

TRANSCRIPTION

Comment les gènes sont copiés en transcrits : ARN

Comment les ARN sont utilisés comme modèles pour produire les protéines.

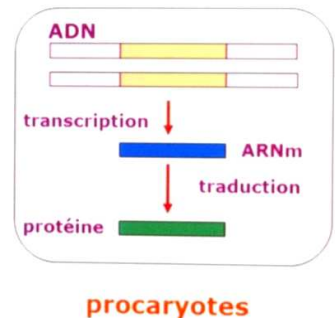
I) Comparaison procaryotes et eucaryotes.

A) Vue générale

Procaryotes : système très simple

→ Pas de noyau. Transcription et traduction se déroulent **simultanément** dans le **même compartiment**.

La traduction peut se dérouler même si les enzymes n'ont pas terminé de transcrire l'ARN.



Eucaryotes

L'ADN est dans le noyau et il a :

- **Des exons** = séquences nucléotidiques **codantes**
- **Des introns** = **non codantes**.

Étapes qui mènent du gène jusqu'à la protéine :

1 : Transcription

Obtention d'un transcrit primaire ou pré-ARN qui contient exons et introns

2 : Maturation

Pour protéger les ARN contre les nucléases.

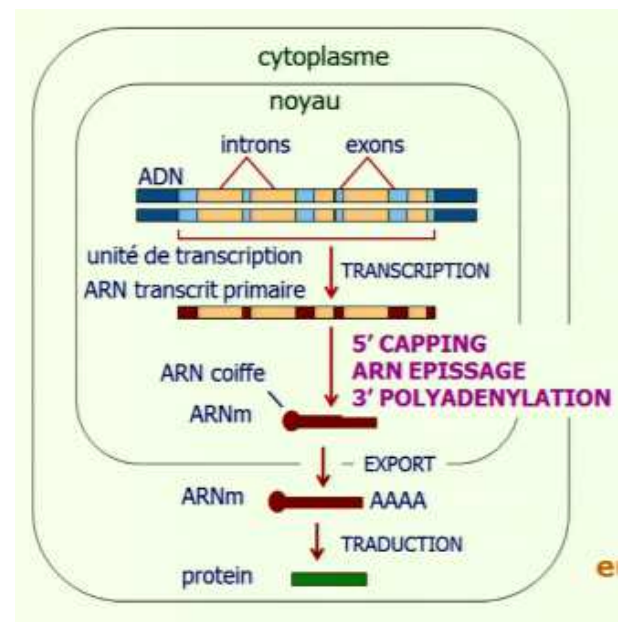
- Addition d'une coiffe en 5' (capping)
- Polyadénylation en 3'
- Epissage : Retrait des introns et obtention d'ARN messagers = transcrit mature.

3 : Sortie de l'ARN

du noyau pour aller dans cytoplasme

3 : Traduction

Pour qu'ait lieu la traduction (ribosomes)



Cette compartimentation permet modélisation sophistiquée de la traduction des gènes chez les eucaryotes. Les réactions biochimiques de Σ des ARN sont communes bien que plus compliquées chez les eucaryotes. Les ARNpol qui interviennent dans la transcription sont ADN dépendantes

B) Structure des ARNpol

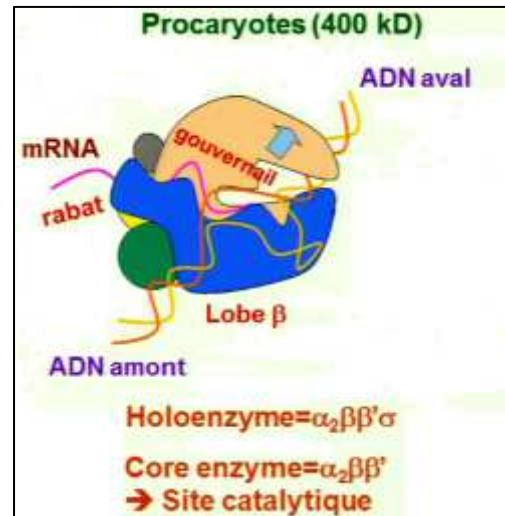
Chez les procaryotes :

