

II- Transcription des gènes et synthèse protéique (procaryotes et eucaryotes)

Introduction

La transcription est le transfert d'informations d'une matrice double-brin à une molécule d'ARN simple-brin. La traduction est la conversion dans la cellule d'une séquence de bases d'un ARN (ARNm) en une séquence d'acides aminés d'un polypeptide. A l'inverse de la réPLICATION de l'ADN qui se produit seulement pendant une période du cycle cellulaire (surtout chez les eucaryotes), la transcription et la traduction sont généralement faits à travers tout le cycle cellulaire (même s'ils sont réduits pendant la phase M du cycle cellulaire).

1- La transcription

• Éléments de la transcription

- La matrice de transcription (le brin transcrit)

Le brin d'ADN utilisé pour la transcription est appelé **brin matrice**. La transcription produit une molécule d'ARN qui a la même séquence de bases que le brin qui n'a pas servi de matrice. Pour cette raison, le **brin non transcrit** est appelé « **brin sens** »

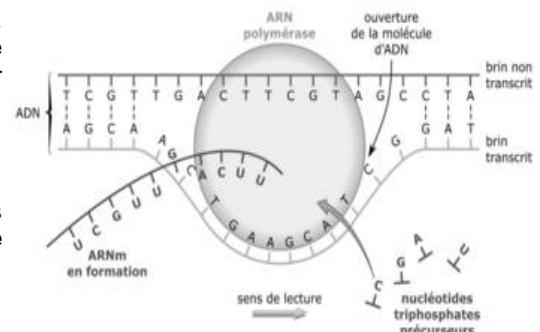
- Les substrats de la transcription

Les **ribonucléotides triphosphates** (rNTP)

un à l'extrémité 3'-OH de la chaîne en formation. Les nucléotides sont toujours ajoutés à l'extrémité 3' de la molécule (le **sens de transcription est de 5' vers 3'**)

- Le système de transcription

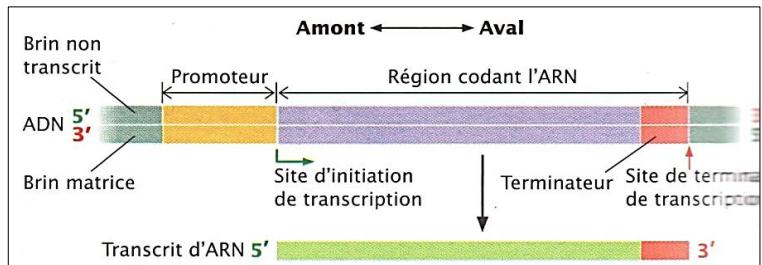
L'**ARN polymérase** dont l'action est **assistée par plusieurs protéines auxiliaires** (facteurs de transcription)



1- La transcription

- L'unité de transcription (gène)

Comprend 3 composantes essentielles:

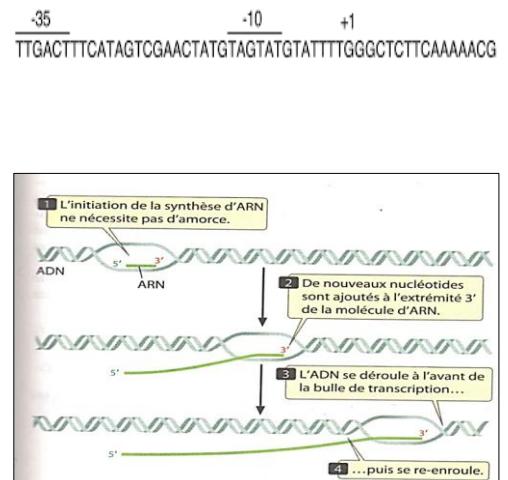


- Le **promoteur** : une séquence d'ADN que le système de transcription reconnaît et à laquelle il se lie pour initier la transcription. Dans la plupart des unités de transcription, le promoteur est localisé à côté du site d'initiation de transcription, mais n'est pas, lui-même, transcrit
 - La **séquence codante** : la séquence d'ADN qui est effectivement transcrive en molécule d'ARN.
 - Le **terminateur** : une séquence nucléotidique qui signale l'endroit où doit s'arrêter la transcription. Les terminateurs font généralement partie de la séquence codante

1- La transcription

- **Remarques**

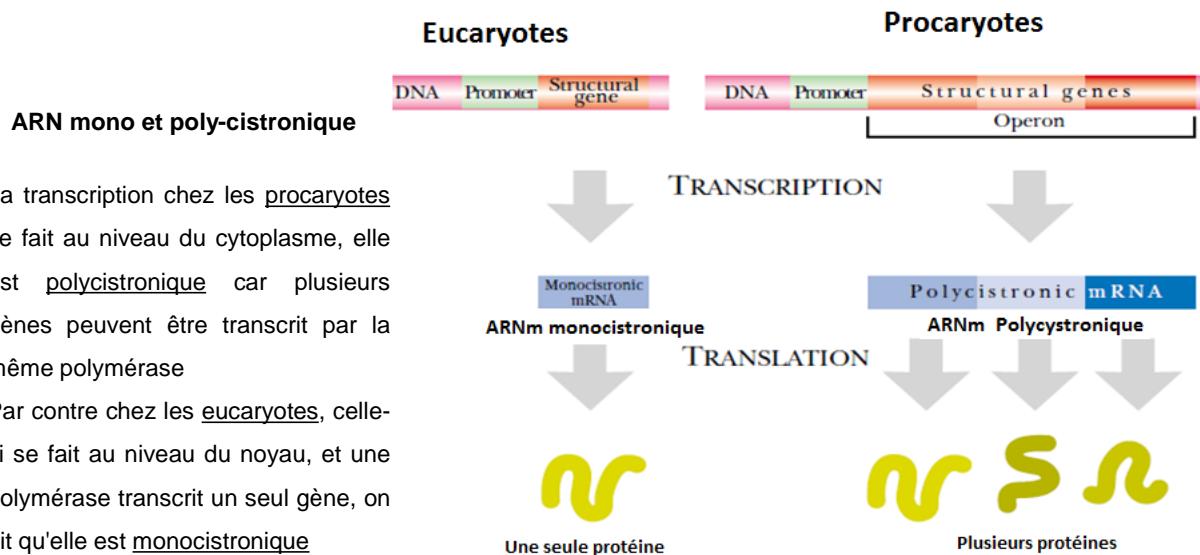
- Conventionnellement, la séquence est écrite de la gauche vers la droite, en commençant par l'extrême 5'
 - Le premier nucléotide transcrit (le site d'initiation) est indiqué par **+1**, les nucléotides en **aval** du site d'initiation sont numérotés **positivement**, et les nucléotides en **amont** du site d'initiation reçoivent des numéros **négatifs**.
 - Par exemple, le nucléotide +34 serait 34 nucléotides en aval du point de départ, tandis que le nucléotide -75 se trouverait 75 nucléotides en amont. Il n'y a pas de nucléotide 0.
 - Contrairement à la réPLICATION de l'ADN, l'initiation de la synthèse de l'ARN **n'a pas besoin d'une amorce**



