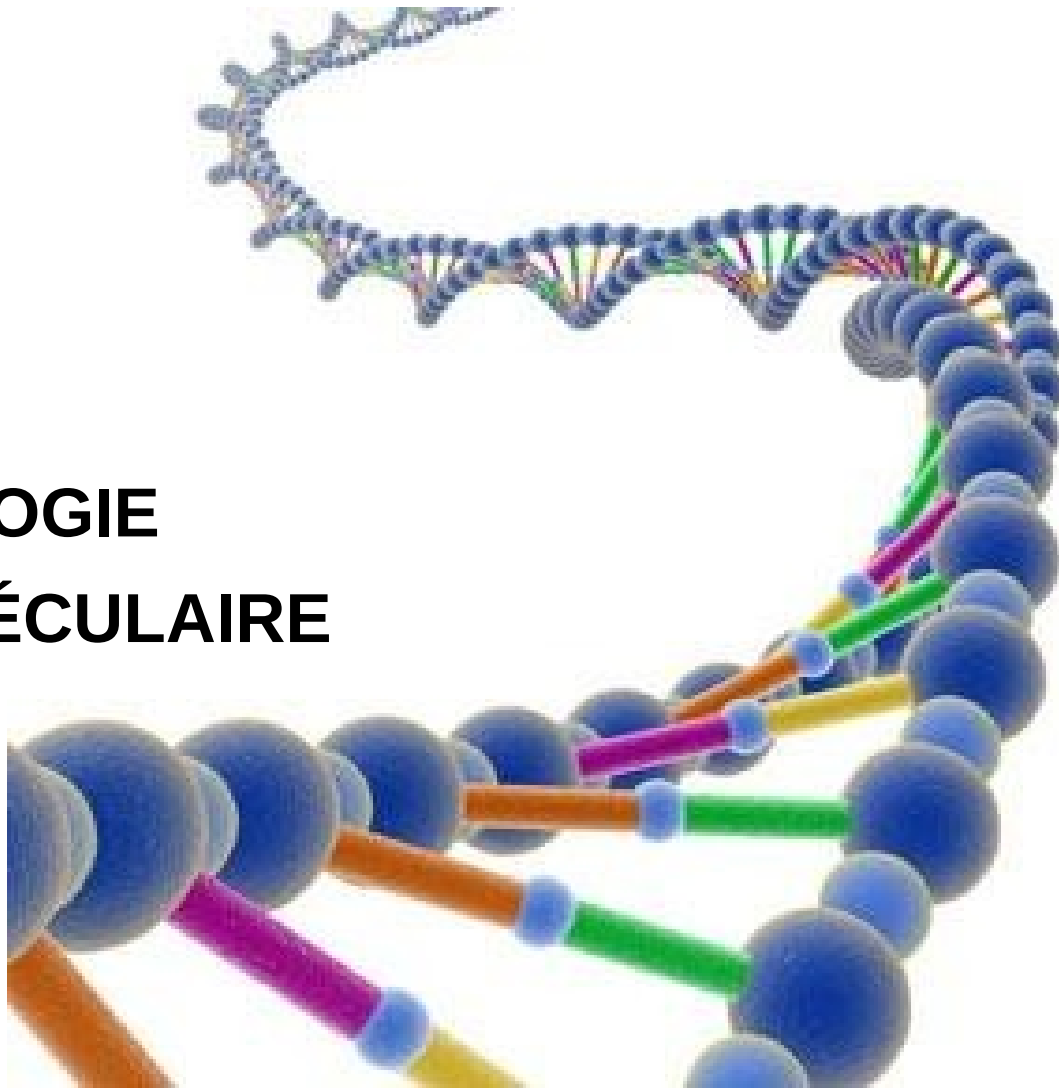


# BIOLOGIE MOLÉCULAIRE



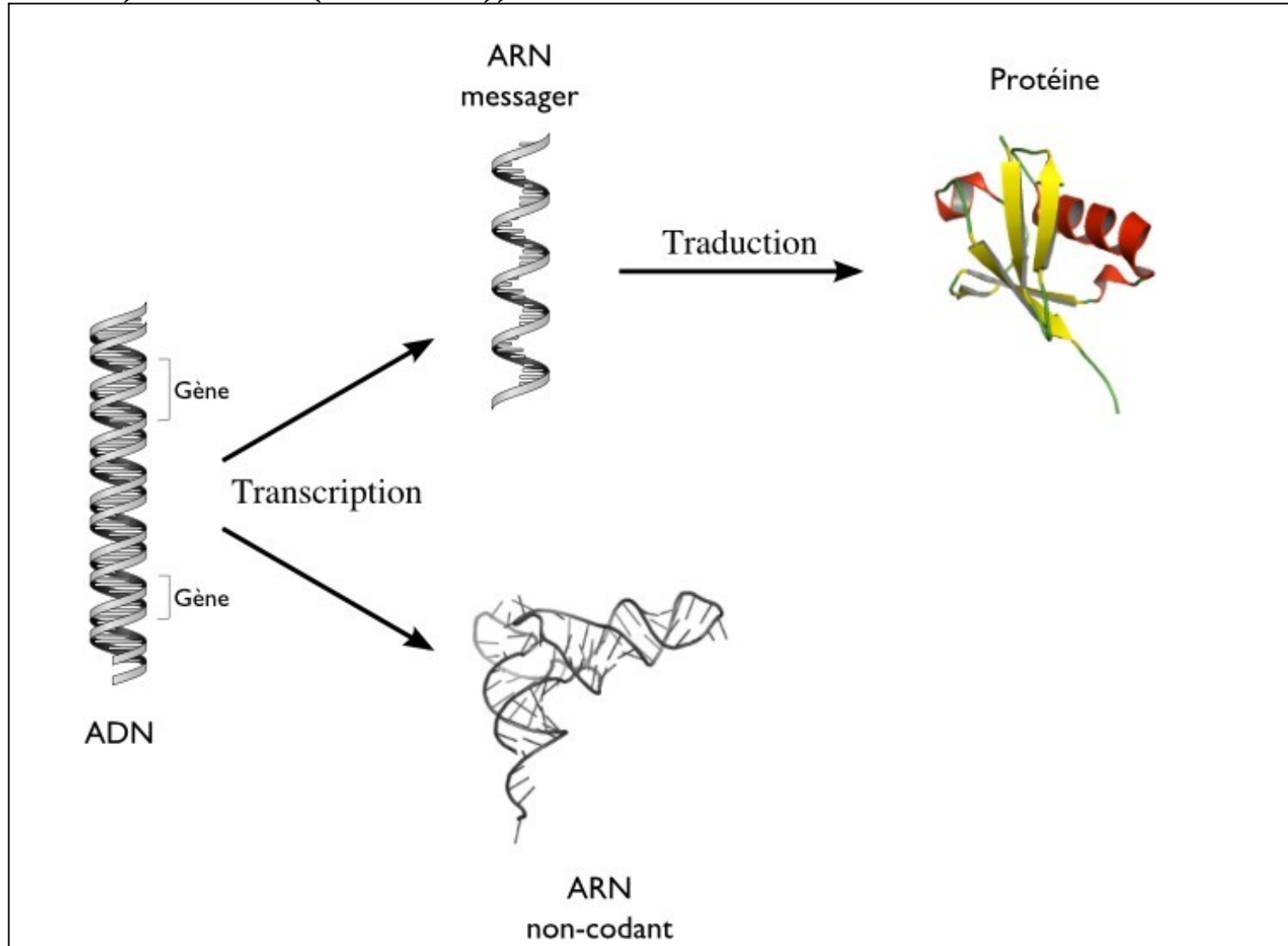
2018 -  
2019

# **Chapitre II**

## **Expression de l'information génétique**

# Le dogme centrale de la Biologie Moléculaire

Représente le mécanisme d'expression de l'information génétique (Francis Crick (fin des années 50) et Nature (années 70))



# La transcription

✓✓ = La Copie d'ADN en  
ARN

✓✓ Besoin d'un ADN et d'une ARN polymérase

## L'expression des gènes

Processus entier qui permet le décodage de l'information portée un gène donnée. Cette information sera traduite en protéine.

La transcription différentielle des gènes dans une cellule (spatio-temporelle) qui permet de déterminer sa fonction et ses propriétés.

# **Introduction:**

Les types d'ARN

Structure d'ARN

Transcription et ARN polymérases

## Les types d'ARN:

**ARN codant:** ARN messenger (ARNm)

**ARN non codant:**

- ARN ribosomique (ARNr)

- > Chez les procaryotes on trouve les 16S – 5S – 23S

- > Chez les eucaryotes on trouve les 18S -- 5,8S – 28S – 5S

- ARN de transfert (ARNt)

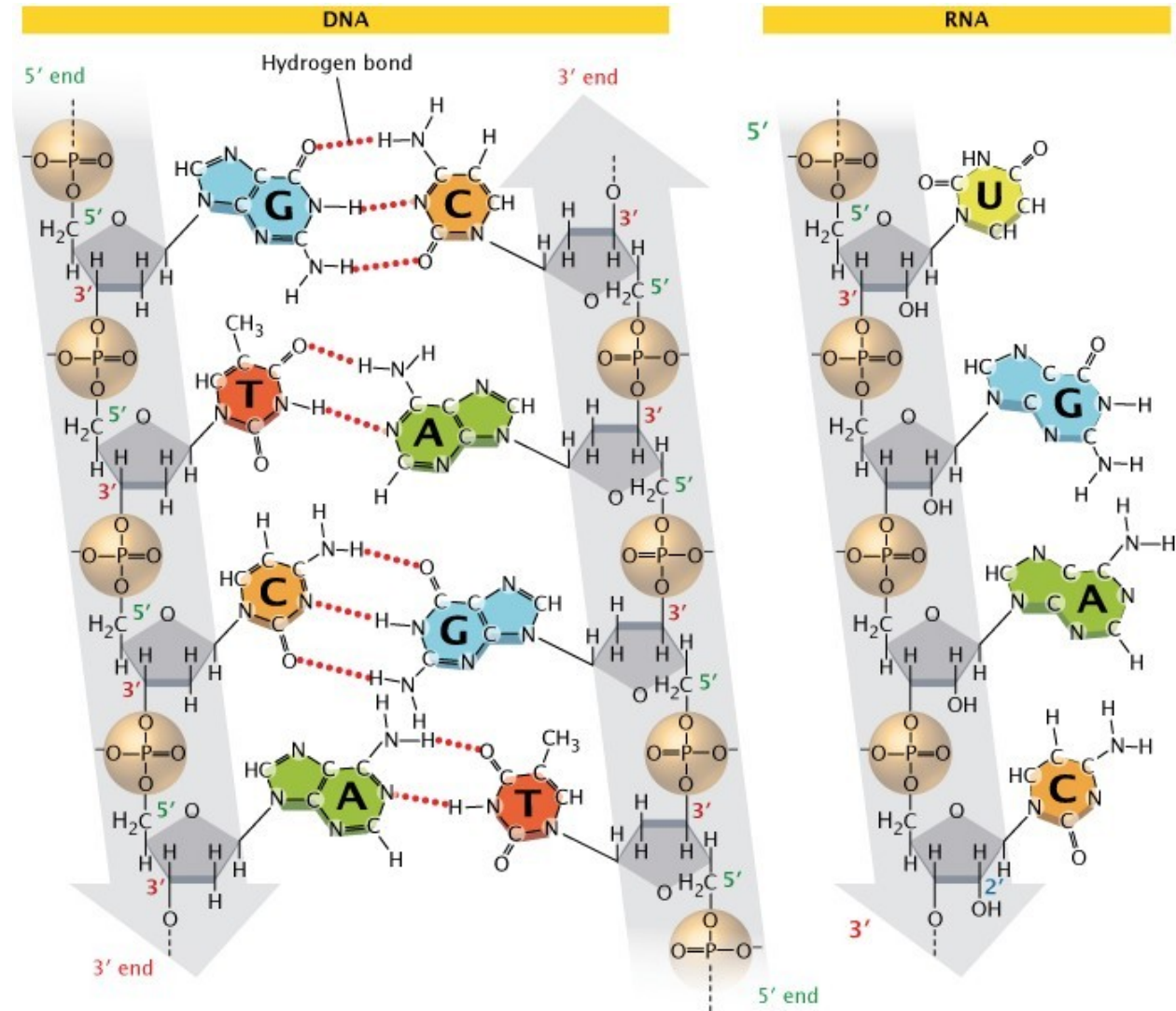
- Small ARN

- > Small nuclear ARN

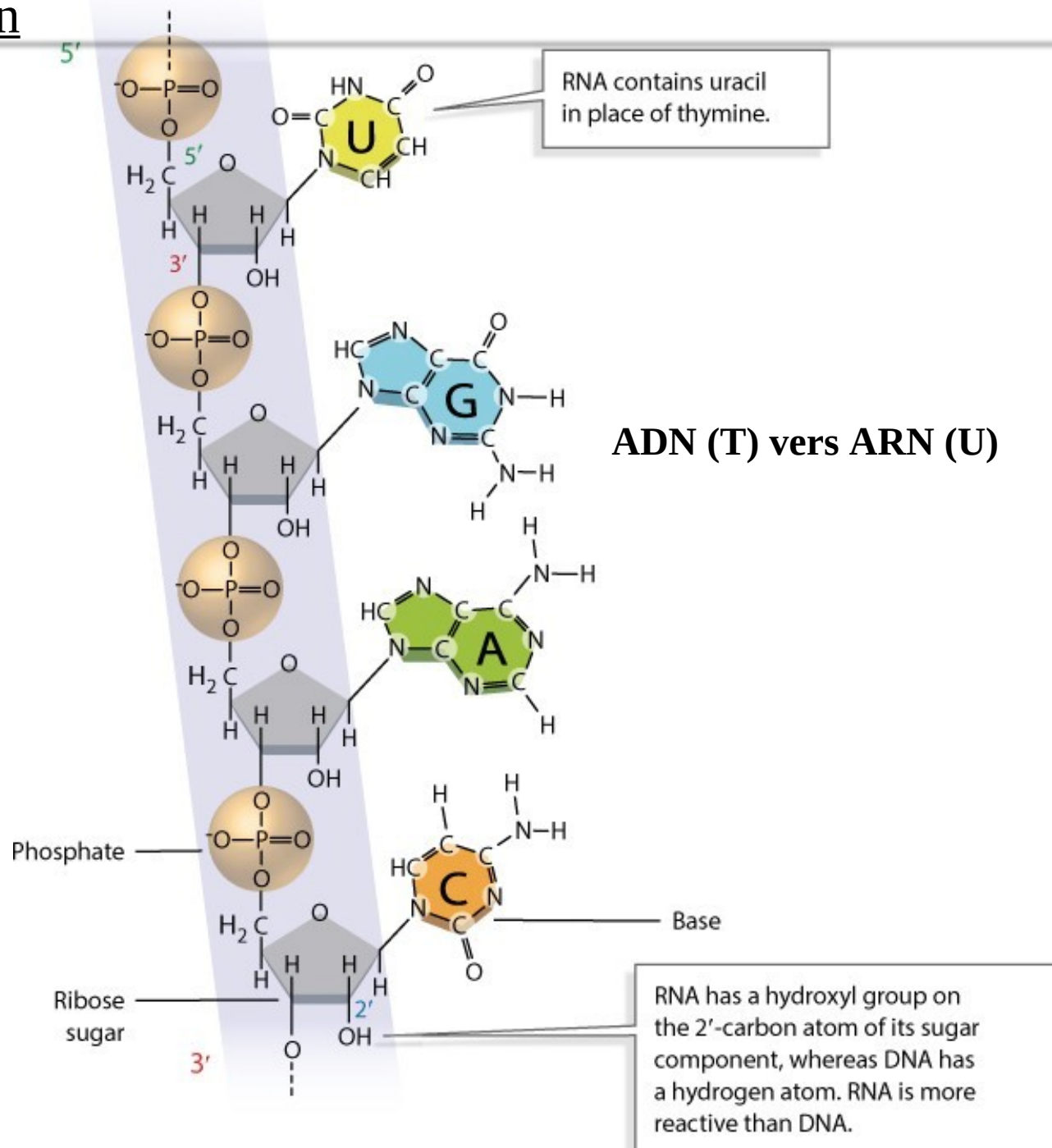
- > Micro ARN

## Structure de l'ARN

- Simple brin
- Sucre: Ribose
- L'Adénine est complémentaire à l'Uracile



# Introduction





# Introduction

La même structure de base pour les différents ARN:

