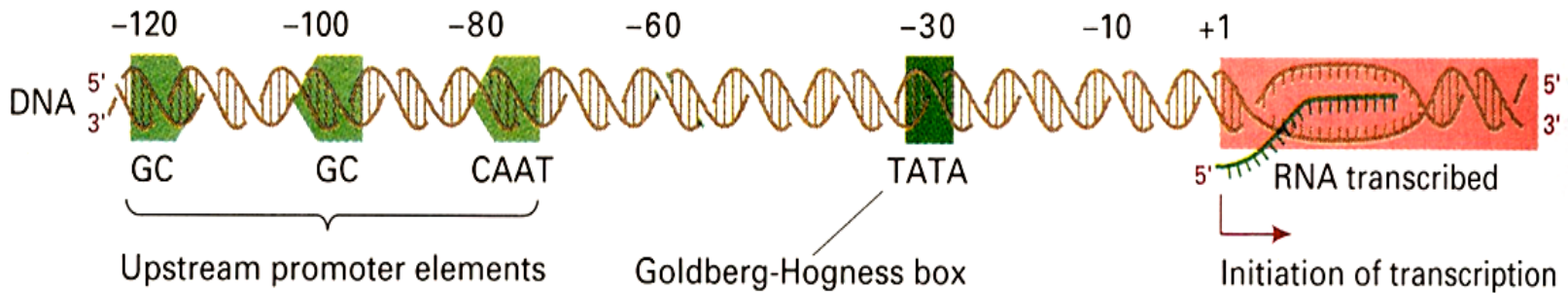
Eucaryotes



LES PROMOTEURS EUKARYOTES SONT COMPLEXES

EXEMPLE DE PROMOTEURS RECONNUS PAR L'ARN POL II

Promoter elements (modules) for a eukaryotic protein-coding gene transcribed by RNA polymerase II. Each promoter element has a different function in transcription. The DNA sequences between the elements are not important for the transcription process. Transcription factors bind to the elements to promote or repress transcription.



Chez les eucaryotes le promoteur comprend toutes les séquences importantes pour l'initiation de la transcription. Il est modulaire et complexe

Promoteur basal: -TATA box (-25) TATAWAW avec W=A ou T
-Inr YYA (+1) NWYY avec Y=C ou T

Éléments en amont: CAAT ou GC ou octamère (oct)

En général les promoteurs eucaryotes ne contiennent pas l'ensemble de ces éléments
Les nombres et positions des éléments en amont sont variables

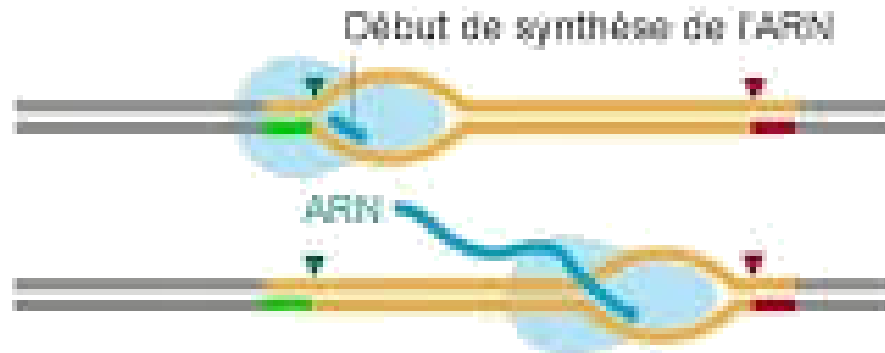
Mécanismes généraux de la Transcription par l'ARN polymérase II

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

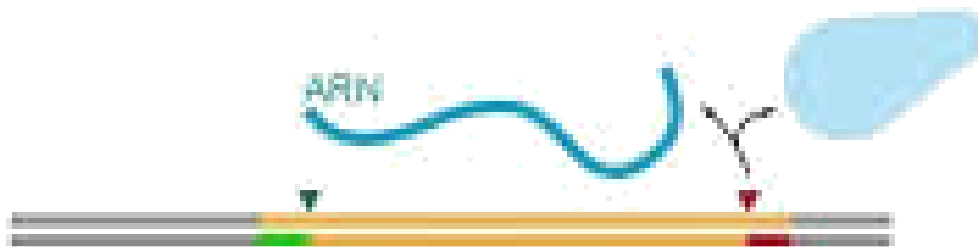
Initiation



Elongation



Terminaison



1.1. Initiation de la transcription et terminaison

Signaux moléculaires nécessaires à l'initiation:

- ❖ 30 pb : Boite **TATA** (équivalente de la Pribnow des procaryotes)
- ❖ 70 pb : **CAAT** ou **Enhancer** (virus): stabilisation du complexe ADN-ARNp

Signal de terminaison:

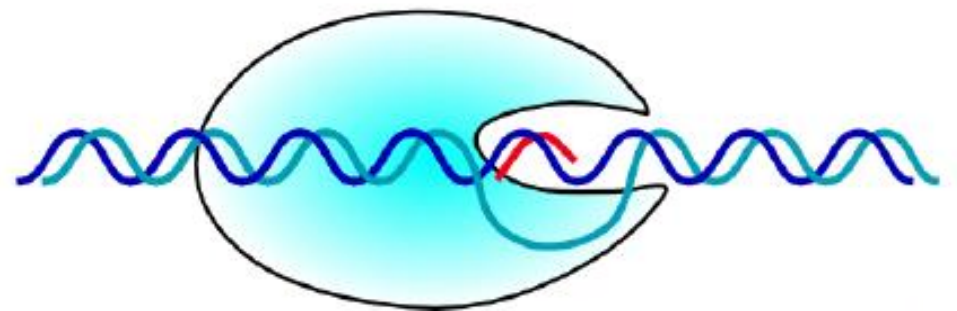
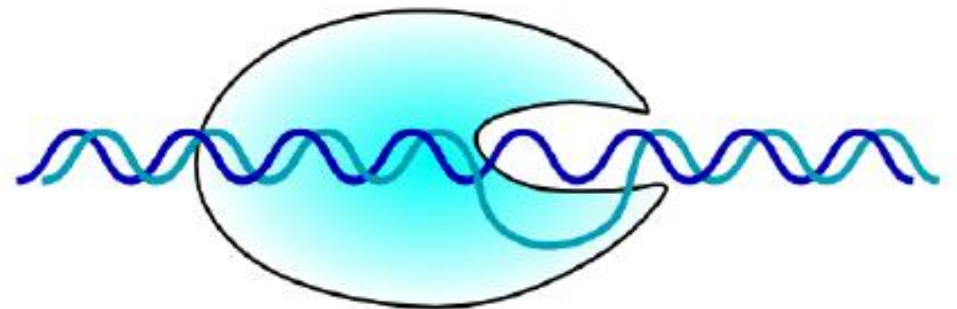
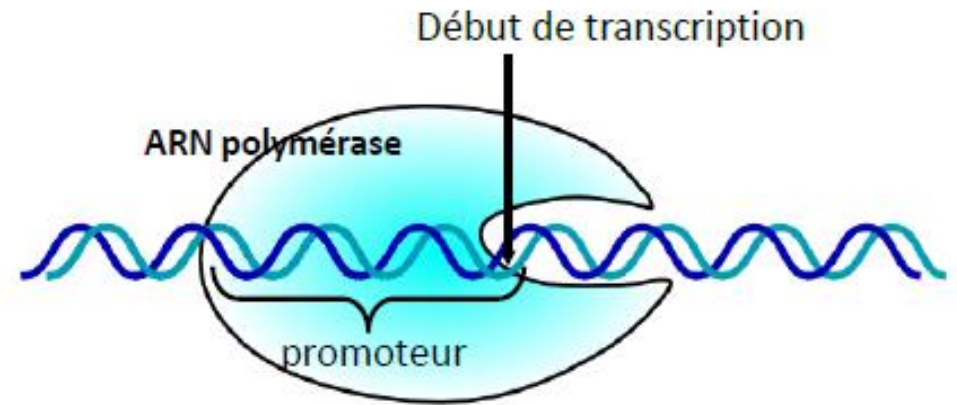
- ❖ Séquence de 6 pb à la fin du gène reconnue par ARN-endonucléase
>>> Extrémité 3' formée est polyadénylée dans le nucléoplasme.

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

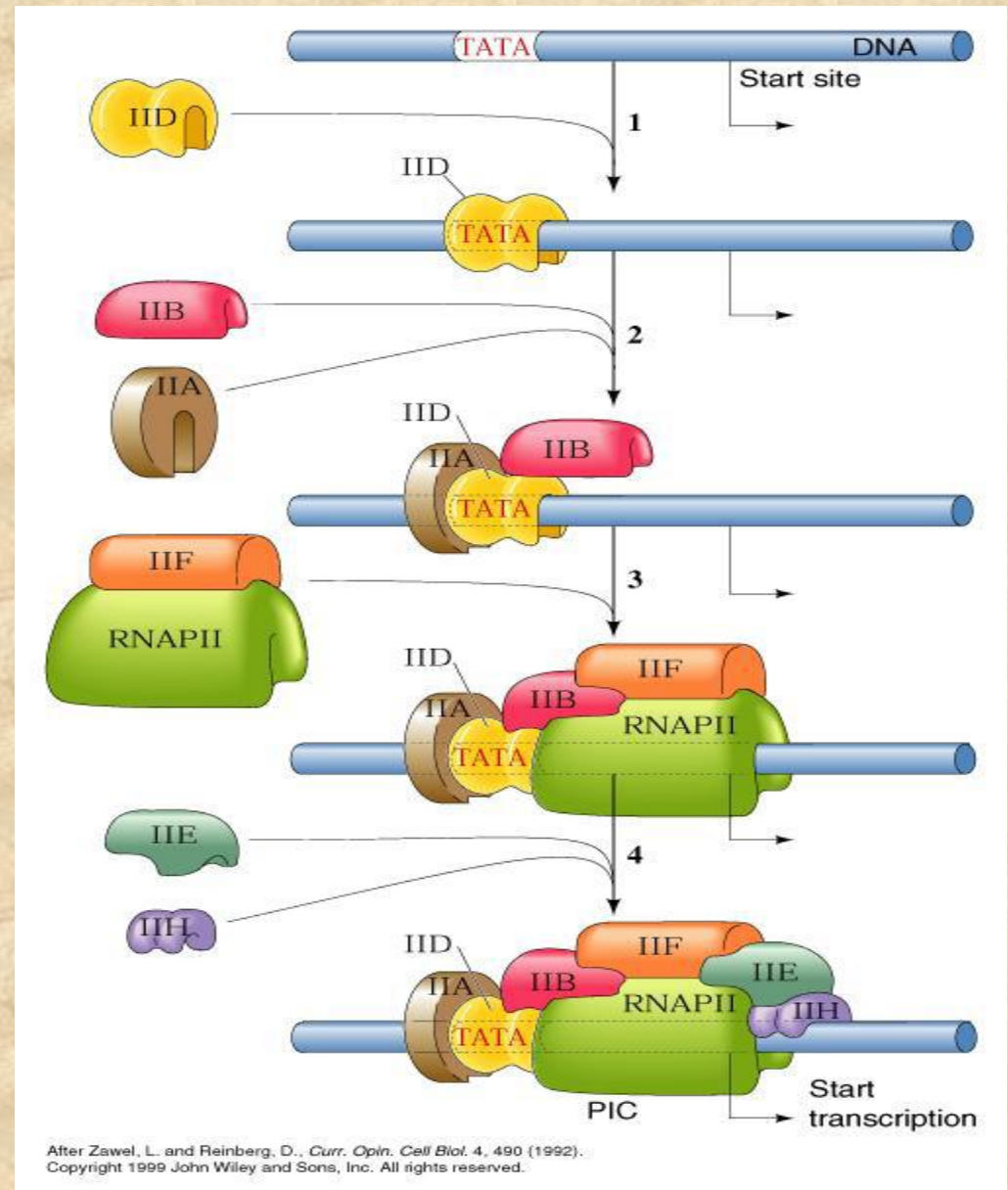
- La polymérase se fixe au promoteur sur l'ADN duplex
- La polymérase dénature le duplex. Formation de la bulle de transcription
- La polymérase catalyse la liaison phosphodiester des deux premiers rNTP



1.2. L'ARN polymérase II

Formation du complexe d'initiation de la transcription chez les eucaryotes.

Ce complexe est formé de l'ARN polymérase II et de nombreux facteurs de transcription. L'un d'eux, TBP, se lie à la TATA box (séquence consensus TATAA) située 25 à 30 nucléotides en amont du site d'initiation de la transcription. D'autres facteurs de transcription se lient ensuite à TBP et l'ensemble recrute l'ARN polymérase II qui pourra initier la transcription.



Phase d'élongation:

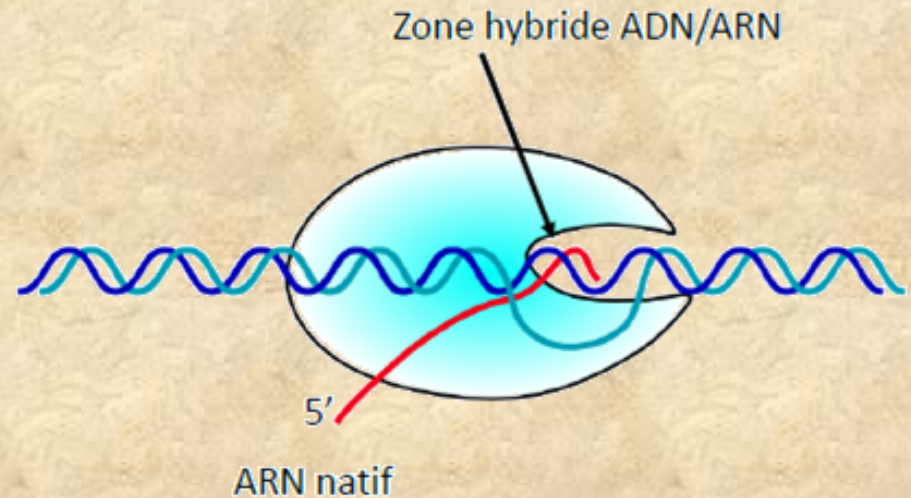
- La boucle de transcription se déplace dans le sens 3'-5' du brin matriciel et la chaîne d'ARNm s'allonge dans le sens 5'-3'.
- L'élongation de la molécule d'ARNm se fait par l'appariement des bases complémentaires et par l'addition successive de nucléotides 5' triphosphates.
- Des facteurs supplémentaires 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.

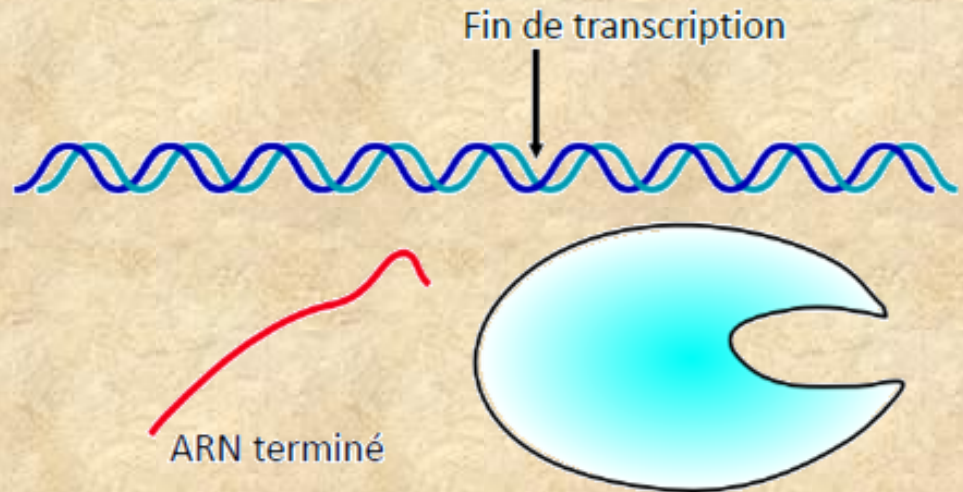
Elongation

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

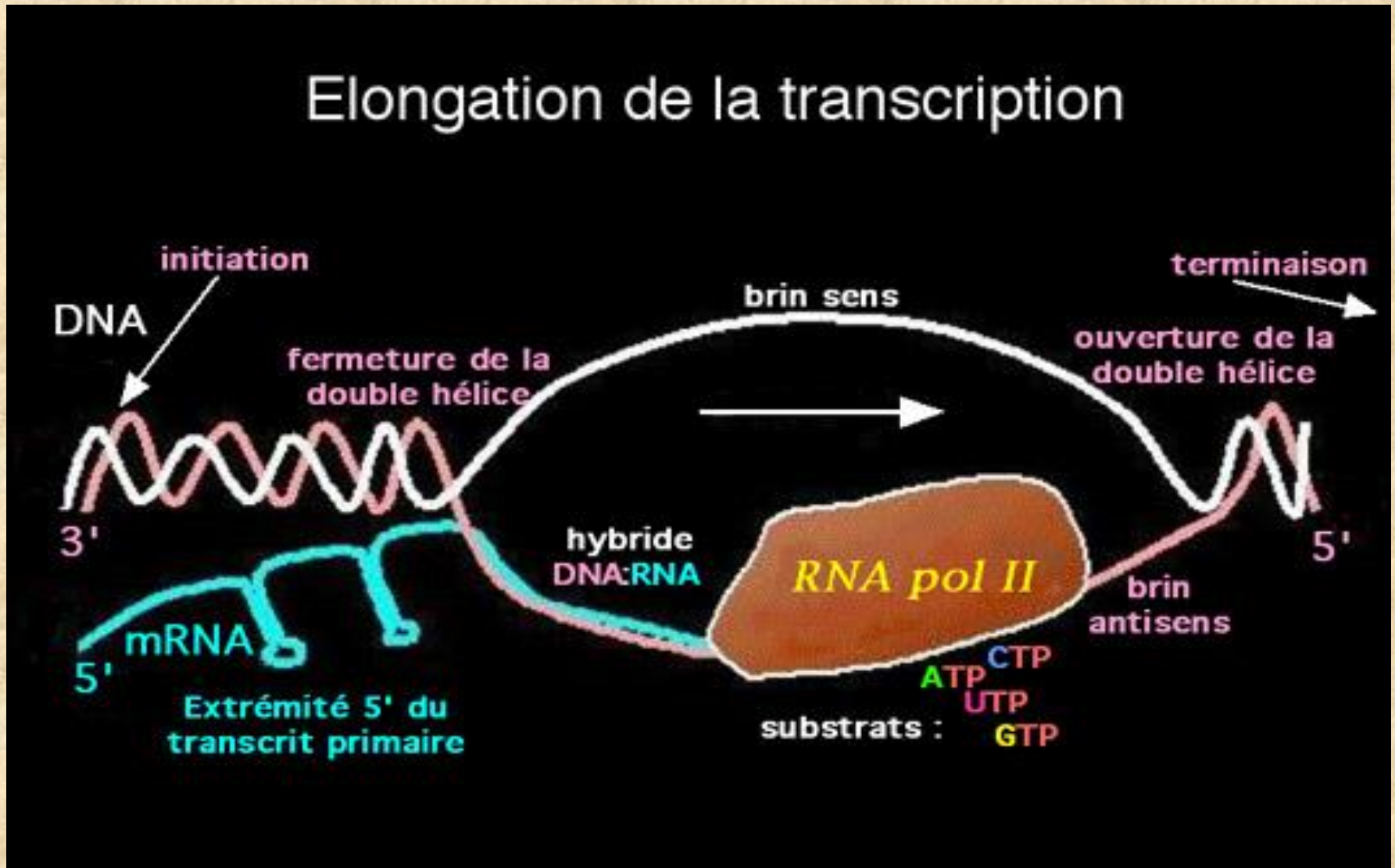


Terminaison

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

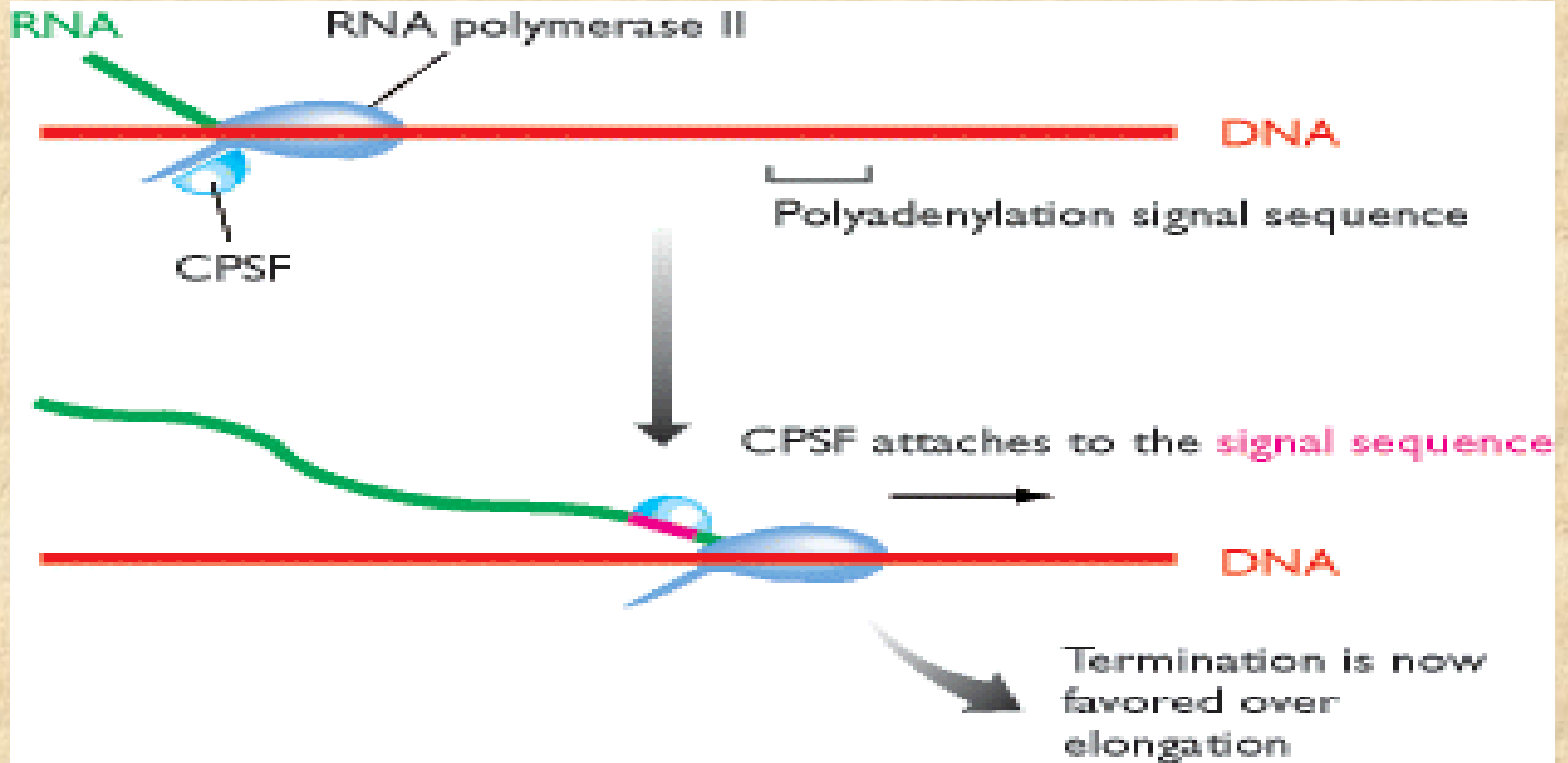


1.3. Elongation de la transcription



Elle nécessite un dernier facteur qui est le facteur TFIIS.

1.4. Terminaison de la transcription



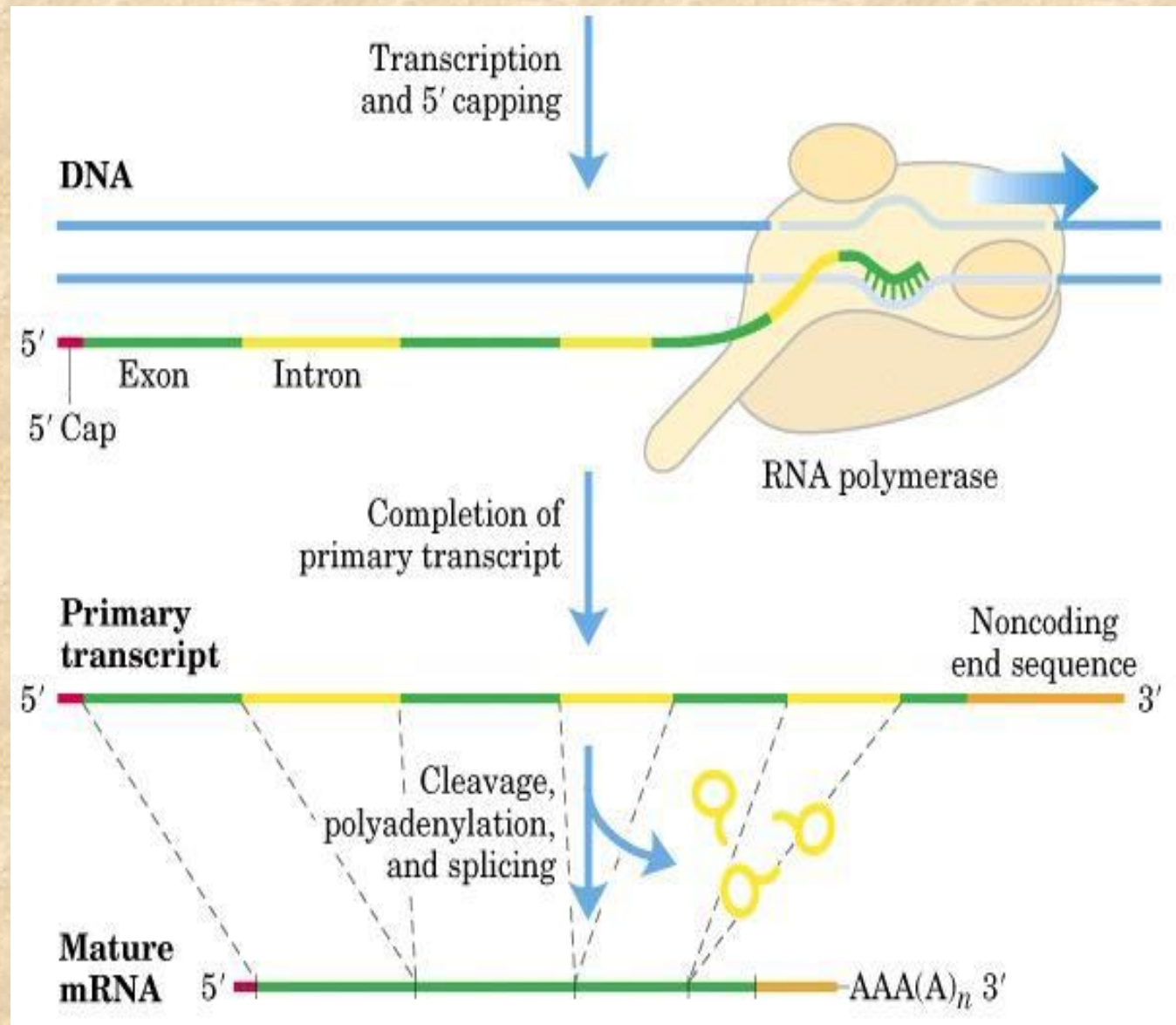
la transcription se termine aux alentours de la séquence de polyadénylation. Une fois la séquence de polyadénylation transcrite (en rose), la protéine CPSF (cleavage and polyadenylation specificity factor) qui était associée à l'ARN polymérase s'y lie. La perte de l'interaction CPSF/ARN polymérase déstabilise le complexe de transcription.

