

CHAPITRE 09 : REGULATIONS GLOBALES

1. Introduction

Le processus de la synthèse des protéines commence avec la transcription du gène, suivi de la traduction de l'ARNm pour donner une protéine. La régulation qui se produit dans le contrôle des processus de transcription et de traduction est souvent appelée **régulation de l'expression de gènes**. Lorsque l'expression génétique est régulée par le contrôle de la synthèse de l'ARNm, on dit qu'il se produit « au niveau de la transcription » ou « au *niveau transcriptionnel* ». De même, quand l'expression de gène est gouvernée par le contrôle de la synthèse de la protéine, on dit qu'il se produit « au niveau de la traduction » ou « au *niveau traductionnel* ».

2. Induction et répression de la synthèse d'enzymes

Beaucoup d'enzyme ne restent fonctionnelles qu'un temps défini. Les « vieilles » enzymes sont à la longue dégradées par les protéasomes ou des systèmes de dégradation de protéines apparentés. Cette dégradation, non seulement élimine les enzymes qui ne fonctionnent plus correctement, mais aussi recycle les acides aminés qui peuvent être utilisés dans la synthèse de nouvelles protéines. En dépit de l'utilité d'un tel mécanisme, il pose aussi un problème à la cellule parce que de nombreuses protéines catalysent dans la cellule des réaction nécessaires en permanence (celles des voies métaboliques centrales). Leurs fonctions sont souvent dites « domestiques » et les gènes qui les encodent sont souvent appelés **gènes domestiques** ou « **gènes de ménage** ». Pour maintenir la quantité requise de ces gènes domestiques, il faut les synthétiser continuellement. De ces gènes domestiques exprimés de façon continue, on dit que ce sont des **gènes constitutifs**. D'autres enzymes ne sont nécessaires qu'à certains moments et dans certains environnements. Afin d'économiser de l'énergie et certains matériaux cellulaires, tels qu'acides aminés et nucléotides, *les gènes codant pour ces enzymes sont exprimés exclusivement quand c'est nécessaire* : par conséquent, leur expression est régulée. Le gène de la β -galactosidase est un exemple de **gène régulé**.

La β -galactosidase catalyse l'hydrolyse d'un disaccharide, le lactose, en glucose et galactose (Fig. 01). Lorsqu'*E.coli* se développe avec du lactose comme seule source de carbone, chaque

cellule contient environ 3000 molécules de β -galactosidase, mais il y en a moins de trois ($x < 3$) en l'absence de lactose. La **β -galactosidase est une enzyme inductible** ; c-à-d. que sa concentration augmente en présence d'une petite molécule effectrice, appelée **inducteur** (dans ce cas un dérivé du lactose, l'allolactose). De même, les gènes qui codent pour les enzymes inductibles, comme la β -galactosidase, sont des **gènes inductibles**.

