

Expression des gènes

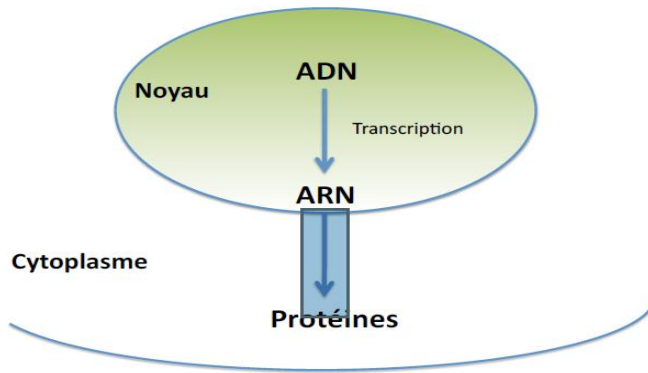
Expression d'un gène = processus entier qui décode l'information portée par un gène donné et la traduit en protéine. Transcription et Traduction Le code génétique : Le code génétique : l'ensemble des règles permettant d'établir une correspondance entre le support de l'information génétique (ADN) et les protéines. - La séquence d'un gène est une succession d'unités de 3 bases : les codons, qui correspondent à un acide aminé particulier.

- Les 4 bases (A,T,C,G) peuvent se combiner pour donner : $4^3 = 64$ codons.
- Codons stop : UAG, UGA, UAA
- Codon d'initiation : AUG (Met)
- 61 codons pour 20 aa : dégénérescence du code génétique.

		Deuxième lettre								
		U		C		A		G		
Première lettre (côté 5')	U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	U
		UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	C
		UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	A
		UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp	G
	C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	U
		CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	C
		CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	A
		CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	G
	A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	U
		AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	C
		AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	A
		AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	G
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	U	
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	C	
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	A	
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	G	
		codon d'initiation				codon de terminaison				

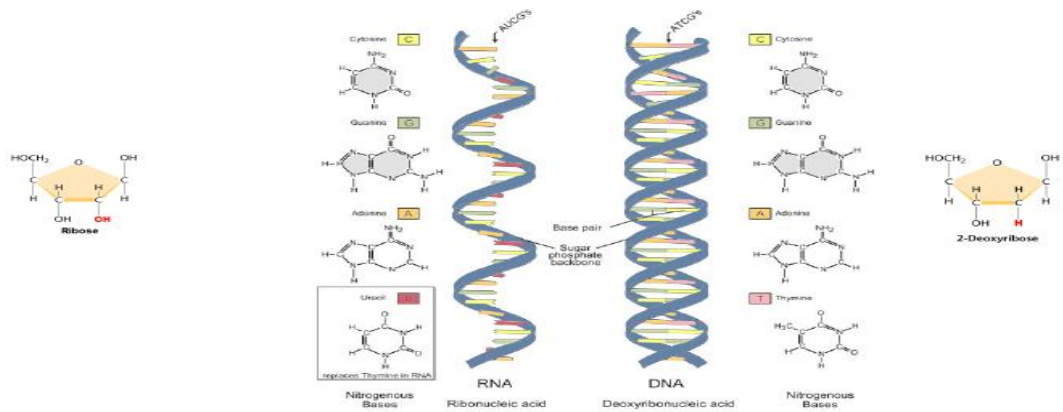
Transcription : La transcription est un processus biologique ubiquitaire important dans la transmission de l'information cellulaire présente dans l'ADN. Elle se déroule dans le noyau d'une cellule (chez les eucaryotes) et consiste à copier des régions dites codantes de l'ADN et de les transcrire en molécules d'ARN

La synthèse de l'ARN se fait par polymérisation de ribonucéotides triphosphate dans le sens 5' > 3', sens opposé à celui du déroulement du brin matrice (3' > 5'). - La chromatine doit au préalable avoir été décompactée (euchromatine) pour permettre à la machinerie protéique d'accéder à l'ADN - L'enzyme responsable de la transcription est l'ARN polymérase. - Il existe 3 types d'ARN polymérase chez les eucaryotes: I, II, III - L'ARN polymérase est accompagnée par des facteurs de transcription généraux (protéines) : TFI, TFII, TFIII... ce qui constitue un complexe protéique constitué de 8 à 14 sous unités.



