

Université A.MIRA Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Physico-Chimique
Licence Génétique

Génétique des Eucaryotes

Chargée du module:
Dr. OURABAH A. epse BOUDJOUAN

2023-2024

Chapitre III

Transcription chez les eucaryotes

LES ACIDES RIBONUCLEIQUES (ARN)

1. Caractéristiques

Les ARN sont caractérisés par :

- L'ose : c'est le ribose.
- Les bases : sont (A, C, G et **U** à la place de **T**).
- Une seule chaîne nucléotidique, elle est plus courte que les chaînes d'ADN.

2. Les règles d'appariement

Elle pourra s'observer soit :

- Entre 2 molécules d'ARN différentes (ARN_m et ARN_t)
- Sur une même molécule d'ARN, dans une région repliée en épingle à cheveu.

A apparié avec U par deux liaisons hydrogène
C apparié avec G par trois liaisons hydrogène

3. Les différents types d'ARN

Les cellules contiennent essentiellement quatre types d'ARN :

- Les ARN ribosomiques (ARNr) : 80%
- Les ARN de transfert (ARNt) : 15%
- Les ARN messagers (ARNm) : 5%
- Les ARN nucléaires de petite taille (ARNsn) et les ARN cytoplasmiques de petite taille (ARNsc) : < 1%.

3.1. Les ARN ribosomiques (ARNr)

Les ribosomes sont des organites intracellulaires situés dans le cytoplasme, aussi dans les mitochondries, qui sont l'usine de fabrication des protéines de la cellule.

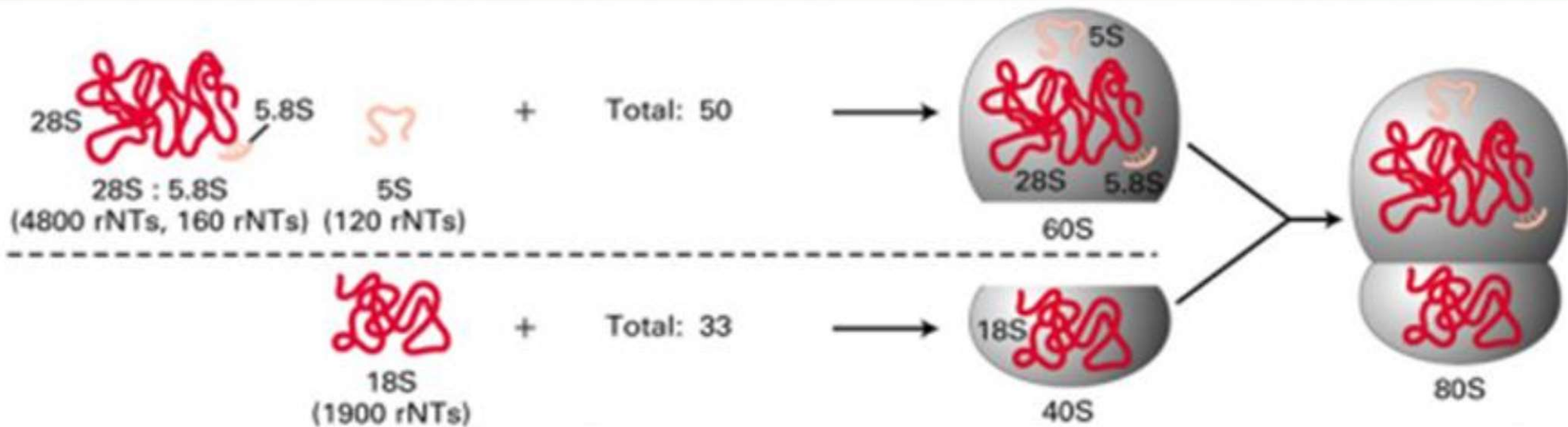
Structure des ARNr

Les ribosomes dits 80S (S pour Svedberg : Unité de mesure de la vitesse de sédimentation). Elle dépend de sa masse, sa forme et sa rigidité. Ce qui explique que l'assemblage des sous unités 60S et 40S puisse donner un ribosome (80S) composé de deux sous unité:

- Une grande sous unité (60S)
- Une petite sous unité (40S)

Chaque sous unité comporte des protéines dites protéines ribosomales (r-protéines) et des ARNr .

Eukaryotic (vertebrate)



- La sous unité 60S : elle contient trois ARNr différents 28S (4800 nucléotides), 5.8S (160 nucléotides), 5S (120 nucléotides) et 50 protéines.
- La sous unité 40S : elle contient un seul ARNr 18S (1900 nucléotides) avec 33 protéines.

