



Faculté des Sciences - Rabat



Laboratoire de Microbiologie et Biologie Moléculaire

Université Mohamed V - Agdal • Faculté des Sciences
B.P. 1014 - Rabat - MAROC

Filière SVI - S4

Module de Biochimie et Biologie Moléculaire

Elément 2: Biologie Moléculaire - Pr. Bouchra BELKADI

Partie 2:

Expression génétique

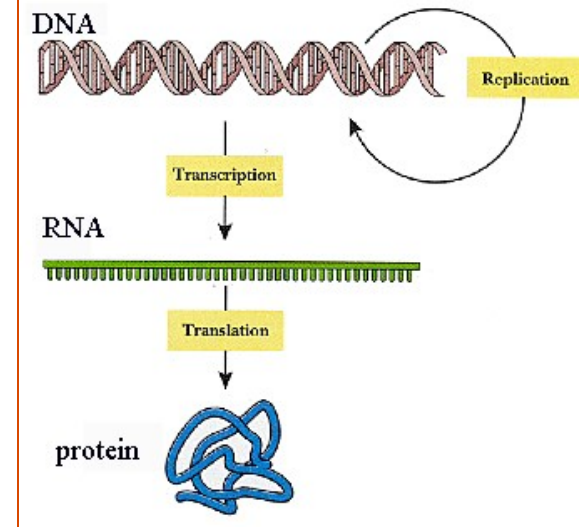
Année universitaire 2010-2011

belkadibouchra@yahoo.fr

Expression d'un gène

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

- Comment se fait le choix des types de protéines exprimées par les cellules?
- Qui détermine le taux d'expression de ces protéines?
- Comment un organisme unicellulaire s'adapte aux différents milieux?



ARN
=
Acide RiboNucléique

Facteurs déterminants

- Concentration en ARNm propre à chaque protéine qui dépend de la nature du gène transcrit et de la vitesse de transcription
- Fréquence à laquelle il est transcrit

C'est donc principalement la transcription différentielle des gènes dans une cellule qui détermine ses caractéristiques (propriété et fonction)

B- Transcription

Introduction

Les ARN, les ARN polymérase et généralité sur la transcription

I- Transcription chez les bactéries

- 1- L'organisation d'un gène bactérien
- 2 - Le Promoteur et l'initiation de la transcription
- 3 - L'élongation de la transcription
- 4 - La terminaison de la transcription
- 5 - Les inhibiteurs spécifiques de la transcription

II- Transcription chez les Eucaryotes

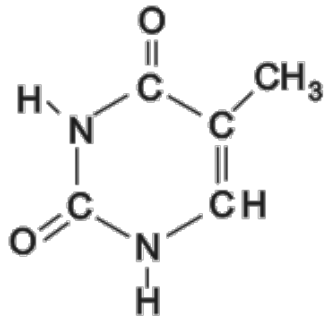
Introduction : particularités du génome eucaryote

- 1 - L'initiation de la transcription
- 2 - La régulation post-transcriptionnelle

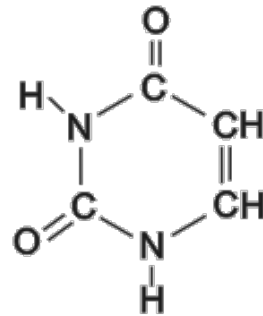
Introduction :

□ Les ARN:

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

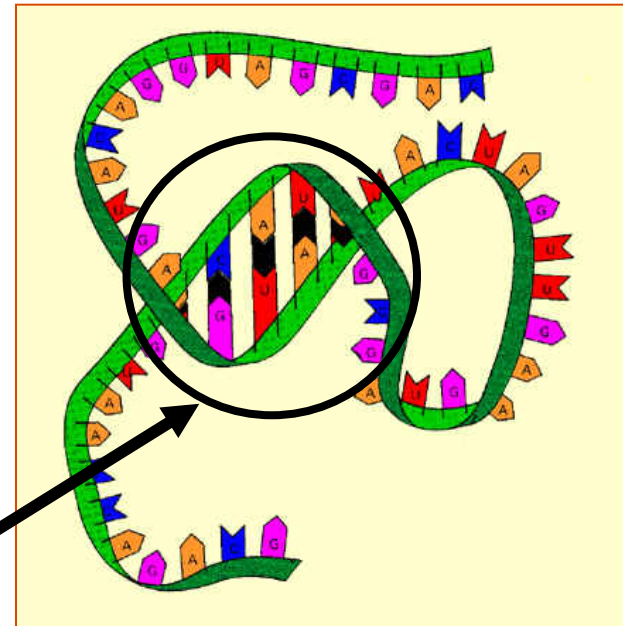


Thymines



Uracyl

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



Types d'ARN:	
ARN ribosomiques (18 S- 5,8S- 28S - 5S)	83%
ARNt	15%
ARNm	2%

• Produit

polymérase **ARN dépendante**

- Rôle génétique (messenger) ou fonctionnel (transfert d'a.a)
- ARN m est transcrit à un taux plus élevé que l'ARNt et l'ARNr

□ Généralités/Transcription

1^{ère} étape de synthèse d'une protéine = copie du gène (ADN) en une molécule d'ARN

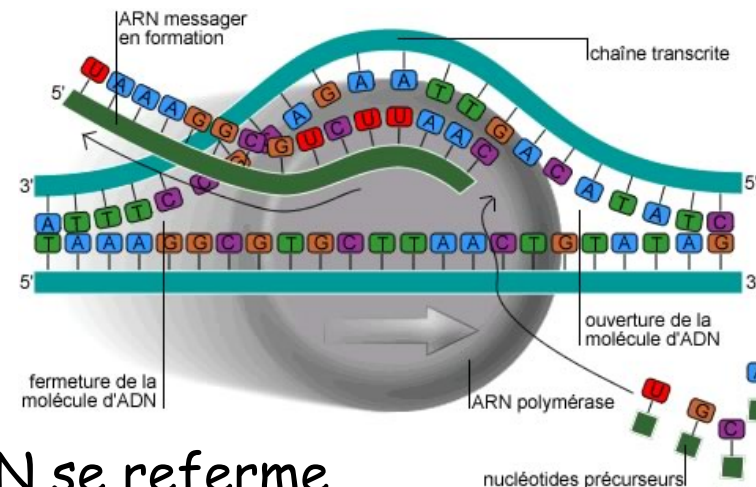
Assurée par l'ARN polymérase

- 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

En trois étapes:

Initiation, élongation, terminaison

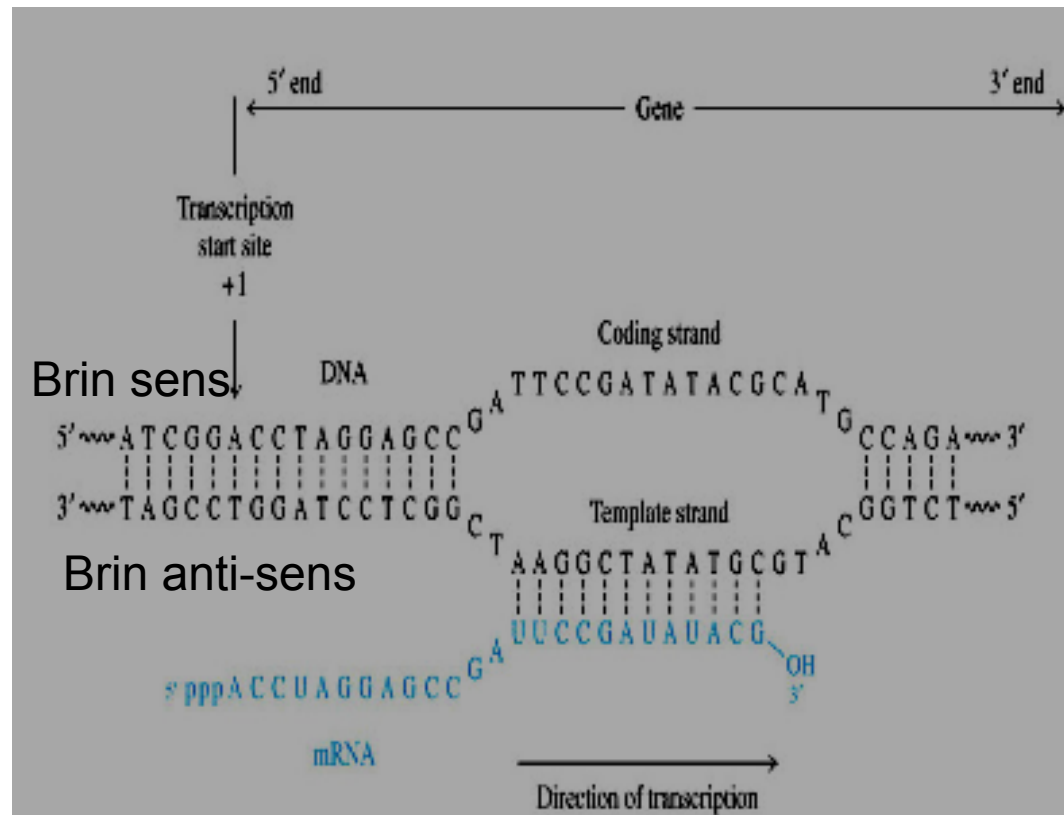
- L'ARNm se détache et la molécule d'ADN se referme



Brin sens et anti-sens

- La séquence de l'ARN synthétisé est identique à celle du brin sens, avec **U** à la place de **T** et orientée dans le même sens.

- Elle se construit de 5' vers 3' en complémentarité de celle qui est « lue » sur le brin antisens.



□ Les ARN polymérases

Chez les procaryotes: une seule ARN polymérase

Le core de l'enzyme est un complexe protéique multimérique: 4 sous-unités α_2 , β , β' et ω ($\alpha_2\beta\beta'\omega$).

L'association de σ au core = holoenzyme ($\alpha_2\beta\beta'\omega\sigma$)

- La sous unité β assure la liaison à l'ADN.
- La sous unité β' possède le site actif de la polymérase
- Les 2 sous unité α permettent l'assemblage des autres sous unités
- La sous unité ω rétablit la fonctionnalité de l'ARNp dénaturée in vitro
- Intervention du facteur σ pour la reconnaissance du site d'initiation.



Site de liaison à l'ADN et polymérisation de l'ARN

□ Les ARN polymérases

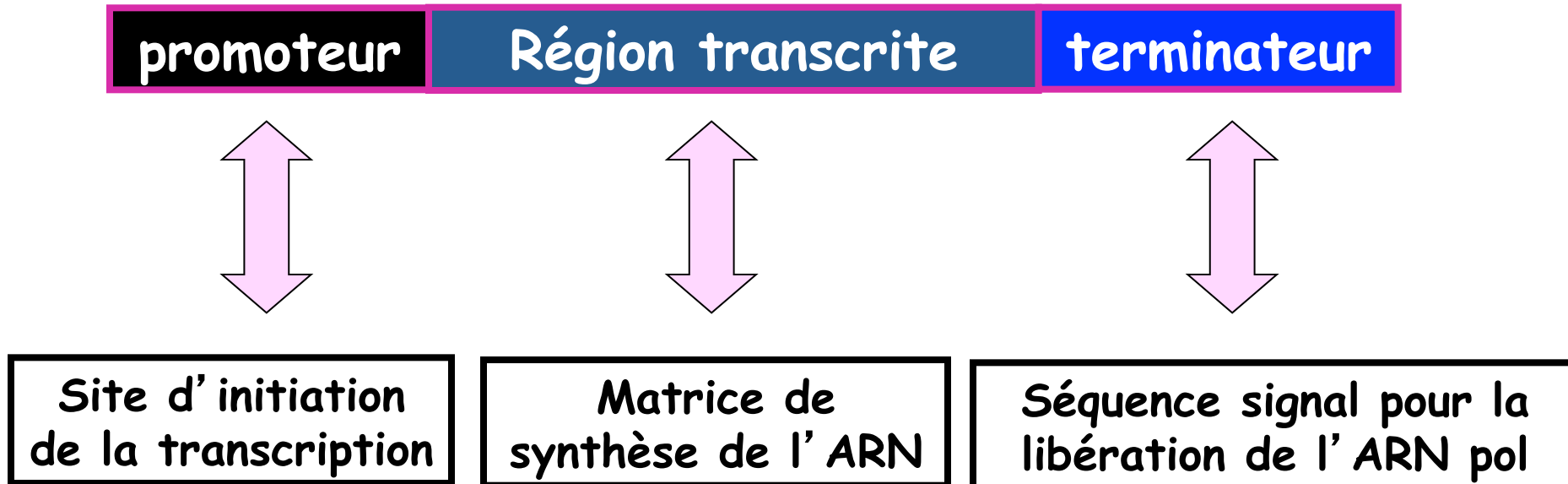
Chez les eucaryotes: trois types d'ARN polymérase

