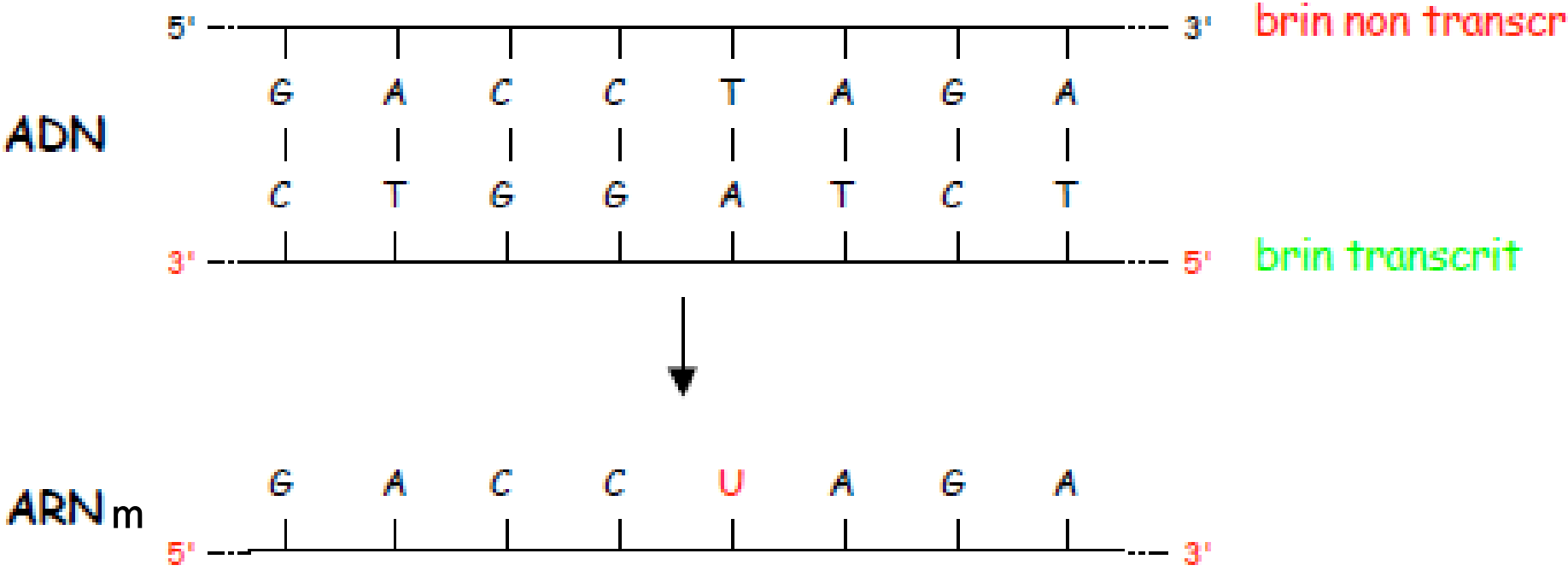
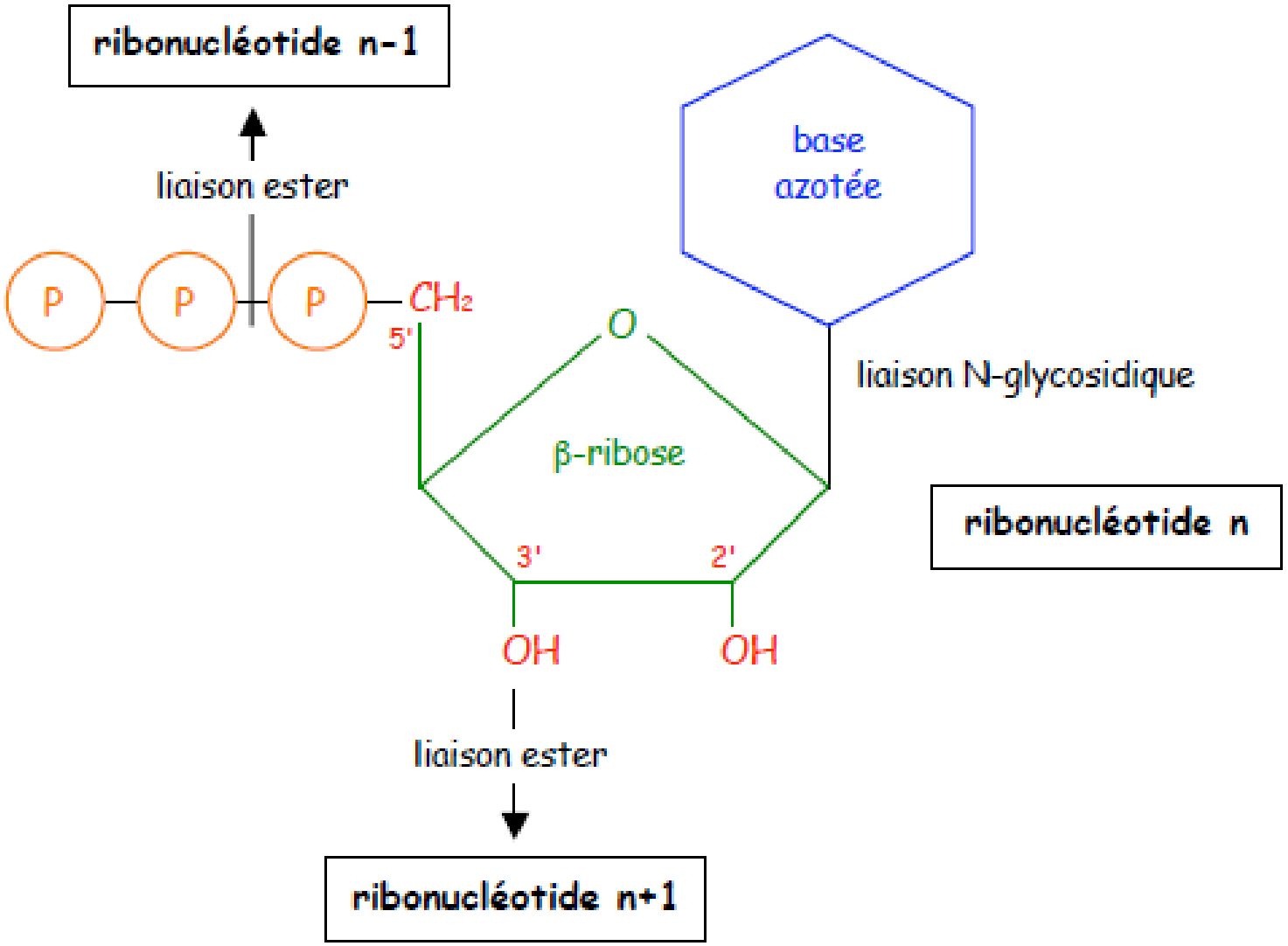
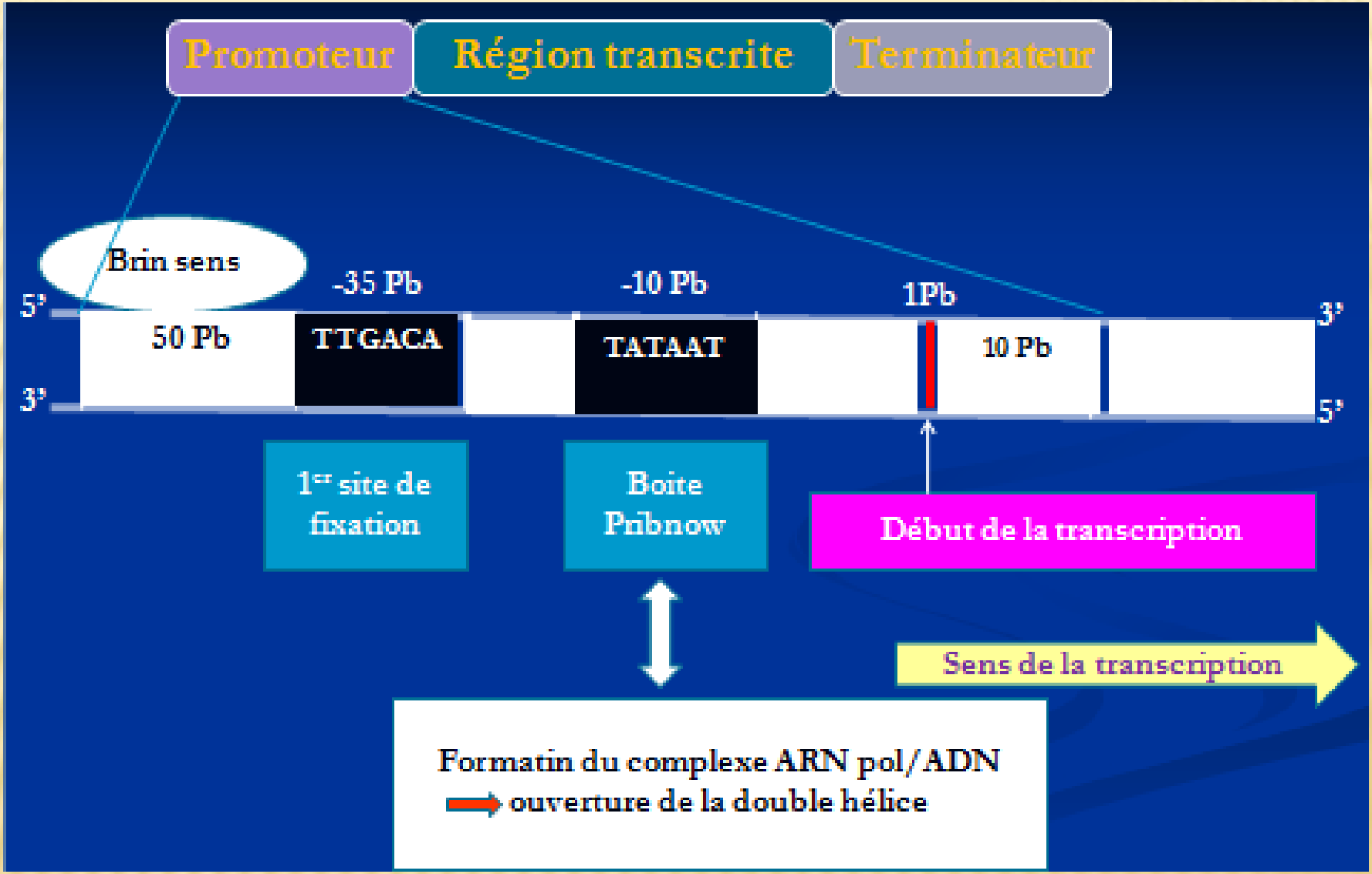
La transcription de l'ARNm

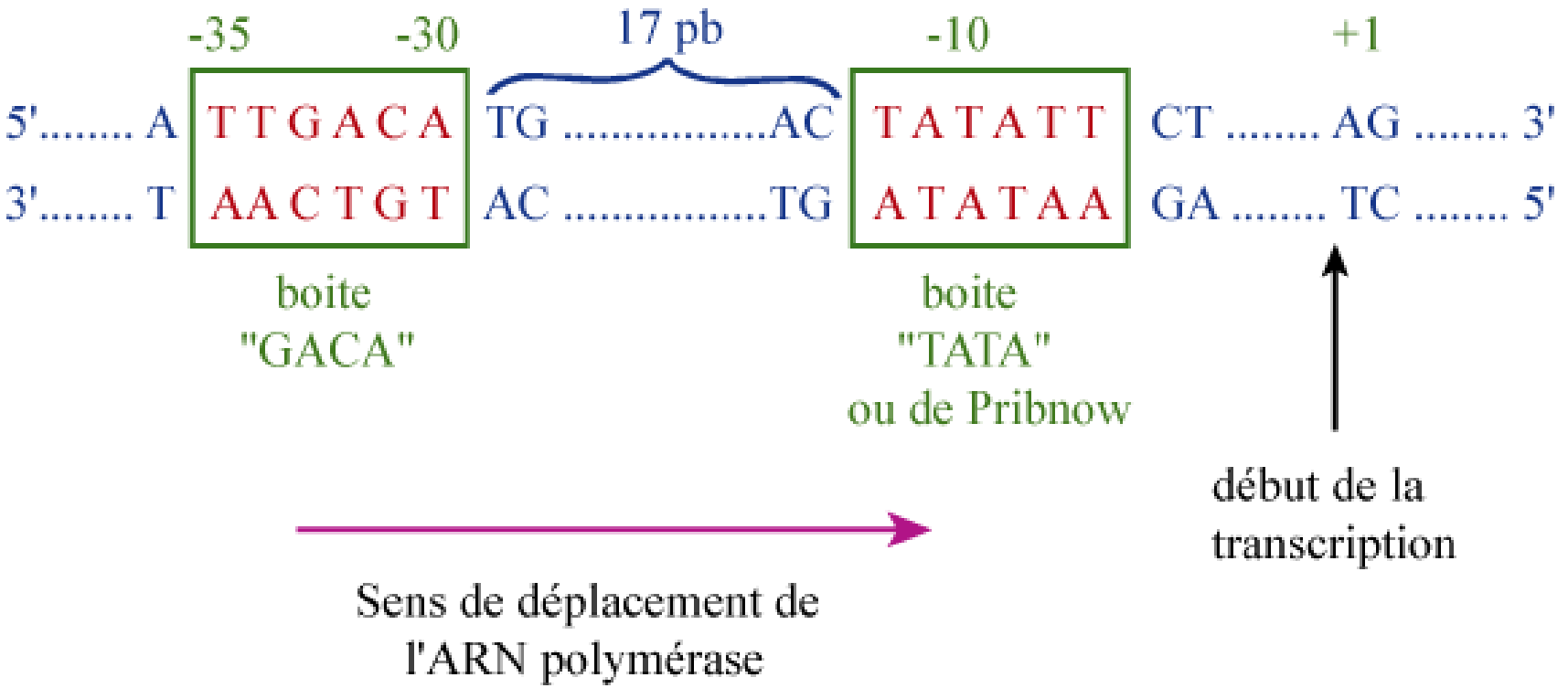
Chez les procaryotes

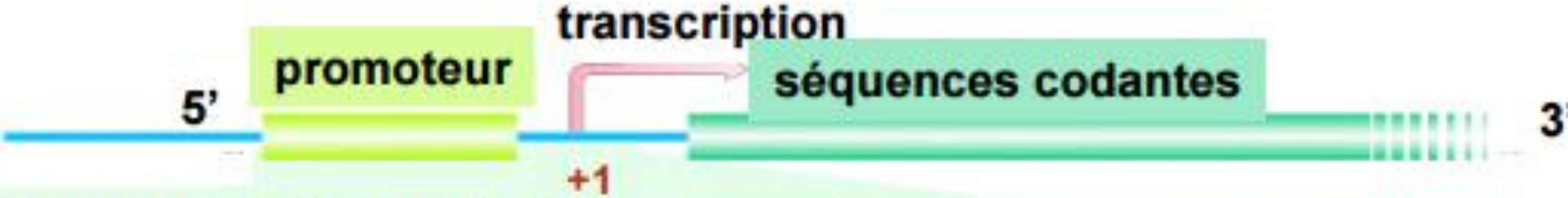

ADN
5'
3'
G A C C T A G A
C T G G A T C T
3'
5'
brin non transcr
brin transcrit
ARN m
G A C C U A G A
5'
3'


ribonucléotide n-1
liaison ester
P
P
P
CH2
5'
base azotée
O
liaison N-glycosidique
β-ribose
ribonucléotide n
3'
2'
OH
OH
liaison ester
ribonucléotide n+1



Gène bactérien, séquences -35 et -10 du promoteur

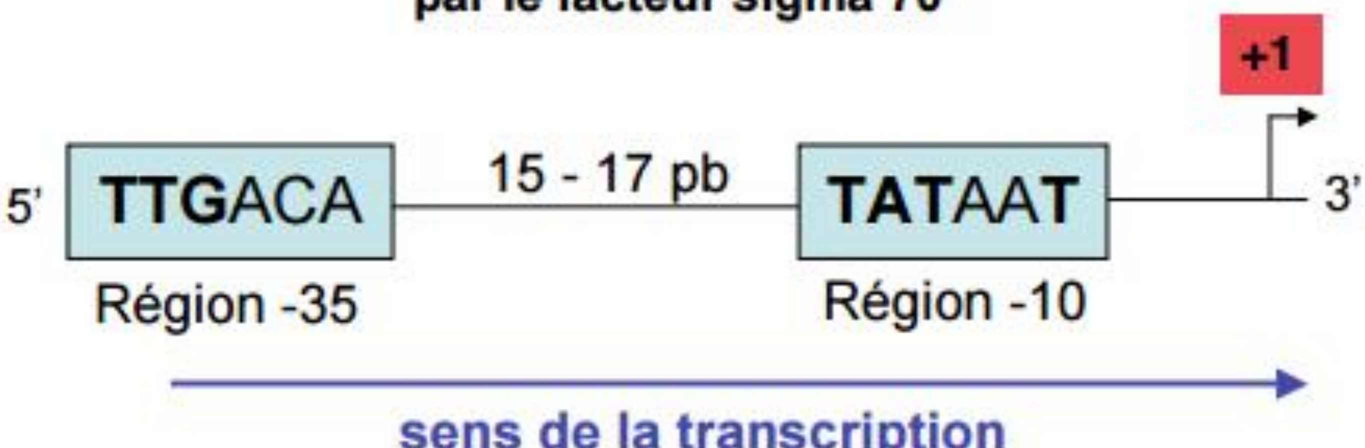

-35
-30
17 pb
-10
+1
5'..... A T T G A C A TG .....AC T A T A T T CT ..... AG ..... 3'
3'..... T A A C T G T AC .....TG A T A T A A GA ..... TC ..... 5'
boite "GACA"
boite "TATA" ou de Pribnow
début de la transcription
Sens de déplacement de l'ARN polymérase



Promoteurs forts de E.coli

tyr tRNA	TCTCAACGTAACACTTTACAGCGGCG••CGTCATTTGATATGATGC•GCCCCGCTTCCCGATAAGGG
rrn D1	GATCAAAAAAATACTTGTGCAAAAAA••TTGGGATCCCTATAATGCGCCTCCGTTGAGACGACAACG
rrn X1	ATGCATTTTTCCGCTTGTCTTCCTGA••GCCGACTCCCTATAATGCGCCTCCATCGACACGGCGGAT
rrn $(DXE)_2$	CCTGAAATTCAGGGTTGACTCTGAAA••GAGGAAAGCGTAATATAC•GCCACCTCGCGACAGTGAGC
rrn E1	CTGCAATTTTTCTATTGCGGCCTGCG••GAGAACTCCCTATAATGCGCCTCCATCGACACGGCGGAT
rrn A1	TTTTAAATTTCCTCTTGTCAGGCCGG••AATAACTCCCTATAATGCGCCACCACTGACACGGAACAA
rrn A2	GCAAAAATAAATGCTTGACTCTGTAG••CGGGAAGGCGTATTATGC•ACACCCCGCGCCGCTGAGAA
λP_R	TAACACCGTGCGTGTTGACTATTTTA•CCTCTGGCGGTGATAATGG••TTGCATGTACTAAGGAGGT
λP_L	TATCTCTGGCGGTGTTGACATAAATA•CCACTGGCGGTGATACTGA••GCACATCAGCAGGACGCAC
T7 A3	GTGAAACAAAACGGTTGACAACATGA•AGTAAACACGGTACGATGT•ACCACATGAAACGACAGTGA
T7 A1	TATCAAAAAGAGTATTGACTTAAAGT•CTAACCTATAGGATACTTA•CAGCCATCGAGAGGGACACG
T7 A2	ACGAAAAACAGGTATTGACAACATGAAGTAACATGCAGTAAGATAC•AAATCGCTAGGTAACACTAG
fd VIII	GATACAAATCTCCGTTGTACTTTGTT••TCGCGCTTGGTATAATCG•CTGGGGGTCAAAGATGAGTG
	−35 −10 +1

