

## 5. Expression des gènes

---

Trois fonctions des gènes:

- Se répliquer de façon précise
- **Diriger la production des ARN et des protéines (expression)**
- Etre mutés: contribution à l'évolution

Expression des gènes (I):

- Structure d'un gène de de type 2
- Transcription; mécanismes généraux
  - Brin codant et matrice
  - Initiation, élongation et terminaison
- Régulation de la transcription
  - Procaryotes: structure promoteur, opérons
  - Eucaryotes: structure promoteurs, facteurs transcriptionnels
  - Modifications épigénétiques de la chromatine
  - Gènes chevauchants
- Transcription de l'ADN mitochondrial
- Maturation de l'ARNm primaire
  - Coiffage, polyadénylation, épissage
  - Promoteurs multiples, épissage alternatif
- Export de l'ARNm

# 5. Expression des gènes: transcription

**Transcription** : Synthèse d'un ARN à partir d'une molécule d'ADN catalysée par une ARN polymérase.

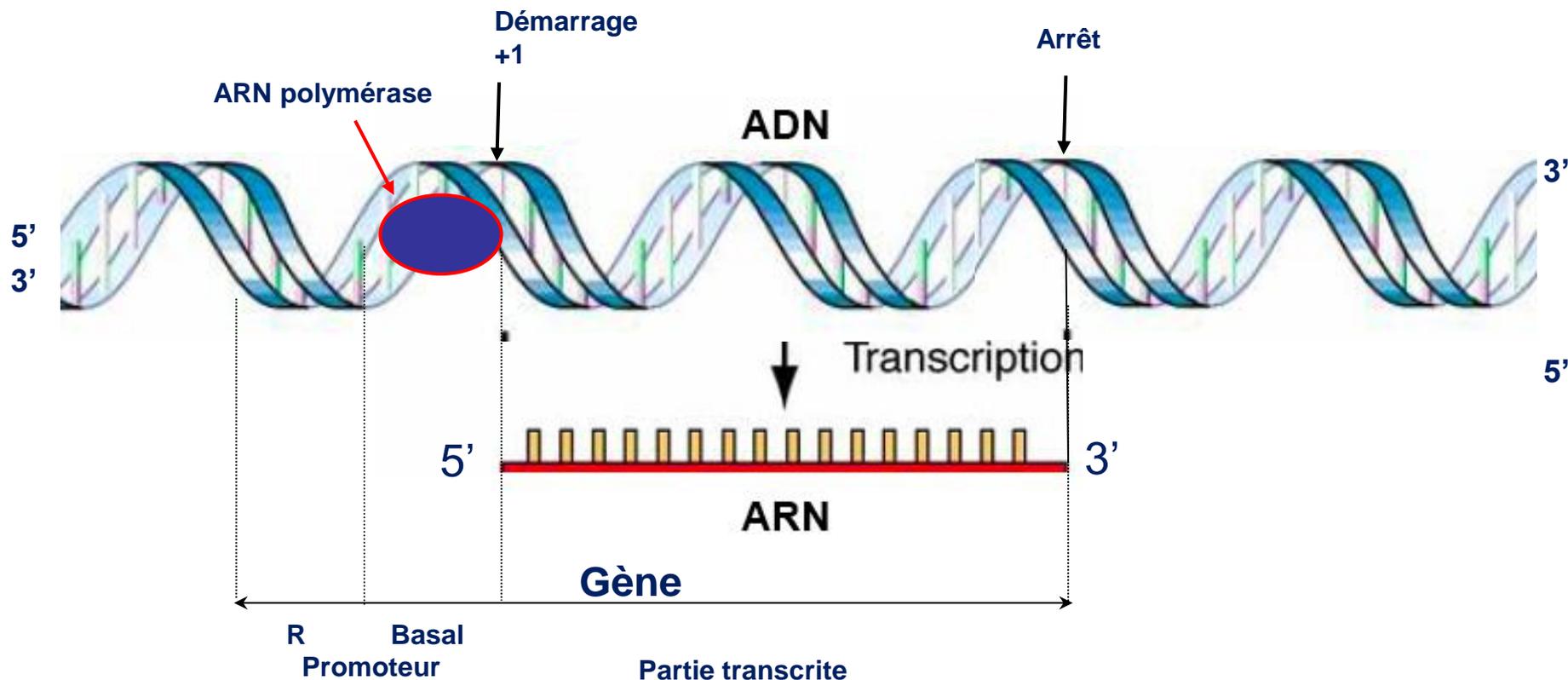
Éléments nécessaires:

RNA polymérase

ribonucléotides triphosphate

matrice ADN

L'ARN synthétisé a une séquence complémentaire et antiparallèle à la matrice



## 5. Expression des gènes: transcription

---

### Structure d'un gène de type II

#### Promoteur (région régulatrice) + partie transcrite (région structurale)

- **Promoteur** : partie d'un gène située en amont (5') du site de démarrage de la transcription (donc non transcrite en ARN) où se fixe le complexe d'initiation de la transcription contenant la RNA polymérase. Constitué de promoteur basal + région régulatrice
- **Partie transcrite**: deux types de séquences, introns et exons
  - **Introns**: séquences non codantes
  - **Exons**: séquences codantes et non codantes

D'autres éléments:

Site de **démarrage** de la transcription (+1)

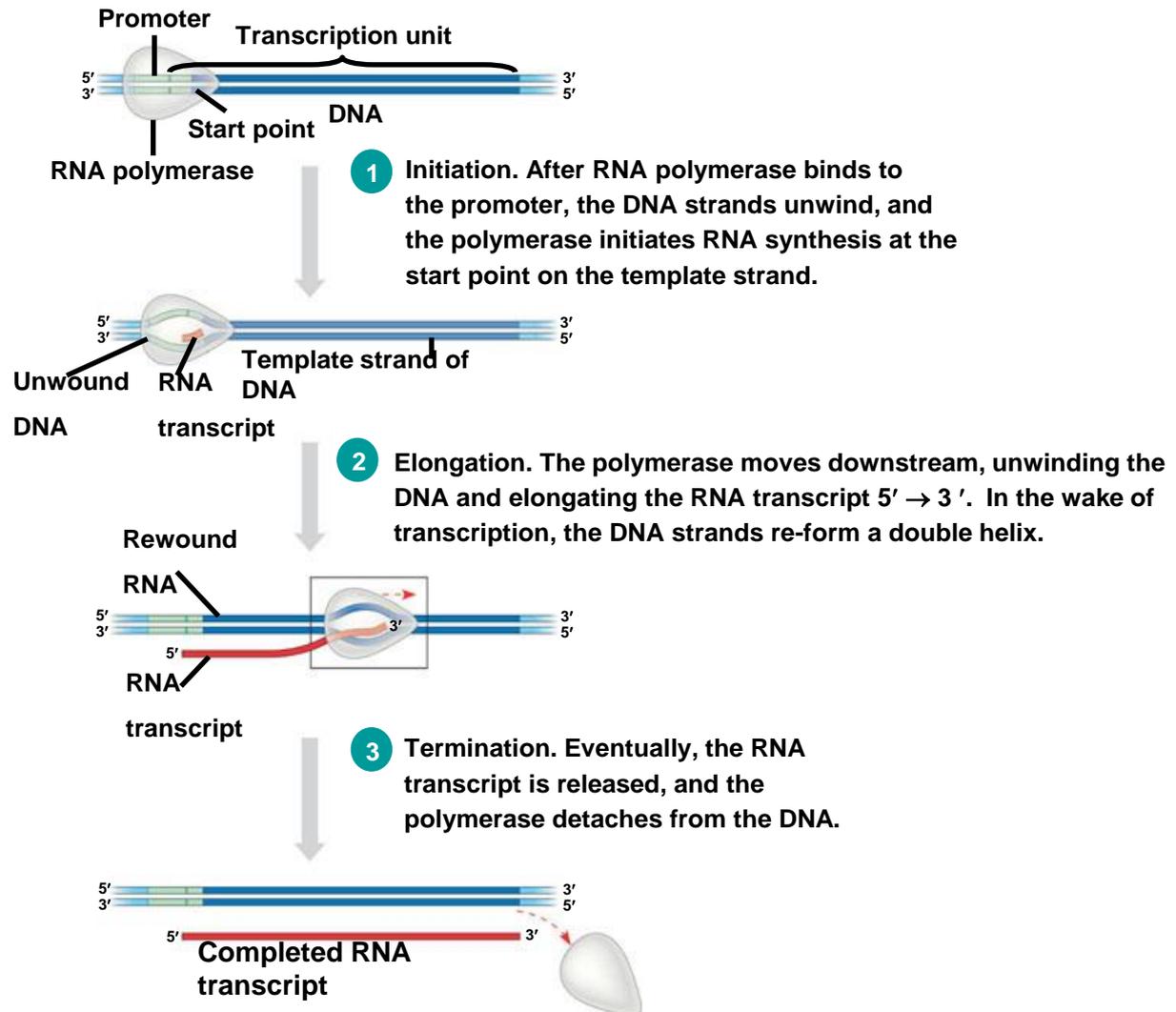
Site **d'arrêt** de la transcription



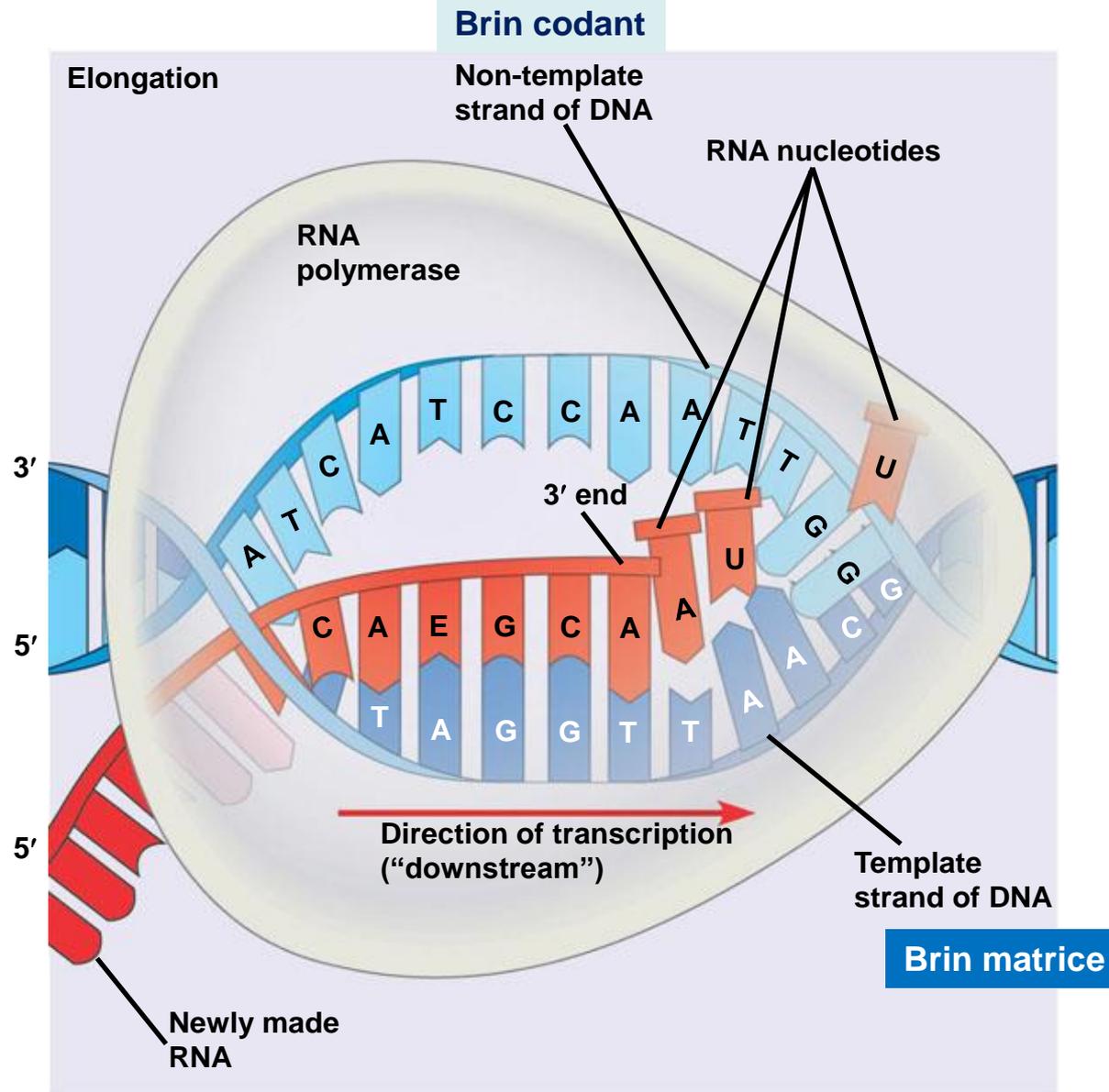
## 5. Expression des gènes: transcription – mécanisme général

