

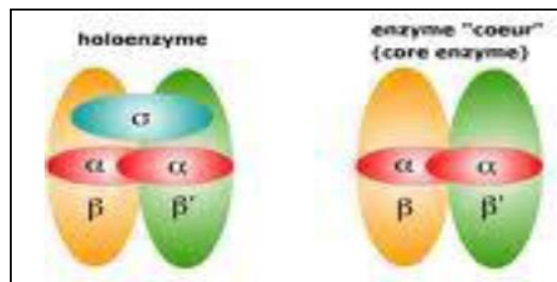
CHAPITRE II : INFORMATION GENETIQUE

III. TRANSCRIPTION DE L'ARN A PARTIR DE L'ADN

I. La transcription chez les procaryotes

La transcription a lieu dans le cytoplasme bactérien, elle est assurée par une seule ARN polymérase.

➤ L'ARN polymérase d'*E. coli* est une protéine oligomérique formée de 2 sous-unités alpha (α et α'), deux sous-unités bêta (β et β') formant le core de l'enzyme et une sous-unité sigma (σ) permettant la reconnaissance du promoteur et l'initiation de la transcription. L'association de σ au core forme l'holoenzyme. La sous unité β assure la liaison à l'ADN, la sous unité β' possède le site actif de la polymérase et les 2 sous unité α permettent l'assemblage des autres sous unités.

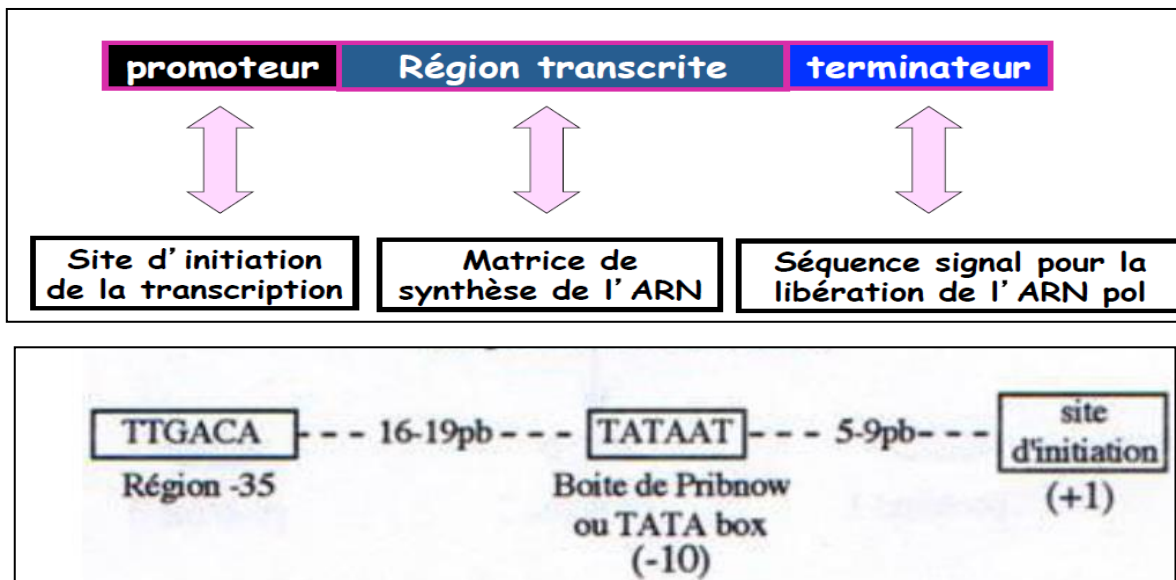


➤ Le promoteur des gènes des procaryotes est formé de séquences consensus (conservées) : la séquence « TATAAT » (région -10 ou boîte Pribnow) localisée à 10 nucléotides en amont (dérrière) du site d'initiation (site d'initiation = +1) et la séquence « TTGACA » qui est localisée 35 nucléotides en amont (région -35). Ces deux séquences sont dites éléments « en cis=à côté de » c-à-d parties adjacentes de la même 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.