Séquence consensus des promoteurs reconnus par le facteur sigma 70

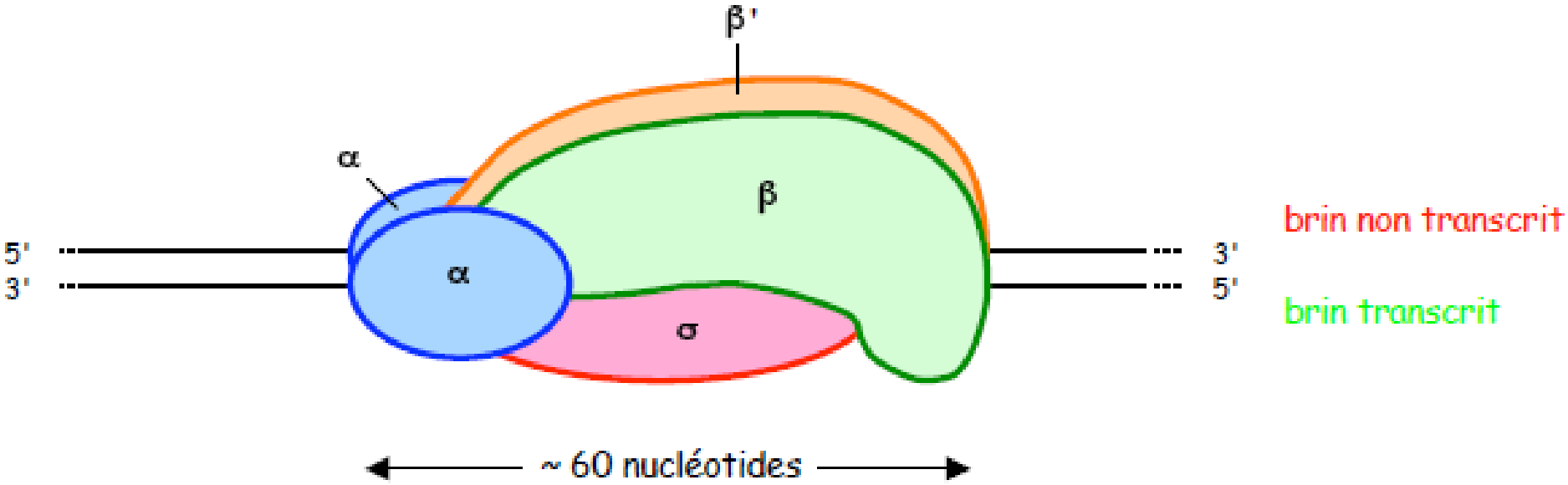


Séquence consensus de la région -35

T	T	G	A	C	A
Occurrence (%) : 84	79	64	75	54	45

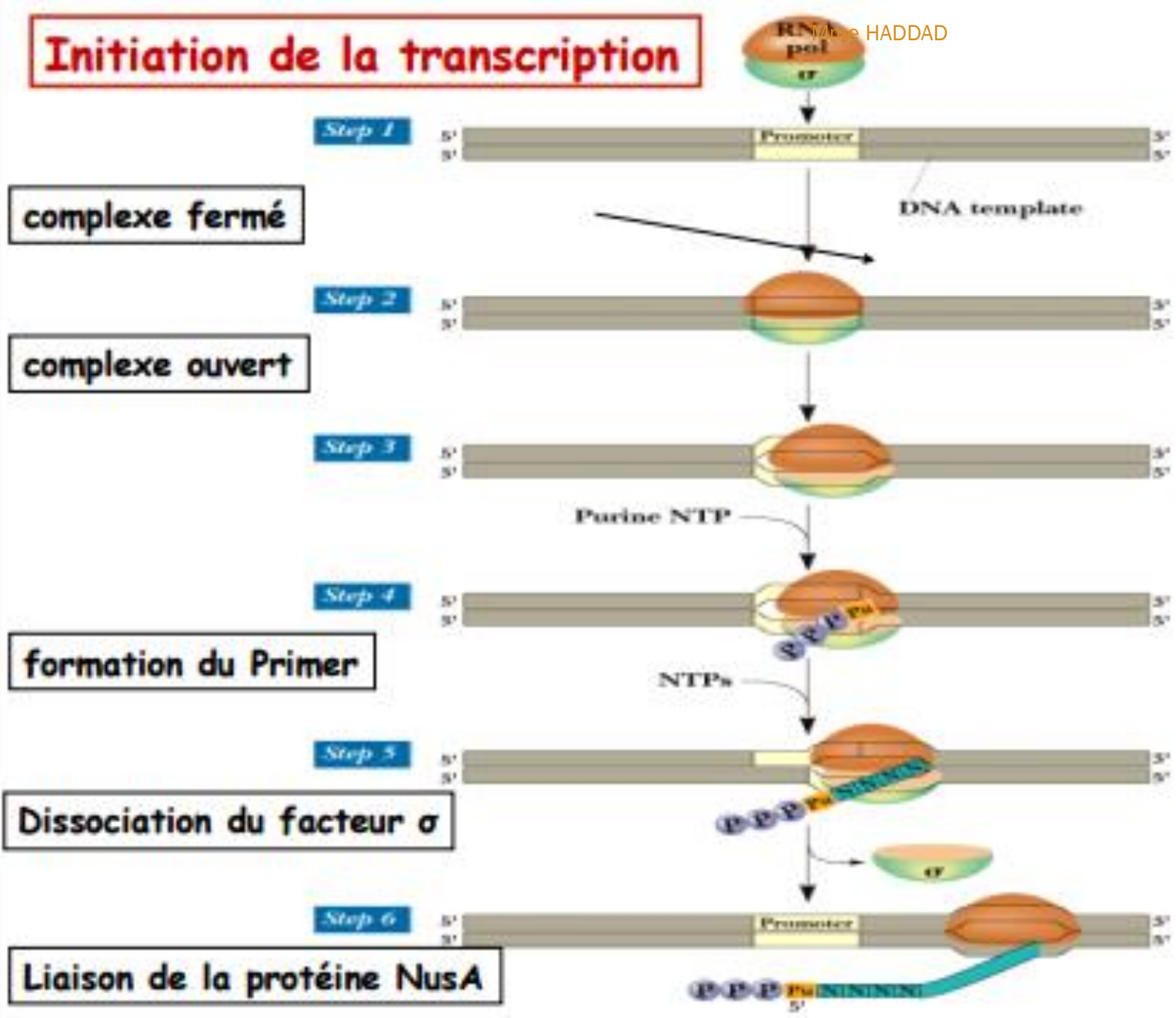
Séquence consensus de la boîte de Pribnow

T	A	T	A	A	T
Occurrence (%) : 79	95	44	59	51	96


β'
α
β
α
σ
5'
3'
3'
5'
brin non transcrit
brin transcrit
~ 60 nucléotides

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"

