

## VII. Régulation de l'expression des gènes

### VII.1. Opéron lactose

L'opéron lactose est constitué de trois gènes de structures *lacZ*, *lacY* et *lacA* transcrit ensemble à partir d'un seul promoteur,  $P_{lac}$ . Les gènes codent pour la  **$\beta$ -galactosidase**, enzyme transformant le lactose en glucose et galactose, l'enzyme **lactose perméase** qui transporte le lactose et l'enzyme **lactose transacétylase** dont le rôle est inconnu. Ces enzymes ne sont requises que lorsque le lactose est présent dans le milieu et que le glucose est absent. Par conséquent l'opéron lactose est contrôlé par deux niveaux différents, un système de **contrôle négatif** nécessitant un repreneur (*lacI*) inhibe les gènes en absence du lactose, un système de contrôle positif et globalement appelé répression catabolique et requise pour permettre l'expression des gènes mais seulement quand le taux de glucose chute en dessous de certaines concentrations.

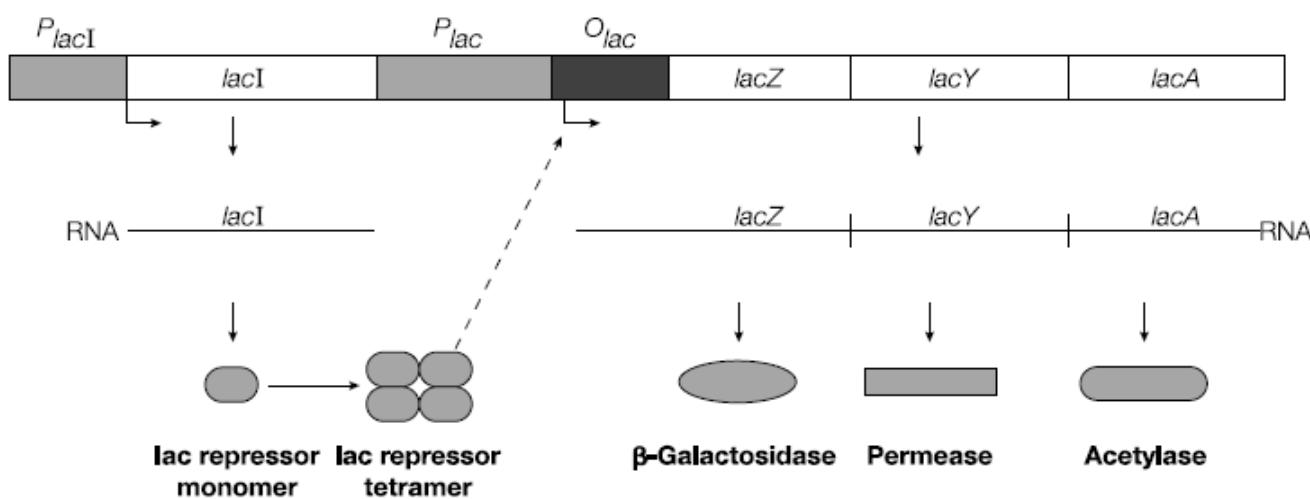


Fig. 1. Structure of the lactose operon.

#### VII.1.1. contrôle négatif

La séquence en face de l'opéron lactose contient deux régions régulatrices : le promoteur  $P_{lac}$  où se lie l'ARN polymérase et un site opérateur  $O_{lac}$ , site où se fait la régulation, il existe aussi un gène *lacI* qui code pour une protéine régulatrice le répresseur *lac*. **En absence** du lactose le répresseur se lie au site opérateur empêchant la transcription mais pas totalement, un niveau très bas de produits de gènes de l'opéron est généré. En présence du lactose la faible quantité de perméase permet une absorption et la  $\beta$ -galactosidase catalyse la conversion de cératines molécules de lactose en **allolactose**. L'allolactose agit comme inducteur et se fixe au répresseur *lac* induisant un changement de conformation du tétramère dont l'affinité pour l'opérateur *lac* décroît. L'élimination du répresseur *lac* du site opérateur permet à la polymérase de commencer rapidement la transcription des gènes *lacZ*, *lacY* et *lacA*.

#### VII.1.2. contrôle positif

Pour une transcription à haut niveau ils doivent être stimulés par une protéine appelée **protéine réceptrice AMPc (CRP)** (en anglais: **cAMP receptor protein**) ou **protéine activatrice du catabolisme (CAP)** (en anglais: **catabolite activator protein**), en présence du glucose les bactéries dont *E. coli* n'a pas besoin de sources de carbone alternatives comme le lactose. Les opérons cataboliques, tels que l'opéron lactose ne sont

donc pas activés. La CRP au rôle de médiateur dans cette régulation existe sous forme de dimère et ne peut se fixer à l'ADN lorsqu'il est seul, ni réguler la transcription. Le glucose réduit le niveau d'AMPc dans la cellule. En absence du glucose les niveaux d'AMPc augmentent chez *E. coli*, aboutissant à la fixation de la CRP à l'AMPc. Le complexe CRP-AMPc se lie au promoteur de l'opéron lactose  $P_{lac}$  juste en amont du site de fixation de l'ARN polymérase, qui stimule la fixation de l'ARN polymérase au promoteur pour éléver le taux de transcription de 50 fois.

