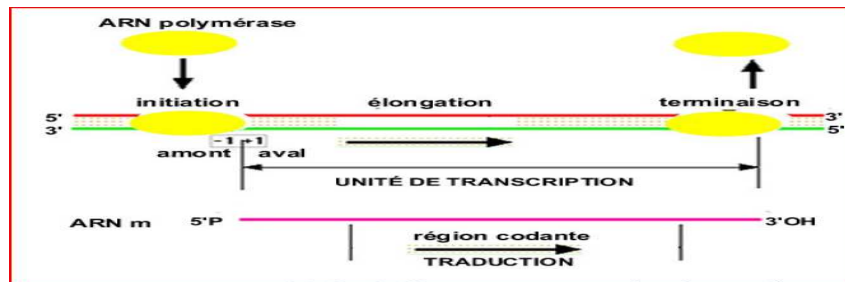


MÉCANISME GÉNÉRAL DE LA TRANSCRIPTION

La transcription est **une biosynthèse d'ARN** est basée, comme celle de l'ADN, sur la **complémentarité** des bases.

- Contrairement à la **réplication** qui intéresse la **totalité du génome** : la **transcription** n'est pas fixe : seules, de **petites portions du génome** sont **transcrites** à une **période** donnée de la vie de la cellule qui varient en fonction du développement, de l'environnement etc...
- La transcription **commence** en un **point précis** de l'ADN pour se **terminer** en un point précis : l'espace entre les deux constitue **une unité de transcription**.
- Elle se déroule en trois étapes : **Initiation, Elongation et Terminaison**



TRANSCRIPTION CHEZ LES PROCARYOTES

- La transcription est assurée par une **ARN polymérase** qui utilise l'ADN simple brin
 - elle polymérise des **ribonucléotides** en regard des désoxyribonucléotides.
 - *Catalyse des liaisons phosphodiester dans le sens 5' – 3' (nécessite une **matrice 3' -5'**)*
 - *Ne nécessite pas la présence d'une **amorce**.*
 - *N'a pas d'activité exonucléasique : pas de correction (édition)*
- Interventions de nombreux facteurs protéiques **différents de ceux intervenant dans la réplication** pour assurer l'initiation, l'élongation et la terminaison.
- Il existe des **différences importantes** entre la transcription chez les procaryotes et celle des eucaryotes ainsi que dans le contrôle de cette transcription.

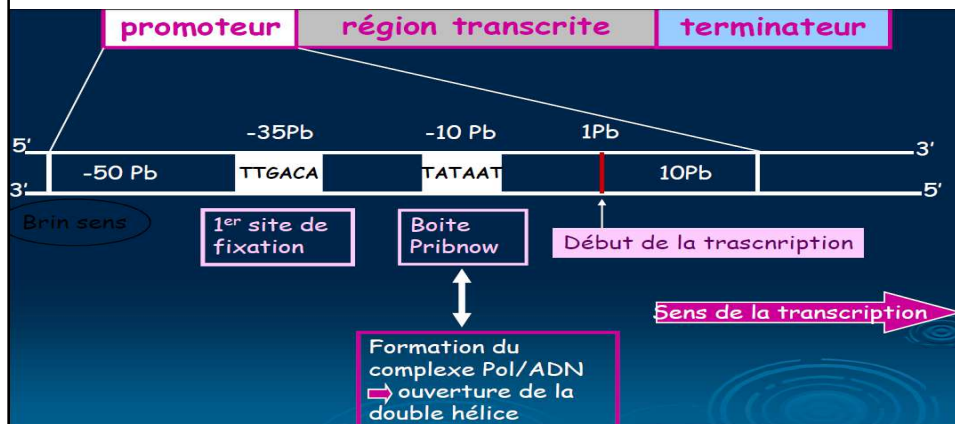
Structure générale d'un gène:



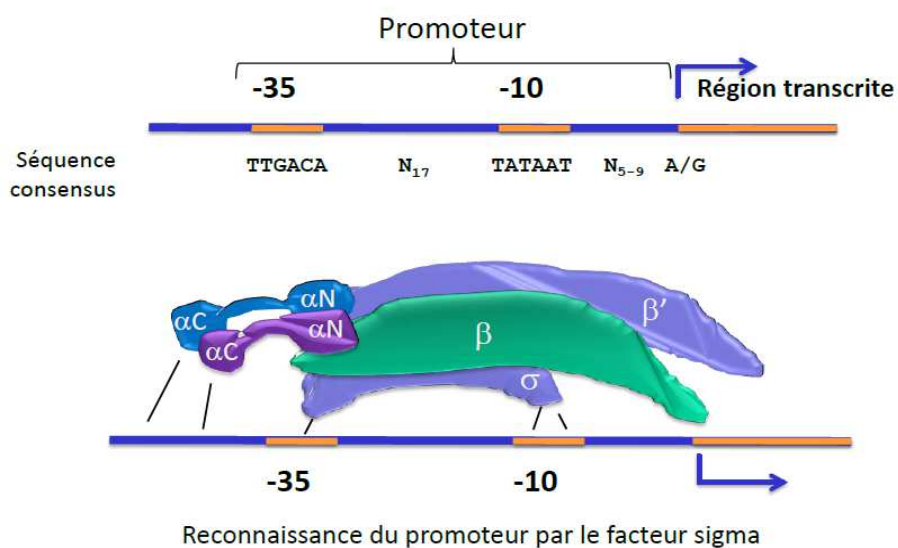
Initiation de la transcription

➤ La sélection du segment d'ADN à transcrire est réalisée par la formation d'un complexe d'initiation au niveau d'une petite région d'une séquence d'ADN qui permet la liaison de l'ARN polymérase pour initier la transcription = c'est le **promoteur**

Ce **promoteur** est constitué de 2 séquences très conservées, situées respectivement 35 et 10 pb en amont du site d'initiation de la transcription



Structure d'un promoteur bactérien



ARN Polymérase

Holoenzyme de 500 kDa, multimérique de 5 sous-unités : $\alpha 2\beta\beta'\sigma$

➤ Core-enzyme = $\alpha 2\beta\beta'$ faible affinité pour le promoteur

➤ La s/unité (**facteur sigma**) σ :

➤ considérée comme cofacteur de l'enz a une grande affinité pour le promoteur.

➤ Elle se dissocie de l'enzyme après sa fixation sur ce dernier.

➤ interagit avec la séquence comprise entre -35 and -10 au niveau des promoteurs afin de sélectionner les gènes à transcrire

Sous unite	Fonction
β	se charge de la fixation de nucléosides tri-phosphates
β'	se charge de la fixation de la matrice
α	reconnaissance probable des promoteurs
σ	reconnait les promoteurs "forts"

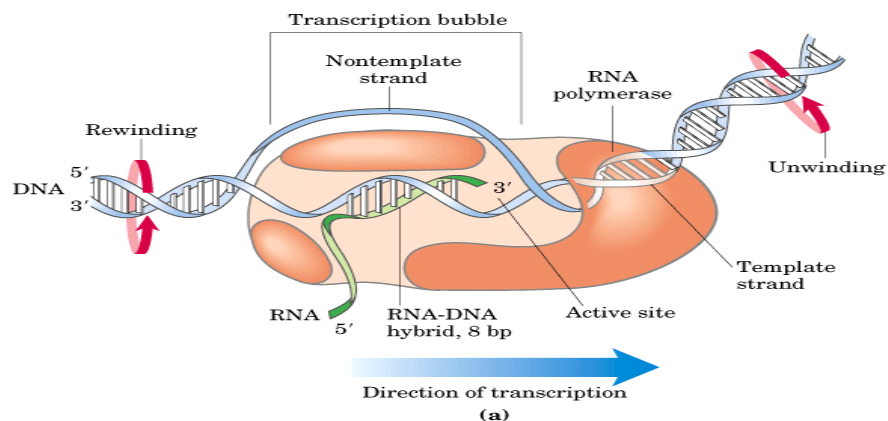
Elongation de la transcription

➤ L'holoenzyme se lie fortement aux régions promotrices qu'elle dénature localement pour commencer la transcription.

