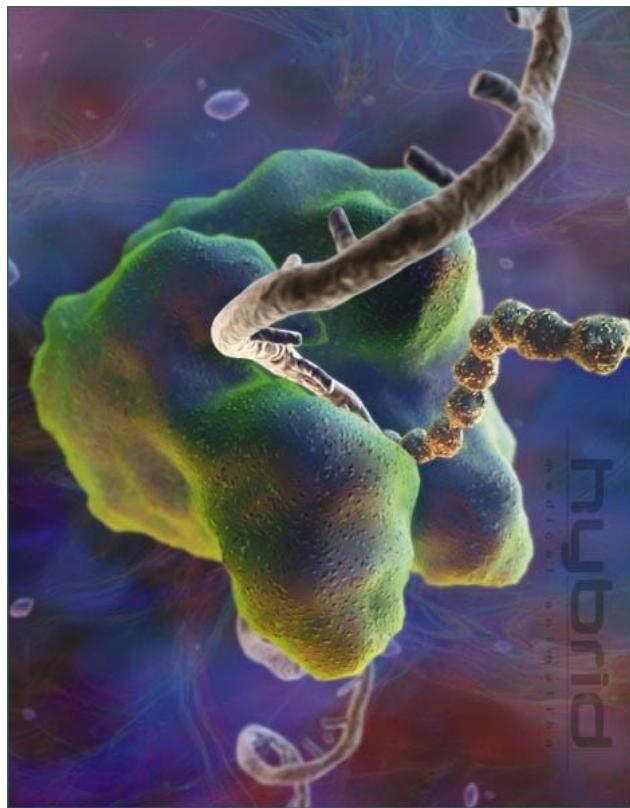
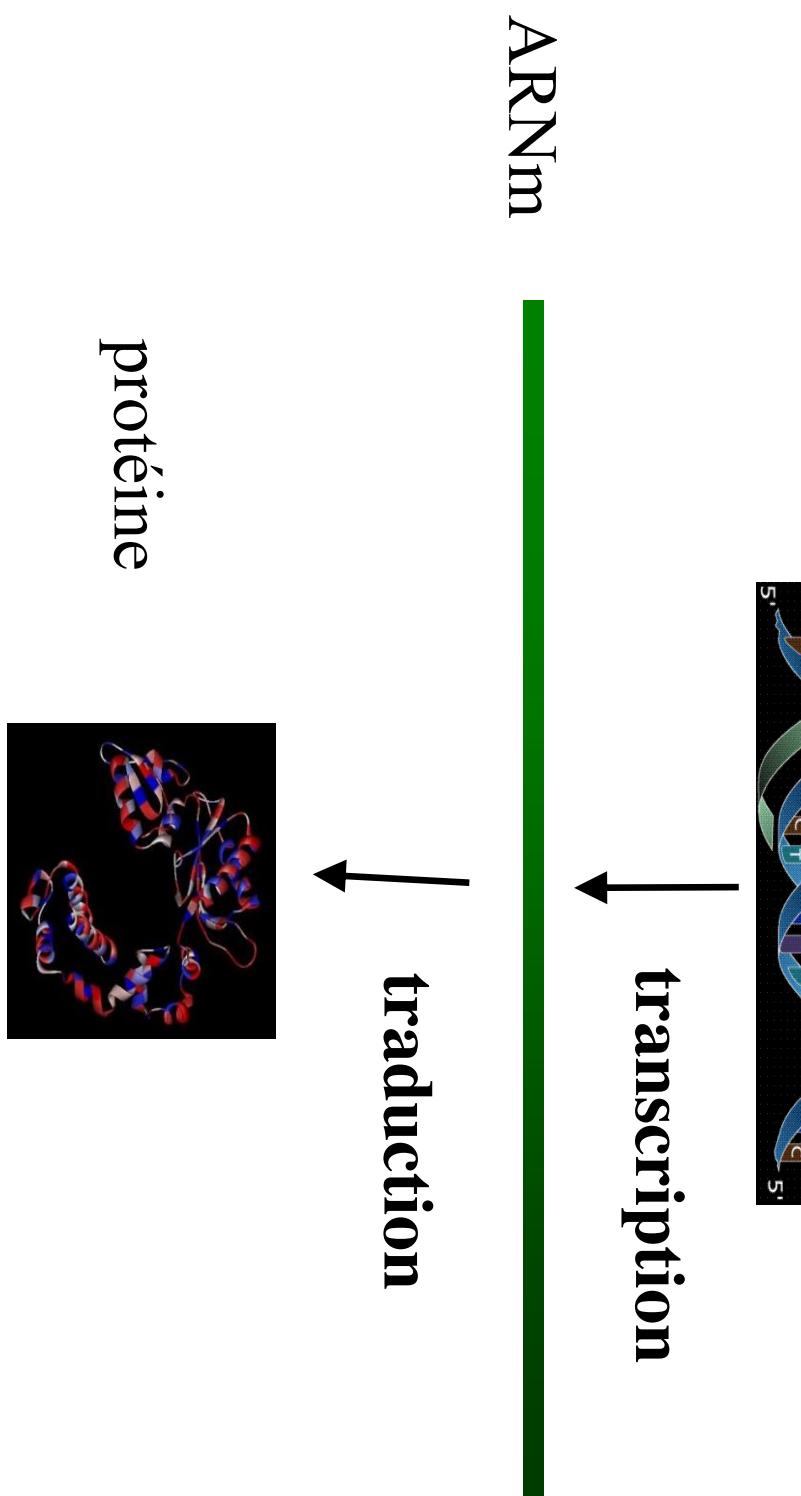


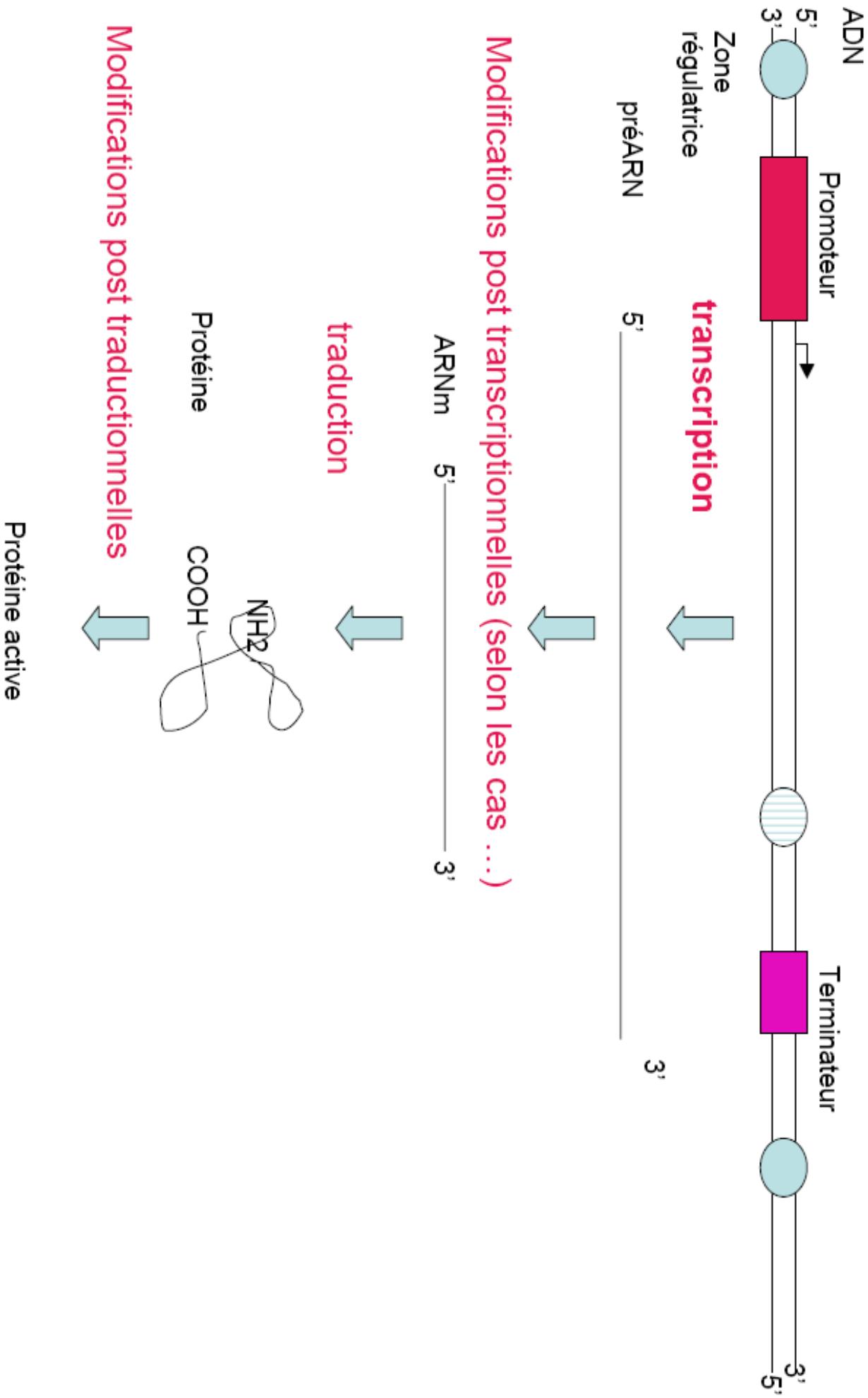
# 3 : LA TRANSCRIPTION



# A : GENERALITES



# Expression génique : place de la transcription



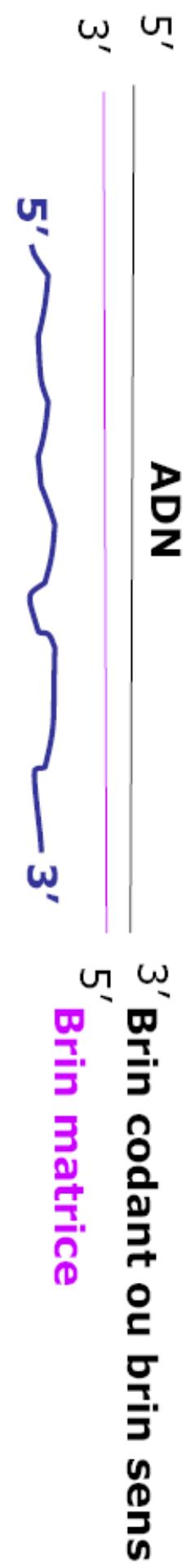
## A. GENERALITES

L'expression de l'information génétique contenue dans l'ADN commence par la transcription

Transcription : synthèse d'ARN complémentaire et antiparallèle

- ARNm
- ARNr
- ARNt
- miARN
- etc

## A.1) Notion de brin codant et brin matrice



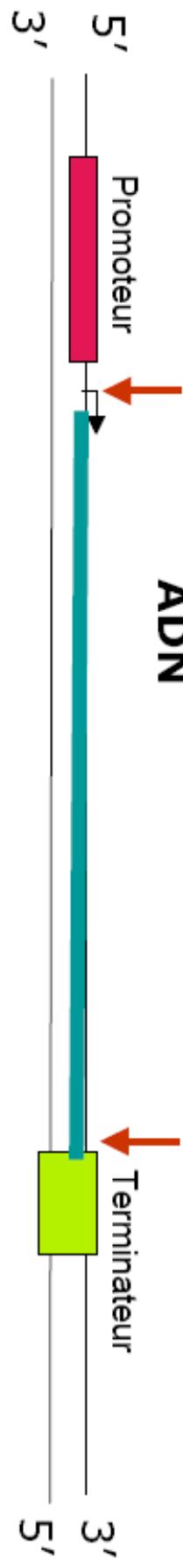
- Transcription : réaction enzymatique catalysée par une enzyme : ARN polymerase
- Sens 5' -> 3'
- **Pas d'amorce** : début de la synthèse = condensation de deux ribonucléosides tri phosphate : un des deux gardera ses trois phosphates et le deuxième n'en gardera qu'un.

Sens de transcription donné par la présence d'un promoteur !!!!

## Unité de transcription

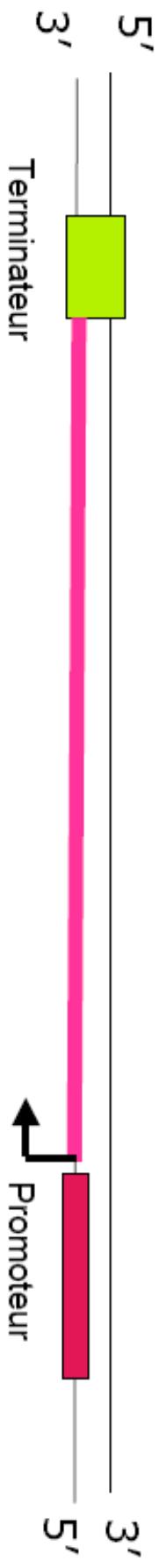
### Site d'initiation

ADN



5' ————— 3' ARNm

3' ————— 5' ARNm différent  
=> protéine  
différente



### Site d'initiation

ADN

Exemple : chez l'homme, les gènes des apolipoprotéines A-1 et C-III voisins, sont orientés en sens opposés.

# Brin sens (codant), matrice, antisens ...

Soit une séquence donnée

5' ACGGTCTACCCCTGA 3'

Ou

5' ACGGTCTACCCCTGA 3'

3' TGCCAGATGGGACT 5'

Alors :

5' ACGGTCTACCCCTGA 3' : brin sens = brin codant

3' TGCCAGATGGGACT 5' : Brin antisens = brin matrice

Mais aussi : 5' TCAGGGTAGACCGT 3' : brin antisens

Séquence d'ARN correspondante : 5' ACGGUUCUACCCUGA 3'

**Un mécanisme unique mais différences entre :**

### **cellules procaryotes**

Pas de noyau

Un chromosome

ARN souvent polycistronique

Transcription-traduction couplées

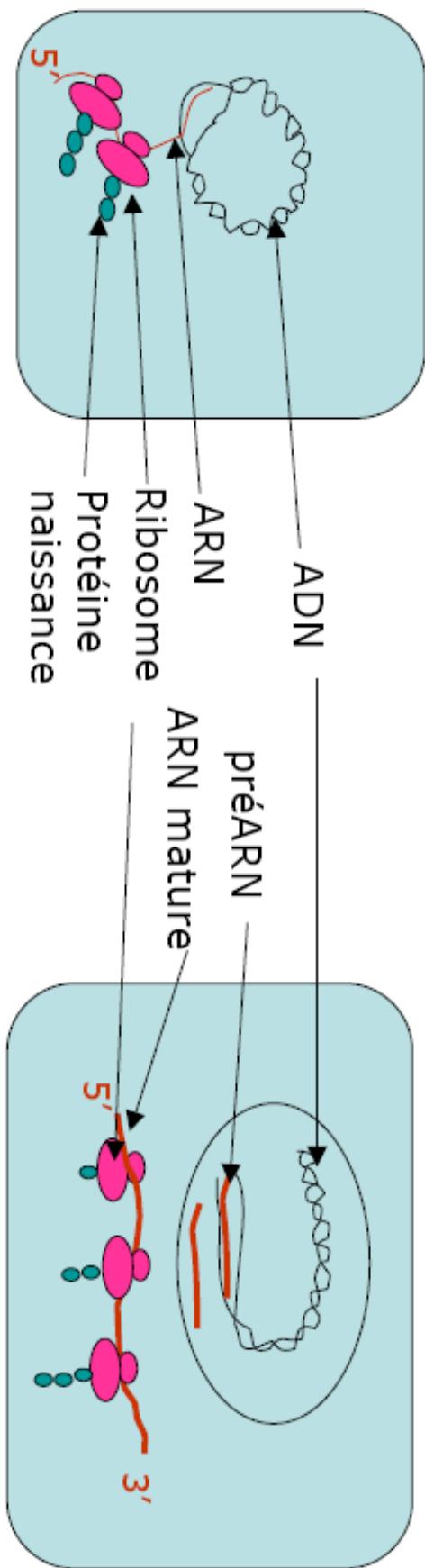
### **et eucaryotes**

Noyau

Plusieurs chromosomes

ARN majoritairement monocistronique

séparées



## A. 2) L'enzyme de la transcription : ARN POLYMERASE

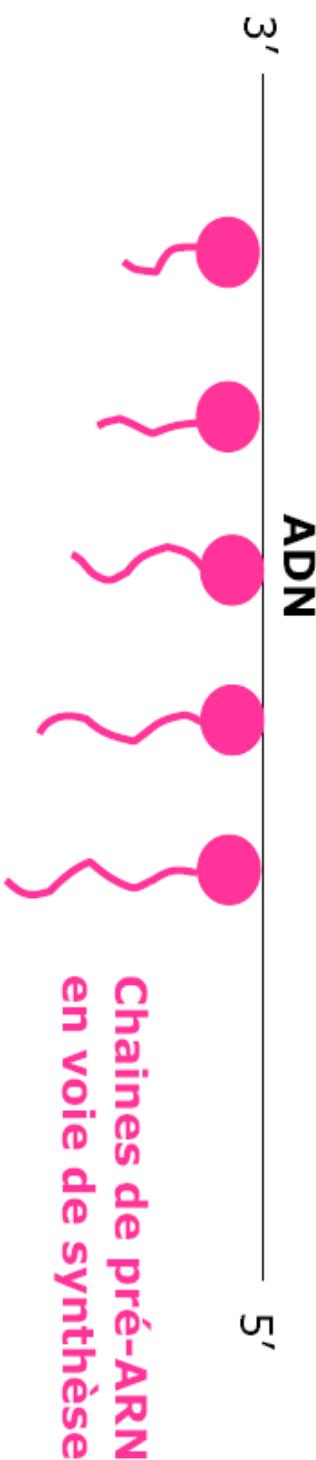
Nécessite :

- ADN matrice contenant un promoteur
- XTP (ATP, CTP, UTP et GTP)
- Mg<sup>++</sup> (sels)

Enzyme complexe (plusieurs sous unités) => **Holoenzyme**

- reconnaît site d'initiation
- action hélicase
- initie la transcription
- réalise l'élongation
- passe le terminateur et arrête la transcription

Transcription d'une séquence par plusieurs complexes transcripteurs



## B: TRANSCRIPTION CHEZ LES PROKARYOTES

### B.1) l'ARN polymerase d'E.coli

ARN polymerase = oligomère de 5 sous unités

$\alpha, \alpha'$  (ou  $\omega$ )  $\beta\beta'$   $\sigma$

Le noyau de l'ARN polymerase = core enzyme =>  $\alpha_2\beta\beta'$

L'enzyme entière : holoenzyme =>  $\alpha_2\beta\beta'\sigma$

$\beta$  : fixation de l'enzyme sur l'ADN cible

$\beta'$  : partie du site actif de l'enzyme

$\sigma$  : initiation de la transcription uniquement

## B.2) Mécanisme de la transcription chez *E. coli*

### a) Initiation de la transcription

La transcription démarre par la reconnaissance de zones particulières de l'ADN par le complexe transcripteur

Ces zones particulières = promoteurs

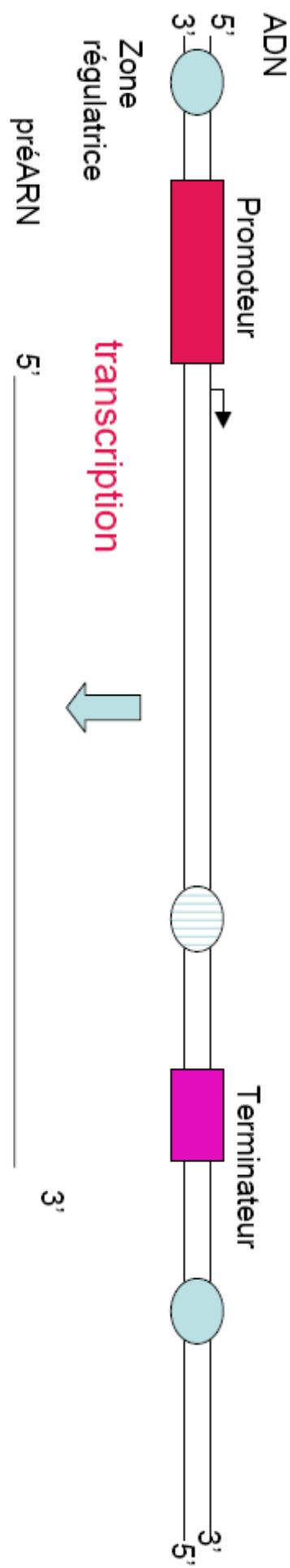
Prokaryotes => x centaines de promoteurs différents

Eucaryotes => x milliers de promoteurs différents

La transcription de chaque gène ou de chaque opéron démarre individuellement à son propre promoteur