Holoenzyme :

4 sous unités $\alpha_2 \beta \beta' \sigma$
(et aussi Ω)

Rôle des sous unités

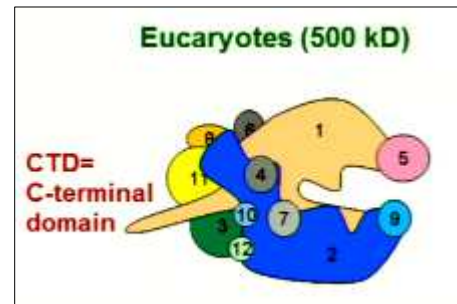
- σ : Initiation
- α : Fixation sur l'ADN
- β et β' : Fixation + Catalyse
- Ω : stabilisation
- **Zone rabat** : sert à maintenir en place l'ARN
- **Zone gouvernail** : exerce une traction sur l'ARN pour le faire sortir à l'arrière de l'ARN polymérase.



Chez les eucaryotes :

12 sous-unités

1 extrémité C-TER appelée CTD :



Fonction des ARN polymérase :

- Localiser le promoteur
→ En amont du gène. (le + souvent) Signal indispensable de début de la transcription. Contient plusieurs séquences CIS = sur la même molécule que le gène
- Assurer le passage transitoire en Simple brin. (déshybridation)
- Former des fonctions phosphodiester.
Ajout de nucléotides avec des liaisons phosphodiester
→ Extension de l'ARN dans le sens 5' → 3'
- Détecter les signaux de terminaison.
- Interagir avec les facteurs trans.

C) A propos du promoteur

La transcription chez E.Coli est catalysée par l'ARN polymérase.

L'unité sigma est un cofacteur qui initie la Σ de l'ARN.

Dès que l'ARN a une taille entre 8 et 10 nucléotides, sigma se dissocie du reste de l'enzyme.

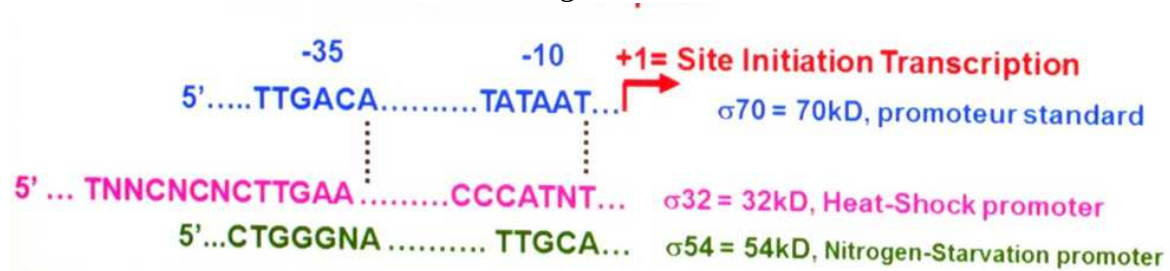
Son rôle est de diminuer l'affinité de l'ARN polymérase pour l'ADN.

→ ARNpol se déplace sur l'ADN et le « scanne » → reconnaît le **promoteur** → ne se détache qu'une fois la transcription terminée. **On dit que l'ARNpol est une enzyme PROCESSIVE**

Par opposition aux enzymes distributives qui catalysent 2 ou 3 réactions puis se détachent.

Le promoteur est une séquence d'ADN qui indique à l'ARNpol où se trouve le site d'initiation de la transcription.

- Promoteur indiqué par des nombres négatifs
- Représenté avec 5' du côté gauche.
- 1ère base transcrite = site d'initiation noté +1.
- Nucléotides en aval : nombres positifs
- Nucléotides en amont : nombres négatifs.



Chez les procaryotes l'unité sigma reconnaît le promoteur, et l'ARNpol se fixe DIRECTEMENT sur l'ADN.