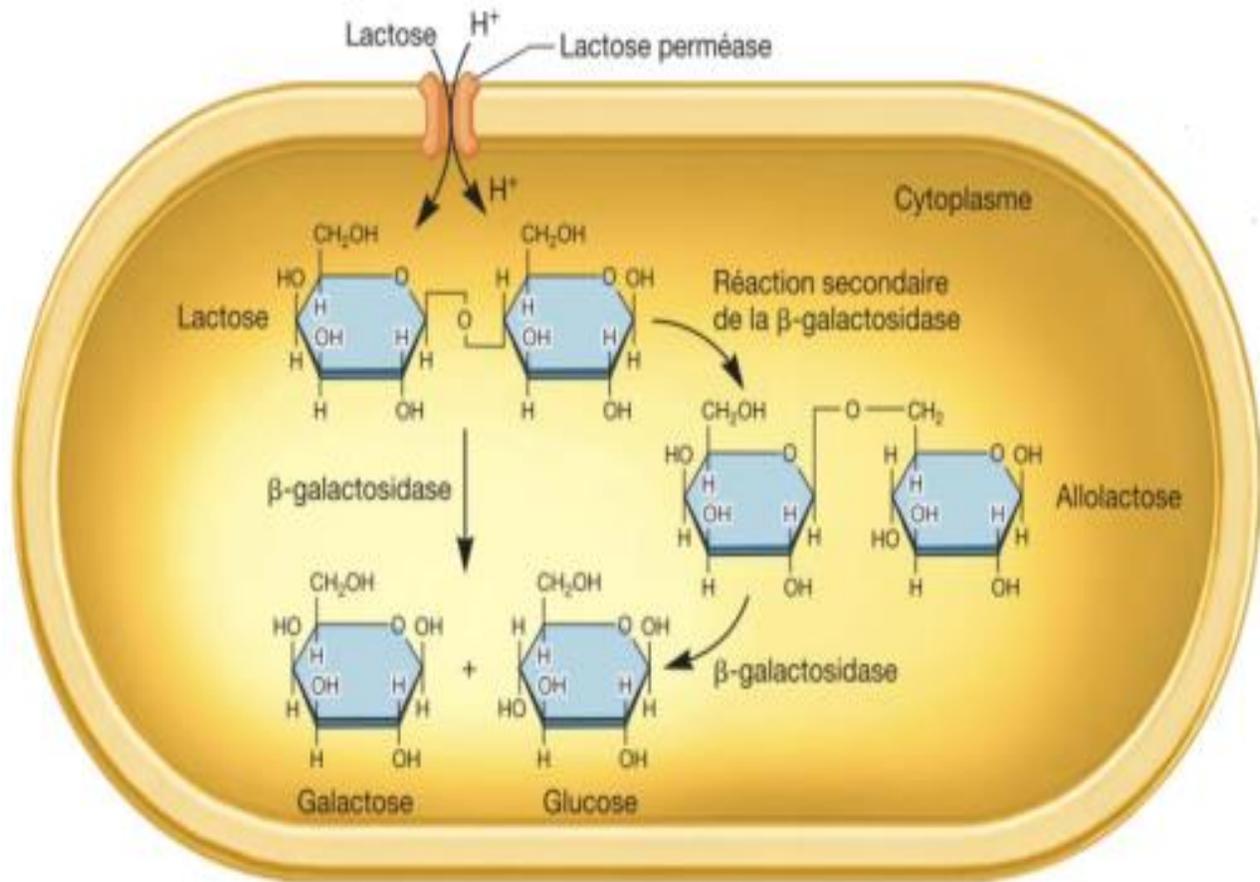


Figure 01: Réaction de la β -galactosidase.

(La réaction principale catalysée par β -galactosidase est l'hydrolyse du lactose, un disaccharide, en deux monosaccharides, le galactose et le glucose. L'enzyme catalyse aussi une réaction mineure qui convertit le lactose en allolactose agit comme inducteur de la synthèse de la β -galactosidase).

La β -galactosidase est une enzyme de voie catabolique et beaucoup d'enzymes cataboliques sont des **enzymes inductibles**. Par contre, les gènes des enzymes impliquées dans la biosynthèse des acides aminés et d'autres substances, sont souvent appelés **gènes répressibles**, et leurs produits sont des **enzymes répressibles**. Par exemple, un acide aminé présent dans le milieu peut inhiber la formation des enzymes responsables de sa biosynthèse. Cela révèle de bon sens, puisque le micro-

organisme n'a aucun besoin des enzymes de biosynthèse d'une substance particulière, si celle-ci est déjà disponible. Généralement, les enzymes répressibles sont nécessaires aux synthèses et sont toujours présentes, sauf si le produit final de leur voie biosynthétique est disponible. Les enzymes inductibles, au contraire, ne sont requise que lorsque leur substrat est disponible. On ne les trouve pas en l'absence de l'inducteur.

3. Protéines régulatrices contrôlent souvent l'initiation de la transcription

Les protéines régulatrices peuvent exercer un contrôle négatif ou positif. Le **contrôle transcriptionnel négatif** a lieu lorsque la fixation de la protéine sur l'ADN inhibe l'initiation de la transcription. Les protéines régulatrices qui agissent de cette façon sont appelées **répresseurs protéiques**. Le **contrôle transcriptionnel positif** a lieu lorsque la fixation de la protéine sur l'ADN stimule l'initiation de la transcription. Ces protéines sont appelées **activateurs protéiques**.

Les répresseurs et protéines activatrices agissent habituellement en se fixant sur des sites spécifiques de l'ADN. Chez les *Bacteria*, les répresseurs se fixent sur une région appelée l'**opérateur**, qui généralement chevauche ou est en aval du **promoteur** (c'est-à-dire plus près de la région codante) (Fig. 02a,b). Lorsqu'il est fixé, le répresseur protéique soit bloque la liaison de l'ARN polymérase au promoteur, soit empêche son mouvement.

