



**Tutorat Santé Lyon Sud**

UE1

# **La transcription de l'ADN**

Cours du Professeur P. COHEN

---

*L'ensemble des cours du Professeur P. COHEN fait habituellement l'objet de 7 QCMs au concours.*

---

Le présent support de cours fourni par le Tutorat Santé Lyon Sud est destiné à faciliter votre prise de notes mais ne constitue en aucun cas une référence pour le concours. Seuls les cours ayant été dispensés par les enseignants et les supports mis à disposition par leurs soins sont légitimes. Veuillez prendre note que seul les photocopiés directement téléchargés depuis Spiral Connect sont certifiés en provenance du tutorat, toute autre source est potentiellement compromise.

**SOMMAIRE**

**I. DEFINITION..... 3**

**II. LES ELEMENTS NECESSAIRES..... 5**

II.A. LES RIBONUCLEOTIDES ..... 5

II.B. L'ARN POLYMERASE ADN-DEPENDANTE ..... 5

    1. *Chez les procaryotes* ..... 5

    2. *Chez les eucaryotes*..... 6

    3. *Inhibiteurs des ARN polymérasés*..... 6

II.C. LA MATRICE D'ADN ..... 7

**III. TRANSCRIPTION PROCARYOTE ..... 8**

III.A. INITIATION..... 8

III.B. ELONGATION ..... 9

III.C. TERMINAISON ..... 10

    1. *Mécanisme direct : Rho indépendant*..... 11

    2. *Mécanisme indirect avec une protéine Rho à activité ATPasique* ..... 11

III.D. DIFFERENCES AVEC LA TRANSCRIPTION CHEZ LES EUCARYOTES ..... 12

**IV. TRANSCRIPTION ET MATURATION DES ARN<sub>M</sub> CHEZ LES EUCARYOTES ..... 12**

IV.A. INITIATION ..... 12

IV.B. ELONGATION CHEZ LES EUCARYOTES ..... 14

IV.C. MATURATION DES TRANSCRITS ..... 14

    1. *Ajout de la coiffe en 5' (= cap)*..... 15

    2. *La queue poly(A) : coupure et polyadénylation des ARNm*..... 15

    3. *Epissage*..... 16

    4. *Maturation différentielle des ARNm eucaryotes*..... 18

    5. *Exportation sélective hors du noyau cellulaire des ARNm*..... 20

    6. *Comparaison de la synthèse des ARNm chez les eucaryotes et les procaryotes*..... 20

**V. LA TRANSCRIPTION ET LA MATURATION DES ARN<sub>R</sub>..... 21**

V.A. MATURATION DES ARN<sub>R</sub> 18S, 5.8S ET 28S..... 21

V.B. MATURATION DES ARN<sub>R</sub> 5S..... 22

V.C. FORMATION DES RIBOSOMES ..... 22

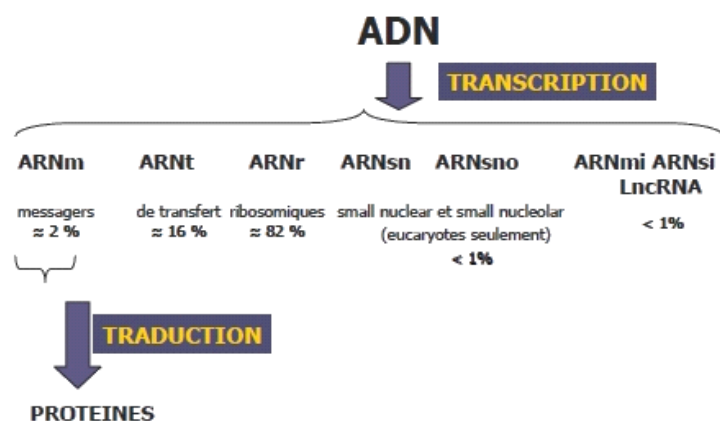
**VI. TRANSCRIPTION ET MATURATION DES MIRNA ..... 22**

## I. DEFINITION

La transcription est un mécanisme faisant intervenir un système enzymatique, qui convertit l'information génétique d'un segment d'ADN en un brin d'ARN complémentaire (simple brin). Cette molécule est appelée transcrite.

Il y a 3 milliards de paires de bases dans le génome mais toute l'information n'est pas transcrite. Les portions qui sont transcrites sont appelées les gènes.

Les ARN ne sont pas seulement les ARN messagers (ils ne représentent que 2% des ARN totaux), il y a aussi d'autres catégories telles que les ARN ribosomiques ou les ARN de transfert. Aujourd'hui, on découvre encore des nouvelles classes d'ARN. Ces autres ARNs ont des fonctions biologiques en tant qu'ARN et ne sont pas traduits en protéine.



### Les différentes catégories d'ARN :

- **Les ARN messagers**

Ils représentent **2%** des ARN totaux.

Ce sont des **messagers**, c'est à dire qu'ils portent l'information génétique qui provient de l'ADN génomique jusqu'au ribosome, où se réalise la synthèse des protéines : la **traduction**. Ce sont les seuls ARN à être traduits en protéines.

- **Les ARN de transfert**

Ils représentent **16%** des ARN cellulaires.

Ils jouent un rôle dans le **transport** et le **transfert d'acide aminés** du cytoplasme vers le ribosome, où se fait l'incorporation de l'acide aminé dans la chaîne protéique en cours de synthèse.

- **Les ARN ribosomiques**

Ils représentent **82%** des ARN totaux.

Ils rentrent directement dans la **constitution des ribosomes** avec des protéines ribosomiques. Certains de ces ARN jouent un rôle important, car certains sont porteurs de **fonction enzymatique**.

On retrouve aussi de manière minoritaire des petits ARN, principalement au niveau du noyau :

- **Les ARNsno ou ARNsn** (small nuclear et small nucleolar)

Ils sont présents uniquement chez les eucaryotes et représentent < 1% des ARN totaux.

Ils ont des rôles très différents :

- Les ARNsn vont intervenir dans le mécanisme d'épissage donc maturation des ARNm.
- Les ARNsno vont intervenir dans les modifications chimiques des ARN ribosomique (maturation de ces ARNr).

- **Les miRNA et ARNsi**

Ils représentent < 1% des ARN totaux.

Ils ont un rôle dans la **stabilité des ARNm**. Ils ont la propriété d'être complémentaires au niveau de la séquence de certains ARNm. Leur hybridation avec leur cible induit un mécanisme qui aboutit à la dégradation des ARNm concernés. C'est un mécanisme de **régulation de l'expression des gènes**, bien que cela se produise après la réplication. Un micro-ARN donné peut cibler différents ARNm.

Il semblerait aussi que certains ARN régularaient la traduction de certains ARNm en protéines, donc ils ont un probable rôle dans la **traductibilité**.

Ces micro ARN peuvent aussi agir comme des oncogènes ou suppresseurs de tumeurs en fonction de l'ARNm avec lequel ils s'hybrident. Donc des dérégulations de certains miARN entraînent des passages à l'état cancéreux.

Ils peuvent aussi agir comme des cofacteurs pour réguler l'expression des gènes en contrôlant les facteurs initiation.

Ils semblent jouer un rôle dans l'épissage et dans la traduction.

- **Les ARN long non coding** (LncRNA)

Ils représentent < 1% des ARN totaux.

Ce sont des ARN de **grande taille**, synthétisé par transcription (ils peuvent être constitués de plusieurs kilobases). Ils jouent un rôle très important en cancérologie (ex : dans le cancer du sein).

Ils jouent un rôle dans la **régulation de la transcription d'ARNm** en se liant aux facteurs de transcription et en régulant l'expression de ces facteurs de transcription. Ils ont aussi un rôle dans l'épissage et la traduction.

**Tous ces ARN proviennent de la transcription. Mais seuls les ARNm sont traduits en protéines. Les autres ARN exercent une activité propre en tant qu'ARN.**

## II. LES ELEMENTS NECESSAIRES

### II.A. LES RIBONUCLEOTIDES

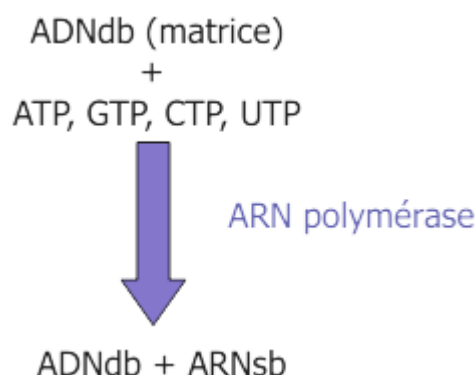
Pour la synthèse d'ARN, les ribonucléotides rentrent sous **forme triphosphate** (ATP, CTP, GTP, UTP), ce qui amène l'énergie nécessaire à la polymérisation par libération d'un pyrophosphate.