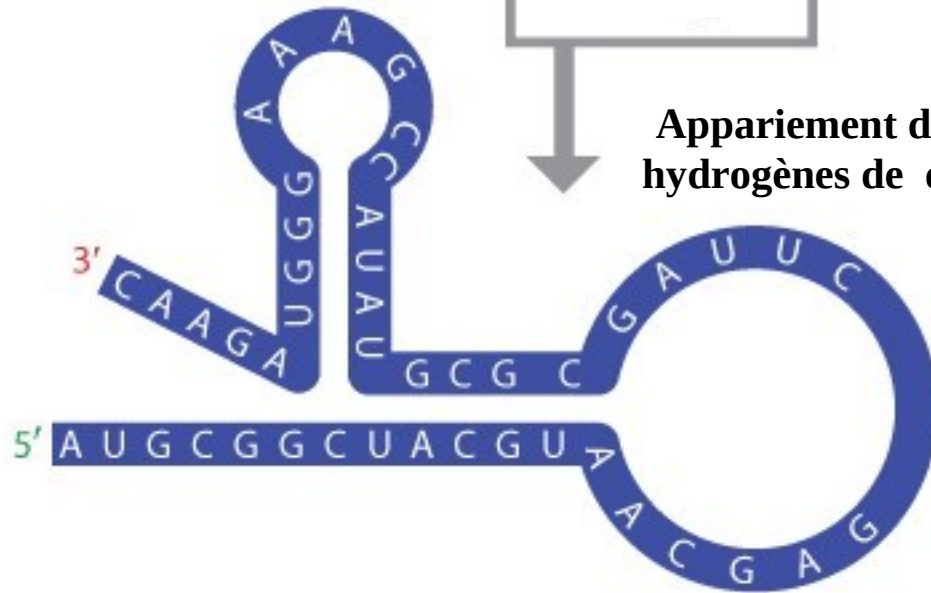
Structure primaire & structure secondaire

(b) Primary structure

5' AUGCGGCUACGUAACGAGCUUAGCGCGUAUACCGAAAGGGUAGAAC 3'

Secondary structure

Appariement Interne



Appariement due à la liaison faite entre les hydrogènes de deux bases complémentaires du même brin

# Introduction

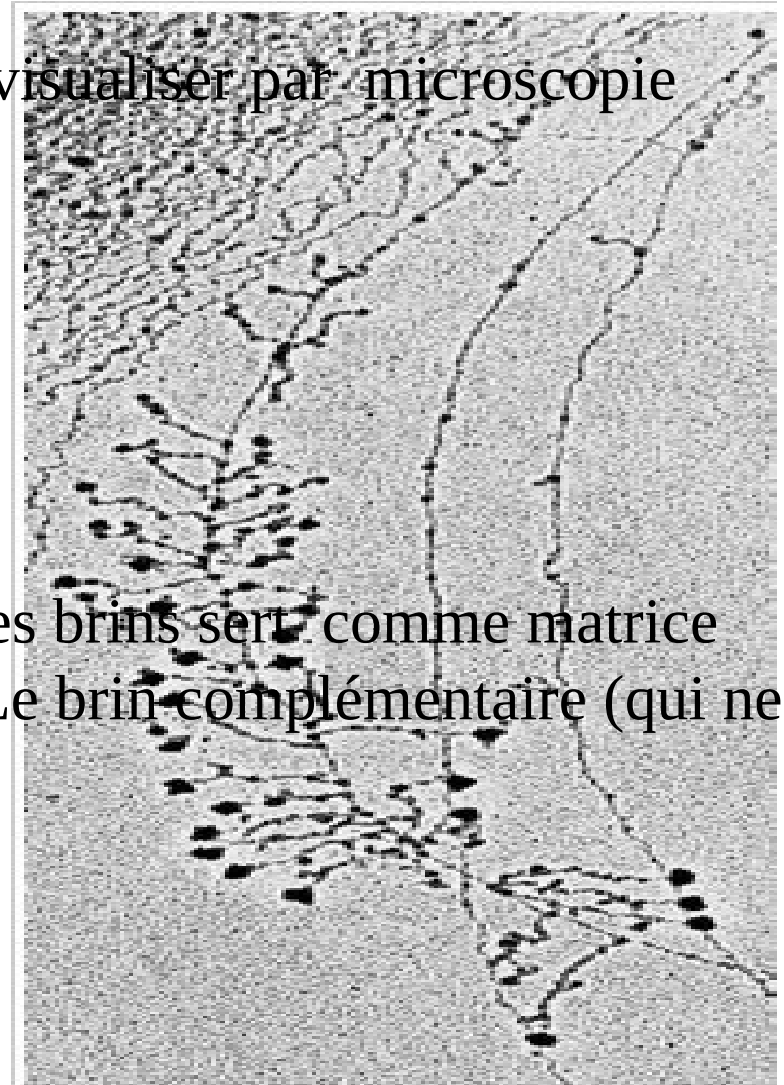
## Visualisation de la transcription

Le processus de la transcription peut être visualiser par microscopie électronique (première fois en 1970)

Les molécules d'ADN: filaments

Les molécules d'ARN: Branches

L'ADN est double brin et seulement un des brins sert comme matrice pour la transcription: le brin non codant Le brin complémentaire (qui ne sert pas de matrice): brin codant



# Le processus de la transcription

1<sup>ère</sup> étape de synthèse d'une protéine = copie du gène (ADN) en une molécule d'ARN

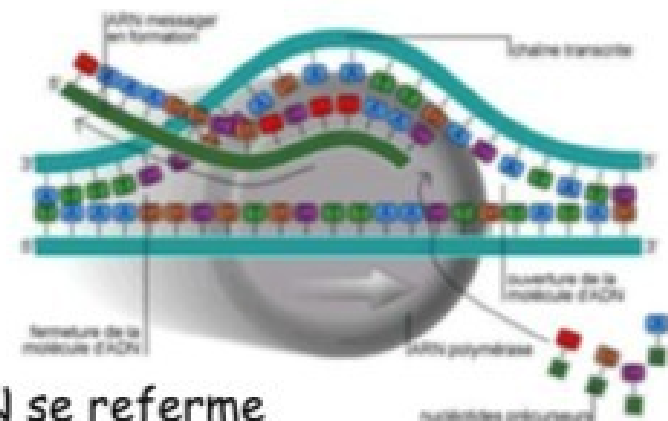
➤ **Assurée par l'ARN polymérase**

- Nécessite ADN double brin (matrice), des précurseurs (ribonucléosides triphosphates: ATP, GTP, UTP et CTP) et pas d'amorce
- Formation des liaisons phosphodiester entre les ribonucléotides dans la direction 5' - 3'
- Un seul brin servira à la synthèse d'ARN

➤ **Déroulement en 3 étapes:**

Initiation, élongation, terminaison

- L'ARNm se détache et la molécule d'ADN se referme

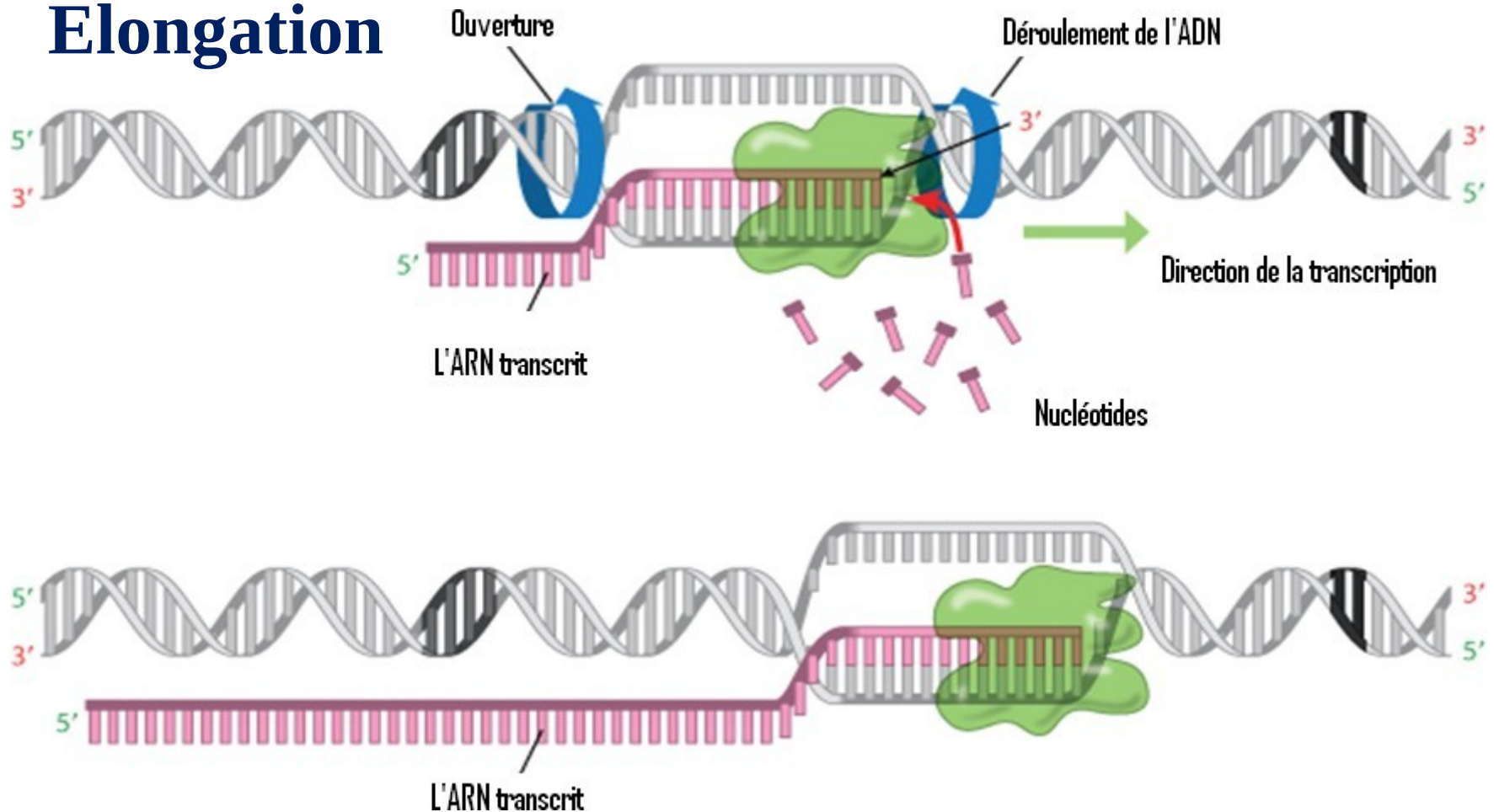


# 1- Initiation



Le processus de transcription est initié quand l'ARN polymérase se fixe sur un ADN modèle au niveau d'un promoteur

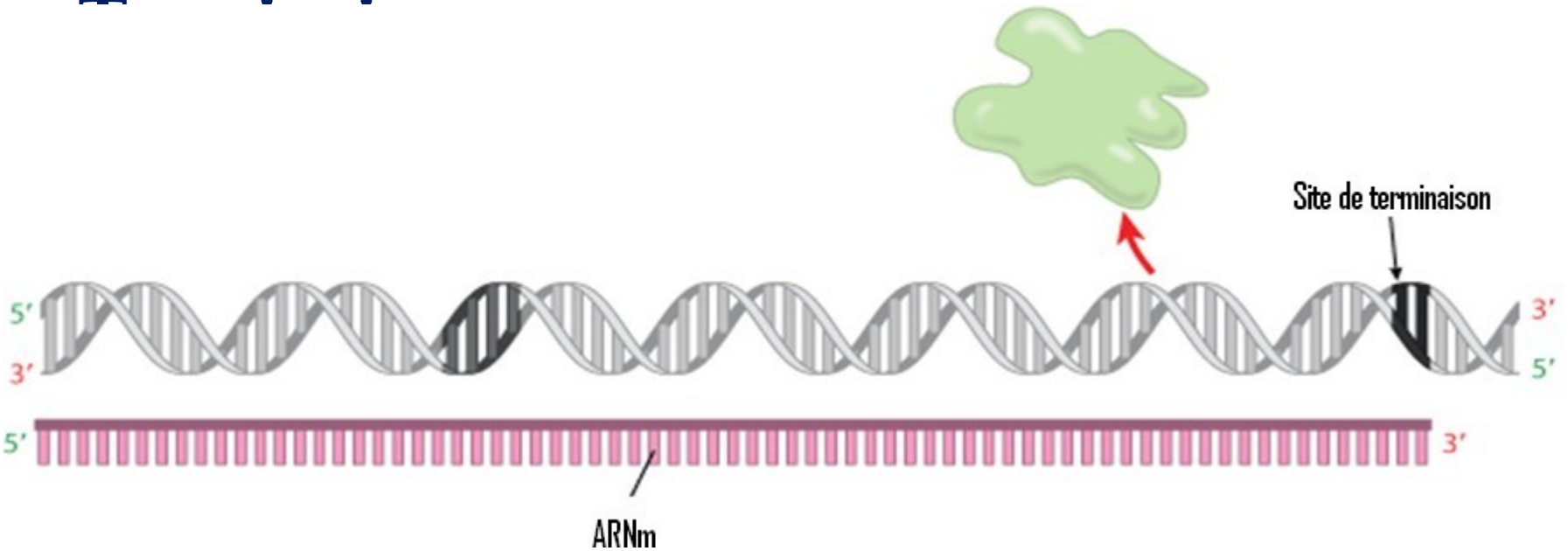
## 2- Elongation



L'ADN double brin se dénoue.

