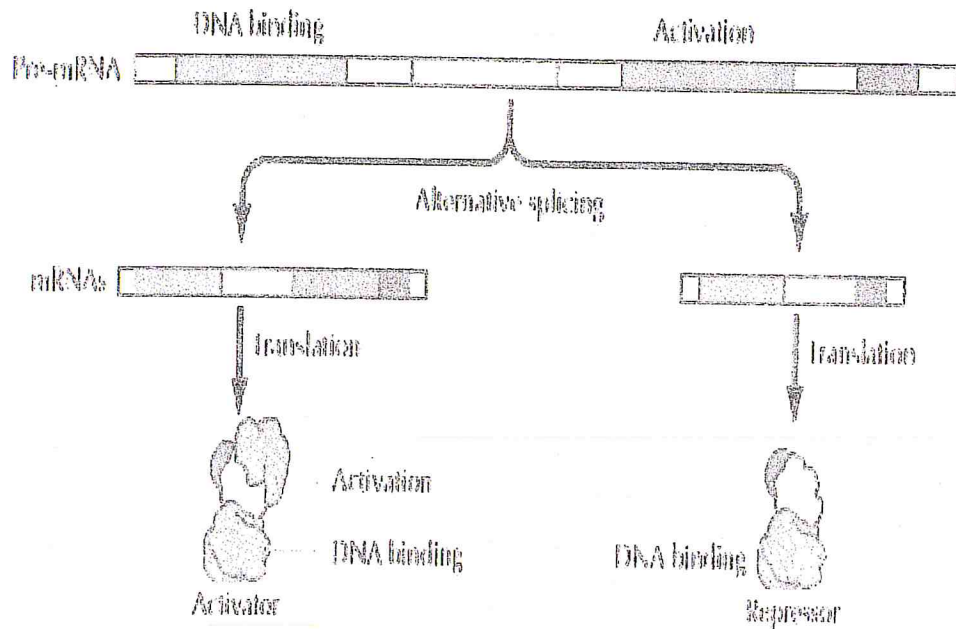


2.1.3.5. Le splicing alternatif

Permet de générer des protéines différentes à partir d'un même gène



Splicing alternatif d'un pré-mRNA qui code un facteur de transcription.

Dans cet exemple, le facteur de transcription est codé par 4 exons: le premier code le domaine de liaison à l'ADN, le deuxième un domaine de fonction inconnue, le troisième le domaine permettant l'activation de la transcription et le quatrième un domaine de fonction inconnue.

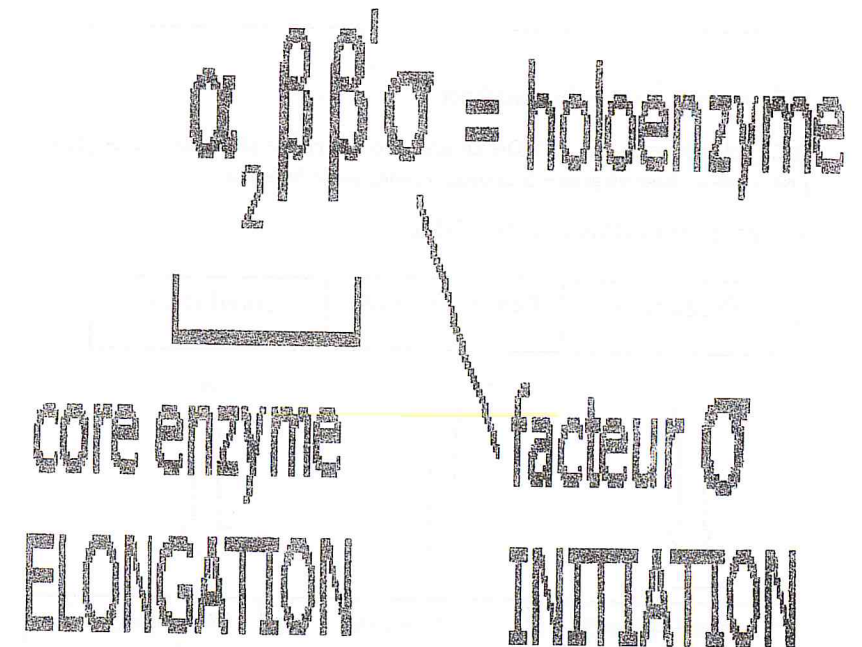
Le pré-mRNA peut subir deux splicings différents. Dans le premier cas (à gauche), les 3 introns sont éliminés et les 4 exons sont ligés, générant un mRNA qui code le facteur de transcription pleine longueur et actif. Dans le deuxième cas (à droite), l'exon 2 est ligé à l'exon 4 au lieu d'être ligé à l'exon 3, ce qui génère un facteur de transcription inactif car dépourvu du domaine d'activation de la transcription.

LA TRANSCRIPTION DE L'ADN CHEZ LES PROCARYOTES

Comme pour la réplication :

- L'ADN sert de matrice (template),
- La synthèse (ici d'ARN) se fait de 5'→3',
- Se passe en 3 étapes : initiation, élongation, terminaison,
- L'initiation se fait au niveau d'une région particulière (ici promoteur),
- La synthèse nécessite l'ouverture de l'ADN,
- La terminaison se fait au niveau d'une région particulière (ici terminateur).

L'ARN polymérase bactérienne ou holoenzyme (500 kDa) est une enzyme multimérique composée de 5 sous-unités $\alpha 2\beta\beta'\sigma$:



Cet holoenzyme se charge de la synthèse d'ARNi, r ou m indifféremment.

