

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mohamed BOUDIAF - M'sila
Faculté des Sciences
Département des Sciences Agronomiques



Notes de cours

sur

Biologie Moléculaire et Transgénèse

Spécialité : Protection des Végétaux

Niveau d'étude : Master 1 (Semestre 2),

Matière d'UED à volume horaire global de 67H30

Crédits = 5, Coefficient = 3

Pr Abdelghani ZEDAM

Année Universitaire 2023 / 2024



Biologie Moléculaire et Transgénèse

PREMIERE PARTIE : BIOLOGIE MOLECULAIRE ET GENIEGENETIQUE

1. Rappels sur les mécanismes génétiques fondamentaux et régulation de l'expression des gènes
2. Clonage de l'ADN
3. Méthodes d'étude de l'ADN

DEUXIEME PARTIE : TRANSGENÈSE APPLIQUÉE À LA PROTECTION DES VÉGÉTAUX

1. Rappels sur le clonage des gènes
2. Transfert des gènes dans les plantes
3. Obtention de variétés OGM
4. Application de la transgénèse en protection des végétaux

**PREMIERE PARTIE : BIOLOGIE
MOLECULAIRE ET GENIE GENETIQUE**

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.1. L'ADN support de l'information génétique

- L'information génétique, essentielle à la construction et au fonctionnement de la cellule et de la plante, se trouve principalement dans le noyau
- Elle est la même dans toutes les cellules de la plante, qui la copient à chaque division cellulaire.
- L'expression de cette information est spécifique selon la fonction et le rôle de la cellule, mais l'information inutilisée reste présente.
- L'acide désoxyribonucléique (**ADN**) est le support universel de l'information génétique chez les êtres vivants. Il est constitué de deux chaînes enroulées en double hélice. Les deux brins de l'ADN sont l'assemblage de molécules élémentaires : les **nucléotides**

Nucléotide

- Constituant élémentaire de l'ADN et de l'ARN, composé d'un sucre (désoxyribose ou ribose), d'un phosphate et d'une base azotée. Il n'existe que quatre types de nucléotides qui se distinguent par la nature de leur base (adénine, thymine, guanine ou cytosine) pour l'ADN ; l'uracile remplace la thymine pour l'ARN.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.1. L'ADN support de l'information génétique

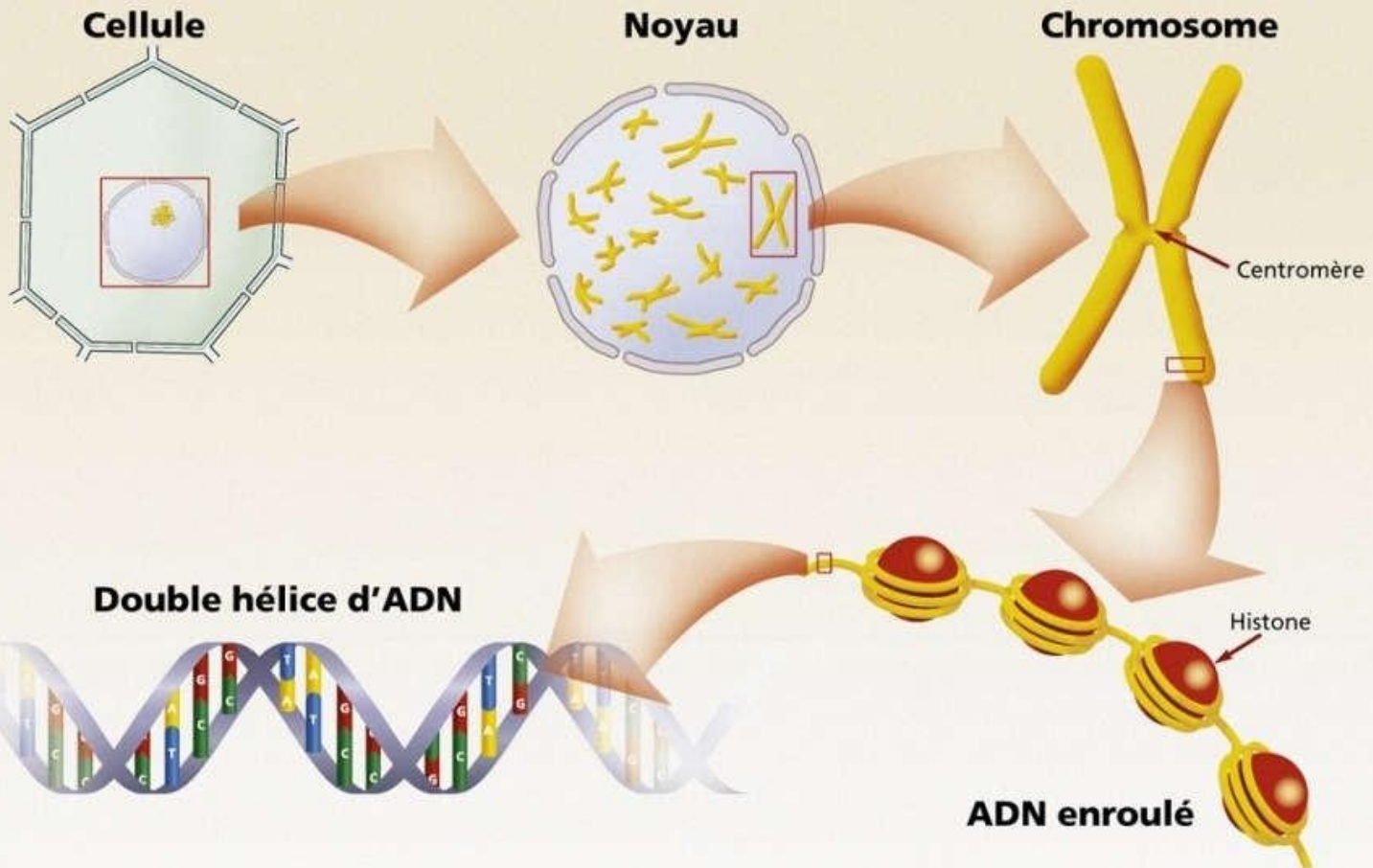
- Les ADN sont les plus grosses molécules du monde vivant : l'ADN d'une cellule humaine, totalement déroulé, mesure 2 mètres de long.
- L'ADN enroulé et associé à des **protéines**, les histones, forme les **chromosomes**. Une cellule **diploïde**, notée $2n$, possède des chromosomes associés deux à deux : ce sont les paires de chromosomes homologues.
- Les cellules reproductrices sont **haploïdes**, notées n . Elles possèdent un seul exemplaire de chromosomes homologues.
- La présentation des chromosomes d'une cellule, rangés par taille décroissante, constitue son **caryotype**.
- Un gène est un fragment d'ADN qui correspond à un caractère héréditaire et constitue l'unité d'information génétique. L'ensemble des **gènes** d'un individu forme le **génome**.
- L'expression des caractères qu'ils gouvernent, telle qu'on peut l'observer, constitue le **phénotype**.
- L'emplacement occupé par un gène sur le chromosome est le **locus**.
- On estime que le nombre moyen de gènes par plante est supérieur à 20 000.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.1. L'ADN support de l'information génétique



L'ADN : support de l'information génétique



I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.1. L'ADN support de l'information génétique

Trois génomes différents dans la cellule végétale

- Le génome du **noyau** dit génome **nucléaire** ne représente que 95 % de la totalité de l'information génétique nécessaire à la vie de la cellule végétale.
- On a démontré qu'au sein des cellules végétales, il y a en effet une coopération entre trois **génomes** : le génome nucléaire, le génome des **mitochondries** (environ 1 %) et le génome des **chloroplastes** (environ 4 %).
- On attribue à ces **ADN mitochondriaux et chloroplastiques** la responsabilité de **l'hérédité** de type **cytoplasmique**, donc de transmission maternelle.
- En effet, lors de la fécondation, le pollen, gamète mâle, apporte l'information contenue dans le noyau, alors que l'ovule, gamète femelle, fournit, en plus de son noyau, son cytoplasme.

RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

- Les acides nucléiques sont de deux types, l'ADN et les ARN.
- L'ADN ou acide désoxyribonucléique est le support de l'information génétique.
- Les ARN ont soit un rôle de support de l'information afin d'être traduit en protéines (ARN messager), ou bien un rôle structurale (ARN ribosomiques, ARN de transferts et autres petits ARN).
- L'ADN est situé dans le noyau mais il est également mis en évidence dans la mitochondrie, les ARN eux sont situés dans le noyau et dans le cytoplasme (également dans la mitochondrie).
- En effet l'ADN est transcrit en ARN dans le noyau, lui-même traduit en protéines dans le cytoplasme pour les ARN messager. L'ADN mitochondriale code pour 13 protéines, 2 ARNr et 22 ARNt ; ces 13 protéines servent toutes à la synthèse de l'ATP.
- Nous avons dit précédemment que l'ADN est le support de l'information génétique, en effet il est divisé en segments d'ADN qui correspondent à des gènes (ou unités de transcription) qui eux même code pour une protéine.

RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

A) Structure des acides nucléiques

Les acides nucléiques sont constitués d'acides phosphoriques, de pentoses et de bases azotés.

- L'**acide phosphorique** est un triacide dont une fonction acide est dissociée permettant de donner une charge négative à l'ADN, et dont les deux autres peuvent former des liaisons phosphodiester.
- Les **pentoses** sont des glucides cycliques à 5 atomes de carbone qui sont sous forme de β -D-ribofurane et sous forme « désoxy » pour l'ADN.
- Les **bases** sont de deux types :
 - Les bases pyrimidiques : la cytosine, la thymine (ADN) et l'uracile (ARN).
 - Les bases puriques : la guanine, l'adénine et l'hypoxanthine (précurseur des bases puriques et présent au niveau des ARNt).
- L'association d'une base et d'un pentose par une liaison N-glycosidique est appelée un **nucléoside**.
- L'association d'un nucléoside et de l'acide phosphorique par une liaison phosphodiester en 5' du pentose est appelée un **nucléotide**.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.1. Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

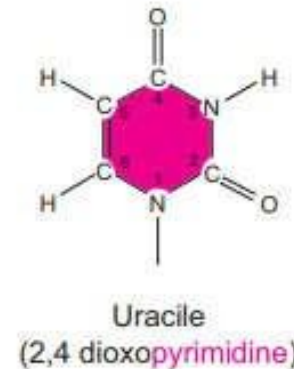
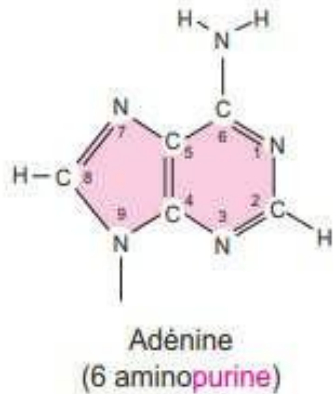


Figure 1-1 Structures chimiques des bases puriques (Adénine, Guanine) et des bases pyrimidiques (Cytosine, Thymine, Uracile) des acides nucléiques ADN et ARN. Des formes méthylées peuvent aussi être rencontrées (5-méthyl cytosine).

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.1. Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

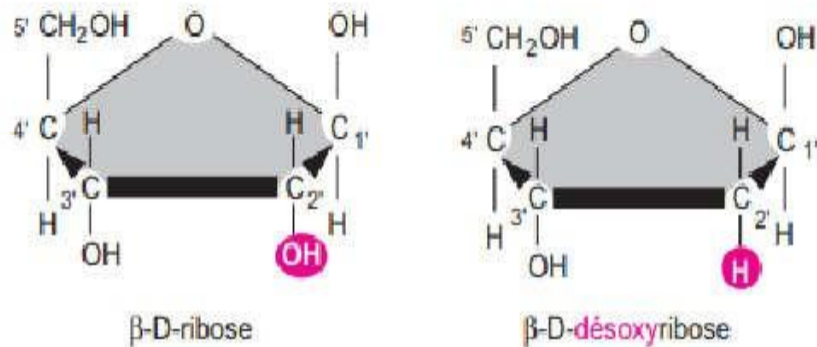


Figure 1-2 Les deux pentoses respectifs de l'ARN et de l'ADN.

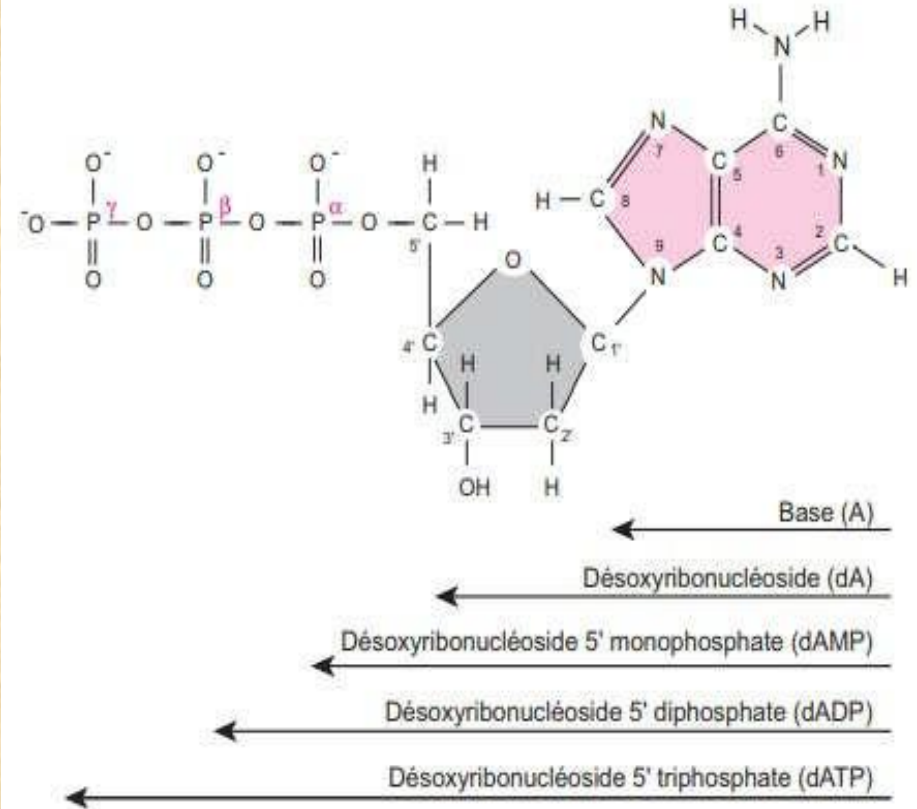


Figure 1-3 Structure détaillée d'un désoxyribonucléoside triphosphate. En remplaçant la lettre A (Adénine) par les lettres G, C, T/U et le désoxyribose par le ribose, la nomenclature est généralisable à tous les nucléotides de l'ADN et de l'ARN.

RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

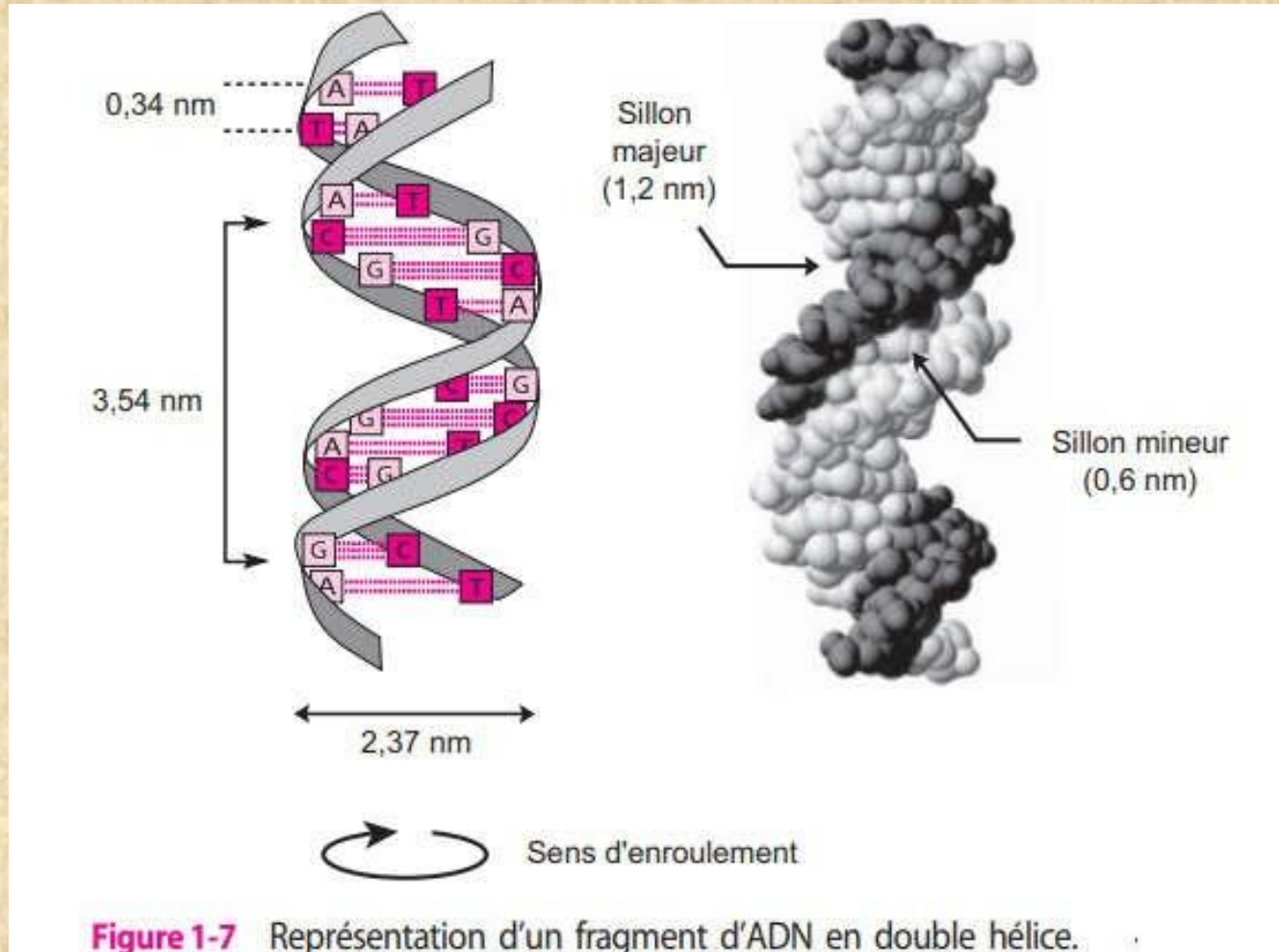
B) Structure de l'ADN

- L'ADN est une molécule bicaténaire étant constituée de deux brins dirigés de manière antiparallèle et associés en doubles hélices de **type B**.
- Il est constitué d'autant de bases puriques que de bases pyrimidiques, en effet il y a autant d'adénine que de thymine, et autant de guanine que de cytosine.
- Les deux brins sont liés grâce à des liaisons hydrogènes présentes entre toutes les bases de l'ADN : deux liaisons hydrogènes entre les bases A et T, et trois liaisons hydrogènes entre les bases G et C.
- La double hélice de l'ADN a un diamètre de 20 Å (= 20 angström = 20.10⁻¹⁰ mètres), un pas de 34 Å qui correspond à 10 nucléotides. L'hélice est dite droite car elle s'enroule à droite en la regardant du haut vers le bas (comme une visse s'enfoncerait dans un mur) ; entre deux paires de bases on mesure un angle de 36°.
- L'axe des paires de bases ne passe pas par l'axe de la double hélice : on aura donc une partie plus large, le **grand sillon**, et une partie plus petite, le **petit sillon**. Le grand sillon est soumis à des interactions diverses avec des molécules endogènes et exogènes.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.1. Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

B) Structure de l'ADN



RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

B) Structure de l'ADN

- L'orientation d'un brin d'ADN est définie par la présence des groupes chimiques 5'-phosphate et 3'-OH portés par les carbones 5' et 3' des deux désoxyriboses extrêmes (Fig.).
- Dans la double hélice, les deux brins complémentaires d'ADN sont orientés en sens inverse. On dit qu'ils sont antiparallèles.