2. Modification post-transcriptionnelle

• Capping

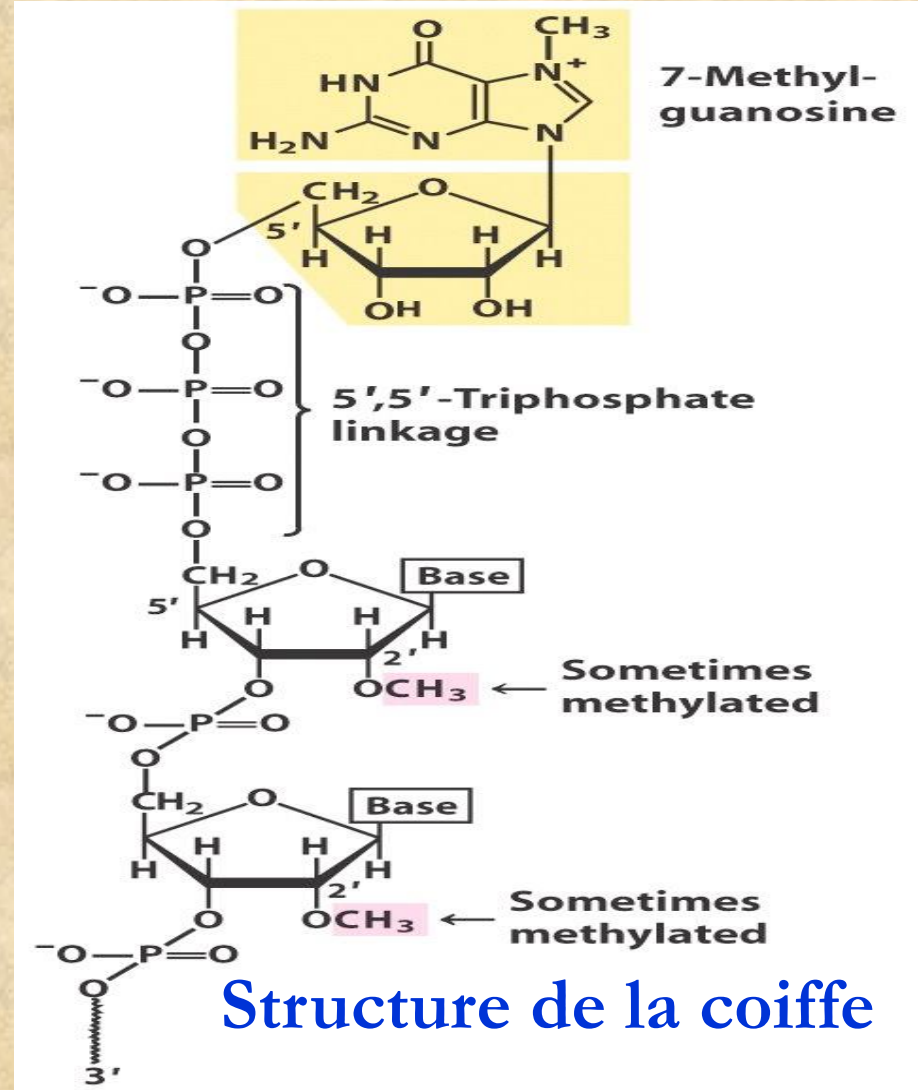
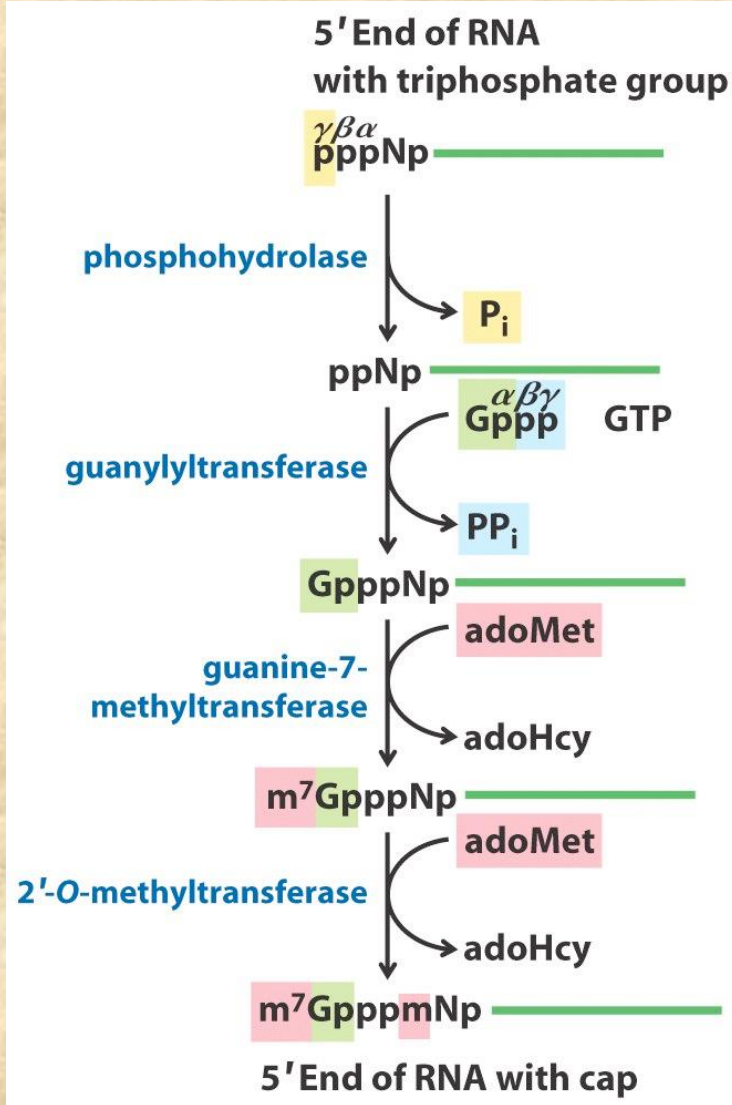
• Polyadénylation

• Epissage



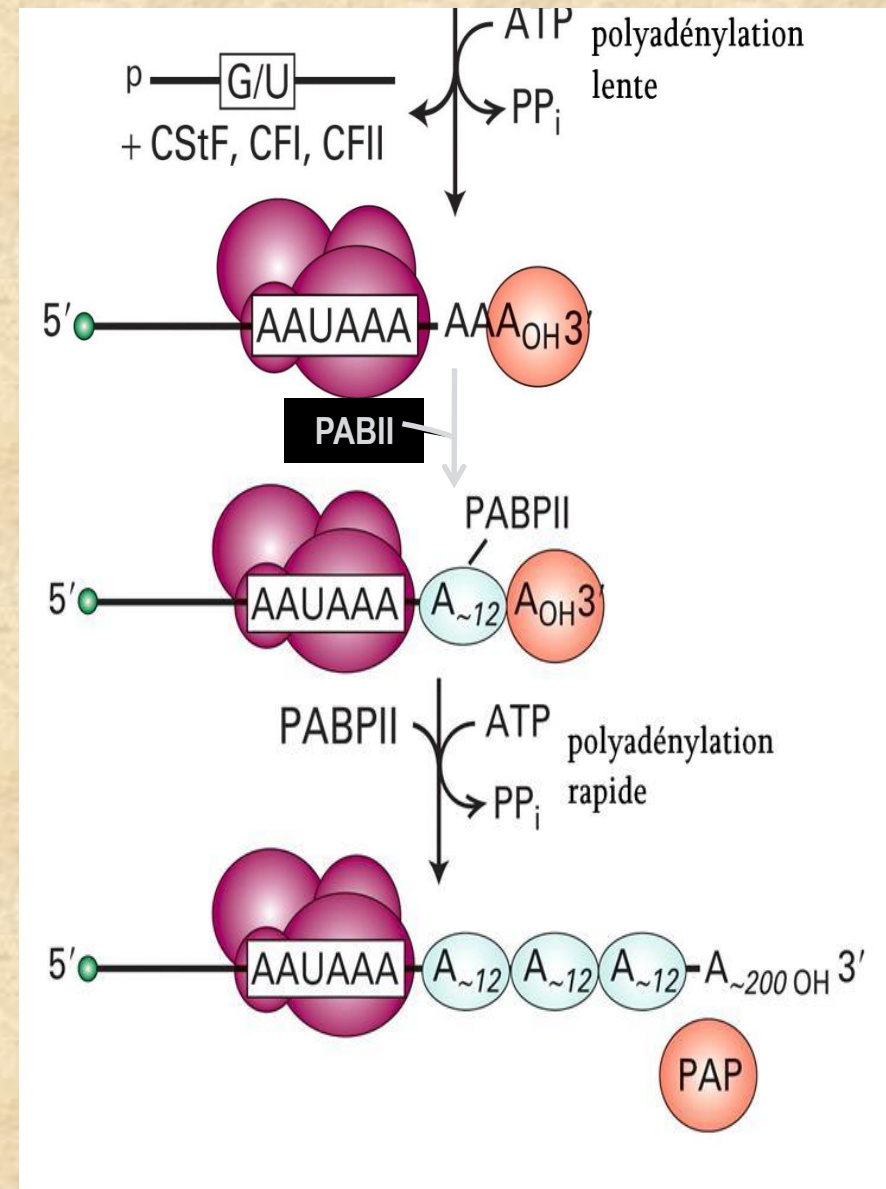
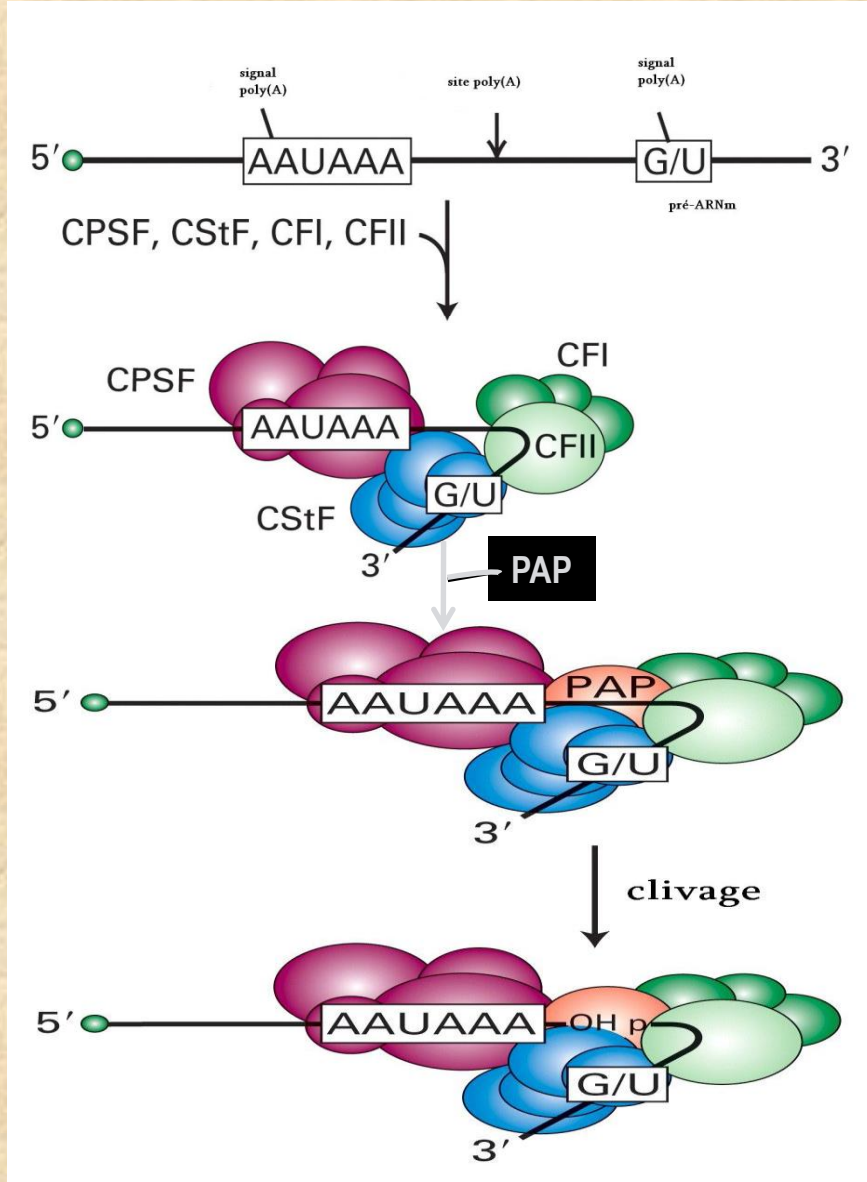
2.1. La maturation des ARNm, une spécificité des eucaryotes

2.1.1. L'ajout de la coiffe (capping)

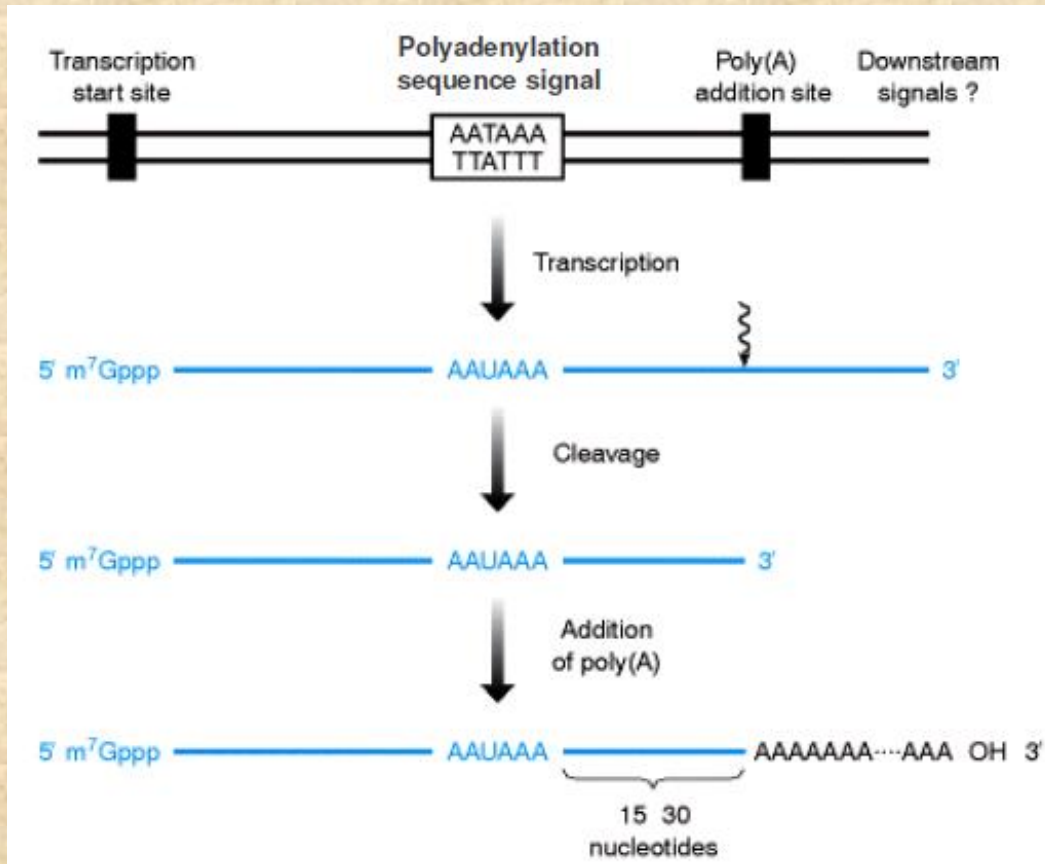


Ajout de la coiffe du côté 5' des ARN naissants. Cette coiffe consiste en une 7-méthylguanylate (m⁷G), c'est-à-dire une guanidine modifiée. Les deux premières réactions sont catalysées par une enzyme de capping qui s'associe à l'ARN polymérase peu après l'initiation de la transcription. Deux méthyltransférases différentes catalysent les réactions 3 and 4. La S-adenosylméthionine (S-Ado-Met) est la source du groupement méthyle (CH₃) pour les deux

2.1.2. Modèle du clivage et de la polyadénylation des pré-ARNm dans les cellules de mammifères



La polyadénylation en 3' des ARNm



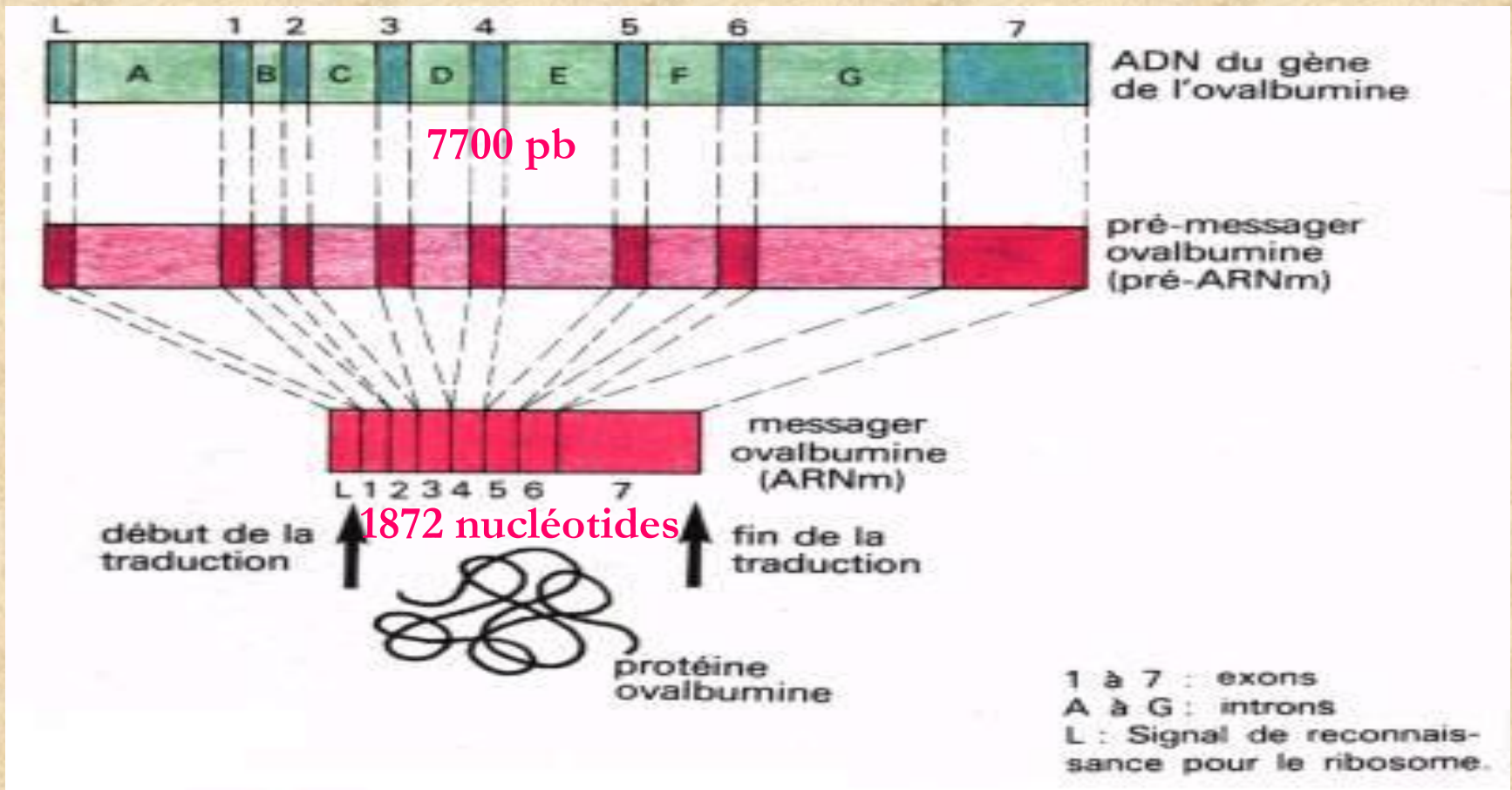
L'extrémité 3' de la plupart des ARNm eucaryotes est polyadénylée.

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.

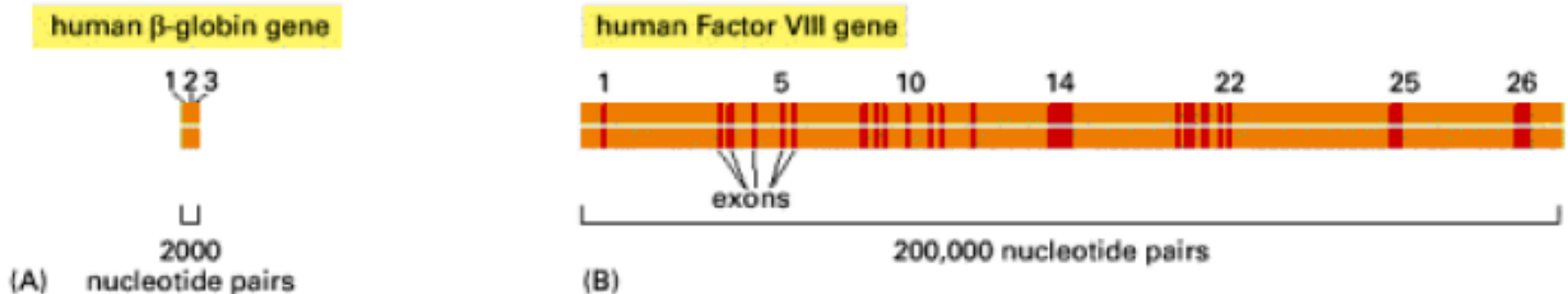
2.1.3. Epissage des ARN transcrits

- Les Exons sont des régions de l'ADN contenant l'information génétique (régions traduites)
- Les Introns sont des régions de l'ADN qui seront éliminés lors de la maturation des ARNm (régions non traduites)



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.

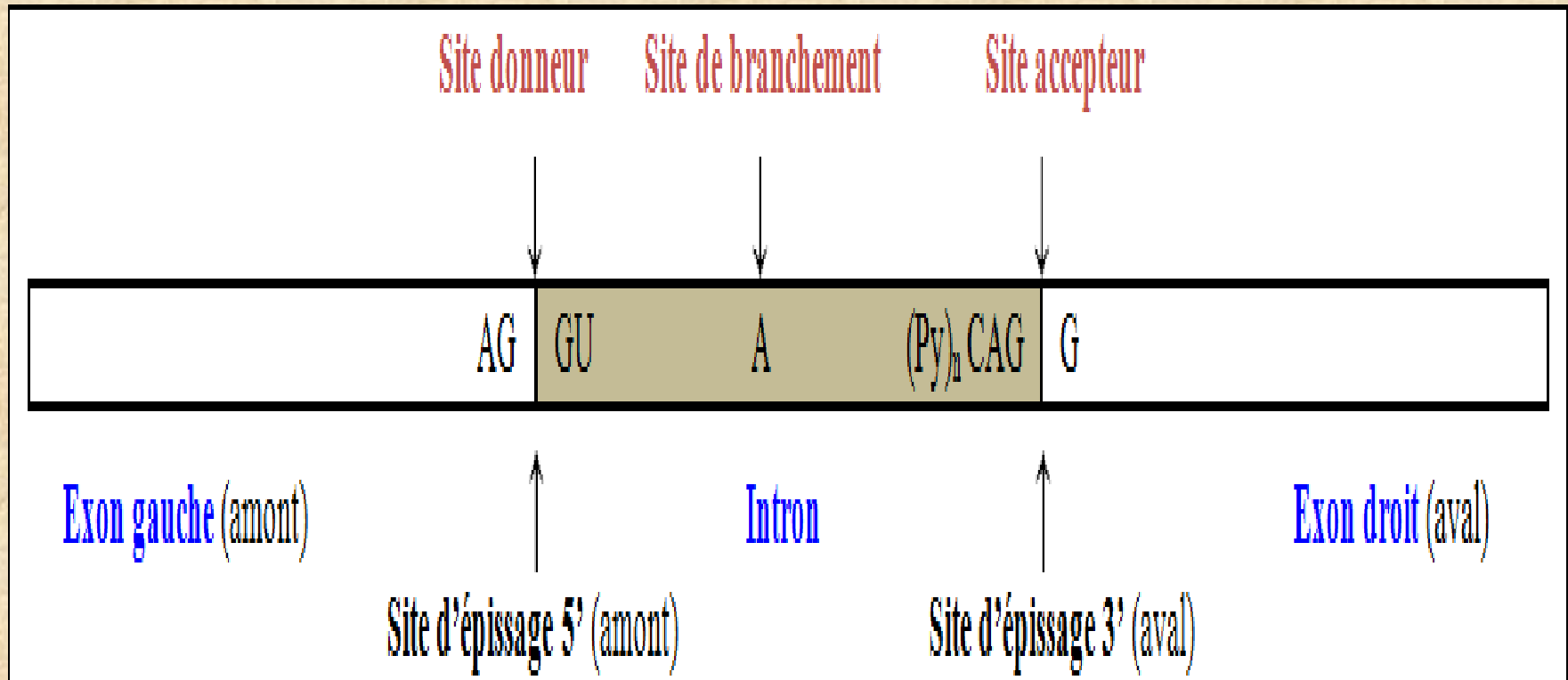


Structure de deux gènes humains montrant leur organisation en introns et exons.

(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.