L'ARN polymérase nécessite pour la transcription :

- Un seul brin d'ADN qui servira de matrice à la synthèse d'ARN,
- Des précurseurs (ribonucléosides triphosphates: ATP, GTP, UTP et CTP),

- Formation des liaisons phosphodiester entre les ribonucléotides dans la direction 5' vers 3' en complémentarité (T=U),
- Pas d'amorce,
- Pas d'activité exonucléasique : pas de correction (édition).



La transcription se déroule en 3 étapes distinctes :

1. Initiation

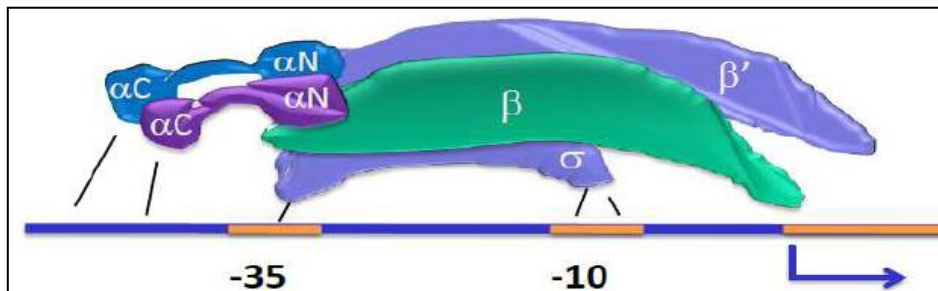
L'enzyme explore une longueur d'ADN jusqu'à reconnaître la région promotrice d'un gène. Chez les bactéries la reconnaissance du promoteur se fait grâce au facteur sigma, il existe plusieurs formes alternatives de ce facteur permettant de reconnaître les séquences des différents promoteurs des différents gènes, permettant une spécificité de l'initiation de la transcription.

La sous unité σ reconnaît la boîte de Pribnow [TATAAT (-10)], puis se fixe sur l'ADN et recrute les autres parties du complexe enzymatique. Une fois l'ARN polymérase mise en place, elle synthétise une petite séquence de ribonucléotides de 8 pb qui s'hybride à l'ADN par complémentarité (rôle de stabilité), une fois ce complexe ADN/ARN est formé, la sous unité σ se détache du complexe et β' assure la liaison à l'ADN.

Un seul brin de l'ADN est transcrit, il sert de modèle à la polymérisation des ribonucléotides : brin matrice (3' - 5') = non codant = antisens. Le brin qui possède le code n'est pas transcrit : brin codant = non matrice = sens.

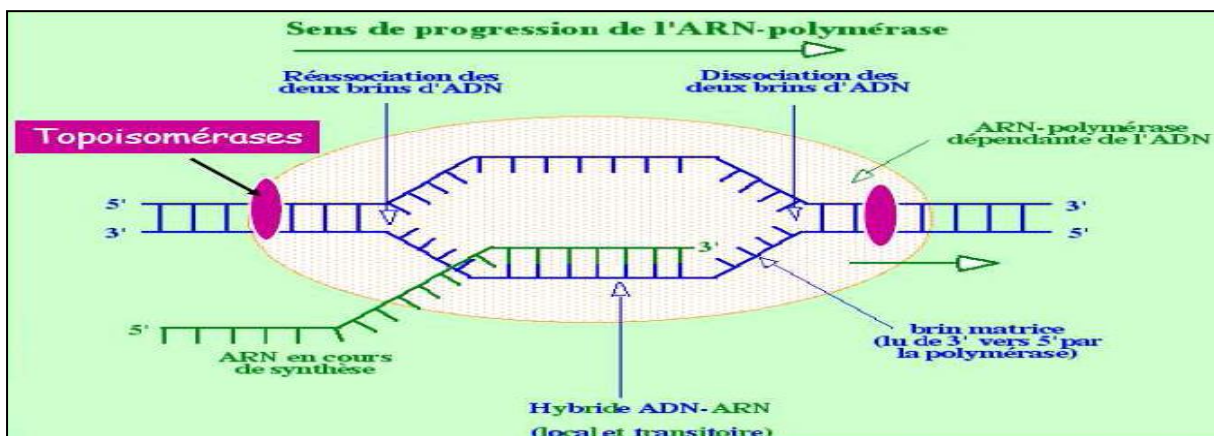
Le résultat est une molécule d'ARN dont l'orientation 5' vers 3' identique au brin codant et complémentaire au brin transcrit et qui correspond à l'orientation NH₂ - COOH de la protéine.