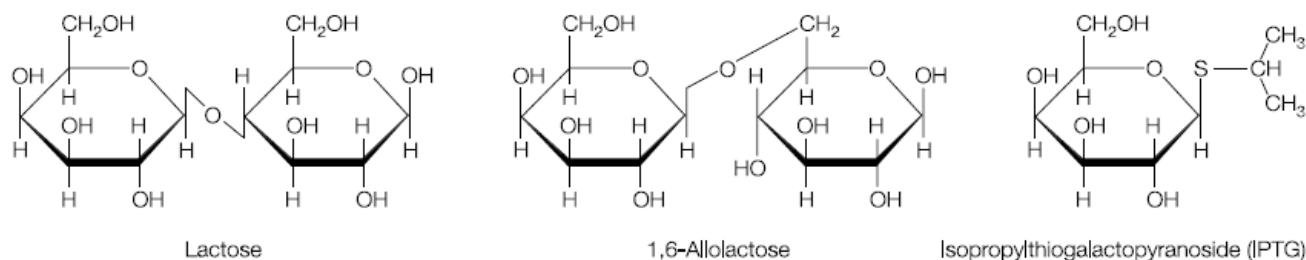


Fig. 2. Structures of lactose, allolactose and IPTG.

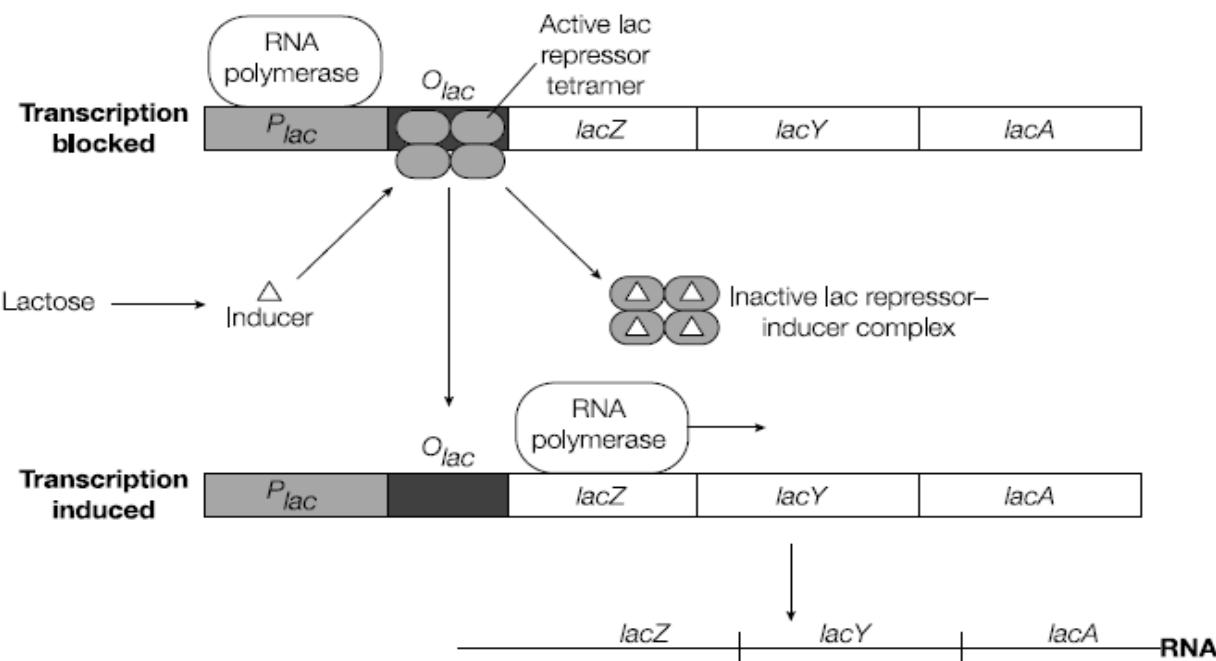
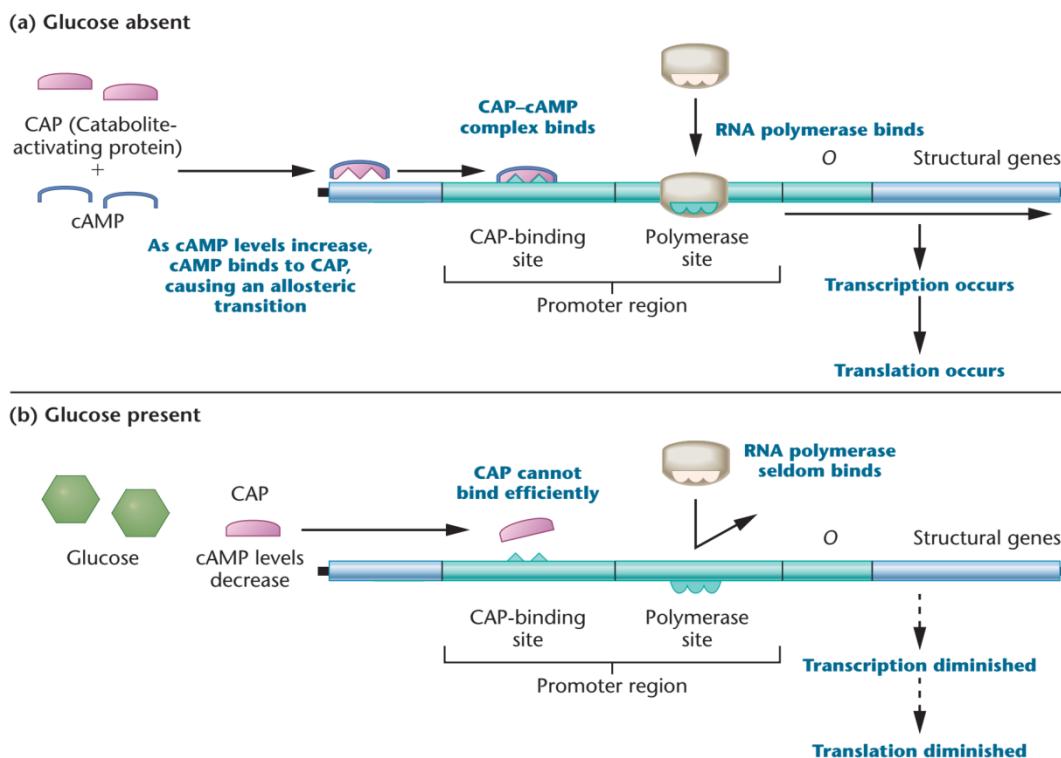