2.1.3.1. Les sites d'épissage

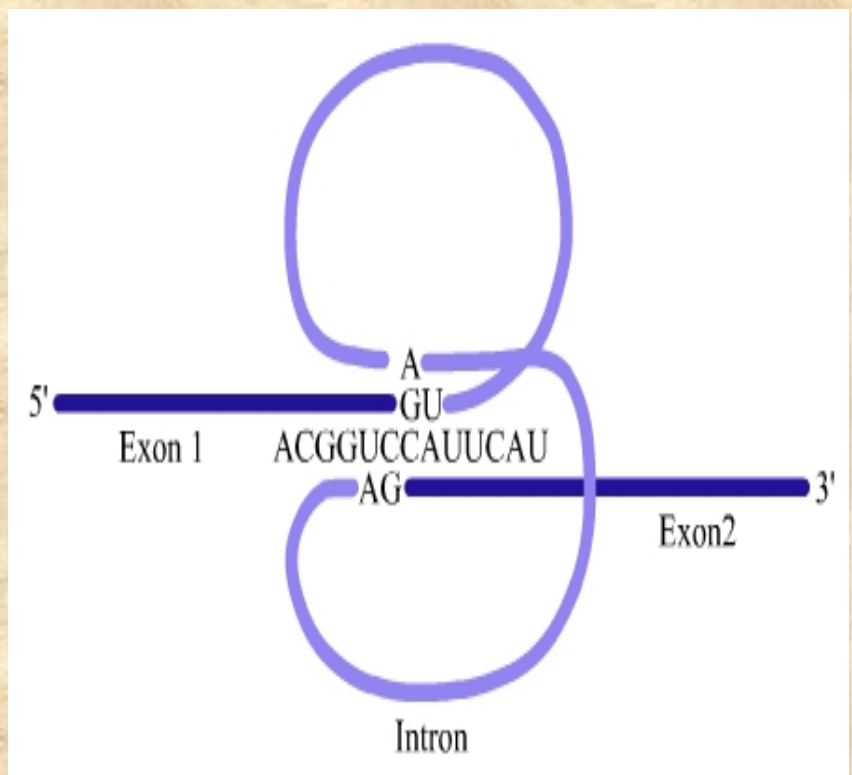
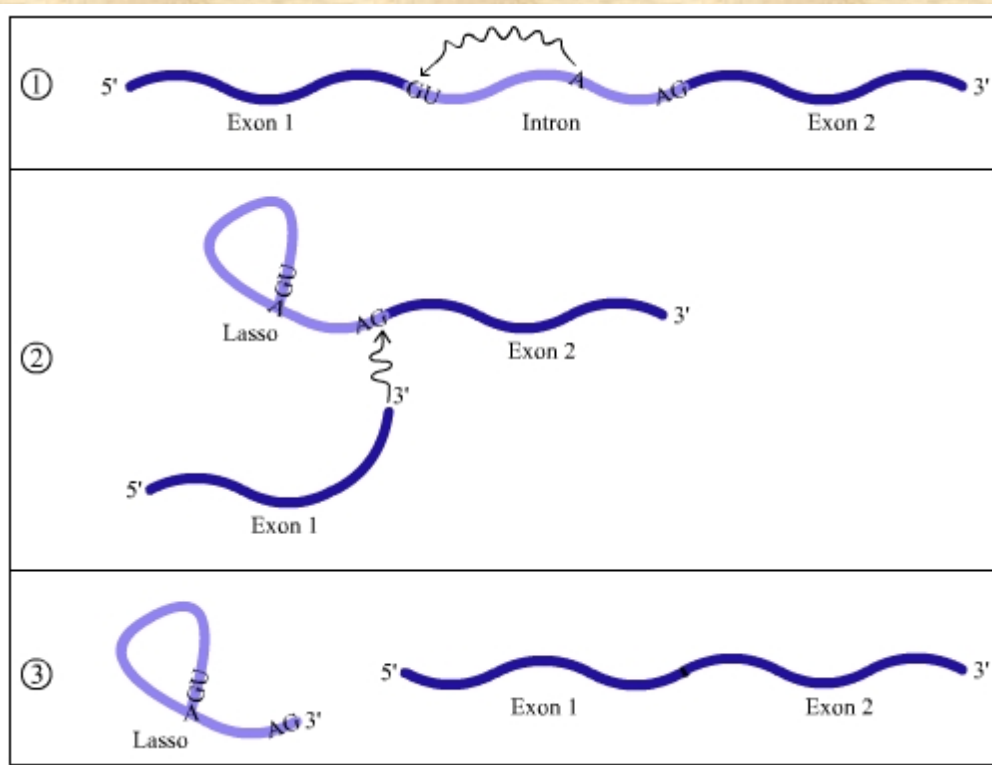


- Bordure 5' de l'intron : GU (site donneur)
- Bordure 3' de l'intron : AG (site accepteur)
- Nucléotides adjacents à GU et AG sont aussi plus ou moins conservés
- Un A (site de branchement)
- entre la bordure 3' et le A : région riche en pyrimidines

2.1.3.2. Exemple de séquences des points d'épissage

Région du gène	Exon	Intron	Exon
Ovalbumine (intron 2)	UAAG	GUGAGC UUACAG	GUUG
Ovalbumine (intron 3)	UCAG	GUACAG AUUCAG	UCUG
β globine (intron 1)	GCAG	GUUGGU CCUUAG	GCUG
β globine (intron 2)	CAGG	GUGAGU CCACAG	UCUC
Immun globine (intron 1)	UCAG	GUCAGU UUGCAG	GGGC

2.1.3.3. Excision de l'intron par formation d'un lasso



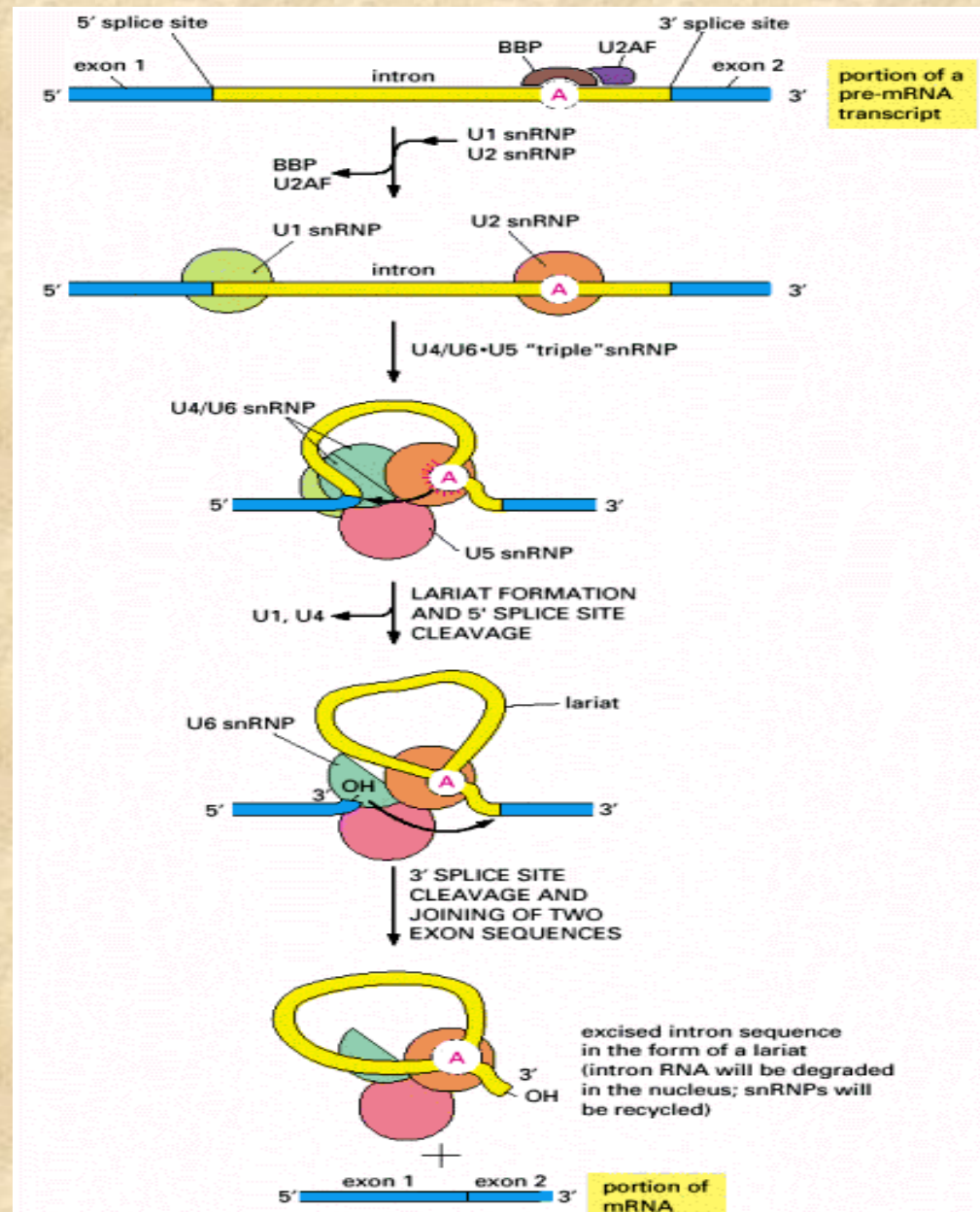
L'excision-épissage est réalisée par réaction d'un nucléotide à adénine (A) situé dans l'intron avec un nucléotide à guanine situé en 5' de l'intron. Cela entraîne la séparation de l'intron d'avec l'exon 1 (situé en amont) et la formation d'une structure en lasso interne à l'intron. Ensuite, l'extrémité 3' de l'exon 1 réagit avec l'extrémité 5' de l'exon 2 permettant l'épissage des deux exons et la libération du lasso qui sera dégradé par des ribonucléases.

2.1.3.4. Principe général du mécanisme d'épissage.

□ L'épissage est catalysé par des snRN (small nuclear Ribonucleotide Particles) symbolisées par des ronds colorés, plus d'autres protéines (la plupart ne sont pas représentées), l'ensemble constituant le spliceosome.

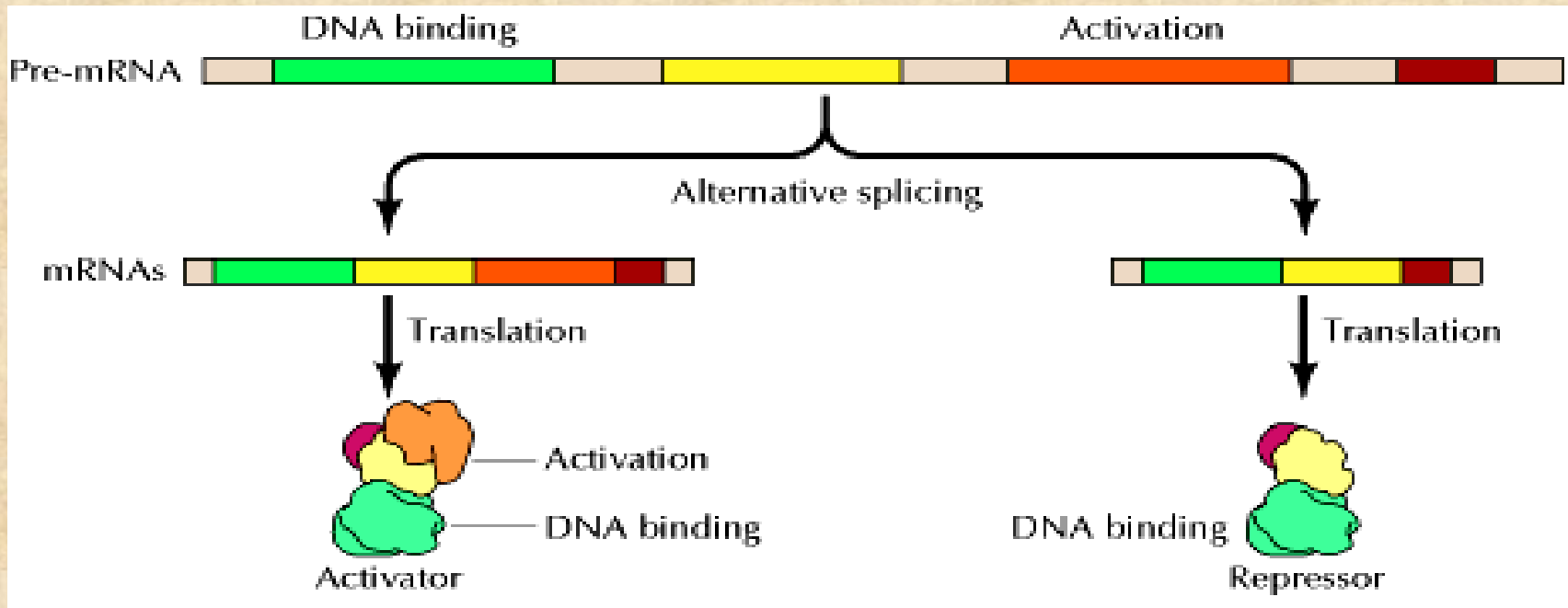
□ Les RNP sont des structures multimoléculaires composées de protéines et de petits ARN. U1 et U2 se fixent d'abord sur le pré-messager, puis U4 et U6 viennent interagir avec U1 et U2, ce qui rapproche les deux extrémités exoniques.

□ Puis l'activité catalytique du spliceosome permet de cliver la séquence intronique et de liguer les séquences exoniques.



2.1.3.5. Epissage alternatif

Permet de générer des protéines différentes à partir d'un même gène



Epissage alternatif d'un pré-mRNA qui code un facteur de transcription. Dans cet exemple, le facteur de transcription est codé par 4 exons: le premier code le domaine de liaison à l'ADN, le deuxième un domaine de fonction inconnue, le troisième le domaine permettant l'activation de la transcription et le quatrième un domaine de fonction inconnue.

Le pré-mRNA peut subir deux épissages différents. Dans le premier cas (à gauche), les 3 introns sont éliminés et les 4 exons sont ligués, générant un mRNA qui code le facteur de transcription pleine longueur et actif. Dans le deuxième cas (à droite), l'exon 2 est ligué à l'exon 4 au lieu d'être ligué à l'exon 3, ce qui génère un facteur de transcription inactif car dépourvu du domaine d'activation de la transcription.

3a. L'ARN messenger — ARNm

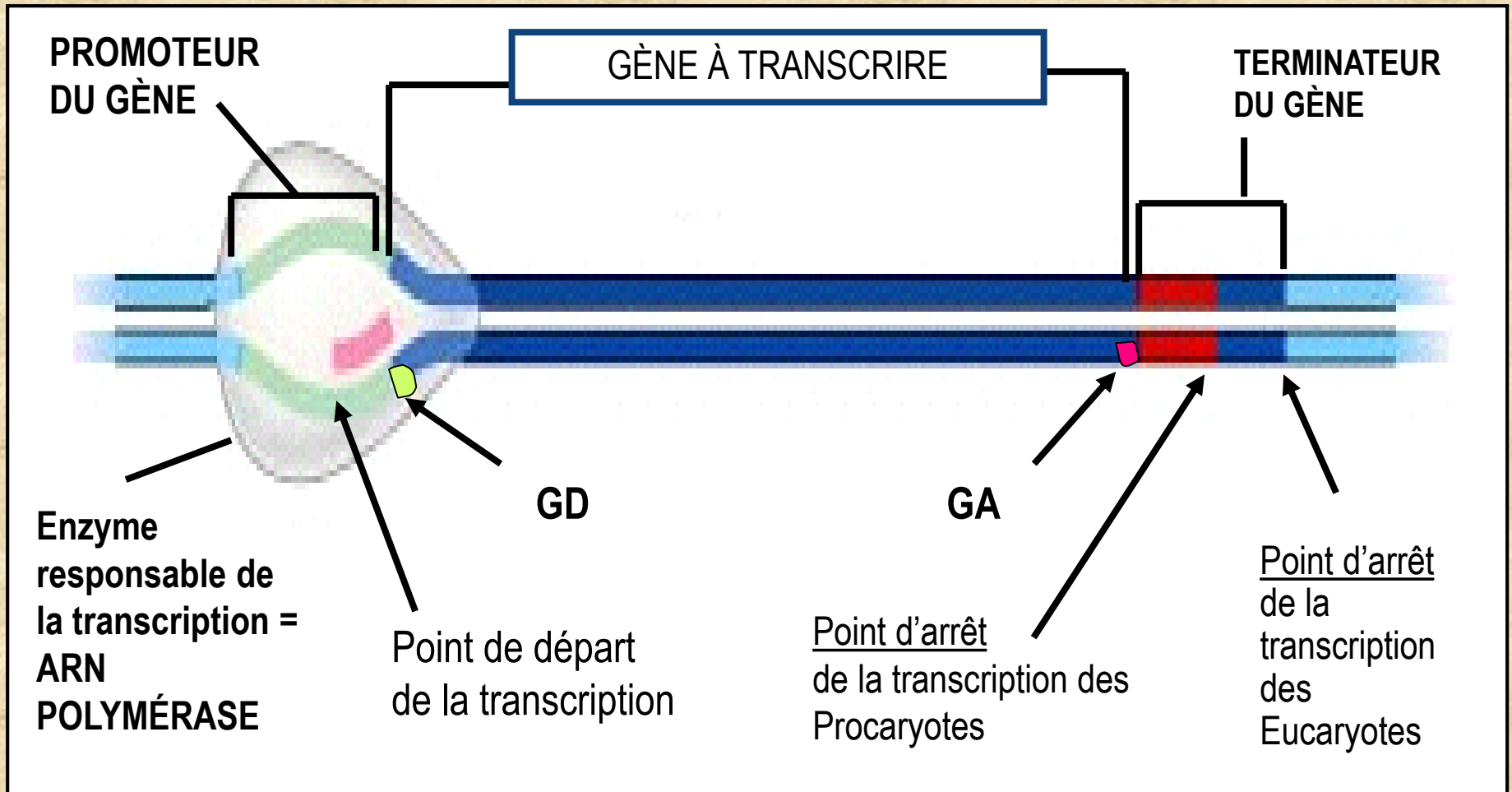
Un résumé concernant l'ARNm

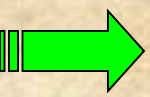
1. Fabriqué par transcription du brin codant d'un gène de **structure**.
2. Avec l'enzyme : ARN polymérase et l'énergie des nucléosides tri-P.
3. Ajout des nucléosides tri-P : à l'extrémité 3' du brin d'ARN en formation .
4. Contient une série de **codons** (les triplets de nucléotides d'ARN complémentaires aux génons).
5. De forme linéaire.
6. Le transcrit est de l'ARN :
 - directement traduit en protéine chez les procaryotes.
 - devant subir une maturation avant d'être traduit en protéine chez les eucaryotes.
7. La vitesse de transcription est d'environ 60 nucléotides/ seconde chez les eucaryotes.
8. Un même gène peut être transcrit simultanément par plusieurs polymérases.

➔ Gène devant être transcrit en ARNm (sa structure)

Séquence à laquelle l'enzyme se lie pour commencer la transcription et qui couvre plusieurs douzaines de nucléotides en amont du gène.

Séquence qui marque la fin de la transcription et qui couvre plusieurs douzaines de nucléotides en aval du gène.





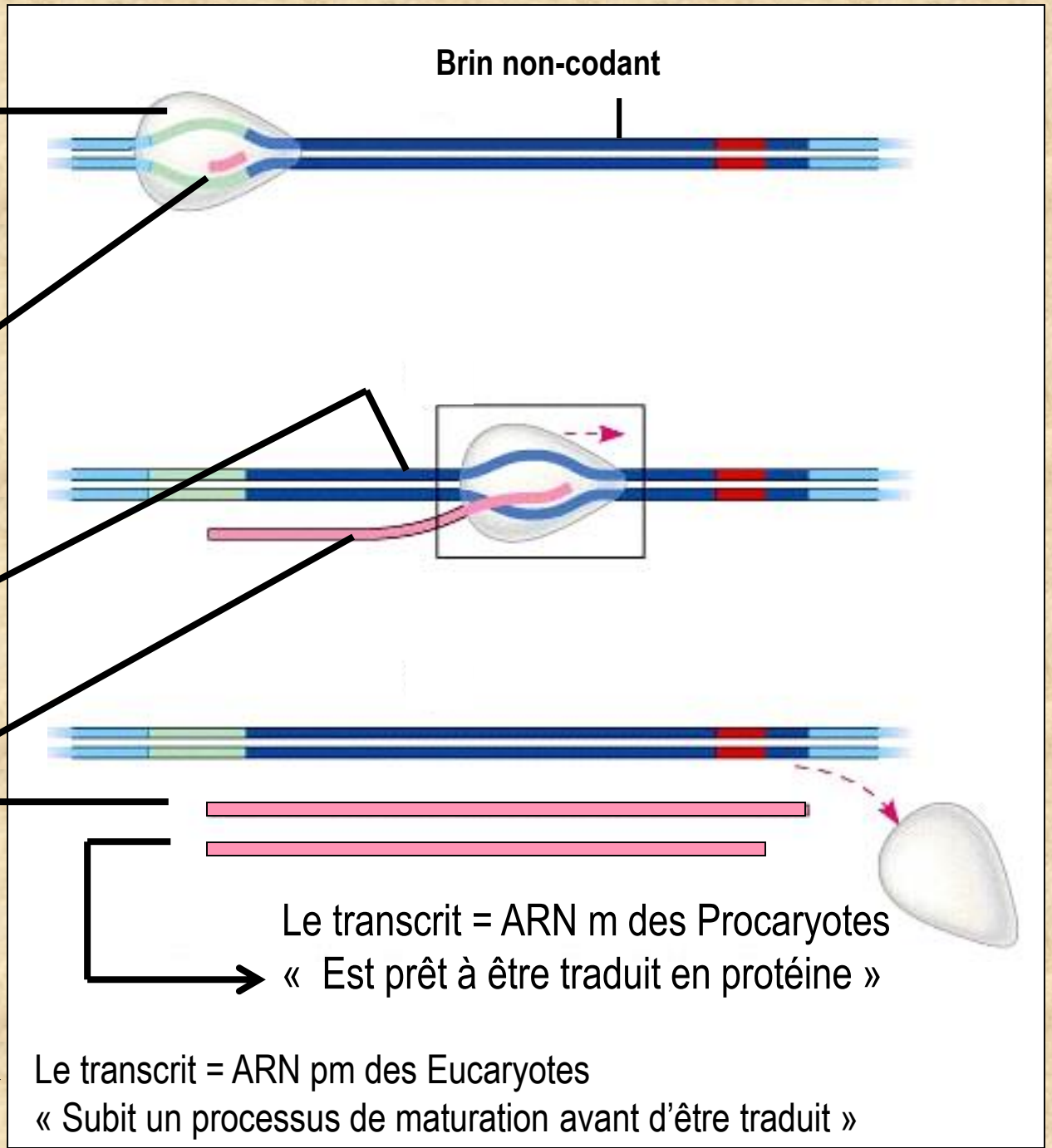
Commencez la transcription !

L'enzyme se lie au promoteur et déroule le gène : 10 à 20 bases à la fois.

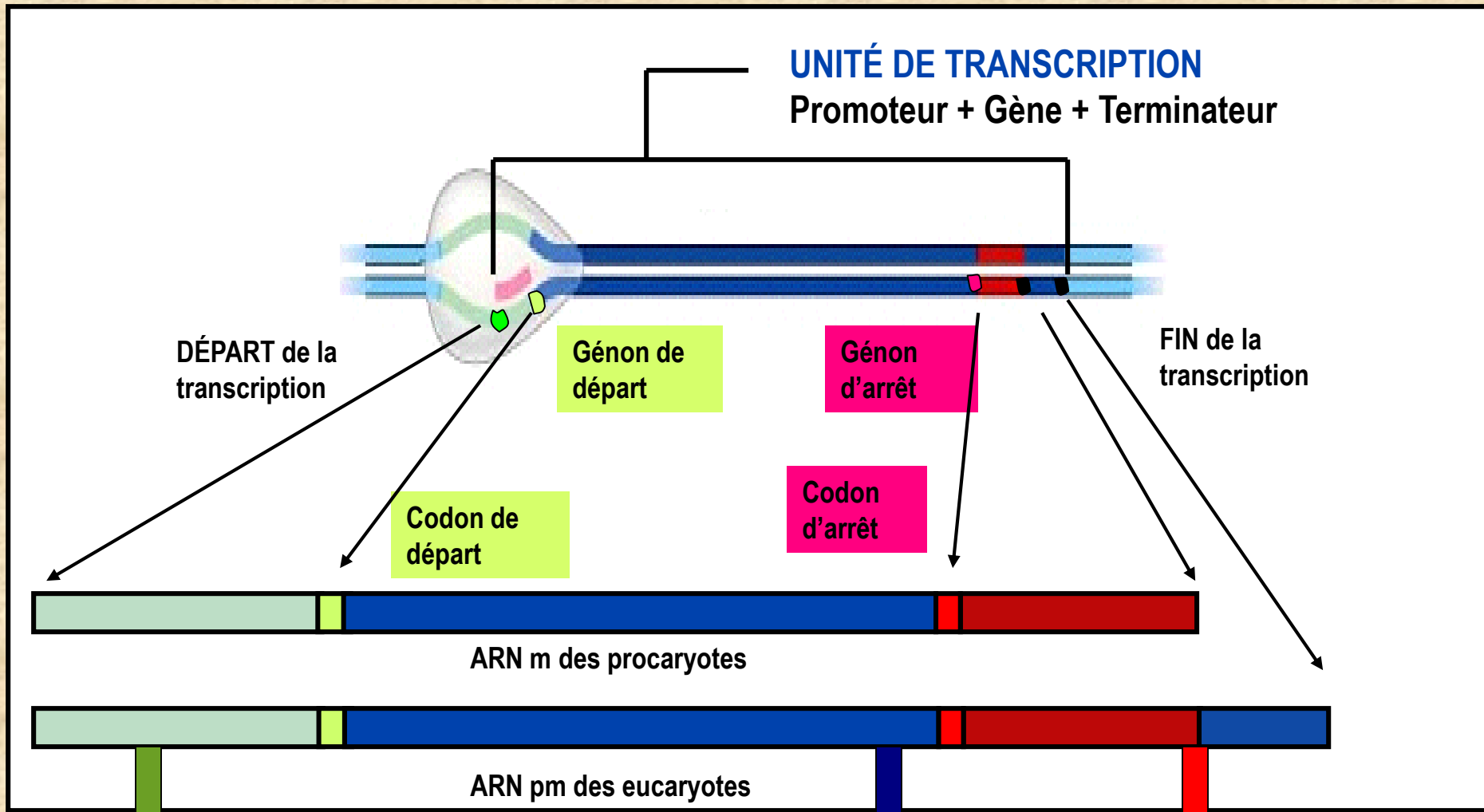
La transcription commence au point de départ.

Derrière la polymérase, l'ADN se réenroule.

L'ARN se détache progressivement du brin codant.



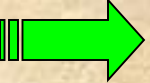
L'ARN m reflète l'unité de transcription



Séquence guide
Atténuateur possible de la synthèse du polypeptide.

Segment correspondant au brin codant
Message qui sera traduit en une chaîne polypeptidique

Séquence remorque
Amplificateur possible de la synthèse du polypeptide.