Trois étapes:

1. Initiation
2. Elongation
3. Terminaison



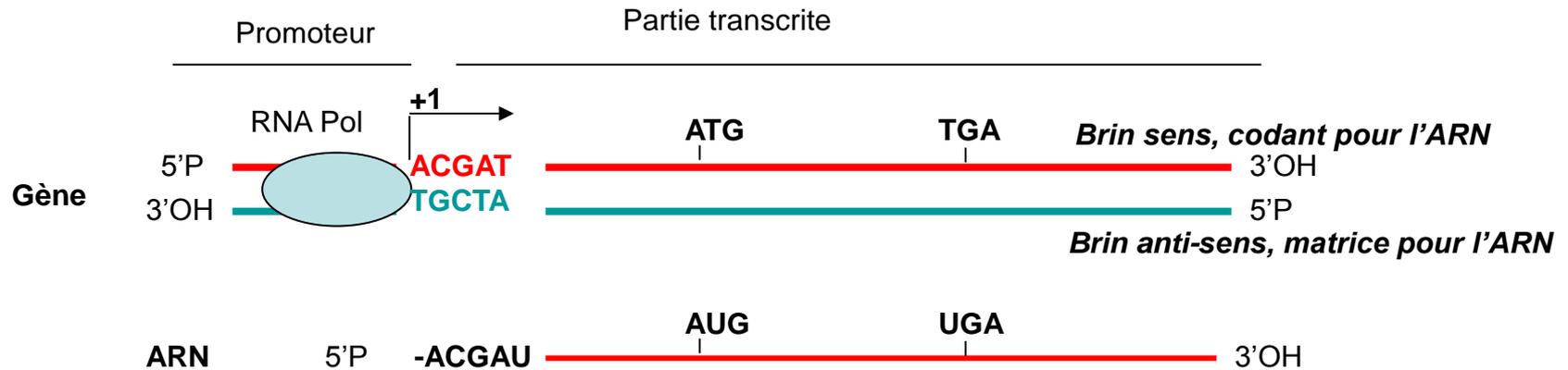
## 5. Expression des gènes: transcription – mécanisme général



## 5. Expression des gènes: transcription – brins codant et matrice

La transcription d'un gène commence par la fixation de la RNA polymérase sur le promoteur. La synthèse d'ARN commence au site +1 (site de démarrage de la transcription). L'ARN dont la synthèse commence par l'extrémité 5', a une **séquence en nucléotide complémentaire de celle du brin ADN qui a servi de matrice** à la polymérase et qui est donc 3'-5'(en bleu).

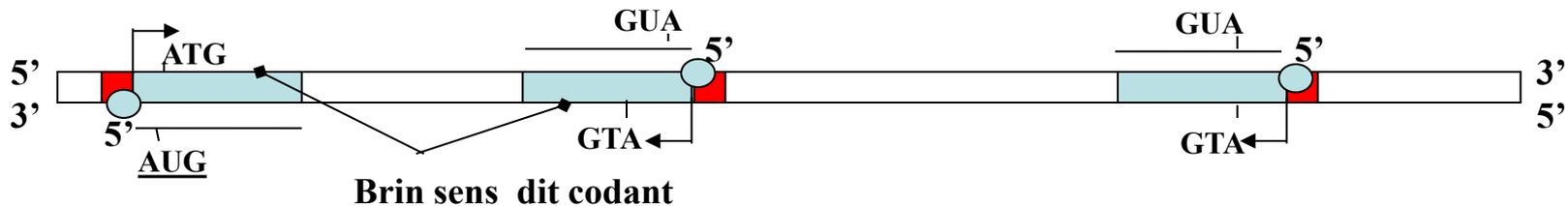
Ce brin qui sert de **matrice** est donc anti-parallèle au brin ARN, c'est le **brin anti-sens**. L'autre brin du gène a la même séquence que l'ARN synthétisé (sauf T/U), et la même orientation, ce brin est le **brin sens** dit aussi « **brin codant** ».



ARN polymérase : Polymérisation des ribonucléotides de 5' vers 3' en utilisant l'ADN comme matrice

## 5. Expression des gènes: transcription – brins codant et matrice

Le **positionnement et l'orientation de la polymérase** définissent le brin matrice et le brin codant. Sur une double hélice, un des brins peut être matrice pour un gène et codant pour le suivant. Tout dépend du positionnement de la polymérase.



<http://www.johnkyrk.com/DNAtranscription.fr.html>

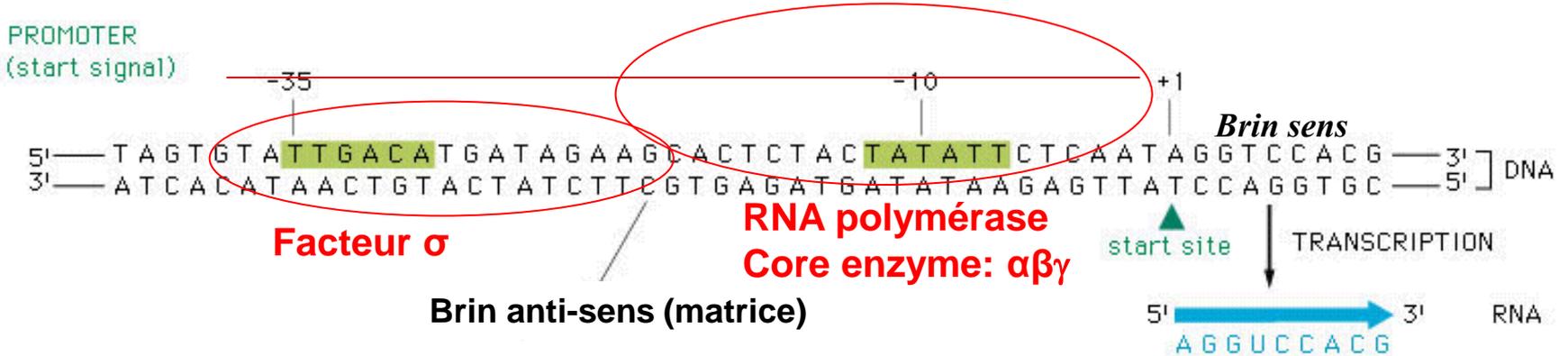
- La transcription est **asymétrique**: les deux brins sont codants, mais pour de séquences différentes
- La transcription n'est **pas simultanée** sur les deux brins.
- La transcription n'est **pas coordonnée** sur tout le génome: la transcription de chaque gène est **régulée** de façon indépendante.

# 5. Expression des gènes: transcription – régulation procaryotes

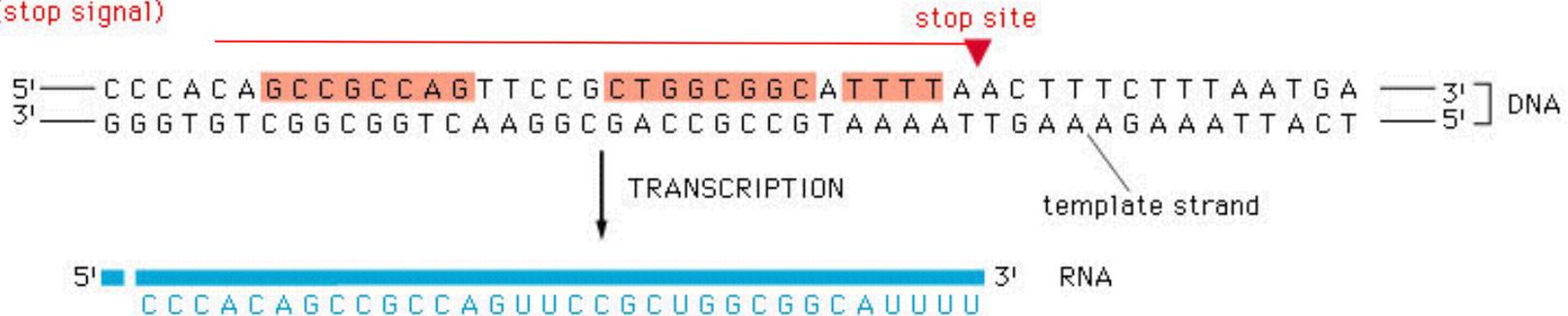
## Structure des promoteurs chez les procaryotes

- Motif à -35 nt reconnu par le **facteur sigma**. La fixation du facteur sigma permet la fixation de la RNA polymérase sur la
- **Pribnow box** » (TATATT) en amont (-10) du site de démarrage de la transcription +1
- La transcription de la **séquence « terminatrice »** induit un arrêt de la transcription par dissociation du complexe ADN/ARN/ARN polymérase.

(B)



TERMINATOR (stop signal)



©1998 GARLAND PUBLISHING  
ARN transcrit forme une structure secondaire et se dissocie du complexe RNA polymérase

## 5. Expression des gènes: transcription – régulation procaryotes

### Opérons

Chez les procaryotes : gènes souvent groupés dans une structure appelée **opéron**

**Opéron** : fragment d'ADN contenant plusieurs gènes transcrits à partir **d'un même promoteur** en un **ARNm polycistronique**

**ARNm polycistronique** : ARNm qui contient plusieurs phases de lecture et est donc traduit en plusieurs protéines.

Dans un opéron l'expression des gènes est régulée par un ou plusieurs **opérateurs**

**Opérateur** : Séquence ADN associée au promoteur où se fixe un régulateur

**Régulateur** : Protéine qui se fixe sur l'opérateur et régule l'expression du promoteur  
activateur  
répresseur

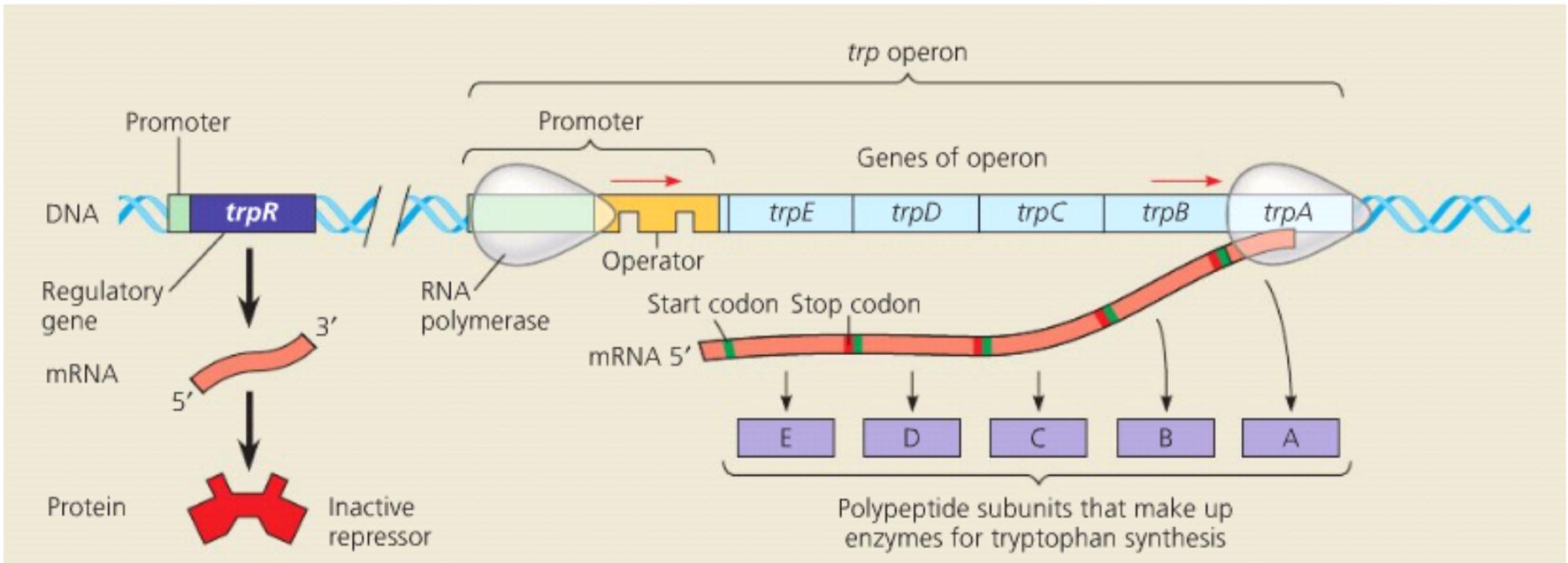
Exemples: opéron tryptophane, opéron lux, opéron lactose

