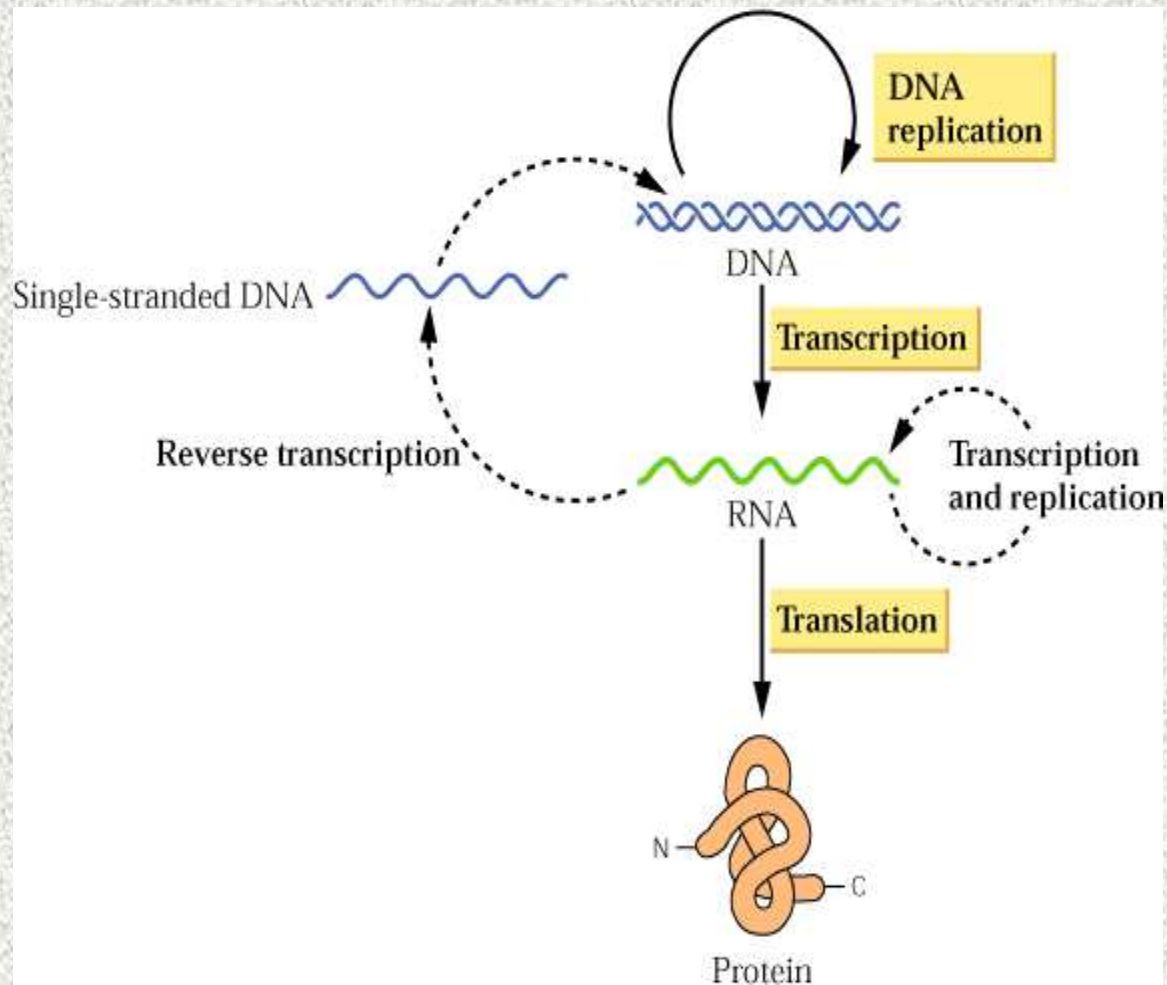
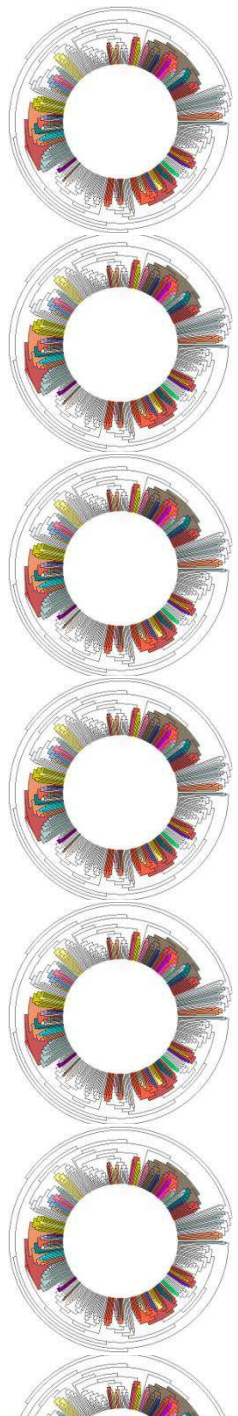




[www.facebook.com/DomaineSNV](http://www.facebook.com/DomaineSNV)

# EXPRESSION GÉNIQUE

Page facebook ; Domaine SNV : Biologie, Agronomie, Science  
Alimentaire, Ecologie



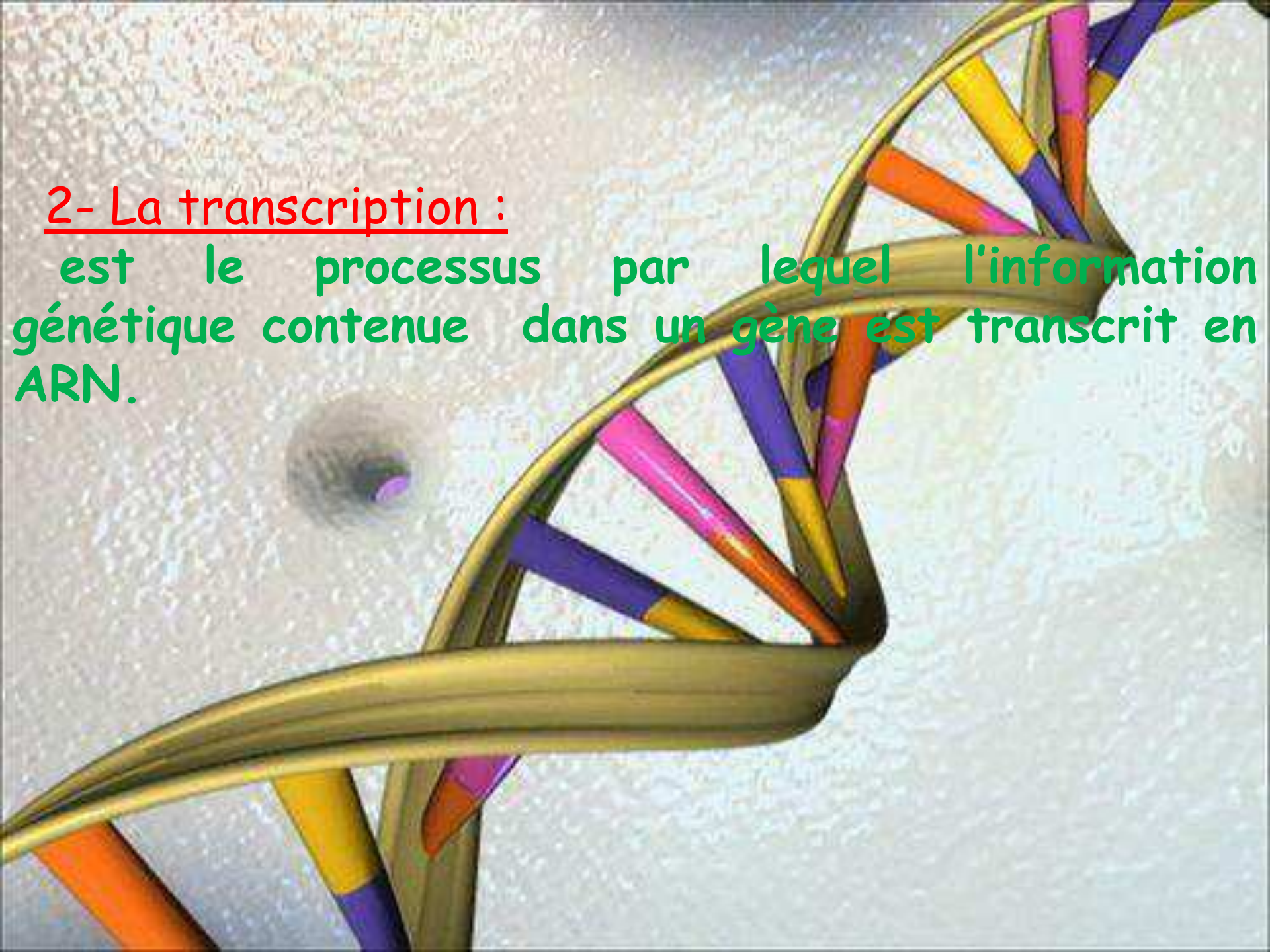
Expression génique: recouvre l'ensemble des mécanismes qui conduisent à l'apparition d'un produit Fonctionnel d'un gène

## **1- Expression d'un gène**

**Processus entier qui décode l'information portée par un gène donne et la traduit en protéines**

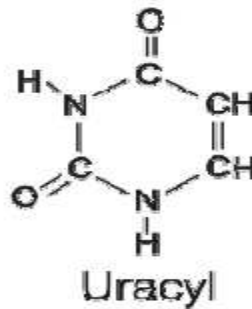
## 2- La transcription :

est le processus par lequel l'information génétique contenue dans un gène est transcrit en ARN.

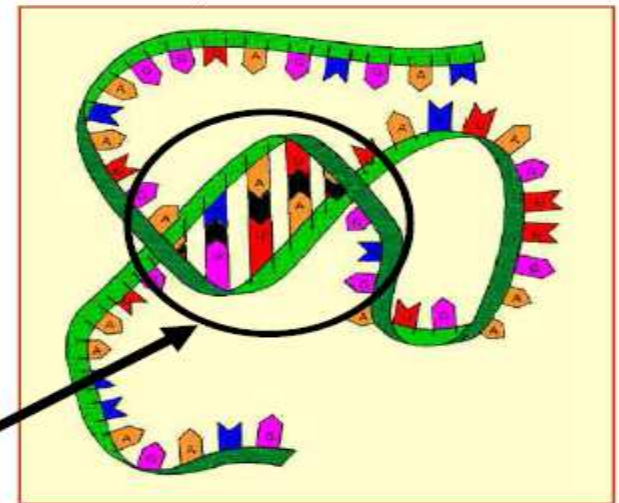


### 3- LES ARN

- Polyribonucléotides avec Uracyl (U) à la place de Thymine (T)
- chaînes monocaténares qui peuvent former des structures secondaires en se repliant (épingles à cheveux)
- Molécules plus courtes et plus instables que l'ADN

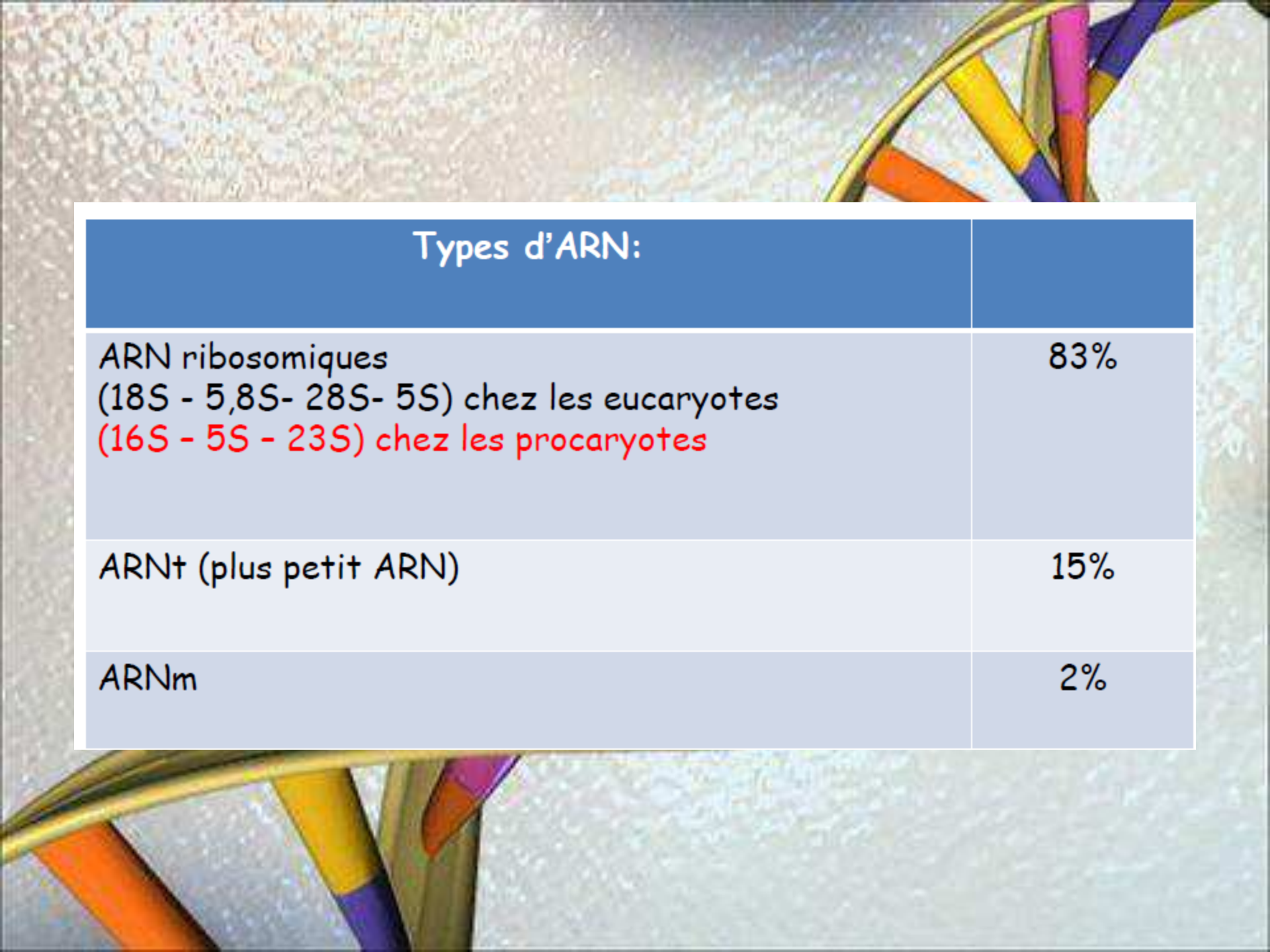


Certains segments de l'ARN peuvent s'apparier s'ils sont complémentaires



# Les ARN

- ARNt, ARNr et ARNm
- ARNr et ARNt sont relativement plus abondants que les ARNm,
- Mais ARNm sont transcrits à un taux plus élevé que les ARNt et les ARNr,



## Types d'ARN:

ARN ribosomiques  
(18S - 5,8S- 28S- 5S) chez les eucaryotes  
(16S - 5S - 23S) chez les procaryotes

83%

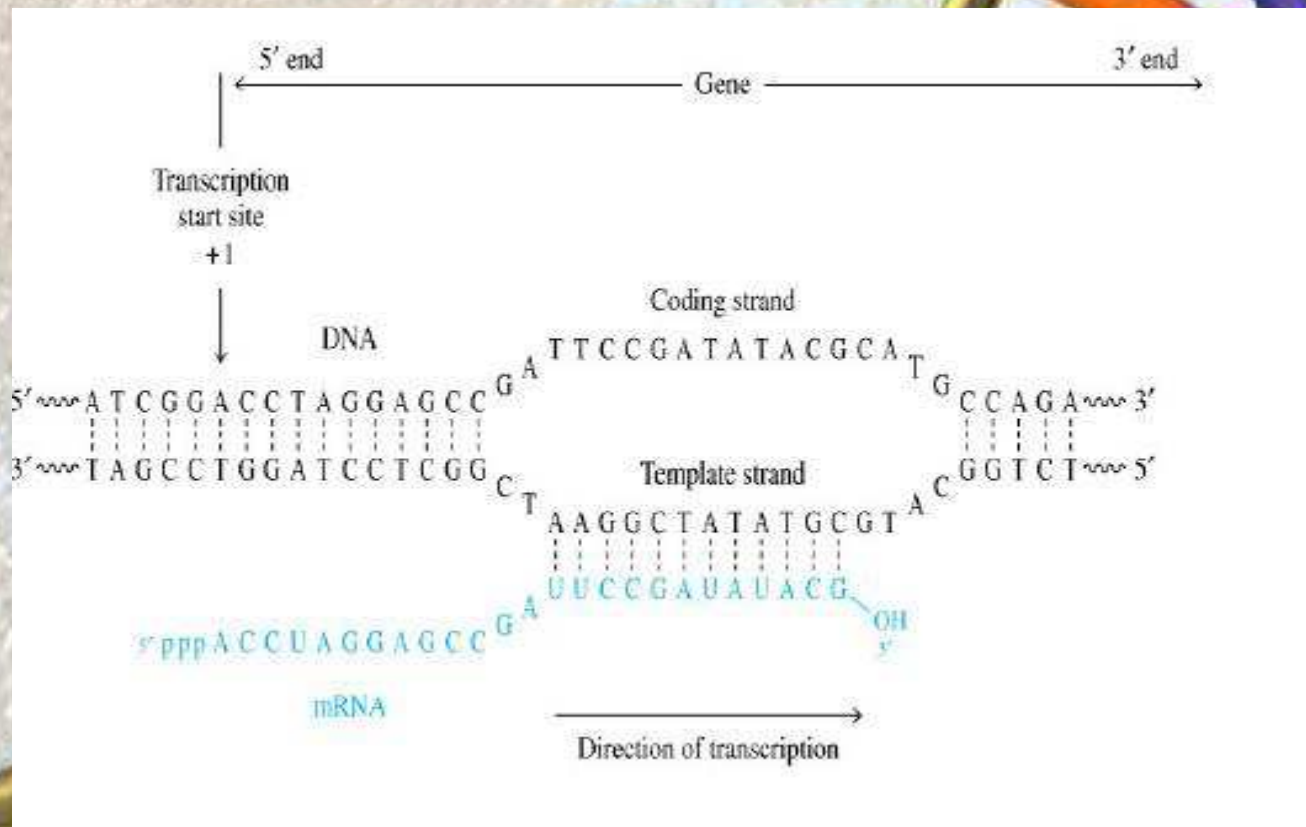
ARNt (plus petit ARN)