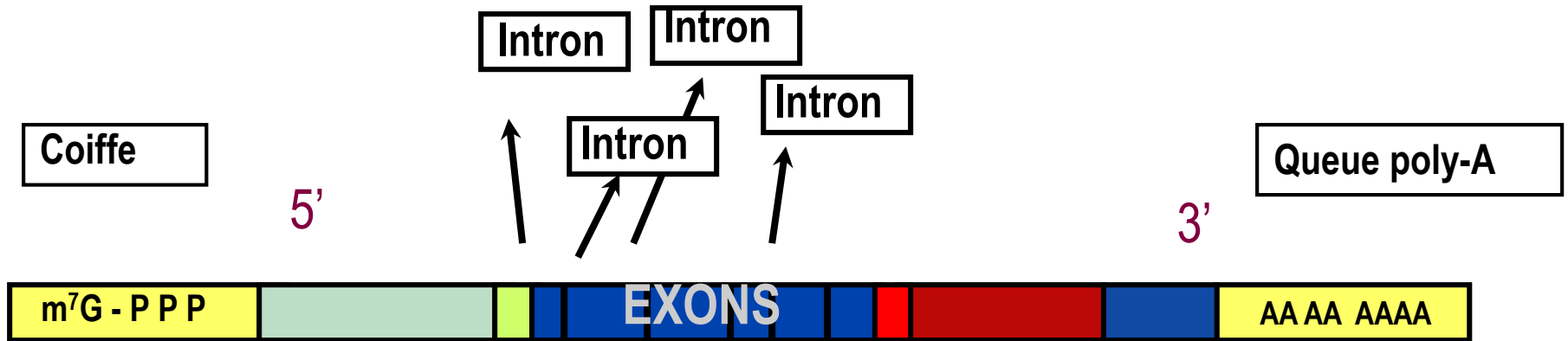


Mâturation de l'ARNpm en ARNm (chez les eucaryotes seulement)

2 L'extrémité 5' est recouverte d'une coiffe formée d'un nucléotide : une guanosine tri-P modifiée.

1 Le segment codant de l'ARN est raccourci (enlèvement des introns).

3 L'extrémité 5' est allongée de 50 à 250 nucléotides d'adénine.



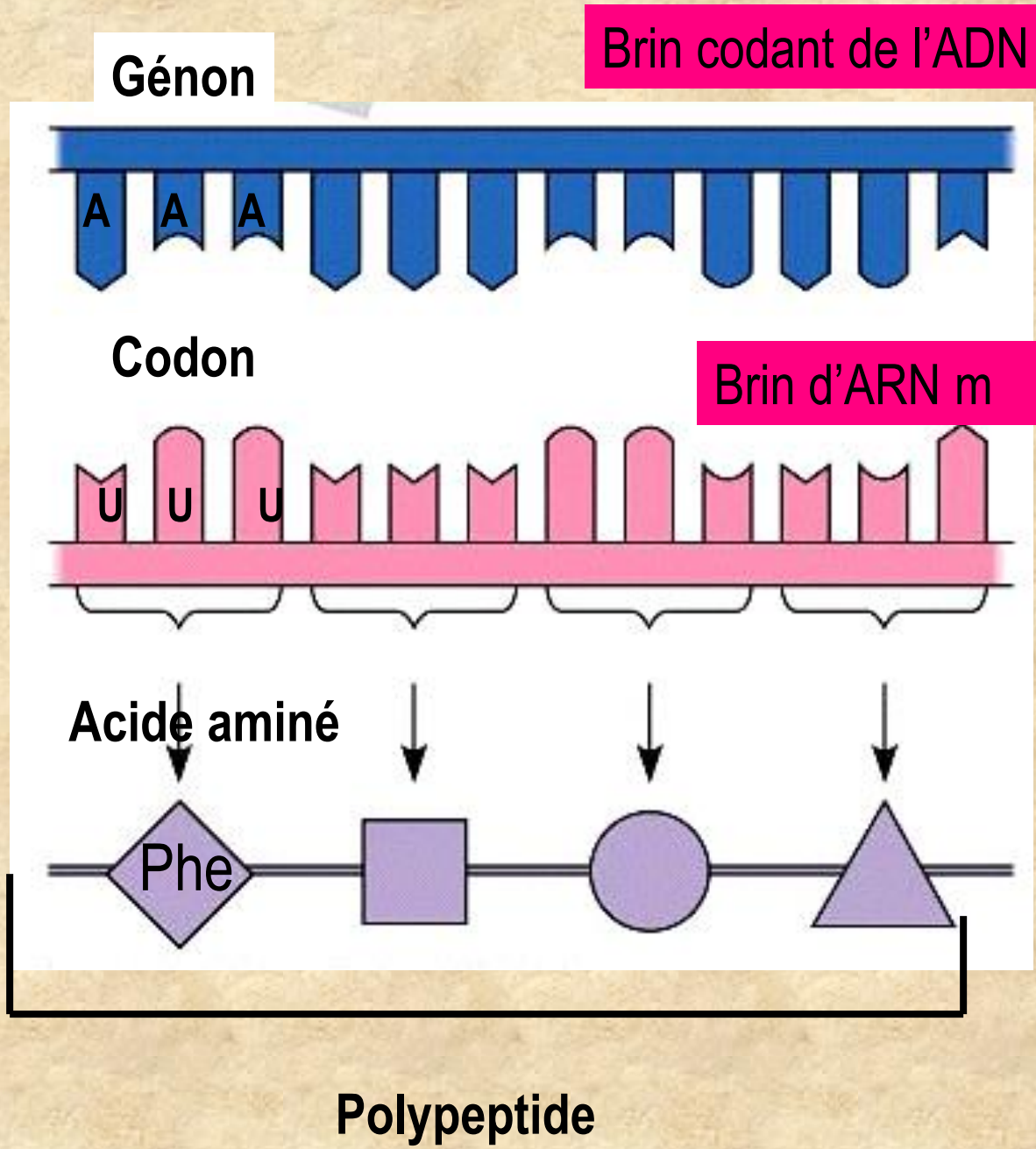
À titre consultatif !

La coiffe et la queue poly-A protègent l'ARNm de la dégradation enzymatique et deviennent une partie du repère de fixation des ribosomes.

La queue poly-A semble faciliter le transport de l'ARNm à l'extérieur du noyau.

➔ Rôle de l'ARN m

Dicte la
séquence des
acides aminés
du polypeptide



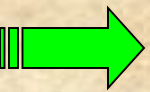
➔ (64) codons d'ARNm ont été identifiés par les chercheurs

61 codons codent un acide aminé

1 codon code la méthionine et sert de codon de départ

3 codons ne codent pas d'acides aminés et servent de codons d'arrêt

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



Le code génétique est redondant

Plusieurs codons codent le même acide aminé bien qu'un seul «à la fois» soit nécessaire pour la mise en place de l'acide aminé dans la protéine.

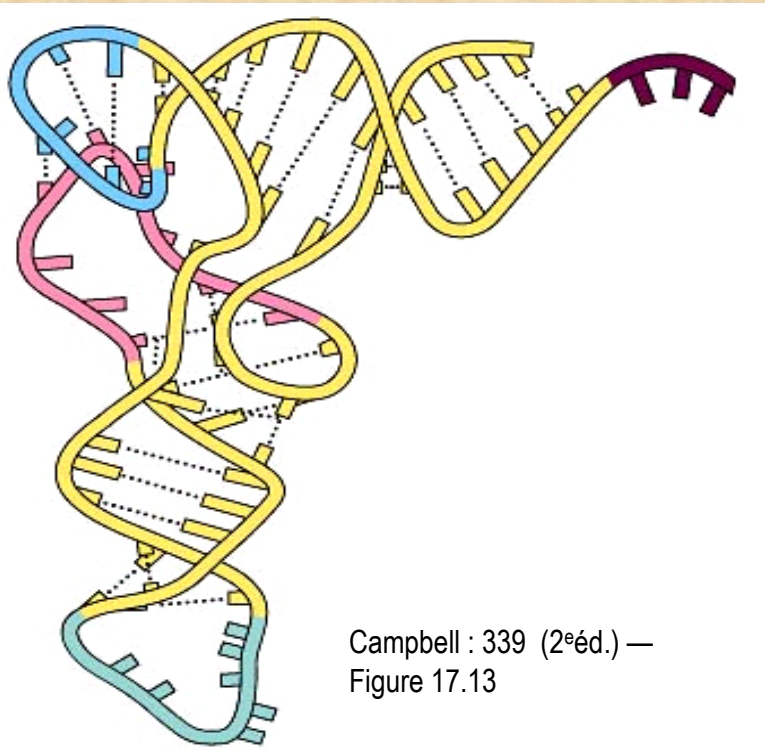
La redondance minimise les effets néfastes des mutations ! Par exemple, il arrive qu'un changement dans l'ADN entraîne la mise en place d'un autre codon mais que ce dernier code pour le même acide aminé que le codon d'origine. La mutation est alors dite «silencieuse».

		Second base				
		U	C	A	G	
First base (5' end)	U	UUU } Phe	UCU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	U
		UUC } Phe	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 } Gln	CGA } Arg	A
		CUG } Leu	CCG } Pro	CAG } Gln	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 or start	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

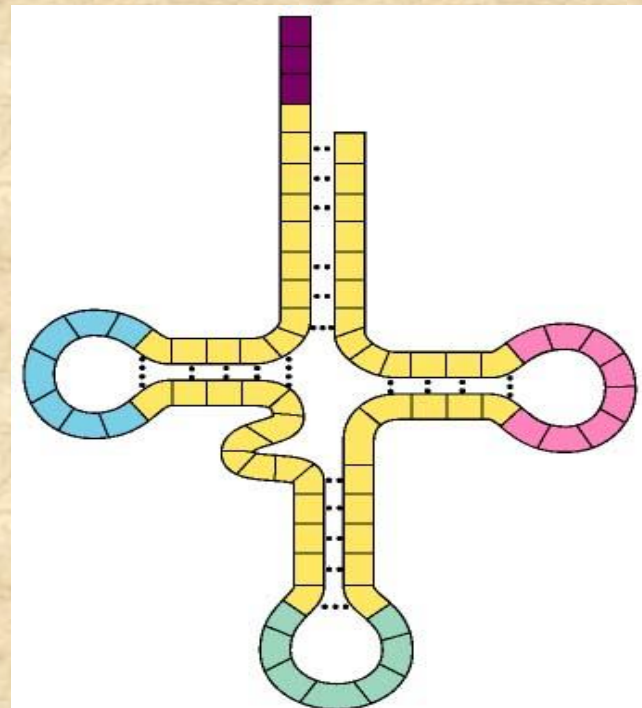
3b. L'ARN de transfert (ARNt) — 45 types d'ARNt

Une chaîne d'environ 80 nucléotides
Repliée par appariement de bases complémentaires
3 boucles libres par non appariement

Forme d'un L inversé



Forme d'un trèfle si on l'écrase





Structure de ARN t

3'

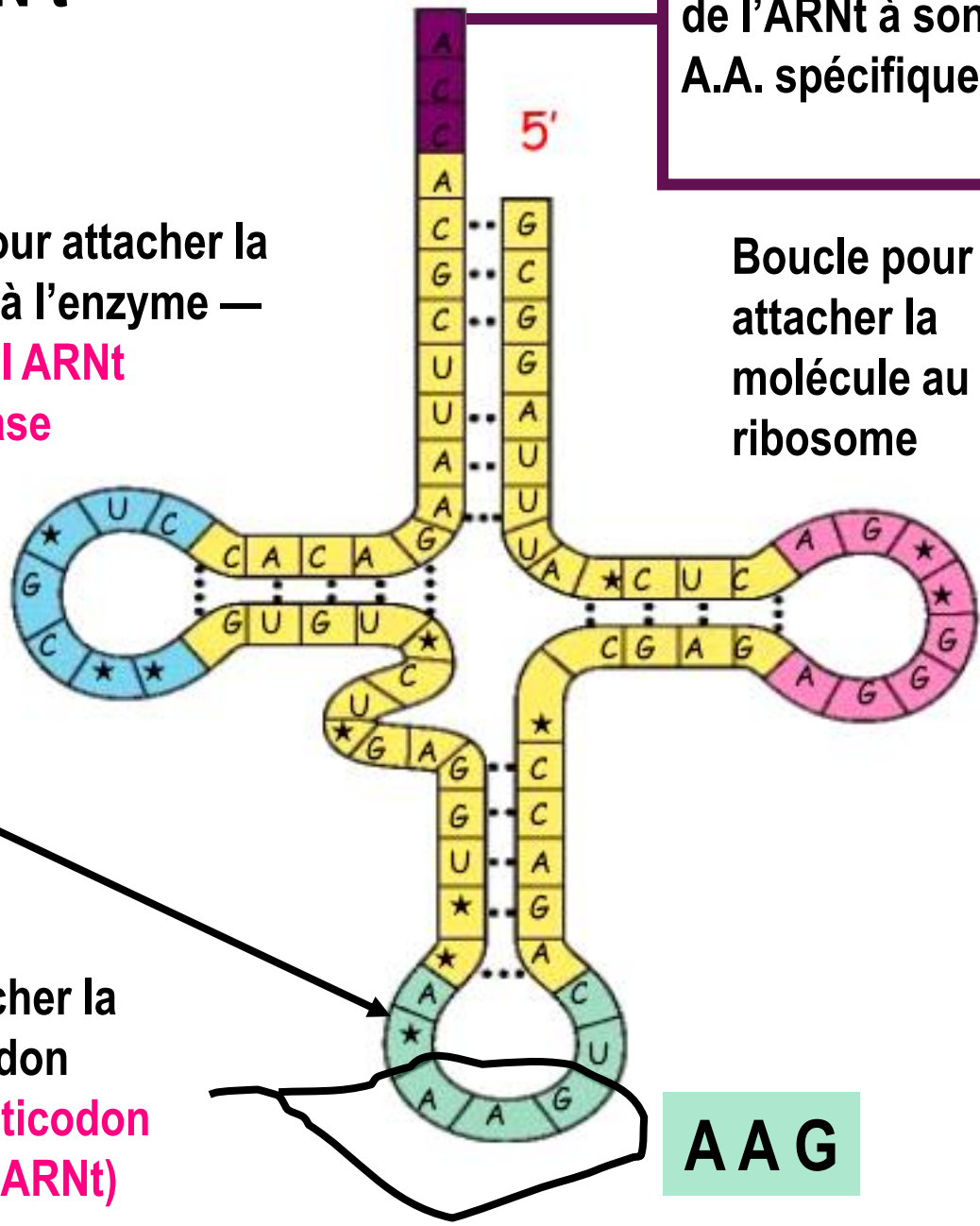
Site de liaison de l'ARNt à son A.A. spécifique

Boucle pour attacher la molécule à l'enzyme — aminoacyl ARNt synthétase

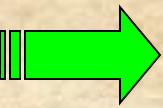
Boucle pour attacher la molécule au ribosome

Base azotée inhabituelle comme l'inosine

Boucle pour attacher la molécule à un codon ARNm — via l'anticodon complémentaire (ARNt)



AAG



Les 2 rôles de l'ARNt !

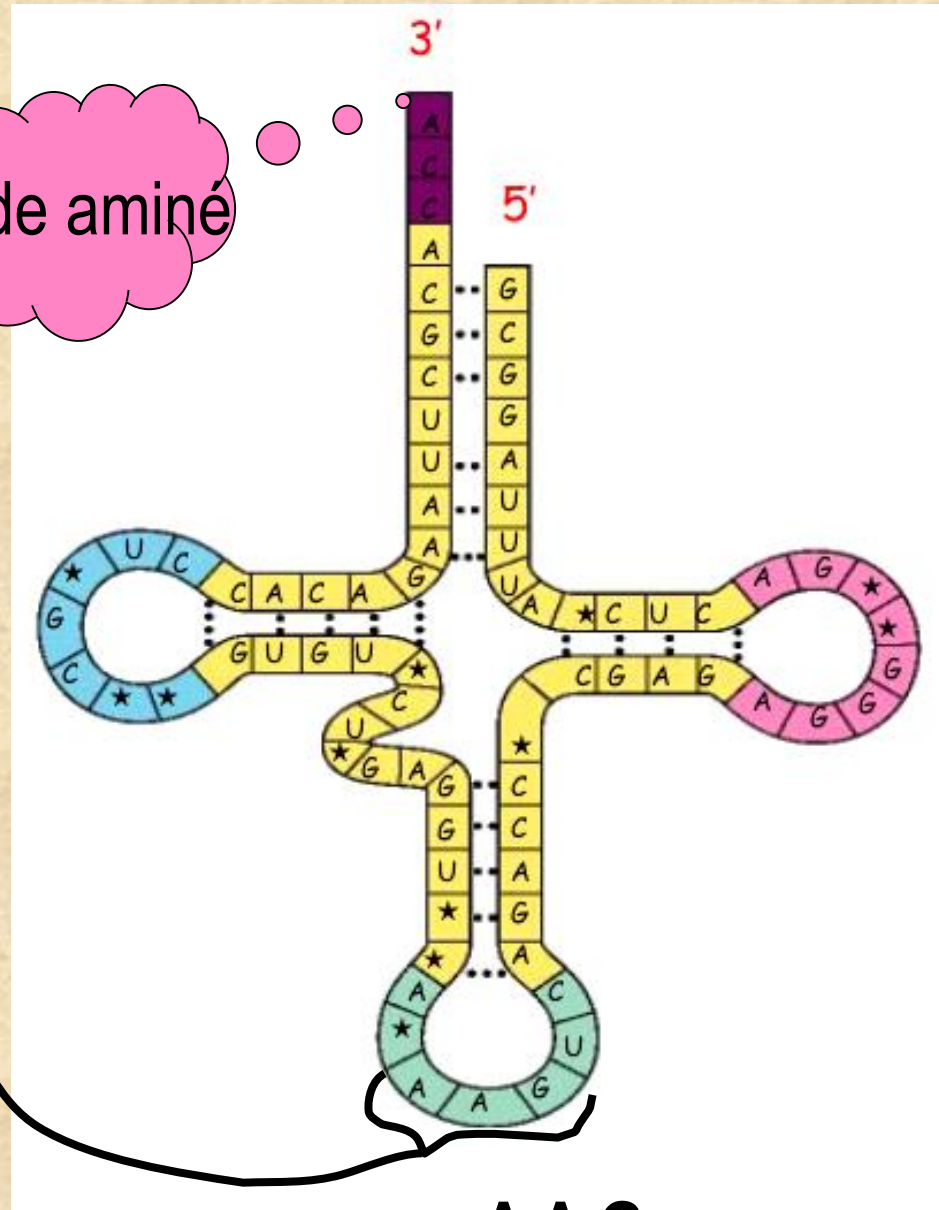
1

Se lier à un acide aminé spécifique, celui qui correspond à son anticodon.

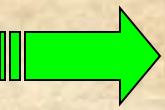
Acide aminé

2

Porter ensuite cet acide aminé à l'intérieur d'une chaîne polypeptidique en formation.



AAG

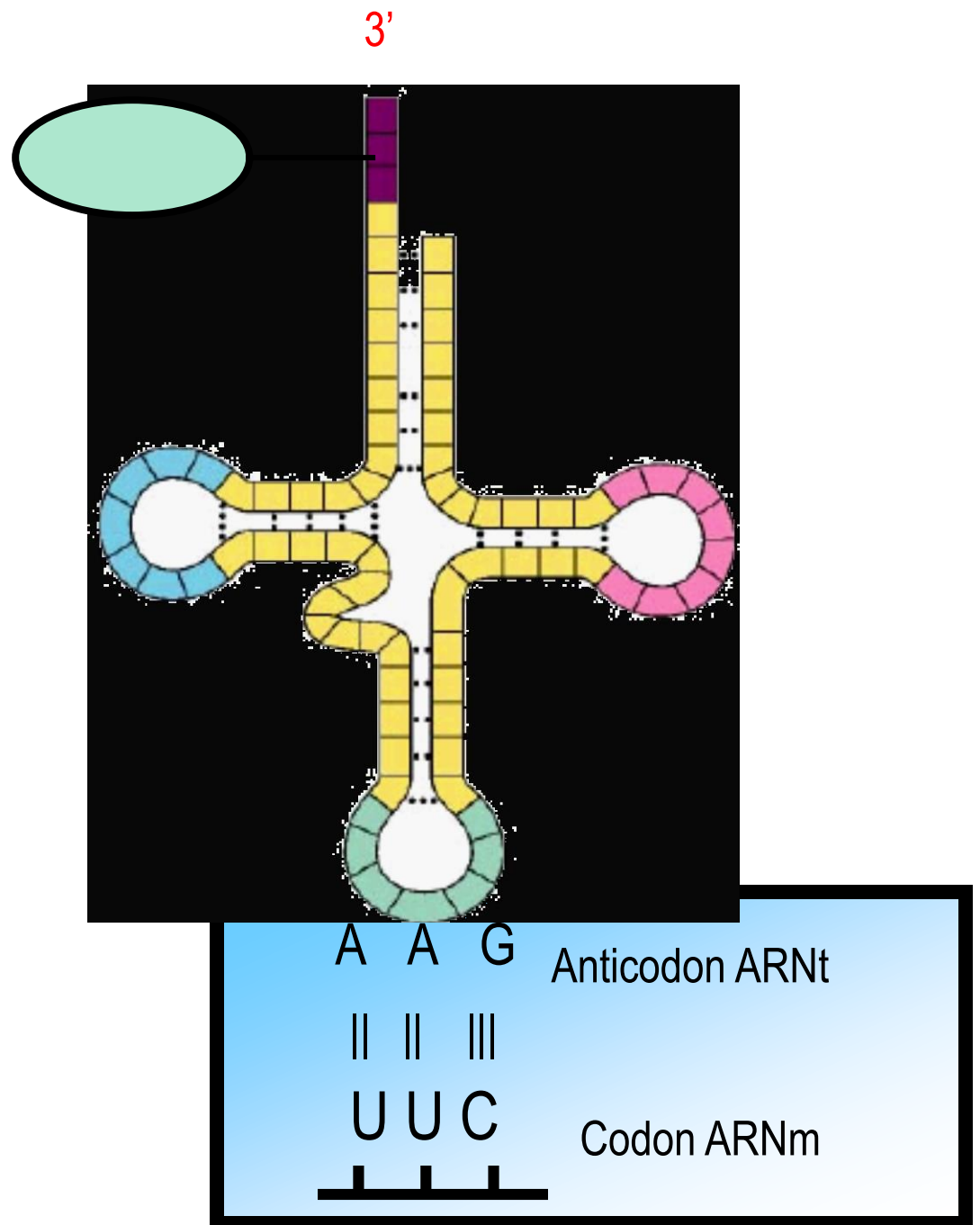


Comment déterminer l'acide aminé porté par l'ARN de transfert ici présent ?

1

Cherchez le codon d'ARNm qui correspond à l'anticodon AAG.

UUC



2

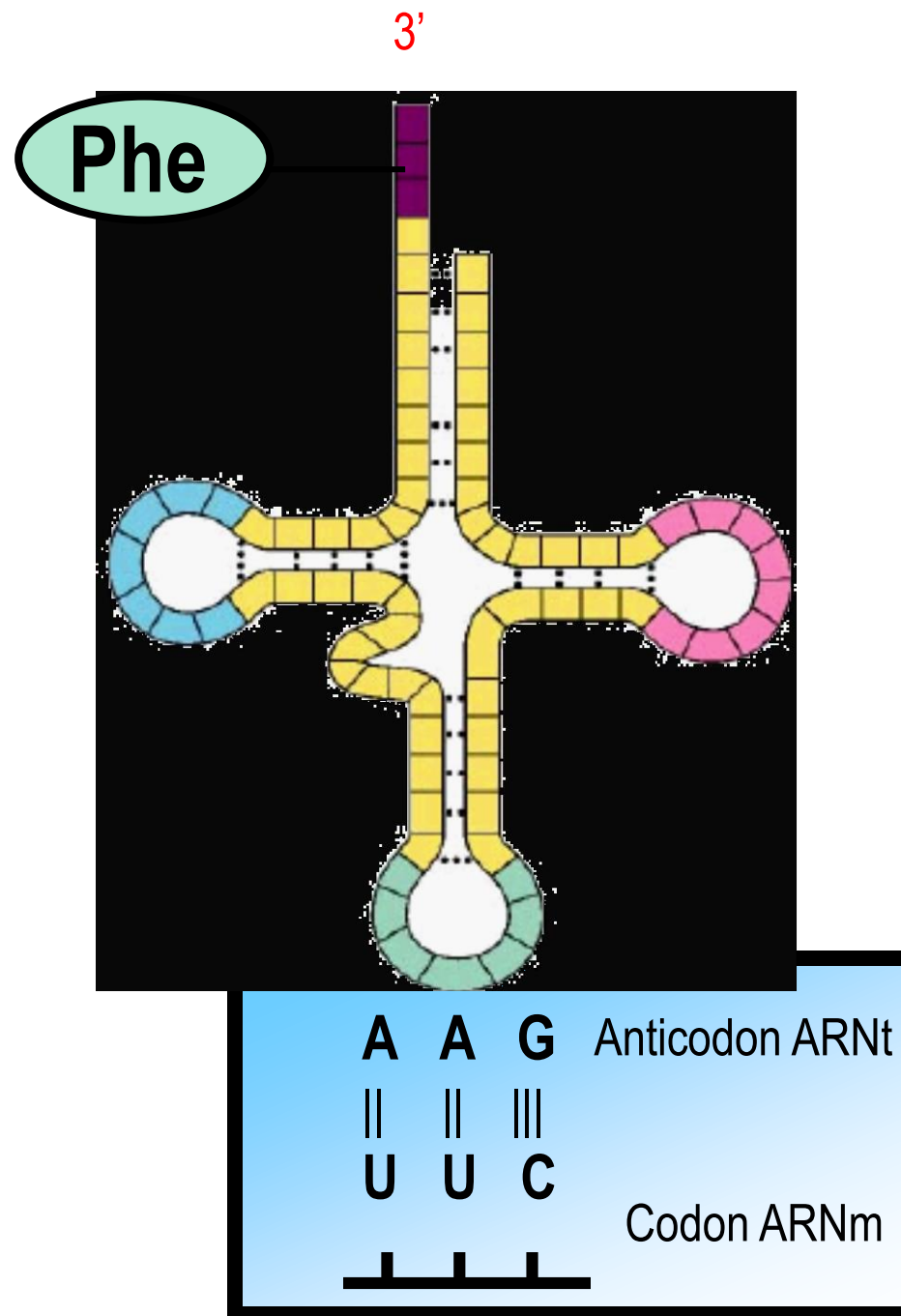
Cherchez ensuite ce codon dans la liste des codons (p. 332 du volume) et voyez quel acide aminé sera porté par cette molécule d'ARNt

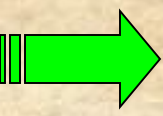
		Second base					
		U	C	A	G		
U	UUU	Phe	Ser	UAU	UGU	U	
	UUC						UCC
	UUA	UCA		UAA Stop	UGA Stop	A	
	UUG	UCG		UAG Stop	UGG Trp	G	
C	CUU	Leu	Pro	CAU	CGU	U	
	CUC						CCU
	CUA			CCA	CAA	CGA	A
	CUG			CCG	CAG	CGG	G
A	AUU	Ile	Thr	AAU	AGU	U	
	AUC						ACU
	AUA	ACA		AAA	AGA	A	
	AUG Met or start	ACG		AAG	AGG	G	