5'-CGCTATAGCGTTT-3' (brin codon=sens)
 3'-GCGATATCGCAA-5' (brin non codon=antisens= matrice)
 5'-CGCUAUAGCGUUU-3' (ARN messenger)



2. Elongation

Cette étape est assurée par le core de la polymérase à une vitesse d'environ 30 nucléotides/sec. Le complexe enzymatique synthétise le brin d'ARN complémentaire du brin matrice. Au fur et à mesure qu'elle avance sur le brin matrice, l'ARN polymérase continue de dérouler les deux brins d'ADN (Les topoisomérases précèdent et suivent la polymérase pour dérouler l'ADN). Elle ajoute alors à l'extrémité 3' du brin synthétisé les nucléotides d'ARN complémentaires présents dans le milieu. Ceux-ci sont présents sous forme de nucléotides triphosphates (ils perdent donc deux phosphates lorsqu'ils se lient à la chaîne de nucléotide).



3. Terminaison

Processus conduisant à la dissociation des sous unités de l'ARNp après la rencontre des signaux de terminaison. Deux mécanismes peuvent conduire à la terminaison de la transcription:

- Terminaison « rô-indépendante »:

Elle se fait par repliement de l'extrémité de l'ARN sur lui-même en épingle à cheveux.

Les signaux de terminaison sont localisés dans la partie déjà transcrite de l'ARN. L'extrémité de l'ARNm forme une structure épingle à cheveux qui déstabilise le complexe ARN-enzyme. Cette structure est constituée d'une séquence palindromique (C)_n (G)_n suivit d'une séquence poly U. Ceci entraîne le détachement de la polymérase.

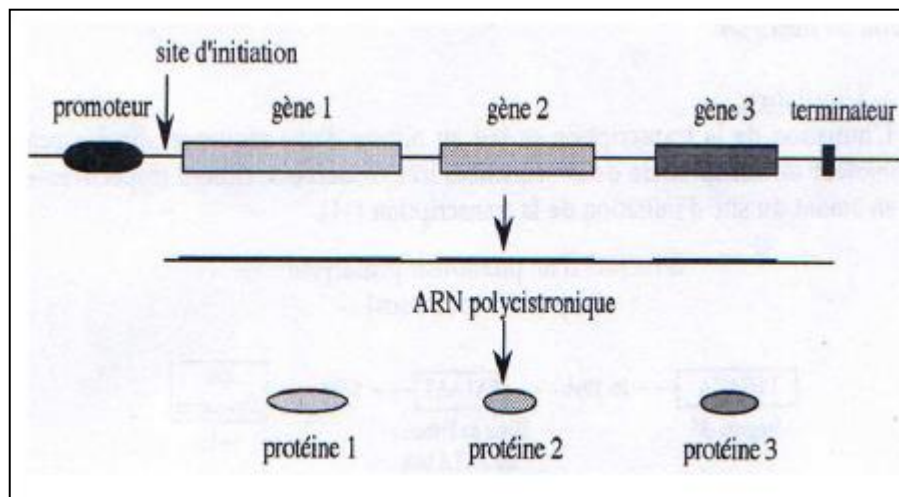
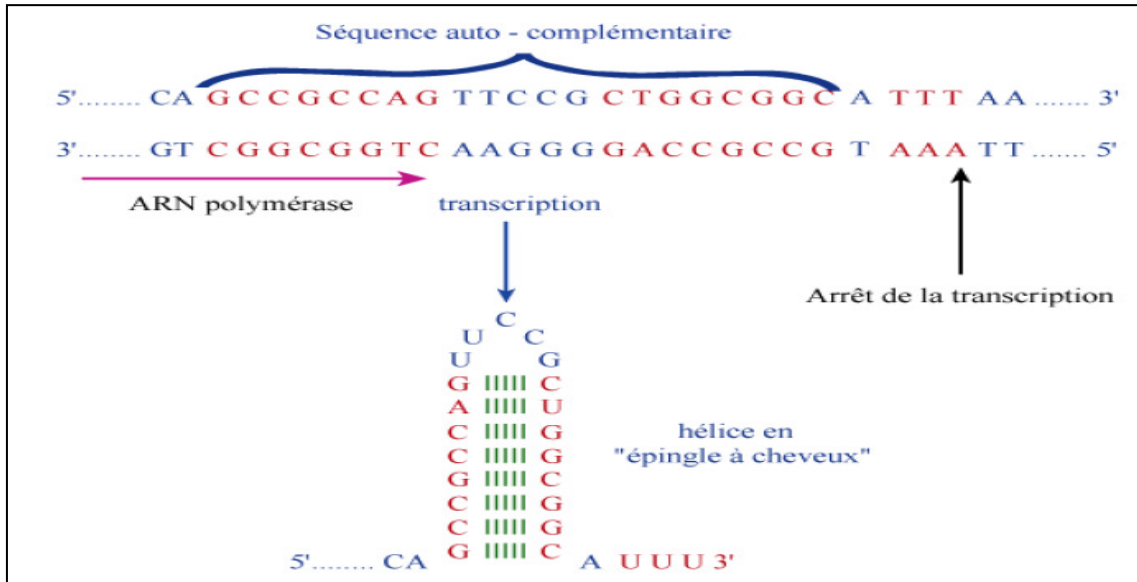
- Terminaison « rô-dépendante »:

Certains terminateurs possèdent trop peu de G/C dans la région correspondant à l'épingle à cheveux pour que cette structure se forme et reste stable. Une grosse protéine rho interagit physiquement avec le transcrit en cours de synthèse et cause le décrochage de la polymérase.

L'ARN produit à la fin de la transcription chez les procaryotes est appelé ARN messager (ARNm).

Un même brin d'ADN peut être transcrit par plusieurs ARN polymérases à la fois, ce qui augmente par conséquent le nombre d'ARN nouvellement synthétisés. On appelle ce phénomène la transcription simultanée.

Les ARN des procaryotes sont dits « polycistroniques » (opéron=plusieurs cistrons codés par un même promoteur), contrairement aux ARN des eucaryotes qui sont dits « monocistroniques ».



II. La transcription chez les eucaryotes

La transcription se déroule dans le noyau cellulaire. La chromatine doit au préalable avoir été décompactée (euchromatine) pour permettre à la machinerie protéique d'accéder à l'ADN. Tout l'ADN n'est pas transcrit, seules les régions correspondant à des gènes le sont. Et encore, cette expression peut être régulée selon le stade de développement, le type cellulaire, l'environnement, etc...

➤ Il existe 3 types d'ARN polymérase chez les eucaryotes:

- l'ARN polymérase II qui transcrit l'ADN en ARN pré-messager,
- l'ARN polymérase I qui permet la synthèse d'ARN ribosomique (5,8 ; 18 et 28 S)
- l'ARN polymérase III qui transcrit les ARN de transfert (ARNt), les petits ARN et l'ARN ribosomique 5S (ARNr 5S).

➤ L'ARN polymérase ne peut se fixer seule au promoteur du brin matrice d'ADN chez les eucaryotes, elle nécessite des facteurs de transcription TF_{II} (transcription factor II) agissant en *trans*. Ce qui constitue un complexe protéique constitué de 8 à 14 sous-unités « complexe d'initiation de la transcription » :