Rôle des ARNr

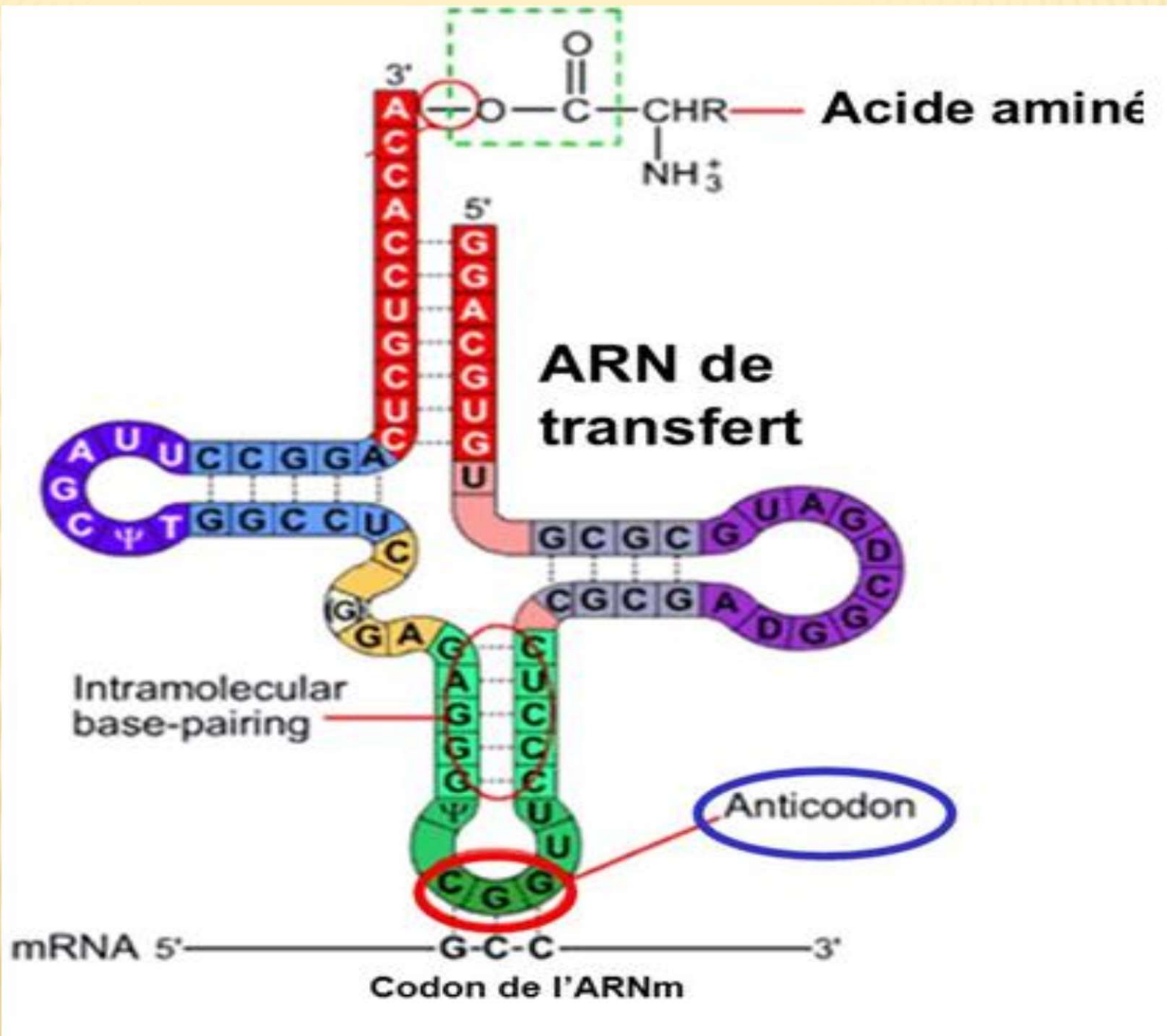
Ils jouent un rôle essentiel dans la structure et le maintien de l'intégrité des ribosomes en association avec les protéines ribosomales. Ils facilitent aussi la fixation des autres ARN sur le ribosome (ARNm et ARNt lors de la traduction).

3.2. Les ARN de transfert (ARNt)

C'est les vecteurs qui vont transférer les acides aminés jusqu'au ribosome où s'effectue la synthèse protéique.

Structure spatiale des ARNt (Forme de trèfle)

Les chaînes de l'ARNt sont constituées environ d'une centaine de nucléotides. Il existe des zones d'appariement selon la règle de complémentarité et des zones sans appariement appelées boucles où sont présentes les bases inhabituelles.



Plusieurs sites sont importants dans les ARNt:

- **Leurs extrémité 3'-OH** : au niveau de cette extrémité il existe 3 nucléotides caractéristiques CCA-3'OH. C'est par cette extrémité que sera fixé l'acide aminé qui sera véhiculé par l'ARNt.
- **L'anticodon** : il correspond à un groupe de trois nucléotides situé sur une boucle de l'ARNt. Il joue un rôle important puisqu'il s'apparie avec le codon correspondant présent sur l'ARNm. Il existe une vingtaine d'acide aminé et on dénombre 61 codons différents, ce qui signifie qu'un acide aminé est véhiculé par plusieurs ARNt (différant par leur codon).
- **L'extrémité 5'** des ARNt comporte un groupement phosphate.

Les ARNt jouent un rôle dans la biosynthèse des protéines par la fixation des acides aminés à transporter sur un ARNt spécifique par une liaison covalente (liaison ester), cette liaison est formée entre la fonction acide (COOH) de l'acide aminé et une fonction alcool de l'ARNt (3'OH) par une élimination d'une molécule d'eau.



3.3. Les ARN messenger (ARNm)

Ils constituent le support essentiel de l'information génétique entre l'ADN et le ribosome où s'effectuera la synthèse protéique. Leur durée de vie est très courte, ils sont très rapidement synthétisés et dégradés. Ils sont formés d'une seule chaîne de nucléotides, cette chaîne comporte une succession de triplets nucléotidiques. Chaque triplet nucléotidique constitue un codon spécifique d'un acide aminé. Les ARN messagers correspondent aux séquences complémentaires et antiparallèles du brin matriciel (ou brin anti-codant) de l'ADN.