Plusieurs types d'unités sigma

- SIGMA 70 KDa (standard)
 - Reconnaît deux promoteurs en -10 et -35.

Si les conditions environnementales changent, synthèse de :

- SIGMA 32 Kda :
 - Reconnaît 2 promoteurs des gènes heat-shock (en cas de forte chaleur)
- SIGMA 54 Kda :
 - Reconnaît 2 promoteurs des gènes nitrogen starvation.

Chez les eucaryotes ARNpol NE PEUT PAS se fixer directement car pas d'unité sigma.

→ ARNpol est recrutée grâce à la fixation préalable d'autres protéines.

La séquence stricte et la localisation précise du promoteur sont indispensables.

→ **Promoteur fort** : 1 transcription / 2 secondes

→ **Promoteur faible** : 1 transcription / 10 minutes. (En cas de mutations)

D) La technique du foot printing permet de déterminer l'endroit où l'ARN se fixe sur l'ADN.

On marque un gène (par exemple avec du ^{32}P) ensuite on réalise deux expérimentations :

- **On incube l'ADN avec de la DNase**

ADN coupé au hasard → fragments de tailles ≠

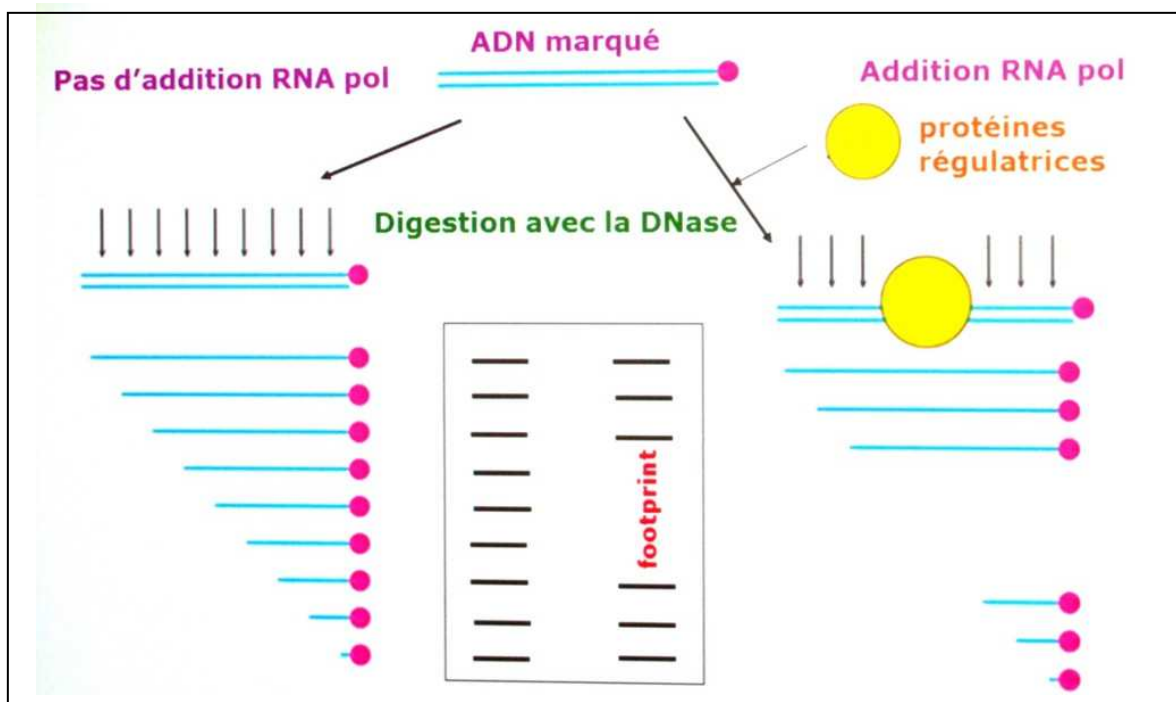
On fait migrer les fragments en fonction de leur taille : on obtient une image en échelle.