1- La transcription

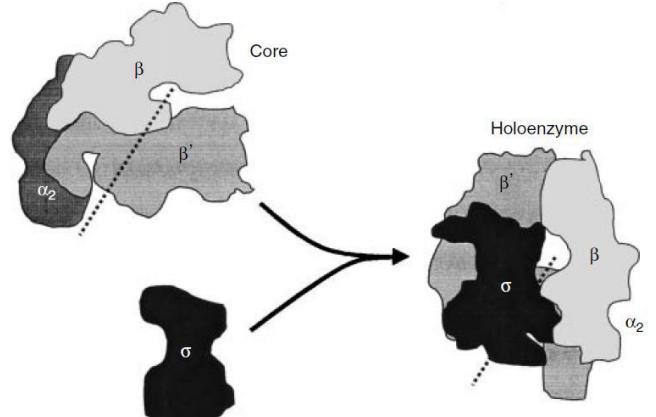
- Chez les procaryotes les ARN sont synthétisés par une seule ARN polymérase
- Chez les eucaryotes ils sont synthétisés par trois types de polymérases, ARN pol I, ARN pol II, et ARN pol III
- En plus du brin matrice, les **nucléotides triphosphate** (ATP, GTP, CTP, UTP), la réaction nécessite du **Mg++**

Enzyme	Location	Produit
ARN polymérase I	Nucléole	rRNA (5.8S, 18S, 28S)
ARN polymérase II	Chromatine, matrice nucléaire	ARNm
ARN polymérase III	Chromatine, matrice nucléaire	ARNt, 5S, ARNr



L'ARN polymérase (procaryotes) assume de multiples fonctions dans le processus de la transcription:

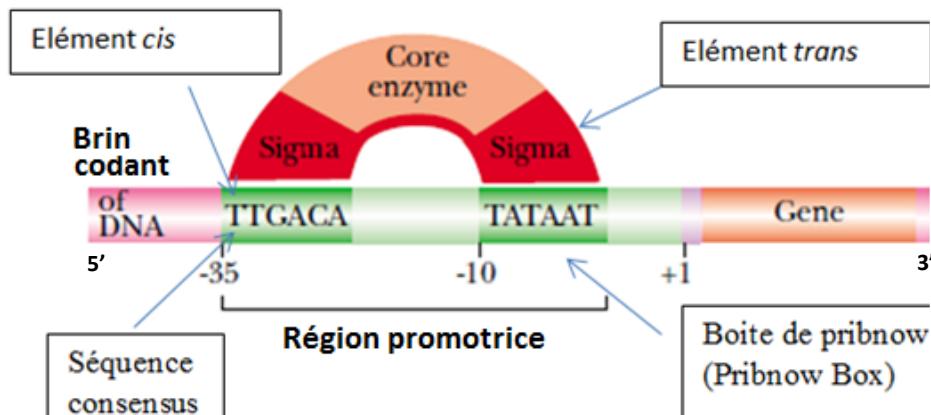
- Elle cherche les promoteurs
- Elle déroule le fragment à transcrire pour produire une matrice simple brin
- Elle sélectionne les NTPs corrects et catalyse la formation des liaisons phosphodiester
- Elle détecte les signaux de terminaison
- Elle interagit avec les protéines de régulation de la transcription



Étapes de la transcription chez les procaryotes

Initiation

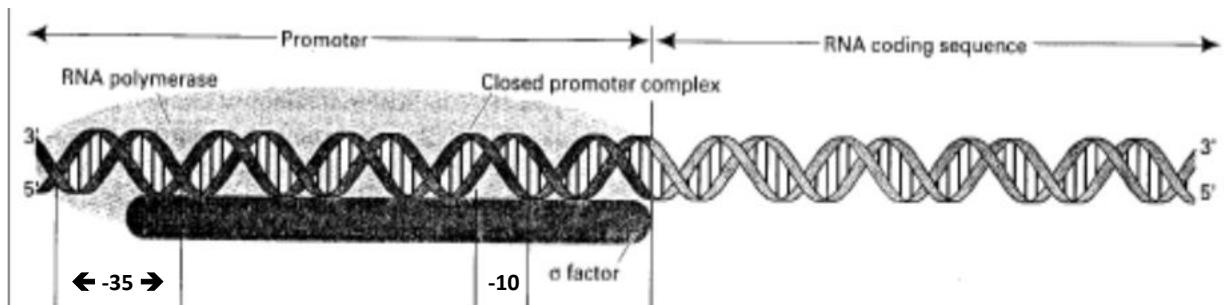
Cette étape initiale est appelée "fixation sur le brin matrice". Cette fixation est établie quand la sous unité σ (élément trans) de l'ARN polymérase reconnaît le promoteur (éléments cis) localisé dans la région 5' (en amont) du point de transcription initiale d'un gène. L'ARN polymérase commence à dérouler l'hélice d'ADN.