On trouve également dans certains ARN des bases mineures :

- Puriques : hypoxanthine et 7-méthyl-guanine.
- Pyrimidiques : pseudo-uracile et 4-thiouracile.

### II.B. L'ARN POLYMERASE ADN-DEPENDANTE

L'ADN double brin sert de matrice à l'ARN polymérase qui synthétise un ARN simple brin dans le sens 5' → 3' grâce à l'énergie apportée par le relargage du phosphate.



**!/ L'ARN polymérase n'a pas de fonction d'édition !!**

La synthèse de l'ARN :

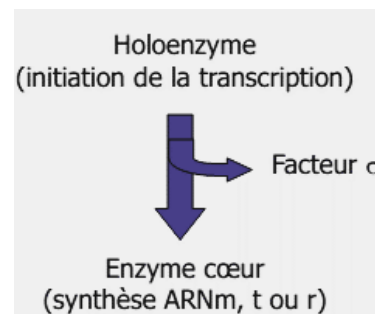
- Ne nécessite **pas d'amorce**
- Se fait dans le **sens 5' → 3'**
- Se fait de manière **antiparallèle** à l'ADN matrice et **complémentaire** de l'un des deux brins de l'ADN
- Incorpore des **ribonucléotides**
- Hybride ARN/ADN grâce à des liaisons hydrogènes entre dNT et NT



#### 1. Chez les procaryotes

Il n'existe qu'**une seule ARN polymérase**, constituée de plusieurs sous unités :  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$  et  $\sigma$  (→ c'est complexe multimérique). Cette enzyme a deux dénominations : **enzyme cœur** ou **holoenzyme**, selon sa constitution.

Le complexe holoenzyme correspond à l'association des sous unités,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$  et  $\sigma$ . Il initie la transcription. Puis le facteur  $\sigma$  est relargué pour former l'enzyme cœur (constituée des sous unités  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\beta'$ ), qui synthétise tous



les ARN.

Il existe :

- **2  $\alpha$**  : Assemblage de l'enzyme, assure la **liaison au promoteur**.
- **1  $\beta$**  : Assure la **liaison des nucléotides**.
- **1  $\beta'$**  : Assure la **liaison à la matrice d'ADN**.
- **1  $\sigma$**  : Assure la **reconnaissance du promoteur**, initiation de la transcription.

## 2. Chez les eucaryotes

Il existe **3 ARN polymérase différentes**, localisées dans le noyau cellulaire. Chacun de ces ARN est spécialisé dans la synthèse de certains transcrits.

3 Enzymes	Localisation nucléaire	Transcrits	Activité cellulaire
ARN Polymérase I	Nucléole	ARNr (5.8S, 18S, 28 S)	60 à 70 %
ARN Polymérase II	Nucléoplasme	ARNm, ARNsno, LncRNA, miARN et certains ARNsn	10 à 30 %
ARN Polymérase III	Nucléoplasme	ARNt, ARNr 5S et certains ARNsn	~ 10 %

## 3. Inhibiteurs des ARN polymérases

Il existe des molécules qui peuvent inhiber les ARN polymérases :

Inhibiteurs	ARN polymérase procaryote	ARN polymérase eucaryote
Actinomycine D et acridine	Oui	Oui
Rifampicine	Oui	Non
$\alpha$ -Amanitine	Non	Oui

- **Actinomycine D et acridine**

Ce sont des inhibiteurs de l'ARN polymérase **procaryote** et **eucaryote**. Ils agissent en temps qu'**intercalants de l'ADN** : ils induisent donc une déformation structurale (distorsion) de la molécule d'ADN, ce qui bloque le mouvement de l'ARN polymérase le long de la matrice d'ADN.

Application : Utilisés en thérapie des cancers

- **La Rifampicine**

C'est un inhibiteur de l'ARN polymérase **procaryote**. Elle se lie à la sous unité  $\beta$  de l'enzyme, et bloque la liaison des nt.

Application : Utilisée comme antibiotique dans le traitement d'infections bactériennes, notamment dans le traitement de la tuberculose.

- **L' $\alpha$ -amanitine**

C'est une **mycotoxine** qui inhibe de l'ARN polymérase **eucaryote**. Elle bloque synthèse des ARNm en bloquant l'ARN POL II. L'ARN POL I est insensible à cet inhibiteur et l'ARN POL III peut être sensible, selon les espèces considérées.

## II.C. LA MATRICE D'ADN

Les deux brins d'ADN peuvent servir de matrice pour la transcription le long d'un chromosome, mais pour un gène donné un seul des 2 brins est utilisé. Le choix du brin matrice se fait en fonction du sens de déplacement de l'ARN polymérase :

- Le **brin sens** est le brin **non transcrit** ou non matrice
- Le **brin anti sens** sera le brin **transcrit** et donc le brin **matrice**. Le brin anti-sens est le brin utilisé comme brin matrice par l'ARN polymérase. Il sera donc lu et transcrit.

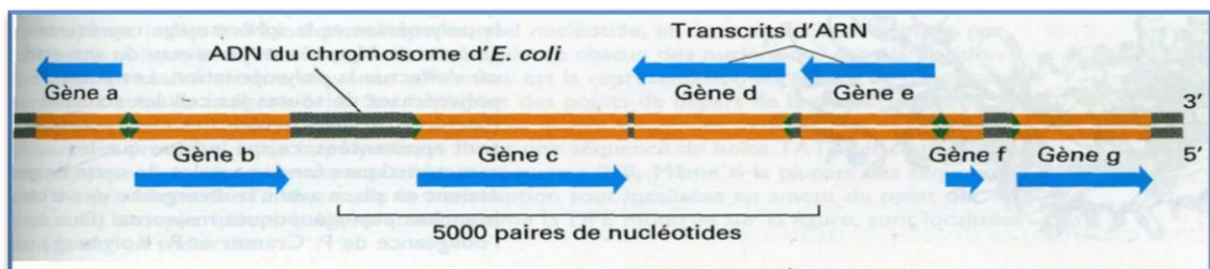
*Ex: si l'ARN polymérase lit le brin 3' → 5', la synthèse d'ARN se fait de manière anti parallèle et complémentaire du brin anti-sens. Et donc l'ARN sera identique au brin sens (ici 5' → 3'), sauf que thymine est remplacée par de l'uracile.*

Pour un même chromosome, les deux brins peuvent servir de matrice pour la transcription.

Selon le gène considéré, le brin utilisé comme matrice peut différer, mais pour un gène donné c'est toujours le même brin qui est utilisé comme matrice.

C'est la direction du mouvement de l'ARN polymérase le long de l'ADN qui détermine le brin sens et le brin anti-sens. La direction du mouvement est conditionnée par la position du site de l'initiation et de la région promotrice du gène.

*Ex : gène B, à gauche il y a la région promotrice, donc ARN polymérase se déplace de la gauche vers la droite donc le brin 3' → 5' est le brin anti-sens.*

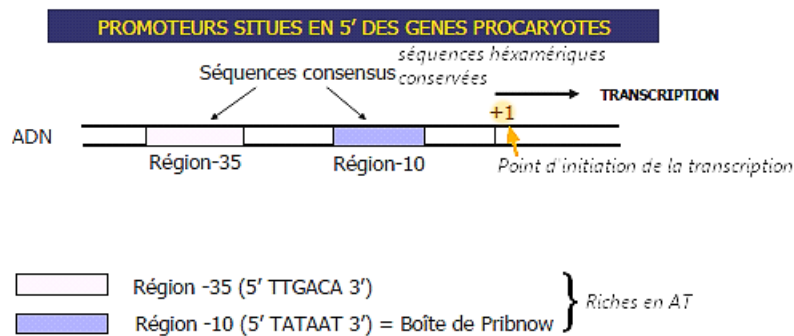


### III. TRANSCRIPTION PROCARYOTE

#### III.A. INITIATION

La région promotrice est aussi valable pour la transcription des gènes eucaryotes.

L'ARN polymérase reconnaît et se fixe sur des séquences spécifiques de l'ADN, localisées avant le point d'initiation de la transcription. Ces séquences sont appelées **promoteurs** ou régions promotrices.



Pour un gène donné : convention +1 au lieu où la transcription est initiée. Donc le nt +1 est le premier nt transcrit sur l'ARN, et donc le ribonucléotide incorporé en 5' du futur transcrit. Avant ce site, toutes les paires de bases sont numérotées de manière négative.