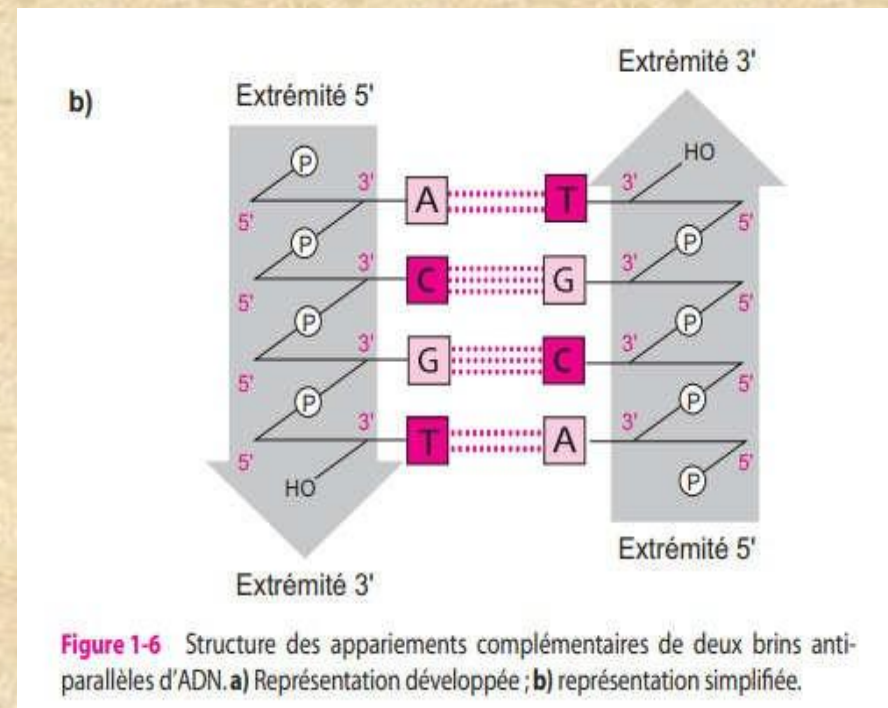
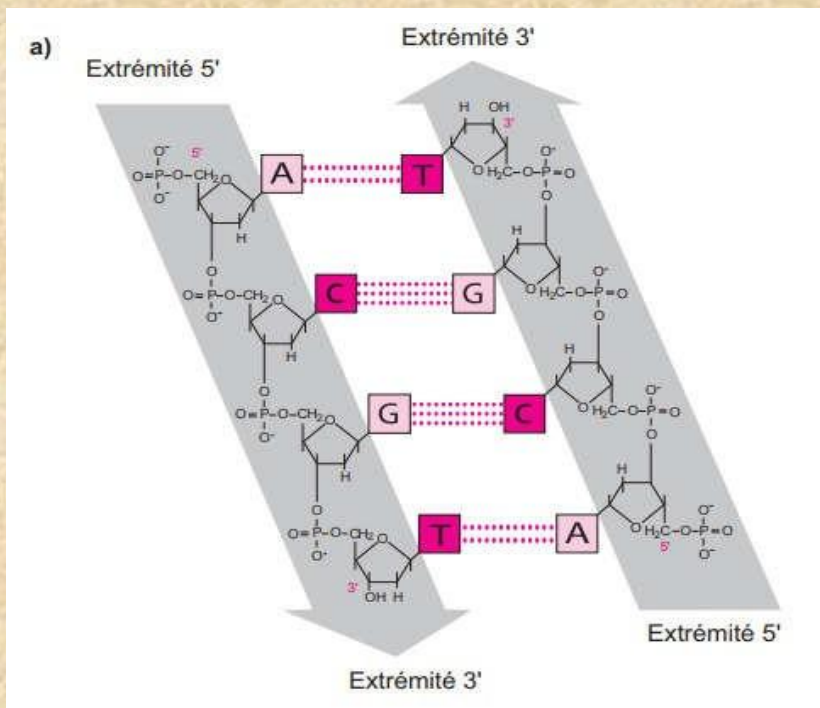


Figure 1-6 Structure des appariements complémentaires de deux brins antiparallèles d'ADN. a) Représentation développée ; b) représentation simplifiée.

RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

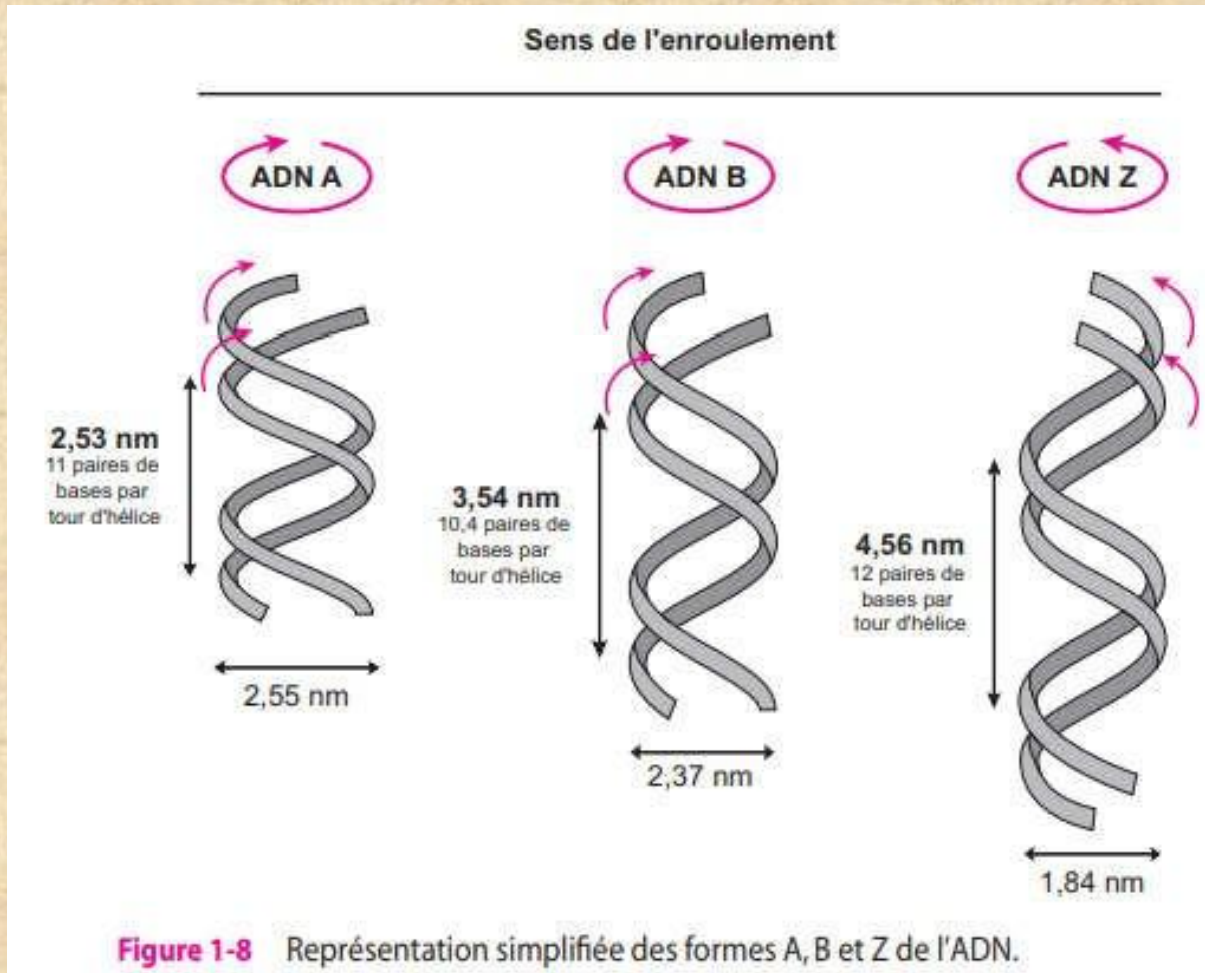
C) Les différentes formes d'ADN

- En principe, les deux brins polynucléotidiques peuvent former une hélice de pas droit (forme dextre) ou une hélice de pas gauche (forme senestre).
- La première forme est la plus fréquente et existe en deux variantes, l'ADN-A et l'ADN-B, qui diffèrent, entre autres, par la taille de leurs hélices (Fig).
- L'ADN-A a un diamètre plus large que l'ADN-B. Il est plus compact avec une distance de 0,23 nm entre deux plateaux de bases successifs.
- En solution et dans la cellule, c'est la forme B de l'ADN qui est prédominante.
- Une forme senestre de l'ADN étirée en zigzag (ADN-Z), avec un diamètre de 1,8 nm, est parfois observée, mais sa signification physiologique reste incertaine.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.1. Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

C) Les différentes formes d'ADN



RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

D) Propriétés de l'ADN

❖ *Solubilité :*

- L'ADN devient un sel d'acide en milieux aqueux et est ainsi soluble.
- Il précipite en présence d'éthanol et d'une forte concentration saline. Cette propriété permet sa purification.

❖ *Absorption UV :*

- En chauffant une solution d'ADN, l'agitation thermique provoque la rupture des liaisons hydrogène et la séparation des deux brins (Fig).
- Cette dissociation est mise en évidence par la mesure de l'absorption de la lumière ultraviolette à 260 nm.
- Sous sa forme bicaténaire (en double hélice) l'ADN absorbe modérément la lumière UV. Après dissociation des deux brins, sous une forme monocaténaire, le démasquage des bases provoque une absorption plus marquée de la lumière UV, on qualifie ce phénomène d'**hypochrome**.
- L'enregistrement du phénomène à 260 nm fournit une courbe en forme de sigmoïde, typique de la dissociation de l'ADN (Fig.).

RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

D) Propriétés de l'ADN

❖ *Dénaturation thermique*: température de fusion

- La dénaturation thermique correspond au fait que les deux brins de l'hélice se dissocient par l'action de la chaleur.
- La température pour laquelle on observe la dissociation de la moitié des molécules d'ADN est dénommée **température de fusion ou T_m** (« melting Temperature »).
- La T_m dépend de la longueur de la molécule d'ADN, en effet les petites molécules sont moins stables et ont donc une température de fusion plus faible.
- Plus un ADN est **riche** en bases **G et C** qui sont appariées par des **triples liaisons hydrogène**, plus **grande sera l'énergie** nécessaire pour les rompre et plus **élevée sera la température de fusion**.
- À l'inverse, un ADN riche en bases A et T liées par seulement deux liaisons hydrogène, aura une température de fusion plus basse.
- La présence d'ions ou d'agents déstabilisants (urée ou formamide) peut modifier la T_m .
- Le T_m humain est de **86°C** et la dénaturation complète est à **95°C**.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.1. Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

D) Propriétés de l'ADN

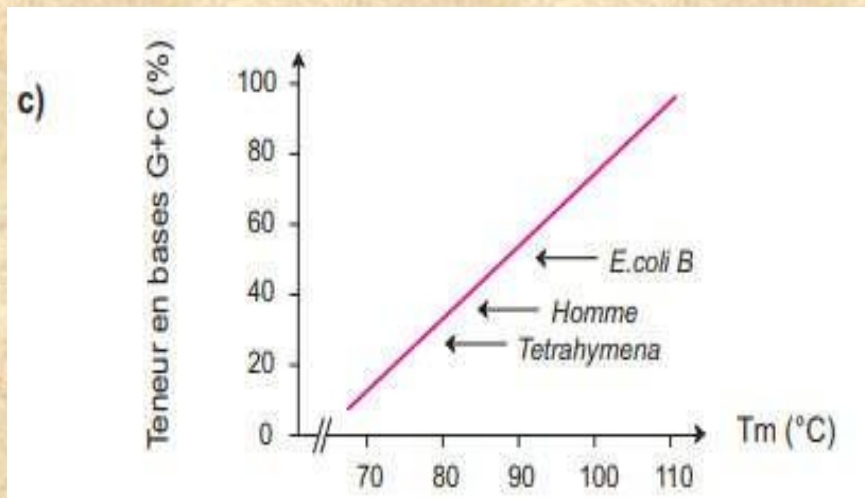
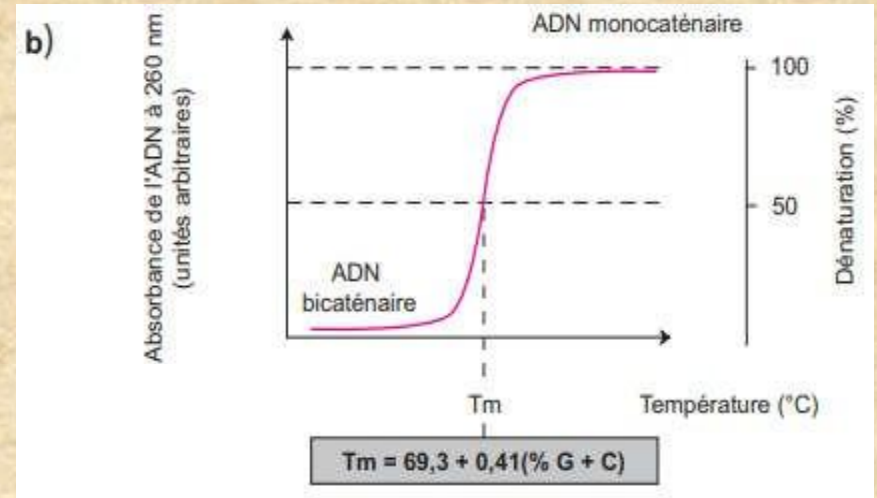
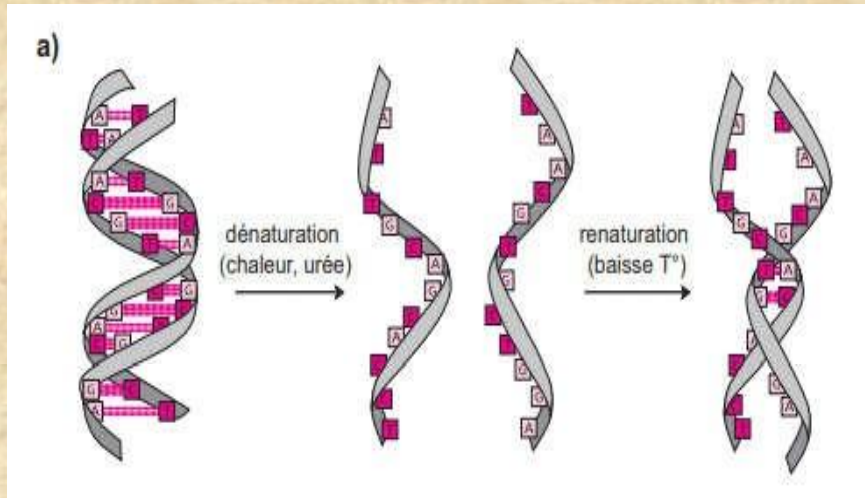


Figure 1-9 La dissociation de l'ADN et sa réassociation dépend de sa teneur en G+C. **a)** Représentation simplifiée de la dissociation-réassociation de l'ADN sous l'action d'agents dénaturants ; **b)** représentation simplifiée de la courbe sigmoïde témoin du processus de dissociation. La formule établit la relation entre la teneur en G+C de l'ADN et la température de fusion de l'ADN ; **c)** droite reliant teneur en G+C et T_m de divers organismes.

RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

E) Structure des ARN

L'ARN (acide ribonucléique) ressemble beaucoup à l'ADN mais:

- Le sucre de l'ADN (désoxyribose) est remplacé par un autre sucre dans l'ARN (ribose)
- La thymine (T) de l'ADN est remplacée par l'uracile (U) dans l'ARN.
- Les molécules d'ARN sont simple brin et linéaire, et les seuls appariements de paires se font intramoléculaires par des liaisons hydrogènes sous forme de structures en tiges-boucles aux extrémités de l'ARN et des structures en épingles à cheveux à l'intérieur de l'ARN.

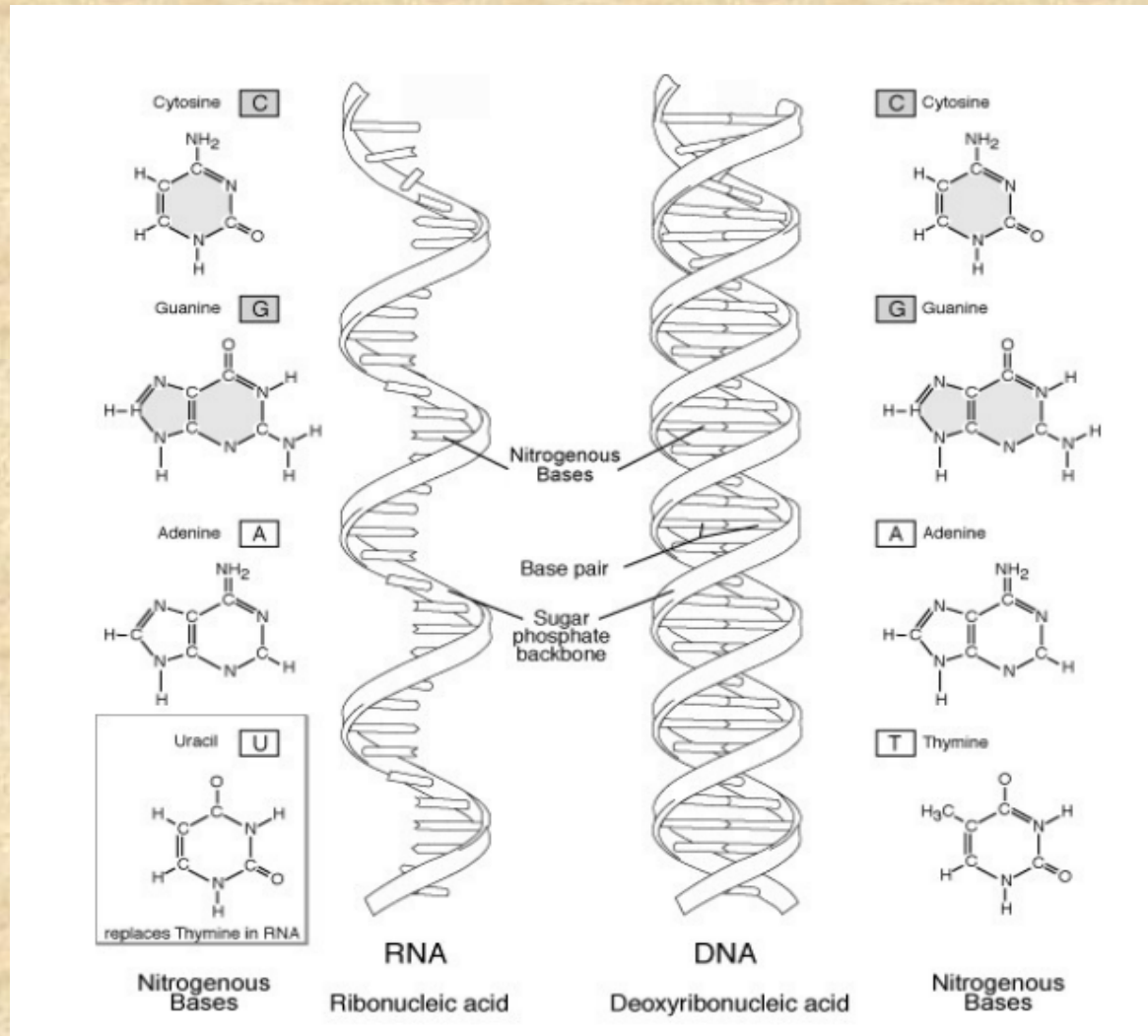
F) Propriétés des ARN

- L'effet **hypochrome** est également présent et dû aux appariements intramoléculaires.
- La courbe d'absorption UV en fonction de la température est cette fois-ci par palier correspondant aux différentes boucles à épingles à cheveux dénaturées.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.1. Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

E) Structure des ARN



I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.1. Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

E) Les différents types d'ARN

Les ARN procaryotes et eucaryotes sont de différents types, on met en évidence:

- ✓ les ARN messagers (ARNm),
- ✓ les ARN de transfert (ARNt),
- ✓ les ARN ribosomiques (ARNr) et
- ✓ les micros ARN.