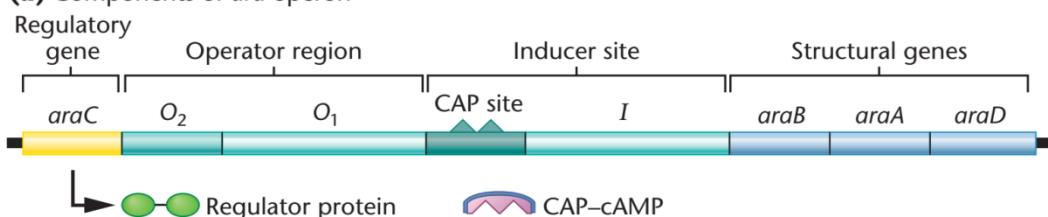
Fig. 3. Binding of inducer inactivates the lac repressor.



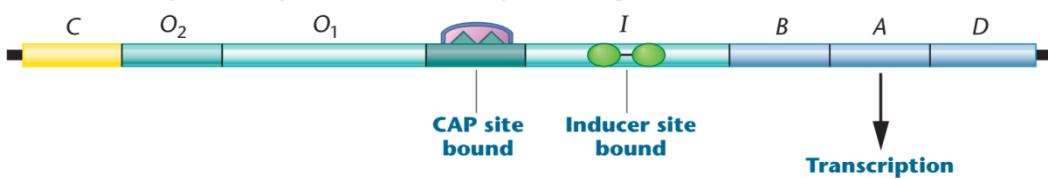
**FIGURE 16–8** Catabolite repression. (a) In the absence of glucose, cAMP levels increase, resulting in the formation of a cAMP–CAP complex, which binds to the CAP site of the promoter, stimulating transcription. (b) In the presence of glucose, cAMP levels decrease, cAMP–CAP complexes are not formed, and transcription is not stimulated.