Phe

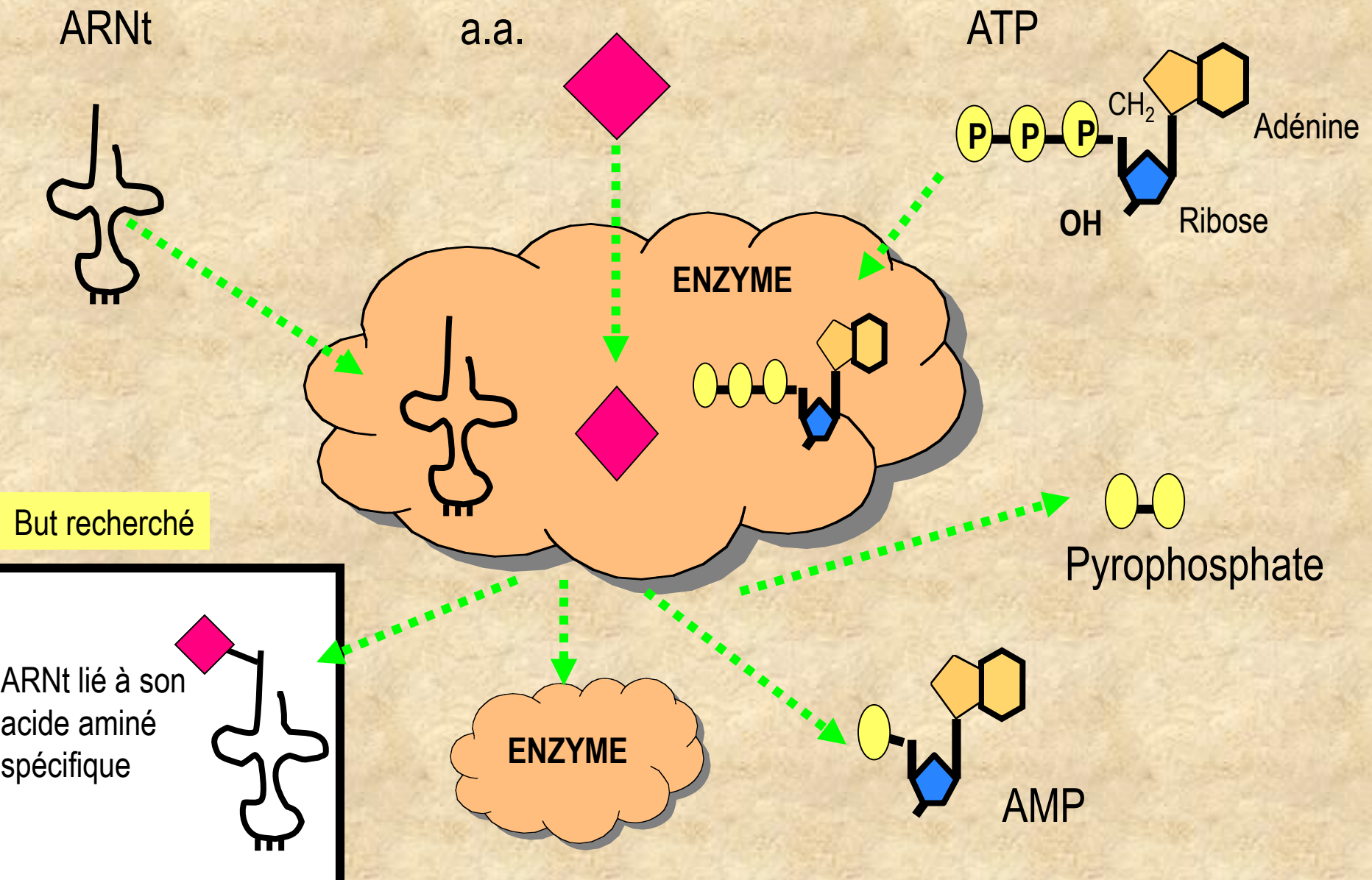
3

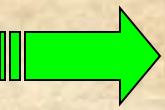
L'acide aminé spécifique qui se lie à cet ARNt est la phénylalanine





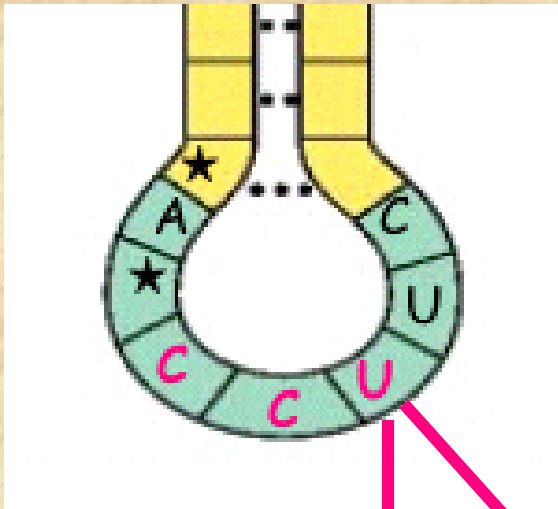
L'ARN t se lie à son acide aminé spécifique, avec l'aide d'une enzyme spécifique (*aminoacyl ARNt synthétase*)





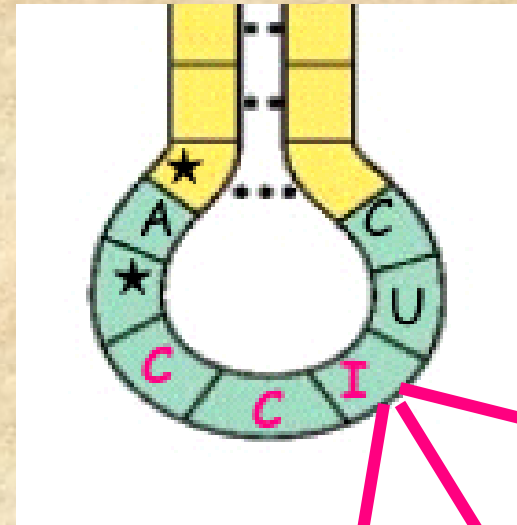
Les 45 sortes d'ARNt différents de la cellule suffisent à reconnaître les 61 codons codants de l'ARN messager — relâchement des règles d'appariement (oscillation). **LIRE**

La base U peut s'apparier avec A ou G en troisième position.



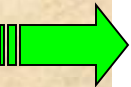
A G

L'inosine peut s'apparier avec A, U ou C en troisième position.



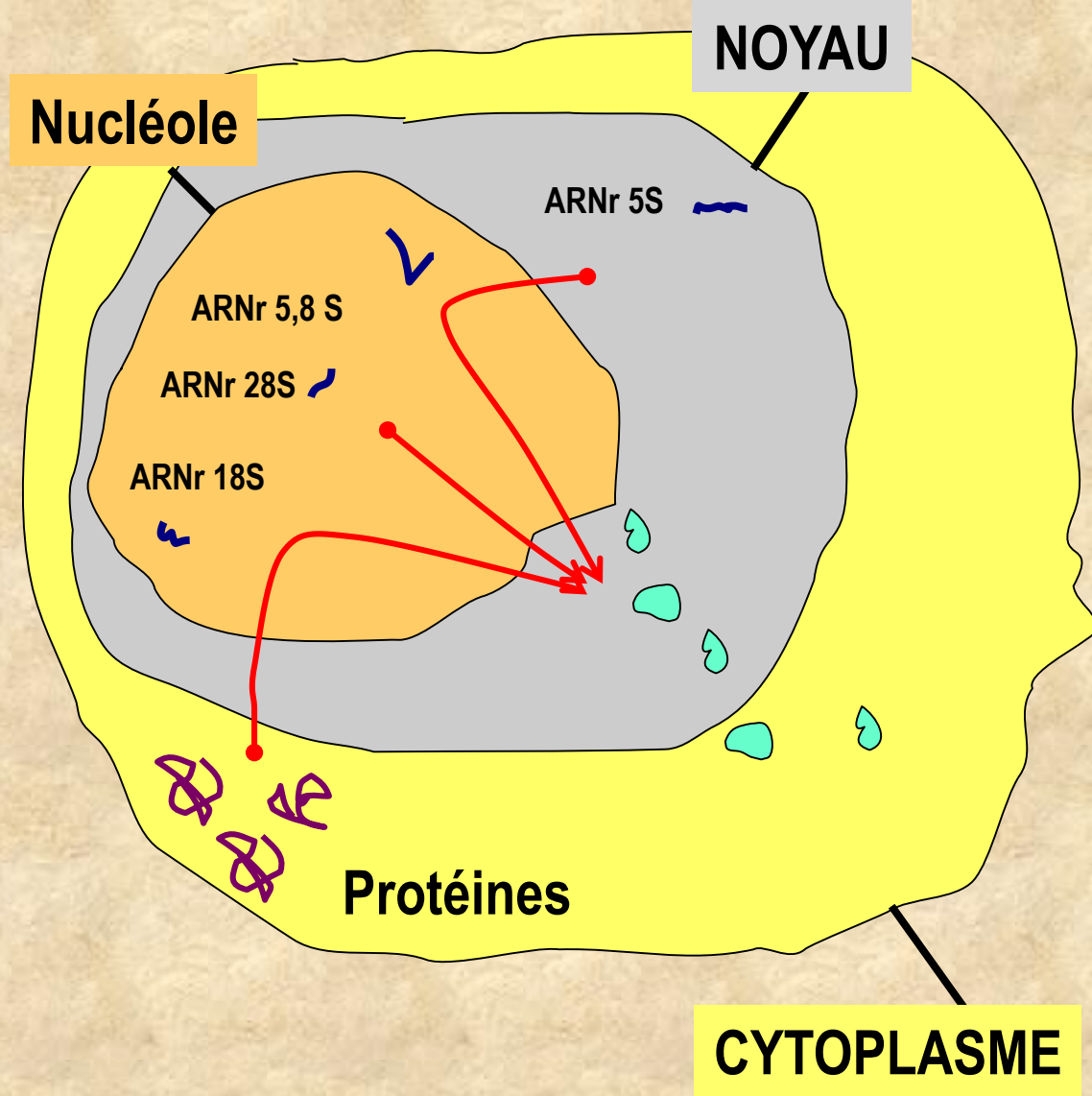
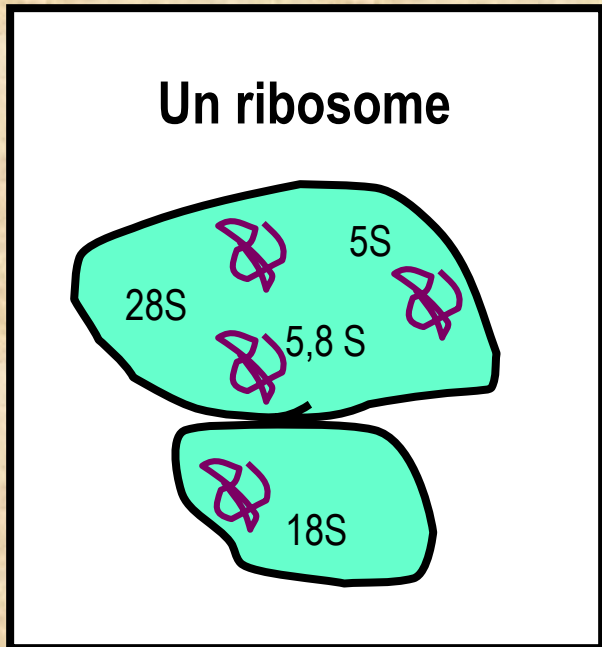
A U C

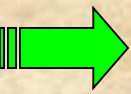
3c. Les 4 types d'ARN r s'associent à des protéines du cytoplasme pour former les ribosomes (via le nucléole)



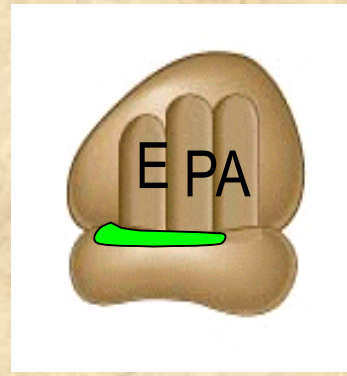
Ribosome

Formé de protéines (issues du cytoplasme) et des ARN ribosomique Grâce au nucléole.

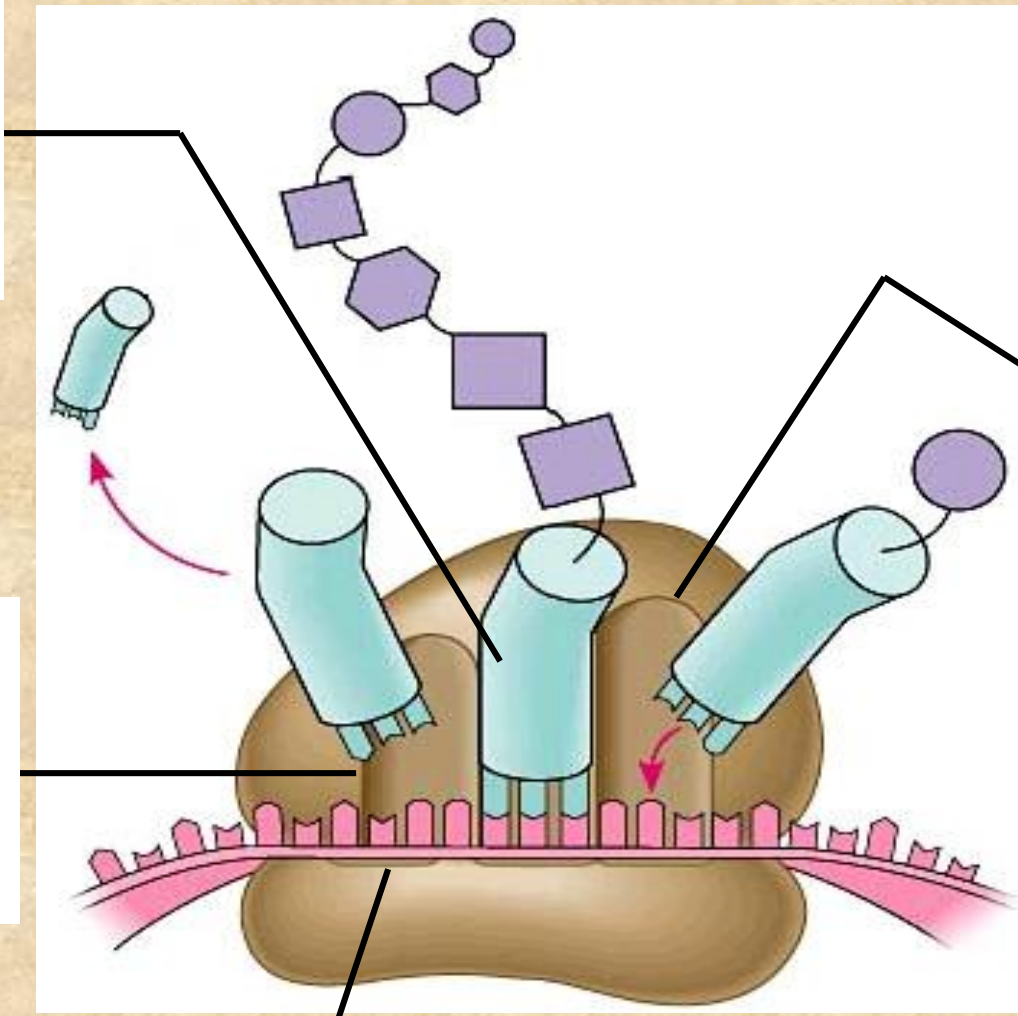




Le ribosome rapproche l'ARNm et les ARNt _acide aminé grâce à quatre sites de liaisons dans le but de former le polypeptide



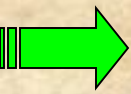
Site P 2
Retient l'ARNt lié au polypeptide en voie de synthèse.



Site E 4
Permet la sortie de l'ARNt ayant fini «sa job».

Site A 3
Retient l'ARNt chargé d'un acide aminé qui s'ajoute.

1 Site de liaison de l'ARNm (site de la petite sous-unité)



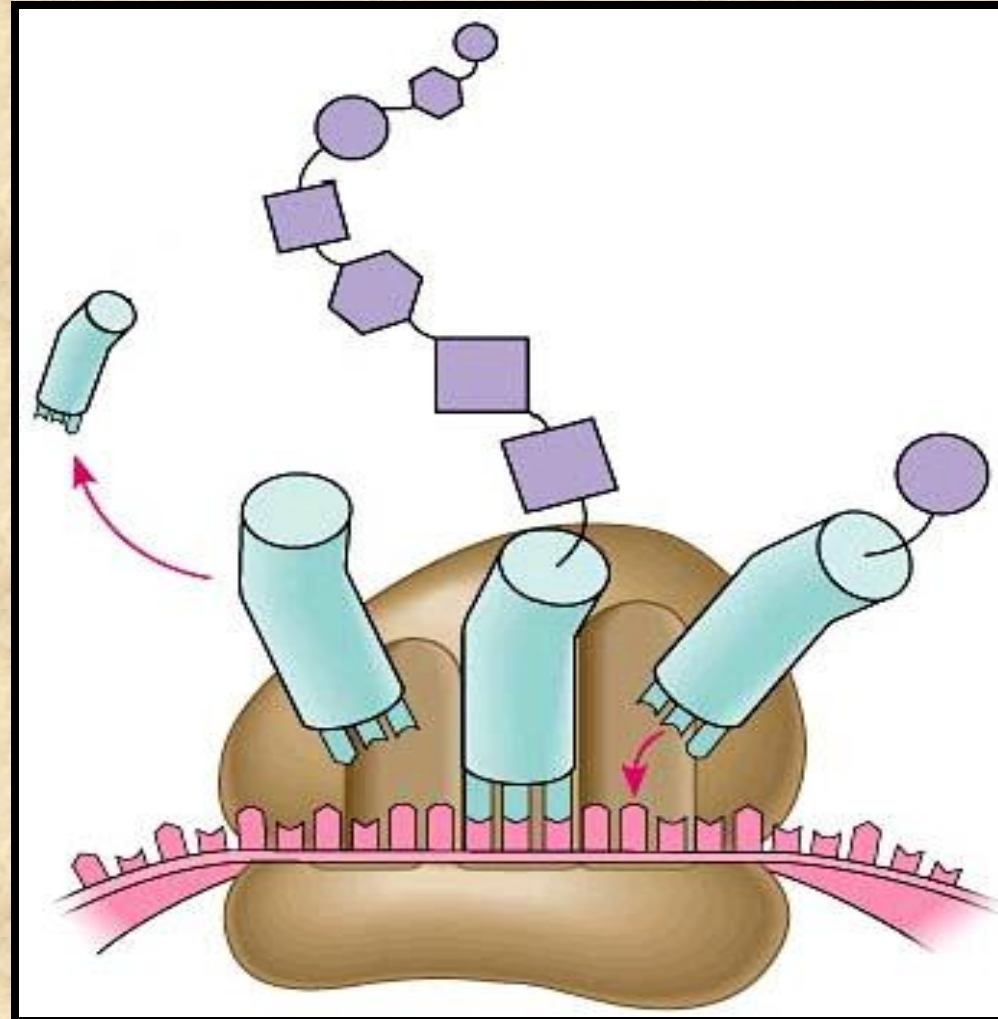
Les rôles du ribosome

Rôle général des ribosomes

Lieu de la synthèse d'une chaîne polypeptidique

Rôles spécifiques des ribosomes

1. Fixer l'ARNm.
2. Lire les codons d'ARNm.
3. Fixer les ARNt chargés de leurs acides aminés (par leurs anticodons).
4. Favoriser la formation des liens peptidiques entre les acides aminés (grâce à un enzyme).

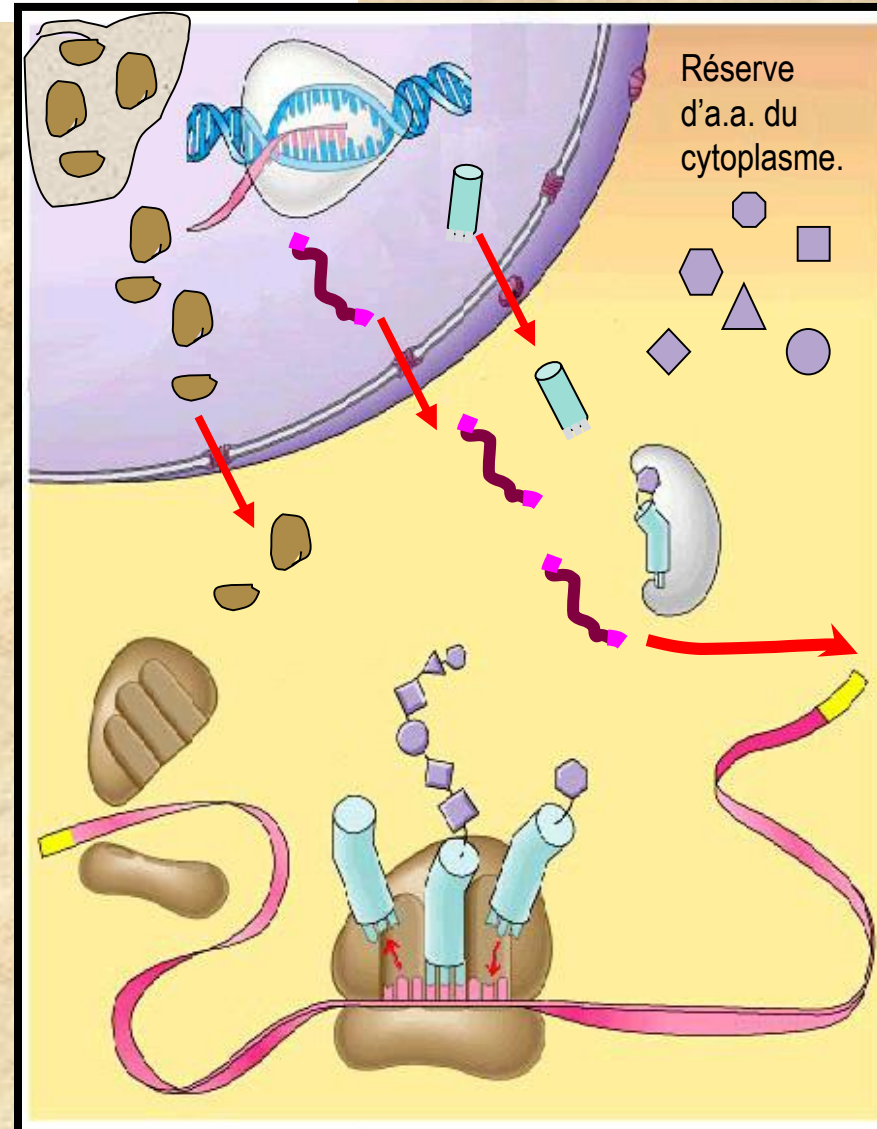
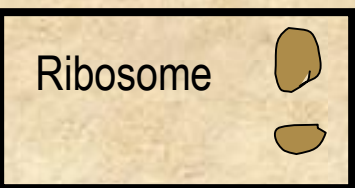


4. La traduction de l'ARNm se fait dans le cytoplasme

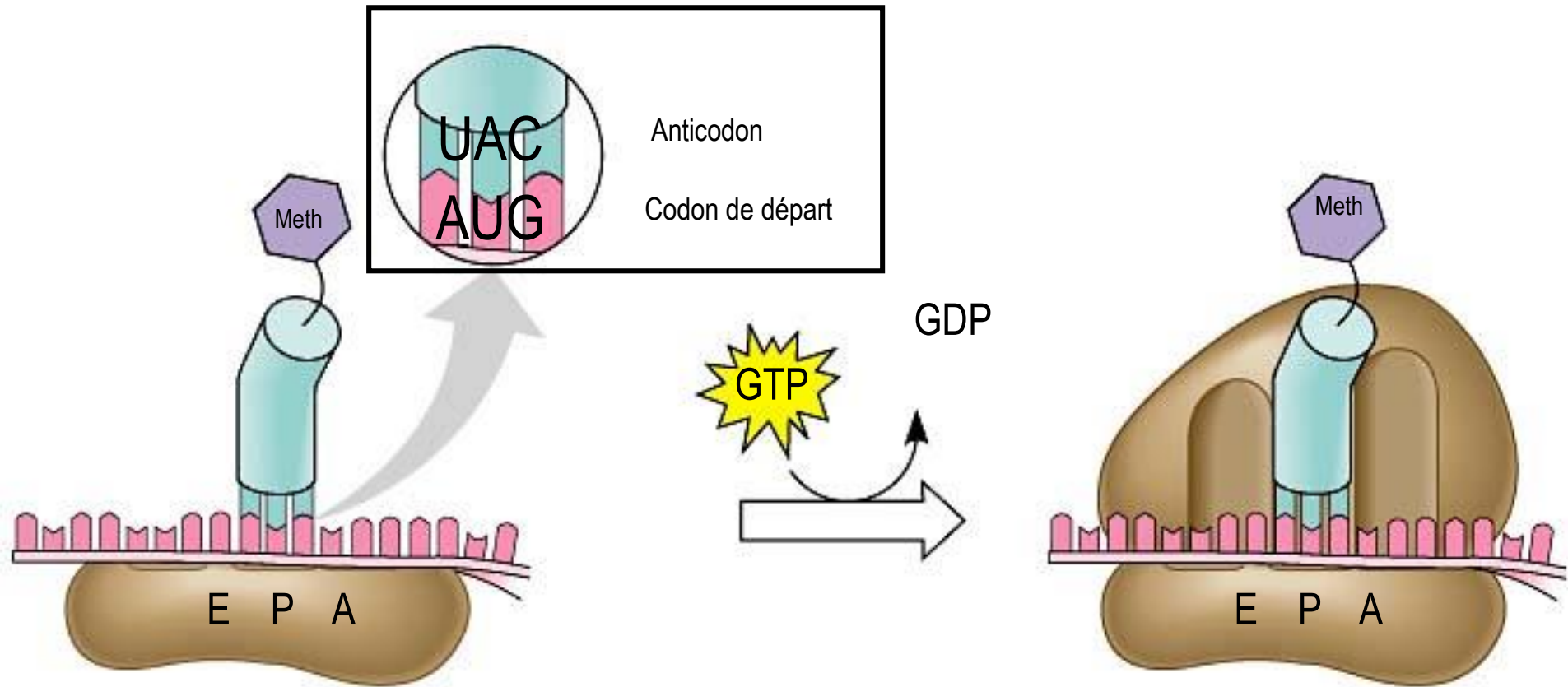
Les ARN sortent du noyau vers le cytoplasme puis s'associent pour la traduction.

Les 3 trois étapes de la traduction : **initiation, élongation et terminaison**

Résultat de la traduction : **une chaîne polypeptidique**



Initiation



1

La petite partie du ribosome se fixe à l'ARNm puis, l'ARNt — a.a. se fixe au codon de départ (par liens H).

2

La grande partie du ribosome se fixe à son tour grâce à l'énergie de la GTP. Le ribosome est prêt pour l'élongation.