4. Opéron Lactose : control transcriptionnel négatif des gènes inductibles

L'opéron *lac* contient trois gènes structuraux contrôlés par le répresseur *lac* (LacI). LacI est encodé par *lacI*, qui est situé en amont de l'opéron *lac* (Fig. 03). Un gène de l'opéron code pour la β -galactosidase, un second dirige la synthèse de la β -galactosidase, la protéine responsable de l'absorption du lactose. Le troisième gène code pour la β -galactosidase transacétylase, dont la fonction est encore incertaine. La présence des deux premiers gènes dans le même opéron assure que les vitesses d'adsorption et de dégradation du lactose varieront simultanément.

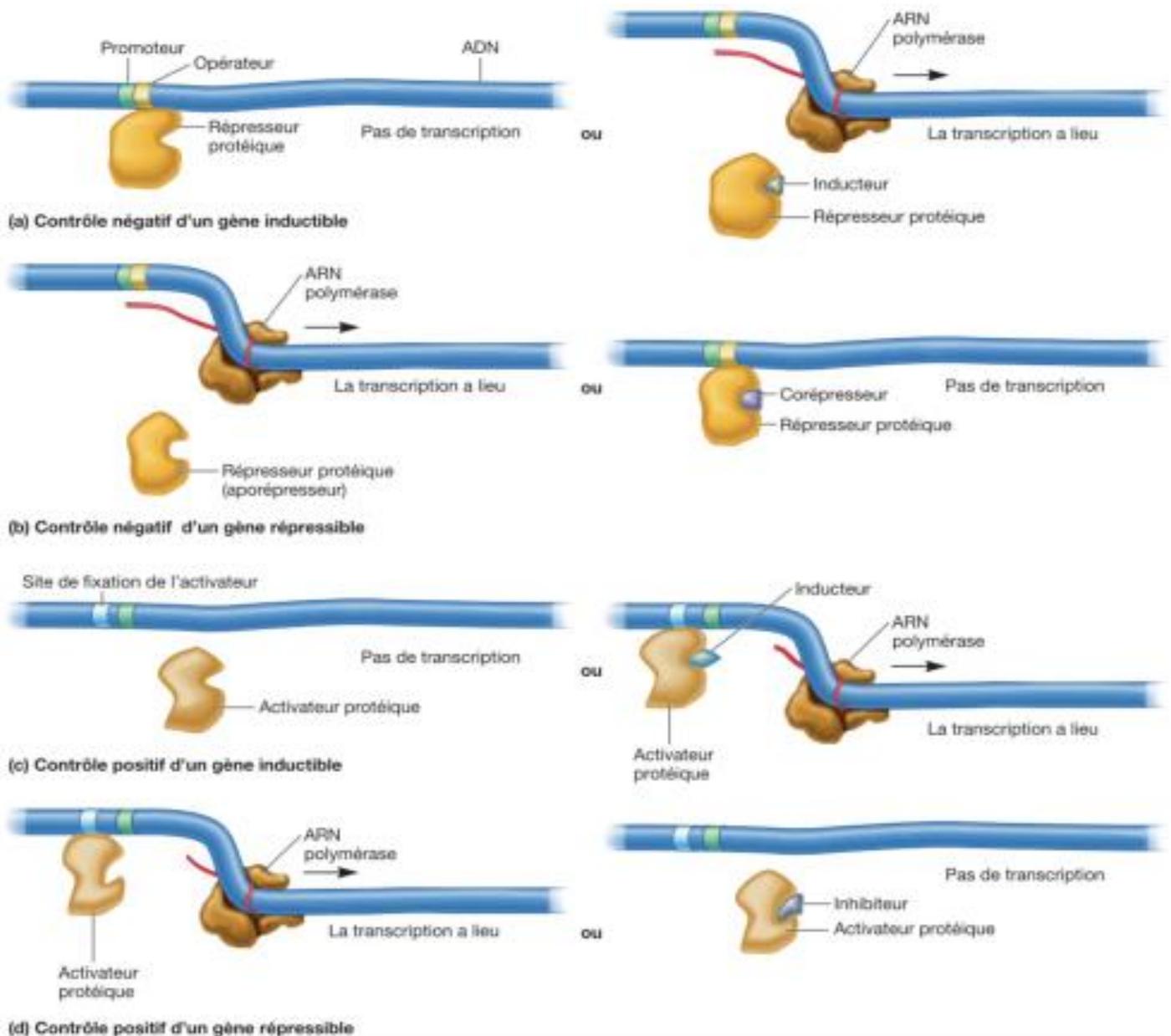


Figure 02: L'action des protéines régulatrices bactériennes.