- ✓ **RNA-polymérase I** qui synthétise les RNA cytoplasmiques : RNA ribosomiques (18 S- 5,8 S- 28 S)
- ✓ **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

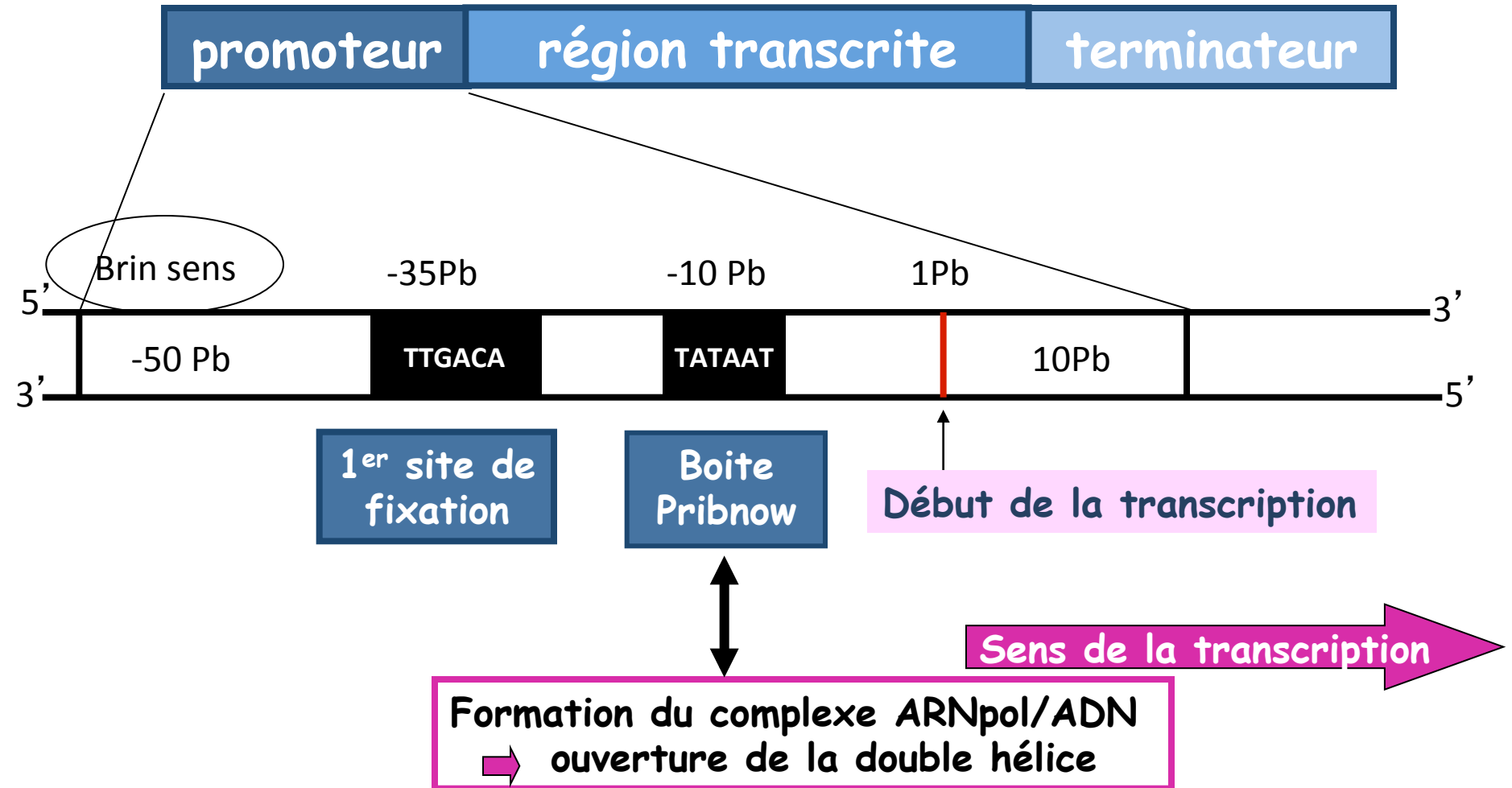
I- Transcription chez les bactéries

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 σ**

1- Organisation d'un gène bactérien

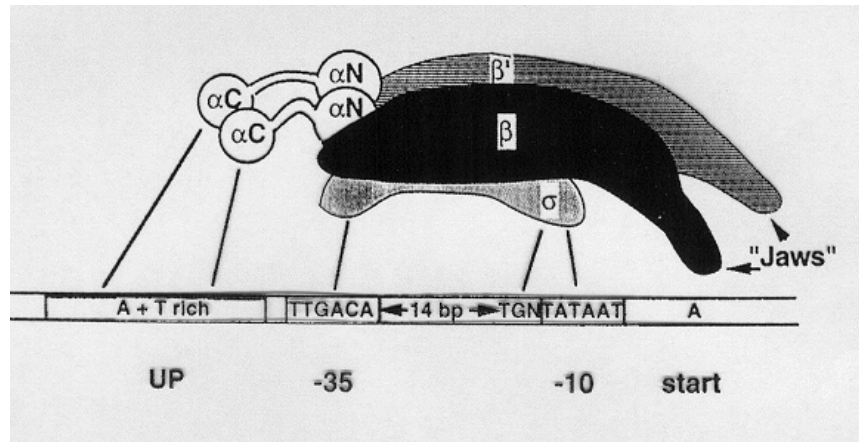


2- Promoteur et initiation de la transcription



Initiation de la polymérisation et 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



