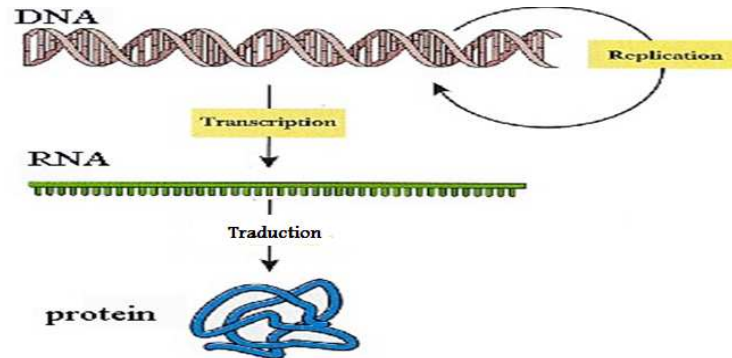


La transcription

I. Introduction

L'ADN est le support de l'information génétique, son expression en protéines passe par l'intermédiaire d'une macromolécule représentée par l'acide ribonucléique (ARN)



II. Définition de la transcription

La **transcription** constitue l'ensemble des mécanismes par lequel l'**ARNm (messager)** est synthétisé

- L'**ARNm** est une copie d'une portion de l'ADN : **le gène**

-La transcription constitue l'étape préliminaire essentielle pour la biosynthèse protéique (ou traduction)

-La transcription ne produit pas seulement des **ARNm, mais aussi des ARNt (de transfert) et des ARNr (ribosomiques)**

III. Caractéristiques générales

▪ La chaîne d'ARN est toujours synthétisée:

- Dans le sens $5' \rightarrow 3'$, chaque nouveau nucléotide est ajouté à l'extrémité $3'OH$ libre de la chaîne en cours de synthèse.

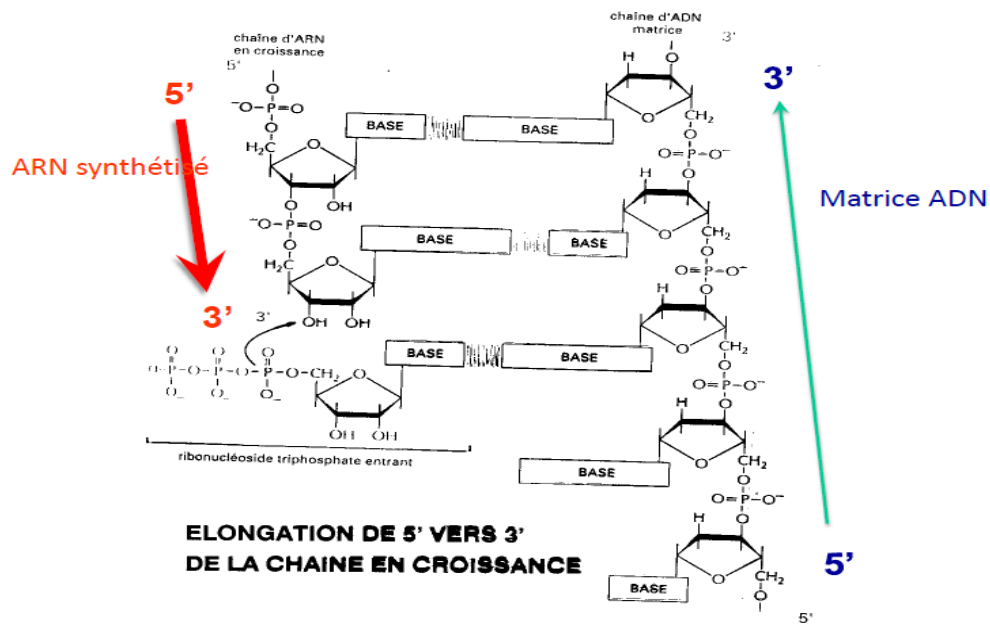
- De façon complémentaire, selon les règles d'appariement des bases.

$A \rightarrow U$; $T \rightarrow A$; $C \rightarrow G$; $G \rightarrow C$

- Et de façon antiparallèle: le brin matrice d'ADN est lu dans le sens $3' \rightarrow 5'$

Seul un des 2 brins d'une molécule d'ADN est transcrit.

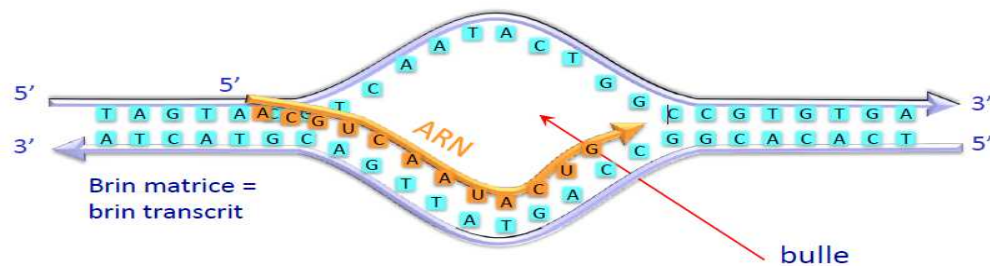
Comme pour la réplication: la RNA polymérase synthétise de 5' vers 3'



Seul un brin d'ADN est copié par l'ARN polymérase

* Le **brin matrice** qui est transcrit en ARN est aussi appelé **Brin non codant** ou **brin antisens**: sa séquence est antiparallèle et complémentaire à celle de l'ARN.