L'ARN polymérase fait la lecture de l'ADN matrice et ajoute les nucléotides à l'extrémité 3' d'un ARN croissant

3-



## Arrêt de la transcription

Quand l'ARN polymérase rencontre une séquence de terminaison au niveau du brin d'ADN matrice:

- Relâchement de l'ARNm et de l'ARN polymérase (du complexe)

# Les ARN polymérases

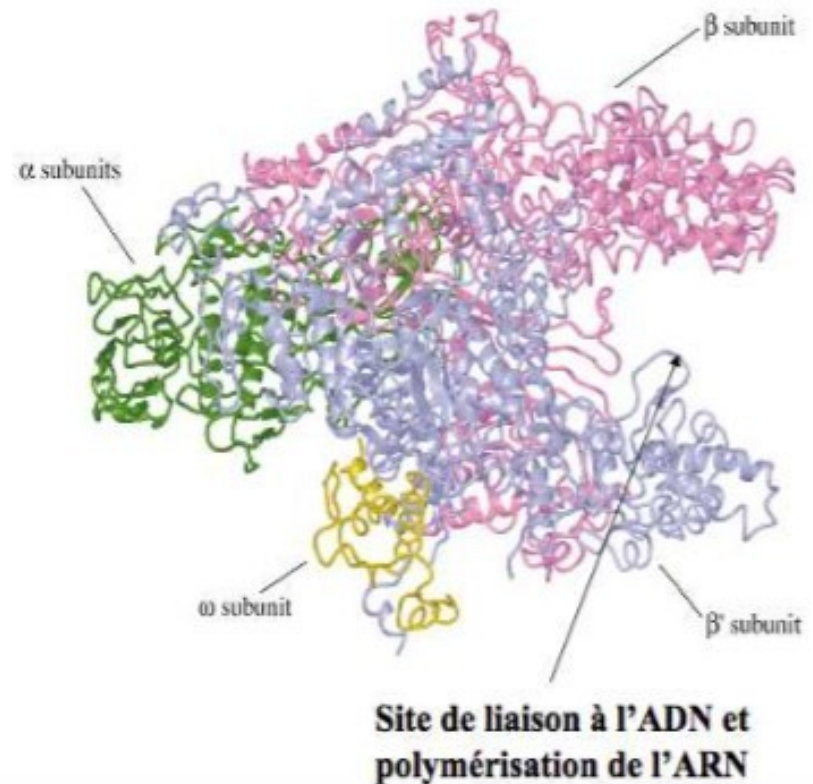
## Chez les procaryotes

## Une seule ARN polymérase

Le core de l'enzyme est un complexe protéique multimérique: 4 sous-unités  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$  et  $\omega$  ( $\alpha_2\beta\beta'\omega$ ).

L'association du facteur  $\sigma$  au core de l'enzyme = holoenzyme ( $\alpha_2\beta\beta'\omega\sigma$ )

- La sous unité  $\beta$  assure la liaison à l'ADN.
- La sous unité  $\beta'$  possède le site actif de la polymérase
- Les 2 sous unité  $\alpha$  permettent l'assemblage des autres sous unités
- La sous unité  $\omega$  rétablit la fonctionnalité de l'ARNp dénaturée in vitro
- Intervention du facteur  $\sigma$  pour la reconnaissance du site d'initiation.





# Les ARN polymérases

Chez les eucaryotes

4 types d'ARN polymérase

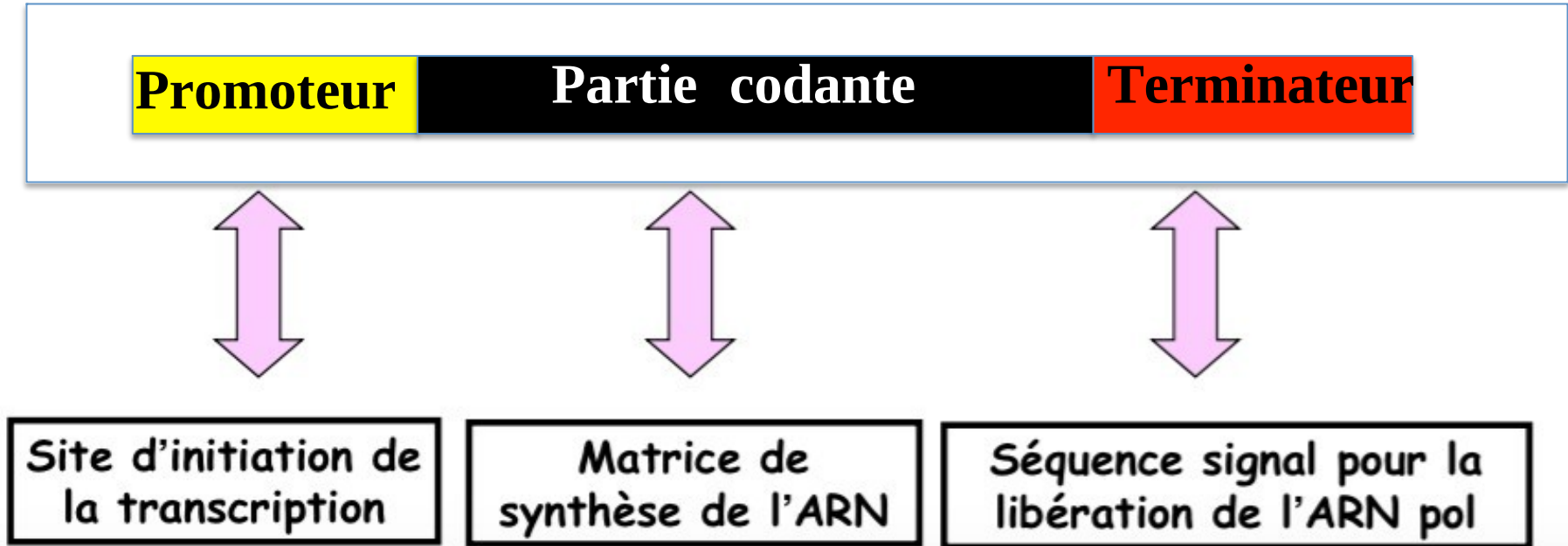
- ✓ **RNA-polymérase I** qui synthétise les RNA cytoplasmiques : RNA ribosomiques (18S- 5,8S- 28S)
- ✓ **RNA-polymérase II** qui synthétise les RNA messagers certains des snRNA
- ✓ **RNA-polymérase III** qui synthétise les petits RNA (tRNA, rRNA 5 S, snRNA, 7SL-RNA).
- ✓ **RNA-polymérase IV** spécialisé dans la transcription de l'ADN mitochondrial et la synthèse de l'hétérochromatine chez les plantes



# 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  $\sigma$**

## 1- Organisation d'un gène bactérien

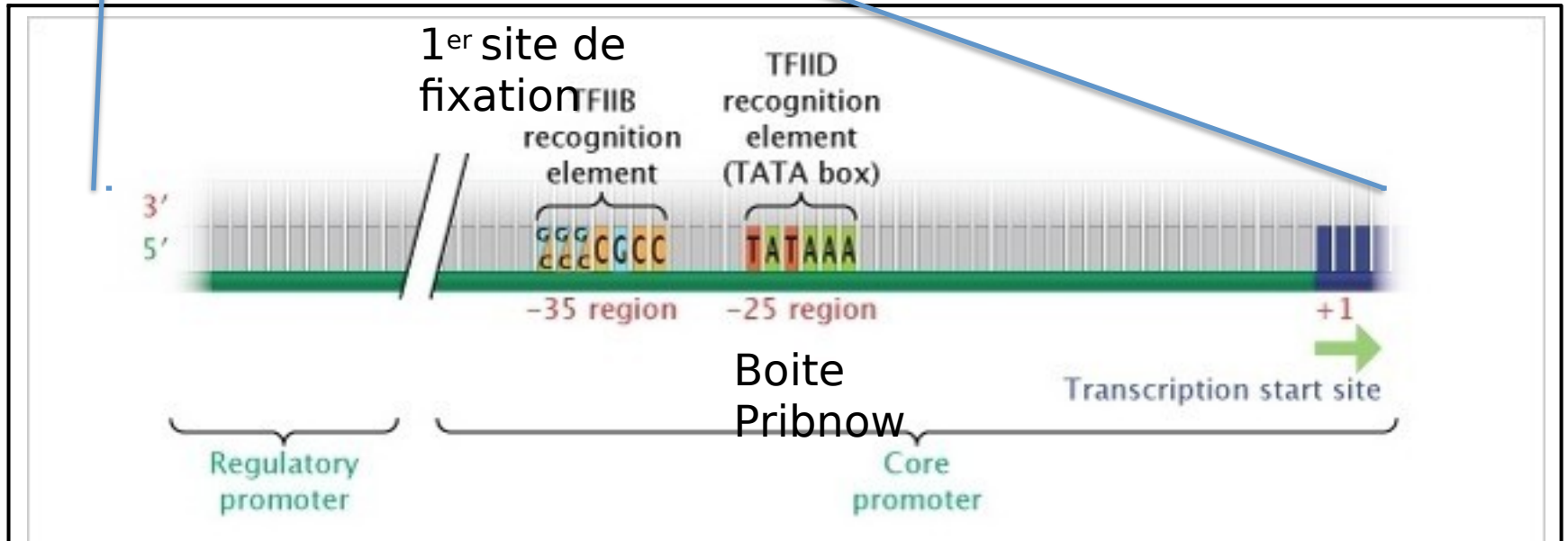


# Promoteur Procaryote

Promoteur

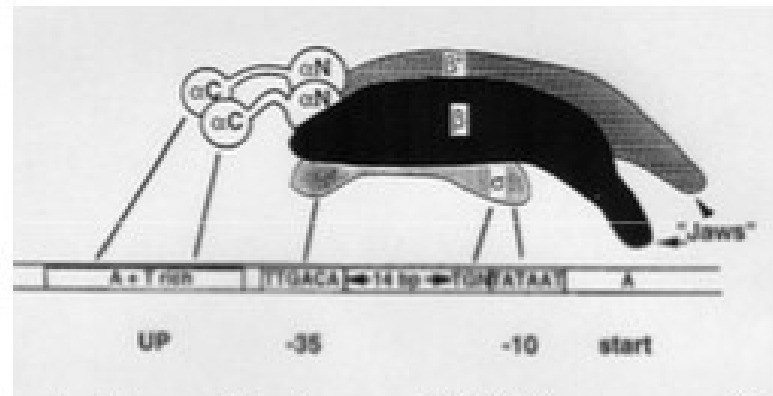
Partie codante

Termineur



## Initiation de la polymérisation et rôle du facteur sigma :

- ❑ Assure la reconnaissance des séquences clé du promoteur
- ❑ Positionne l'ARNp sur le promoteur qui l'oriente dans une direc
- ❑ Facilite l'ouverture de la double hélice



- ❑ Association de 7 ou 8 ribonucléotides sous forme d'un polymère hybridé au brin matrice ADN
- ❑ Forte affinité de l'ARNp avec l'hybride ADN/ARN d'où décrochage du facteur sigma et liaison de la protéine NusA permettant la stabilisation de l'enzyme