(Les protéines régulatrices bactériennes ont deux sites de liaison -un pour une petite molécule effectrice et un pour l'ADN. La fixation de la molécule effectrice change la capacité de la protéine régulatrice de se lier à l'ADN. (a) en l'absence d'inducteur, le répresseur protéique bloque la transcription. La présence de l'inducteur empêche le répresseur de se lier à l'ADN et la transcription a lieu. (b) en absence d'un corépresseur, le répresseur est incapable de se fixer à l'ADN et li y a transcription. Quand le corépresseur est lié au répresseur, celui-ci peut se fixer à l'ADN et bloquer la transcription. (c) l'activateur protéique n'est capable de se fixer à l'ADN et d'activer la transcription que quand il est lié à l'inducteur. (d) l'activateur se fixe à l'ADN et facilite la transcription, à moins que l'inhibiteur ne soit présent. Quand l'inhibiteur est présent, l'activateur subit un changement de conformation qui l'empêche de se lier à l'ADN, ce qui inhibe la transcription).

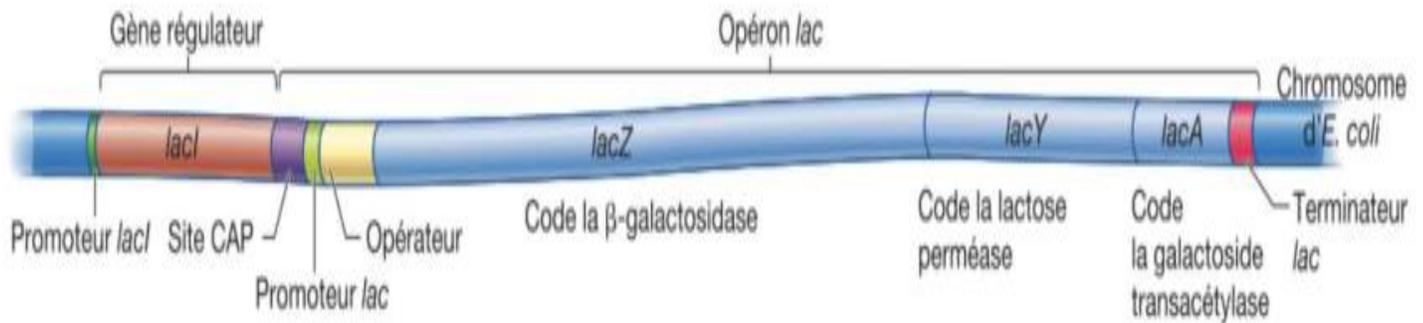


Figure 03: Opéron *lac*.

(L'opéron *lac* comprend trois gènes : *lacZ*, *lacY* et *lacA*, qui sont transcrits en une seule unité à partir du promoteur *lac*. L'opéron est régulé à la fois positivement et négativement. Le contrôle négatif est le fait du répresseur *lac*, qui est le produit du gène *lacI*. L'opérateur est le site de fixation du répresseur *lac*. Le contrôle positif est exercé par la CAP. La CAP se fixe au site CAP, situé juste en amont du promoteur *lac*. La CAP est en partie responsable d'un phénomène appelé la répression catabolique, un exemple de réseau de contrôle global, où de nombreux opérons sont contrôlés par une seule protéine. Dans un souci de simplicité, l'opérateur est représenté ici comme une région unique : en réalité, l'opérateur *lac* comprend trois sites distincts qui sont montrés dans la figure 04).

Le lactose est l'une des nombreuses molécules organiques qu'*E.coli* peut utiliser comme source de carbone et d'énergie. Synthétiser les enzymes de l'opéron *lac*, quand le lactose n'est pas disponible, est du gaspillage. Par conséquent, la cellule exprime cet opéron à de hauts niveaux quand le lactose est disponible et quand une source privilégiée de carbone et d'énergie ne l'est pas. Le répresseur *lac* se charge d'inhiber la transcription quand il n'y a pas de lactose.

