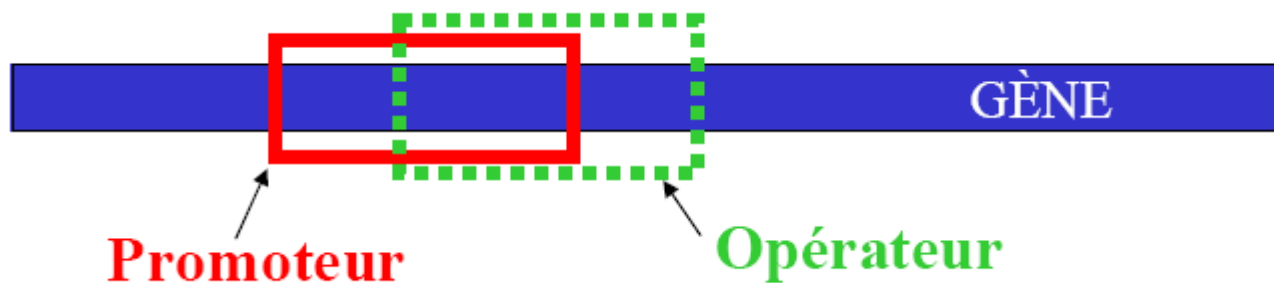
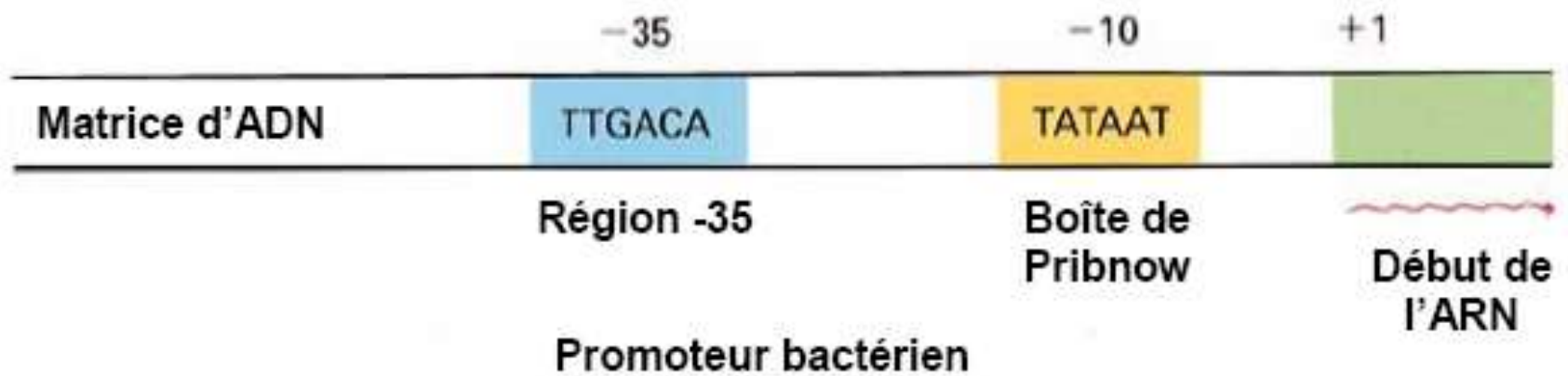


Chapitre 4: Régulation de l'expression génique

4.1. Définitions et concept de l'opéron.

Quelques définitions

- **Facteur de transcription**: protéine de régulation transcriptionnelle.
- **Activateur**: protéine qui stimule l'initiation de la transcription favorise l'expression d'un gène.
- **Répresseur** : protéine qui inhibe la transcription et empêche l'expression d'un gène.
- **Opérateur** : site cible de la protéine répresseur (souvent proche du site d'initiation de la transcription)
- **Trans** : les produits sont libres de diffuser pour trouver une cible (activateur, répresseur)
- **Cis** : pour toute séquence d'ADN non transformée en une autre molécule, elle agit in situ et touche l'ADN auquel elle est liée (promoteur et opérateur)



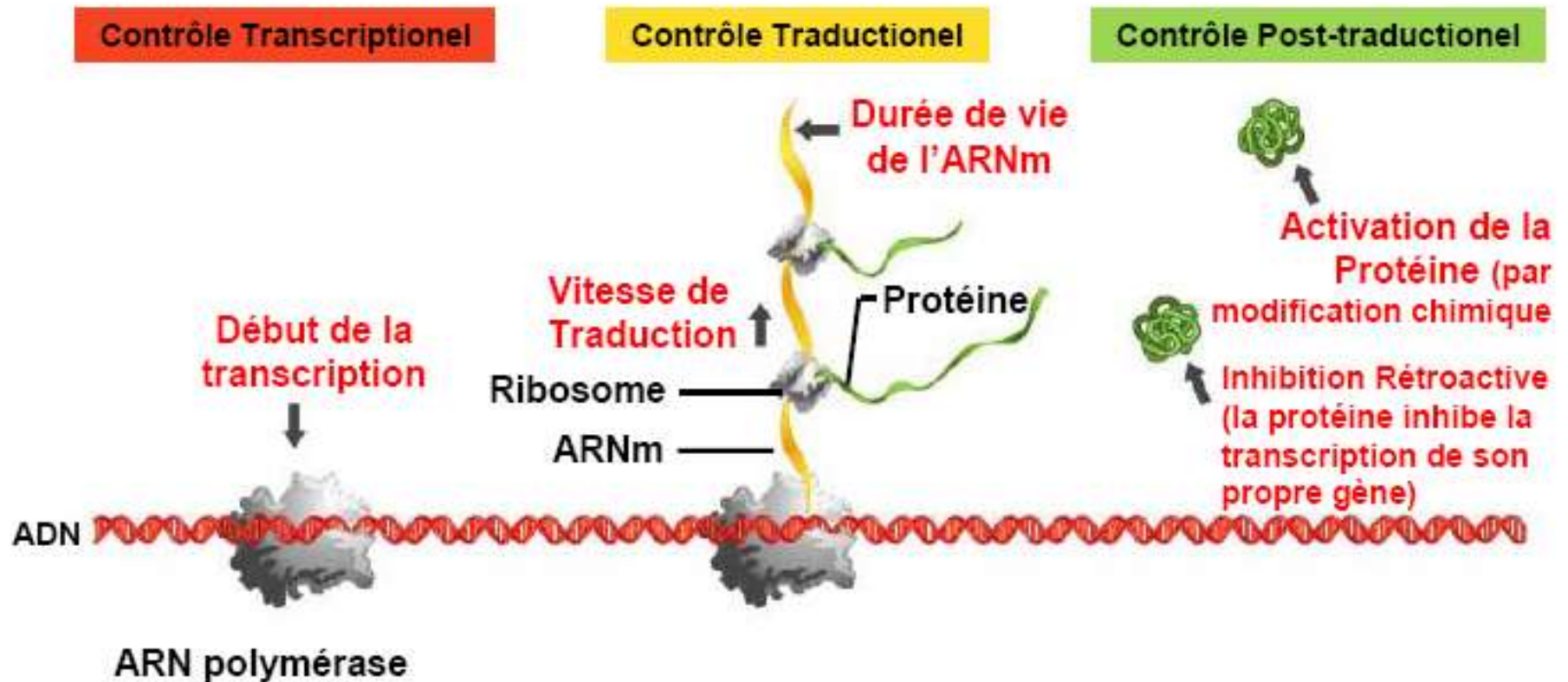
LA REGULATION GENETIQUE

=Un moyen pour la cellule de développer des mécanismes qui lui permettent de réprimer les gènes qui codent pour des protéines inutiles et de les activer au moment où ils deviennent nécessaires

Deux modes de régulation de l'expression d'un gène cible par une molécule régulatrice :

- 1- d'une façon **positive** : l'interaction déclenche la transcription du gène
- 2- d'une façon **négative** : l'interaction empêche la transcription du gène

Niveaux de régulation



Chez les procaryotes:

❑ Chez les procaryotes, le contrôle de l'expression des gènes permet essentiellement à la cellule d'ajuster des synthèses en fonction des besoins nutritionnels, face à un environnement changeant, de façon à assurer la croissance et division cellulaire.

Notion d'opéron

@généralement trouvés chez les procaryotes, avec quelques exemples maintenant connus chez les eucaryotes (Némathelminthes , Plathelminthes).

@chez les bactéries, quand un promoteur sert une série de gènes groupés, l'ensemble de gènes s'appelle un **opéron**.



Opérateur : contrôle de la transcription

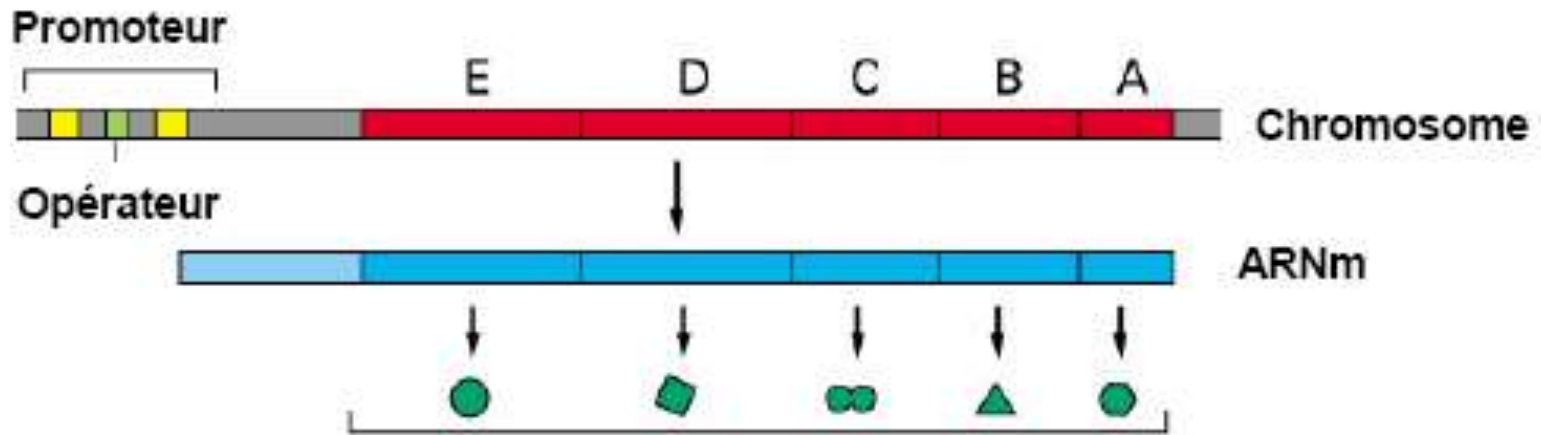
Promoteur : fixation de l'ARN polymérase

+1 : début de la transcription

RBS ('ribosome binding site') : fixation du ribosome

CDS ('coding sequence') : séquence codant pour une protéine

Termineur : fin de la transcription



- tous ces gènes sont transcrits en un *ARNm simple*
- chaque section de ces *ARNm* (appelés *ARNm polycistroniques*) peut alors être traduite indépendamment
- les gènes d'un opéron donné codent souvent pour plusieurs enzymes actives dans une *même voie métabolique*

Les opérons de la bactérie *E. coli*

Estimation

4289 gènes



**Transcription
monocistronique :
1864**

**Nombre d'opérons :
2528**

**soit environ 74% des gènes à transcription unique
et en moyenne 1,70 gène par unité de transcription**

Il existe deux types d'opérons:

❖ **Opérons inductibles:** qui code pour les enzymes de la voie catabolique (processus de dégradation).