* Le brin **non matrice** est aussi appelé **brin codant** ou **brin sens**: sa séquence est parallèle et identique à celle de l'ARNm (T dans l'ADN est remplacée par U dans l'ARN)



La polymérisation des nucléotides au cours de la transcription est réalisée par des RNA polymérases ADN dépendantes qui catalysent le transfert d'une unité 5'-ribonucleoside monophosphate sur le groupement 3'OH de la chaîne d'ARN en cours de synthèse. Ces enzymes exigent:

- Une matrice d'ADN simple brin
- Les 5' ribonucleotides (ATP, UTP, CTP et GTP)
- La transcription se déroule en 3 phases:
 - initiation
 - élongation
 - terminaison

- Après la transcription l'ARNm se détache et quitte le noyau par les pores de la membrane nucléaire (eucaryotes).
- L'hélice de l'ADN se reforme juste après le passage de l'ARN polymérase.

IV. Comparaison ADN – ARN

	ADN	ARN
Structure	2 brins enroulés en double Hélice	1 simple brin
Sucre	désoxyribose	ribose
Bases	A, T, C, G	A, U, C, G
Longueur	long	Plus court
Type	1 seul	Plusieurs types : ARNm(messenger) ARNt (transfert), ARNr (ribosomal) ...
Fonction	Support de l'information génétique	Copie d'une portion de l'ADN

V. Transcription chez les procaryotes (E. coli)

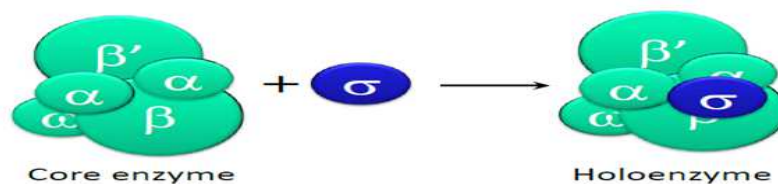
1. Initiation

- **ARN polymérase**

Chez E-coli, **une seule ARN-polymérase catalyse la synthèse de tous les types d'ARN** de la cellule (ARNm, ARNt, ARNr...)

-C'est une protéine multimérique possédant 5 sous-unités 2α , β , β' et σ .

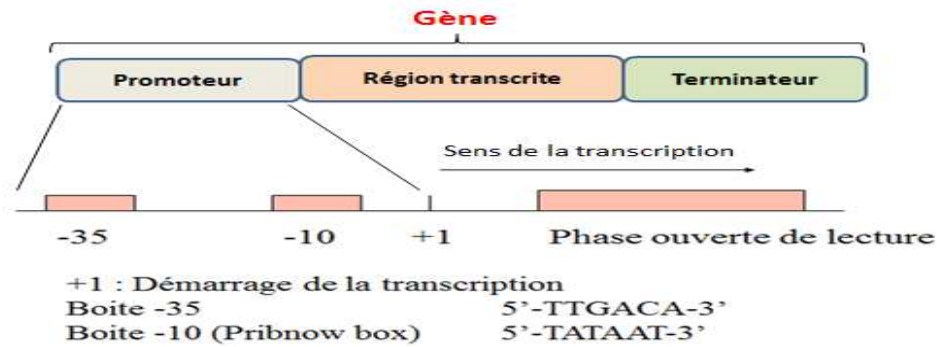
Structure de l'ARN polymérase d'E. coli



- Les ARN polymérases ne nécessitent pas d'amorce.
- Le facteur σ est chargé de la spécificité de reconnaissance du promoteur.
- La sous-unité β se charge de la fixation de nucléosides triphosphates
- La sous-unité β' se charge de la fixation de la matrice

- **Promoteur**

ARN polymérase se fixe à l'ADN au niveau d'une courte séquence d'ADN placée juste avant le gène : **Le promoteur**



Deux courtes séquences conservées appelées séquences consensus sont retrouvées dans les promoteurs bactériens:

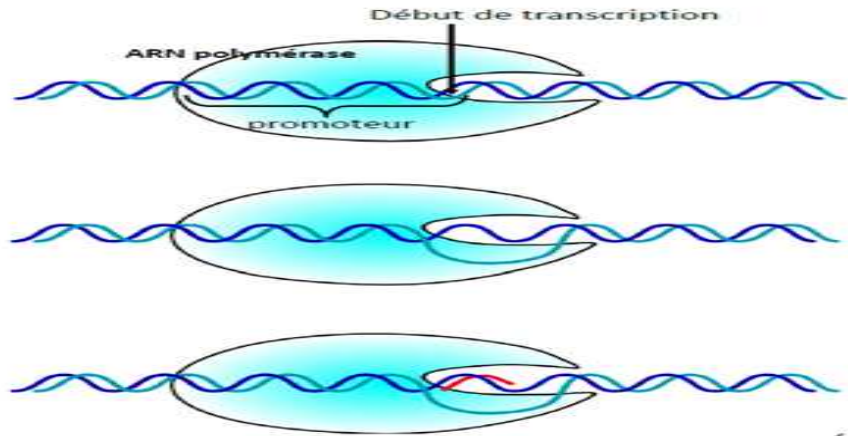
- **La boîte TATA ou Pribnow box ou TATA box :**
 - à -10 du site d'initiation de la transcription : «5' TATAAT 3' »
 - lie directement l'ARN polymérase
 - Permet à l'ARN polymérase d'identifier le site d'initiation de la transcription
- L'autre à -35 du site d'initiation : «5' TTGACA3' »
 - lie directement l'ARN polymérase
 - aide à stabiliser la liaison de l'ARN polymérase au promoteur