# Initiation de la transcription

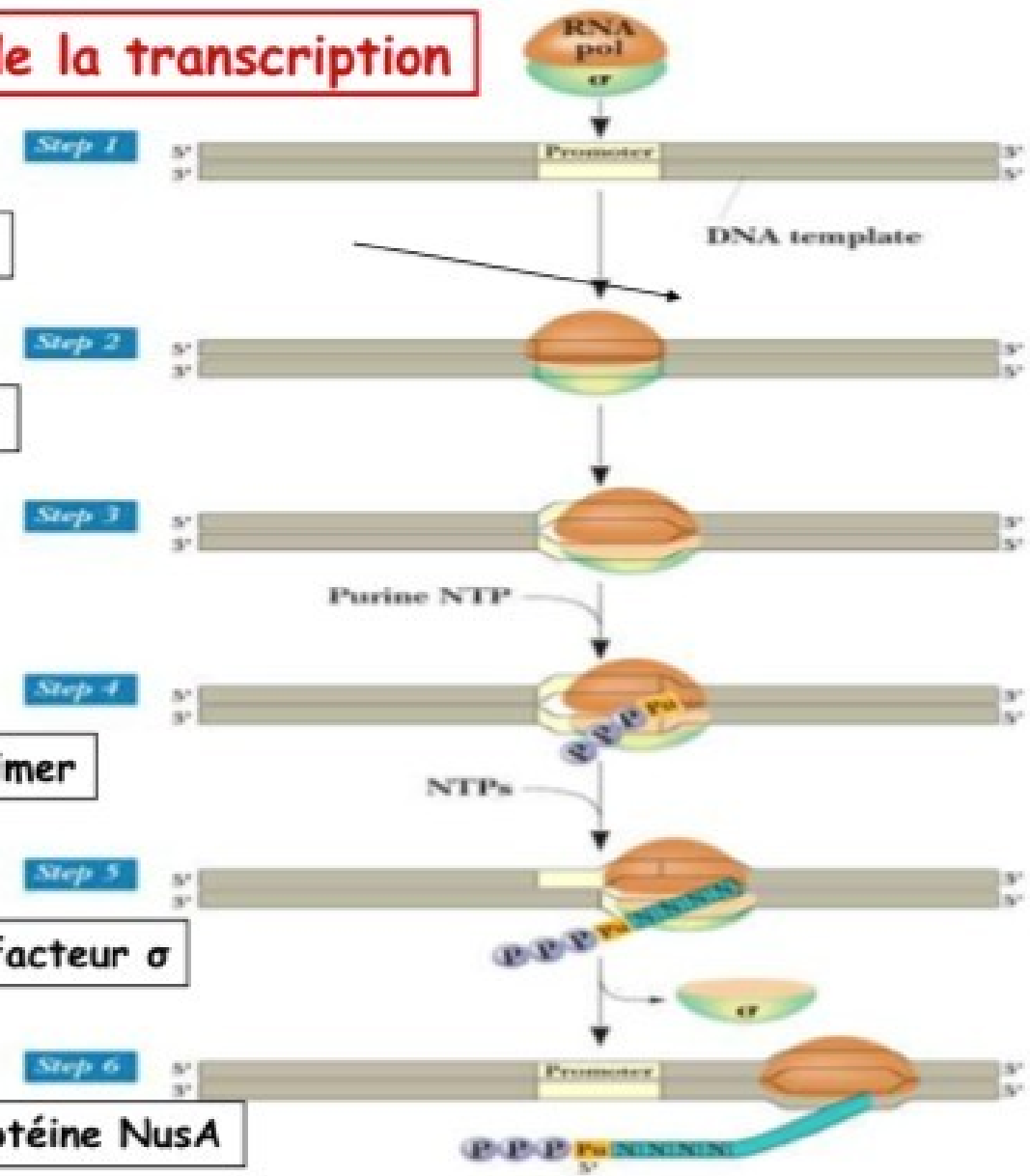
complexe fermé

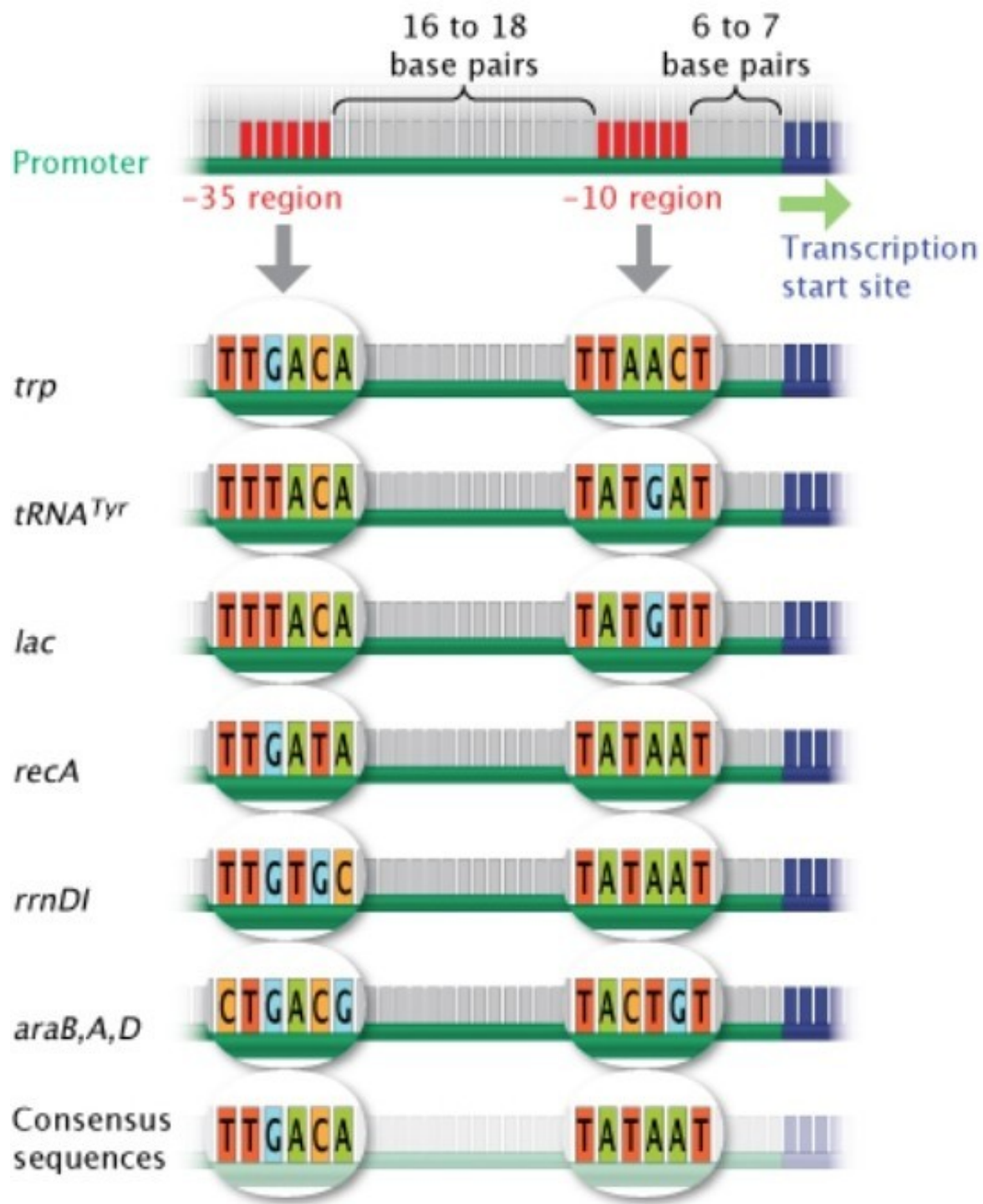
complexe ouvert

formation du Primer

Dissociation du facteur  $\sigma$

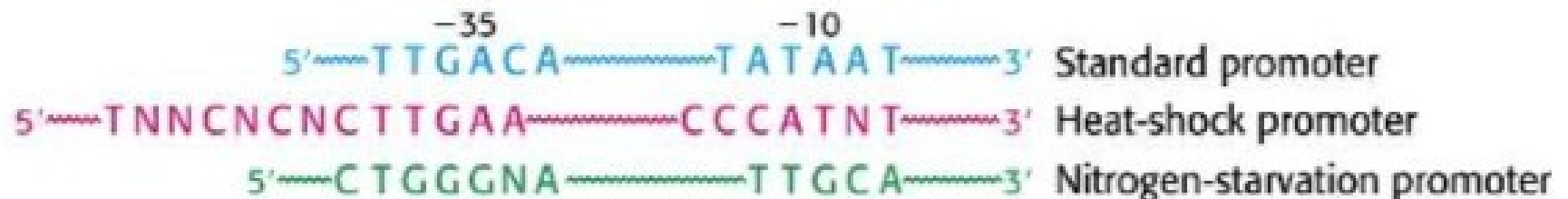
Liaison de la protéine NusA



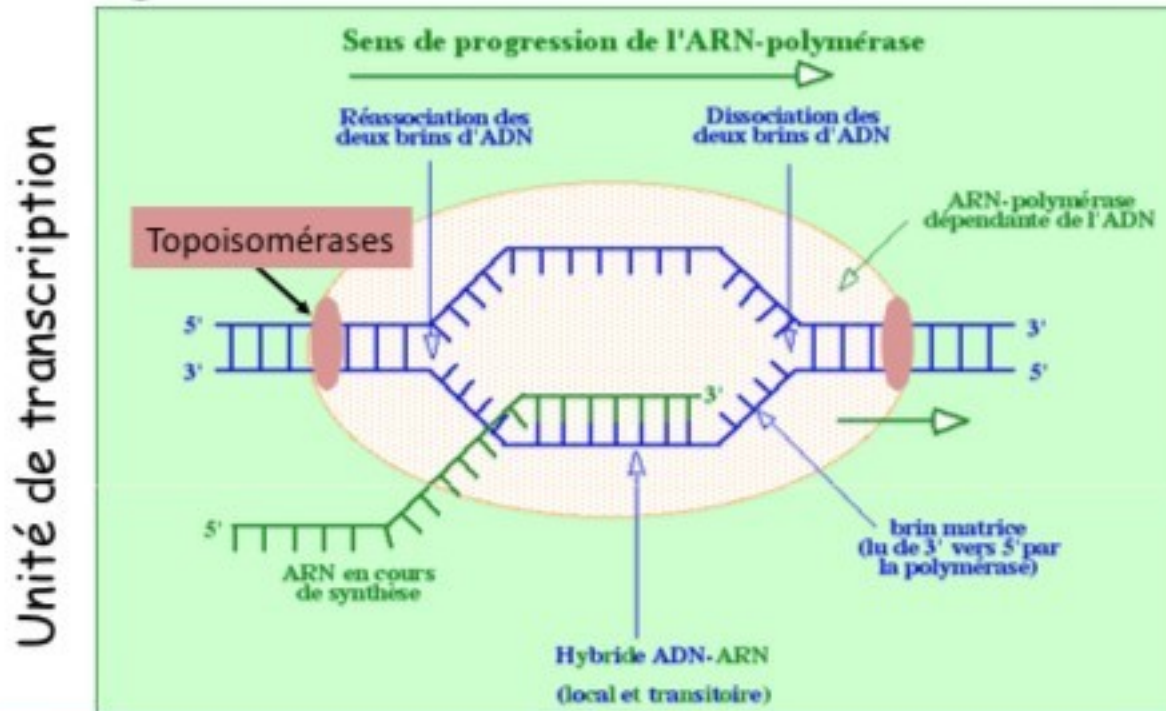


## Chez *E.coli*, 7 facteurs sigma qui reconnaissent des séquences différentes

- Sigma de la famille 70:  $\sigma^{70}$  standards (reconnaît différentes séquences de promoteurs)
- Sigma de la famille 32:  $\sigma^{32}$  spécifique à la réponse au choc thermique
- Sigma de la famille 54:  $\sigma^{54}$  spécifique à l'assimilation de l'azote



### 3- Élongation de la chaîne d'ARN:



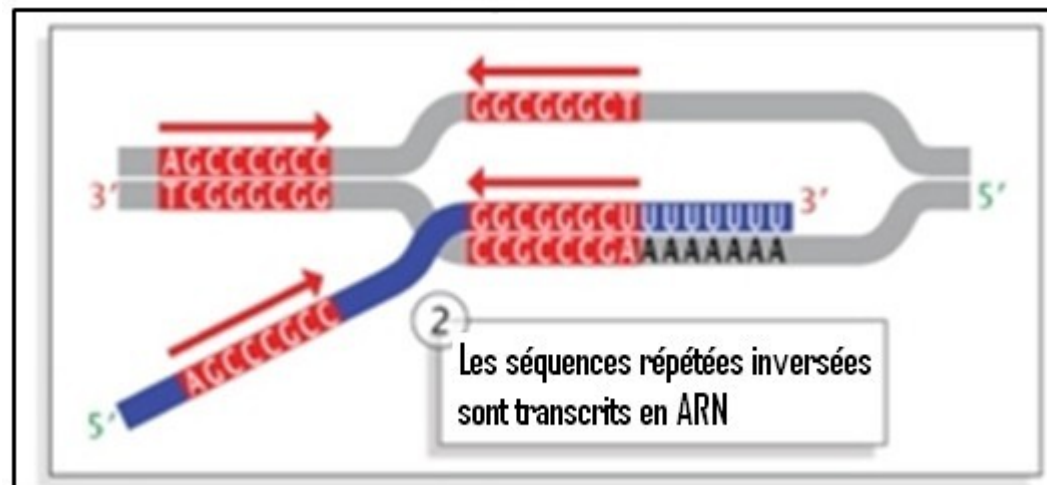
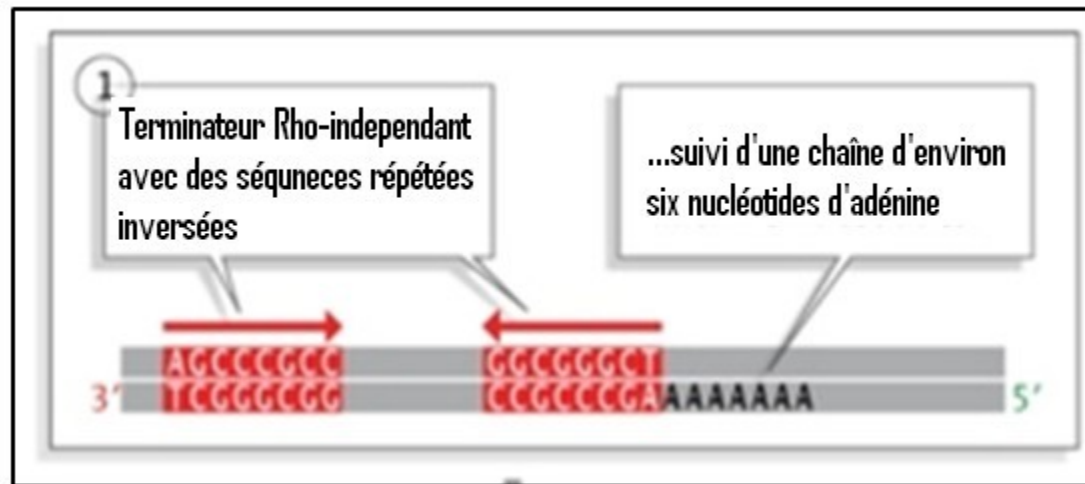
- assurée par le core de la polymérase à une vitesse d'environ 30 nucl/sec
- Topoisomérases précèdent et suivent la polymérase
- Souvent plusieurs transcrits de la même matrice