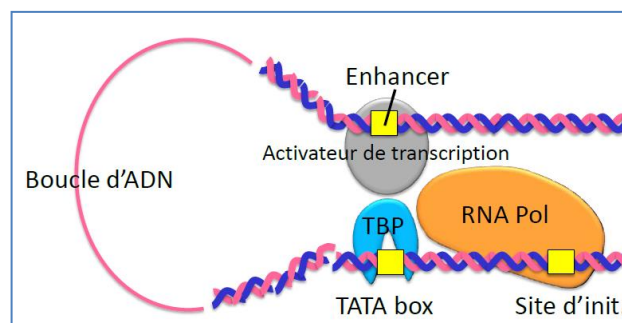
- **TFII D**, se fixe sur la boîte TATA
- **TFII A** interagit avec l'ADN en amont de la TATA box pour stabiliser le complexe TF_{II D}-ADN,
- **TFII B** et **TFII E**, interagit avec l'ADN en aval de la TATA box au niveau du site d'initiation.
- **TFII F** qui est une hélicase ATP-dépendante qui agit lors de l'élongation.
- **CTF (NF1)** se lie à la boîte CAAT,
- **Sp1** se lie aux boîtes GC : CTF et SP1 sont des trans-activateurs.

➤ Le promoteur chez les eucaryotes est formé de plusieurs séquences consensus agissant en *cis*:

- **Boîte TATA** : c'est l'équivalent de la « boîte de Pribnow ». elle est située environ 30 pb avant l'origine de transcription ; c'est à elle que va se fixer l'ARN polymérase II.
- **Boîte CAAT** : située à environ 70 pb en amont du site d'initiation de la transcription, qui est un site activateur de la transcription,
- **Boîte GC** : site activateur de la transcription en amont du site d'initiation
- Enfin, d'autres séquences peuvent stimuler ou inhiber la transcription à plusieurs centaines de paires de bases du lieu de la transcription (en *cis*). ces séquences vont entrer en contact avec la boîte TATA grâce à la courbure de l'ADN qui les rapprochera du promoteur :

❖ **Les enhancers** : fixent des protéines qui vont permettre l'amplification de l'expression des gènes de 10 à 100 fois. Ils sont généralement situés en amont du site d'initiation mais peuvent également se situer en aval de l'unité de transcription.

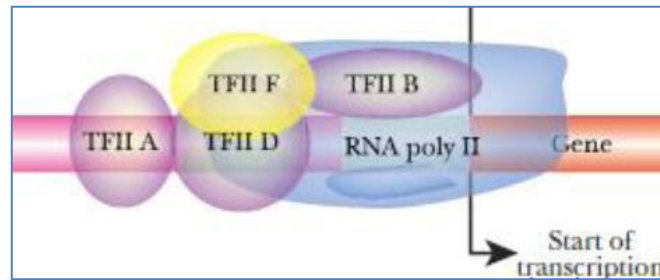
❖ **Les silenciers** : sont des séquences fixant des protéines qui inhibent l'expression des gènes en agissant à distance.



Le processus de transcription comporte les mêmes phases que chez les procaryotes :

1. Initiation

Elle correspond à la fixation d'une protéine TBP (TATA Binding Protein ; sous unité de la TFIID) à la boîte TATA. Cette liaison permet une distorsion de l'ADN permettant le début de la transcription. La liaison de l'ADN polymérase II et des autres facteurs de transcription (TFIIB, TFIIA , TFIIIE et TFIIIF...) permet l'élongation.



2. Élongation :

L'élément central de l'élongation est la phosphorylation du domaine CTD (Carboxy Terminal Domain) de l'ARN polymérase II. La phosphorylation par TFII H (du domaine CTD) en présence d'ATP va déplacer l'ARN polymérase et l'addition séquentielle des ribonucléotides peut alors démarrer selon la direction 5'-3'. Chez les eucaryotes, la vitesse de transcription est d'environ 40 nucléotides par seconde.