## VII.2. Opéron arabinose (ara)

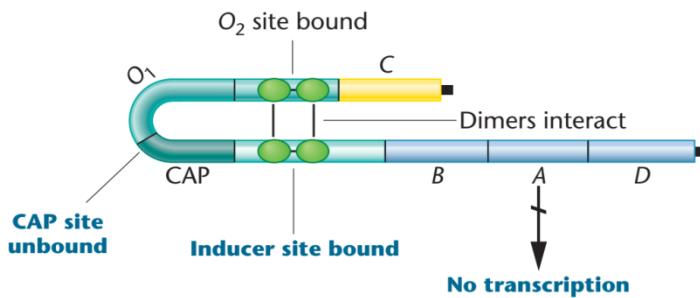
- Le métabolisme d’arabinose dépend des produits enzymatiques de trios gènes de structures **ara B**, **A** et **D**. La transcription est contrôlée par la protéine régulatrice **Ara C** codée par *ara C*, qui interagisse avec deux régions régulatrices *araI* et *araO<sub>2</sub>*. Ces sites peuvent être liés à la protéine **Ara C**, individuellement ou de manière coordonnée.
- La région **I** porte ce nom car, lorsqu’elle est seule liée à **Ara C**, le système est induit. Pour que ce phénomène ait lieu, il est nécessaire que l’arabinose et l’AMPc soient tous les deux présents. Ainsi comme pour l’induction de l’opéron lac, un site de liaison à la CAP est présent dans la région promotrice et module la répression catabolique en présence de glucose.
- En absence d’arabinose et d’AMPc, la protéine **AraC** se lie de façon coordonnée à la fois aux sites **I** et **O<sub>2</sub>**. Lorsque les sites **I** et **O<sub>2</sub>** sont tous deux liés à Ara C, un changement conformationnel de l’ADN a lieu, une boucle étroite est formée et les gènes de structure sont réprimés.