Interaction entre l'ARN polymérase et le promoteur bactérien

Initiation

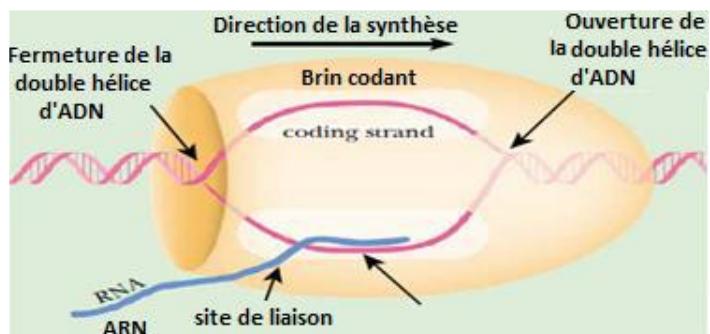
- Les éléments *trans* (sous unités sigma) reconnaissent les séquences **consensus** (élément cis) du promoteur et permettent une spécificité de l'initiation de la transcription.
- Une fois qu'elle a reconnu le promoteur, et qu'elle s'y fixée, l'ARN polymérase catalyse **l'initiation**, c'est-à-dire l'insertion du premier NTP du site d'initiation du brin d'ADN matrice (initiation de la synthèse *de novo*). Ce processus se poursuit dans la direction 5'-3', créant un duplexe ADN-ARN temporaire de 8 pb.



Elongation

Une fois le duplex temporaire est formé, la sous-unité σ se dissocie de l'holoenzyme et l'elongation de la chaîne se poursuit sous la direction de la partie centrale de l'enzyme (core enzyme). Chez E. coli ce processus progresse à la **vitesse** d'environ **50 nucléotides/seconde** à 37°C. Par la suite la polymérase parcourt le gène entier jusqu'à rencontrer une séquence dite de terminaison.

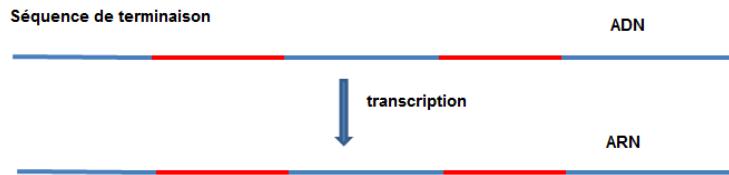
La région contenant l'ARN polymérase, l'ADN modèle et l'ARN en croissance est appelée **bulle de transcription**



Elongation et direction de la synthèse

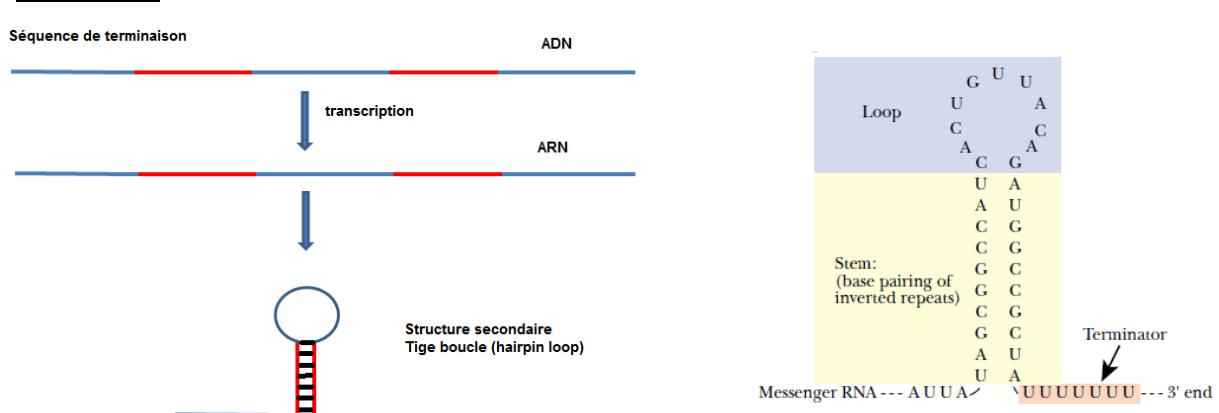
Terminaison

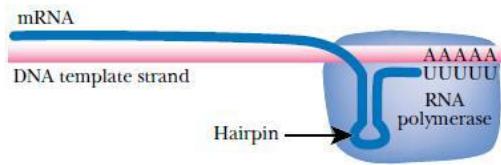
- L'arrêt de la transcription dépend de la présence de signaux de terminaison. La terminaison commence dès que l'enzyme rencontre un signal de terminaison d'une séquence de 40 pb.
- On distingue au moins deux classes de signaux chez *E. coli*. La première classe ne dépend pas de protéines spécifiques et la deuxième classe dépend de protéines.
- Un aspect intéressant de la terminaison chez les bactéries est que la séquence de terminaison est en fait transcrit en ARN.



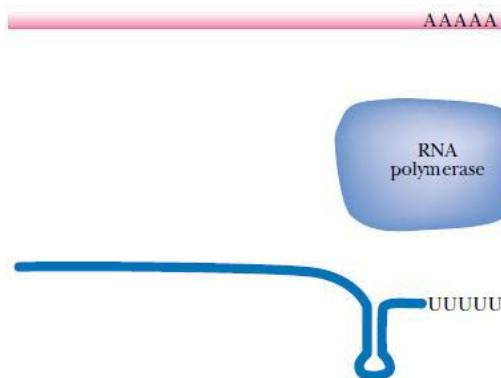
1. Terminaison par des terminateurs intrinsèques

Elle est la plus simple. Le signal est une séquence palindromique riche en GC suivie par une région riche en U ou AT. Le transcrit d'ARN contenant une région auto-complémentaire va former une structure en épingle stable à cause de sa richesse en GC. Cette structure est suivie par une série de U va contribuer à la terminaison de la transcription. Ces régions qui ne nécessitent pas de facteurs additionnels sont des "terminateurs intrinsèques".