15%

ARNm

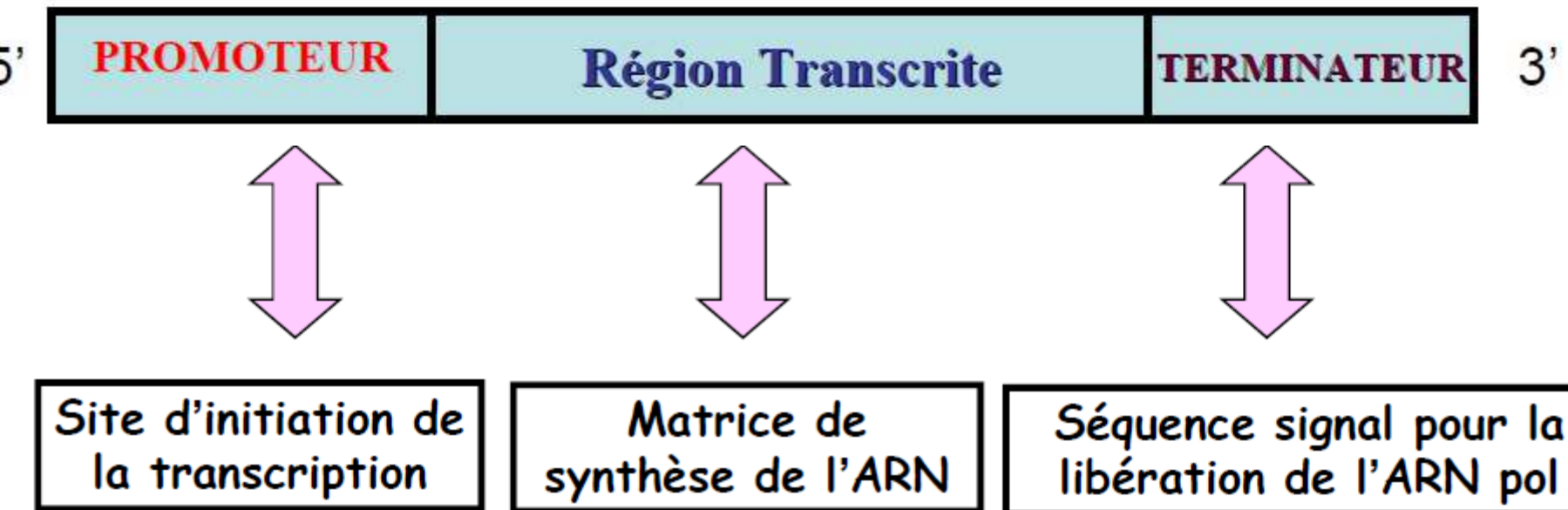
2%

## 4- UN BRIN MATRICE



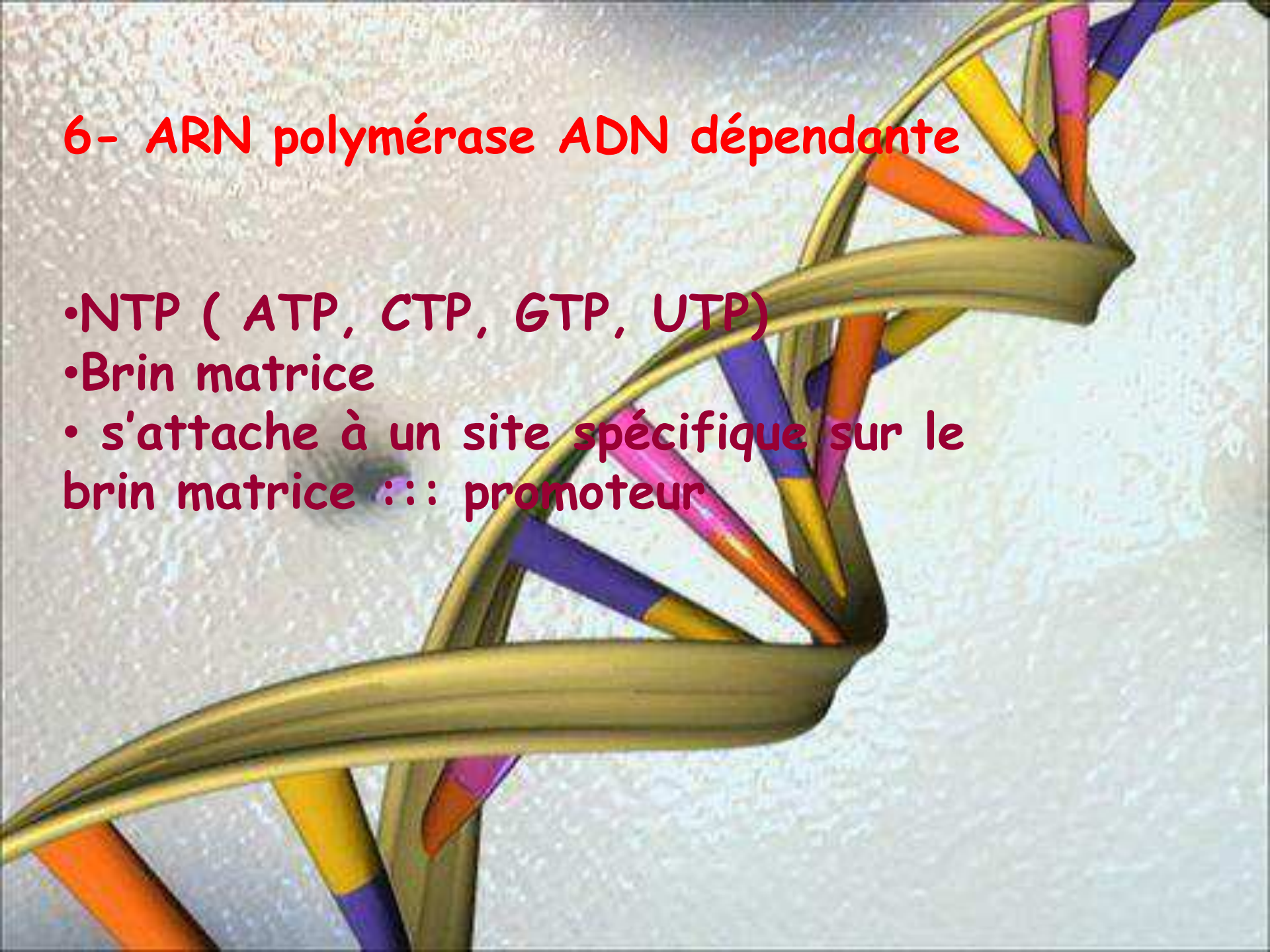
## 5- UNITE DE TRANSCRIPTION

### Structure Générale d'un Gène

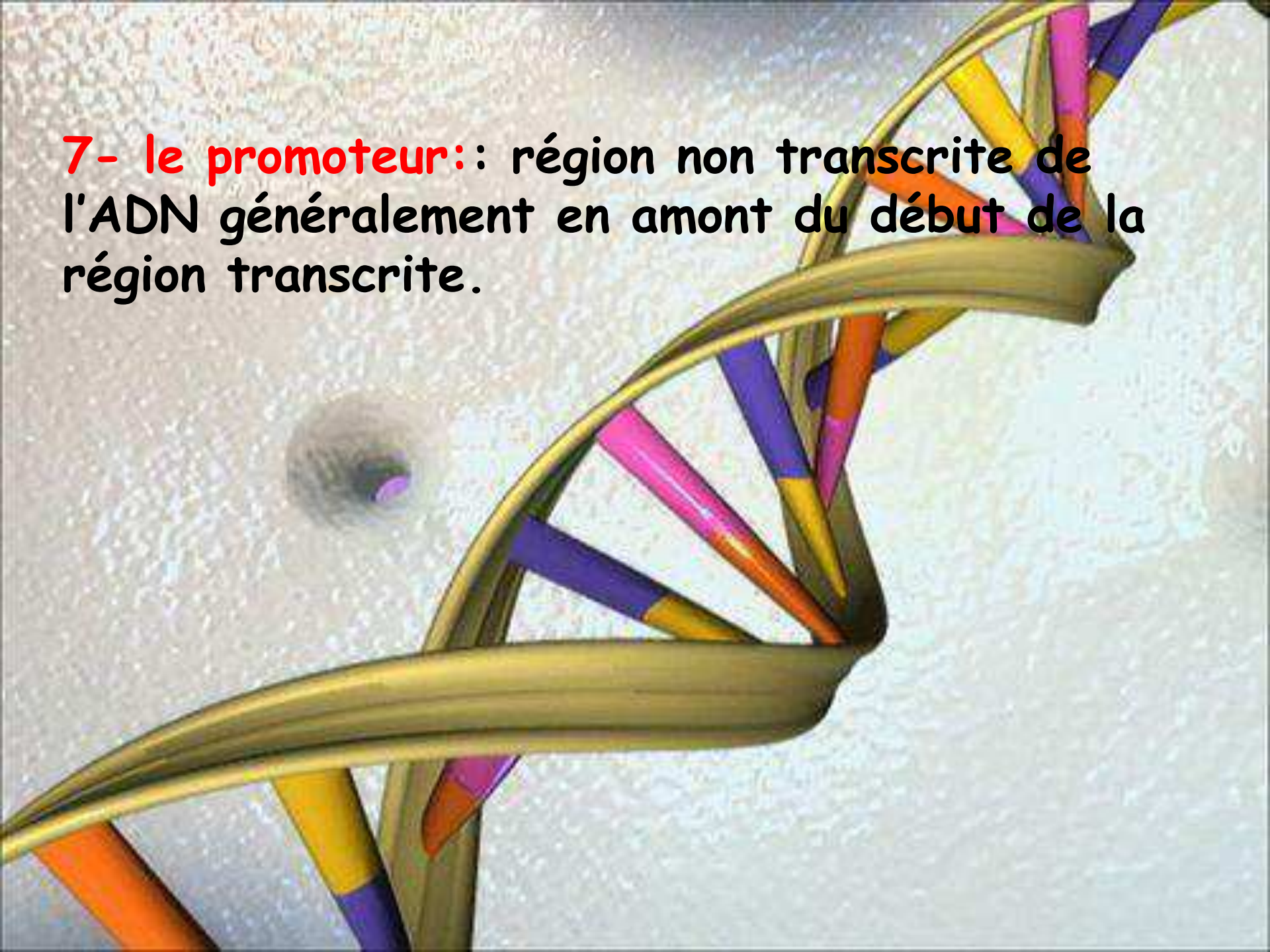


## 6- ARN polymérase ADN dépendante

- NTP ( ATP, CTP, GTP, UTP)
- Brin matrice
- s'attache à un site spécifique sur le brin matrice ::: promoteur



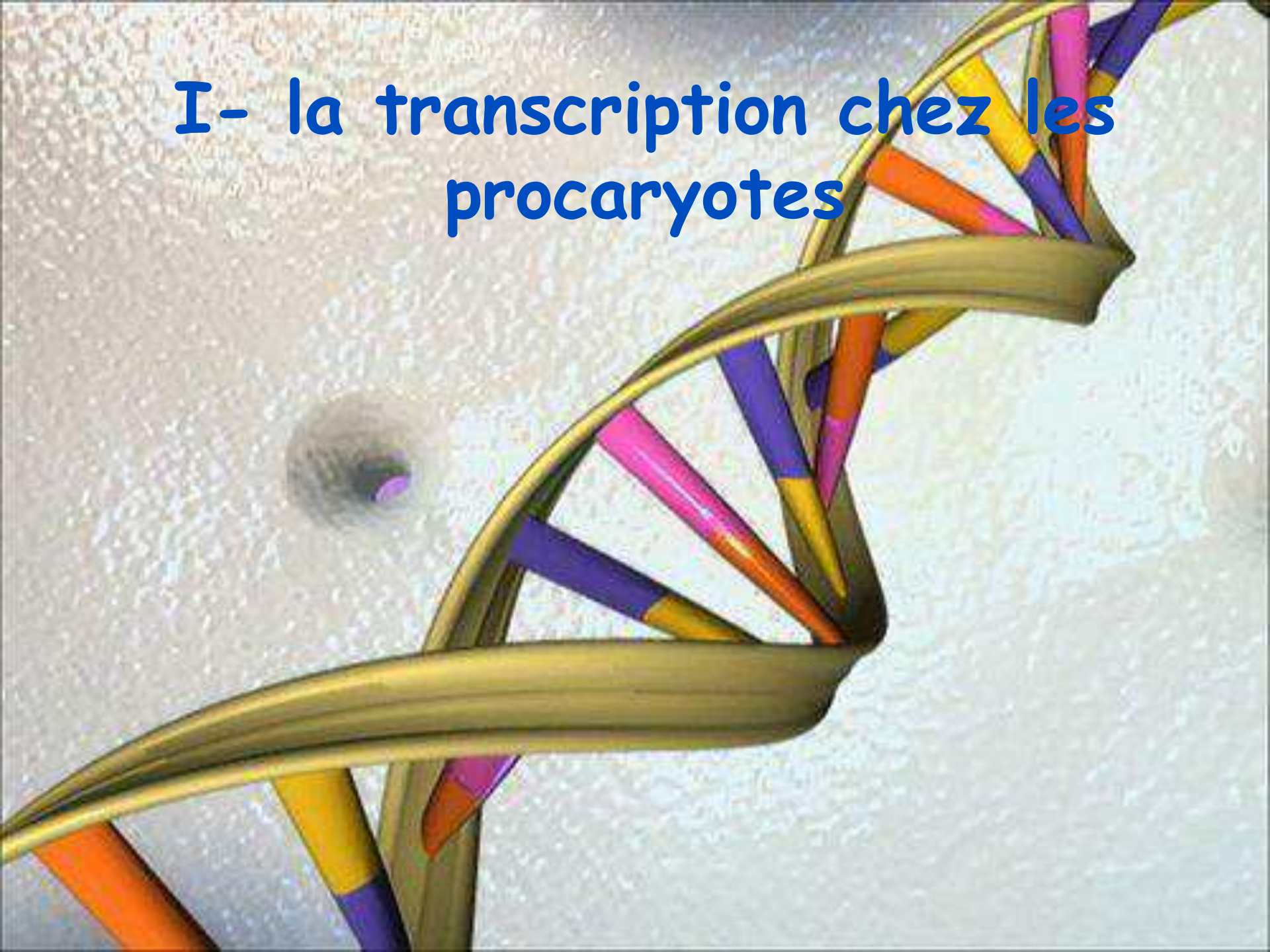
**7- le promoteur:** région non transcrite de l'ADN généralement en amont du début de la région transcrite.



## 8- Les étapes de la transcription

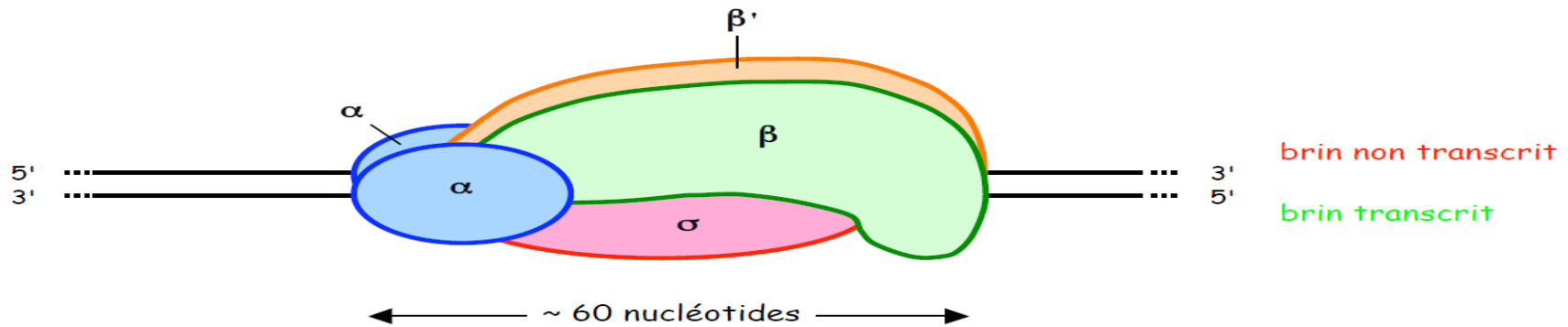
- **Initiation** : fixation de l'ARN poly sur le promoteur, déroulement de l'ADN....
- **Élongation** : l'ARN Poly catalyse l'élongation de la chaîne d'ARN
- **terminaison**

# I- la transcription chez les procaryotes



# *L'ARN polymérase bactérienne*

L'ARN polymérase bactérienne ou **holoenzyme** (500 kDa) est une **enzyme multimérique** composée de 5 sous-unités  $\alpha_2\beta\beta'\sigma$ :

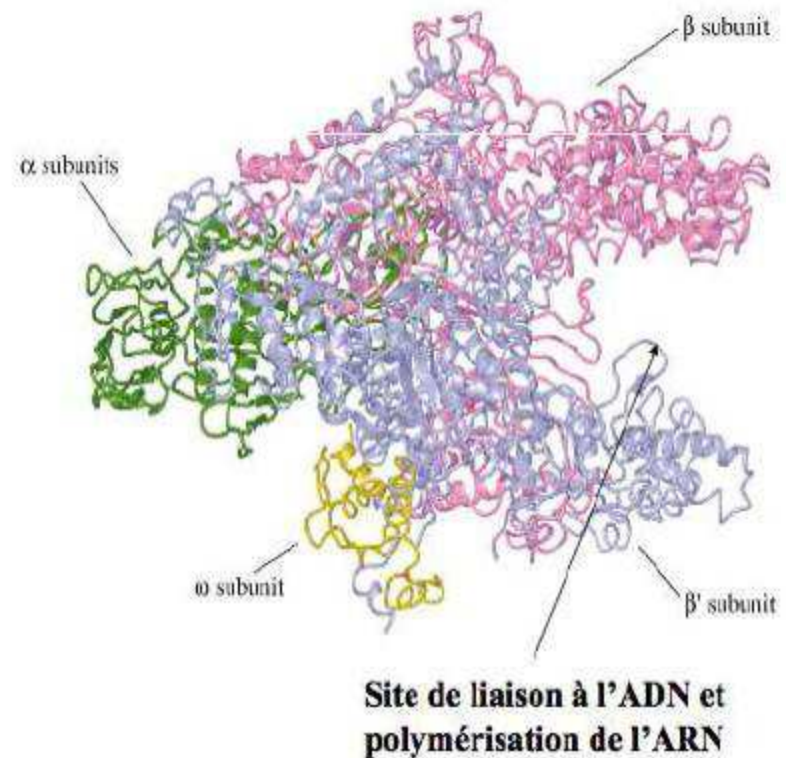


## Chez les procaryotes: une seule ARN polymérase

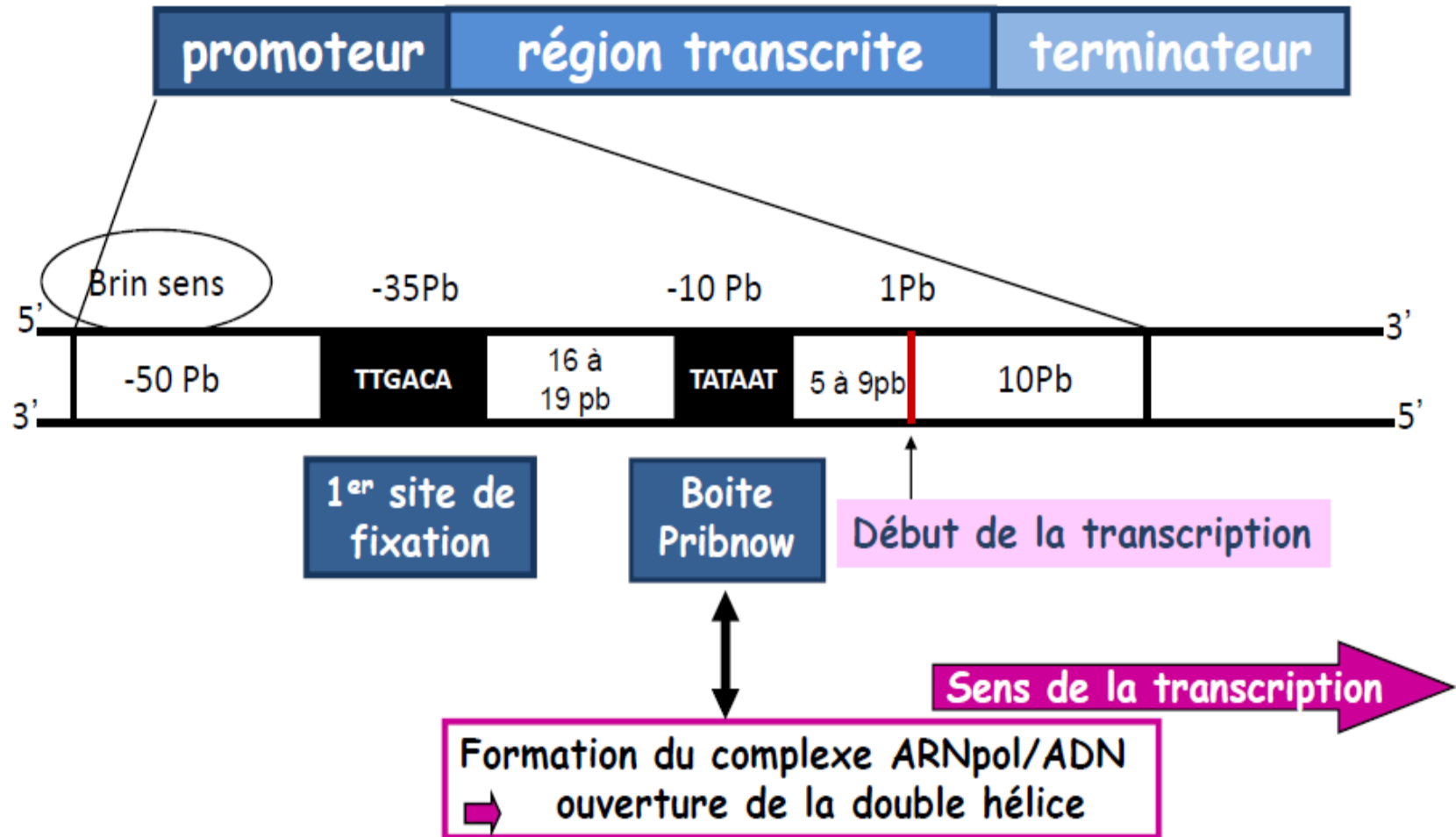
Le core de l'enzyme est un complexe protéique multimérique: 4 sous-unités  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$  et  $\omega$  ( $\alpha_2\beta\beta'\omega$ ).

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.



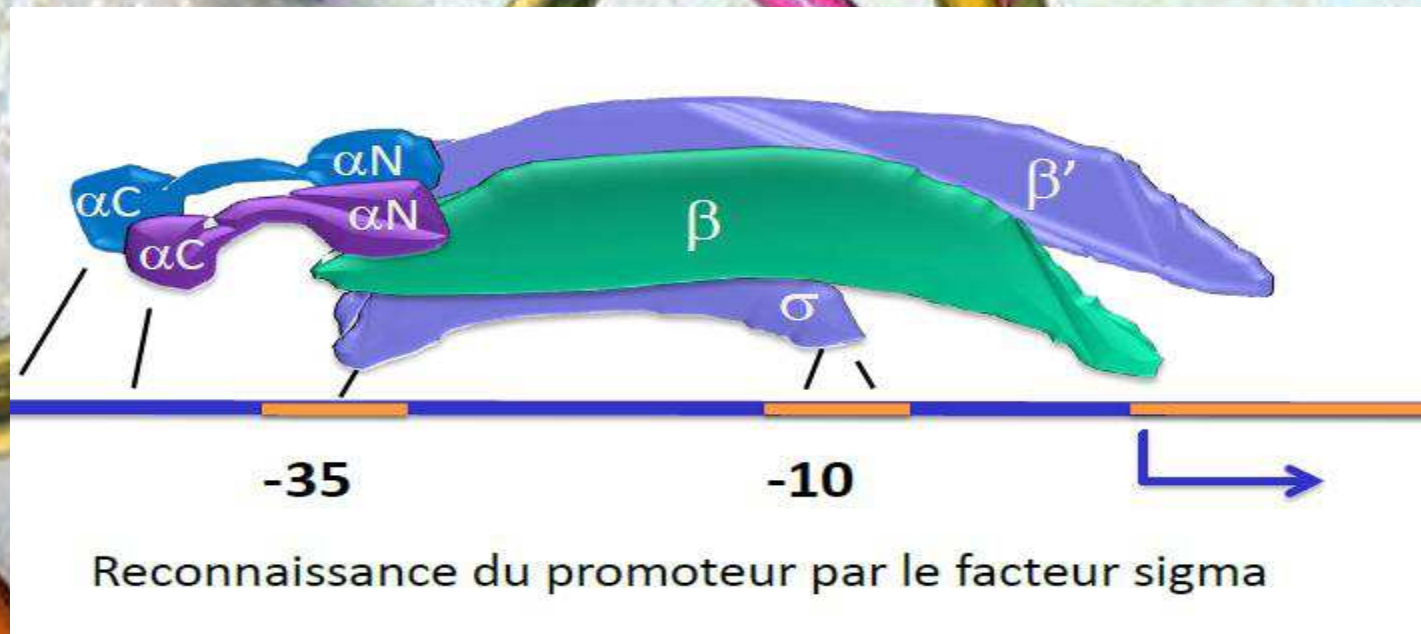
# Promoteur



# Étapes de la transcription

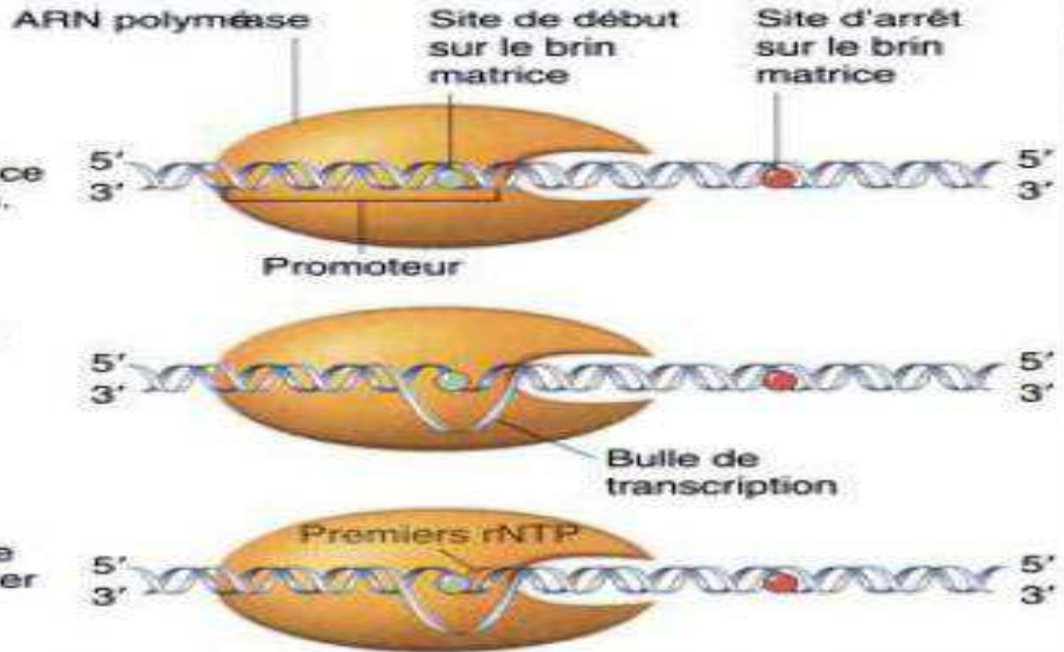
## Initiation de la polymérisation et rôle du facteur sigma :

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



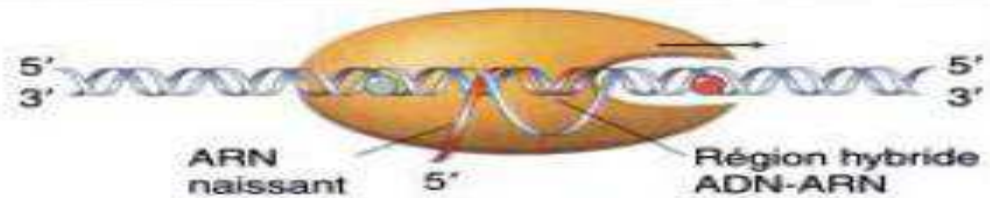
## INITIATION

- 1** La polymérase se fixe à la séquence promotrice dans l'ADN double brin. « Complexe fermé »
- 2** La polymérase sépare les deux brins d'ADN près du site de début de la transcription, formant une bulle de transcription. « Complexe ouvert »
- 3** La polymérase catalyse la liaison phosphodiester entre les deux premiers rNTP.