EX: l'opéron lactose.

❖ **Opérons répressibles:** responsable de l'anabolisme (processus de biosynthèse).

EX: l'opéron tryptophane.

Les opérons produisent des ARNm qui codent pour des protéines fonctionnellement reliés.

4.2. Les opérons inductibles: Opéron lactose

L'opéron lactose* (chez *E. coli*) un exemple d'opéron catabolique inductible négativement & positivement régulé

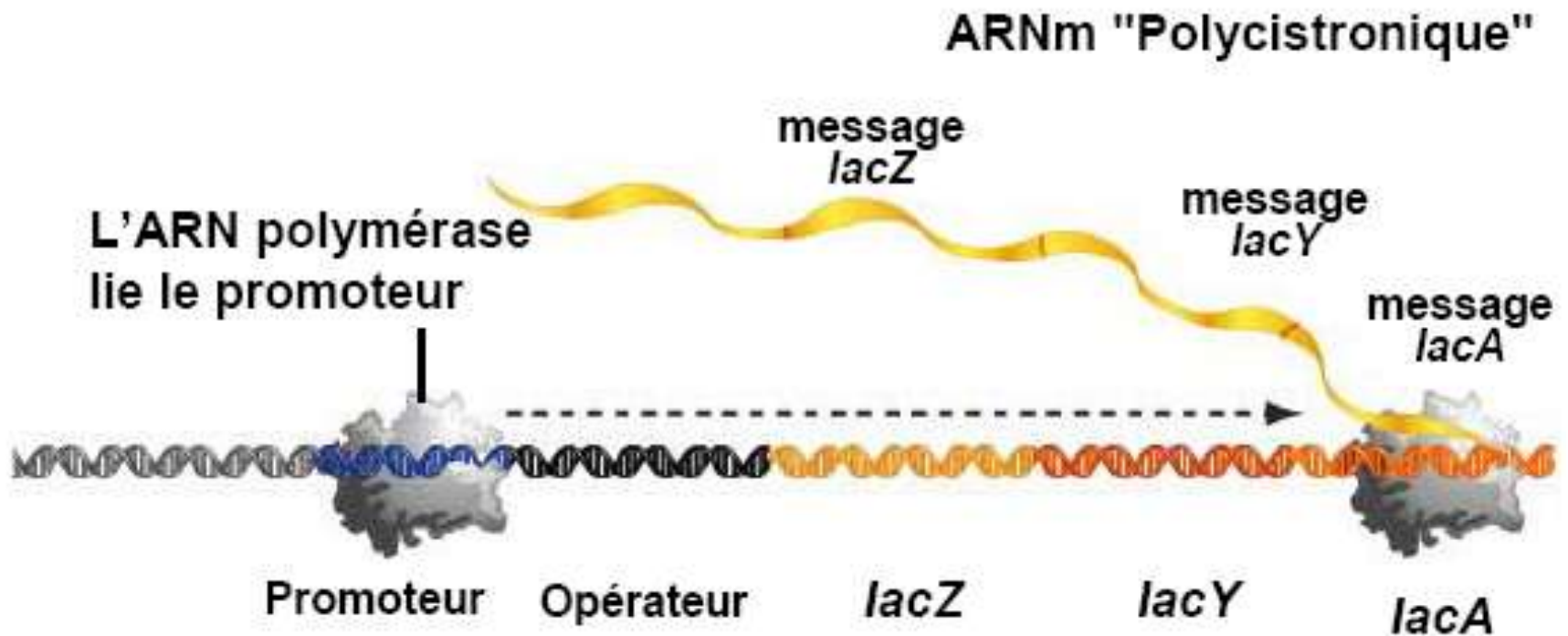
* lactose : disaccharide pouvant être utilisé comme source de carbone unique pour la croissance d'*E. coli*.

OPERON LAC: Définition et structure

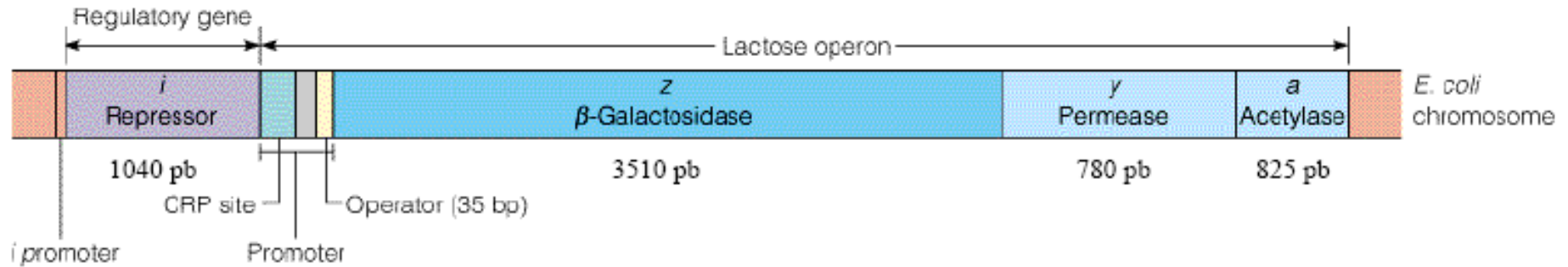


1961 : Jacob et Monod décrivent comment des gènes adjacents impliqués dans le métabolisme du lactose sont régulés de façon coordonnée par un élément génétique localisé à proximité des gènes. Il y a des séquences d'ADN codant pour des produits agissant en trans ou en cis. (prix Nobel de médecine et de physiologie en 1965)

Exemple de l'opéron Lac:

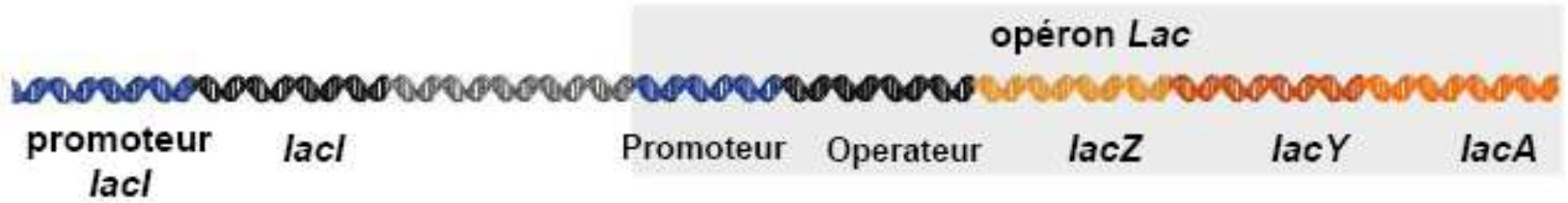


L'opéron *lac* : organisation



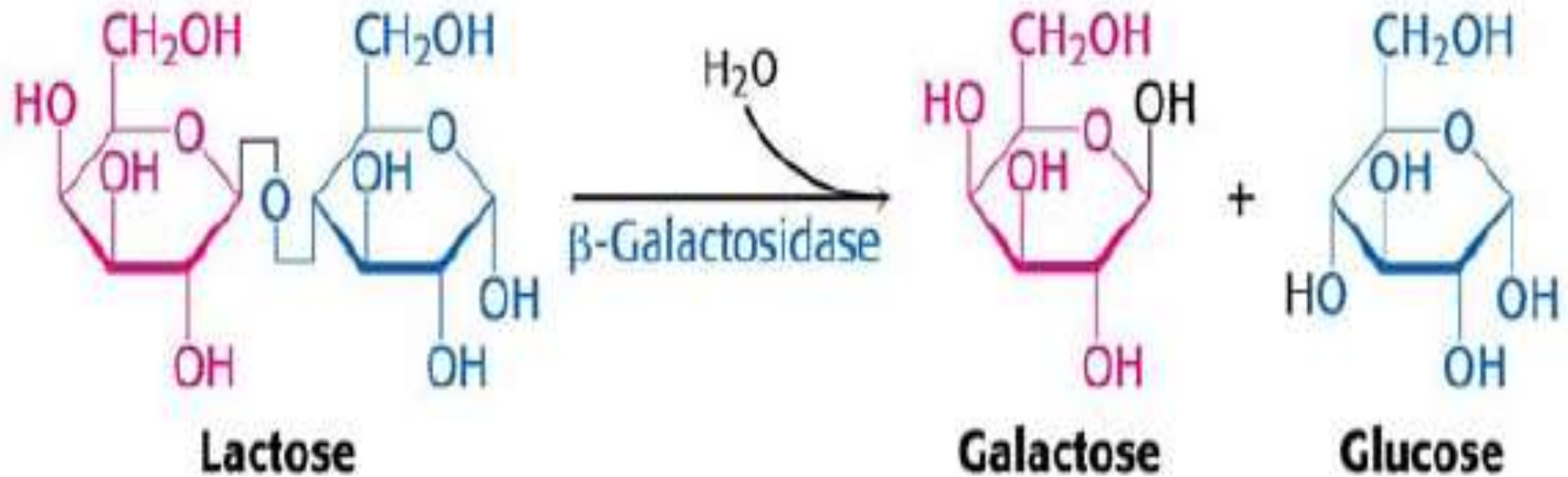
3 gènes structuraux: **z**, **y** & **a**

- codant pour les enzymes impliquées dans le métabolisme du lactose
- sont exprimés continuellement à faible taux
- sont induits environ 1000 fois quand le lactose est présent
- sont modulés par le taux de glucose du milieu