- Topoisomérases précèdent et suivent la polymérase

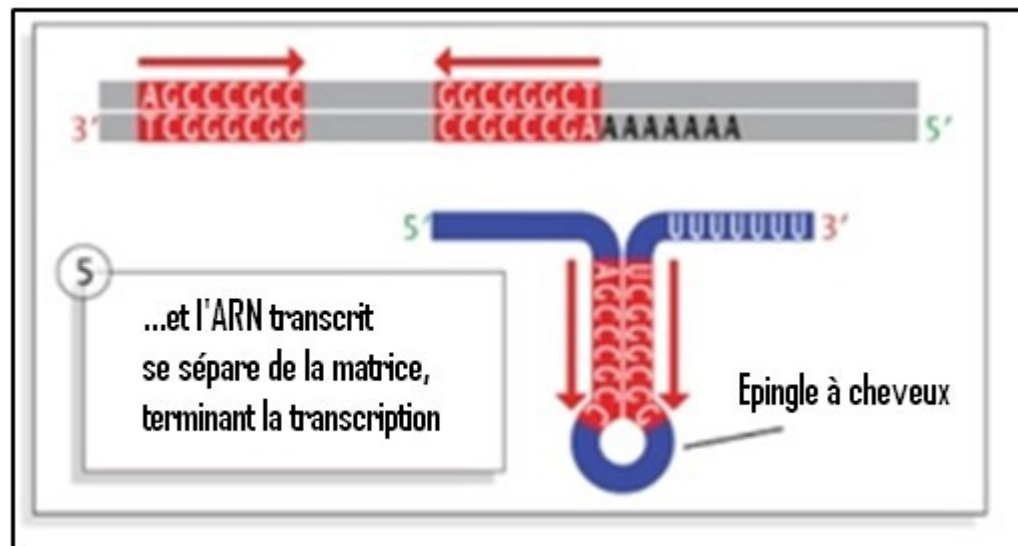
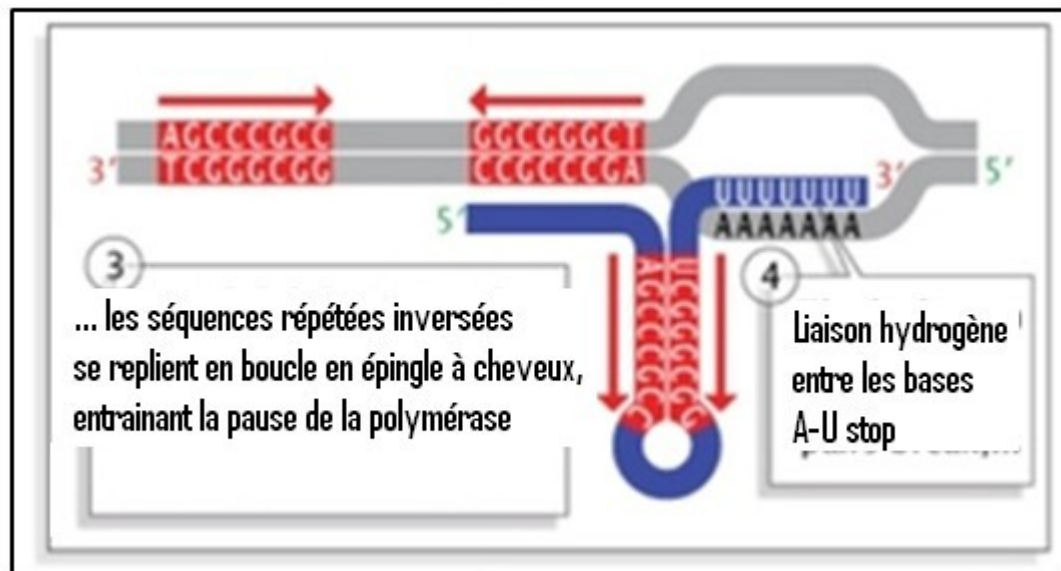
- Souvent plusieurs transcrits de la même matrice



- Unité de transcription mono ou polycistronique

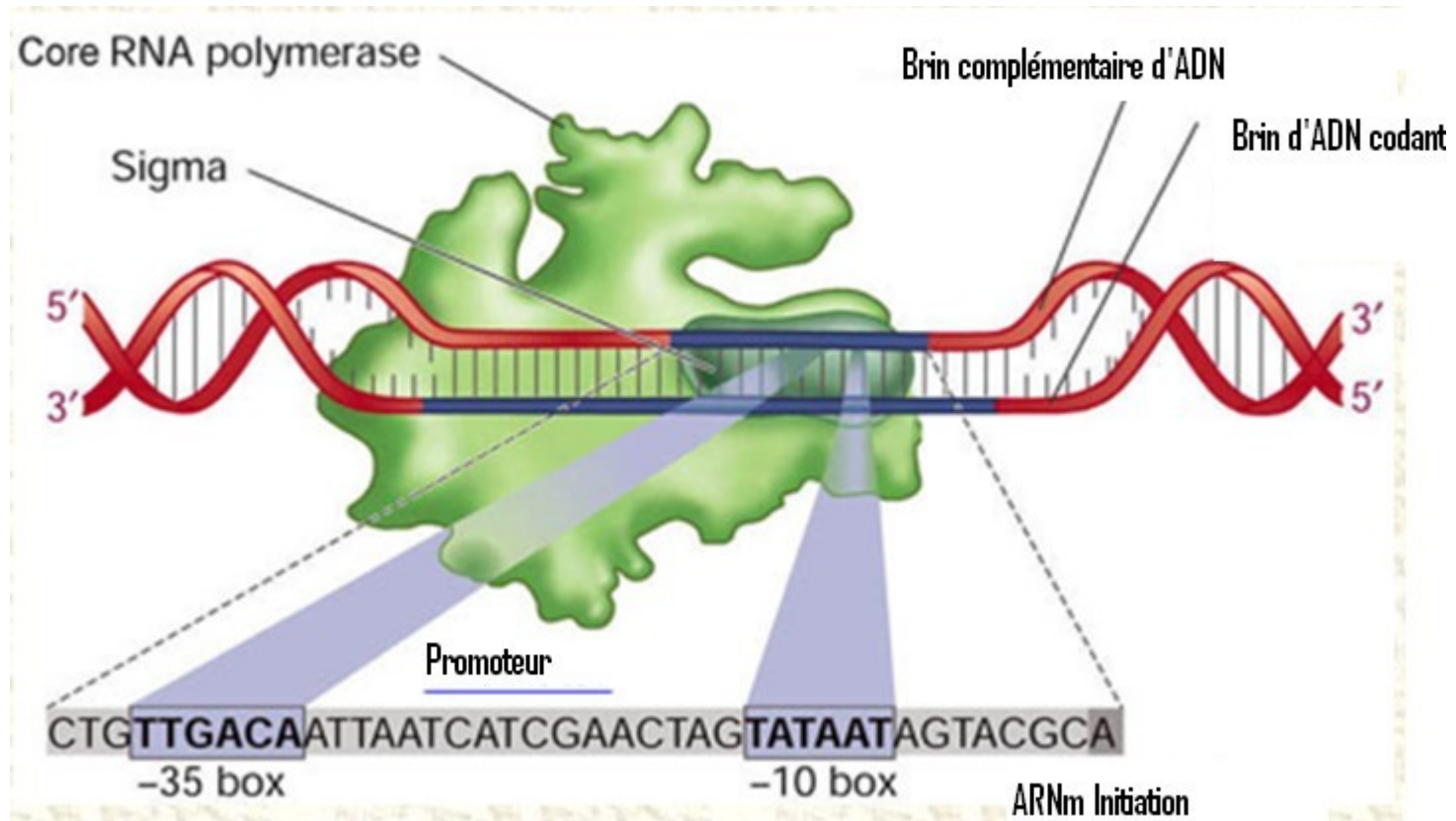






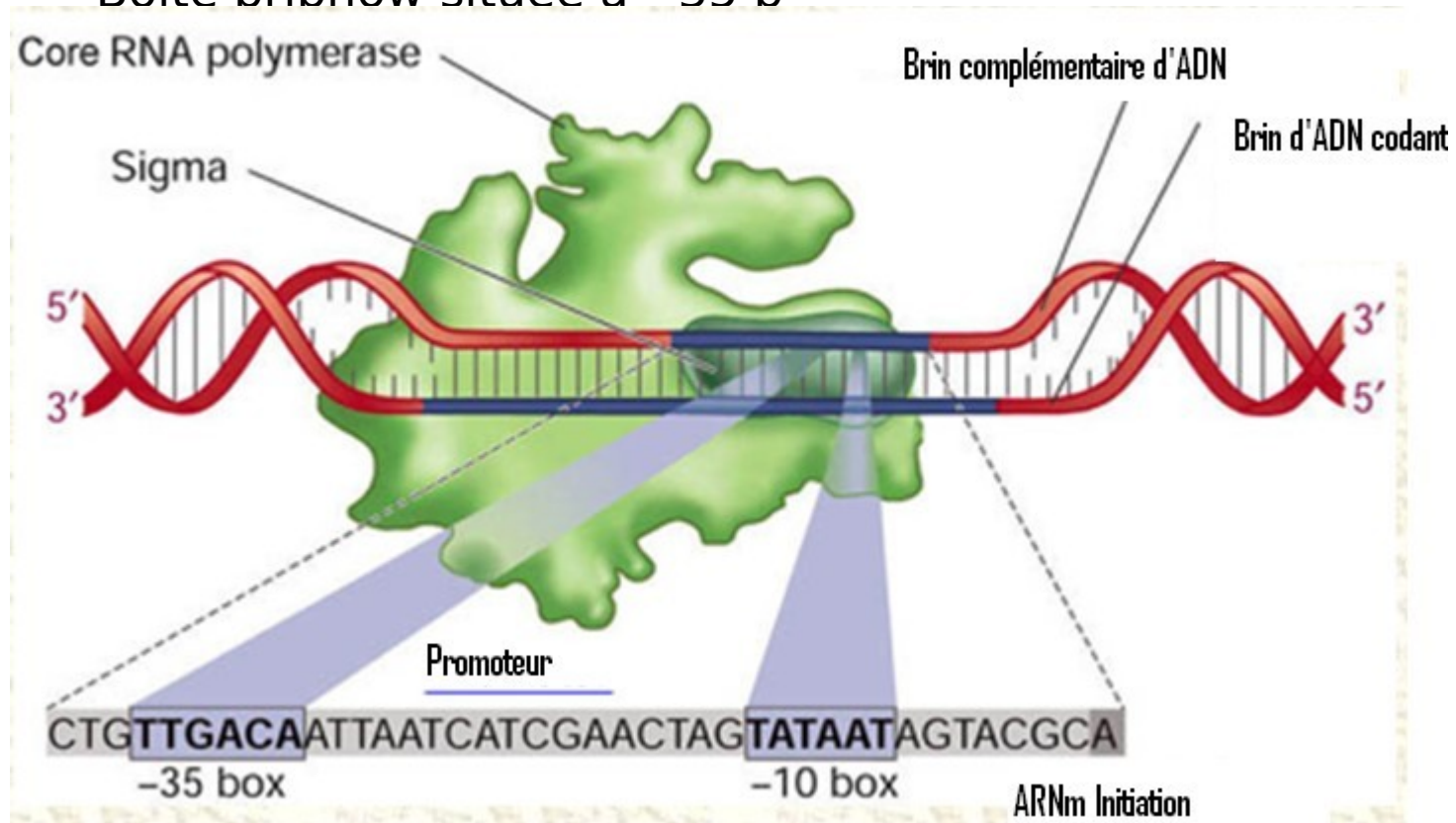
## A- Transcription chez les procaryotes

L'initiation de la transcription nécessite que la sous-unité sigma  $\sigma$  de l'ARN polymérase se fixe Sur l'oligomère  $\alpha_2\beta\beta'$  « Core-enzyme » pour former l'holoenzyme  $\alpha_2\beta\beta'\sigma$ .



M.Hunter,  
2009

- Fixation non spécifique du complexe à l'ADN moyennant la sous-unité sigma
- Déplacement jusqu'au promoteur entre les séquences:
  - Boite TATA située à --10 pb
  - Boite pribnow située à --35 p



Gene	-35 region	Pribnow box (-10 region)	Initiation site (+1)
<i>araBAD</i>	GGATCCTACCTGACGCTTTT	TATCGCAACTCTCTACTGTTTCTCCAT	ACCCGTTTTTT
<i>araC</i>	GCCGTGATTATAGACACTTTT	TGTTACGCGTTTTTGTTCATGGCTTTTGGTCCCGCTTTG	
<i>bisA</i>	TTCCAAAACGTTGTTTTTTT	TGTTGTTAATTTCGGTGTAGACTTGTAA	ACCTAAATCTTTT
<i>bisB</i>	CATAATCGACTTGTAAACCAAATTGAAAAGATT	TAGGTTTACAAGTCT	TACACCGAAT
<i>gndP2</i>	ATTTATTCCATGTCACACTTTT	TCGCATCTTTGTATTGCTATGGTT	ATTTTCATACCAT
<i>lac</i>	ACCCGAGGCTTTACACTTTT	TATGCTTCCGGGCTCGTATGTTGTGTGGA	ATTGTGAGCGG
<i>lacI</i>	CCATCGAATGGCGCAAAACCTTT	TCGCCTGATGGCATGATAGCGCCCGGAAGAGAGTC	
<i>rrnA1</i>	AAAATAAATGCTTGACTCTGTAGCGGG	MAGGCGTATTTCACACCCCGCGCGCGCTG	
<i>rrnD1</i>	CAAAAAAATACTTGTGCAAAAAAATTGGG	ATCCCTATATGCGGCTCCGTTGAGACGA	
<i>rrnE1</i>	CAATTTTTTCTATTGCGGGCTT	GCGGAGAACTCCCTATATGCGGCTCCATCGACACGG	
<i>rRNA<sup>Tyr</sup></i>	CAACGTAAACACTTTACAGCGGCGCGTCA	TTTGATATATGCGCCCCCGCTTCCCGATA	
<i>np</i>	AAATGAGCTGTTGACAATTAATCATCG	MACTAGTTACTAGTACGCAAGTTTCACGTA	
Consensus sequence:	-35 region	Pribnow box	Initiation site
	T G T T G A C A T ... [11-15 bp] ...	T A T A A T ... [5-8 bp] ...	A C G T
	42 38 82 84 79 64 53 45 41	79 95 44 59 51 96	51 55 48 42

Chez *E.coli*, 7 facteurs sigma qui reconnaissent des séquences différentes

- Sigma de la famille 70:  $\sigma^{70}$  standards (reconnaît différentes séquences de promoteurs)
- Sigma de la famille 32:  $\sigma^{32}$  spécifique à la réponse au choc thermique
- Sigma de la famille 54:  $\sigma^{54}$  spécifique à l'assimilation de l'azote

## 5- Terminaison de la transcription

Processus conduisant à la **dissociation** des sous unités de l'ARNp après la rencontre des **signaux de terminaison**