Les ingrédients indispensables

- Ribonucléotides.
- Une molécule d'ADN.
- Des enzymes : ARN polymérase



I - Les ARN Les ARN sont des polyribonucléotides. Par rapport à l'ADN le T est remplacé par le U (même si dans certain ARNt on peut trouver du T). On les trouve dans le noyau et le cytoplasme.

Un ARN est monocaténaire, mais sa chaîne peut se replier, et former une structure secondaire stable (épingle à cheveu) en formant des liaisons hydrogène entre les bases. Les ARN majoritaires de la cellule sont :

- ARNr 83%
- ARNt + petits ARN 15%
- ARNm 2%.

L'ARN est un produit de la transcription de l'ADN par l'ARN polymérase ADN dépendante.

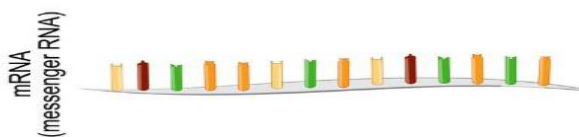
1 - Les ARNt Ils sont présents dans le cytoplasme. Ils transfèrent les acides aminés (aa) sur les chaînes protéiques en constitution au niveau du ribosome. Ils ont un rôle adaptateurs en amenant les aa à la bonne place de la séquence polypeptidique. Il existe 70 ARNt différents, mais il n'y

a que 20aa et 64 codons, il y a donc plus d'ARNt que de aa ou de codons. Ils sont composés d'une seule chaîne polynucléotidique.

2 - Les ARNr Ils forment quasiment de suite après leur synthèse des ribosomes en s'associant à des protéines ribosomales (ribonucléoprotéines).

	PROCARYOTES	EUCARYOTES
Constante de sédimentation	70s	80s
Masse particulaire	$2,8 \cdot 10^6$	$4,5 \cdot 10^6$
Dissociation (quand Mg^{2+} en dessous de 1mMol)	50 + 30	60 (ARN 28s, 5s et 5'8s + 45 prot) + 40 (ARN 18s + 33 prot)
%ARN	63	50
%Protéines	37	50

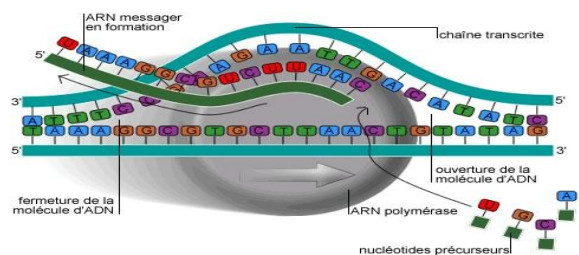
Les ARNm Ils sont minoritaires dans la cellule. Il s'agit de la « copie » de l'information génétique contenu dans l'ADN. Ils sont synthétisés rapidement et leur demi-vie est courte (quelques minutes chez les procaryotes et quelques heures chez les eucaryotes) ; et leurs tailles sont très hétérogènes.



La transcription chez les eucaryotes.

Il existe plusieurs ARN polymérase.

Classe de l'enzyme	Type d'ARN transcrit
I (A)	ARNr
II (B)	ARNm (précurseur)
III (C)	ARNt



Chez les eucaryotes les ARN polymérase sont transcription. Il faut pour cela tout un assortiment de protéines appelées facteurs de transcription généraux qui vont se lier au promoteur. Cet assemblage fournit différentes possibilités de régulation de l'initiation de la transcription. La présence de ces facteurs de transcription généraux est nécessaire au fonctionnement de l'ARN polymérase.

Dans la plupart des cas, plusieurs facteurs de transcription s'assemblent sur l'ADN au niveau du promoteur et recrutent l'ARN polymérase. Il existe un grand nombre de facteurs de transcription.