Pour les gènes **procaryotes**, on retrouve dans les régions promotrices des **séquences consensus** (conservées au cours de l'évolution) localisées en position **-10** et **-35**. Ces séquences sont des séquences **hexamériques** (6nt) **riches en T et en A**, surtout celle positionnée en **-10**.

- **Région en -35** (3' TTGACA 5') : lieu de fixation de l'ARN polymérase.
- **Région en -10** (3' TATAAT 5') = **boîte de Pribnow**. Région très importante, composée principalement de thymine et d'adénine. Il s'agit d'une séquence double brin, mais seule la séquence du brin sens est donnée par convention.

#### Initiation de la transcription :

- **Reconnaissance des séquences promotrices**

L'ARN polymérase doit être sous sa forme **holoenzyme**, donc liée au facteur  $\sigma$ , car la forme holoenzyme est la forme active et compétente pour initier la transcription.

L'ARN sous forme holoenzyme reconnaît et se fixe sur la séquence **-35** de l'ADN génomique, on obtient un complexe binaire (dit fermé) : enzyme+ ADN.

Ensuite, l'ARN polymérase migre et se déplace jusqu'au promoteur **-10** (boîte de Pribnow).

- **Début de la polymérisation**

L'ARN polymérase est capable d'**ouvrir la double hélice** de l'ADN génomique sur une courte région. On a donc un passage à l'état simple brin, pour permettre la lecture de l'ADN par l'ARN polymérase. C'est la boucle de transcription, qui contient **17nt** (zone dénaturée). Sur ces 17 nt, la région hybridée (c'est-à-dire, la région où l'ADN et l'ARN sont associés par liaisons hydrogène) s'établit sur **12 bases**.

L'ADN se renature après le passage de l'ARN polymérase et revient à sa forme double brin.



L'ARN polymérase se déplace le long de l'ADN et lit le brin qui doit être transcrit. La synthèse du transcrite se fait par **polymérisation**, c'est-à-dire qu'il y a incorporation de ribonucléotides et que l'ARN polymérase favorise la création des liaisons phosphodiester.

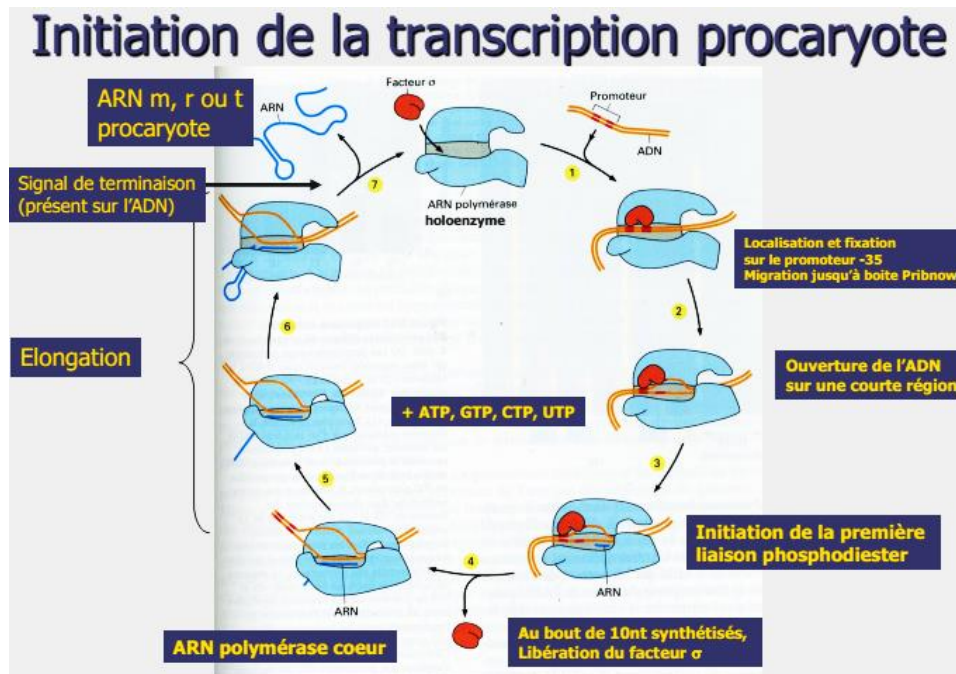
L'ATP, GTP, UTP et CTP rentrent sous forme triphosphate dans la réaction, mais dans la molécule d'ADN, ils sont sous forme monophosphate. Il y a donc élimination du pyrophosphate, ce qui apporte l'énergie nécessaire à la réaction de polymérisation.

→ **Le premier ribonucléotide d'ARN est sous forme triphosphate à l'extrémité 5' chez les procaryotes.**

L'ARN polymérase est toujours sous forme holoenzyme. Au bout d'une dizaine de ribonucléotides incorporés, le facteur  $\sigma$  est libéré. L'ARN polymérase adopte donc sa conformation cœur, pour poursuivre la synthèse de l'ARN.

La synthèse se poursuit jusqu'à ce que l'ARN polymérase rencontre une séquence sur l'ADN qui correspond à un **signal de terminaison de transcription**. Lorsque l'ARN polymérase rencontre ce signal, il y a libération de l'ADN, libération de l'ARN et dissociation de l'ARN polymérase.

→ **Une seule ARN polymérase est responsable de la synthèse des tous les ARN de la bactérie.**

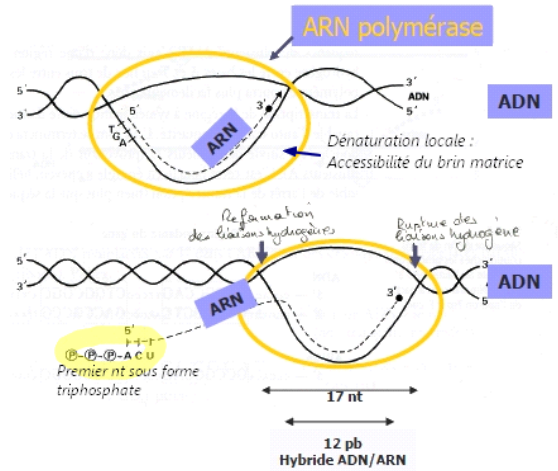


### III.B. ELONGATION

Il y a incorporation du premier ribonucléotide sous forme triphosphate, puis création de la liaison phosphodiester au niveau du 3'OH avec un autre ribonucléotide qui va libérer son pyrophosphate, ce qui libère l'énergie nécessaire à la réaction. Donc la synthèse de l'ARN se fait bien dans le **sens 5'→3'**. Le premier ribonucléotide est sous forme triphosphate, les autres sont sous forme monophosphate.

**Progression de la boucle de transcription :**

- **Dénaturation** de l'ADN sur une courte distance (17 nt) : élimination des liaisons hydrogènes, dans la région où l'ADN génomique est sous forme monobrin, c'est-à-dire dans la boucle de transcription.
- **Initiation de la synthèse** par l'ARN polymérase dans le sens **5'→3'**, puis **progression de l'ARN polymérase** et de la boucle de transcription en supprimant les liaisons hydrogène. Une fois la séquence transcrite, **l'ADN se renature** spontanément. La partie 5' de l'ARN en cours de transcription émerge. Le **premier nt** est sous forme **triphosphate**.
- Le long de l'ADN génomique, **progression de boucle de transcription**



Au fur et à mesure que la boucle progresse au sein de la double hélice d'ADN, des torsions de l'ADN sont induites. Il y a alors nécessité de l'intervention d'une **topoisomérase** pour supprimer ces tensions et ces torsions : c'est la **gyrase bactérienne**.

**Processivité :**

L'ARN polymérase doit rester associée à son brin d'ADN matrice. Elle est associée à des protéines, appelées **facteurs d'élongation**, qui diminuent la probabilité de dissociation de l'ARN polymérase vis-à-vis du brin d'ADN matrice qu'elle est en train de transcrire. Cela permet une forte processivité pour synthétiser l'ensemble du transcrit. **(!! Ce n'est pas un clamp !!)**

**Fonctions de correction :**

L'ARN pol possède **deux fonctions de correction** pour corriger les erreurs possibles de nucléotides. Elles sont différentes des fonctions correctrices de l'ADN polymérase.

- **Correction pyrophospholytique** : réaction miroir par rapport à la fonction de polymérisation : réaction qui catalyse l'enlèvement du ribonucléotide incorrect par incorporation forcée d'un pyrophosphate. Le ribonucléotide qui avait été incorporé était sous forme monophosphate, il se retrouve alors sous forme triphosphate et est retiré de la chaîne en cours de synthèse.
- **Correction hydrolytique** : l'enzyme « recule » de quelques ribonucléotides, clive l'ARN pour éliminer sur quelques ribonucléotides la séquence qui contient l'erreur, et de par son activité polymérasique reprend la synthèse d'ARN. *(/!) Ce n'est pas une fonction exonucléasique).*

Ces fonctions de corrections sont différentes de la fonction d'édition (exonucléasique) de l'ADN polymérase.