- ❑ 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

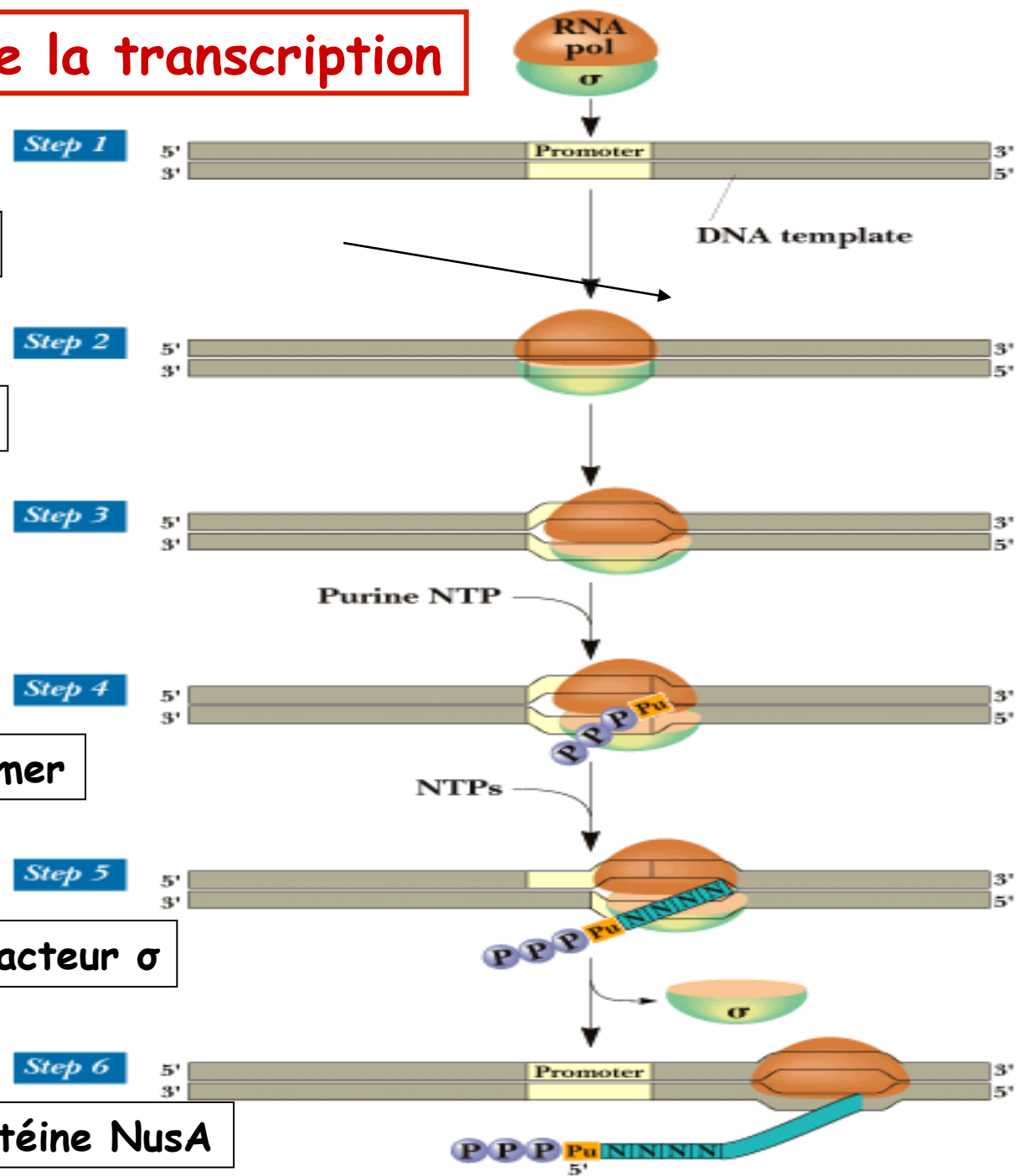
complexe fermé

complexe ouvert

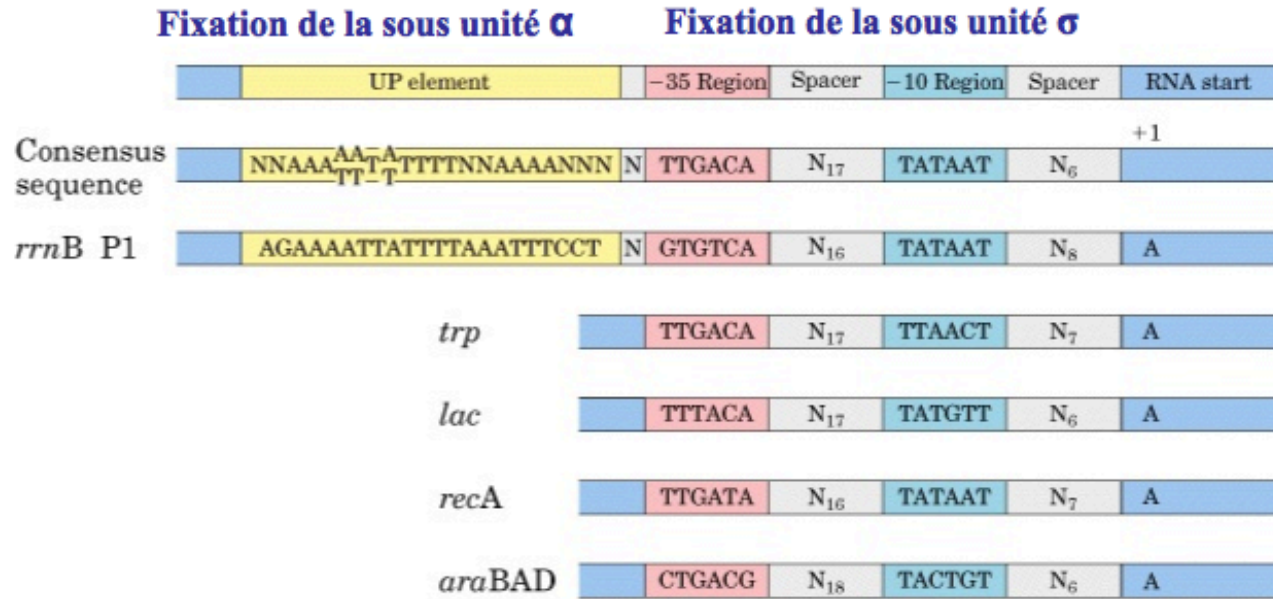
formation du Primer

Dissociation du facteur σ

Liaison de la protéine NusA



Structure des promoteurs et diversité des facteurs sigma



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

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

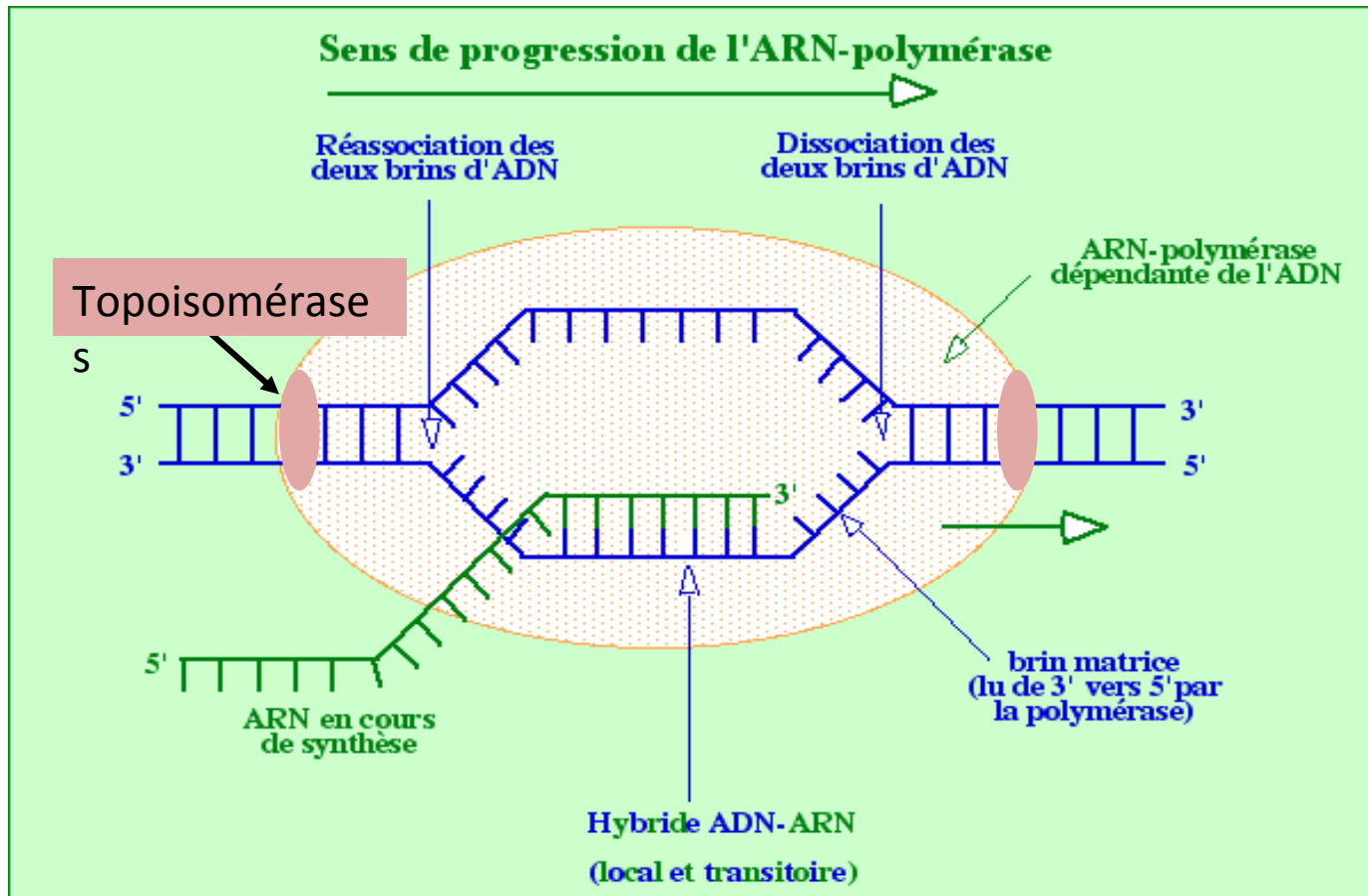
5' ~~~~⁻³⁵TTGACA ~~~~⁻¹⁰TATAAT ~~~~ 3' Standard promoter

5' ~~~~TNNCNCNC TTGAA ~~~~CCCATNT ~~~~ 3' Heat-shock promoter

5' ~~~~CTGGGNA ~~~~TTGCA ~~~~ 3' Nitrogen-starvation promoter

3- Élongation de la chaîne d'ARN:

Unité de transcription

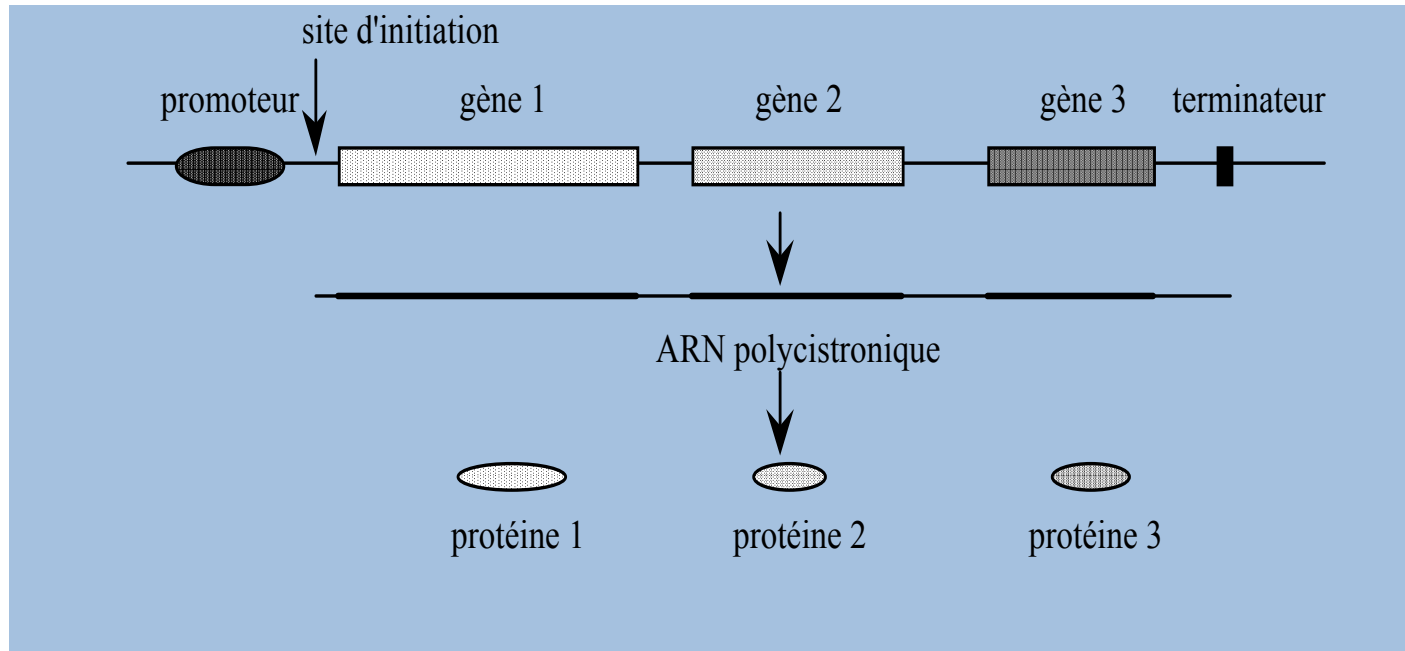


- assurée par le core de la polymérase à une vitesse d'environ 30nucl/sec.
- Topoisomérases précèdent et suivent la polymérase
- Souvent plusieurs transcrits de la même matrice



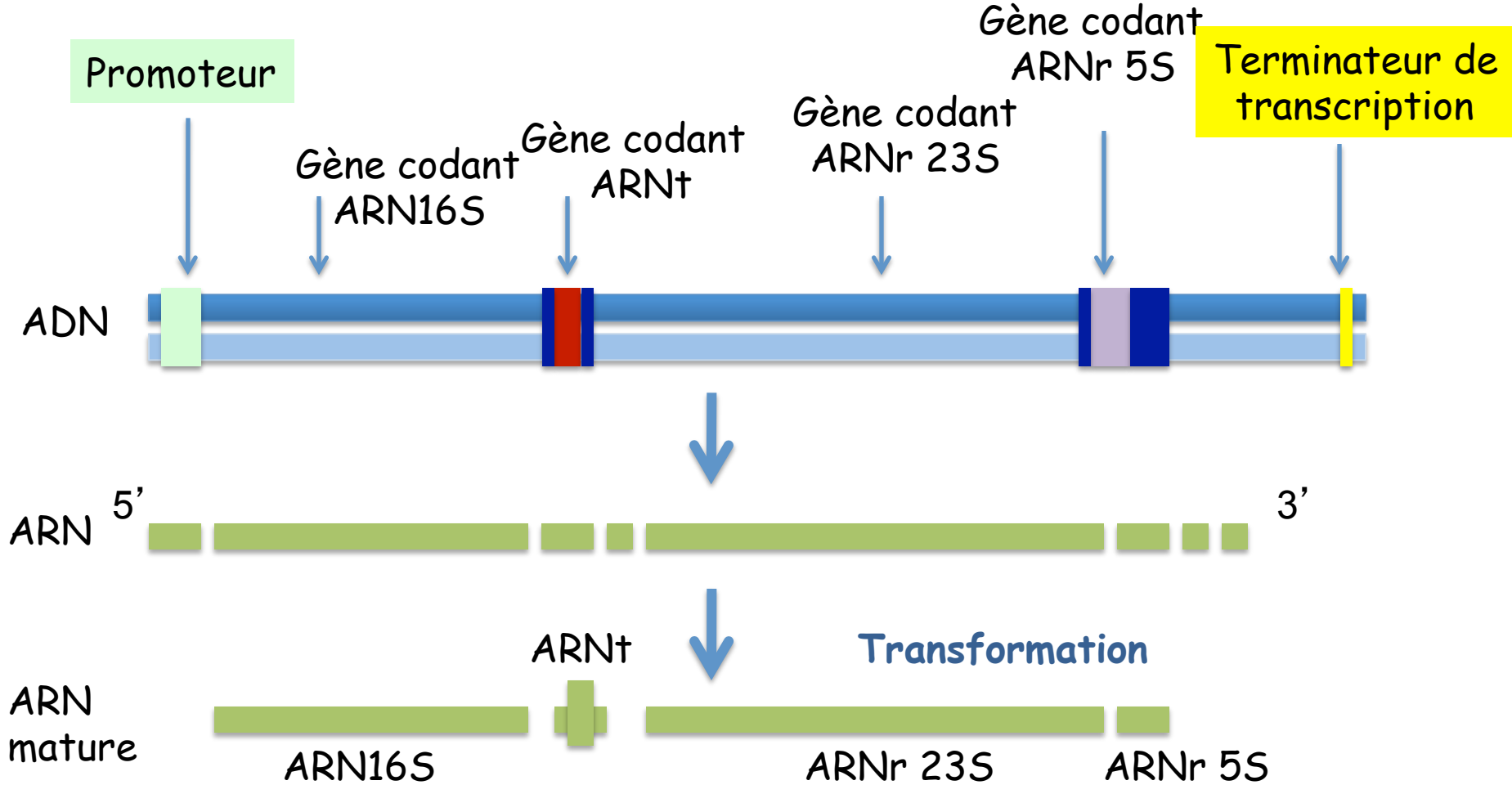
• Unité de transcription polycistronique

Cas des ARNs polycistroniques et notion d'opéron



Opéron: Unité d'expression de **gènes**, codant plusieurs enzymes apparentées ou des ARNr, sous le contrôle d'un **même promoteur**: co-transcrits générant un long ARNm

- > séquences codant plusieurs protéines en même temps
- > séquences codant des ARNr (16S, 23S, 5S) et des ARNt



Unité bactérienne de transcription ribosomique de l'ARNr (opéron ARNr) et sa transformation

Comparaison des ribosomes procaryotes et eucaryotes

Propriétés%	Procaryote	Eucaryote
Taille globale	70S	80S
Petite sous-unité Taille d'ARN	30S 16S (1500pb)	40S 18S (2300pb)
Grande sous-unité Taille d'ARN	50S 23S (2900pb) 5S (120pb)	60S 28S (4200pb) 5,8S (160pb) 5S (120pb)
% ARN	63	50
% Protéines	37	50

Unité Svedberg: unité du coefficient de sédimentation lors d'une force centrifuge

B- Transcription

Introduction

Les ARN, les ARN polymérases et généralité sur la transcription

I- Transcription chez les bactéries

- 1- L'organisation d'un gène bactérien
- 2 - Le Promoteur et l'initiation de la transcription
- 3 - L'élongation de la transcription
- 4 - La régulation de la transcription
- 5- La terminaison de la transcription
- 6- Les inhibiteurs spécifiques de la transcription

II- Transcription chez les Eucaryotes

Introduction : particularités du génome eucaryote

- 1 - L'initiation de la transcription
- 2 - Les modifications post-transcriptionnelles