(a) Components of *ara* operon

## (b) Arabinose present; operon is induced — positive regulation

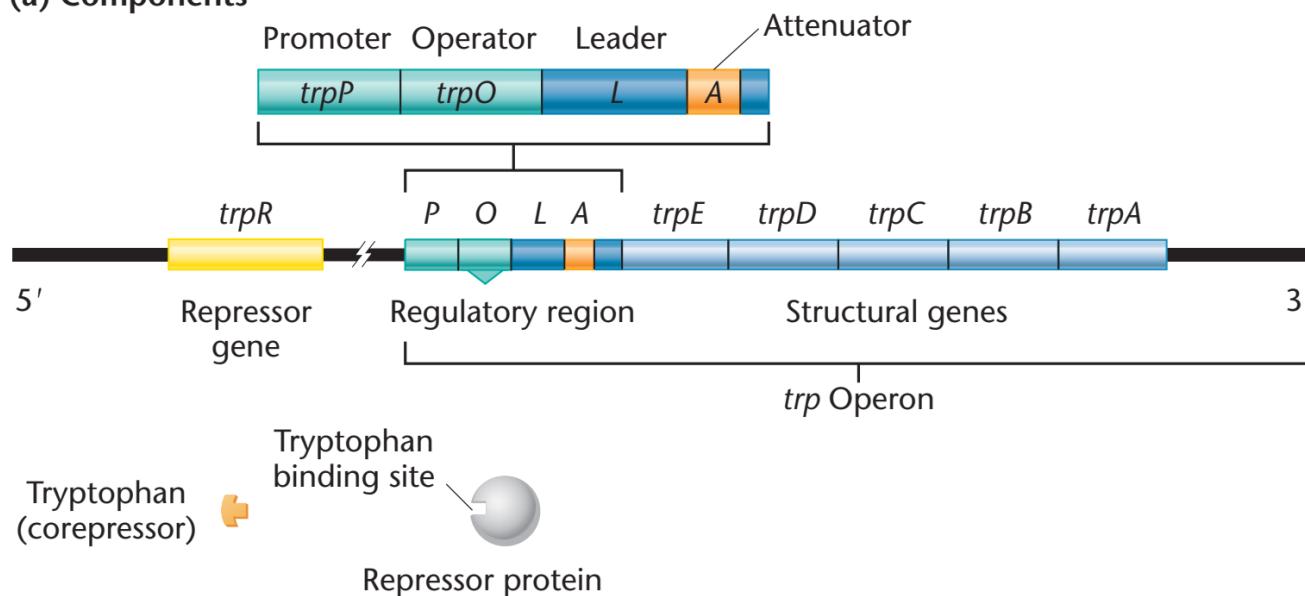


## (c) Arabinose absent; operon is repressed — negative regulation

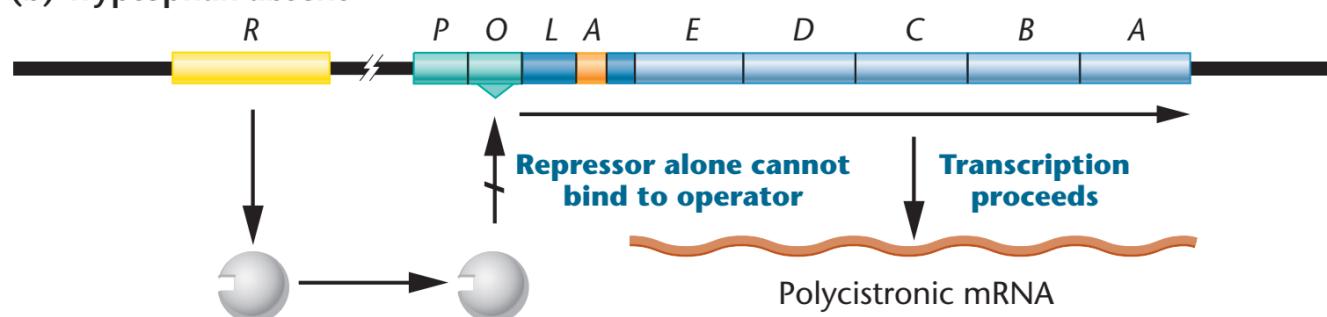
**VII.2. Opéron tryptophane**

L'atténuation dépend du fait que la transcription et la traduction sont étroitement couplées chez *E. coli* ; la traduction peut survenir lorsqu'une molécule d'ARNm est en cours de transcription. L'extrémité 3' de la séquence codante du peptide leader *trp* chevauche la séquence 1 complémentaire, les deux codants *trp* se trouve à l'intérieur de la séquence 1 et le codant d'arrêt se trouve entre les séquences 1 et 2. La disponibilité du tryptophane détermine si la traduction doit voir lieu et donc si le terminateur (3:4) doit former un structure à épingle cheveux ou non.