Initiation de la transcription



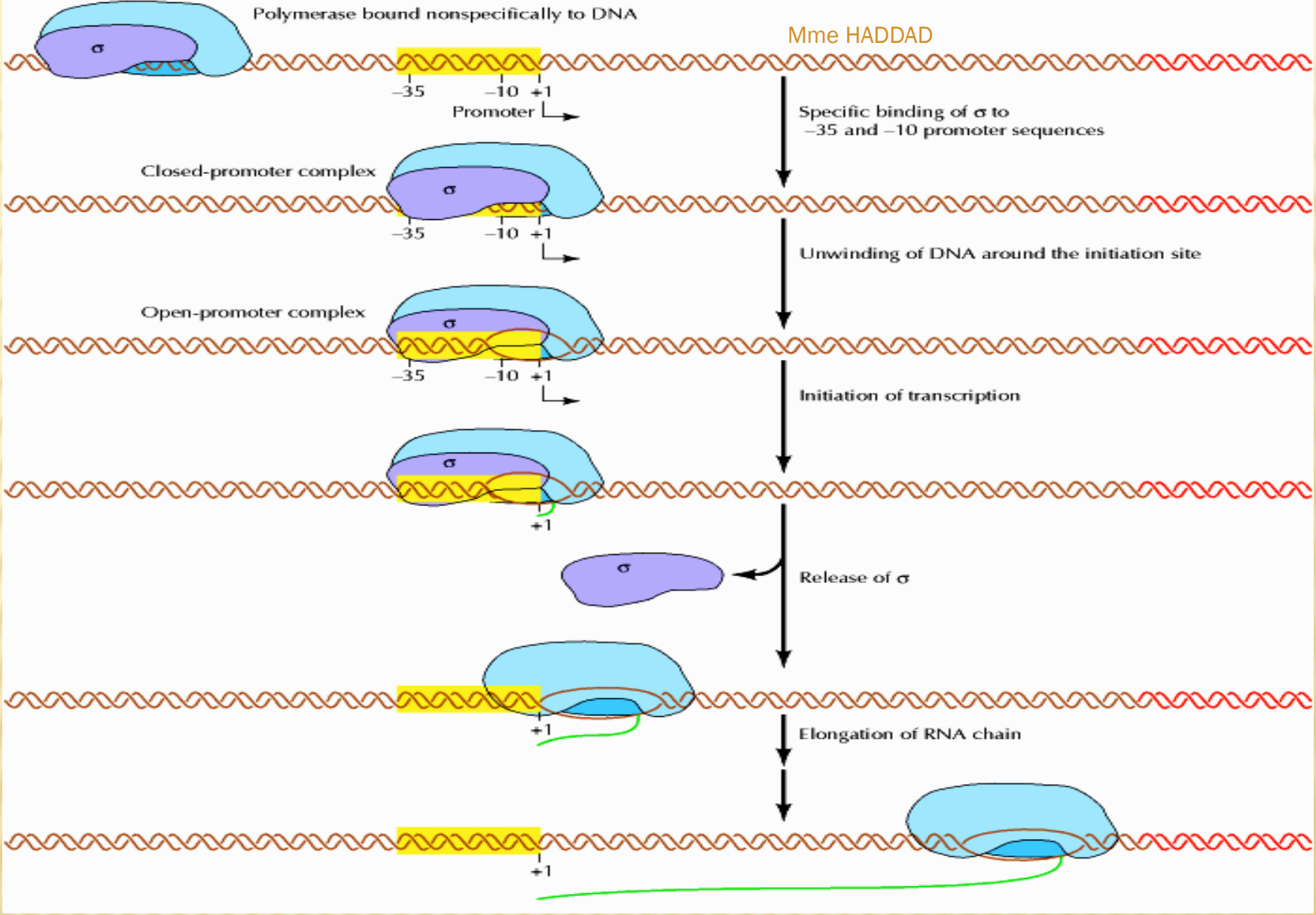
complexe fermé

complexe ouvert

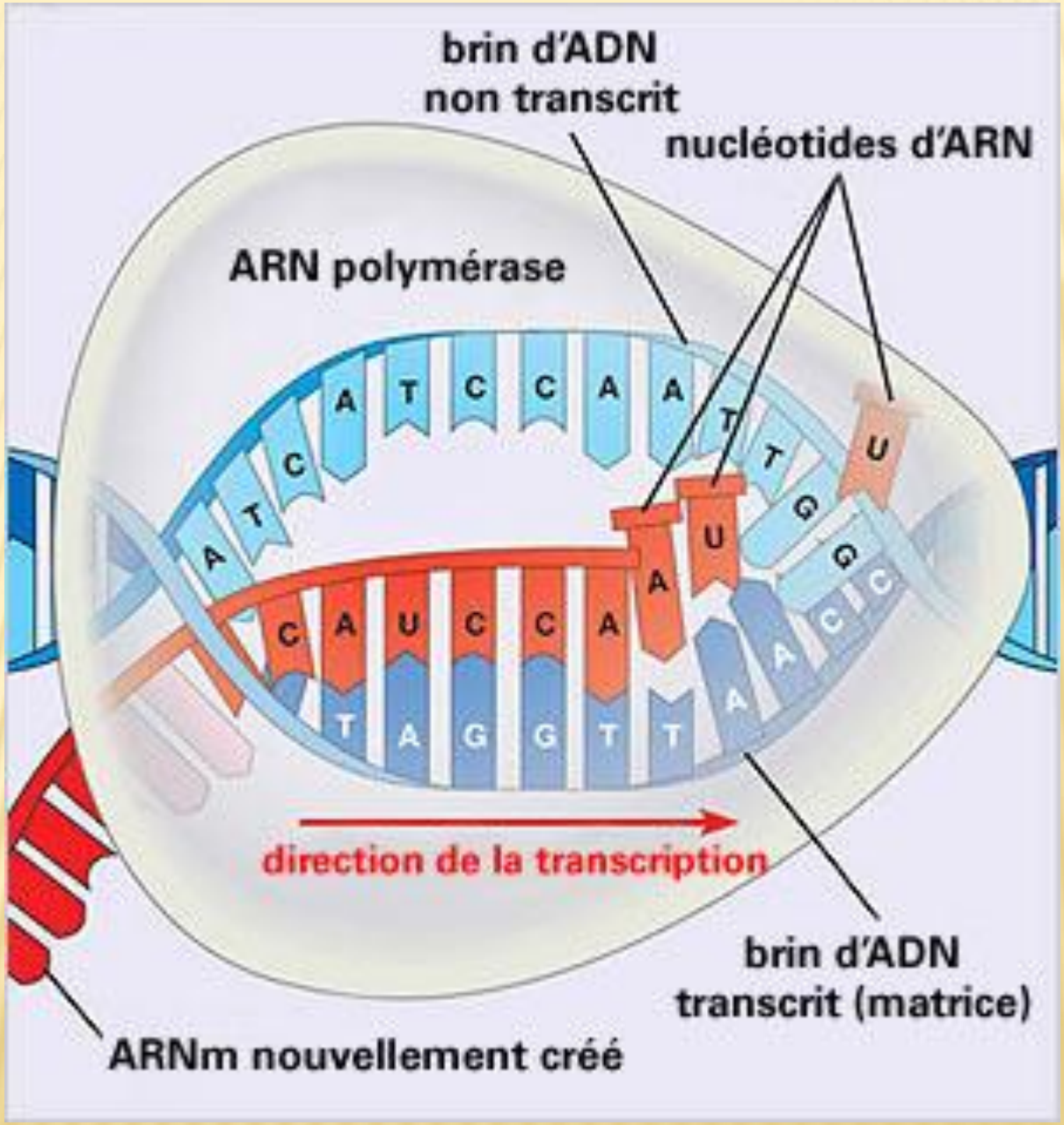
formation du Primer

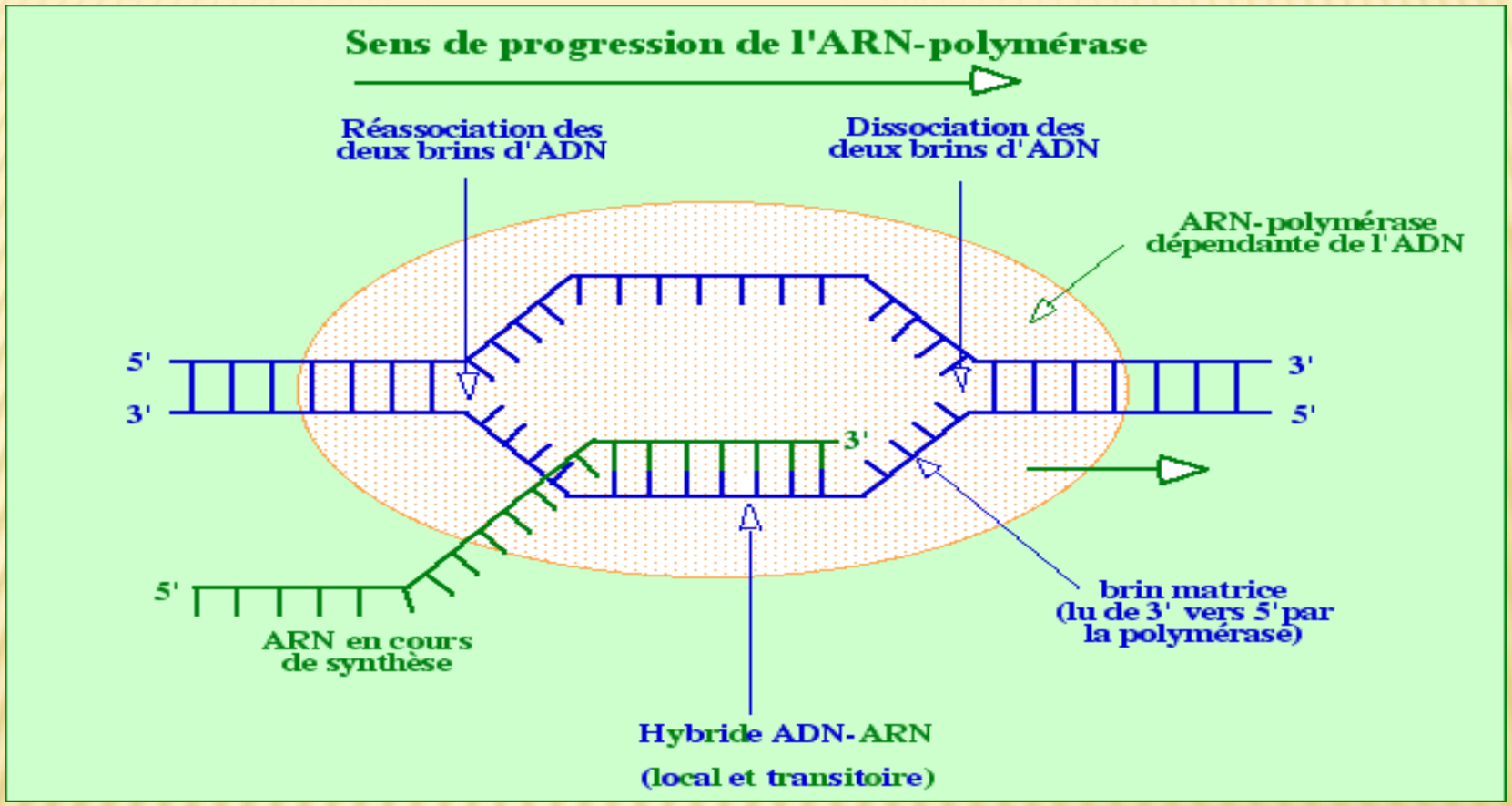
Dissociation du facteur σ

Liaison de la protéine NusA

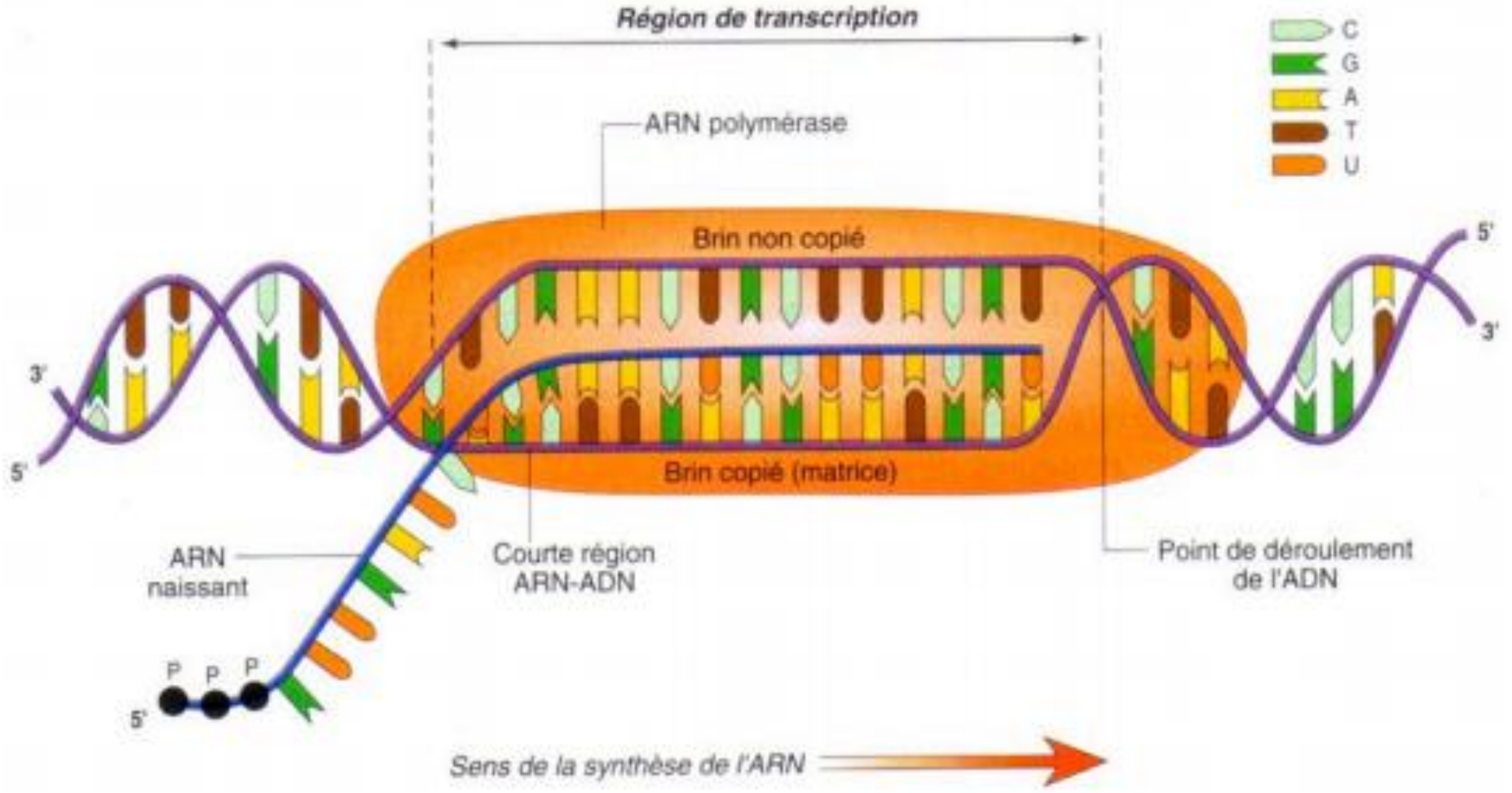


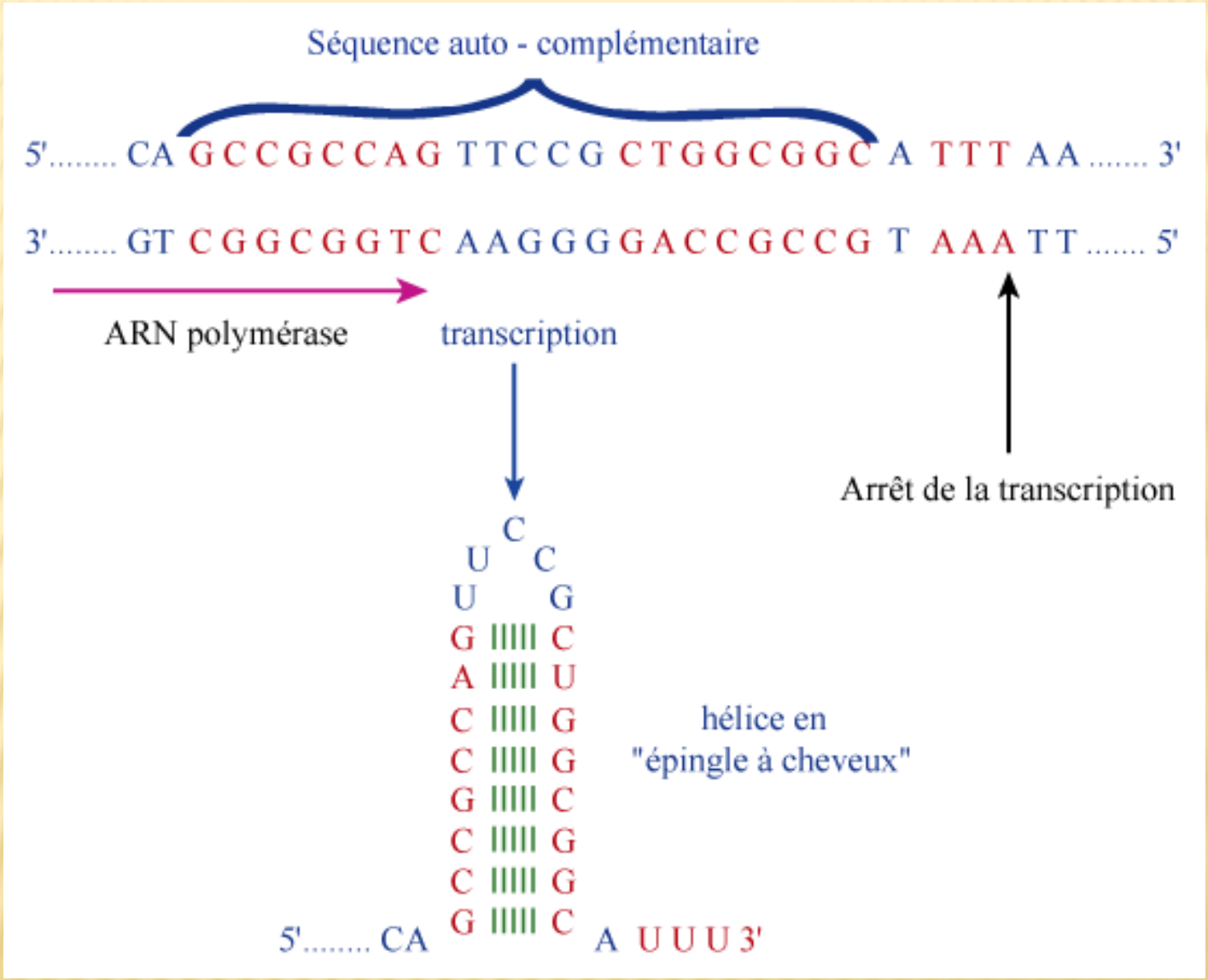
Initiation de la transcription des ARNm chez les bactéries

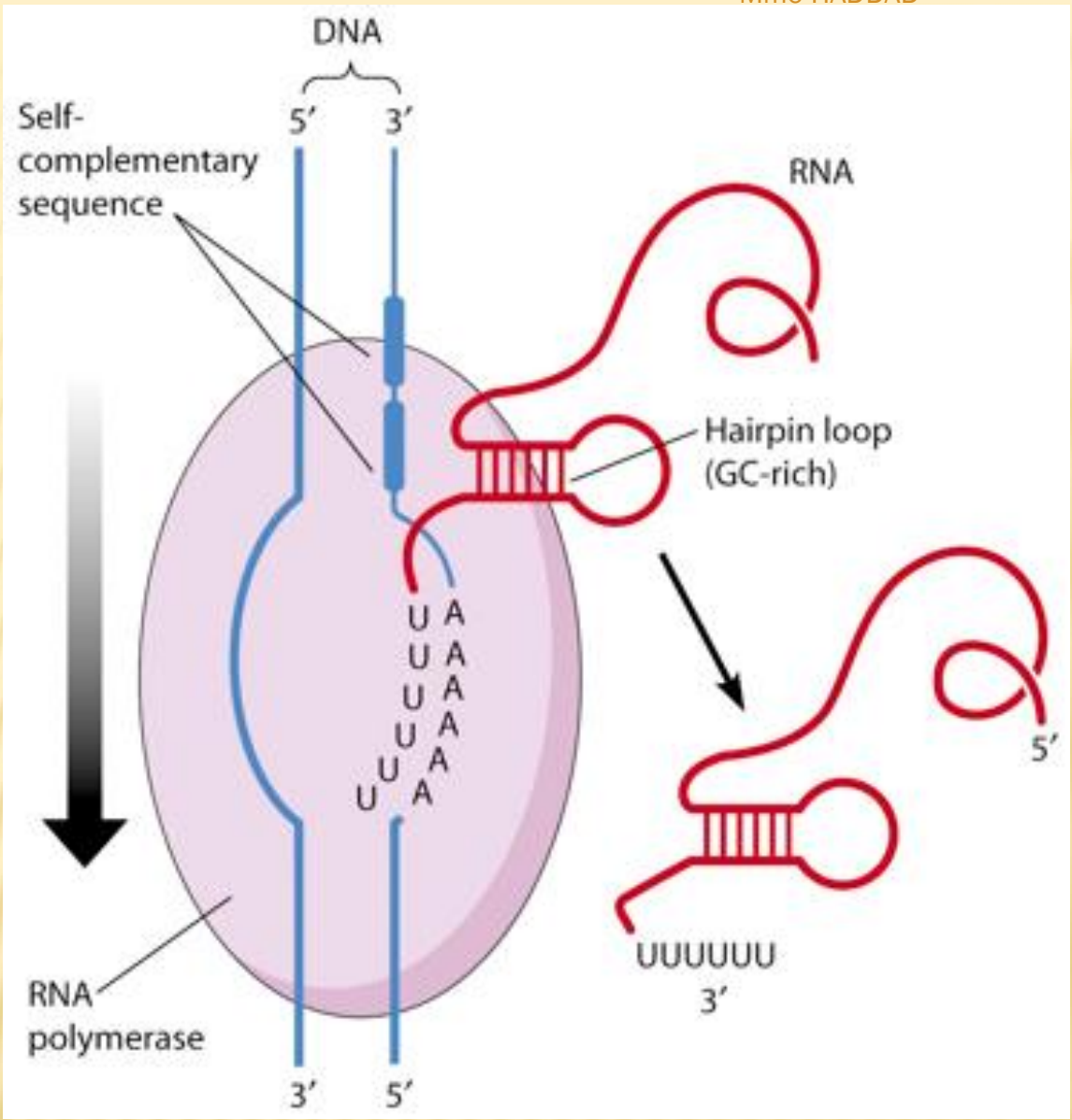

brin d'ADN
non transcrit
nucléotides d'ARN
ARN polymérase
direction de la transcription
brin d'ADN
transcrit (matrice)
ARNm nouvellement créé



Elongation de la chaîne d'ARN

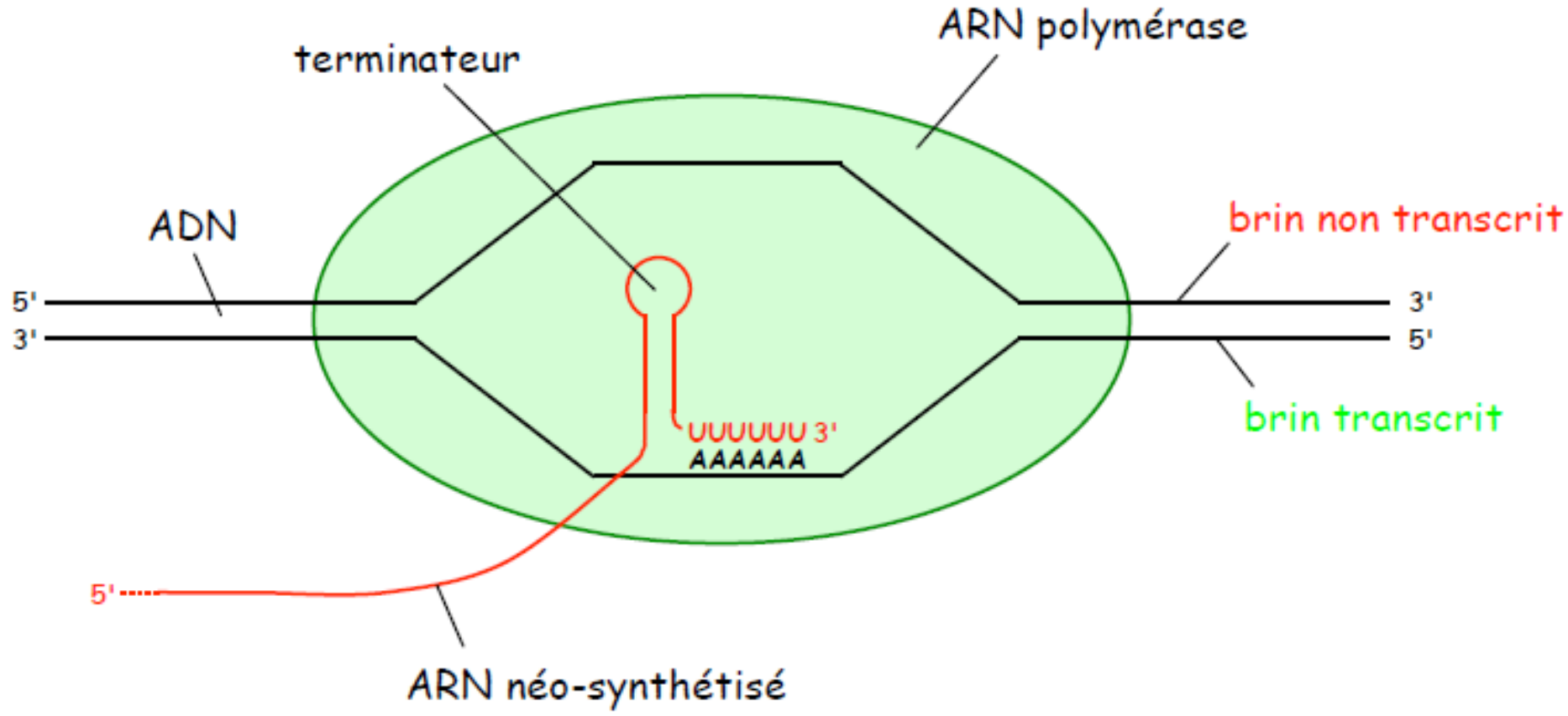

Région de transcription
C
G
A
T
U
ARN polymérase
Brin non copié
5'
3'
3'
5'
Brin copié (matrice)
ARN
naissant
Courte région
ARN-ADN
Point de déroulement
de l'ADN
P
P
P
5'
Sens de la synthèse de l'ARN


Séquence auto - complémentaire
5'..... CA G C C G C C A G T T C C G C T G G C G G C A T T T A A ..... 3'
3'..... GT C G G C G G T C A A G G G G A C C G C C G T A A A T T ..... 5'
ARN polymérase
transcription
Arrêt de la transcription
C
U C
U G
G C
A U
C G
C G
G C
C G
C G
G C
hélice en
"épingle à cheveux"
5'..... CA A U U U 3'