- **On rajoute le complexe ARN polymérase**

Des protéines régulatrices vont protéger de l'action des DNase, Donc les DNases vont couper partout sauf là où l'ARN poly s'était fixé.

Les fragments manquants indiquent l'endroit où se fixent les protéines régulatrices.

On détermine de cette façon le segment sur lequel l'ARN poly s'est fixé.

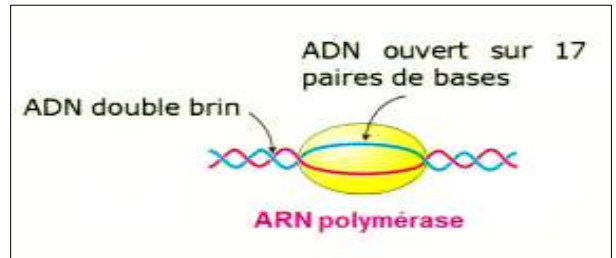


E) La transcription commence par le déroulement d'une petite région de l'ADN

Rappel : L'ARNpol est processive : elle glisse sur l'ADN jusqu'à rencontrer le promoteur.

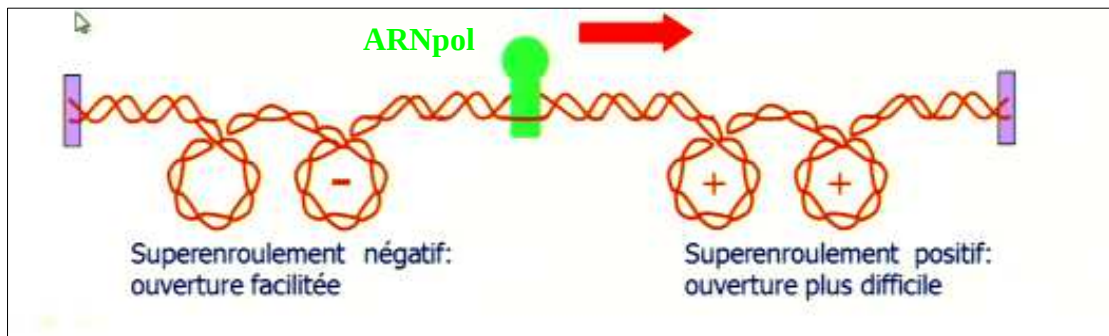
Problème : L'ARNpol ne peut travailler que sur une séquence simple brin.

- **Solution →** ARNpol déshybride l'ADN grâce à activité enzymatique « **unwindase** »
 - o Création d'une fenêtre simple brin d'environ 17 bases.



Problème : L'élongation de la transcription génère des surenroulements positifs qui s'opposent à la progression de l'ARNpol.

- négatifs en amont.
- positifs en aval. (c'est ceux là qui sont problématiques)

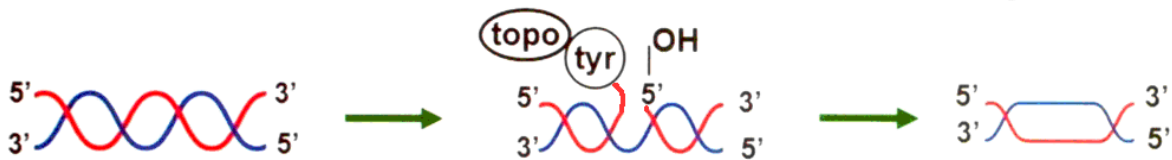


- **Solution →** L'ARNpol est associé à une **topoisomérase**. Cette enzyme supprime les surenroulements positifs.

Deux types de topoisomérases

- **Topoisomérase 1** clive 1 seul brin d'ADN :

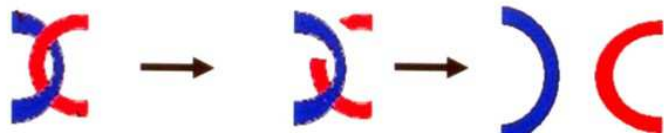
La topoisomérase a un groupement OH dont le résidu Tyr attaque une liaison phosphodiester de l'ADN → clivage → Allègement des forces de torsion. → Ça permet à l'ADN de tourner → superenroulement positif relâché.