Élongation

5

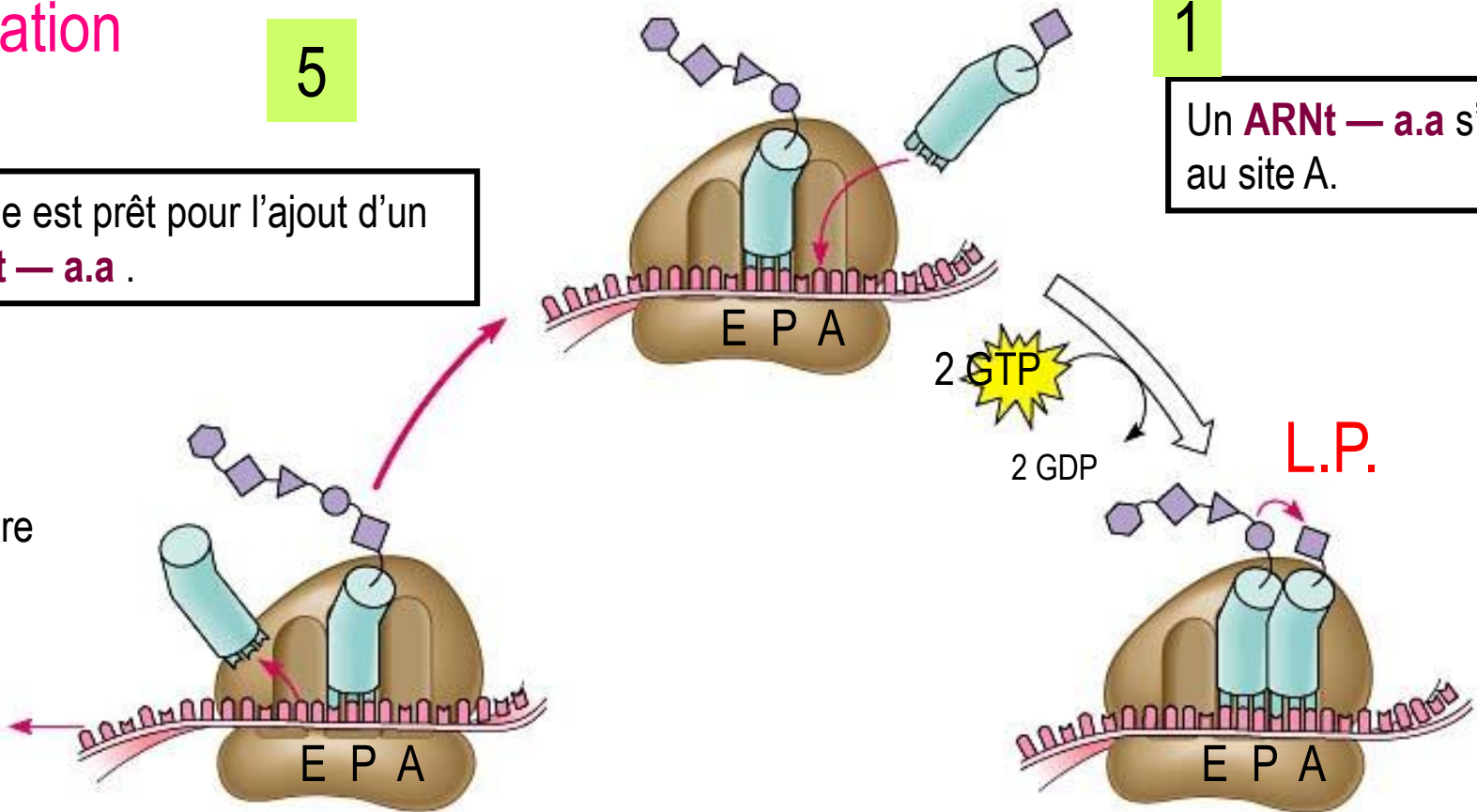
Le ribosome est prêt pour l'ajout d'un autre **ARNt — a.a** .

1

Un **ARNt — a.a** s'ajoute au site A.

4

L'ARNt libre est libéré.



2 GTP
2 GDP

L.P.

2

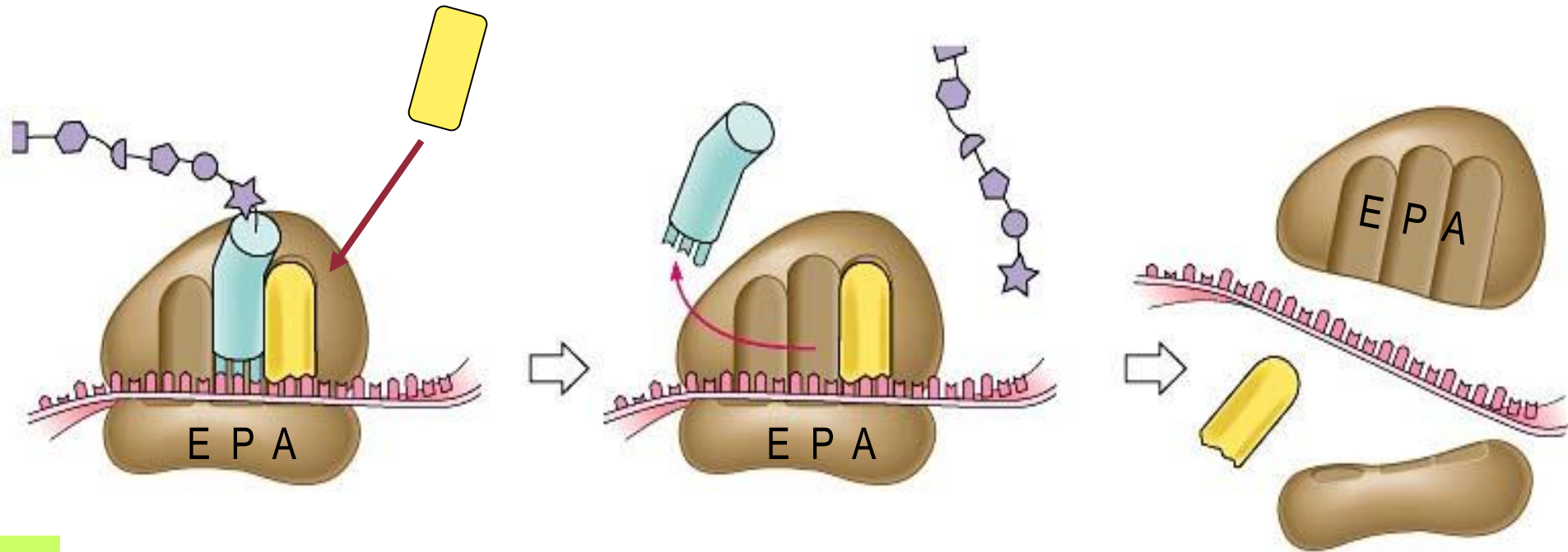
3

L'**ARNt — vide** passe du site P au site E et l'**ARNt — polypeptide** passe du site A au site P (en tirant l'ARNm avec lui).

GDP
GTP

Formation du lien peptidique et transfert du polypeptide sur l'ARNt du site A.

Terminaison



1

Le ribosome lit le codon d'arrêt. Une protéine de terminaison se lie au site A.

2

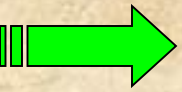
Le facteur de terminaison hydrolyse le lien qui relie le polypeptide à l'ARNt. Le polypeptide se détache ainsi que l'ARNt du site P.

3

Les sous-unités du ribosome sont libérées.

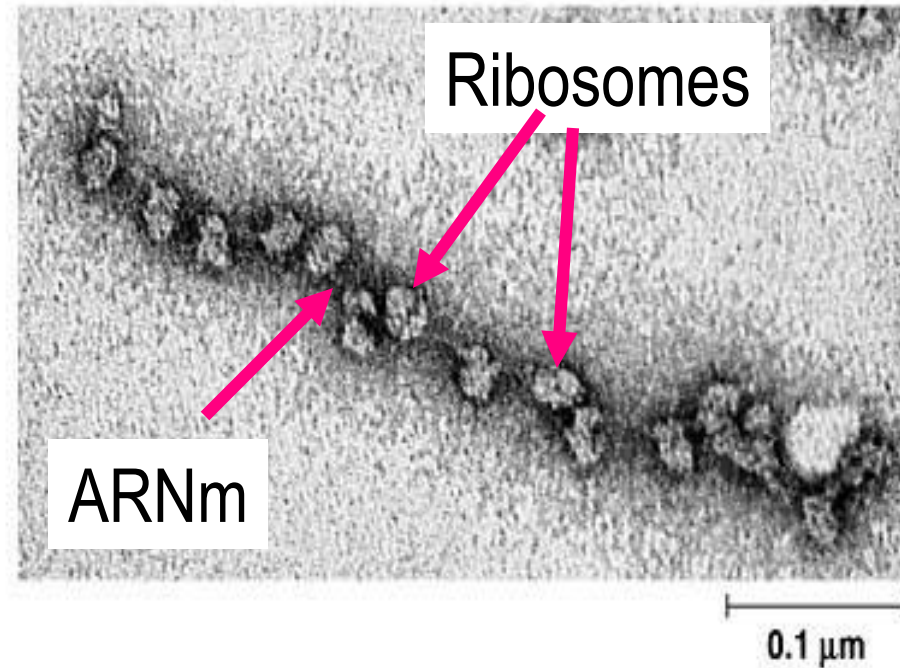
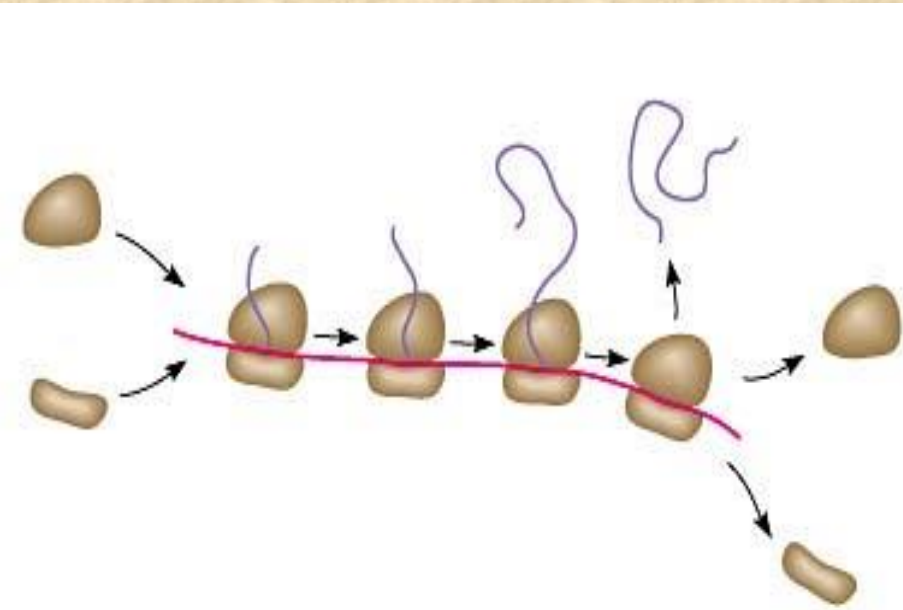
5. Quelques précisions sur la synthèse protéique.

- 1. Les 3 types d'ARN sont des outils qui servent plusieurs fois avant d'être dégradés.**
- 2. Les ARNt et les ribosomes sont semblables chez tous les eucaryotes.**
- 3. Les ARNm diffèrent entre les espèces car ils sont issus de gènes différents.**
- 4. Des ARNm différents amènent la production des protéines spécifiques à chaque espèce.**
- 5. Une molécule d'ARNm se fait généralement traduire par plusieurs ribosomes simultanément.**
- 6. Pendant la synthèse, et après, la chaîne polypeptidique se replie spontanément en adoptant sa conformation native.**
- 7. Avant de devenir véritablement fonctionnelle, la chaîne subit des modifications : ajout de glucides, lipides, phosphates ou autres, coupure des acides aminés du début, fragmentation en deux ou plusieurs sous-chaînes, regroupement avec d'autres chaînes polypeptidiques ...**



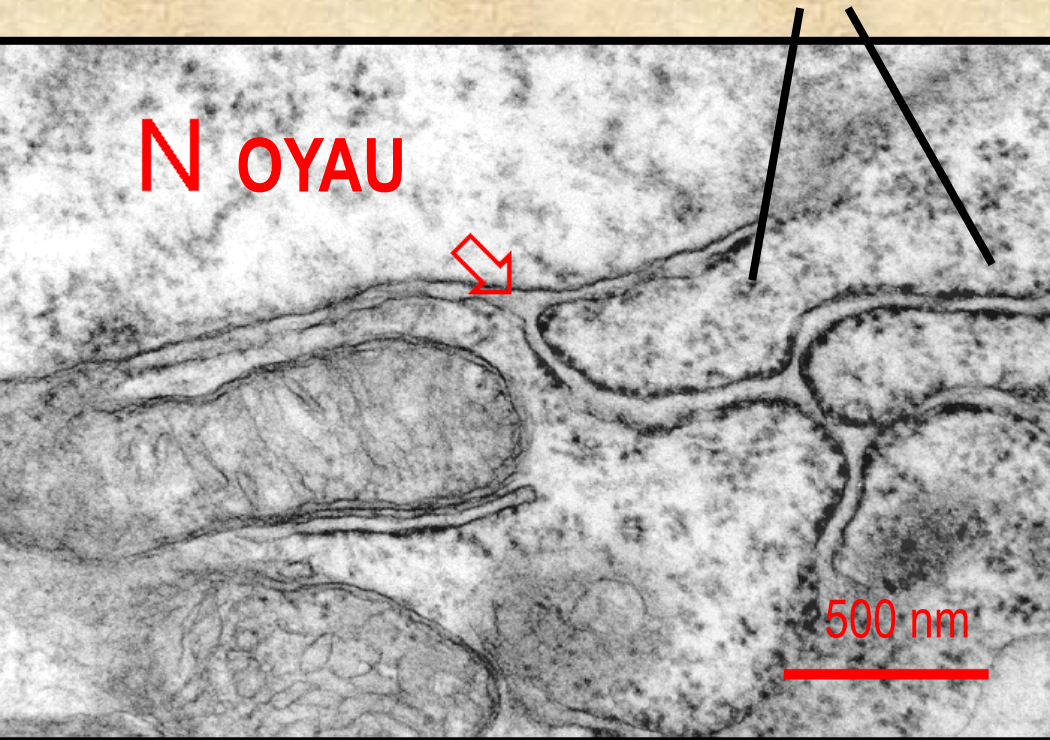
Un ARNm lu par plusieurs ribosomes en même temps signe une activité cellulaire intense.

Un polyribosome



6. Les deux populations de ribosomes sécrètent des protéines à destinée différente

→ La population de ribosomes libres du cytosol

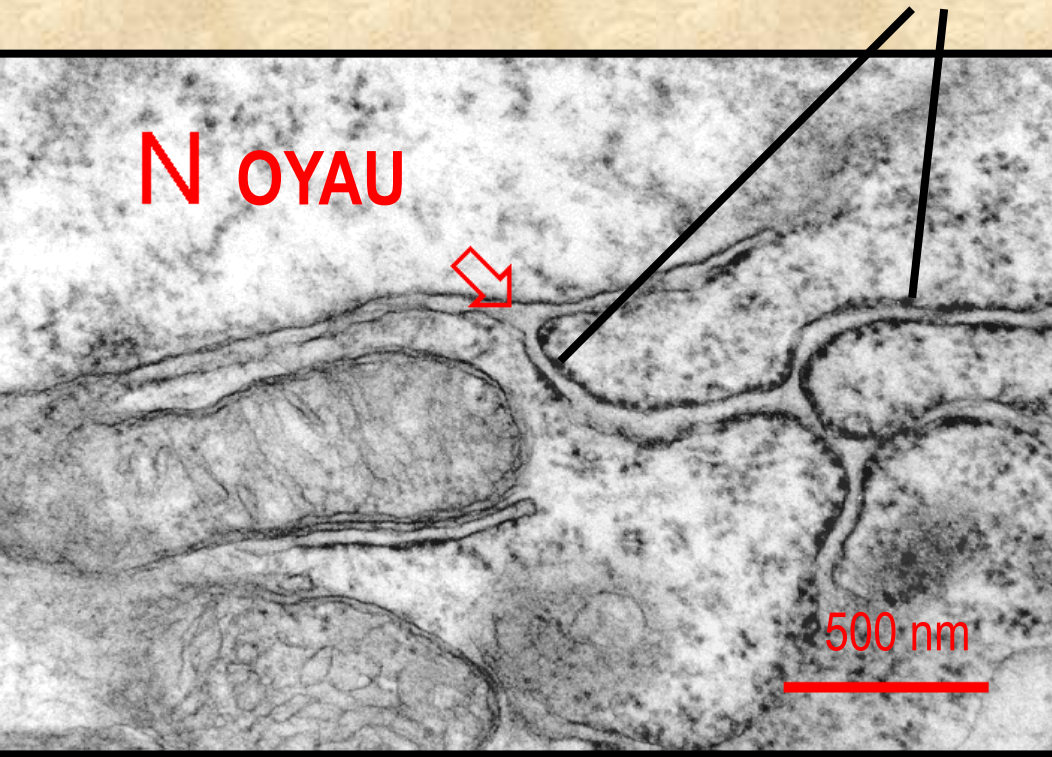


Un neurone

1. Synthétise des protéines **destinées à se dissoudre dans le cytosol** pour y exercer leurs fonctions.
2. Synthétise des protéines **destinées aux organites strictement intracellulaires** comme les mitochondries, les chloroplastes, l'intérieur du noyau et les peroxysomes.

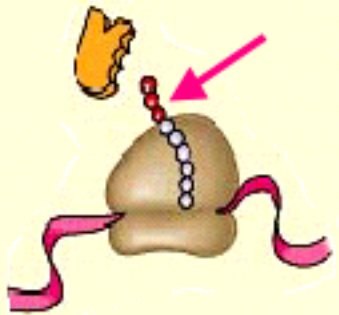


La population de ribosomes liés aux membranes du REG



Un neurone

1. Synthétise des **protéines du réseau intracellulaire de membranes** (l'enveloppe nucléaire, le RE, l'appareil de Golgi, les lysosomes, les vacuoles et la membrane plasmique).
2. Synthétise les **protéines qui doivent être sécrétées** à l'extérieur de la cellule (comme l'insuline).

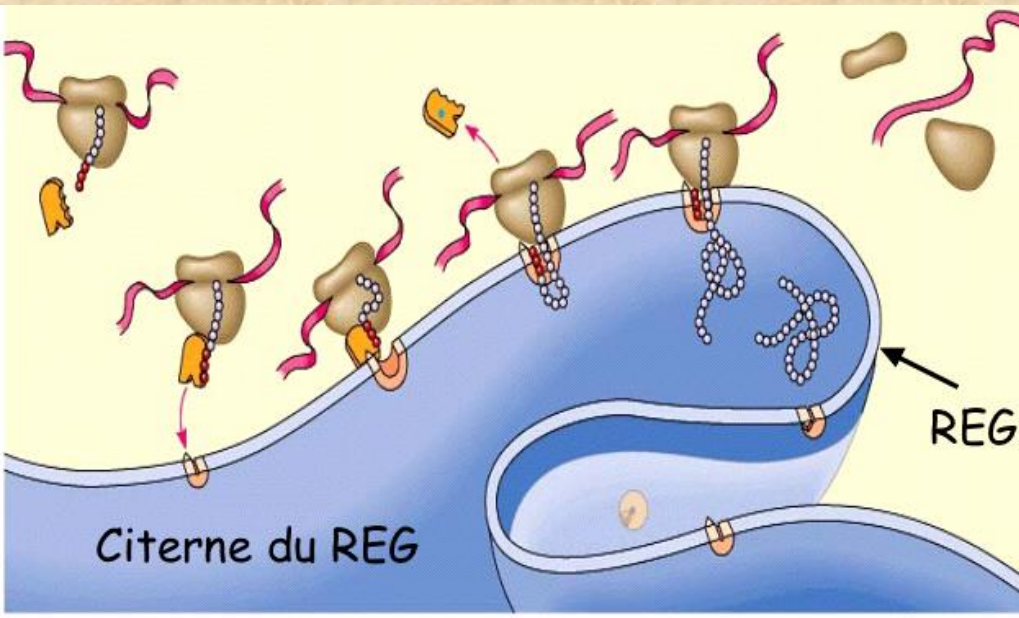


1

De toute façon, la synthèse d'un polypeptide commence toujours dans un ribosome libre du cytosol.

Lorsque la protéine débute par une **séquence signal** « appropriée », le ribosome interrompt sa synthèse pour un moment pour aller se lier au REG.

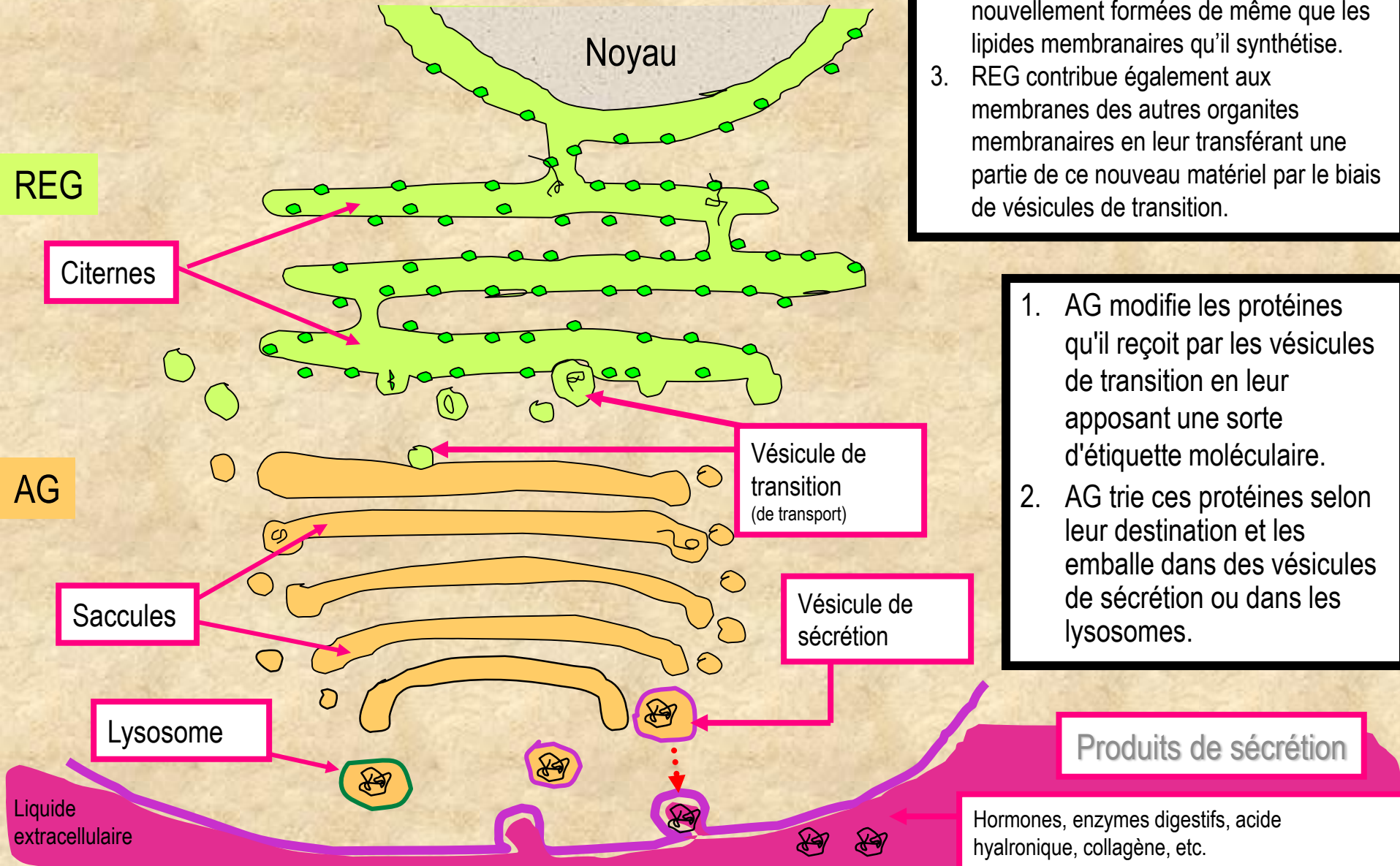
2



Une fois lié, le ribosome poursuit la synthèse du polypeptide qui pénètre, au fur et à mesure de son allongement, dans la citerne du REG où il se replie pour adopter sa conformation native.

3

Rappel du cheminement des protéines dans REG et AG !



1. REG sucre les protéines qui entrent dans ses citernes puis les emballe dans des vésicules de transition.
2. REG accroît sa propre membrane en y intégrant certaines protéines nouvellement formées de même que les lipides membranaires qu'il synthétise.
3. REG contribue également aux membranes des autres organites membranaires en leur transférant une partie de ce nouveau matériel par le biais de vésicules de transition.

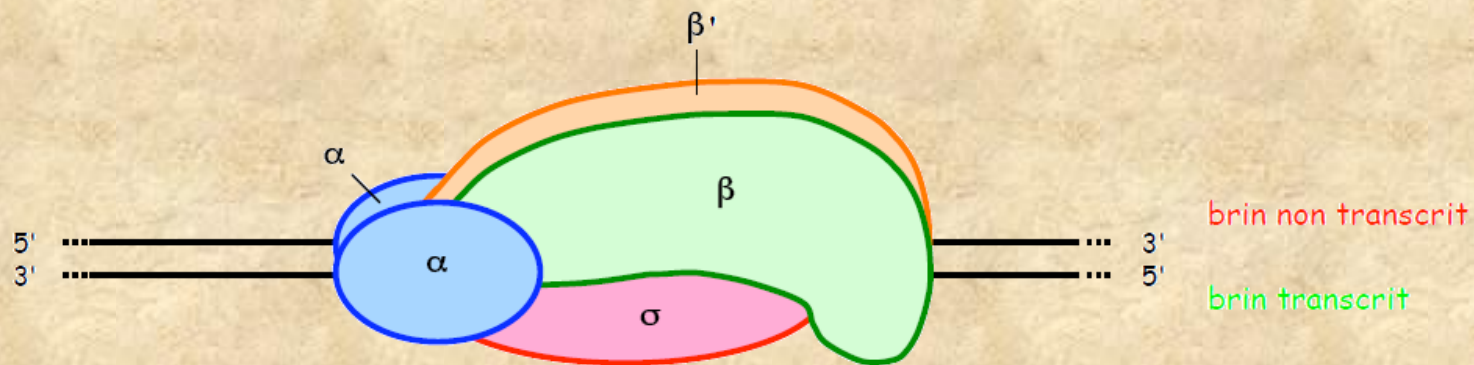
1. AG modifie les protéines qu'il reçoit par les vésicules de transition en leur apposant une sorte d'étiquette moléculaire.
2. AG trie ces protéines selon leur destination et les emballe dans des vésicules de sécrétion ou dans les lysosomes.

Hormones, enzymes digestifs, acide hyalronique, collagène, etc.

Transcription chez les procaryotes.

L'ARN polymérase ADN dépendante de E.Coli comporte 4 sous unités de 3 sous type différents β , β' , α 2 = core enzyme.