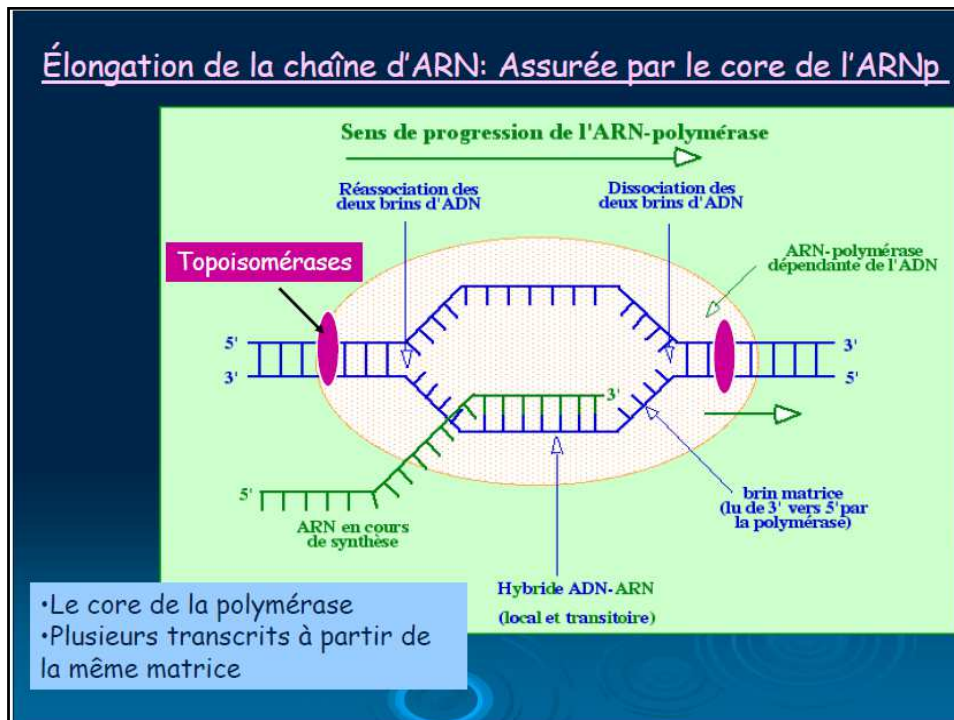
➤ L'initiation va durer le temps que la polymérase associe 7 ou 8 ribonucléotides sous forme d'un polymère hybride au brin matrice (ARN/ADN).

➤ Comme le core-enzyme présente une très forte affinité pour les hétéroduplexes ARN/ADN, le facteur σ se décroche et c'est le core-enzyme qui va seul continuer la transcription

➤ Le core-enzyme continue la polymérisation tout en déroulant l'ADN en aval et en le ré-enroulant une fois la séquence copiée



Élongation de la chaîne d'ARN: Assurée par le core de l'ARNp



- - **Un seul brin de l'ADN est transcrit** à la fois : il sert de modèle à la polymérisation des ribonucléotides : **brin matrice (3' - 5') = non codant (brin transcrit)**
- **Le brin qui possède le code** n'est pas transcrit mais, : **brin codant = non matrice = non transcrit (brin +)**.
- Le résultat est une molécule d'**ARN** dont l'orientation 5' 3' **identique** au brin **codant** et **complémentaire** au brin **transcrit** et qui correspond à l'orientation NH₂ - COOH de la protéine
- les produits de transcription peuvent provenir d'un des 2 brin ou des 2 brins.

(5') CGCTATAGCGTTT(3') DNA nontemplate (coding) strand

(3') GCGATATCGCAA(5') DNA template strand

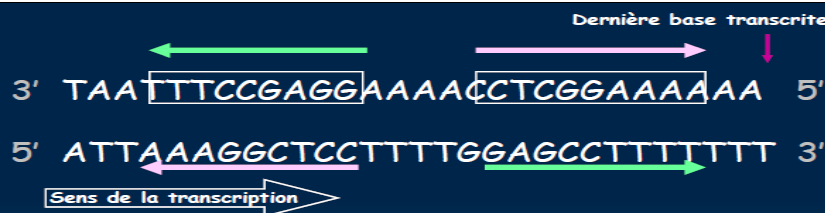
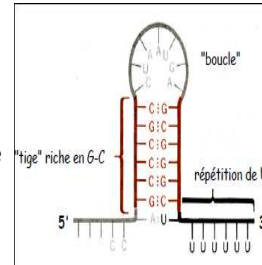
(5') CGCUAUAGCGUUU(3') RNA transcript

Terminaison de la transcription

terminaison indépendante du facteur rho :

Les signaux de terminaison sont localisés dans la partie déjà transcrite de l'ARN: structure épingle à cheveux (hairpin) qui mobilise les nucléotides de l'ARN normalement impliqués dans l'hybride ARN/ADN.:

- Cette structure est constituée d'une séquence palindromique (C)n (G)n suivit de U.
- Ceci forme une tige boucle stable suivit d'un poly U apparié aux poly A.
- L'appariement entre poly U et poly A est peu stable, l'ARN et le core-enzyme se décrochent de l'ADN de façon spontanée.



terminaison dépendante du facteur rho : (rho dépendante) :

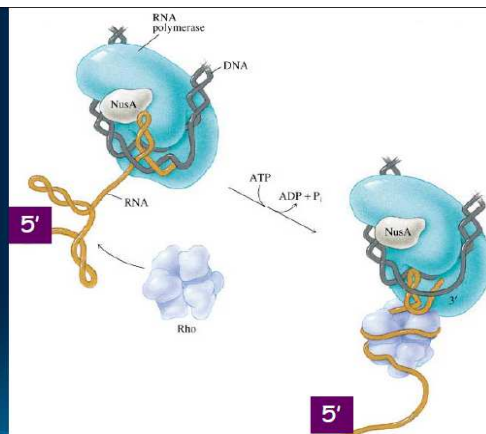
- Certains terminateurs possèdent trop peu de G/C dans la région correspondant à l'épingle à cheveux pour que cette structure se forme et reste stable.
- Un facteur supplémentaire (**facteur ρ** = protéine hexamérique) se lie à l'ARN et stabilise cette structure secondaire.
- La fixation de Rho cause le décrochage de la polymérase

Facteur Rho:

•hélicase ATP dépendante

•Fixation à l'extrémité 5' de l'ARNm, localise le complexe pol-ARN et le déroule

Libération de l'ARN nouvellement synthétisé

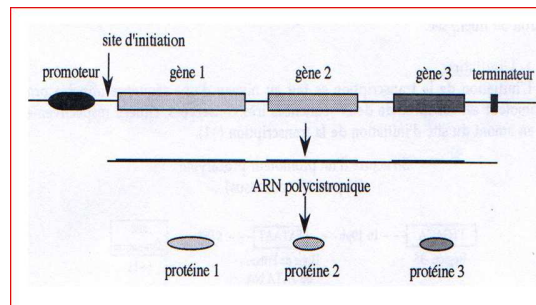
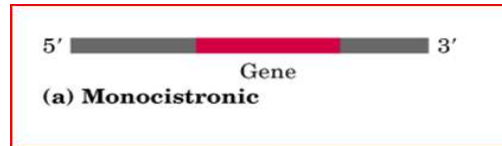


Notion d' ARNs Monocistroniques et polycistroniques

Chez les procaryotes, un gène est défini structurellement comme une séquence d'ADN comprenant un **promoteur**, un site d'initiation et un site de terminaison

➤ On trouve des gènes de structure simple ne contenant, (comme chez les eucaryotes) qu'une seule unité de traduction : **ARNm monocistronique**