3.4. Les petits ARN

Les petits ARN nucléaires (snRNA) sont présents dans le noyau des cellules et sont impliqués dans certaines étapes de la transcription. Ces snARN sont présents sous forme de particules ribonucléoprotéiques qui sont appelées snRNP, ils jouent un rôle pour éliminer les transcrits d'introns. Les snARN s'assemblent sur l'intron suivant un mécanisme précis et catalysent les différentes étapes de la réaction d'épissage, ils sont les ARN de la machinerie d'épissage ou spliceosome.

Dans le cytoplasme, on peut retrouver des petits ARN qui existent également sous forme de particules ribonucléoparticules (scRNP).

	ARNm	ARNt	ARNr	Petits ARN
Proportion	5 %	15 %	80 %	<1%
Durée de vie	Généralement courte (quelques minutes à quelques heures)	Longue	Longue	Très variable
Taille	Très variable : quelques centaines à quelques millions de nucléotides	75 à 100 nucléotides	100 à 2000 nt, taille exprimée en unité Svedberg : <ul style="list-style-type: none"> • eucaryotes : 20, 10, 5,8 et 5S • eubactéries : 23, 16 et 5S 	< 1000 nt
Structure	Linéaire, quelques structures en épingles à cheveux parfois.	Structure secondaire en feuille de trèfle, et structure tertiaire en L.	Complexe, avec association aux protéines ribosomales.	Complexe, association à de nombreuses protéines
Fonctions	« Copie de travail » de l'ADN, support manipulable par les ribosomes de l'information génétique	Adaptateur entre ARNm et acides aminés. Liaison à un acide aminé en 3'	<ul style="list-style-type: none"> • Structural pour la mise en forme des ribosomes. • Catalytique pour la transpeptidation (notion de ribozymes). • Positionnement du ribosome avec la séquence de Shine et Dalgarno pour eubactéries 	<ul style="list-style-type: none"> • Catalytique (ARN de la télomérase). • Catalytique et structural pour le spliceosome. • Contrôle de l'expression de l'information génétique (ARN interférence)

Les ARN polymérases

ARN polymérase I : transcrit les gènes codant pour les deux molécules d'ARN ribosomial

ARN polymérase III : transcrit les gènes de l'ARN transfert, de l'ARN 5S, et quelques autres petites molécules d'ARN

ARN polymérase II : transcrit la plupart des gènes des eucaryotes qui codent pour des protéines, leur régulation est la plus complexe

L'ARN polymérase I est une enzyme de 589 kDa, composée de 14 sous-unités. Elle est responsable de la synthèse du précurseur des grands ARN ribosomiques : éléments fonctionnels et structuraux de la transcription de l'ADN ribosomique.

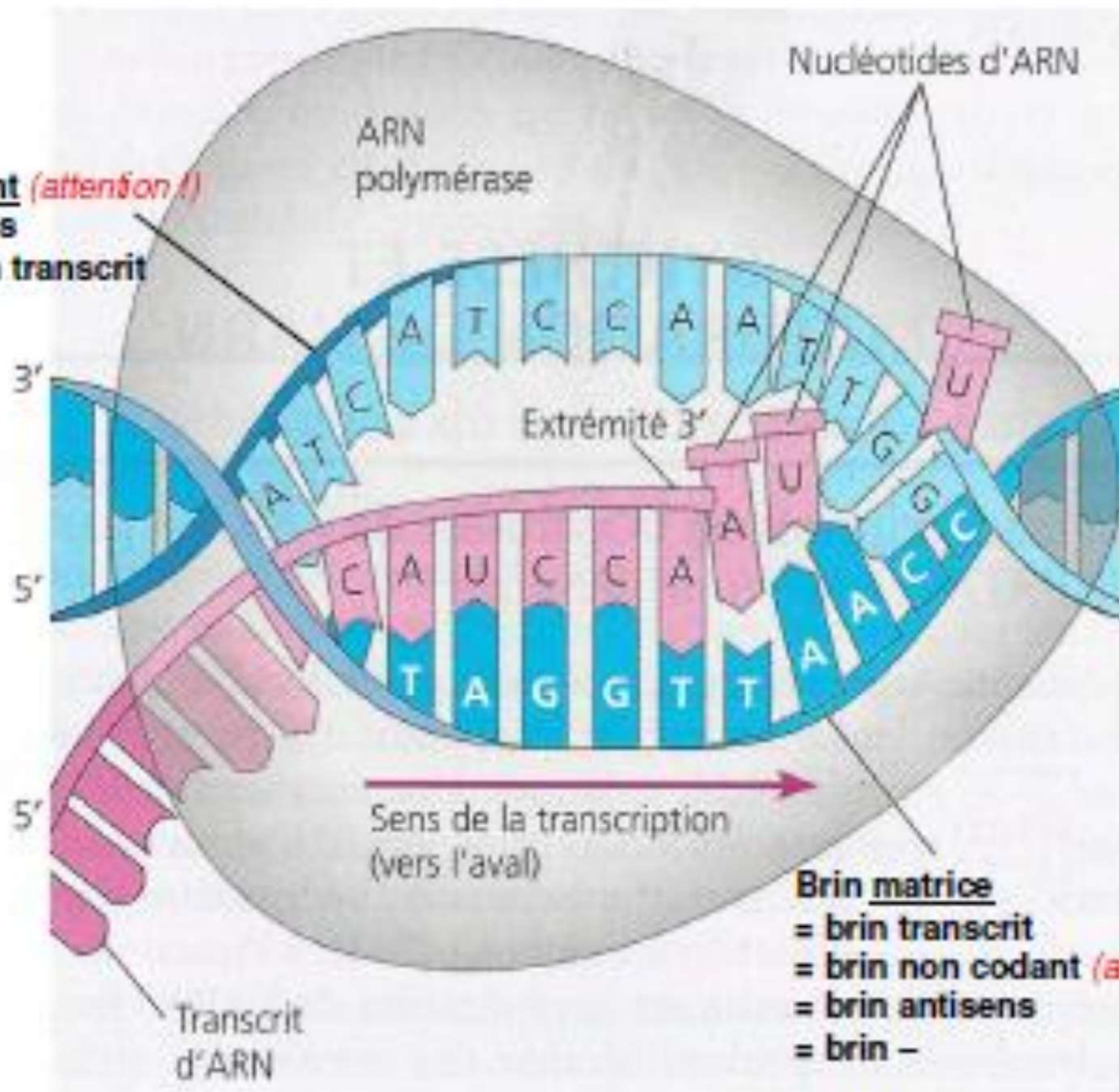
L'ARN pol III est une enzyme composée de 17 sous-unités, pour un poids moléculaire de 0,7 MDa, elle est donc la plus grande ARN polymérase multimérique eucaryote caractérisée jusqu'à présent. Elle est responsable de la synthèse de la totalité des ARN de transfert (ARNt), du snARN, de l'ARNr 5S et de nombreux autres petits ARNs qui n'excèdent pas 400 nt. Cette activité transcriptionnelle nécessite un petit nombre de facteurs généraux de transcription, moins nombreux que pour l'ARN pol II.