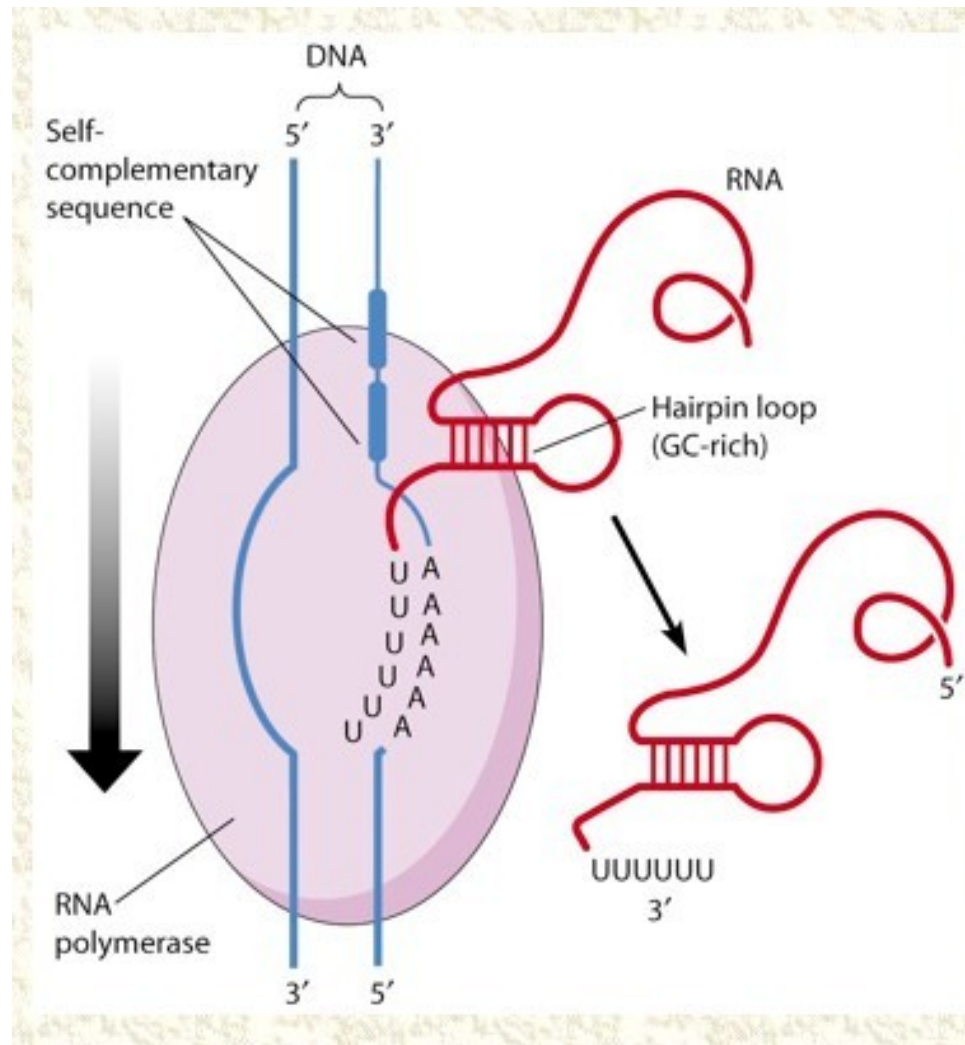
Deux mécanismes:

- ❖ Terminaison « rô-indépendante »: terminateurs intrinsèques
- ❖ Terminaison « rô-dépendante »: dépend de la présence d'une protéine rho

## **Terminaison Rho-dépendante**

- Transcription en épingle à cheveux d'une courte séquence d'ADN riche en paires G-C suivie de plusieurs U, et arrêt de l'ARN polymérase.
- Fixation sur l'ARN d'une protéine de terminaison appelée Rho (une hélicase ARN-ADN/ATP-dépendante sous forme d'homohexamère ) et le complexe d'élongation est dissocié.
- Libération du brin néo-synthétisé du brin d'ADN matrice.
- Enroulement de l'ARN autour de la protéine Rho au niveau d'une région d'environ 70 nucléotides ( jusqu'à 100 nucléotides)

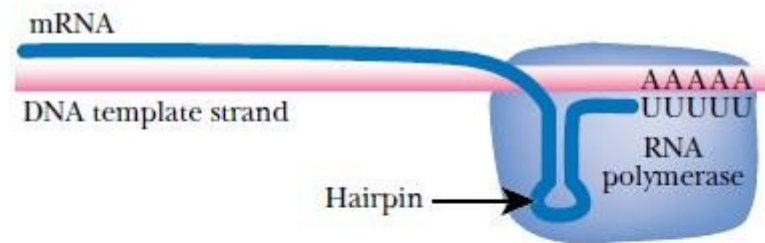




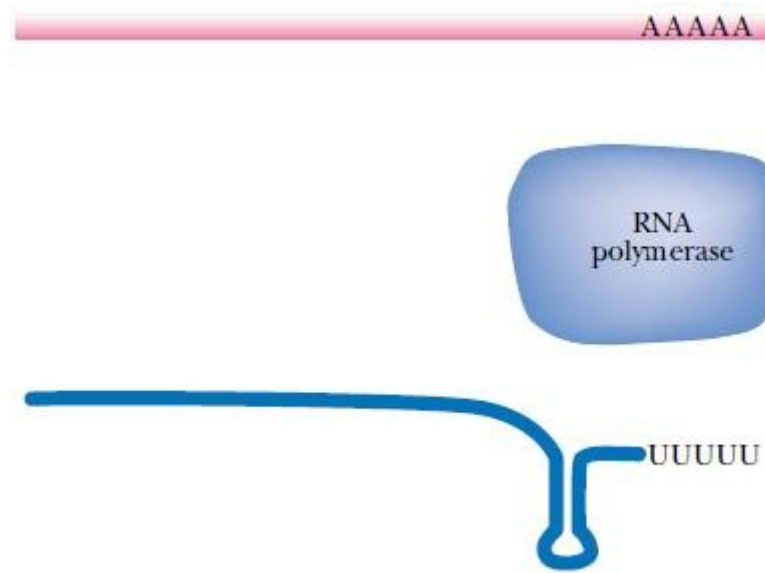
## **Terminaison Rho-indépendante ou intrinsèque**

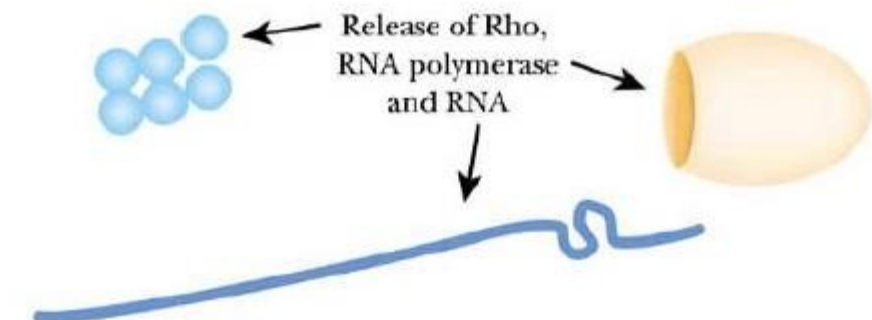
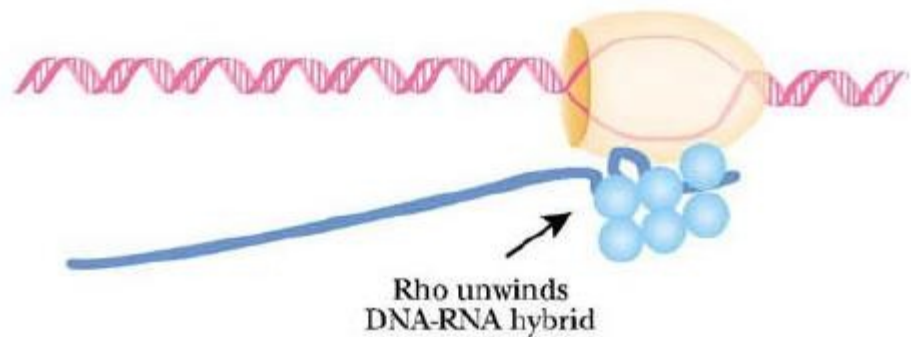
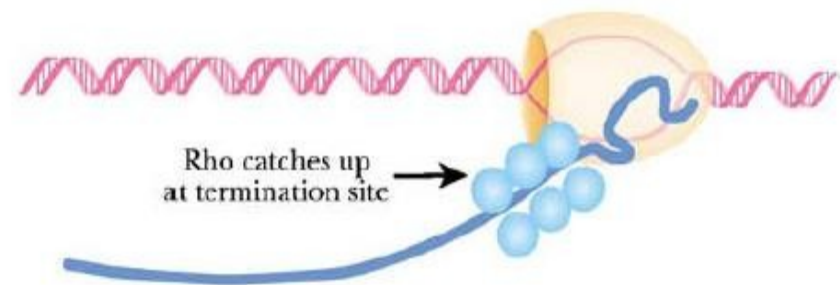
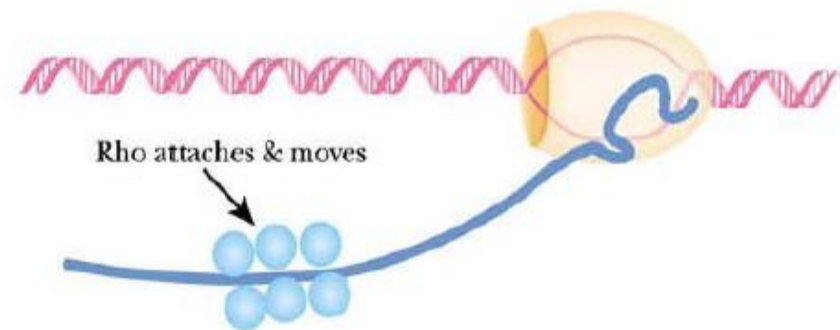
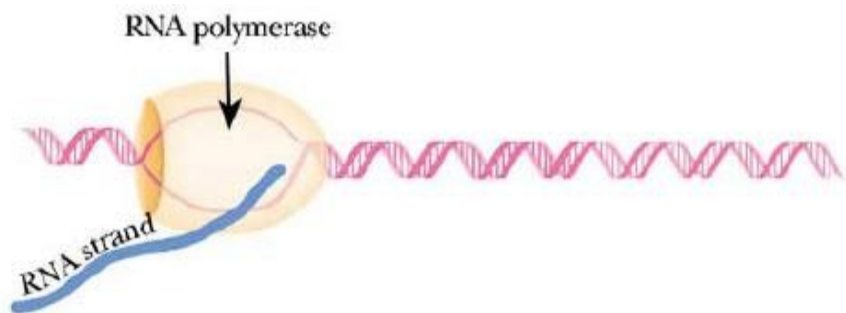
- Au niveau d'une séquence répétée inversée située après la partie codante et riche en G-C et suivie de 6A
- Formation d'une structure en épingle à cheveux dans l'ARN transcrit et bloque la transcription.
- Rupture des liaisons entre le brin complémentaire néo-synthétisé polyU et le brin complémentaire poly-A et libération du brin d'ARN de l'ADN matrice.





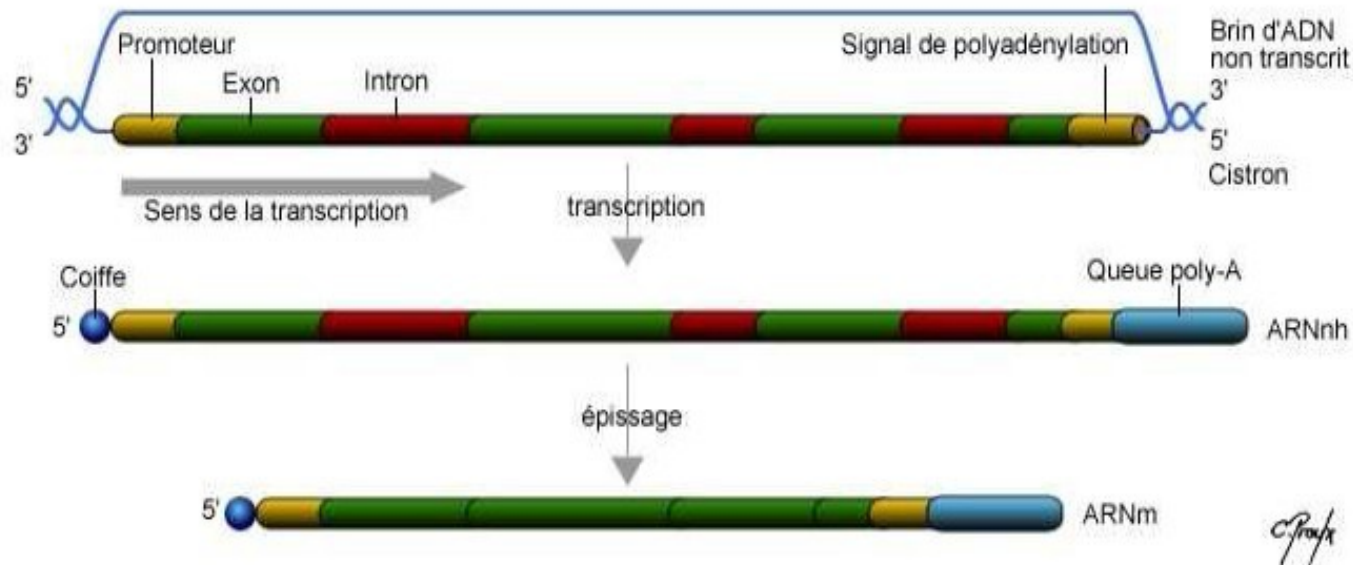
DISASSEMBLY

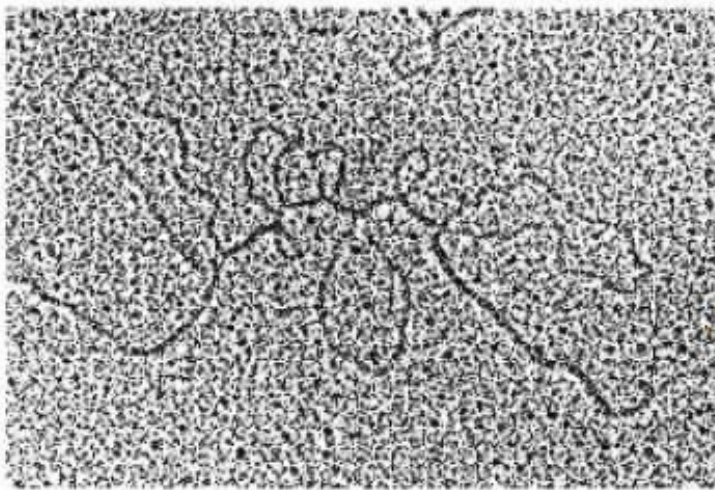




# Particularités du génome des eucaryotes

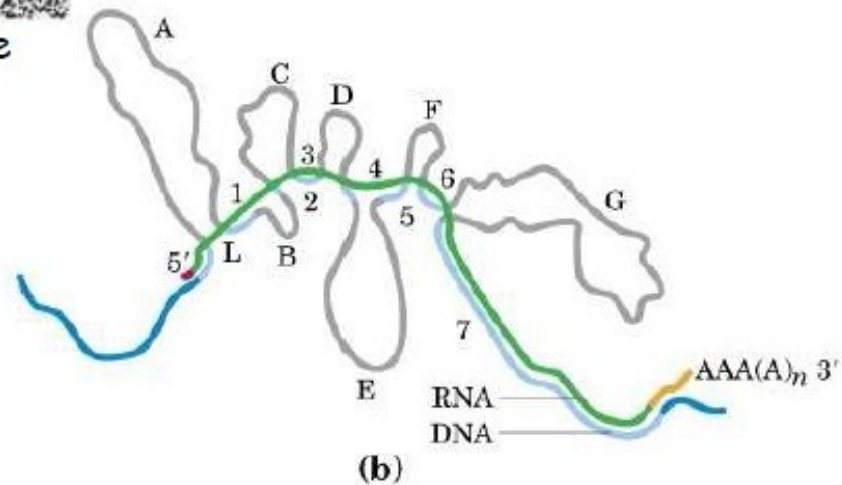
- Diploïde
- Éclaté ou en mosaïque: introns et exons
- Expression compartimentée
- Unité de transcription est monocystronique