La formation de l'épingle à cheveux arrête l'ARN polymérase. Le brin d'ARN se sépare donc de l'ADN dans la bulle de ces terminateurs et aide à mettre fin à la transcription.



2. Terminaison dépendante de facteurs protéiques

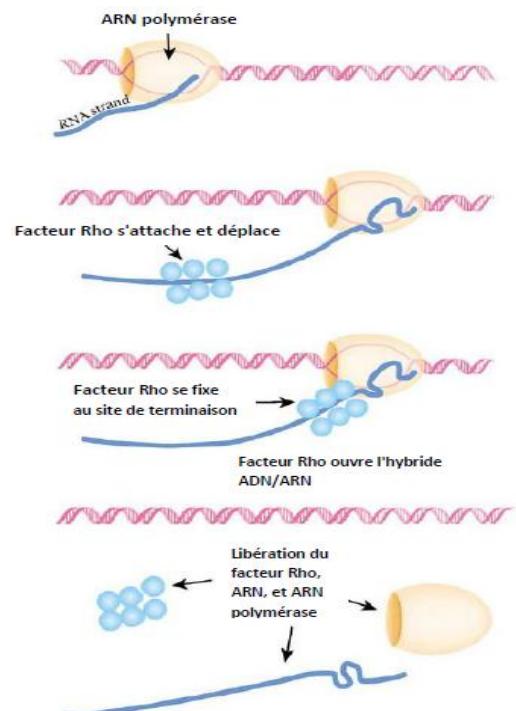
D'autres types de terminateurs nécessitent des facteurs protéiques spécifiques.

Exemple: Chez *E. coli* la protéine **Rho** se fixe fortement à l'ARN (mais pas ni à l'enzyme ni à l'ADN), elle parcourt alors la chaîne jusqu'au complexe ARN polymérase-ADN.

- Dès que l'ARN polymérase s'arrête à un site de terminaison Rho dépendant
- Le facteur Rho favorise la libération de l'ARN et de l'enzyme terminant ainsi la transcription.

Il y a aussi d'autres protéines comme Rho sont aussi impliquées dans la terminaison de la transcription.

Terminaison de la transcription chez les bactéries par le facteur Rho



Transcription chez les eucaryotes

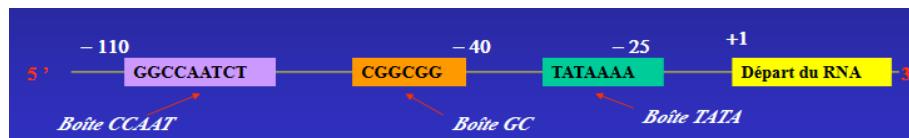
C'est un processus beaucoup plus complexe et il existe plusieurs différences notables:

- La transcription chez les eucaryotes est prise en charge par 3 ARN polymérases (Pol I, II, et III)
- Elle nécessite plusieurs facteurs de transcription TF: TF I interagissant avec l'ARN-polymérase I, TF II et TF III interagissant avec l'ARN-polymérase II et III respectivement
- Remodelage de la chromatine par des protéines régulatrices et des enzymes de modification de la chromatine : (ADN inclus dans les nucléosomes).
- En plus des éléments cis (ex: TATA Box) il existe en plus du promoteur des autres séquences ou unités de contrôle : Activateurs : Enhancers, Extincteurs: Silencers. Ces séquences de contrôle peuvent être localisées dans la région régulatrice en 5', en amont du point d'initiation, mais aussi parfois à l'intérieur du gène ou même dans la région 3' en aval de la séquence codante

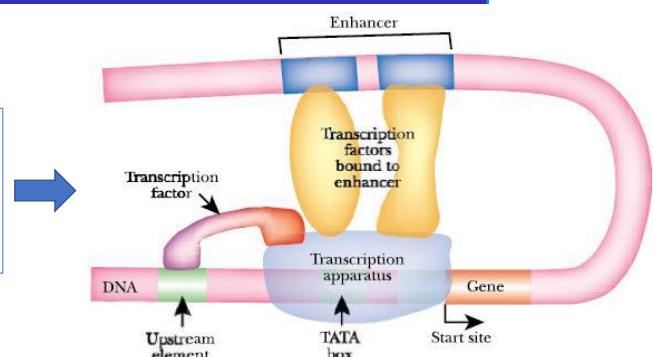
Les composants d'un promoteur eucaryote

Les promoteurs de l'ARN polymérase II possèdent des éléments de contrôle situés en amont du site d'initiation :

- **La boîte TATA** : située à environ -25 paires de bases de l'origine de la transcription.
- **La boîte GC** : située le plus souvent dans la région entre -110 et -40.
- **La boîte CCAAT** : souvent située dans la région entre -120 et -80.



Contrôle de la transcription par un enhancer localisé en aval (downstream) du site de l'initiation de la transcription:
L'ADN forme une loop pour faciliter le contact de l'enhancer avec le complexe d'initiation