**III.C. TERMINAISON**

**Mécanisme d'arrêt chez la bactérie :**

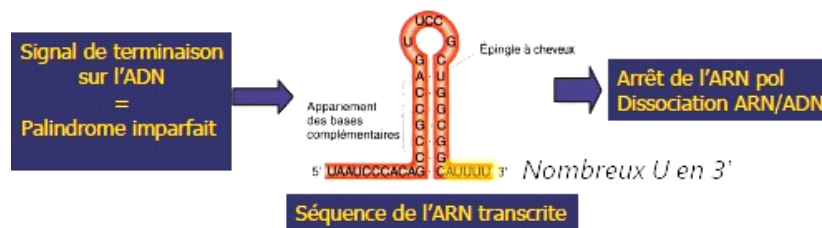
L'ARN polymérase reconnaît sur l'ADN génomique en cours de lecture des séquences particulières : les **signaux de terminaison de transcription**, qui aboutissent à **l'arrêt de la transcription**, à la **libération de la molécule d'ARN** et à la **dissociation de l'enzyme** vis-à-vis de l'ADN matrice en cours de lecture.

### 1. Mécanisme direct : Rho indépendant.

Sur le brin d'ADN génomique en cours de lecture, il y a une séquence particulière qui correspond à une **séquence palindromique imparfaite**. L'ARN polymérase lit cette séquence et la transcrit en ARN. Ce palindrome imparfait adopte une structure secundo-tertiaire dite en **épingle à cheveux**, avec établissement local de liaisons hydrogène intra-chaînes, ce qui stabilise la structure. Cette séquence est suivie en 3' par une **succession de nombreux uraciles**.

La structure en épingle à cheveux entraîne l'instabilité de l'hybride ARN-ADN et provoque donc une dissociation de l'ARN polymérase.

On a ainsi un **arrêt de la progression de l'ARN polymérase**, donc la **libération de l'ARN synthétisé** et la **dissociation de l'enzyme** de l'ADN génomique.



### 2. Mécanisme indirect avec une protéine Rho à activité ATPasique

Ce mécanisme se met en place lorsque la transcription du signal de terminaison n'est pas suffisamment instable pour arrêter la transcription.

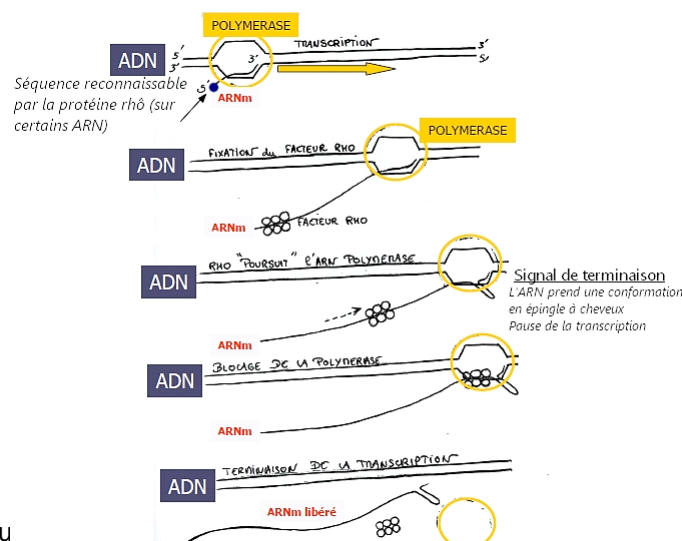
Sur certains ARN bactériens, au niveau de la région 5' de l'ARN en cours de synthèse, on a une séquence qui est reconnue par des protéines appelées **protéines Rho**, à **activité ATPasique**. Elles s'agglutinent sur l'ARN en cours de synthèse après reconnaissance de cette séquence.

Par hydrolyse de molécules d'ATP, ces protéines Rho ont à leur disposition l'énergie suffisante pour **se déplacer** elle-même le long de la molécule d'ARN vers l'extrémité 3' pour rattraper la boucle de transcription et l'ARN polymérase.

A un moment donné, l'ARN polymérase lit et transcrit le **signal de terminaison** ce qui induit la formation d'une **structure en épingle à cheveux**.

Pour ces gènes Rho-dépendants, l'**hybride ADN/ARN n'est pas suffisamment instable** pour induire l'arrêt de la transcription et la dissociation.

La structure en épingle à cheveux **ralentit ou provoque une pause** de la boucle de transcription. Cet événement laisse le temps au facteur Rho de rejoindre le complexe et d'entraîner la dissociation et l'arrêt



de la transcription.

### III.D. DIFFERENCES AVEC LA TRANSCRIPTION CHEZ LES EUCARYOTES

- **Localisation cellulaire :**
  - Chez la **bactérie**, elle s'effectue dans le **cytoplasme**.
  - Chez les **eucaryotes**, elle s'effectue dans le **noyau** cellulaire.
- **ARN polymérase :**
  - Chez les **procaryotes** : **1** seule.
  - Chez les **eucaryotes** : **3**.
- **Chez les eucaryotes uniquement :** événement de **maturation d'un précurseur** d'ARN, qui est appelé transcrit primaire et qui nécessite des modifications pour devenir mature donc fonctionnel.

## IV. TRANSCRIPTION ET MATURATION DES ARN<sub>M</sub> CHEZ LES EUCARYOTES

Chez les eucaryotes, tous les ARNm sont synthétisés par l'ARN polymérase II.

### IV.A. INITIATION

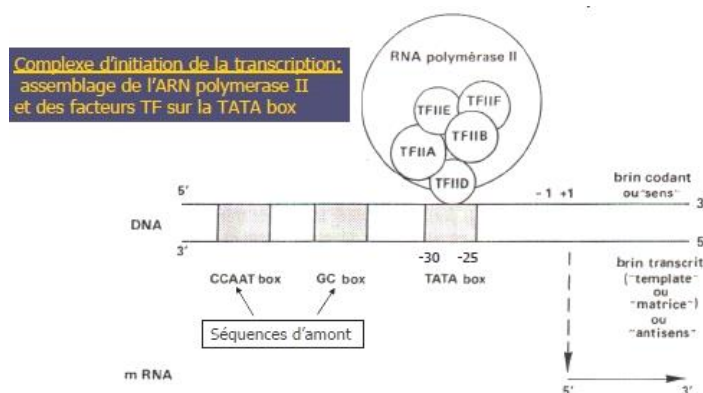
Comme pour les gènes procaryotes, on retrouve une **région promotrice** qui fait intervenir plusieurs régions consensus, conservée au cours de l'évolution (même nomenclature).

La plus importante est la **boite TATA** (promoteur), qui est l'équivalente de la boite Pribnow bactérienne. Elle se positionne **de -30 à -25** (séquence hexamérique) et est **riche en A et en T**. Cette boite TATA représente une séquence promotrice où vient se fixer un **complexe d'initiation de la transcription** qui fait intervenir **ARN POL II** ainsi que d'autres protéines : les **facteurs généraux de la transcription**.

Cette séquence est très fréquente dans les régions promotrices des gènes transcrits en ARNm et traduit en protéines. Il existe des gènes ubiquitaires, et en particulier qui codent pour les histones, qui ont des régions promotrices **sans boite TATA** (promoteur TATA-less).

Le complexe d'initiation de la transcription se positionne sur la TATA-box. C'est un **complexe multimérique**, qui fait intervenir notamment l'ARN POL II et différents protéines TFII (+lettre). Les TF sont les facteurs généraux de la transcription, qui s'associent dans un ordre précis pour initier la transcription du gène, contrôlée par la boite TATA au niveau de la région promotrice.