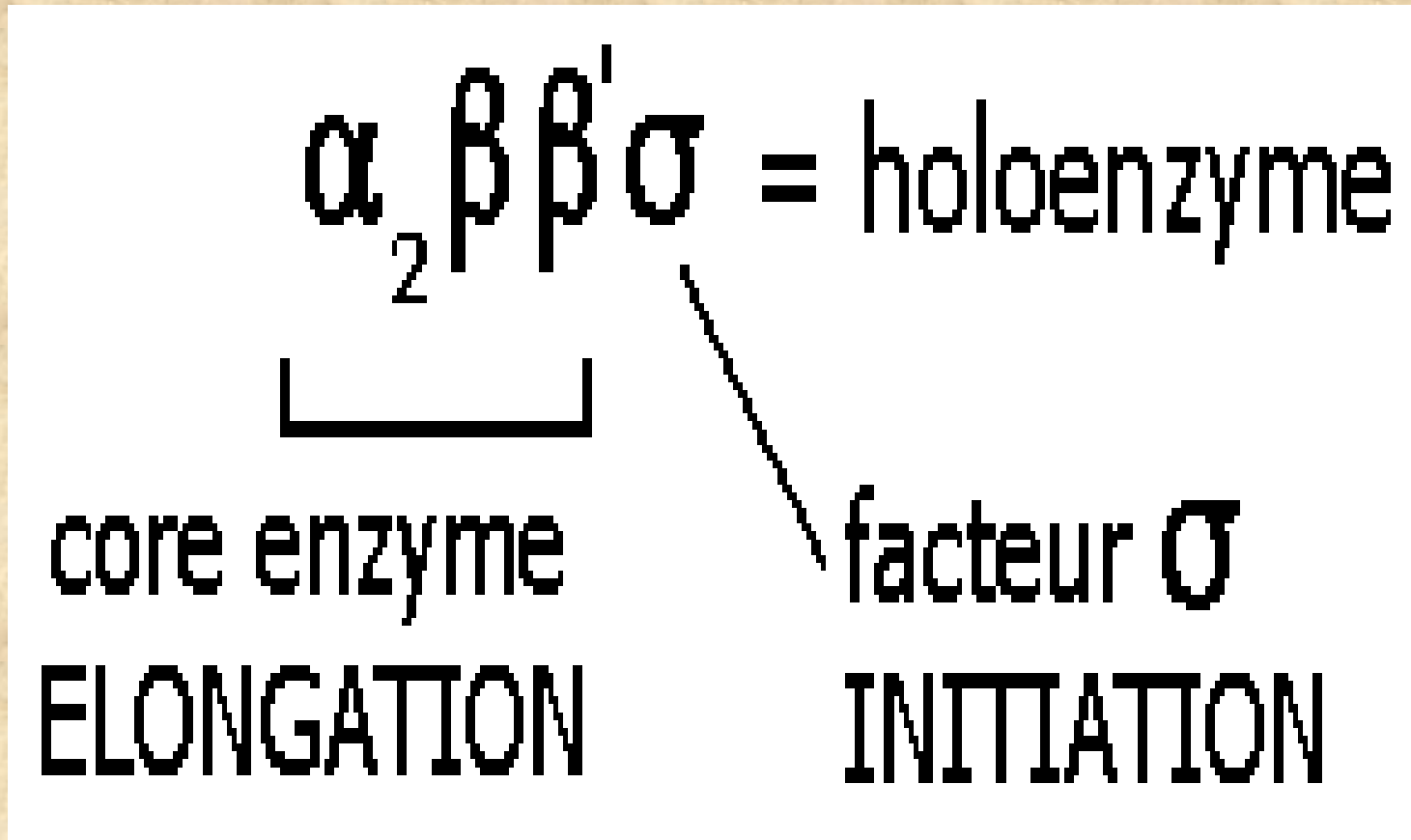
Une 5^{ème} sous unité ou facteur est nécessaire à l'initiation de la transcription = σ (*sigma*), lorsqu'elle est associée avec le core enzyme on obtient l'**Holoenzyme**.



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.

L'ARN polymérase bactérienne ou holoenzyme (500 kDa) est une enzyme multimérique composée de 5 sous-unités $\alpha_2\beta\beta'\sigma$:



Cet holoenzyme se charge de la synthèse d'ARNt, r ou m indifféremment.

Les fonctions des différentes sous unités

Sous unité	Fonction
β	se charge de la fixation de nucléosides triphosphates
β'	se charge de la fixation de la matrice
α	reconnaissance probable des promoteurs
σ	reconnait les promoteurs "forts"

La transcription chez les procaryotes

Comme pour la réplication :

- L'ADN sert de matrice (template),
- La synthèse (ici d'ARN) se fait de 5'→3',
- Se passe en 3 étapes : initiation, élongation, terminaison,
- L'initiation se fait au niveau d'une région particulière (ici promoteur),
- La synthèse nécessite l'ouverture de l'ADN,
- La terminaison se fait au niveau d'une région particulière (ici terminateur).

Transcription chez les procaryotes (suite)

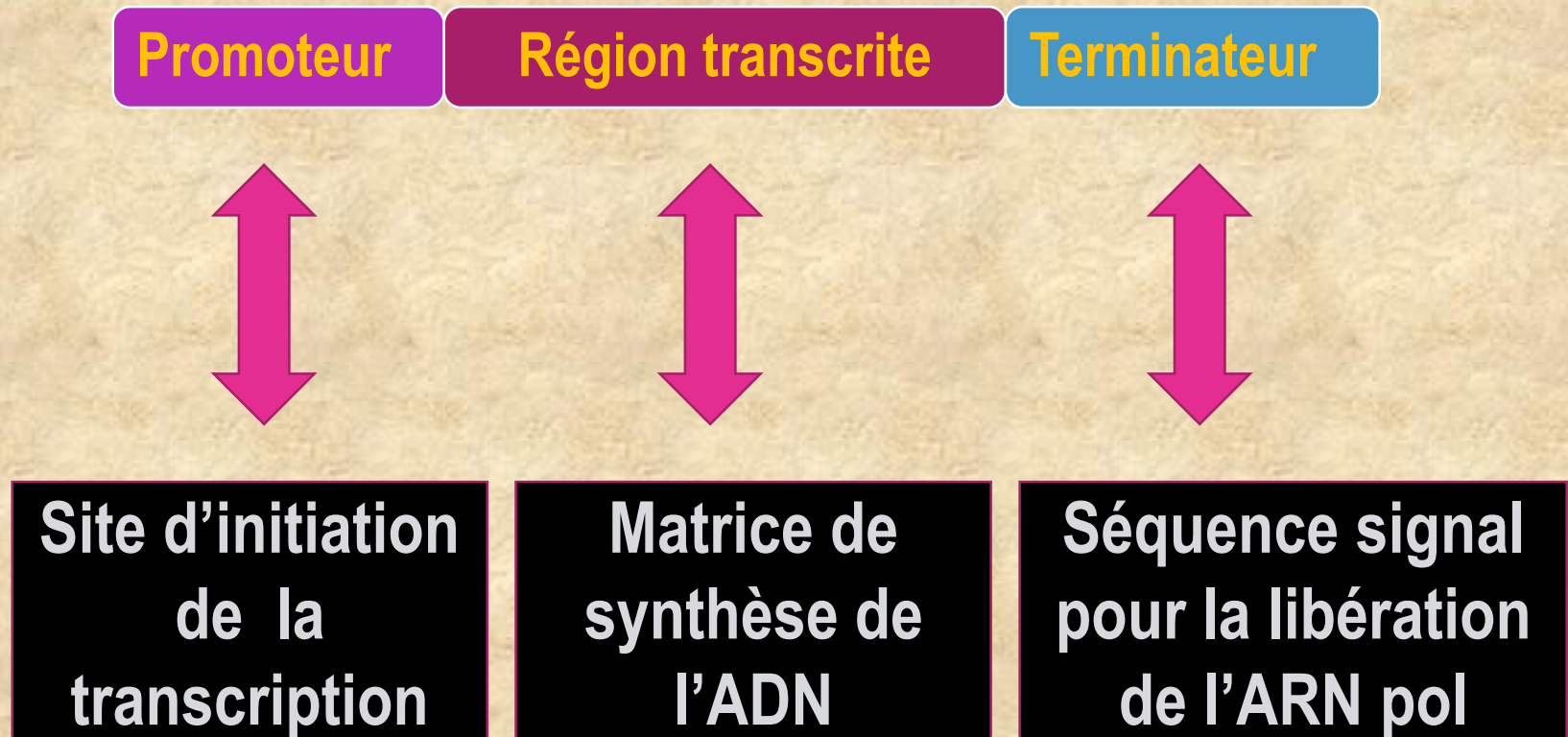
La transcription se déroule en 5 étapes :

1. Interaction de l'holoenzyme avec l'ADN au niveau du promoteur. Formation d'une bulle de transcription ie 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**)

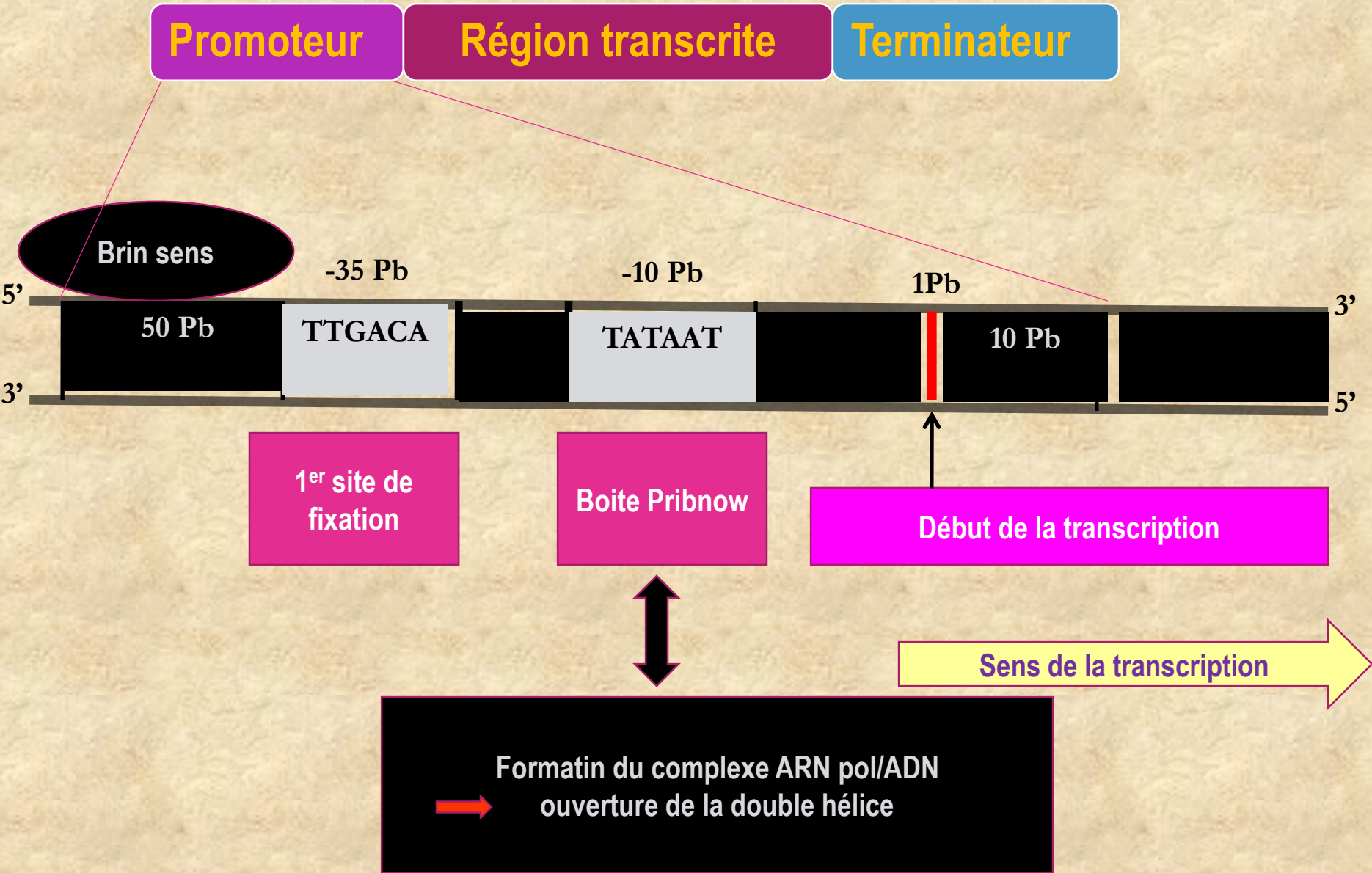
I-Transcription chez les bactéries

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**

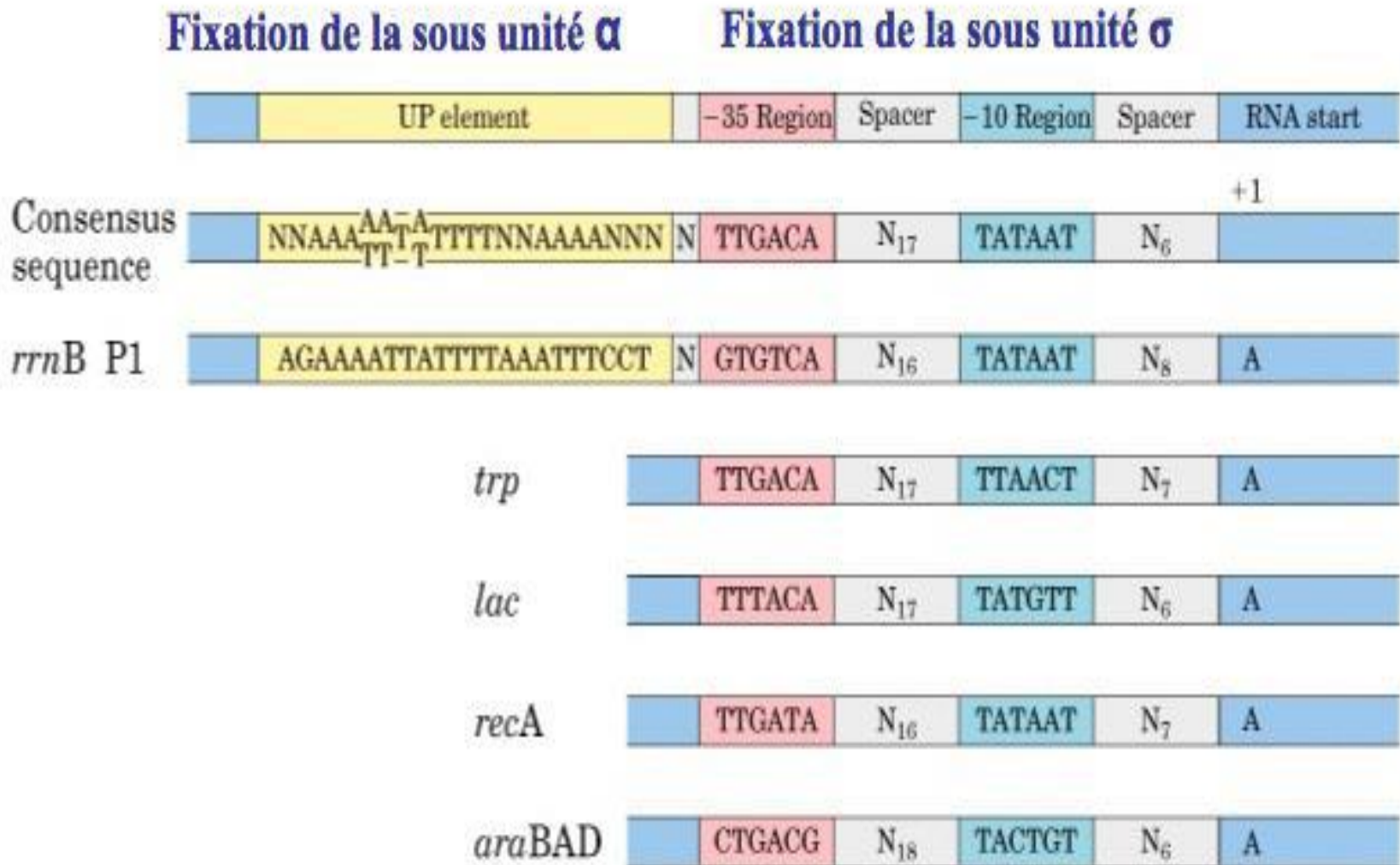
1- Organisation d'un gène bactérien



2 - Promoteur et initiation de la transcription

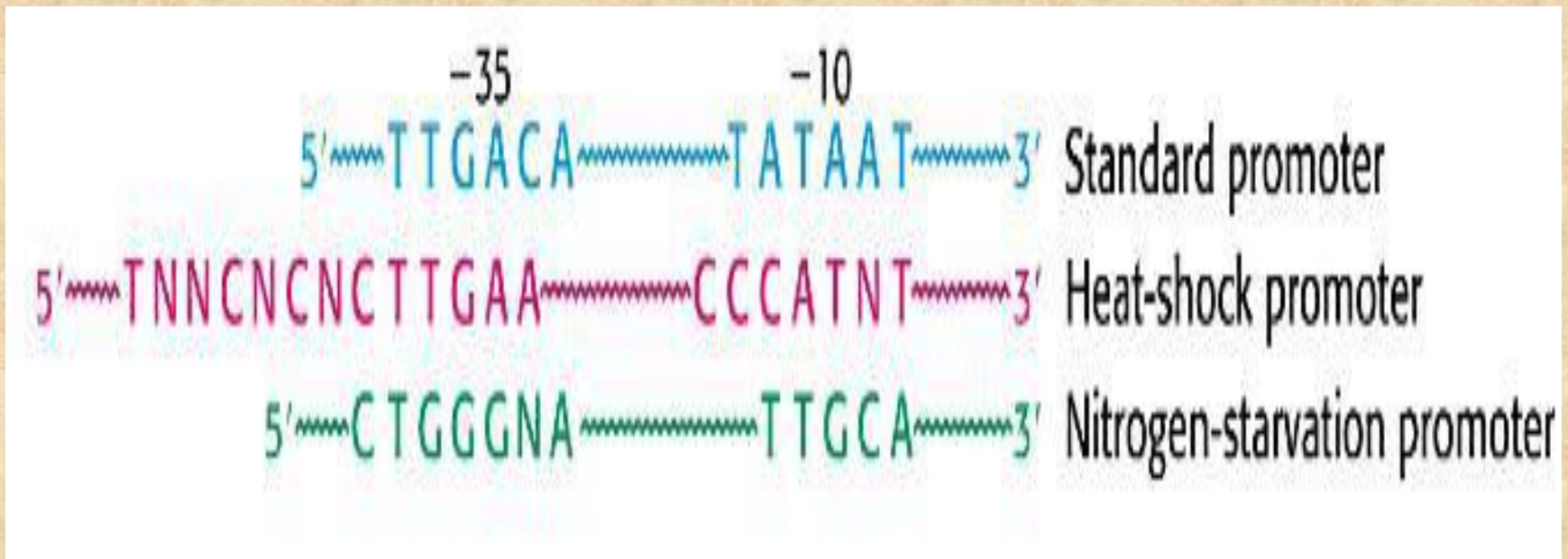


2.1. Structure des promoteurs et diversité des facteurs sigma

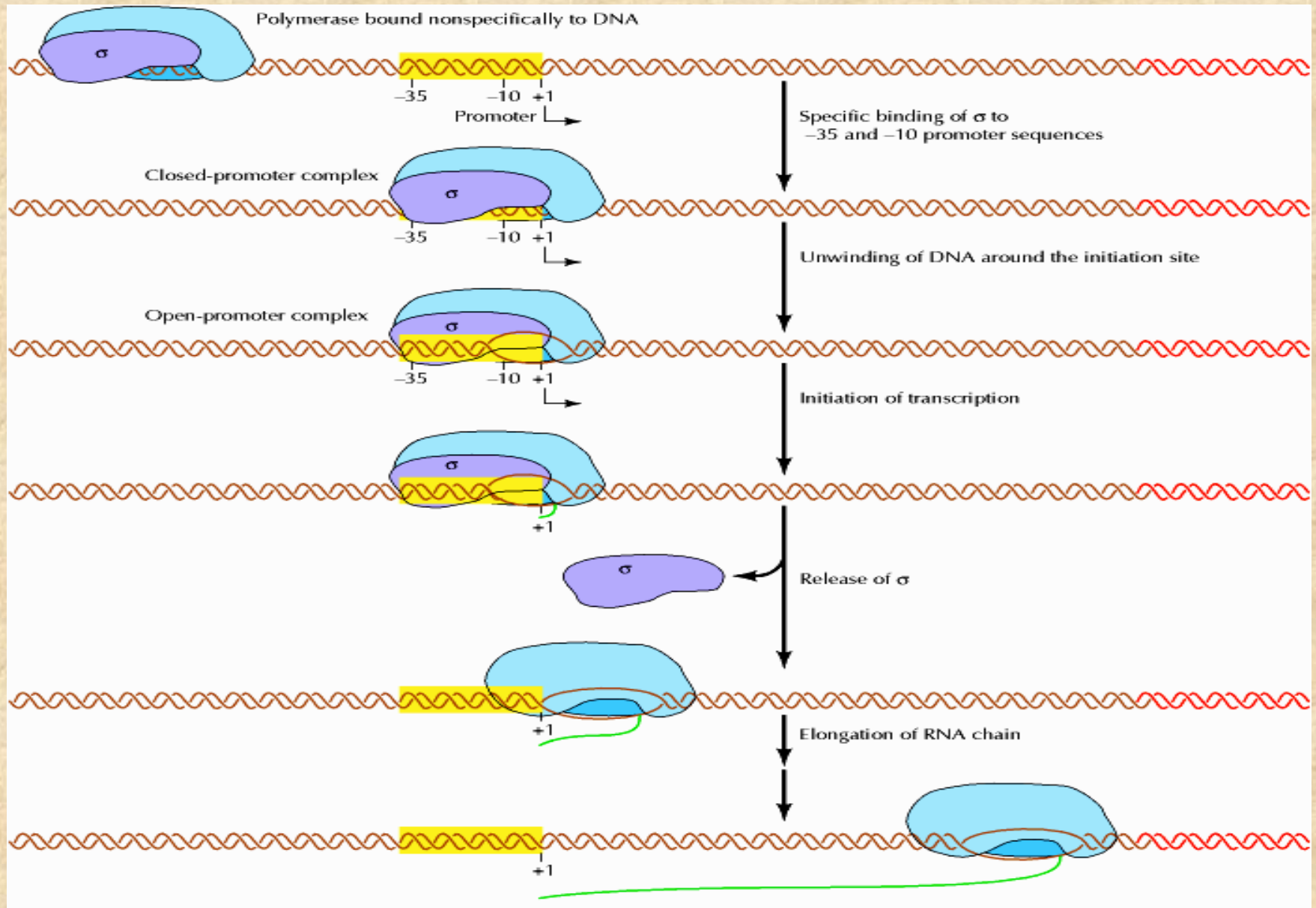


Chez *E. coli*, 7 facteurs sigma qui reconnaissent des séquences différentes
Sigma de la famille 70 : σ^{70} standards (reconnait différentes séquences de promoteurs)

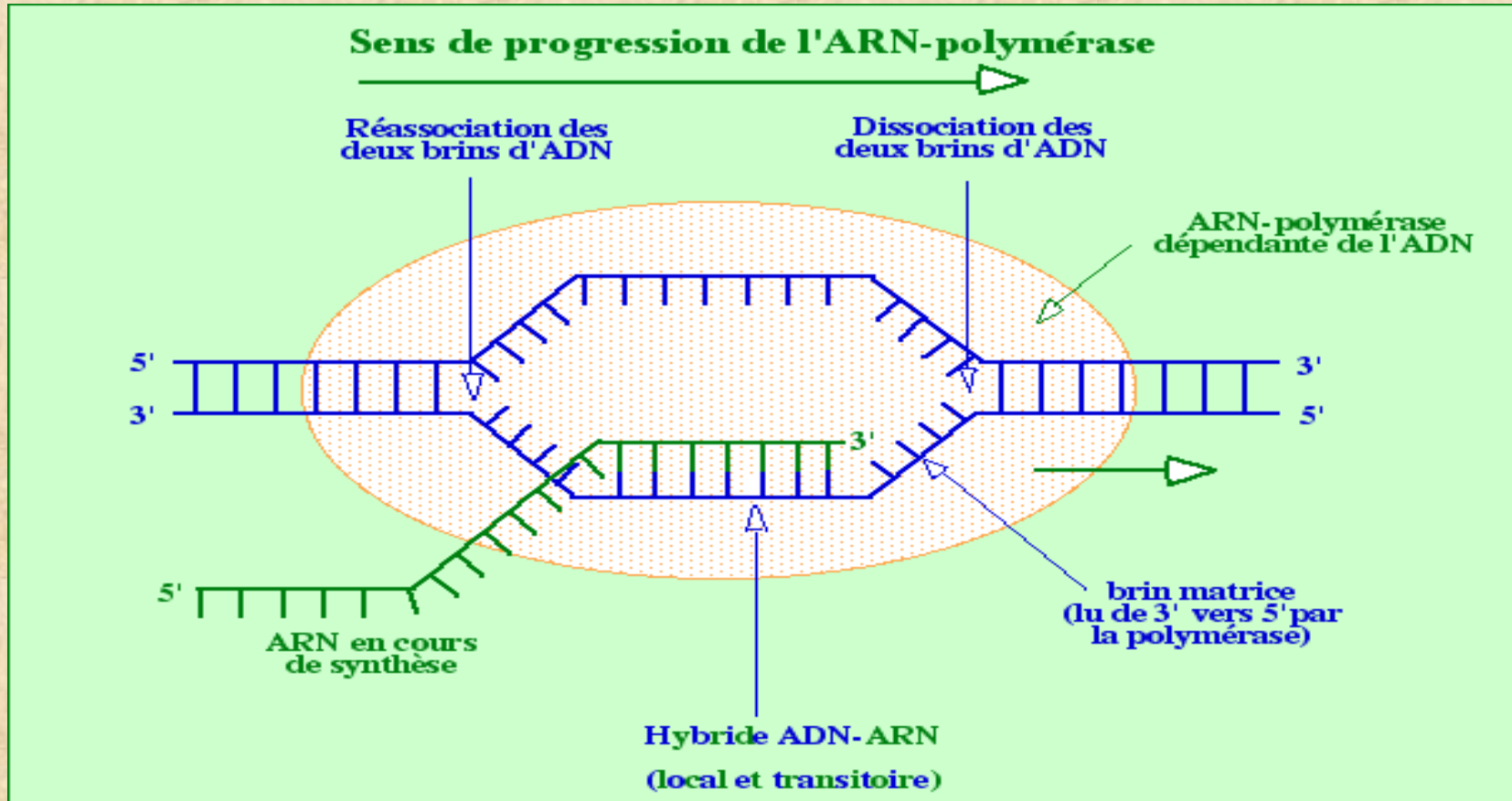
- Sigma de la famille 32 : σ^{32} spécifique à la réponse au choc thermique
- Sigma de la famille 54 : σ^{54} spécifique à l'assimilation de l'azote



2.2. Initiation de la transcription des ARNm chez les bactéries



3. Elongation de la chaîne d'ARN



- assurée par le core de la polymérase à une vitesse d'environ 30nucl/sec.
- Topoisomérases précèdent et suivent la polymérase
- Souvent plusieurs transcrits de la même matrice