L'ARN polymérase II est une enzyme composée de 12 sous-unités. Elle réalise la synthèse de l'ARNm précurseur des protéines. L'ARN polymérase II des eucaryotes ne se fixe pas directement sur le promoteur. Elle se fixe par l'intermédiaire de facteurs généraux de la transcription (Les GTFs) comprenant plusieurs protéines dénommées TF pour « transcription factor » et II pour l'ARN polymérase II: TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIE, TFIIF, TFIIH Ainsi se forme le complexe de préinitiation ou machinerie basale de la transcription.

Transcription

Transcription qualifie le processus par lequel l'information contenue dans l'ADN est convertie en équivalent ARN. Une partie de ces ARN, les ARN messenger, ARNm, servira à la synthèse des protéines. La régulation de la transcription est plus complexe chez les eucaryotes que chez les procaryotes.

Brin codant (*attention !*)
= brin sens
= brin non transcrit
= brin +



Brin matrice
= brin transcrit
= brin non codant (*attention !*)
= brin antisens
= brin -

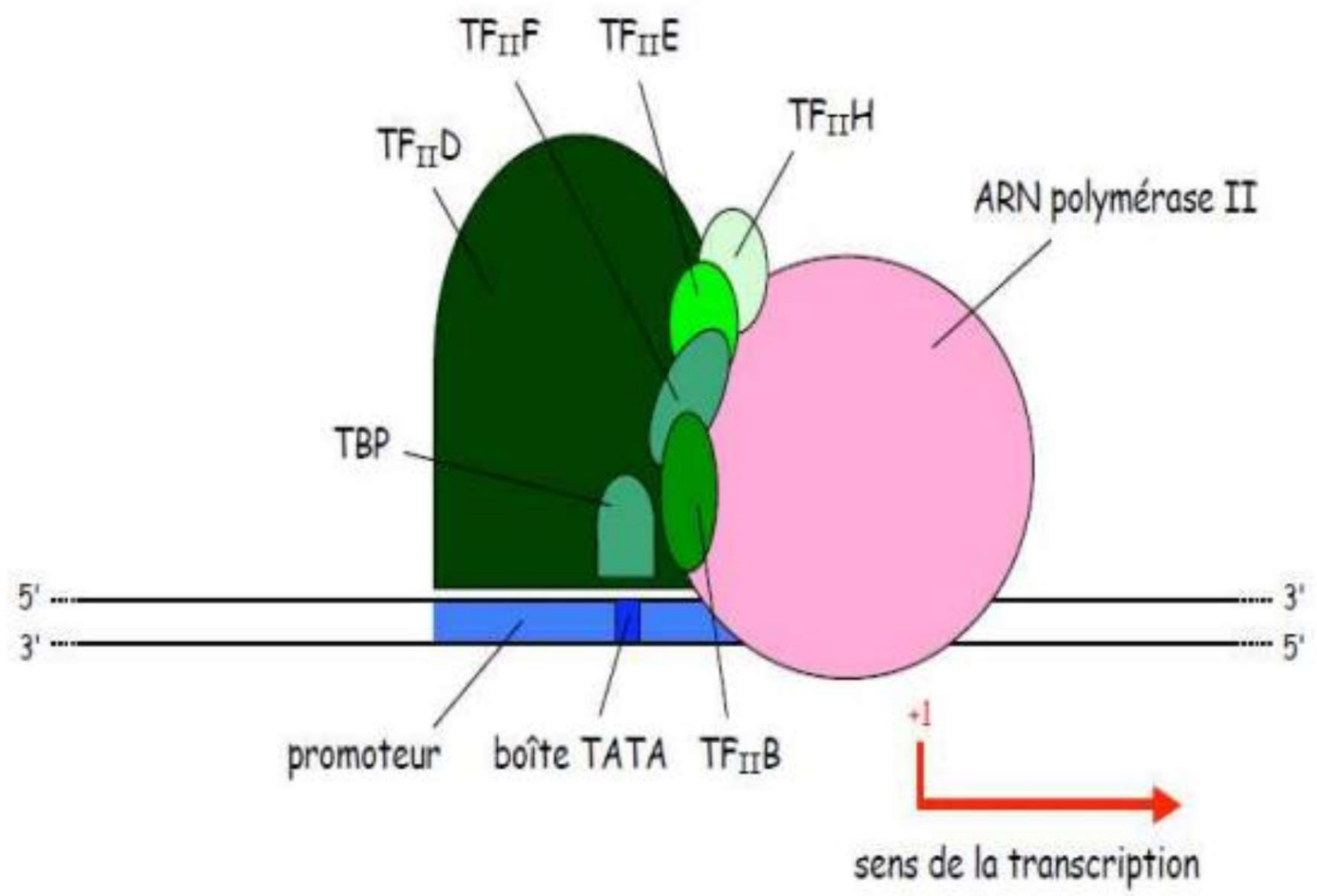
Caractéristique de la transcription

- Un seul brin d'ADN est transcrit (3' vers 5').
- L'ARN poly II ne nécessite pas d'amorce.
- L'initiation, l'élongation et la terminaison nécessitent des facteurs de transcription (TF).
- Le pré-ARN doit subir des modifications pour être mature (épissage).

Complexe de pré-initiation de la transcription

La reconnaissance du promoteur et la mise en place du complexe de pré-initiation chez la plupart des ARN pol II débute au niveau de la boîte TATA, cette dernière est reconnue par TFIID, plus précisément par la sous unité TBP (**T**ATA box **B**inding **P**rotein). Les bases A et T sont préférées parce qu'elles sont plus aisément déformables pour permettre l'élargissement initial du petit sillon. D'autres sous unités de ce complexe sont appelées TAF (TBP associated factors) reconnaissent d'autres éléments du promoteur, tels Inr, DPE et DCE, bien que la liaison la plus forte soit celle entre TBP et TATA. Le complexe TBP-TATA attire sur le