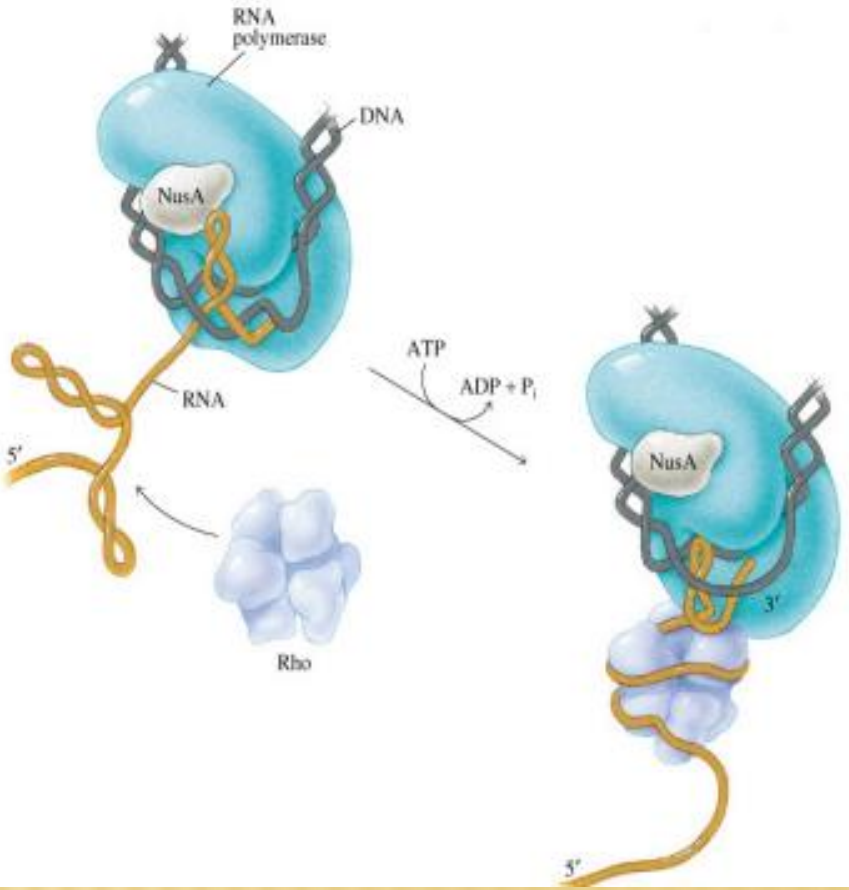
Terminateur intrinsèque

Mécanisme de terminaison de la transcription

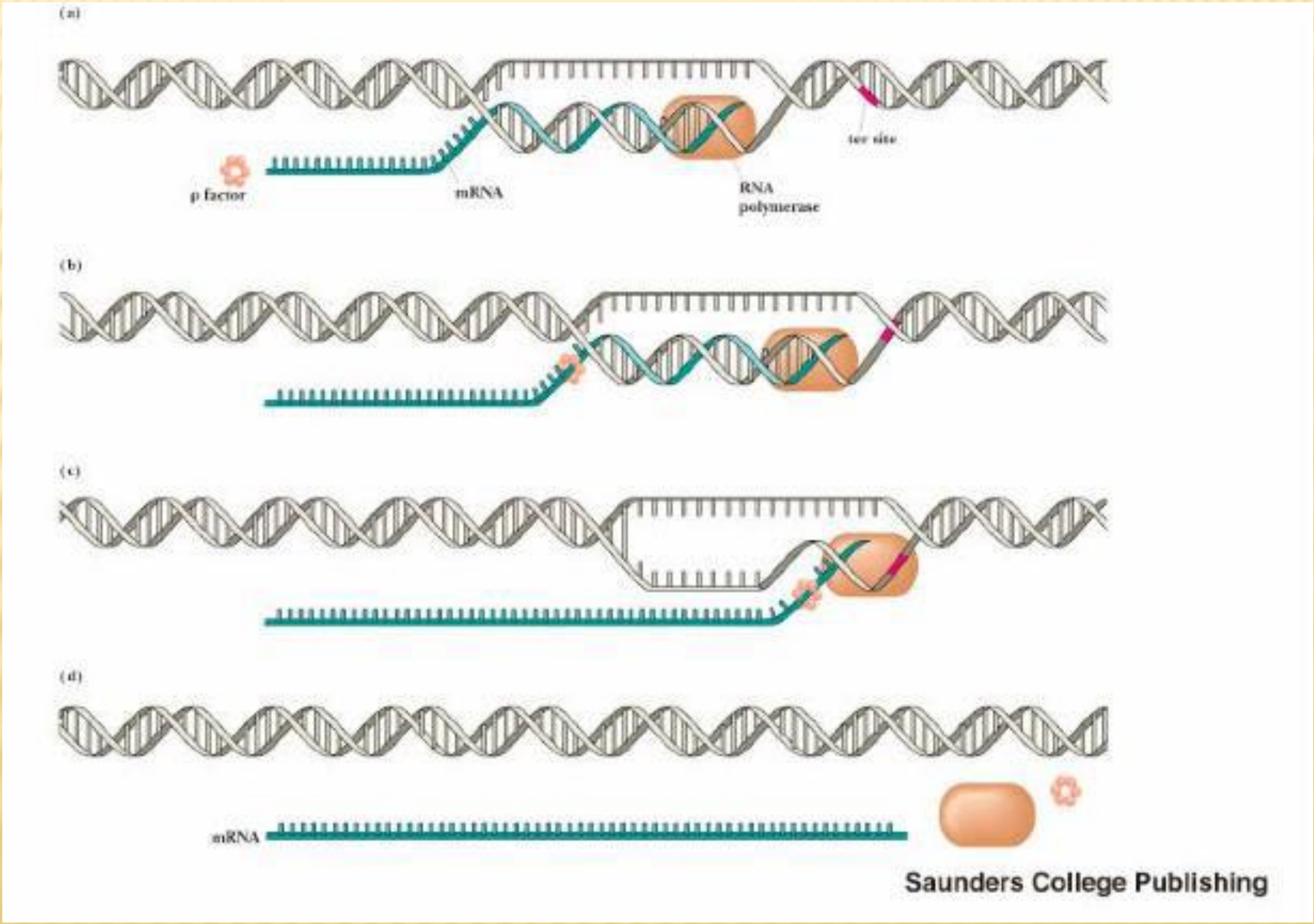


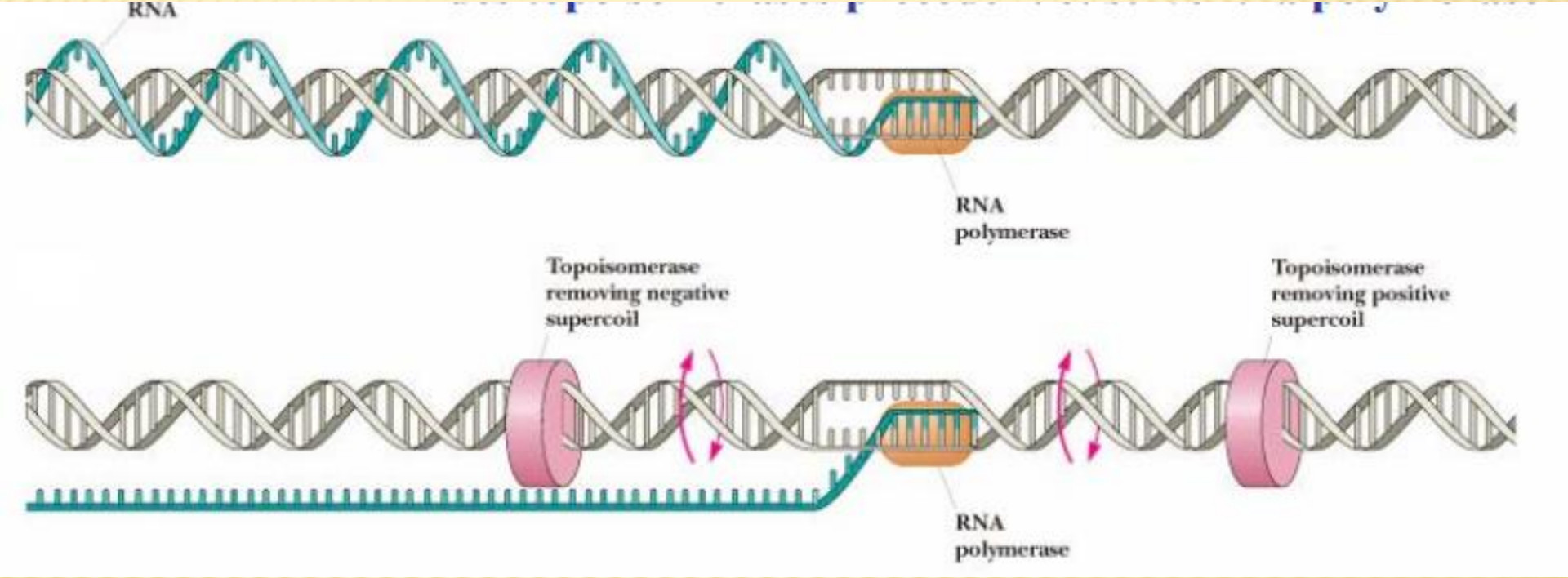
La terminaison Rho Dépendante

- Le facteur rho est une hélicase ATP-dépendante
- Il migre le long de l'ARN localise le complexe, le déroule et libère la chaîne d'ARN.

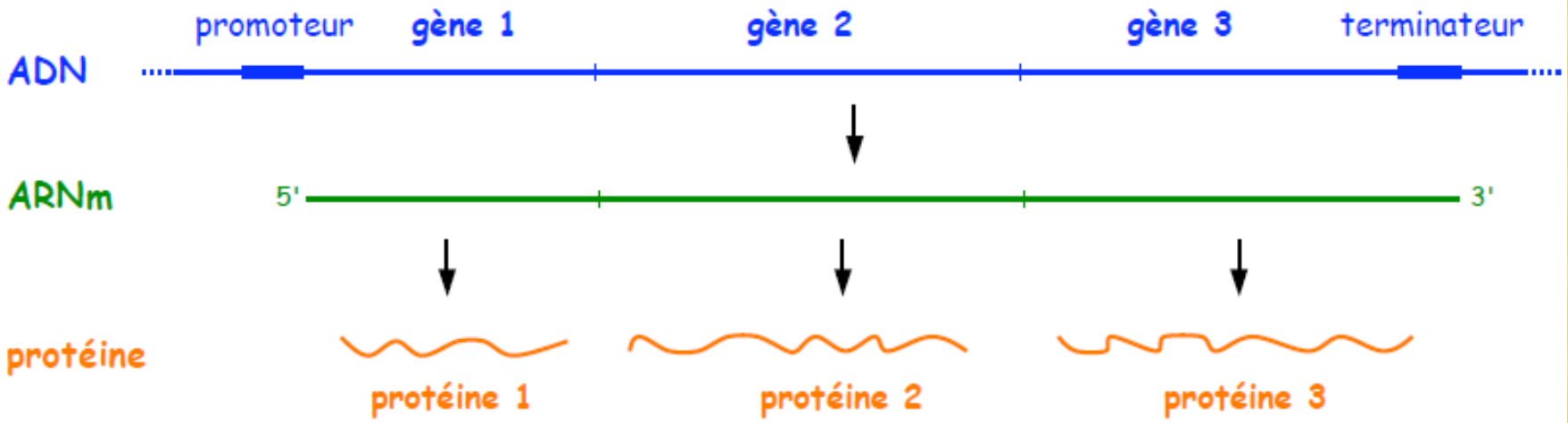


Terminaison rho-dépendante:



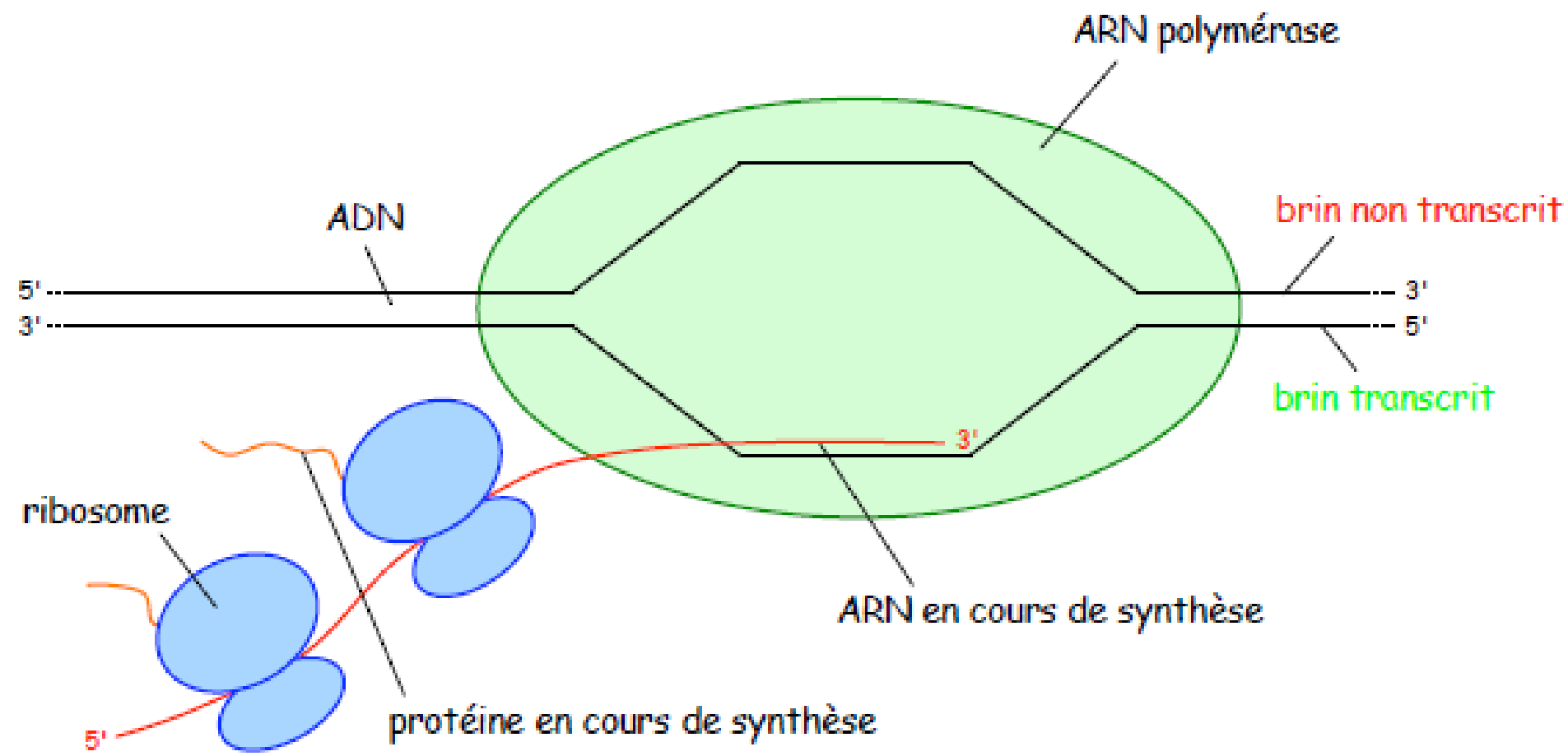

RNA
RNA polymerase
Topoisomerase removing negative supercoil
Topoisomerase removing positive supercoil
RNA polymerase

Transcription polycistronique

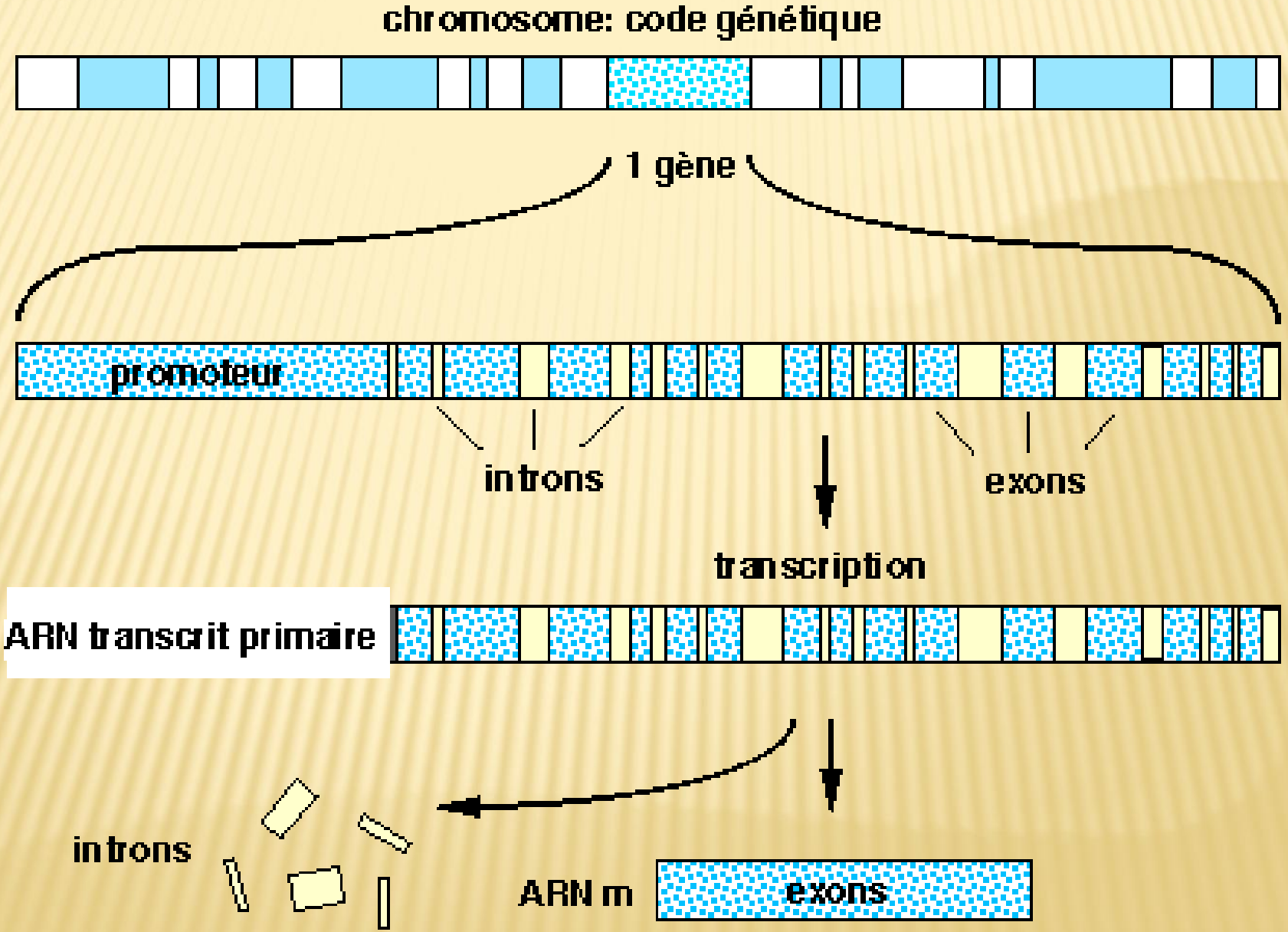


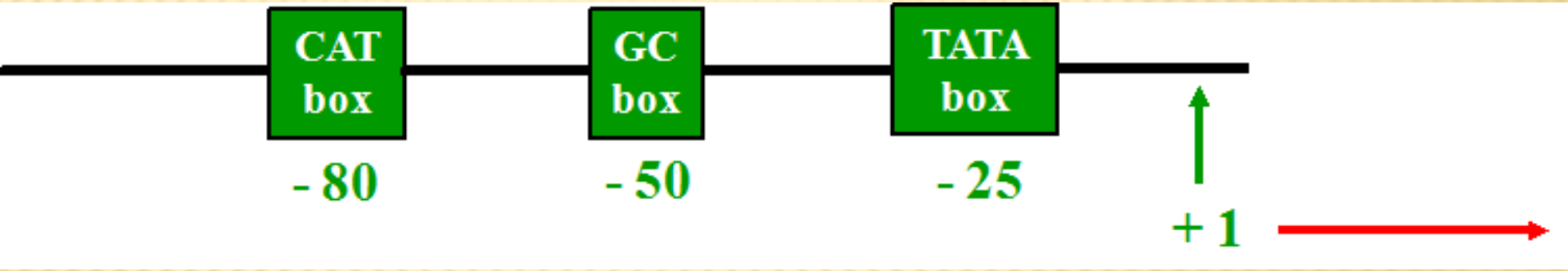
ex : opéron lactose d'*E. coli* (gènes Z, Y et A)