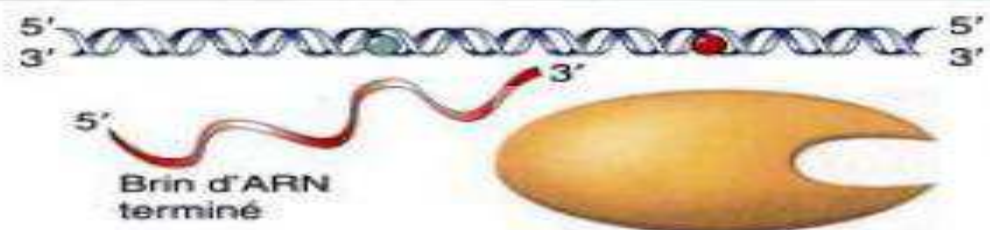
## ÉLONGATION

- 4** La polymérase avance dans le sens 3' → 5' du brin matrice, séparant les deux brins d'ADN et ajoutant des rNTP à l'ARN naissant



## TERMINAISON

- 5** Au niveau du site d'arrêt de la transcription, la polymérase libère l'ARN terminé et se dissocie de l'ADN



# Initiation de la transcription

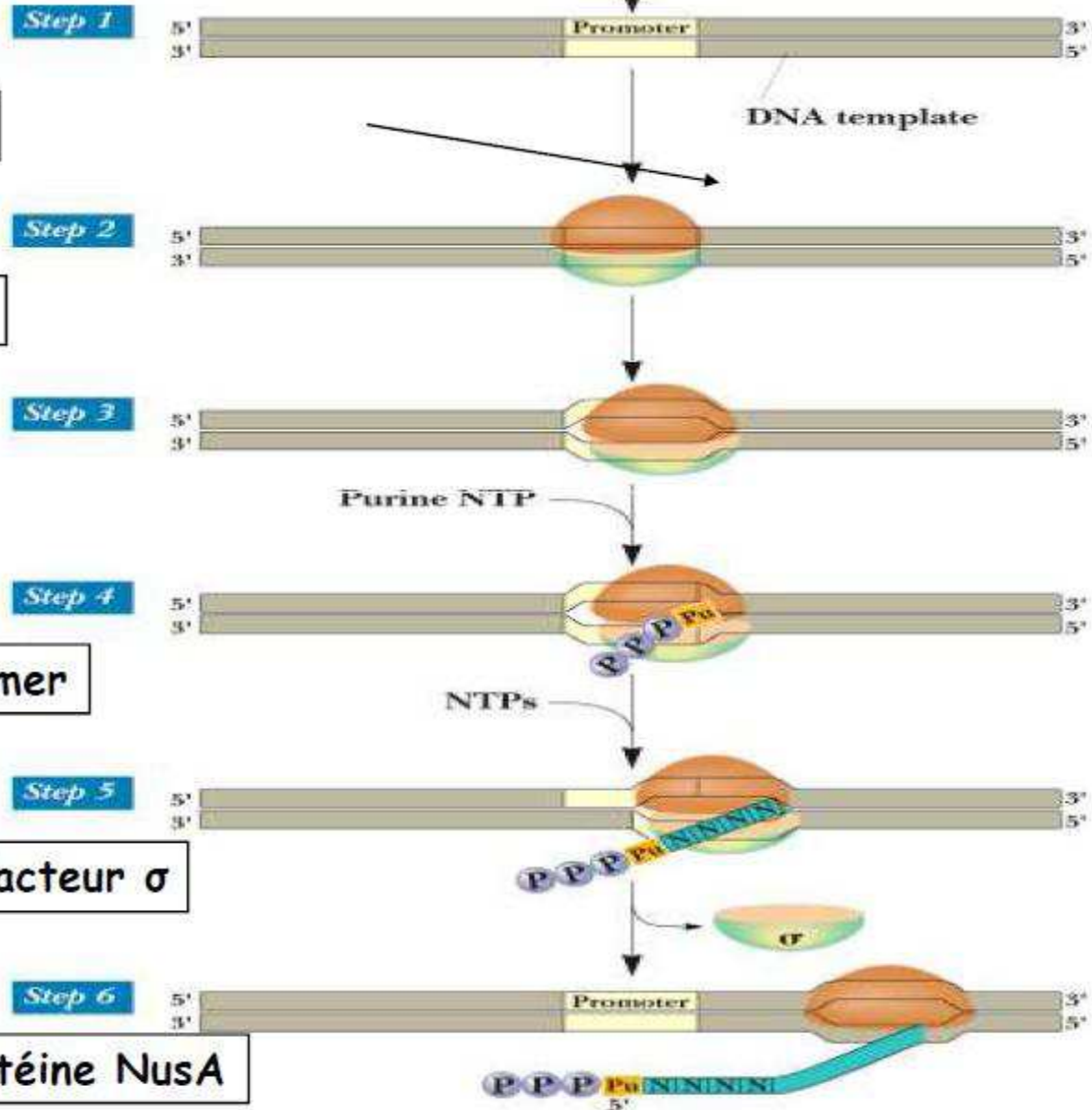
complexe fermé

complexe ouvert

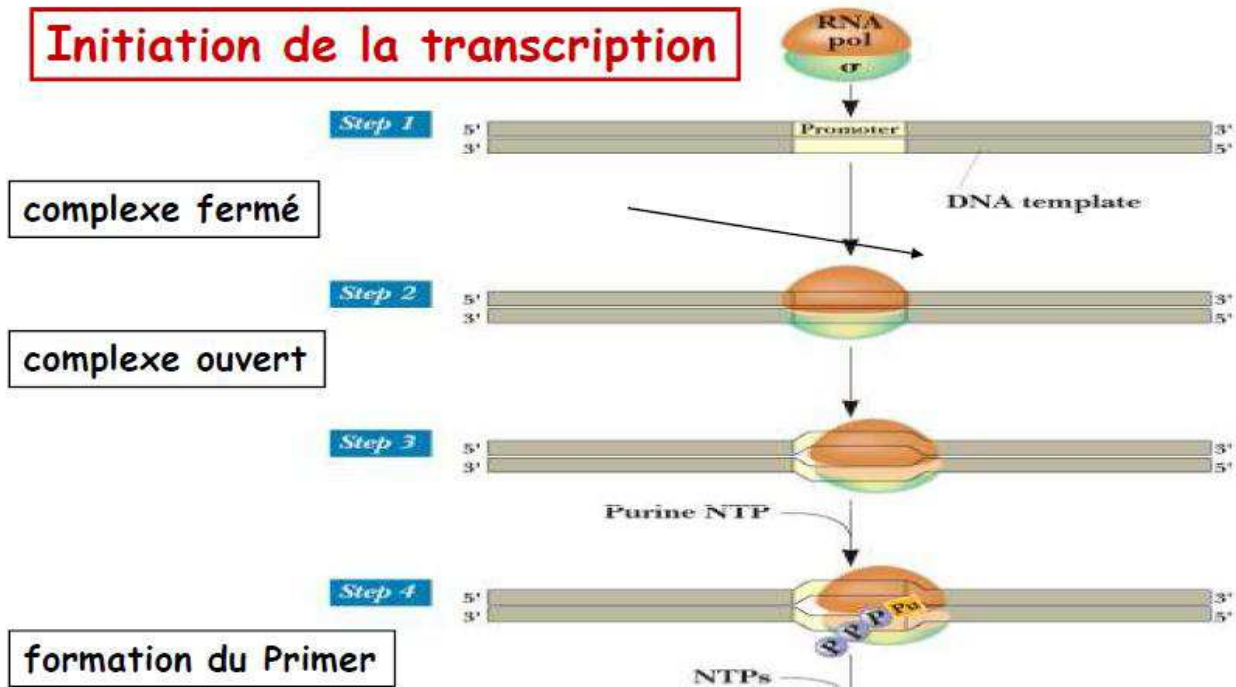
formation du Primer


Dissociation du facteur  $\sigma$

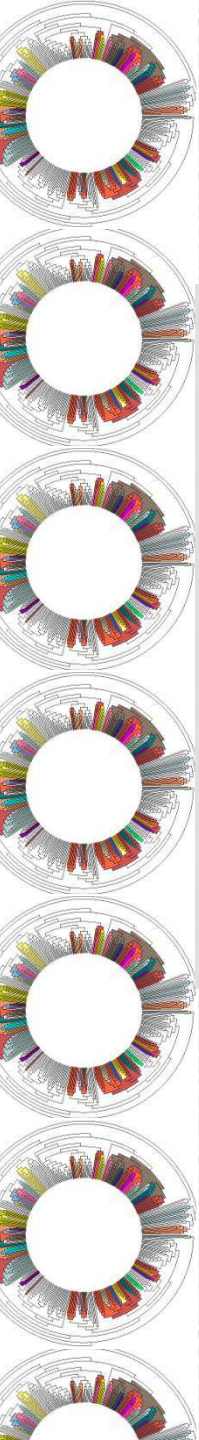
Liaison de la protéine NusA



## Initiation de la transcription



- 
- L' **initiation** représente la formation des premières liaisons nucléotidiques dans l' ARN. L' enzyme reste fixée au promoteur pendant la synthèse des 9 premières liaisons nucléotidiques environ.



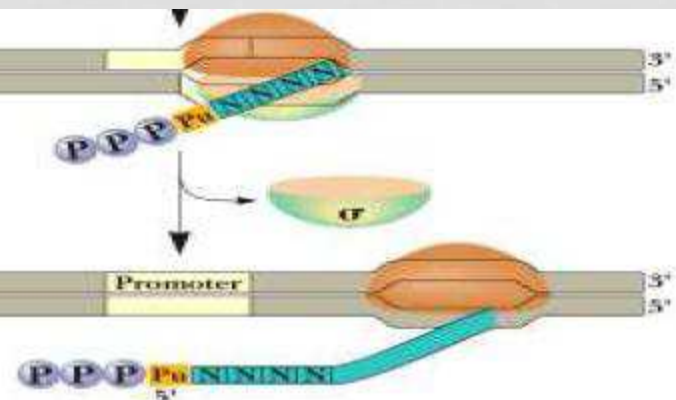
- La phase d'initiation s'arrête lorsque l'enzyme arrive à synthétiser une chaîne de plus de 9 bases et se détache du promoteur..

## C) L'ÉLONGATION

- L'enzyme se déplace le long de l'ADN et allonge la chaîne d'ARN en croissance.
- En se déplaçant, l'enzyme déroule l'hélice d'ADN pour exposer une nouvelle partie de la matrice dans un état simple-brin.

Step 5  
Dissociation du facteur  $\sigma$

Step 6  
Liaison de la protéine NusA



## - Terminaison de la transcription

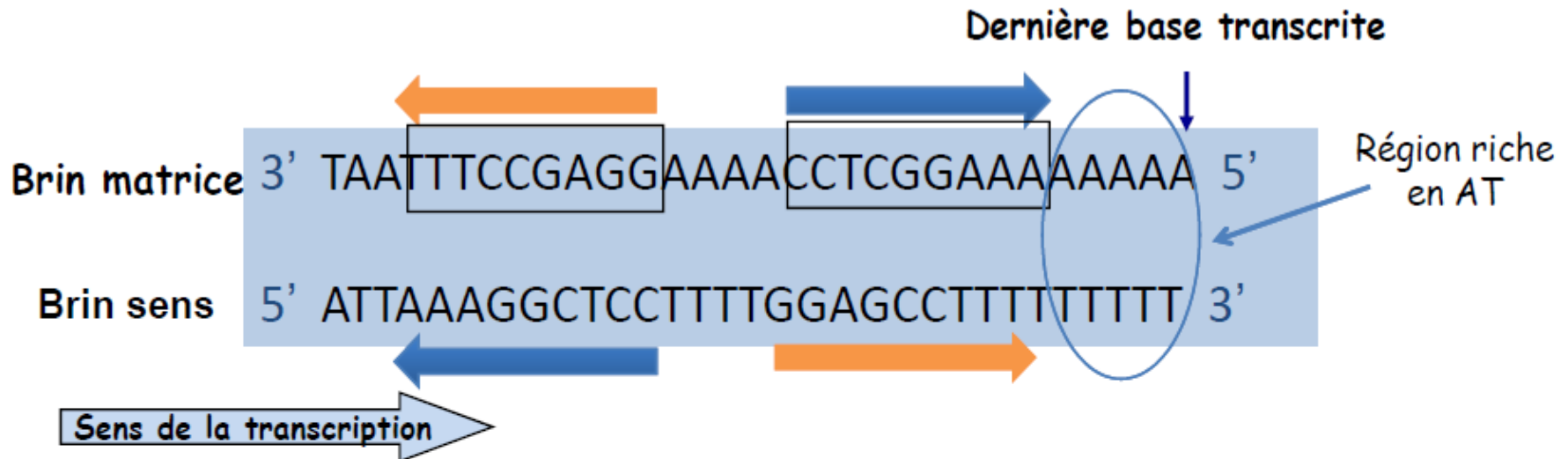
Processus conduisant à la **dissociation** des sous unités de l'ARNp après la rencontre des **signaux de terminaison**

Deux mécanismes:

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

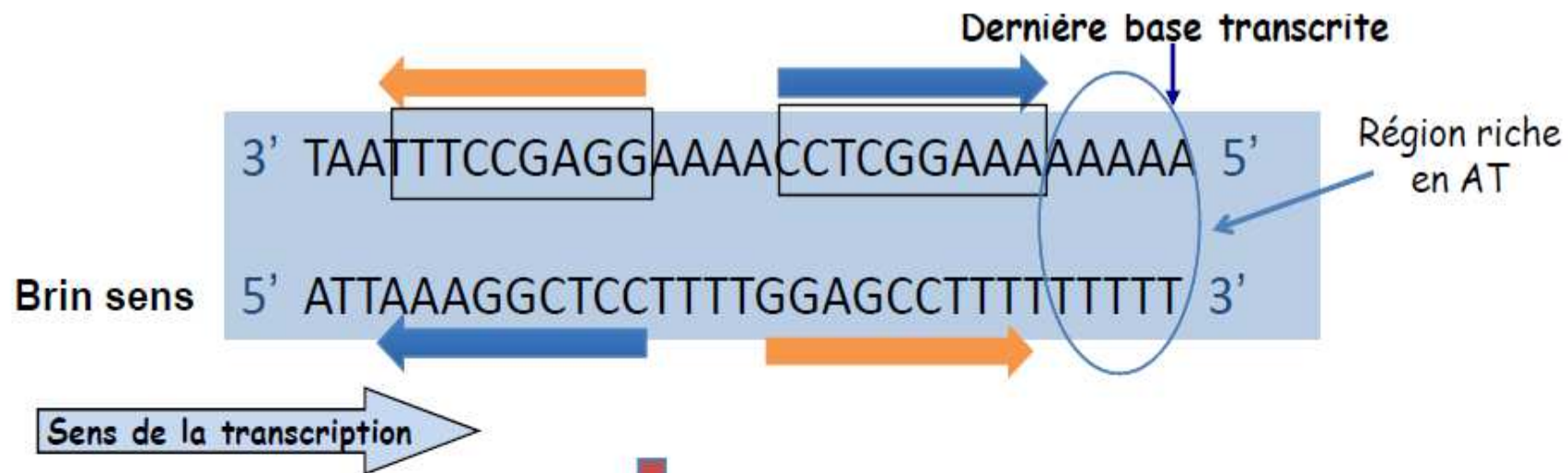
## Terminaison rho-indépendante:

## Terminateur intrinsèque



Sites spécifiques de terminaison: constitué de 3 segments caractéristiques

- deux séquences répétées inversées particulièrement riches en G et C, séparées par un court segment
- cette région palindromique est terminée par un segment de bases répétées
- Une série de 6 à 8 bases A sur le brin matrice transcrit en un poly-U (région de faible énergie)

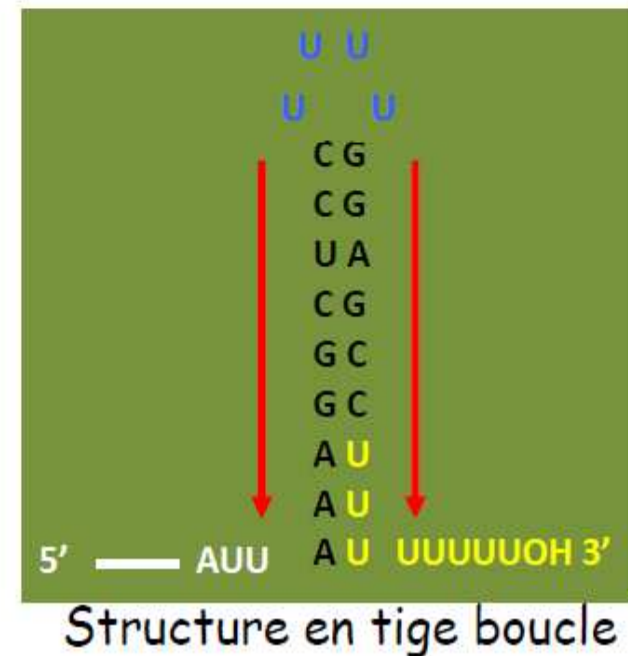


Après transcription de la région de terminaison

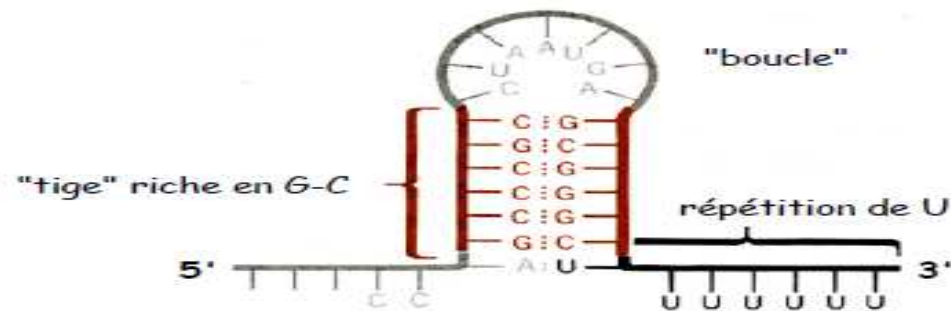


- Structure en tige-boucle ou en épingle à cheveux, déstabilise le complexe
- Séquence ARN se termine par un poly-U (région de faible énergie)

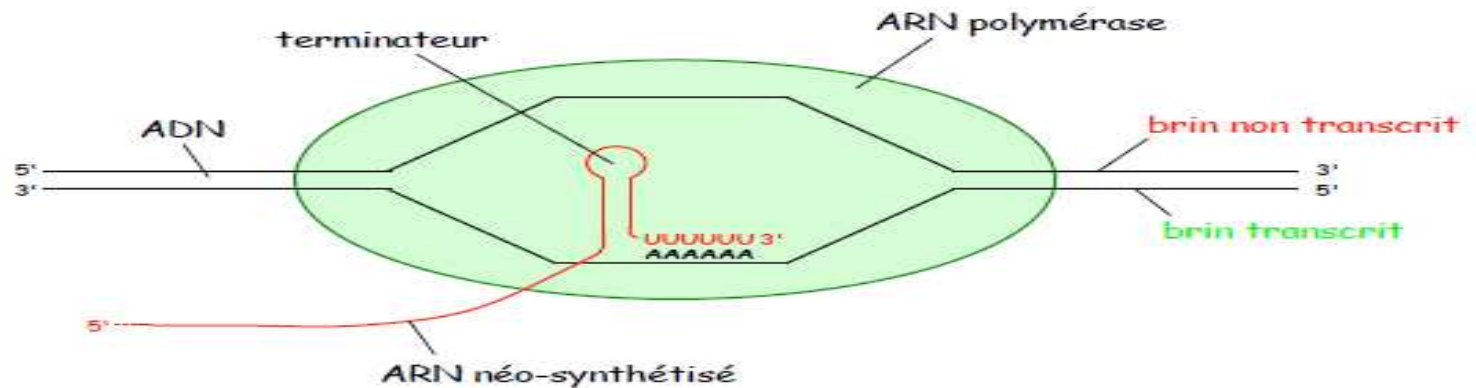
Détachement de l'ARNp



## Structure du terminateur, séquence d'ARN



## Mécanisme de terminaison de la transcription



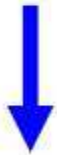
Le terminateur déstabilise les liaisons faibles entre les sous-unités de l'ARN polymérase et entraîne leur séparation et l'arrêt de la transcription.

Chez les bactéries, la transcription s'achève au niveau d'une séquence palindromique inversée. La transcription de cette séquence palindromique inversée entraîne la formation d'une épingle à cheveux au niveau de l'ARN néosynthétisé, ce qui déstabilise le complexe de transcription.