-Le facteur d'initiation **sigma** reconnaît spécifiquement le promoteur puis, associé au cœur de l'ARN polymérase se lie au promoteur

-Après liaison au promoteur, l'holoenzyme entraîne:

- Déroulement de l'ADN sur une vingtaine de paire de base autour du site de départ
 - ➔ Formation de la bulle de transcription
- Mise en place du premier nucléotide (très souvent A ou G) par formation de la première liaison phosphodiester entre le groupement 3'OH du premier nucléotide et le groupement 5' phosphate du nucléotide suivant
- Allongement d'une dizaine de nucléotides
- Détachement du facteur sigma, après la transcription des 10 premiers nucléotides.



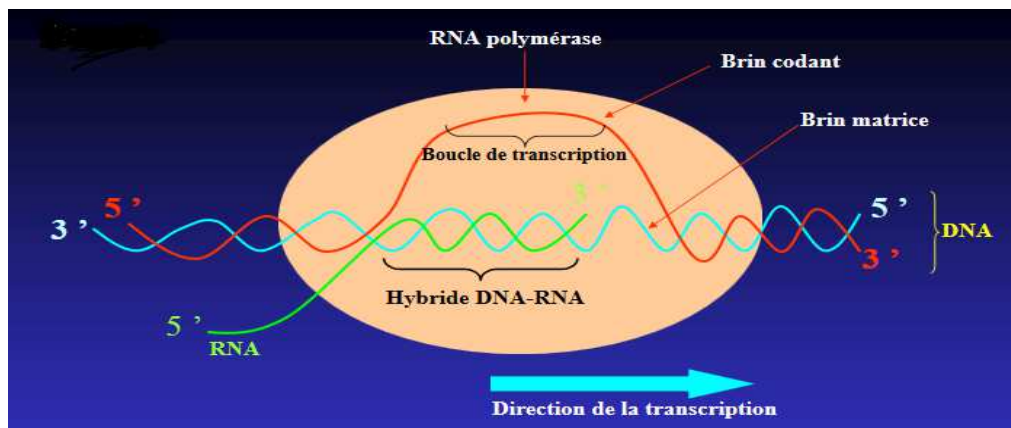
2. Elongation

Le départ du facteur sigma permet à l'ARN polymérase d'assurer l'élongation

-L'élongation correspond au déplacement de la bulle de transcription (ADN déroulé sur une vingtaine de paires de base) le long de la molécule d'ADN. L'ARN polymérase ajoute les NMP à l'extrémité 3'OH de la chaîne de l'ARN en cours de synthèse.

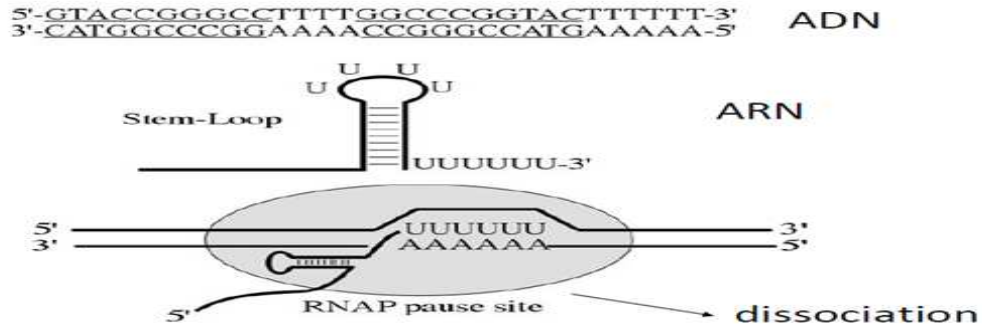
-l'ARN forme un court appariement avec le brin matriciel de l'ADN formant une hélice hybride ADN-ARN sur une dizaine de paires de base (**hétéroduplex**).

-Au fur et à mesure de la progression de l'ARN polymérase ;l'ARN nouvellement synthétisé se sépare du brin d'ADN. La double hélice se reforme



3. Terminaison : La terminaison se fait lorsque l'enzyme arrive au niveau d'une séquence spécifique appelée **terminateur**.

- **les terminateurs rho indépendant :** Le terminateur se présente sous la forme d'un **palindrome** (2 séquences répétées inversées). Ce palindrome entraîne une complémentarité de séquence au niveau de l'ARNm qui permet la mise en place d'une structure en épingle à cheveux (ou tige-boucle) qui déstabilise l'ARN-polymérase. La structure en épingle à cheveux riche en paires de bases G-C est suivie d'une séquence poly-U d'environ 6 nucléotides permettant une dissociation plus facile de l'hybride ADN-ARN et la libération de l'ARN polymérase.