Chez les bactéries regroupement de nb gènes dans plus de 600 opérons : structures permettant une régulation simple et coordonnée de l'expression de protéines participant à une même fonction (ex: métabolisme lactose)

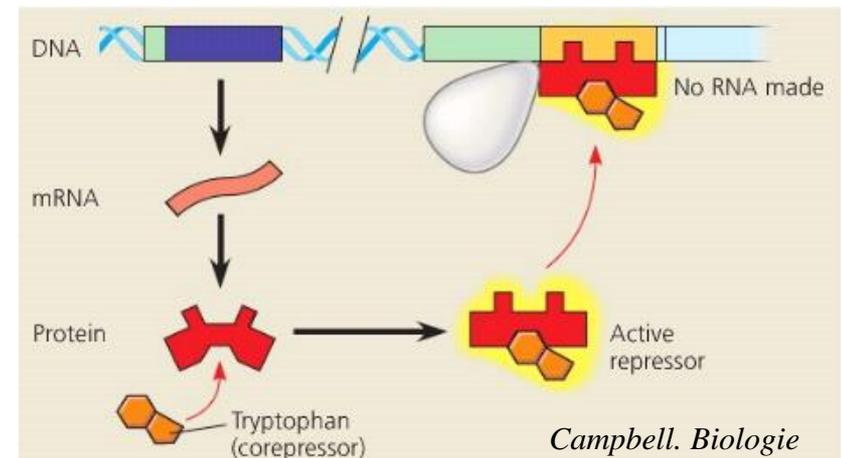
## 5. Expression des gènes: transcription – régulation procaryotes

### Opéron tryptophane

Régule la transcription des gènes codant pour les enzymes responsables de la synthèse de Trp



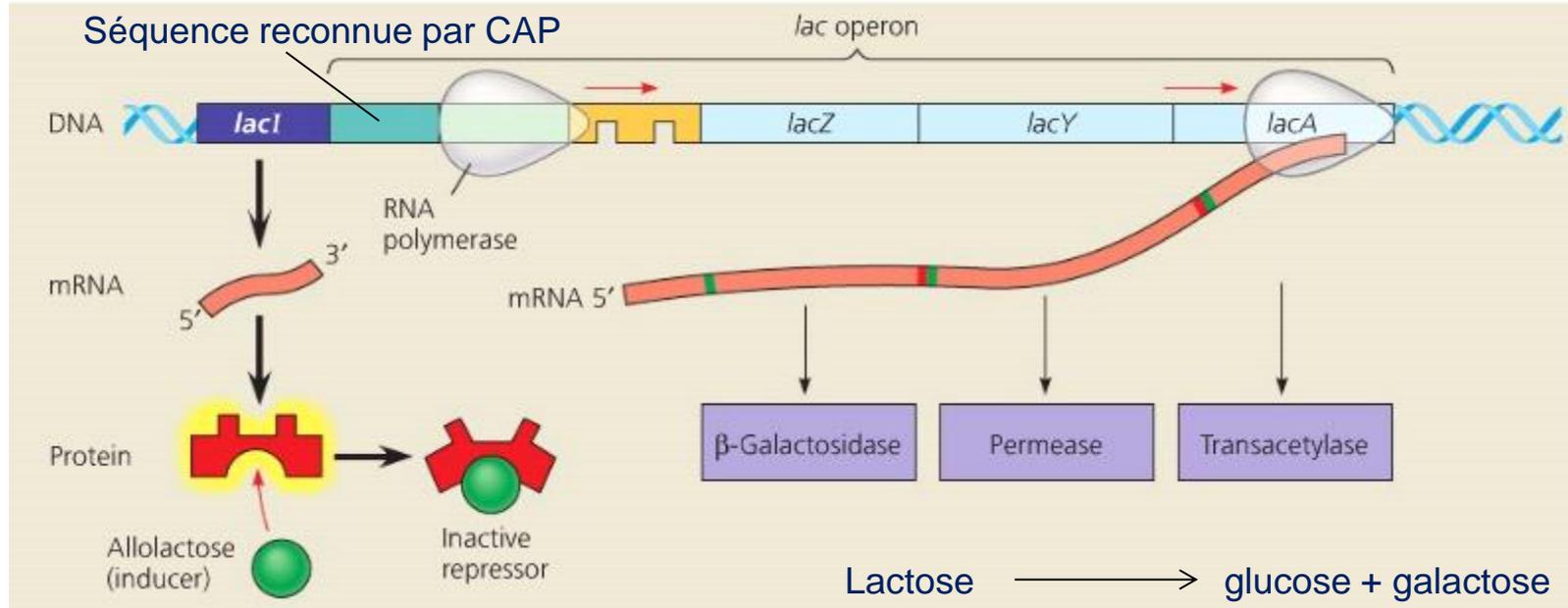
- En absence de tryptophane : répresseur inactif : opéron ON
- En présence de tryptophane : répresseur actif se fixe sur l'opérateur: opéron OFF



## 5. Expression des gènes: transcription – régulation procaryotes

### Opéron lactose

Trois gènes contrôlés par un promoteur et un opérateur. Les gènes codent pour les enzymes qui métabolisent le lactose.



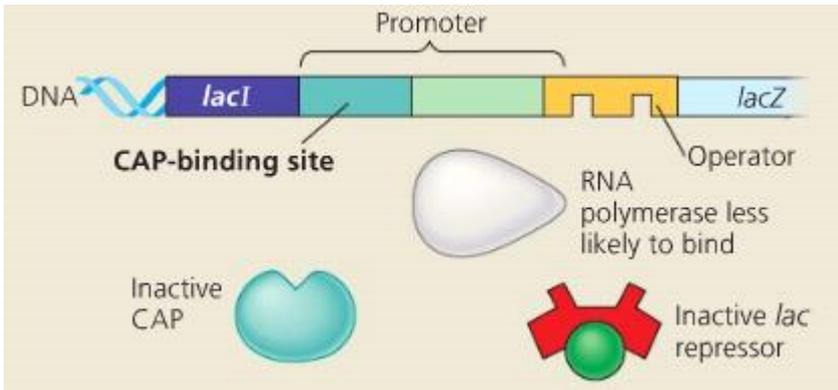
- **beta-galactosidase** (gène *lacZ*). Elle hydrolyse la liaison beta1-4 osidique des beta-galactosides.
- **lactose perméase** (gène *lacY*). Cette protéine membranaire permet l'entrée du lactose dans la cellule.
- **thiogalactoside transacétylase** (gène *lacA*). Son rôle n'est pas bien connu.

Promoteur P d'un **opérateur** O site pour le **régulateur lac I**. Au niveau du promoteur présence d'une séquence pouvant reconnaître le **facteur CAP** (protéine activée par l'AMPc)

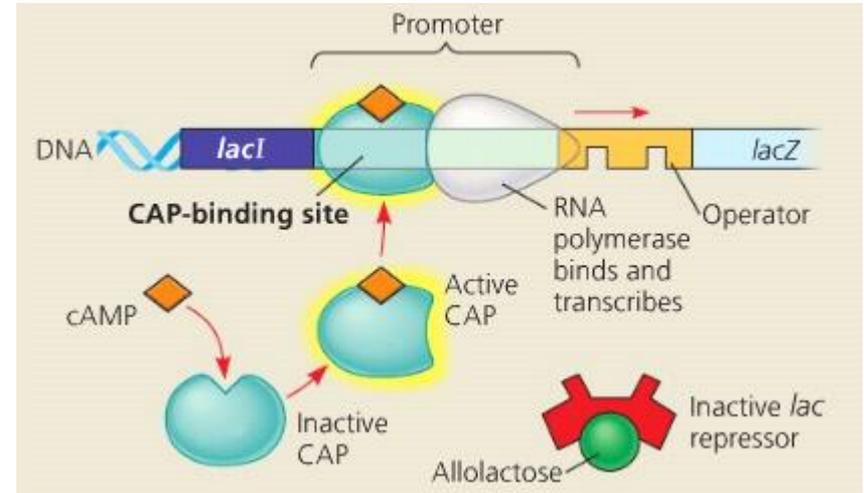
En amont de l'opéron lactose, le gène régulateur (*lacI*) qui code une protéine régulatrice qui bloque la transcription en se liant spécifiquement sur l'ADN au niveau de l'opérateur. Ce **répresseur** est toujours présent dans les bactéries mais son affinité pour l'opérateur sera diminué en présence de lactose.

# 5. Expression des gènes: transcription – régulation procaryotes

**+ Lactose  
Glucose (high)**

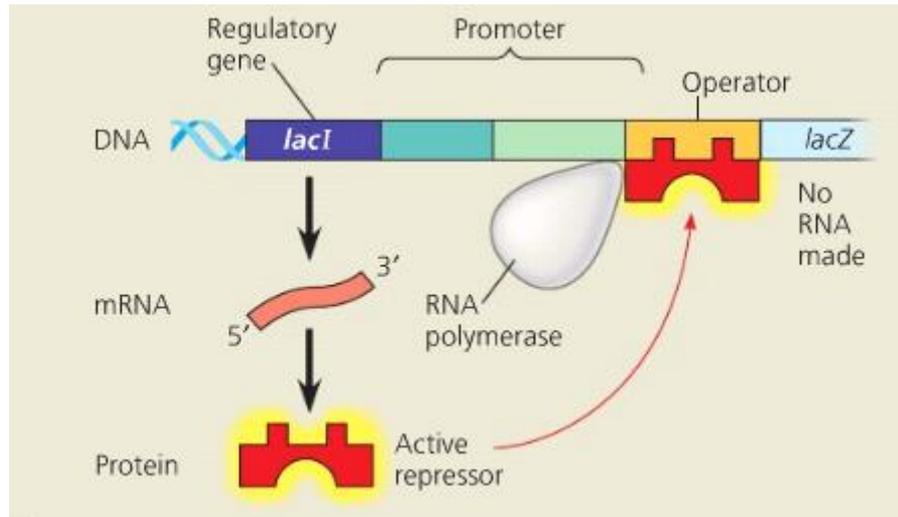


**+ Lactose  
Glucose (low)**



**- Lactose  
Glucose (high)**

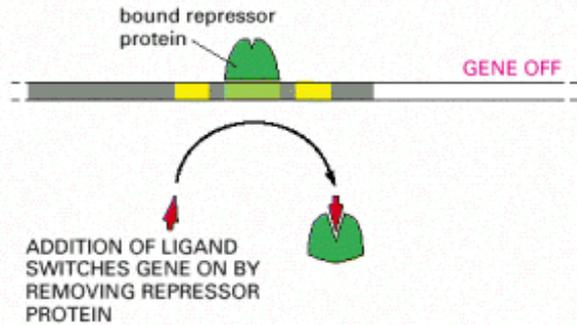
**- Lactose  
Glucose (low)**



# 5. Expression des gènes: transcription – régulation procaryotes

2 mécanismes pour régulation **négative**

—  
NEGATIVE REGULATION  
bound repressor protein prevents transcription



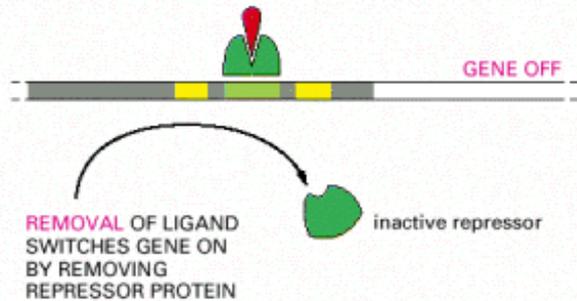
Ex : lactose opéron (lac I)

Répresseur actif sans ligand

Le ligand qui induit une levée de la répression est activateur

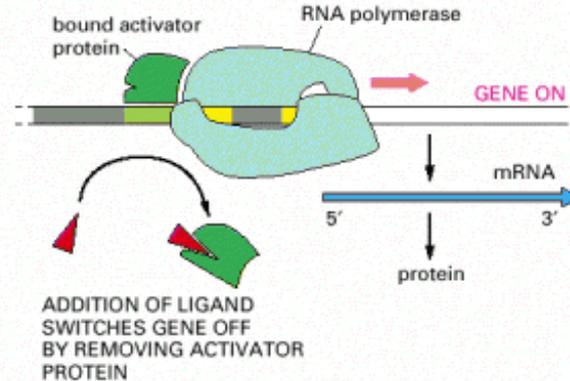
Répresseur actif **avec** ligand

Le départ du ligand induit une levée de la répression



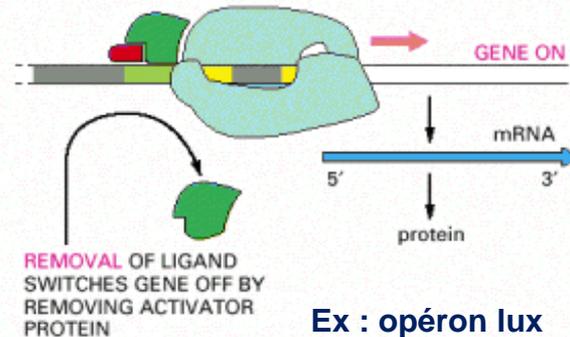
Ex : opéron tryptophane

+  
(B) POSITIVE REGULATION  
bound activator protein promotes transcription



Activateur actif sans ligand (ON)

Le ligand induit une inhibition



Activateur actif **avec** ligand (ON)

Le départ du ligand induit une inhibition

Ex : opéron lux

Effets des opérateurs sur la transcription chez les procaryotes.