Le **répresseur *lac*** est un tétramère composé de quatre sous-unités identiques, chacune étant munie d'un domaine de liaison à l'ADN hélice-tour-hélice. Le tétramère se forme par interaction de deux dimères. Lorsque le catabolisme du lactose n'est pas nécessaire, chacun des dimères reconnaît l'un des trois sites opérateurs *lac* (O_1 , O_2 et O_3) et s'y fixe fermement (Fig. 04a). O_1 est le site opérateur principal et doit être occupé par le répresseur si la transcription doit être inhibée. Quand l'un des dimères est sur O_1 et l'autre sur l'un des deux autres sites opérateurs, les dimères rapprochent l'un de l'autre les deux sites opérateurs, et l'ADN qui les sépare forme une boucle. La fixation du répresseur *lac* est un processus en deux étapes. D'abord, le répresseur s'attache à l'ADN de façon non spécifique. Il glisse ensuite rapidement le long de l'ADN jusqu'à ce qu'il atteigne un site opérateur. Deux hélices α du répresseur s'emboîtent dans le grand sillon de l'ADN au site opérateur (Fig. 04b).

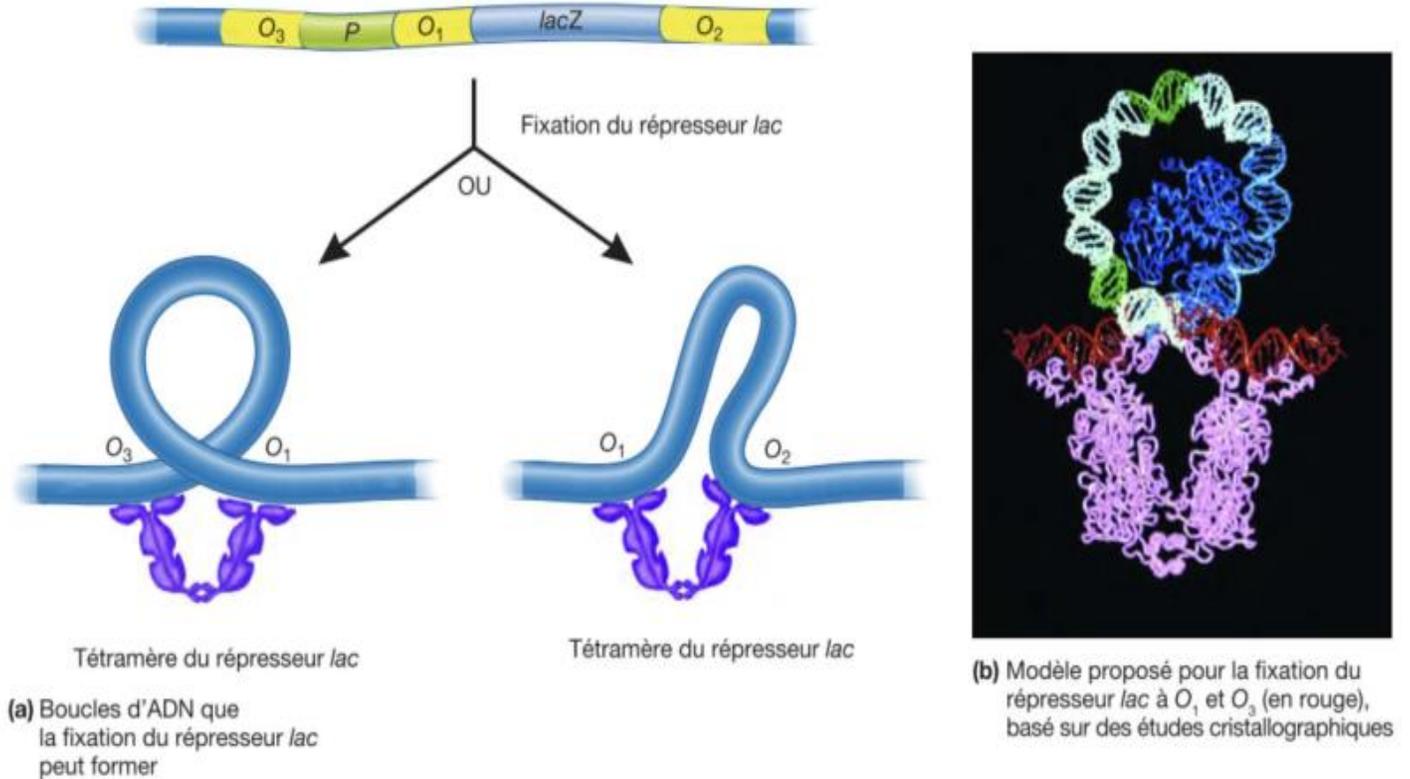


Figure 04: Site de l'opérateur *lac*.