Unité de transcription
=
zone où la transcription s'initie et se termine

un seul gène

2 ou plusieurs
gènes co-transcrits

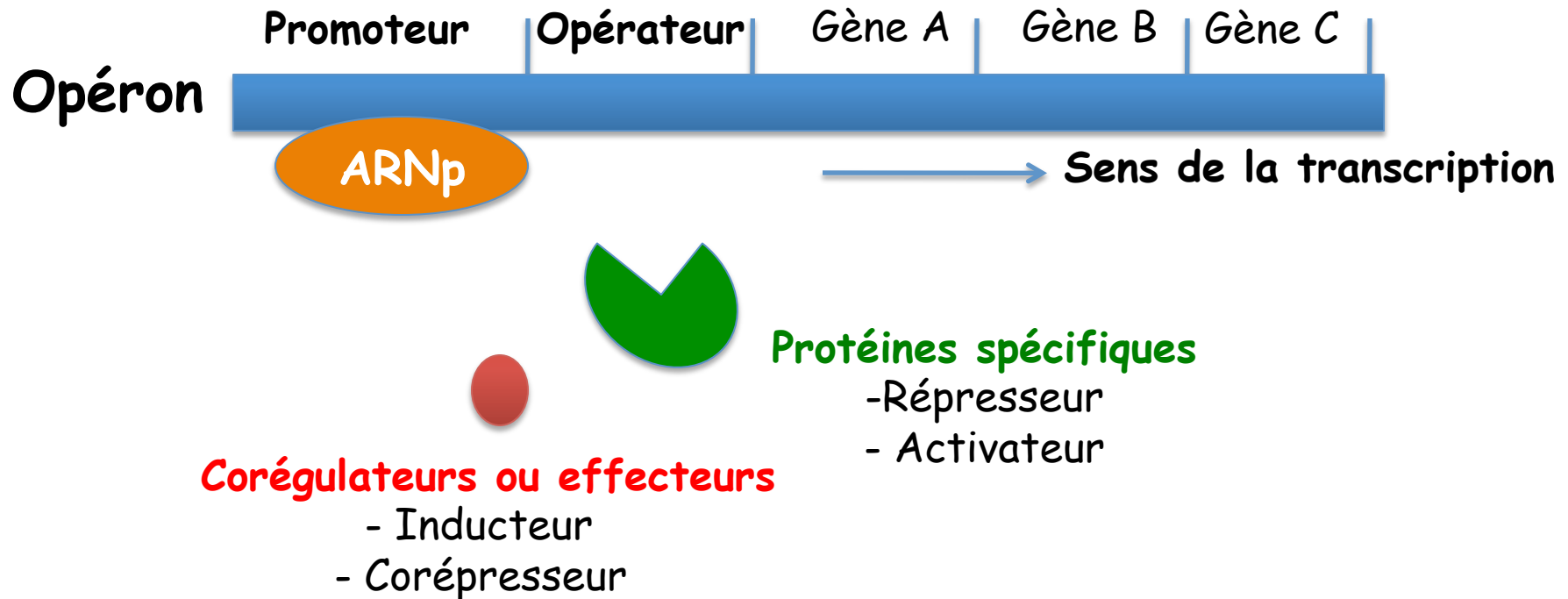
Une seule
molécule
d'ARNm

Unité de transcription
polycistronique
=
Codant plusieurs
protéines

Résumons

4- Régulation de la transcription: protéines allostériques se liant à l'ADN

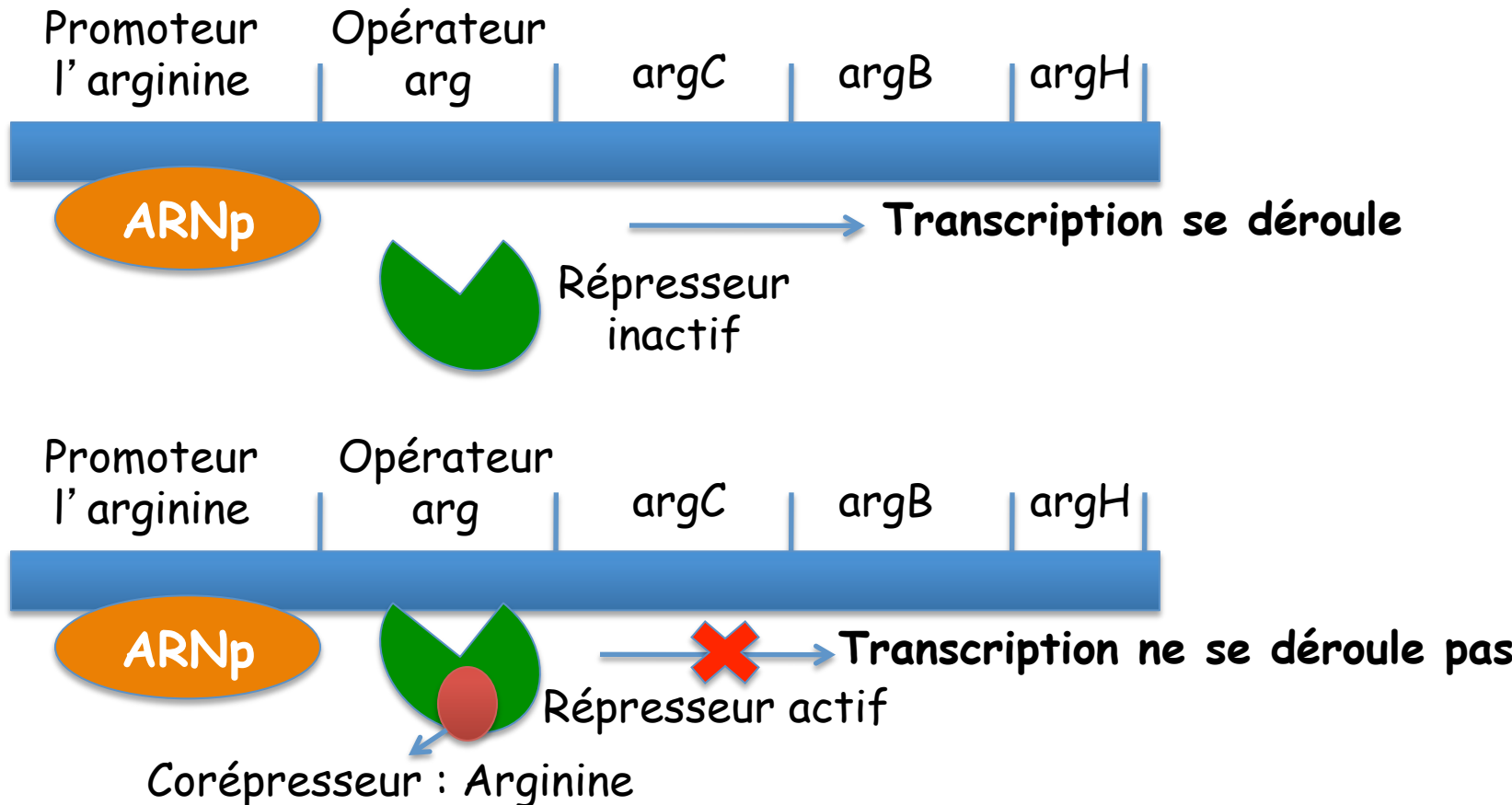
Transcription de l'ARNm d'un opéron peut être sous le contrôle d'un opérateur qui régule le processus transcriptionnel par liaison avec d'autres protéines spécifiques



A- Régulation négative de la transcription

1- Fixation d'un répresseur en aval du promoteur

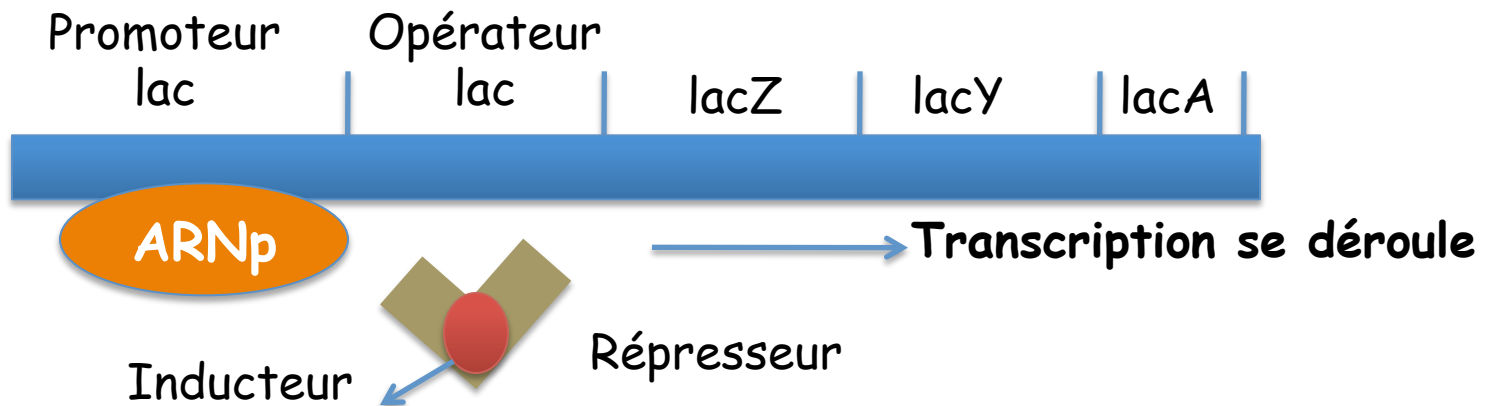
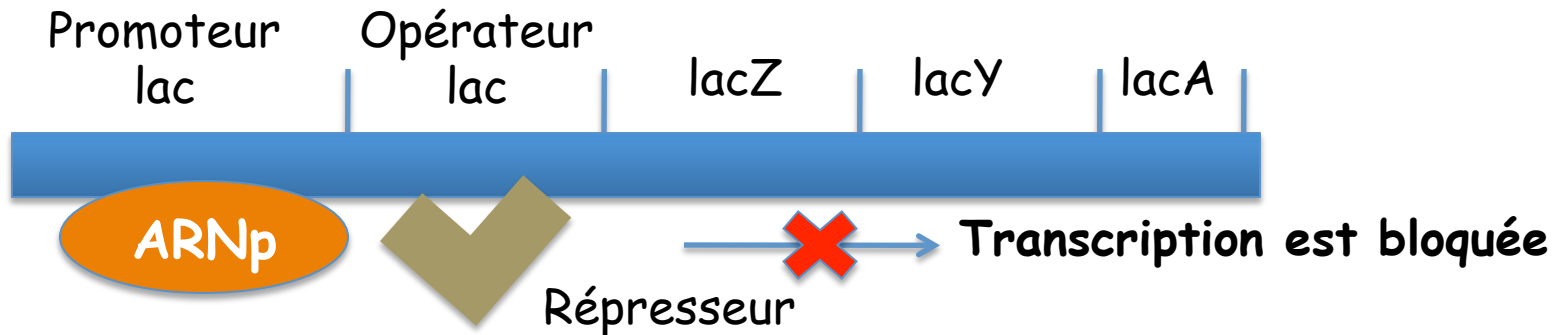
En se liant à son effecteur (corépresseur), la protéine répresseur est active et se fixe à l'opérateur Ex: l'opéron arginine



A- Régulation négative

2- Fixation d'un inducteur sur le répresseur

En absence de son inducteur, la protéine répresseur bloque la transcription **Ex: l'opéron lactose**



B- Régulation positive

Promoteur possède des séquences différentes de la séquence consensus, d'où besoin d'un activateur et d'un inducteur pour que l'ARNp reconnaisse le site de fixation malgré le bon facteur sigma

Ex: catabolisme du maltose

Gènes codant enzymes de catabolisme

Site de fixation de l'activateur | Promoteur mal

malE | malF | malG



Inducteur = maltose

Site de fixation de l'activateur | Promoteur mal

malE | malF | malG



5- Terminaison de la transcription

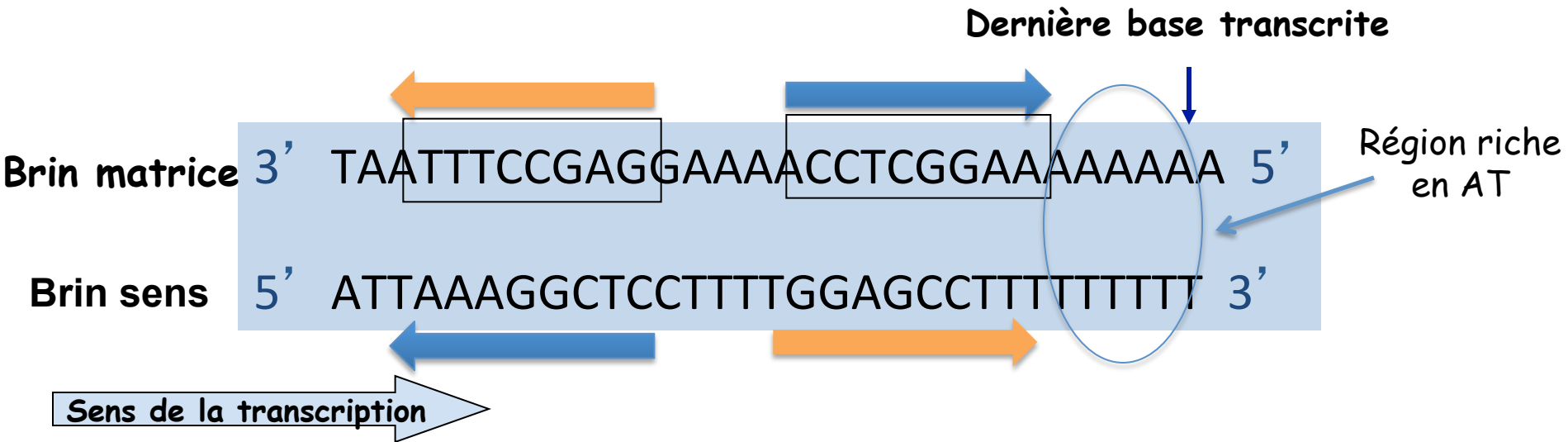
Processus conduisant à la **dissociation** des sous unités de l'ARNp après la rencontre des **signaux de terminaison**