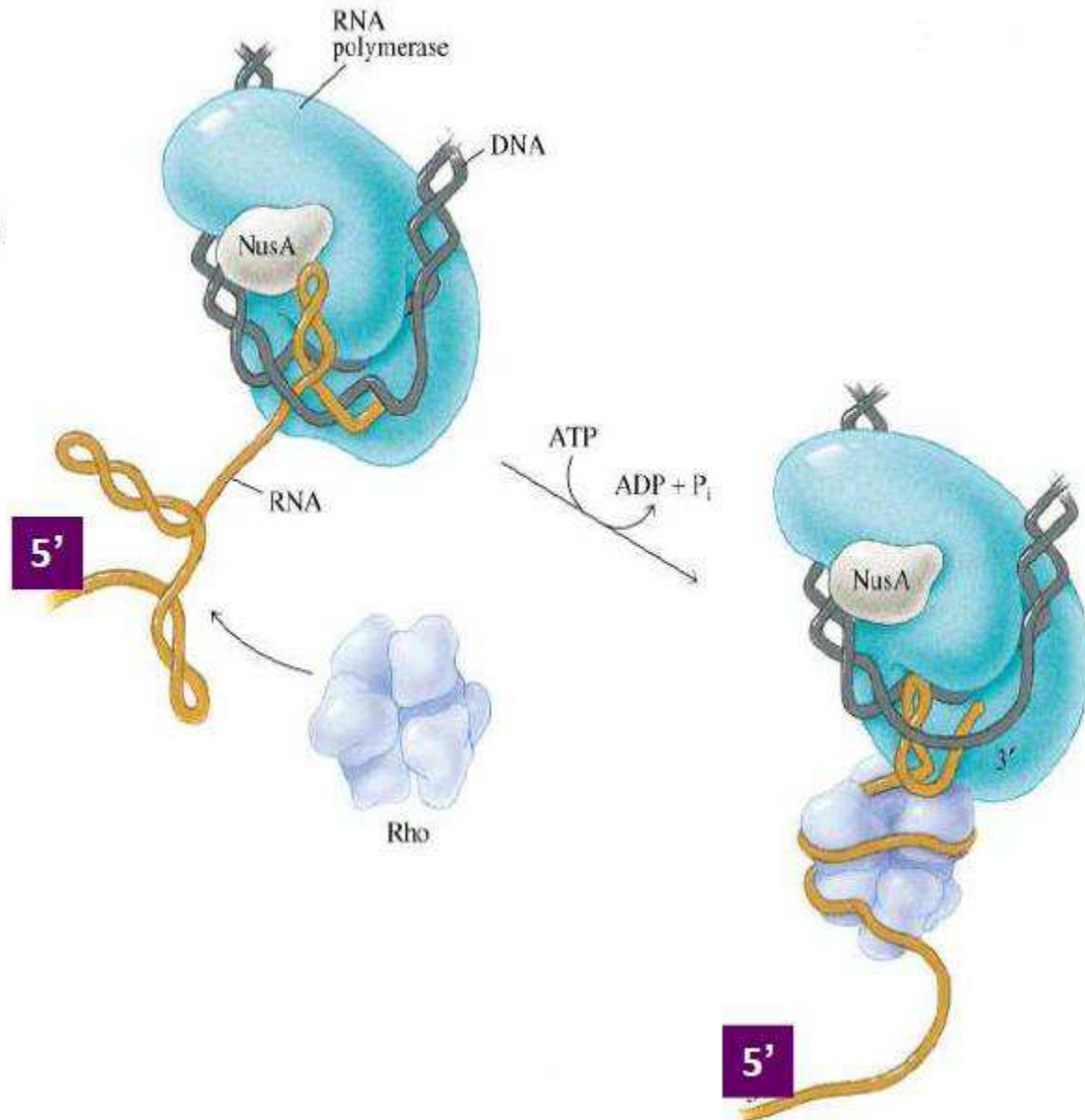
## Terminaison rho-dépendante:

## Facteur Rho:

- Hélicase ATP dépendante
- **Fixation** à l'extrémité 5' de l'ARNm, **migration** le long de l'ARN, localise le complexe pol-ARN et le **déroule**



**Libération de l'ARN**  
nouvellement synthétisé

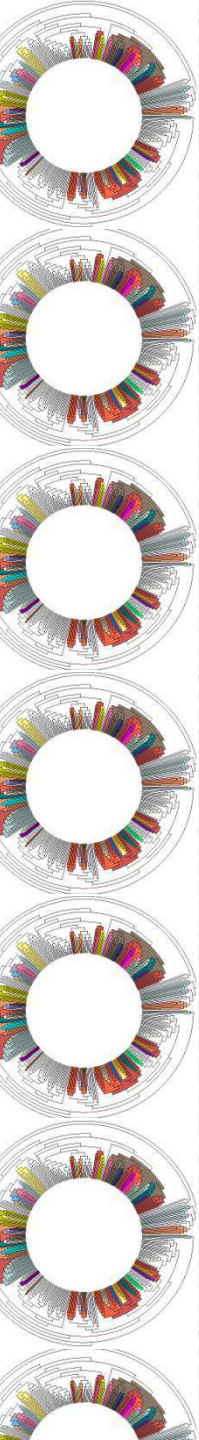




## B) TERMINATEURS EXTRINSÈQUES

- Des terminateurs rho-dépendants qui nécessitent la présence du facteur rho.
- Rho est une protéine complexe 6 sous unités

Les terminateurs rho-dépendants sont des séquences de 40 nts  
Appelés sites *rut*



- Rho se fixe à l'ARN et se déplace le long de l'ARN « aux trouses » de l'enzyme.
- Quand l'ARN polymérase ralentit au niveau du site de terminaison, rho la rattrape
- Rho déroule l'hybride ADN – ARN dans la bulle de transcription → terminaison : ARN polymérase, rho et ARN sont libérés.

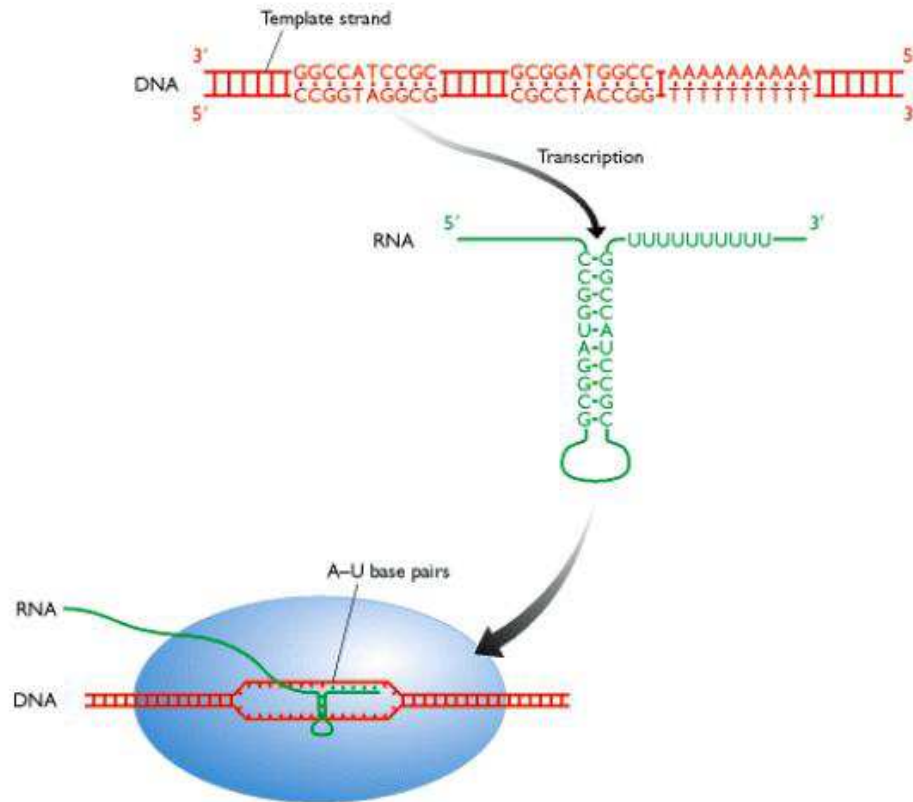


## A) TERMINATEURS INTRINSÈQUES

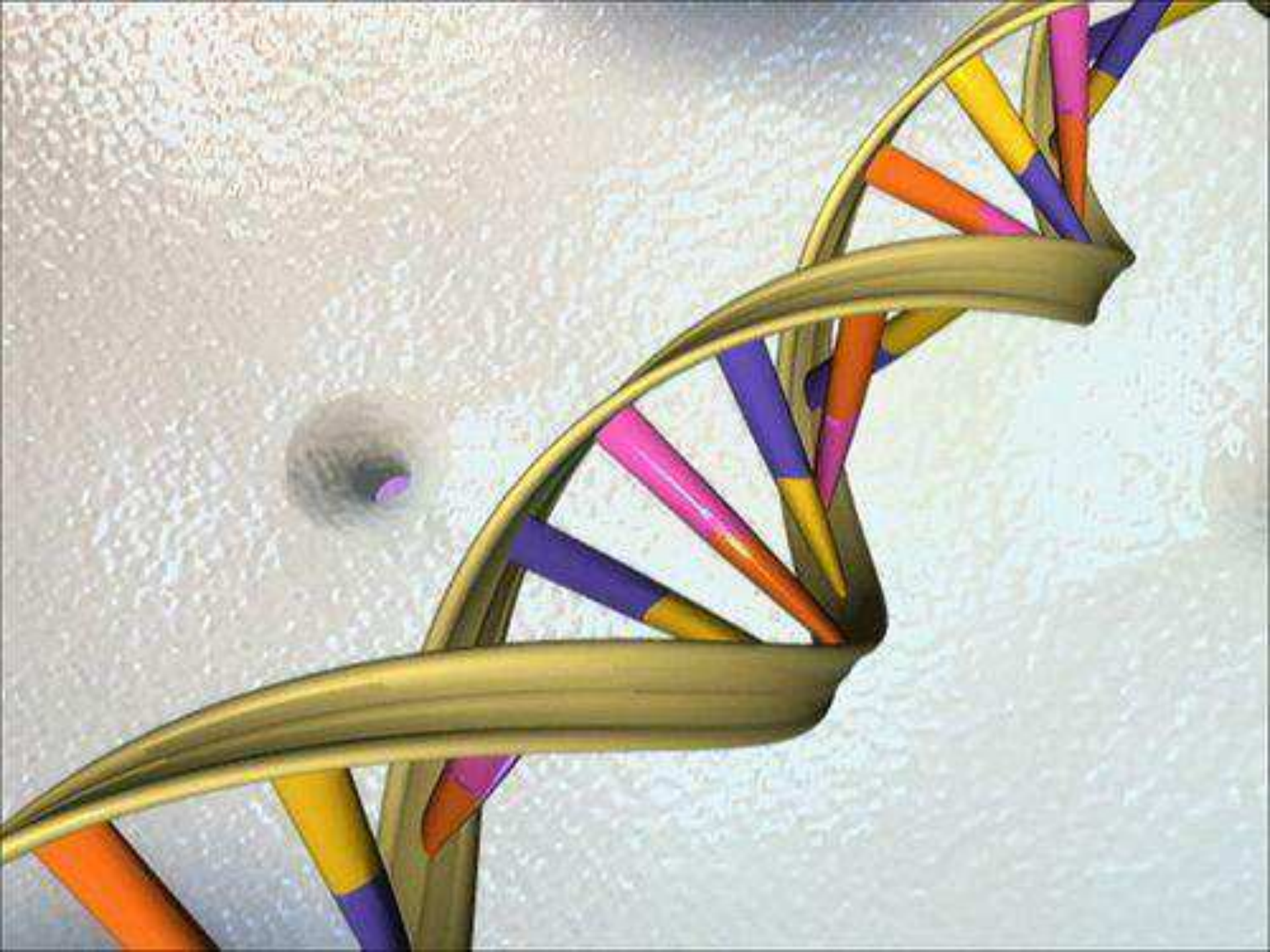
- ces séquences terminatrices se traduisent au niveau de l'extrémité de l'ARN par la présence d'une **structure en épingle à cheveux suivie d'une succession de 6 résidus U** : l'épingle à cheveux et la séquence poly-U sont généralement séparés de 7 à 9 b.
- L'épingle à cheveux ralentit la polymérase voire entraîne son arrêt. De plus, la formation des liaisons intra-chaines à l'origine de l'épingle à cheveux entre en compétition avec la formation de liaisons hydrogène entre l'ADN et l'ARN et donc déstabilise l'hybride ADN-ARN

### 3-2-3 Terminaison de la transcription des ARNm

#### 3-2-3-1 chez les bactéries



Chez les bactéries, la transcription s'achève au niveau d'une séquence palindromique inversée. La transcription de cette séquence palindromique inversée entraîne la formation d'une épingle à cheveux au niveau de l'ARN néosynthétisé, ce qui déstabilise le complexe de transcription.





# I- La transcription chez les eucaryotes

## 1- les ARN polymérases:

- 3 ARNpol différentes: ARN pol I, ARN Pol II, ARN Pol III  
compositions et fonctions différentes, structures similaires
- multimériques (8 à 12 s. u.); >500kDa

## Functions of the three eukaryotic nuclear RNA polymerases

Polymerase

Genes transcribed

---

RNA polymerase I

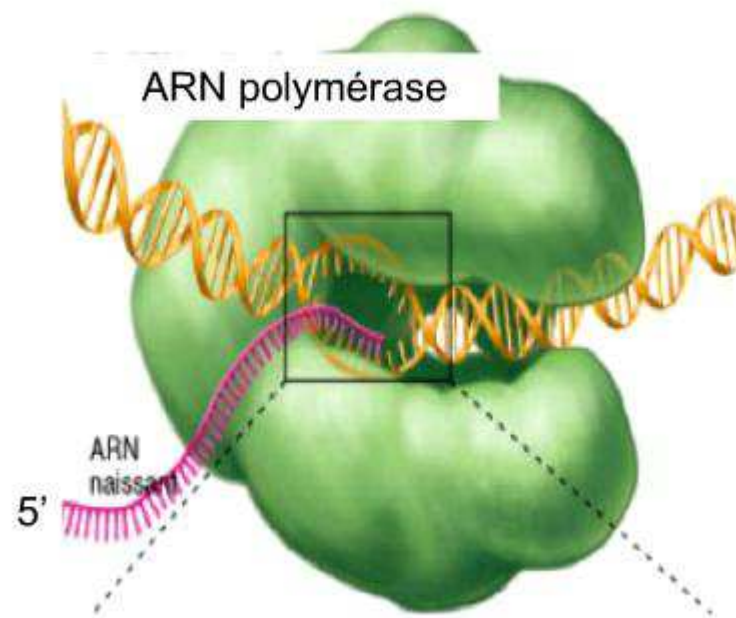
(nucléole) 28S, 5.8S and 18S  
ribosomal RNA (rRNA) genes

RNA polymerase II

Protein-coding genes; most  
small nuclear RNA (snRNA)  
genes

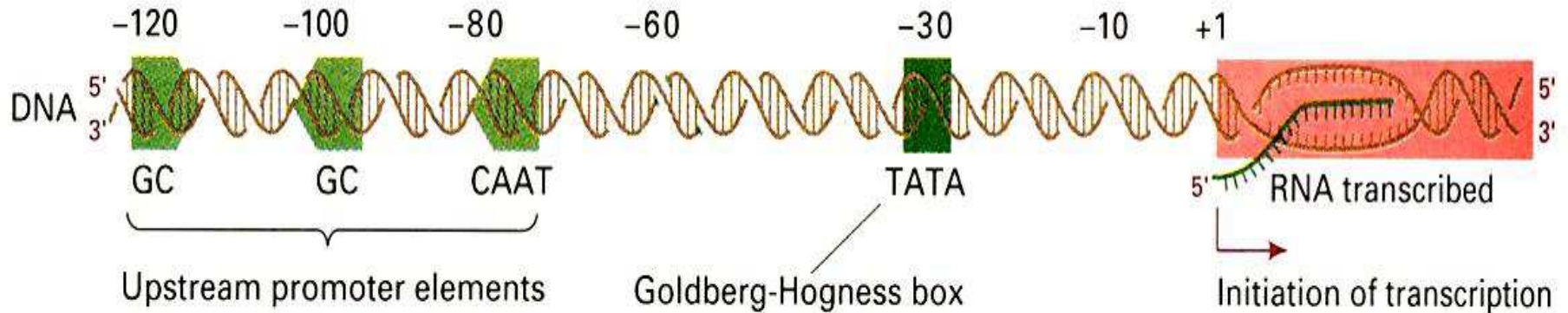
RNA polymerase III

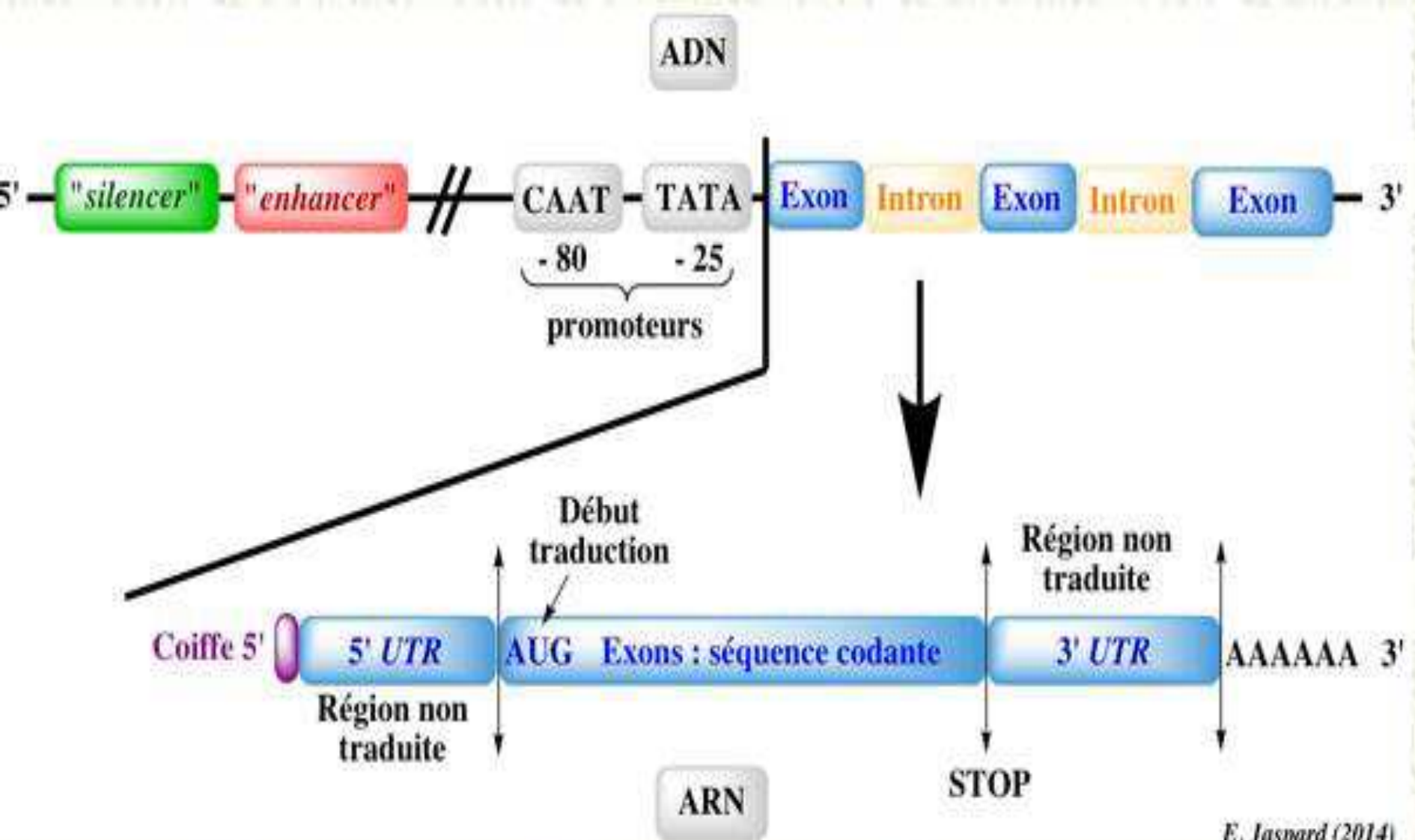
Genes for transfer RNAs  
(tRNA), 5S rRNA, U6-snRNA,  
small nucleolar (sno) RNAs,  
small cytoplasmic (sc) RNA  
L'ARNpol



## 2- Le promoteur

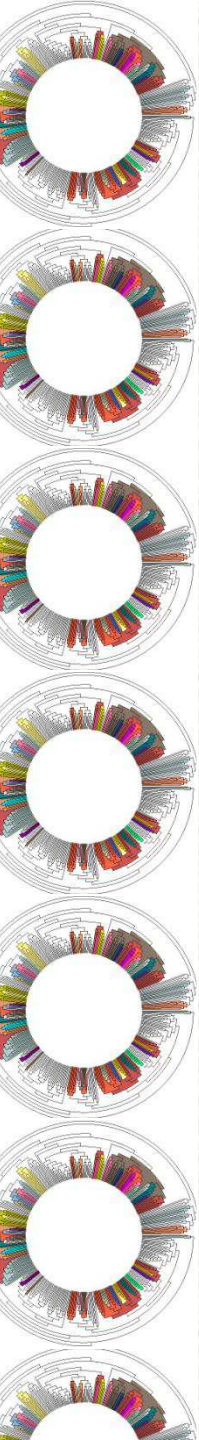
Le promoteur correspond à une région non transcrite de l'ADN, généralement juste en amont du début de la région transcrite, dont la séquence permet le recrutement de l'ARNpol II.



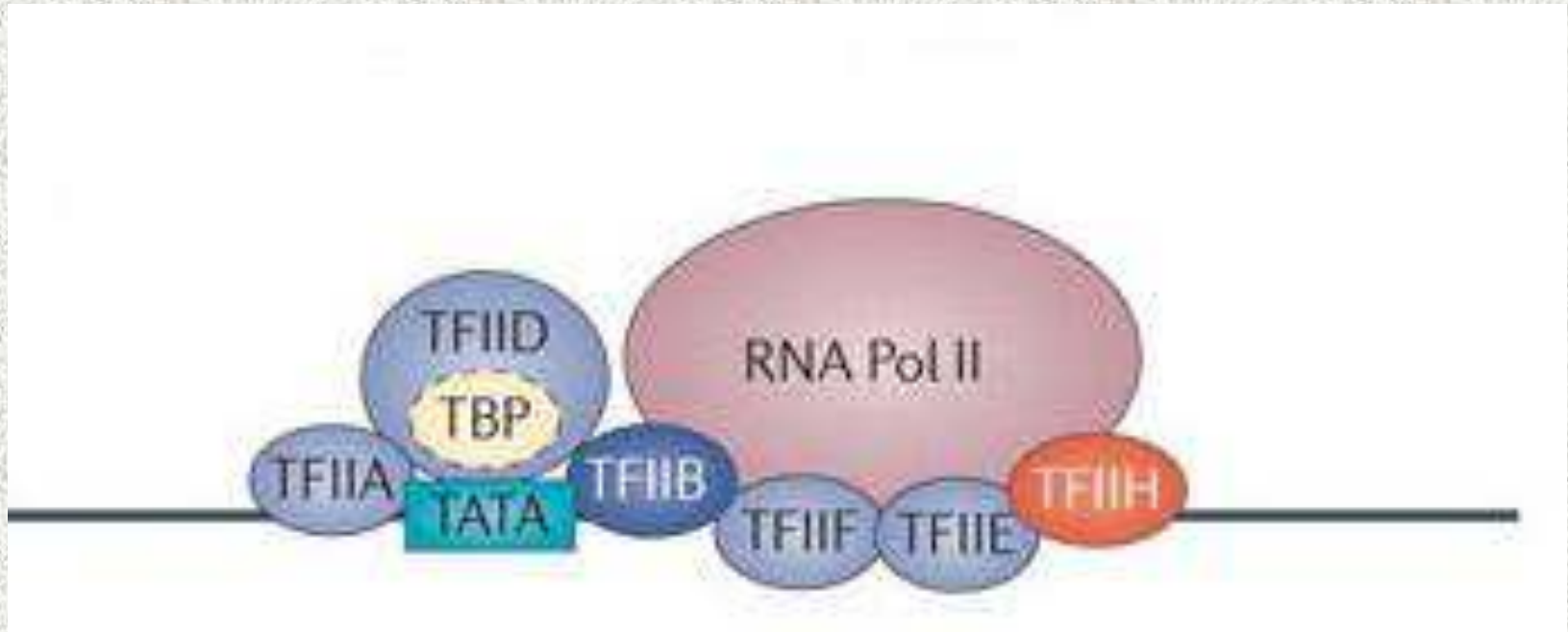
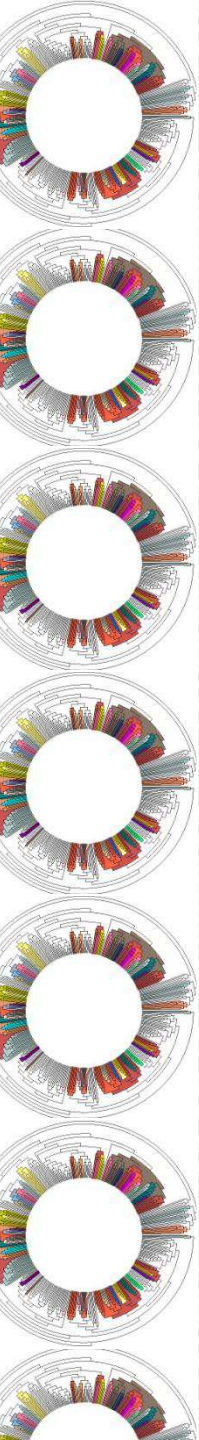


E. Jaspard (2014)





- L'ARNpol II des eucaryotes ne reconnaît pas seule le promoteur proximal.
- Elle effectue ce travail en compagnie de nombreux co-facteurs protéiques qui se recrutent les uns les autres et qui forment avec elle un complexe d'initiation.
- Ces facteurs sont notés TFIIA, TFIIB, etc... pour Transcription Factor for RNA polymerase II.
- Ils correspondent aux facteurs généraux de la transcription car ils s'assemblent sur tous les promoteurs utilisés par l'ARNpol II.