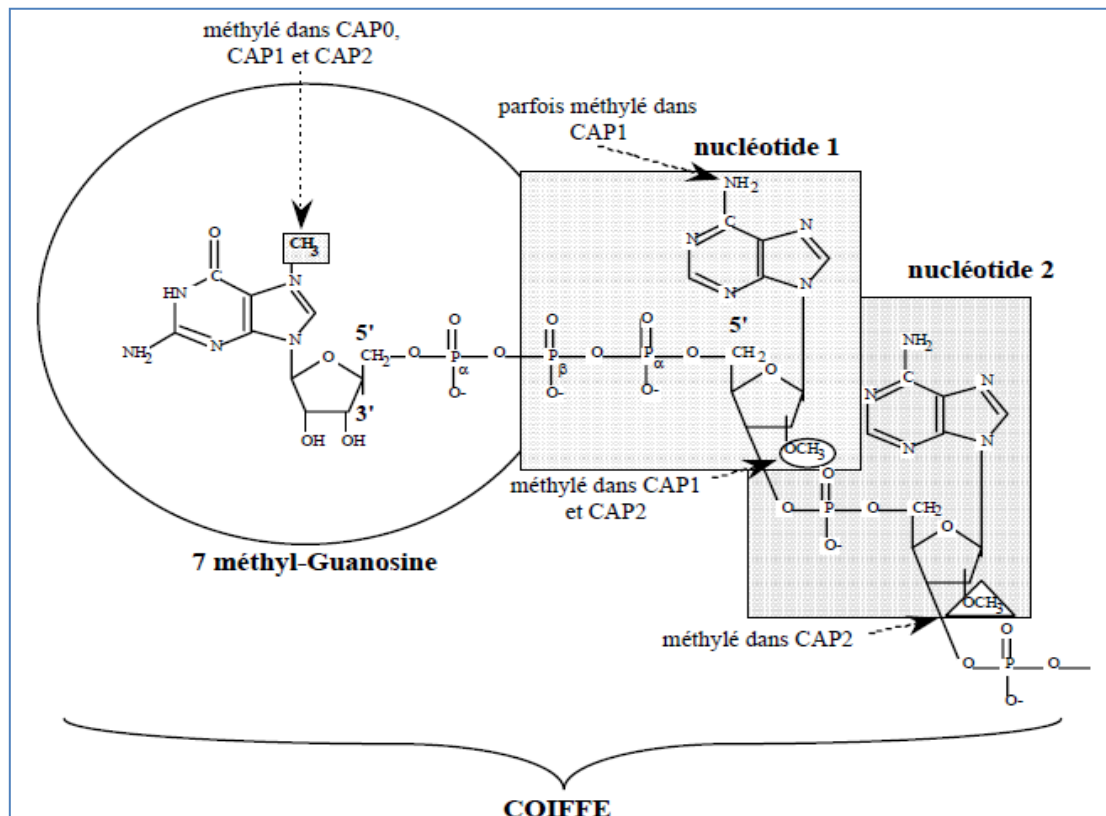
3. Terminaison

La terminaison est assurée par des signaux spécifiques dont le signal de polyadénylation « AAUAAA ». L'ARN polymérase continue sa transcription un peu après ce motif puis libérée sous l'action de divers facteurs. La transcription proprement dite est terminée mais l'ARN obtenu n'est pas fonctionnel (ARN pré-messager), il doit subir 3 étapes de maturation (modification post-transcriptionnelles) dans le noyau :

❖ Addition de la coiffe en 5' de l'ARN pré-messager (ou capping)

La coiffe correspond à l'ajout d'un groupement, dit « 7-méthyl-guanosine ou 7-mG », par une liaison 5'-5' tri-phosphate au niveau de l'extrémité 5' du transcrit primaire. C'est une Guanosine méthylée sur l'azote 7 fixée à l'extrémité 5' par une liaison 5'-5' à la première base de l'ARN (A ou G), ceci avant même que la transcription ne soit terminée. Il en résulte que l'extrémité 5' de l'ARNm n'est pas porteuse des trois acides phosphoriques libres habituels. Certains eucaryotes possèdent un groupement méthyle (CH₃) sur le carbone 2' du ribose des deux premiers ribonucléotides de l'ARN. Cette coiffe joue le rôle dans :