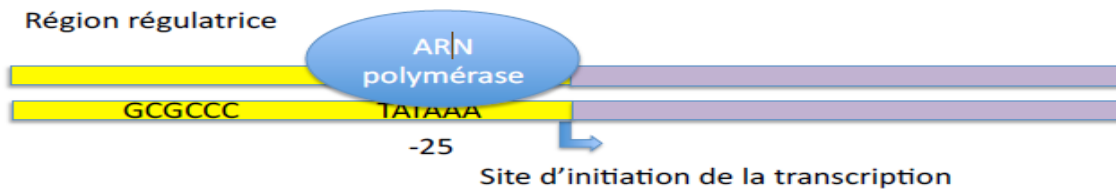
Le promoteur des eucaryotes est composé de plusieurs séquences permettant de définir entre autre : le début de transcription, la fréquence, le type cellulaire ou le type d'environnement nécessitant cette transcription... Il existe une boîte TATA ressemblent beaucoup à celle des procaryotes, fonctionnellement apparenté (ie qui définit où débute la transcription) et situé en -32 du +1 de transcription. D'autres séquences, tel que les boîtes GC et CAAT, +- en amont définissent la fréquence de transcription. Toute variation de séquence ou de positionnement de ces éléments entraîne de forte variation de fréquence de transcription. Ces éléments agissent en cis car ils sont sur la même molécule d'ADN que le gène contrôlé, alors que les facteurs protéiques agissent en trans.

Il existe une troisième classe de séquences régulant le taux de transcription : élément stimulateur ou extincteur = enhancer ; ils peuvent être situés en amont ou en aval du gène, même très loin. Les éléments régulateurs hormonaux, certains métaux, des chocs thermiques ou encore certaines toxines agissent comme tel.

Mécanismes généraux de la Transcription par l'ARN polymérase II La transcription des gènes se déroule selon trois phases principales : phases d'initiation, d'élongation et de terminaison. Phase d'initiation L'initiation de la transcription par l'ARN polymérase II est assurée par des facteurs transcriptionnels généraux dénommés TFII A-B-C-D-E-F- et H. Ces facteurs s'assemblent sur une région située en amont de l'ADN à transcrire qui porte le nom de promoteur. La plupart des promoteurs de l'ARN polymérase II contiennent une région riche en nucléotides A et T appelée TATA box (boîte TATA). Elle contient la séquence consensus TATAT/AAT/AA. Seul le facteur TFIID (qui est en fait un complexe multiprotéique dont l'élément de liaison à la TATA box porte le nom de TBP pour "TATA Box Binding Protein") reconnaît spécifiquement la boîte TATA et s'y lie. La liaison de TBP à l'ADN est peu usuelle car elle se lie au niveau du petit sillon de l'ADN, alors que toutes les autres protéines se liant à l'ADN, se lient au niveau du grand sillon.

De plus son angle de liaison à l'ADN (80°) provoque une distorsion de celui-ci. Cette structure, en changeant l'organisation spatiale autour de la boîte TATA va permettre aux facteurs transcriptionnels et à l'ARN polymérase d'être plus étroitement associés qu'ils ne l'auraient été sur de l'ADN linéaire. En fait la liaison à la boîte TATA déroule l'hélice d'environ 1/3 de tour. Cet assemblage entraîne la formation d'un complexe d'activation qui permet la liaison de l'ARN polymérase II. L'ensemble forme le complexe d'initiation de la transcription

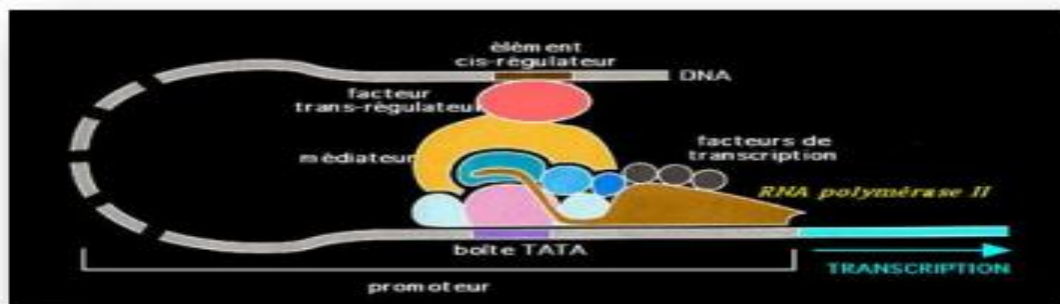
La transcription débute à 20-30 paires de base (pb) en aval de la boîte TATA, au site d'initiation de la transcription (ATG), qui par convention est appelé +1. Le complexe d'initiation de la transcription va catalyser la formation de la première liaison phosphodiester entre les deux premiers nucléotides de l'ARN messager (ARNm). L'ARN polymérase II se déplace ensuite le long de l'ADN en ouvrant une partie de la molécule d'ADN par déroulement de la double hélice sur une courte distance en formant une boucle de transcription.