Le Promoteur se situe à l'extrême 5' du gène

## Promoteur en 5' de la séquence à transcrire



**AMONT** ← | → **AVAL**

-35                      -10                      +1

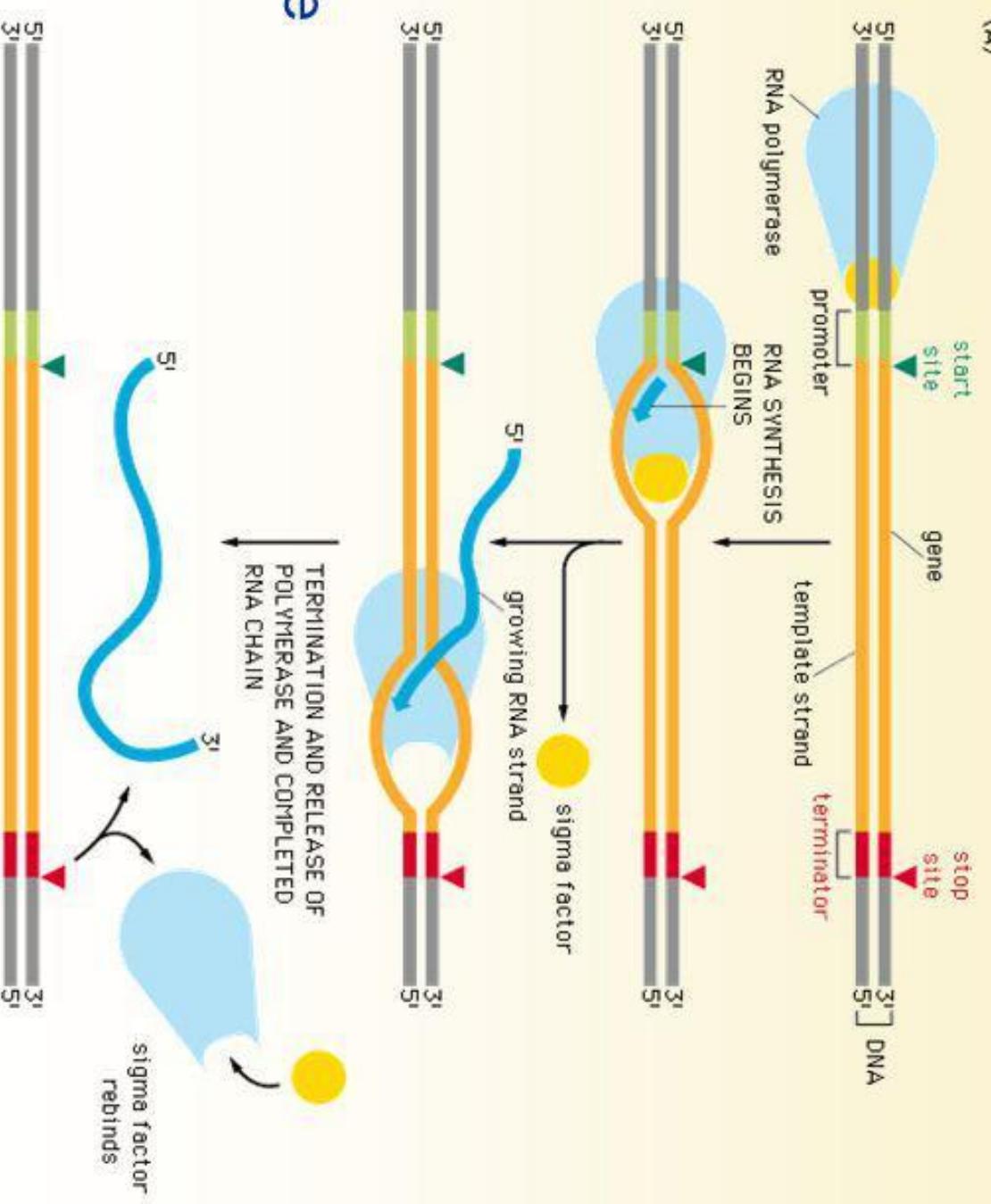
5' ----- | ----- 3'

ARN polymérase se fixe à l'ADN au niveau d'une courte séquence d'ADN placée juste avant le début du gène

## = promoteur

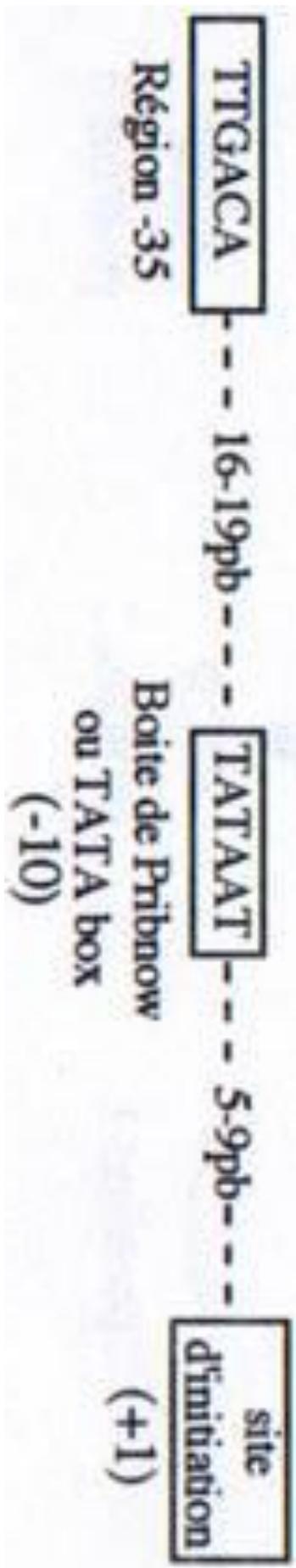
Le promoteur indique:

- Le début du gène à transcrire en ARNm (où l'ARN polymérase doit se fixer sur l'ADN)



- Quel brin d'ADN doit être transcrit

## Structure d'un promoteur procaryote (séquences consensus)



Le promoteur comprend donc :

- **Région -10** : séquence proche de la séquence consensus TATAAT
- ⇒ Boîte TATA (TATA box) ou boîte de Pribnow

- **Région -35** : séquence consensus : TTGACA

Peu de gènes ont ses séquences exactes

## Promoteurs forts et promoteurs faibles

L'ARN polymérase s'associe à l'ADN cible sur 70 pb et englobant la boîte TATA et la région -35 (-50 à +20) => diamètre de l'enzyme 20 nm

Complexe stabilisé par liaisons de faible énergie.

TTGACA et TATA : le minimum requis

D'autres séquences impliquées

Reconnaissance plus ou moins forte de l'ARN polymérase

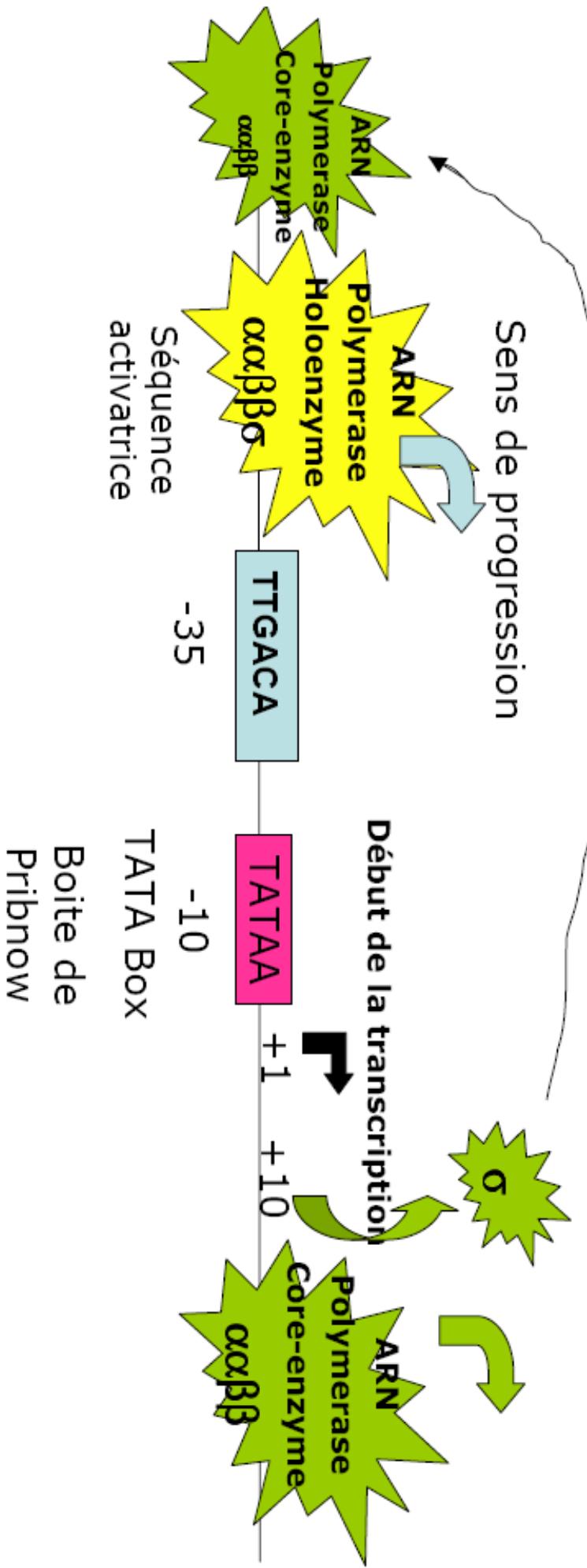
⇒ Promoteur **fort** ou **faible**

⇒ **Beaucoup** de transcription ou **peu**.

# DÉBUT DE LA TRANSCRIPTION CHEZ LES PROKARYOTES.

ARN polymérase = ensemble de sous unités

Prokaryotes :  $\alpha\alpha\beta\beta\sigma$



## La reconnaissance d'un promoteur => sous unité σ

Core enzyme sans σ : pas d'initiation spécifique

σ : facteur d'initiation de la transcription

### b) Ouverture de la double hélice

C'est l'ARN polymerase qui ouvre l'ADN (activité hélicase)

Site d'initiation : complexe fermé ADN DB + ARN polymerase

Puis Changement de conformation => complexe ouvert

ADN dénaturé sur 18 pb => bulle de transcription

Site catalytique de l'ARN polymerase au niveau du +1

Deux nucléotides 3P : +1 et +2 puis nt après nt => +10

## c) Élongation de l'ARN

Changement de structure

Passage en mode élongation de l'ARN polymerase

⇒ Relargage de σ

Arrivée d'autres protéines (protéines auxiliaires) dont nusA  
(empêche le retour de σ)

Pendant élongation : ARN polymerase sur 30 pb

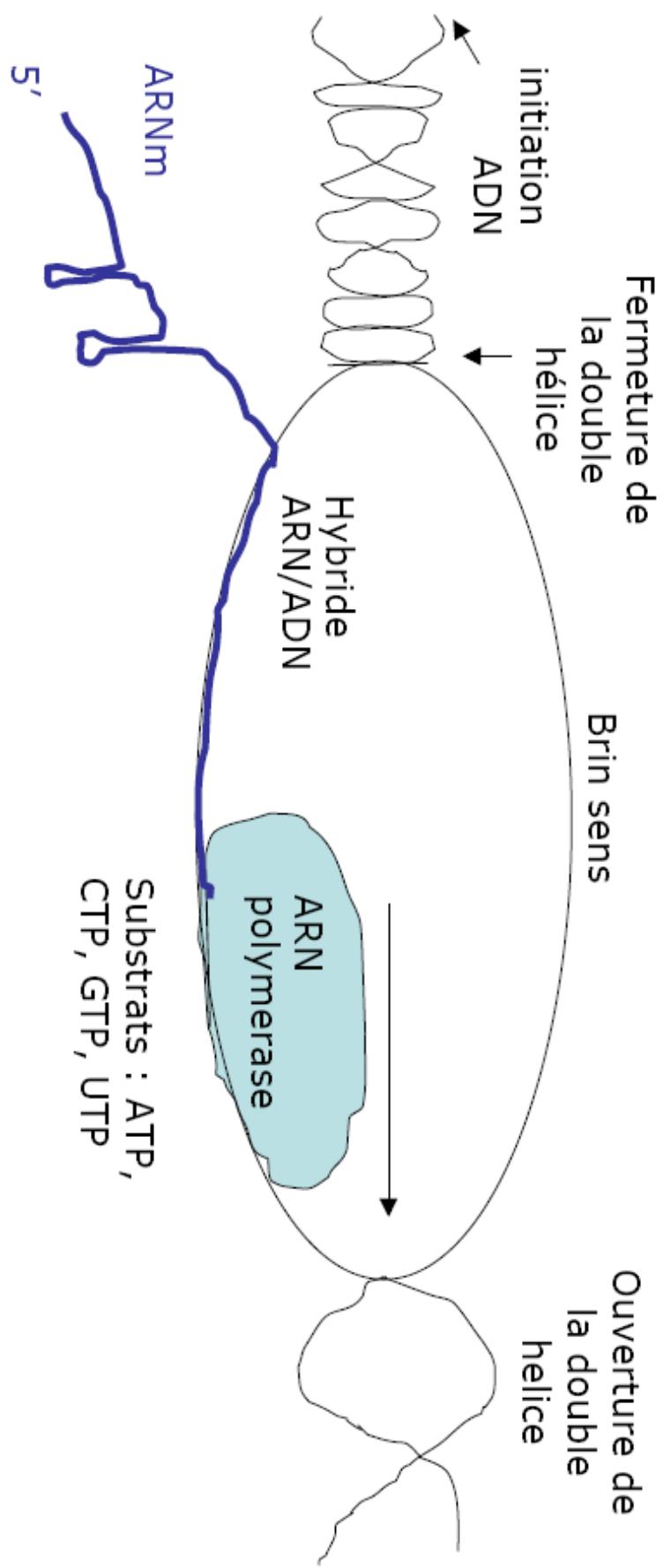
ADN déroulé sur 18 nts : devant supertours positifs,

Derrière supertours négatifs

=> Action de topoisomérases I et II

ARN naissant lié par 12 nts (1 tour hélice A)

## Élongation de la transcription



Vitesse : 30 à 85 nts/sec

Taux d'erreur :  $10^{-6}$ ; Pas d'activité exonucléase

#### d) Terminaison de la transcription

\* **Sites de pauses très riches en GC**

Signal de terminaison codé dans des domaines d'ADN transcrits.

\* **terminaison rho dépendante**

Rho = ATPase

Rho douée d'affinité pour l'ARN SB, agit comme une hélicase sur les hybrides ADN-ARN

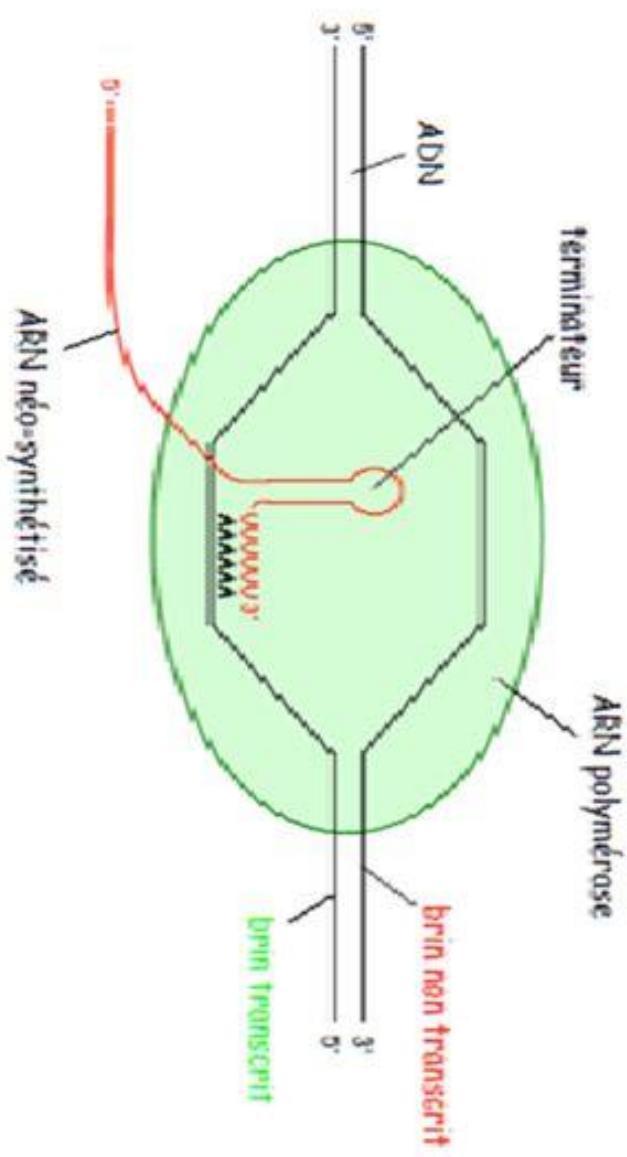
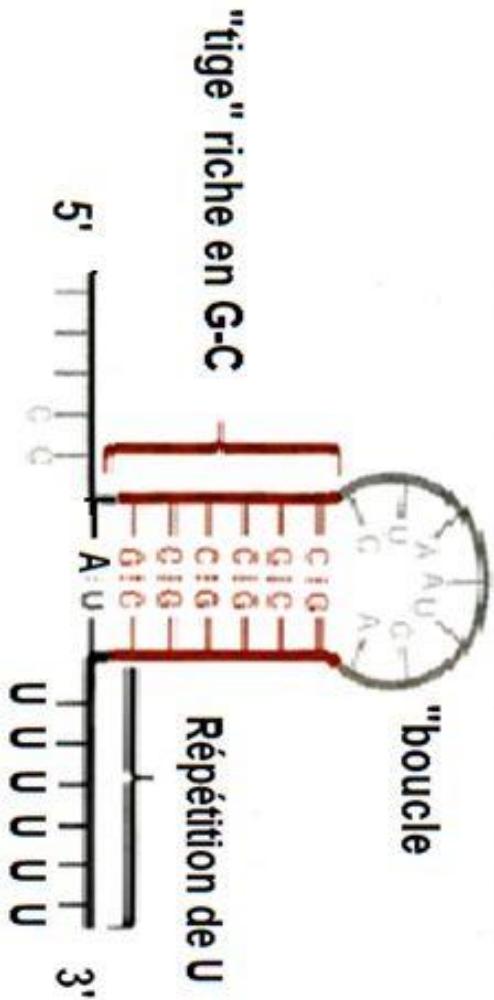
S'enroule sur l'ARN et induit son détachement de la bulle de transcription