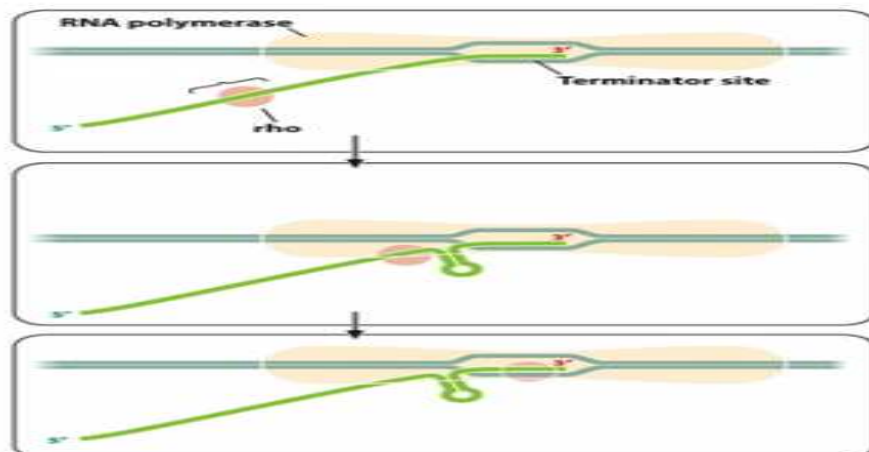
• **Les terminateurs rho dépendant :**

-La transcription se termine suite à la liaison du facteur rho qui est une protéine hexamérique ayant une affinité pour les ARN en court de synthèse.

-Ce facteur rho va parcourir l'ARN de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3' jusqu'à trouver l'ARN-polymérase. Puis grâce à son activité hélicase **ATP** dépendante, dissocie hétéroduplex ARN-ADN et l'ARN polymérase.

Ce mécanisme est utilisé :

- Devant une structure en épingle à cheveux plus courte pauvre en paires de base G-C et non-suivie d'une séquence poly-U.
- **Ou** en l'absence de la structure en épingle à cheveux et de séquence poly-U

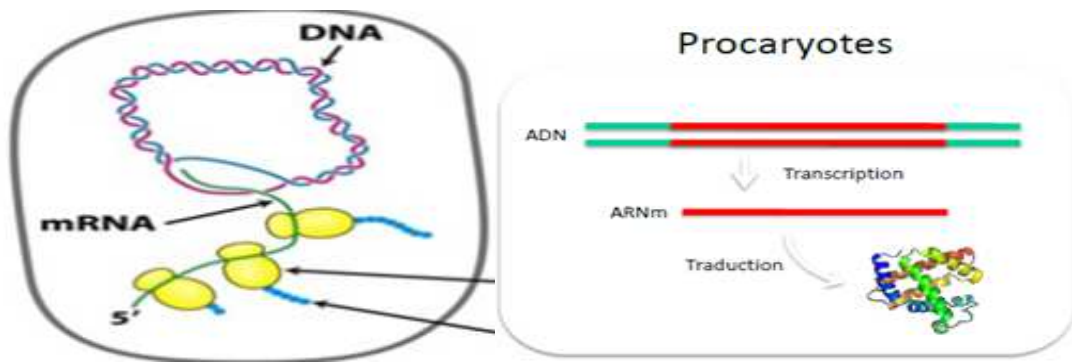


4. Maturation des transcrits primaires

- Le **transcrit primaire** correspond à l'ARN non mature qui nécessite une maturation sous forme de clivages ou de modifications de bases.

-Généralement chez les procaryotes, il y a peu de modifications pour les ARNm ; beaucoup d'ARNm sont traduits en protéines alors qu'ils sont encore transcrits

-Le transcrit primaire code soit pour un produit (une protéine), on parle d'**ARN monocistronique**, soit pour plusieurs produits, on parlera alors d'**ARN polycistronique**



VI. La transcription chez les eucaryotes

La transcription est plus complexe chez les eucaryotes

1. Les ARN-polymérase eucaryotes

Les eucaryotes ont trois types d'ARN-polymérase, chacun catalysant la synthèse d'une classe différente d'ARN.

- ARN-polymérase I pour les ARNr 5,8 ; 18 et 28 S
- ARN-polymérase II pour les ARNm
- ARN-polymérase III pour les ARNt, ARNr 5 S et pour les petits ARN

2. L'ARN-polymérase n'est pas suffisante pour démarrer la transcription, elle nécessite d'autres protéines interagissant avec l'ADN du promoteur, appelées **TF** (transcription factor)

Selon la classe ARN-polymérase on distingue:

- *TF I* interagissant avec l'ARN-polymérase I
- *TF II* interagissant avec l'ARN-polymérase II
- *TF III* interagissant avec l'ARN-polymérase III

3. Les modifications post-transcriptionnelles chez les eucaryotes sont importantes en particulier celles des ARNm

A-Mécanisme de transcription par l'ARN polymérase II (ARNm)

1. Initiation

• Le promoteur

Les promoteurs eucaryotes sont très complexes

□ Promoteur basal ou minimum

- La **TATA box** (= **boîte de Hogness**) entre -30 et -25, elle est présente dans environ 80% des promoteurs.
- L'**INR box** (**élément initiateur**), se trouve près du site de début de transcription, entre les positions -3 et +5, présente dans environ 60% des promoteurs.