La boucle de transcription se déplace dans le sens 3'-5' du brin matriciel et la chaîne d'ARNm s'allonge dans le sens 5'-3'.

L'élongation de la molécule d'ARNm se fait par l'appariement des bases complémentaires et par l'addition successive de nucléotides 5' triphosphates. Cette élongation nécessite des facteurs supplémentaires appelés facteurs d'élongation nécessaires au déplacement de l'ARN polymérase II. L'ADN lu se rembobine immédiatement après la lecture. Phase de terminaison

- La terminaison est assurée par des signaux spécifiques dont le signal de polyadénylation 3'-TTATTT-5' suivie dans la plupart des gènes d'un autre signal 3'-ATACAAAC-5'.

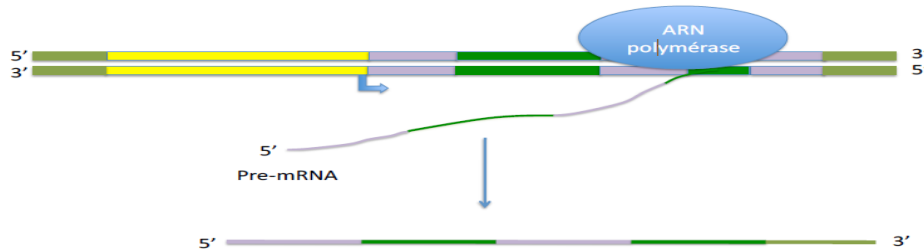


Phase d'élongation La boucle de transcription se déplace dans le sens 3'-5' du brin matriciel et la chaîne d'ARNm s'allonge dans le sens 5'-3'. L'élongation de la molécule d'ARNm se fait par l'appariement des bases complémentaires et par l'addition successive de nucléotides 5' triphosphates. Cette élongation nécessite des facteurs supplémentaires appelés facteurs d'élongation nécessaires au déplacement de l'ARN polymérase II. L'ADN lu se rembobine immédiatement après la lecture. Phase de terminaison.

- La terminaison est assurée par des signaux spécifiques dont le signal de polyadénylation 3'-TTATTT-5' suivie dans la plupart des gènes d'un autre signal 3'-ATACAAAC-5'.

- La polymérase continue sa transcription un peu après ce motif puis est libérée sous l'action de divers facteurs

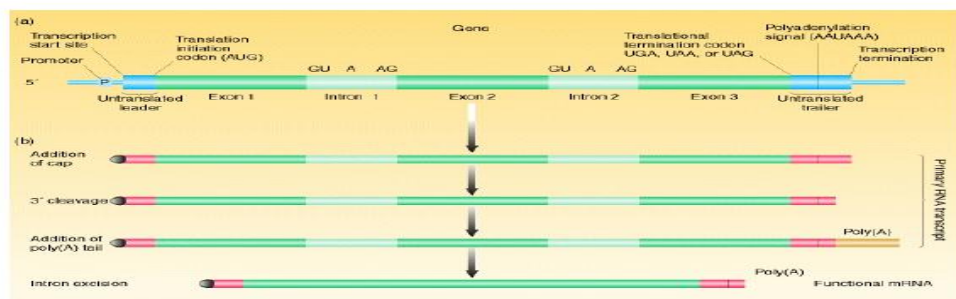
Le transcript primaire comprend les exons et les introns