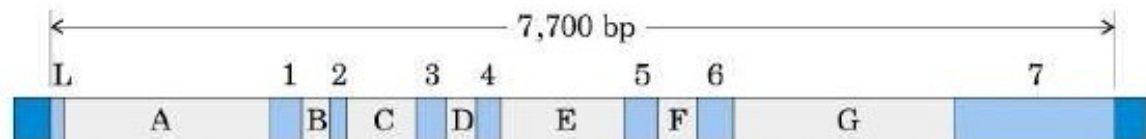


## Génome en mosaïque

Hybridation ARNm épissé avec le gène correspondant d'ADN



Introns: A, B, C, D, E, F, G

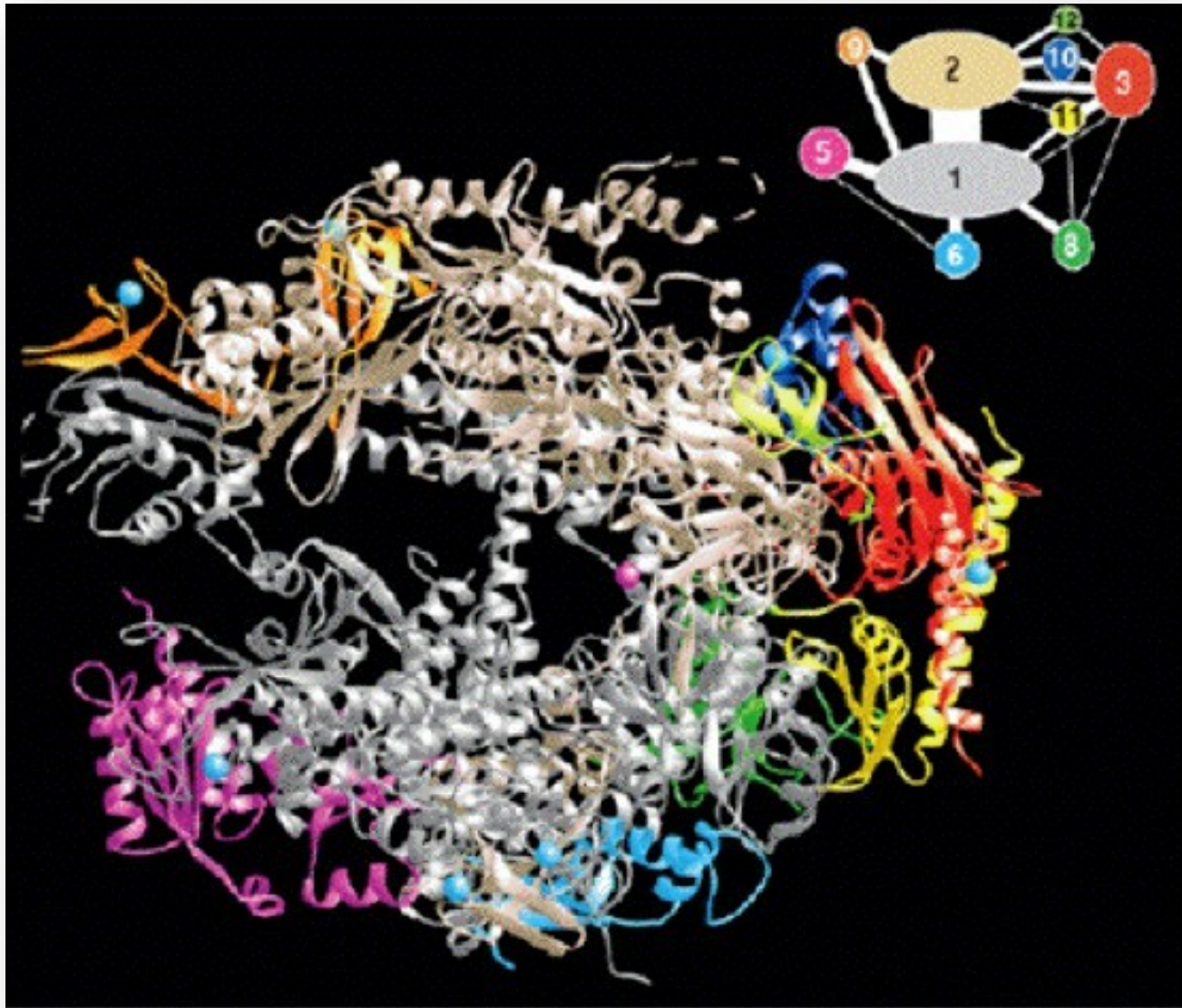


## A-- Transcription chez les eucaryotes

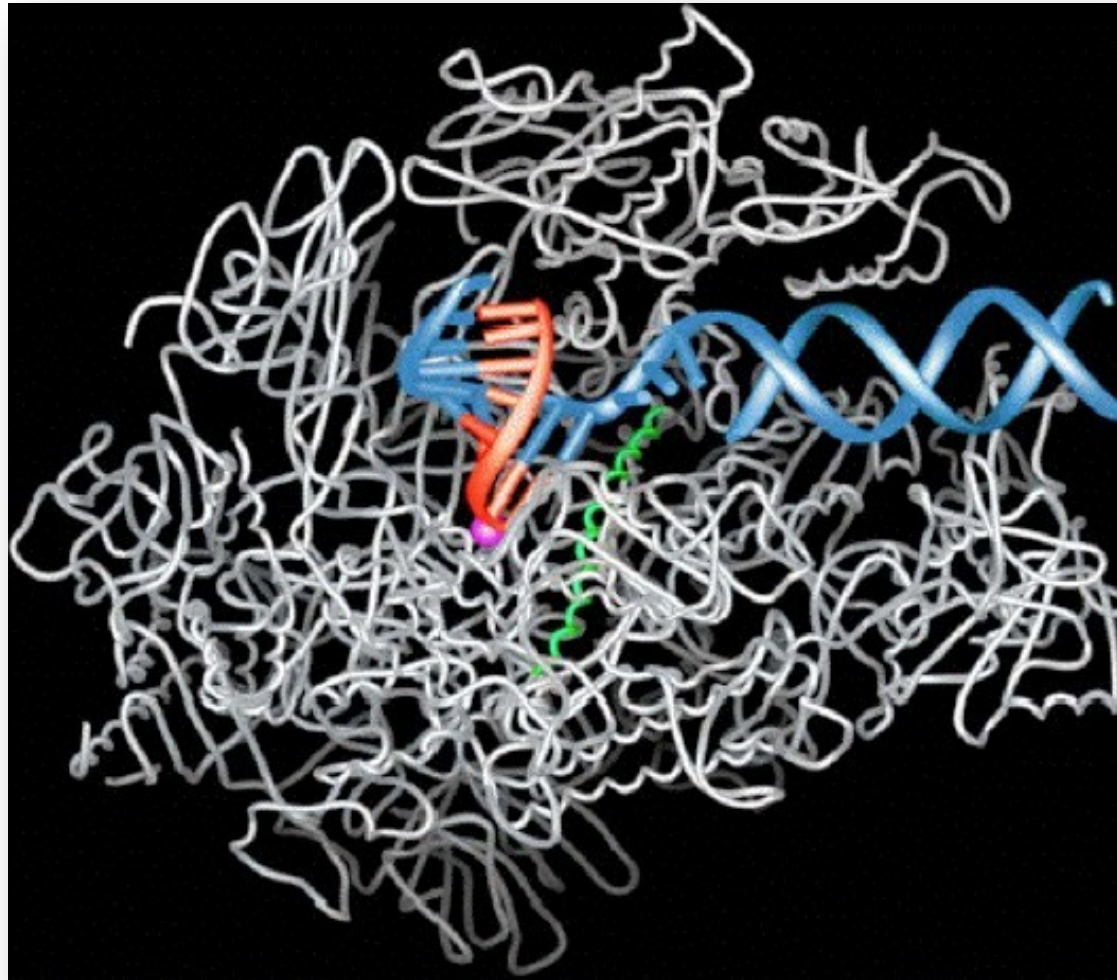
A chaque type d'ARN correspond une ARN polymérase

ARN polymérase	ARN transcrits
type I (Pol I)	ARN ribosomique 5,8 S, 18 S et 28 S
type II (Pol II)	ARN messagers et petits ARN nucléaires
type III (Pol III)	ARN de transfert, ARN ribosomique 5 S et petits ARN nucléaires
des organites	ARN mitochondriaux et chloroplastiques





La structure de l'ARN polymerase II à une résolution de 2,8 Å.



En blanc, l'ARN polymerase II; En bleu, la double hélice d'ADN; En rouge, L'ARN en cours de formation; En vert, La structure qui fait avancer le brin d'ADN dans l'enzyme.

## L'ARN polymérase III

Par Cryo-microscopie électronique (2007) on a obtenue la structure tridimensionnelle de l'ARN polymérase .



- Présence de cinq sous-unités supplémentaires qui interviennent dans la transcription (étapes initiale et finale).
- Les sous-unités assurent la fixation des facteurs de transcription et la reconnaissance de l'ADN.



## L'initiation de la transcription chez les Eucaryotes

Elle est plus complexe chez les eucaryotes car les ARN polymérases ne reconnaissent pas directement leurs séquences promotrices :

→ 5 facteurs de transcription généraux (Transcription Factor) :

**TFII- B, TFII- D, TFII- E, TFII- F et TFII- H)**

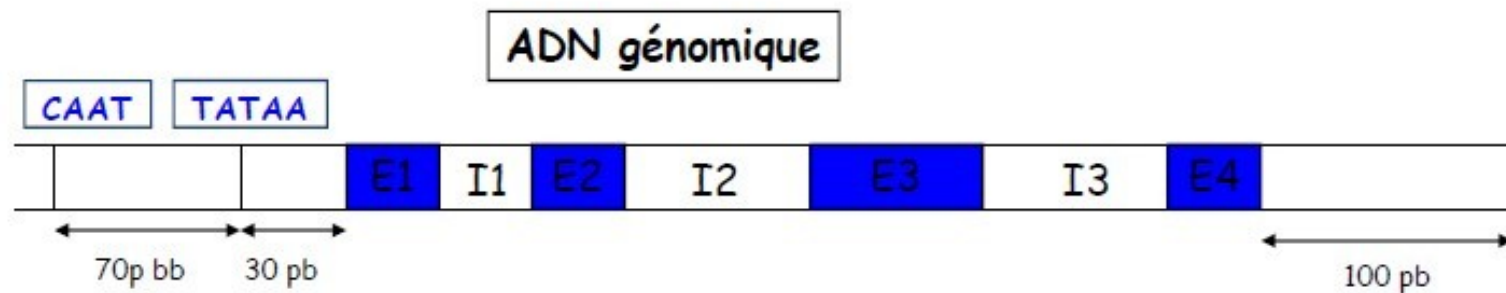
doivent d'abord médier la fixation des ARN polymérases et l'initiation de la transcription.

Le complexe complet [*ARN polymérase - facteurs de transcription - séquence ADN du promoteur*] est appelé **complexe de pré-initiation de la transcription**.

Ce complexe assure :

- le chargement précis de l'ARN polymérase II (Pol II) sur le bon site de démarrage de la transcription

# 1 - Initiation de la transcription et terminaison



## Signaux moléculaires nécessaires à l'initiation:

- ❖ 30 PB: Boite **TATA** (équivalente de la Pribnow des procaryotes)
- ❖ 70 PB: **CAAT** ou **Enhancer** (virus): stabilisation du complexe ADN-ARNp

## Signal de terminaison:

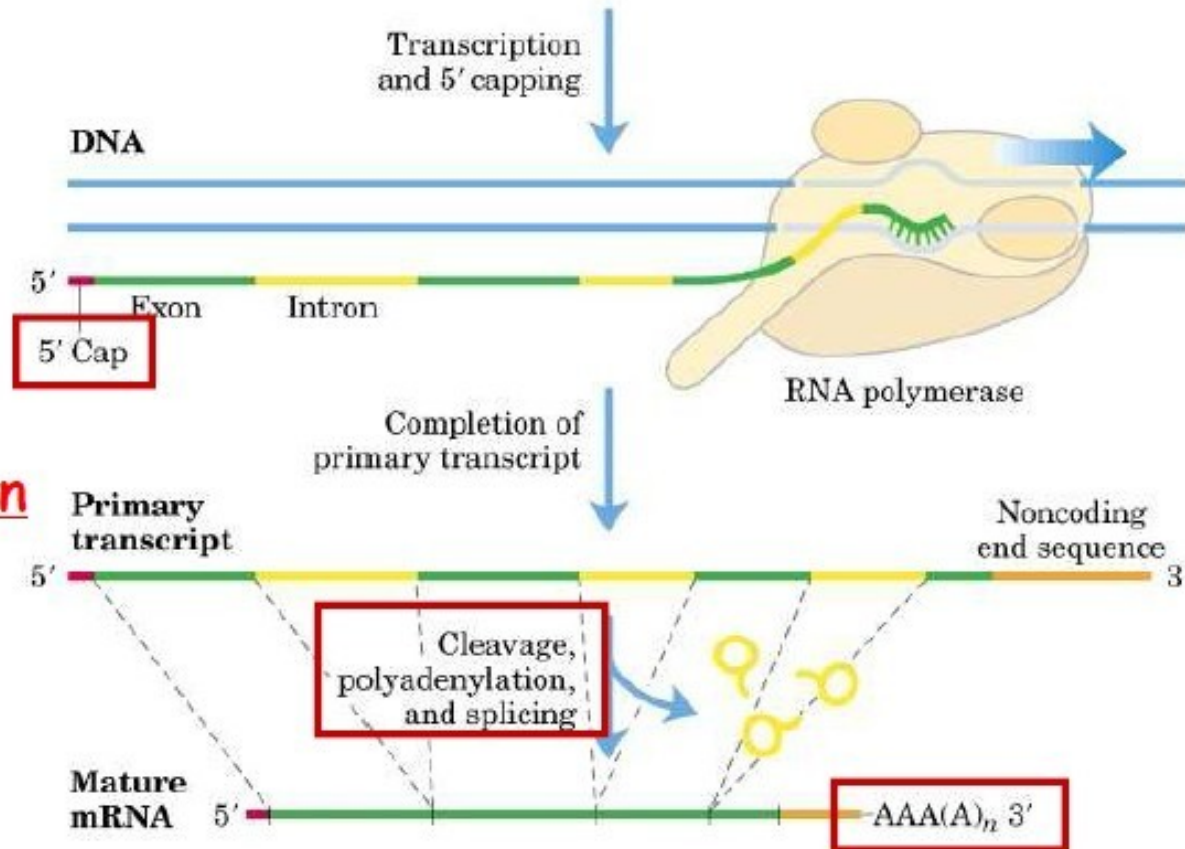
- ❖ Séquence de 6 pb à la fin du gène reconnue par ARN-endonucléase
- >>> Extrémité 3' formée est polyadénylée dans le nucléoplasme