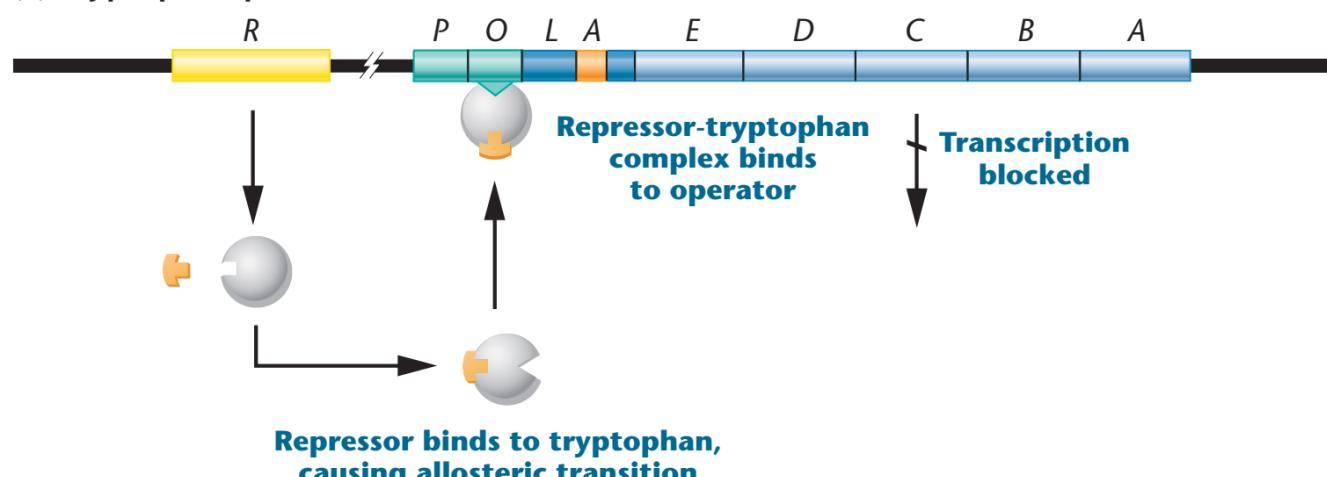
## (a) Components

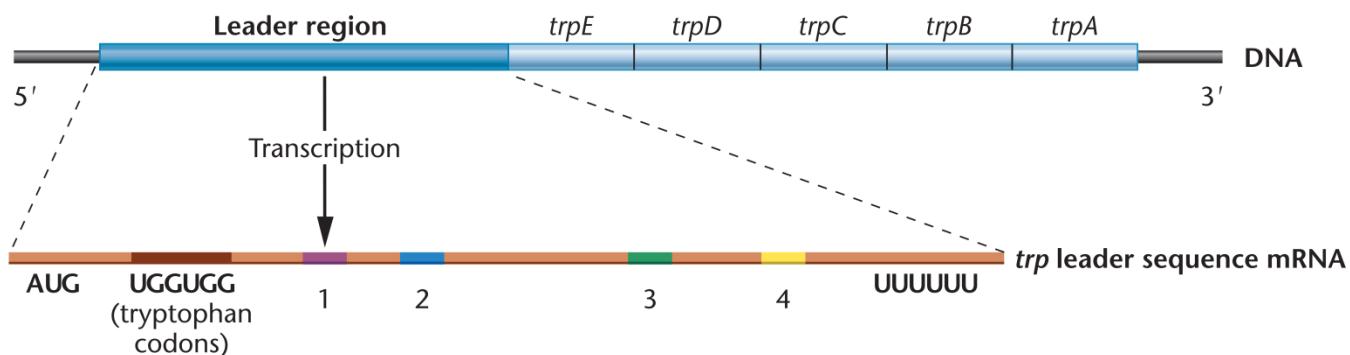


## (b) Tryptophan absent



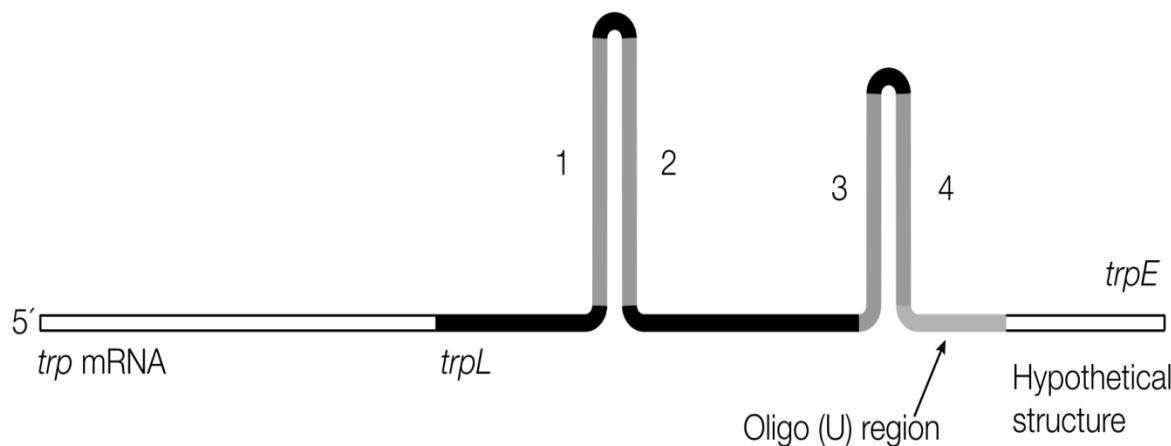
## (c) Tryptophan present



(a) Transcription of *trp* Operon (DNA)

Lors de la transcription de l'opéron *trp*, l'ARN polymérase marque une pause à l'extrémité de la séquence 2 jusqu'à ce qu'un ribosome commence à traduire le peptide leader. Si la concentration en tryptophane est trop élevée, le ribosome l'incorpore rapidement au niveau des deux codons tryp, et effectue la traduction jusqu'à extrémité du messager leader, le ribosome reste ensuite bloqué au niveau de la séquence 2, lorsque l'ARN polymérase atteint la séquence du terminateur la structure en épingle à cheveux 3:4 se forme et la transcription prend fin. Ce phénomène est appelé **atténuation**.

Si la cellule manque de tryptophane, il ne pourra être disponible sous forme d'aminoacyle ARNt pour la traduction, le ribosome marquera donc une pause sur les deux codons tryptophane, bloquant la séquence 1. La séquence 2 peut alors former une structure à épingle à cheveux avec la séquence 3 appelée **anti-terminateur**. Le terminateur 3:4 en épingle à cheveux ne peut se former, et la transcription continue au-delà et atteint le *trpE*. Ainsi le niveau du produit final, le tryptophane, détermine si la transcription doit être arrêtée précocement (atténuation), plutôt que ce processus soit conditionné au niveau de l'opéron complet.