- (A) Régulation Negative : 2 possibilités (répresseur actif sans ligand ou avec ligand)
- (B) Régulation positive. : 2 possibilités (activateur actif sans ligand ou avec ligand)

## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

---

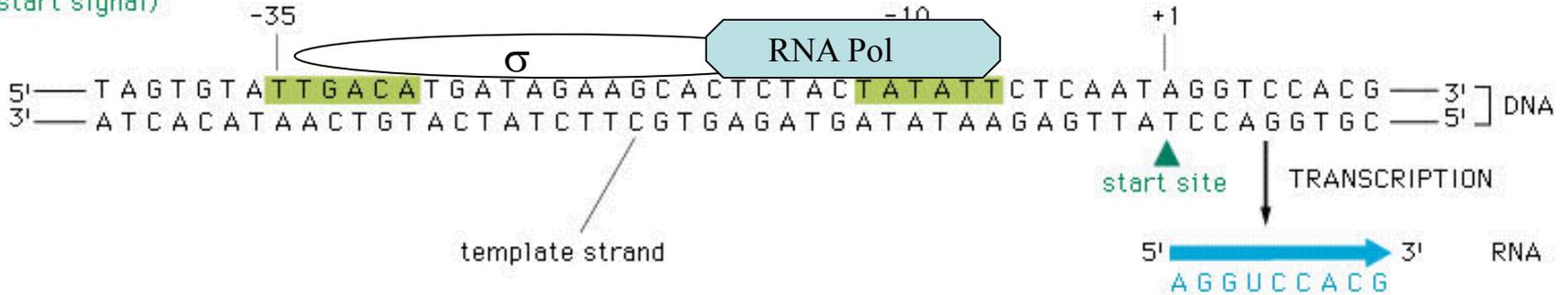
### Régulation de la transcription (eucaryotes)

- Promoteur et éléments régulateurs
- Facteurs transcriptionnels
- Chromatine/Epigénétique
- Antisens naturels
- Interférence

# 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

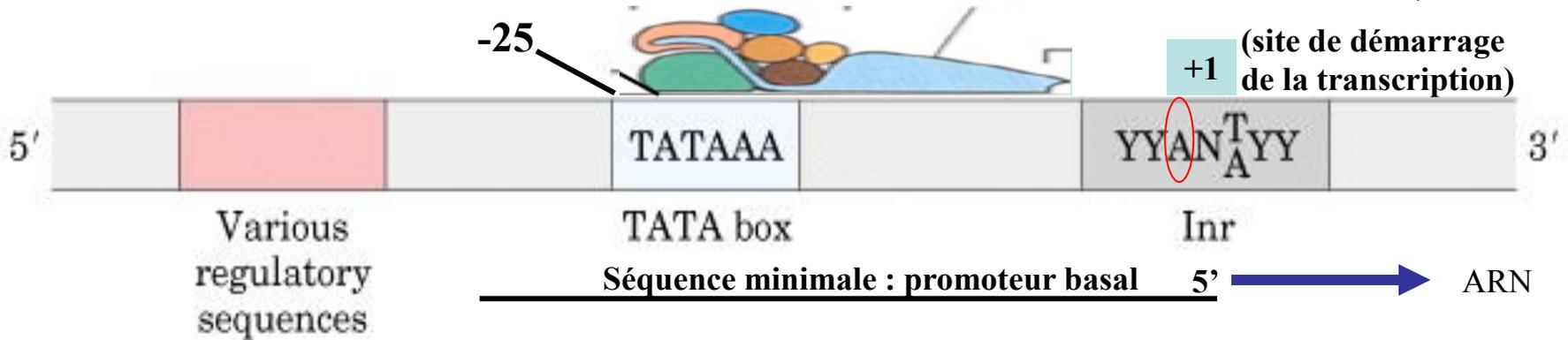
## Procaryotes: promoteur 2 motifs (à -35 et Pribnow box à -10)

PROMOTER  
(start signal)



## Eucaryotes: promoteur 1 motif, soit TATA box soit Elément Initiateur (Inr)

Y = C ou T  
 N = A, G C ou T

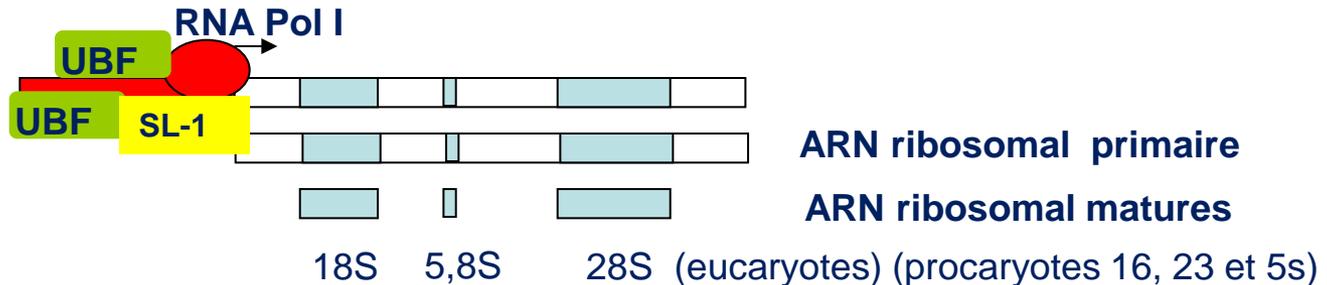


**Séquence régulatrice** : site de fixation pour des facteurs transcriptionnels (protéines régulatrices)

## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

### 3 types de promoteurs chez les eucaryotes

- Promoteur de type I                      ARN Pol I                      ARNr (18S,28S, 5,8S)



- Promoteur de type II    ARN Pol II                      ARNm, mi-ARN, snARN,  
(TATA box, initiateur)
- Promoteur de type III    ARN Pol III                      ARNt, snARN, ARNr (5S)  
(promoteur en amont ou en aval du +1, TFIIB)

Chaque ARN polymérase est un complexe d'au moins 12 sous-unités. Ce complexe ne reconnaît pas directement le promoteur. La reconnaissance du promoteur s'effectue par l'intermédiaire de protéines qui s'associent à l'ARN polymérase dans un **complexe d'initiation de la transcription**

## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

---

### Séquences régulatrices et facteurs de transcription

**Éléments cis-régulateurs** : séquences de nucléotides reconnues par une classe de protéines spécifiques (**facteurs transcriptionnels**) qui sont des « DNA binding proteins ». Chaque élément régulateur est défini par une **séquence consensus**.

Deux types:

Effet activateur

Effet inhibiteur

**Séquence consensus** : Séquence idéalisée (archétype) où sont indiqués les nucléotides rencontrés le plus fréquemment à chaque position. Elle est établie après comparaison de séquences réelles.

**Facteurs transcriptionnels** : Protéines régulatrices de l'initiation de la transcription qui reconnaissent des éléments spécifiques sur l'ADN : **élément cis-régulateur**

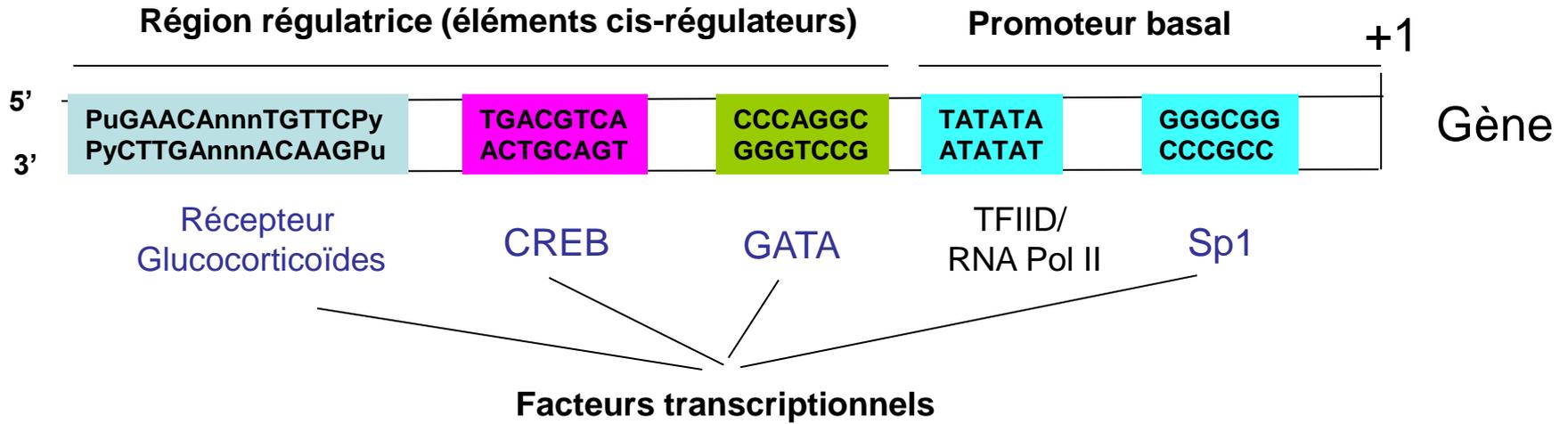
Elles sont constituées d'au moins deux domaines:

- un domaine de fixation à l'ADN (**DBD**)
- un domaine de transactivation (**AD**), qui interagit avec le complexe d'initiation de la transcription directement ou indirectement).

Deux types selon la fonction:

- **Activateur**
- **Inhibiteur**

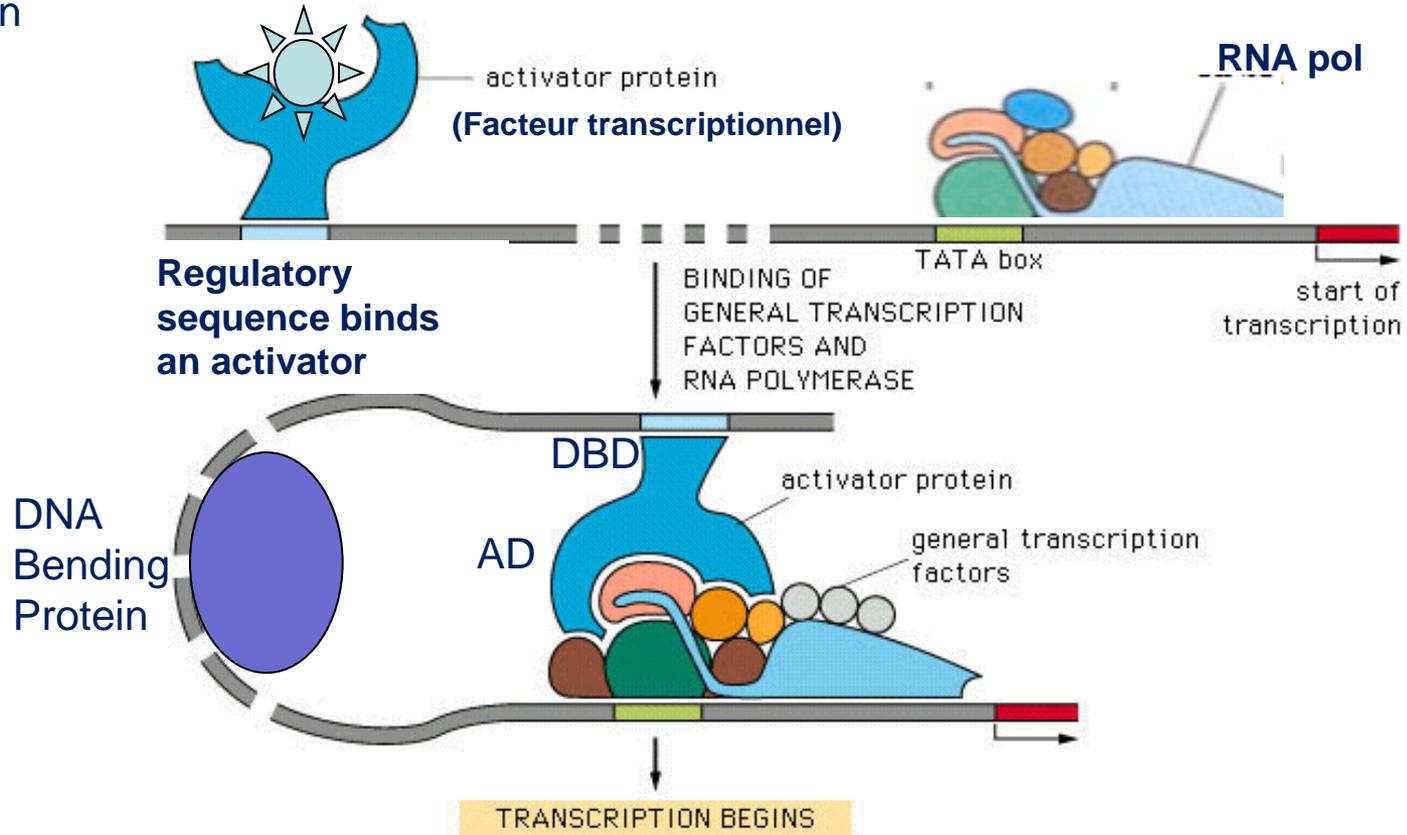
## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes



Parmi les facteurs transcriptionnels, Sp1 est souvent associé au promoteur basal et est exprimé dans la plupart des cellules, d'autres comme la protéine GATA sont exprimés spécifiquement dans certains tissus (cœur) et sont responsables de la spécificité cellulaire d'expression du promoteur.

## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

**Interaction directe** des Facteurs Transcriptionnels avec le complexe d'initiation de la transcription



Les **facteurs transcriptionnels (FT)** (facteurs activateurs ou inhibiteurs) reconnaissent spécifiquement un élément régulateur (sur le promoteur basal ou en amont du promoteur basal) par leur domaine de fixation à l'ADN (**DBD** : DNA binding domain). Un autre domaine, le domaine activateur (ou transactivateur) **AD** interagit directement avec des facteurs du complexe d'initiation de la transcription (TAF, TFIID, TFIIF, ARN Pol). Cette interaction augmente ou diminue l'efficacité d'initiation de la transcription

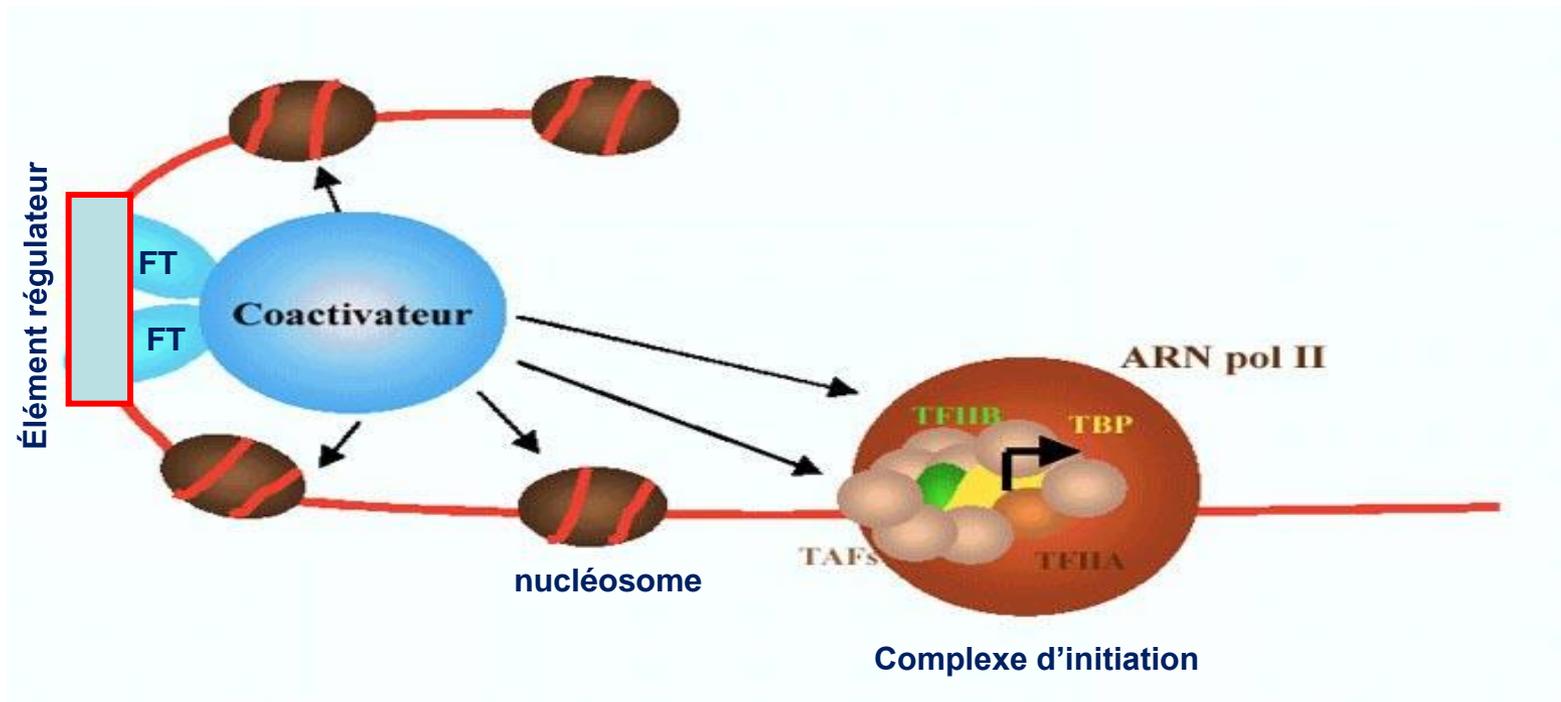
## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

**Interaction indirecte** entre les Facteurs transcriptionnels et le complexe d'initiation

Les facteurs transcriptionnels peuvent aussi interagir indirectement par l'intermédiaire de **corégulateurs** (co-activateur ou co-répresseur)

- avec des facteurs du complexe d'initiation de la transcription (TAF, TFIID, TFIIH, ARN Pol)

- avec les **histones** et faciliter le remodelage des nucléosomes et rendre l'ADN plus accessible et donc augmenter le taux de transcription (**régulation épigénétique**)



## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

**Épigénétique** : Etude des changements de la chromatine et de l'expression des gènes qui ne sont pas liés à la séquence des nucléotides.

Les modifications épigénétiques sont **stables (héritables** au cours des divisions cellulaires) et aussi **réversibles**. Elles modifient la structure de la chromatine et peuvent aussi modifier l'expression des gènes, donc le phénotype.

Les modifications épigénétiques déterminent:

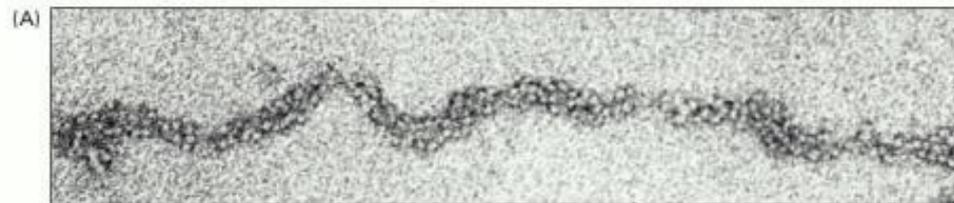
Interactions histones –ADN

Interactions histones- histones

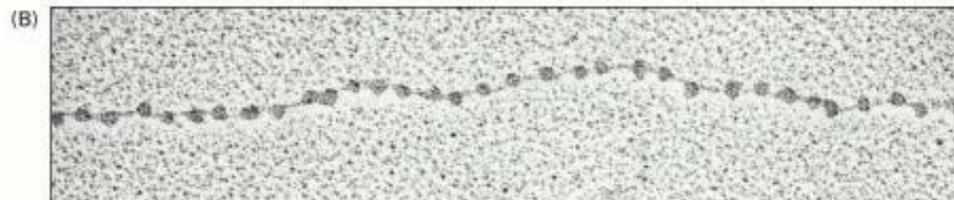
Interactions histones-autres protéines

Interactions nucléosome-nucléosome

**hétérochromatine**



**euchromatine**



50 nm

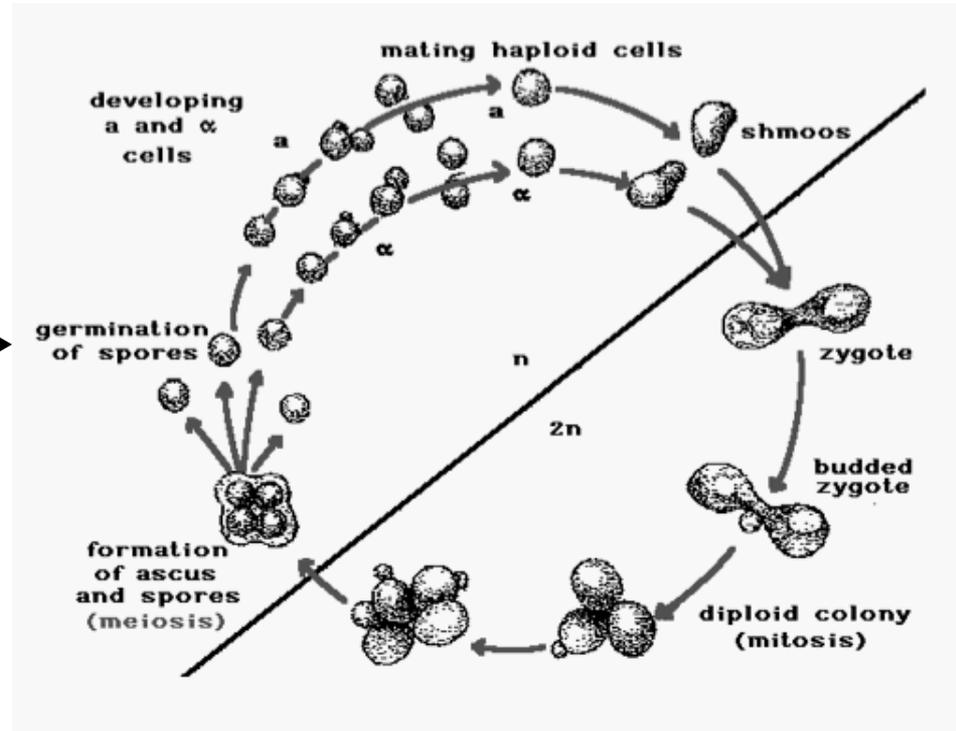
## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

### Modifications épigénétiques

- ADN : **méthylation**
- Histones : **acétylation, méthylation, phosphorylation, ubiquitinylation, etc**

### Exemples de régulations épigénétiques

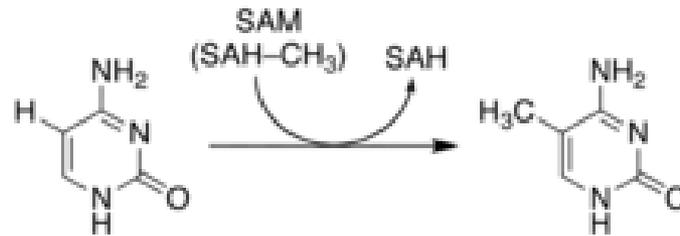
- Méthylation/déméthylation de gènes suppresseurs de tumeurs ou de proto-oncogènes (cancérogenèse)
- Inactivation du locus MAT chez la levure →
- Inactivation des gènes sur l'un des chromosomes X
- Inactivation d'une des deux formes alléliques (empreinte parentale, inactivation stable)
- Extinction de l'expression de certains gènes au cours du développement



# 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

## Méthylation de l'ADN

- **5-methyl-cytosine**: 2-7% de la C chez les mammifères
- 90% de 5-méthyl-cytosine dans les **dinucléotides CpG**
- Enzymes: DNA méthyl transférase (**Dnmt**)
  - 1, 2, 3 (a et b)
  - Substrat: S-adenosyl méthionine