(L'opérateur *lac* comporte trois sites opérateurs : O_1 , O_2 et O_3 (a). Comme montré en (a) et en (b), le répresseur *lac* (en violet) se lie à O_1 et à un des autres sites opérateurs pour bloquer la transcription, en formant une boucle dans l'ADN. La boucle d'ADN comprend les sites de fixation -35 et -10 (en vert) reconnus par l'holoenzyme de l'ARN polymérase. Ces sites sont donc inaccessibles et la transcription est bloquée. La boucle d'ADN contient aussi le site de fixation de la CAP et la figure montre la CAP (en bleu) fixée à l'ADN. (b) Quand le répresseur *lac* est fixé à l'opérateur, la CAP est incapable d'activer la transcription).

Comment le répresseur inhibe-t-il la transcription ? Le promoteur *lac* est situé à proximité des sites opérateurs *lac*. Quand il n'y a pas de lactose, le répresseur se fixe sur O_1 et l'un des autres sites opérateurs, courbant l'ADN dans la région promotrice. Ceci empêche l'initiation de la transcription, soit parce que l'ARN polymérase ne peut accéder au promoteur, soit parce que l'enzyme ne peut se déplacer jusqu'à la région codante (Fig. 05a). Quand le lactose est disponible, il est importé dans la cellule par la **lactose perméase**. Dès que le lactose est à l'intérieur de la cellule, la β -galactosidase le convertit en allolactose, l'inducteur de l'opéron (Fig. 01).

Ceci se produit parce qu'il y a toujours une faible synthèse de perméase et de β -galactosidase. L'allolactose se fixe de façon non-covalente au répresseur *lac* et le change en une forme inactive

qui n'est plus capable de se lier à aucun site opérateur. Le répresseur inactivé quitte l'ADN et la transcription de l'opéron a lieu (Fig. 05b).