- **Topoisomérase 2** clive les 2 brins d'ADN

Après hydrolyse ATP → démêlage des nœuds d'ADN.

ex. gyrase E.Coli: introduit des superenroulements négatifs



Ces topoisomérases ont une application médicale :

- TTT des infections bactériennes : utiliser des antitopoisomérases actives chez les bactéries, mais pas sur l'être humain. Ce sont des antibiotiques. Interdisent la transcription (la bactérie ne peut plus synthétiser les protéines dont elle a besoin)
- TTT des cancers : cette fois la topoisomérase chez l'être humain → utilisation anti-tumorale.

Applications Médicales:

Anti topoisomérases 2 plus actifs chez procaryotes que chez eucaryotes

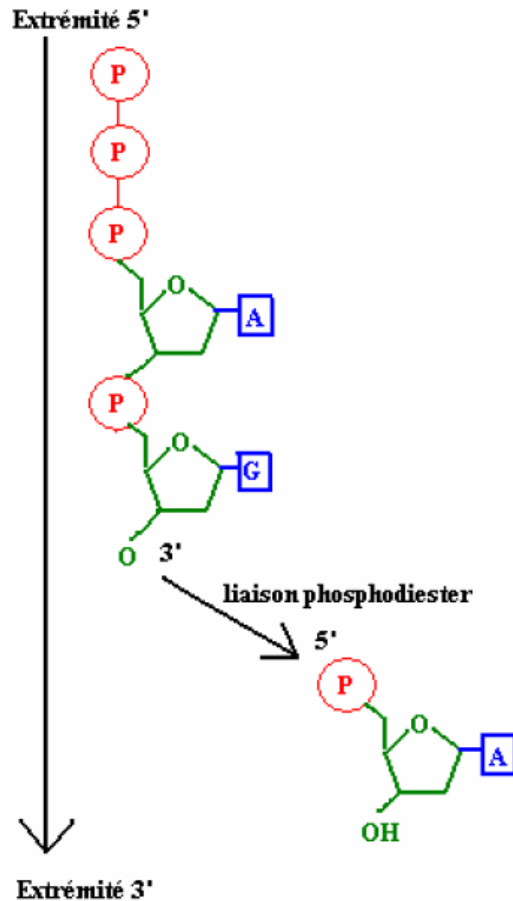
Novobiocine bloque la fixation de ATP à la gyrase

Acide nalidixique et ciprofloxacine interfère avec la coupure et resoudure de l'ADN
→ traitement des infections (urinaires)

Anti topoisomérases actifs chez les êtres humains

Camptothécine= agent anti-tumoral stabilise topoisomérase 1 sous forme liée à l'ADN
Etoposide= anti topoisomérase type 2

F) L'ARN polymérase (ADN dépendante) catalyse la formation de la liaison phosphodiester 3' → 5'