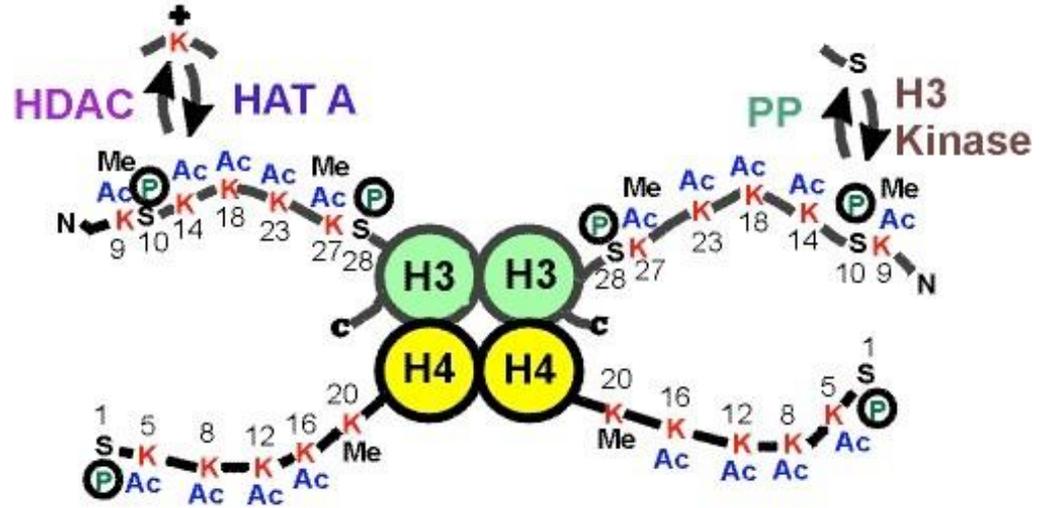


- Deux types de méthylation:
  - De novo (Dnmt3)
  - De maintenance: sur le brin néoformé lors des réplifications (Dnmt1) (propagation stable, modification héritable)

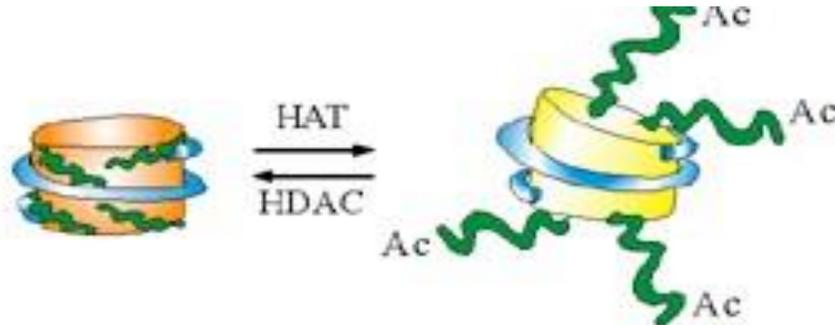
# 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

## Modification des histones:

- Détermine l'interaction
  - histone-ADN
  - histone-histone
  - histone-protéines régulatrices
- **Région NH2-terminale** des histones: interactions entre nucléosomes  
H1, H2A, H2B: riches en lysine (K)  
H3, H4: riches en arginine (R)  
(lysine et arginine: charge positive)
- Types:
  - **Acétylation:** HDAC, HAT
  - **Méthylation:** HMT
  - **Phosphorylation**



Histones non acétylées

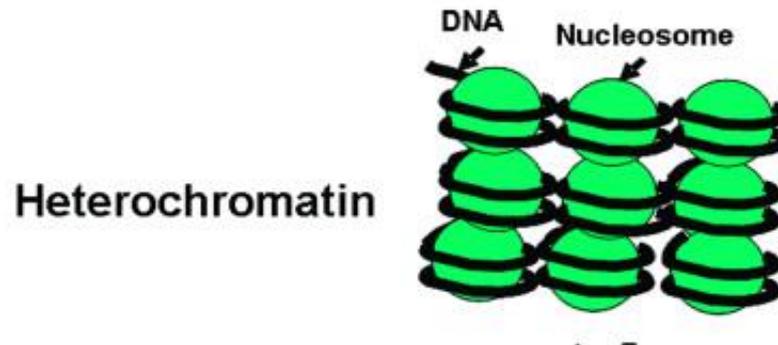


Histones acétylées

## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

### Hétérochromatine :

- Structure solénoïde compacte
- Fortes interactions entre les spires de nucléosomes
- **Histones hypoacétylées** et souvent **méthylées** dans leur partie NH2 terminale
- **ADN hyperméthylé**
- Double hélice pas accessible (résistance à la DNase I in vitro)
- Contient très peu de gènes, lesquels sont inactifs (sauf transitoirement lors de la réplication). Beaucoup d'ADN dit «répétitif » (hétérochromatine constitutive)
- Réplication tardive en phase S



# 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

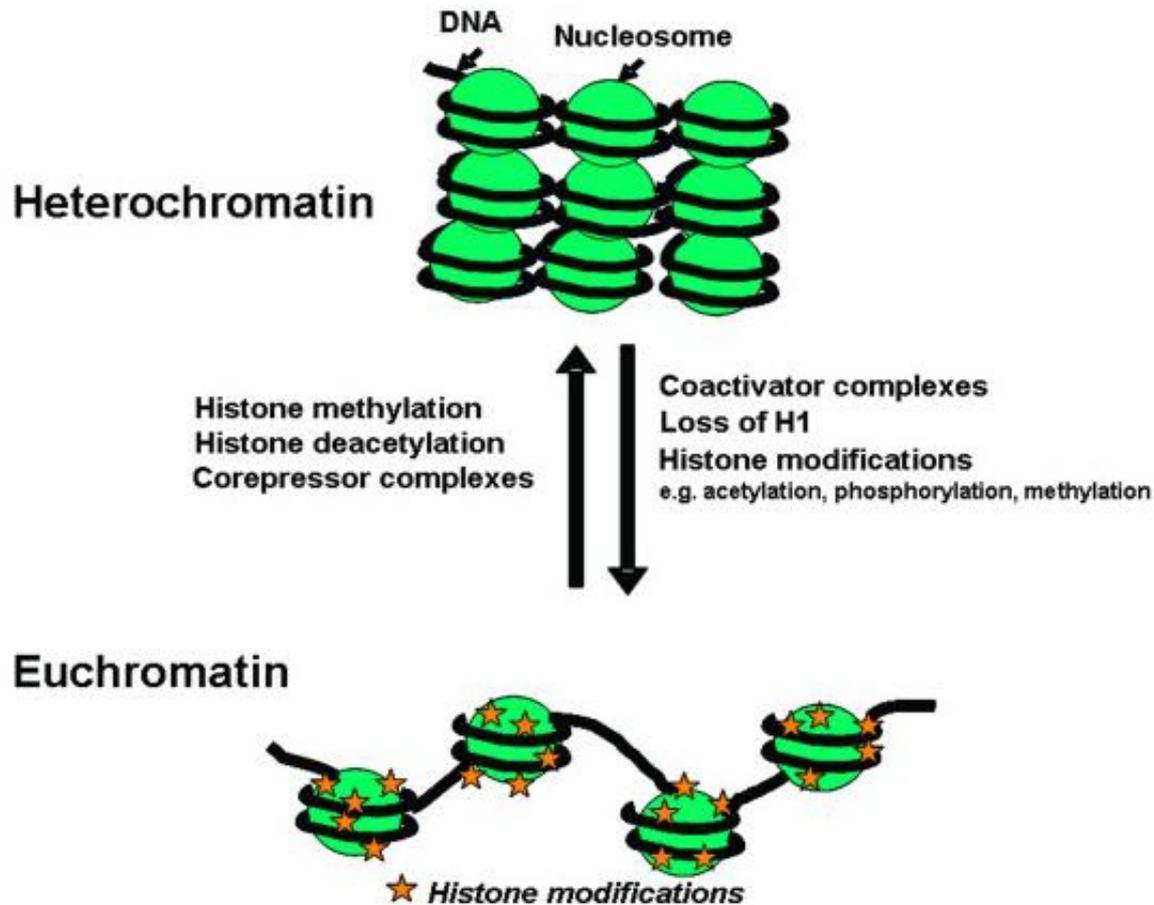
## Euchromatine

- Structure de solénoïde plus étirée
- Interactions plus faibles entre ADN et histones (**histones hyperacétylées** )
- **ADN non méthylé**
- Interactions plus faibles entre les nucléosomes
- Contient la plupart des gènes
- Sensible à la DNase *in vitro*

### Euchromatin



## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

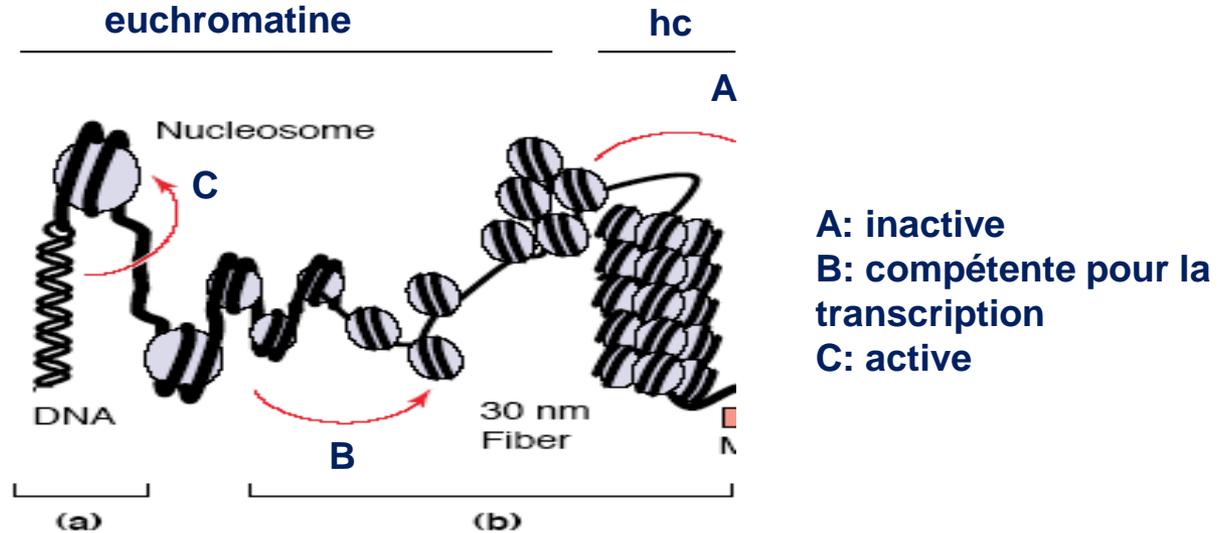


<http://patricksuniverse.com>

Une partie peut se condenser et devenir compacte (p.ex. au cours de la différenciation cellulaire) et se transformer en hétérochromatine **facultative** (fermeture de certains programmes) sous l'effet de modifications épigénétiques héréditaires en mitose

## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

### Sensibilité à la DNase – état d'activation – transcription



*Trends in Cell Biology*  
*/Bio\_327/lectures/Transcription/chro*  
*matin\_Tx\_Reg.htm*

Trois niveaux de condensation de la chromatine, généralement corrélés avec potentiel pour la transcription

A : compacte : chromatine inactive, gènes silencieux: hétérochromatine résistante à la DNase  
B : ouverte : chromatine compétente pour la transcription: euchromatine sensible à la DNase  
C : nucléosomes espacés : promoteur ou région régulatrice d'un gène actif: Euchromatine hypersensible à la DNase

En C: le nucléosome est dynamique: ouverture 10-50 miliseg.