□ Eléments en amont

- La **GC box**
- La **CAAT box**

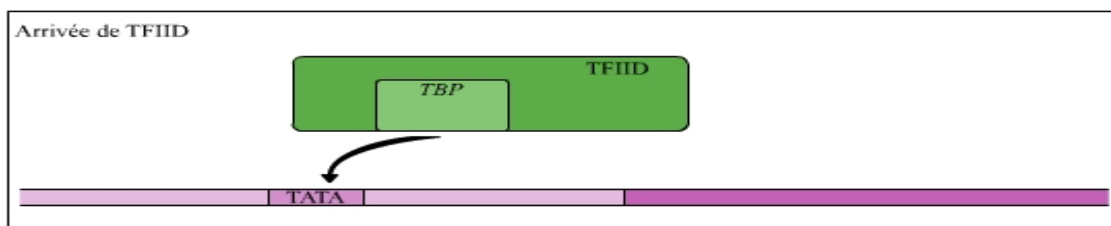
Ces séquences sont souvent bien conservées, une variabilité peut également être observée. Ainsi, il existe des promoteurs sans "boîte TATA"



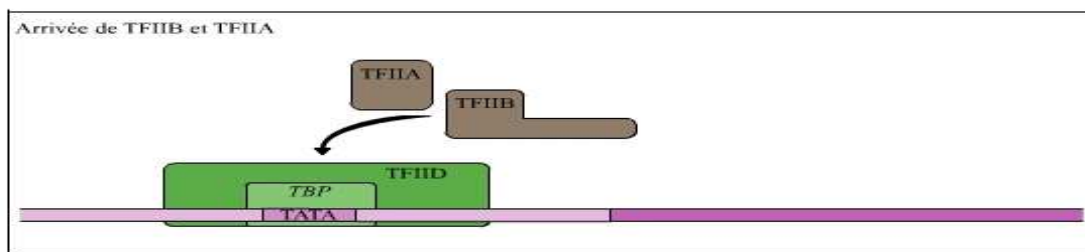
• **Le complexe d'initiation**

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

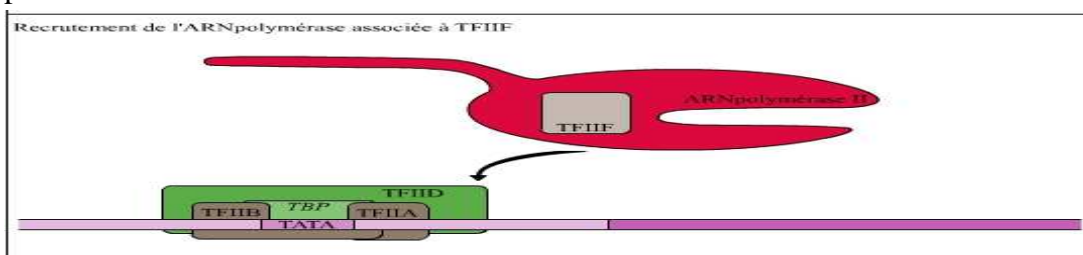
- TFII D** se fixe à la TATA box du promoteur via l'une des sous-unités qui le composent, la protéine **TBP** = *TATA box-Binding Protein* (*Protéine de liaison à la boîte TATA*)
- La TBP est la première protéine qui reconnaît la boîte TATA



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



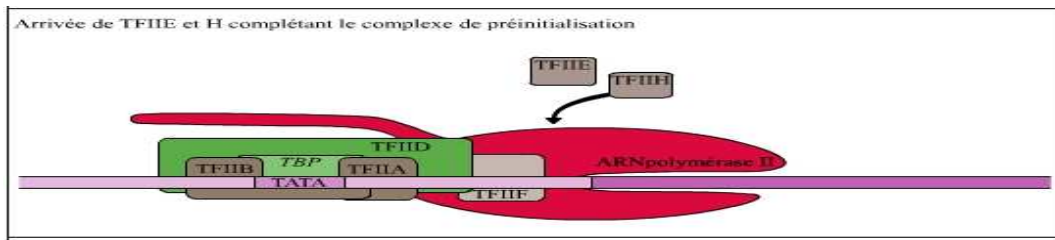
- **TFII B** recrute **TFII F** préalablement fixé à l'ARN polymérase, ce qui permet la liaison de l'enzyme au complexe précédent.



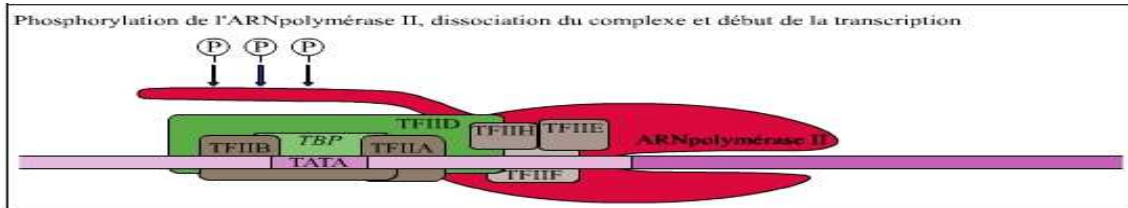
- TFII E**, puis **TFII H** complètent le complexe de pré-initiation.