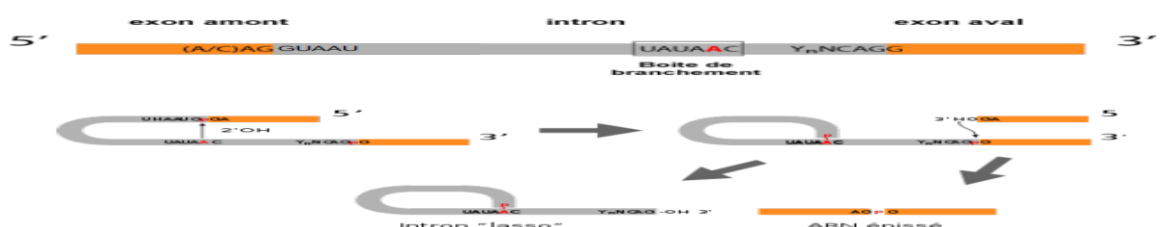
Maturation de l'ARNm

- L'épissage dépend de la présence de séquences signal dans le pré-ARNm :
 - Dans la quasi-totalité des gènes, les deux premiers nucléotides de l'extrémité 5' des introns sont GU et les deux derniers à l'extrémité 3' sont AG.
 - On trouve une autre séquence signal dans les introns appelée la séquence de branchement ~40 nucléotide en amont de l'extrémité 3'.
- L'épissage se déroule dans le noyau et se résume en 2 étapes :
 - clivage de l'intron à son extrémité 5' et son attachement à la séquence de branchement. - les exons sont mis bout à bout au même moment du clivage de l'extrémité 3' de l'intron et sa libération sous forme de « lasso ».
 - • La catalyse de l'épissage est assurée par un complexe enzymatique appelé Splicéosome, il est formé par de petites ribonucléoprotéines (snRNP).

Le pré-ARNm est transformé en ARNm par l'épissage des introns

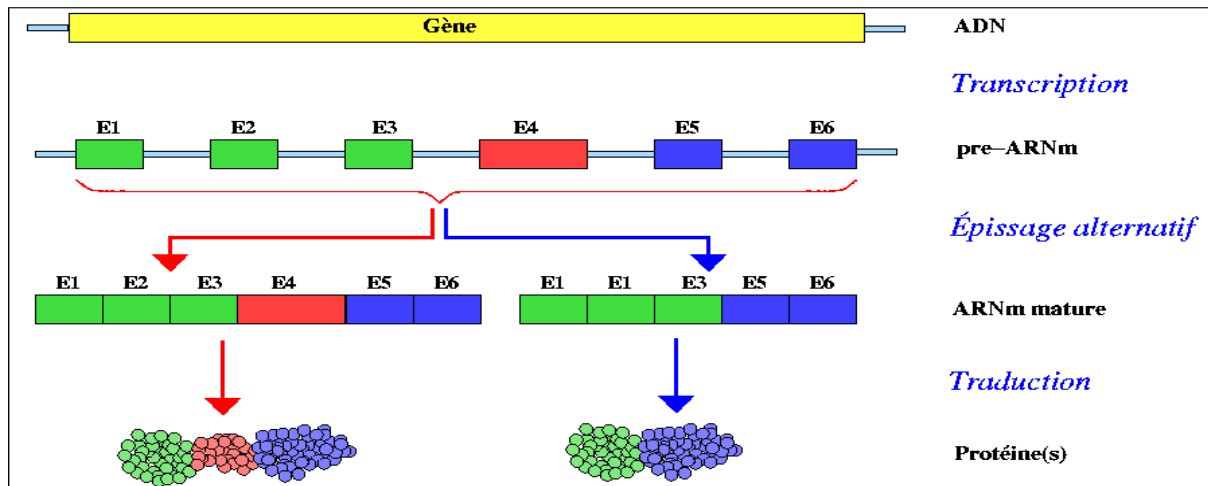


L'épissage des introns



Épissage alternatif :

- Uniquement chez les eucaryotes.
- Les signaux d'épissage : - Fort (constitutifs) - Faibles (épissage alternatif)
- Estimations : - 70% des gènes humains subissent un épissage alternatif - en moyenne, un gène donne naissance à 4 variantes issus d'un tel épissage