- Unité de transcription polycistronique

4. Terminaison de la transcription

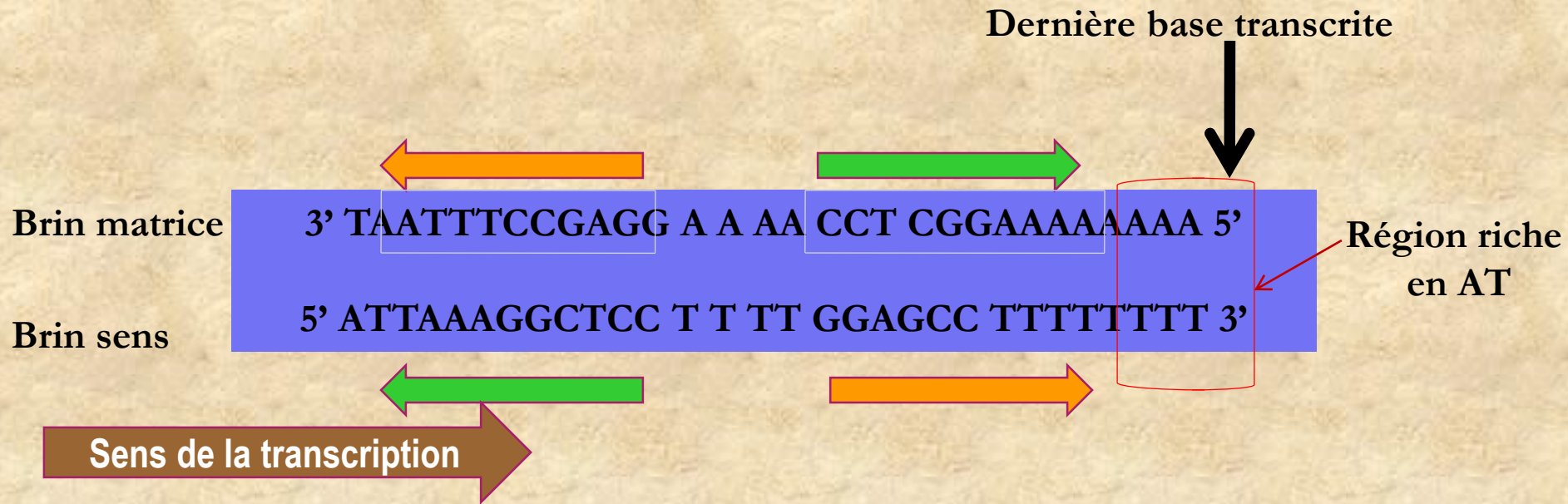
Processus conduisant à la **dissociation** des sous unités de l'ARN polymérase après la rencontre des **signaux de terminaison**

Deux mécanismes:

- Terminaison «rhô-indépendante»: terminateurs intrinsèques
- Terminaison «rhô-dépendante»: dépend de la présence d'une protéine rho

4.1. Terminaison rho-indépendante:

Terminateur intrinsèque



Sites spécifiques de terminaison: constitué de 3 segments caractéristiques

- 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
- Une série de 6 à 8 bases A sur le brin matrice codant pour un poly-U (région de faible énergie)

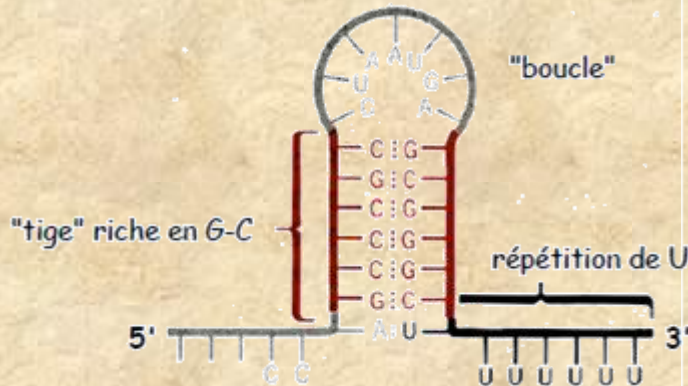
La Terminaison de la Transcription chez les procaryotes (Rho-indépendante)

- Terminaison dépendante d'un facteur intrinsèque :

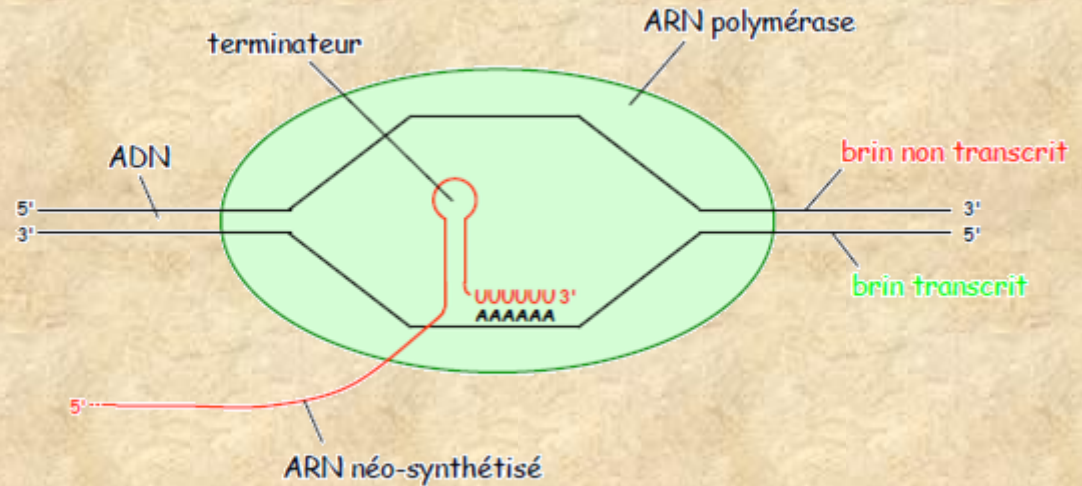
Formation dans le transcrit d'une tige boucle riche en G et C, suivie d'une série de U (= terminateur)

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

Structure du terminateur, séquence d'ARN



Mécanisme de terminaison de la transcription

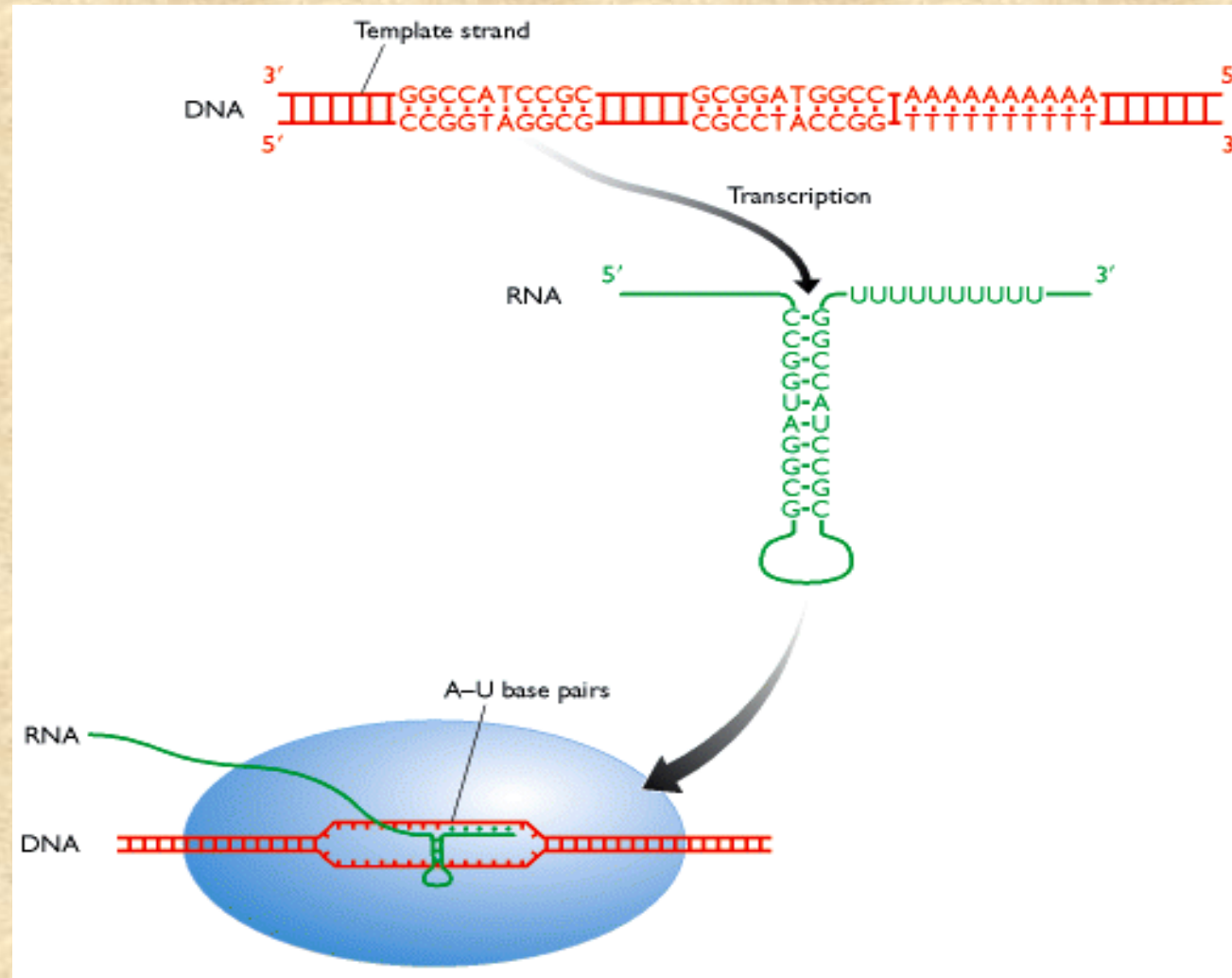


Le terminateur déstabilise les liaisons faibles entre les sous-unités de l'ARN polymérase et entraîne leur séparation et l'arrêt de la transcription.

4.1.1. Terminaison de la transcription des ARNm

Chez les bactéries, la transcription s'achève au niveau d'une séquence palindromique inversée.

La transcription de cette séquence palindromique inversée entraîne la formation d'une épingle à cheveux au niveau de l'ARN néosynthétisé, ce qui déstabilise le complexe de transcription.



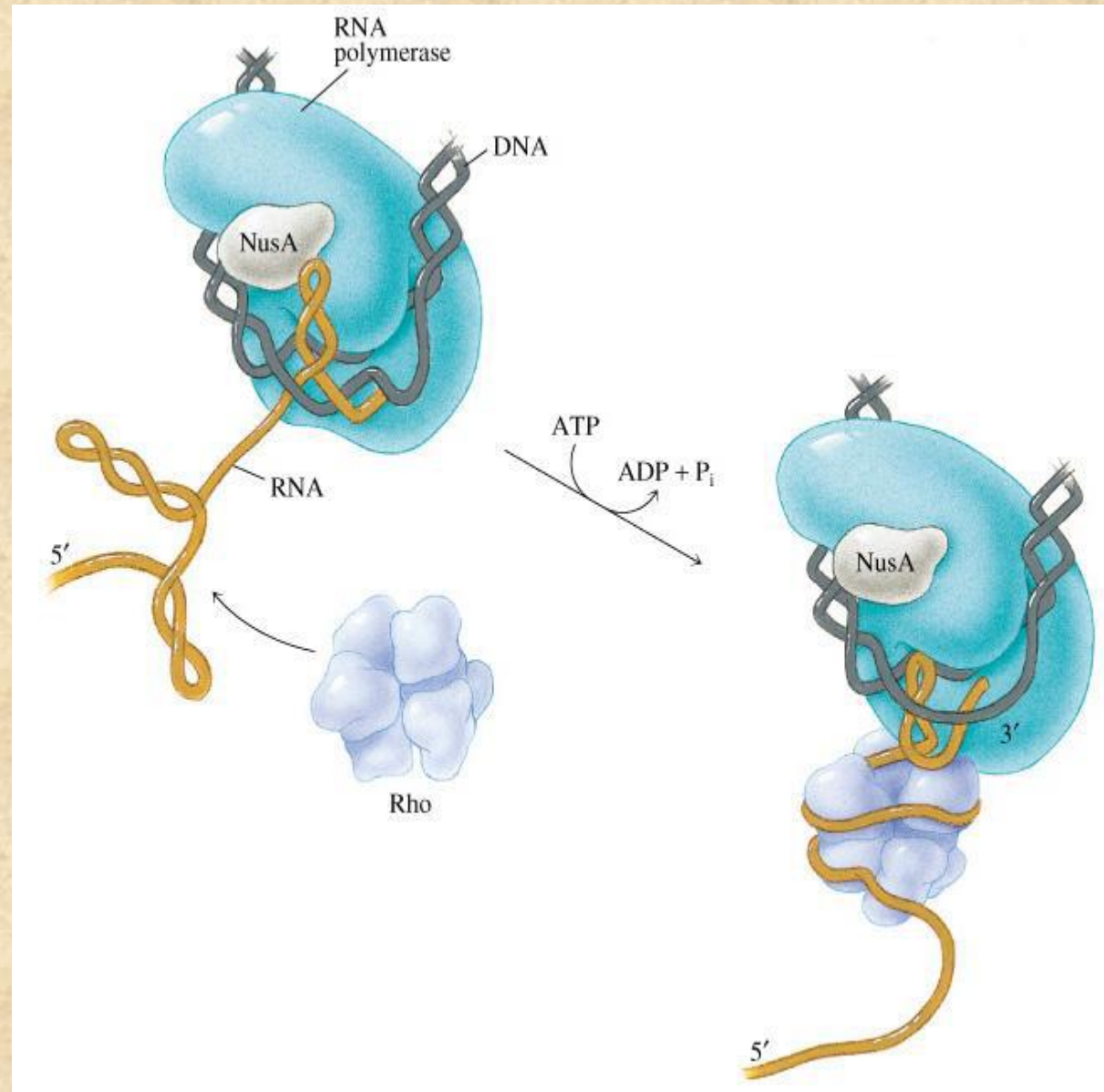
4.1.2. Terminaison rho-dépendante:

Facteur Rho:

- Hélicase ATP dépendante
- Fixation à l'extrémité 5' de l'ARNm, migration le long de l'ARN, localise le complexe pol-ARN et le déroule



Libération de l'ARN nouvellement synthétisé



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

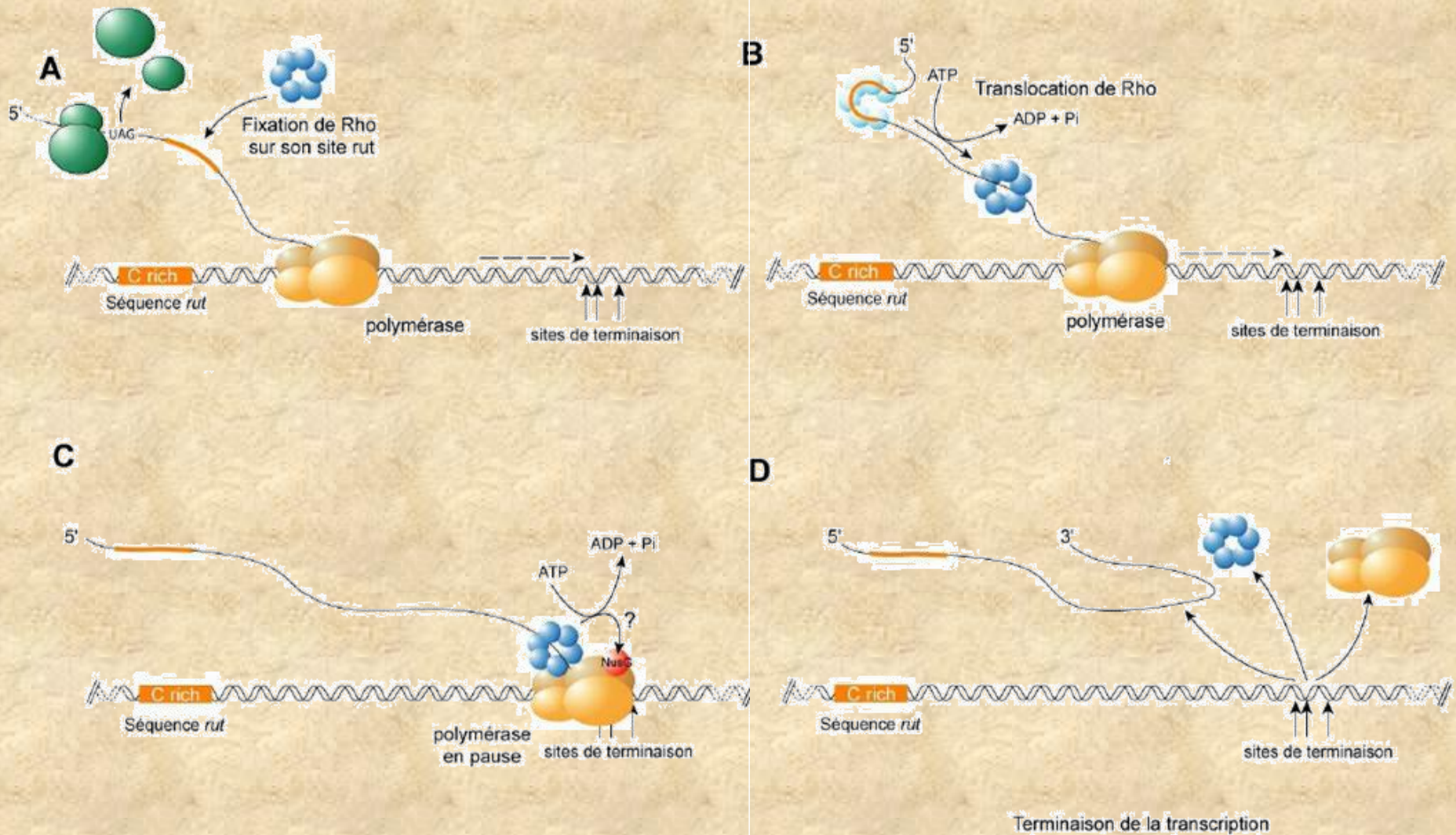
Fixation de Rho sur un site appelé *rut* (rho ut ilization site)

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

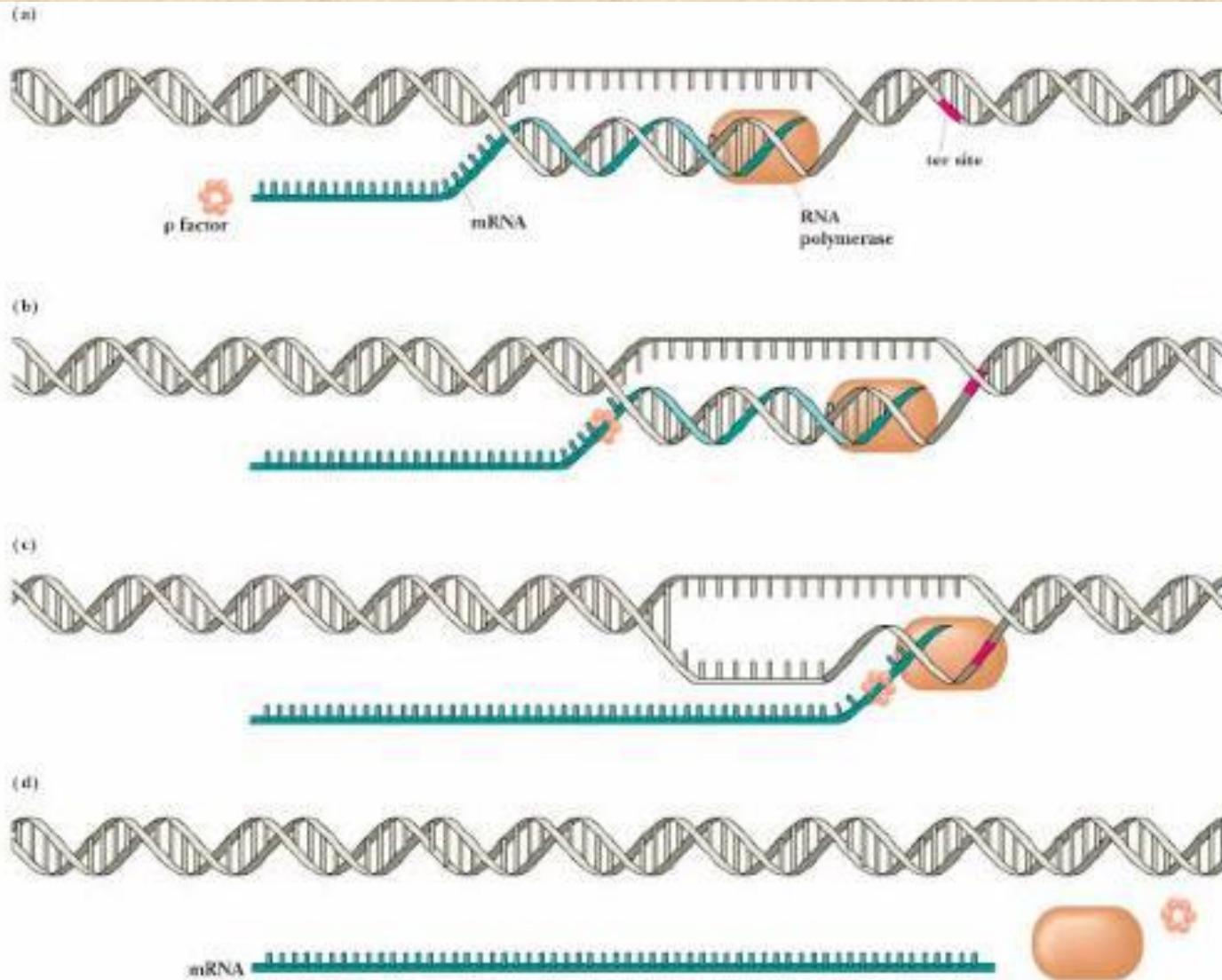
Progression de Rho le long du transcrit (nécessite hydrolyse ATP)

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

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

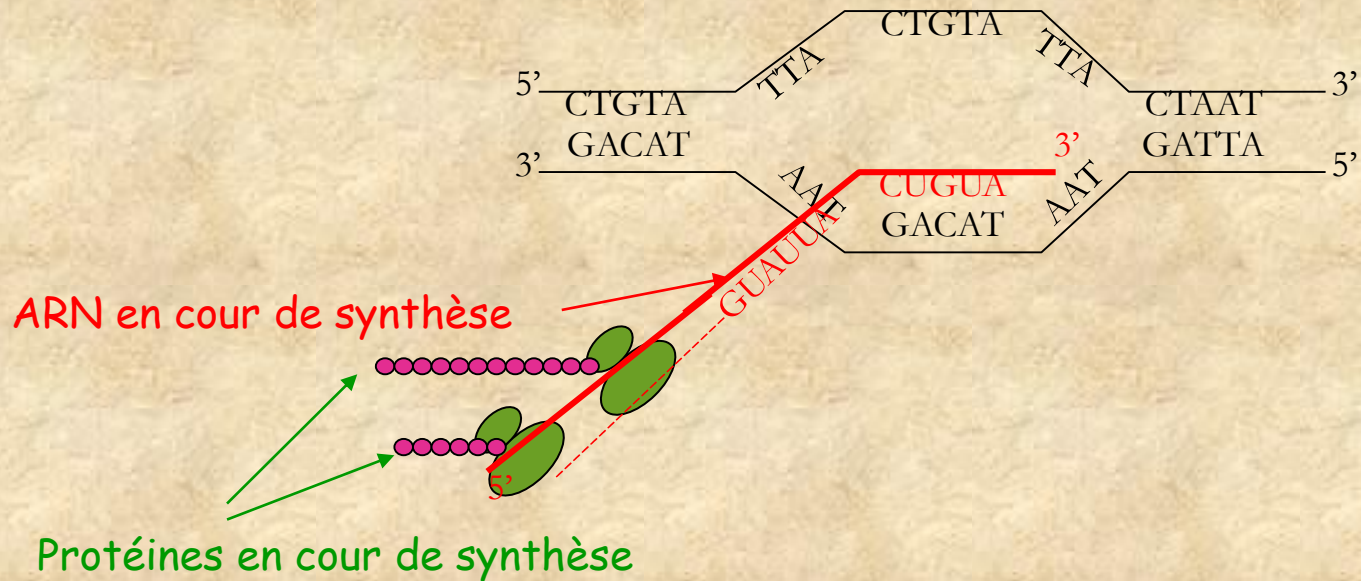


Terminaison rho-dépendante:



➤ Modification post-traductionnelle

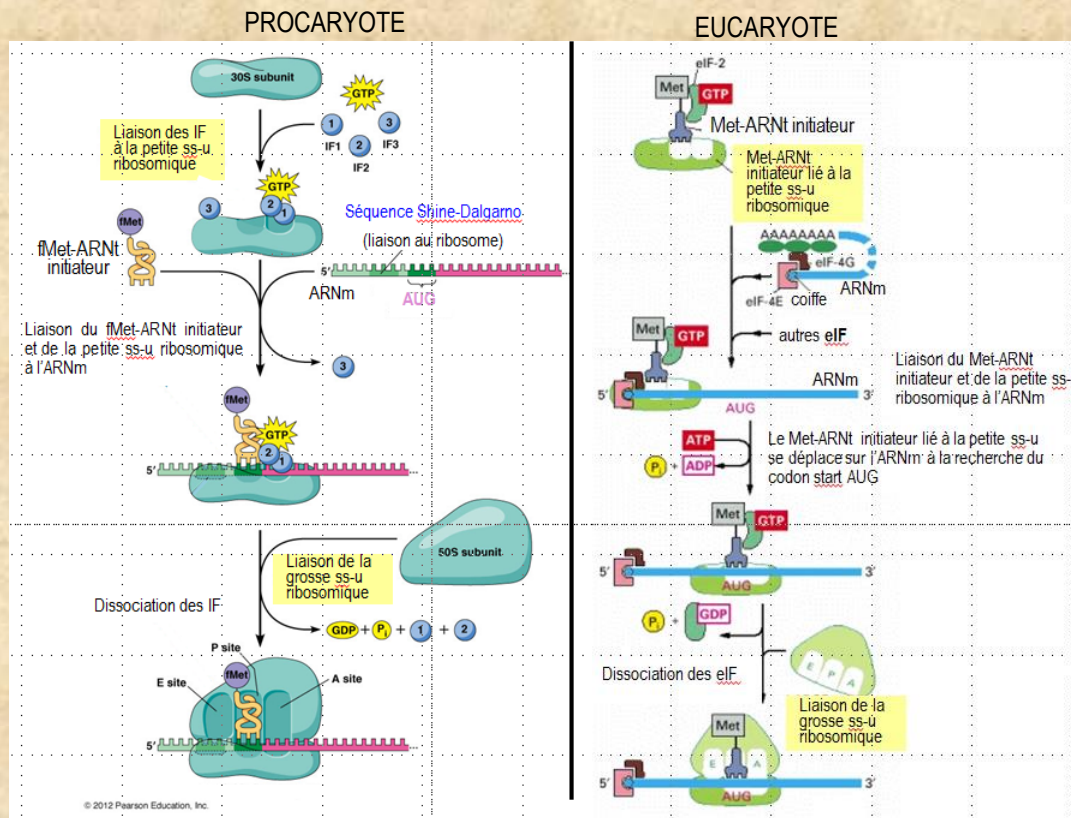
- Peu ou pas de modification des ARNm
- Traduction débute avant la fin de la transcription



Transcription de l'ADN ADN → ARN

	PROCARYOTE	EUCARYOTE
Initiation	Facteur sigma (-35) Boîte de Prinbow (-10)	TATA box (-30 ; ARN pol II)
Elongation	ARN pol	ARN pol I grands ARNr ARN pol II ARNm + snRNA ARN pol III ARNt + ARNr 5S
Terminaison	Dépendante ou non du Facteur Rho	ARN pol II : signal de polyadénylation et clivage par une endonucléase

Initiation de la traduction



Merci pour votre attention