# 

|  |  |
| --- | --- |
| BLOC SANTE | Auteur : RonéoAI |
| UE2 - Les molécules du vivant | Date : 2025-08-21 |

# 

# CHAPITRE 5 : TRANSCRIPTION, MATURATION ET RÉGULATION DE L'ADN

# I. MÉCANISMES GÉNÉRAUX DE LA TRANSCRIPTION

Cette partie présente les principes essentiels de la transcription chez les eucaryotes : définitions, machinerie enzymatique, organisation des gènes et étapes clés (initiation, élongation, terminaison).

• Définitions et types d'ARN (ARNm, ARNt, ARNr) et notion de pré-ARN et maturation

• ARN polymérases : Pol I, Pol II, Pol III (nucléaires) et POLRMT (mitochondriale)

• Organisation des gènes de classe II : TSS, promoteur minimum, exons/introns, îlots CpG

• Initiation par Pol II : facteurs généraux, assemblage du PIC, rôle du TFIIH et phosphorylation du CTD

• Transition initiation → élongation : pauses, kinases CDK7/CDK9, vitesse et fidélité de l'élongation

## **1. Définitions et principes de la transcription (types d'ARN, différences ADN/ARN, sens de transcription)**

Définition : la transcription est la synthèse d'un ARN simple brin à partir d'un ADN double brin ; elle se situe au cœur du dogme central ADN → ARN → protéine.

• ARNm : ARN messager, intermédiaire codant pour la synthèse protéique

• ARNt : ARN de transfert, adapte les codons de l'ARNm aux acides aminés

• ARNr : ARN ribosomique, composant structurel et fonctionnel des ribosomes

Un gène est un segment d'ADN permettant la synthèse d'un pré-ARN qui sera ensuite maturé en ARN fonctionnel.

• ARN vs ADN : l'ARN contient un ribose avec 2'-OH (plus labile), utilise l'uracile au lieu de la thymine et est majoritairement simple brin formant des structures secondaires (tiges-boucles).

La transcription est orientée : l'ARN est synthétisé 5'→3' en copiant le brin matriciel (lu 3'→5') ; le brin non-matriciel a la même séquence que l'ARN (T → U).

## **2. Machinerie transcriptionnelle : ARN polymérases (mitochondriale et nucléaires) et classes de gènes**

Les ARN polymérases catalysent la synthèse d'ARN à partir d'un brin matriciel d'ADN en formant des liaisons phosphodiester et en faisant progresser une bulle transcriptionnelle.

• Ouverture locale de l'ADN (bulle transcriptionnelle) ; appariement des rNTPs sur le brin matriciel

• Formation d'une liaison 3'→5' phosphodiester avec libération de pyrophosphate (PPi)

• Déplacement de la bulle en aval et réappariement des brins en amont ; fin = dissociation et libération de l'ARN

Points communs et différences avec les ADN polymérases :

• Similitudes : catalyse d'une liaison 3'→5' par complémentarité de bases, site actif positionnant l'extrémité 3' et les nucléotides

• Différences : insertion de ribonucléotides, pas d'amorce requise, synthèse d'un brin simple, l'ARN ne reste pas apparié longtemps et les ARN pol ont une forte processivité

Chez l'homme : transcription mitochondriale par POLRMT (polypeptide unique codé nucléAire) produit les ARNr, ARNt et ARNm mitochondriaux.

• POLRMT transcrit brin lourd (H) et brin léger (L) → pré-ARNs qui seront clivés et maturés

Trois ARN polymérases nucléaires (Pol I, Pol II, Pol III) responsables de classes de gènes distinctes :

• Pol I → pré-ARNr (45S → 28S, 18S, 5,8S) (très abondant)

• Pol II → pré-ARNm et nombreux petits et grands ncRNA (snRNA, snoRNA, miRNA, lncRNA)

• Pol III → pré-ARNt, ARNr 5S, snRNA U6…

Les Pol I/III produisent des transcrits très abondants (ARNr, ARNt) avec des demi-vies longues ; Pol II transcrit la majorité des gènes codants pour protéines et est finement régulée.

## **3. Gènes de classe II : organisation et régulation (TSS, exons/introns, îlots CpG, méthylation)**

Les gènes transcrits par Pol II (classe II) sont très nombreux et leur expression est contrôlée de façon précise selon le type cellulaire et les stimuli.

• Gènes « housekeeping » : exprimés dans tous les types cellulaires pour maintenir les fonctions de base

• Gènes régulés : expression restreinte à certains tissus ou inductible en réponse à des signaux

Structure générale d'un gène de classe II : TSS, promoteur minimum, exons et introns et signaux de maturation (site de polyadénylation).