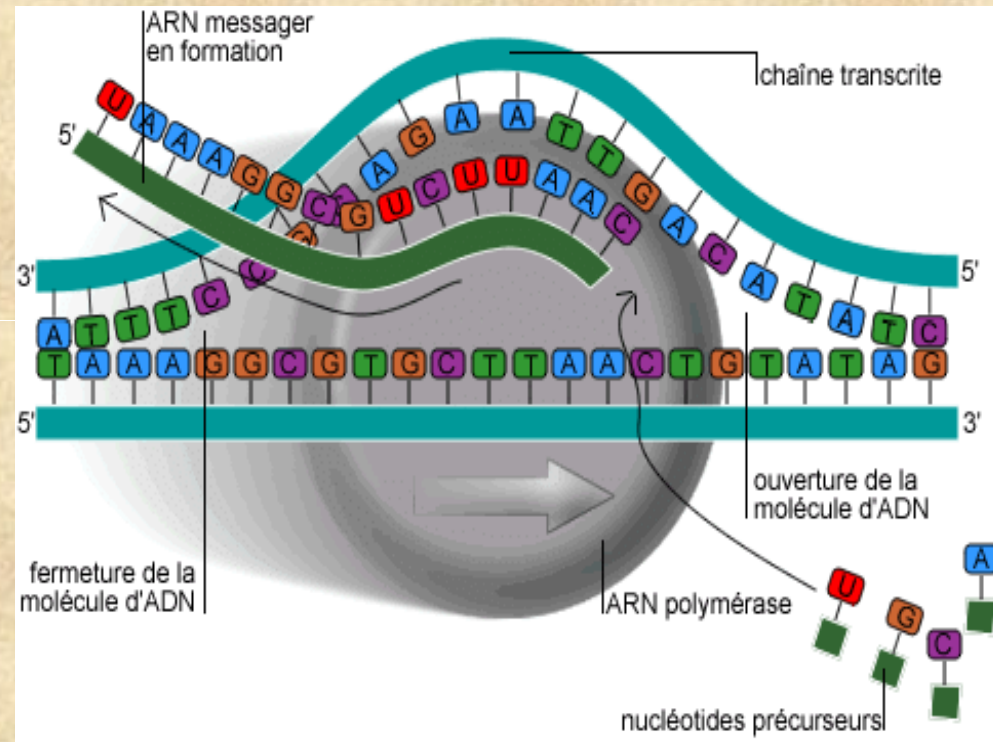
RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

❖ *Les ARN messagers*

- Les ARN-messagers correspondent aux séquences complémentaires et antiparallèles du **brin matriciel** (ou brin **anti-codant**) de l'ADN qui lui sert, comme son nom l'indique, de matrice, c'est-à-dire de modèle, mis à part que les thymines sont remplacées par les uraciles.

- Le brin d'ADN complémentaire du brin matriciel est appelé **brin codant** qui a la même séquence que l'ARN messager avec la même distinction (T devient U) que précédemment.



RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

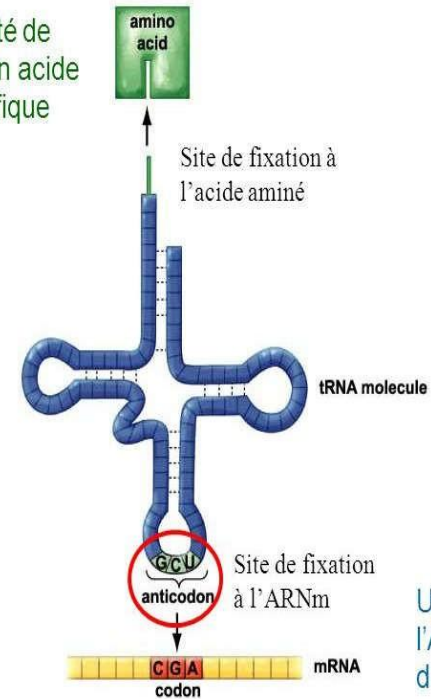
Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

❖ Les ARN de transferts

- Les ARN de transfert sont constitués de 75 à 85 nucléotides.
- Les ARNt possèdent des extrémités spécifiques constantes : extrémité 5' G et extrémité 3' CCA ; ils possèdent également une structure secondaire en feuille de trèfle ainsi qu'une structure tertiaire en forme de L à l'envers.
- Les acides-aminés se fixent sur l'extrémité 3'OH par leurs fonctions COO- par une fonction carboxy-ester qui est riche en énergie, grâce à l'aminosyl-tRNA-synthétase.
- Au niveau de la boucle opposé on trouve la boucle de l'anticodon qui permet la reconnaissance de l'ARN messager par appariement antiparallèle de bases.

3.2.2. Structure des ARN de transfert

Une extrémité de l'ARNt fixe un acide aminé spécifique



Une extrémité de l'ARNt est spécifique d'un codon

RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

❖ Les ARN ribosomiques

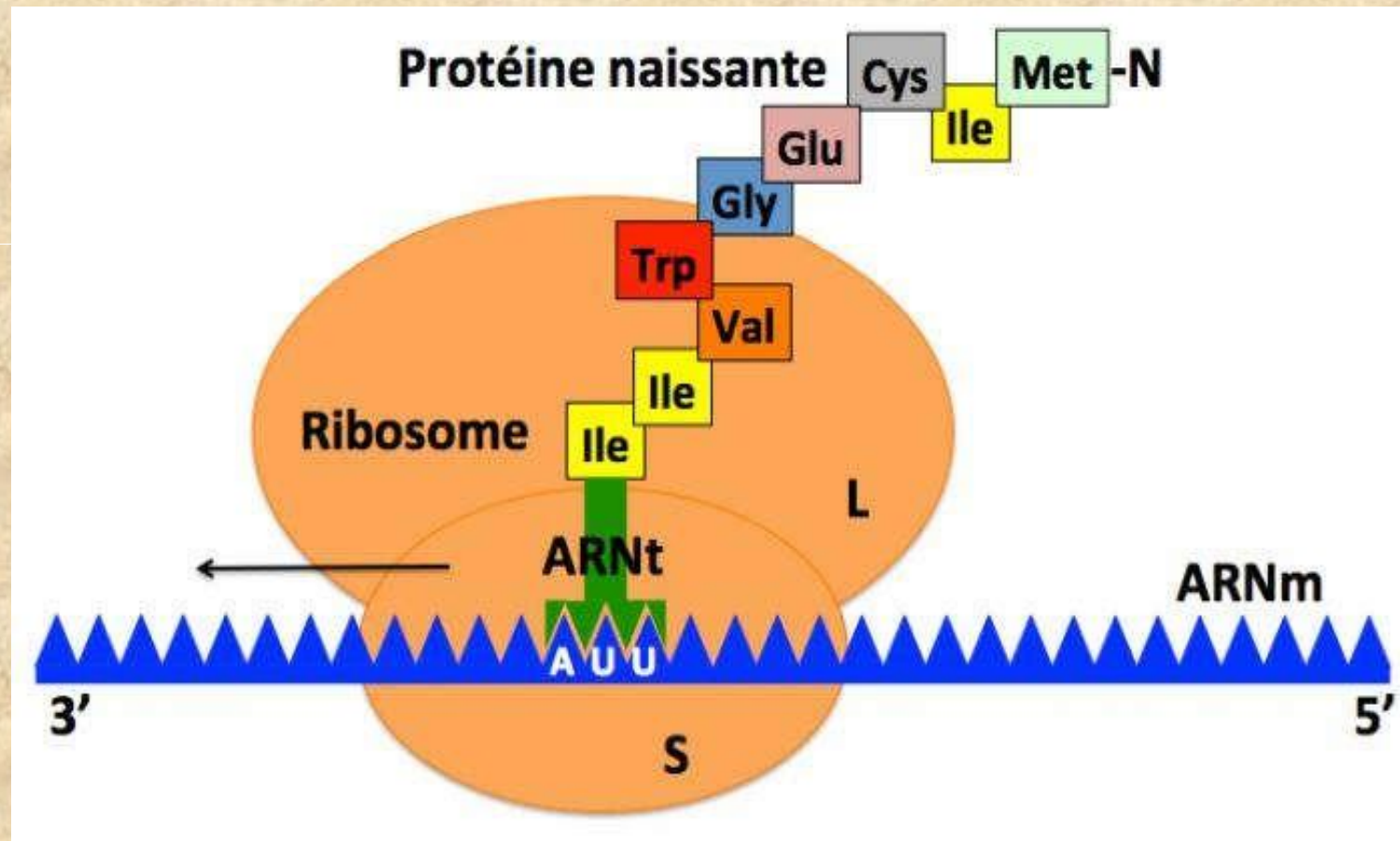
- Les ARN-ribosomiques rentrent dans la constitution des ribosomes, dans lesquels ils sont associés à des protéines. Leur taille est définie en unité Svedberg.
- Les procaryotes ont trois ARNr (ARN 5s, 16s et 23s) et les eucaryotes ont quatre ARNr (5s, 5.8s, 18s et 28s) :
- Les ribosomes procaryotes (70S) sont constitués d'une petite sous-unité 30S et d'une grande sous-unité 50S.
- Les ribosomes eucaryotes (80S) sont constitués d'une petite sous-unité 40S et d'une grande sous-unité 60S.
- Le ribosome (ARN-ribosomiques et protéines) catalyse la formation de la liaison peptidique qui relie les acide-aminés entre eux, permettant ainsi la formation de protéines.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.1. Structure et propriétés physico chimiques des acides nucléiques

❖ Les micros ARN et ARN interférants

Confère *Régulation au niveau traductionnel et post-traductionnel*



I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

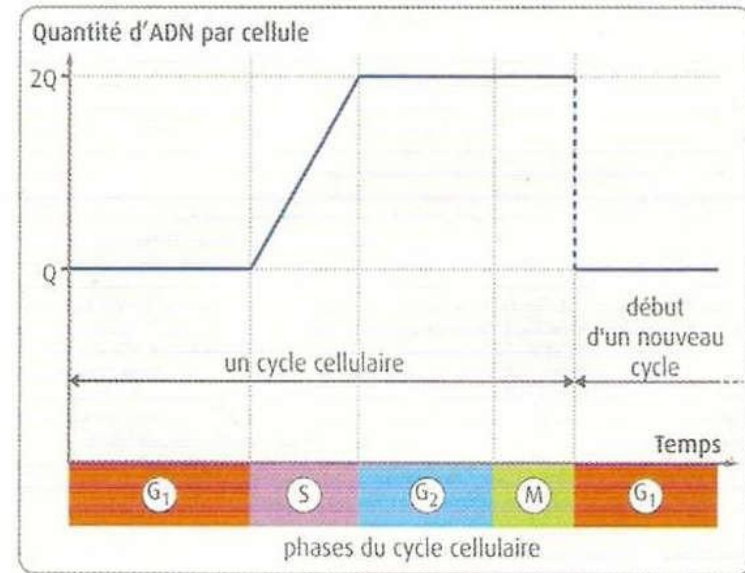
Réplication de l'ADN

- La phase de réplication est rapide et fiable, et correspond à la reproduction de l'ADN à l'identique.
- Durant cette phase il peut y avoir des brassages mais aucune information n'est perdue.
- La réplication s'effectue entre la phase G1 et G2 du cycle cellulaire, c'est la phase « S ».
- La réplication de l'ADN doit respecter deux principes :
 - ✓ l'ensemble du génome doit être répliqué à chaque division cellulaire
 - ✓ chaque molécule d'ADN n'est répliquée qu'une seule fois par cycle cellulaire.

Exception :

Les chromosomes polythènes sont soumis à des divisions sans mitose (= endomitose) qui entraîne une accumulation de copie d'ADN dans la cellule.

1 Les quatre phases du cycle cellulaire. Les phases G₁, S et G₂ du cycle cellulaire constituent l'interphase. La phase M correspond à la mitose.



2 Évolution de la quantité d'ADN par cellule au cours du cycle cellulaire.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.2. Réplication de l'ADN

- La réplication ou duplication de l'ADN s'effectue pendant la **phase S de l'interphase** (S comme synthèse).
- Une observation des chromatides en microscopie électronique (grossissement 100 000) montre l'existence de zones appelées « **yeux de réplication** » où la molécule d'ADN est localement en deux exemplaires.
- Chaque œil correspond à deux fourches de réplication qui progressent en sens inverse.
- Les différents « yeux » finissent par se rejoindre, permettant la duplication complète de la molécule d'ADN initiale.
- Les deux copies restent accrochées l'une à l'autre au niveau de la zone qui formera le centromère du chromosome.

- Lors de la réplication, une molécule mère d'ADN en donne deux. Ces deux molécules filles d'ADN **sont formées chacune d'un brin matrice** issu de la molécule de départ **et d'un brin néoformé** provenant de l'assemblage de nucléotides initialement dispersés dans le milieu cellulaire. Dans chacune des deux molécules d'ADN obtenues, la moitié de la molécule de départ est conservée, c'est pourquoi le mécanisme de réplication est qualifié de **semi-conservatif**.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.2. Réplication de l'ADN

- La vitesse de réplication est d'environ 50 nucléotides par seconde. Au fur et à mesure de l'écartement des deux brins de la molécule d'ADN, des nucléotides provenant du milieu de culture s'apparient avec ceux du brin matrice par complémentarité des bases azotées. L'adénine se lie à la thymine par deux liaisons hydrogène et la cytosine se lie à la guanine par trois liaisons hydrogène.
- **Ces processus d'ouverture de la double hélice et d'appariement des nucléotides dépendent d'un complexe enzymatique, l'ADN- polymérase.**

A) ADN polymérases dans la réplication

- Les ADN polymérases sont les enzymes responsables de la polymérisation des nucléotides lors de la réplication de l'ADN. Elles sont des ADN dépendantes, c'est-à-dire qu'elles ont besoin d'une matrice d'ADN pour produire le brin néo-synthétisé dans le sens 5' vers 3'.
- Les ADN polymérases procaryotes sont de 3 types (I, II et III) et les ADN polymérases eucaryotes de 5 types (α , β , δ , ϵ et γ). Dans la suite du cours nous allons prendre en compte les ADN polymérases procaryotes de fonctionnement plus facile.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.2. Réplication de l'ADN

- Pour la réplication nous allons principalement étudier le fonctionnement des ADN polymérase I et III.
- ✓ Les **ADN polymérase I** (ou **enzyme de Kornberg**) sont les plus nombreuses (400 molécules/cellule). Elles sont utilisées dans la réparation de l'ADN ainsi que pour combler les brèches (ouvertures) laissées par l'ADN polymérase III (remplace l'amorce d'ARN par des nucléotides d'ADN).
- ✓ Les **ADN polymérase III** (ou **enzyme cœur**): Elles sont responsables de la synthèse des fragments longs de l'ADN, ayant une vitesse de synthèse rapide
- Les ADN polymérase nécessitent un certain nombre de conditions d'activités :
 - ❖ Les 4 désoxy-ribo-nucléotides 5' tri-phosphate (dATP, dTTP, dCTP et dGTP) en quantité équimolaire.
 - ❖ Des ions magnésiums (Mg^{2+}) qui stabilisent l'ADN et les protéines.
 - ❖ Une matrice d'ADN (mono ou bicaténaire).
 - ❖ Une amorce d'ADN ou d'ARN ayant une extrémité 3'OH libre.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.2. Réplication de l'ADN

B) Les différentes protéines mise en jeu

- ❖ Les **protéines de reconnaissance** reconnaissent les sites d'initiation et de terminaison.
- ❖ Les **hélicases** (ou DNA B) déroulent la double hélice par rupture des liaisons hydrogènes présentes entre les deux brins de l'ADN, avec consommation d'**ATP**.
- ❖ Les **protéines SSB** (pour *single stranded binding protein*) ont une forte affinité pour l'ADN simple brin et l'empêche ainsi de se réenrouler lors de la migration des fourches répliquatives.
- ❖ La **primase** est une ARN polymérase ADN dépendante qui synthétise l'amorce d'ARN.
- ❖ Les **ADN ligases** (ou DNA G) attache les fragments d'ADN néosynthétisés appelés fragment d'Okazaki en catalysant la formation de la liaison phosphodiester, mais est incapable de placer les nucléotides. l'ADN ligase à donc besoin d'un apport en **ATP**.