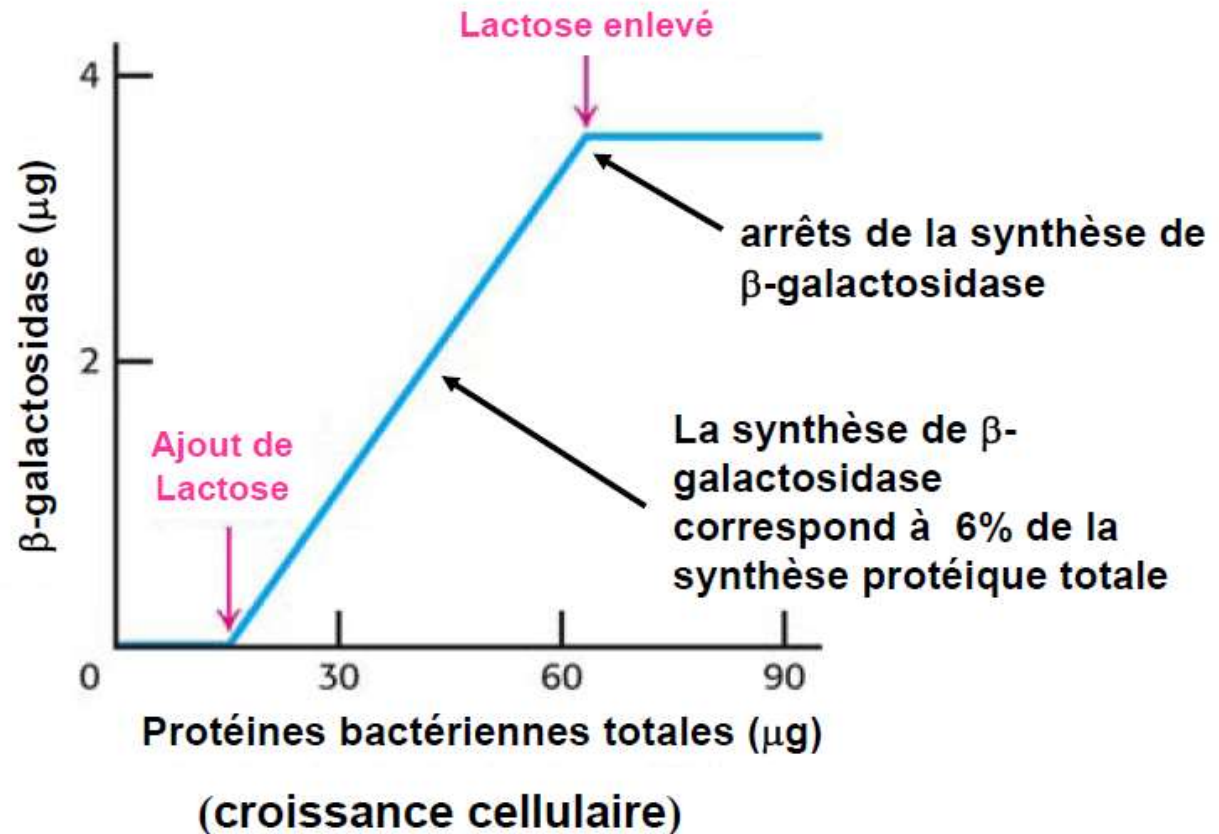


- Le gène **lacZ** encode l'enzyme **β -galactosidase**, qui décompose le lactose (en galactose et glucose)
- Le gène **lacY** encode la galactosidase **perméase**, une protéine de transport pour le lactose.
- Le gène **lacA** encode la **thiogalactoside acétyltransférase**, cette enzyme transfère le groupe acétyl ($\text{CH}_3\text{CO}-$) de l'acétyl-CoA aux β -galactosides.
- Le gène **lacI** (gène adjacent n'appartenant pas à l'opéron) encode un **répresseur** qui bloque la transcription de l'opéron lactose.

Equation de la réaction catalysée par la β -galactosidase:

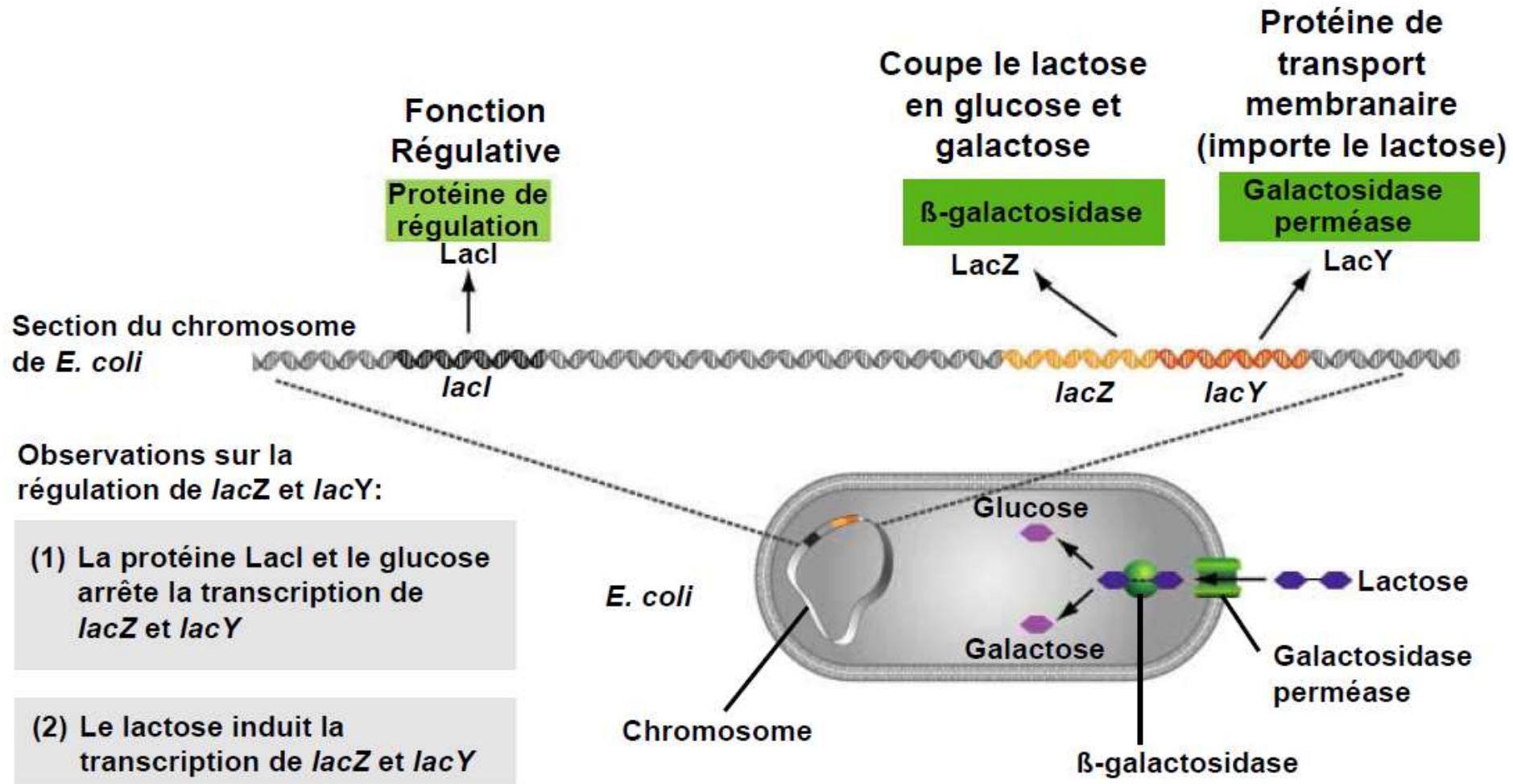


L'addition de lactose à *E. coli* mène à une grande augmentation de la synthèse de β -galactosidase



- L'expression de la β -galactosidase est induisible
- Note: L'augmentation de la synthèse de β -galactosidase se produit seulement en l'absence des sources préférées de carbon/énergie telles que le glucose

Régulation de l'opéron lactose chez *E. coli*

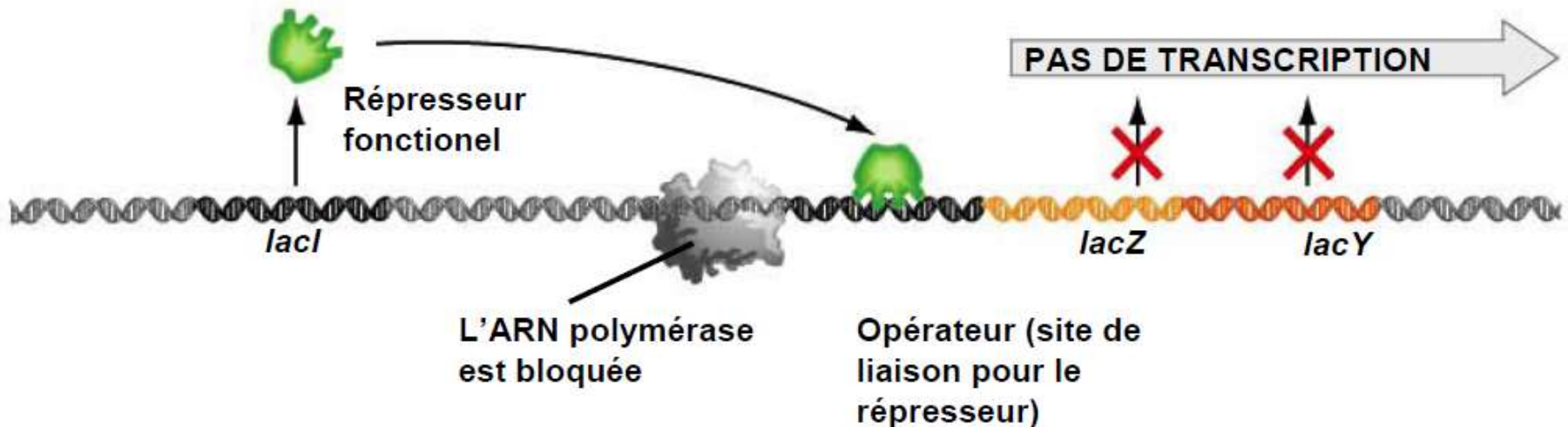


Régulation de l'opéron lactose chez *E. coli*

- Normalement la transcription de l'opéron Lac est réprimée
- Le lactose induit la transcription de l'opéron Lac (~1000X)
 - Le lactose entre dans la cellule et est converti en allolactose.
 - L'allolactose lie le répresseur et cause la libération de l'opérateur.
- Aussi influencer par le niveau de glucose