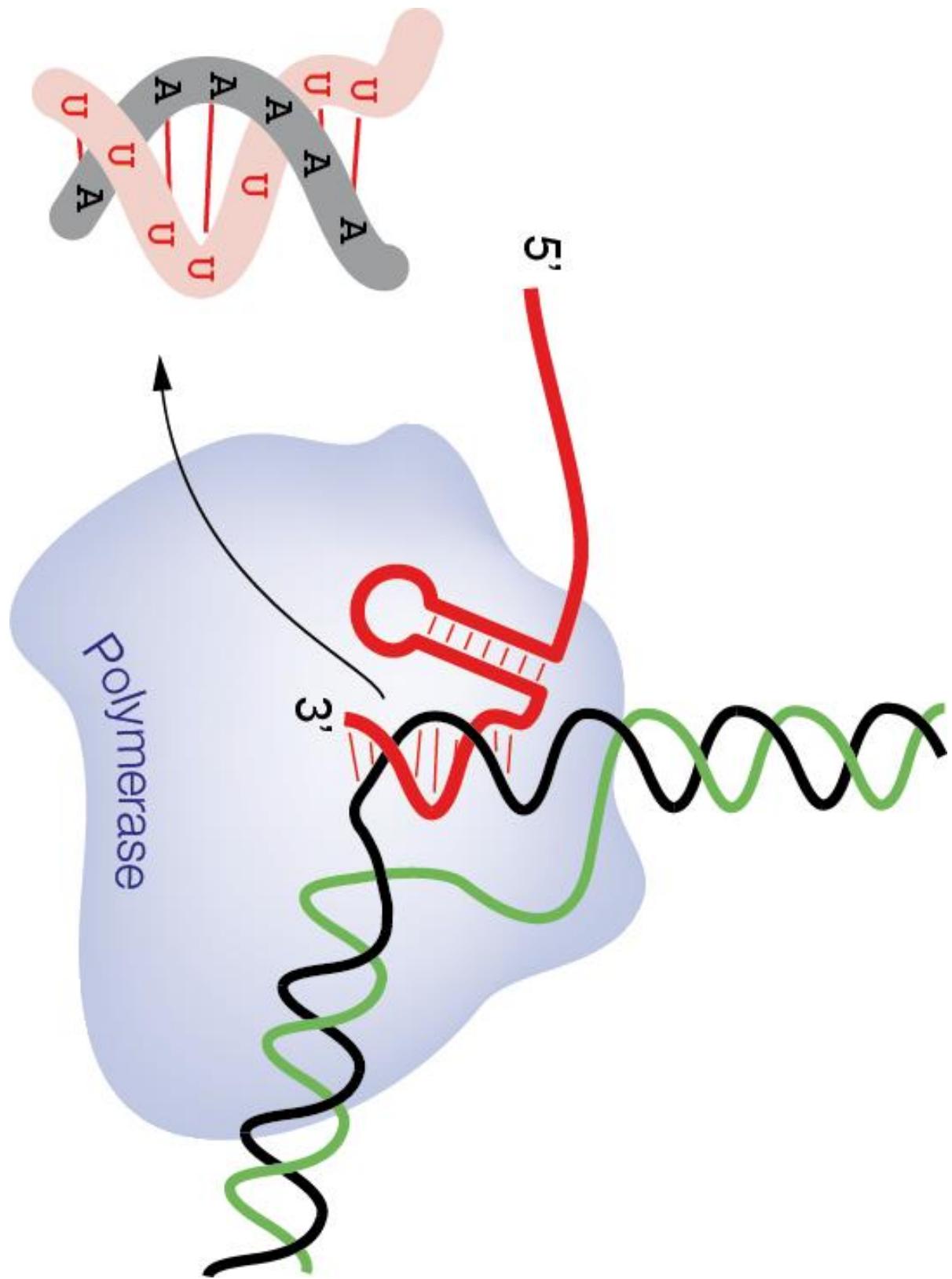
Le  
terminateur

## Mécanisme de terminaison de la transcription

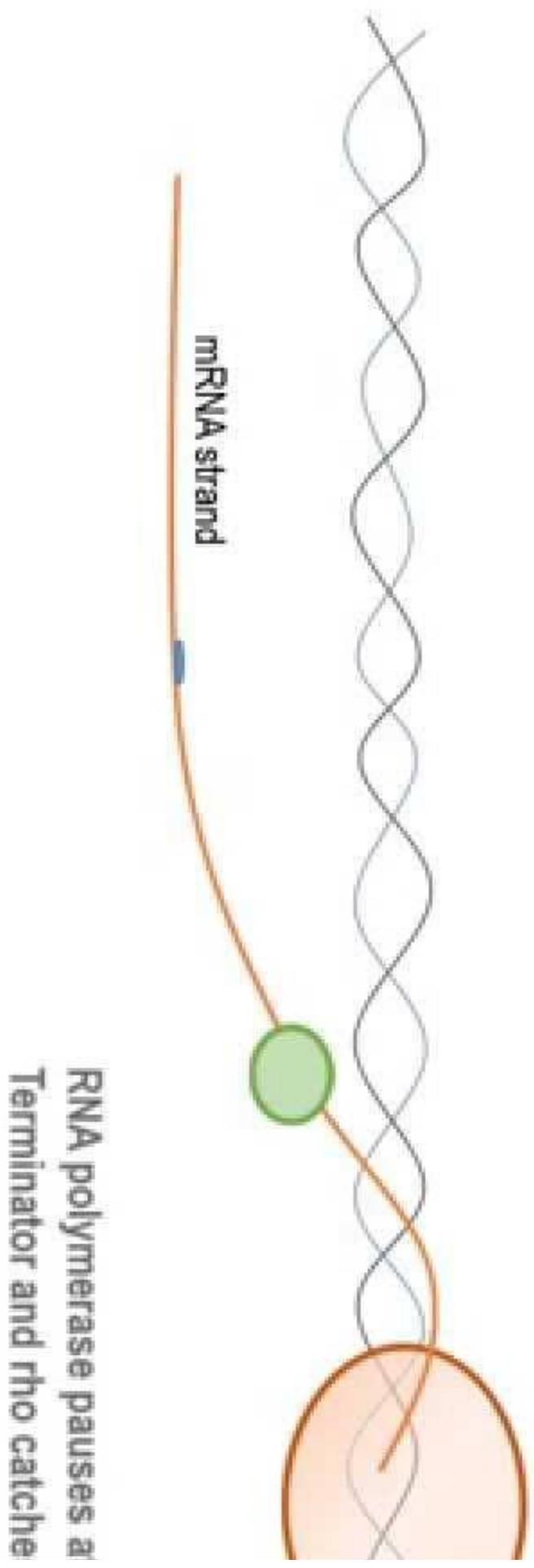
déstabilise les liaisons faibles entre les sous-unités de l'ARN polymérase et entraîne leur séparation et l'arrêt de la transcription.

## Structure du terminateur, séquence d'ARN

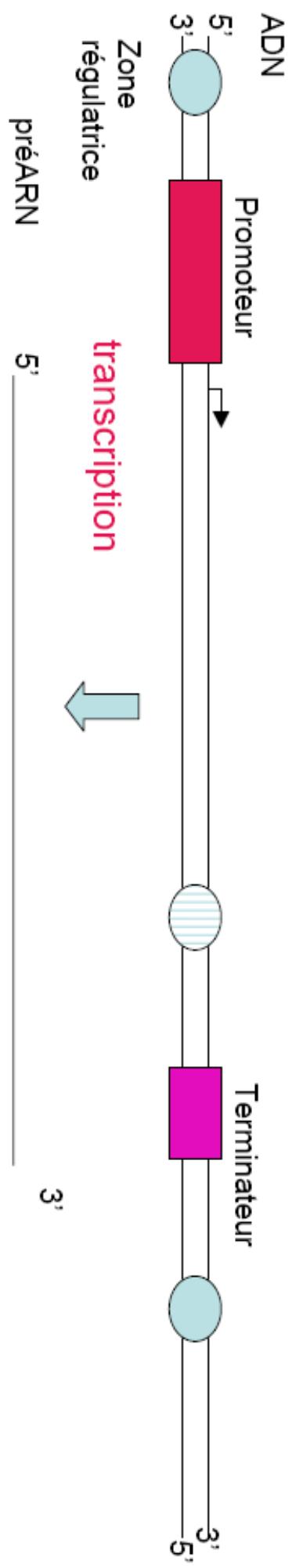




# Rho-Dependent Transcription Termination Prokaryotes



## Site terminateur en 3' de l'unité de transcription



# C: Régulation de la transcription procaryotes

Un gène n'est pas toujours transcrit **même** chez les procaryotes

Induction de la transcription : **facteurs de transcription (activateurs ou répresseurs)**

Procaryotes souvent élément nutritif => activation d'un facteur qui active ou réprime la transcription

Ex : opéron lactose : ensemble codant des protéines impliquées dans le catabolisme du lactose

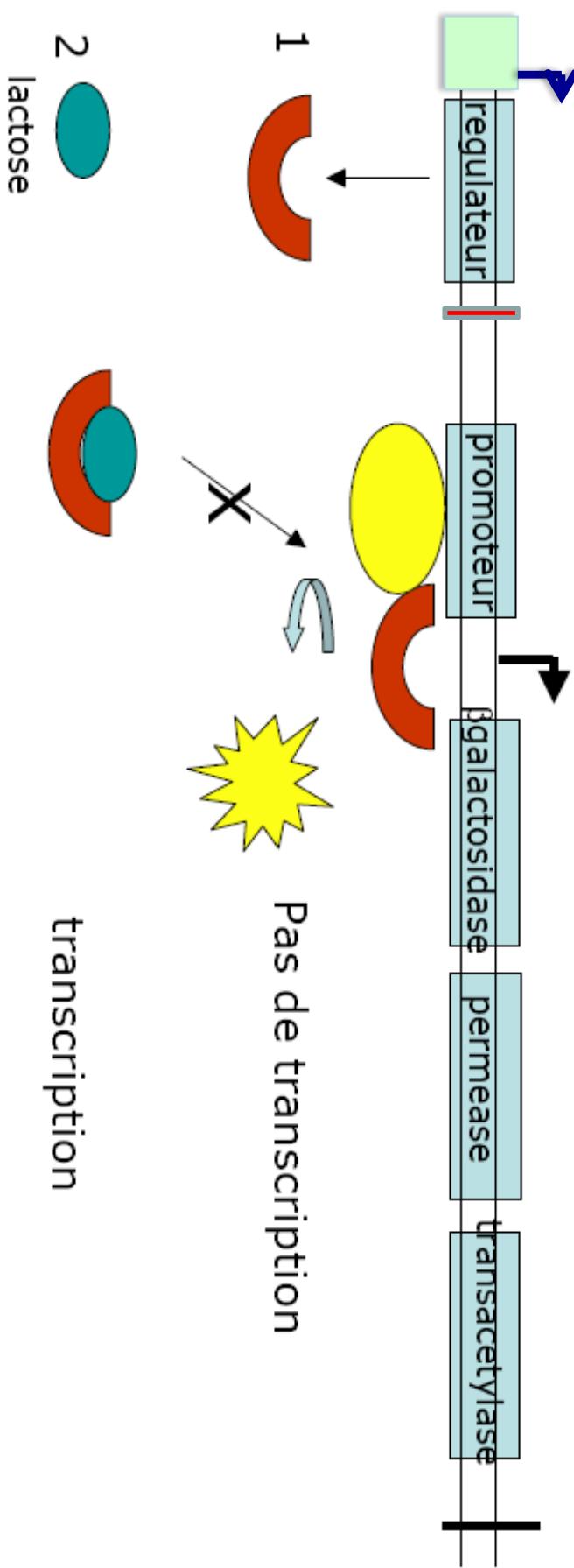
En absence de lactose : **pas de** transcription de l'opéron  
=> **répresseur** lié en amont du point +1 de transcription

En présence de lactose

=> **répresseur détaché** de l'ADN : transcription de l'opéron

# Régulation de la transcription chez les procaryotes

Exemple de l'opéron lactose



Promoteur (ADN couvert par l'ARN polymérase)

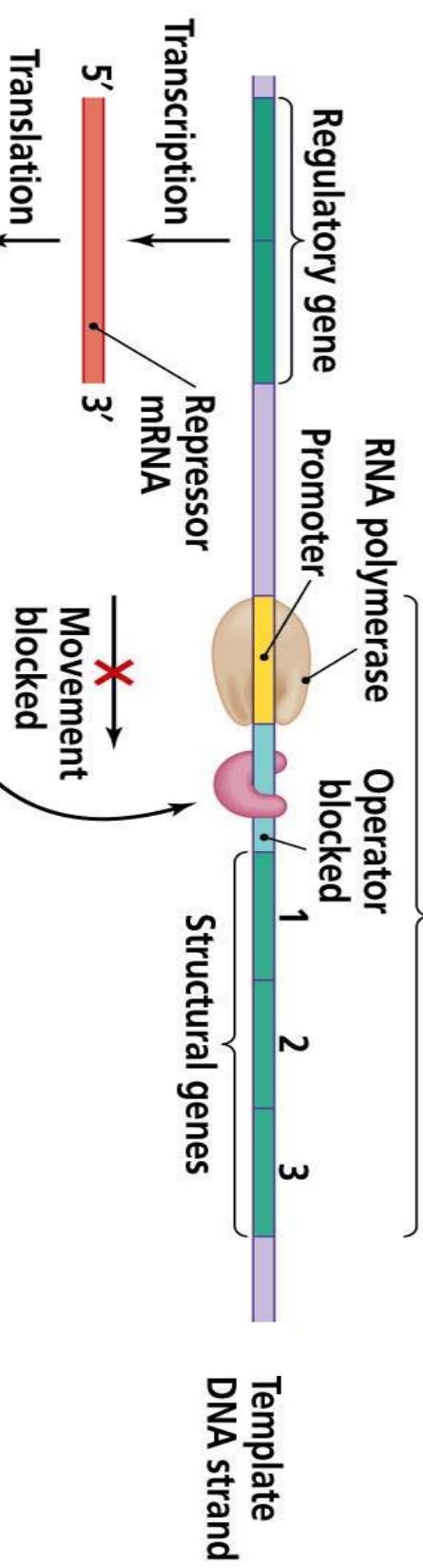
ARN messager

5'-TAGGCACCCAGGCTTACATTATGCTTCGGCTCGTATTTGGAATTGTGAGCCATAACAATTCAACACAGGAACAGCTAAG-3'  
-35  
-10  
Séquences non consensus du promoteur

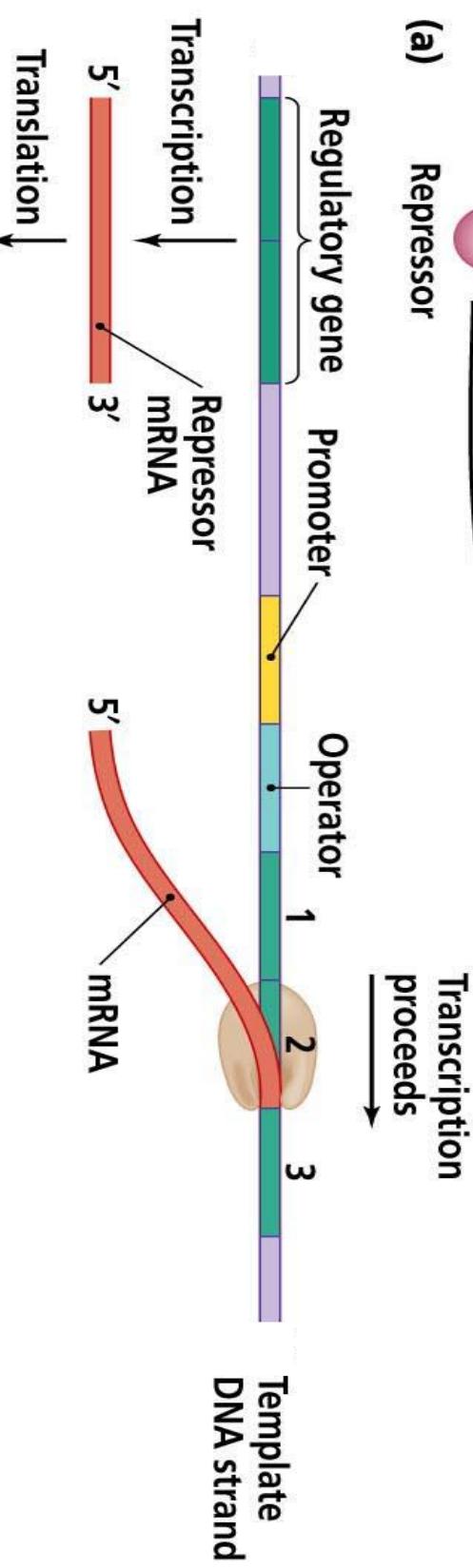
Moitiés symétriques de l'opérateur

Opérateur (ADN couvert par le répresseur)

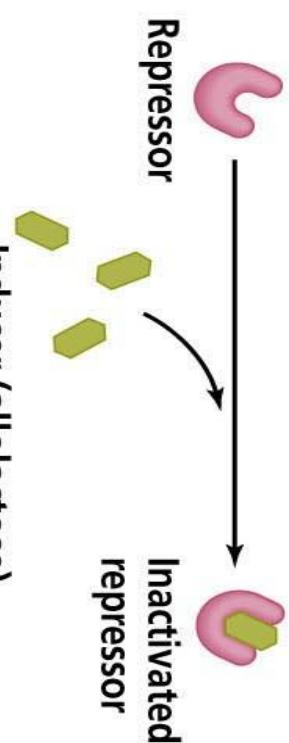
### *lac* operon



(a)



(b)

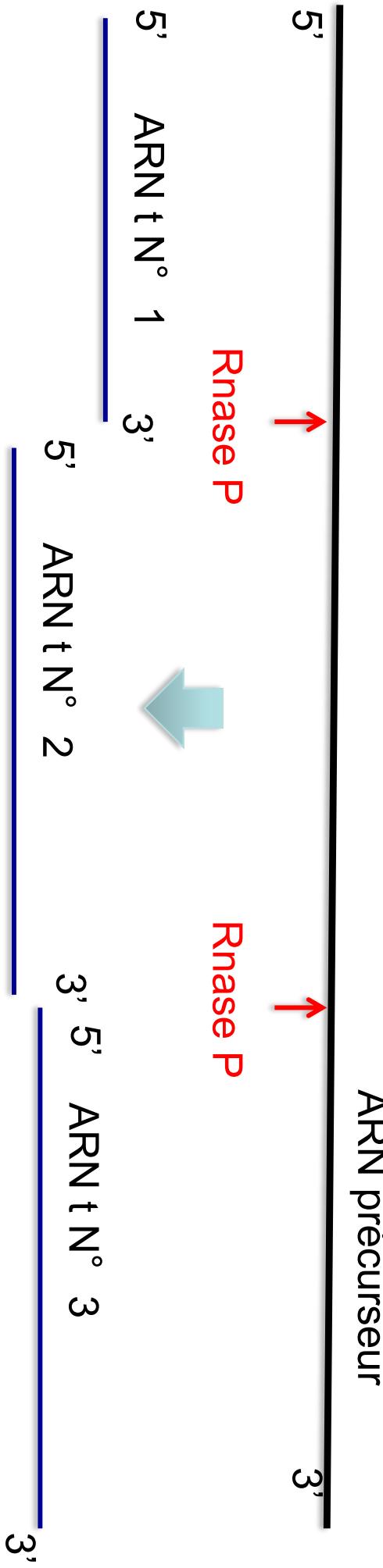


# D : Modification post transcriptionnelle des ARN procaryotes (Maturation)

ARNt et ARNr : très stables avec une demi vie de plusieurs heures ou jours

Synthèse d'un ARN précurseur qui sera mûr pour les ARNt **ET** les ARNr  
Quelquefois mélange d'ARNt et ARNr sur le même précurseur

Action d'une RNase (RNase P)



Ici un ARN précurseur donnera après action de la RNase P trois ARNt différents.

**Présence de bases modifiées (ex méthylation) dans les ARNt et ARNr**

# C : TRANSCRIPTION CHEZ LES EUCARYOTES

- \* Mêmes étapes que chez les prokaryotes
- Trois phases effectuées par réactions analogues : initiation, elongation, terminaison.
- \* Plus complexe
- taille du génome
- Association de l'ADN à des protéines au sein de la chromatine
- lieux de synthèse de chaque type d'ARN différents
- Modifications post transcriptionnelles
- Degré de complexité du complexe transcripteur

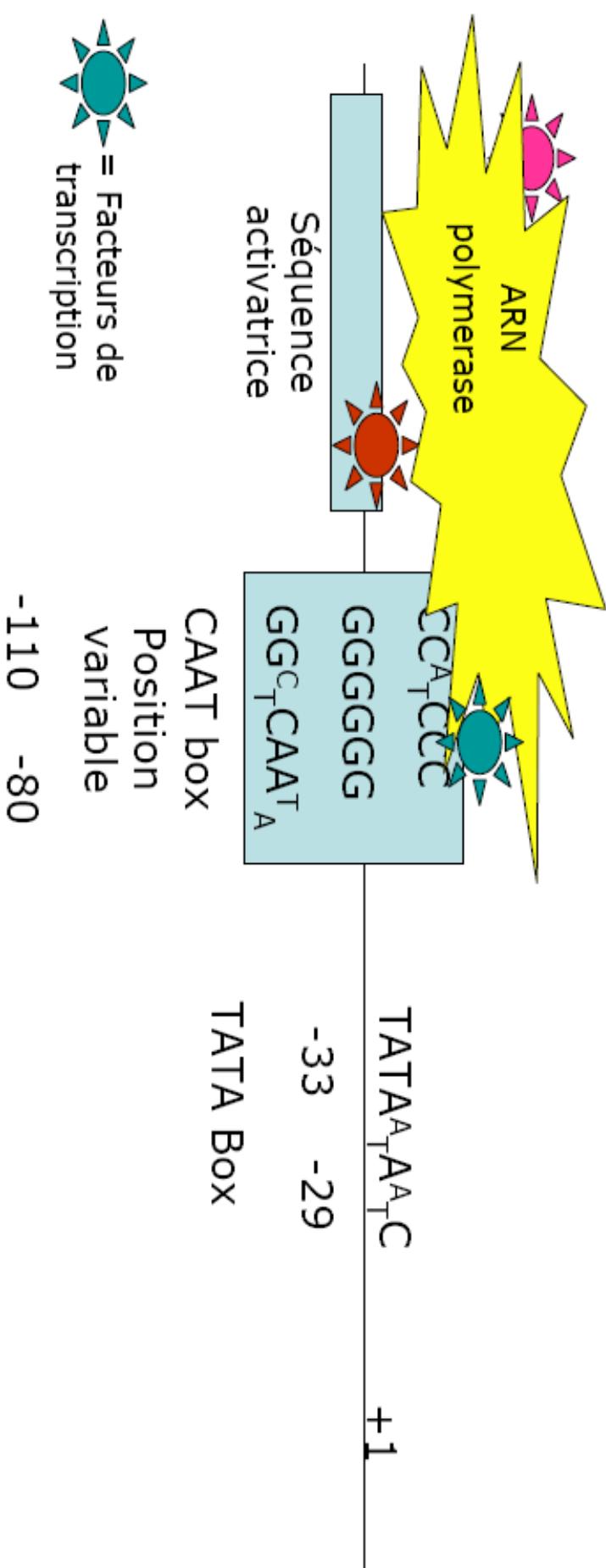
# C. 1 : Les ARN polymerases des eucaryotes.