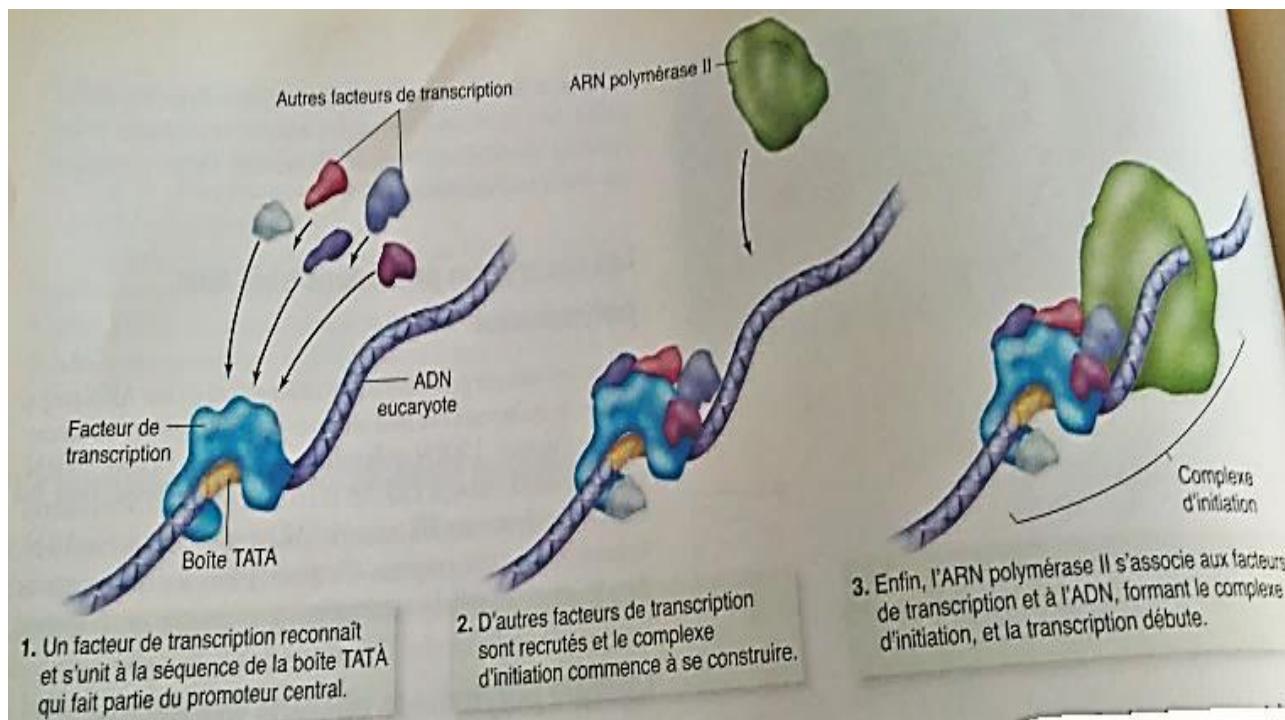


Mécanisme de transcription chez les eucaryotes par l'ARN Po II (ARNm)

1- Initiation

Chez les eucaryotes, plusieurs facteurs d'initiation sont nécessaires pour une initiation efficace:

- L'ARN polymérase II est constituée de 12 sous-unités et ne peut transcrire sans l'intervention de facteurs de transcription de base (TFII) avec lesquelles elle forme un complexe de transcription (assemblage ou pré initiation).
- L'**ARN Po II** est régulée à la fois par les éléments en cis et par certains nombres de facteurs agissant en trans (facteurs de transcription)
- Les facteurs de transcription (en trans) aident la polymérase à se fixer au promoteur, à se séparer les brins d'ADN, à se détacher du promoteur et à s'engager dans la phase d'elongation.



1. Un facteur de transcription reconnaît et s'unit à la séquence de la boîte TATA qui fait partie du promoteur central.

2. D'autres facteurs de transcription sont recrutés et le complexe d'initiation commence à se construire.

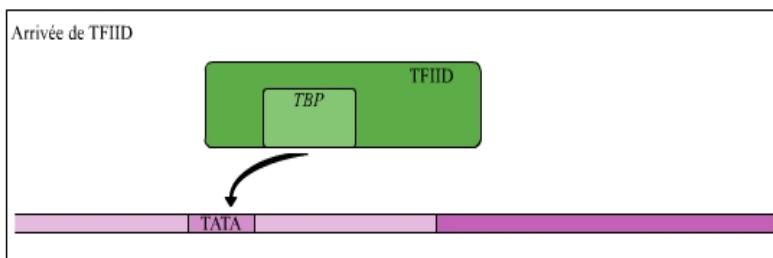
3. Enfin, l'ARN polymérase II s'associe aux facteurs de transcription et à l'ADN, formant le complexe d'initiation, et la transcription débute.

- **Le complexe d'initiation**

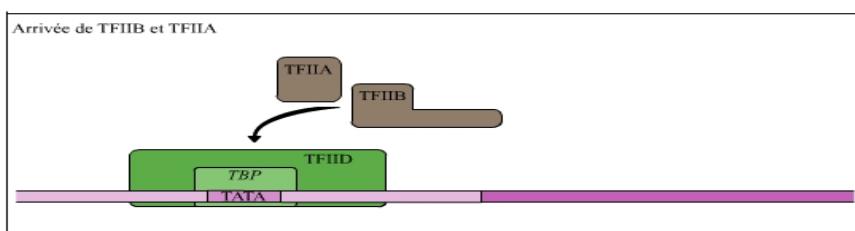
L'ARN pol II ne reconnaît pas seule le promoteur. Elle effectue ce travail en compagnie de nombreux facteurs de transcription qui se recrutent les uns les autres et qui forment avec elle un complexe d'initiation.

-**TFII D** se fixe à la TATA box du promoteur via l'une des sous-unités qui le composent, la protéine **TBP** (*TATA box-Binding Protein*) qui reconnaît la boîte TATA