a. absence du lactose : transcription du gène *lac I* et synthèse du répresseur

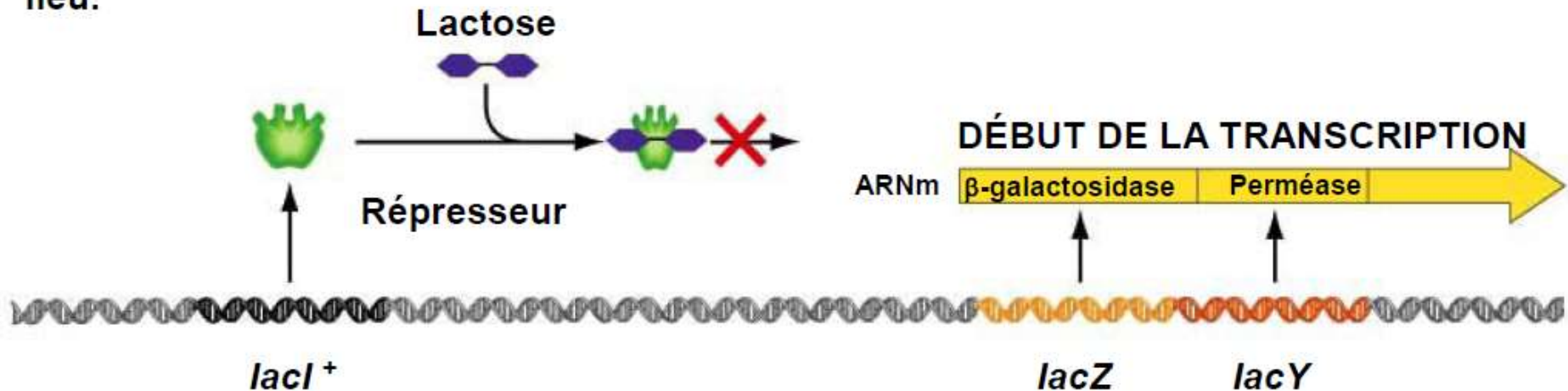
Lorsqu'aucun lactose n'est présent, le répresseur se lie à l'ADN et bloque la transcription



b. présence du lactose dans le milieu :

la fixation du lactose sur le répresseur empêche la fixation du répresseur sur l'opérateur permettant à l'ARN polymérase de transcrire les gènes de structure

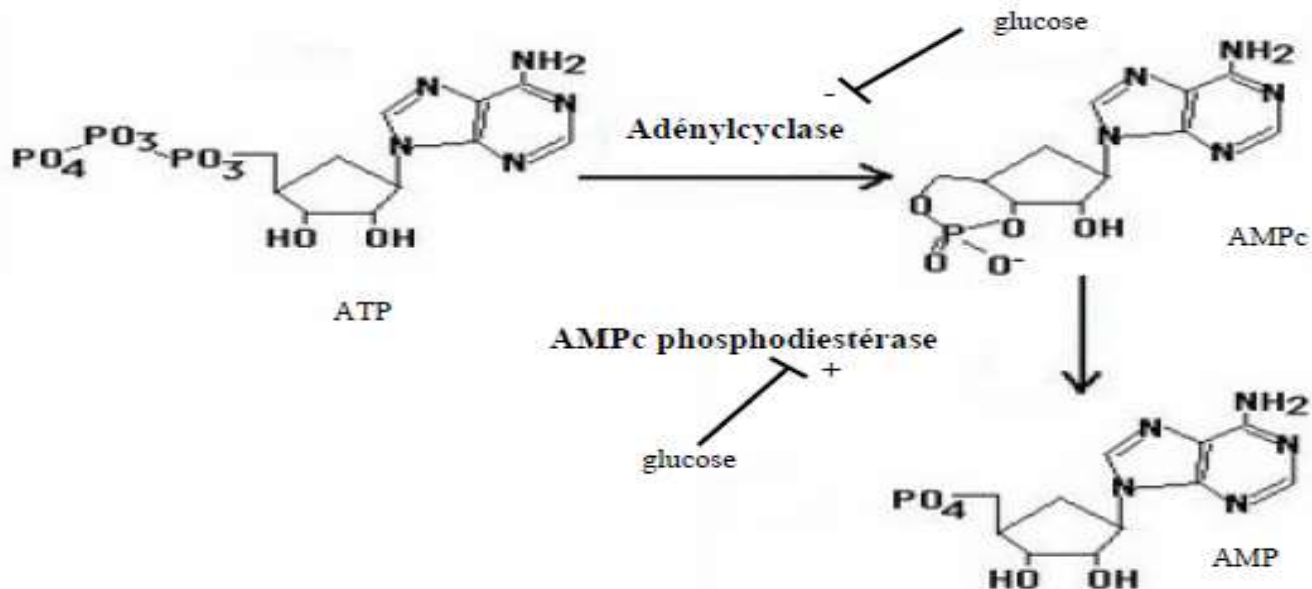
Lorsque le répresseur et le lactose (inducteur) sont présents: La transcription a lieu.



➤ le lactose agit comme inducteur des enzymes chargés de sa métabolisation

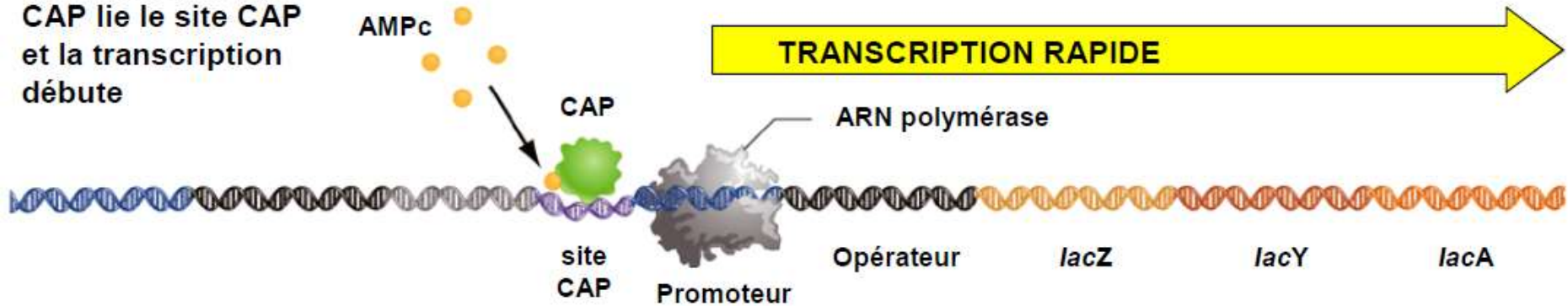
c. contrôle de l'expression de l'opéron lactose en présence du glucose

- Présence d'un site activateur (site CAP) sur le promoteur de l'opéron lactose activé par la fixation de la protéine CAP lorsqu'elle est associée à l'AMPc (CAP-AMPc).
- CAP (catabolite activator protein) lactose, également appelée CRP (cyclic AMP [cAMP] receptor protein)
- L'AMPc s'accumule quand le glucose est absent. Quand le glucose est présent
 - l'adénylate cyclase est inhibée
 - AMPc phosphodiesterase est activée.

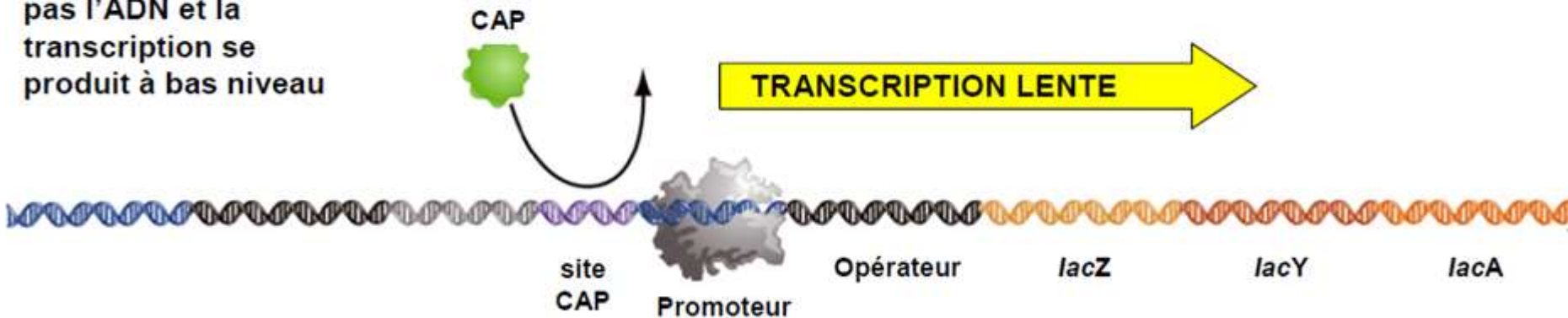


Répression catabolique de l'opéron Lac

Lorsque l'AMPc est présent, il lie le CAP. Le complexe AMPc-CAP lie le site CAP et la transcription débute



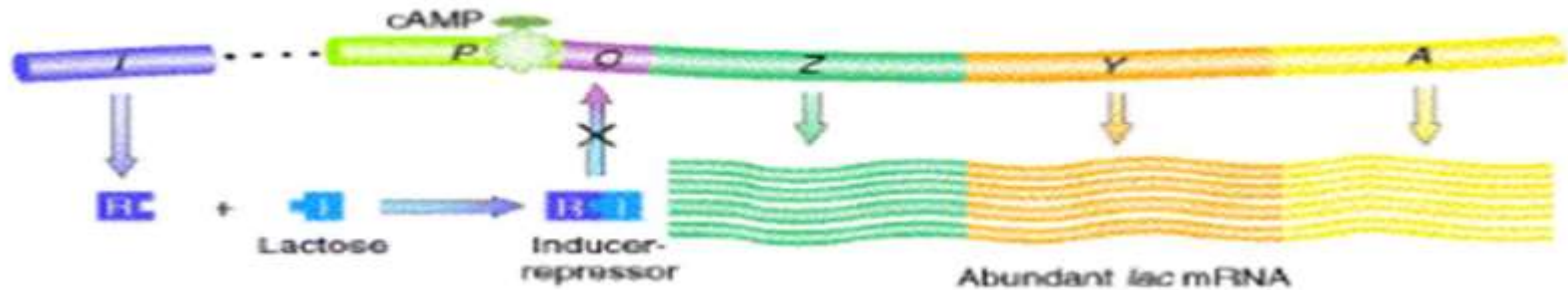
Lorsque l'AMPc est absent, CAP ne lie pas l'ADN et la transcription se produit à bas niveau



La présence de glucose est accompagnée d'une faible concentration en AMPc :
en présence de glucose (AMPc bas) : CAP ne se fixe pas sur le promoteur de l'opéron