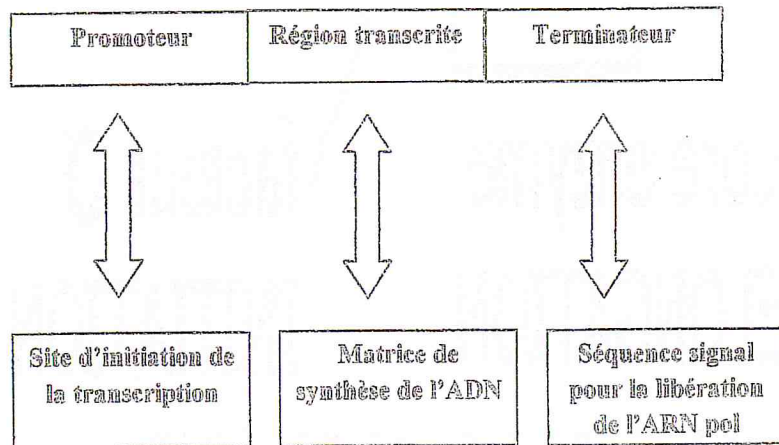
Les fonctions des différentes sous unités

Sous unité	Fonction
β	se charge de la fixation de nucléosides triphosphates
β'	se charge de la fixation de la matrice
α	reconnaissance probable des promoteurs
α'	reconnait les promoteurs "forts"

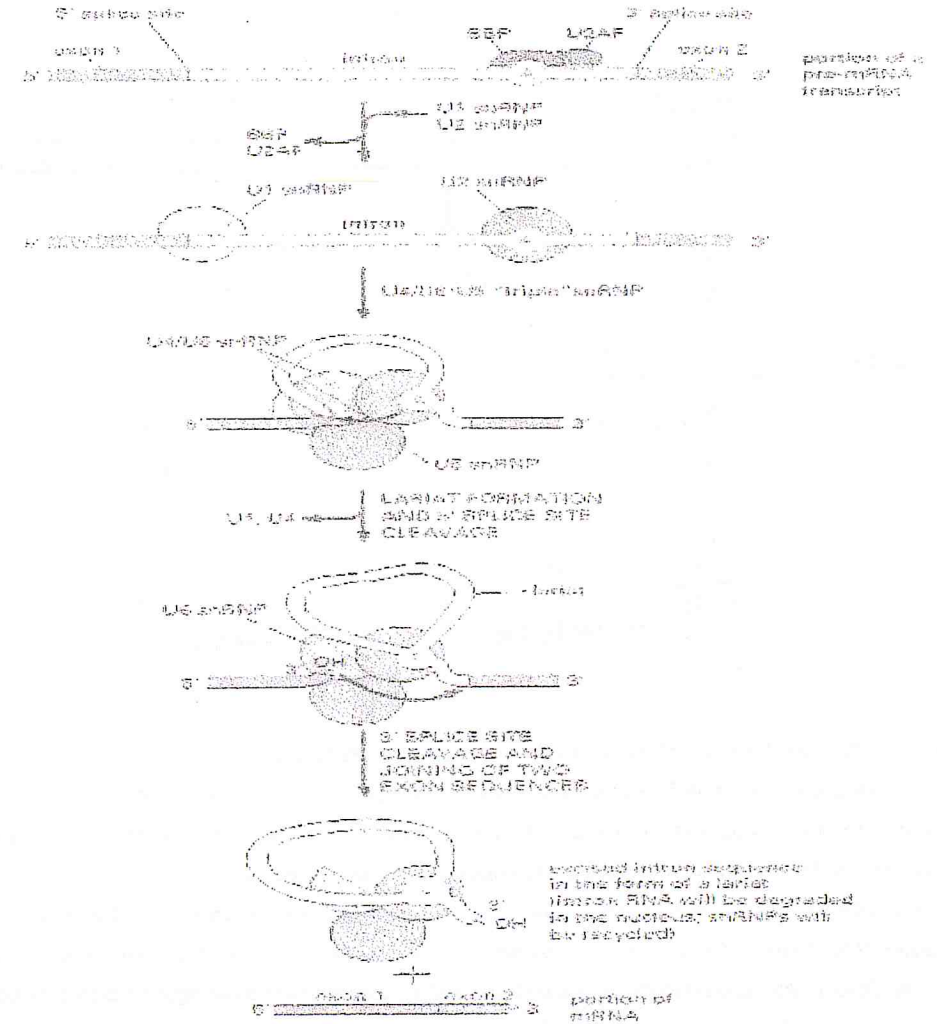
I-Transcription chez les bactéries

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



2.1.3.4. Principe général du mécanisme d'épissage.

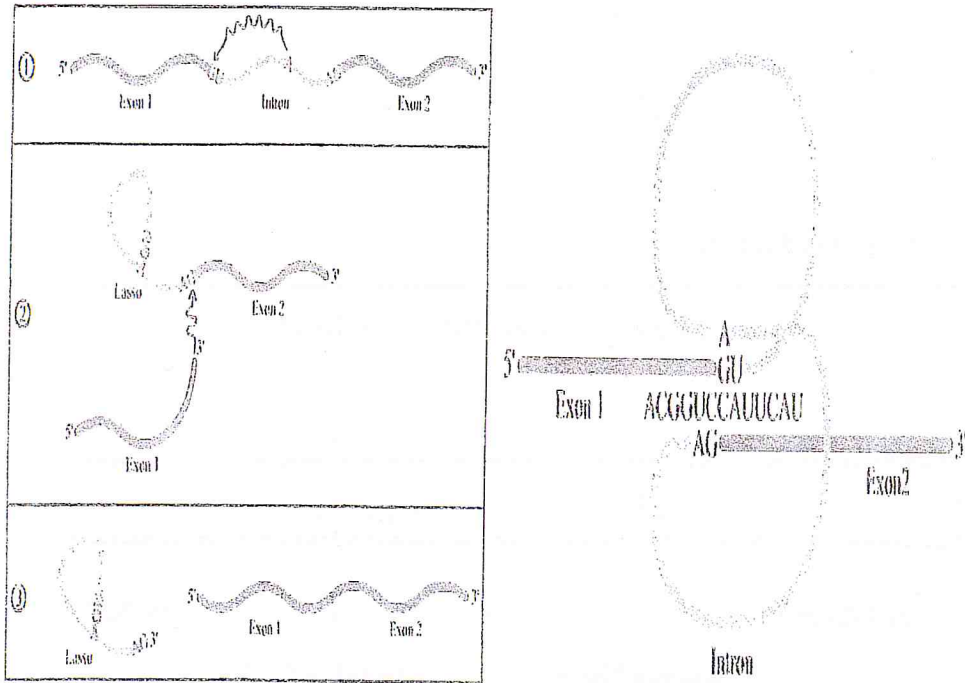


L'épissage est catalysé par des snRNP (small nuclear Ribonucleotide Particles) symbolisés par des ronds colorés, plus d'autres protéines (la plupart ne sont pas représentées), l'ensemble constituant le spliceosome. Les RNP sont des structures multimoléculaires composées de protéines et de petits ARN. U1 et U2 se fixent d'abord sur le pré-messager, puis U4 et U6 viennent interagir avec U1 et U2, ce qui rapproche les deux extrémités exoniques. Puis l'activité catalytique du spliceosome permet de cliver la séquence intronique et de liquer les séquences exoniques.