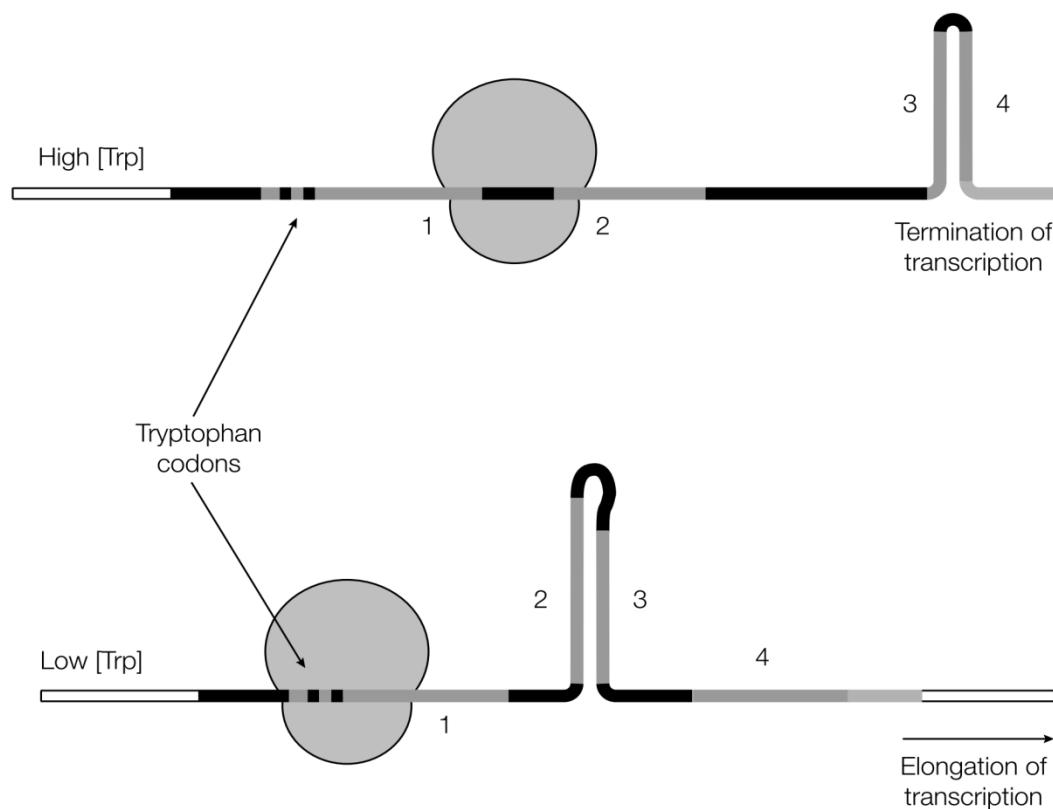


Fig. 2. Transcriptional attenuation in the trp operon.

### VII.3. Les facteurs sigma ( $\sigma$ ) alternatifs

Le facteur  $\sigma$  est responsable de la reconnaissance des séquences consensus des promoteurs, il est uniquement requis pour l'initiation de la transcription. Plusieurs bactéries produisent des facteurs sigma alternatifs. L'enzyme cœur  $\alpha\beta\beta'\omega$  de l'ARN polymérase est incapable de démarrer la transcription au niveau des promoteurs. Afin qu'elle reconnaisse spécifiquement les éléments consensus **-35** et **-10** des promoteurs généraux, elle requiert une sous-unité supplémentaire, le facteur sigma (facteur  $\sigma$ ). Il est uniquement nécessaire pour l'initiation de la transcription puis libéré de l'enzyme cœur ensuite avant l'elongation de l'ARN. Les facteurs  $\sigma$  sont ainsi des protéines à double fonctionnalité, qui se fixe simultanément au cœur de l'ARN polymérase et reconnaît les séquences spécifiques des promoteurs d'ADN. Plusieurs bactéries y compris *E. coli* produisent un ensemble de facteurs  $\sigma$  qui reconnaissent les différents types de promoteurs.

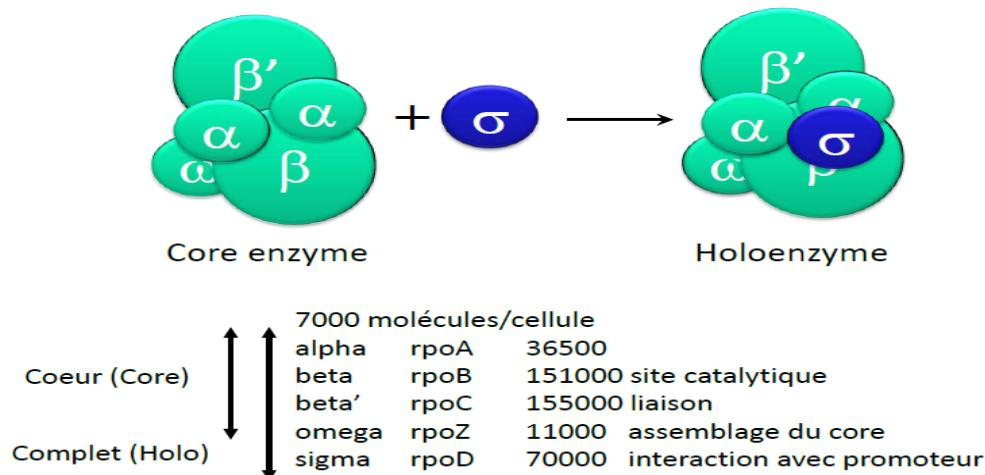


Fig. 1. Consensus sequences of *E. coli* promoters (the most conserved sequences are shown in bold).