Deux mécanismes:

- ❖ Terminaison « rô- indépandante »: terminateurs intrinsèques
- ❖ Terminaison « rô-dépandante »: 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 codant pour un poly-U (région de faible énergie)

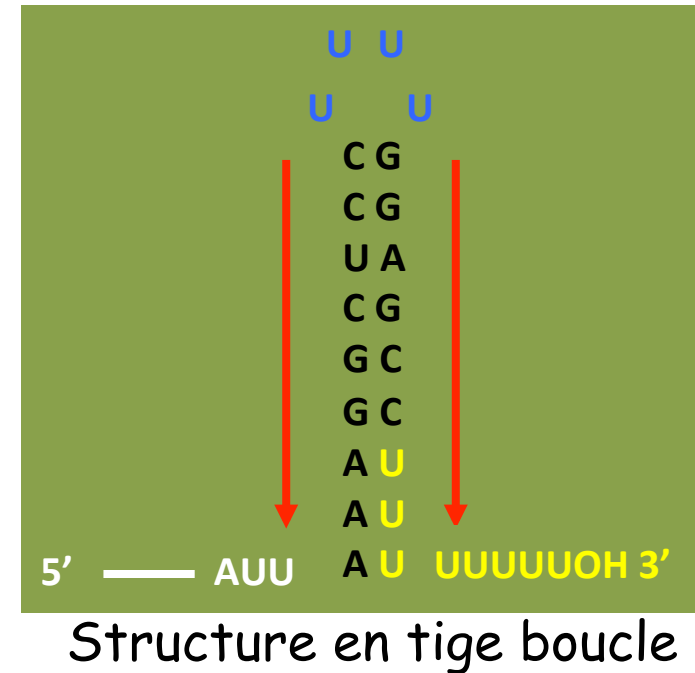


Après transcription de la région de terminaison



- 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



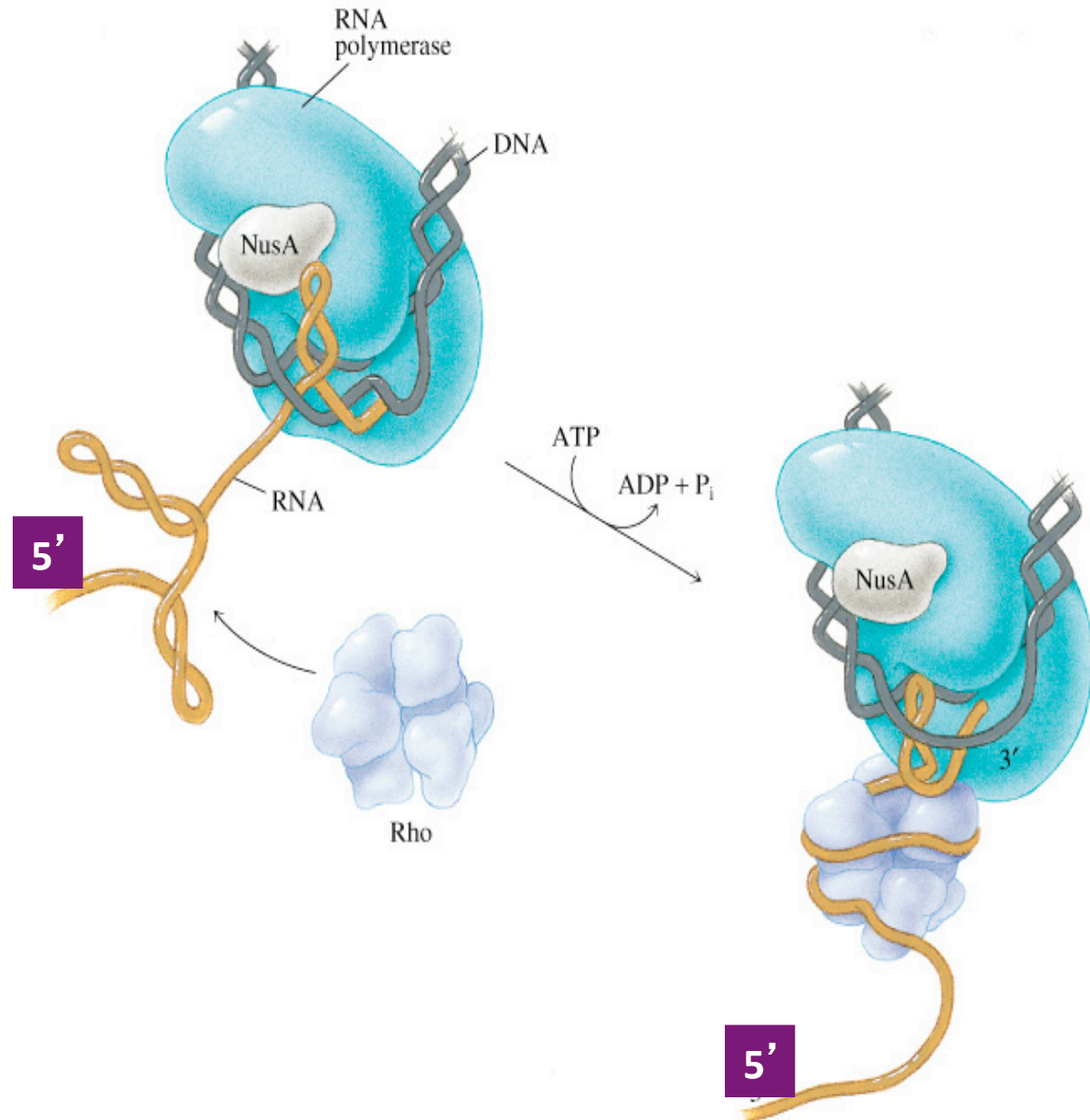
Terminaison rho-dépendante:

Facteur Rho:

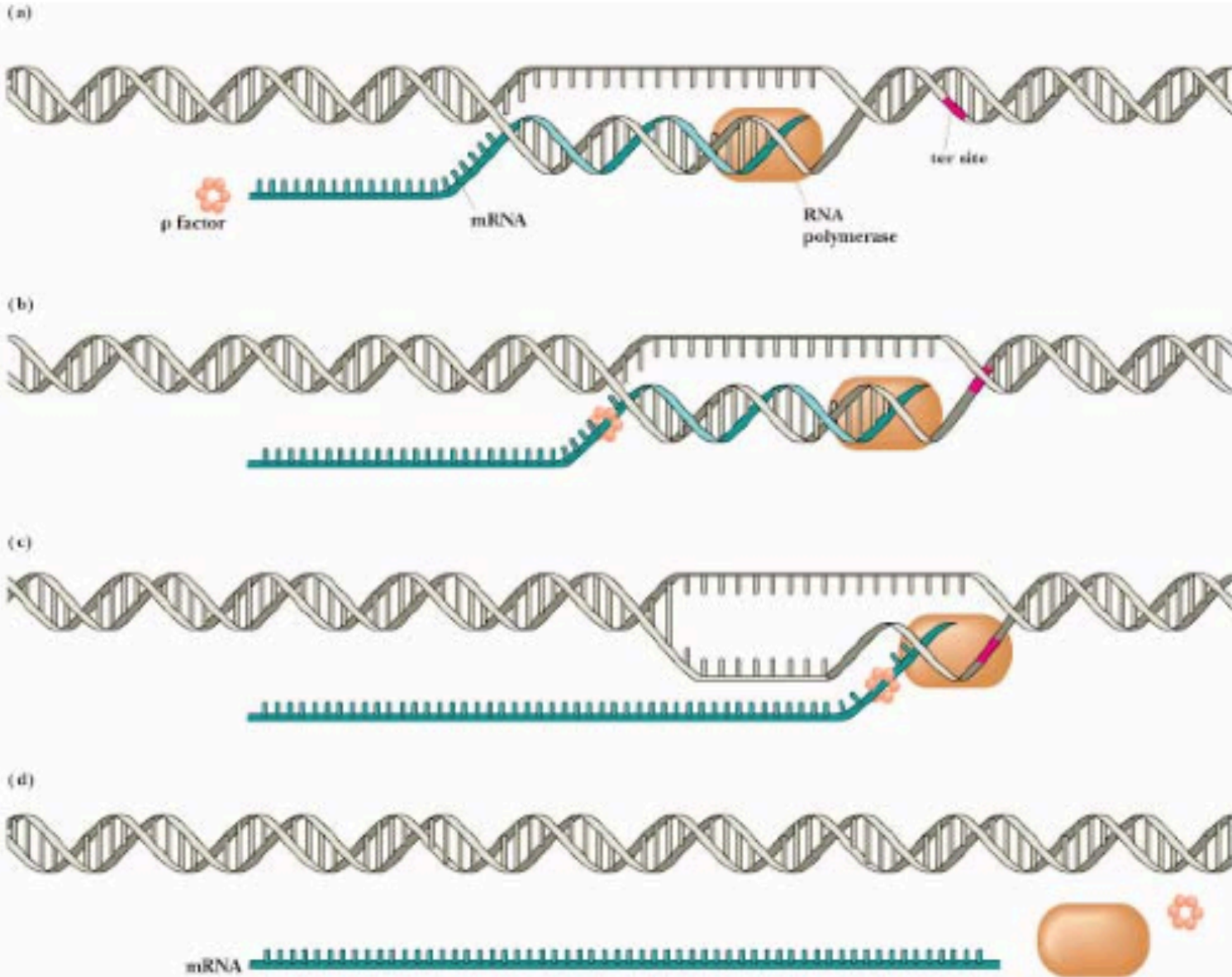
- Hélicase ATP dépendante
- **Fixation** à l'extrémité 5' de l'ARNm, **migration** le long de l'ARN, localise le complexe pol-ARN et le **déroule**



Libération de l'ARN
nouvellement synthétisé



Terminaison rho-dépendante:



6- Les inhibiteurs spécifiques de la transcription

- **Groupe Rifamycines:** (Rifampicine, rifamycine et rifabutine). Inhibiteur de l'ARNp en se fixant sur la sous unité β
- **Streptomycines:** Inhibiteur de l'ARNp en se fixant sur la sous unité β (site différent des rifamycines)
- **Actinomycines:** inhibition de l'élongation en se fixant à l'ARN sur les paires de bases GC