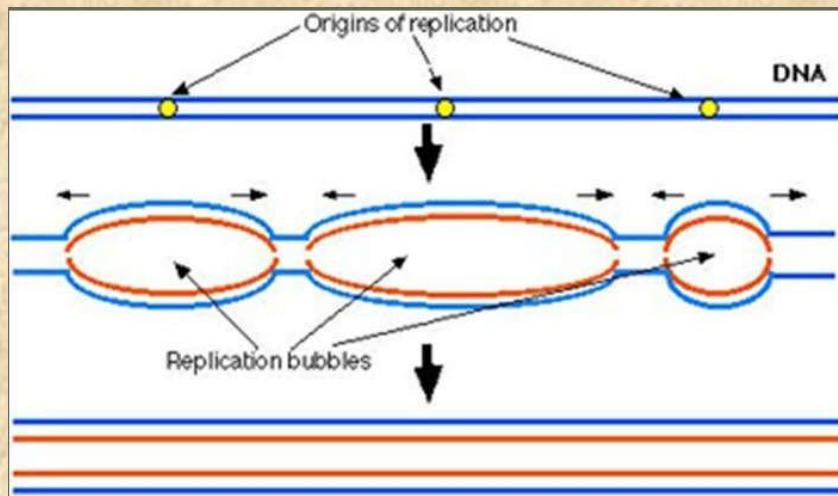
I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.2. Réplication de l'ADN

B) Les étapes de réplication: La réplication de l'ADN se fait en trois étapes

❖ **L'activation:**

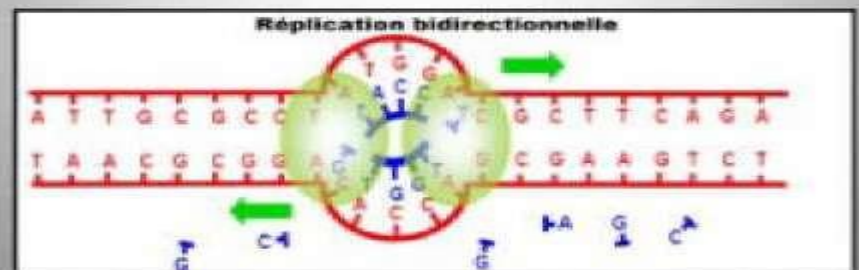
- À l'origine de réplication (100 à 200 pb), les enzymes (**Les hélicases**, responsable de dérouler l'ADN) se lient à l'ADN et séparent les deux brins pour former une bulle de réplication.
- L'ADN polymérase s'insère entre les deux brins et catalyse l'ajout de nucléotides complémentaires formant un nouveau brin d'ADN (cet endroit est la fourche de réplication),
- Chez les eucaryotes, les fourches de réplication se déplacent 10X plus lentement que chez les procaryotes



Etapes de la Réplication

A. L'Activation

À l'origine de réplication, l'hélicase se lie à l'ADN et sépare les deux brins pour former une bulle de réplication



I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.2. Réplication de l'ADN

B) Les étapes de réplication: La réplication de l'ADN se fait en trois étapes

❖ *L'élongation*

- L'ADN polymérase lie des nouveaux nucléotides seulement à l'extrémité 3' (-OH). Donc, l'élongation se passe dans la direction 5' à 3',
- Afin de maintenir les deux brins d'ADN séparés, des molécules nommées **protéines fixatrices d'ADN monocaténaire (protéines SSB)** se fixent sur chaque brin et les empêchent de se respiraliser,
- Une autre enzyme nommée **primase** synthétise une **amorce d'ARN** utilisé comme point de départ, une fois l'amorce terminée, l'ADN polymérase III s'y fixe et commence à ajouter des nucléotides d'ADN dans la direction 5' à 3'.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.2. Réplication de l'ADN

B) Les étapes de réplication: La réplication de l'ADN se fait en trois étapes

❖ *L'élongation*

- Sur le brin complémentaire, l'élongation doit aussi se passer dans la direction 5' à 3' mais pas en brin continu, une primase synthétise l'amorce d'ARN, l'ADN polymérase III s'attache à cette amorce et y ajoute des nucléotides d'ADN, au fur et à mesure que l'**hélicase** despiralise l'ADN, d'autres amorces sont synthétisées, chaque ADN polymérase III ajoute des nucléotides d'ADN jusqu'à ce qu'il rencontre une amorce d'ARN préalablement synthétisée, elle se détache alors et cède sa place à l'**ADN polymérase I** qui **remplace l'amorce d'ARN par des nucléotides d'ADN**, une fois ceci fait, une **ligase attache les fragments nommés des fragments d'Okazaki**.

- Le brin principal (**avancé**): répliqué dans le sens 5'-3' sans interruption, chez le brin secondaire (**retardé**): l'ADN polymérase ajoute des nucléotide à l'extrémité 3', ADN ligase colle les brins ensemble (catalyse la formation de liaisons phosphates entre les nucléotides)

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

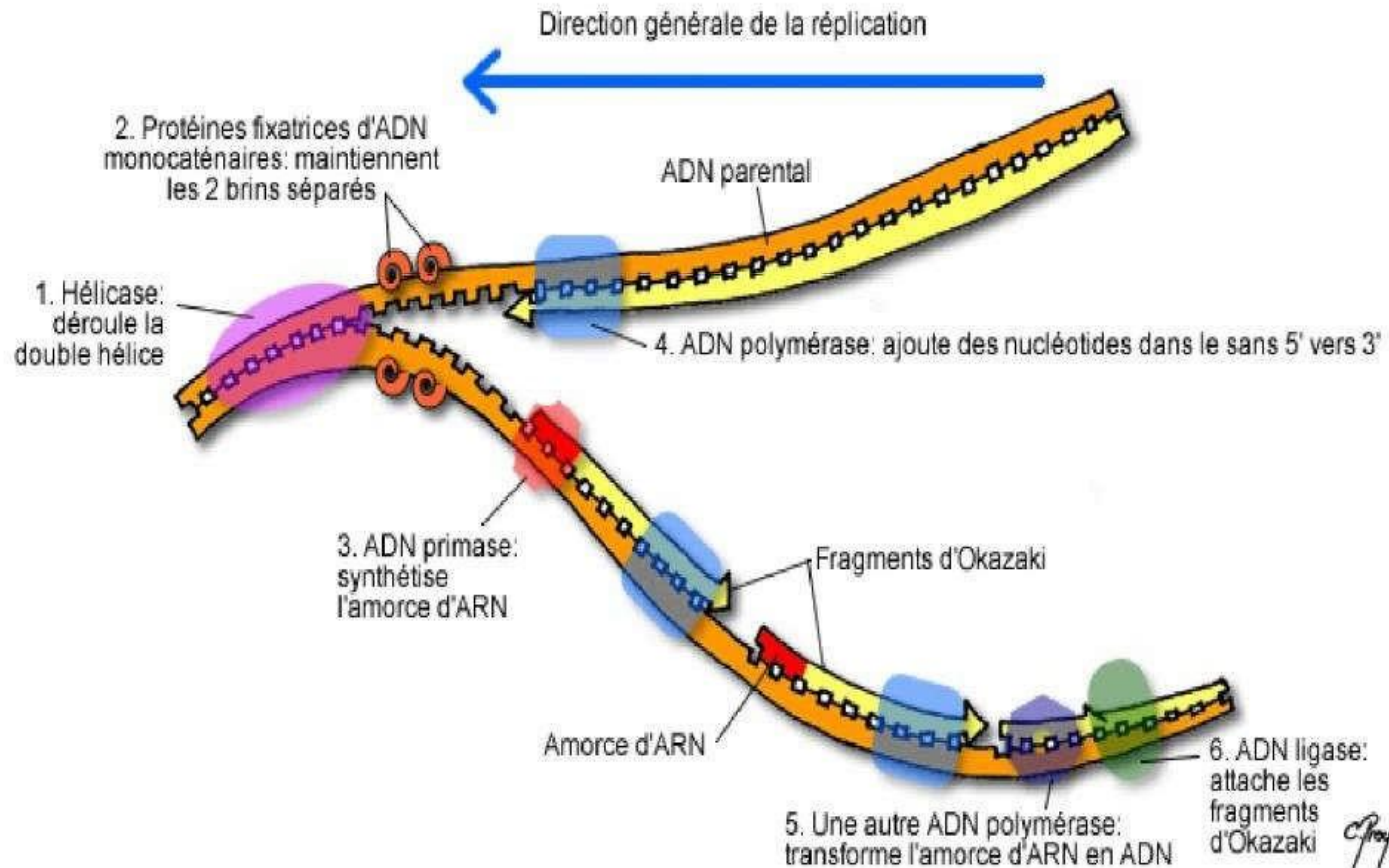
I.1.2. Réplication de l'ADN

B) Les étapes de réplication:

❖ *L'achèvement*

- À la fin de l'élongation deux nouvelles molécules filles sont (presque) terminées.
- Elles s'enroulent automatiquement dans leur structure hélicoïdale.

La replication d'ADN chez les procaryotes



I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

Réplication de l'ADN

C) Des erreurs aux conséquences limitées: réparation de l'ADN

- Lors de la réplication, des erreurs surviennent assez fréquemment. Mais l'ADN-polymérase est doué par ailleurs d'une fonction de **correction des erreurs**.
- Le dernier nucléotide mis en place est systématiquement contrôlé. S'il existe une erreur d'appariement, il est retiré puis remplacé par celui qui convient.
- La réplication de l'ADN est un **processus très fidèle**. Grâce aux mécanismes de correction, le taux d'erreur est faible. Il est estimé à un pour un milliard, et correspond à près de deux mutations par cellule fille pour l'espèce humaine.
- Pourtant, les individus mutants sont rares car une grande partie de l'ADN des cellules eucaryotes ne code pour aucune protéine. De plus, dans la mesure où le code génétique est dégénéré (ou redondant), il existe des mutations neutres, sans conséquence sur la structure et donc sur la fonction des protéines synthétisées.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

L'expression des gènes

- Processus entier qui permet le décodage de l'information portée par un gène donnée. Cette information qui sera traduite en protéine.

I.1.3. 1. Transcription = La Copie d'ADN en ARN

- La transcription est le premier processus de régulation utilisé par les cellules, tissus et organismes pour faciliter et contrôler les programmes complexes de l'expression génétique, le métabolisme cellulaire, et le développement des tissus et les organes.
- L'information génétique est stockée dans l'ADN. Cependant, l'expression de cette information génétique nécessite le passage de l'ADN à l'ARN, puis aux protéines (transcription, traduction). On appelle transcription la synthèse de brin d'ARN dont la séquence est dictée par celle de la molécule d'ADN correspondante.
- Les trois principaux types d'ARN connus sont:
 - **ARN messager (ARNm) : Spécifie les codons**
 - **ARN de transfert (ARNt): Spécifie les anticodons**
 - **ARN ribosomique (ARNr): Constituant de ribosomes et impliqué dans la synthèse des protéines.**

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription

- Chez les procaryotes ces ARN sont synthétisées par une seule ARN polymérase.
- Chez les eucaryotes elles sont synthétisées par trois types de polymérases,
 - ✓ ARN pol I,
 - ✓ ARN pol II, et
 - ✓ ARN pol III (tab. 1).
- La réaction nécessite:
 - ✓ Un brin d'ADN qui sert de modèle,
 - ✓ Les nucléosides,
 - ✓ Trois phosphate (ATP, GTP, CTP, UTP) et
 - ✓ Mg⁺⁺.

Tab.1: Les ARN polymérases chez les cellules eucaryotes

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

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription

- **Gène:** Le gène est l'unité fonctionnelle de l'information génétique. Il est constitué d'un ensemble de nucléotides qui contient toutes les informations nécessaires pour transcrire un ARNm.
- **ARNm:** Une succession de nucléotides sous forme de long filament à un seul brin. C'est un vecteur du message dictant la séquence des protéines entre chaque gène et la protéine correspondante.
- **Promoteur:** Site sur l'ADN d'une centaine de bases auquel l'ARN polymérase (ainsi que les facteurs d'initiation requis) se fixe pour commencer la transcription.

- **ARN polymérase:** L'ARN polymérase 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 nucléotides corrects et catalyse la formation des liaisons phosphodiester.
 - ✓ Elle détecte les signaux de terminaison.
 - ✓ Elle interagit avec les protéines de régulation de l'expression génétique (activateurs, répresseur).

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription

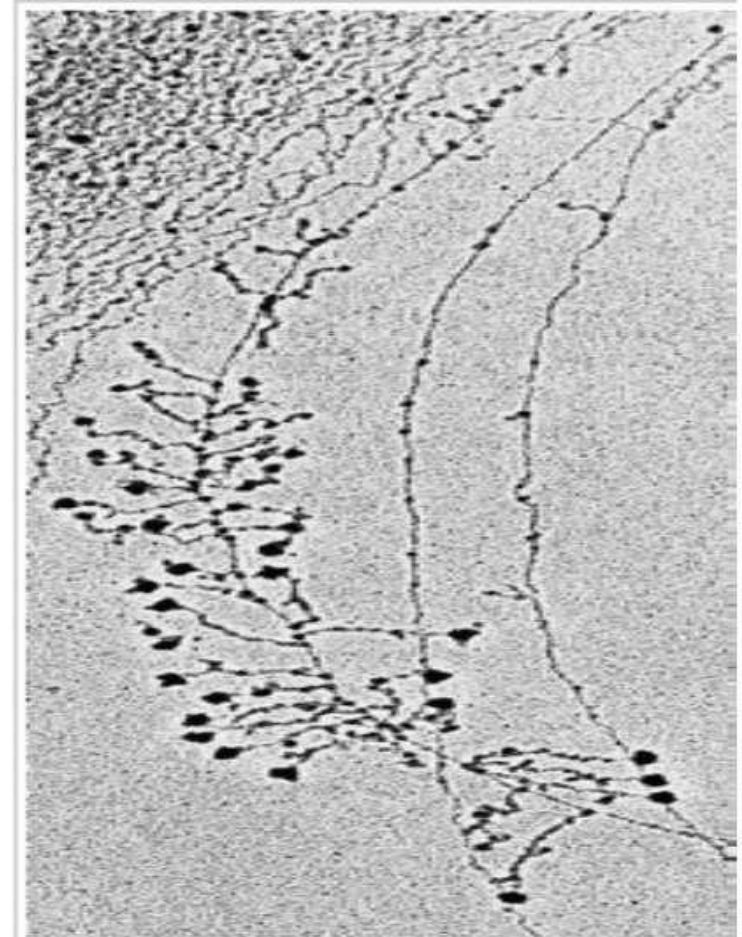
Visualisation de la transcription

Le processus de la transcription peut être visualiser par microscopie électronique (première fois en 1970)

Les molécules d'ADN: filaments

Les molécules d'ARN: Branches

L'ADN est double brin et seulement un des brins sert comme matrice pour la transcription: le brin non codant
Le brin complémentaire (qui ne sert pas de matrice): brin codant



I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription

Le processus de la transcription

1^{ère} étape de synthèse d'une protéine = copie du gène (ADN) en une molécule d'ARN

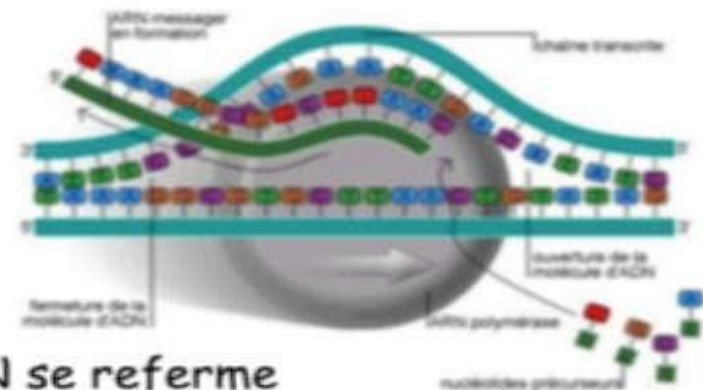
➤ **Assurée par l'ARN polymérase**

- Nécessite ADN double brin (matrice), des précurseurs (ribonucléosides triphosphates: ATP, GTP, UTP et CTP) et pas d'amorce
- Formation des liaisons phosphodiester entre les ribonucléotides dans la direction 5' - 3'
- Un seul brin servira à la synthèse d'ARN

➤ **Déroulement en 3 étapes:**

Initiation, élongation, terminaison

- L'ARNm se détache et la molécule d'ADN se referme



I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription

1- Initiation

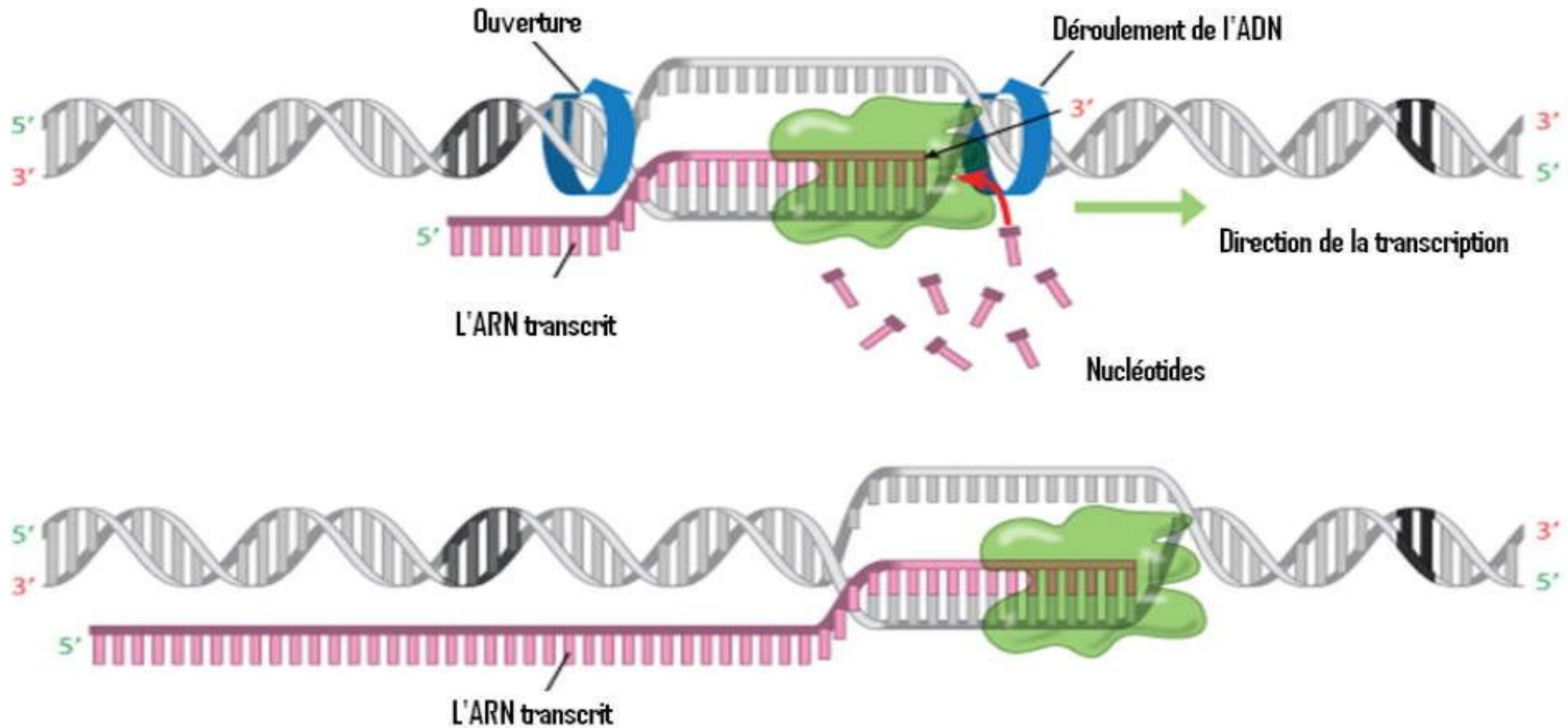


Le processus de transcription est initié quand l'ARN polymérase se fixe sur un ADN modèle au niveau d'un promoteur

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription

2- Elongation



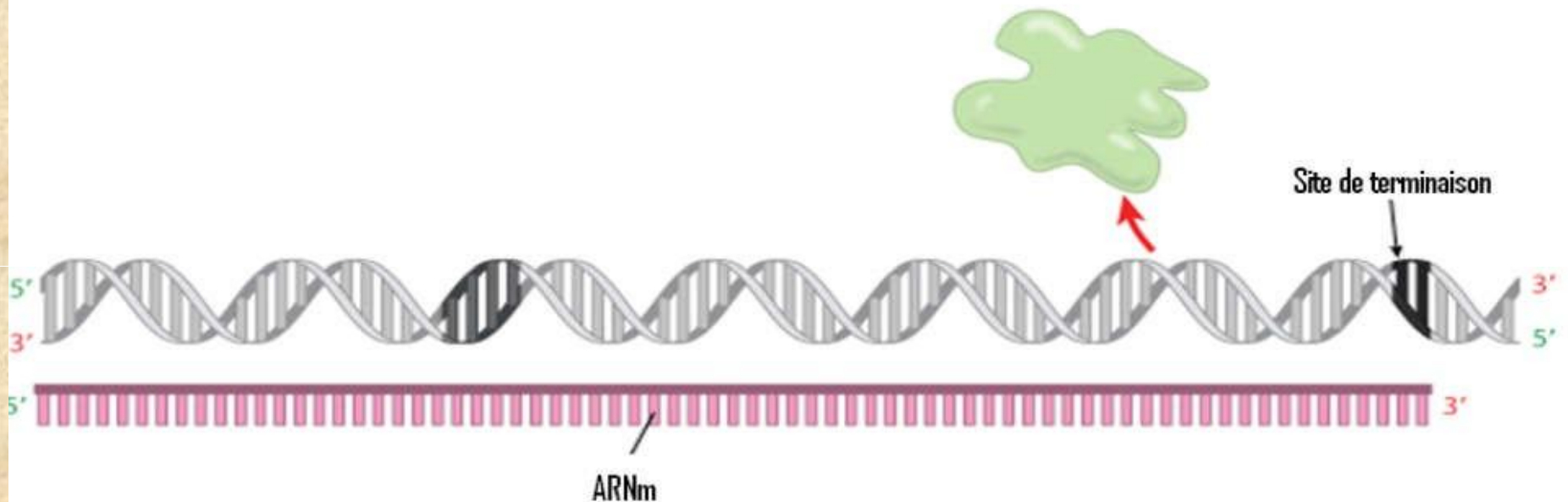
L'ADN double brin se dénoue.