2.1.3.2. Exemple de séquences des points d'épissage

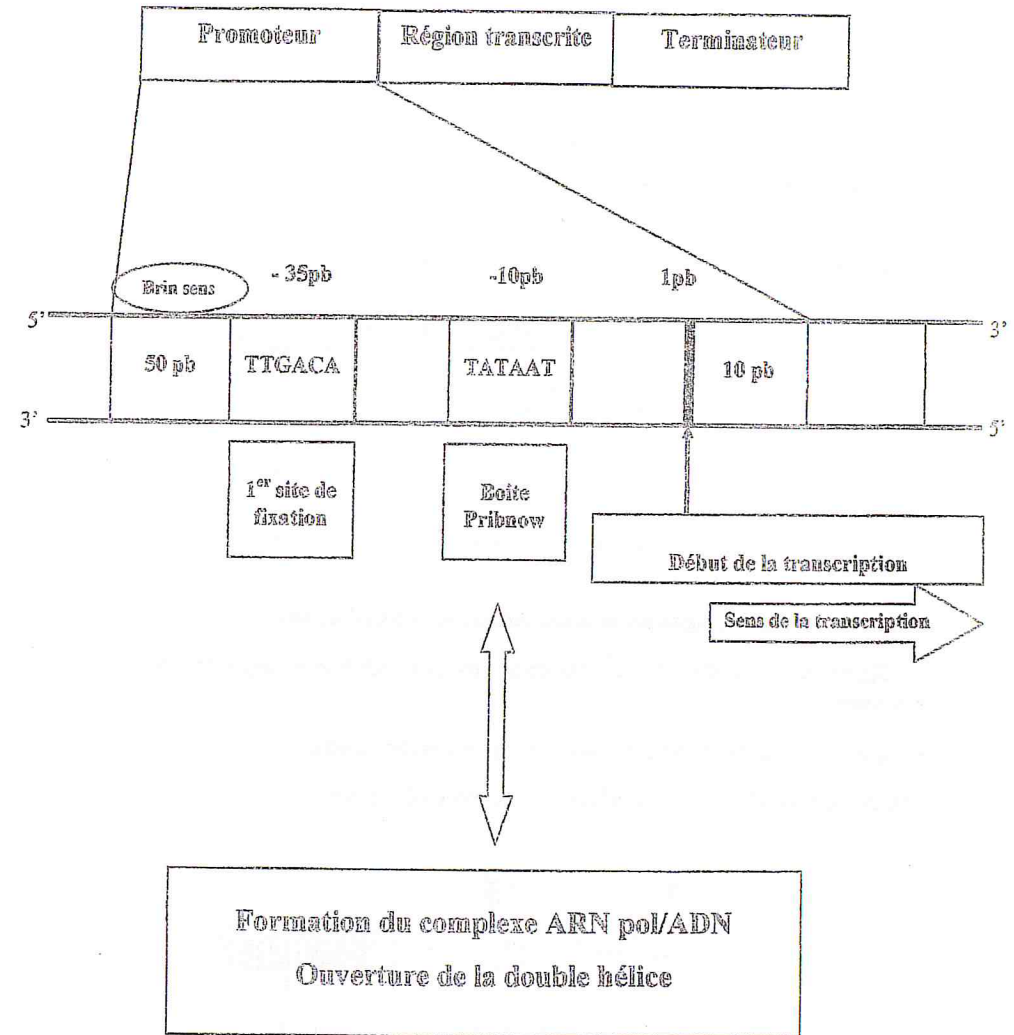
Région du gène	Exon	Intron	Exon
Ovalbumine (intron 2)	UAAG	GUGAGC UUACAG	GUUG
Ovalbumine (intron 3)	UCAG	GUACAG AUUCAG	UCUG
β globine (intron 1)	GCAG	GUUGGU CCUAG	GCUG
β globine (intron 2)	CAGG	GUGAGU CCACAG	UCUC
Immunoglobine (intron 1)	UCAG	GUCAGU UUGCAG	GGGC