Le facteur **TFII H** possède une double activité enzymatique: hélicase ATP-dépendante permettant l'ouverture de la double hélice d'ADN au niveau du promoteur et la formation de la bulle de transcription, et une activité kinase responsable de la phosphorylation du **domaine C-terminal** (CTD : carboxy-terminal domain) de l'ARN polymérase II.

- Cette phosphorylation entraîne une modification de la structure tridimensionnelle de l'ARN polymérase entraînant la dissociation du complexe d'initiation et le début de la transcription.



- Les **TFII A** , **TFII B** et **TFIID** sont abandonnés sur place
- A la position +11, le complexe entre en mode d'élongation. Les facteurs **TFII E**, puis **TFII H** ne sont plus nécessaires, seul le facteur **TFII F** reste lié à l'enzyme.



2. Elongation

L'ARN polymérase liée au TFIIF avance sur le brin matrice, ajoutant les NMP à l'extrémité 3'OH de la chaîne en cours de synthèse (20 nucléotides /s).

- Dans la bulle de transcription, l'ARN naissant et l'ADN matrice forment un hétéroduplex sur une dizaine de Pb.
- Au fur et à mesure de la progression de l'ARN polymérase II ; l'ARN nouvellement synthétisé se sépare de l'ADN. La double hélice se reforme

3. Terminaison chez les eucaryotes

Les signaux de terminaison sont moins bien connus que chez les procaryotes

- La transcription par l'**ARN polymérase II** se poursuit au-delà de la fin du dernier exon de l'ARNm.
- L'arrêt de la transcription est lié à la polyadénylation de l'extrémité 3'OH du transcrit.

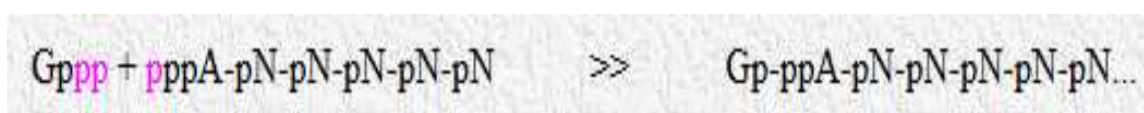
B. Maturation des ARN pré-messager

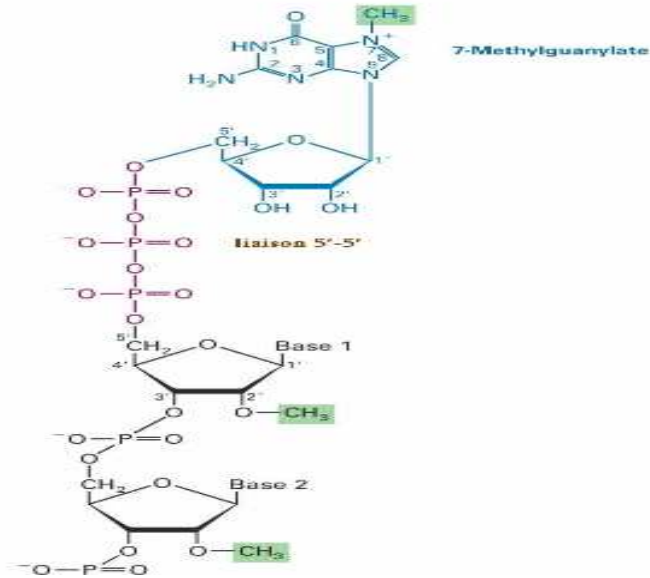
Après sa synthèse, le pré-ARNm subit des modifications

- **À l'extrémité 5': addition d'une coiffe=coiffage=capping**
 - Préviend la dégradation prématurée
 - Intervient dans l'initiation de la synthèse protéique
- **À l'extrémité 3' OH: addition d'une queue poly A**
 - 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. Le coiffage ou capping

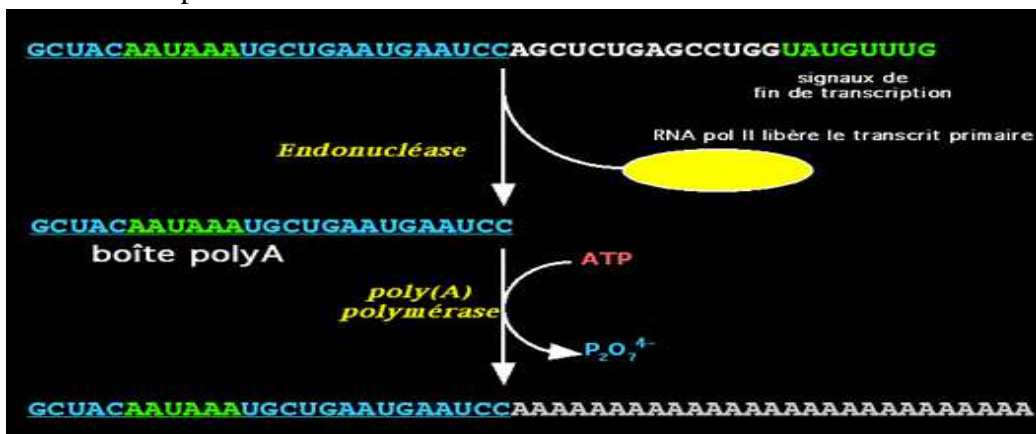
-Après l'initiation de la transcription, lorsque 20 à 30 nucléotides ont été incorporés, l'extrémité 5'-P est coiffée par addition d'un nucléotide à guanine méthylé en position 7 (m7G) relié par une liaison 5'5' triphosphate non usuelle.