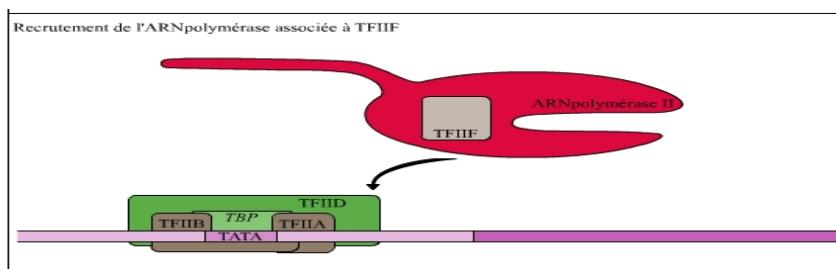
-La TBP est la première protéine



-**TFII A et TFII B** se lient au complexe TFIID-ADN pour le stabiliser



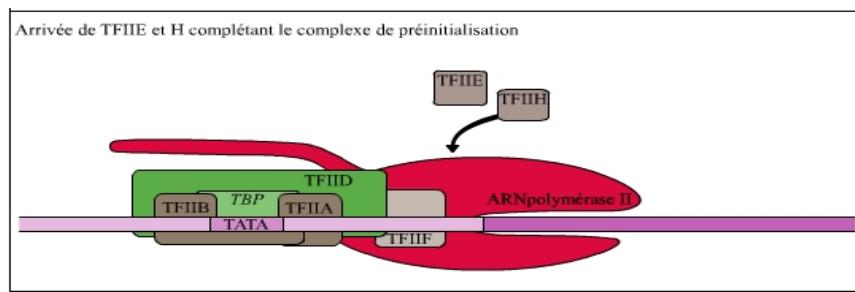
- **TFII B** recrute **TFII F** préalablement fixé à l'ARN polymérase, ce qui permet la liaison de l'enzyme au complexe précédent.



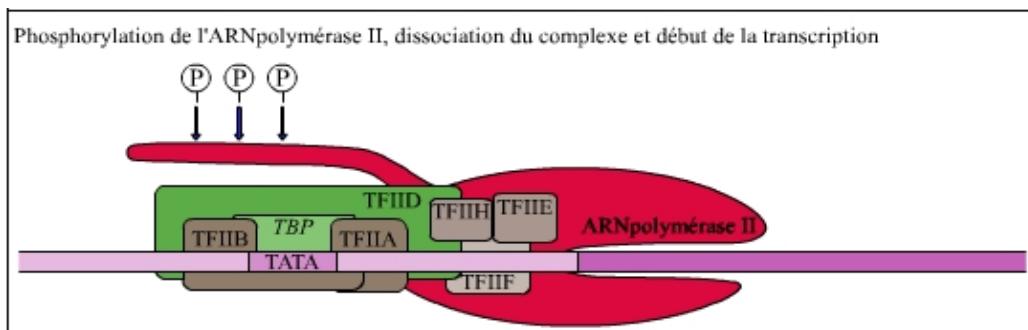
-**TFII E**, puis **TFII H** complètent le complexe de pré-initiation.

Le facteur **TFIIC** possède une double activité enzymatique:

- Hélicase ATP-dépendante permettant l'ouverture de la double hélice d'ADN au niveau du promoteur
- Une activité kinase responsable de la phosphorylation du **domaine C-terminal** de la Po II (changement de conformation) ce qui entraîne la dissociation du complexe d'initiation et le **début de la transcription** (la première liaison phosphodiester entre les deux premiers nucléotides).

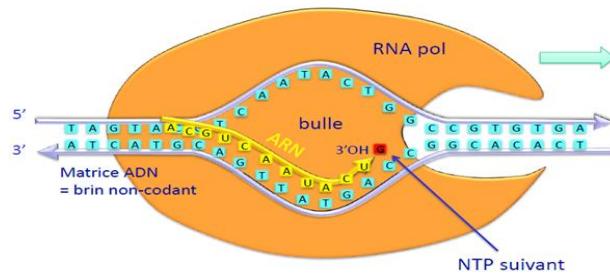


- A la position +11, le complexe entre en mode d'élongation



2- Elongation

- L'ARN polymérase avance sur le brin matrice , ajoutant les NMP à l'extrémité 3'OH de la chaîne en cours de synthèse (20 nucleotides /s).
- Dans la bulle de transcription, l'ARN naissant et l'ADN matrice forment un hétéro-duplex sur une dizaine de Pb.
- Au fur et à mesure de la progression de la Po II ; l'ARN nouvellement synthétisé se sépare de l'ADN. La double hélice se reforme



3.Terminaison

- La transcription par l'**ARN polymérase II** se poursuit au-delà de la fin du dernier exon de l'ARNm.
- Lorsque le transcript progresse jusqu'à la séquence signal de terminaison, le complexe devient "instable". Le clamp s'ouvre, l'ADN et l'ARN étant tous deux libérés de l'enzyme lorsque la transcription est terminée.
- L'ARN polymérase II est déphosphorylée et recyclée
- Les signaux de terminaison chez les eucaryotes sont moins bien connus que chez les procaryotes.
- Le transcript résultant s'appelle le pré mRNA (ARNm prématûré ou transcript primaire).

Maturation des ARNm (Modifications post-transcriptionnelles)

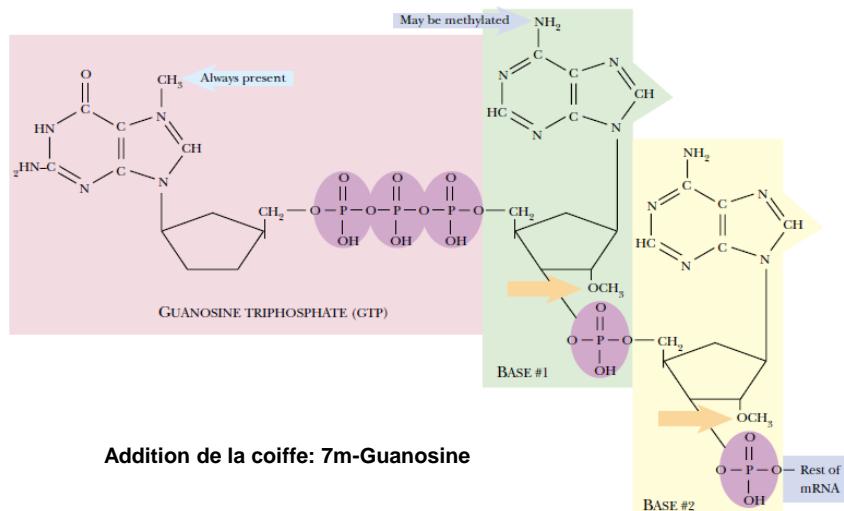
Après sa synthèse, le pré-ARNm subit des modifications