Dans cette région promotrice, on trouve aussi les **séquences d'amont** (*cf cours Samarut*), qui varient selon les promoteurs des gènes considérés. Les plus fréquentes sont la **CCAAT box** et la **GC Box**. Elles **régulent la**

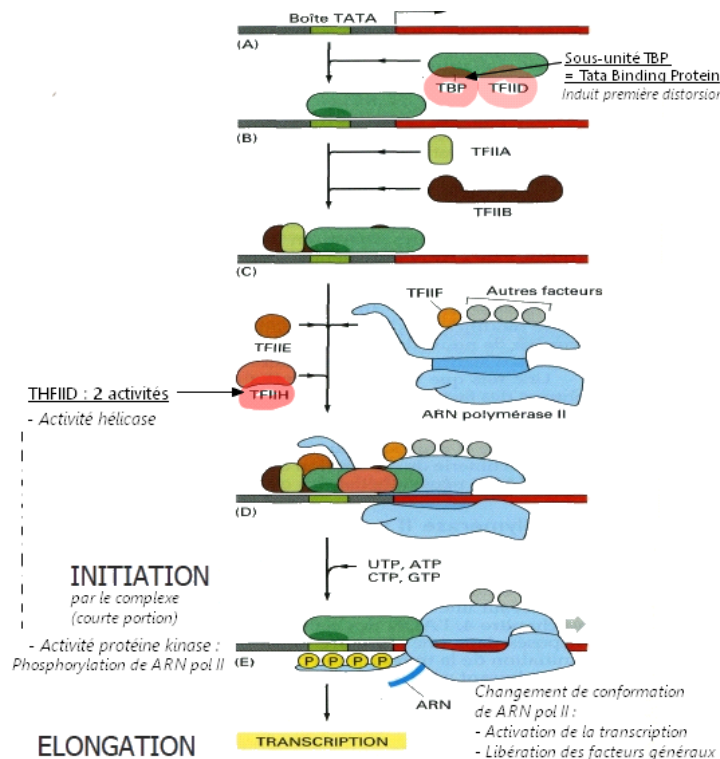


**fréquence d'initiation de la transcription.**

L'ARN polymérase a besoin de s'associer à ces complexes. En effet, contrairement à l'ARN polymérase procaryote, **l'ARN POL II seule est incapable de reconnaître le promoteur, de réaliser l'ouverture de l'ADN au niveau de la boucle de transcription et d'initier la transcription.**

Chez les eucaryotes, l'ARN polymérase doit faire face aux structures chromatiniennes, puisque l'ADN est associé aux nucléosomes. Elle a donc besoin de faire partie d'un complexe où elle est associée à ces facteurs généraux de la transcription. Certains de ces facteurs ont un rôle particulier :

- **Le facteur TFIID** : sa sous-unité TBP reconnaît et se fixe à la boîte TATA, ce qui induit un **début de distorsion** de la molécule d'ADN. Ce mécanisme induit le recrutement d'autres facteurs TFII et de l'ARN polymérase II, dans une certaine conformation.
- **Le facteur TFIIH** : il a deux fonctions :
  - **Rôle d'hélicase** : favorise la **dénaturation locale** de l'ADN, en éliminant les liaisons hydrogène. Nécessite de l'ATP. Ce complexe peut commencer à initier la transcription, donc synthèse d'ARN sur une courte distance.
  - **Rôle de protéine-kinase** : capable de **phosphoryler l'ARN polymérase II**, cela va induire un **changement de conformation** de l'enzyme et la dissociation des facteurs généraux (plus besoin car initiation déjà faite). L'ARN POL II réalise l'élongation, la synthèse sur la distance correspond à la séquence du gène du transcrit ARN.



Au fur à mesure de la progression de la boucle de transcription, cela induit des torsions. Il y a donc besoin d'une **topoisomérase**, pour éliminer ces torsions.

**Régulation de la transcription eucaryote** (cf cours Samarut) :

Au moment de l'initiation de la transcription, il existe des événements qui peuvent se produire à très grande distance des régions promotrices et du point d'initiation de la transcription, mais qui peuvent réguler l'activation de la transcription. En particulier, il y a des séquences sur l'ADN liées à des protéines qui peuvent interagir via des **complexes médiateurs**, qui vont réguler l'initiation de la transcription.

## IV.B. ELONGATION CHEZ LES EUCARYOTES

L'élongation fait intervenir :

- Des **facteurs protéiques d'élongation**, qui permettent le maintien le plus longtemps possible de l'ARN polymérase II sur l'ADN matrice : ils augmentent la processivité.
- Des **topoisomérases**, qui permettent l'élimination des surenroulements positifs créés par l'avancée de l'ARN pol II.
- Des **facteurs protéiques de correction**, qui stimulent la fonction de correction hydrolytique de l'ARN pol II.

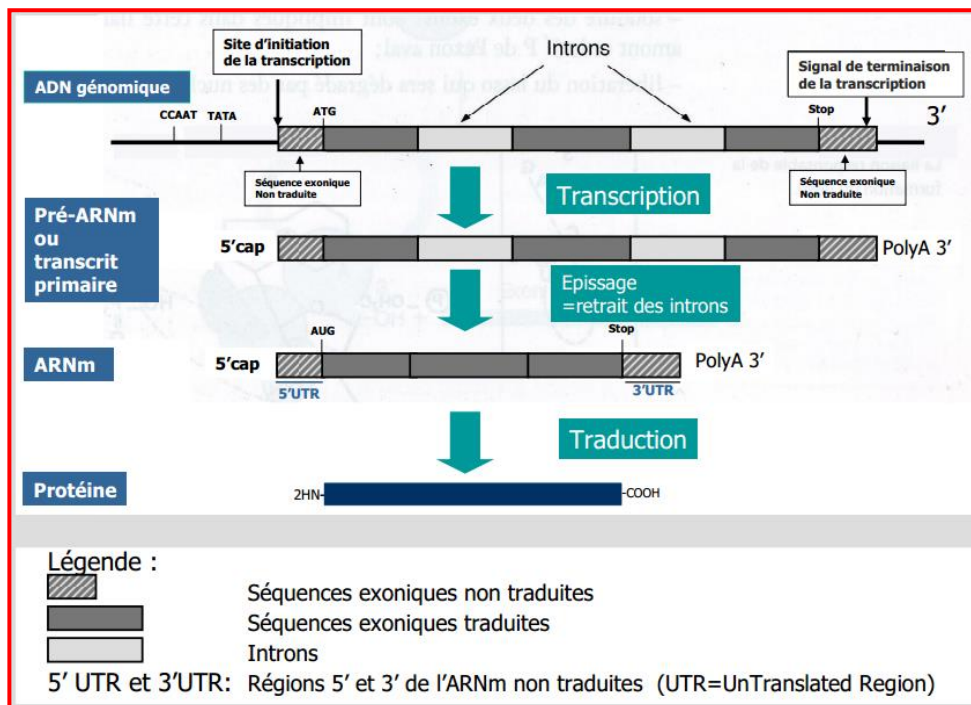
## IV.C. MATURATION DES TRANSCRITS

**Spécificité eucaryote :** l'élongation des ARNm par ARN POL II s'accompagne d'une maturation du **transcrit**. Certains événements de cette maturation s'effectuent en même temps que la transcription (dans le noyau cellulaire).

La maturation comprend à la fois la modification covalente des extrémités 3' et 5' de l'ARN messager et le retrait des introns grâce au mécanisme d'épissage.

La séquence transcrite d'un gène est composée de séquences **introniques** et **exoniques**. De manière générale, la plupart des **séquences exoniques** seront **exprimées**, donc **traduites** en séquence protéiques, sauf les régions 5'UTR et 3'UTR qui ne seront pas traduites. Tandis que les **introns** seront **transcrits** mais **non traduits**.

Lors de la transcription, **toute la séquence est transcrite en ARN pré messager** (ou précurseur). C'est seulement après maturation qu'on aura un **ARN messager mature**, où il y aura eu des modifications covalentes des extrémités en 3' et en 5' ainsi que le retrait des séquences introniques.



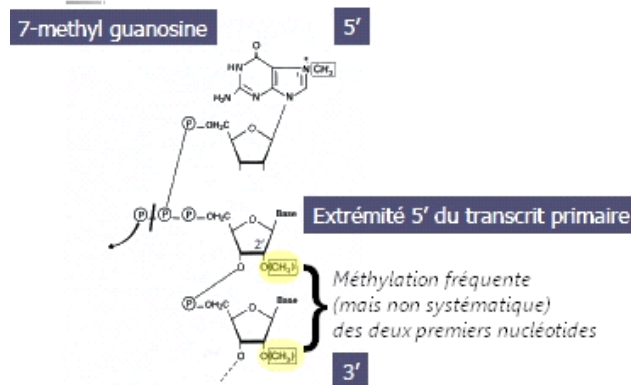
Les modifications covalentes sont en 5' l'ajout d'une coiffe (ou cap) et en 3' l'ajout d'une queue polyA (modification résultant d'une polyadénylation).