II- Transcription chez les Eucaryotes

Introduction : Particularités du génome eucaryote

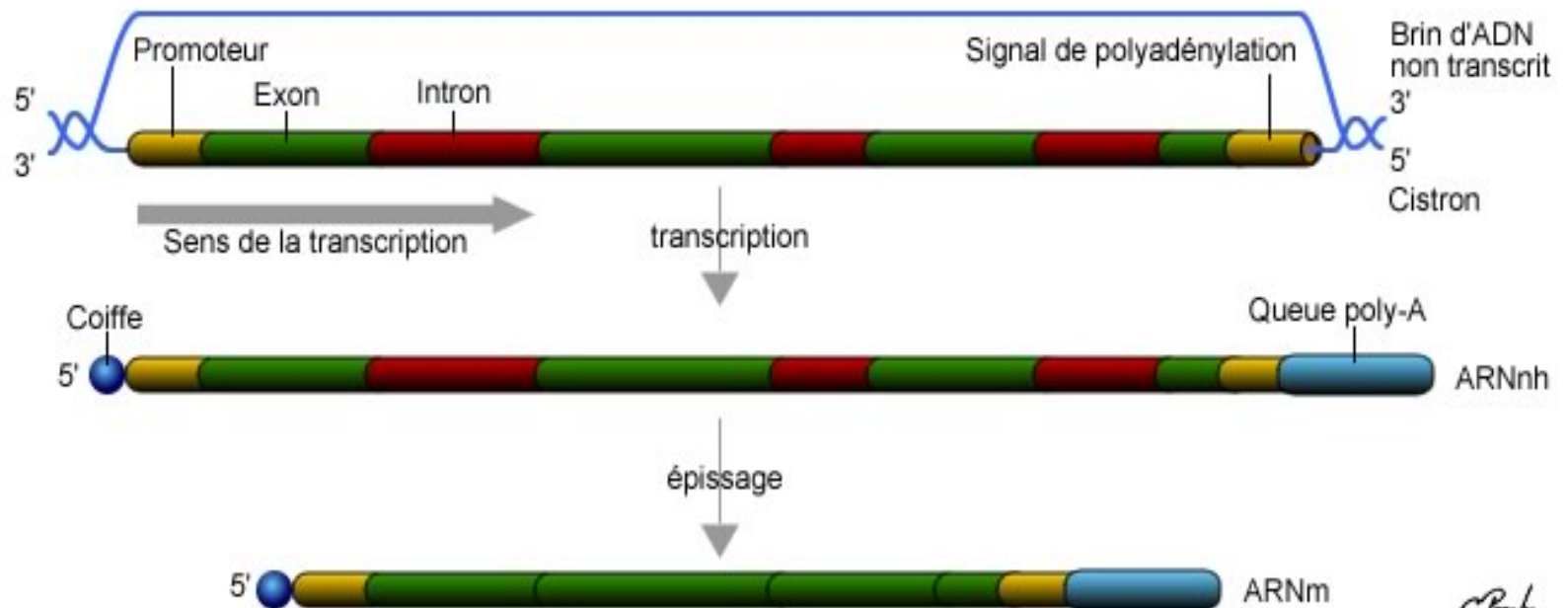
1 - L'initiation et la terminaison de la transcription

2 - Les modifications post-transcriptionnelles

Introduction:

Particularités du génome des eucaryotes

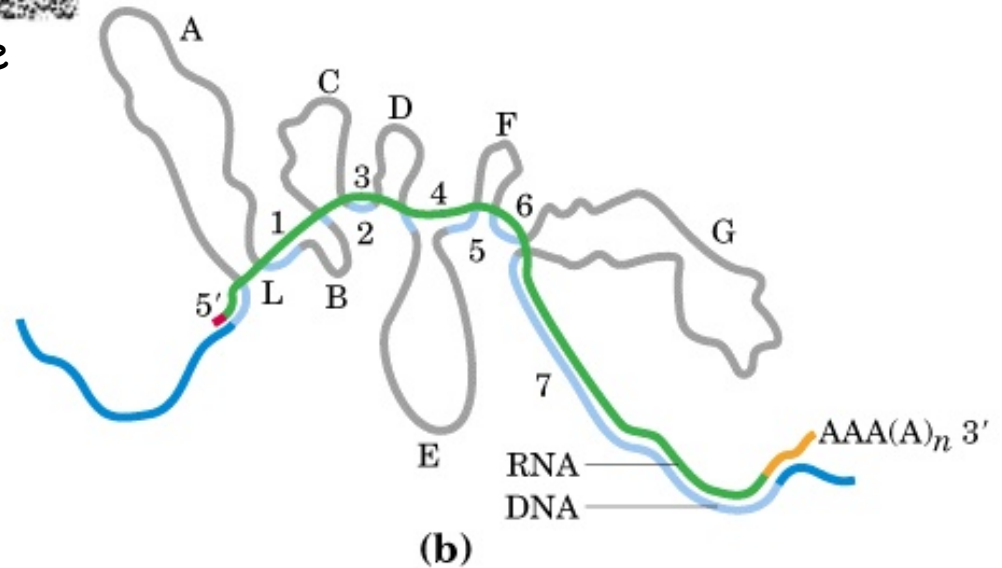
- Diploïde
- Éclaté ou en mosaïque: introns et exons
- Expression compartimentée
- Unité de transcription est monocystronique



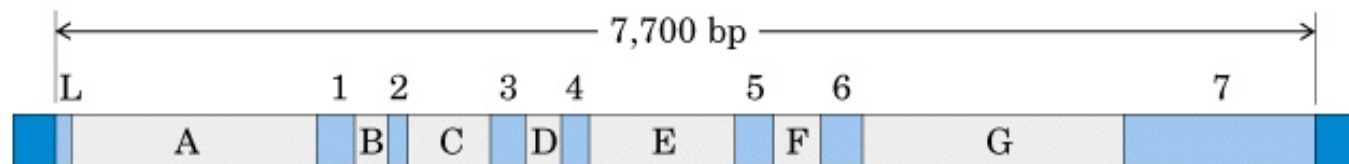
C. Prof

Génome en mosaïque

Hybridation ARNm épissé avec le gène correspondant d'ADN



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



Les ARN polymérase: Rappel

Chez les eucaryotes: quatre types d'ARN polymérase

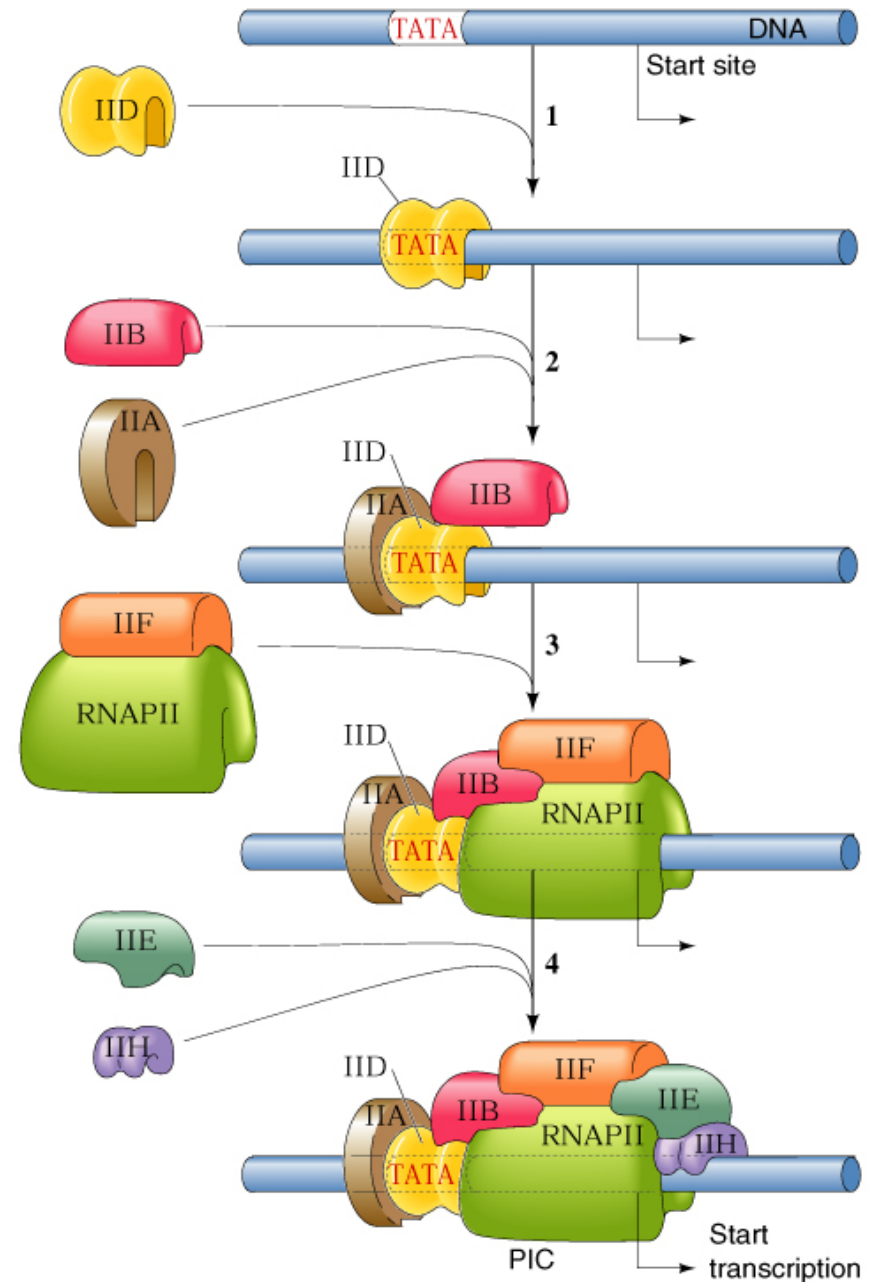
- ✓ **RNA-polymérase I**: Transcription des RNA ribosomiques (18 S-5,8 S- 28 S)
- ✓ **RNA-polymérase II**: Transcription des RNA messagers et certains des snRNA
- ✓ **RNA-polymérase III**: Transcription des tRNA, rRNA 5S
- ✓ **RNA-polymérase IV** spécialisé dans la transcription de l'ADN mitochondrial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

L'ARN polymérases II

- ❖ Dans le nucléoplasme
- ❖ Plusieurs sous unités polypeptides (10 chez la levure, RPB1 à RPB10)
- ❖ Nécessite 7 facteurs de transcription: A, B, D, E, F, H et séq TATA



Fixation spécifique sur le promoteur



Chez les Eucaryotes, le mécanisme de base de la transcription est identique à celui des Procaryotes

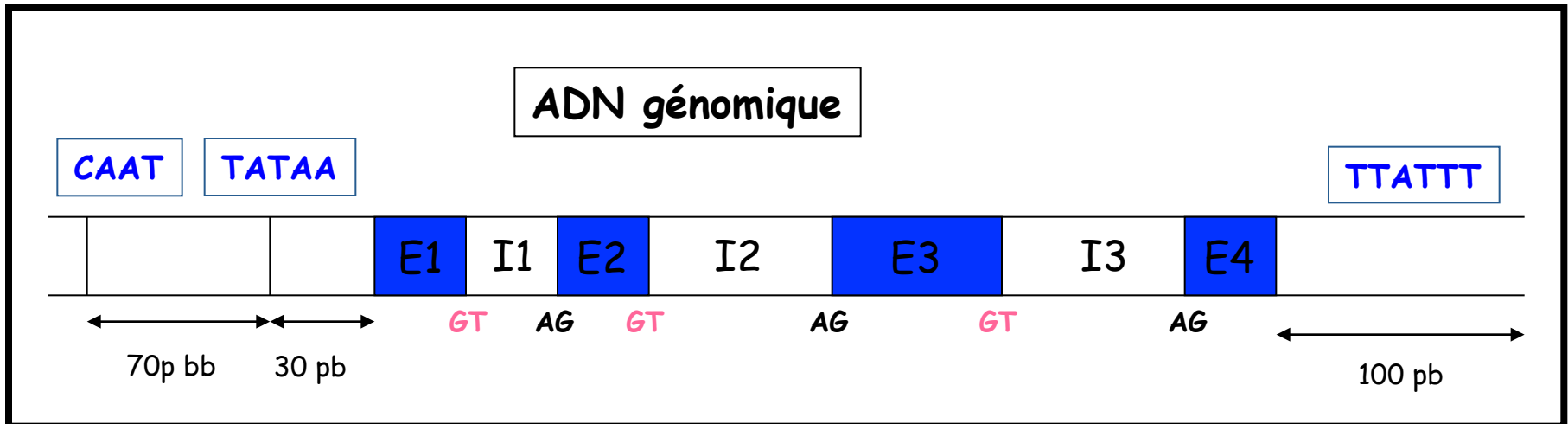
Différences



- ✓ Structure des promoteurs
- ✓ Modifications post-transcriptionnelles des ARN

- ARNr (sauf le 5S): méthylation, bases modifiées et épissage
- ARNt : méthylation, épissage et bases modifiées (U-->ΨU)
- ARNr 5S : pas de modification
- ARNm : coiffés, épissés et polyadénylés. Certaines adénines peuvent également être méthylées

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:

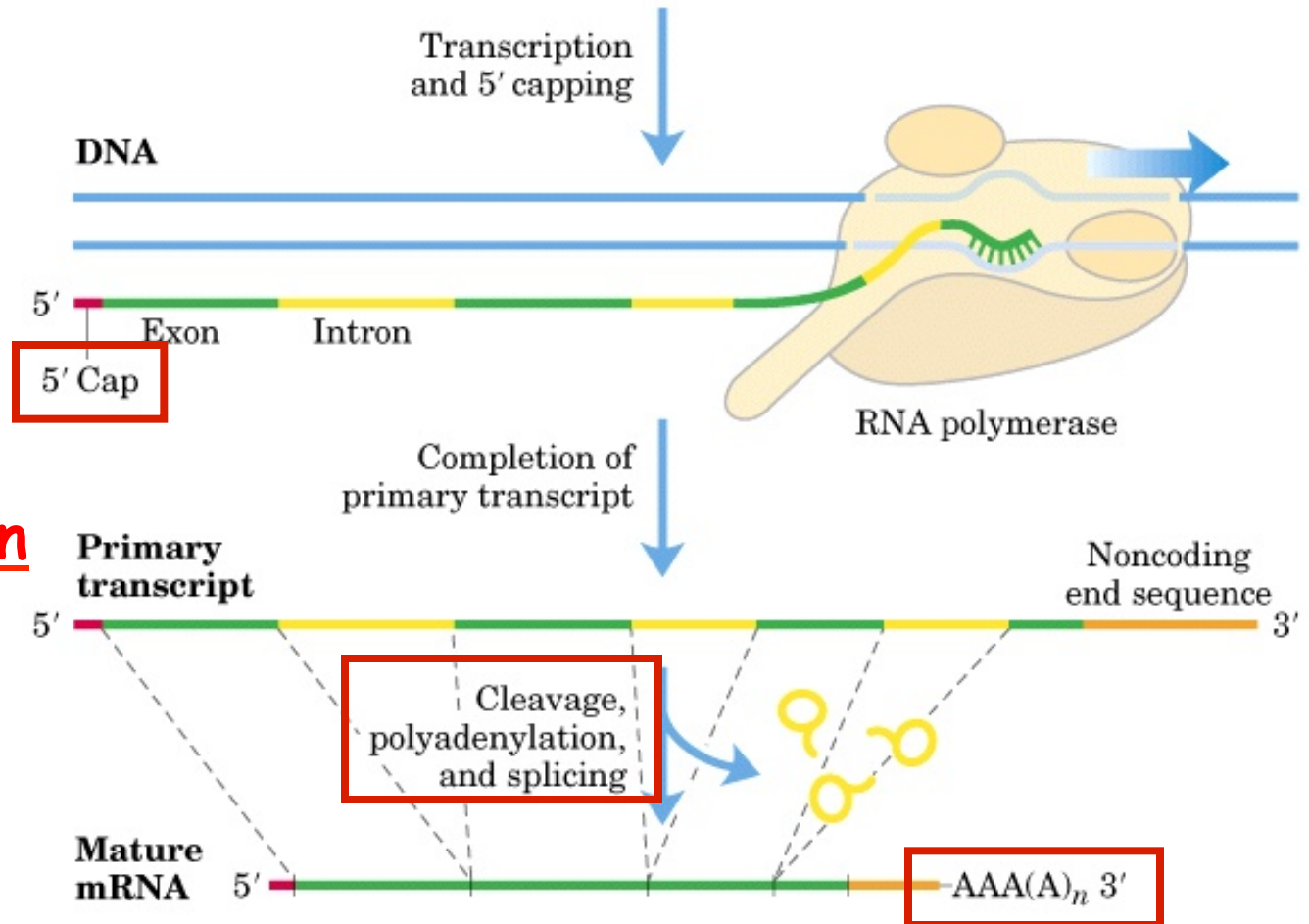
- ❖ Séquence de 6 pb à la fin du gène reconnue par ARN-endonucléase
- >>> Extrémité 3' formée est polyadénylée dans le nucléoplasme

2- Modification post-transcriptionnelle:

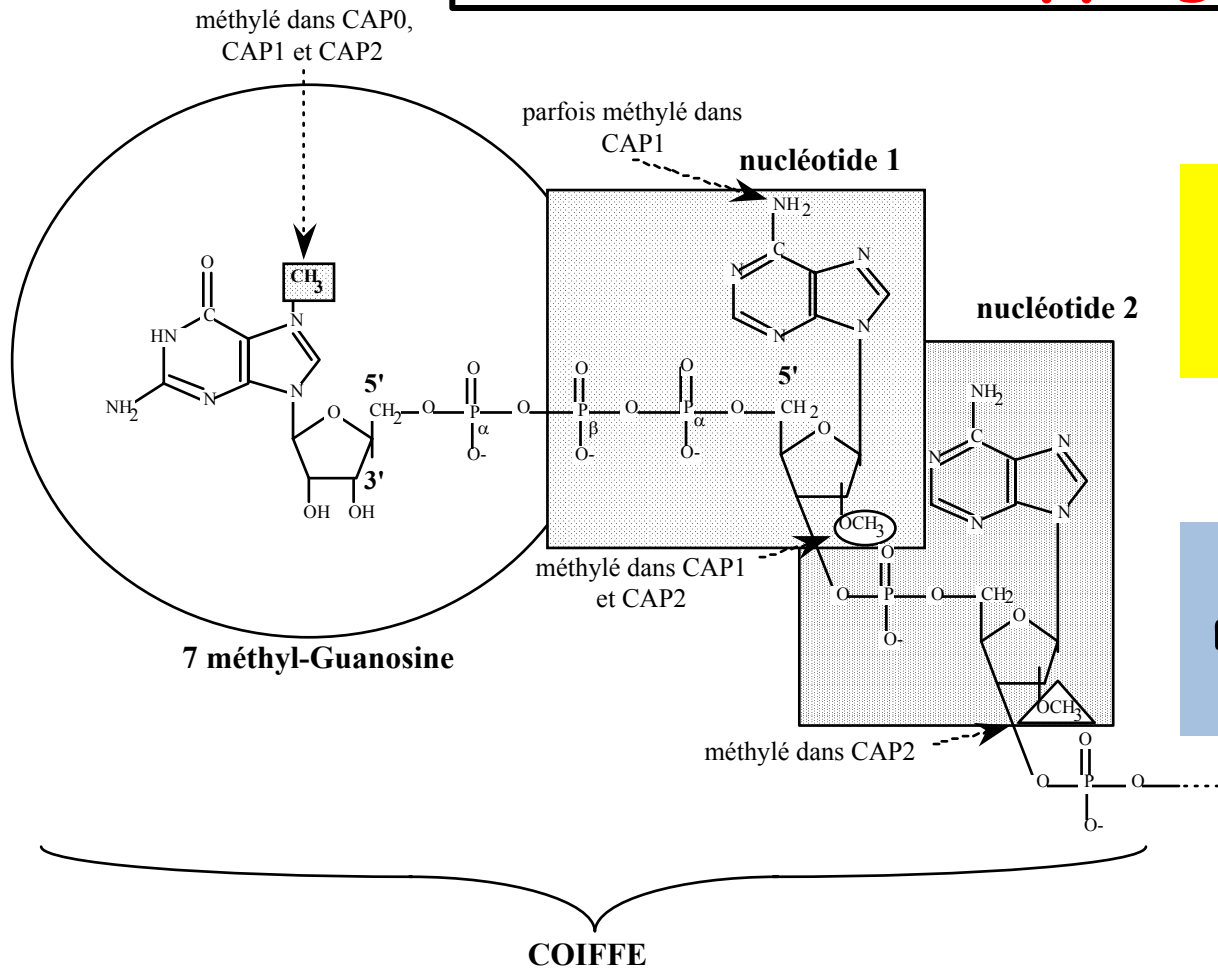
- Capping

- Polyadénylation

- Epissage



α - Coiffe ou capping



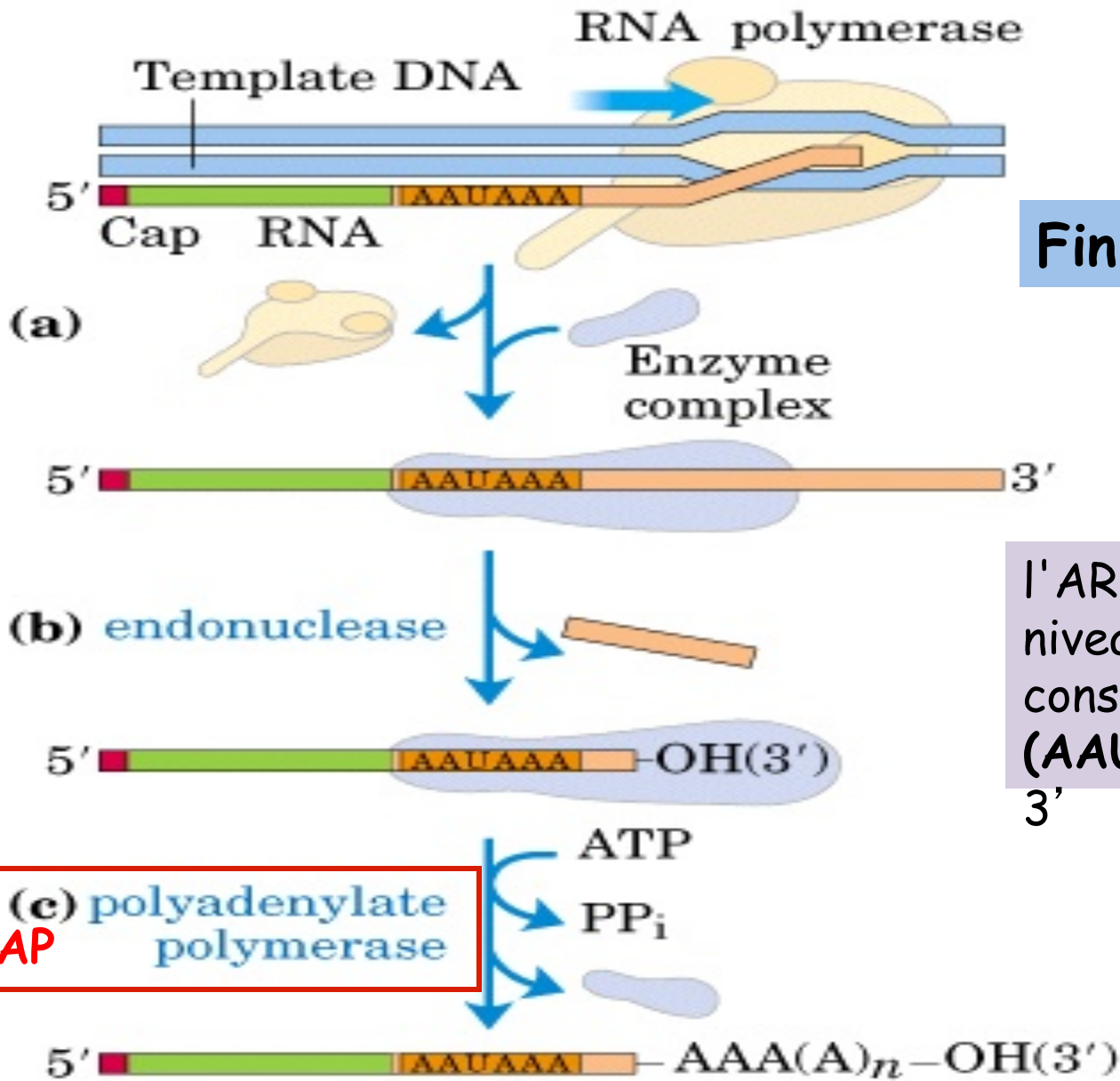
signal de reconnaissance pour les ribosomes