- **À l'extrémité 5': addition d'une coiffe=coiffage=capping**
 - Initiation de la synthèse protéique
 - Prévient la dégradation prématuée
- **À l'extrémité 3' OH: addition d'une queue poly A= polyadénylation**
 - Exportation des ARNm matures hors du noyau
 - Stabilisation de certains ARNm
 - Signal de reconnaissance pour le ribosome
 - Protection de l'extrémité 3' de l'ARN des exonucléases.
- **Epissage**

1. L'addition d'une coiffe m7G= coiffage ou capping

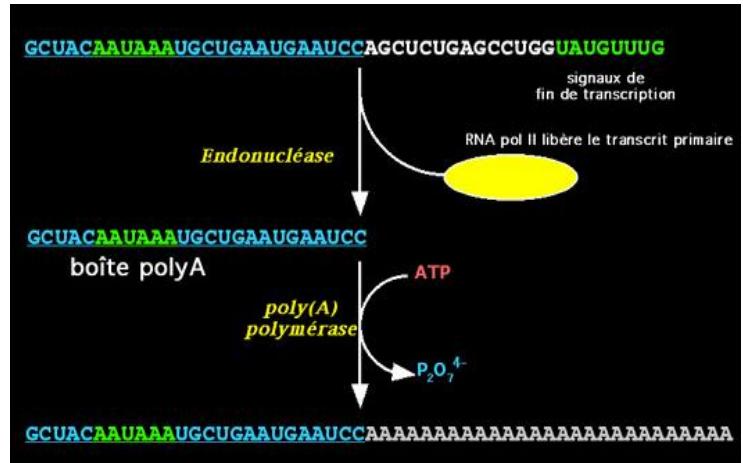
Après l'initiation, lorsque 20 à 30 nucléotides ont été incorporés, l'extrémité 5'-P est coiffée par addition d'un nucléotide à guanine méthylé en position 7 (m7G) relié par une liaison 5'5' triphosphate.

NB: L'addition de deux groupes méthyles aux deux premiers nucléotides (au ribose) pour la plupart des transcrits des ARNm



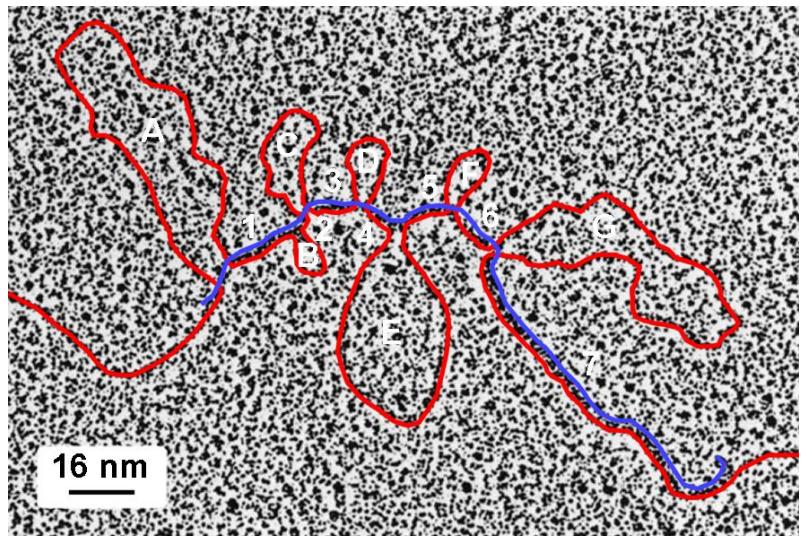
2. Addition d'une queue 3' poly A

- La Po II synthétise de l'ARNm au delà de segment contenant la séquence **AAUAAA** (signal de poly-adénylation)
- 10 à 20 nucléotides en aval de cette séquence ,une endonucléase coupe l'ARNm.
- Par son activité A-polymérasique, la poly (A) polymérase ajoute 100 à 250 adénines à l'extrémité 3' du transcript primaire et ceci sans matrice



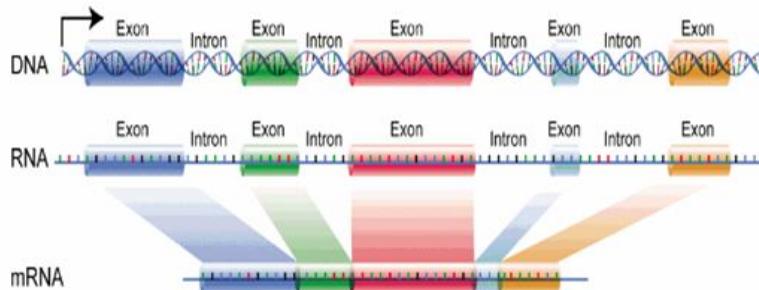
Maturation des ARNm (Modifications post-transcriptionnelles)

L'ARN (en bleu) présent dans le cytoplasme ne s'hybride pas exactement avec le brin d'ADN (en rouge) qui a servi de modèle à la transcription



3. Excision des introns et épissage des exons (ou splicing)

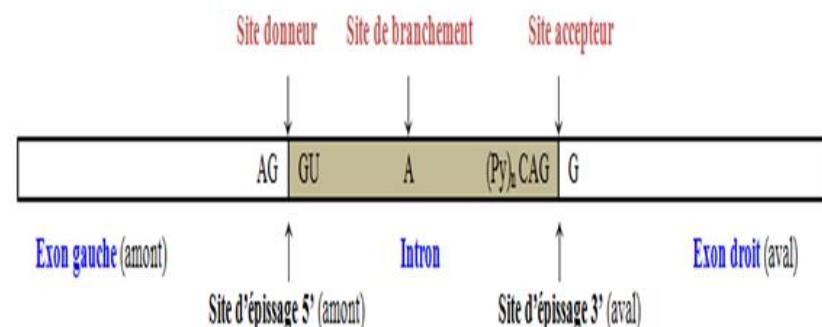
- Le transcript primaire du ARNm est constitué par une alternance de séquences codantes: les exons et de séquences non codantes : les introns