L'ARN polymérase fait la lecture de l'ADN matrice et ajoute les nucléotides à l'extrémité 3' d'un ARN croissant

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription

3- Terminaison



Arrêt de la transcription

Quand l'ARN polymérase rencontre une séquence de terminaison au niveau du brin d'ADN matrice:

- Relâchement de l'ARNm et de l'ARN polymérase (du complexe)

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription

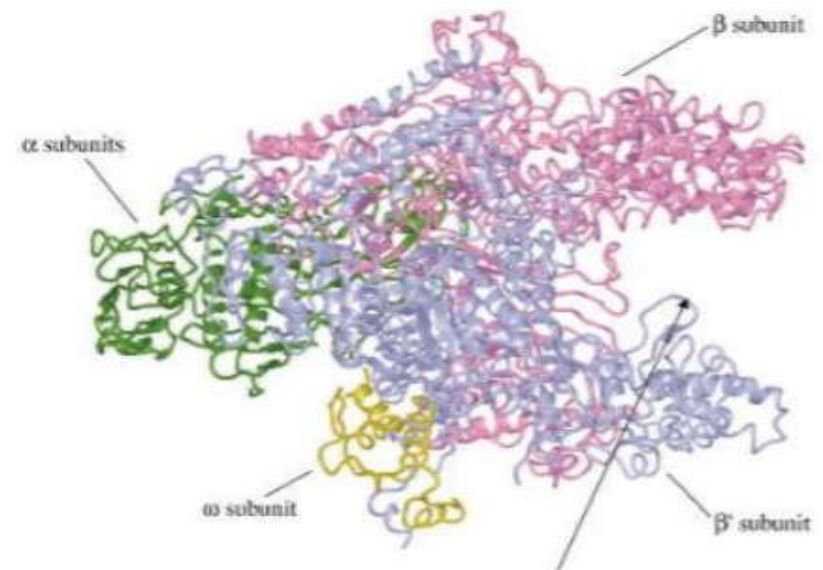
Les ARN polymérases

Chez les procaryotes Une seule ARN polymérase

Le core de l'enzyme est un complexe protéique multimérique: 4 sous-unités α_2 , β , β' et ω ($\alpha_2\beta\beta'\omega$).

L'association du facteur σ au core de l'enzyme = holoenzyme ($\alpha_2\beta\beta'\omega\sigma$)

- La sous unité β assure la liaison à l'ADN.
- La sous unité β' possède le site actif de la polymérase
- Les 2 sous unité α permettent l'assemblage des autres sous unités
- La sous unité ω rétablit la fonctionnalité de l'ARNp dénaturée in vitro
- Intervention du facteur σ pour la reconnaissance du site d'initiation.



Site de liaison à l'ADN et polymérisation de l'ARN

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription

Les ARN polymérases

Chez les eucaryotes

4 types d'ARN polymérase

- ✓ **RNA-polymérase I** qui synthétise les RNA cytoplasmiques : RNA ribosomiques (18S- 5,8S- 28S)
- ✓ **RNA-polymérase II** qui synthétise les RNA messagers certains des snRNA
- ✓ **RNA-polymérase III** qui synthétise les petits RNA (tRNA, rRNA 5 S, snRNA, 7SL-RNA).
- ✓ **RNA-polymérase IV** spécialisé dans la transcription de l'ADN mitochondrial et la synthèse de l'hétérochromatine chez les plantes

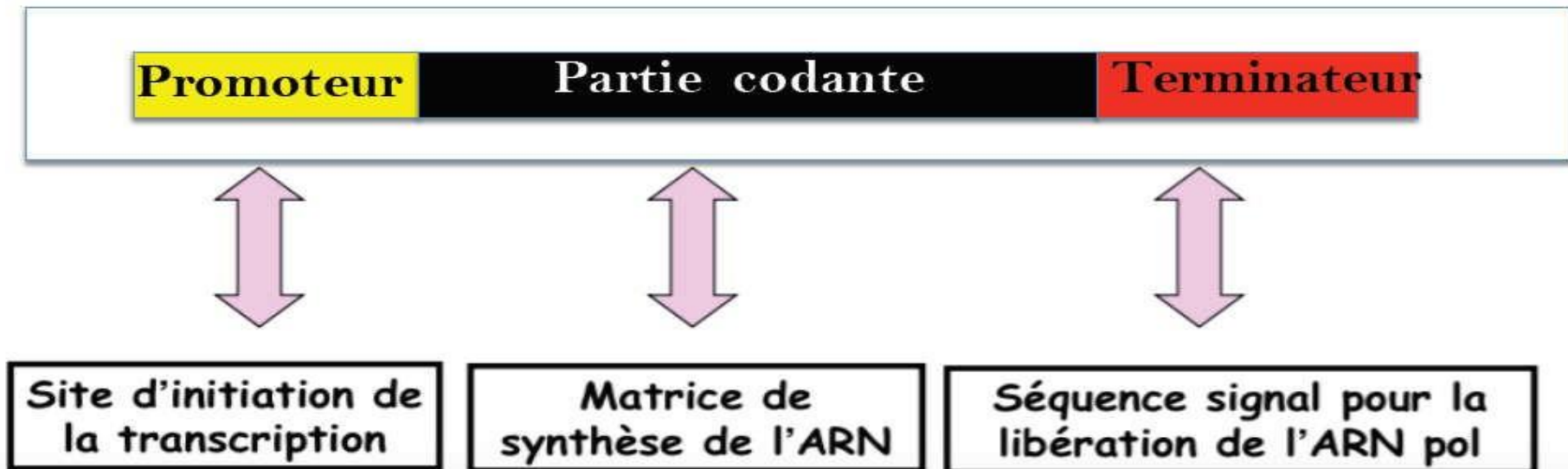
I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les procaryotes)

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



I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les procaryotes)

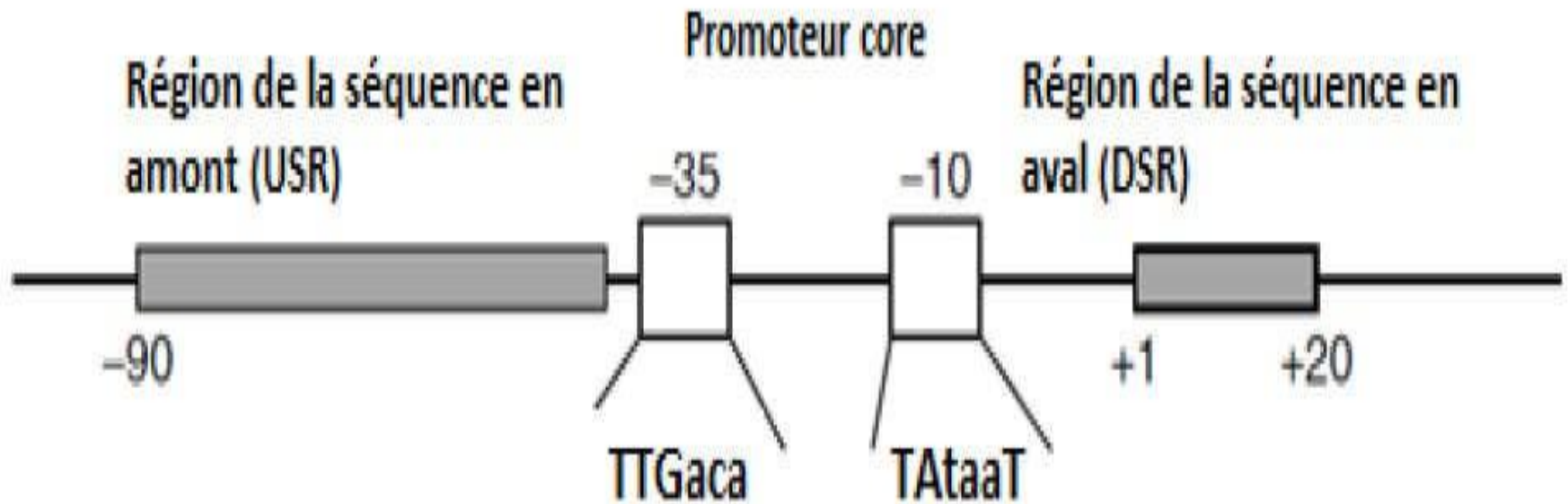


Fig. : Structure du promoteur bactérien.

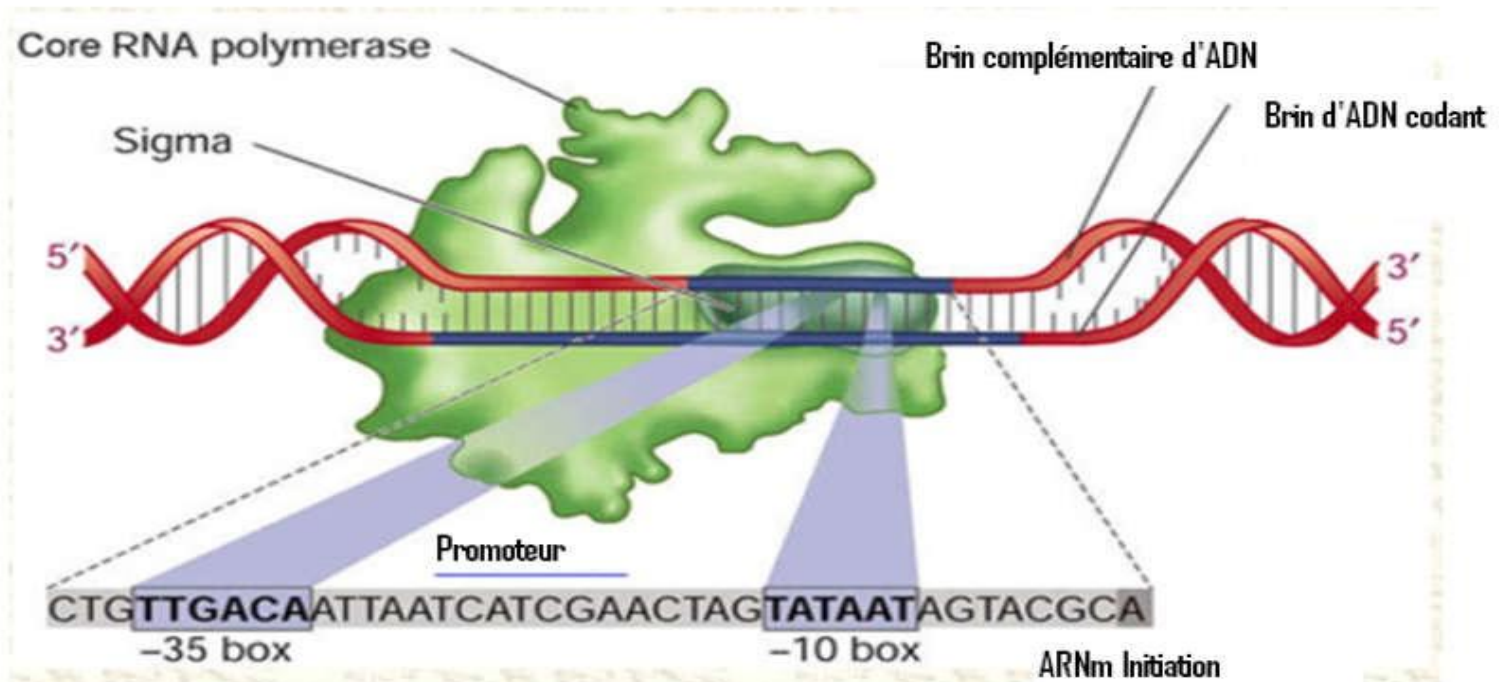
I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les procaryotes)

1. Initiation

A- Transcription chez les procaryotes

L'initiation de la transcription nécessite que la sous-unité sigma σ de l'ARN polymérase se fixe sur l'oligomère $\alpha_2\beta\beta'$ « Core-enzyme » pour former l'holoenzyme $\alpha_2\beta\beta'\sigma$.

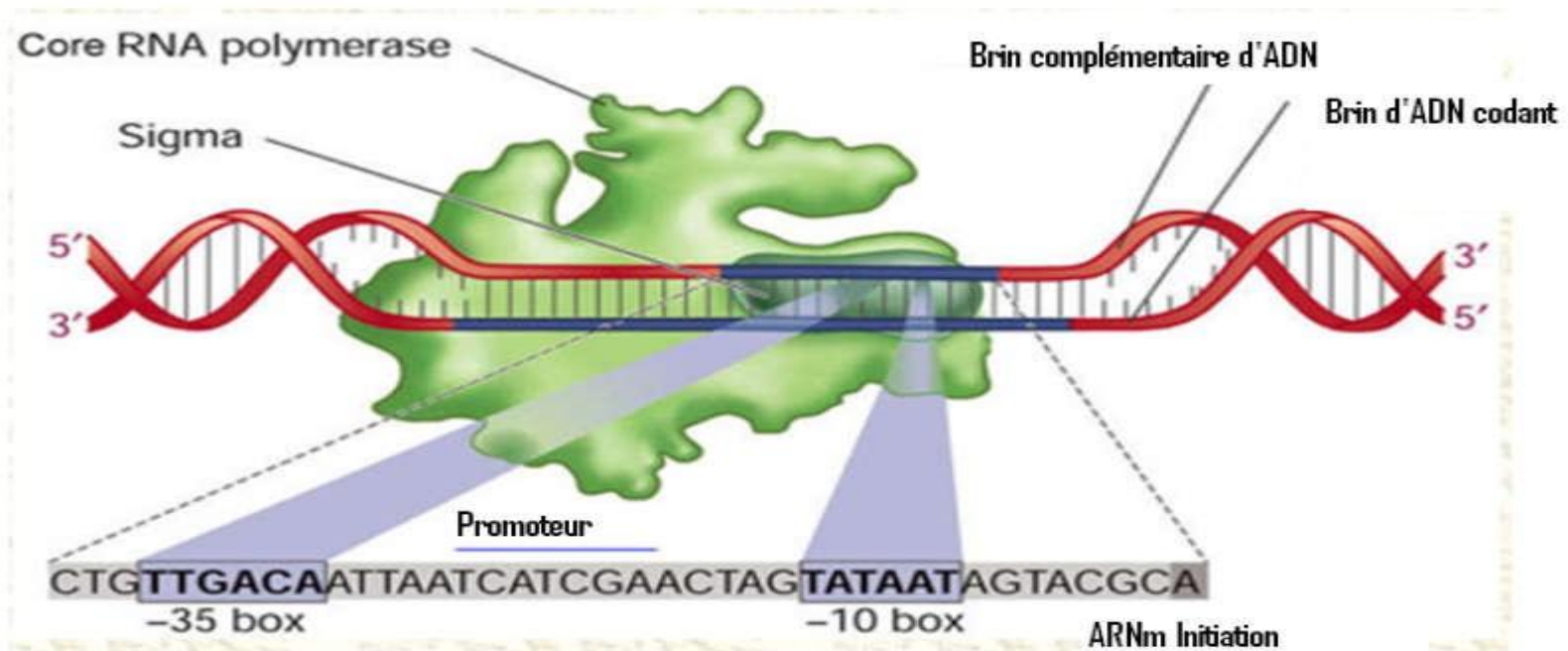


I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription

1. Initiation

- Fixation non spécifique du complexe à l'ADN moyennant la sous-unité sigma
- Déplacement jusqu'au promoteur entre les séquences:
 - Boite TATA située à -10 pb (Pribnow box)
 - TTGACA située à -35 p



I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les procaryotes)

1. Initiation

Cette étape initiale est appelée "fixation sur le brin matrice". Chez les bactéries, 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 (fig.).