Couplage avec la traduction

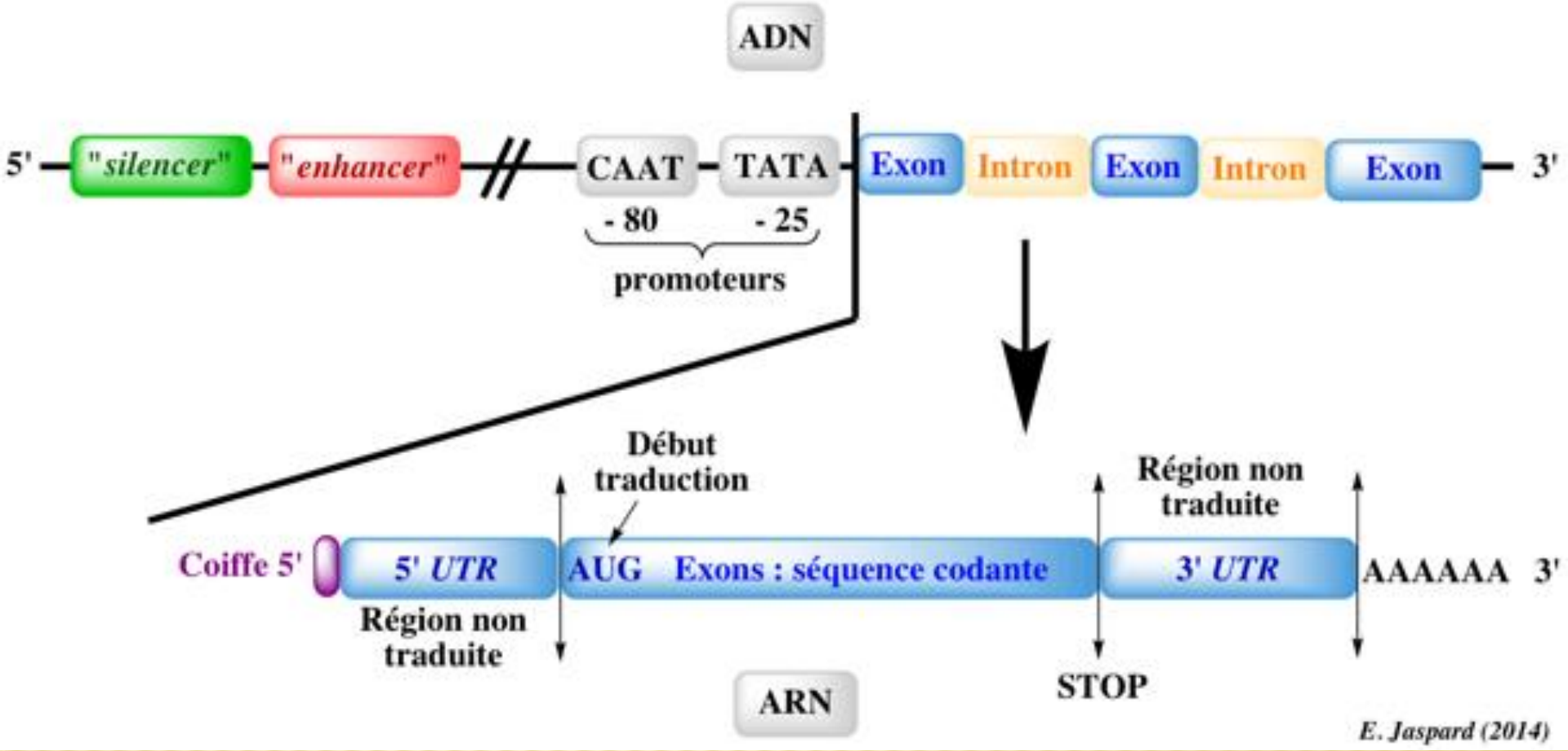


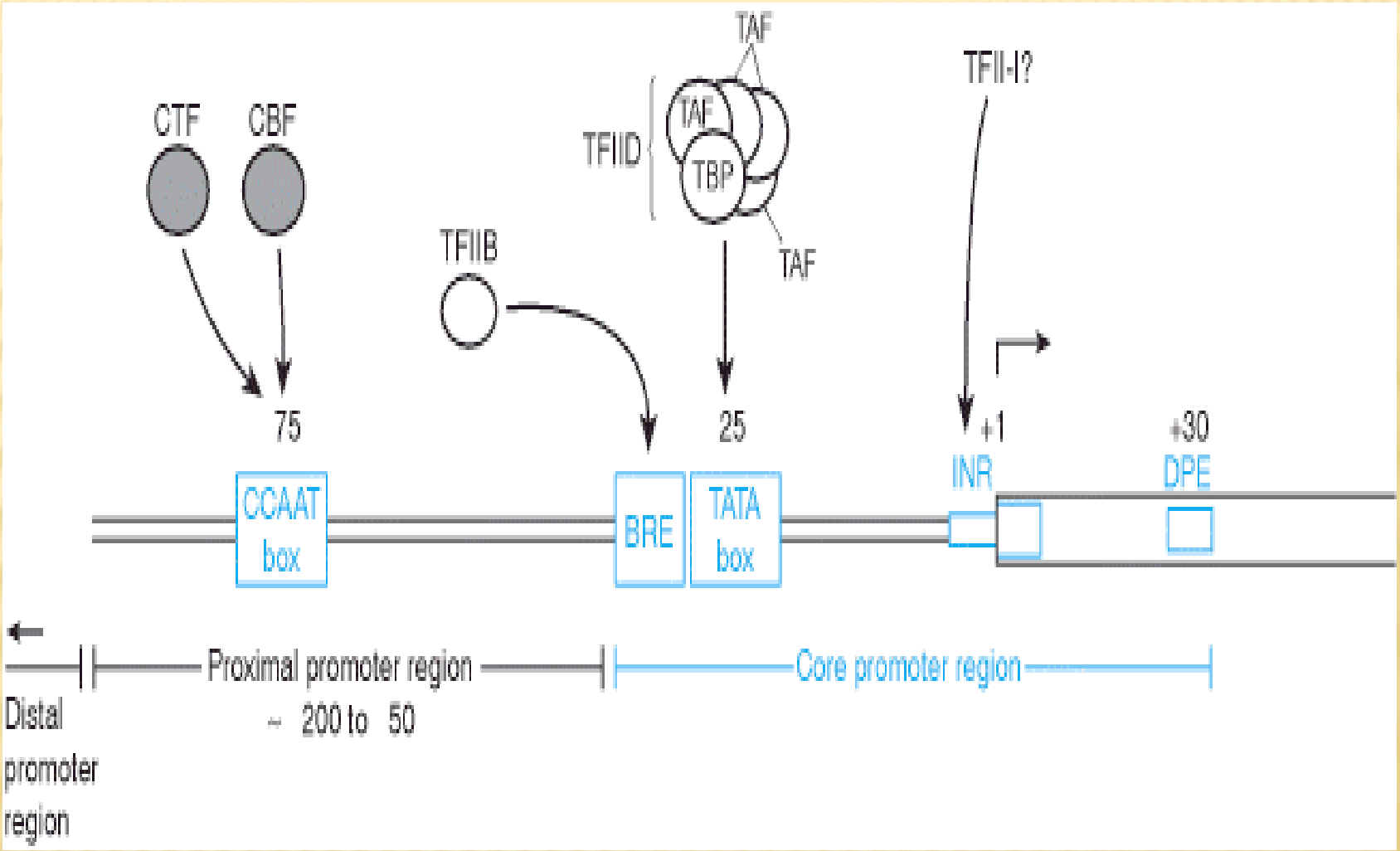
Chez les eucaryotes


chromosome: code génétique
1 gène
promoteur
introns
exons
transcription
ARN transcrit primaire
introns
ARN m
exons

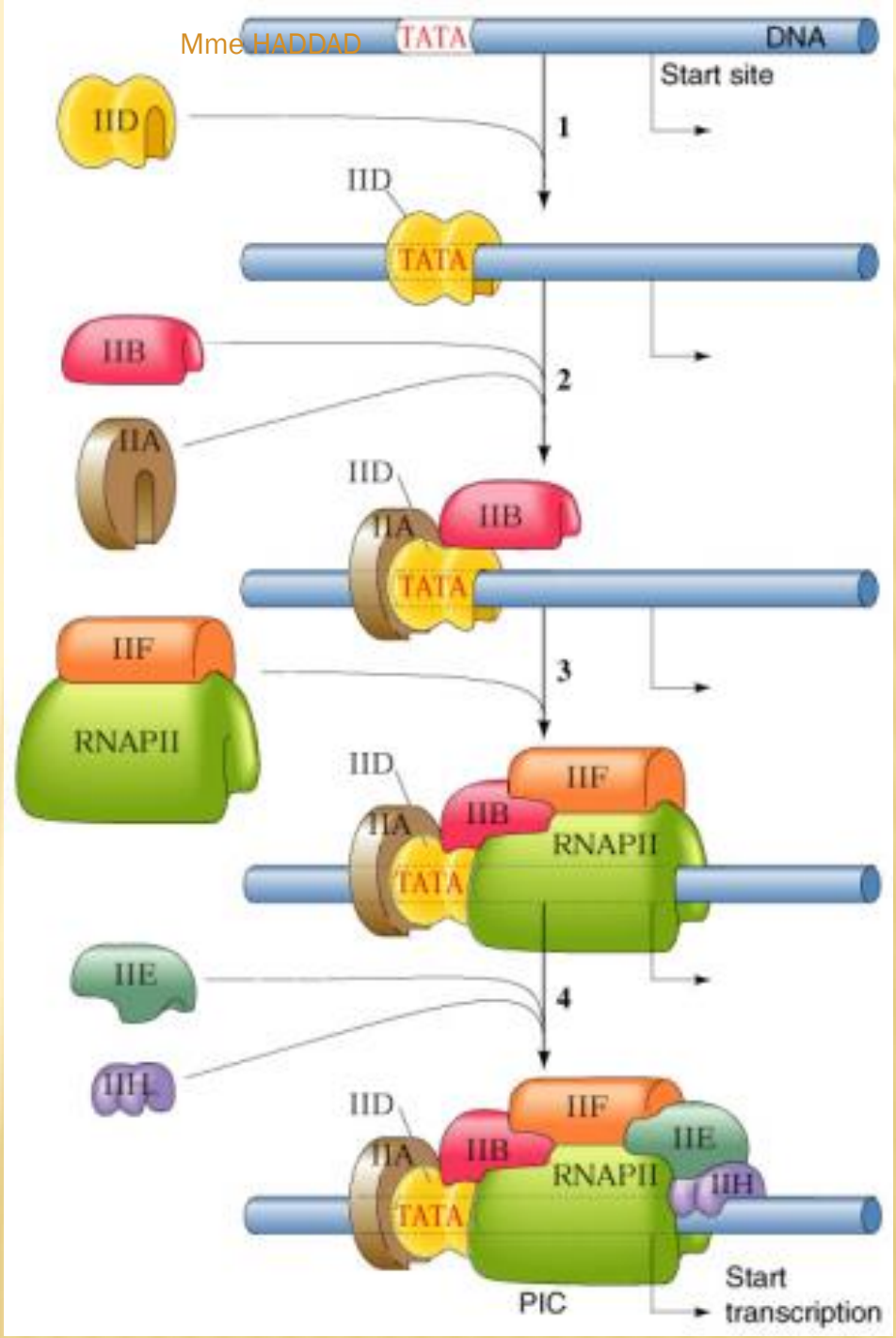


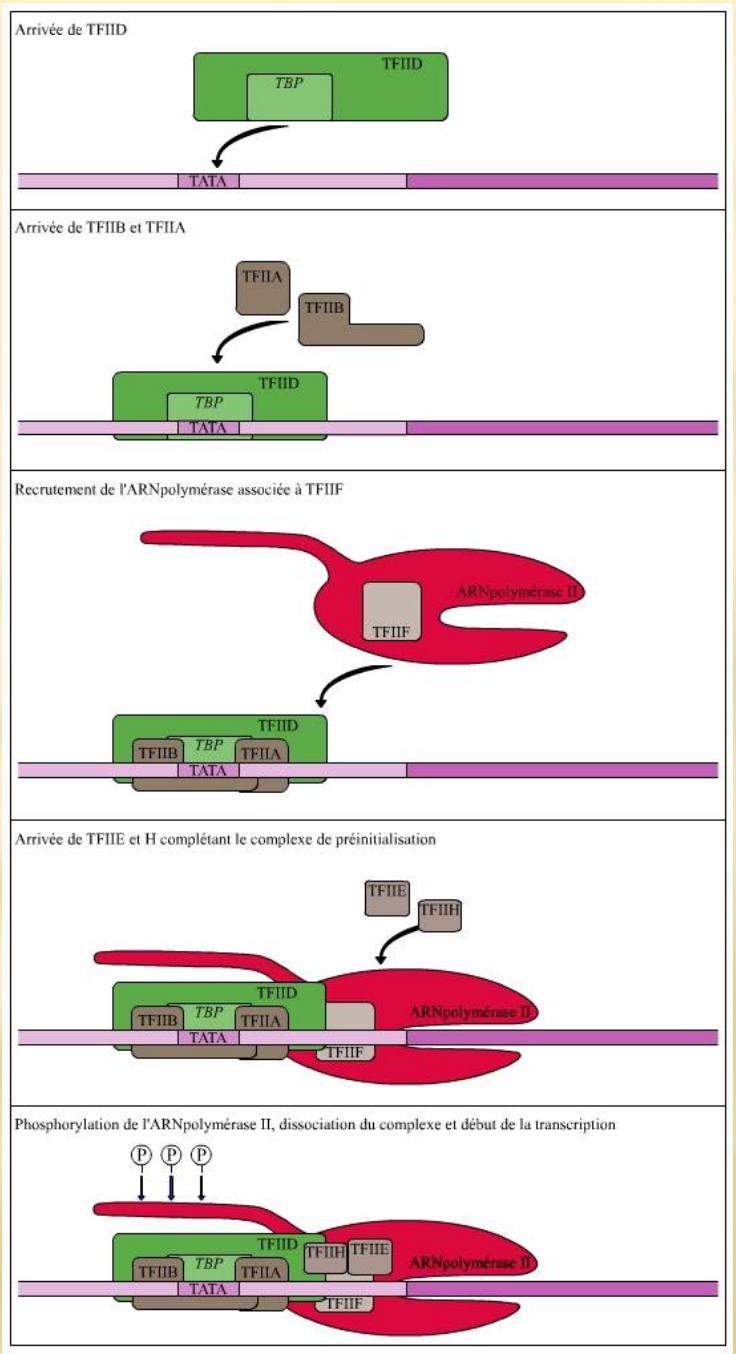
Séquences consensus des promoteurs eucaryotes

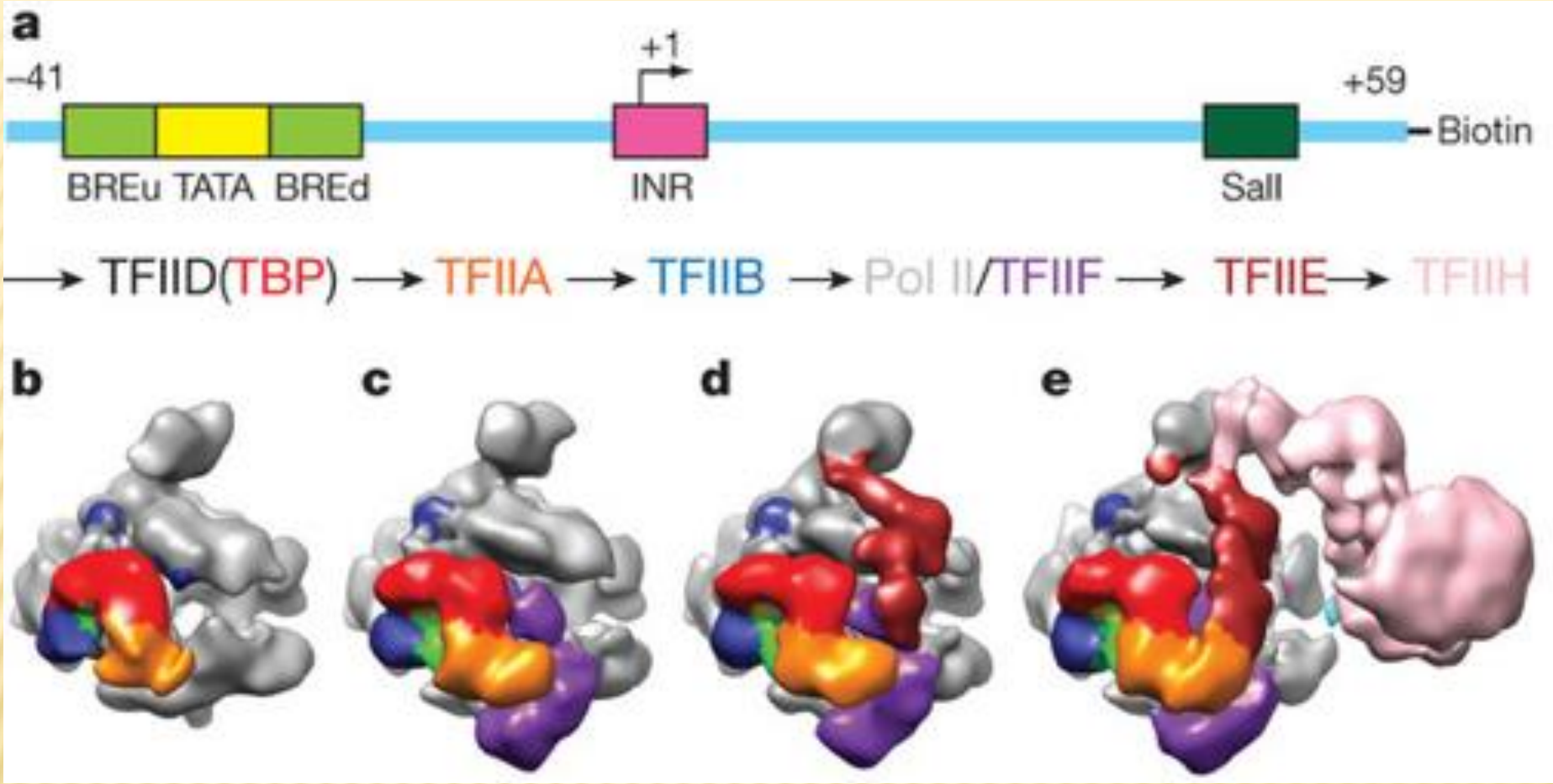

ADN
5'
"silencer"
"enhancer"
CAAT
TATA
Exon
Intron
Exon
Intron
Exon
3'
- 80
- 25
promoteurs
Début traduction
Région non traduite
Coiffe 5'
5' UTR
AUG
Exons : séquence codante
3' UTR
AAAAAA
3'
Région non traduite
STOP
ARN
E. Jaspard (2014)


CTF
CBF
TFIIB
TFIID
TAF
TAF
TBP
TAF
TFII-I?
75
25
+1
+30
INR
DPE
CCAAT box
BRE
TATA box
Distal promoter region
Proximal promoter region
~ 200 to 50
Core promoter region

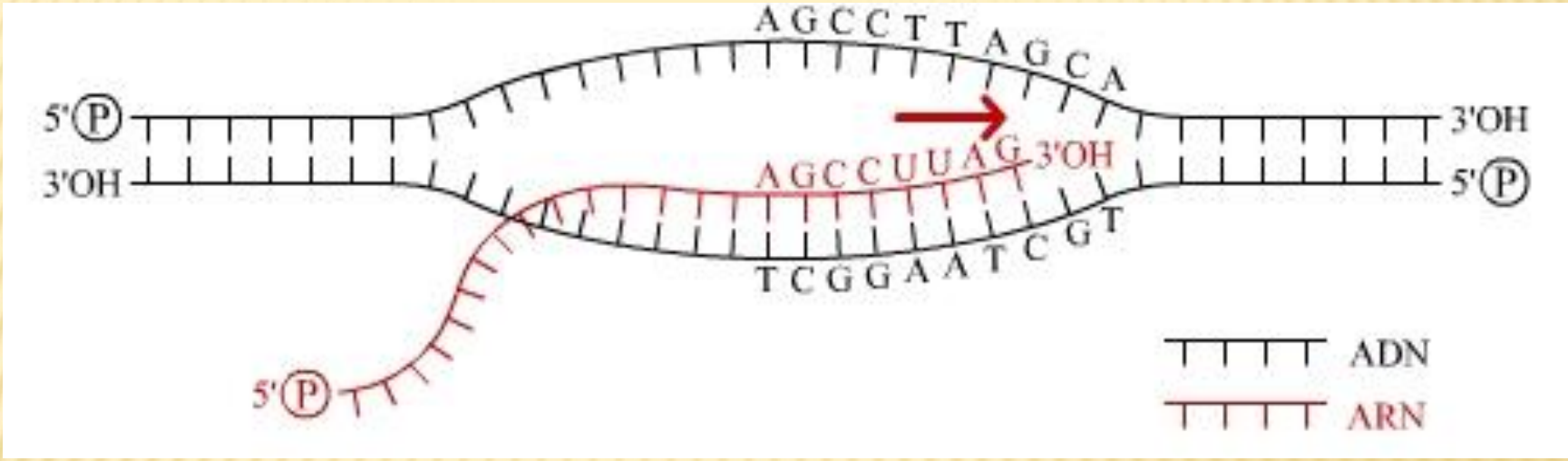
L'ARN polymérase II est un énorme complexe protéique d'environ 550 kDa constitué de 12 sous-unités.