## 1. Ajout de la coiffe en 5' (= cap)

La coiffe est présente sur **tous les ARNm eucaryotes** (qui proviennent de la transcription par l'ARN POL II uniquement). Il s'agit d'une **modification covalente** qui se fait dans le noyau **au cours de l'élongation** par l'ARN pol II. Cette coiffe se met en place dès le début de la transcription, après 20 à 30 ribonucléotides incorporés dans l'ARN en cours de synthèse, en 5' du transcrit primaire.

Il y a d'abord élimination d'un phosphate en 5' du premier nucléotide triphosphate par une **phosphatase** puis soudure d'une **7-méthyl-guanine** (GMP méthylée sur l'azote en 7) par une **guanyle-transférase** et une **méthyle-transférase**.

Il y a ensuite **méthylation en 2'** sur les riboses des 2 premiers nucléotides dans la plupart des ARNm.



Sur cette coiffe viennent se fixer des protéines spécifiques qui jouent un rôle fonctionnel important. Les protéines qui se lient à la coiffe constituent le **cap binding complexe (CBC)**.

La coiffe a pour rôle de permettre :

- La **distinction** (au niveau de la cellule) entre les ARNm et les autres ARN
- **L'export dans le cytoplasme** de l'ARNm pour traduction
- Le **recrutement de la petite sous-unité du ribosome** à l'extrémité 5' permettant **l'initiation de la traduction**.

## 2. La queue poly(A) : coupure et polyadénylation des ARNm

Pour arrêter la transcription chez les eucaryotes, il existe une séquence signal de terminaison de transcription aussi appelée **séquence signal de polyadénylation**. C'est une séquence conservée au cours de l'évolution, qui se trouve à la fin de la séquence génique.

L'ARN POL II lit cette séquence et la transcrit en ARN. On aura donc une séquence dans le sens 5'→3' qui sera AAUAAA. Donc cette séquence provient de l'ADN génomique.

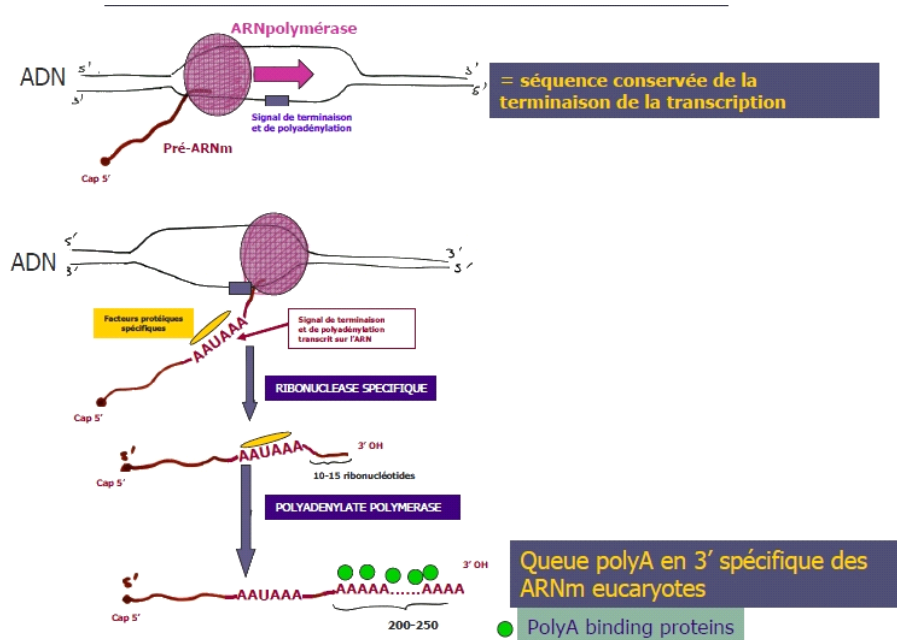
Cette séquence sur l'ARNm induit le **recrutement de protéines spécifiques** qui s'associent à la séquence transcrite du signal de terminaison de transcription.

Ceci induit ensuite l'activité d'une **ribonucléase** spécifique qui **clive** la chaîne du pré-ARNm en cours de synthèse environ après **10 à 15nt** en 3' de la séquence AAUAAA.

Très rapidement, la **polyadénylate polymérase** ajoute par polymérisation une succession de A (200 à 250) en 3'OH de cet ARNm : c'est la queue poly(A). **Elle ne provient pas de la séquence présente sur l'ADN génomique.**

Sur ces queues poly(A) peuvent aussi se fixer des protéines : les **poly(A)-Binding proteins**. Elles jouent plusieurs rôles :

- Dans la **reconnaissance** des ARNm,
- Dans l'**exportation** hors du noyau.
- Et probablement un rôle de **protection** de l'ARNm lors de la traduction.



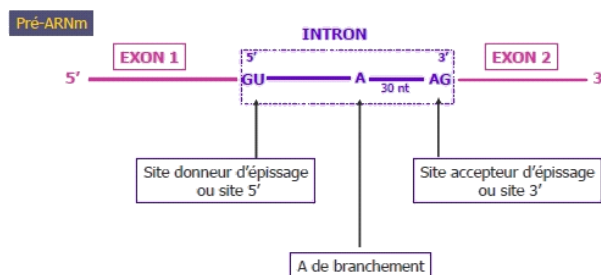
### 3. Epissage

Il s'agit d'un mécanisme qui aboutit à l'**excision des introns** et à la **ligation des exons**, pour aboutir à un ARN fonctionnel et mature.

Il existe plusieurs mécanismes dans la cellule qui peuvent toucher différentes classes : on ne parlera ici que de celui spécifique aux ARNm.

La **séquence intronique** des ARNm contient :

- En **5'** une séquence **GU** : site **donneur d'épissage**
- En **3'** une séquence **AG** : site **accepteur d'épissage**.
- Un **A de branchement** à environ **30 nt du site accepteur (3')**. Le A de branchement est trouvé de manière fréquente, mais **non obligatoire**. Pour le Spliceosome, le A de branchement est nécessaire.



Sur ces séquences vient se fixer un complexe multimérique (qui fait intervenir plusieurs partenaires), appelé le **spliceosome**. Il est constitué de **5 snRNP** (*small nuclear ribonucléoprotéines particules*). Les snRNP sont constitués à la fois d'**ARNsn** et de **protéines**.



On trouve **5sn RNP : U1, U2, U4, U5, U6**, (appelées U car riche en uracile). Certaines ont un rôle bien précis :

- **U1** se place sur le **site donneur (5')**.
- **U5** se place sur le **site accepteur (3')**.
- **U2** se place sur le **A de branchement**.

L'élimination d'un intron est réalisée après **deux réactions de transesterification**.

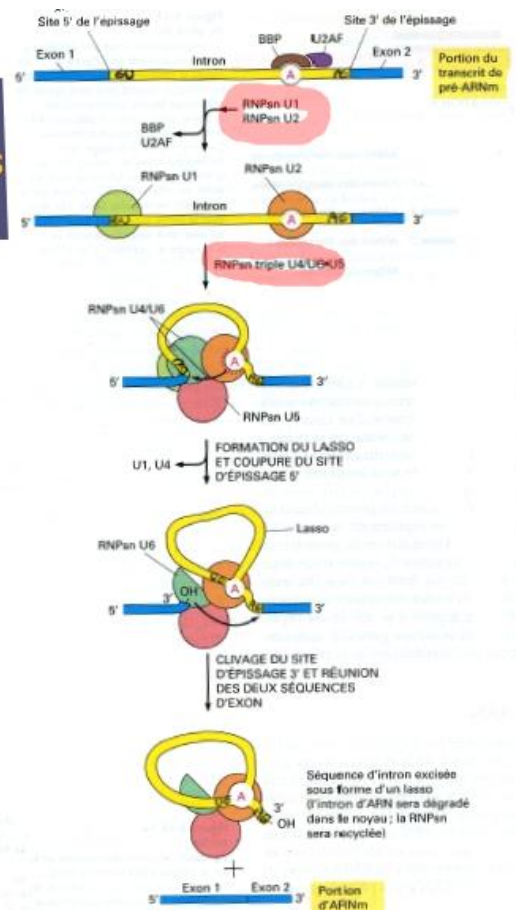
C'est un mécanisme nécessitant de l'énergie sous forme d'ATP :

- Le A de branchement est reconnu en premier par 2 protéines BBP et U2AF
- Puis U2 déplace ces deux protéines et forme un appariement de base au niveau du A de branchement.
- U1 se positionne sur le site 5' et U5 sur 3'
- Les autres snRNP arrivent et entraînent la formation d'un lasso
- Clivage des sites d'épissage 5' et 3'
- Ligation des exons et libération des introns sous forme de boucles

Les snRNP sont dissociées de l'intron et sont recyclées dans un nouveau spliceosome. La séquence d'ARN (intron) sous forme de lasso est dégradée par une nucléase cellulaire.