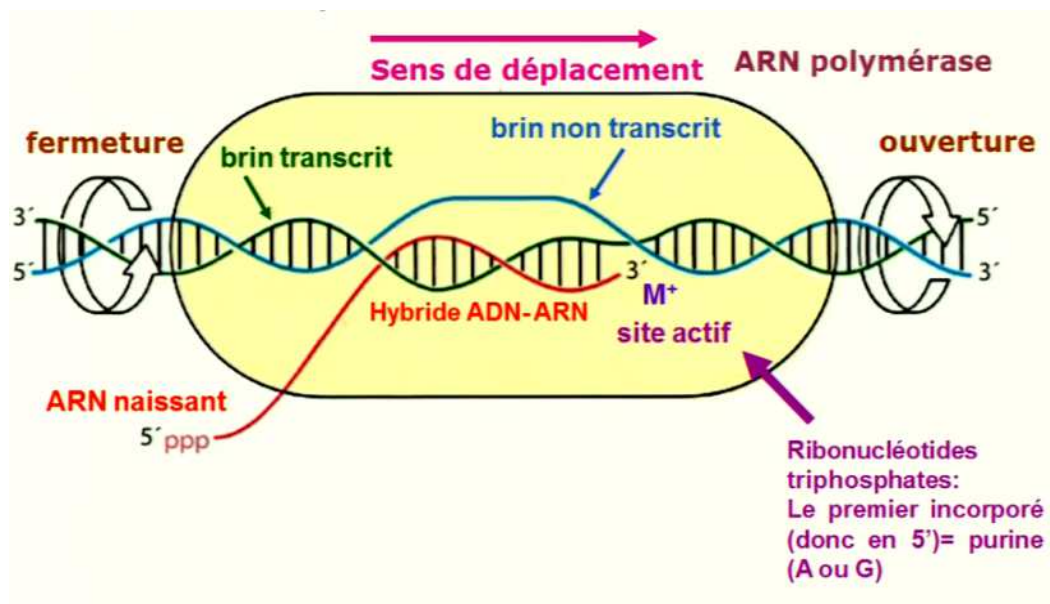
L'extrémité 5' contient 3 phosphates.

Le premier nucléotide de l'extrémité 5' est toujours une base purique : guanine ou adénine

L'ARN polymérase catalyse la formation de la liaison phosphodiester 3'-5'

DONC l'extension de l'ARN se fait dans le sens 5' → 3'

G) La transcription a lieu dans des bulles de transcription.



ADN en cours de transcription.

L'ARNpol se déplace toujours dans le sens 3' → 5'

- **En aval** : ouverture du brin d'ADN
- **En amont** : fermeture du brin d'ADN
- **Fenêtre simple brin** : constante d'environ 17 nucléotides,
- → **vitesse d'ouverture environ égale à la vitesse de fermeture.**

Il y a un segment d'ADN qui interagit avec l'ARN (duplex ou hybride) qui a une taille entre 8 et 9 nucléotides.

Le site catalytique (extrémité 3' de l'ARN) est le site actif : il contient deux ions métallique (Zn ou Mg). Un ion porté par l'enzyme elle-même, l'autre apporté par le nucléotide triphosphate

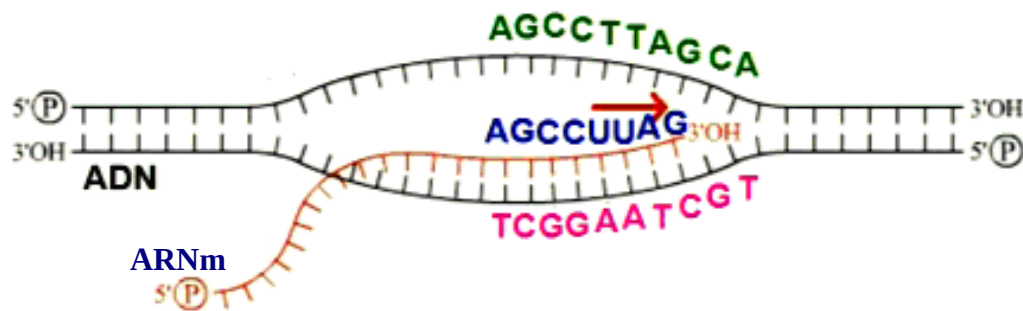
	ARN polymérase	ADN polymérase
Vitesse en nuc / sec	50	800
Taux d'erreur	$1/10^4$ - $1/10^5$	$1/10^9$
Amorce	Non	Oui
Exonucléase	Modeste	Oui
Substrats	Ribonucléotides	Desoxyribonucléotides

Exonucléase : Quand les enzymes synthétisent les AN dans le sens 5' 3' elles peuvent revenir en arrière, et s'il y a eu une erreur d'incorporation → remplacement de l'erreur.

H) Le sens de la transcription

On voit un gène en cours de transcription : Il faut être capable d'orienter les brins, c.à.d définir le sens de la transcription.