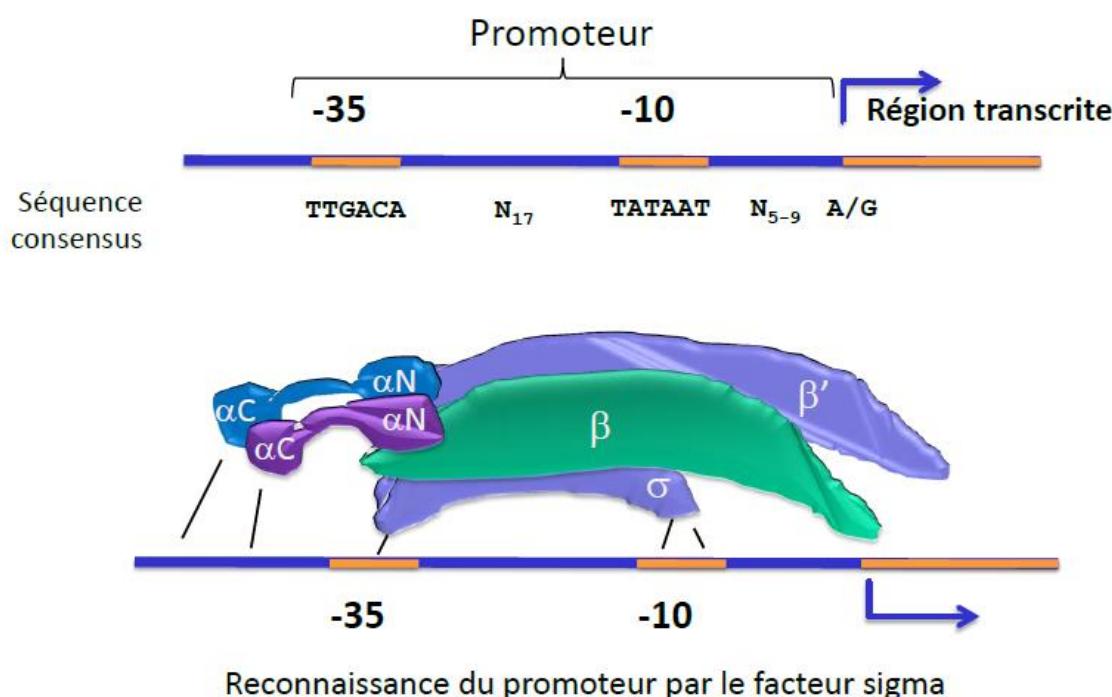
La séquence **-10** est une région de 6 pb présente dans presque tous les promoteurs. Cet hexamère est généralement situé 10 pb en amont du site d'initiation de la transcription la séquence consensus -10

TATAAT. La séquence **-35** est une région de 6 pb présente dans la majorité des promoteurs. Cet hexamère est situé 35 pb en amont du site de départ. La séquence **-35** est TTGAGA.

### Structure de l'ARN polymérase d'*E. coli*



### Structure d'un promoteur bactérien



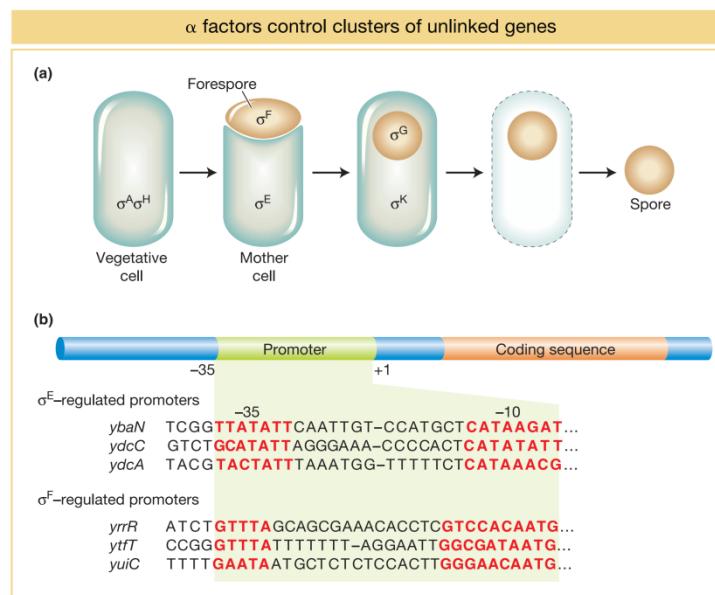
Consensus promoter	-35 sequence	-10 sequence
Standard ( $\sigma^{70}$ )	- - - - - T T G A C A	16-18 bp
Heat shock ( $\sigma^{32}$ )	T - - C - C - C T T G A A	13-15 bp C C C C A T - T

Fig. 1. Comparison of the heat-shock ( $\sigma^{32}$ ) and general ( $\sigma^{70}$ ) responsive promoters.

Chez *E. coli* le facteur  $\sigma^{70}$  est responsable de la reconnaissance des séquences consensus -10 et -35. D'autres types de séquences sont trouvés dans des gènes régulés par l'intermédiaire des facteurs  $\sigma$  alternatifs.

**Choc thermique** : 17 protéines environ sont spécifiquement exprimées chez *E. coli* lorsque la température s'élève à plus de 37°C. La transcription de ses gènes mise en jeu une ARN polymérase utilisant un facteur alternatif  $\sigma^{32}$  qui possède des séquences spécifiques sur le promoteur.

**Sporulation chez *Bacillus subtilis*** : le phénomène de sporulation est étroitement régulé à chaque étape par un ensemble de facteurs  $\sigma$ .



**Facteurs  $\sigma$  des bactériophages** : plusieurs phages synthétisent leurs propres facteurs  $\sigma$  afin de s'emparer de la machinerie de transcription de la cellule hôte, en substituant le facteur cellulaire  $\sigma$  normal et altérant la spécificité de l'ARN polymérase pour le promoteur.

Le phage SPO1 de *Bacillus subtilis* exprime une cascade de facteur  $\sigma$  qui assure l'expression précoce, intermédiaire ou tardive des gènes de phage.