➤ D'autre part, il existe chez les procaryotes des gènes organisés en opérons (voies métaboliques) et donnant des **ARNm polycistronique** : ex **opéron lactose**



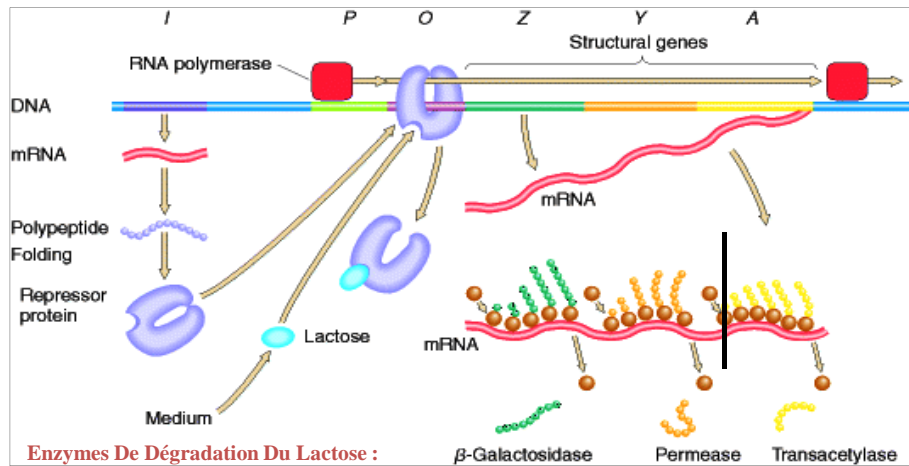
Cas des ARNs polycistroniques

QU'EST-CE QU'UN OPÉRON ?

- Un opéron est une unité régulée d'expression des gènes dans laquelle on trouve un ensemble de gènes structuraux, sous le contrôle d'un système régulateur unique.
- Les gènes structuraux sont transcrits à partir d'une région "opérateur-promoteur" commune, sous la forme d'un ARN messenger unique, appelé **ARNm polycistronique**, qui sera traduit en protéines différentes (apparentées).
- Cet opéron est contrôlé par une protéine de régulation (répresseur ou activateur) codée par un gène de régulation spécifique.

Contrôle de la Transcription L'Opéron Lactose

L'Opéron Contient l'Ensemble des Séquences Régulatrices et Gènes



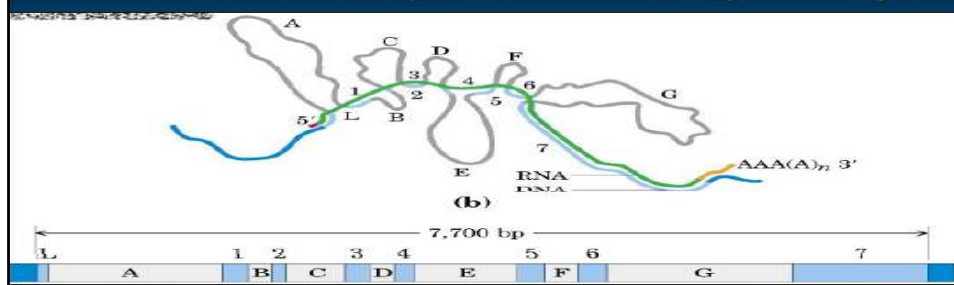
- En Absence de Lactose, l'opéron n'est pas actif, le gène étant inhibé par la fixation d'un répresseur qui bloque l'ARN polymérase.
- La présence du lactose provoque la levée de cette inhibition.

LA TRANSCRIPTION CHEZ LES EUKARYOTES

- Le principe est le même que chez les procaryotes : transcrire un code contenu dans la séquence de l'ADN dans une molécule d'ARN
- mais les modalités diffèrent.

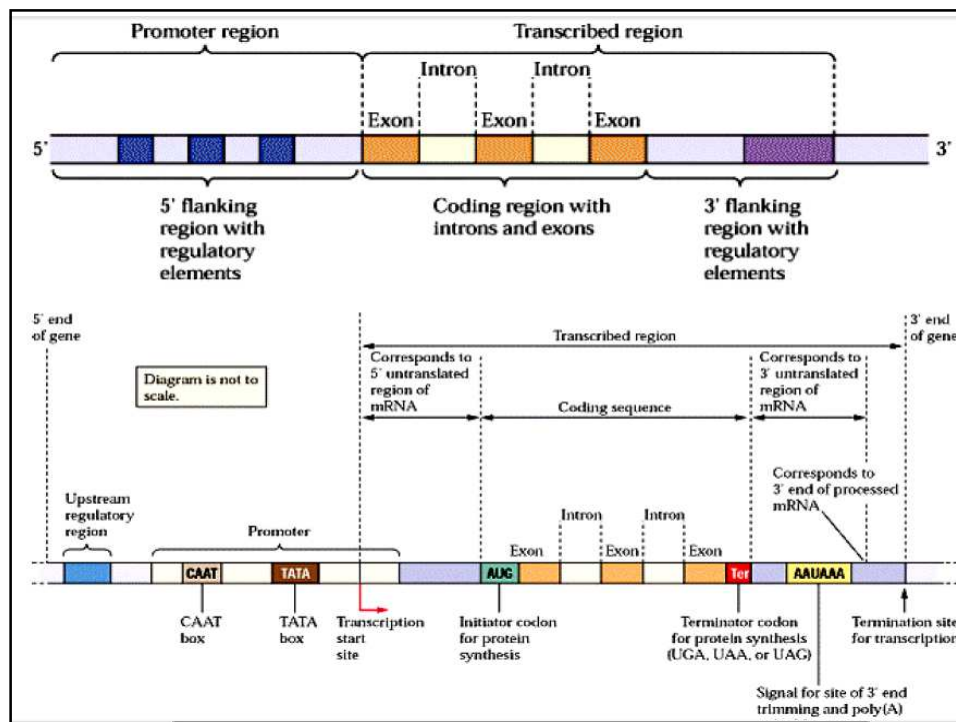
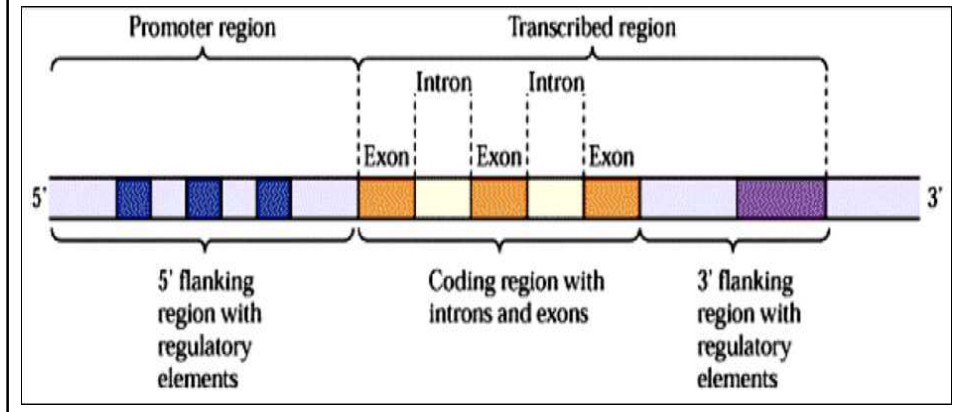
Génome des eucaryotes:

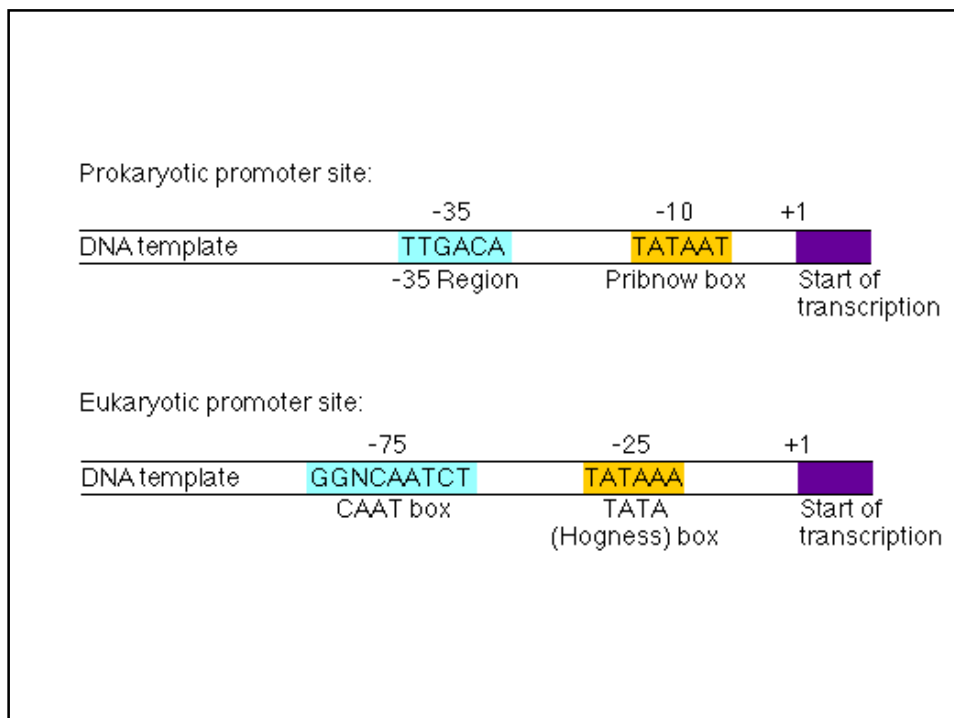
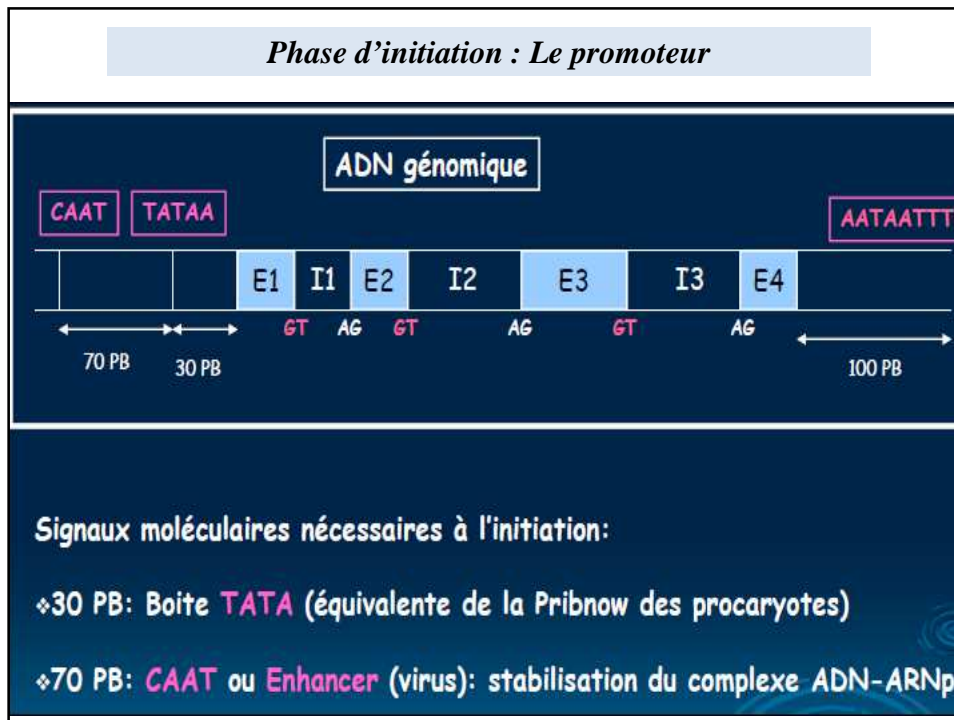
- Diploïde
- Éclaté ou en mosaïque: introns et exons
- Expression compartimentée
- Unité de transcription est monocystronique



TRANSCRIPTION DES GÈNES EXPRIMÉS EN PROTÉINES

- le plus souvent, les gènes sont structurés en mosaïque de portions codantes (les exons) et de portions n'ayant pas de signification protéique (les introns).
- La synthèse d'ARN chez les eucaryotes donne généralement naissance à un produit de transcription «primaire» (ou pré-messager) qui devra subir une maturation pour fournir le messager cytoplasmique fonctionnel.
- On distingue les deux étapes dans la réalisation d'un ARN messager fonctionnel : **transcription et maturation.**





LES ARN POLYMÉRASES

Trois ARN polymérases sont mises en jeu dans la transcription

1. L'ARN polymérase A (ou I)

- transcrit les gènes ribosomiques, et elle assure la synthèse des ARN des ribosomes (5,8S, 18S et 28S) au niveau du nucléole.

– **Inensible à l'amanitine (Amanite phalloïde)**

1. L'ARN polymérase B (ou II)

- réalise la synthèse de tous les ARN messagers nucléaires, qui seront traduits en protéines «**gènes de la classe II**».

– réalise la synthèse des ARNs

– **Fortement inhibée par l'amanitine.**



2. L'ARN polymérase C (ou III)

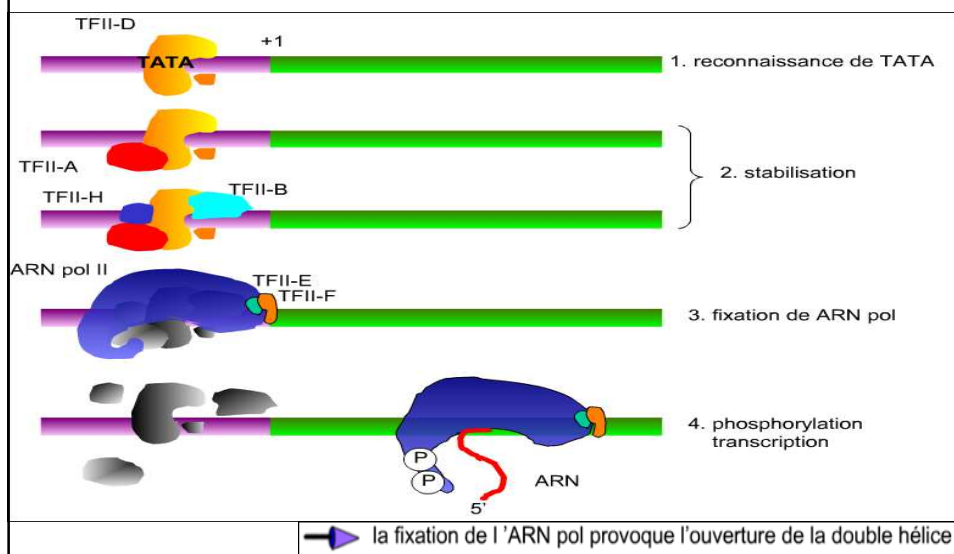
- assure la synthèse des ARN de transfert et ARN ribosomique 5S