## 2- Modification post-transcriptionnelle:

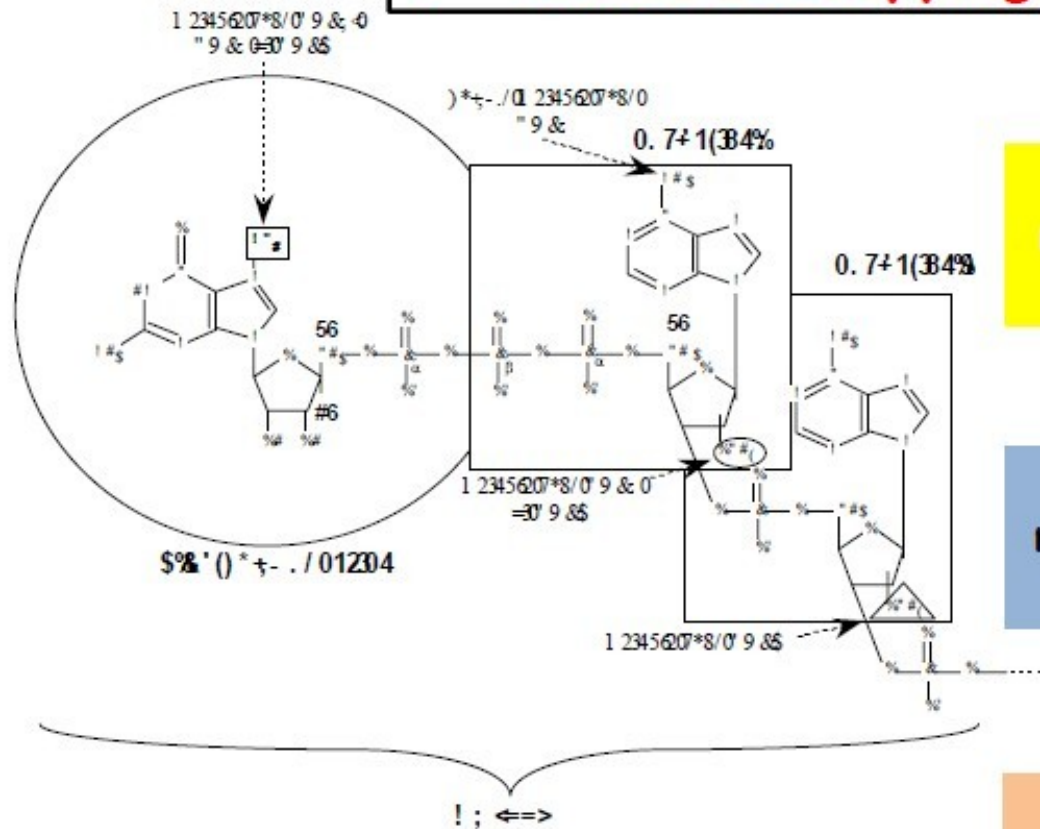
- Capping

- Polyadénylation

- Epissage



## **$\alpha$ - Coiffe ou capping**



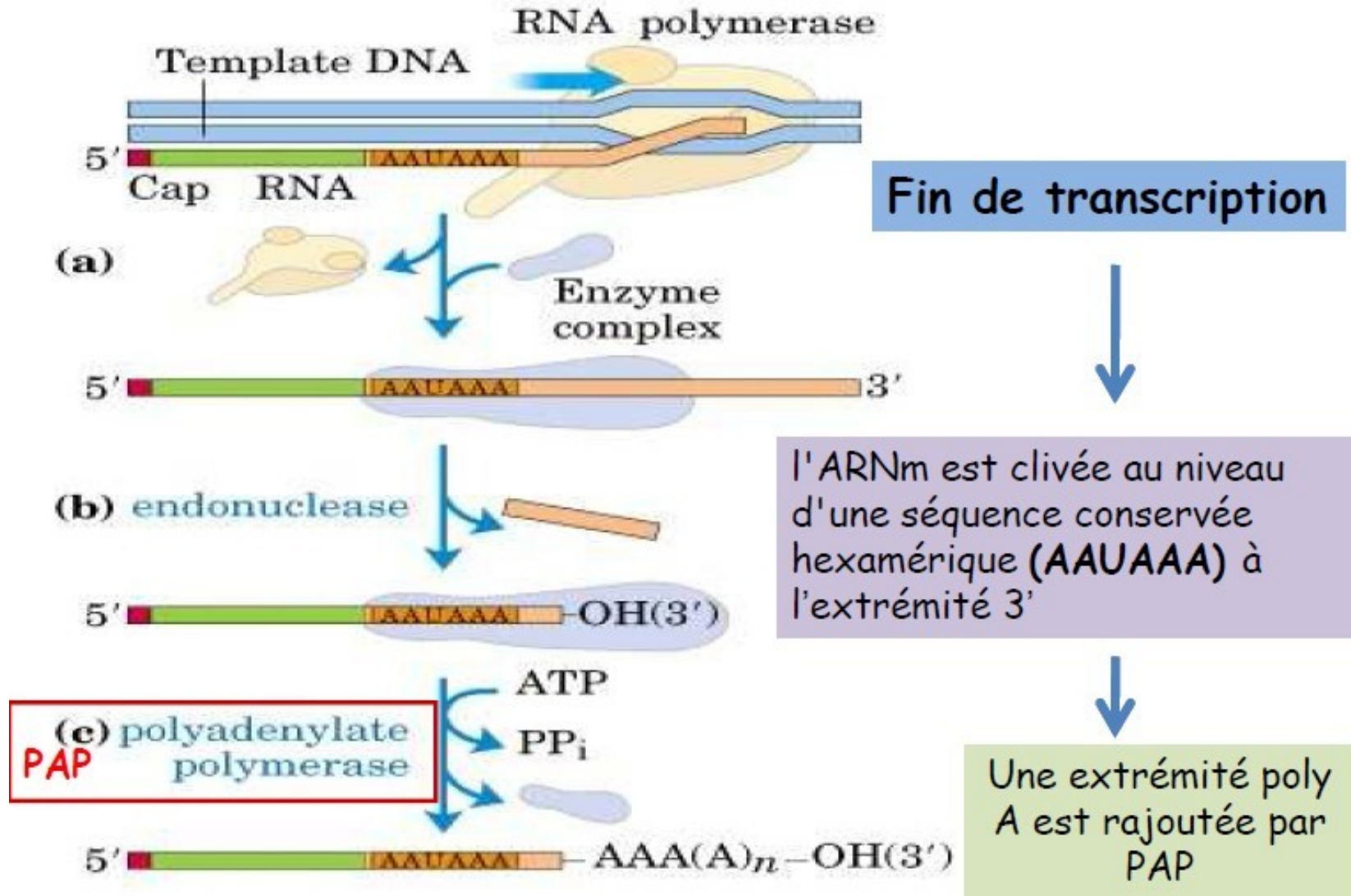
signal de  
reconnaissance pour  
les ribosomes

Dernière base du  
messager inaccessible  
aux ribonucléases

Augmente  
l'efficacité de la  
traduction

Guanosine méthylée sur l'azote 7 fixée à l'extrémité 5' par une liaison pyrophosphate 5'-5' à la première base de l'ARN (A ou G)

## b- Polyadénylation

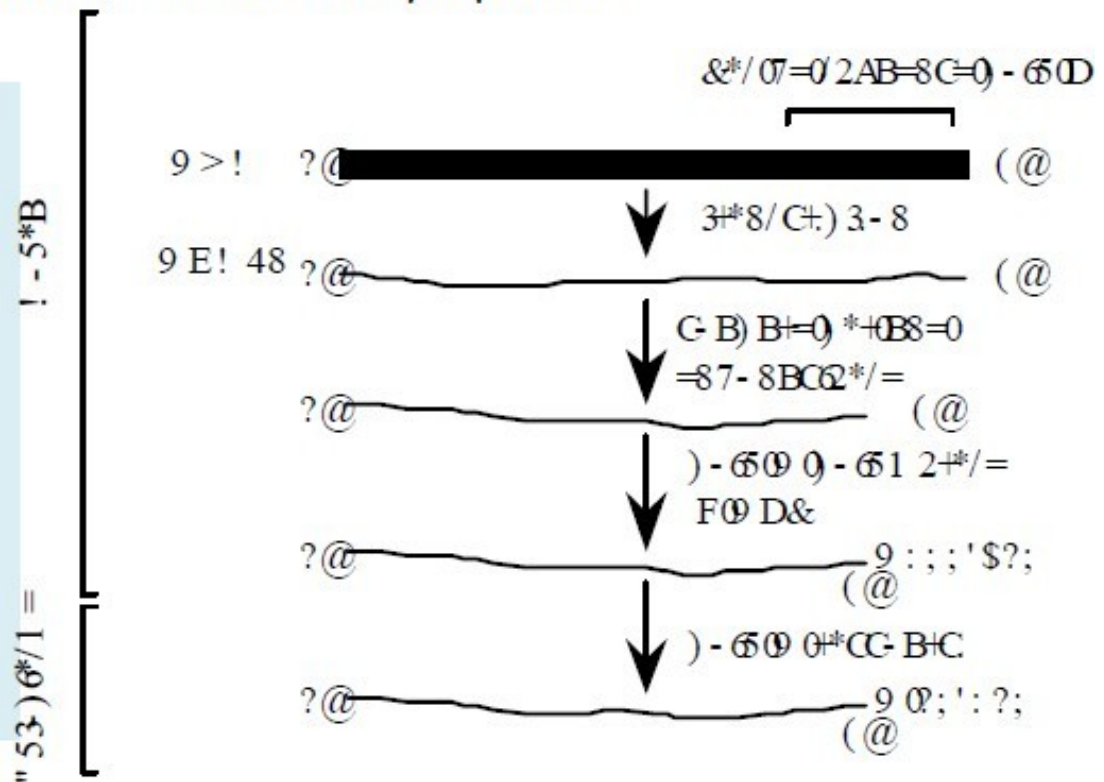




- ❖ La longueur de la queue poly A varie de 100 à 200 nuc.
- ❖ Absente chez les ARNt, les ARNr et les ARNm codant pour les protéines histones
- ❖ La queue polyA sera raccourcie dans le cytoplasme

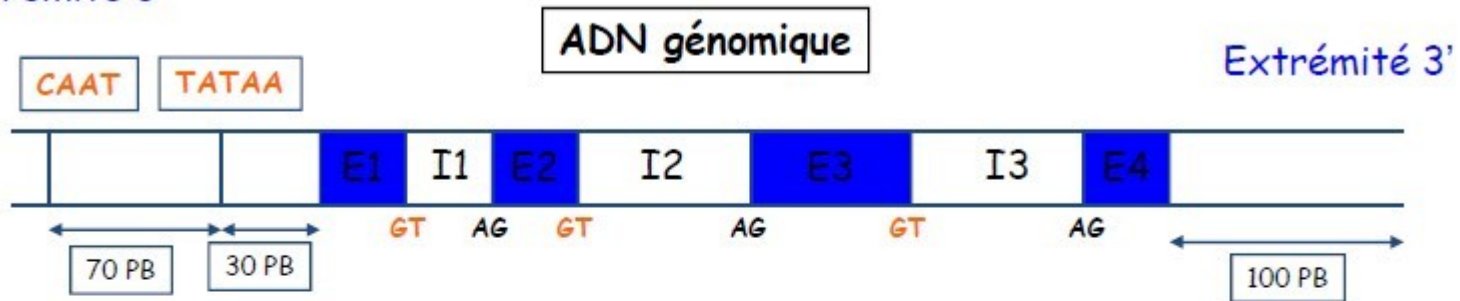
## Rôles du polyA

- ❖ Attachement du messenger à la membrane de RE
- ❖ Transfert du messenger au cytoplasme
- ❖ Stabilisation du messenger (demi vie ARN diminue en son absence)



# Récapitulatif

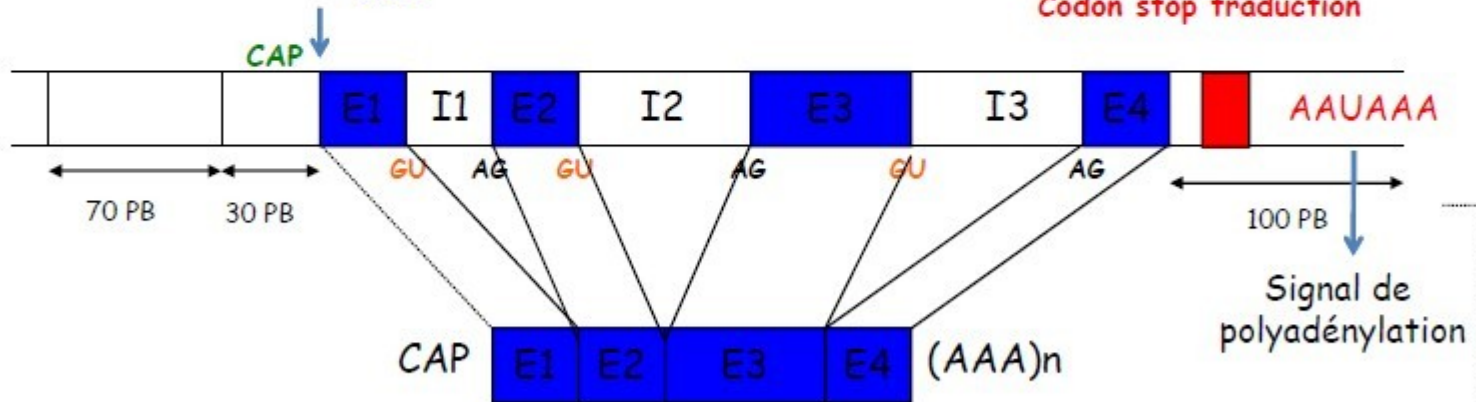
Extrémité 5'



Codon initiateur traduction  
AUG

ARN transcrit primaire

(UGA, UAA ou UAG)  
Codon stop traduction



GU: site 5' d'épissage  
AG: site 3' d'épissage

ARN messager