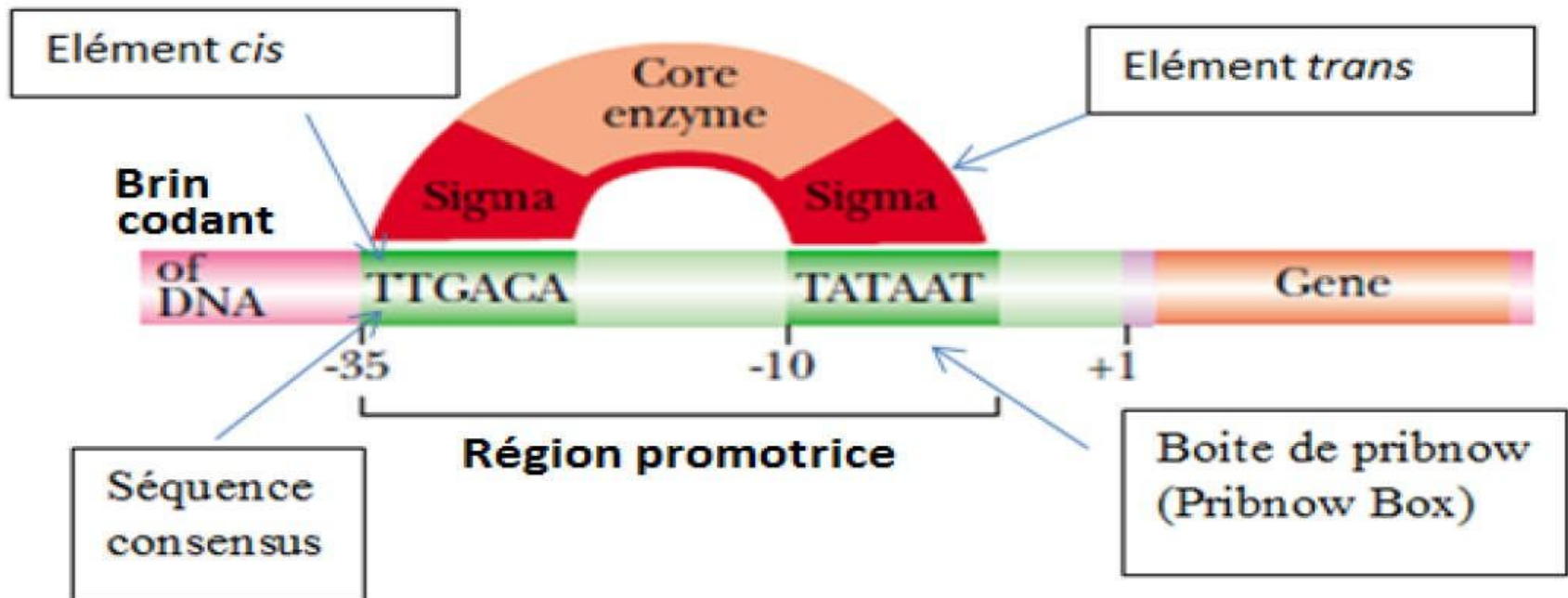


Fig. : Interaction entre l'ARN polymérase et le promoteur bactérien (Clark, 2005).

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les procaryotes)

❖ Séquences consensus

Dans les promoteurs bactériens deux séquences ont été détectées:

- **TATAAT**: Localisée 10 nucléotides en amont du site d'initiation de la transcription (région -10, ou Pribnow Box)
- **TTGACA** : Localisée 35 nucléotides en amont du site d'initiation de la transcription (région -35).
- Ces séquences sont appelées "**éléments agissant en cis**" (sur le même côté de la molécule d'ADN dans le gène lui même). Contrairement aux "**facteurs agissant en trans**" qui sont des molécules qui se fixent à ces éléments d'ADN.

• Une séquence consensus comparable à celle de la région -10 a été identifiée dans la plupart des gènes eucaryotes étudiés. Elle est appelée boîte TATA (TATA Box).

❖ Éléments trans

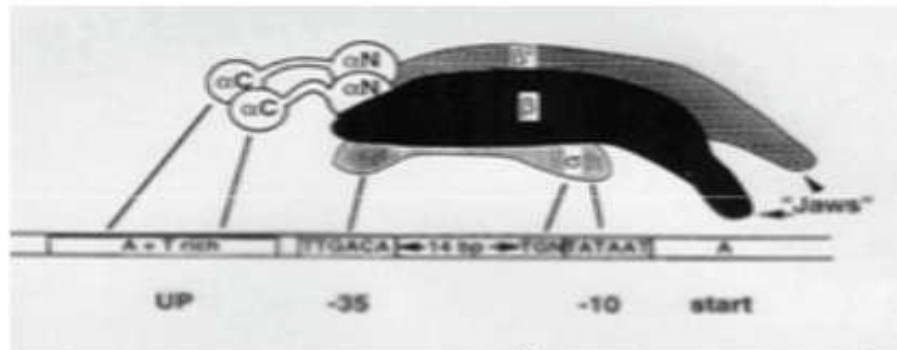
- Ces éléments trans reconnaissent les séquences consensus de différents promoteurs et permettent une spécificité de l'initiation de la transcription. Cela permet de contrôler leur expression.
- Une fois qu'elle a reconnu le promoteur, et qu'elle s'y fixe, l'ARN polymérase catalyse l'initiation, c'est-à-dire l'insertion du premier NTP du site d'initiation du brin d'ADN matrice (aucune amorce n'est nécessaire). *Ce processus se poursuit dans la direction 5' : 3', créant un duplexe ADN-ARN temporaire de 8 pb.*

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les procaryotes)

Initiation de la polymérisation et rôle du facteur sigma :

- ❑ Assure la reconnaissance des séquences clé du promoteur
- ❑ Positionne l'ARNp sur le promoteur qui l'oriente dans une direc
- ❑ Facilite l'ouverture de la double hélice

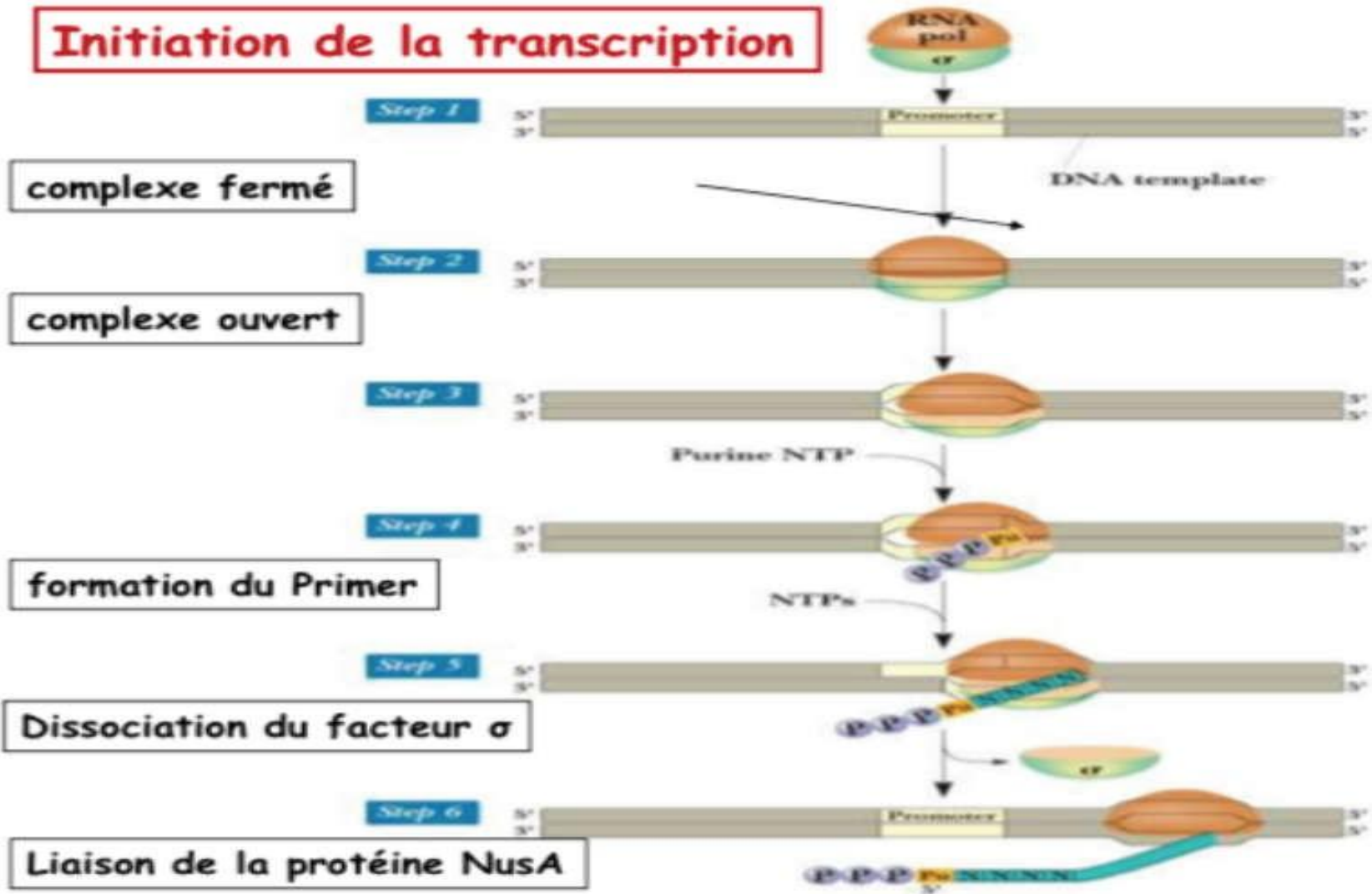


- ❑ Association de 7 ou 8 ribonucléotides sous forme d'un polymère hybridé au brin matrice ADN
- ❑ Forte affinité de l'ARNp avec l'hybride ADN/ARN d'où décrochage du facteur sigma et liaison de la protéine NusA permettant la stabilisation de l'enzyme

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les procaryotes)

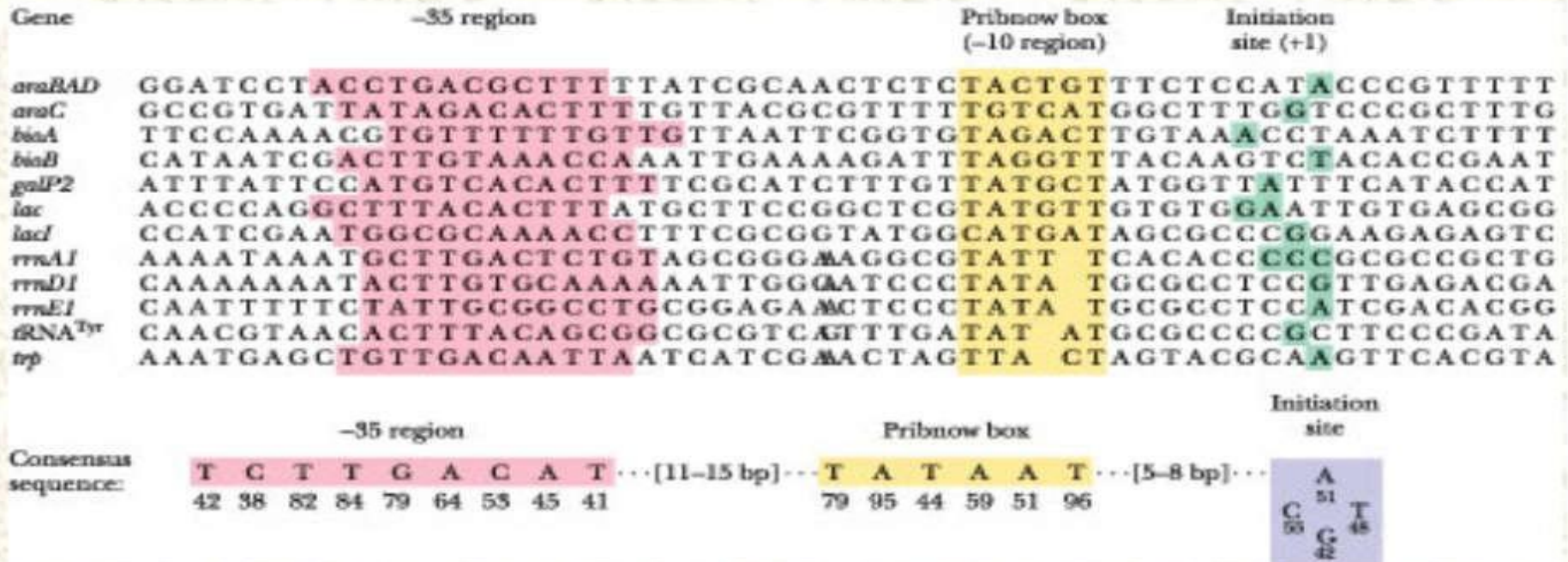
Initiation de la transcription



I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les procaryotes)

1. Initiation



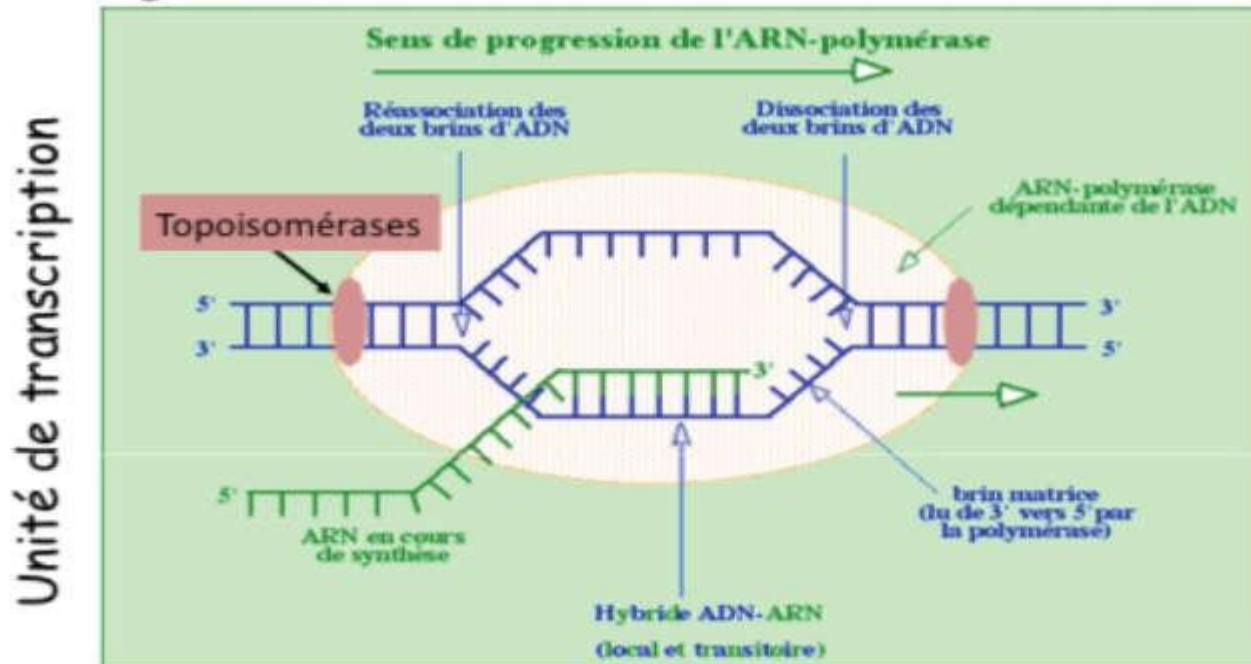
Chez *E.coli*, 7 facteurs sigma qui reconnaissent des séquences différentes

- Sigma de la famille 70: σ^{70} standards (reconnaît 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

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les procaryotes)

2 - Élongation de la chaîne d'ARN:



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



• Unité de transcription mono ou polycistronique

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les procaryotes)

3. Terminaison: Processus conduisant la dissociation des sous unités de l'ARNp après rencontre des signaux de terminaison:

Deux mécanismes:

- ❖ Terminaison « Rho-indépendante » : Termineurs intrinsèques
- ❖ Terminaison « Rho-dépendante » : Dépend de la présence d'une protéine rho

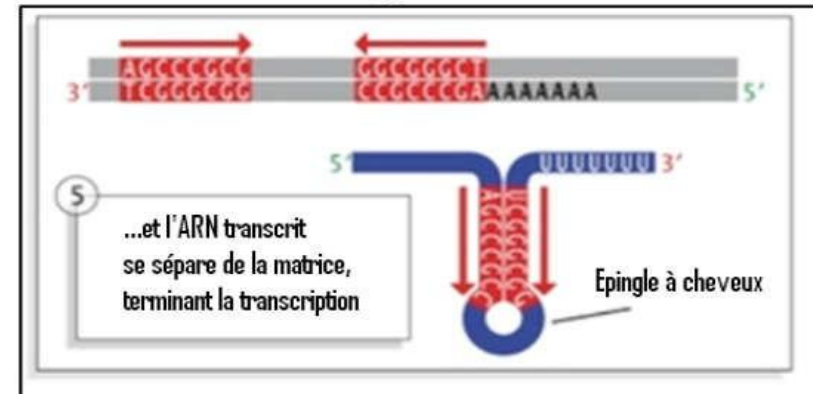
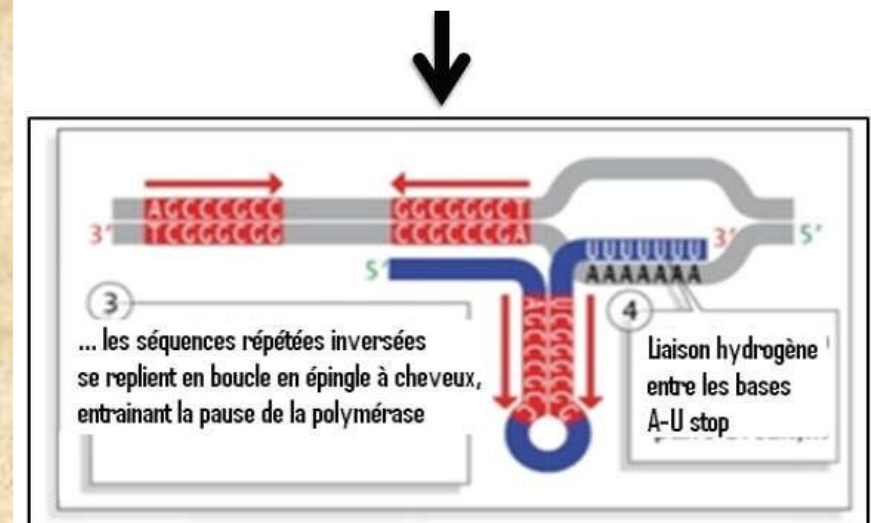
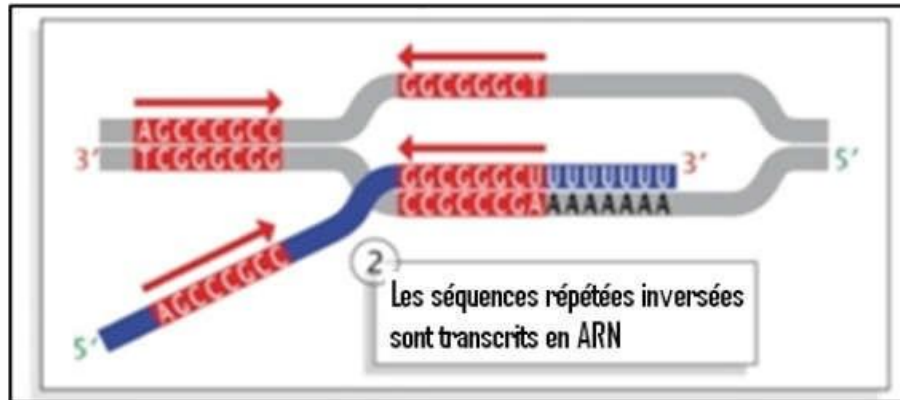
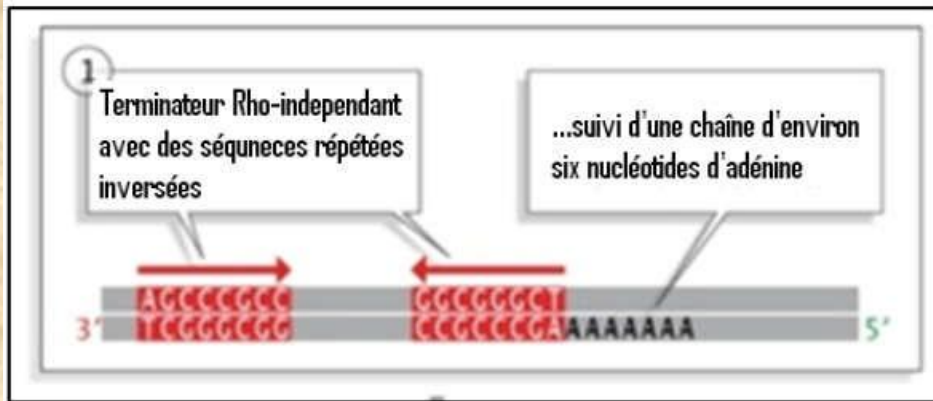
a. Terminaison Rho-indépendante ou intrinsèque