Arrivée de TFIID
TFIID
TBP
TATA
Arrivée de TFIIB et TFIIA
TFIIA
TFIIB
TFIID
TBP
TATA
Recrutement de l'ARNpolymérase associée à TFIIF
ARNpolymérase II
TFIIF
TFIID
TFIIB
TBP
TFIIA
TATA
Arrivée de TFIIE et H complétant le complexe de préinitialisation
TFIIE
TFIIH
TFIID
TFIIB
TBP
TFIIA
ARNpolymérase II
TATA
TFIIF
Phosphorylation de l'ARNpolymérase II, dissociation du complexe et début de la transcription
P
P
P
TFIID
TFIIH
TFIIE
TFIIB
TBP
TFIIA
ARNpolymérase II
TATA
TFIIF

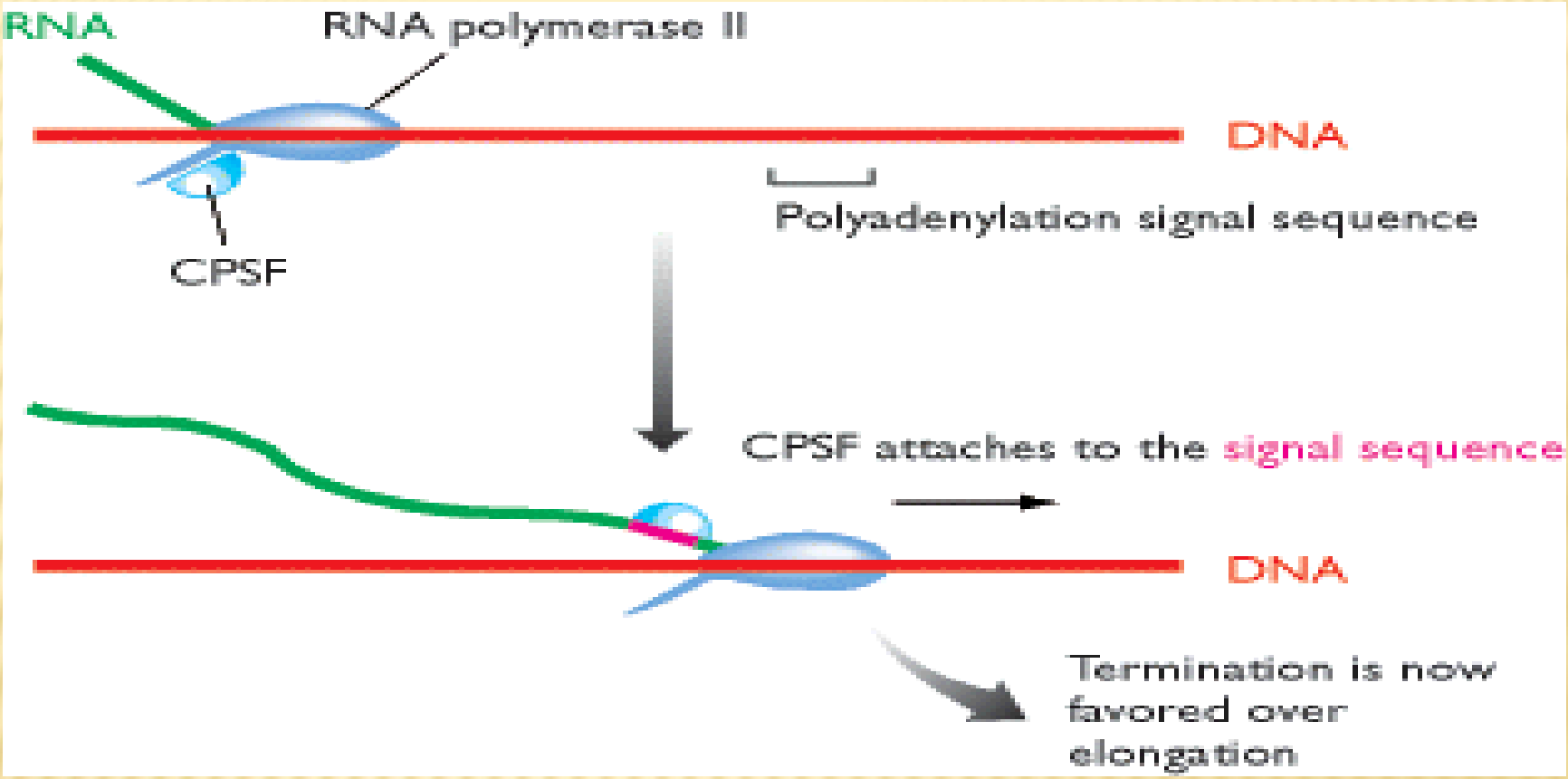


Stratégie de reconstruction du complexe de pré-initiation humain par assemblage séquentiel. He *et al*. (2013)



Élongation de l'ARNm

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 specficity factor) qui était associée à l'ARN polymérase s'y lie. La perte de l'interaction CPSF/ARN polymérase déstabilise le complexe de transcription.

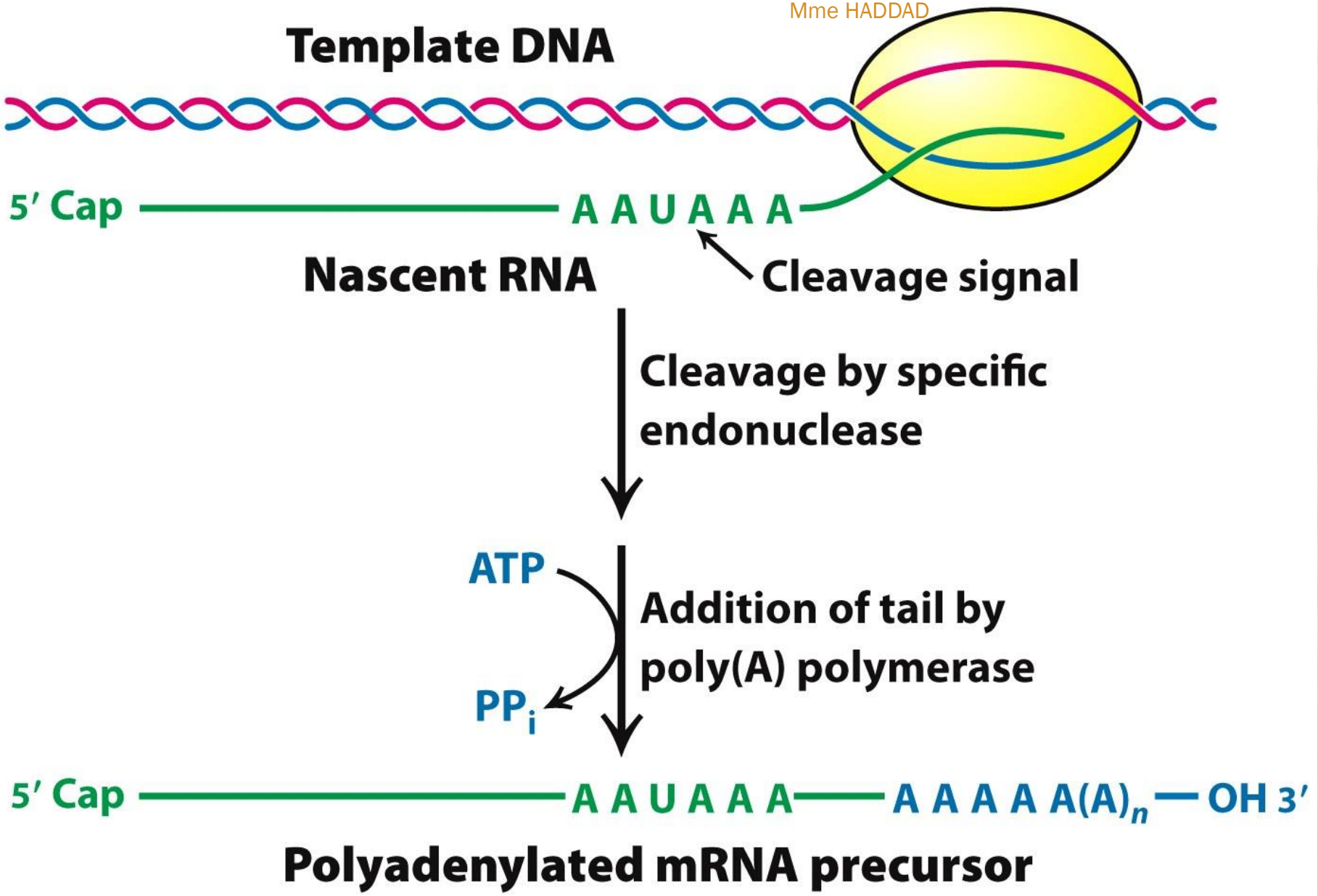
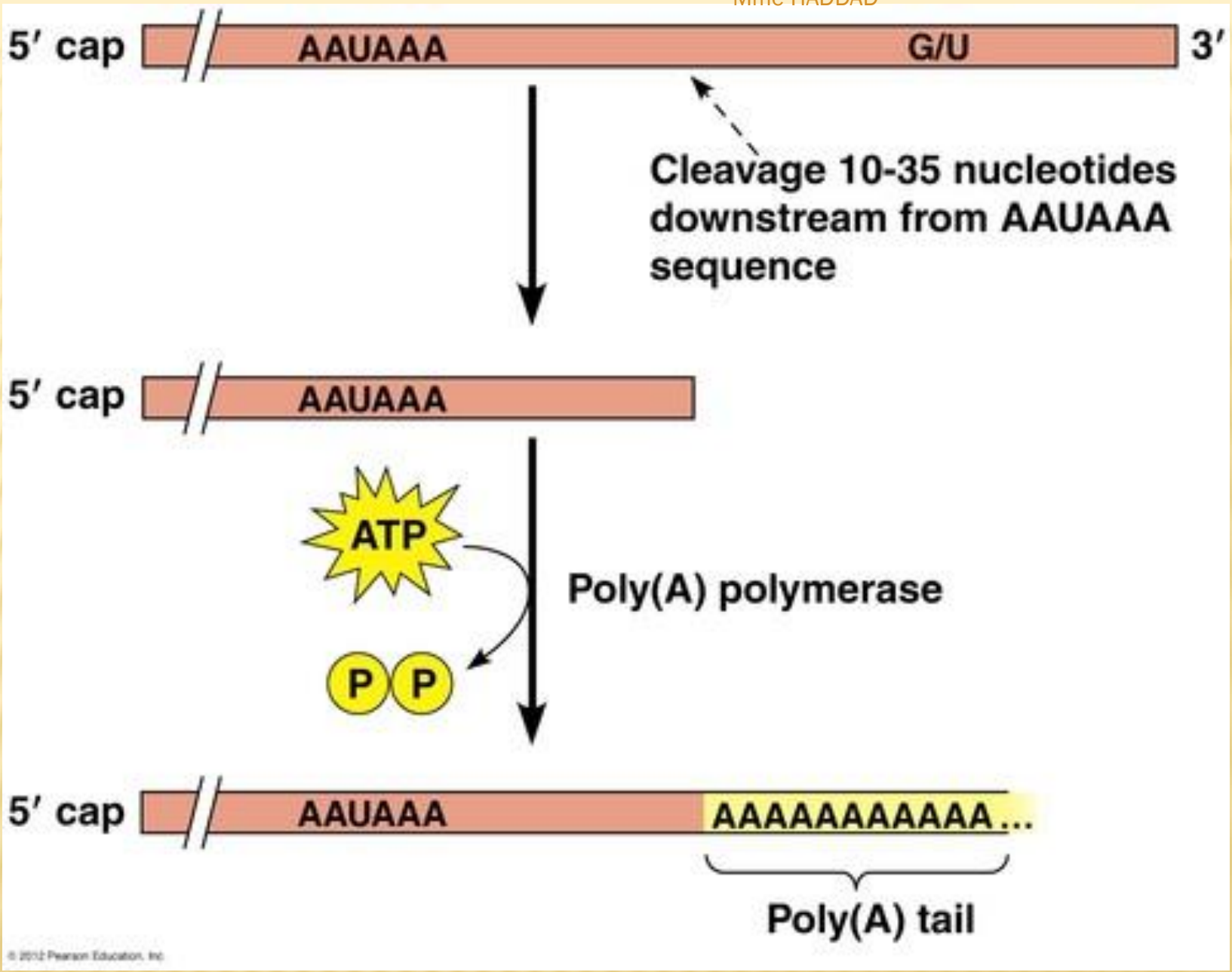
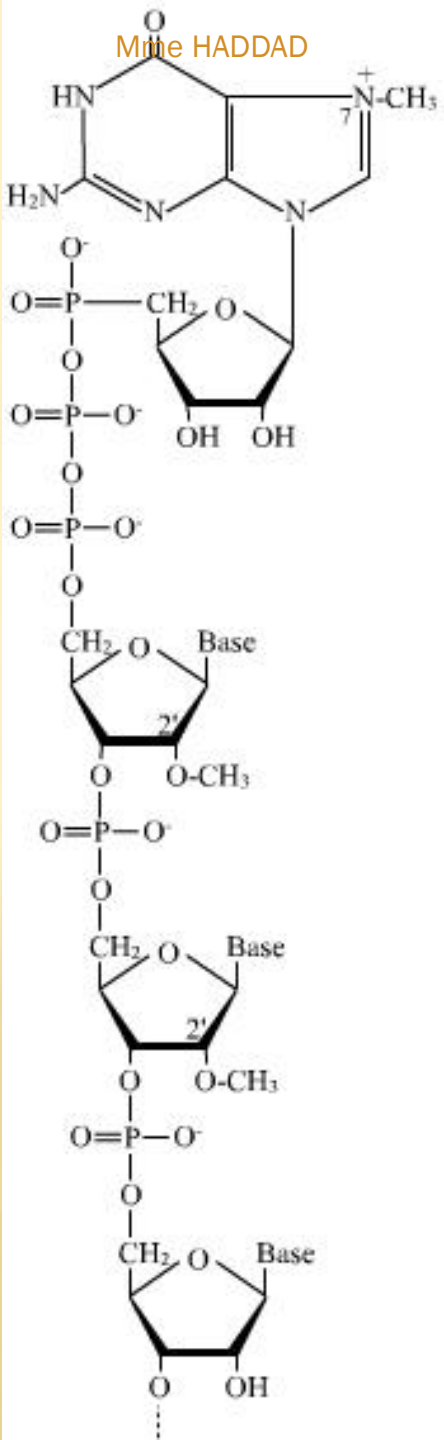
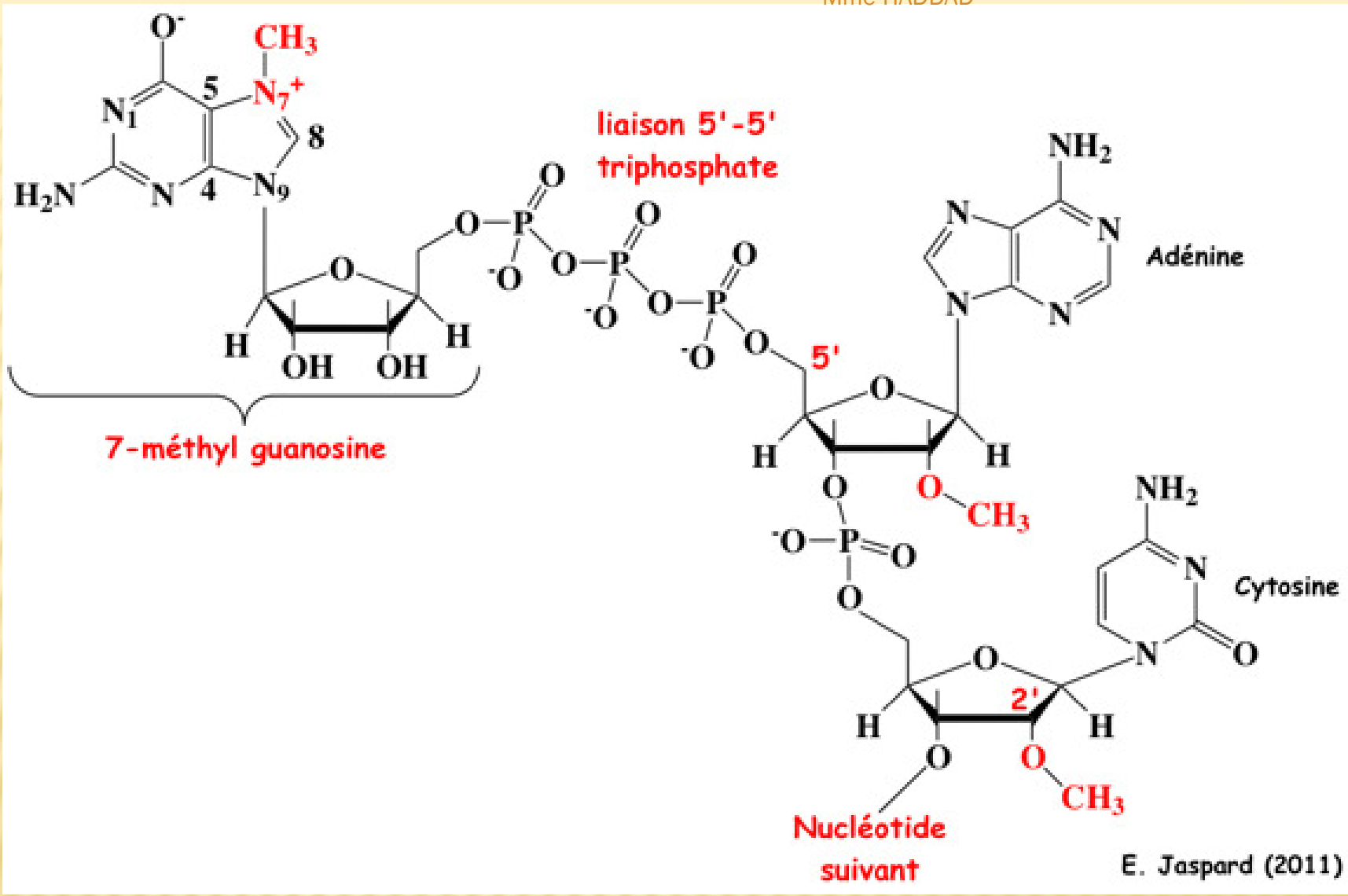