promoteur d'autres facteurs généraux de transcription [TFIIA → liaison du Pol II au promoteur (upstream), TFIIB → liaison du Pol II au promoteur (downstream), TFIIF → accompagne Pol II dès qu'elle se fixe sur le promoteur, TFIIE → essentiel pour l'élongation et la libération du Pol II du promoteur, et TFIIH → il a un rôle dans la phosphorylation du domaine C terminal (CTD) du Pol II et il a aussi un rôle dans l'élongation] et la polymérase elle-même. La double hélice à ce niveau se sépare par l'intermédiaire du TFIIH en hydrolysant la liaison anhydride de l'ATP (comme l'hélicase dans la réplication).

COMPLEXE D'INITIATION DE LA TRANSCRIPTION EUCARYOTE



Elongation

Dans l'étape de l'élongation l'ARN Pol II se débarrasse de la plupart de ses facteurs d'initiation. De nouveaux facteurs appelés facteurs d'élongation vont les remplacer.

Différents protéines sont supposées stimuler l'élongation comme la kinase P-TEFb, TAT-SF1, P-TEFb. Il existe aussi des facteurs d'élongation de type ELL (suppriment les arrêts temporaires de l'enzyme). Un autre facteur important dans l'élongation et qui n'a aucun rôle dans l'initiation est le TFIIS, ce facteur joue de rôle important le premier est de réduire les pauses de la polymérase et le deuxième est de corriger les erreurs (mésappariements) par l'activité RNase.

Comme l'initiation de la transcription, l'élongation se déroule en présence d'histones, ce qui fait appel à des facteurs facilitant la transcription en présence de chromatine. Le facteur FACT (facilitates Chromatin Transcription) rend la transcription sur type de matrice chromatine beaucoup plus efficace. C'est un hétérodimère de deux protéines, la première Spt16 se lie sur le module H2A/H2B et la deuxième SSRP1 se lie sur le module H3/H4 pour démanteler les nucléosome.

Durant l'élongation la polymérase est associée à un nouvel ensemble de facteurs protéiques requis pour différents types de modification de l'ARN avant d'être exporté du noyau pour être traduit. Ces modifications incluent la coiffe, l'épissage et la polyadénylation.