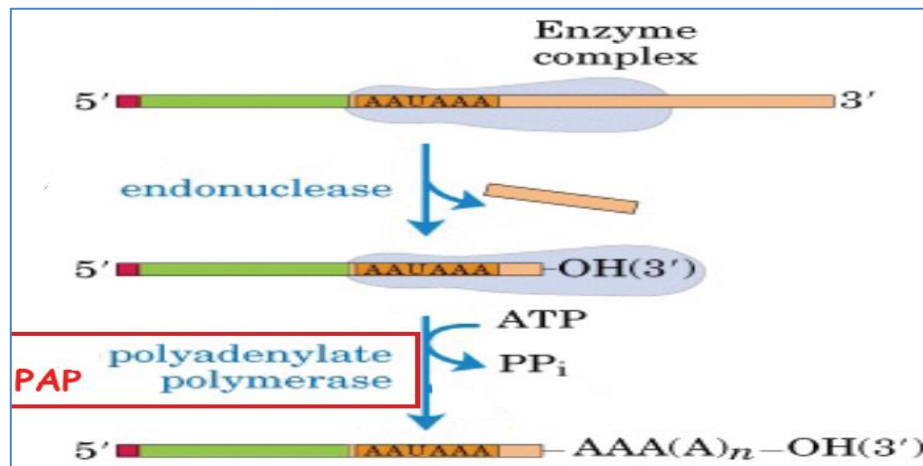
- Signal de reconnaissance pour les ribosomes,
- Protection du messager contre l'action des ribonucléases (5'-3'),
- Transport de l'ARNm mature à travers la membrane nucléaire jusque dans le cytoplasme.



❖ Ajout de la queue poly A

A la fin de la transcription, l'ARNm est clivée par une endonucléase à un point (site de clivage déterminé par le dinucléotide CA) situé entre 10 à 35 ribonucléotides en aval d'une séquence très conservée hexamérique (AAUAAA) à son extrémité 3', une polymérase spécifique « polyA Polymérase » synthétise une séquence poly A (queue polyA) d'une longueur d'au moins 250 résidus. Il est à noter que cette partie de l'ARN n'est pas codée dans l'ADN sous forme de poly T. Son rôle est :

- Attachement du messenger à la membrane de RE,
- - Transfert du messenger au cytoplasme,
- Stabilisation du messenger : protection contre l'attaque par des exonucléases cytoplasmiques (3'-5').

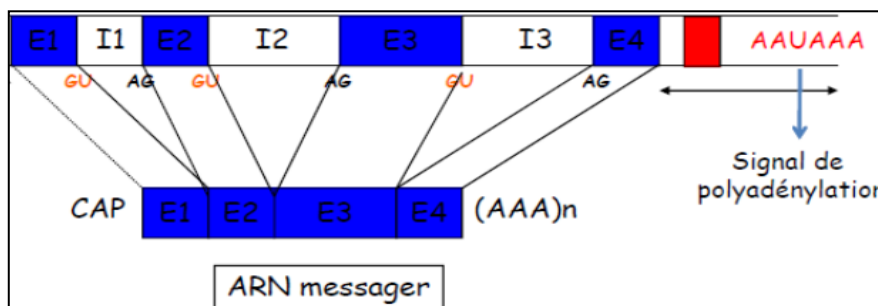
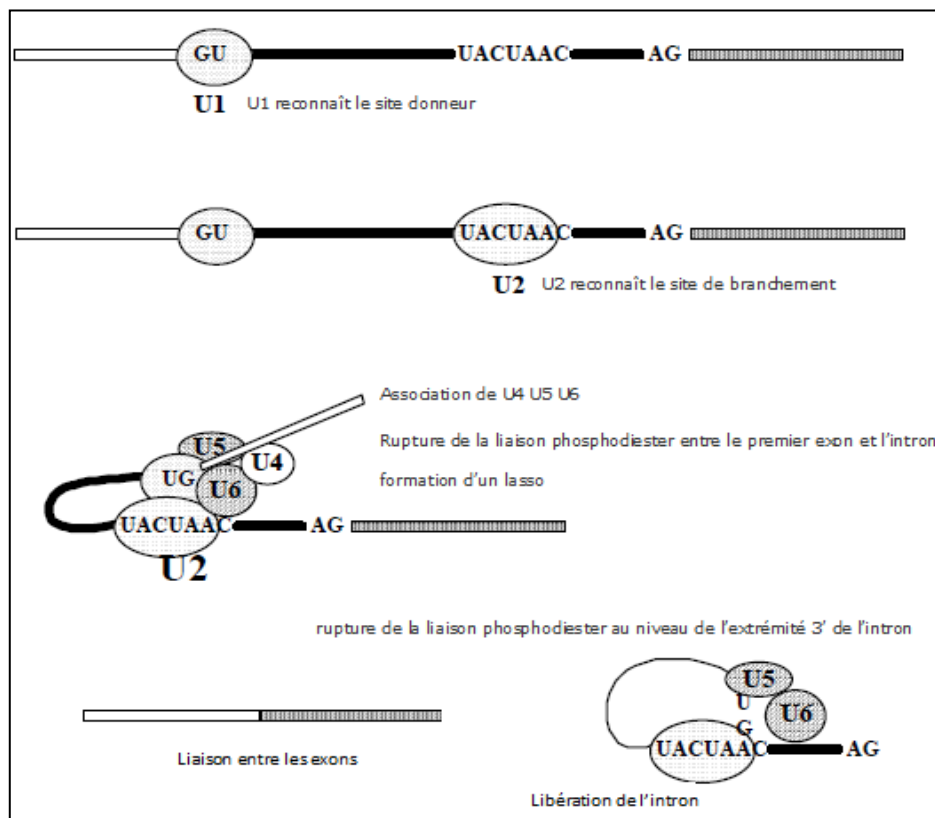
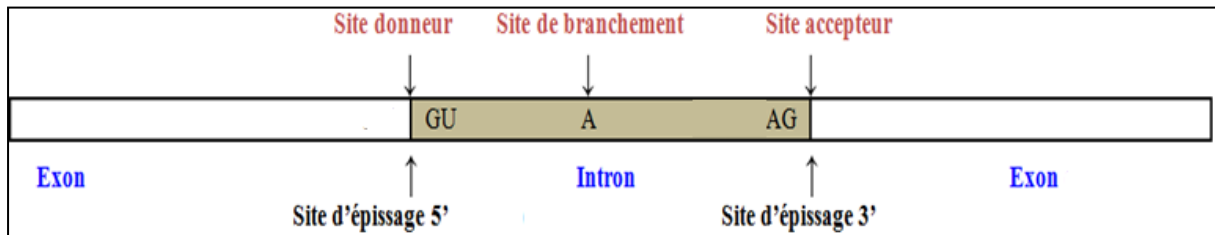