- Après l'addition de la coiffe et la poly-adénylation, le transcript primaire est soumis à:
 - l'excision des introns (élimination)
 - l'épissage « splicing » des exons (la réunion bout à bout des exons restants qui constituent l'ARNm);

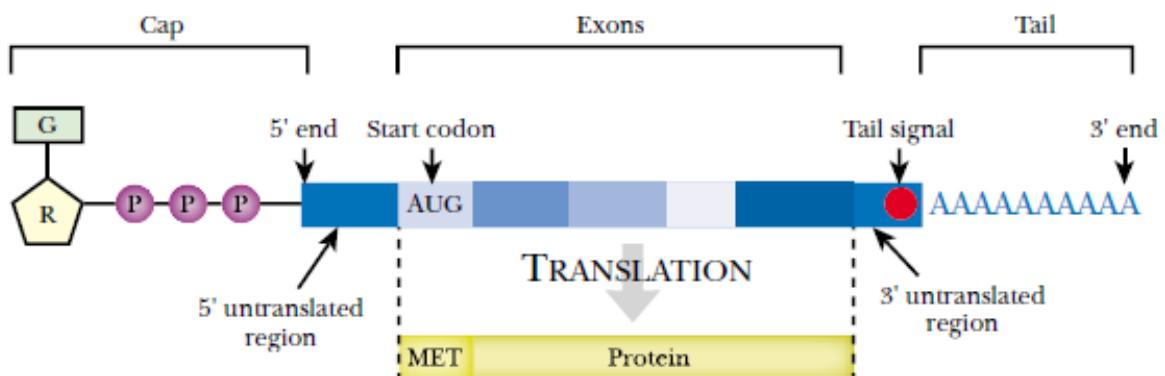
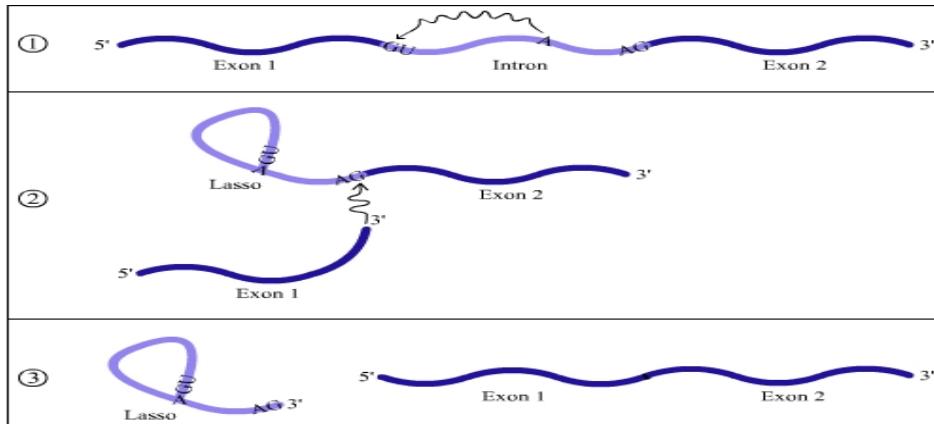
Un intron comporte **3 séquences consensus** qui jouent un rôle clé lors de l'épissage :

- Site donneur d'épissage** (dinucléotide **GU**) à l'extrémité 5' des introns
- Site accepteur d'épissage** (dinucléotide **AG**) à l'extrémité 3' des introns
- Site de branchement**: comporte une **adénosine** qui joue un rôle central dans le processus d'épissage.



- L'excision-épissage est réalisée par réaction du nucléotide à adénine (A) du site de branchement de l'intron avec un nucléotide à guanine situé en 5' de l'intron. Cela entraîne la séparation de l'intron de 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.

L'épissage est réalisé par un complexe ribonucléoprotéique: **le splicéosome**



ARNm eucaryote mature prêt à être traduit. Coiffe ajoutée. La queue polyA ajoutée (TAIL ADDED), introns éliminés

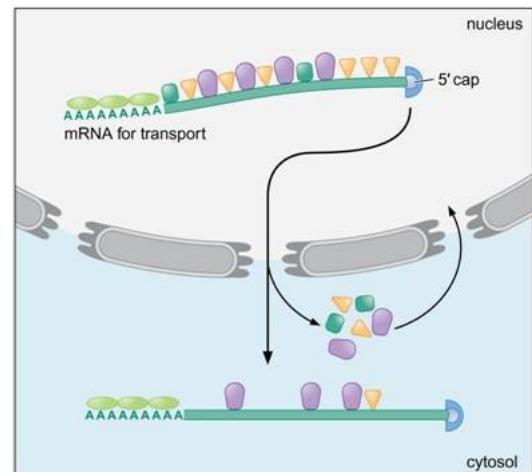
Transport de l'ARNm

ARNm mature

Exportation du noyau vers le cytoplasme (RER) via pores nucléaires par transport actif avec hydrolyse de GTP par la GTPase associée au port nucléaire



TRADUCTION



Maturation des rRNA et des tRNA

- Pratiquement tous les RNA subissent une maturation. Chez les Procaryotes et les Eucaryotes, les rRNA dérivent de précurseurs plus longs dénommés RNA prérribosomiques ou pré-rRNA.
- Ainsi, chez les Bactéries, les rRNA 23S, 16S et 5S dérivent d'un précurseur commun de 30S.
- Chez les Eucaryotes, un précurseur de 45S subit une maturation dans le nucléole pour donner les rRNA 28S, 18S et 5,8S.
- Les tRNA viennent eux aussi de précurseurs plus longs ; des nucléotides sont éliminés aux extrémités 5' et 3' et, chez les eucaryotes, des introns sont excisés. De plus, certains subissent d'autres modifications post-transcriptionnelles telles que l'attachement du trinucléotide 3'-terminal CCA ou la méthylation, la désamination et la réduction de certaines bases.