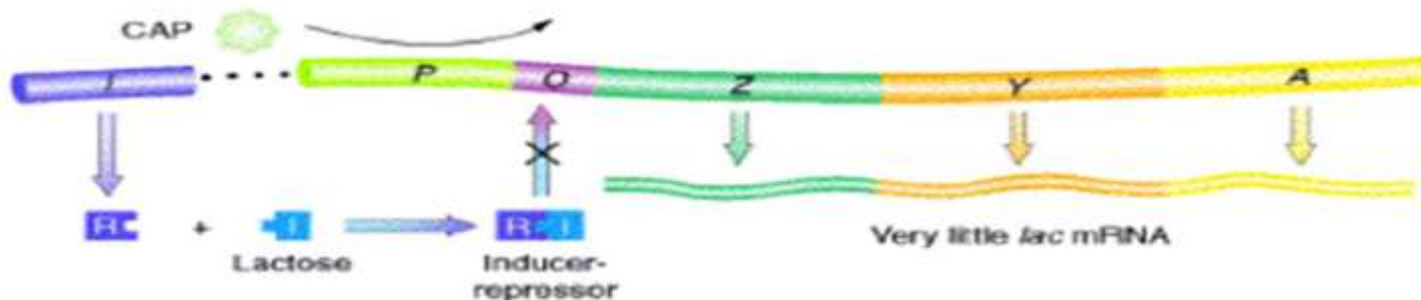
- Absence de glucose (AMPc élevé) : CAP-AMPc se fixe sur le promoteur
- Présence de lactose: le répresseur ne fixe plus sur l'opérateur

transcription optimale de l'opéron
utilisation du lactose



- Présence de glucose (AMPc abaissé) : CAP ne se fixe pas sur le promoteur
- Présence de lactose: le répresseur ne fixe plus sur l'opérateur

transcription modérée de l'opéron
Utilisation préférentielle du glucose



RECAPITULATIF

1- Pas de lactose présent

L'opéron est "éteint" → pas d'ARNm synthétisé

2- Lactose présent; glucose présent également

La présence du lactose inactive le répresseur → il y a
Transcription

(Parce que le Glucose est présent → cAMP est faible → CRP ne peut aider la transcription)

3- Lactose présent; pas de glucose

la présence de lactose inactive le répresseur → il y a
Transcription

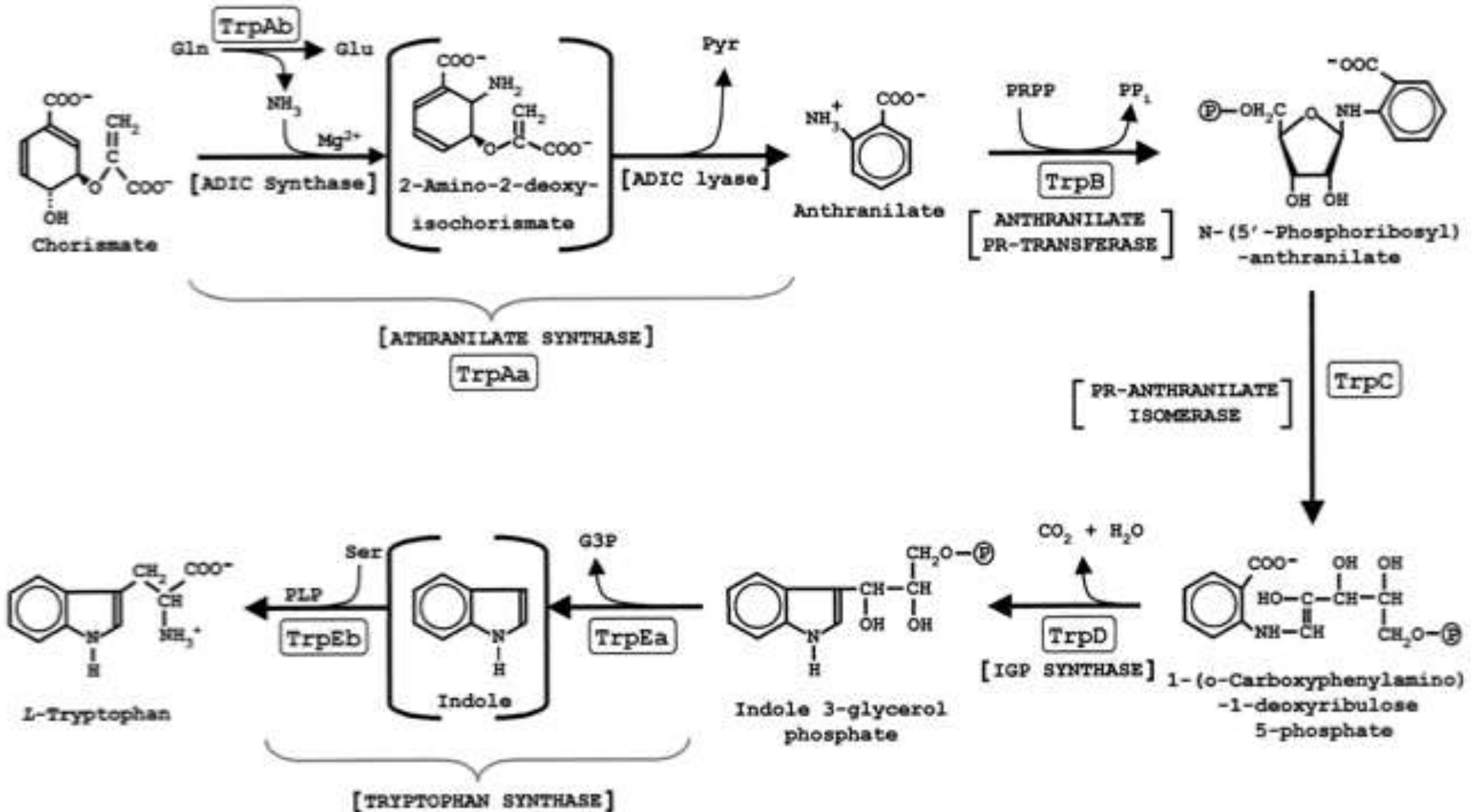
(Il n'y a pas de Glucose → [cAMP] est élevée → cAMP se fixe à la CRP (activation) → CRP se fixe & 'aide' la transcription : **Niveau élevé de transcription**)

4.3. Les opéron répressibles: Opéron tryptophane.

L'opéron Tryptophane* (chez *E. coli*) un exemple d'opéron anabolique répressible

*Tryptophane : acide aminé

Chaîne de biosynthèse du tryptophane chez *E. coli*

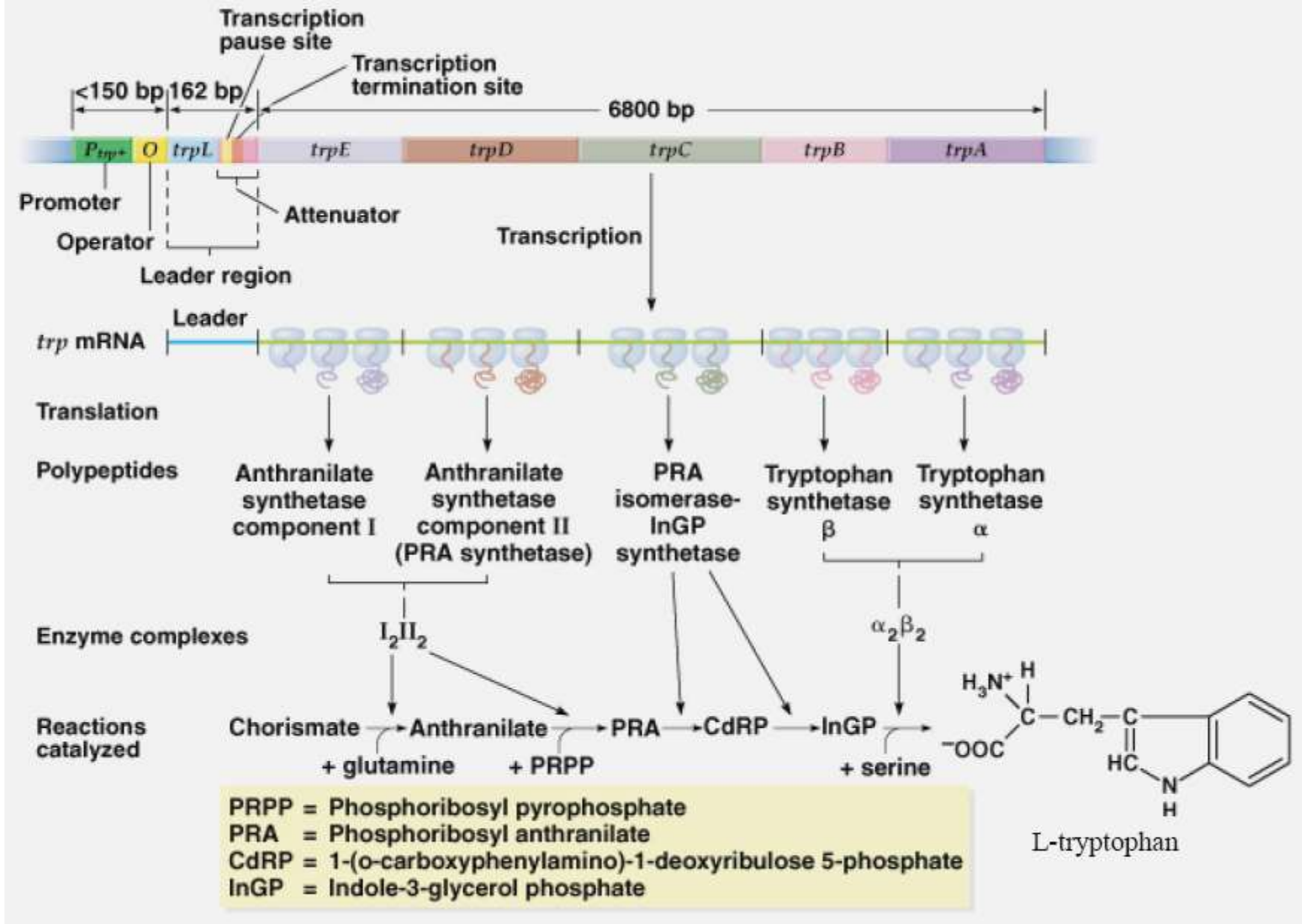


OPERON trp: Définition et structure



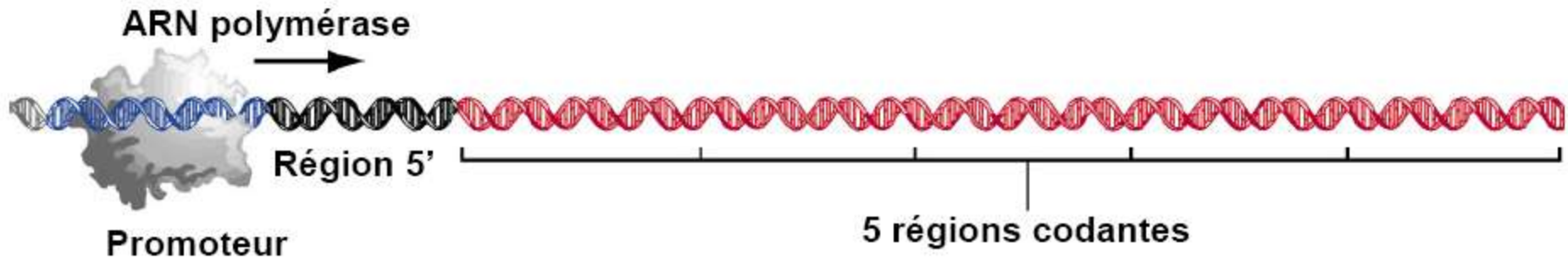
- L'**opéron trp** code pour les enzymes requises pour la synthèse du tryptophane (trpA-E)
- La synthèse de l'ARNm de l'opéron est contrôlée par un **répresseur** qui bloque la transcription lorsqu'il est lié par le tryptophane (**co-répresseur**)