**ARN polymerase = ensemble de sous unités**

Quelques grosses sous unités

De nombreuses petites sous unités

Les ARN polymerase fonctionnent avec l'aide de **FACTEURS DE TRANSCRIPTION**



## Trois ARN polymérase nucléaires : I, II et III

### ARN polymerase I

Transcrit les gènes d'ARNr

Nucléole

40.000 exemplaires/cellule

50 à 70 % de la transcription

### ARN polymerase III

Transcrit les gènes d'ARNt

Transcrit 1 ARNr, (ARN 5S)

Nucléoplasme

20.000 exemplaires

10% de la transcription

### ARN polymerase II

Transcrit les gènes d'ARNm et Certains ARN non codants régulateurs

Nucléoplasme , sensible à l' $\alpha$ -amanitine

40.000 exemplaires

20 à 40 % de la transcription

Trois ARN polymerase nucléaires constituées de plusieurs sous unités

Composition en sous unités de ces trois enzymes distinctes est différente

Nombre de sous unités varie

Deux grandes et 7 à 12 petites sous unités

### Mitochondries ou chloroplastes :

Propres ARN polymerases

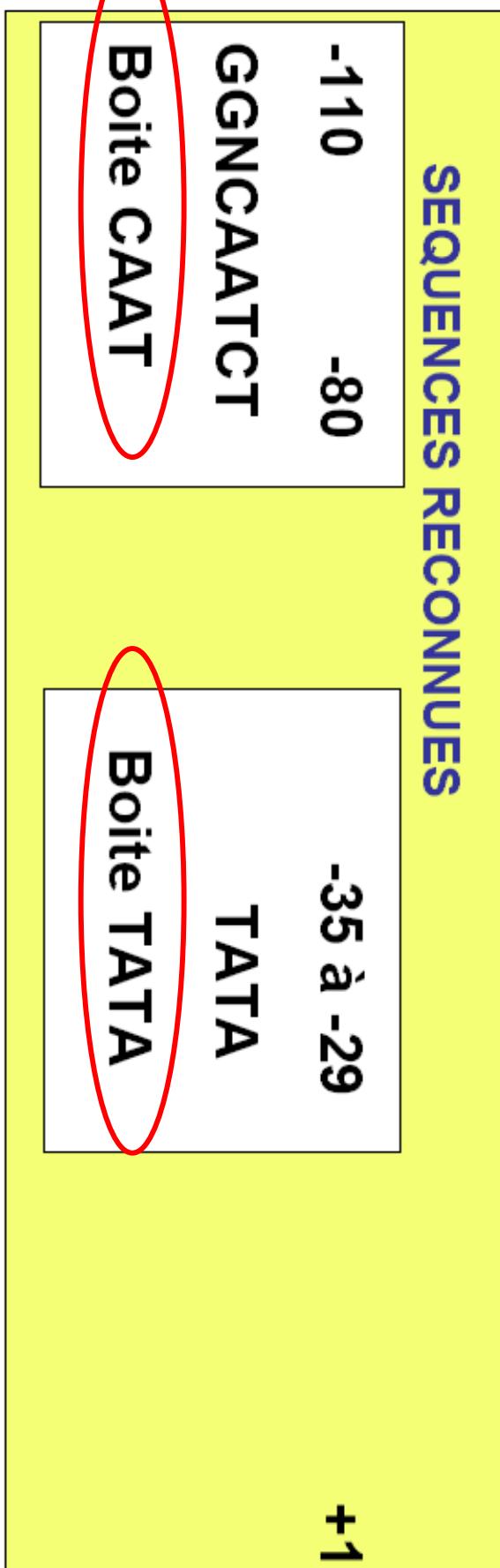
Celle de la mitochondrie codée par génome nucléaire

Celle des chloroplastes codée par génome des chloroplastes

# Séquences importantes des promoteurs :

3 ARN polymérases => 3 types de promoteurs

- Promoteurs des ARN polymerase I : très variable  
*l'intérieur des séquences transrites.*
- Promoteur des ARN polymerase II



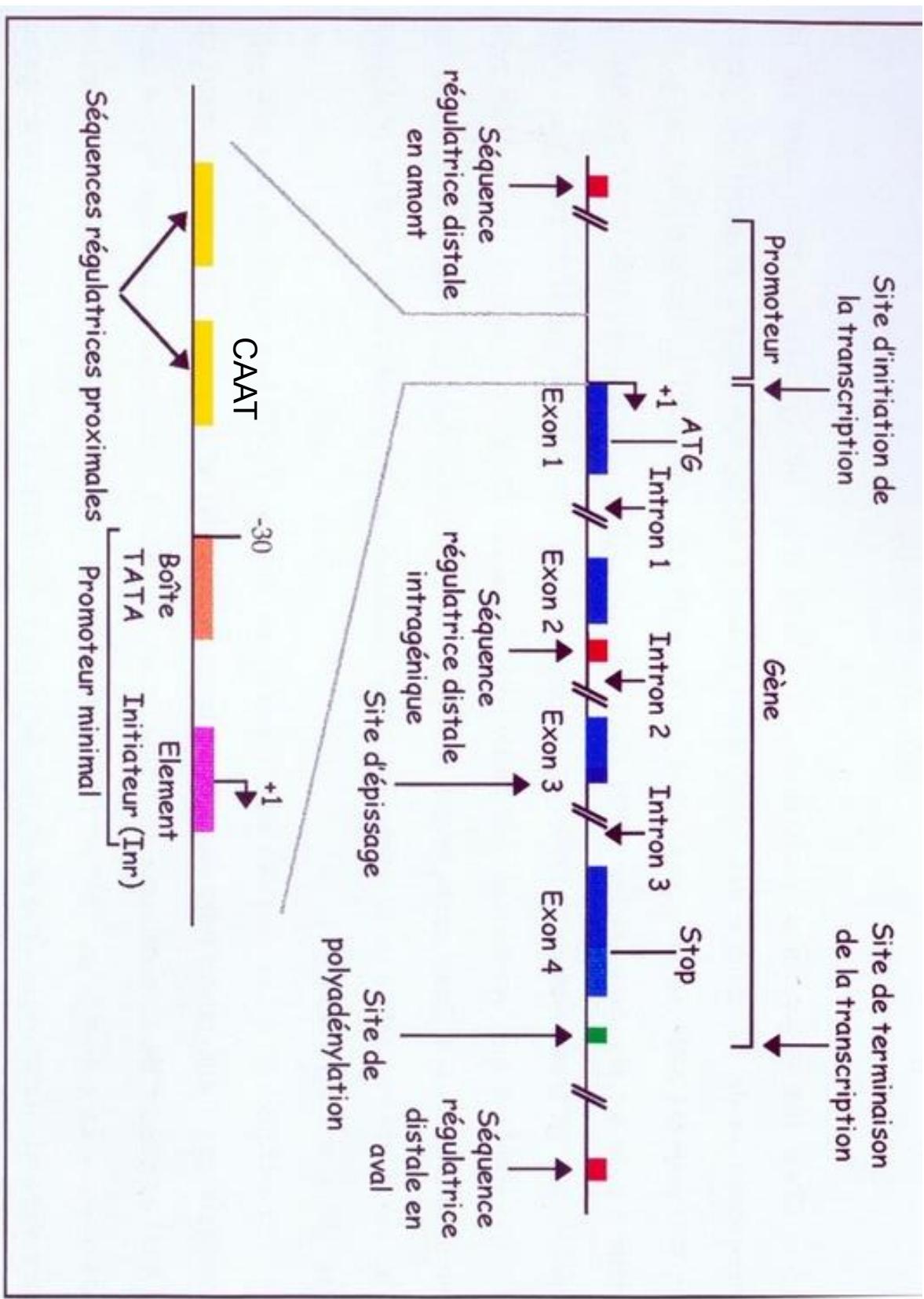


Figure 1 : Représentation schématique des différentes séquences d'ADN impliquées dans la régulation de la transcription (promoteur, séquences régulatrices proximales et distales) ou la maturation (sites d'épissage et de polyadénylation) des ARN. Les trinucléotides "ATG" et "Stop" codent pour l'initiation et l'arrêt de la traduction de la protéine codée par un gène, respectivement.

# EUCARYOTES

Gènes dont la transcription est très régulée

**Gènes ubiquitaires** : exprimés au même taux et dans toutes les cellules = Gènes domestiques (employés de maison : house keeping genes

Gènes tissus spécifique

Gènes temps dépendant

Gènes température dépendant

Gènes molécules dépendant

etc.

Importance **des facteurs de transcription**

## C. 2 : Les complexes transcripteurs chez les eucaryotes.

Les complexes transcripteurs sont plus complexes que chez les procaryotes.

**ARN polymérase incapable de se fixer sur promoteur.**

L'initiation de la transcription nécessite la fixation préalable sur les promoteurs de

### ⇒**Facteurs de transcription (TF)**

⇒ TF I : gènes classe I transcrits par l'ARN pol I en ARNr

⇒ TF II : gènes classe II transcrits par l'ARN pol II en ARNm

⇒ TF III : gènes classe III anscrits par l'ARN pol III en ARNt, ARNi

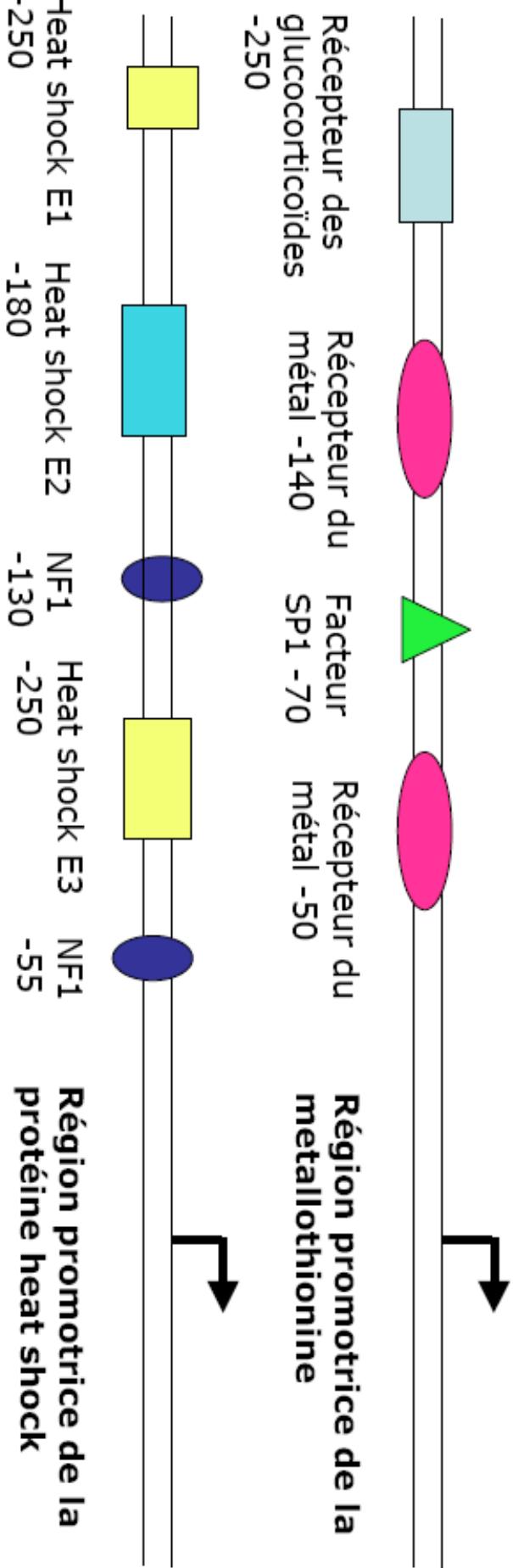
# Les éléments cis-régulateurs

Mise en évidence

le run on et le run off

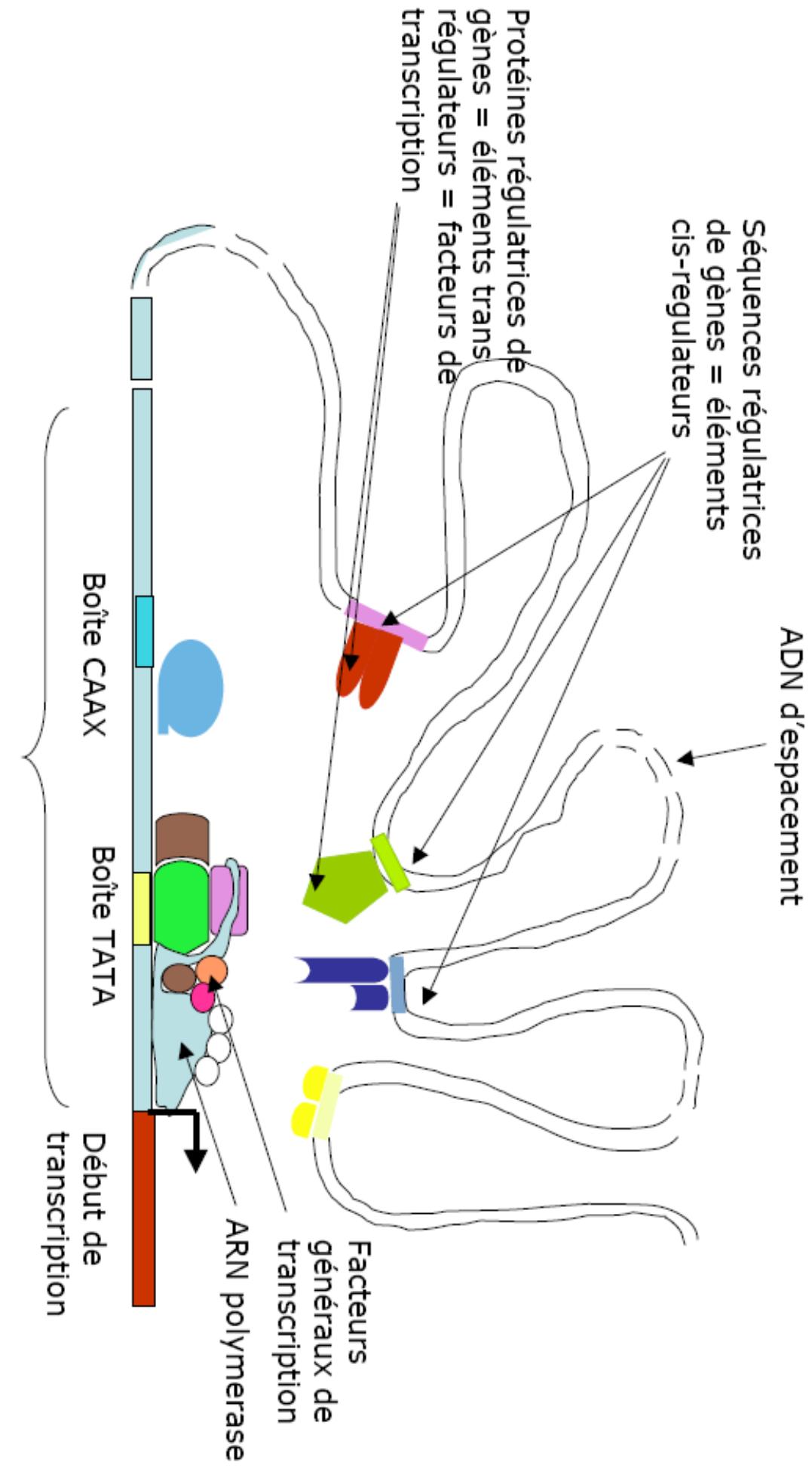
clonage puis mutations successives

Exemple d'éléments cis régulateurs



# Éléments trans et cis régulateurs

« en action »



## C. 3 : Sites de terminaison chez les eucaryotes

ARN polymerase I : terminaison à un site situé 1000 b après extrémité 3'

ARN polymerase II : terminaison 1000 b après AAUAA puis action d'une endonucléase

ARN polymerase III : terminaison à l'extrémité de l'ARN mature (2eme U de 4U dans une région riche en GC)

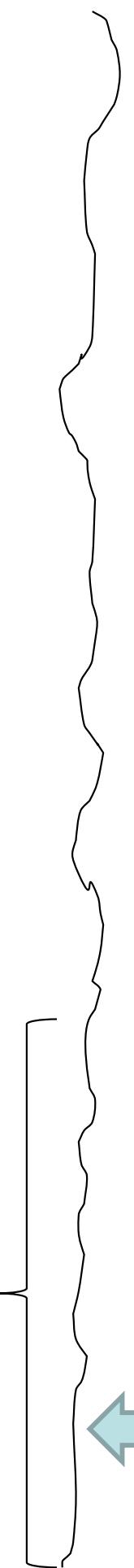
### Fin de la transcription ARNm eucaryotes

Site de polyadenylation  
Séquence de pause riches en GC

AAUAAA

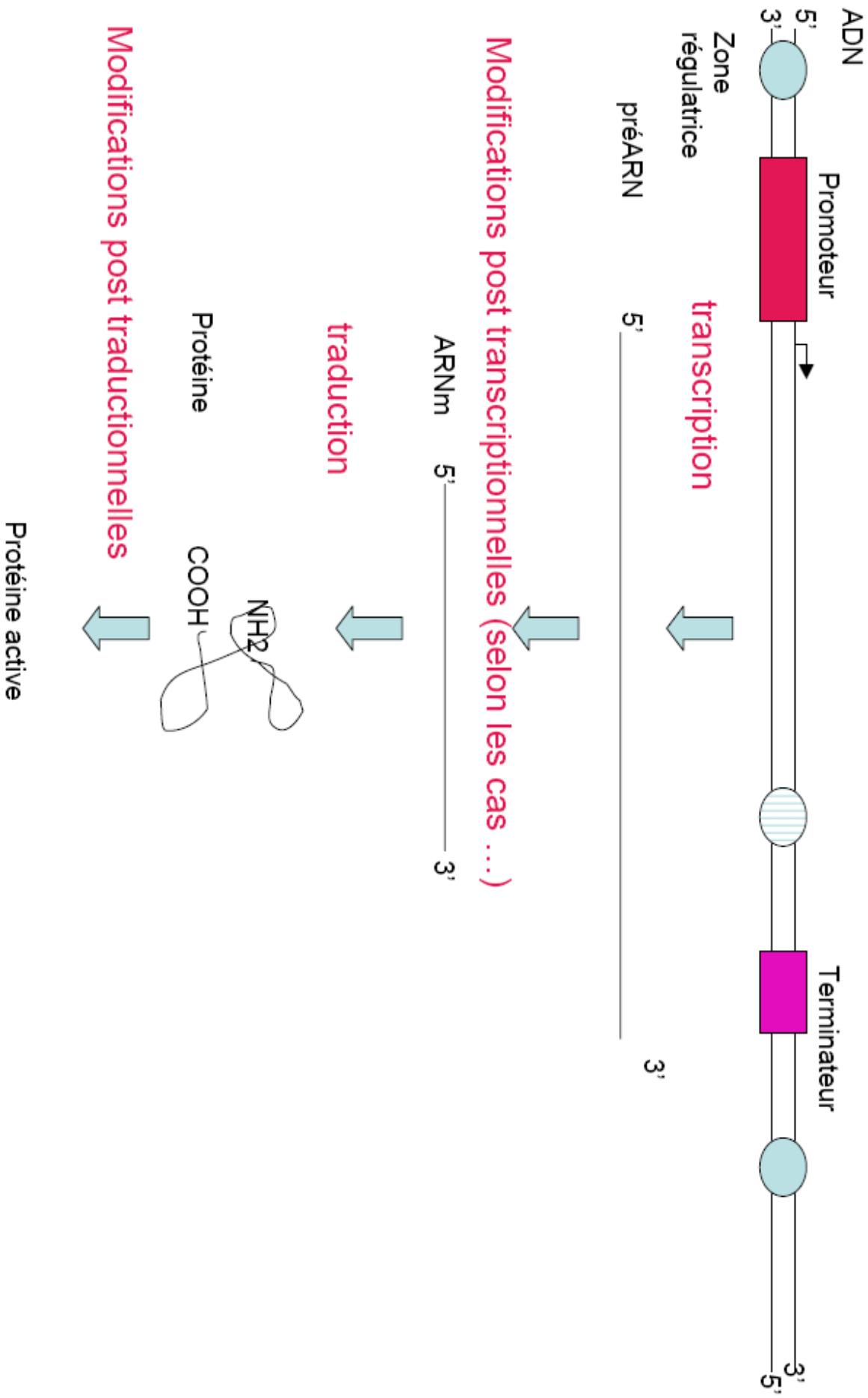
5'

3'