- Au niveau d'une séquence répétée inversée située après la partie codante et riche en G-C et suivie de 6A
- Formation d'une structure en épingle à cheveux dans l'ARN transcrit et bloque la transcription.
- Rupture des liaisons entre le brin complémentaire néo-synthétisé polyU et le brin complémentaire poly-U et libération du brin d'ARN de l'ADN matrice.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les procaryotes)

3. Terminaison: « Rho-indépendante »



I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les procaryotes)

3. Terminaison: Processus conduisant la dissociation des sous unités de l'ARNp après rencontre des signaux de terminaison:

Deux mécanismes:

- ❖ Terminaison « Rho-indépendante » : Termineurs intrinsèques
- ❖ Terminaison « Rho-dépendante » : Dépend de la présence d'une protéine rho

b. Terminaison Rho-dépendante

- Transcription en épingle à cheveux d'une courte séquence d'ADN riche en paires G-C suivie de plusieurs U, et arrêt de l'ARN polymérase.
- Fixation sur l'ARN d'une **protéine de terminaison appelée Rho** et le complexe d'élongation est dissocié.
- Libération du brin néo-synthétisé du brin d'ADN matrice.
- Enroulement de l'ARN autour de la protéine Rho au niveau d'une région d'environ 70 nucléotides (jusqu'à 100 nucléotides)

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les procaryotes)

3. Terminaison: « Rho- dépendante »

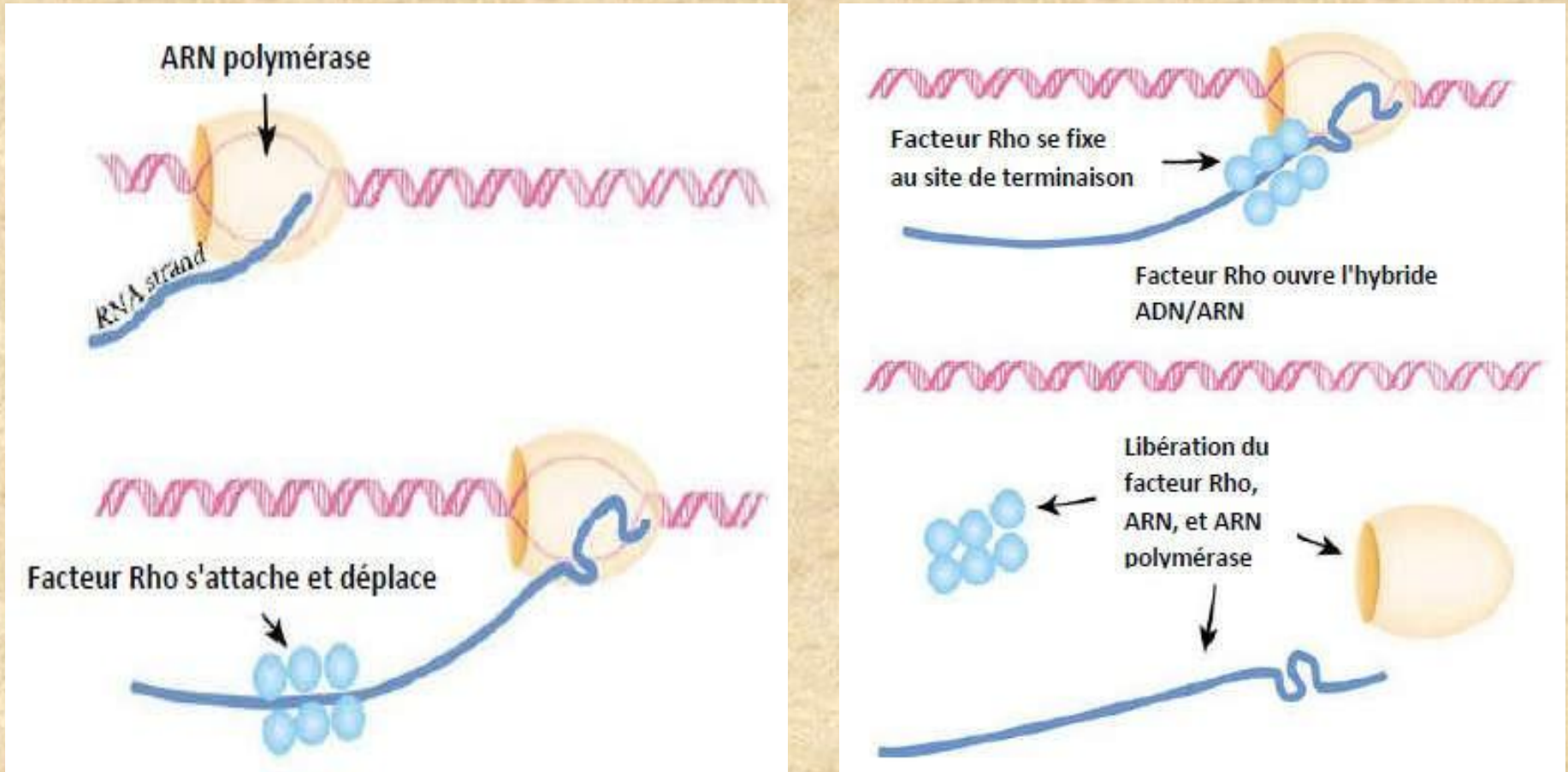


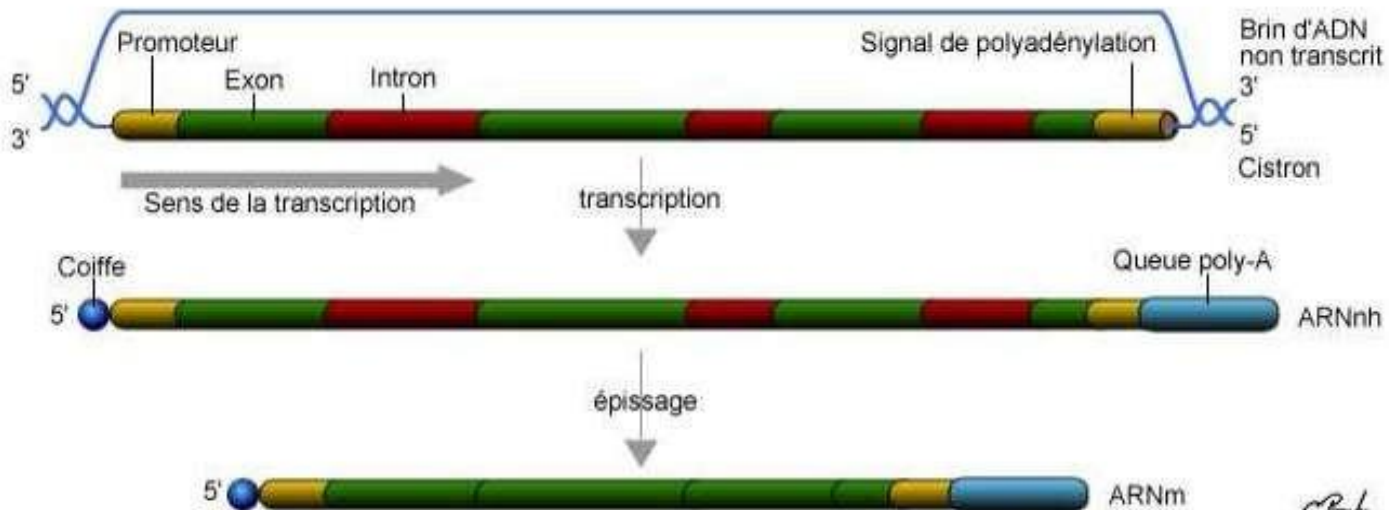
Fig.: Terminaison de la transcription chez les bactéries par le facteur *Rho*(Clark, 2005).

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les eucaryotes)

Particularités du génome des eucaryotes

- Diploïde
- Éclaté ou en mosaïque: introns et exons
- Expression compartimentée
- Unité de transcription est monocystronique



C. Profx

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les eucaryotes)

Différences entre la transcription chez les eucaryotes et les procaryotes

❖ *Localisation cellulaire :*

- Chez la bactérie, elle s'effectue dans le cytoplasme.
- Chez les eucaryotes, elle s'effectue dans le noyau cellulaire.

❖ *ARN polymérase :*

- Chez les procaryotes : 1 seule.
- Chez les eucaryotes : 3: I, II et III

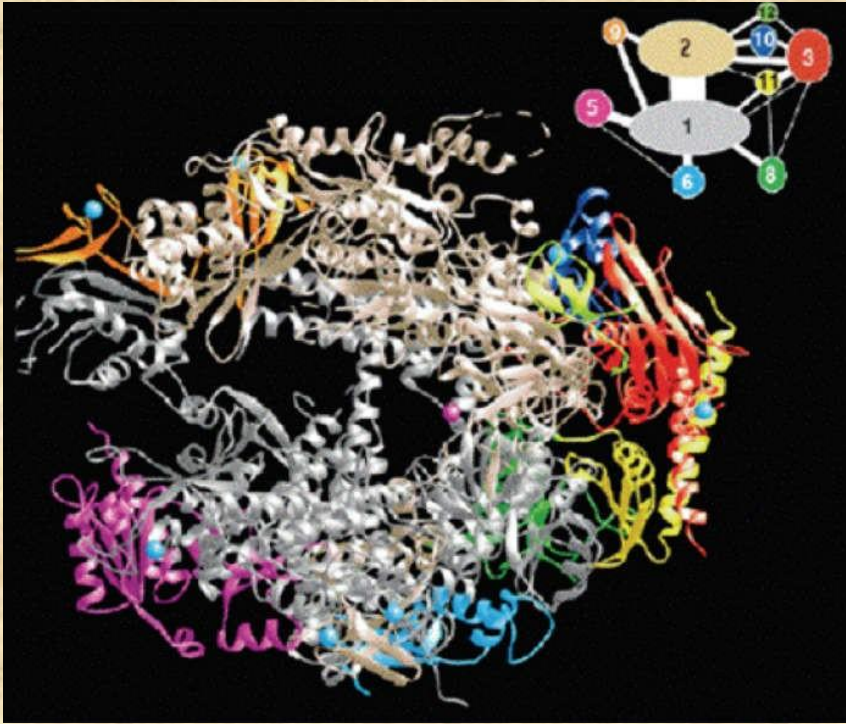
❖ Chez les eucaryotes uniquement : *événement de maturation* d'un précurseur d'ARN, qui est *appelé transcrit primaire* et qui nécessite des modifications pour devenir mature donc fonctionne

❖ *Initiation de la transcription:*

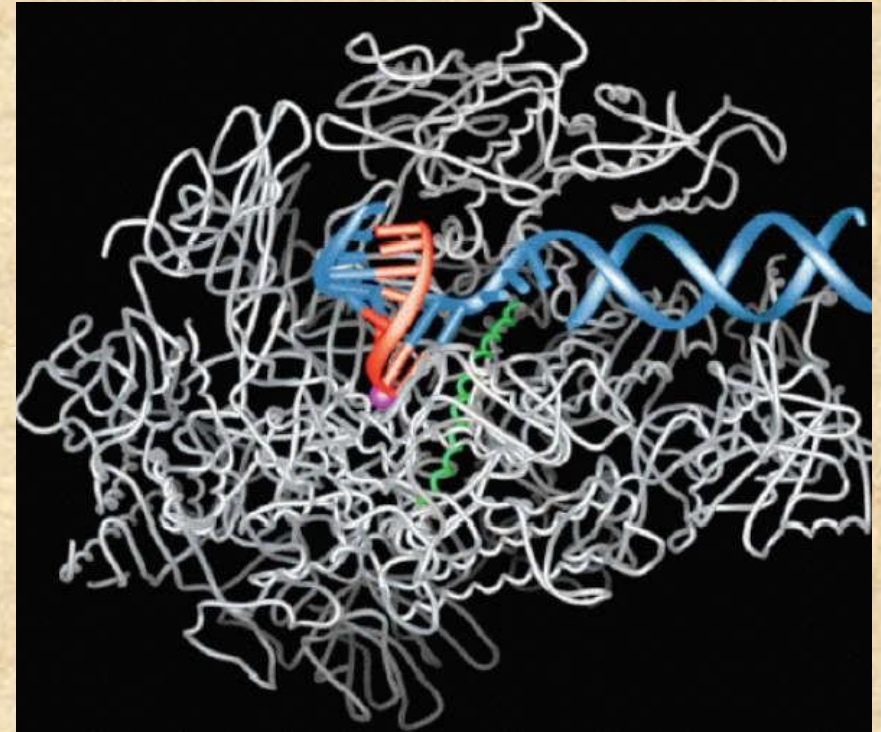
Chez les eucaryotes, elle nécessite plusieurs facteurs d'initiation (facteurs généraux de transcription (FGT: TFII A, TFII B, TFII D (TBP, TAF), TFII E, TFIIH).

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les eucaryotes)



La structure de l'ARN polymérase II à une résolution de 2,8 Å.



En blanc, l'ARN polymérase II; En bleu, la double Hélice d'ADN; En rouge, L'ARN en cours de formation; En vert, la structure qui fait avancer le brin d'ADN dans l'enzyme.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les eucaryotes)

L'ARN polymérase III Par Cryo-microscopie électronique (2007) on a obtenue la structure tridimensionnelle de l'ARN polymérase .

- Présence de cinq sous-unités supplémentaires qui interviennent dans la transcription (étapes initiale et finale).
- Les sous-unités assurent la fixation des facteurs de transcription et la reconnaissance de l'ADN.



I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les eucaryotes)

L'initiation de la transcription chez les Eucaryotes

Elle est plus complexe chez les eucaryotes car les ARN polymérases ne reconnaissent pas directement leurs séquences promotrices :

→ 5 facteurs de transcription généraux (Transcription Factor) :

TFII-B, TFII-D, TFII-E, TFII-F et TFII-H)

doivent d'abord médier la fixation des ARN polymérases et l'initiation de la transcription.

Le complexe complet [*ARN polymérase - facteurs de transcription - séquence ADN du promoteur*] est appelé **complexe de pré-initiation de la transcription**.

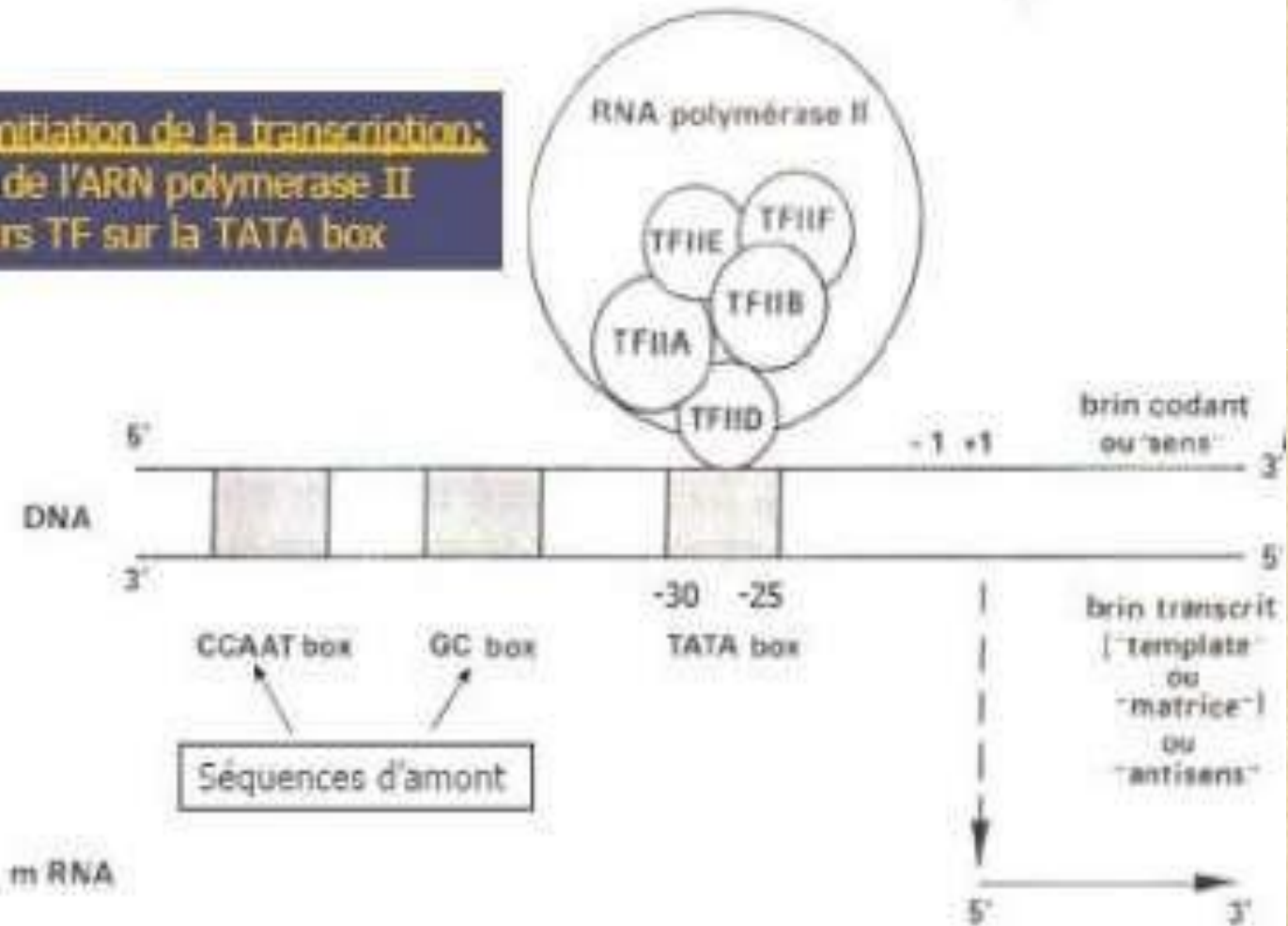
Ce complexe assure :

- *le chargement précis de l'ARN polymérase II (Pol II) sur le bon site de démarrage de la transcription*
- *la déshybridation (ouverture) de l'ADN au niveau du promoteur*
- *le relarguage de Pol II du promoteur*

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les eucaryotes)

**Complexe d'initiation de la transcription:
assemblage de l'ARN polymérase II
et des facteurs TF sur la TATA box**



I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les eucaryotes)