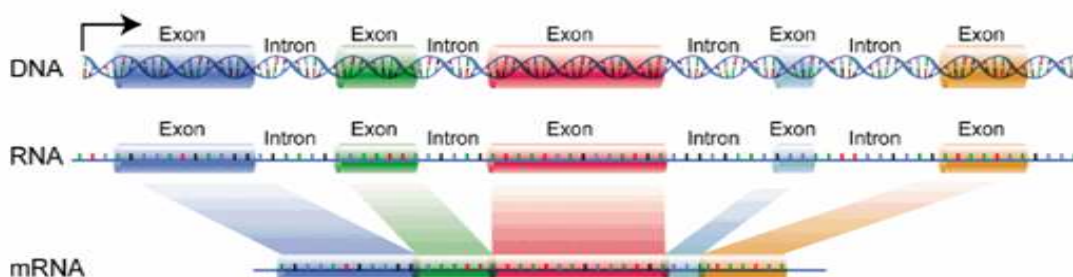
2. Polyadénylation en 3'

- L'ARN polymérase II synthétise de l'ARN m au delà du segment contenant la séquence AAUAAA (signal de polyadénylation)
- Ce signal de polyadénylation est reconnu par le facteur **CPSF** (**C**leavage and **P**olyadenylation **S**pecificity **F**actor).
- 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 transcrit primaire et ceci sans matrice

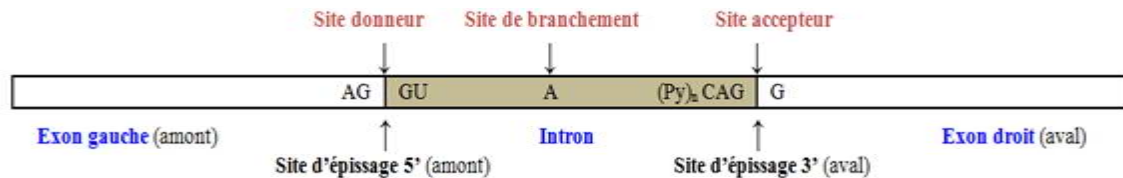


3. Excision des introns et épissage des exons (ou splicing)

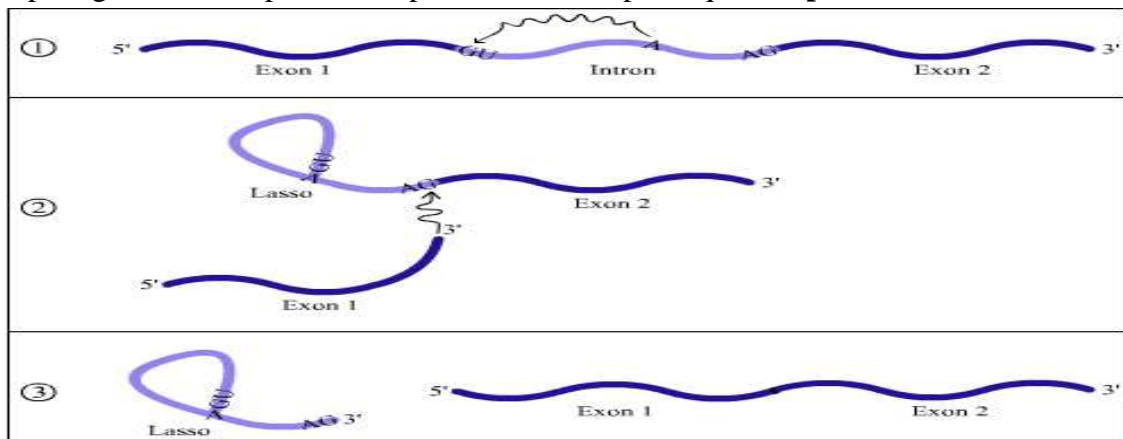
- Le transcrit primaire du ARNm est constitué par une alternance de séquences codantes: **les exons** et de séquences non codantes : **les introns**



- Après l'addition de la coiffe et la polyadénylation, le transcrit 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'
 - **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.

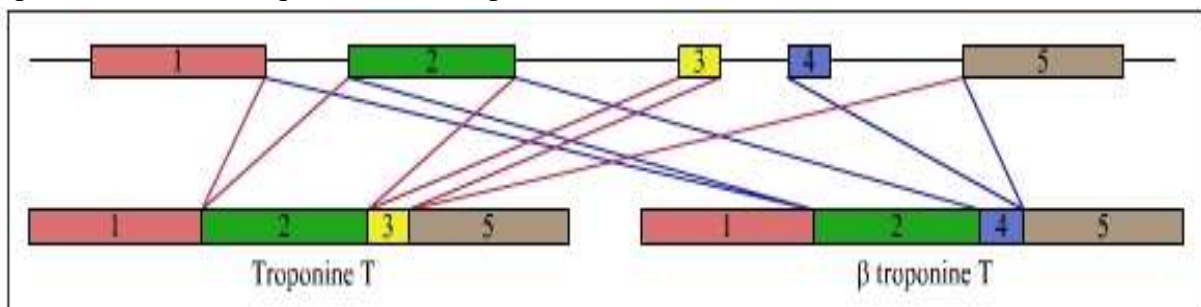


- L'excision-épissage est réalisée par réaction du nucléotide à adénine (A) du site de branchement de l'intron avec un nucléotide à guanine situé en 5' de l'intron. Cela entraîne la séparation de l'intron d'avec l'exon 1 (situé en amont) et la formation d'une structure en lasso interne à l'intron. Ensuite, 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.
- L'épissage est réalisé par un complexe ribonucléoprotéique: **le splicéosome**