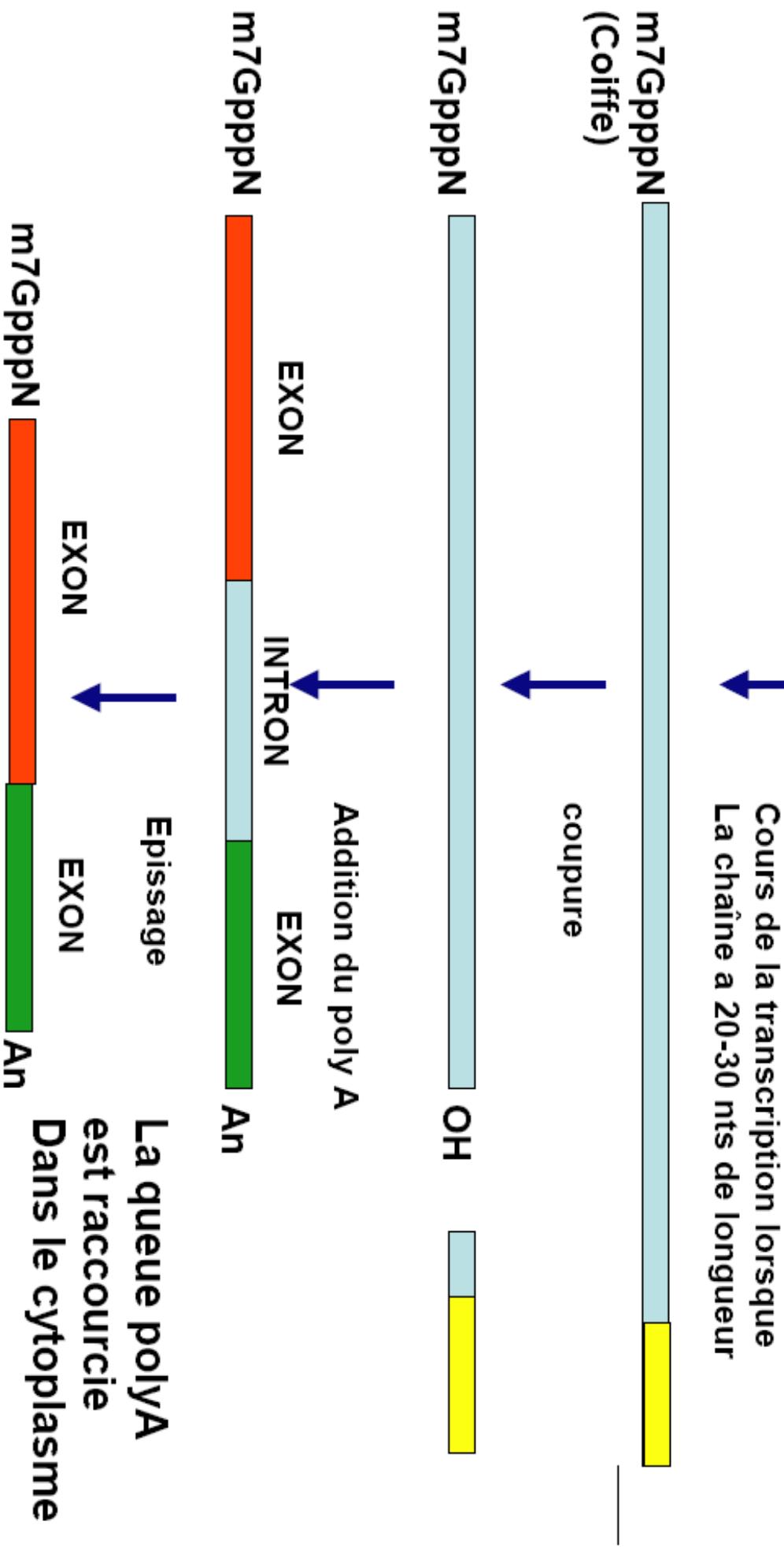
1000 nts

## Un exemple de gène : place de la transcription



# D : MODIFICATIONS POST TRANSCRIPTIONNELLE

## D.1 : DES ARNm EUKARYOTES



## a) Addition de la coiffe

Eucaryotes et archéobactéries : ARN nouvellement transcrits

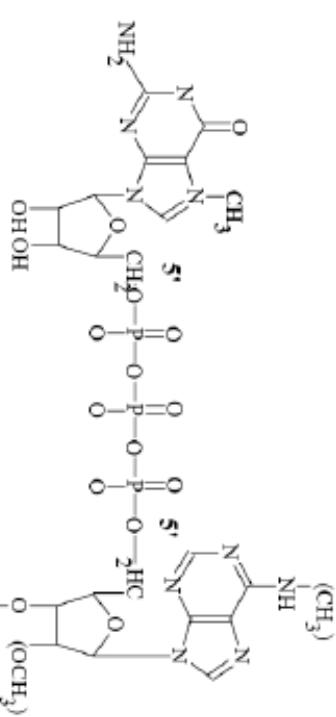
= hnARN (heterogenous nuclear RNA) => Precursors

30 nts après début transcription **addition de la coiffe**

**7 methyl guanosine**

**Liée par liaisons covalente**

**5' - 5' au premier nucléotide**



Élagage du phosphate terminal  
de l'ARNm par phosphatase

Réaction avec P en alpha d'un  
GTP

**guanyltransferase**

ARN messager

## Différentes coiffes

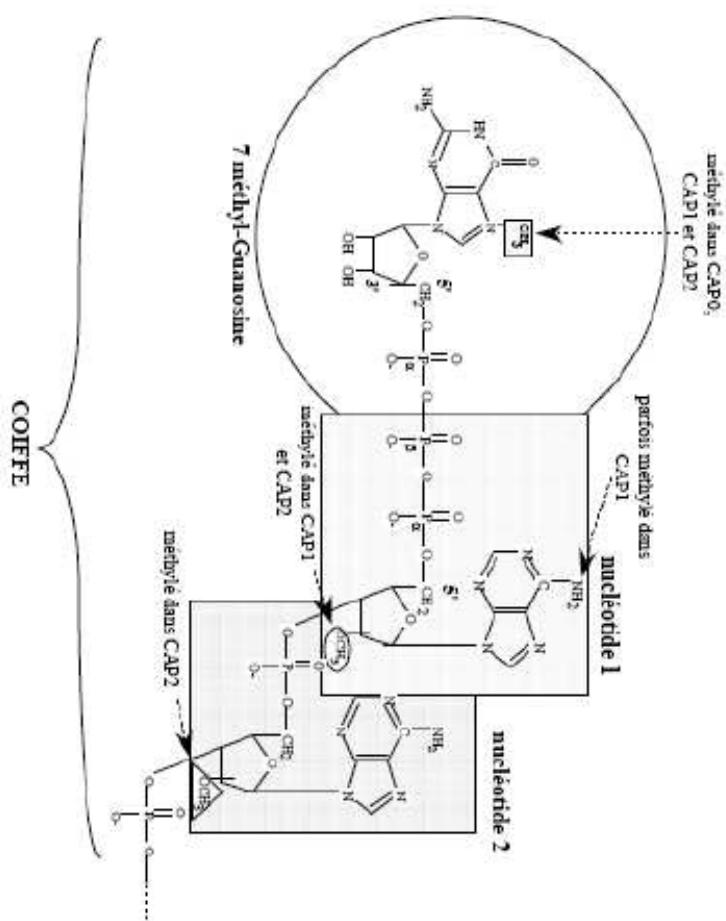
- Uniquement la 7 methyl guanosine
- 7 methyl guanosine + méthylation en C2 du 1er nucléotide
- 7 methyl guanosine + méthylation en C2 du 1er et du 2eme nucléotide

### Intérêt de la coiffe

\* Protection de l'ARN  
des exonucléases 5'-3'

### \* Reconnaissance

### par les ribosomes (traduction)



## b) La queue poly A

Terminaison bien en aval du site de polyadénylation AAUAAA

Action d'une endonucléase 30 nts après site

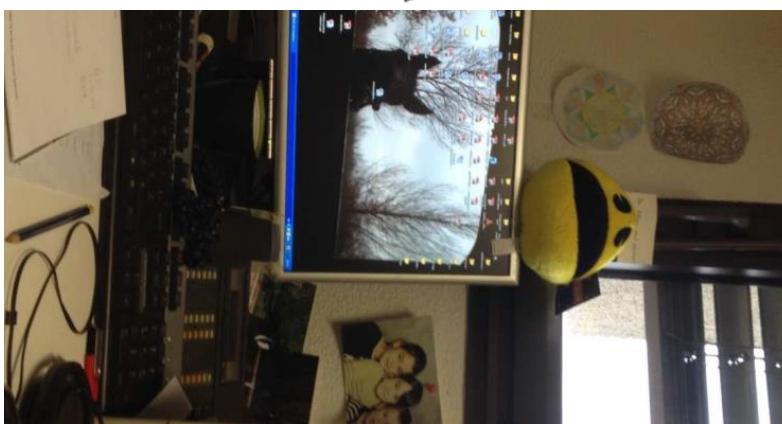
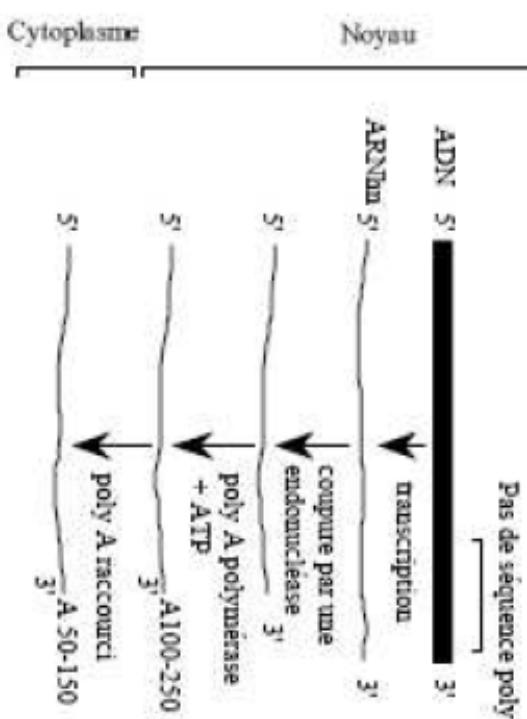
Action d'une poly (A) polymerase

± 200 A rajoutés

### Intérêt

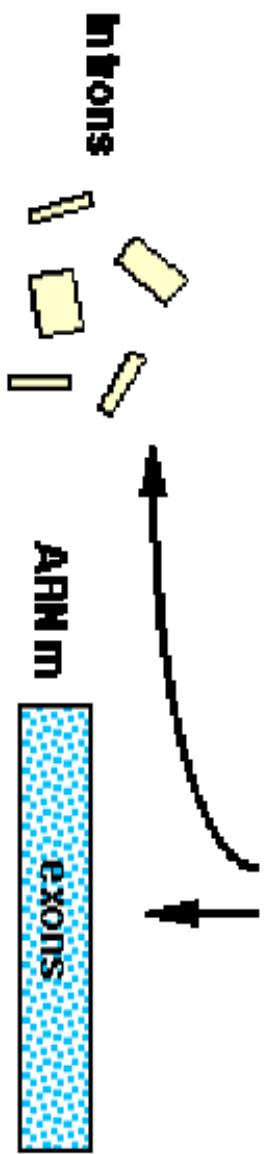
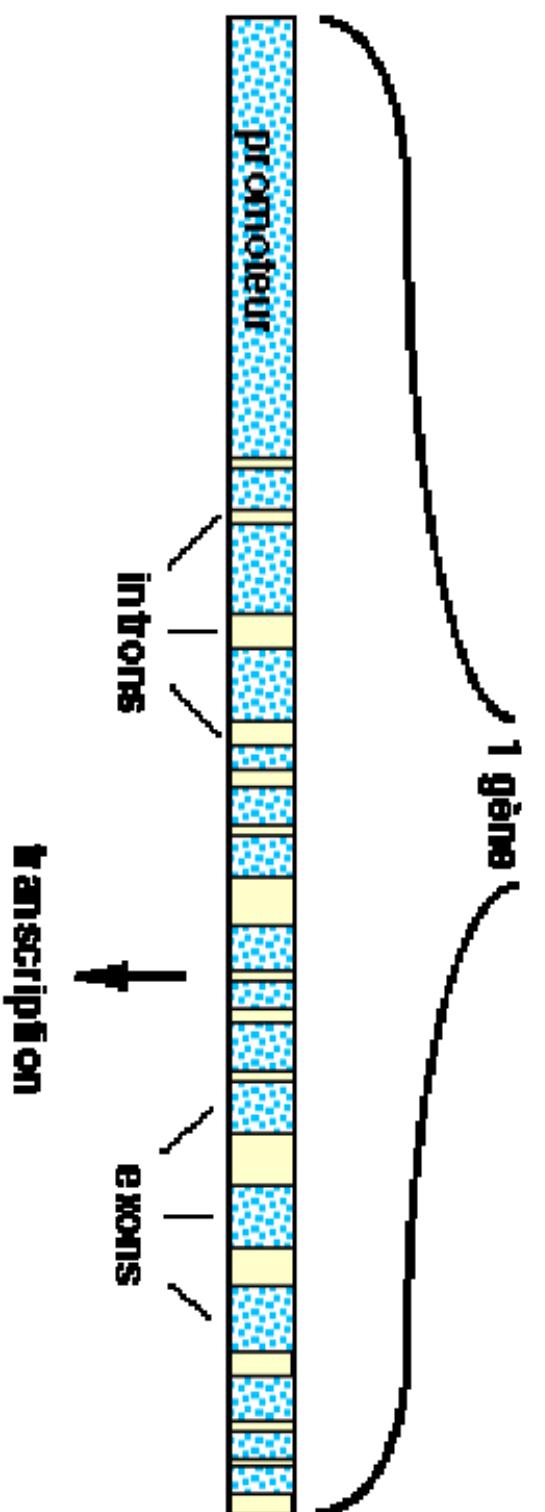
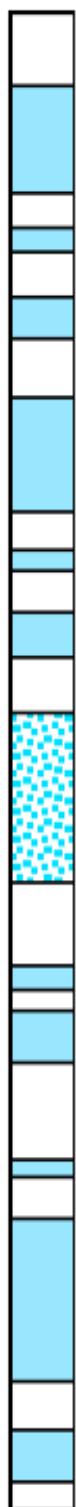
Protection partielle contre exonucléase

Transport vers cytoplasme des ARNm

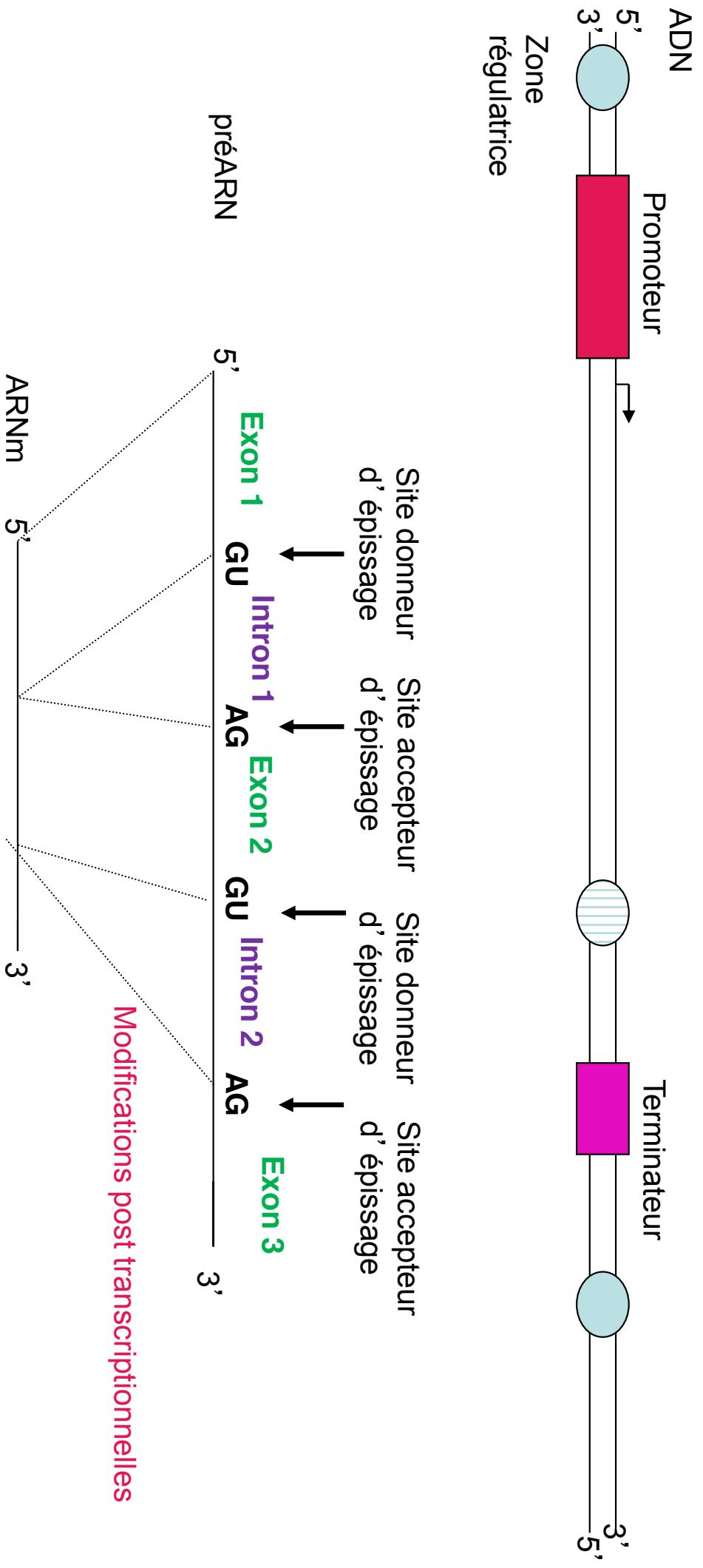


### c) Epissage (élimination des introns)

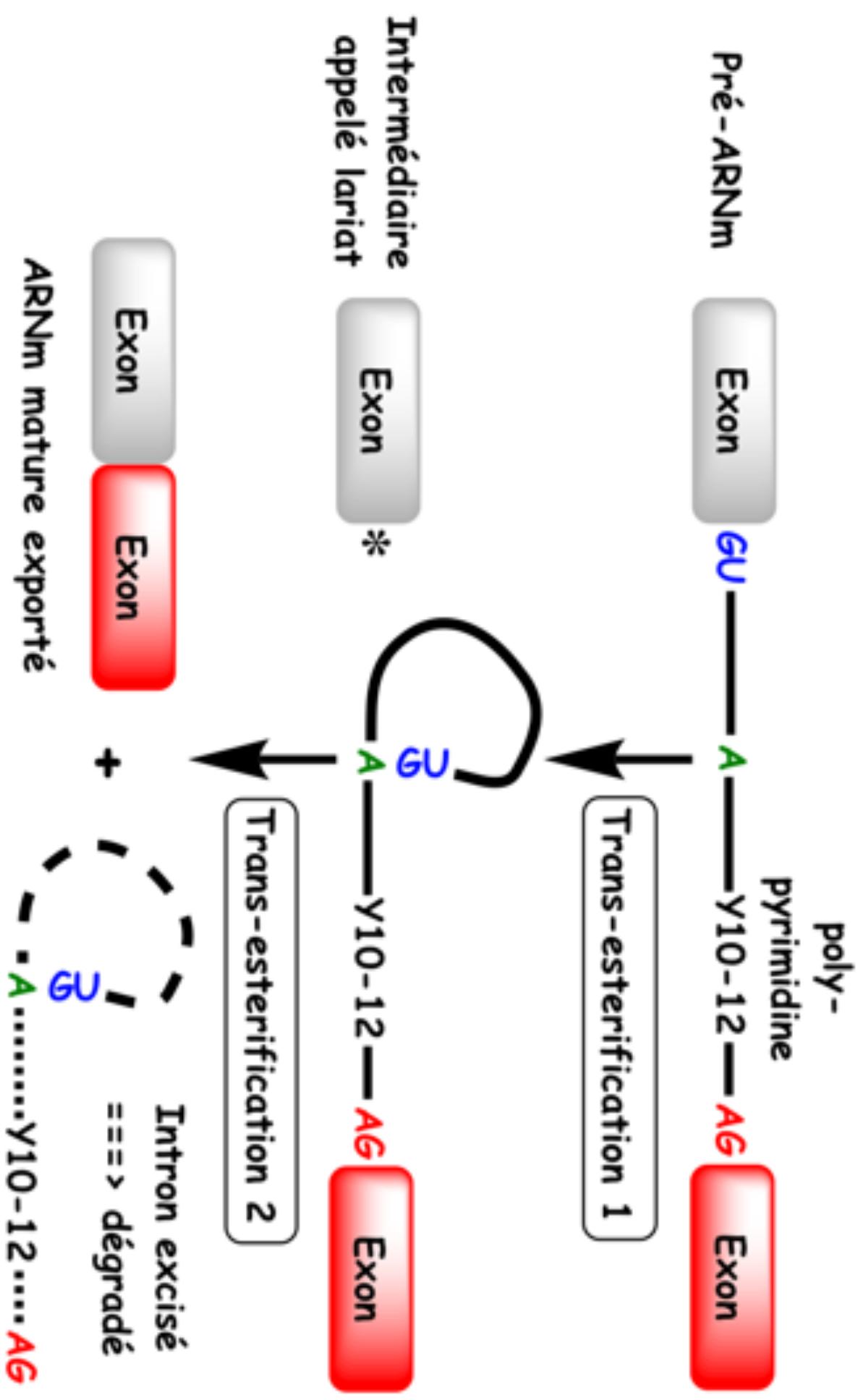
chromosome: code génétique



# Place de l'épissage



Il y a des ARNm avec aucun intron, d'autres avec quelques introns, d'autres encore avec plusieurs dizaines d'introns