Elongation:

- l'élongation des ARNm par ARN POL II s'accompagne d'une **maturation du transcrit**.
- Certains événements de cette maturation s'effectuent en même temps que la transcription (dans le noyau cellulaire).
- La maturation comprend à la fois la **modification covalente des extrémités 3' et 5' de l'ARN messenger** et le **retrait des introns grâce au mécanisme d'épissage**.
- La séquence transcrite d'un gène est composée de séquences introniques et exoniques. De manière générale, la plupart des séquences exoniques seront exprimées, donc traduites en séquence protéiques, sauf les régions 5'UTR et 3'UTR qui ne seront pas traduites. Tandis que les introns seront transcrits mais non traduits.
- Lors de la transcription, toute la séquence est transcrite en ARN pré messager (ou précurseur).
- C'est seulement **après maturation qu'on aura un ARN messenger mature**, où il y aura eu des modifications covalentes des extrémités en 3' et en 5' ainsi que le retrait des séquences introniques.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les eucaryotes)

Elongation:

Ajout de la coiffe en 5' (= cap)

- **La coiffe est présente sur tous les ARNm eucaryotes (qui proviennent de la transcription par l'ARN POL II uniquement).**
- Il s'agit d'une modification covalente qui se fait dans le noyau au cours de l'élongation par l'ARN pol II.
- Cette coiffe se met en place dès le début de la transcription, après 20 à 30 ribonucléotides incorporés dans l'ARN en cours de synthèse, en 5' du transcrit primaire.
- ***La coiffe a pour rôle de permettre :***
 - La distinction (au niveau de la cellule) entre les ARNm et les autres ARN
 - L'export dans le cytoplasme de l'ARNm pour traduction
 - Le recrutement de la petite sous-unité du ribosome à l'extrémité 5' permettant l'initiation de la traduction.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

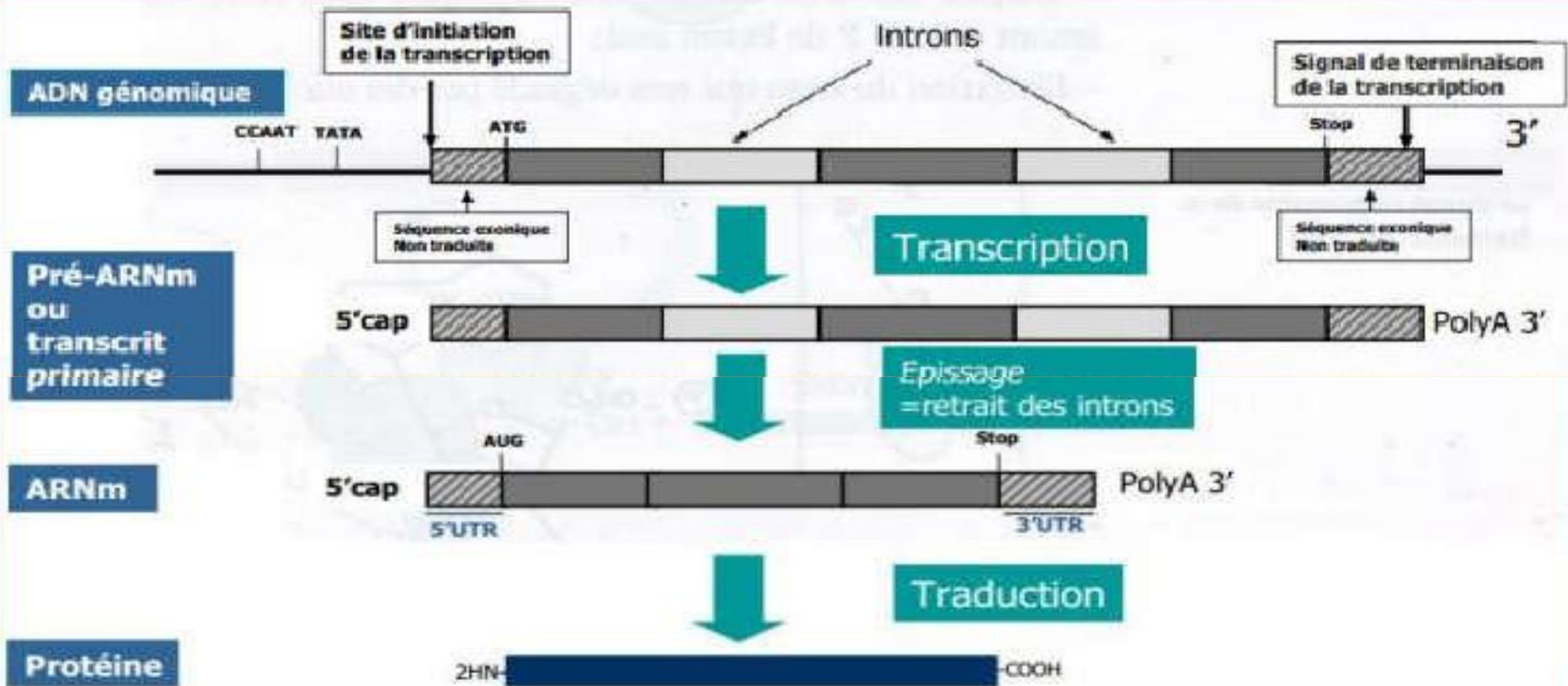
I.1.3. 1. Transcription (chez les eucaryotes)

Terminaison: La queue poly(A) :




- Pour arrêter la transcription chez les eucaryotes, il existe une séquence signal de terminaison de transcription aussi appelée **séquence signal de polyadénylation**.
- L'ARN POL II lit cette séquence et **la transcrit en ARN**. On aura donc une séquence dans le sens 5' à 3' qui sera **AAUAAA**. Donc cette séquence provient de l'ADN génomique.
- Des protéines spécifiques s'associent à la séquence transcrite du signal de terminaison de transcription.
- Ceci induit ensuite l'activité d'une ribonucléase spécifique qui clive (coupe) la chaîne du pré-ARNm en cours de synthèse.
- Très rapidement, la **polyadénylate** polymérase ajoute par polymérisation une succession de A (200 à 250) en 3'OH de cet ARNm : **c'est la queue poly(A)**.
- Elle ne provient pas de la séquence présente sur l'ADN génomique.
- Sur ces queues poly(A) peuvent aussi se fixer des protéines : les poly(A)-Binding proteins. Elles jouent plusieurs rôles :
 - Dans la reconnaissance des ARNm,
 - Dans l'exportation hors du noyau.
 - Et probablement un rôle de protection de l'ARNm lors de la traduction.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les eucaryotes)



Légende :

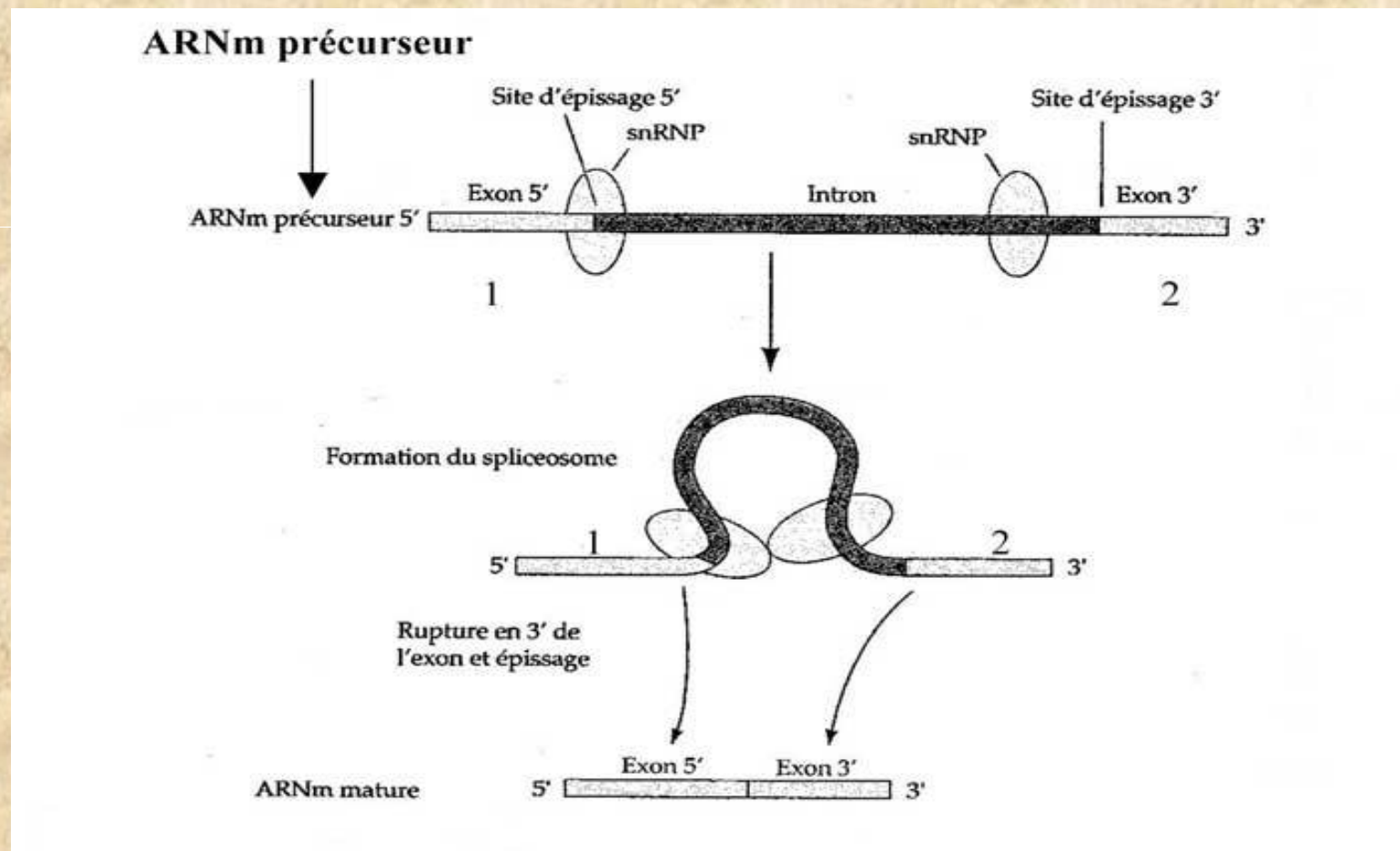
-  Séquences exoniques non traduites
-  Séquences exoniques traduites
-  Introns
- 5' UTR et 3'UTR:** Régions 5' et 3' de l'ARNm non traduites (UTR=UnTranslated Region)

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les eucaryotes)

maturation

Épissage: Il s'agit d'un mécanisme qui aboutit à l'excision des introns et à la ligation des exons, pour aboutir à un ARN fonctionnel et mature.



I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les eucaryotes)

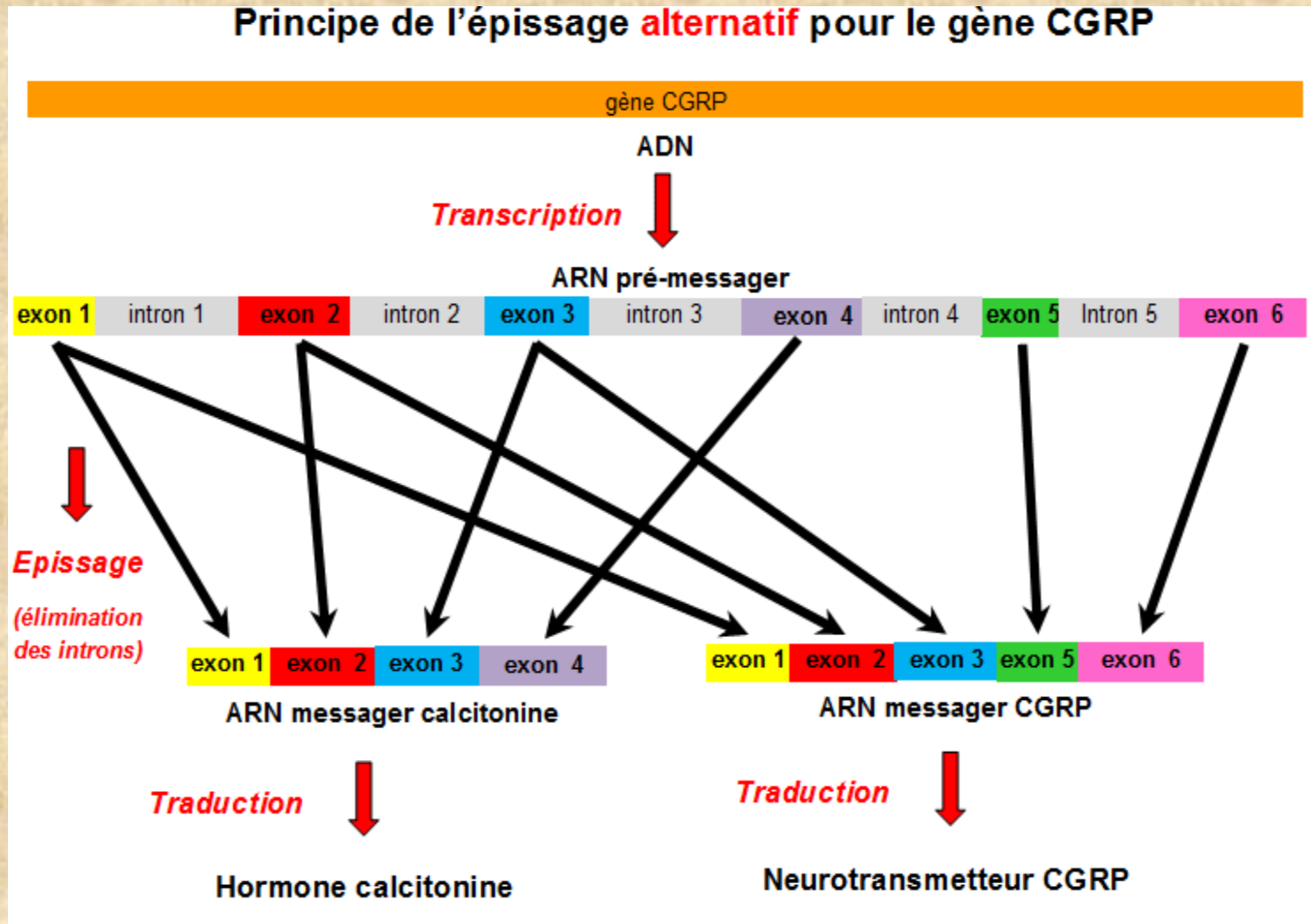
Maturation différentielle des ARNm eucaryotes

- ❖ Chez les eucaryotes, il peut y avoir **une maturation différentielle**: Un **pré ARNm** peut donner naissance à **différentes protéines** suivant un mécanisme de maturation différentielle touchant l'épissage : *l'épissage alternatif*.
- ❖ En fonction des sites d'épissage utilisés par la cellule, on peut avoir plusieurs ARNm matures différents de par leur séquence. Ils peuvent être générés à partir d'un seul ARN pré messager.
- ❖ Les **ARNm matures donnent naissance à des protéines différentes** : les variants d'épissage. Bien que générés par le même gène (par le même pré ARNm), ces protéines possèdent des fonctions différentes au sein de la cellule.
- ❖ La cellule peut utiliser des sites d'épissage différents, des sites accepteurs d'un intron et des sites donneurs d'un intron différents pour exciser ainsi un fragment d'ARN pré messager.

I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription (chez les eucaryotes)

Maturation différentielle des ARNm eucaryotes



I.1. RAPPELS SUR LES MÉCANISMES GÉNÉTIQUES FONDAMENTAUX ET RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES GÈNES

I.1.3. 1. Transcription

RAPPEL ET COMPLEMENTS CHEZ LES PROCARYOTES :

- ❖ Chez les procaryotes, il n'y a pas de maturation de transcrit, donc il n'y a pas de polyadénylation des ARNm, pas d'ajout de coiffe en 5' du transcrit et pas d'épissage: la séquence en ARNm d'un gène donne naissance à une protéine.
- ❖ La transcription chez les procaryotes **ce fait au niveau du cytoplasme**, elle est **polycistronique** car plusieurs gènes peuvent être transcrit par la même polymérase. Par contre chez les eucaryotes, celle-ci **se fait au niveau du noyau**, et une polymérase transcrit un seul gène, on dit qu'elle est **monocistronique**.

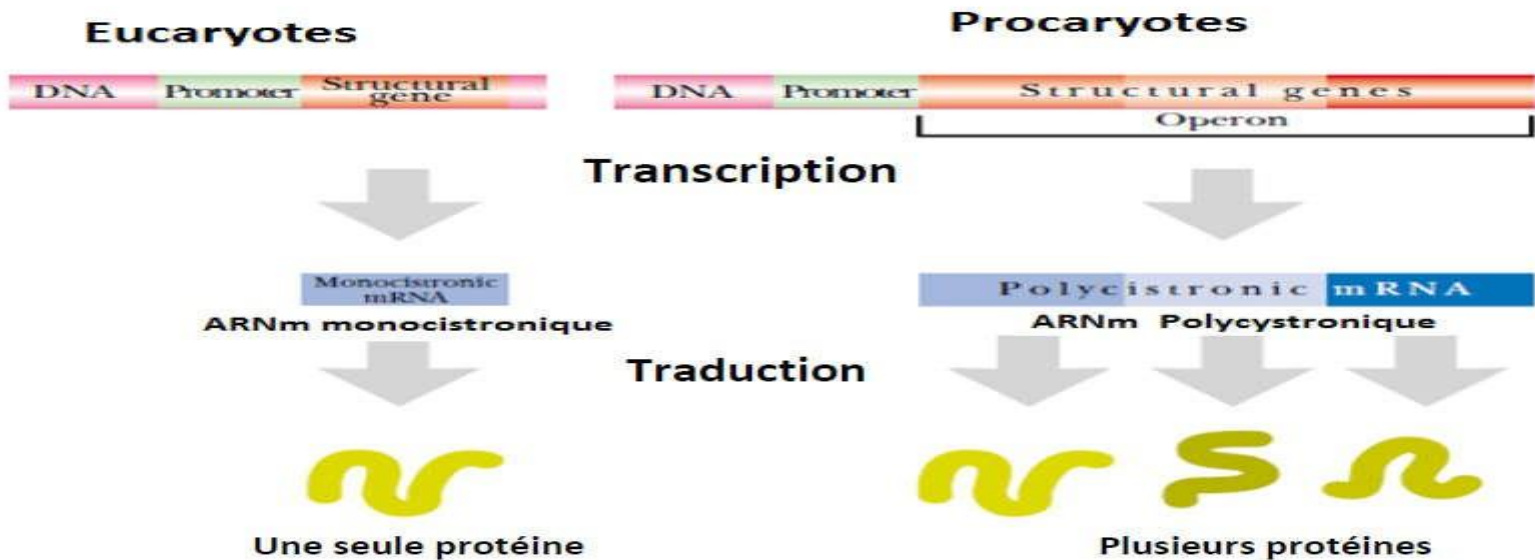


Fig.5: Synthèse monocistronique (eucaryotes) et polycistronique (procaryotes) de l'ARNm (Clark, 2005).