Figure 29.31
***Biochemistry*, Seventh Edition**

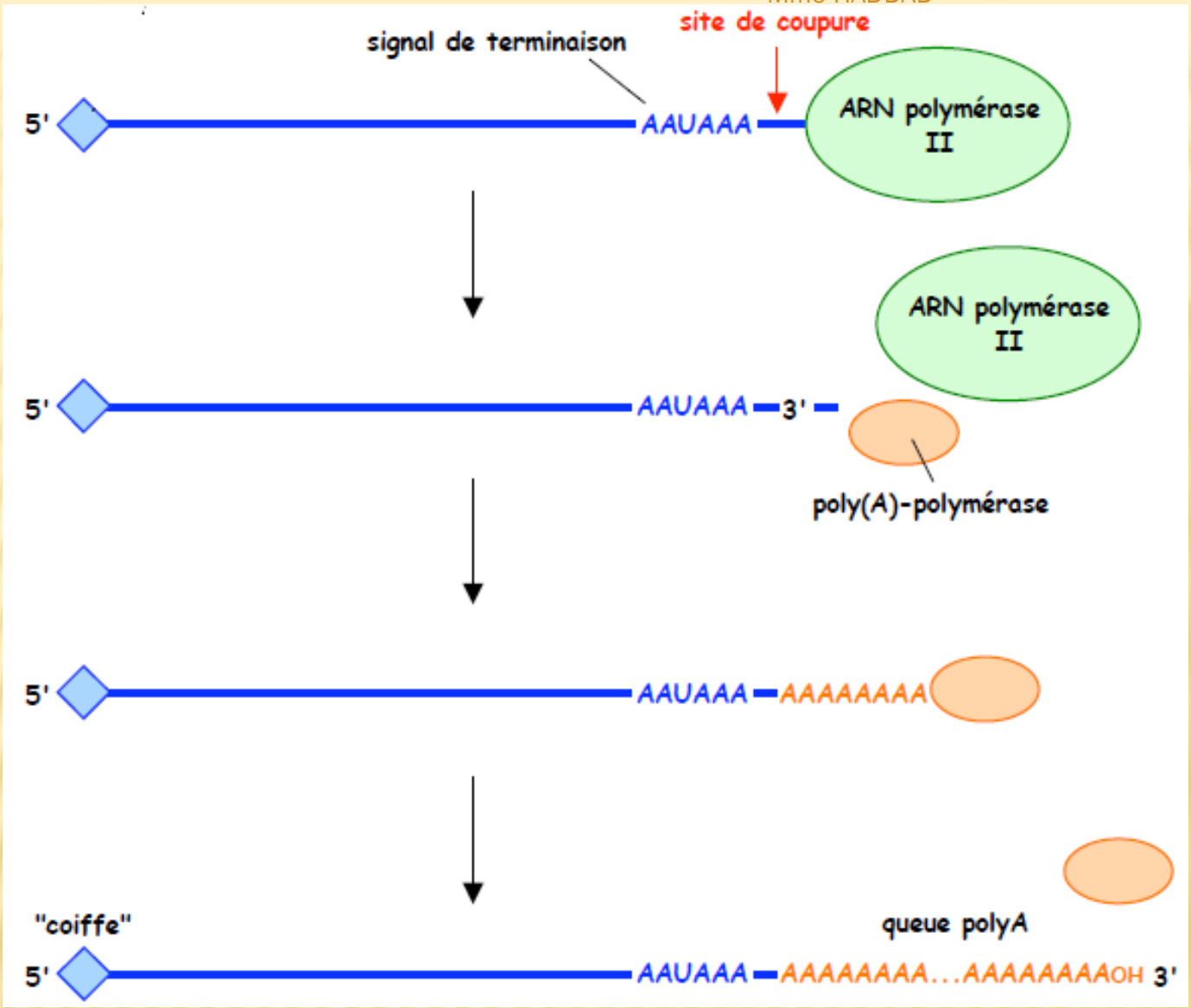

5′ cap
AAUAAA
G/U
3′
Cleavage 10-35 nucleotides downstream from AAUAAA sequence
5′ cap
AAUAAA
ATP
Poly(A) polymerase
P
P
5′ cap
AAUAAA
AAAAAAAAAA...
Poly(A) tail

Structure de la coiffe d'un ARN.

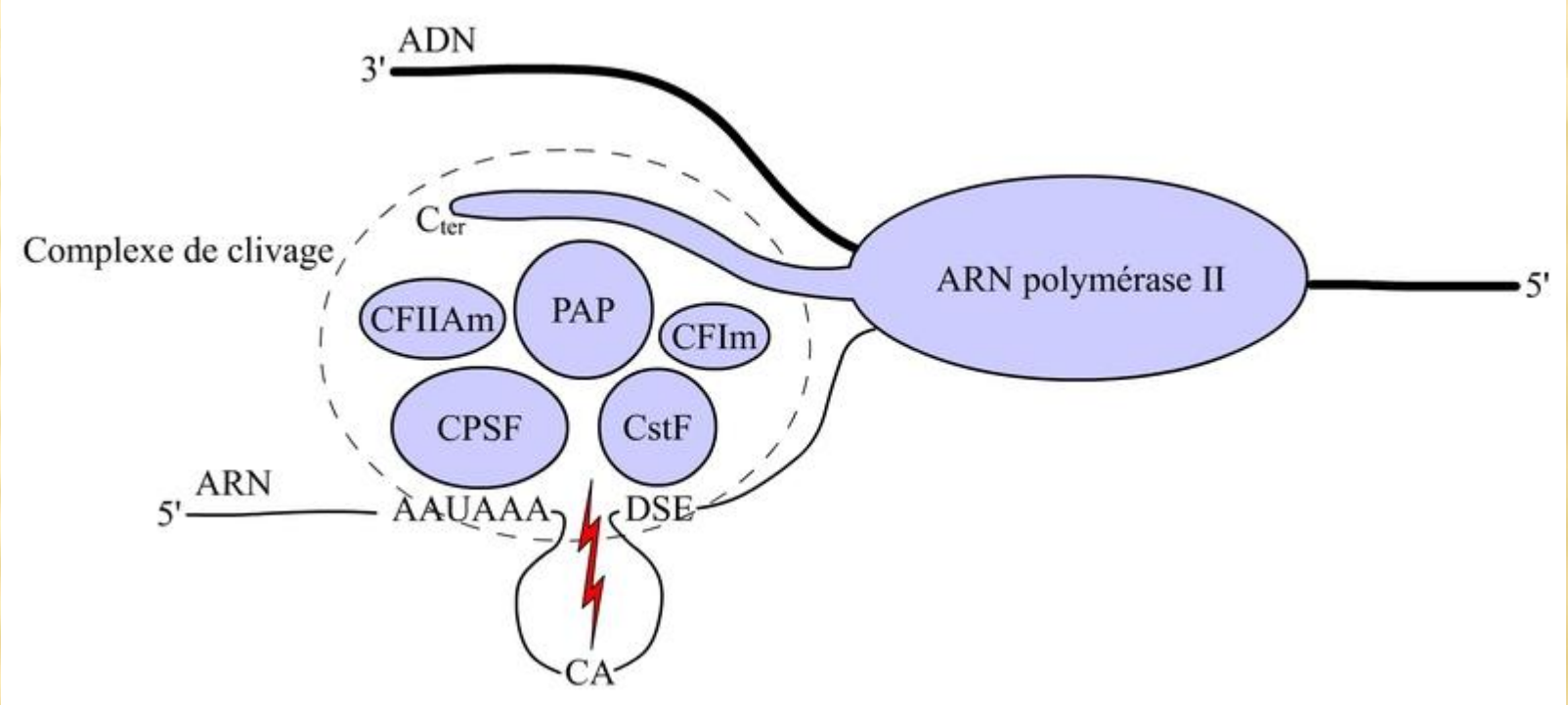




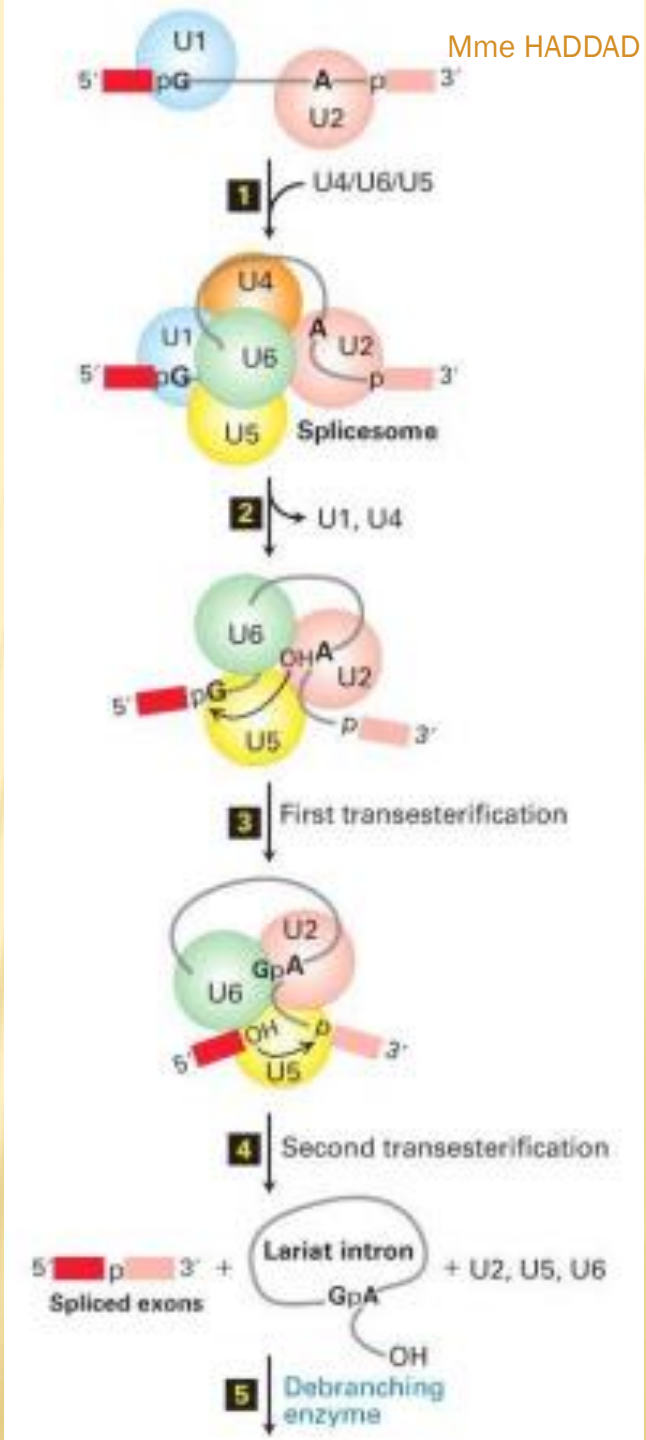
Structure de la coiffe d'un ARN.

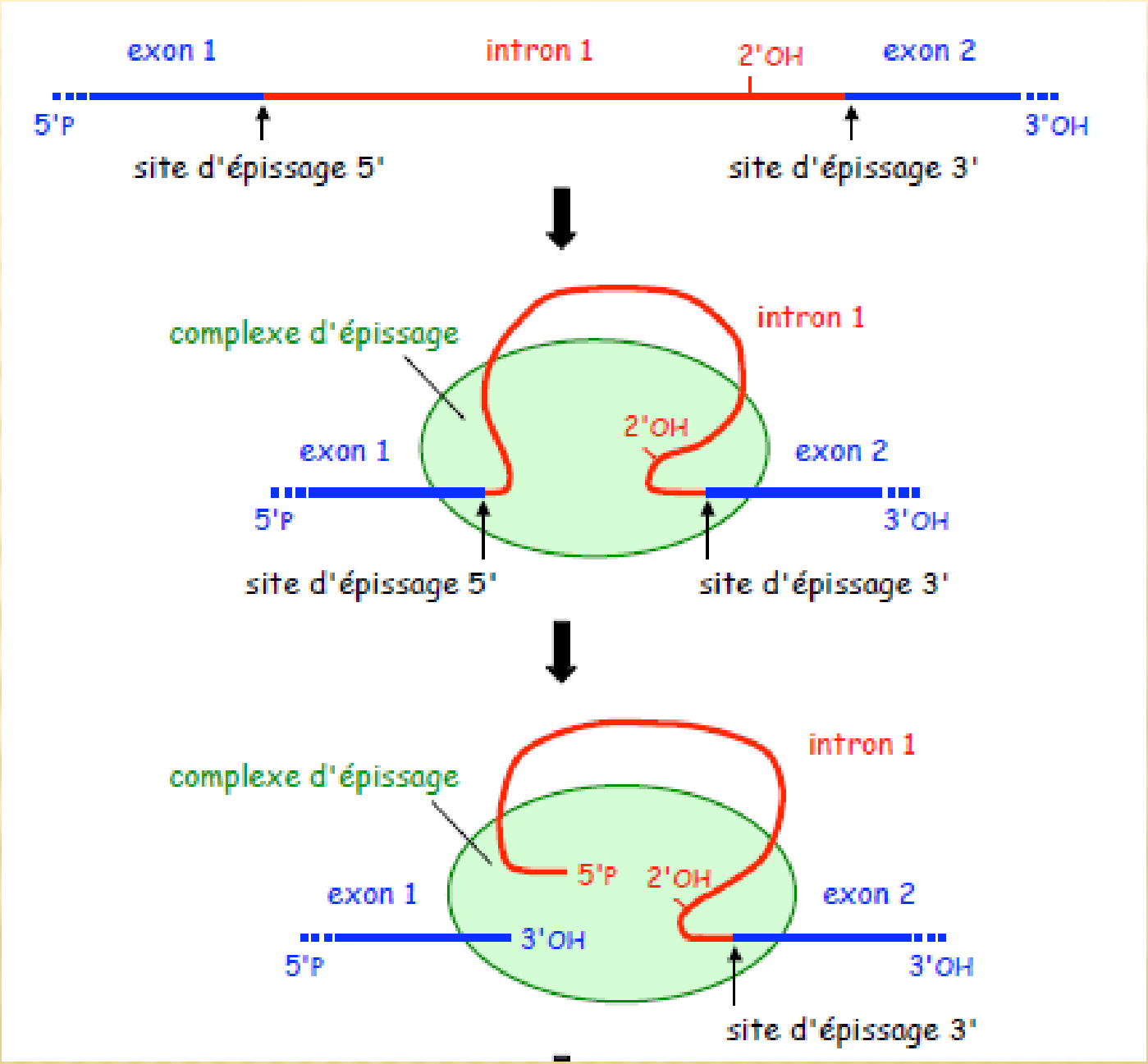


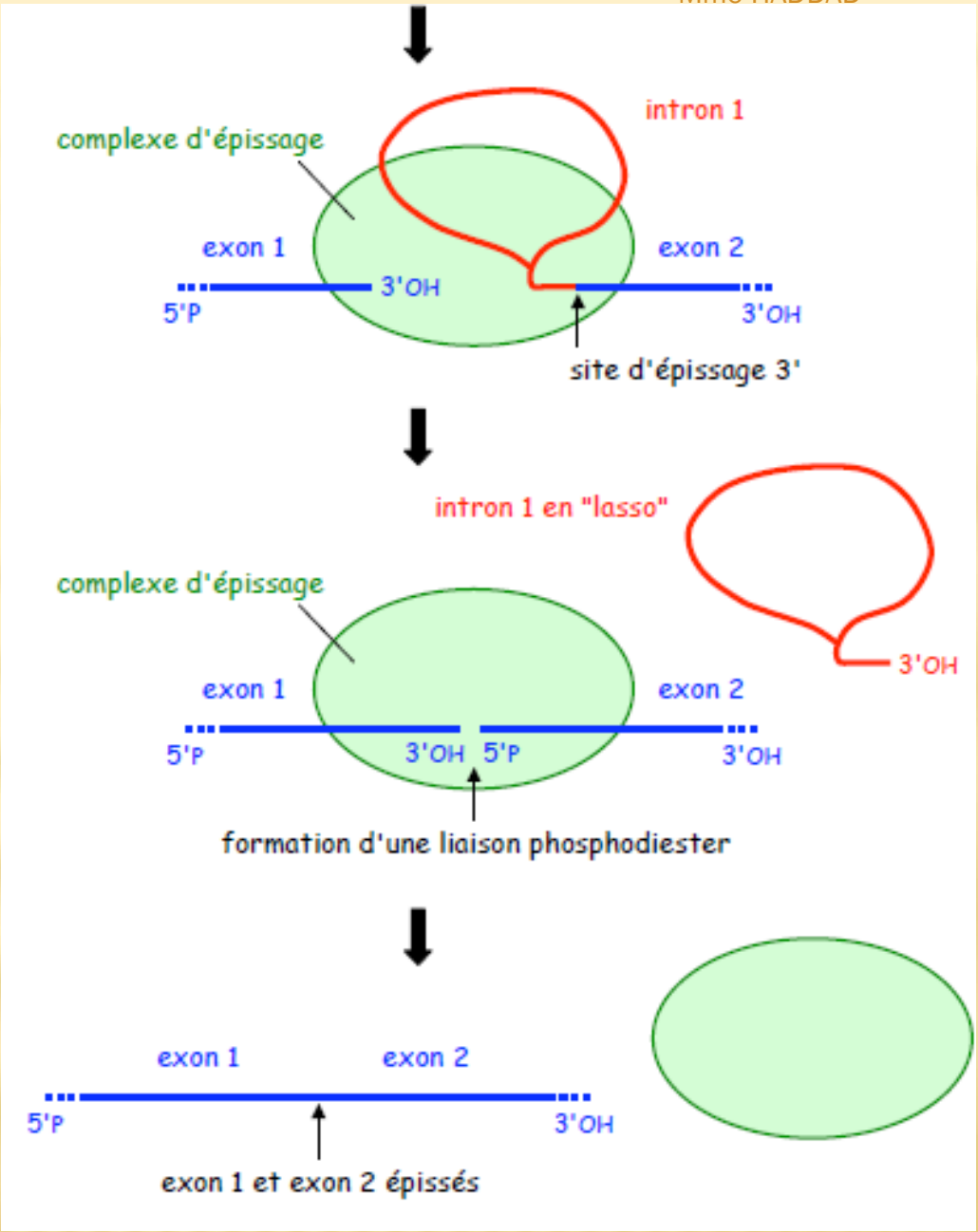
L'addition d'une queue polyA en 3'