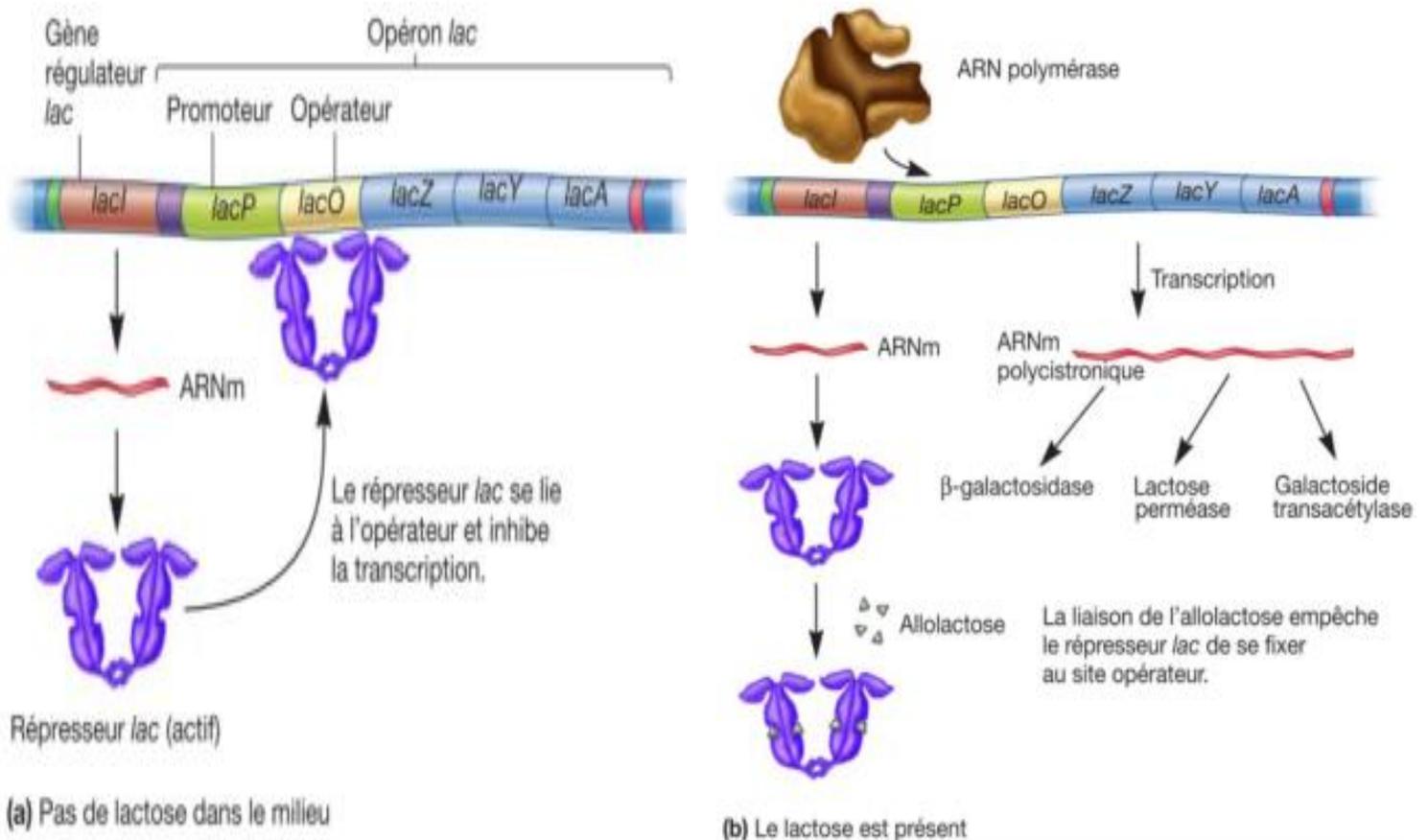


Figure 05: Régulation de l'opéron *lac* par le répresseur *lac*.

[(a) le répresseur *lac* est actif et peut se lier à l'opérateur, tant que l'inducteur de l'opéron, l'allolactose, n'est pas présent. La liaison du répresseur à l'opérateur inhibe la transcription de l'opéron par l'ARN polymérase. (b) quand le lactose est disponible, il est en partie converti en allolactose par la β -galactosidase. Dès qu'il y a suffisamment d'allolactose, celui-ci se fixe au répresseur *lac* et l'inactive. Le répresseur quitte l'opérateur et l'ARN polymérase est libre d'inhiber la transcription].

Si on examine de plus près les figures 03 et 04, on voit que la régulation de l'opéron *lac* n'est pas aussi simple que nous venons de la décrire. Cela parce que l'opéron *lac* est régulé par une autre protéine régulatrice, appelée **Catabolite Activator Protein (CAP)**. La CAP fait partie d'un réseau régulateur global qui permet à *E.coli* d'utiliser le glucose de préférence à toutes les autres sources de carbone et d'énergie, par un mécanisme appelé **répression catabolique**. Le recours à deux protéines régulatrices différentes pour contrôler la synthèse d'un opéron illustre un autre point

important de l'étude de la régulation de l'expression génétique : il y a souvent plusieurs niveaux de régulation. Dans le cas de l'opéron lactose, le répresseur lactose régule l'expression génétique en réponse à la présence ou à l'absence de glucose. Les niveaux de transcription les plus élevés se rencontrent lorsque le lactose est disponible et que le glucose ne l'est pas ; les niveaux les plus bas se produisent lorsque le lactose n'est pas disponible mais que le glucose l'est. Pour quasi tous les exemples repris dans ce chapitre, la régulation s'opère par plus d'un seul mécanisme.

5. Opéron tryptophane : le contrôle transcriptionnel négatif des gènes répressibles

L'opéron tryptophane (*trp*) d'*E.coli* consiste en cinq gènes de structure qui codent pour les enzymes nécessaires à la synthèse de l'acide aminé tryptophane (Fig. 06). Il est régulé par le répresseur *trp*, qui est codé par le gène *trpR*. Comme les enzymes codées par l'opéron *trp* font partie d'une voie biosynthétique, ce serait du gaspillage de les produire lorsque le tryptophane est facilement disponible. Par conséquent, l'opéron ne fonctionne que quand il n'y a pas de tryptophane et que ce dernier doit être fabriqué de *novo* à partir de précurseurs. Pour assurer cette fonction régulatrice, le répresseur *trp* est synthétisé sous une forme inactive qui ne peut pas se lier à l'opérateur *trp*, tant que la concentration en tryptophane est faible (Fig. 06a). Quand la concentration en tryptophane augmente, celui-ci agit comme **corépresseur** : il se lie au répresseur et l'active. Le complexe répresseur-corépresseur se fixe alors à l'opérateur et bloque l'initiation de la transcription (Fig. 06b).

Comme l'opéron *lac*, l'opéron *trp* est soumis à un autre niveau de régulation. En plus d'être contrôlée au niveau de l'initiation de la transcription par la répression *trp*, l'expression de cet opéron est aussi régulée au niveau de l'élongation de la transcription par un processus appelé l'atténuation.