❖ Epissage des exons et excision des introns

Le transcrit primaire est soumis à l'excision des introns et l'épissage des exons ; les introns sont ainsi éliminés. Ceci est possible par la présence d'un site donneur d'épissage (**GU**) à l'extrémité 5' des introns, un site accepteur d'épissage (**AG**) à l'extrémité 3' des introns et un site de branchement à l'intérieur de l'intron (**UACUAAC**).

Les sites d'épissage sont reconnus par des petits ARN nucléaires riches en uridine (U1, U2, U3, U4, U5, U6) appelés « spliceosome ».

- U1 permet la reconnaissance du site donneur d'épissage et entraîne la rupture de la liaison phosphodiester entre le premier exon et l'intron.
- Cette rupture entraîne la formation d'un lasso qui est une boucle reliant l'extrémité 5' de l'intron avec le site de branchement. cette liaison est réalisée par U2 qui reconnaît le site de branchement par l'intermédiaire d'une adénosine (A).
- Association des autres spliceosomes aux sites accepteurs et de branchement (U4, U5 et U6).
- Suite à cette reconnaissance il y a rupture de la liaison phosphodiester au niveau de l'extrémité 3' de l'intron.
- Le groupement 3'OH du premier exon peut ainsi réagir avec l'extrémité 5' phosphate du deuxième exon pour former une liaison phosphodiester et permettre la libération de l'intron qui sera dégradé.



✚ L'épissage alternatif

Dans le génome humain on trouve entre 25 000 et 30 000 gènes, mais plusieurs centaines de milliers de protéines différentes sont produites dans le cytoplasme!!!! L'épissage permet en outre d'obtenir différentes protéines à partir d'un même gène en sélectionnant quels exons seront conservés : c'est « l'épissage alternatif ». En effet certains exons sont constants au niveau des différents ARNm matures et d'autres sont variables et spécifiques du tissu dans lequel se trouve la protéine isoforme (protéines apparentées). Il a été estimé que de 30 à 60 % des gènes humains présentent ce type d'épissages.