• Exons : séquences conservées dans l'ARNm mature (5' UTR, séquence codante, 3' UTR)

• Introns : séquences transcrites puis éliminées par épissage

La méthylation des dinucléotides CpG (par DNMT) transforme la cytosine en 5-méthyl-cytosine ; les CpG méthylés sont sujets à désamination et mutent plus souvent en TpG, expliquant la raréfaction des CpG au cours de l'évolution.

• Îlots CpG : régions riches en CpG, souvent en 5' des gènes et généralement non méthylées (sauf répressions stables comme le X inactif)

## **4. Initiation par ARN Pol II : promoteur minimum, facteurs généraux et formation du complexe de pré-initiation**

Les étapes principales de la transcription par Pol II sont l'initiation, l'élongation et la terminaison ; la maturation des ARNm est souvent couplée à ces étapes.

• Initiation : fixation spécifique et orientée de Pol II sur le promoteur

• Élongation : synthèse de la chaîne d'ARN et modifications du CTD

• Terminaison : arrêt, dissociation et libération de l'ARN naissant

Pol II ne peut initier seule sur un promoteur minimum ; des facteurs généraux de transcription (FGTs) sont requis pour la transcription basale.

• FGTs essentiels : TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIE, TFIIF, TFIIH

Rôles des FGTs : reconnaissance du promoteur, recrutement et positionnement de Pol II, ouverture de l'ADN et définition du site d'initiation.

Assemblage séquentiel du complexe de pré-initiation (PIC) :

1. TFIID (TBP + TAFs) se fixe en premier sur le promoteur (TBP peut courber l'ADN).

2. TFIIA stabilise TBP ; TFIIB relie le promoteur à Pol II.

3. TFIIF arrive avec Pol II ; TFIIE et TFIIH complètent le PIC fermé.

4. TFIIH (XPB/XPD et CDK7) ouvre la double hélice et phosphoryle le CTD → PIC ouvert puis départ du promoteur.

Éléments de séquence du promoteur minimum (présents en combinaisons variables) :

• TATA box (fixation de TBP) — environ 20 % des promoteurs humains

• Inr (Initiator) autour du TSS, reconnu par TFIID

• BRE (élément de reconnaissance de TFIIB)

• DPE (Downstream Promoter Element) reconnu par TFIID

## **5. Transition initiation → élongation et élongation de la transcription (CTD, pauses, vitesse, proofreading)**

Après le départ du promoteur, Pol II peut marquer une pause proximale contrôlée avant d'entrer en élongation productive.

• Pause proximal : facteurs DSIF et NELF induisent une pause ∼50 nucléotides en aval du TSS

Le déclenchement de l'élongation productive implique le recrutement de la kinase CDK9 (P-TEFb) et la phosphorylation du CTD de Pol II.

• CDK9 phosphoryle la Ser2 du CTD et modifie DSIF/NELF (libération de NELF ; DSIF phosphorylé devient facteur d'élongation)

Le domaine CTD de la sous-unité RPB1 est une plateforme régulatrice : phosphorylation en Ser5 (CDK7) pour l'initiation et en Ser2 (CDK9) pour l'élongation permet le recrutement des complexes de maturation (coiffe, épissage, polyadénylation).

Vitesse et fidélité de l'élongation : Pol II transcrit à ≈ 3 kb/min (≈ 50 nt/s) ; son activité de proofreading est moindre que celle des ADN polymérases (taux d'erreur ≈ 10⁻⁴).

# II. MATURATION DES ARN CHEZ LES EUCARYOTES

Les pré-ARNm eucaryotes subissent des modifications co-transcriptionnelles essentielles : coiffage 5', épissage des introns et clivage/polyadénylation 3'.

• Ces étapes sont couplées à la phosphorylation du CTD de Pol II et se déroulent dans le noyau

• Elles déterminent la stabilité, l'export et la traductibilité des ARNm (formation de mRNP)

## **1. Modifications et maturation des pré-ARNm**

Comparaison rapide : les ARNm procaryotes sont souvent polycistroniques et non modifiés aux extrémités, alors que les ARNm eucaryotes sont majoritairement monocistroniques et maturés en 5' et 3'.

• Eucaryotes : coiffage 5', épissage, polyadénylation 3' → ARNm mature lié par protéines spécifiques

• Procaryotes : pas de coiffe ni de polyA majoritaire, translation souvent couplée à la transcription

### **2.1.1 Coiffage 5’ : formation et fonctions de la coiffe**

La formation de la coiffe 5' est co-transcriptionnelle et dépend de l'interaction des enzymes de coiffage avec le CTD de Pol II phosphorylé en Ser5.