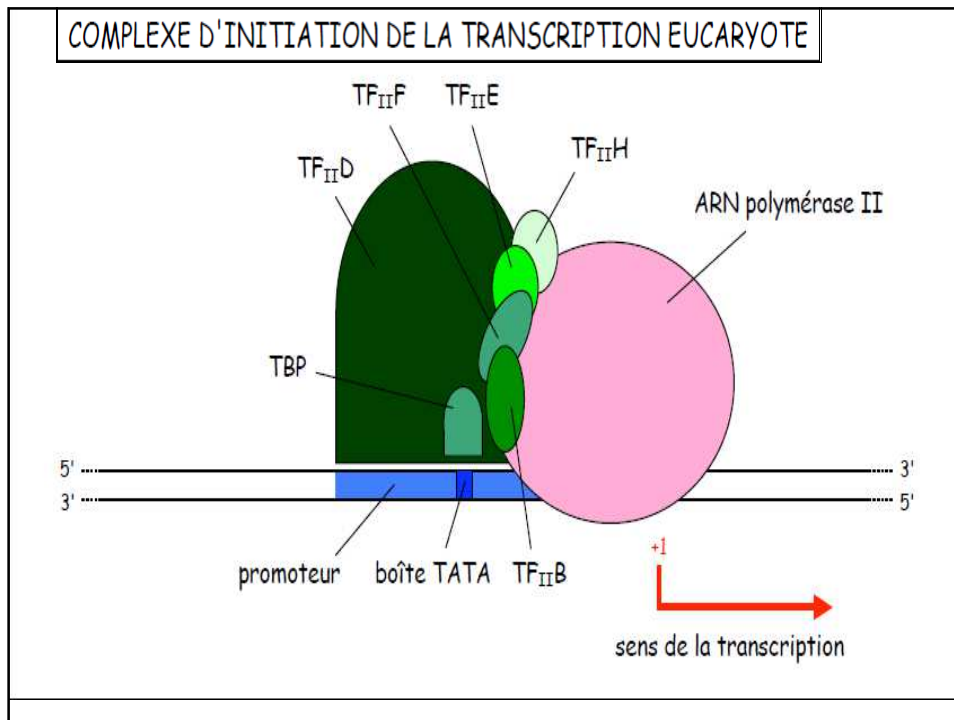
– transcription de gènes cytoplasmiques (contenus dans les mitochondries.

– **Modérément Inhibée par l'amanitine.**

Phase d'initiation : Facteurs généraux de transcription

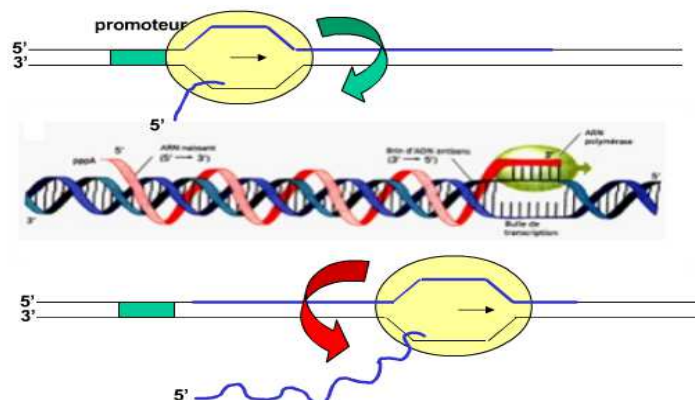
- présence de **facteurs obligatoires** d'initiation (7) car l'ARN POL **ne peut reconnaître le promoteur (facteurs généraux de transcription)**.
- ces facteurs se fixent **spécifiquement** sur le promoteur .





2. Phase d' élancement

- ➡ l'élancement se fait dans le sens 5' 3' par formation de liaisons phosphodiester
- ➡ problème de la chromatine : interaction avec les nucléosomes
- ➡ l'avancement de l'ARN pol sur le brin « - » s'accompagne de l'ouverture de la double hélice d'ADN et est suivi par le réappariement des 2 brins d'ADN



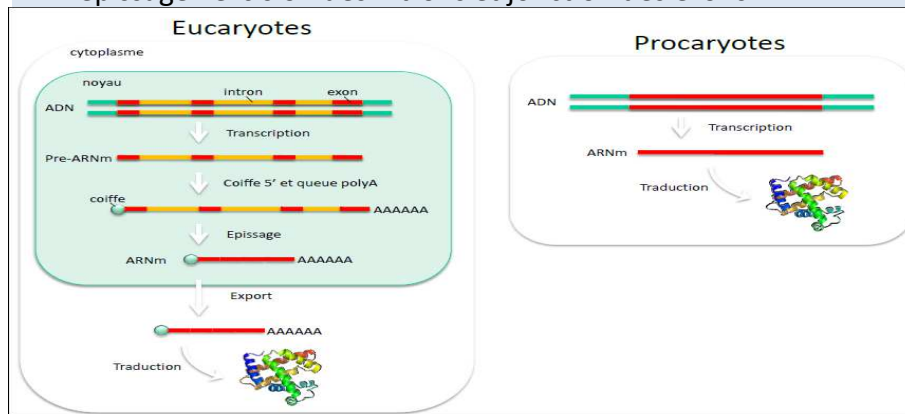
Elongation et termination

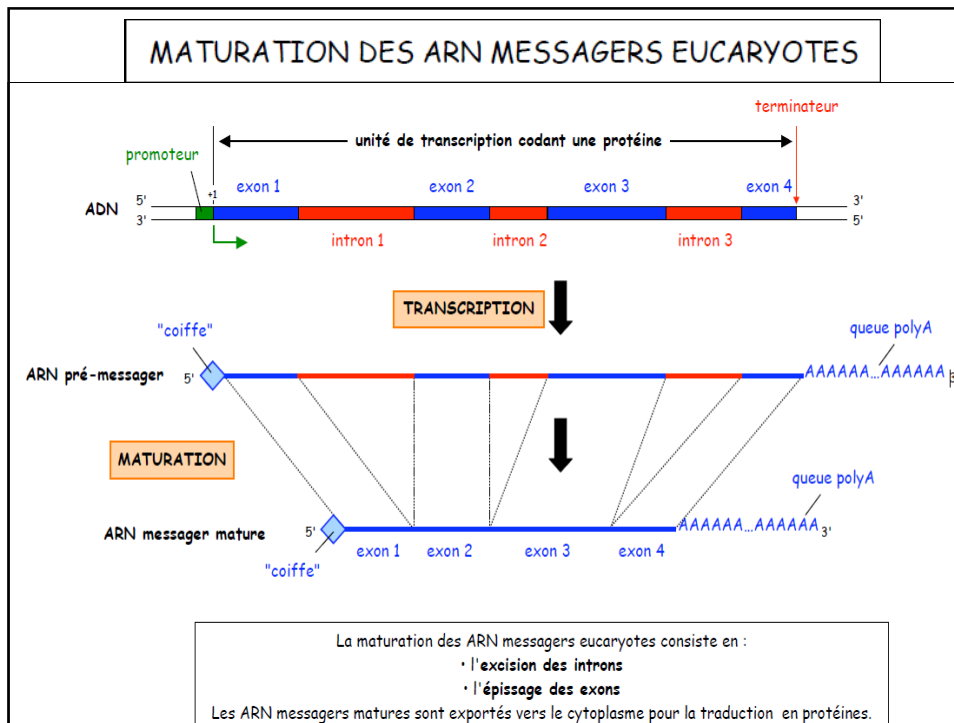
- Une fois le l'ARN pol s'éloigne du promoteur, la chaîne ARN s'allonge et adopte une nouvelle structure en s'associant avec de nouvelles protéines: facteurs d'élongation.
- La Termination chez les eucaryotes est moins bien connue: Elle est associée à la maturation des ARNm
 - Reconnaissance d'une séquence de clivage (AAUAAA-----GC ou U rich) par des complexes enzymatiques qui vont cliver cette extrémité et assurer polyadenylation.
 - Ce processus signifie au complexe Pol II de se séparer de la matrice ADN et de terminer la transcription.