L'ARN polymérase II purifiée ne suffit pas pour initier au site +1 la transcription in vitro.

Facteurs nécessaires : les GTF : TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIIE, TFIIF et TFIIH

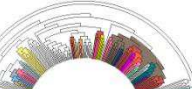
Presque tous les GTF sont constitués par plusieurs s/unités.

Ex : TFIID= TBP (TATA-Binding Proteins) + plusieurs TAF (TBP-Associated Factors).

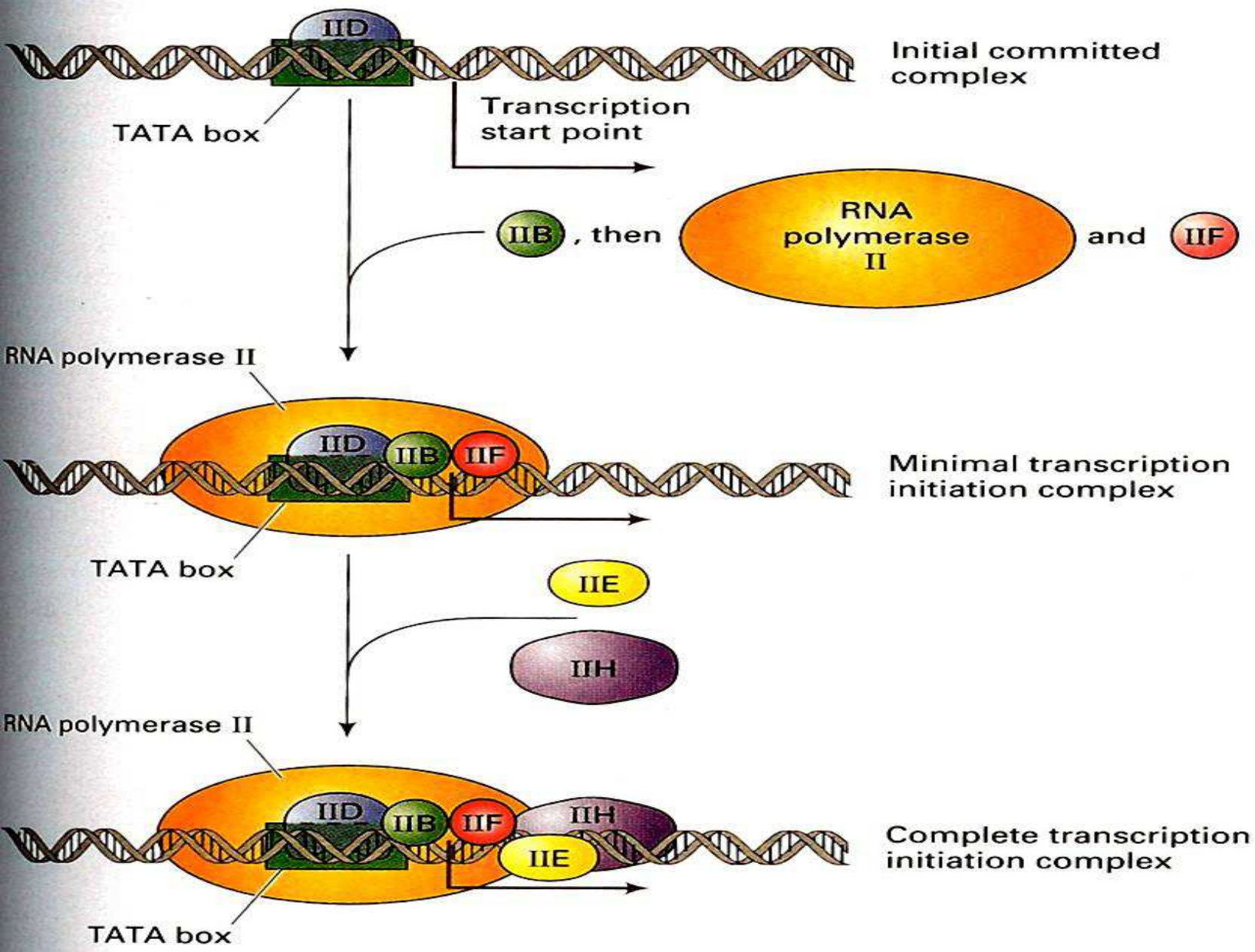
**TBP contacte l'ADN et est présente pour la transcription avec les trois ARN polymérases**

### Functions of human general transcription factors (GTFs)

| GTF                          | Function  |
|------------------------------|---|
| <b>TFIID (TBP component)</b> | Recognition of the TATA box and possibly Inr sequence; forms a platform for TFIIB binding   |
| TFIID (TAFs)                 | Recognition of the core promoter; regulation of TBP binding   |
| TFIIA                        | Stabilizes TBP and TAF binding  |
| TFIIB                        | Intermediate in recruitment of RNA polymerase II; influences selection of the start point for transcription   |
| <b>TFIIF</b>                 | <b>Recruitment of RNA polymerase II</b>   |
| TFIIIE                       | Intermediate in recruitment of TFIIH; modulates the various activities of TFIIH   |
| <b>TFIIH</b>                 | Helicase activity responsible for the transition from the closed to open promoter complex; influences promoter clearance by phosphorylation of the C-terminal domain of the largest subunit of RNA polymerase II. CAK (cdk7/cyclin H) |

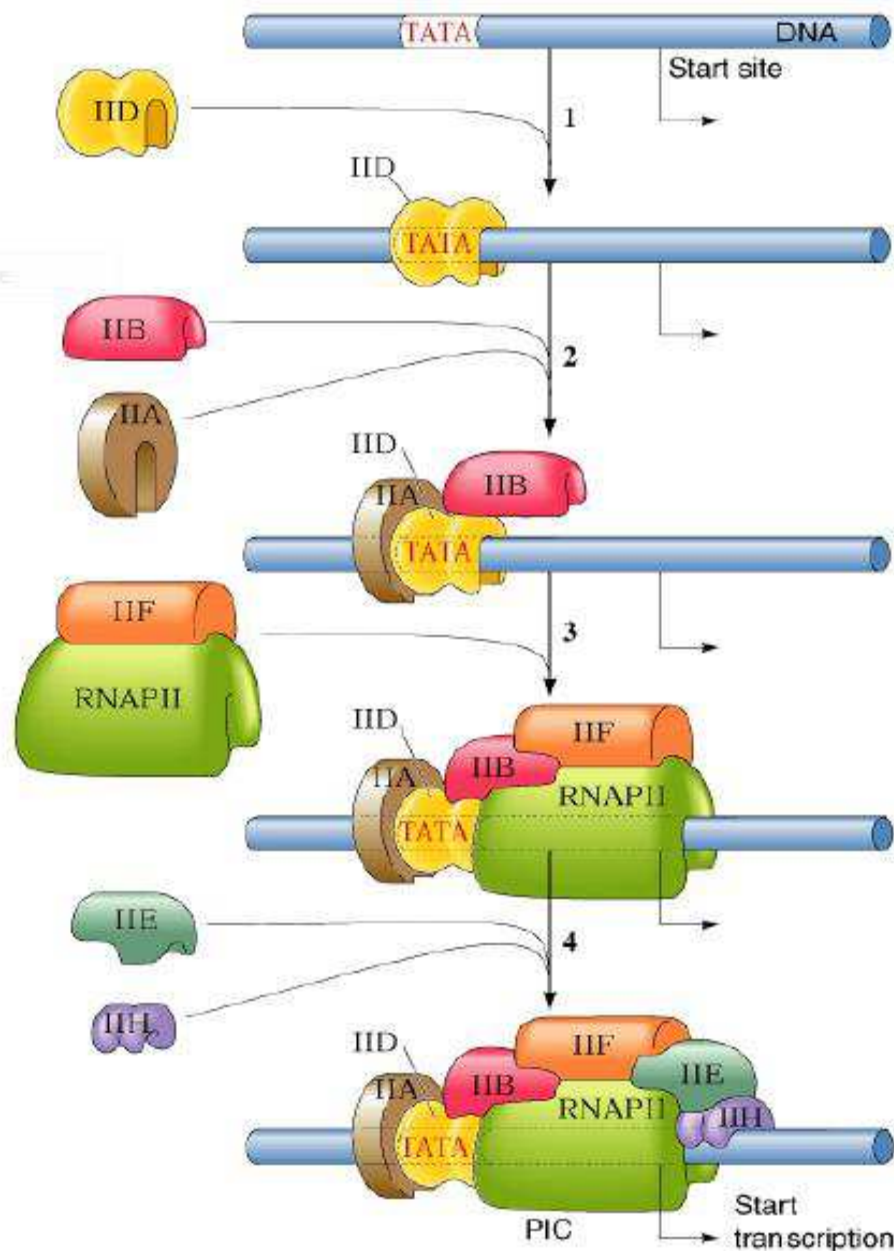


Schematic of the events that may occur during the initiation of transcription catalyzed by RNA polymerase II. See text for detailed description of events.





Les facteurs TFIIA  
Le facteur TFIIA  
est la première étape  
stabilisatrice  
Le facteur TFIIH  
est constituée par  
La phosphorylation  
du facteur TFIIH  
Un du  
facteur TFIIH  
phosphorylation de de  
l'unité sérique sur le  
transcrit est  
phosphorylé fixe  
sur la boîte  
TATA  
pour recruter le  
ARN  
polymérase II et le  
facteur TFIIF  
d'initiation de la  
transcription  
déclenche le début  
de la transcription



Les autres sous-unités de TFIID, les TAFs (*TBP Associated Factors*), ne sont pas en contact direct avec l'ADN mais se lient à TBP, comme un " cavalier " sur sa selle).

Les facteurs de transcription spécifiques, activateurs et répresseurs, interagissent, directement ou indirectement, avec les TAFs, la régulation de la transcription reposant sur l'intégration de ces signaux.

- ② **TFIIA et TFIIIB** se lient au complexe TFIIIC-ADN pour le stabiliser.
- ③ **TFIIIB** recrute **TFIIF** préalablement fixé à l'*ARN polymérase*, ce qui permet à l'enzyme de se lier au complexe précédent.
- ④ **TFIIE**, puis **TFIIH** (recruté par TFIIE) complètent le **complexe de pré-initiation**. TFIIH a une double activité enzymatique : *hélicase ATP-dépendante* et *protéine kinase* dont le substrat est la queue CTD de l'*ARN polymérase*.

TFIIH est le plus complexe des facteurs de transcription généraux. Chez l'Homme, il est composé de 9 sous-unités dont certaines sont par ailleurs impliquées dans d'autres processus cellulaires : les *hélicases* XPB et XPD dans la réparation de l'ADN (par excision de nucléotides), le complexe *CAK* (*CDK Activates Kinase* contenant cycline H, CDK7 et MAT1) dans le déroulement du cycle cellulaire.

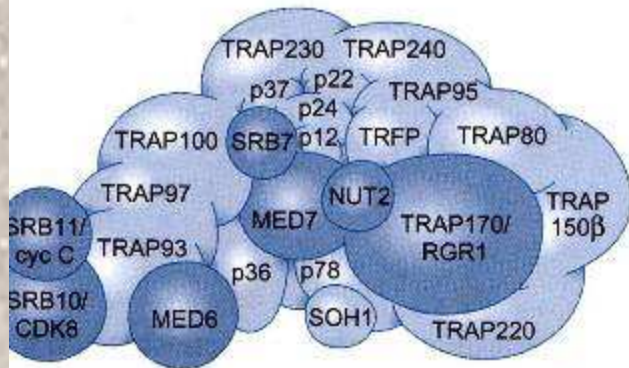
Le complexe de pré-initiation a environ les 2/3 de la taille d'un ribosome.

- ⑤ La transcription est déclenchée par la **phosphorylation de CTD** et l'activité *hélicase* de TFIIH qui ouvre la double hélice entre les positions -9 et +2 de part et d'autre du site d'initiation pour former la bulle transcriptionnelle.

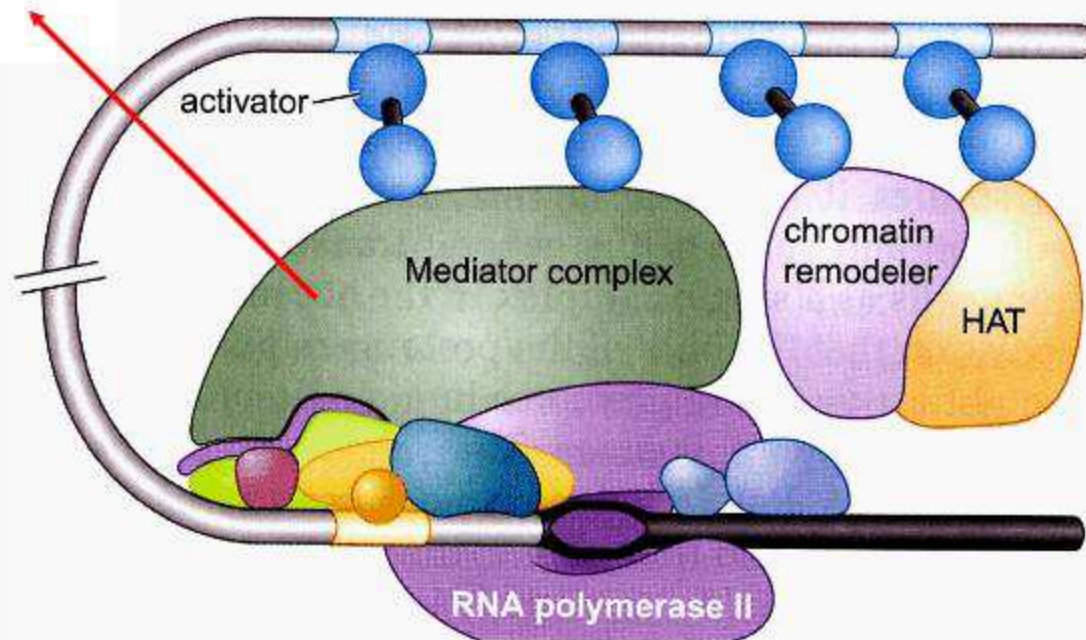
Ainsi, contrairement à ce qui se passe chez les procaryotes, l'initiation de la transcription chez les eucaryotes consomme de l'ATP.

Le démarrage de la transcription consiste en l'avancée de l'*ARN polymérase II*, libérant le promoteur (*promotor clearance*) pour d'autres molécules d'*ARN polymérase*. Les TFIIA, IIB et IIC sont " abandonnés " sur place. Jusqu'à la position +10,

in vivo, la formation du complexe pré-initiateur nécessite de nombreux facteurs protéiques et s'accompagne d'une modification de la structure de la chromatine

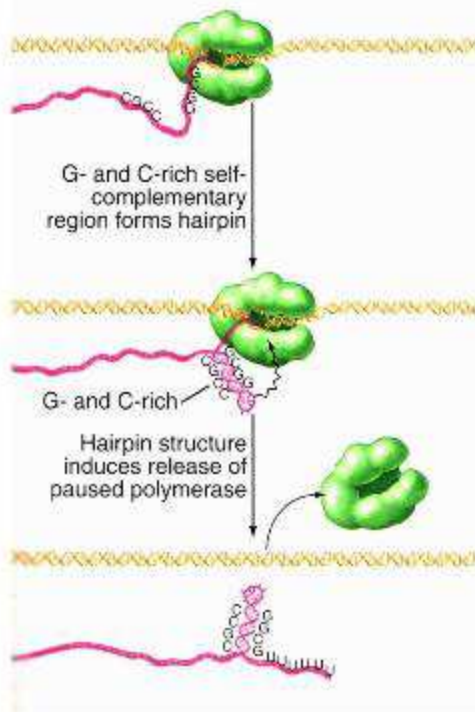


human mediator

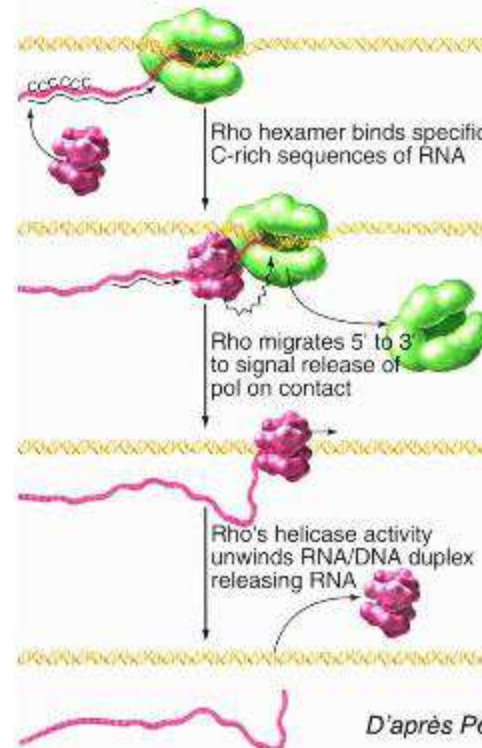


- ❖ L'arrêt de la transcription chez les procaryotes fait intervenir des séquences « terminateur » et des facteurs de terminaison (facteur rho)

A. Rho-independent termination



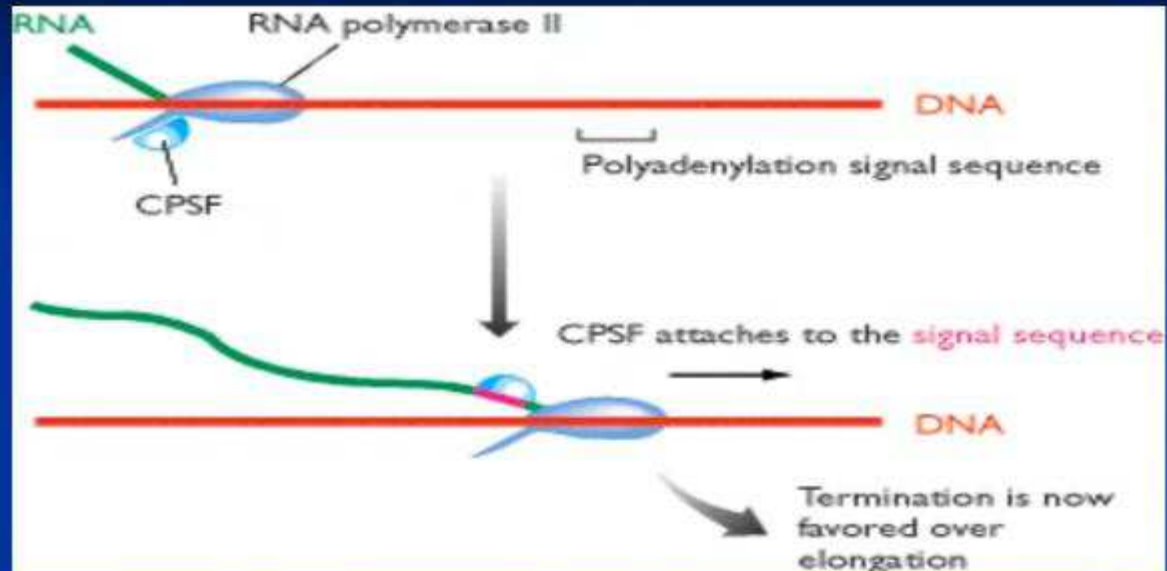
B. Rho-dependent termination



*D'après Pollard and Earnshaw, Cell Biology, 2008*

- ❖ Chez les eucaryotes, la terminaison de l'activité pol III impliquerait des séquences riches en résidus U, celle de Pol I un facteur protéique qui bloquerait la transcription. En ce qui concerne Pol II, la terminaison est couplée à la maturation des ARNm

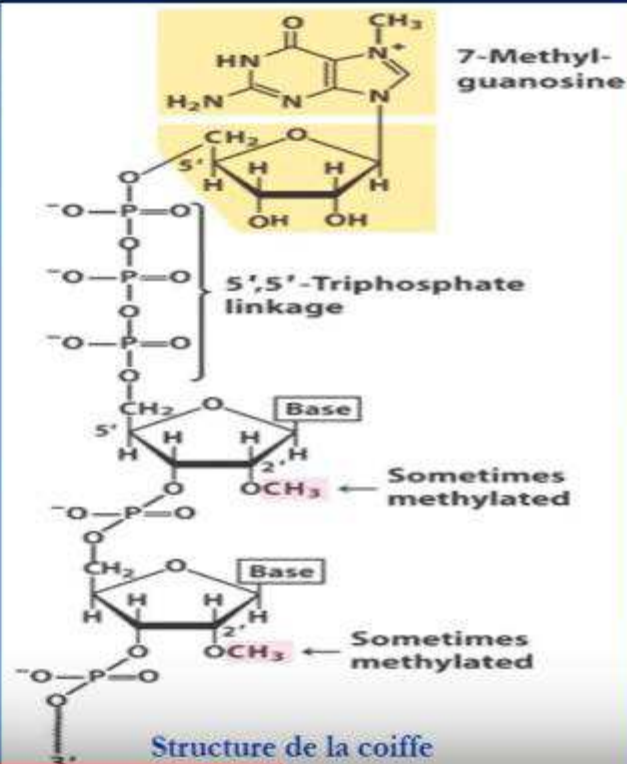
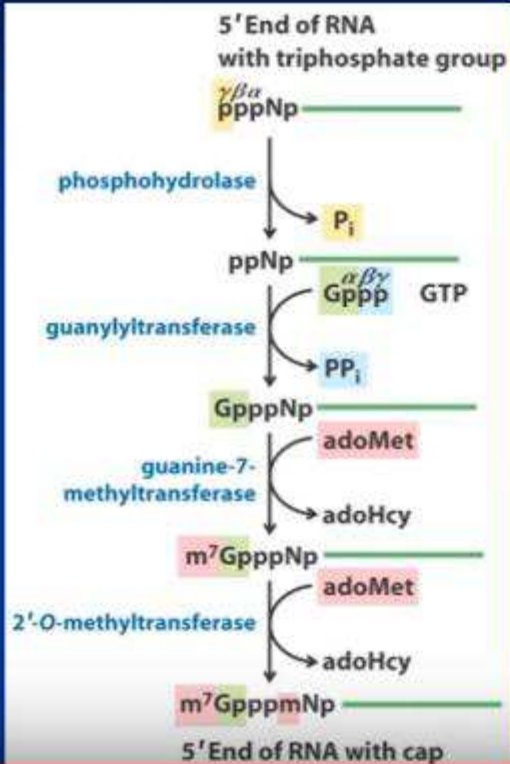
#### 1.4. Terminaison de la transcription