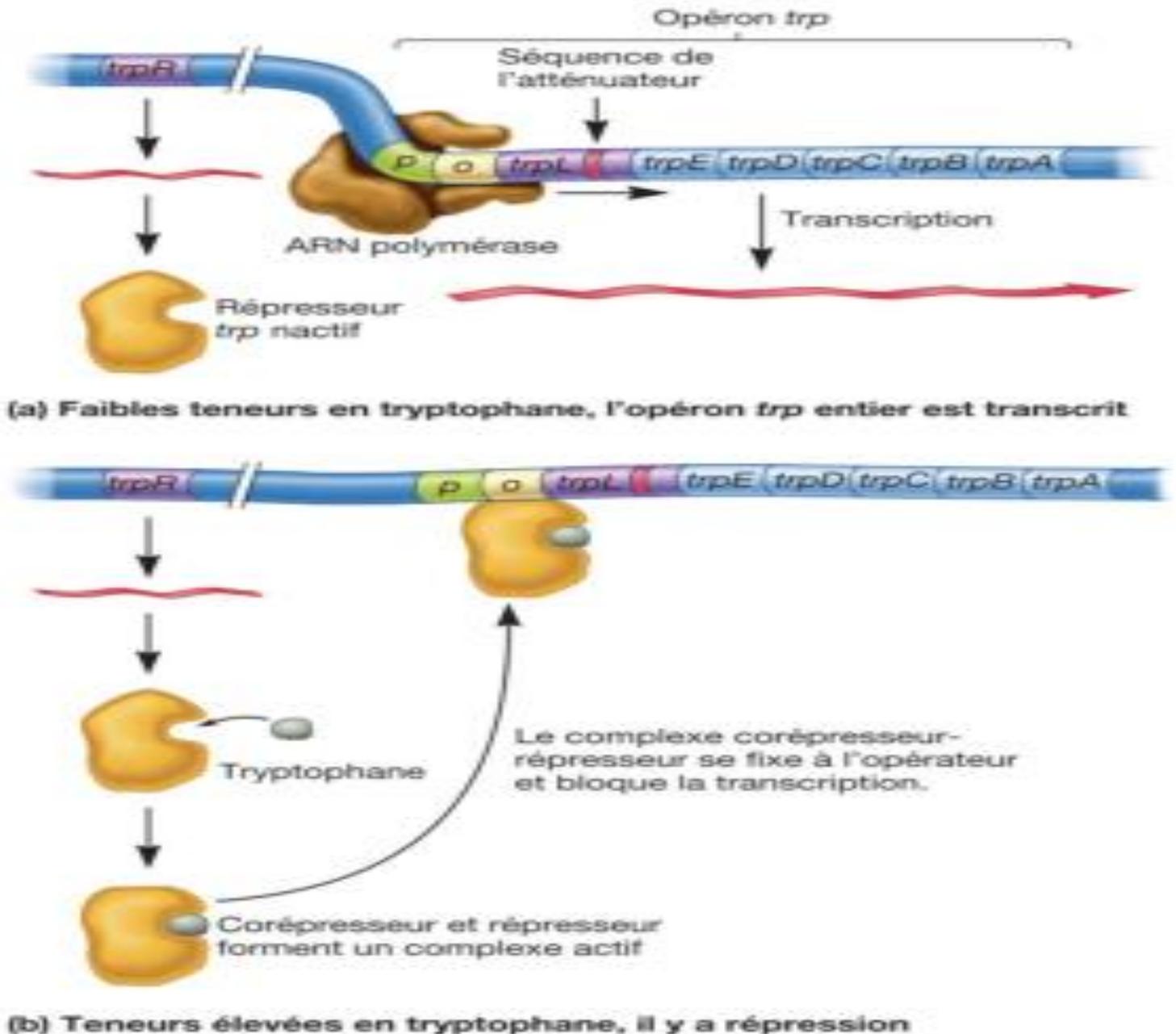


Figure 06/14.8 : Régulation de l'opéron *trp* par le tryptophane et le répresseur *trp*.
(Le répresseur *trp* est synthétisé sous une forme inactive et par conséquent est incapable de se fixer à l'opérateur. Il est activé par la fixation du tryptophane, qui sert de corépresseur. (a) Quand les teneurs en tryptophane sont faibles, le répresseur est inactif et il y a transcription. Les enzymes codées par l'opéron catalysent les réactions nécessaires à la biosynthèse du tryptophane. (b) Quand les teneurs en tryptophane sont suffisamment élevées, celui-ci se fixe au répresseur. Le complexe répresseur-corépresseur se lie à l'opérateur et inhibe la transcription de l'opéron).