L'ARNpol copie le **brin transcrit** dont elle synthétise **une séquence complémentaire** identique **au brin non transcrit** à la différence que **les thymidine deviennent des uraciles**.



l'ARNpol se déplace toujours dans le sens 3' → 5'

L'ARNm synthétisé est dans le sens 5' → 3'

L'ARNm est la séquence codante : complémentaire au brin transcrit et identique au brin non transcrit. **on appelle donc le brin non transcrit « brin codant ».**

BRIN TRANSCRIT = **BRIN NON CODANT**
 = **ANTI-SENS**
 = **BRIN NEGATIF**

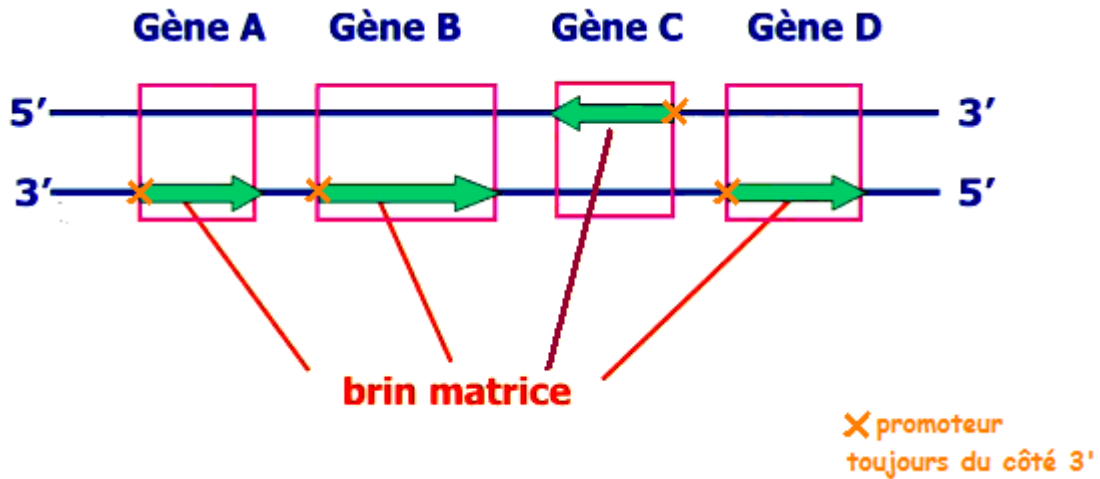
BRIN NON TRANSCRIT = BRIN CODANT
= BRIN SENS
= BRIN POSITIF

Pour un gène donné, il y a toujours un seul brin transcrit.

Pour plusieurs gènes, il peut y avoir les deux brins transcrits, dans deux sens différents.

Sur le schéma :

- promoteur est sur le côté gauche pour les gènes A, B et D
- promoteur est sur le côté droit pour le gène C, donc l'ARNpol va se déplacer sur le brin du haut dans le sens inverse mais **TOUJOURS dans le sens 3' 5'**.

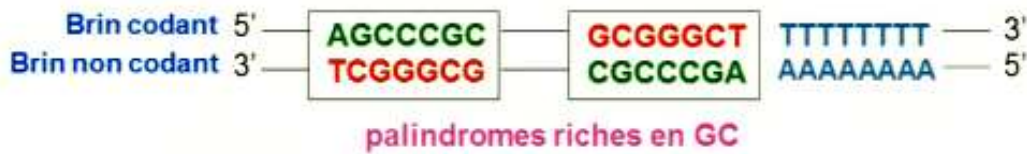


Le promoteur est toujours du côté 3'

I) Signaux de la terminaison de la transcription chez les procaryotes

1. structure en épingle à cheveux

Chez les procaryotes : structure en épingle à cheveux + uraciles → terminaison.