2.1.3.3. Excision de l'intron par formation d'un lasso

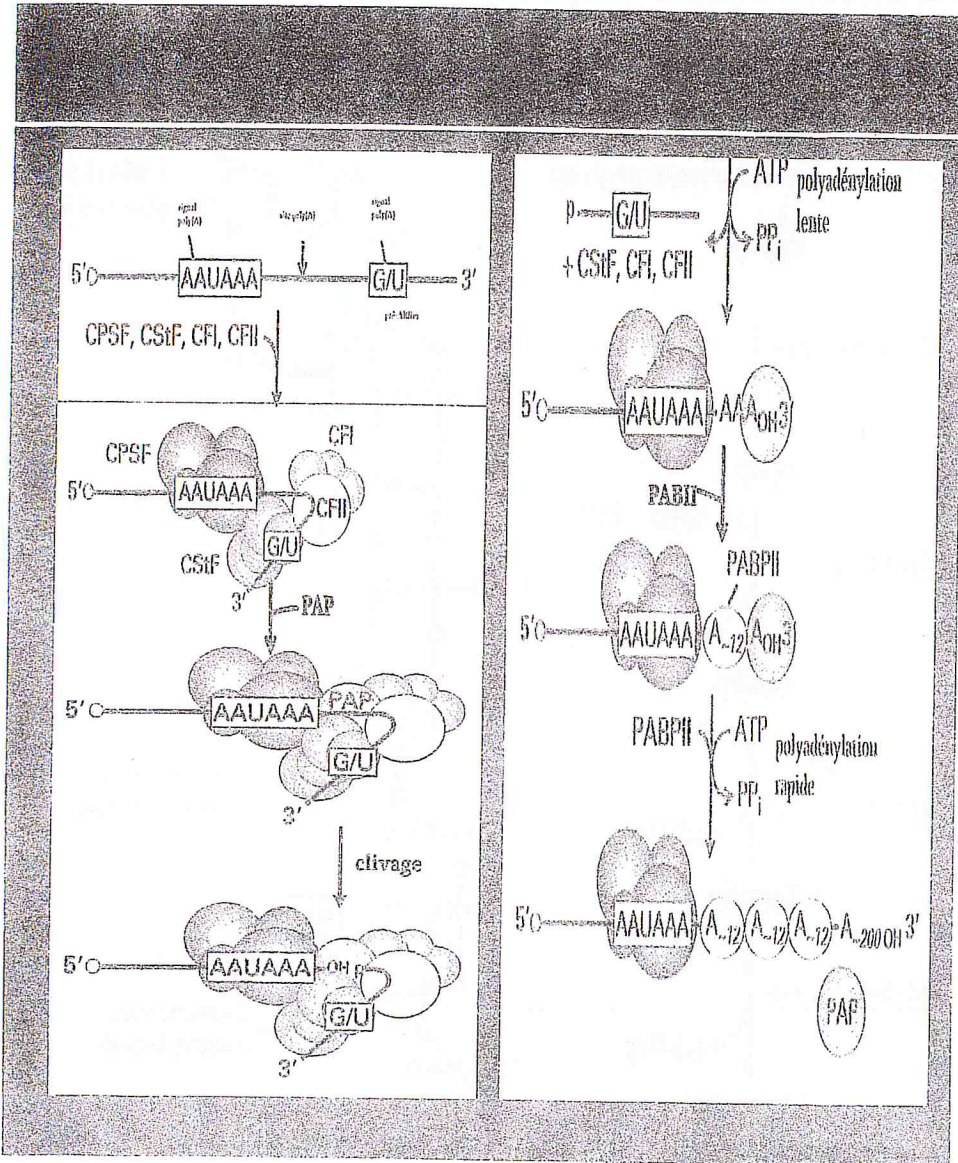


L'excision-épissage est réalisée par réaction d'un nucléotide à adénine (A) situé dans l'intron avec un nucléotide à guanine situé en 5' de l'intron. Cela entraîne la séparation de l'intron d'avec l'exon 1 (situé en amont) et la formation d'une structure en lasso interne à l'intron. Ensuite, l'extrémité 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.

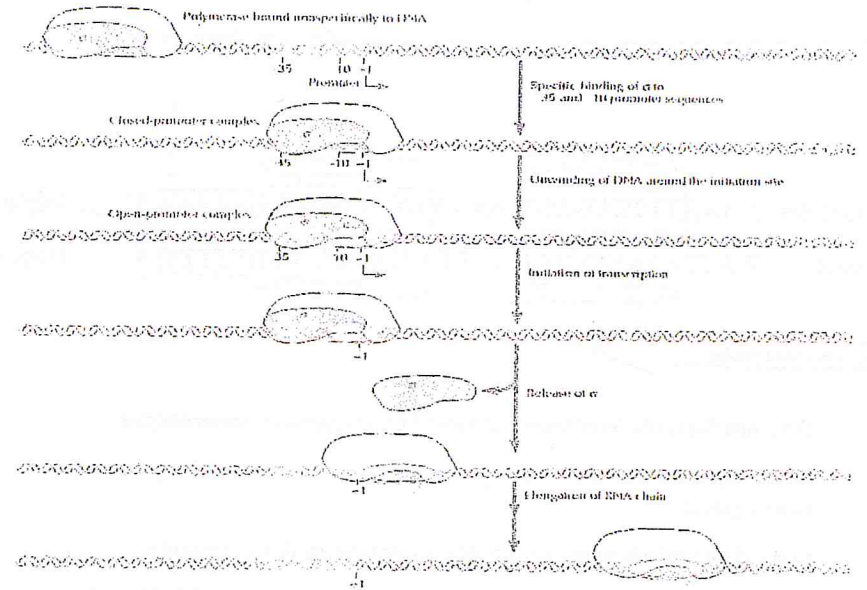
2. Promoteur et initiation de la transcription



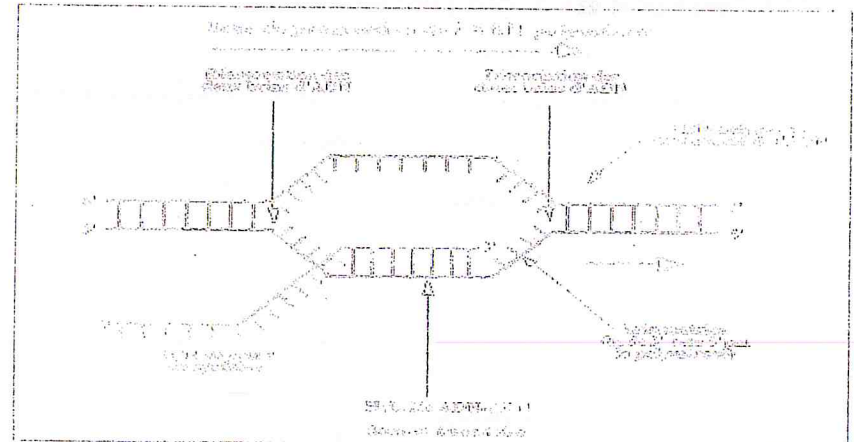
2.1.2. Modèle du clivage et de la polyadénylation des pré-ARNm dans les cellules de mammifères



2.2. Initiation de la transcription des ARNm chez les bactéries



3. Elongation de la chaîne d'ARN

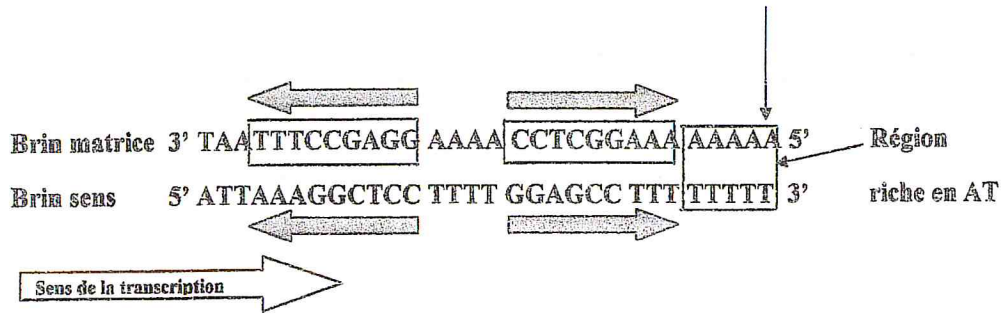


- assurée par le core de la polymérase à une vitesse d'environ 30nucl/sec.
- Topoisomérases précèdent et suivent la polymérase
- Souvent plusieurs transcrits de la même matrice