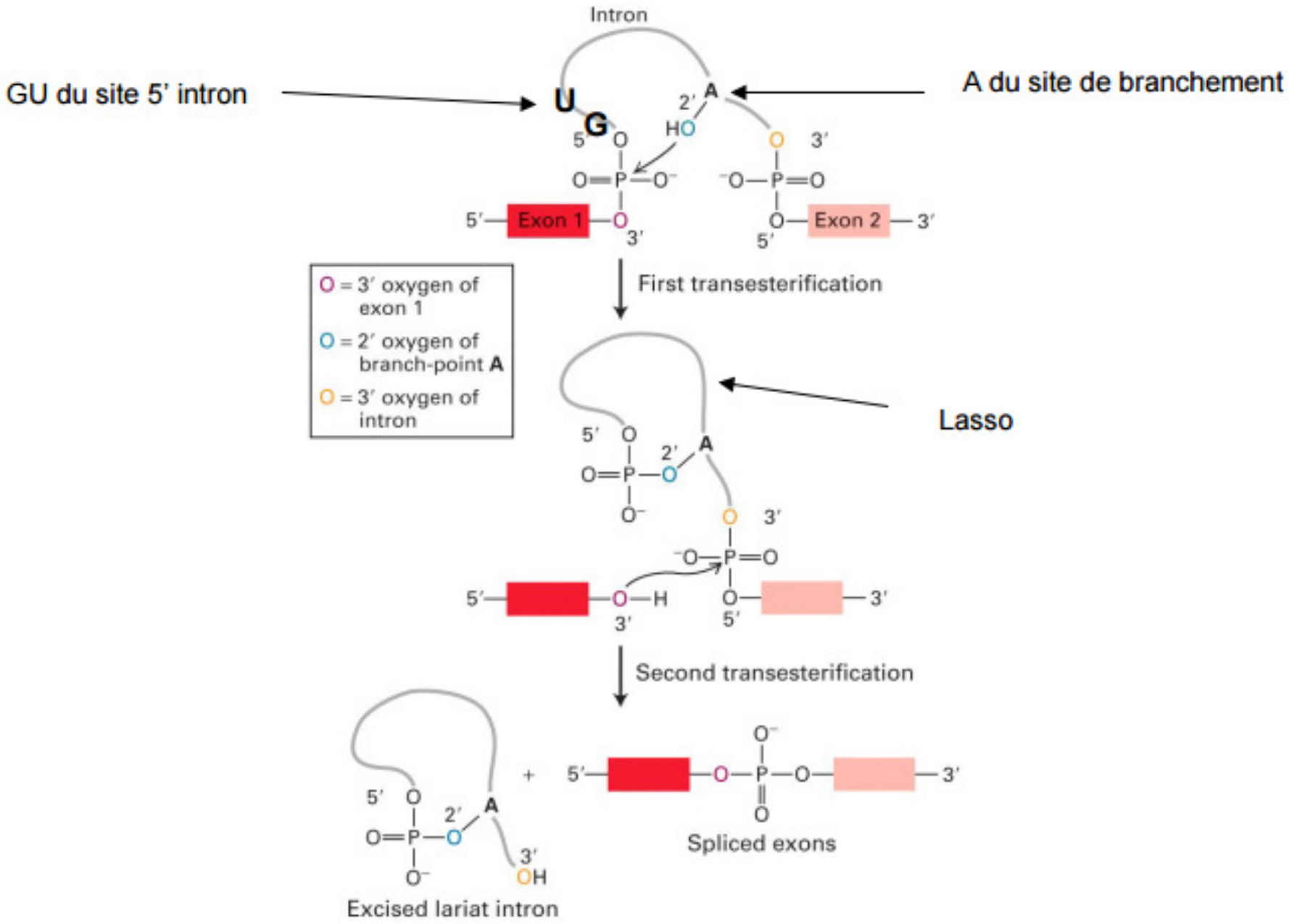
Modèle du clivage des pré-ARNm dans les cellules de mammifères


U1
5'
pG
A
p
3'
U2
1
U4/U6/U5
U4
U1
U6
A
U2
5'
pG
p
3'
U5
Splicesome
2
U1, U4
U6
OH
A
U2
5'
pG
U5
p
3'
3
First transesterification
U2
U6
GpA
OH
p
5'
3'
U5
4
Second transesterification
5'
p
3'
Spliced exons
+
Lariat intron
GpA
OH
+ U2, U5, U6
5
Debranching enzyme

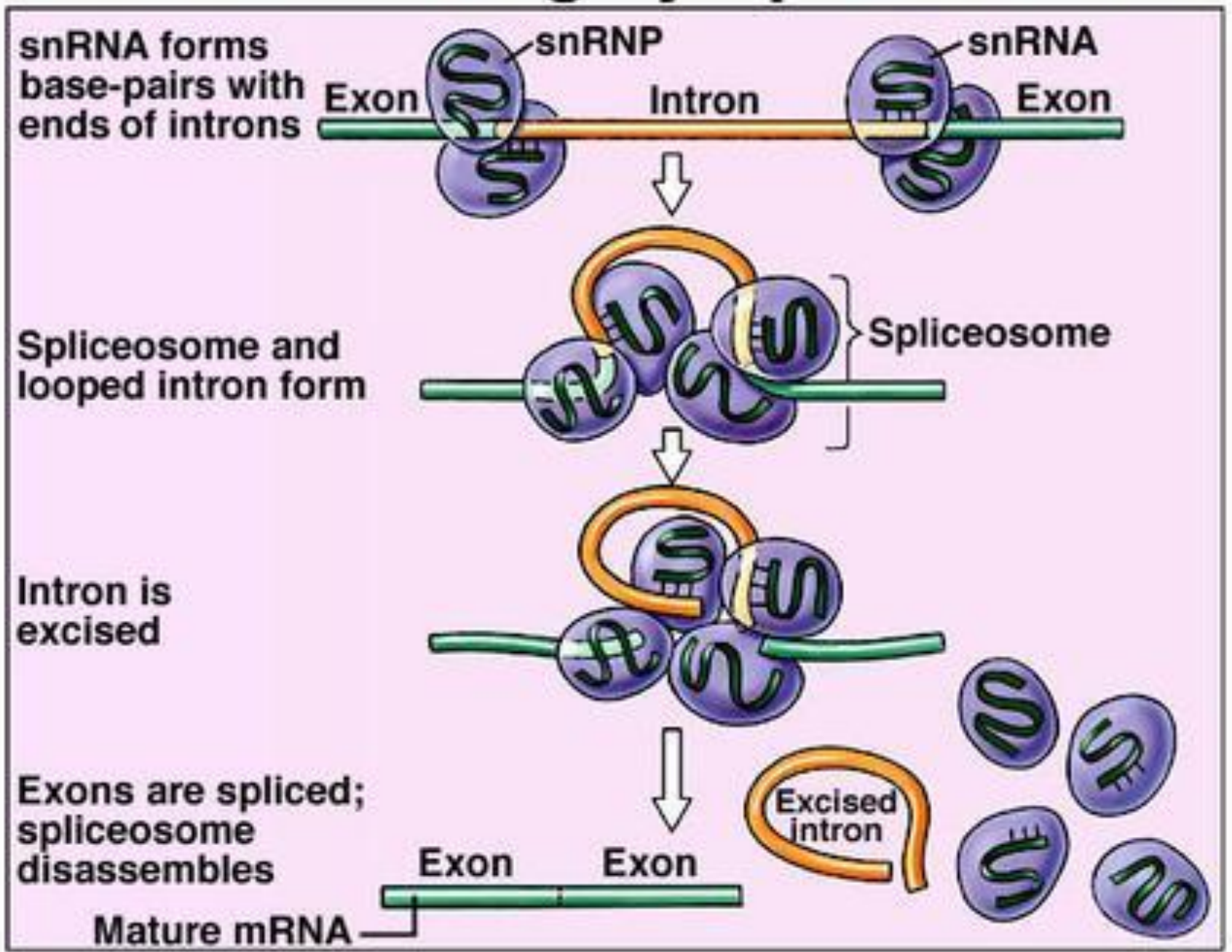

exon 1
intron 1
2'OH
exon 2
5'P
3'OH
site d'épissage 5'
site d'épissage 3'
complexe d'épissage
intron 1
2'OH
exon 1
exon 2
5'P
3'OH
site d'épissage 5'
site d'épissage 3'
complexe d'épissage
intron 1
5'P
2'OH
exon 1
exon 2
3'OH
5'P
3'OH
site d'épissage 3'

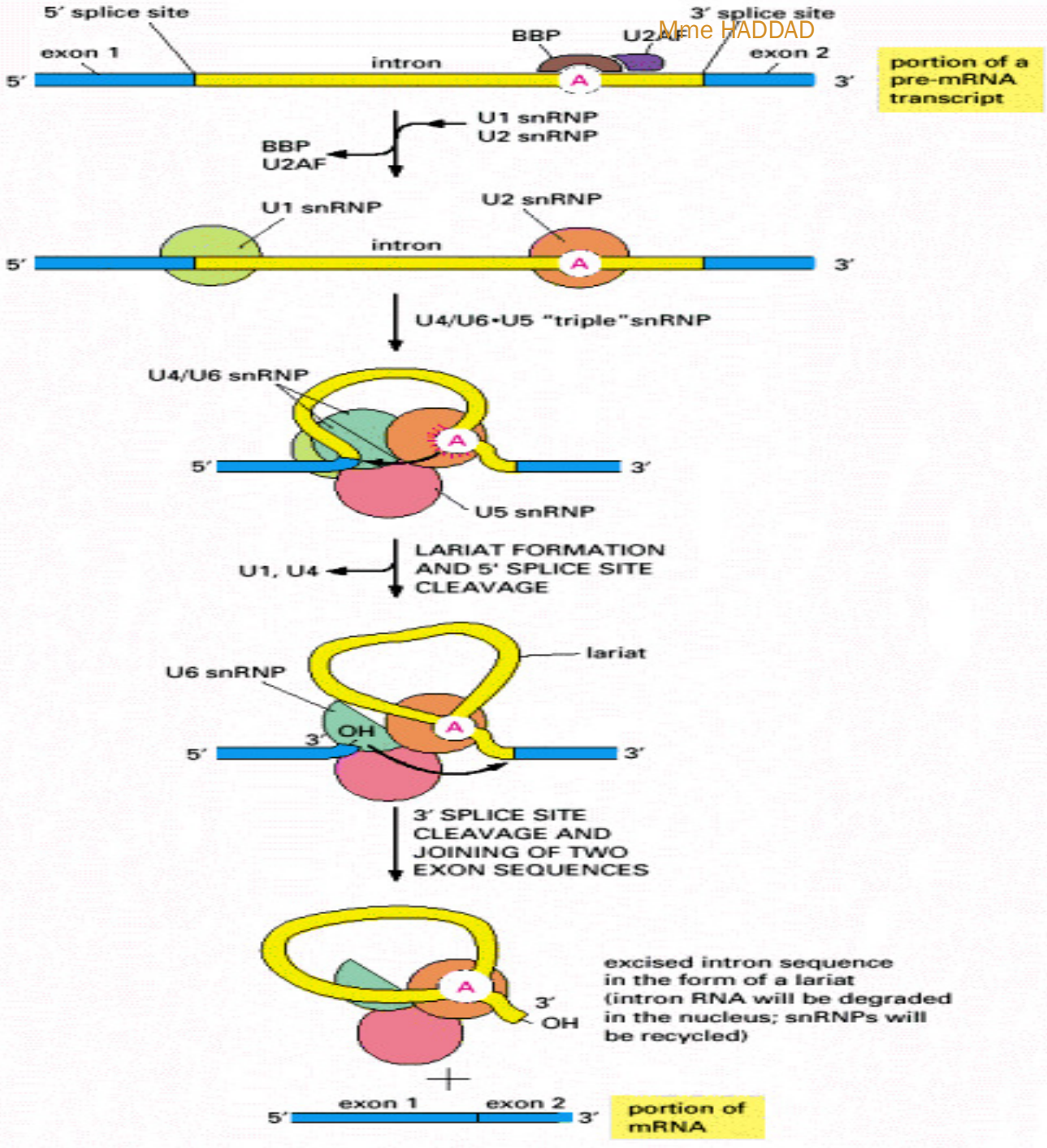

complexe d'épissage
intron 1
exon 1
exon 2
3'OH
5'P
3'OH
site d'épissage 3'
intron 1 en "lasso"
complexe d'épissage
3'OH
exon 1
exon 2
5'P
3'OH 5'P
3'OH
formation d'une liaison phosphodiester
exon 1
exon 2
5'P
3'OH
exon 1 et exon 2 épissés

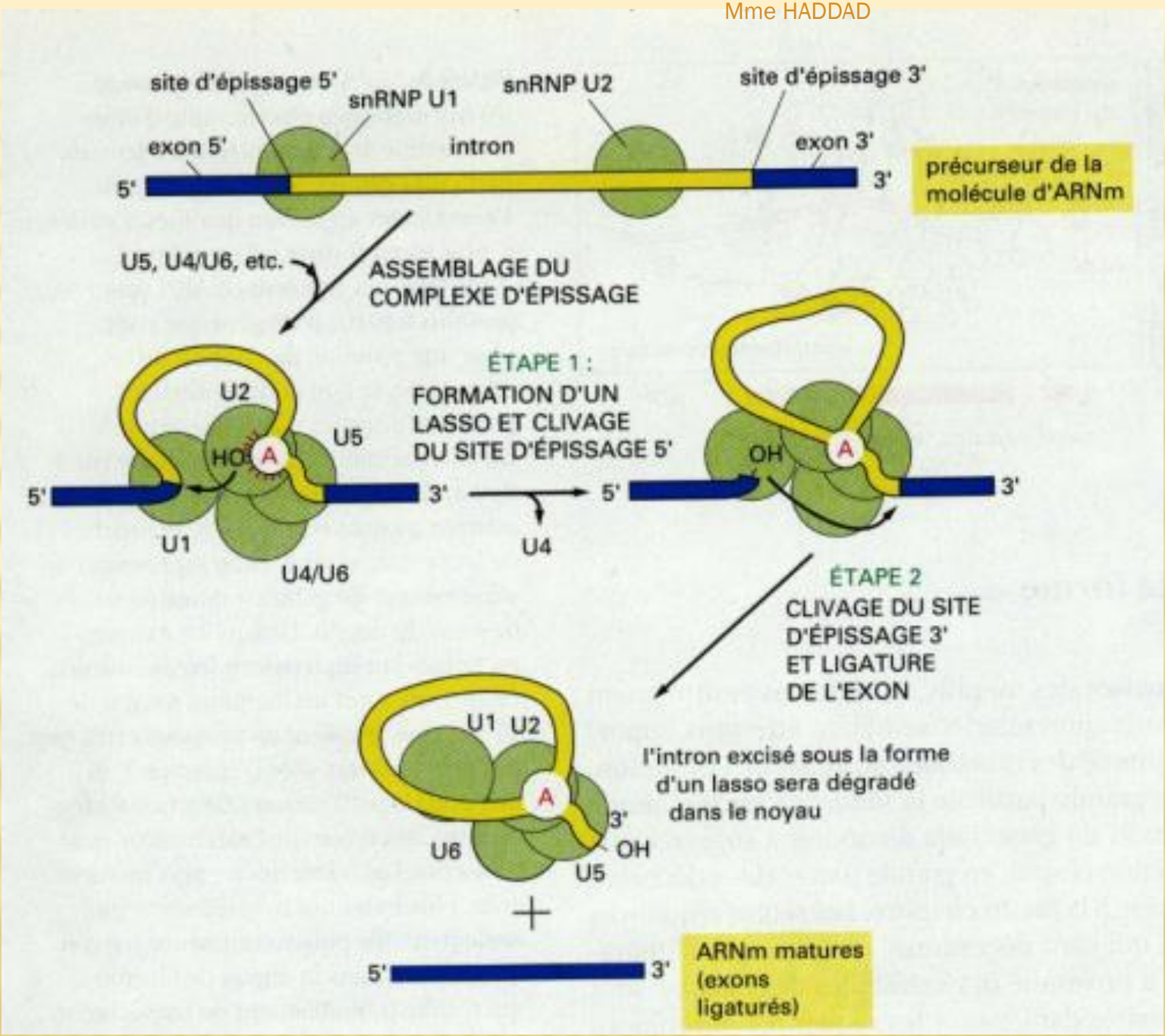
Les deux réactions de transestérification



RNA Processing by Spliceosomes




5′ splice site
3′ splice site
BBP
U2AF
exon 1
intron
exon 2
5′
3′
A
portion of a pre-mRNA transcript
U1 snRNP
U2 snRNP
BBP
U2AF
U1 snRNP
U2 snRNP
intron
5′
3′
A
U4/U6•U5 "triple"snRNP
U4/U6 snRNP
5′
3′
A
U5 snRNP
U1, U4
LARIAT FORMATION AND 5′ SPLICE SITE CLEAVAGE
lariat
U6 snRNP
3′
OH
5′
3′
A
3′ SPLICE SITE CLEAVAGE AND JOINING OF TWO EXON SEQUENCES
A
3′
OH
excised intron sequence in the form of a lariat (intron RNA will be degraded in the nucleus; snRNPs will be recycled)
exon 1
exon 2
5′
3′
portion of mRNA


site d'épissage 5'
snRNP U1
snRNP U2
site d'épissage 3'
exon 5'
intron
exon 3'
5'
3'
précurseur de la molécule d'ARNm
U5, U4/U6, etc.
ASSEMBLAGE DU COMPLEXE D'ÉPISSAGE
ÉTAPE 1 :
FORMATION D'UN LASSO ET CLIVAGE DU SITE D'ÉPISSAGE 5'
U2
U5
HO
A
U1
U4/U6
U4
OH
ÉTAPE 2
CLIVAGE DU SITE D'ÉPISSAGE 3' ET LIGATURE DE L'EXON
U1 U2
U6
U5
OH
l'intron excisé sous la forme d'un lasso sera dégradé dans le noyau
ARNm matures (exons ligaturés)