Un palindrome est un signal de terminaison. Un palindrome est :

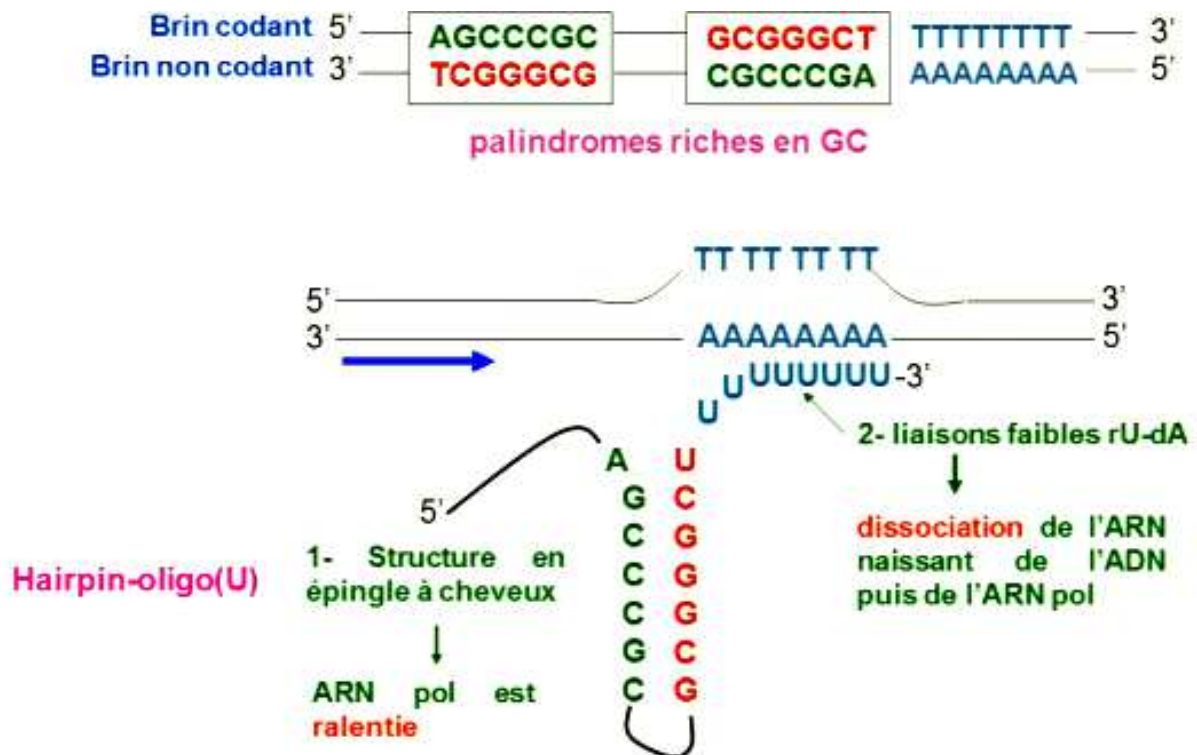
- **riche en GC** : les liaisons sont fortes (3 liaisons hydrogène)
- **suivi d'une séquence riche en AT** : liaisons faibles rU-dA (2 liaisons hydrogène)

Quand l'ARNpol rencontre une répétition de palindromes riches en GC :

- **formation d'une structure en épingle à cheveux** → ralentit la progression de l'ARN

Quand l'ARNpol rencontre ensuite les successions AAAAAATTTTTT :

- **dissociation de l'ARN et de l'ADN** → car les liaisons AT sont plus faibles.



2. Atténuation

Système de terminaison qui utilise aussi la structure en épingle à cheveux, au niveau des opérons tryptophane.

3. La protéine Rhô

Complexe **hexamérique** qui reconnaît ARNs.

Dès que l'ARNsb est synthétisé, une portion de 72 nucléotides s'insère dans un canal de la protéine Rhô. ➔ Interaction entre Rhô et ARNsb

Activé quand l'ARN est riche C et pauvre en G. → Hydrolyse de l'ATP.

Rh σ se comporte comme une **hélicase**, exerce une traction sur le duplex ARN ADN

➔ Dissociation.