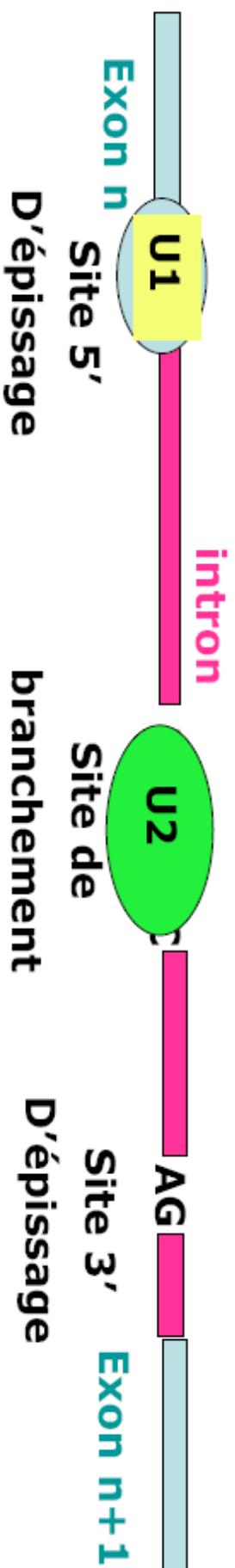


Les introns sont éliminés grâce à des **snRNP** (*U1 à U6*)

### **snRNP = ribonucleo-protéines (ARN + protéines)**

- **ARN** => hybridation avec les sites donneurs et accepteurs d'épissage (reconnaissance SPECIFIQUE)

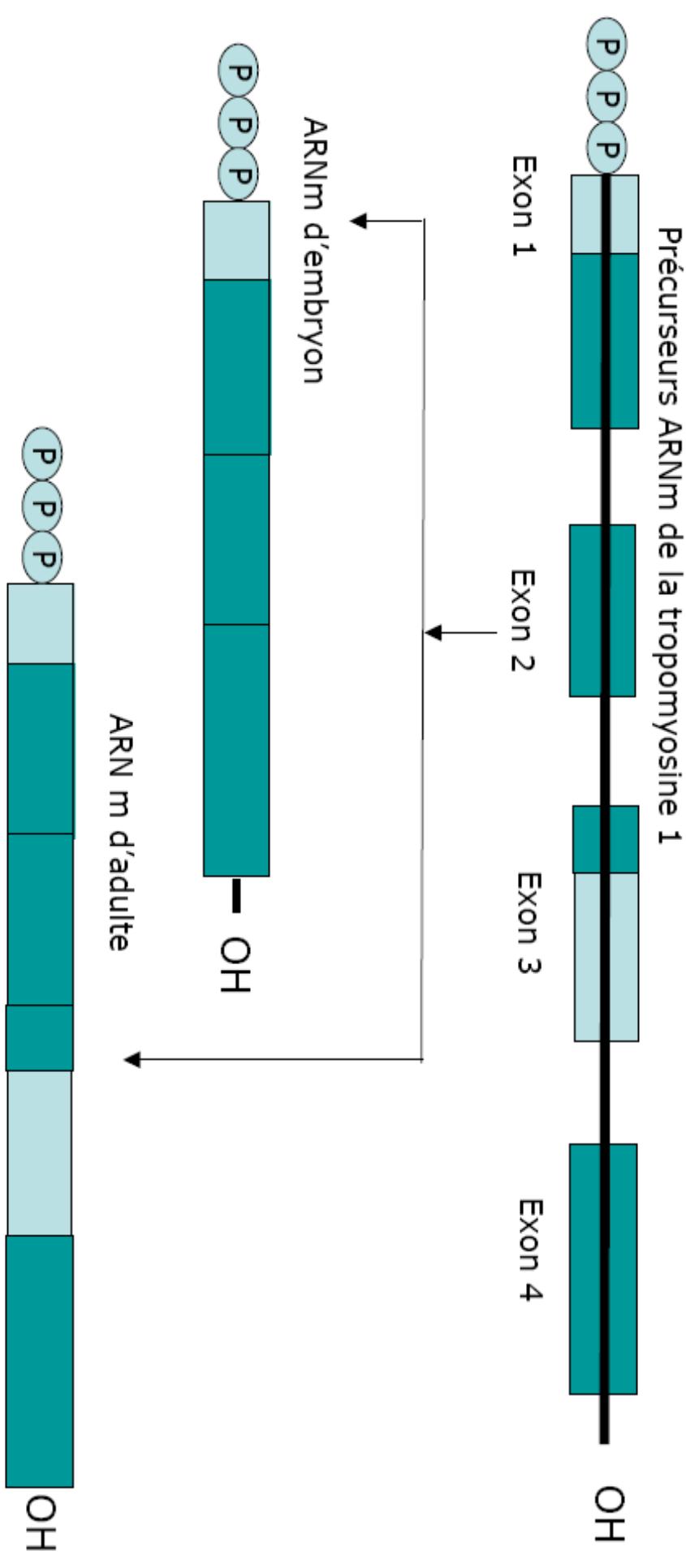
- **Protéines** => activité endonucléase et activité ligase



## CAS PARTICULIER :

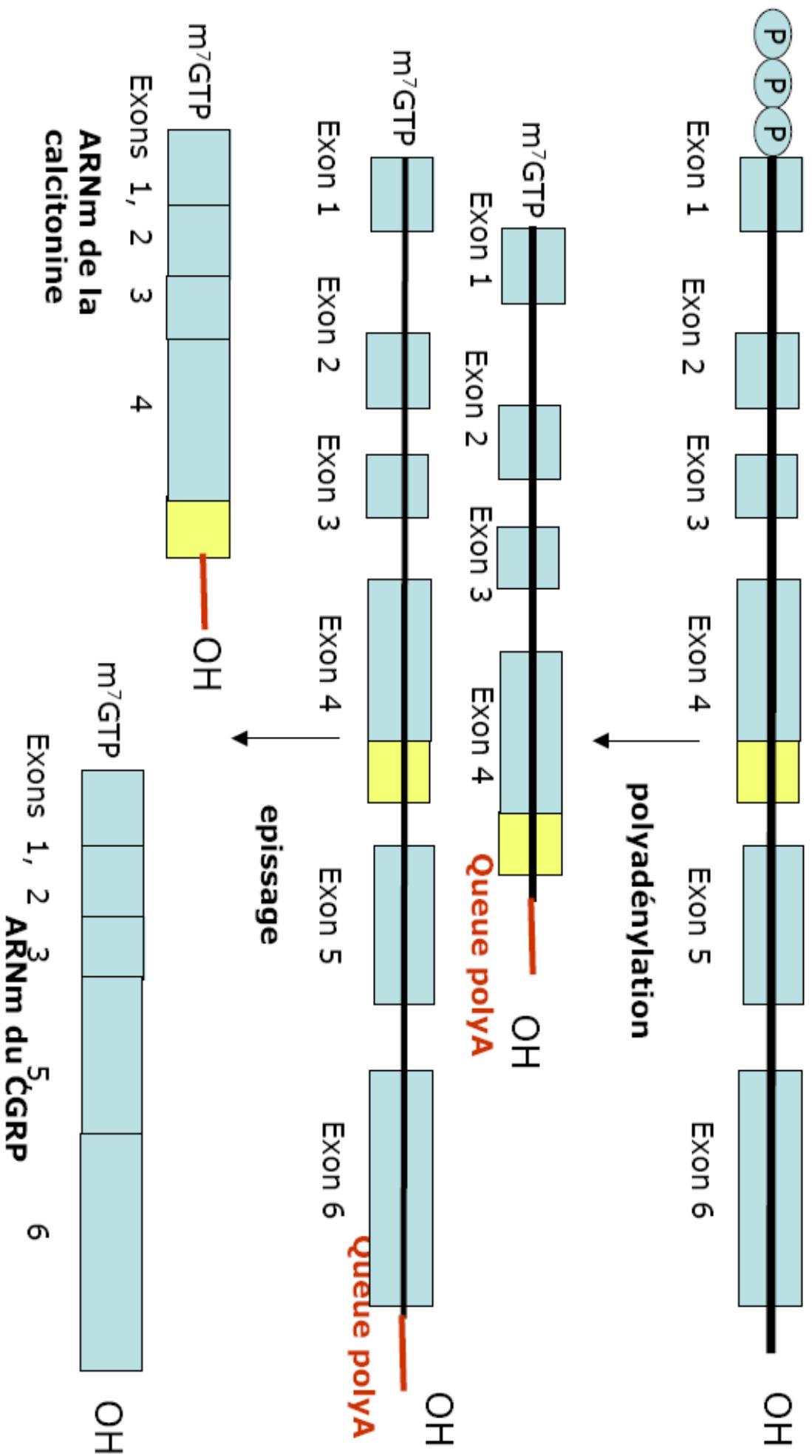
Certains gènes présentent un épissage alternatif => ce ne sont pas toujours les mêmes exons qui sont éliminés.

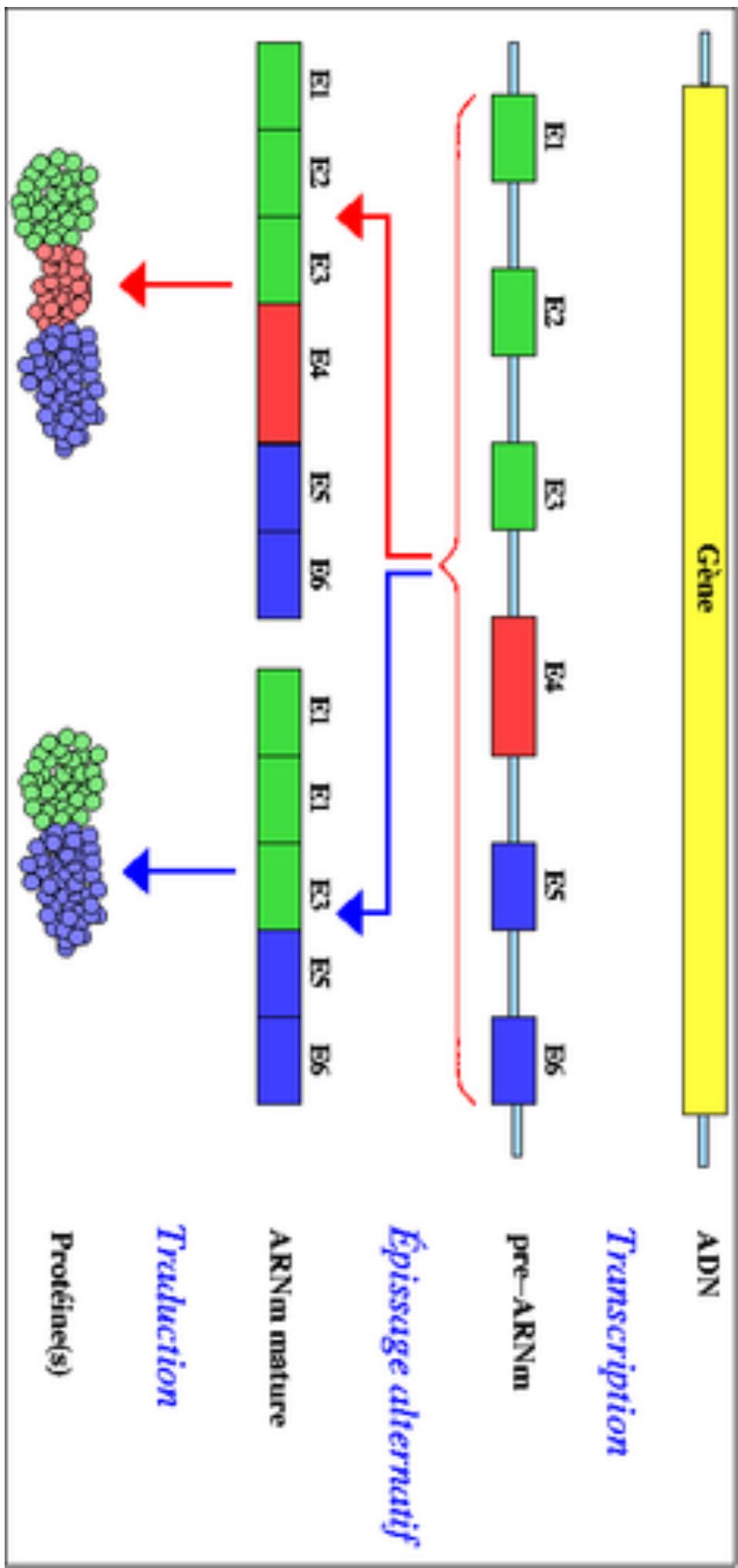
### \* Epissage alternatif



\* Epissage alternatif induisant une variation du site de polyadénylation

## Transcrit primaire





# En résumé

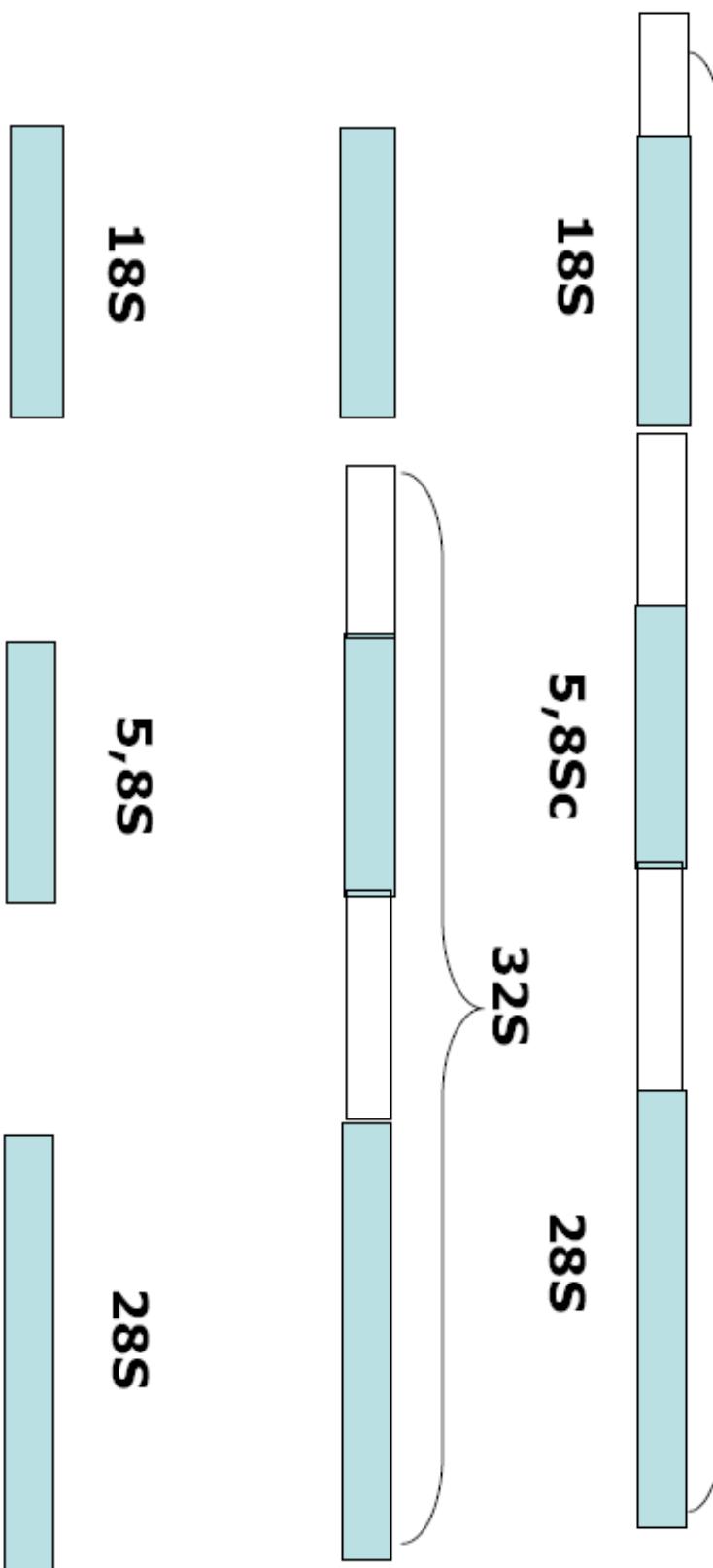
- En 5' : Coiffe : 7 méthyl guanosine tri phosphate  
**(guanyl transferase)**
- En 3' : Queue poly A  
**(poly A polymerase)**
- Tout au long du préARNm : épissage des introns  
**(ribonucléoprotéines)**

## D.2 : Maturation des ARNr sauf le 5S

- Ils sont méthylés et portent des bases modifiées (U->fU).

- Epissage

**47S** 47S = précurseur qui sera mûr en 45S



## D.3 : Maturation des ARNt

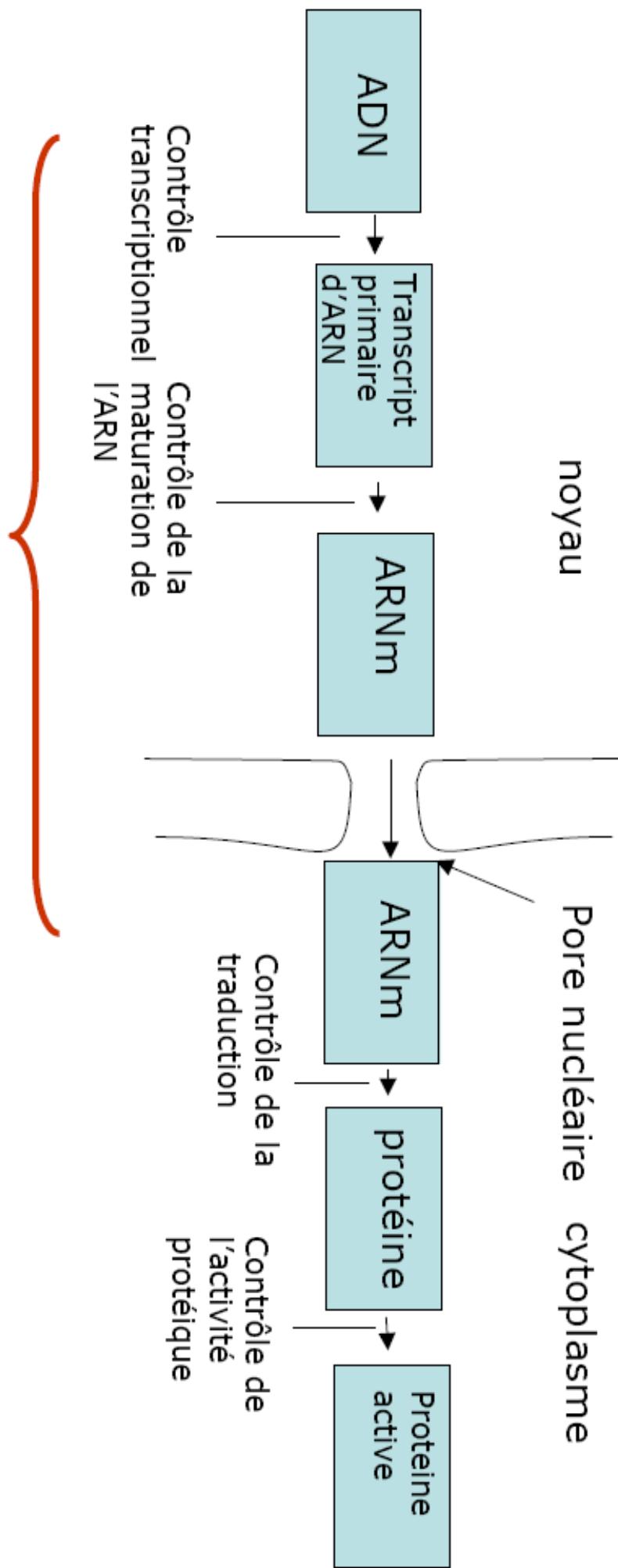
- Ils sont méthylés et portent des bases modifiées (U->fU).
- Epissage

## D.4 : Maturation des ARN 5S

Pas de changement

## E: REGULATION DE L'EXPRESSION DES GENES

L'ensemble des mécanismes qui à partir de la séquence du gène conduisent à la production d'un ARN ou d'une protéine est désigné sous le terme d'**expression de ce gène**.