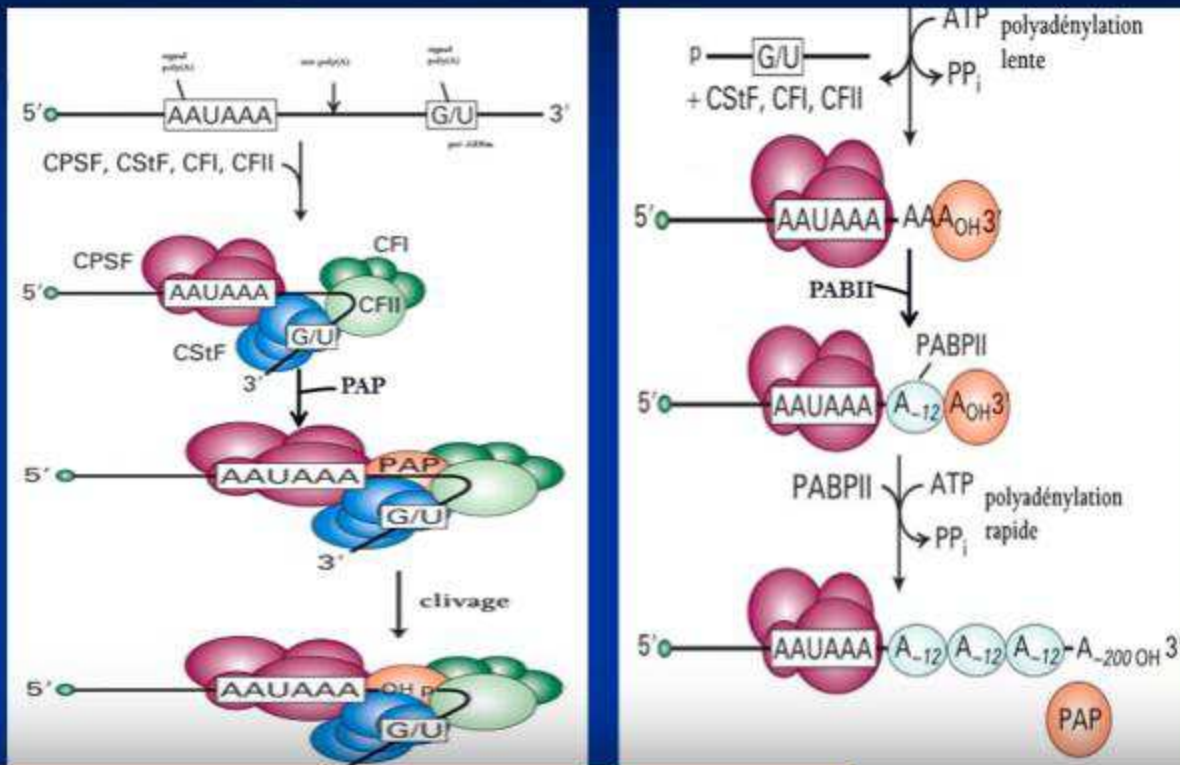
la transcription se termine aux alentours de la séquence de polyadénylation. Une fois la séquence de polyadénylation transcrite (en rose), la protéine CPSF (cleavage and polyadenylation specificity factor) qui était associée à l'ARN polymérase s'y lie. La perte de l'interaction CPSF/ARN polymérase déstabilise le complexe de transcription.

## 2.1. La maturation des ARNm, une spécificité des eucaryotes

### 2.1.1. L'ajout de la coiffe (capping)

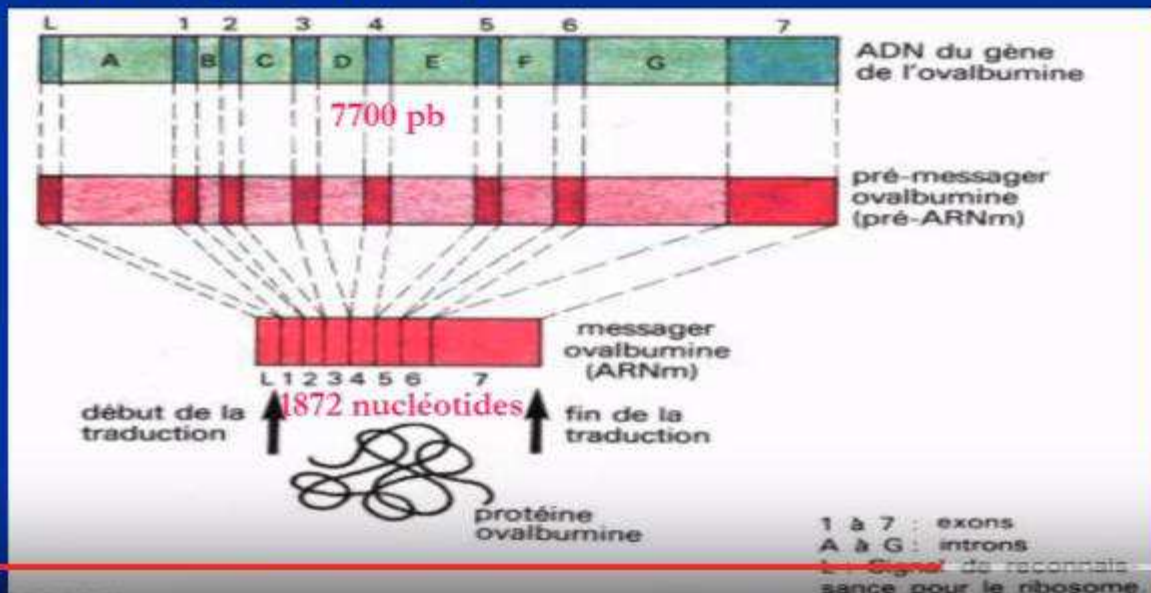


## 2.1.2. Modèle du clivage et de la polyadénylation des pré-ARNm dans les cellules de mammifères

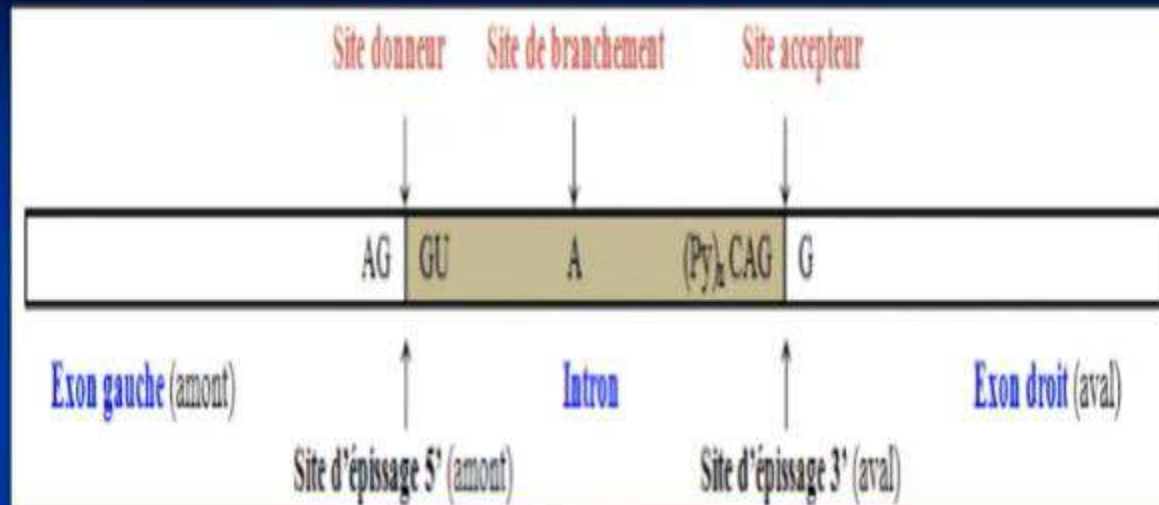


### 2.1.3. Epissage des ARN transcrits

- Les Exons sont des régions de l'ADN contenant l'information génétique (régions traduites)
- Les Introns sont des régions de l'ADN qui seront éliminés lors de la maturation des ARNm (régions non traduites)



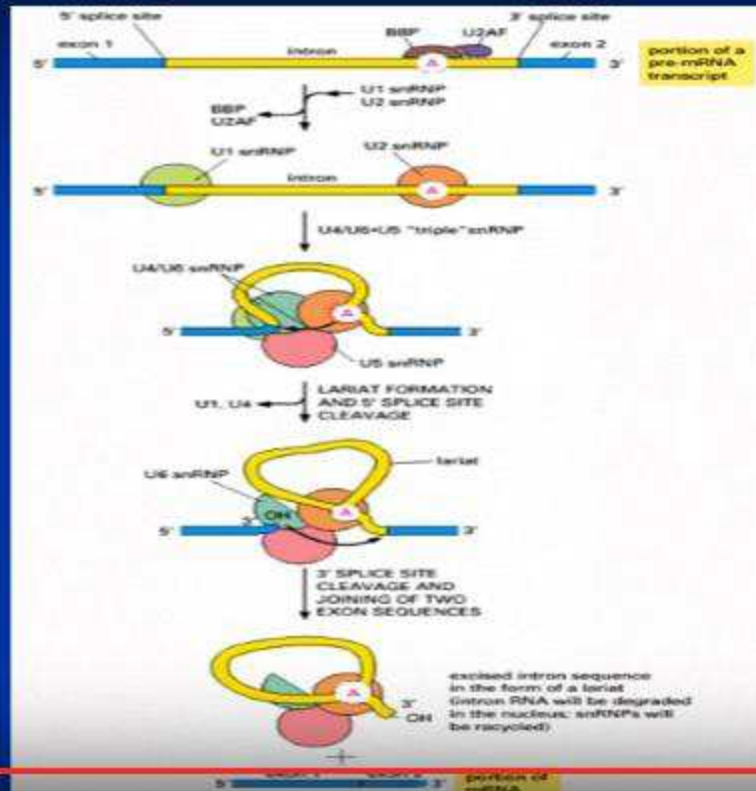
### 2.1.3.1. Les sites d'épissage



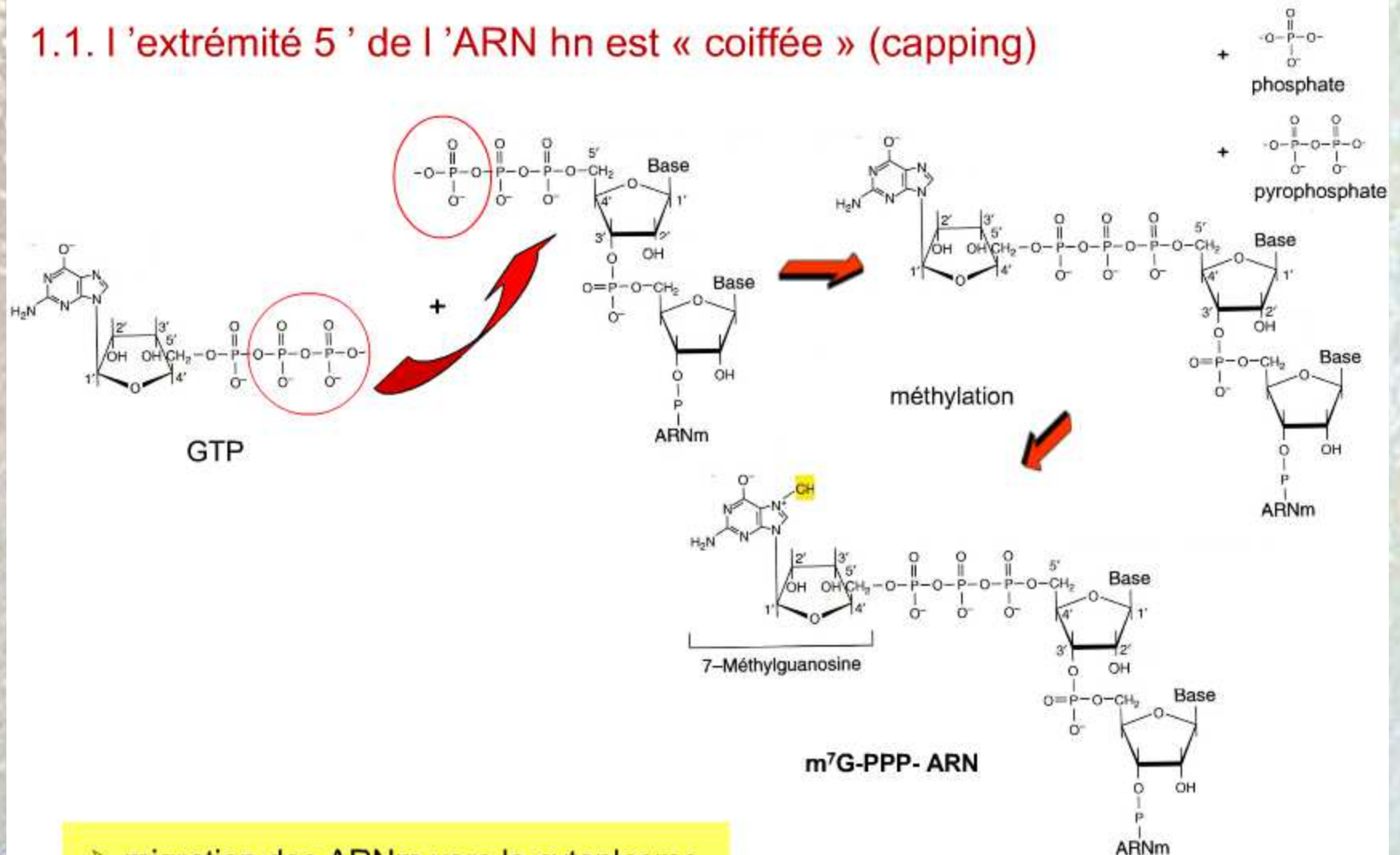
- Bordure 5' de l'intron : GU (site donneur)
- Bordure 3' de l'intron : AG (site accepteur)
- Nucléotides adjacents à GU et AG sont aussi plus ou moins conservés
- Un A (site de branchement)
- entre la bordure 3' et le A : région riche en pyrimidines

### 2.1.3.4. Principe général du mécanisme d'épissage.

L'épissage est catalysé par des snRNP (small nuclear Ribonucleotide Particles) symbolisées par des ronds colorés, plus d'autres protéines (la plupart ne sont pas représentées), l'ensemble constituant le spliceosome. Les RNP sont des structures multimoléculaires composées de protéines et de petits ARN. U1 et U2 se fixent d'abord sur le pré-messager, puis U4 et U6 viennent interagir avec U1 et U2, ce qui rapproche les deux extrémités exoniques. Puis l'activité catalytique du spliceosome permet de cliver la séquence intronique et de liguer les séquences exoniques.

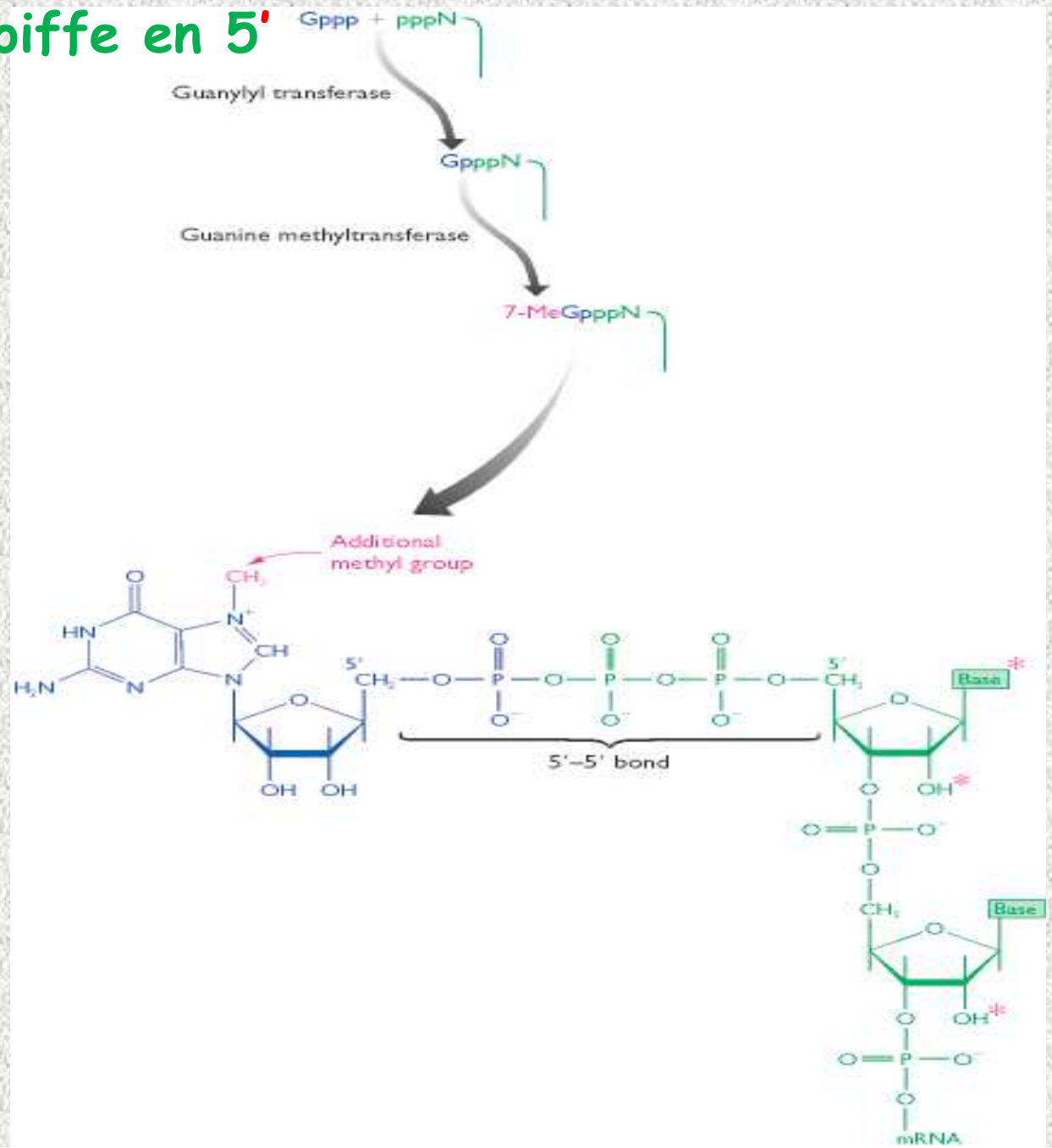


## 1.1. l'extrémité 5' de l'ARN hn est « coiffée » (capping)



- migration des ARNm vers le cytoplasme
- favorise l'initiation de la traduction
- stabilise l'extrémité 5' des ARNm