Dernière base du messenger 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



Fin de transcription

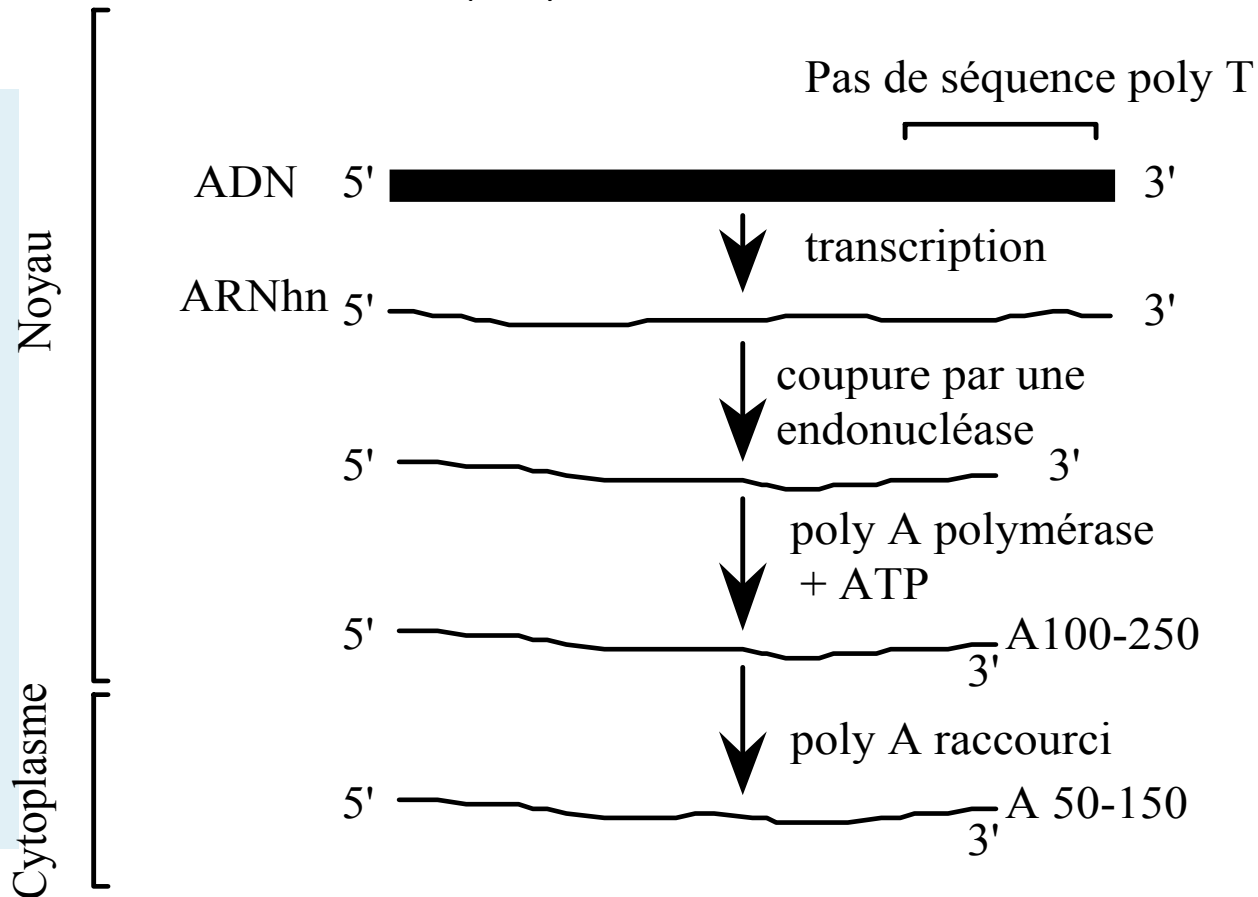
l'ARNm est clivée au niveau d'une séquence conservée hexamérique (AAUAAA) à l'extrémité 3'

Une extrémité poly A est rajoutée par PAP

- ❖ 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)



c- Splicing ou épissage:

Ribonucléo-protéiques
snRNP (U1 à U6)

U1 reconnaît le site 5' d'épissage

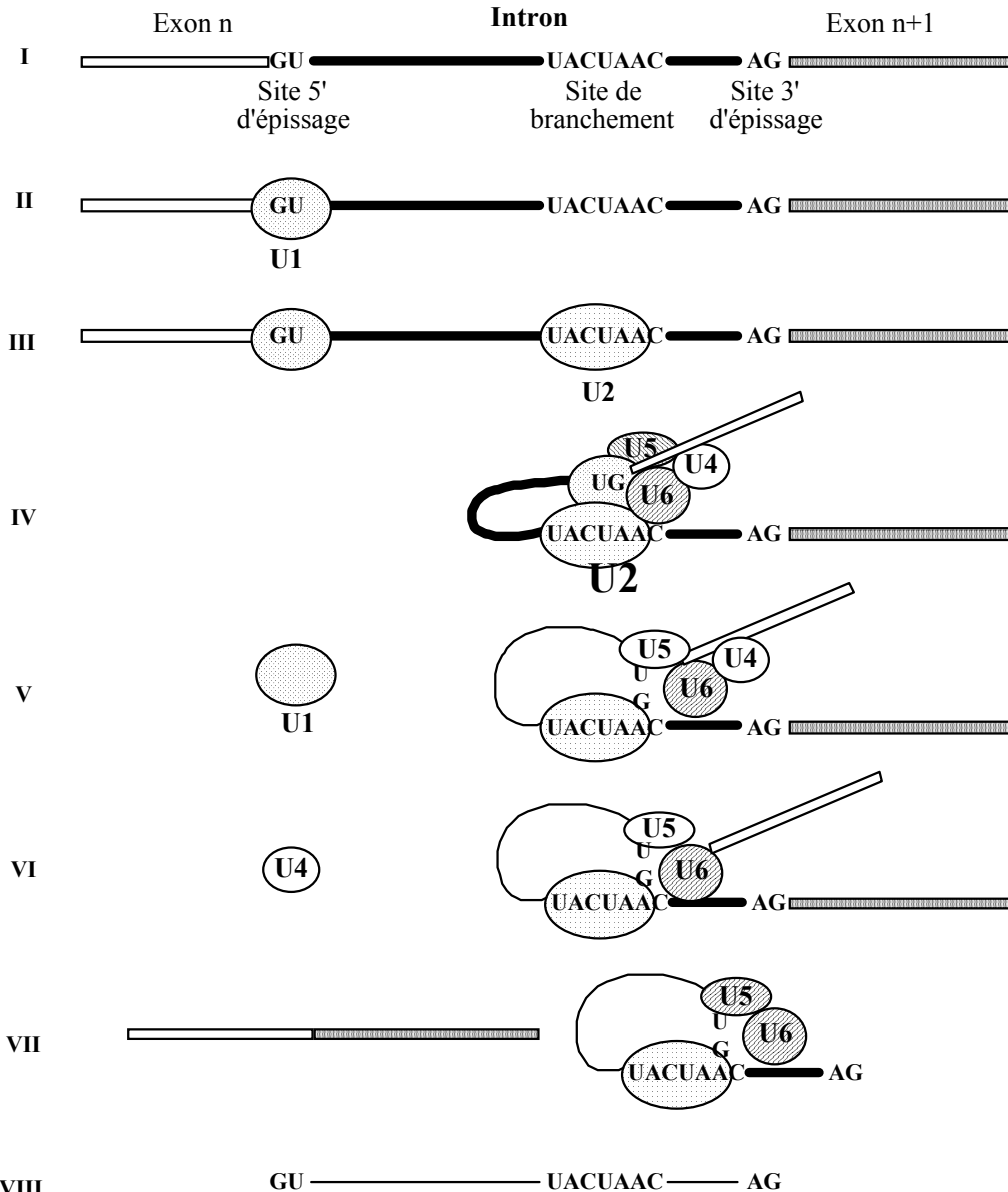
U2 reconnaît le site de branchement

U4/U5/U6 se lie et U5
reconnaît le site 5' d'épissage

U1 se dissocie suivi de U4 et U5
se déplace de l'exon à l'intron

U6 catalyse la trans-
esterification et le site 5'
d'épissage est coupé et le lasso
est formé.

Le site 3' d'épissage est coupé
et les deux exons ligaturés.
L'ARN épissé est libéré.

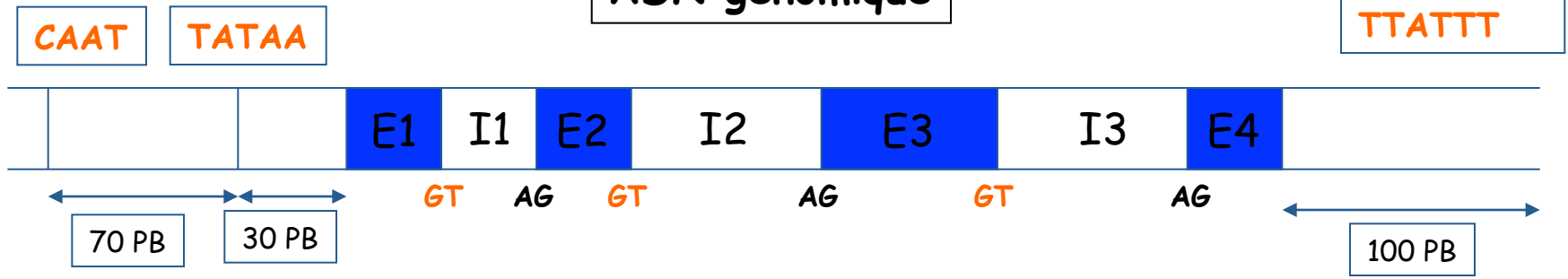


Récapitulatif

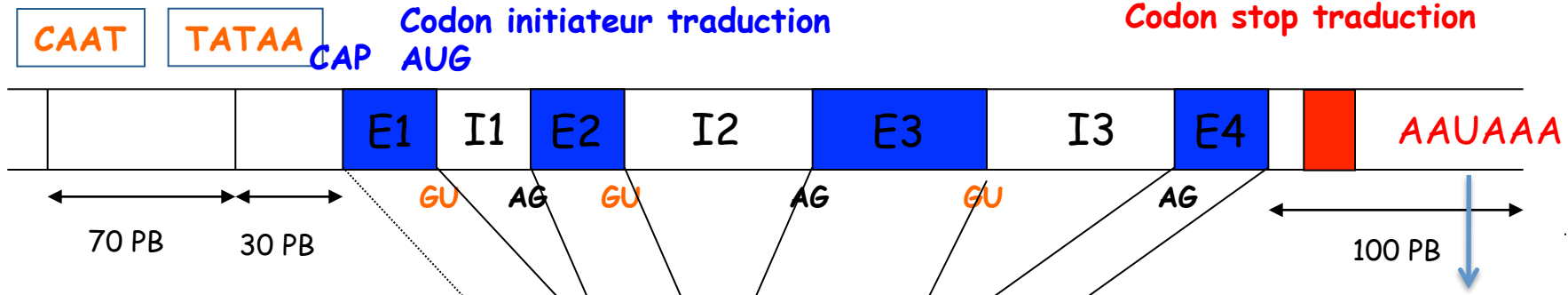
Extrémité 5'

Extrémité 3'

ADN génomique



ARN transcrit primaire

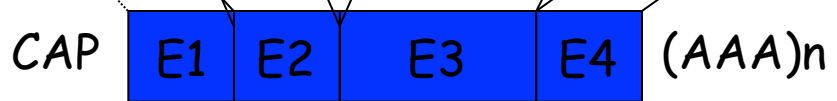


(UGA, UAA ou UAG)
Codon stop traduction

Codon initiateur traduction
AUG

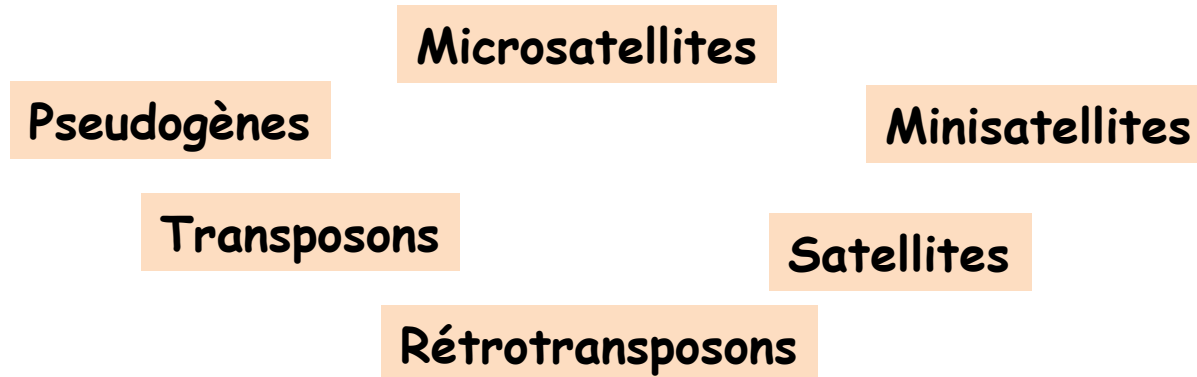
Signal de polyadénylation

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



ARN messenger

- ✓ Chez les **eucaryotes**, seulement **3%** de l'ADN code pour des protéines ou des ARNr ou ARNt, 97% non codant (entre les gènes et à l'intérieur des gènes)
- ✓ Les **introns**: séquences d'ADNs non codantes situées à l'intérieur des gènes qui peuvent être:



- ✓ Dans certains cas, un même gène peut être épissé de différentes façons pour donner différentes protéines.
- ✓ Une protéine peut aussi être découpée, après sa synthèse, de différentes façons pour donner différentes protéines.

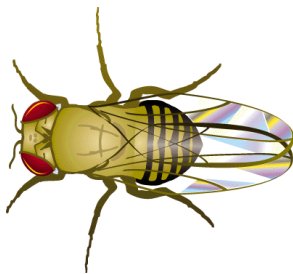
Combien de gènes ?

Selon les équipes qui ont séquencé l'ensemble du génome humain il y aurait **entre 30 000 et 60 000 gènes** dans le génome humain mais plus de 100 000 protéines différentes.

- *Arabidopsis thaliana* (une petite plante) contient 25 000 gènes
- *C. elegans* (un nématode) en contient 19 000
- Drosophile: 13 600



Arabidopsis thaliana



C. elegans