## **Prokaryotes**

Gènes codant pour les protéines regroupés en opérons

Régulation de la transcription au niveau des opérons

Influence de protéines de régulations (represseurs et activateurs)

## **Eucaryotes**

Régulation de la synthèse d'ARN peut être

- Globale
- Ponctuelle
- Post transcriptionnelle

# a) Régulation globale

ADN associé à des histones => chromatine

## a. 1 : Deux niveaux organisationnels

- euchromatine : décondensée => ADN actif transcrits

- hétérochromatine :

\* soit toujours condensée = hétérochromatine constitutive non transcrise

\* soit quelquefois non condensée = hétérochromatine facultative : quelquefois transcrise

Exemple d'ADN condensé corrélé à une absence totale d'expression génique : la

**lyonisation**

- Cellules de mammifères femelles : on observe un chromosome X/2 qui est tellement condensé qu'il en devient inactif (corpuscule de Barr) : hétérochromatine

=> La condensation de l' ADN est un procédé empêchant l' expression génique

- Exemple des félins

Il existe sur chaque chromosome X ( $X_p$  ou  $X_m$ ) une région d'inactivation comprenant le gène *xist*

Ce gène est transcrit en un ARN de 19 kbase  
Exprimé fortement il recouvre le chromosome  $X_p$  ou  $X_m$  et induit sa non expression

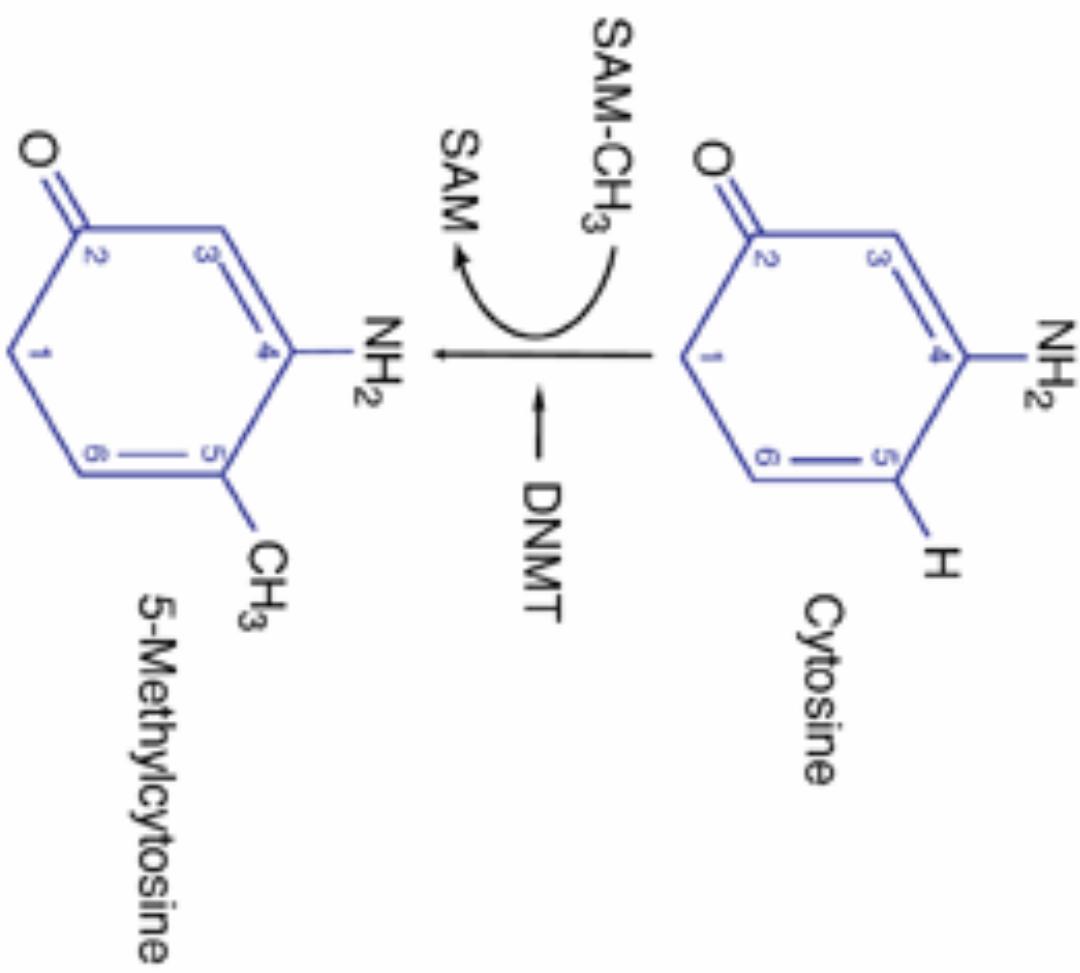
On ne sait pas comment le  $X_p$  ou  $X_m$  est choisi

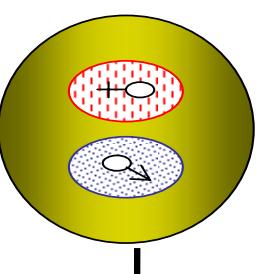


## a. 2 : Modifications de l'ADN par addition de groupement chimique (CH<sub>3</sub>) : La méthylation de l'ADN

- Au niveau des cytosines (îlots CG)
- *Ces modifications entraînent des différences d'expression génique* : Très souvent cette méthylation => extinction de l'expression du gène.
- *Exemple d'effet de la méthylation : les empreintes parentales => Répression stable (tout au long de la vie d'un individu) d'un allèle de certains gènes selon son origine parentale.*

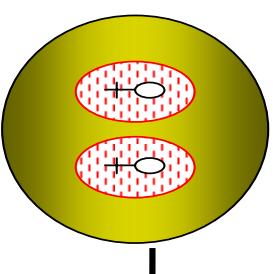
**DNMT** = ADN méthyltransférase  
**SAM** = S-Adénosyl Méthionine (donneur de groupements méthyl)





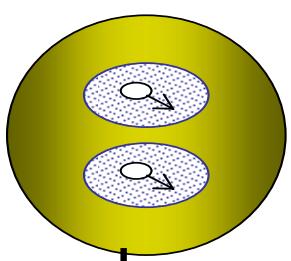
Développement normal

Oocyte fécondé



Mortalité embryonnaire

Gynogénote / Parthénogénote



Mortalité embryonnaire

Androgénote

(Surani et al., 1984, Nature 308, 548-550)  
(McGrath & Solter, 1984, Cell 37, 179-183)

# les empreintes parentales

âne + jument => mulet  
cheval + anesse=> bardot.



Ces deux hybrides ont un phénotype différent alors qu'ils sont tous les deux porteurs d'un hémigénome de cheval et d'un hémigénome d'âne.

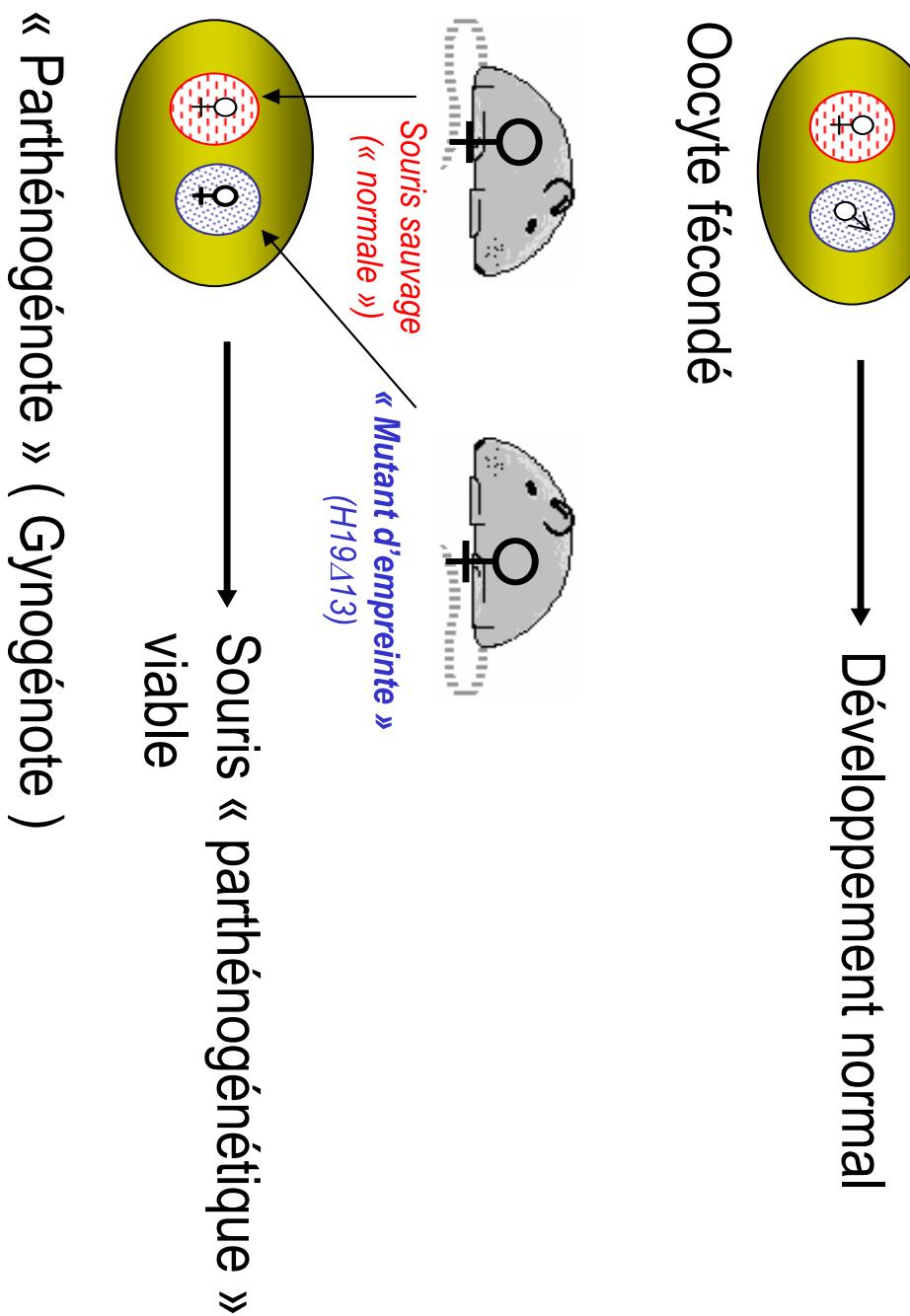
Les différences observées sont en fait le témoin de l'existence d'un mécanisme régulateur qui modifie l'expression de certains gènes selon qu'ils sont transmis par le mâle ou la femelle : c'est l'**empreinte parentale**.

**Dans les cellules de mammifères pour certains gènes (+ de 200) un allèle (maternel OU paternel suivant les gènes) est inactif !**  
**On parle d' empreinte parentale.**

**Cette inactivation est le fait de la condensation partielle d'une partie du génome (methylation ou fixation d'ARN non codant) = Le processus d'empreinte consiste en une modification de la structure chromatinienne rendant impossible la lecture d'un domaine de l'ADN.**



*Principe de l'expérience de Kono*



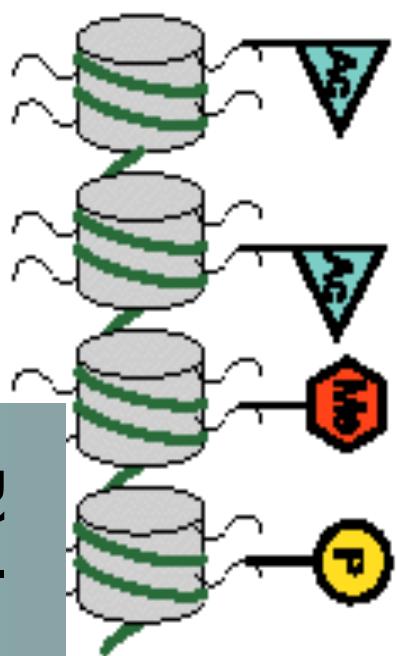
(Kono et al., 2004, *Nature* 428, 860-864)

## a. 3) Certaines modifications post-traductionnelles des histones (ex. Acetylation)

- \* L'incorporation de certains variants d'histones
- \* La position d'un locus dans le noyau
- \* Autre: présence d'une protéine/d'un ARN non codant sur la chromatine

=> Induisent des Variations de l'expression génique

## UN « CODE HISTONE » ?



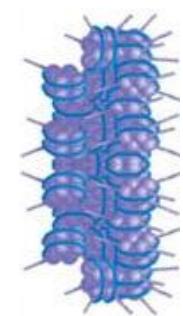
### Règles générales

**Acétylation** : favorise l'expression des gènes

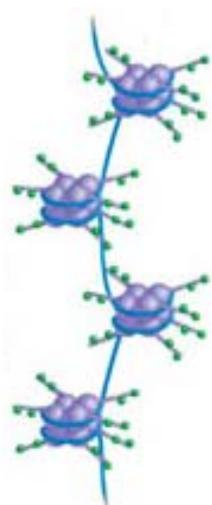
**Méthylation** : réprime l'expression des gènes

**Phosphorylation** : fonction inconnue

# Chromatine fermée



# Chromatine ouverte



- Déacétylation H3/H4

- Méthylation Lysines

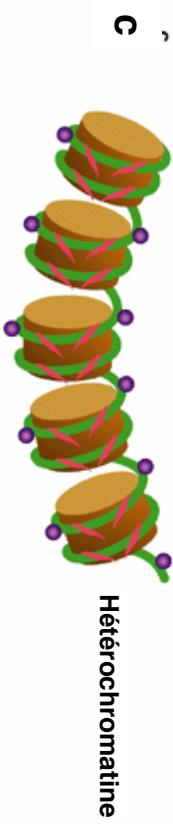
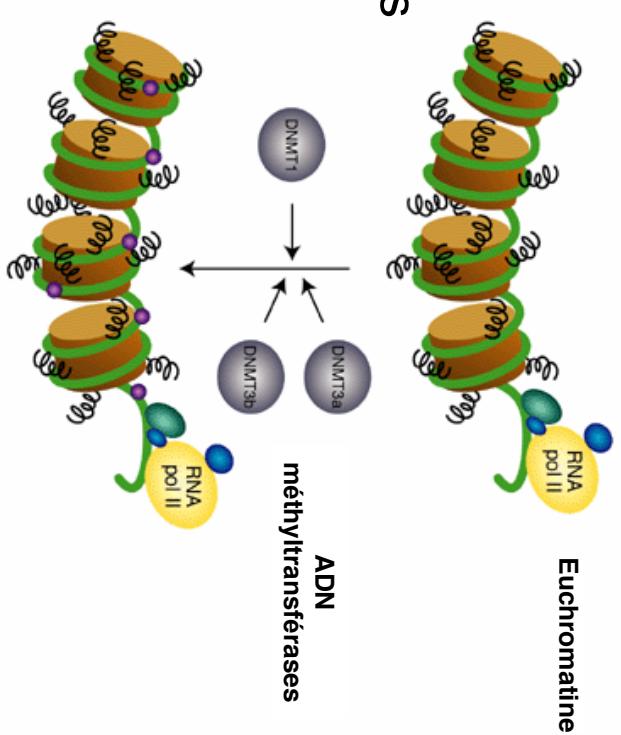
(Ex: H3K9)...

- Acétylation H3/H4

- Déméthylation Lysines

(sauf H3K4)...

b



Hétérochromatine

● Dimucléotide CpG Méthylé

— Histone Méthylique

— Histone Acylée

# Etude de la variation globale de l'expression génique du à la structure de l'ADN et pas à la séquence = EPIGENETIQUE

**Définition :** Caractère épigénétique = caractère transmissible en mitose ou en méiose et non codé par la séquence primaire d' ADN

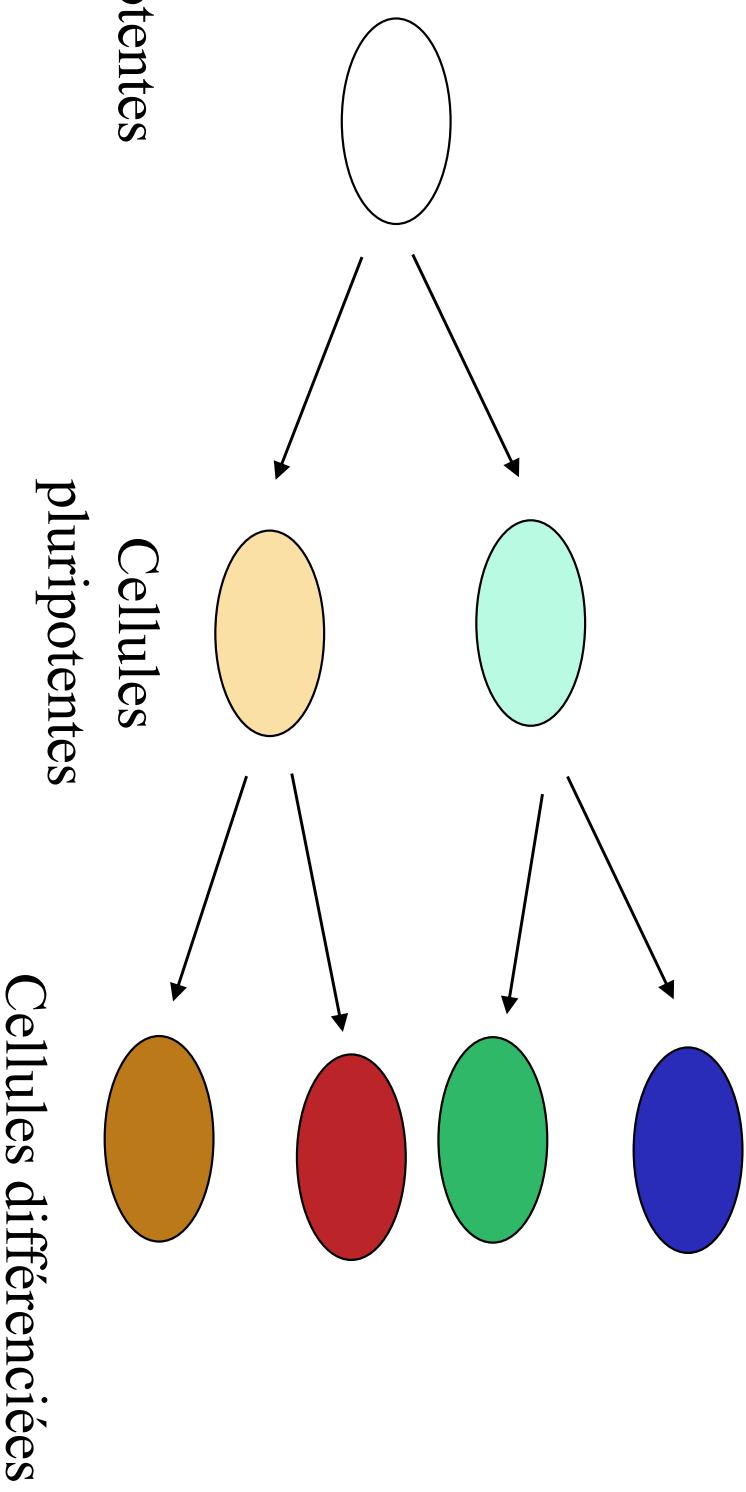
*Autrement dit :*

Etude des caractères, tel les changements des états de transcription des gènes, qui sont héritables au cours des divisions cellulaires mais qui n'impliquent aucun changement de la séquence d'ADN. Ces caractères sont en général réversibles (« reprogrammables » selon le type cellulaire) et sont portés par des *modifications* dites épigénétiques.

## Un exemple de « à quoi sert l' épigénétique? »

Toutes les cellules (à quelques exceptions près) d'un organisme eucaryote supérieur ont le même contenu en ADN (génotype). Pourtant, seule une faible fraction du génome est exprimée dans chaque cellule (phénotype): La mise en silence du reste du génome fait appel à des mécanismes épigénétiques.

- Cette mise en silence permet le développement d'organismes pluricellulaires.



# Exemples de pathologies humaine liées aux empreintes parentales

## *syndromes d'Angelman, de Prader-Willi ou de Beckwith-Wiedeman*

- syndrome de *Prader-Willi* :hypotonie musculaire, une obésité, un hypogonadisme et un retard mental léger.
- syndrome d'*Angelman* :un retard mental sévère, des convulsions et des fous rires sans justifications.

Ces deux syndromes : une délétion du matériel génétique chromosome 15 depuis 15q11 jusqu'à 15q13. =région soumise à l'empreinte parentale : si la délétion est transmise par la mère, les enfants présentent le syndrome d'*Angelman*, si elle est transmise par le père, l'enfant sera atteint du syndrome de *Prader-Willi*.

*Le syndrome de Beckwith-Wiedemann est associé à une surcroissance prénatale et un risque élevé de cancers. Il résulte d'une dérégulation de l'expression des gènes de la région chromosomique 11p15, soumise à empreinte parentale.*

### *Les malades*

- *présentent une expression biallélique du gène IGF2 au cours du développement alors que normalement seule la copie paternelle de ce gène est active.*

## Epigénétique et nourriture

- le régime alimentaire de souris multicolores agouti peut altérer leur phénotype, en changeant le profil de méthylation de l'ADN de leur génome.