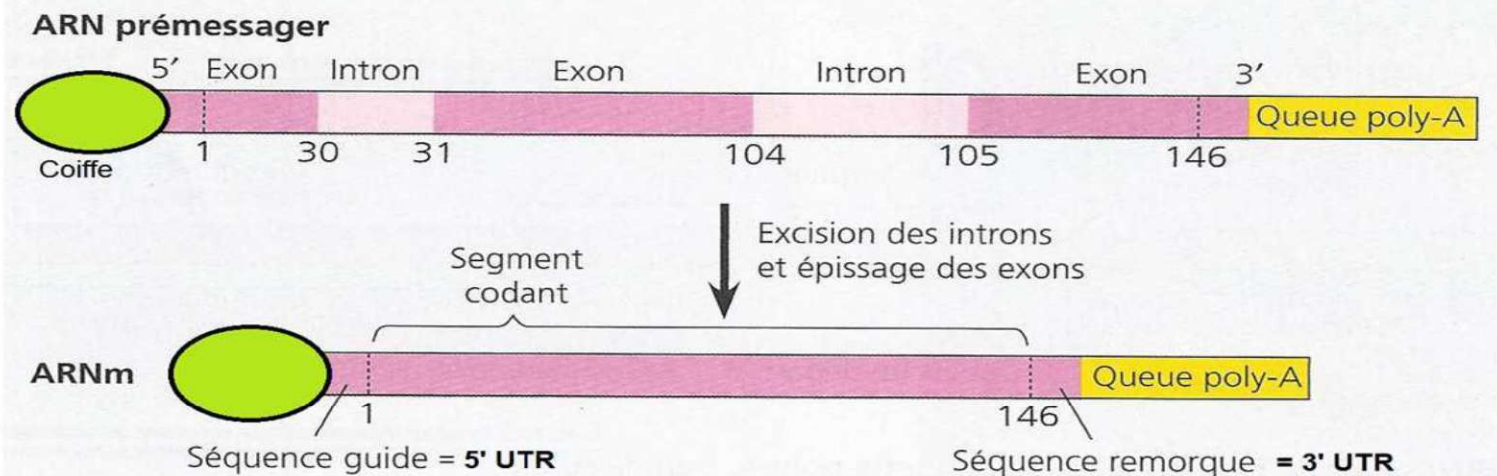
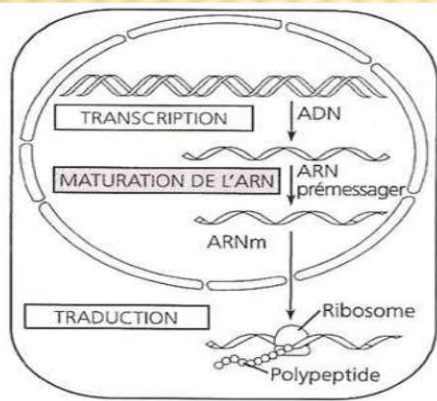
Terminaison

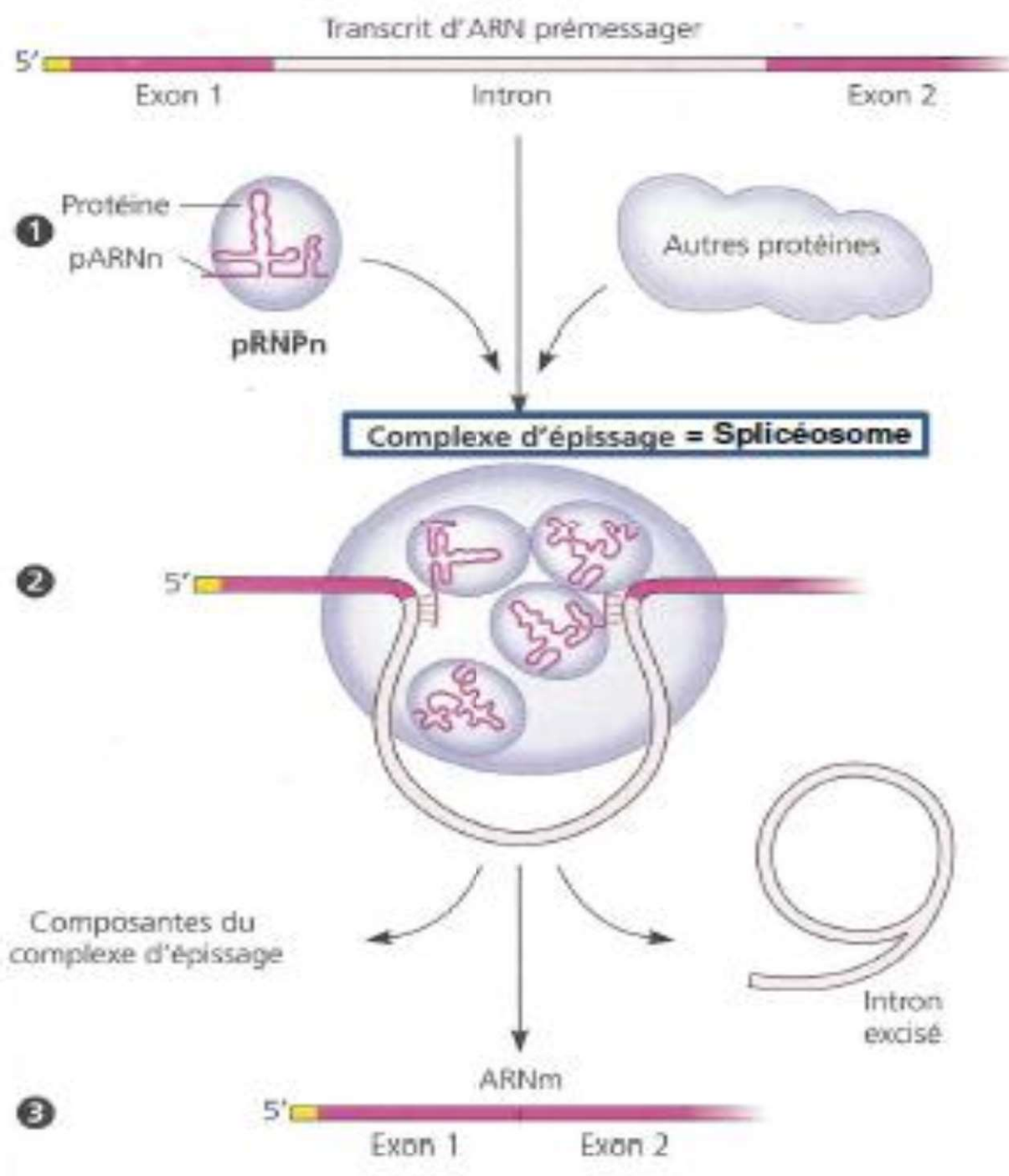
Lorsque le transcrit progresse jusqu'à la portion d'ADN qui signale la terminaison, le complexe devient "instable". Le clamp s'ouvre, l'ADN et l'ARN étant tous deux libérés de l'enzyme lorsque la transcription est terminée.