1. Phosphatase enlève un phosphate terminal 5' du pré-ARN

2. Guanyl transférase ajoute une GMP par une liaison 5'-5' triphosphate (liaison inhabituelle)

3. Méthyltransférase méthyle la guanosine en 7-méthylguanosine (cap 0) ; des méthylations des riboses suivants peuvent exister

Rôles de la coiffe :

• Protection contre les exonucléases 5' et stabilisation de l'ARNm

• Recrutement du CBC (cap-binding complex) et facilitation de l'export nucléaire

• Rôle essentiel dans l'initiation de la traduction cytoplasmique

### **2.1.2 Épissage : sites consensus, mécanismes et couplage à la transcription**

L'épissage élimine les introns et rejoint les exons pour produire l'ARNm mature ; la réaction est catalysée par le spliceosome, un grand complexe d'ARN-protéines.

• Exons : conservés dans l'ARNm mature ; Introns : excisés

Chez les mammifères la plupart des gènes codants contiennent plusieurs introns et exons, avec des tailles très variables.

Sites consensus et éléments clés :

• Donneur d'épissage (5' de l'intron) → motif GT presque invariant

• Accepteur d'épissage (3' de l'intron) → motif AG presque invariant

• Site de branchement ≈ 20 nt en amont du site accepteur

Précision et mécanisme :

• Le spliceosome (snRNPs U1, U2, U4/U6, U5) réalise deux réactions de transestérification successives après réarrangements

• L'épissage est couplé à la transcription : certaines snRNPs sont recrutées via le CTD Ser2P et se fixent sur le pré-ARNm au fur et à mesure de sa sortie de Pol II

### **2.1.3 Clivage 3’ et polyadénylation : signal AAUAAA, PAP, PABP**

La terminaison de la transcription par Pol II est couplée au clivage 3' du pré-ARNm et à l'ajout d'une queue poly(A) qui n'est pas codée dans le génome.

• Signal de polyadénylation : séquence consensus AAUAAA dans le transcrit

• Complexes CPSF et CstF, associés au CTD Ser2P, reconnaissent le signal et déterminent le site de clivage (≈ 10–30 nt en aval)

Après clivage :

• PAP (polyA polymerase) ajoute ≈ 200 adénosines en bout 3' sans matrice d'ADN

• PABP (polyA-binding proteins) se lient au polyA

Fonctions de la queue polyA et des protéines associées :

• Stabilisation de l'ARNm, facilitation de l'export cytoplasmique et implication dans la traduction

## **2. Terminaison de la transcription des pré-ARNm et conséquences pour la maturation**

La terminaison par Pol II intervient après le clivage 3' : Pol II continue souvent à transcrire en aval du site de clivage jusqu'à sa dissociation.

• Après clivage, le fragment 5' restant (non coiffé) est dégradé par une exonucléase 5' → défaillance de la « queue » favorise la libération de Pol II

Conséquences pratiques :

• Tous les ARNm matures ont une coiffe 5' et, sauf exceptions, une queue polyA 3'

• Les ARNm matures sont assemblés en mRNP : CBC en 5', EJC aux jonctions exon-exon, PABP en 3' et d'autres protéines favorisant liaison au pore nucléaire (NPC) pour export

Toutes ces étapes ont lieu dans le noyau avant export vers le cytoplasme où s'effectue la traduction.

## **3. Diversification du protéome (promoteurs alternatifs, épissage alternatif, polyadénylation alternative)**

Un gène peut donner plusieurs protéines (isoformes) par l'utilisation de promoteurs alternatifs, d'épissage alternatif et de sites de polyadénylation alternatifs.

• Ces mécanismes augmentent la diversité protéique sans augmenter le nombre de gènes

• Ils permettent une régulation spatiale et temporelle fine de l'expression protéique

### **2.3.1 Utilisation de promoteurs alternatifs**

Certains gènes possèdent plusieurs promoteurs alternatifs, chacun avec son TSS et souvent un premier exon distinct.

• L'utilisation d'un promoteur alternatif peut être spécifique d'un tissu ou d'un état physiologique

• Permet de générer des transcrits ayant des 5' UTR et parfois des codages différents, modulant la régulation et la fonction protéique

### **2.3.2 Épissage alternatif : production d'isoformes**

L'épissage alternatif permet l'inclusion ou l'exclusion d'exons et l'utilisation de sites donneurs/accepteurs alternatifs pour générer plusieurs ARNm à partir d'un même gène.