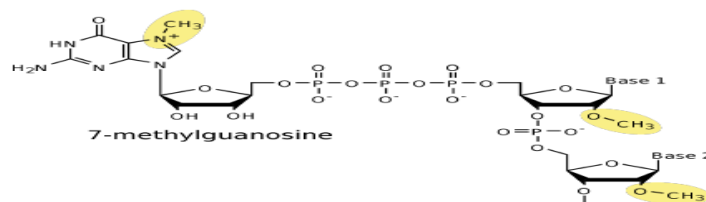


- Mise en place de la coiffe (capping) :

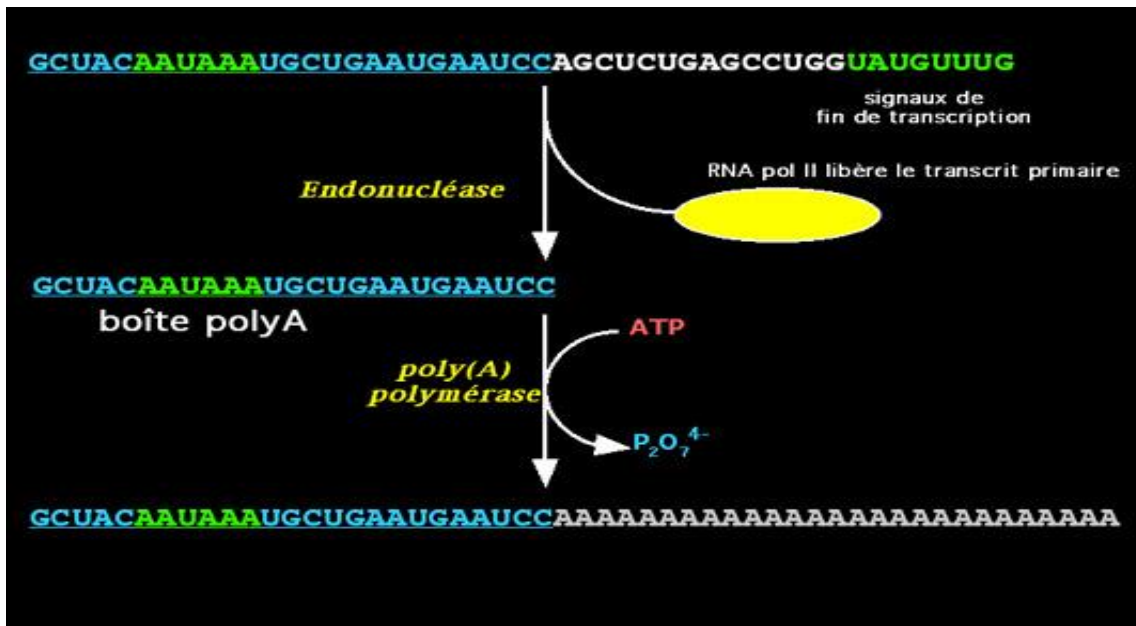
Le coiffage de l'ARN implique une modification de l'extrémité 5' du transcrit primaire. L'extrémité 5' est coiffée par addition d'un nucléotide atypique. Dès la transcription il y a ajout d'une méthyl 7 guanosine par une transférase (la guanyltransférase et la méthyltransférase). Elle est rajouté du côté 5' comportant un triphosphate. 5' me7GpppApXpX3'. Cette coiffe participe à l'initiation de la traduction et empêche la dégradation de l'ARN par une exonucléase 5'3' (ce qui augmente sa demi-vie). C'est aussi un signal autorisant le ribosome à reconnaître le début de la molécule d'ARNm.