La transcription aboutit d'abord à la synthèse d'ARN dits pré-messenger ou ARN nucléaire ou transcrit primaire qui sont la copie conforme des introns et des exons du gène. Ensuite l'ARN pré-messenger va subir une maturation, c'est-à-dire qu'il va à la fois perdre ses introns qui seront excisés et libérés en formant des sortes de lasso, alors que les exons restant seront religaturés entre eux, c'est l'épissage:

On appelle épissage au sens large *les mécanismes qui permettent l'élimination des introns (= excision) et le raboutage des exons (= épissage au sens strict).*

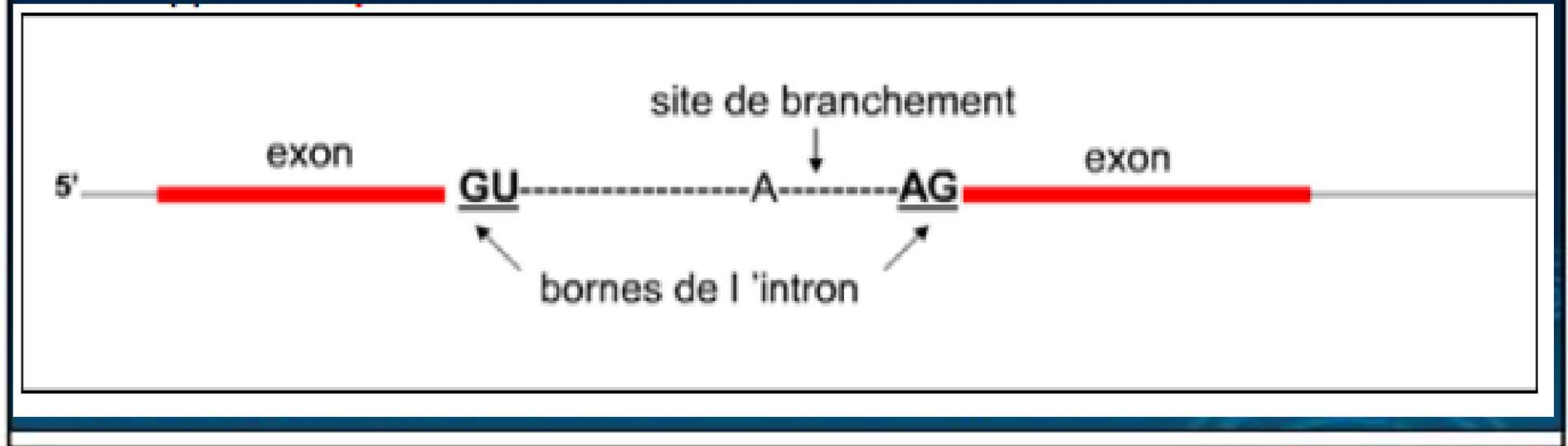
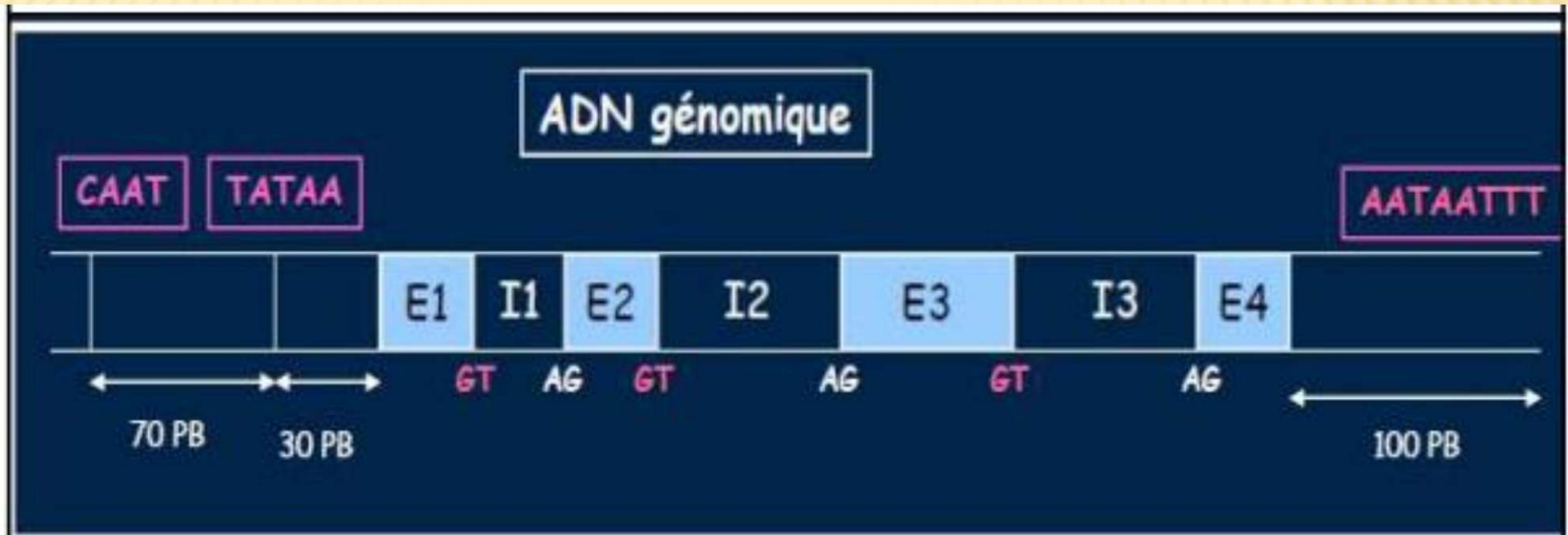
Ce processus fait intervenir de petits ARN nucléaires (= pARNn = *snRNA* = *small nuclear RNA*) qui sont impliqués dans de petits complexes ARN-protéines nommés petites ribonucléoprotéines (= pRNPn = *snRNP* = *small nuclear ribonucleoproteins*). *Les pRNPn et diverses protéines s'assemblent en un complexe nommé complexe d'épissage ou splicéosome qui assure l'excision et l'épissage des ARNpm en ARNm dans le noyau des cellules eucaryotes en reconnaissant des séquences d'épissage avec lesquelles les pARNn s'apparient. Les ARN ont ici un rôle catalytique (ce sont donc des ribozymes). Les segments excisés sont ensuite dégradés et leurs nucléotides sont réutilisés par le noyau.*