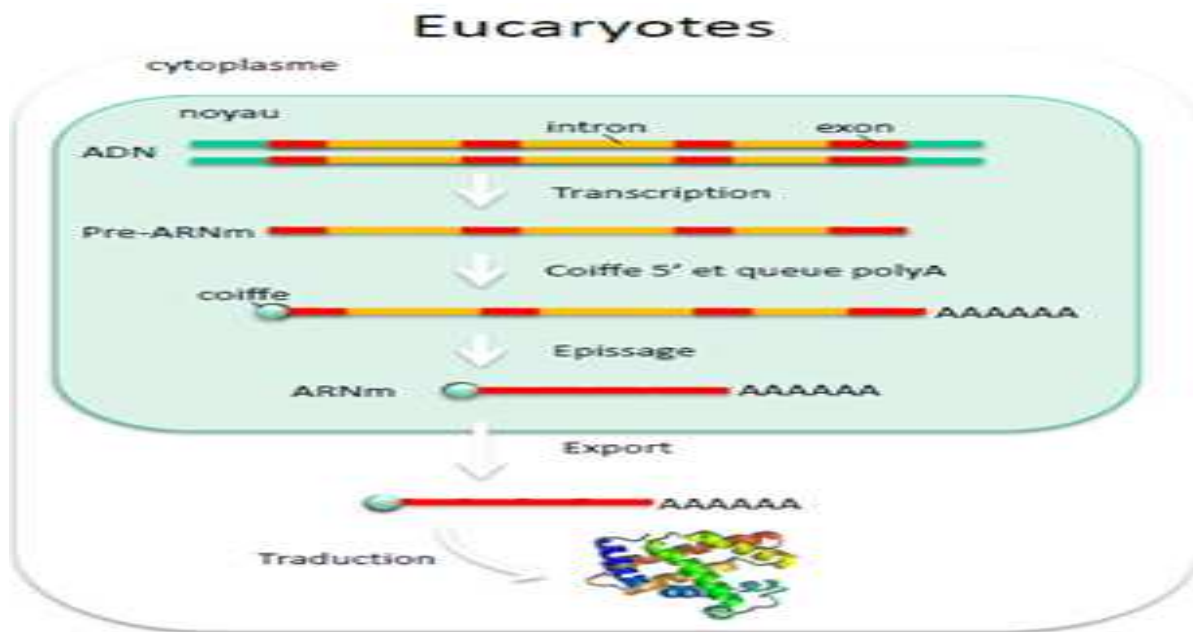


4. L'épissage alternatif

- A partir d'un transcrit primaire on peut avoir deux ou plusieurs ARNm matures qui seront à l'origine de la formation de protéines différentes. Ceci est possible grâce à l'épissage alternatif qui consiste en l'élimination de certains exons.
- 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.



L'ARNm mature est ensuite transporté au travers des pores nucléaires vers le cytoplasme où il est traduit



VII. Comparaison entre la transcription chez les eucaryotes et les procaryotes.

	Procaryotes	Eucaryotes
Lieu	cytoplasme	Noyau
Enzymes	Une seule ARN polymérase constituée de plusieurs sous-unités : $\alpha 2 \beta \beta' \sigma$	3 classes d'enzymes - RNA polymérase I - RNA polymérase II - RNA polymérase III
Initiation	Rôle des séquences promotrices et de l'enzyme.	Rôles des promoteurs mais aussi de facteurs protéiques de transcription
Terminaison	- Terminaison ρ dépendante - Terminaison ρ indépendante Le signal de fin de transcription : séquence palindromique riche en GC suivie d'une séquence riche en AT	Le signal de fin de transcription : séquence 3'-TTATTT5'.
Maturation de l'ARNm	Maturation de l'ARNm : Synthèse protéique est couplée à la transcription (pas de maturation).	Maturation de l'ARNm : - polyadénylation en 3' - coiffe en 5' - Excision des introns et épissage des exons.
ARNm	ARNm polycistronique	ARNm monocistronique

Références bibliographiques

1. -Christian Moussard. Biochimie et biologie moléculaire .de Boeck 2^{ème} tirage 2011, ISBN : 978-2-8041-6229-0.
2. -Neddjma Ameziane ,Marc Bogard,Jerome Lamoril. Principe de biologie moléculaire en biologie clinique .Elsevier p50-60.ISBN 2-84299-685-2.
3. -Jack J.Pasternak. Génétique moléculaire humaine.de boeck p102-115.ISBN 2-7445-0147-6.
4. -Internet