• Types courants : exon skipping (exon inclus/exclu), sites donneurs ou accepteurs alternatifs, intron retention moins fréquent

• Mode : constitutif (plusieurs transcrits produits en continu) ou régulé (tissu- ou développement-spécifique) → source majeure de diversité fonctionnelle

### **2.3.3 Sites de clivage et polyadénylation alternatifs**

L'utilisation de sites de polyadénylation alternatifs modifie la longueur de la région 3' UTR ou, parfois, la région codante C-terminale de la protéine.

• Conséquences : régulation post-transcriptionnelle différente (stabilité, localisation, traduction) et isoformes protéiques distinctes selon le tissu

### **2.3.4 Transcription par ARN Pol I et Pol III et maturation des ARNr/ARNt**

Les promoteurs et les facteurs généraux pour Pol I et Pol III diffèrent de ceux de Pol II ; TBP intervient néanmoins comme facteur commun dans les trois systèmes.

• Pol I : transcription des pré-ARNr (maturation par clivages et modifications), réalisée dans le nucléole

• Pol III : transcription des ARNt et ARNr 5S ; ARN maturés par clivage et modifications

La maturation des pré-ARNr implique des snoRNPs (ARNs petits nucléolaires associés à des protéines) qui guident les modifications chimiques et les clivages.

# III. RÉGULATION DE LA TRANSCRIPTION PAR L'ARN POLYMÉRASE II

La transcription par Pol II est fortement contrôlée au niveau de la chromatine, de la fixation des facteurs de transcription (FT) et par le recrutement de cofacteurs adaptateurs et de complexes remodelants.

• L'accessibilité de l'ADN dépend de la position des nucléosomes et des marques d'histones

• Les FT lisent les séquences cis-régulatrices et recrutent coactivateurs et complexes qui ouvrent la chromatine et favorisent le PIC

## **1. Structure et remodélisation de la chromatine**

L'état de compaction de la chromatine conditionne l'accès des facteurs de transcription et de la machinerie transcriptionnelle aux séquences d'ADN.

### **3.1.1 Nucléosome : unité de base et protéines histones**

La chromatine est composée d'ADN associé aux histones ; le nucléosome est l'unité de base où ≈147 pb d'ADN s'enroulent autour d'un octamère d'histones (2 × H2A, H2B, H3, H4).

• Entre nucléosomes : ADN linker variable (quelques à ≈80 pb)

• Les histones ont une queue N-terminale exposée et un 'histone fold' qui organise l'octamère

• Une cellule humaine contient des dizaines de millions de nucléosomes (≈ 1 nucléosome tous les ≈200 pb)

### **3.1.2 États de compaction : euchromatine vs hétérochromatine (constitutive / facultative)**

Deux grands états : euchromatine (ouverte, riche en gènes exprimés) et hétérochromatine (condensée, pauvre en expression).

• Hétérochromatine constitutive : régions inactives dans toutes les cellules (télomères, centromères)

• Hétérochromatine facultative : répression réversible (p.ex. X inactivation) ; peut être activée selon le contexte

### **3.1.3 Complexes de remodelage ATP‑dépendants (déplacement/éjection de nucléosomes)**

Des complexes multi‑protéiques ATP‑dépendants modifient la position des nucléosomes ou éjectent des dimères histones pour rendre l'ADN accessible.

• Ils utilisent l'énergie de l'ATP pour transloquer l'ADN autour de l'octamère ou pour retirer un dimère H2A–H2B

• Leur activité est régulée localement pour ouvrir des régions promotrices ou enhancer

### **3.1.4 Modifications post‑traductionnelles des histones et conséquences fonctionnelles (acétylation, méthylation, HP1…)**

Les queues N‑terminales des histones subissent de nombreuses modifications réversibles (acétylation, méthylation, phosphorylation…) qui constituent des « marques » influençant l'accessibilité chromatinienne.

• Acétylation des lysines (HAT) : neutralise la charge positive, favorise ouverture de la chromatine et transcription active

• Méthylation des lysines (HMT) : effet dépend du site et du degré (ex. H3K4me3 associé à promoteurs actifs ; H3K9me3 associé à hétérochromatine constitutive)

• Des protéines reconnaissent ces marques : ex. HP1 se lie à H3K9me3 via un chromodomaine et favorise la compaction et la propagation de l'hétérochromatine

Les marques sont déposées et enlevées par des enzymes spécifiques (HAT/HDAC, HMT/déméthylases) et guident le recrutement d'autres complexes (remodelers, médiateur, complexes d'assemblage du PIC).