Bornes des introns :

- ❖ **GU** ou **GT** est appelée séquence consensus gauche : l'extrémité 5' de l'intron,
- ❖ **AG** est appelée séquence consensus droite représente la jonction 3' intron - 5' exon suivant.



Les transcrits vont en même temps subir deux autres processus de maturation :

❖ **Ajout d'une coiffe en 5'** (capping) : il s'agit de l'ajout d'une base modifiée, la méthylguanosine qui empêche les exonucléases cytosoliques de dégrader l'ARN par l'extrémité 5' (au moins pendant un temps).

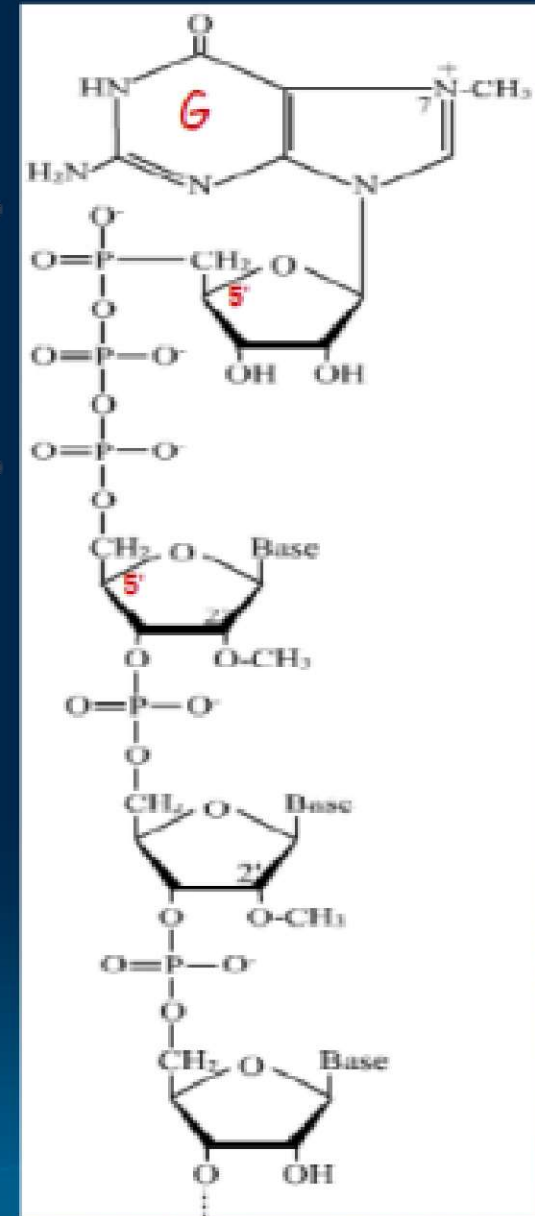
❖ **Polyadénylation en 3'** = ajout d'une queue poly-A : ce processus intervient lors de la terminaison de la transcription : un complexe protéique permettrait d'ajouter de nombreux nucléotides A (jusqu'à 250) qui seront les premiers nucléotides attaqués par les exonucléases cytosoliques. La longueur de la queue poly-A détermine en grande partie la longévité de l'ARNm dans le cytosol – donc le temps pendant lequel il pourra être traduit –, ce qui constitue un mécanisme de contrôle de l'expression génétique.

Coiffe:

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

La méthylation du N7 = signal de reconnaissance pour les ribosomes

Liaison pyrophosphate



MATURATION des ARNm

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

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