Ajout d'une coiffe à l'extrémité 5' des ARNm

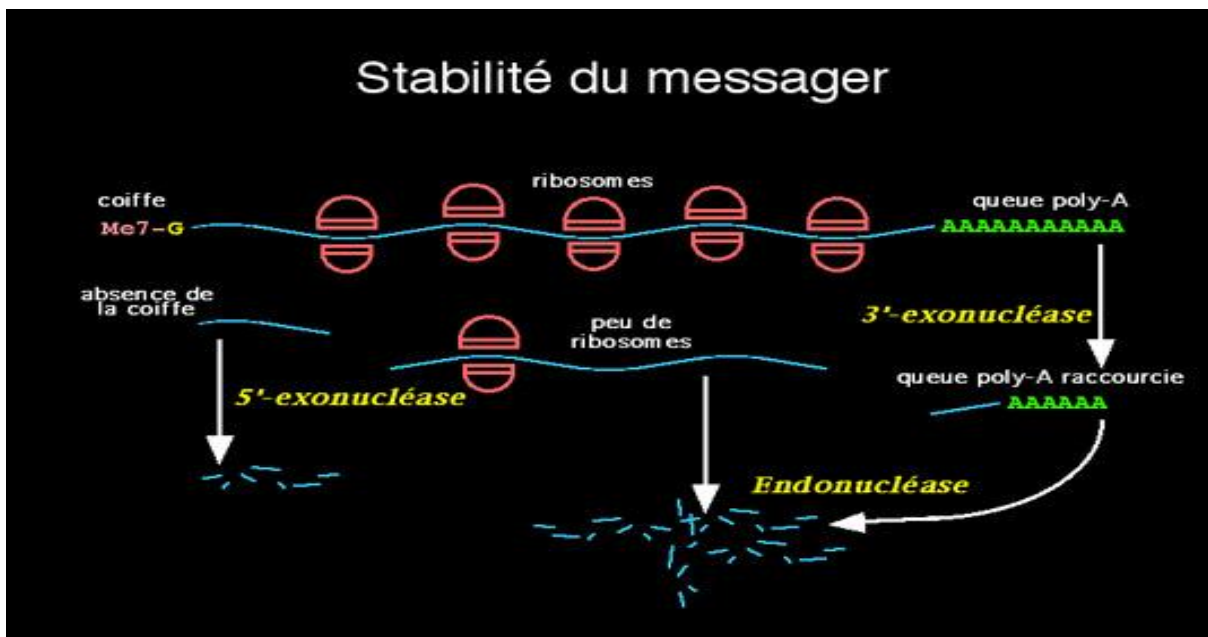
- Ajout d'une guanosine méthylée en N7.
- Evite la dégradation dans le cytoplasme.
- Permet la traduction en favorisant la fixation de facteurs d'initiation de la traduction.



L'extrémité 3' polyadénylation Une queue polyA est ajoutée grâce à la polyA polymérase. Les seuls ARN échappant à cette maturation sont ceux codant pour les histones. La polyadénylation protège l'extrémité 3' de l'ARN des exonucléases. Cette queue polyA est une aubaine pour les biochimistes car elle est très utile pour séparer des ARNm d'autres ARN grâce à des colonnes d'oligo-dT (ou U) Sépharose. Elle permet la synthèse d'ADNc en appariant un fragment dT qui sert d'amorce à la reverse transcriptase.



Traduction : C'est le mécanisme par lequel le flux d'information va passer de la forme acide nucléique (alphabet à 4 lettres) à la forme protéine (alphabet à 20 lettres) selon un code universel ou presque.



LA TRADUCTION CHEZ LES EUCARYOTES

Comme pour la réplication, la transcription, la transcription inverse et la réplication de l'ARN, la lecture de la matrice (ici l'ARNm) se fait de 3'→5' et l'ensemble se passe en 3 étapes : initiation, élongation, terminaison. Ces 3 étapes sont catalysées par des facteurs. Les sous-unités du ribosome (40S et 60S) s'assemblent au niveau du codon initiateur (5'AUG3'), c'est l'initiation. Le tRNA^{met} se fixe au niveau du site P (Peptidyl) du ribosome (80S).

Ensuite vient l'élongation, le ribosome se déplace vers l'extrémité 3' de l'ARNm, les aa-tRNA se logent dans le site A (Aminoacyl) du ribosome en respectant évidemment la séquence de l'ARNm (code génétique). Le peptide fixé sur le tRNA (site P) se détache et se fixe sur l'acide aminé qui est lié au tRNA (site A), c'est l'élongation. Le ribosome se déplace vers le 3' de l'ARNm. Le tRNA du site P est libéré, celui qui était dans le site A vient dans le site P. Le site A est alors libre et peut accueillir le prochain aa-tRNA. Arrivé au codon terminateur (soit UAA, UAG ou UGA) comme il n'existe pas de tRNA correspondant, le ribosome se disloque, c'est la terminaison. Mais elle se passe grâce à des facteurs de terminaison RF (Release Factor) qui imitent la structure 3D d'un tRNA (on parle de mimétisme structural) permettant ainsi le décrochage du peptide lié au tRNA (site P) donnant ainsi la protéine.