### **3.1.5 Résumé : facteurs contrôlant les différents états de compaction de chromatine**

Deux états fonctionnels : chromatine fermée (condensée, répressive) vs chromatine ouverte (accessible, active).

• Transition vers chromatine ouverte : acétylation des histones, repositionnement/éviction des nucléosomes par remodelers

• Transition vers chromatine fermée : déacétylation, dépôt de marques répressives (ex. H3K9me3) et recrutement de facteurs compacts (ex. HP1)

## **2. Contrôle de l'expression des gènes : facteurs de transcription et séquences régulatrices**

La régulation transcriptionnelle par Pol II résulte de l'intégration d'informations codées par les séquences cis (promoteurs, enhancers) et par la disponibilité/activité des facteurs de transcription (trans).

• Objectif : définir quels gènes sont exprimés, quand et à quel niveau dans chaque cellule

### **3.2.1 Pourquoi la transcription est‑elle régulée ? (développement, différenciation, réponses aux signaux)**

La régulation transcriptionnelle met en place les programmes d'expression spécifiques du développement et de la différenciation, et permet aux cellules de répondre aux signaux et variations environnementales.

• Elle se concentre principalement au niveau de l'initiation (fréquence des recrutements de Pol II) mais intervient aussi à l'élongation, maturité et export

• La combinaison de FT exprimés et actifs dans une cellule détermine son profil d'expression

### **3.2.2 Acteurs de la régulation : facteurs de transcription et séquences cis/trans (promoteurs, enhancers)**

Les facteurs de transcription (FT) sont des protéines qui reconnaissent des séquences courtes en cis et recrutent coactivateurs ou corépresseurs.

• Séquences cis : promoteurs proximaux (près du TSS) et enhancers distaux (peuvent agir à distance)

• Facteurs en trans : protéines codées ailleurs dans le génome, capables de réguler plusieurs gènes via leurs sites de liaison

### **3.2.3 Liaison des FT à l'ADN : spécificité et domaines de liaison (Leucine zipper, bHLH, zinc‑finger…)**

Les FT lisent les paires de bases via des interactions hydrogène/hydrophobes principalement dans le grand sillon de l'ADN ; chaque FT reconnaît un motif préféré (5–10 pb).

Domaines de liaison à l'ADN fréquents :

• Leucine zipper (zipper à leucines) : dimérisation par hélices α et région basique qui interagit avec l'ADN

• Hélice-boucle-hélice basique (bHLH) : domaine basique pour la liaison + dimerisation par hélices

• Doigt de zinc (Zn finger) : petit motif stabilisé par Zn; plusieurs doigts forment des interactions séquentielles avec l'ADN

### **3.2.4 Fixation coopérative et contrôle combinatoire des facteurs de transcription**

La fixation coopérative (dimérisation, interactions protéines‑protéines) et la combinaison de nombreux FT sur un même enhancer expliquent la grande spécificité du contrôle transcriptionnel.

• De multiples sites faibles proches peuvent conférer une forte affinité globale par coopération

• Chaque gène est contrôlé par une combinaison unique de FT, expliquant la diversité des programmes d'expression

### **3.2.5 Modes d'action des FT : co‑activateurs, médiateur, remodelage chromatinien et looping enhancer‑promoteur**

Les activateurs n'agissent pas directement sur Pol II mais recrutent des co-activateurs (remodelers, HAT, médiateur) qui facilitent l'assemblage du PIC et l'ouverture de la chromatine.

• Complexes remodelants : déplacent ou éjectent des nucléosomes pour exposer le promoteur

• Complexes modifiant les histones (HAT, HMT) déposent des marques favorables à l'activation (ex. H3K4me3, acétylations H3/H4)

• Médiateur : complexe adaptateur multi-sous-unités reliant activateurs liés à l'enhancer à Pol II et aux FGTs

• Looping (bouclage) : l'enhancer et le promoteur entrent en contact physique, rapprochant coactivateurs et PIC pour stimuler l'initiation

### **3.2.6 Conclusions : intégration des signaux et régulation de l'activité des facteurs de transcription**

Le contrôle transcriptionnel est la somme d'une architecture cis (motifs, enhancers), d'un contexte chromatinien et de l'état d'activité/expression des FT.

• Un FT peut agir sur de nombreux gènes (multiplicité des sites de liaison) ; la plupart des gènes sont contrôlés par plusieurs FT

• L'activité des FT est régulée par leur expression, modifications post‑traductionnelles et voies de signalisation ; cela permet aux cellules d'intégrer des signaux et d'ajuster rapidement l'expression génique