- Normalement, les poils des souris agouti sont jaunes, bruns ou d'une couleur intermédiaire en fonction du nombre de groupements méthyle présents sur un transposon localisé en 5' du gène agouti.

- Cette méthylation dépend de l'alimentation des souris,
  - un excès d'acide folique, la descendance des souris : fourrure brune,
  - sans acide folique : jaune
- Les groupements méthyle liés au transposon en 5' inhibent l'expression du gène agouti

## En humaine

- groupe de femmes, pays bas, deuxième guerre mondiale et famine => naissance de bébés relativement petits.
- Petits enfants également de petite taille
- la famine => mécanismes épigénétiques maintenus chez les petits-enfants
- le degré de méthylation du gène *IFG2* est nettement inférieur chez les individus affectés durant la vie foetale plus de 60 ans auparavant.

## b) Régulation ponctuelle

Transcription à peu près nulle en absence d'activateurs

Séquences de cis régulation : sites de reconnaissance pour les facteurs de transcription

- séquences activatrices ou répressives
- séquences stimulatrice (amplificatrices, enhanceurs)

Courtes séquences : < 20 nts

Elles peuvent être situées **en amont** ou **en aval** et/ou loin de la séquence transcrive (dans le promoteur (TATA, CAAT) ou à distance).

**facteurs de transcription = facteurs trans régulateurs.**

= protéines se fixant de façon spécifique à la séquence d'ADN  
= régulent la transcription de façon positive ou négative (trans activateurs, trans répresseurs, amplificateurs)

**Protéines à deux domaines fonctionnels**

- \* un domaine de liaison à l'ADN (hydrogènes, ioniques, hydrophobes)
- \* un domaine de modulation de la transcription

**Agissent**

- \* soit sur l'enzyme de la transcription directement
- \* soit sur la structure de l'ADN (structure chromatinienne)

**5 à 10% du génome code pour des facteurs de transcription !**

## **Jeûne =>**

Taux de glucose dans le sang diminué (hypoglycémie)

Le cerveau est en manque !

⇒ Réaction par synthèse d'une hormone hypophysaire : corticostimuline

Celle ci => sécrétion du cortisol par les surrénales

Cortisol va dans le foie => fixation sur son récepteur

Ce récepteur activé se lie alors dans les hépatocytes à la séquence cis régulatrice GRE (glucocorticoïd responsive element) de plusieurs gènes.

⇒ Expression de certains gènes codant des enzymes impliqués dans la néoglucogénèse.

⇒ Augmentation de la glycémie.

**Stress** => préparation à l'effort physique

Cerveau => médullosurrénale =>adrénaline => pancréas secrète du glucagon => activation de la synthèse d'AM cyclique au niveau des muscles et du foie => activation de la protéine kinase A => phosphorylation de CREB (facteur de transcription) qui se lie au niveau de certains gènes => néoglucogénolyse : transformation glucose en énergie => contraction musculaire

## c) ARN interférents (RNAi) et l'inhibition de l'expression génique (dégradation de l'ARNm ou inhibition réelle de la traduction)

### Interférence d'ARN (RNAi)

Découvert par Jorgensen par hazard en voulant renforcer la couleur pourpre des pétunias => insertion d'un vecteur (ADN) et le pétunia est devenu blanc

⇒ Extinction du gène de la couleur pourpre

# Ces ARN intervenant dans la régulation de la transcription

= ARNnc (Nature 1998)

## ARN nc à chaîne courte

Obtenus à partir d'un long ARN précurseurs

### Parmi eux les ARN interférents

siARN, miARN (micro ARN), piARN

## ARN nc à chaîne longue > 200nts

ex XIST (lyonisation)

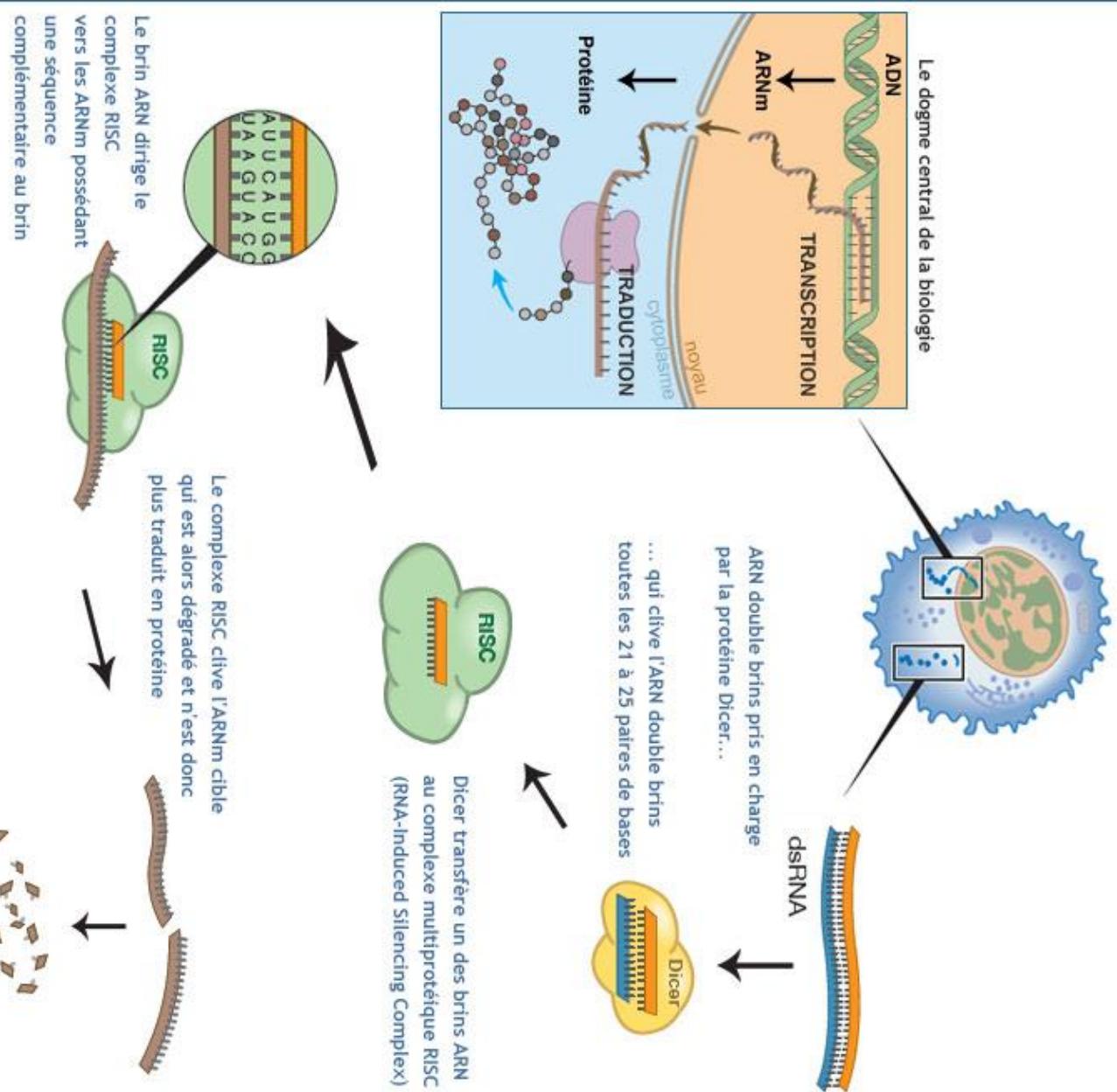
Existen chez tous les eucaryotes (*c.elegans*, plantes, invertébrés, vertébrés, champignons ...)



Prix Nobel Fire et Melo 2006

# L'interférence ARN

L'ARN interférence existe dans le cytoplasme de toutes les cellules humaines, animales et végétales



- Un miRNA est une molécule d'ARN double brin

5' **ACGUAAUGGGAGUCCAGGUGUC**  
3' **UGC**AUUA**CCCCUCAGGUCCACAG**

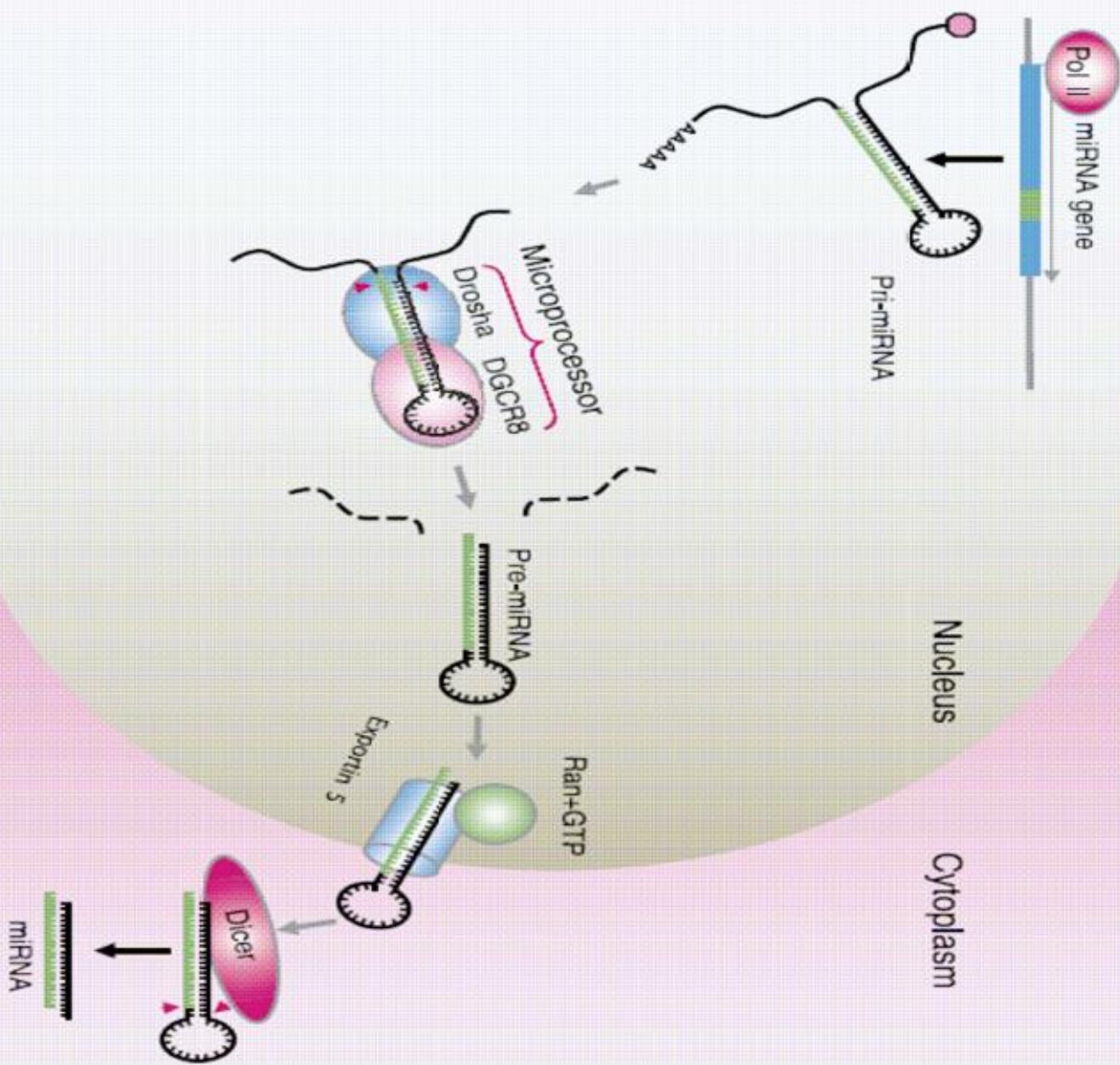
Quand il se « déplie » un de ses brins est complémentaires et

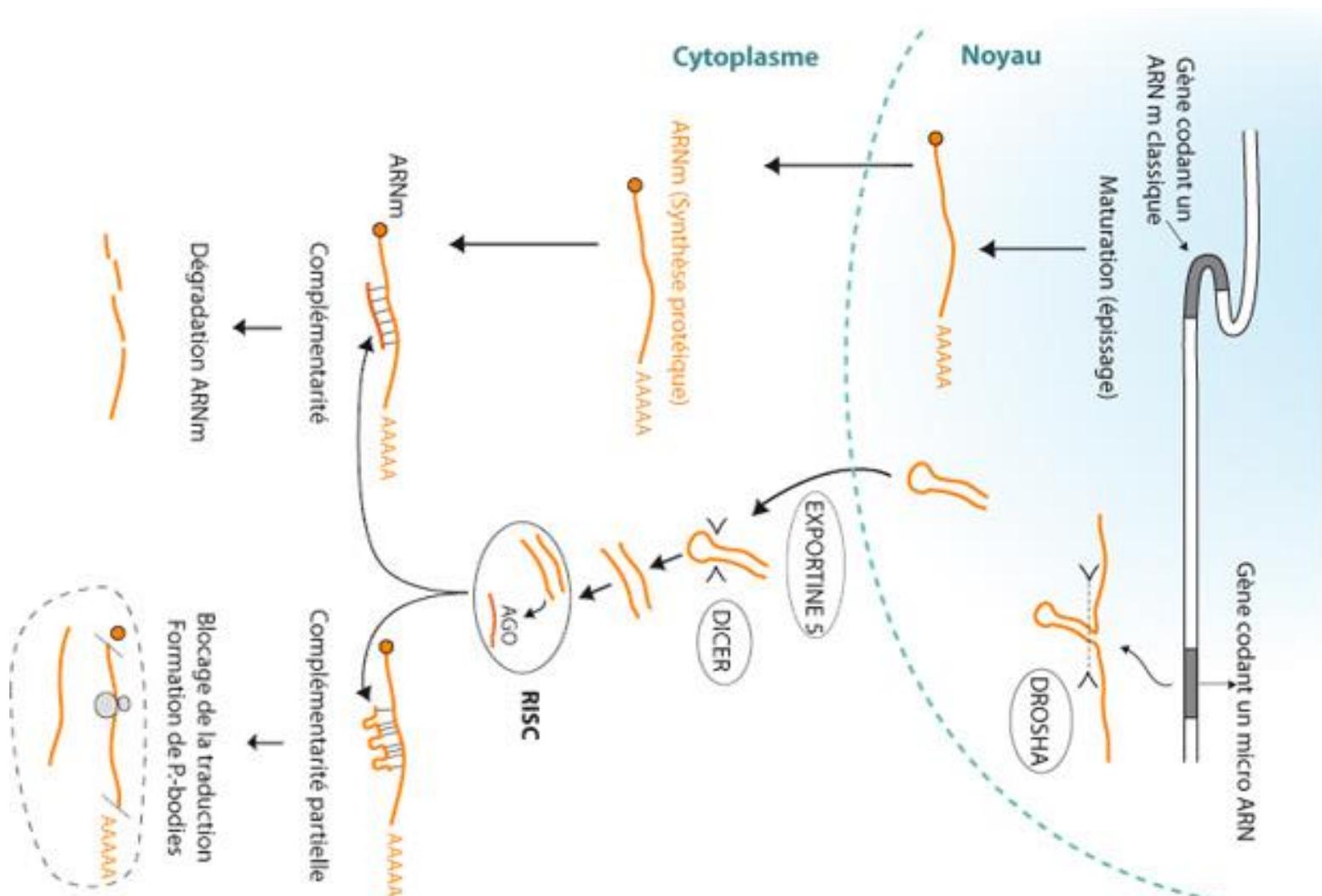
antiparallèle de son ARNm cible.

ARNm cible : 5' ACCGUUUUAUACGUAAUGGGAGUCCAGGUGUCGCCGC 3'  
**UGC**AUUA**CCCCUCAGGUCCACAG**



Dégradation de l'ARNm cible !





# En résumé

- Découverte de molécules d'ARN double brin de 22 nucléotides : les miRNA
- Capables d'agir sur l'expression de gènes cibles (séquence complémentaire et antiparallèle)

Ces miRNA sont codés par des gènes (promoteur – sequence transcrive -terminateur)

Le miRNA est transcript sous la forme d'un précurseur qui sera maturé.

# En résumé bis

- Unités géniques indépendantes (promoteur, séquences terminateur) pouvant coder un à plusieurs miRNAs : ex miR-23a -27a - 24.2 kb)
- Regroupés au sein d'un grande famille d'éléments régulateurs, très conservés pendant l'évolution : les miRNA (plusieurs centaines identifiés chez l'humain)
- Expression tissu ou temps spécifique
- Souvent fonction associée au développement

## Dysregulation de certains miRNA associés à certains cancers (Oncomir)

Ex : leucémie lymphocytaire chronique

- sur-expression d'un gène activateur de la division cellulaire

- association avec déletion du chrom 13q14 dans 50% des cas

(aucun gènes dans cette région ne sont impliqués dans oncogénèse

présence de 2 miRNA : miR-15 et miR-16)

68% des CLL et 90 % des cancers de la prostate ont ces deux miRNA délétés (GST)

Autres études : il y a des miRNA sur exprimés dans certaines tumeurs (oncogènes)

=> MiRNA : nouvelles cibles thérapeutiques ?????

# L'interférence à ARN chez les prokaryotes

L'interférence à ARN **existe** chez les prokaryotes

MAIS les miARN n'ont jamais été décrits

Prokaryotes : présence d'ARN antisens

# Régulation due à la présence d'un petit ARN chez les procaryotes

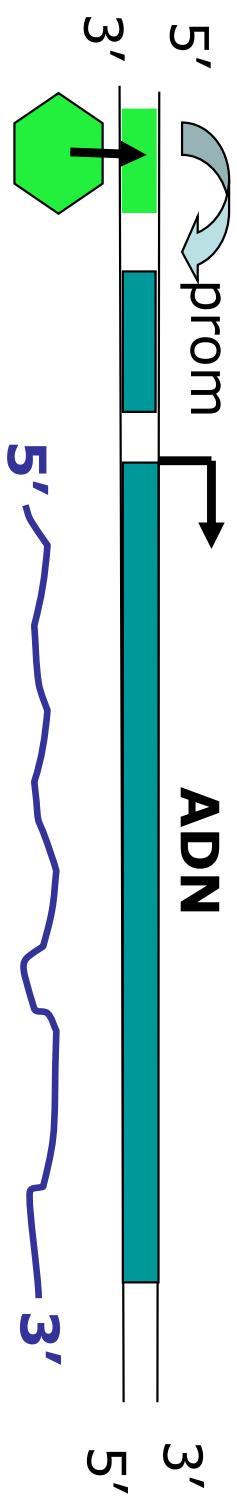
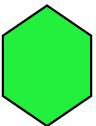
## Exemple de la régulation du gène *ompF*

### Régulation due à un petit ARN contrôlant la traduction

But : inhiber l'expression de *OmpF* (protéine de la membrane externe de *E. coli* qui doit être absente quand la pression osmotique augmente).

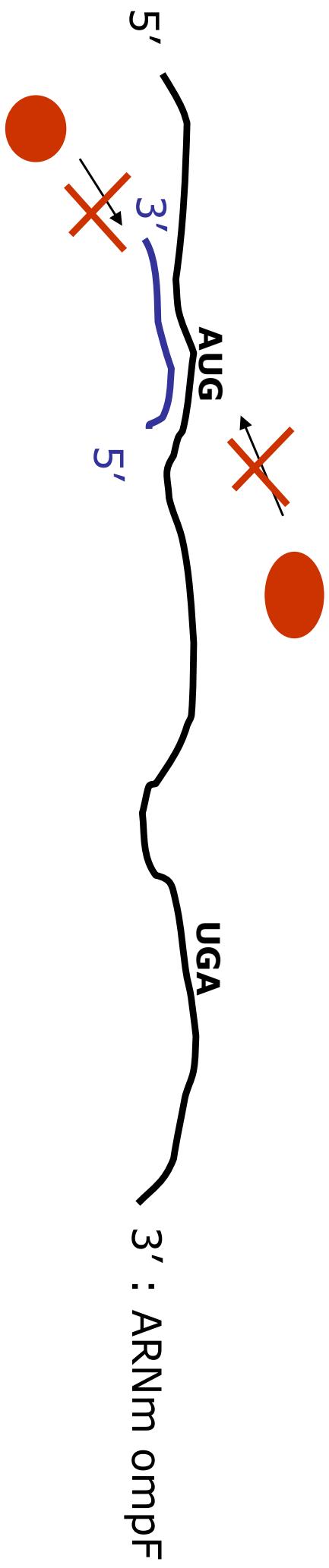
Mécanisme cellulaire :

pression osmotique → => traduction de *ompR*



⇒ transcription de *micF* = petit ARN (174 bases) = miRNA

⇒ Cet ARN est antisens complémentaire de *ompF* au niveau de la liaison aux ribosomes



⇒ pas de traduction de OmpF

⇒ ARNm de OmpF détruit par les RNases au niveau du double brin