4.1. Terminaison rho-indépendante:

Terminateur intrinsèque

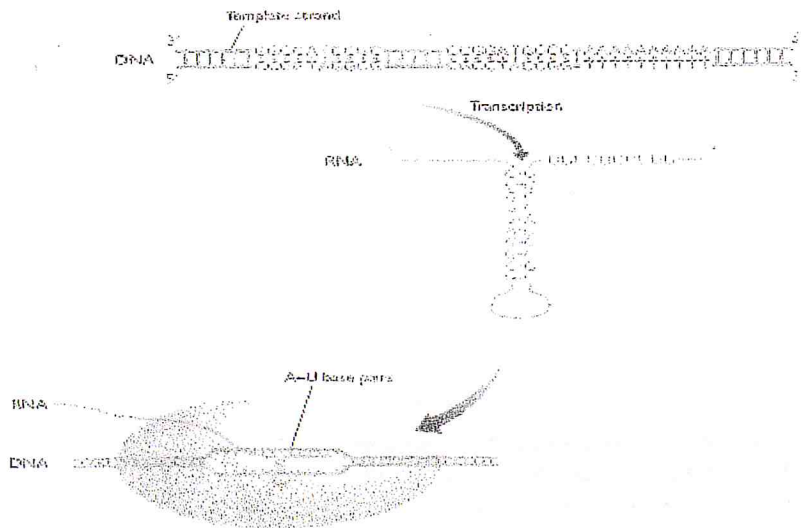
Dernière base transcrite



Sites spécifiques de terminaison: constitué de 3 segments caractéristiques

- deux séquences répétées inversées particulièrement riches en G et C, séparées par un court segment
- cette région palindromique est terminée par un segment de bases répétées
- Une série de 6 à 8 bases A sur le brin matrice codant pour un poly-U (région de faible énergie)

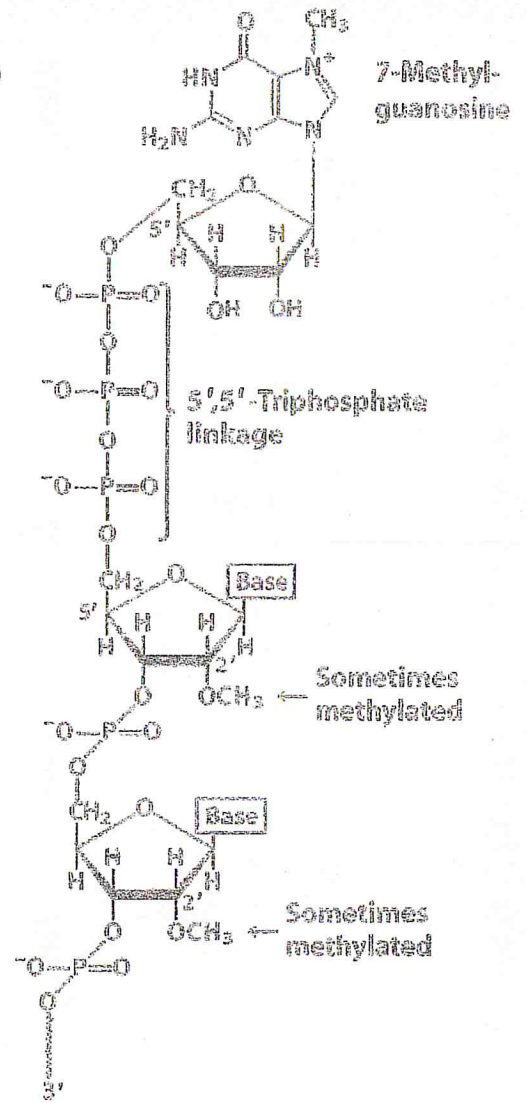
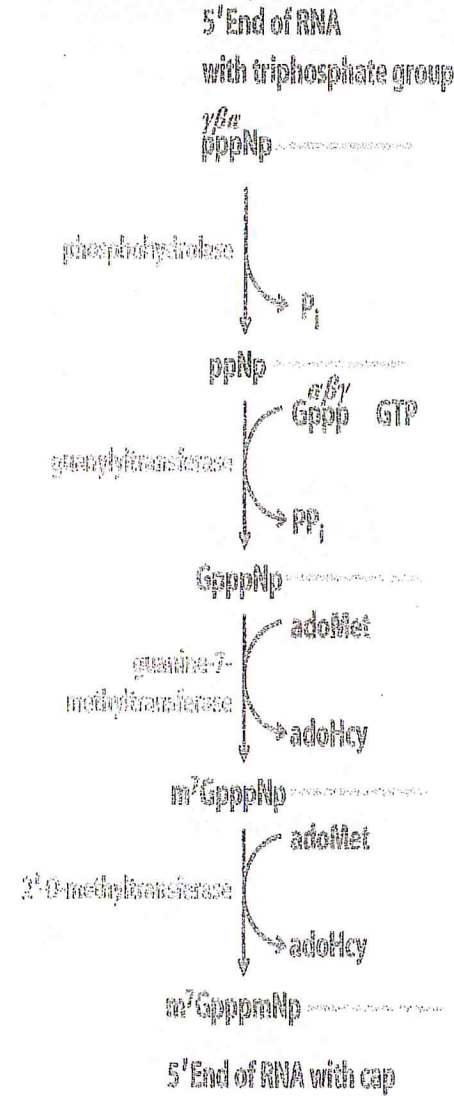
4.1.1. Terminaison de la transcription des ARNm