Organisation de l'opéron *Trp* d'*E. coli*

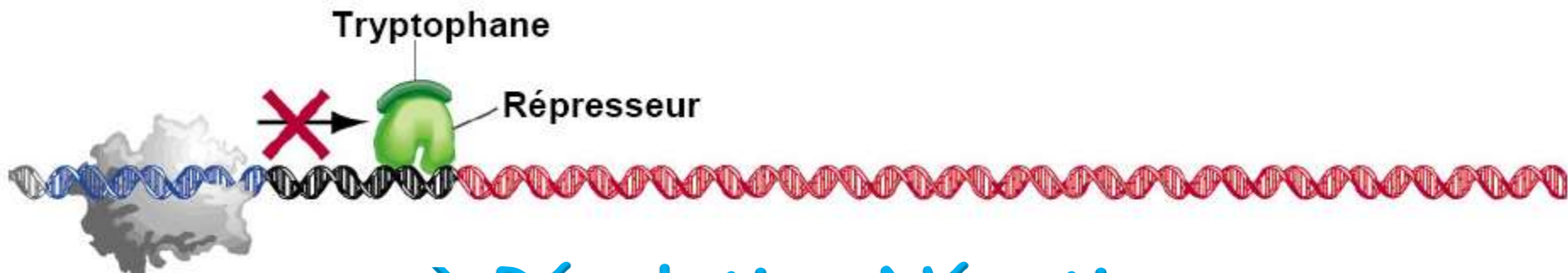


Fonctionnement de l'OPERON trp:

Lorsque le tryptophane est absent, la transcription se produit



Lorsque le tryptophane est présent, la transcription est bloquée.



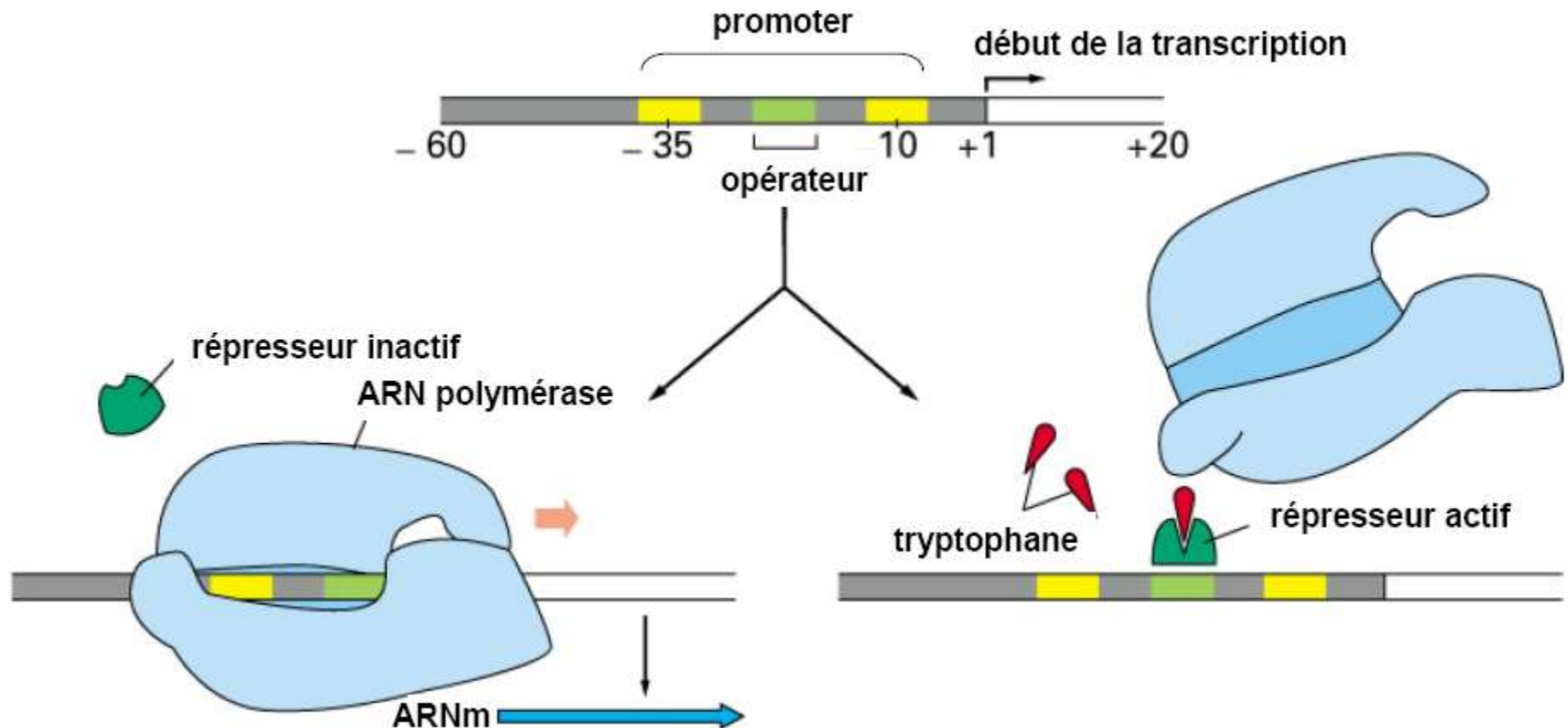
→ Régulation Négative

Régulation de l'opéron tryptophane chez *E. coli*

Mécanisme n°1 Interaction répresseur-opérateur

La fixation du tryptophane au répresseur trp altère sa structure

Un déplacement de 0,8nm des hélices impliquées dans la reconnaissance permet au répresseur d'interagir avec l'ADN.