INITIATION. Le méthionine-tRNAⁱ ne reconnaît que AUG initiateur. En fait le ribosome ne se fixe pas directement sur AUG mais avant et il "scanne" l'ARNm. Dans certains cas, il ne s'arrête pas au premier AUG mais au deuxième ou encore après.

Nécessiter de facteurs d'initiation eIF (2 à 6), de GTP et d'ATP.

1 – Interaction du ARN^{ti}-met avec la petite sous unité du ribosome et de eIF2, 3 et 4 au niveau de la coiffe de l'ARNm.

2 – Le complexe ARN^t-ribosome- eIF2, 3 et 4 se place au niveau du codon initiateur l'AUG.

3 – Recrutement de la grande sous unité du ribosome, libération des trois eIF. Formation du complexe d'initiation : ARN^{ti}-met, ribosome 80s et ARNm.

ELONGATION

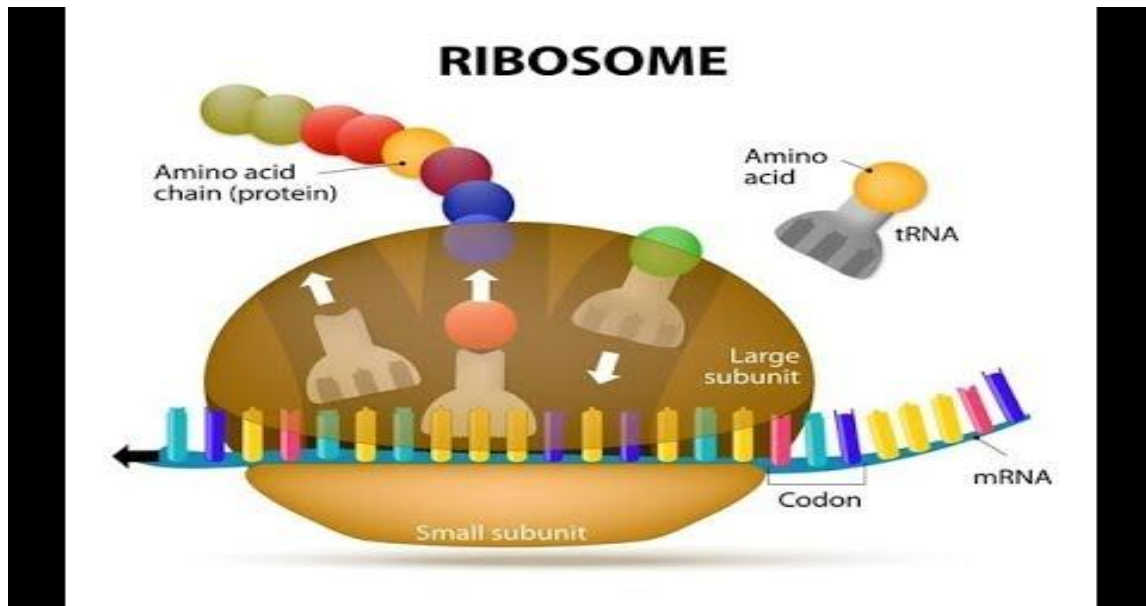
1 - "Activation" de l'aa tRNA^{aa} avec du GTP et 2 facteurs d'élongation eEF1 (eucaryote Elongation Factor).

2 - Liaison de l'aa tRNA^{aa} dans le site A

3 - Transfert du peptide : spontané

4 - Translocation grâce à un facteur eEF2, consommation d'un GTP par translocation d'un codon

5 - Libération du tRNA (site P)



TERMINAISON

La terminaison se fait grâce à un facteur RF qui a une structure tridimensionnelle très proche de celle d'un tRNA. Le RF ne se fixe que lorsque le codon est un codon stop (UAA, UAG ou UGA).