2.1. La maturation des ARNm, une spécificité des eucaryotes

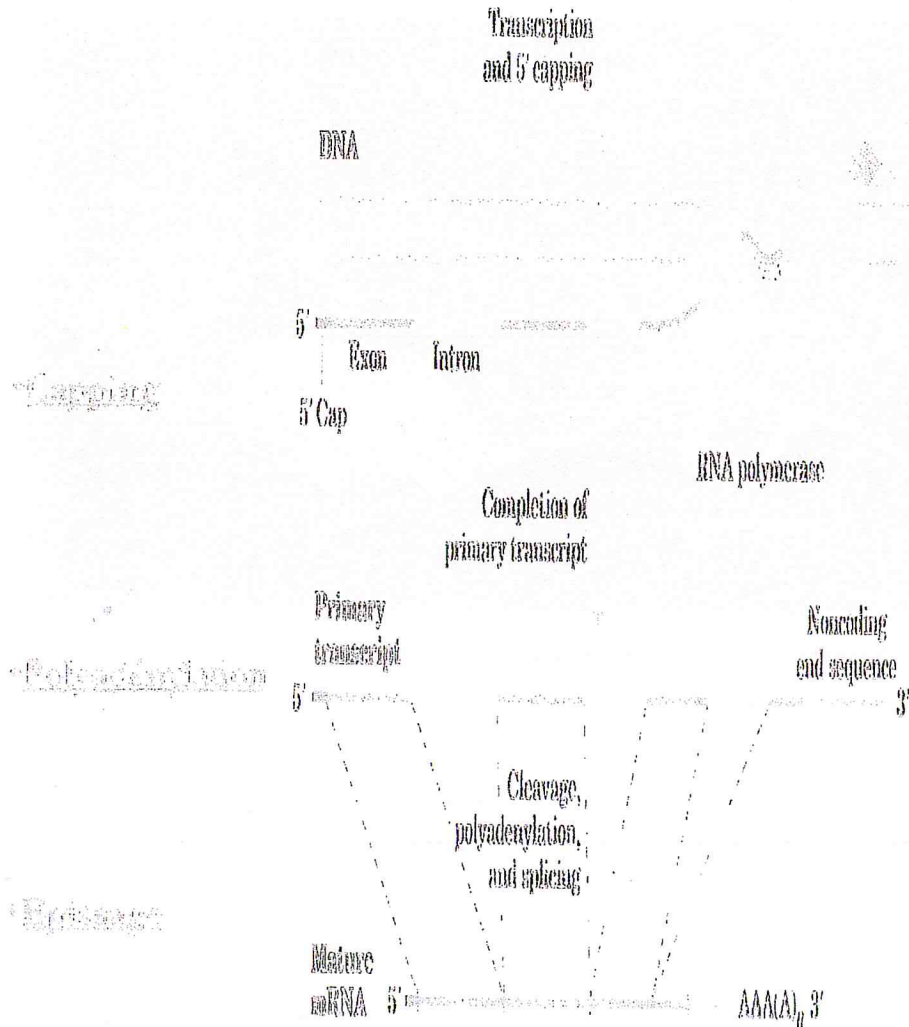
2.1.1. L'ajout de la coiffe (capping)

Structure de la coiffe



La transcription se termine aux alentours de la séquence de polyadénylation. Une fois la séquence de polyadénylation transcrite (en rose), la protéine CPSF (cleavage and polyadenylation specificity factor) qui était associée à l'ARN polymérase s'y lie. La perte de l'interaction CPSF/ARN polymérase déstabilise le complexe de transcription.

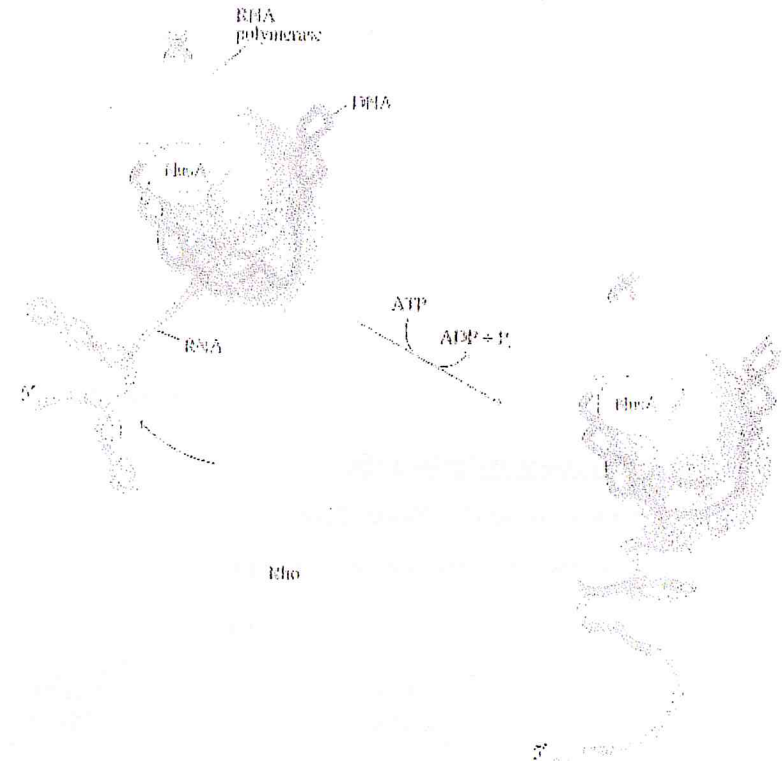
2. Modification post-transcriptionnelle



Chez les bactéries, la transcription s'achève au niveau d'une séquence palindromique inversée. La transcription de cette séquence palindromique inversée entraîne la formation d'une épingle à cheveux au niveau de l'ARN néosynthétisé, ce qui déstabilise le complexe de transcription.

4.1.2. Terminaison rho-dépendante:

Facteur Rho

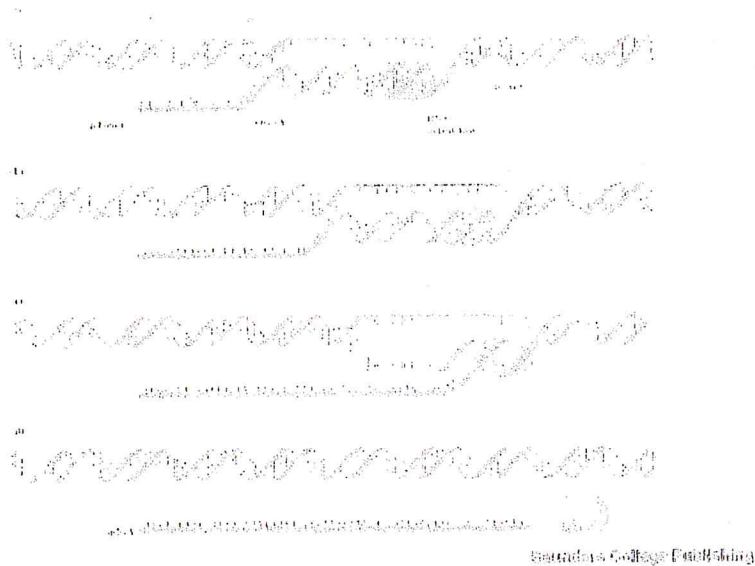


- Hélicase ATP dépendante
- Fixation à l'extrémité 5' de l'ARNm, migration le long de l'ARN, localise le complexe pol-ARN et le déroule