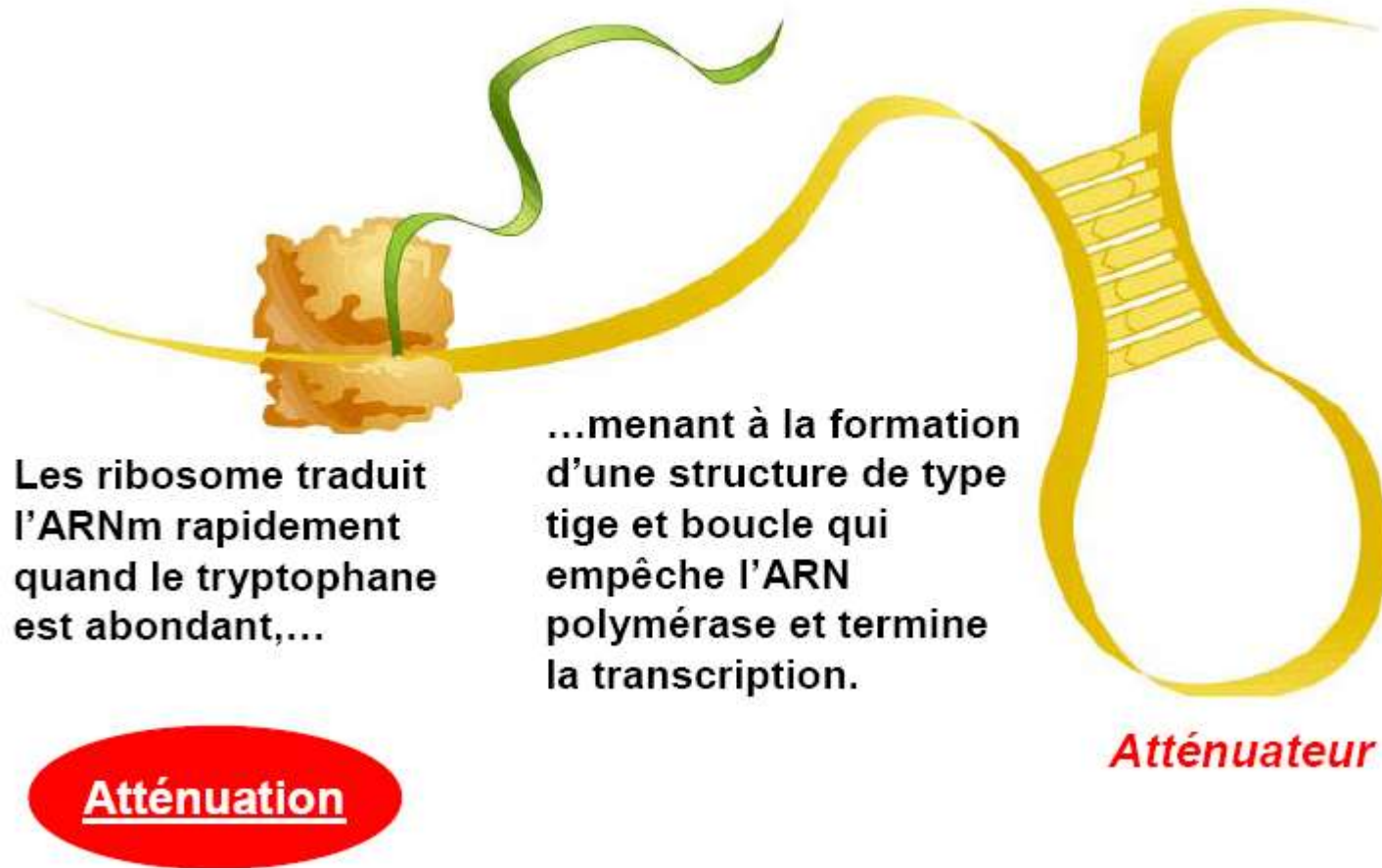
Mécanisme n°2

Terminaison de la transcription

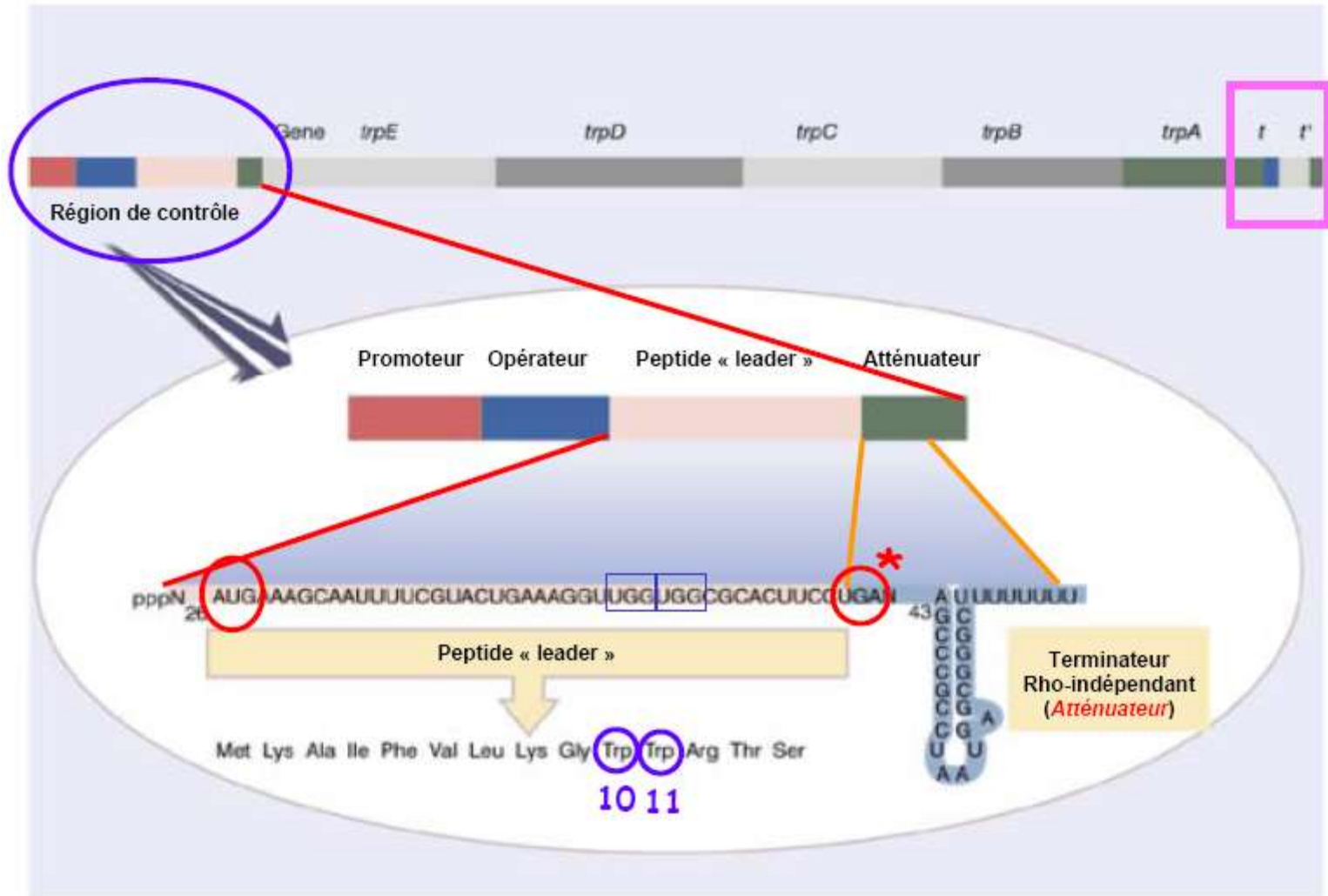
- La transcription est également contrôlée par atténuation, processus qui aboutit à la traduction d'un petit polypeptide.
- Quand les cellules ont besoin de tryptophane, les gènes de l'opéron sont exprimés au taux le plus fort;
- Quand le besoin en tryptophane est moins sévère, les gènes de l'opéron s'expriment à un niveau plus faible que le maximum.
- L'atténuation régule le niveau de transcription par un facteur de 8 à 10 et combiné avec le mécanisme 1 (interaction répresseur-opérateur) il y a diminution de la transcription d'un facteur 560 à 700.

4.4. Système modulateur
d'expression: l'atténuation.

La position du ribosome joue un rôle important dans le phénomène d'atténuation

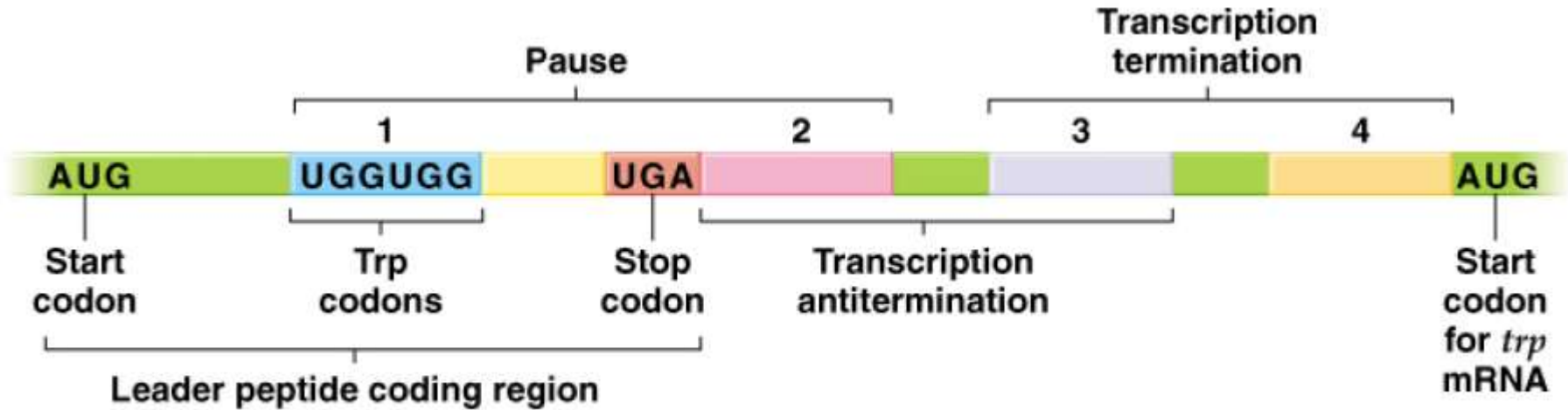


Atténuation: mécanisme qui contrôle la capacité de l'ARN polymérase de lire un **atténuateur**, qui est un **terminateur** placé au début de la transcription

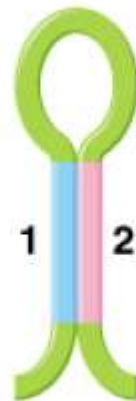


- Une petite séquence codante en avant de l'opéron *trp* contient deux codons pour le tryptophane de suite
- Lorsque la quantité de tryptophane dans la cellule est limitée, le ribosome **arrête** à ces codons *trp*
- La capacité du ribosome de lire ces codons régule un choix de tige et boucle (**terminateur** ou **anti-terminateur**)

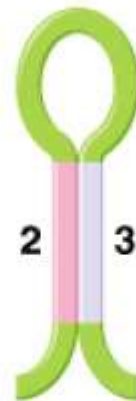
Organisation de la région leader/atténuateur de l'opéron *trp*