# 1- Addition de la coiffe en 5'



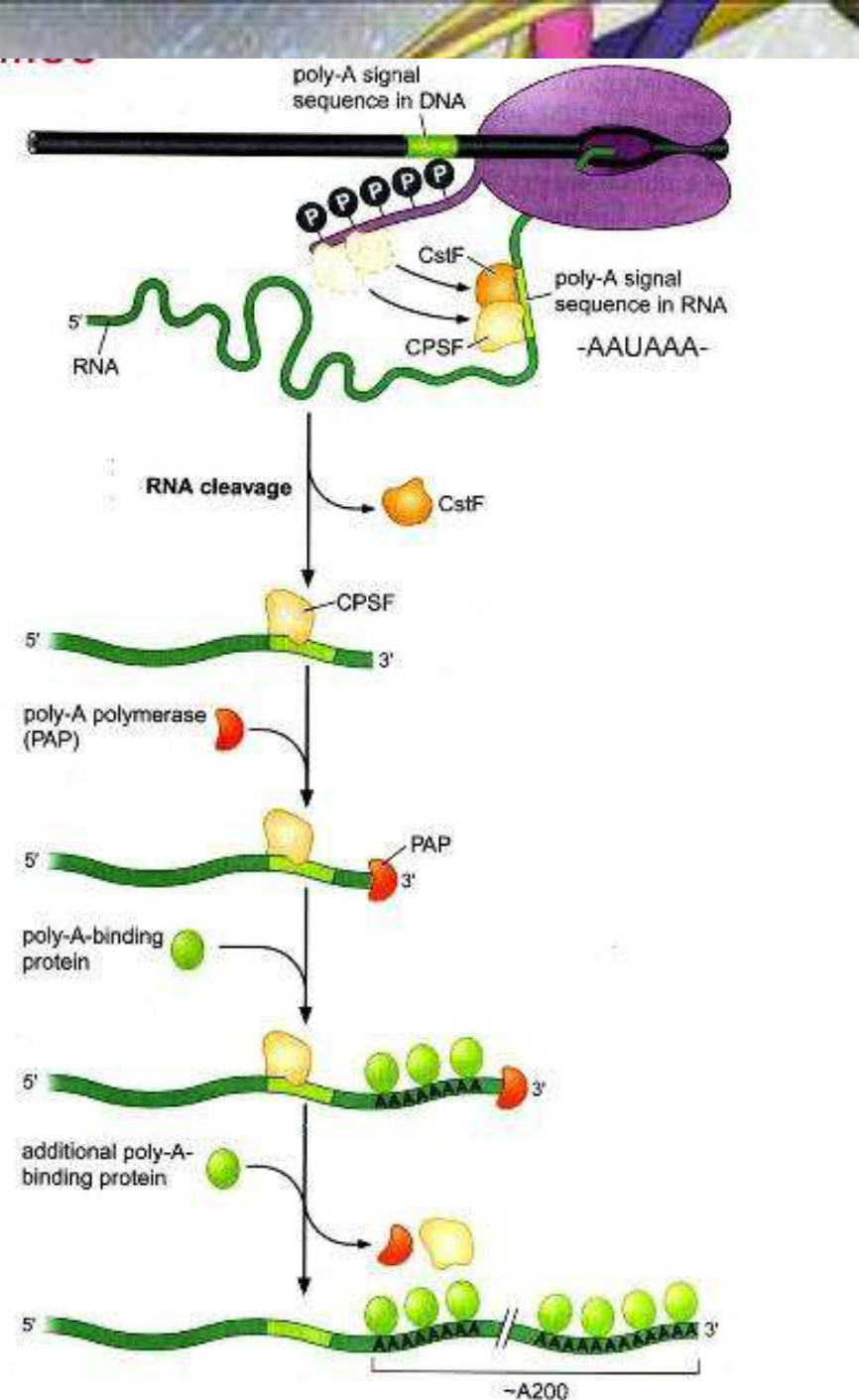
## 2- Addition d'une queue poly A

reconnaissance d'un motif de polyadénylation  
par CstF et CPSF

arrêt de l'ARN pol II, clivage de l'ARN par  
une endonucléase spécifique

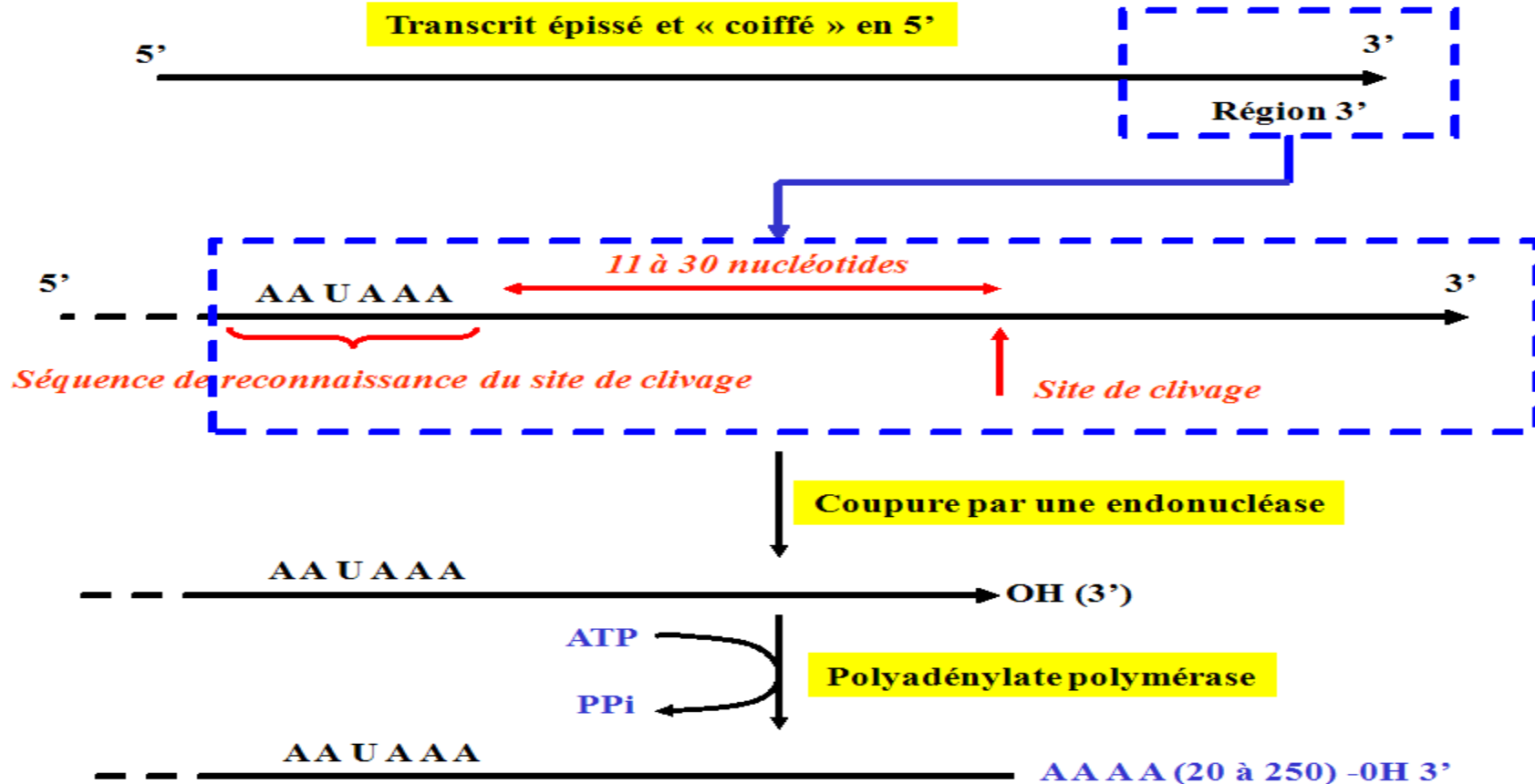
intervention de la poly A polymérase qui  
ajoute des motifs adényliques en présence  
d'ATP, stabilisation de l'extrémité 3'

le motif polyA est terminé, l'ARNm est prêt  
à sortir du noyau

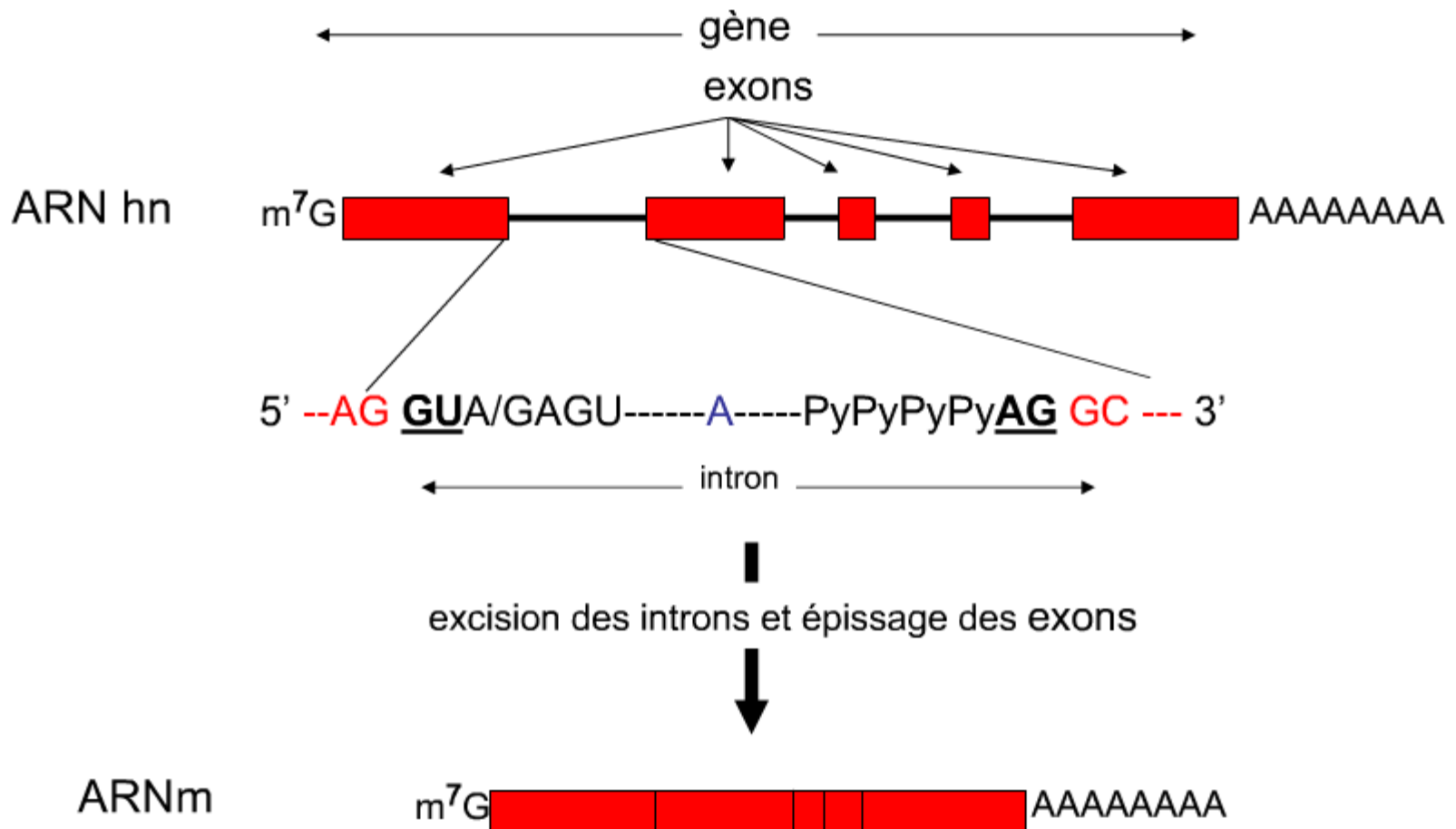


L'extrémité 3' de la plupart des ARNm eucaryotes est polyadénylée.

Une fois la transcription achevée, l'ARNm sera clivé 15-30 nucléotides en aval de la séquence signal, puis des AMP seront ajoutés par une poly(A) polymérase pour former une queue poly(A). La polyadénylation facilite l'exportation des ARNm hors du noyau, les protège des dégradations une fois dans le cytosol

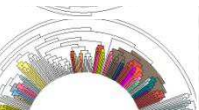
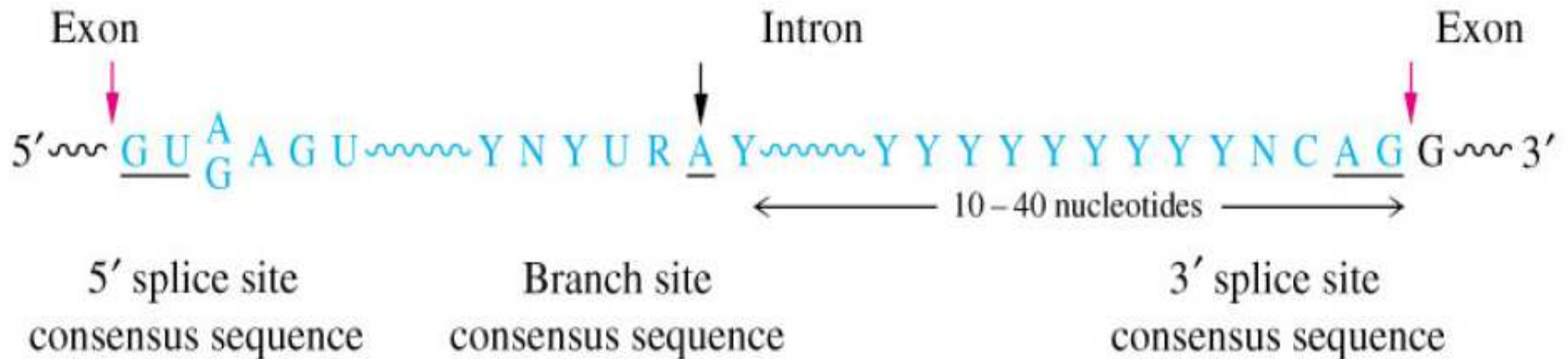


### 3-Excision épissage



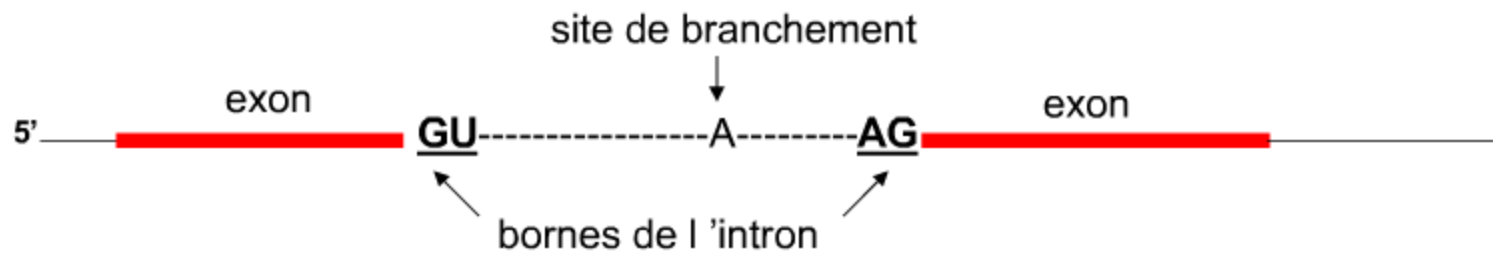
# Splicing de l'ARN pré-messager

- Pré-messager doit être coiffé et polyadénylé avant le splicing
- Au cours du "splicing", les introns sont excisés et les exons sont assemblés pour former l'ARNm mature
- Splicing a lieu dans le noyau
- L'extrémité 5' d'un intron chez les eucaryotes supérieurs est toujours **GU** et l'extrémité 3' est toujours **AG**

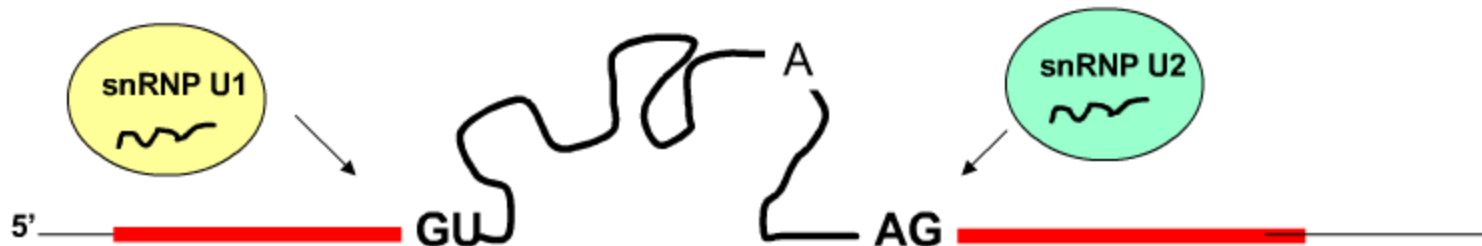


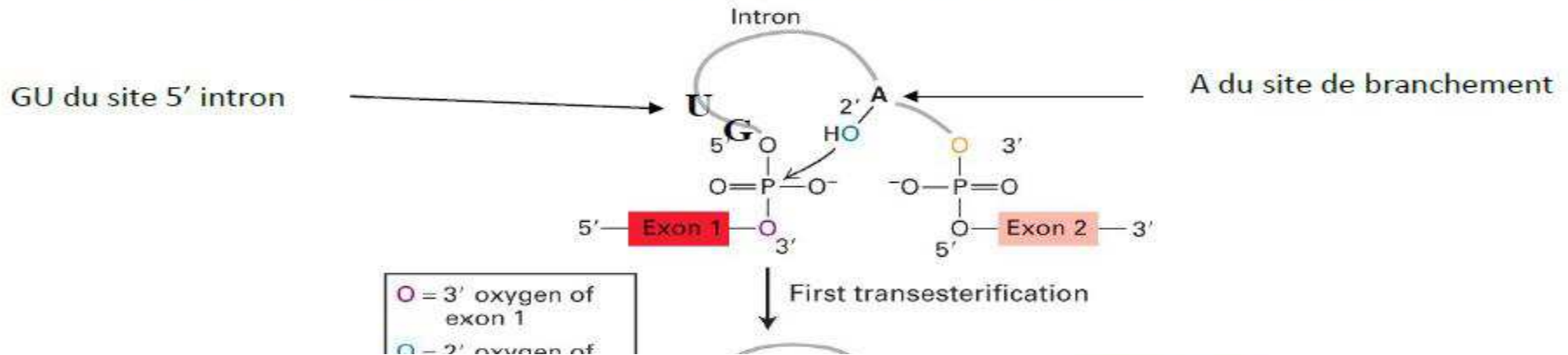
- ❖ L'épissage est réalisé par le **spliceosome** constitué de protéines associées à des snRNA : les **snRNP** (U1, U2, U4, U5, U6)

1 snRNP = 1 snRNA + 10-20 polypeptides

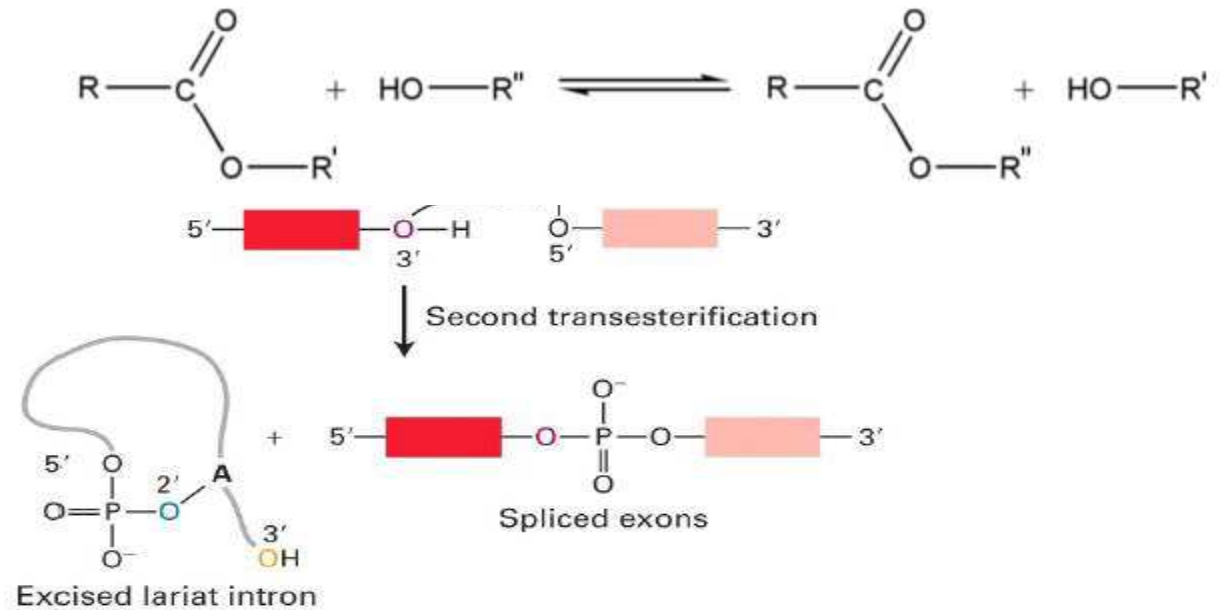


- Reconnaissance des bornes donneur et accepteur

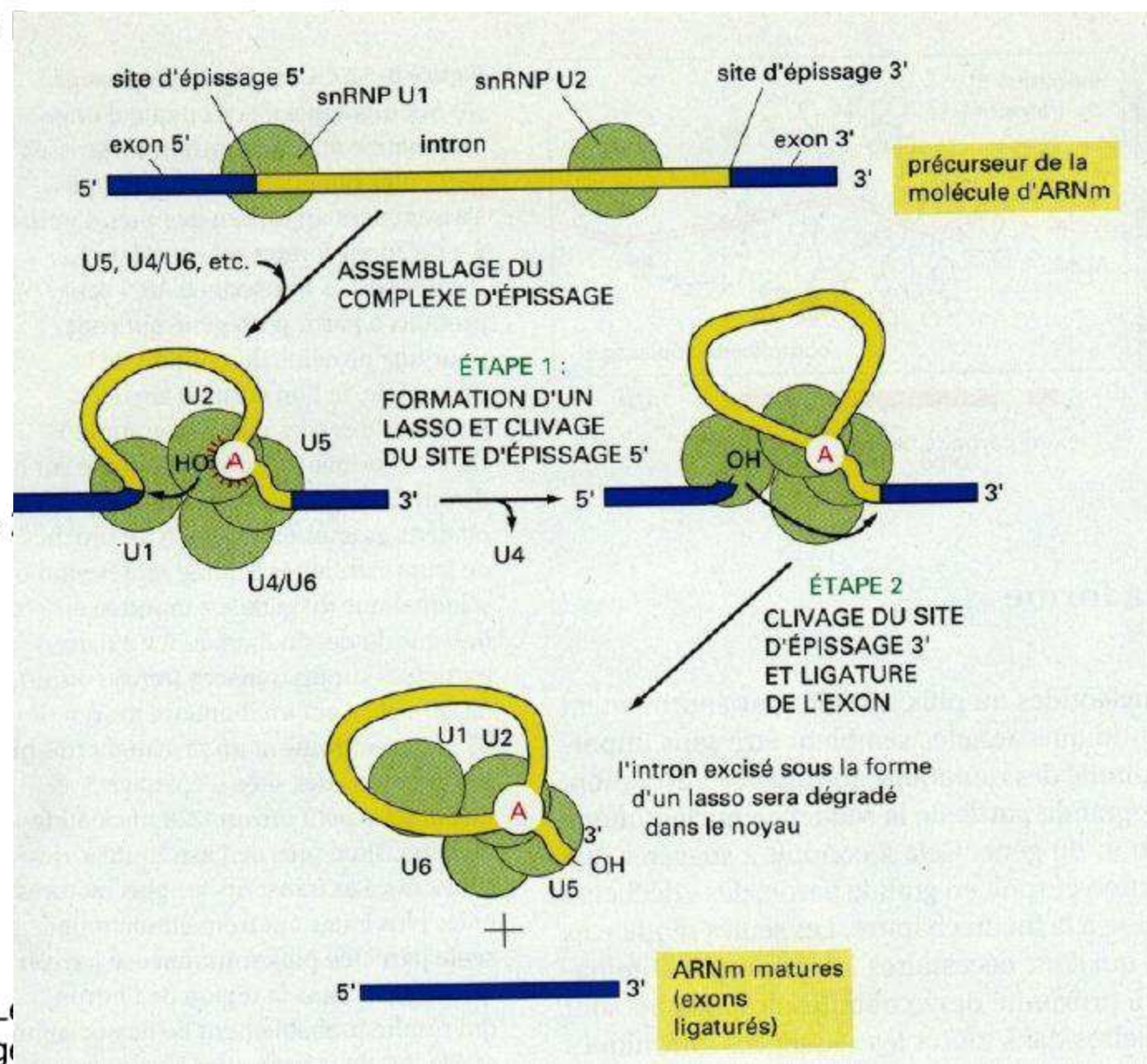




Il est aussi possible de synthétiser un ester à partir d'un autre ester et d'un alcool. On parle alors de [transestérification](#).



O

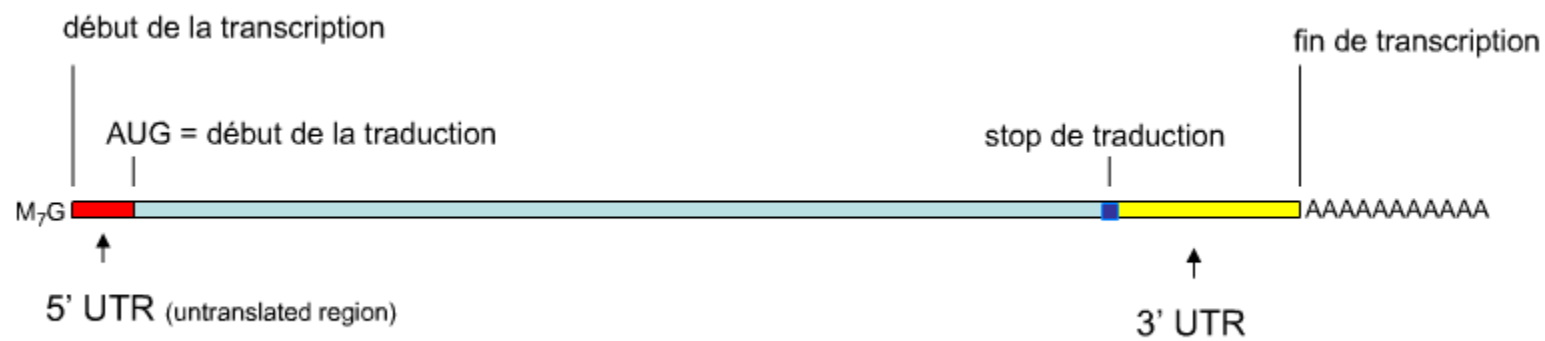


J5, ....