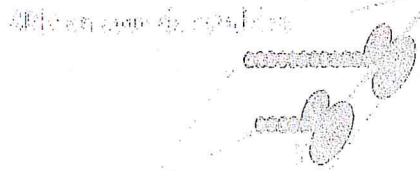
Libération de l'ARN nouvellement synthétisé

Termination rho-dépendante



➤ Modification post-traductionnelle

- Peu ou pas de modification des ARNm
- Traduction débute avant la fin de la transcription

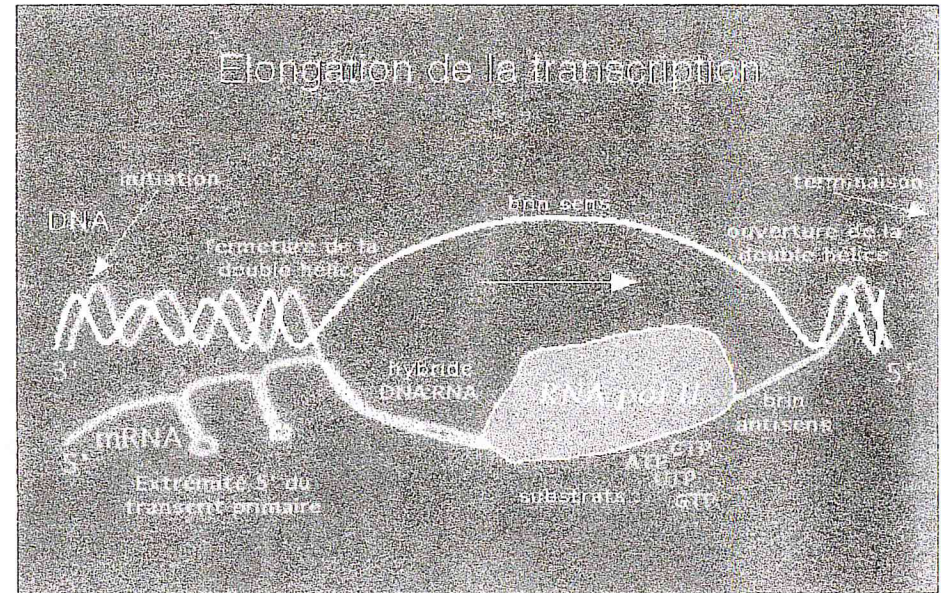


Formation du complexe d'initiation de la transcription chez les eucaryotes.

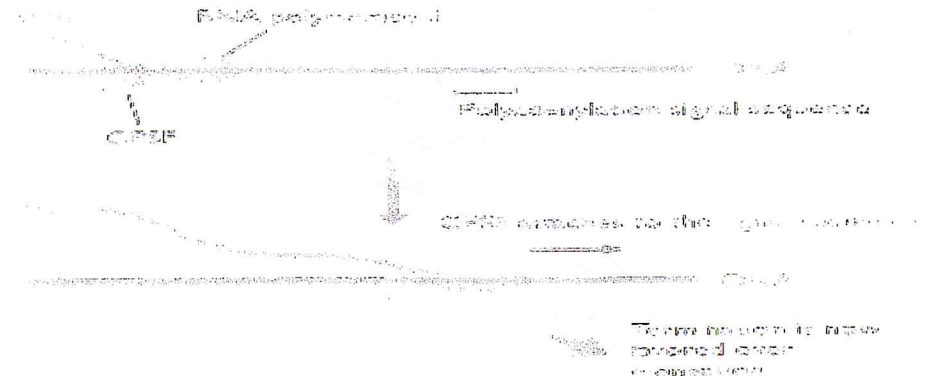
Ce complexe est formé de l'ARN polymérase II et de nombreux facteurs de transcription. L'un d'eux, TBP, se lie à la TATA box (séquence consensus TATAA) située 25 à 30 nucléotides en amont du site d'initiation de la transcription. D'autres facteurs de transcription se lient ensuite à TBP et l'ensemble recrute l'ARN polymérase II qui pourra initier la transcription

1.2. Elongation de la transcription

Elle nécessite un dernier facteur qui est le facteur TFIIIS.



1.3. Terminaison de la transcription



1.1. Initiation de la transcription et terminaison

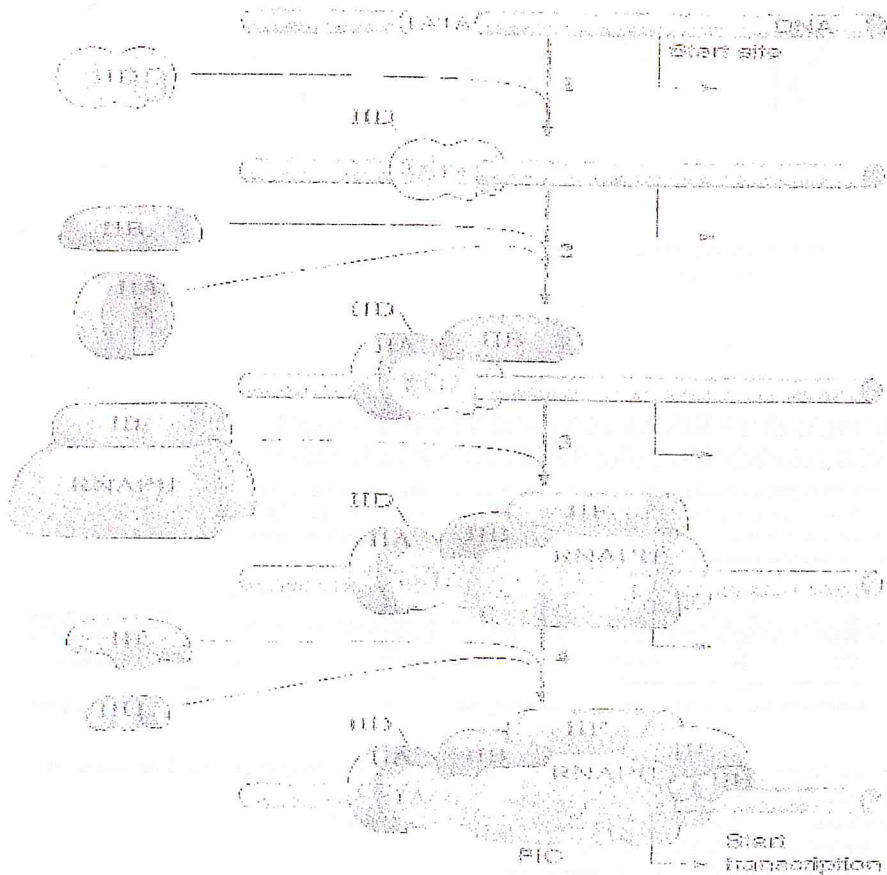
Signaux moléculaires nécessaires à l'initiation:

- ◆ 30 pb : Boîte TATA (équivalente de la Pribnow des procaryotes)
- ◆ 70 pb : CAAT ou Enhancer (virus): stabilisation du complexe ADN-ARNp

Signal de terminaison:

- ◆ Séquence de 6 pb à la fin du gène reconnue par ARN-endonuclease
- >>> Extrémité 3' formée est polyadénylée dans le nucléoplasme.

1.2. L'ARN polymérase II



From Alberts et al. Molecular Biology of the Cell, 4th ed. © Garland Science, 2002. All rights reserved.

LA TRANSCRIPTION DE L'ADN CHEZ LES EUCARYOTES

TRANSCRIPTION

- Lecture d'un gène par une RNA-polymérase qui synthétise un acide ribonucléique dont la structure primaire reproduit celle du brin "sens" de ce gène.

> Mécanisme similaire, mais beaucoup plus complexe

> Plusieurs ARN polymérase:

ARN polymérase I qui synthétise les RNA cytoplasmiques: RNA ribosomiques (18S - 5,8S - 28S)

ARN polymérase II : qui synthétise les RNA messagers certains des snRNA

ARN polymérase III : qui synthétise les petits RNA (tRNA, rRNA5S, snRNA, 7SL-RNA).

ARN polymérase IV spécialisé dans la transcription de l'ADN mitochondrial et la synthèse de l'hétérochromatine chez les plantes.

> Nombreux cofacteurs protéiques nécessaire à la fixation de l'ARN polymérase sur l'ADN

> Structure des gènes des eucaryotes:

Gènes fragmentés

Exons : ADN contenant l'information génétique (traduit en acides aminés)

Introns : séquences intercalaires, fonctions ?

Rôle des différents ARNs

Type d'ARN	Fonctionne dans	Fonction
ARN messenger (ARNm)	Noyau, migre dans le cytoplasme (ribosomes)	Transporte l'information de la séquence ADN vers le ribosome
ARN de transfert (ARNt)	Cytoplasme	Lie l'ARNm avec les acides aminés
ARN ribosomal (ARNr)	Cytoplasme	Structure des ribosomes

1. Les différentes phases de la transcription

➤ Étapes nucléaires:

- Transcription intégrale du gène (exons + introns)
- Addition du « cap » en 5' :
GMP méthylé sur l'azote 7 (donc charge +)
Mise en place rapide (avant la fin de la transcription)
Liaison au 1^{er} nucléotide par une liaison anhydride
Protection de l'ARNm des enzymes de dégradation
- Addition de polyA
Après transcription, addition d'environ 250 A
Aide passage vers cytoplasme

➤ Étapes cytoplasmiques :

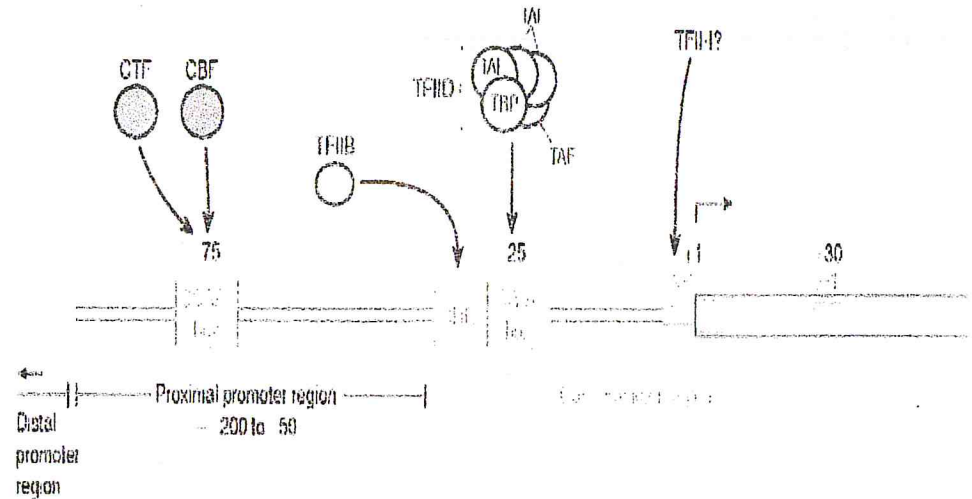
- Maturation du pré-ARNm
- Épissage = coupure et élimination des introns

LES FACTEURS EN AMONT

TATAA : située à environ -25 pb du site +1

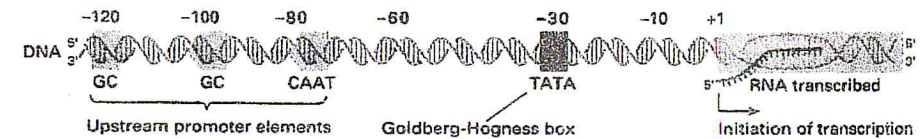
Initiateur (Inr) Py2CAPy5: -3 - +5

DPE (Downstream promoter element): +28 - +32



LES PROMOTEURS EUCARYOTES SONT COMPLEXES EXEMPLE DE PROMOTEURS RECONNUS PAR L'ARN POL II

Promoter elements (modules) for a eukaryotic protein-coding gene transcribed by RNA polymerase II. Each promoter element has a different function in transcription. The DNA sequences between the elements are not important for the transcription process. Transcription factors bind to the elements to promote or repress transcription.



Chez les eucaryotes le promoteur comprend toutes les séquences importantes pour l'initiation de la transcription. Il est modulaire et complexe

Promoteur basal: -TATA box (-25) TATAWAW avec W=A ou T

-Inr YYA (+1) NWYY avec Y=C ou T

Éléments en amont: CAAT ou GC ou octamère (oct)

En général les promoteurs eucaryotes ne contiennent pas l'ensemble de ces éléments

Les nombres et positions des éléments en amont sont variables