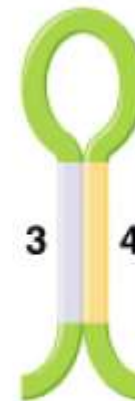
Structures ARN alternatives



Pause

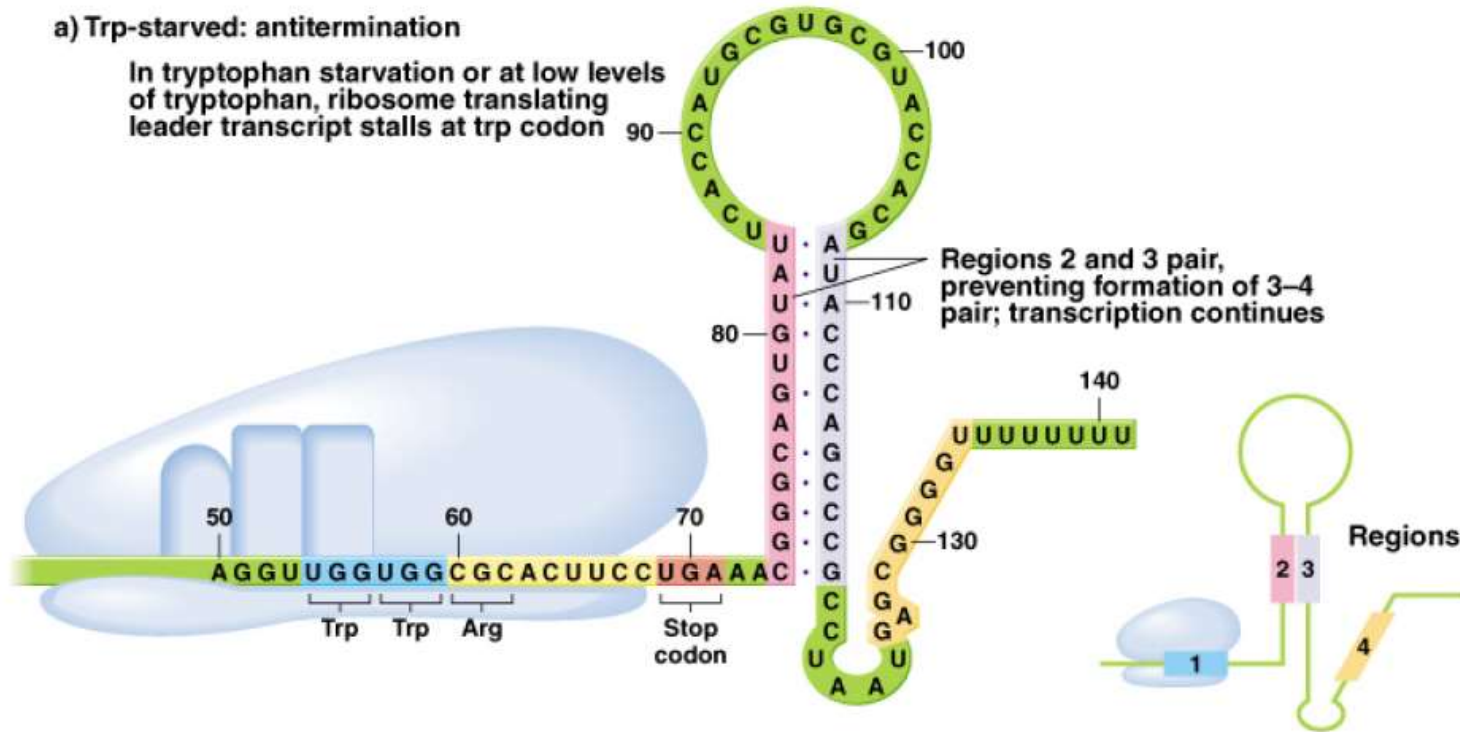


Antitermination



Termination

Situation 1: Phénomène d'atténuation en absence du trp

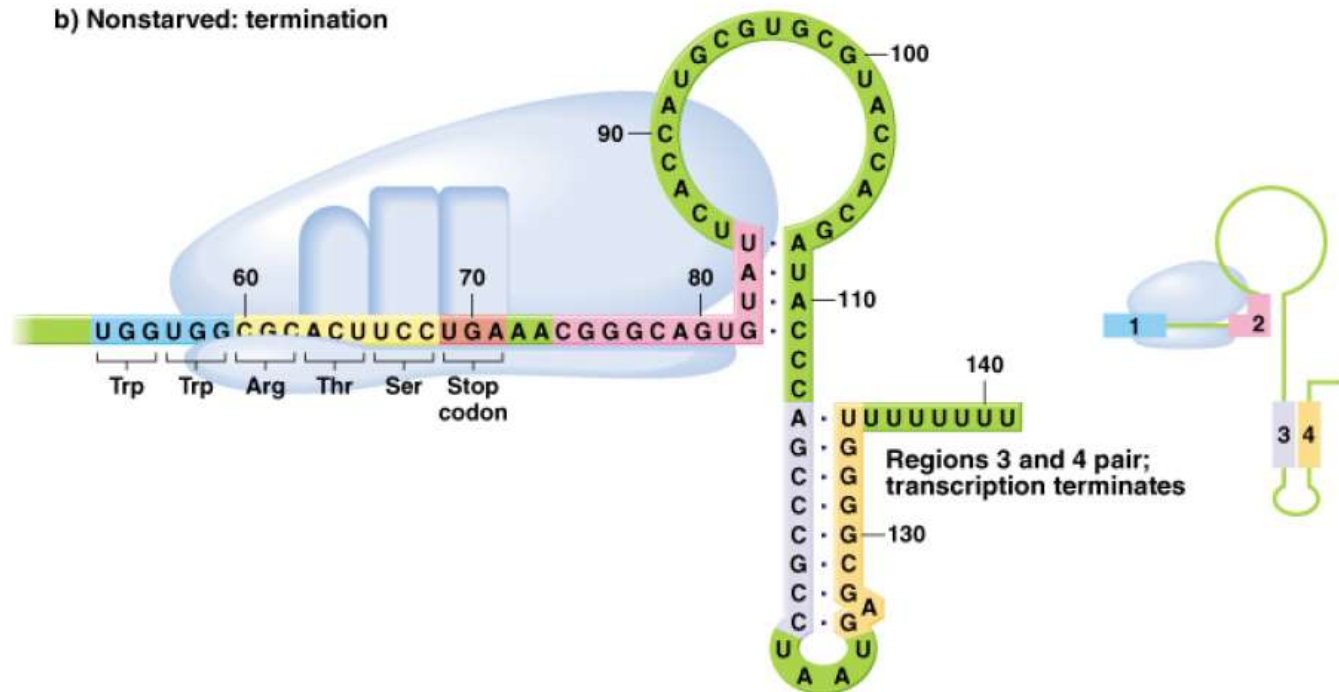


le tryptophane est absent (ou en quantité insuffisante):

- 1- les trp-ARNt sont indisponibles, le ribosome s'arrête aux codons trp ce qui couvre la région 1.
- 2- la région 1 ne peut s'apparier avec la région 2, à la place la région 2 s'apparie à la région 3.
- 3- la région 3 ne peut donc s'apparier à la région 4.
- 4- l'ARN polymérase continue à transcrire l'ensemble de la séquence codante ce qui permet la synthèse complète de l'ARNm.

Situation 2:

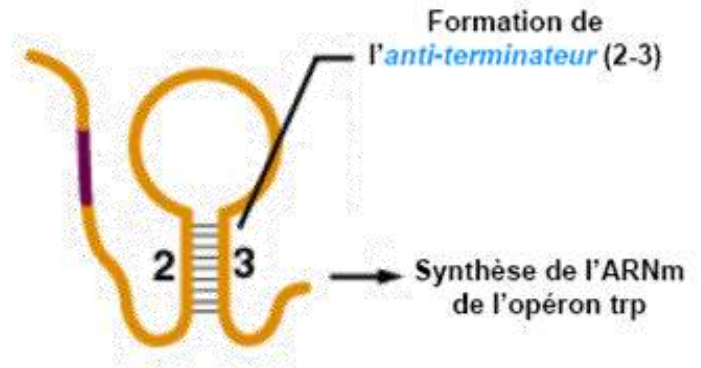
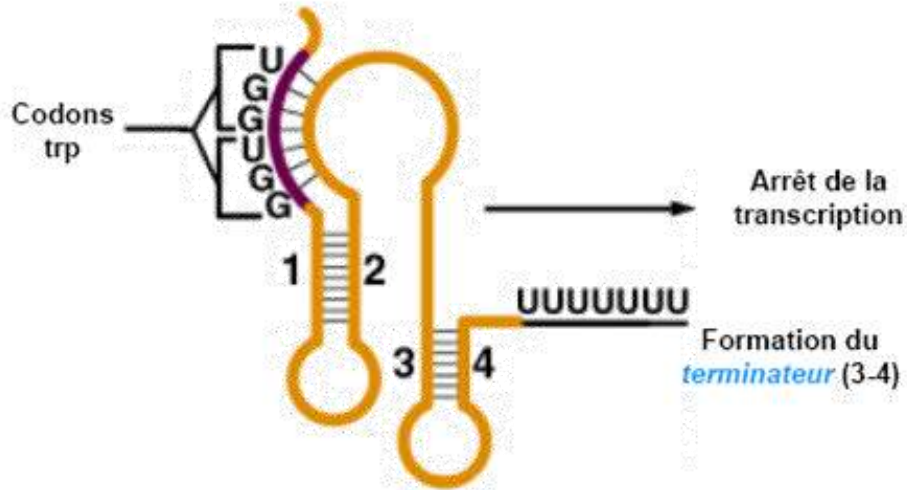
Phénomène d'atténuation en présence du trp



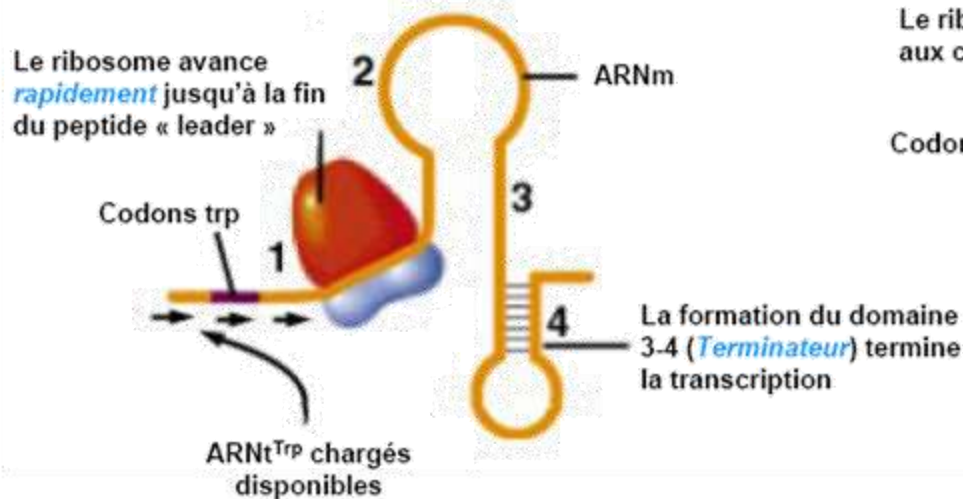
le tryptophane est abondant:

- 1- le ribosome ne s'arrête pas au niveau des codons trp; il continue à traduire la séquence leader, s'arrêtant au niveau de la région 2
- 2- la région 2 ne peut s'apparier avec la région 3; cette dernière s'apparie alors avec la région 4.
- 3- cet appariement 3-4 constitue la séquence « atténuateur » et fonctionne comme signal de terminaison
- 4- la transcription s'achève avant que l'ARN polymérase atteigne les gènes permettant la synthèse du tryptophane

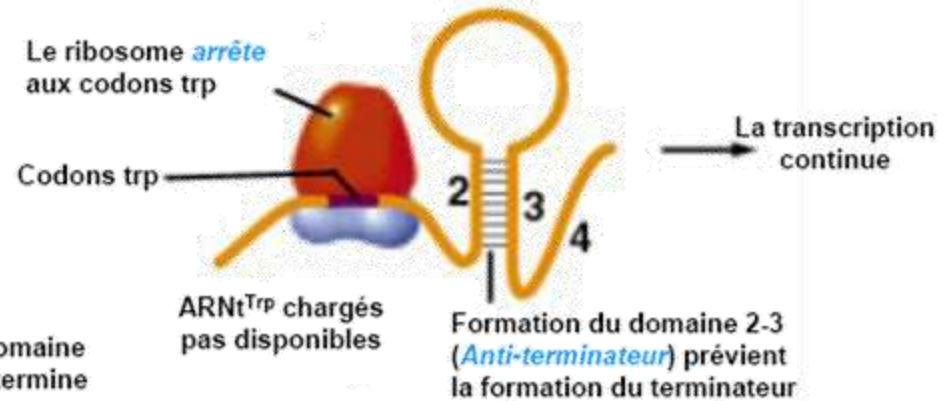
RECAPITULATIF



En présence de Tryptophane



En absence de Tryptophane



4.5. Régulation par inversion de séquences d'ADN

Certains gènes peuvent être régulés par modification de la structure primaire d'ADN. Chez les bactéries et chez certains phages cette modification consiste en une inversion de séquences. La variation de l'antigène flagellaire de *Salmonella typhirium* est un beau exemple. Dans tous les cas d'inversions possibles concernées à une structure de transposon.

Ces séquences sont limitées à leurs deux extrémités par deux séquences répétées inversées d'environ 26pb et possèdent en leur sein le gène codant la protéine assurant la transposition (transposase). Le mécanisme d'activation du gène par inversion est très simple ; la séquence qui peut être inversée contient le promoteur du gène à réguler, elle est située en amont du gène de structure. Quand le promoteur est dans le bon sens par rapport au gène de structure il y'a transcription : c'est la position ouvert du gène. Quant le promoteur est dans l'autre sens, du fait de l'inversion, le gène ne peut être transcrit, c'est la position fermée du gène.