MATURATION des ARNm

La maturation de la plupart des transcrits primaires d'ARN porte sur 3 points :

- la formation d'une structure particulière (coiffe) en 5'.
- l'adjonction d'une séquence polyadénylée en 3'
- l'épissage : excision des introns et jonction des exons





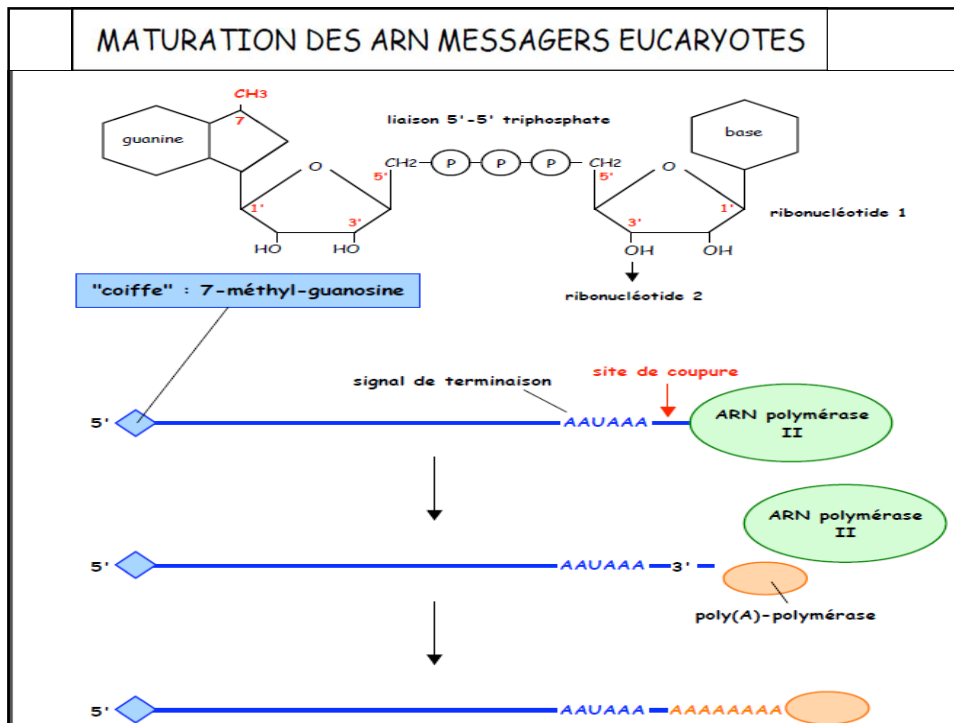
Coiffe:

- ❖ Extrémité 5'
- ❖ structure particulière constituée d'une guanosine méthylée sur l'azote 7 et fixée à l'extrémité 5' par une liaison pyrophosphate 5'-5' à la première base de l'ARN (A ou G)
- ❖ Rend la dernière base du messageur inaccessible aux ribonucléases
- ❖ Augmente l'efficacité de la traduction

↑ Augmente l'affinité
↓ des enzymes

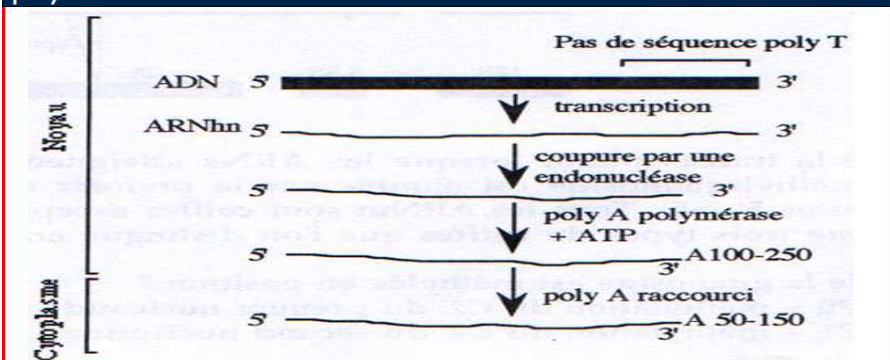
La méthylation du N7= signal de reconnaissance pour les ribosomes

Liaison pyrophosphate



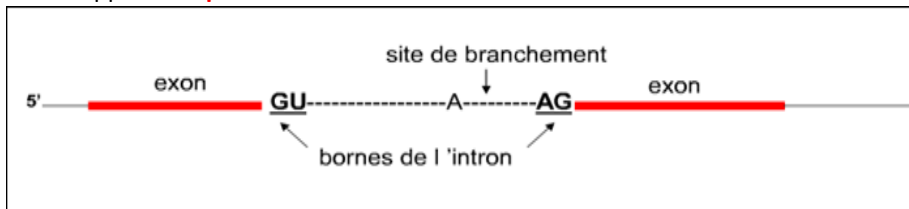
Polyadénylation en 3': queue polyA

- ❖ Ajoutée à la fin de la synthèse de l'ARN à l'extrémité 3'OH par la polyadénylate transférase;
- ❖ La longueur de la queue poly A varie de 100 à 200 nuc.
- ❖ Absente chez les ARNt, les ARNr et les ARNm codant pour les protéines histones
- ❖ la polyadénylate transférase doit reconnaître un signal au niveau de l'ADN (AATAATTT) et couper à 20 nuc au-delà afin d'ajouter le poly A



Epissage

- Les gènes mosaïques sont transcrits depuis le point d'initiation jusqu'au signal de terminaison,
- les introns de ce pré-messager (ou transcrite primaire) doivent donc être éliminés et la jonction des exons se faire avec précision.
- L'ensemble se fait simultanément par un **mécanisme d'épissage**.
- trois séquences consensus
 - la première, **GU** est appelée séquence consensus gauche : l'extrémité 5' de l'intron
 - la deuxième, **AG** est appelée séquence consensus droite représente la jonction 3' intron - 5' exon suivant.
 - La troisième, **UACUAAC** est située peu avant l'extrémité 3' de l'intron et appelée **séquence de branchement**.