La  
ge

ont

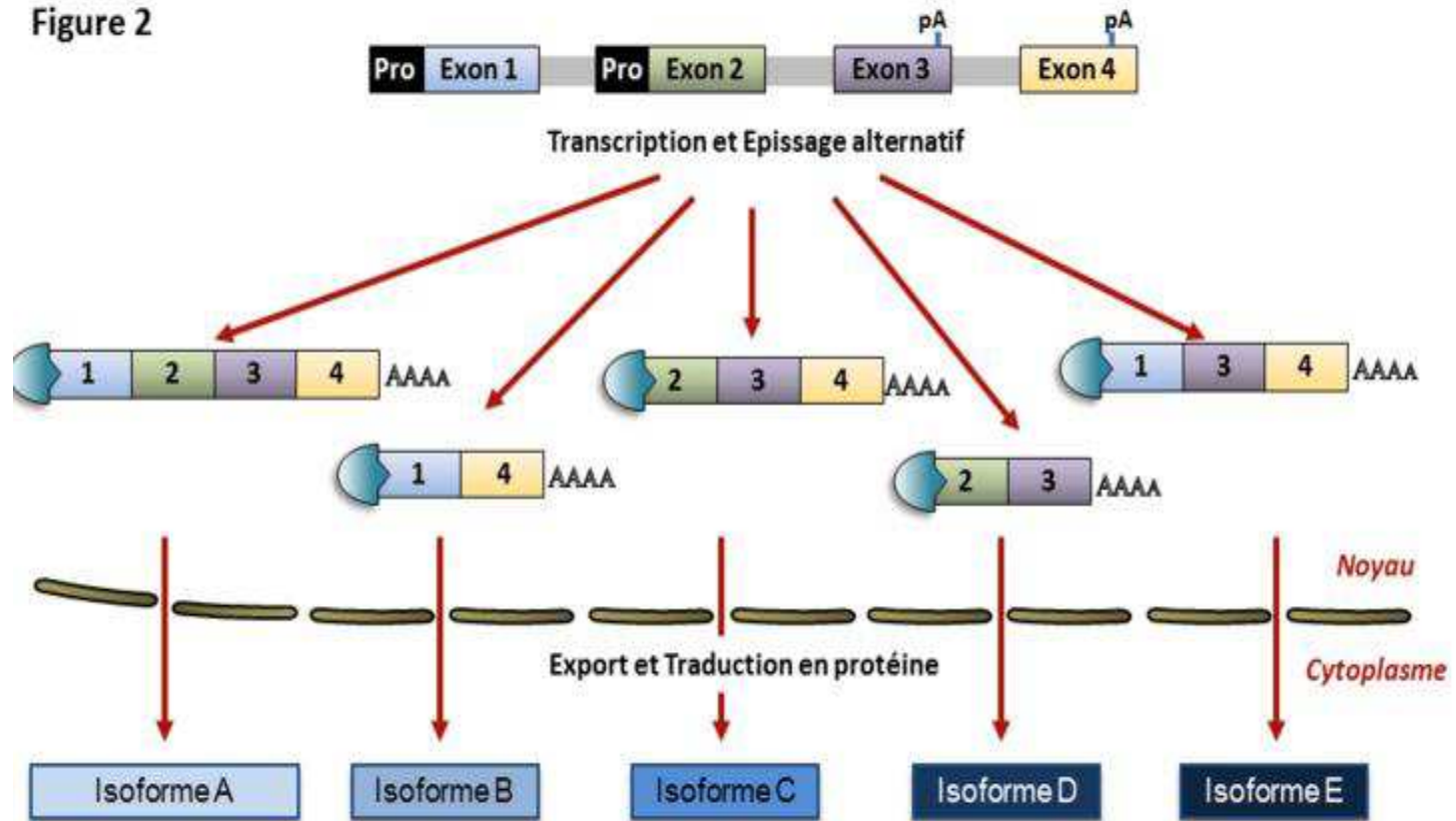


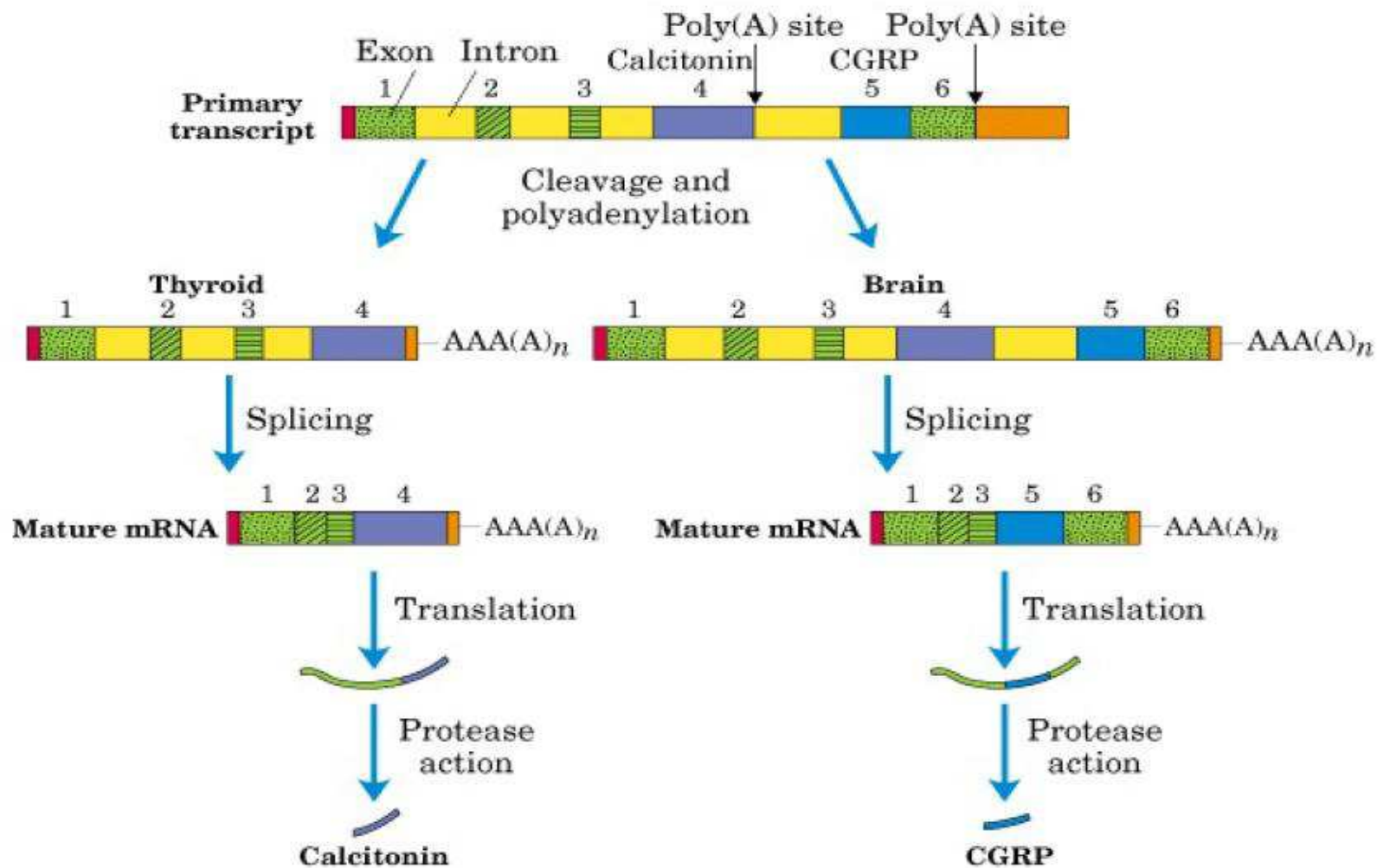


# Epissage Alternatif

- **Exemple: Calcitonin et CGRP sont exprimés à partir du même Gène**
- **L'expression dépend du tissu qui détermine lequel des ARNm doit être exprimé : l'expression est tissu spécifique (Thyroïde ou Hypothalamus)**

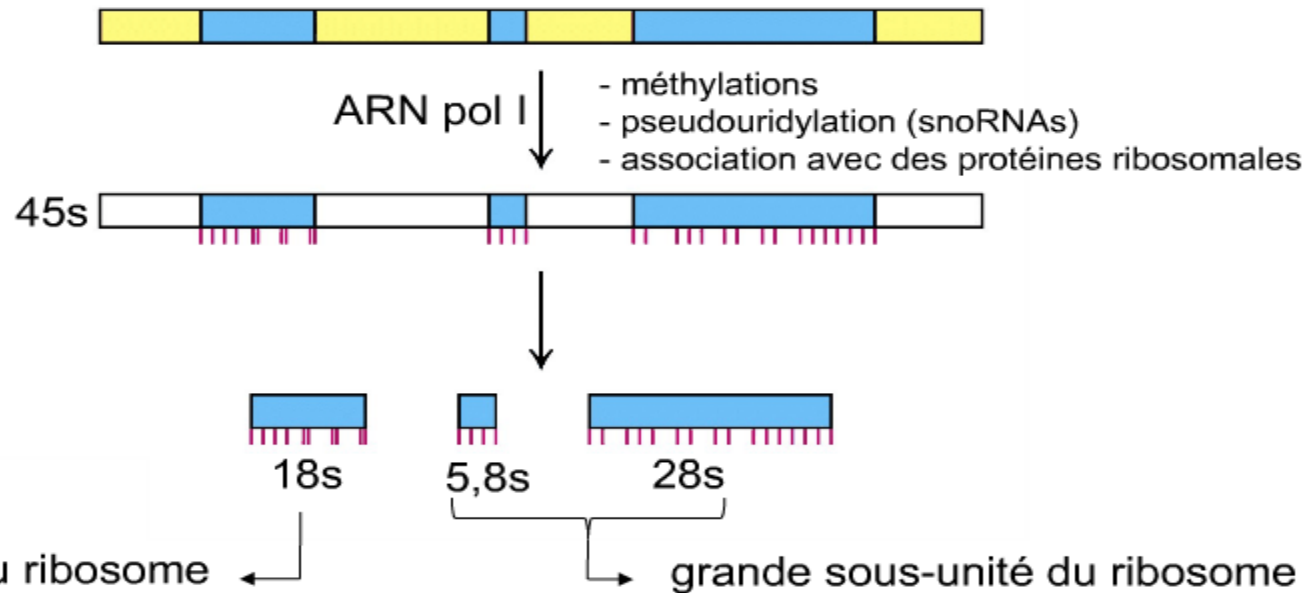
Figure 2





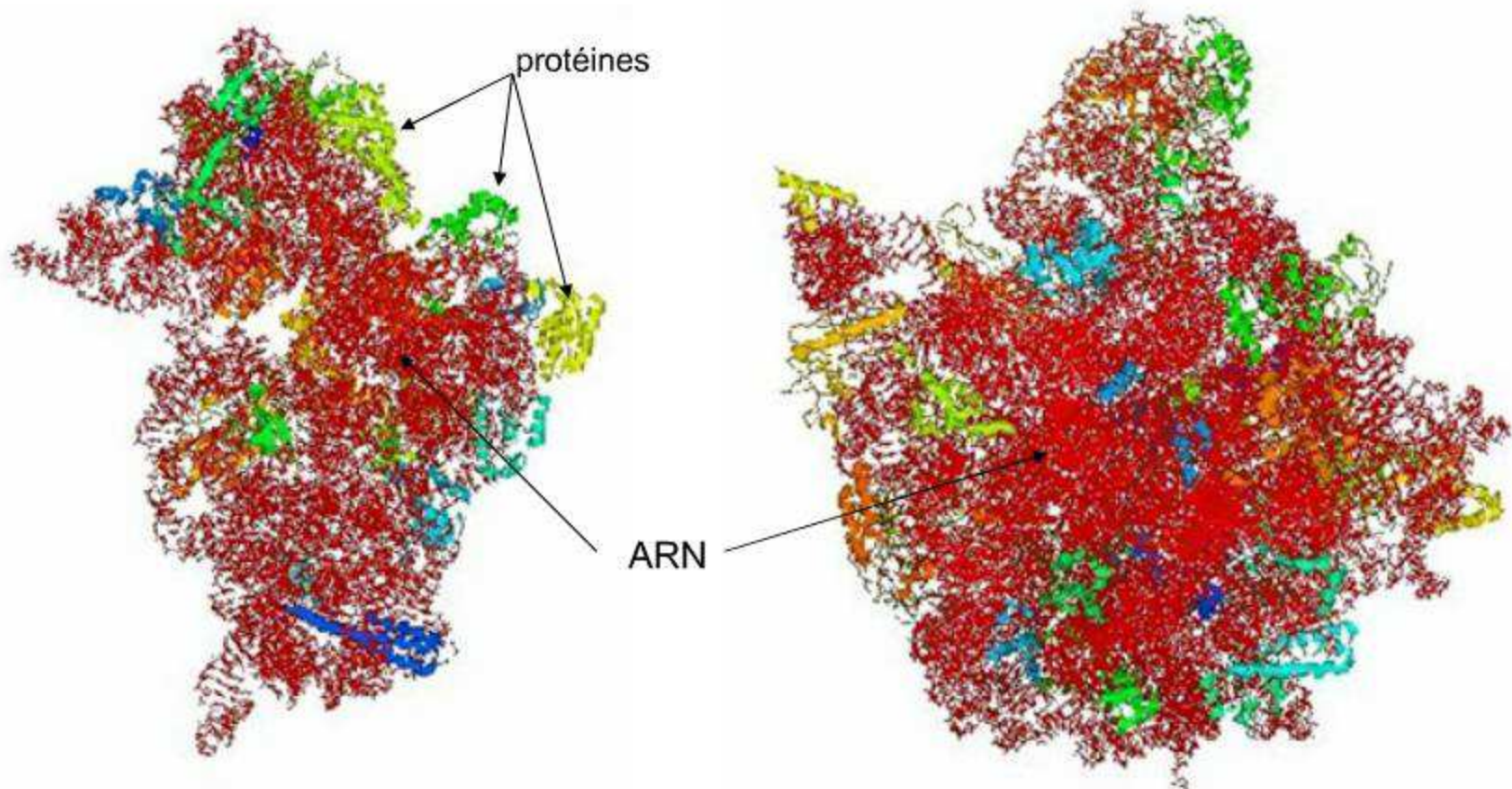
## 2. Maturation des ARNr

- ❖ les ARNr sont le produit de gènes multi-copies (28+18+5,8s et 5s)
- ❖ les ARNr eucaryotes 5,8s, 18s et 28s sont transcrits par l'ARN pol I  
l'ARNr 5s est transcrit par l'ARN pol III
- ❖ les ARNr 5,8, 18 et 28s sont produits et maturés au niveau du nucléole
- ❖ présence d'un 5' NTP, absence de polyadénylation : protection des extrémités par la formation de structures II et une association avec des protéines
- ❖ absence d'épissage



Le principe général de maturation des ARNr est comparable chez les eucaryotes et procaryotes : on trouve dans le génome un gène qui va coder un précurseur prérribosomique qui va être clivé au cours de ce phénomène de maturation pour libérer 2 ou 3 ARNr.

- ❖ Après formation de pré-ribosomes, ceux ci sont exportés dans le cytosol et subissent une maturation en ribosomes 40s et 60s



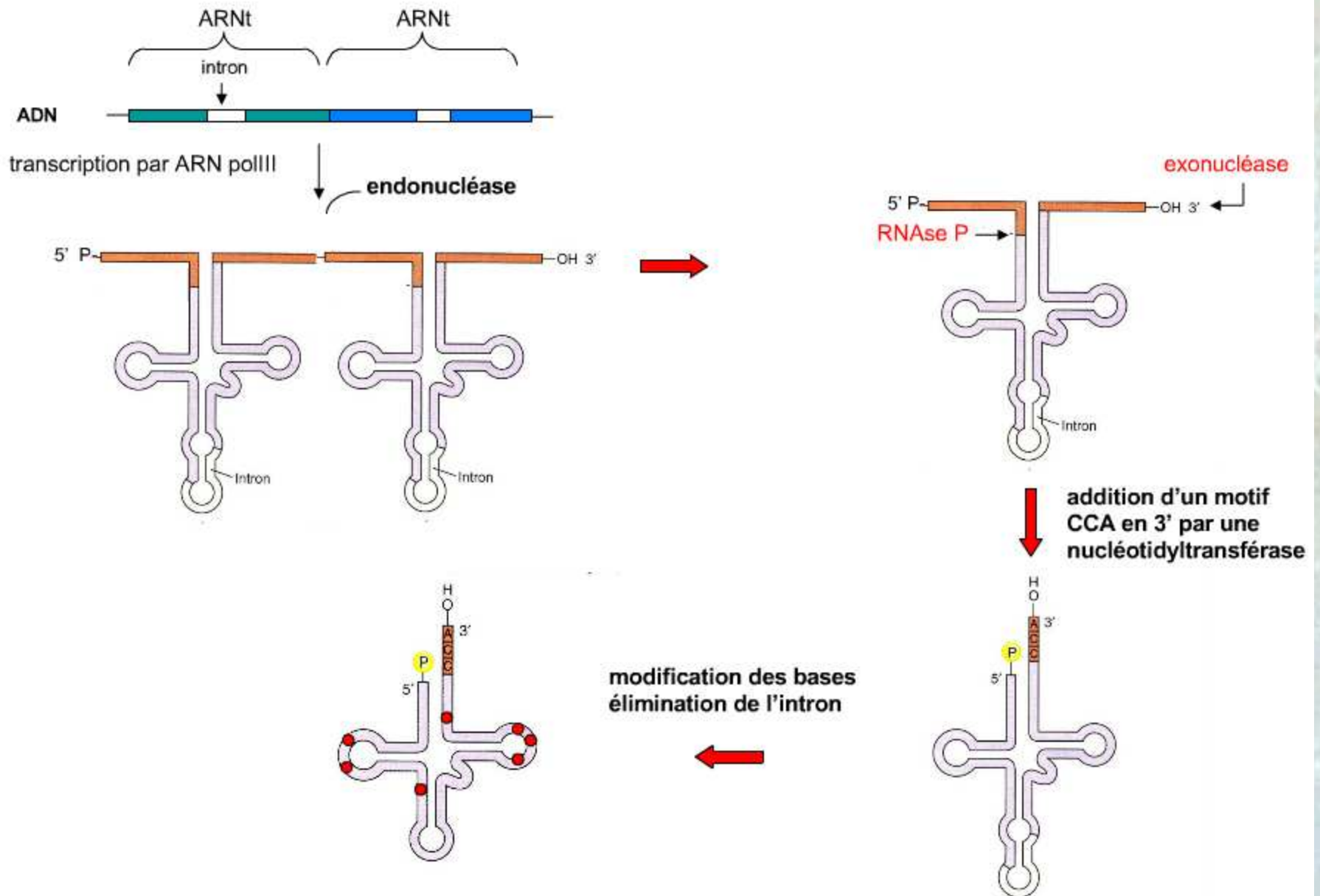
sous-unité 40s du ribosome

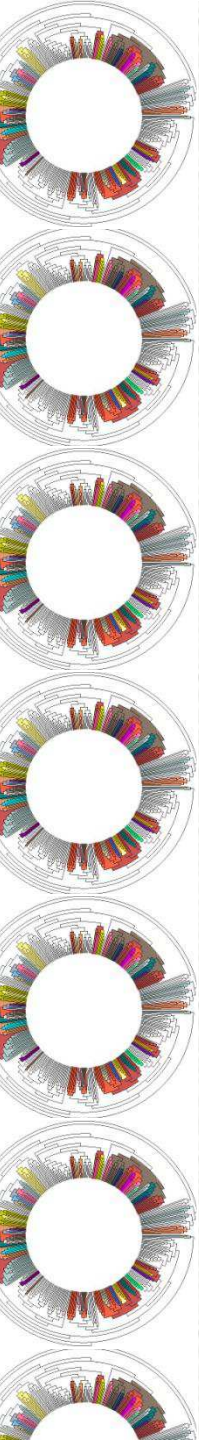
- ARN 18S (1874 nt)
- 33 protéines

sous-unité 60s du ribosome

- ARN 28S (4718 nt) + 5,8s (160 nt) + 5s (120 nt)
- 50 protéines

### 3. Maturation des ARNt





**ARNr** matures 28S, 18S et 5,8S qui s'associent aux protéines ribosomiales, formant **des** sous-unités ribosomiales (voir Figure 12-34).

- La synthèse et la **maturation des** pré-**ARNr** se déroulent dans le nucléole. L'**ARNr** 5S appartenant à la grande sous-unité ribosomiale est synthétisé dans le nucléoplasme par l'ARN polymérase III et ne subit pas de **maturation**.

- Les introns **des** groupes I et II doués d'auto-excision et les ARNsn dans les spliceosomes sont tous **des** ribozymes, c'est-à-dire **des** séquences d'ARN à activité catalytique, qui s'excisent grâce à **des** réactions analogues de transestérification impliquant **des** ions  $Mg^{2+}$  liés (voir Figure 12-35).

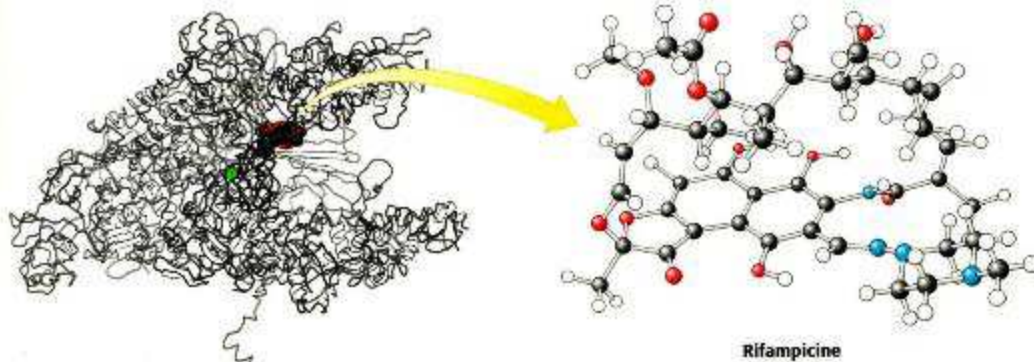
- Les pré-ARNt synthétisés par l'ARN polymérase III dans le nucléoplasme subissent une **maturation** consistant en un retrait de la séquence à l'extrémité 5', l'addition de CCA au niveau de l'extrémité 3' et la modification de multiples bases internes (voir Figure 12-36).

- Certains pré-ARNt comportent un court intron qui est retiré par un mécanisme catalysé par une protéine, différent de l'épissage **des** pré-ARNm et **des** introns de type ribozymes.

- Toutes les espèces de molécules d'ARN sont associées à **des** protéines dans différents types de particules ribonucléoprotéiques à la fois dans le noyau et après leur export dans le cytoplasme.

## V. 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            |
| $\alpha$ -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

# Mécanisme de Splicing de l'ARN pré-messager

- Formation de structure en lasso par interaction entre le 5' du site donneur G et le 2'OH de A du site de branchement.
- Les exons sont soudés et le lasso coupé.
- Intervention de complexes de Splicing incluant des petits ARN nucléaires (snRNAs) impliqués dans l'identification des jonctions de splicing.