Le spliceosome est **très consommateur d'énergie** donc à chaque étape, une molécule d'ATP est hydrolysée.

## Epissage des pré-ARNm eucaryotes par le spliceosome



**RAPPEL ET COMPLEMENTS CHEZ LES PROCARYOTES :**

Chez les procaryotes, il n’y a **pas de maturation de transcrit**, donc il n’y a **pas de poly-adénilation** des ARNm, **pas d’ajout de coiffe en 5’** du transcrit et **pas d’épissage**.

La notion d’intron et d’exon n’existe pas chez la bactérie. S’il n’y a pas de maturation différentielle dans le système bactérien, on peut considérer que la séquence en ARNm d’un gène donne naissance à une protéine.

Un ARNm bactérien peut contenir l’info génétique de plusieurs gènes : les **Polycistroniques**. Même si chez les bactéries, on peut dire que la séquence en ARNm pour un gène donne naissance à une seule protéine, elle peut aussi donner naissance à différentes protéines, puisqu’elle peut contenir l’information génétique de plusieurs gènes.

**4. Maturation différentielle des ARNm eucaryotes**

Chez les eucaryotes, il peut y avoir une **maturation différentielle**, qui peut toucher les trois évènements de maturation : le cap, la poly A ou l’épissage.

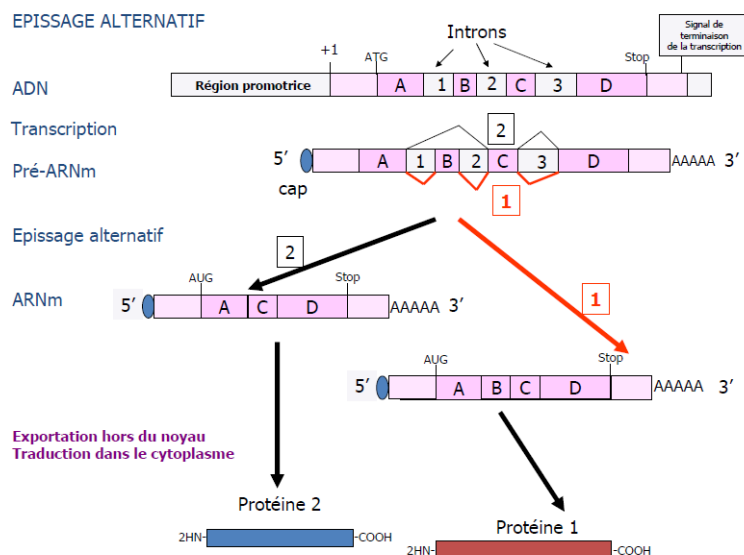
- Un gène peut générer différents ARN suivant les sites de poly-adénilation utilisés
- Un pré ARNm peut donner naissance à différentes protéines suivant un mécanisme de maturation différentielle touchant l’épissage : **l’épissage alternatif**.

• **Epissage alternatif**

En fonction des sites d’épissage utilisés par la cellule, on peut avoir plusieurs ARNm matures différents de par leur séquence. Ils peuvent être générés à partir d’un seul ARN pré messenger.

Les ARNm matures donnent naissance à des protéines différentes : les **variants d’épissage**. Bien que générés par le même gène (par le même pré ARNm), ces protéines possèdent des **fonctions différentes** au sein de la cellule.

La cellule peut utiliser des sites d’épissage différents, des sites accepteurs d’un intron et des sites donneurs d’un intron différents pour exciser ainsi un fragment d’ARN pré messenger.



On peut donc avoir des protéines plus ou moins longues, car certains exons ne font plus partis de la séquence. Les portions qui sont excisées font en sorte que le codon stop soit à x codon AUG de façon à ce que la protéine soit lue de manière classique.

Tous les ARN pré messager ne subissent pas l'épissage alternatif, mais cela touche des gènes-clefs, notamment en cancérologie où **l'épissage alternatif est associé à la résistance à la chimiothérapie**.

**Notions d'exons vacillants :** une séquence exonique peut devenir une séquence intronique dans le mécanisme d'épissage alternatif. De plus les régions **5' UTR et 3' UTR** sont bien codée par des exons mais ce sont des séquences exoniques **non traduites**.

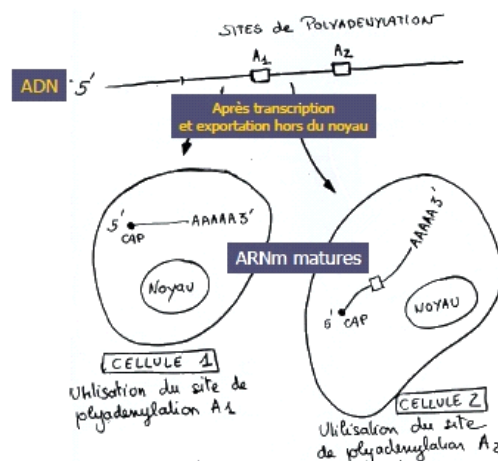
**Application biomédicale des défauts d'épissage:**

Mutation	Pathologie associée
Pré ARNm de l'hormone de croissance	Nanisme par déficit isolé en hormone de croissance de type II
Pré ARNm d'un gène important dans le développement des reins et des gonades	Syndrome de Frasier
Pré ARNm codant pour une protéine cytosquelette	Démence
Mutation dans un gène de la machinerie d'épissage	Atrophie musculaire spinale
Mutation P73 (suppression de tumeur) : épissage aberrant	Carcinome parvimentaire

- **Signal de poly-adénylation différentiel**

Dans certaines cellules et pour certains gènes, on a observé une maturation différentielle avec un **signal de poly-adénylation différentiel**.

Il existe **plusieurs sites de poly-adénylation** : pour certains gènes, un site est choisi tandis que dans d'autres cellules, un autre sera choisi. C'est-à-dire que dans certaines cellules, la transcription s'arrête à un premier signal de terminaison pour générer un transcrit d'une certaine longueur et pour le même gène, dans une cellule différente, l'ARN POL II continu à transcrire après A1, jusqu'à A2 et reconnait ce dernier site comme le site de poly-adénylation. Suivant le site utilisé, on va avoir des ARN pré-messager et donc des ARNm matures qui vont être de longueurs différentes et qui en général vont avoir la région 3' (souvent 3'UTR) de longueur différente.



La longueur des régions UTR (en particulier 3'UTR) jouent un rôle dans la **stabilité** de la molécule. Les séquences qui composent ces régions ont une **influence sur la demi-vie de l'ARNm**.

Si la demi-vie de l'ARNm est variable, on peut s'attendre à ce que le niveau d'expression de la protéine codée soit variable : si un ARNm a une demi-vie plus longue, il sera sujet à plusieurs cycles de traduction, il y aura donc plus de protéines produites.

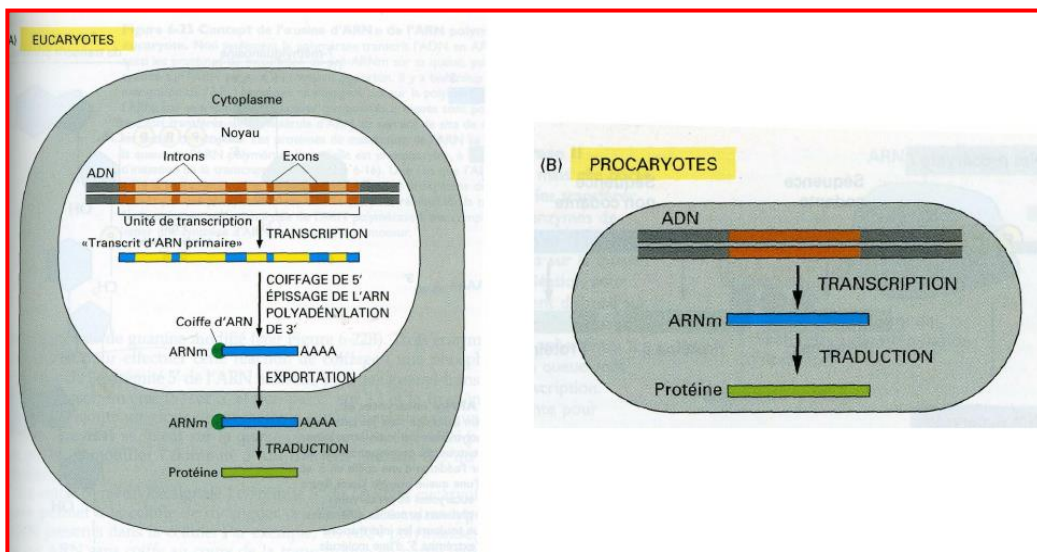
### 5. Exportation sélective hors du noyau cellulaire des ARNm

L'objectif des ARNm est d'être transporté hors du noyau pour atteindre le cytoplasme et y être traduit. Ils subissent un **transport actif et sélectif** au travers des pores de la membrane nucléaire : il y a un contrôle pour faire en sorte que seuls les ARNm matures puissent passer du noyau vers le cytoplasme.