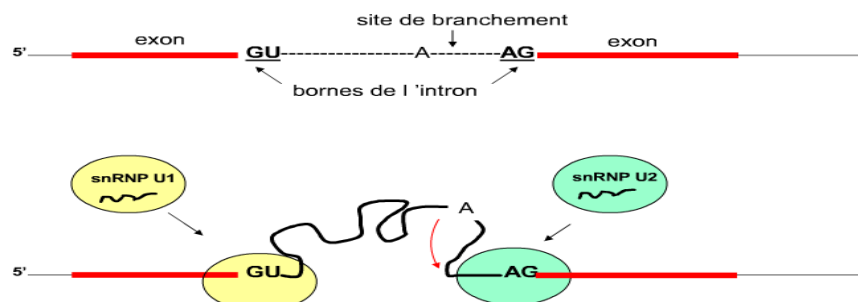


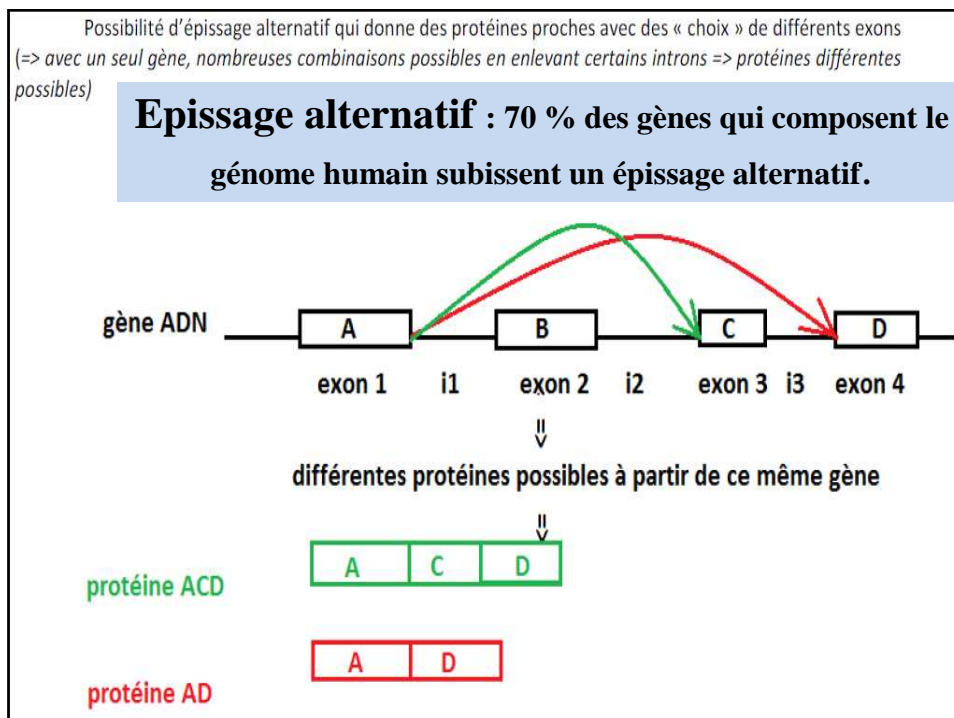
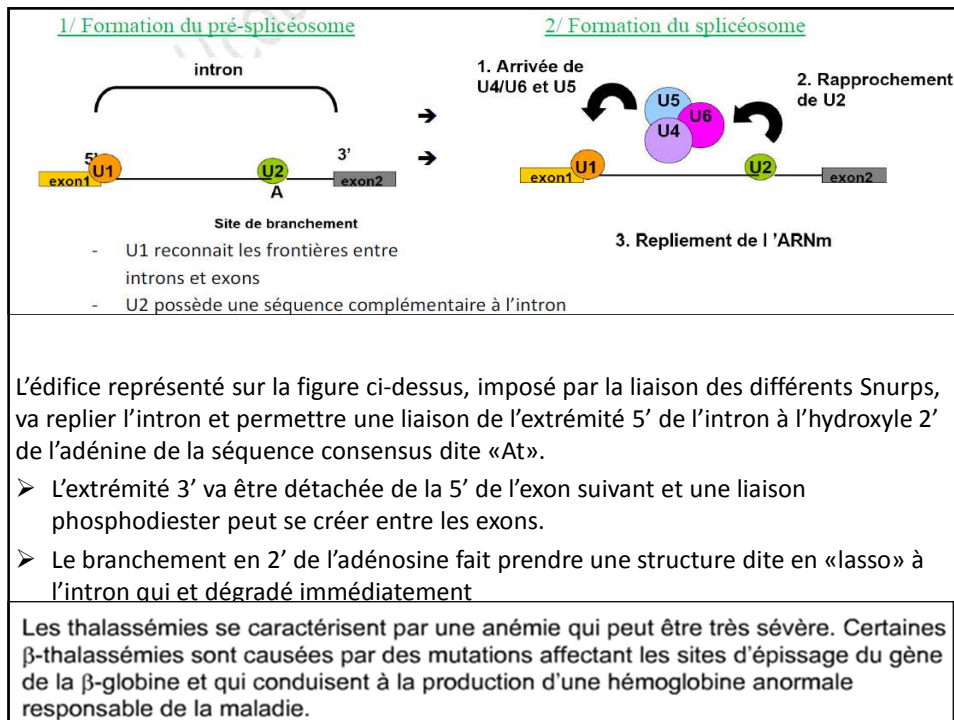
Les séquences consensus sont reconnues par des ribonucléoprotéines qui forment un **complexe** nécessaire à l'épissage : **spliceosome**

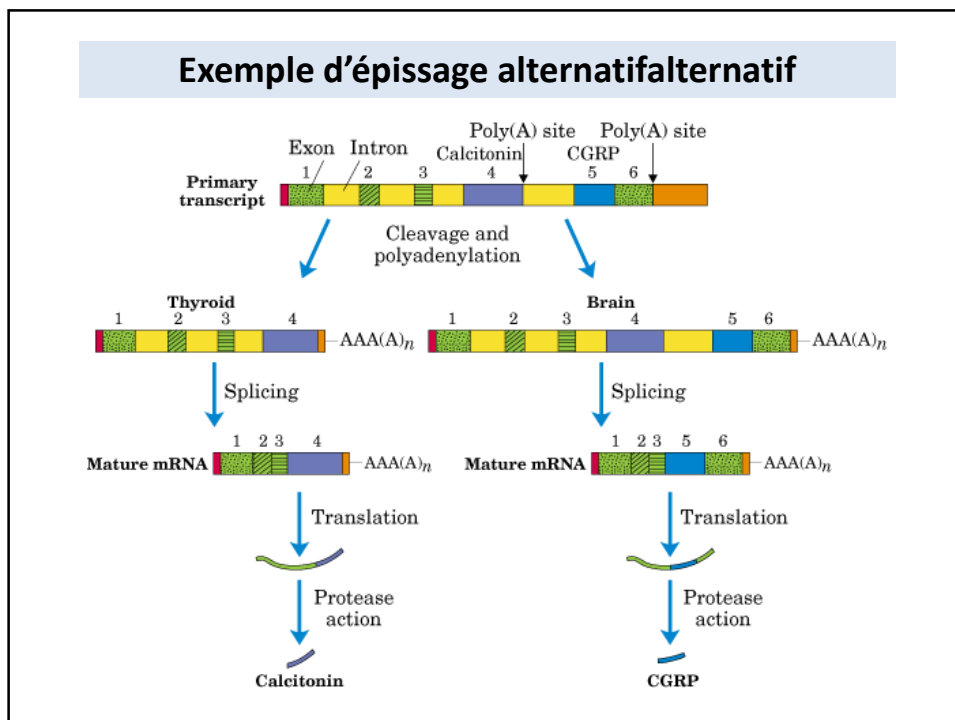
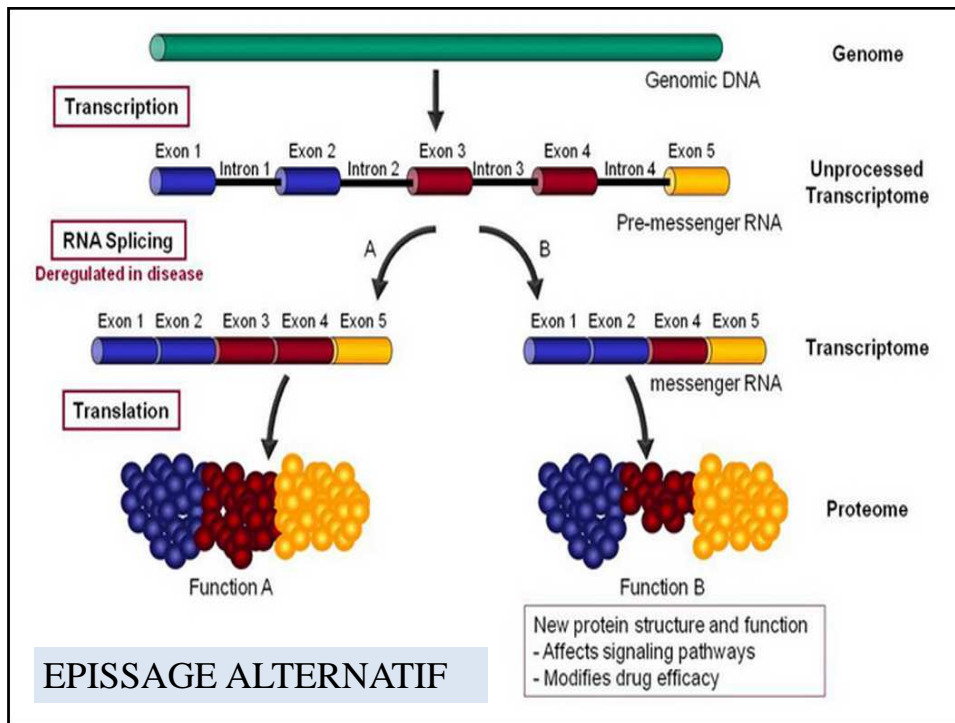
chaque spliceosome comprend:

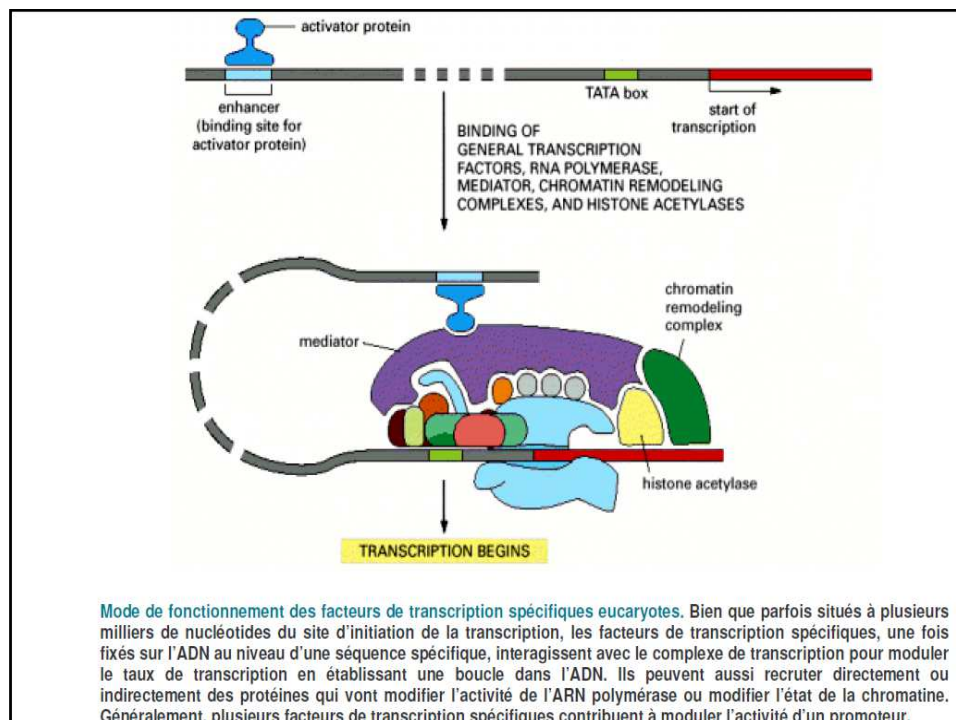
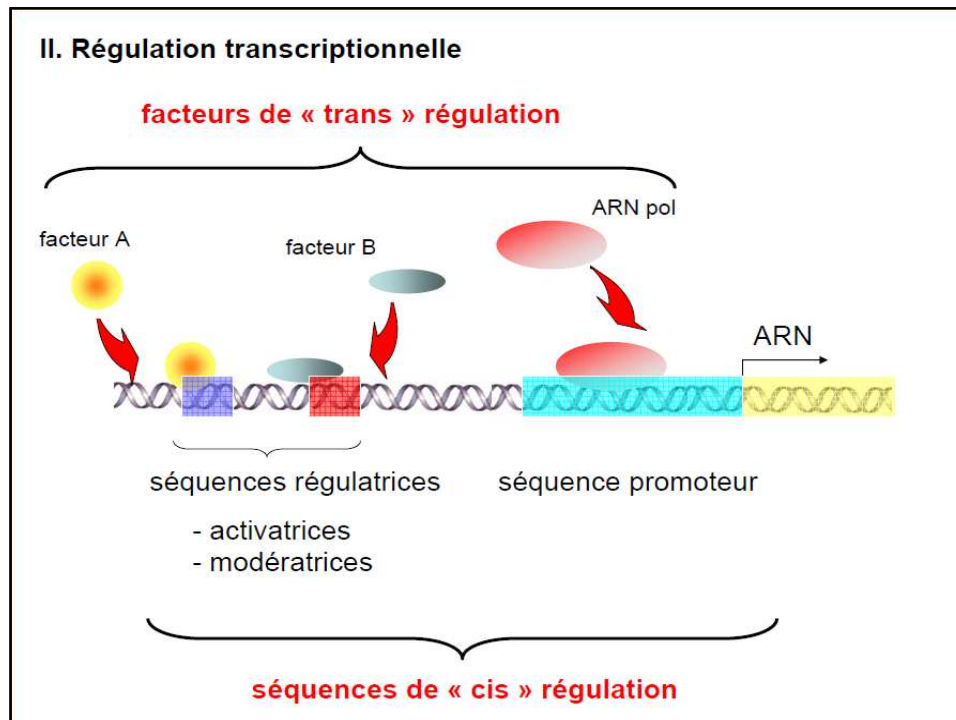
- 5 petites molécules d'ARN (<200 nucléotides) (snRNA, small nuclear RNA): U1, U2, U4, U5, U6.
- Il comporte aussi au total ~200 protéines
- Chaque snRNA est associé à au moins 7 protéines différentes pour former les **snRNP** (small nuclear ribonucleo-proteins)(**SNURPs**).

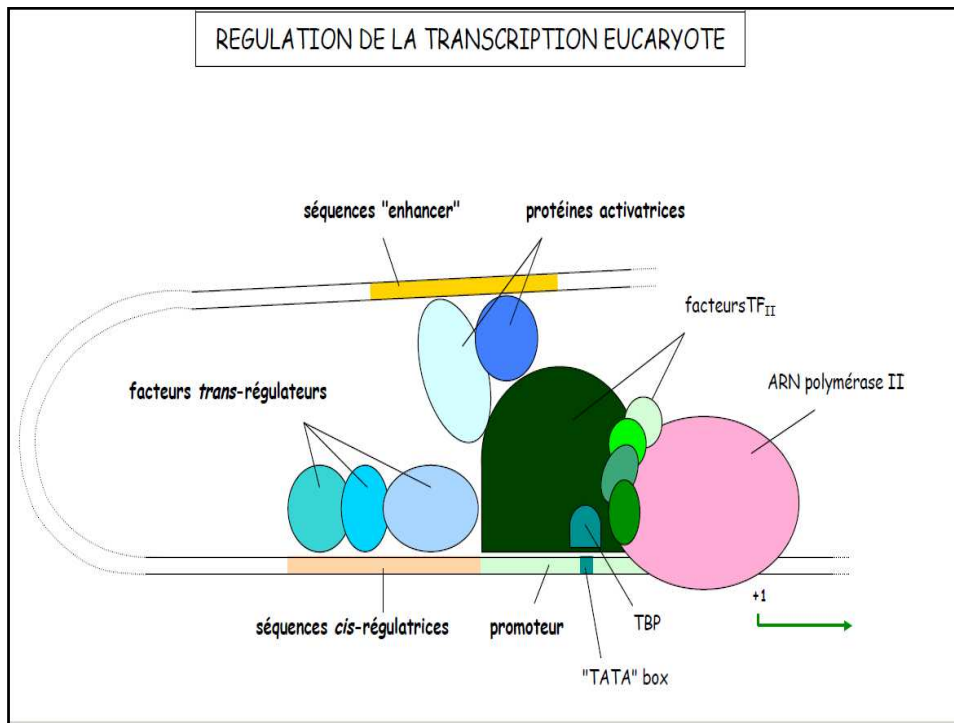
➤ l'épissage est réalisé par le **spliceosome** constitué de protéines associées à des snRNA : **snRNP U1, U2**





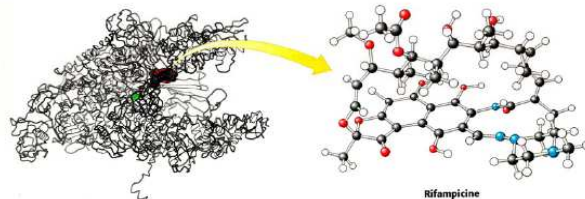






Inhibiteurs de la transcription

	ARN pol	niveau d'action
rifampicine	procaryote	initiation-élongation
streptolydigne	procaryote	élongation
actinomycine D	eucaryote :ARN pol I, II, III	élongation
α -amanitine	eucaryote: ARN pol II, III	élongation



La rifampicine se fixe à une poche de l'ARN polymérase normalement occupée par l'hybride ADN-ARN