**Éléments de contrôle :**

- Vérification de la **coiffe en 5'** et des **protéines** liées à la coiffe,
- Vérification de la **queue poly(A)** et des **protéines** liées à la queue poly A,
- Vérification qu'au niveau **des jonctions exons-exons** il y a des **protéines** particulières qui se positionnent une fois l'épissage terminé (donc épissage terminé).
- **Absence de snRNP** liés à l'ARNm (car ils se lient au **site donneur d'introns**, donc cela voudrait dire qu'il y a encore une séquence intronique).

### 6. Comparaison de la synthèse des ARNm chez les eucaryotes et les procaryotes



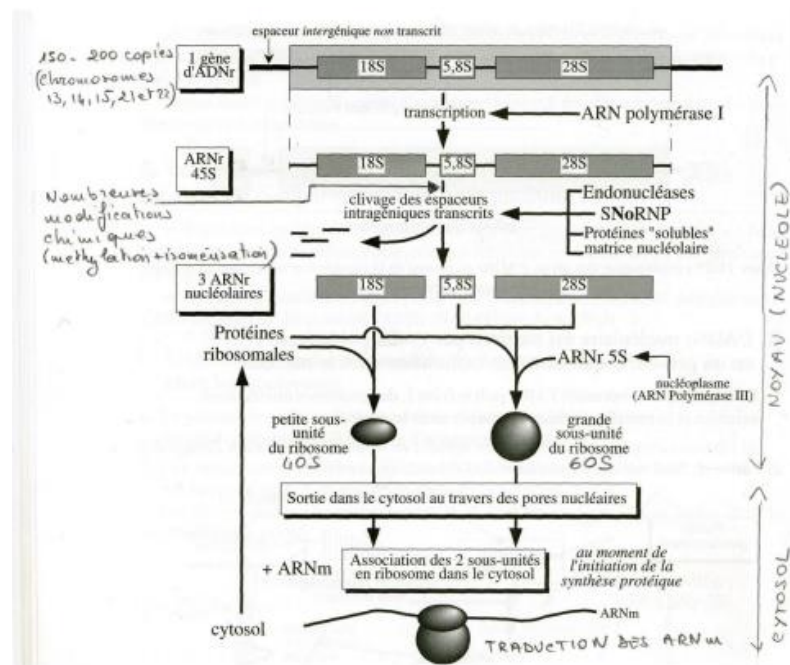
	PROCARYOTES	EUCARYOTES
<b>Lieu</b>	Transcription et traduction dans le cytoplasme : la traduction peut donc commencer avant la fin de la transcription	Transcription et maturation des ARNm dans le noyau Traduction dans le cytoplasme → transcription et traduction non couplées
<b>Maturation des ARNm</b>	Pas de coiffe	Coiffe en 5'
	Pas de queue poly A	Coiffe en 3'
	Pas d'épissage (pas d'intron)	Epissage (introns)

## V. LA TRANSCRIPTION ET LA MATURATION DES ARN<sub>r</sub>

Il y a des différences fondamentales avec les ARNm, dans la transcription et la maturation. Les ARN polymérase impliquées dans la transcription des ARN<sub>r</sub> ne sont pas les mêmes ARN polymérase que celles utilisées pour la transcription des ARNm :

- Les ARN<sub>r</sub> **18S, 5.8S et 28S** proviennent de l'activité de l'**ARN POL I**
- L'**ARN<sub>r</sub> 5S** provient de l'activité de l'**ARN POL III**.

Les ARN<sub>r</sub> n'ont **pas de cap ni de queue poly(A)**, mais il va y avoir une maturation particulière, qui est très différente de l'épissage. En effet, la maturation d'un précurseur d'ARN<sub>r</sub> se fait par **clivage**. La maturation



des ARN<sub>r</sub>, n'existe que chez les **eucaryotes**.

### V.A. MATURATION DES ARN<sub>r</sub> 18S, 5.8S ET 28S

**Principe** : les ARN<sub>r</sub> 18S, 5.8S et 28S proviennent de l'activité de l'**ARN POL I** et ils ne sont pas transcrits indépendamment.

Il existe des **gènes répétés** (sur les chromosomes 13, 14, 15, 21, et 22), c'est-à-dire environ 150 à 200 copies d'un gène qui codent pour l'**ARNr 45S**. L'ARNr 45S ou **ARN pré-ribosomique** est donc un précurseur, qui provient de la transcription par l'ARN POL I. Cet ARN de grande taille contient dans sa séquence la séquence des ARNr 18S, 5.8S et 28S. Il y a donc des événements de **modifications chimiques** et de **clivage** du précurseur qui permettent de générer ces trois ARN. Il y a de nombreuses modifications chimiques de type **méthylation** ou **isomérisation** pour permettre la modification chimique du pré-ARN 45S et le **clivage** se fait par l'intervention d'une **endonucléase**.

Ces modifications sont guidées par des **snoRNP** (ribonucléoprotéines), qui sont des complexes de protéines et d'ARN. Les ARN qui entrent dans leur composition sont les **petits ARNsno**, qui agissent en participant à la maturation des ARNr. Ce sont donc des **guides de méthylation et d'isomérisation**.

Agit ensuite une endonucléase qui clive des régions de l'ARN 45S : les **espaceurs intragéniques transcrits**. Sont ainsi générés les **ARN 18S, 5.8S et 28S**.

### V.B. MATURATION DES ARN<sub>r</sub> 5S

Le quatrième ARNr, le **5S** est synthétisé dans le noyau par l'**ARN POL III**, et provient d'un autre gène.

### V.C. FORMATION DES RIBOSOMES

Ces ARNr s'associent à des protéines ribosomiques (ou ribosomales) pour former la grande et la petite sous unité du **ribosome**. Cet assemblage se réalise **dans le noyau**, bien que les protéines soient synthétisées dans le cytoplasme. Elles doivent donc être importées dans le noyau.

Une fois correctement assemblées dans le noyau cellulaire, les deux sous unités sont exportées indépendamment du noyau vers le cytosol.

## VI. TRANSCRIPTION ET MATURATION DES MIRNA

---

Les **miRNA** sont des petits ARN, de l'ordre de 20 ribonucléotides, transcrits par l'**ARN POL II** sous forme de précurseurs, qui nécessitent différents événements de maturation faisant intervenir différents systèmes cellulaires.

Ces miRNA jouent un rôle dans la **régulation de l'expression des gènes** par 2 mécanismes identifiés :

- L'**induction de la dégradation** d'un ARNm cible
- Le **blocage de la traduction** d'un ARNm cible

#### Principe :

- Le gène du miRNA donne des précurseurs : les **pri-miRNA** puis les **pré-miRNA**, avec des structures particulières qui subissent des événements de maturation (système Drosha).
- Le pré-miARN passe dans le cytoplasme, où il se lie avec des nouvelles fonctions biologiques qui visent à modifier ce miRNA sous forme de duplex, pour ne conserver qu'un seul brin du duplex.  
→ **La maturation se fait aussi bien dans le noyau que dans le cytoplasme.**
- Ce miRNA sous forme simple brin, va **s'hybrider avec des ARNm cible** qui ont une séquence complémentaire et anti-parallèle (le plus souvent au niveau 3'UTR).
- **Décoiffage de l'ARNm**, ce qui induit la dégradation de l'ARNm car la coiffe permet de contrôler la stabilité de l'ARNm.

#### **Synthèse → maturations successives → induction de la dégradation ou blocage de la traduction**

C'est important dans le phénomène pathologique, car des dérégulations de miARN peuvent modifier l'expression des gènes.

Il peut y avoir des sous expressions ou sur expressions miRNA :

- Des surexpressions : induction de la dégradation ou blocage de la traduction.
- Des sous expressions : phénomènes en cancérologie

Un micro ARN donné avec une séquence donnée est capable de s'hybrider sur une séquence qui peut être présente sur plusieurs ARN différents. Donc il est capable de réguler l'expression de différentes protéines. Il se fixe sur des ARNm qui codent pour des protéines qui appartiennent à un même réseau biologique (pas de hasard dans l'hybridation).