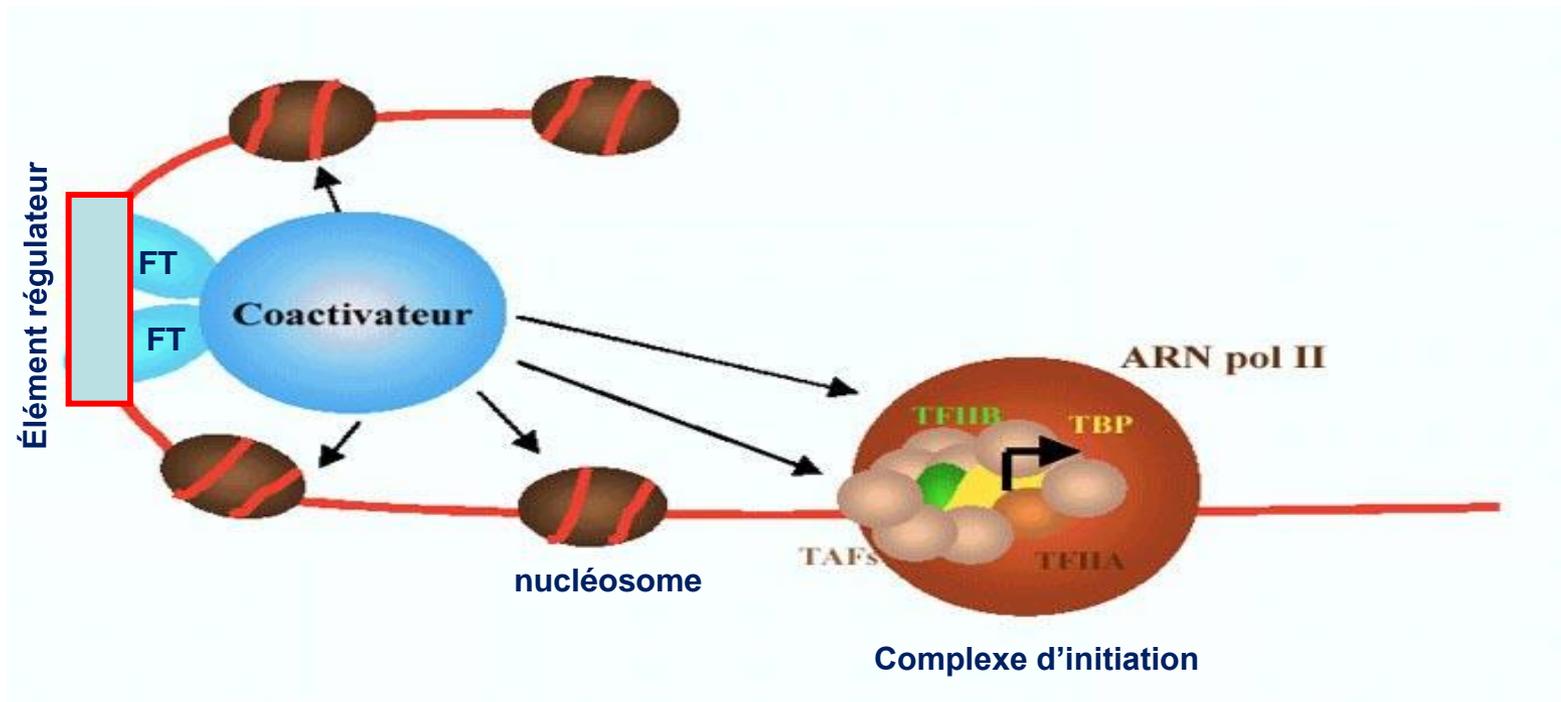
## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

**Interaction indirecte** entre les Facteurs transcriptionnels et le complexe d'initiation

Les facteurs transcriptionnels peuvent aussi interagir indirectement par l'intermédiaire de **corégulateurs** (co-activateur ou co-répresseur)

- avec des facteurs du complexe d'initiation de la transcription (TAF, TFIID, TFIIH, ARN Pol)

- avec les **histones** et faciliter le remodelage des nucléosomes et rendre l'ADN plus accessible et donc augmenter le taux de transcription (**régulation épigénétique**)

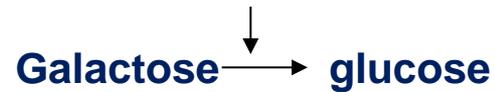


## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

### Exemple de mécanisme de régulation: Gal4

Induction des gènes **Gal 1, 2, 7 et 10** par le galactose chez la levure

Ces gènes codent pour des protéines Gal 1, 2, 7 et 10 qui métabolisent le galactose en glucose



Le galactose induit l'expression de ces gènes en activant le facteur transcriptionnel **Gal4** :

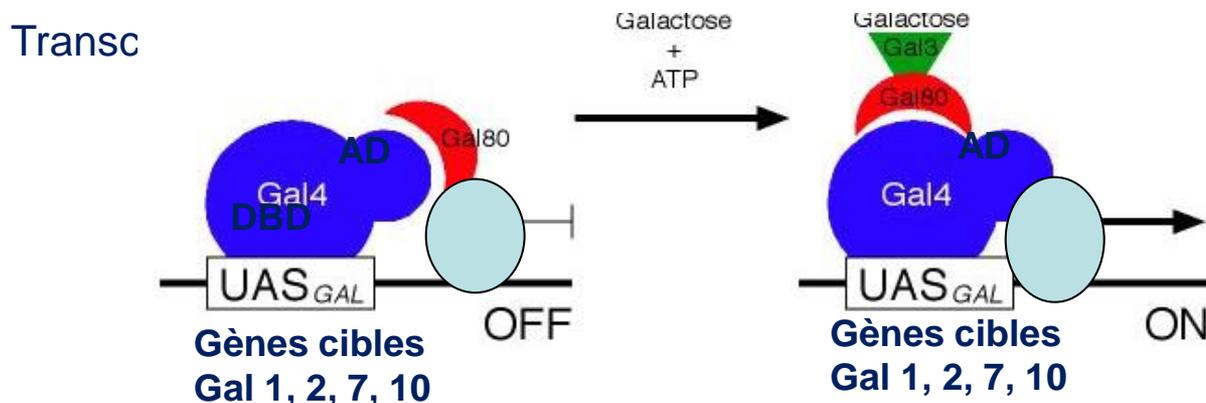
#### A : Absence de galactose

Gal4 fixé sur son élément régulateur UASGal des gènes cibles Gal 1, 2, 7, 10

Il est inactif : Gal80 bloque son domaine d'activation (AD) : pas d'interaction avec la polymérase.

#### B : Addition de galactose

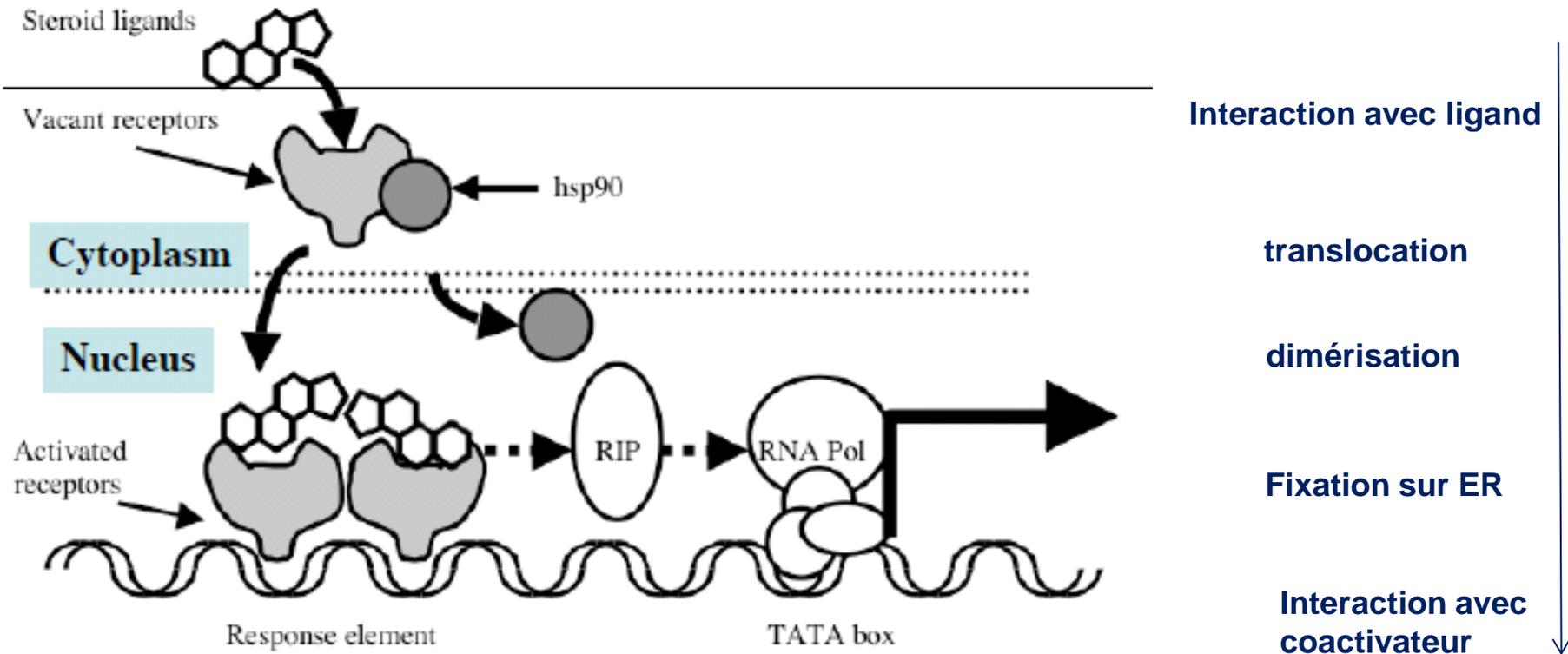
Galactose s'associe à Gal3 et à Gal 80 ce qui change sa conformation et libère le domaine AD



## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

### Régulation par les hormones stéroïdes : mécanisme général

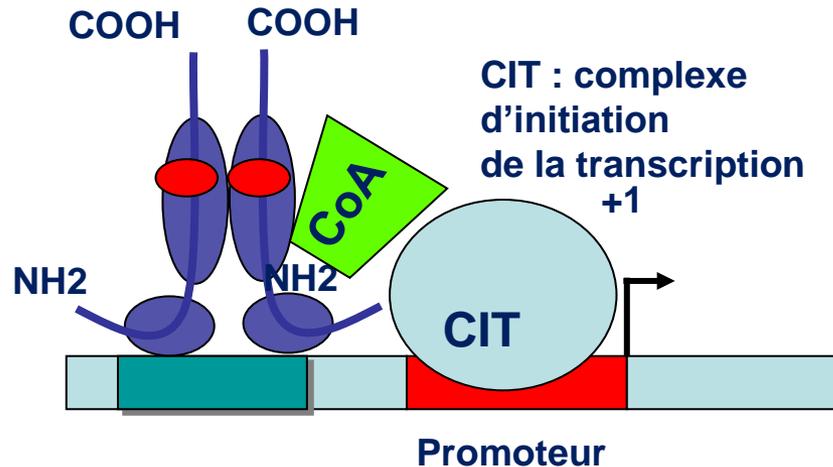
Le récepteur de l'hormone (homodimère) reconnaît, par son domaine de fixation à l'ADN (structure en doigt de zinc) une séquence consensus sur le gène. Il s'associe à des coactivateurs (RIP) pour activer le complexe d'initiation de la transcription qui contient la RNA pol II.



## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

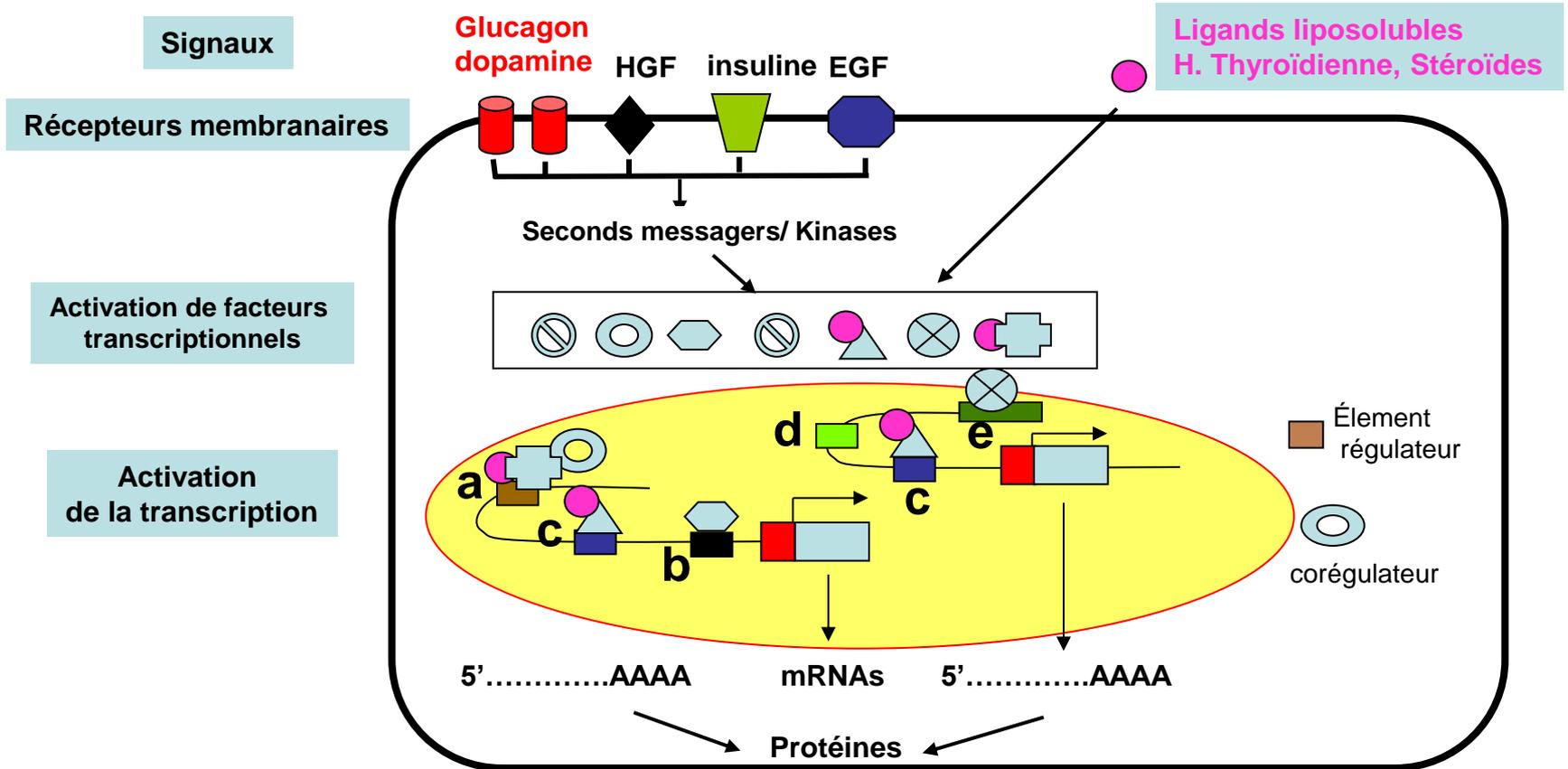
### Régulation par les hormones stéroïdes

Chaque hormone reconnaît et active un récepteur spécifique intracellulaire. Ce récepteur activé est un facteur transcriptionnel qui se fixe en formant un dimère sur les gènes cibles porteurs d'un **élément spécifique du récepteur**. L'activation de la transcription se fait par l'intermédiaire de co-activateurs.



 Hormones	Facteur Trans (Récepteur Hormonal)	Element régulateur 
Glucocorticoïdes	GR	PuG(A/G)AC...TGTTTC(C/T)
Estrogènes	ER	PuGGTCA...TGACC(C/T)
Hormone thyroïdienne	TR	PuGGTCATGACC(C/T)
Vitamine D	VDR	PuGGTCxxxxPuGGTCA

# 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes



## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

---

**L'expression d'un gène** dans une cellule dépend de

- Caractéristiques du **gène/chromatine**:
  - la structure de son promoteur (éléments régulateurs présents)
  - l'accessibilité de ces séquences (état de la chromatine),
- Caractéristiques/état de la **cellule**:
  - La présence (expression) dans la cellule des facteurs transcriptionnels qui reconnaissent les éléments régulateurs
  - La présence (expression) de récepteurs de signaux
  - La présence (éventuellement) des corégulateurs
- **Environnement**:
  - hormones,
  - interactions intercellulaires

## 5. Expression des gènes: transcription – régulation eucaryotes

---

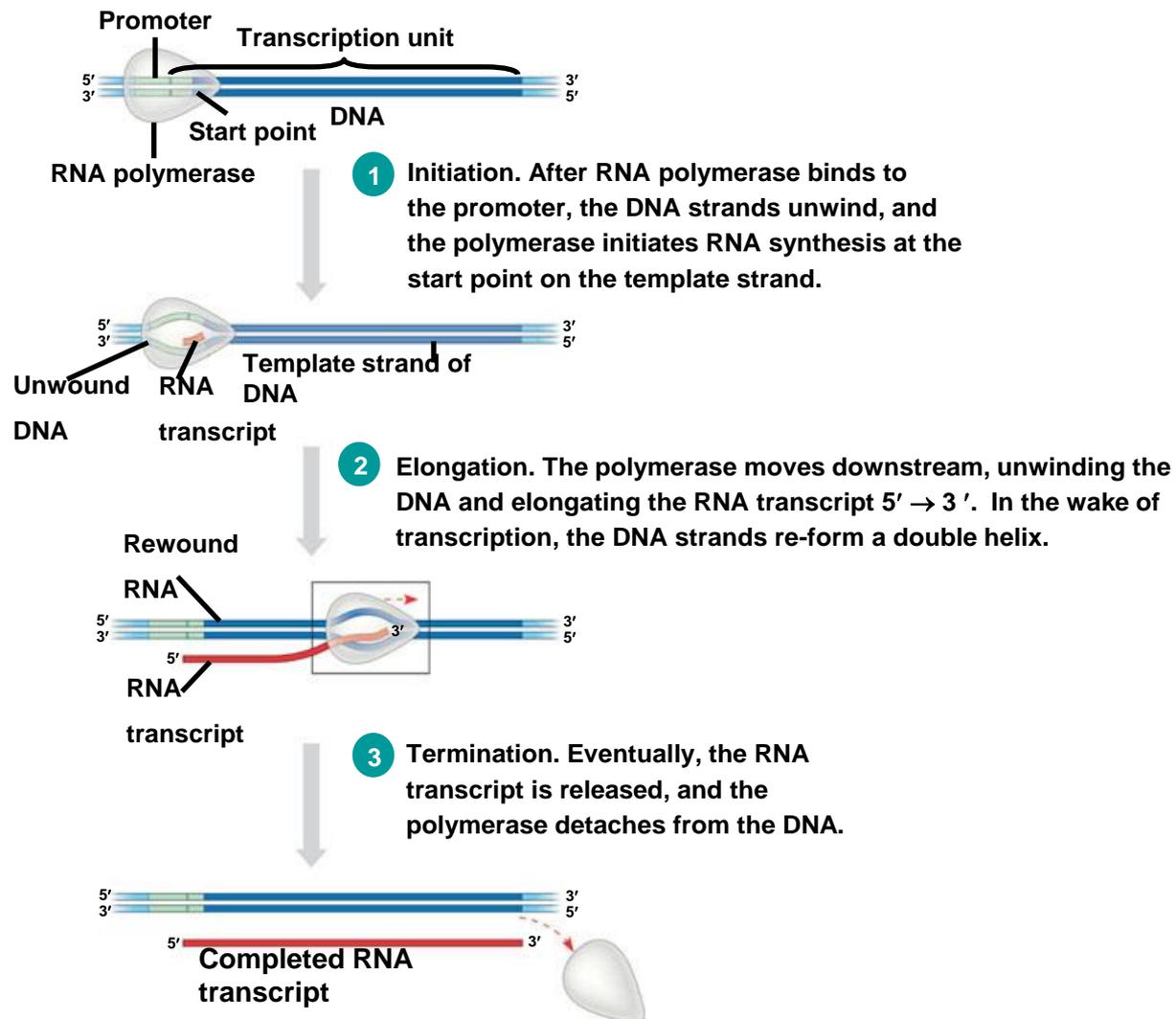
**Régulations des gènes** : réseau complexe de différents signaux qui sont différents d'une cellule à l'autre

- Un stimulus peut activer plusieurs facteurs transcriptionnels
- Un facteur transcriptionnel peut réguler plusieurs gènes
- Un gène peut être activé par plusieurs facteurs transcriptionnels (donc plusieurs stimuli)
- Un stimulus peut réguler l'expression d'un gène qui code pour un facteur transcriptionnel qui peut activer lui-même plusieurs gènes (cascade de régulations)

## 5. Expression des gènes: transcription – mécanisme général

Trois étapes:

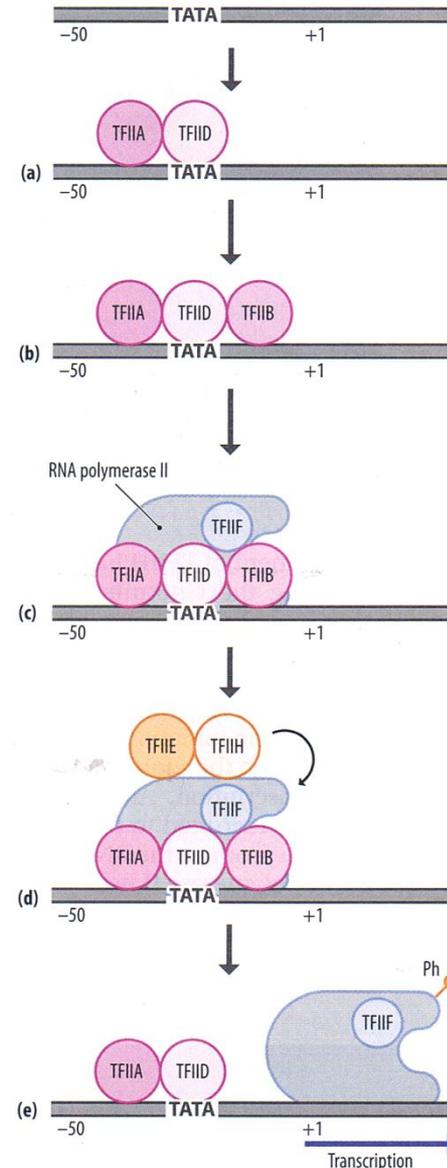
1. Initiation
2. Elongation
3. Terminaison



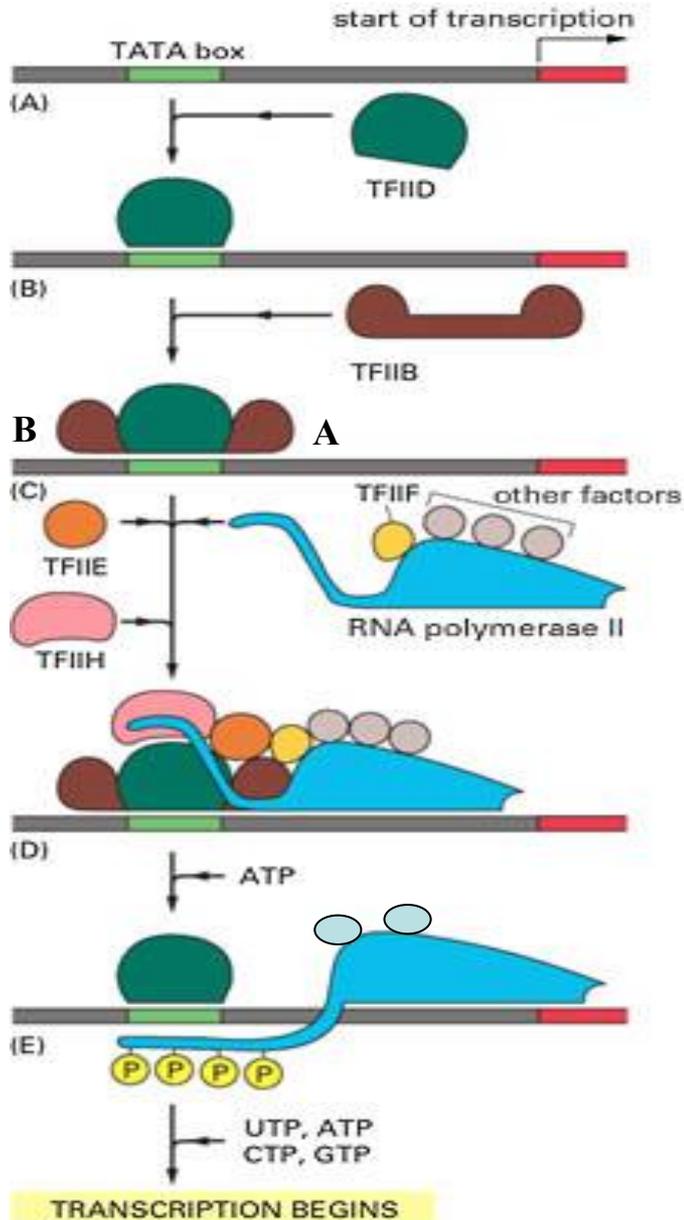
## 5. Expression des gènes: transcription – initiation

### Formation du complexe d'initiation de la transcription (gènes de type II)

- Fixation de **TFIID** sur TATA box facilitée par **TFIIA**
- Recrutement de **TFIIB** (site opposé de TFIIA)
- TFIIB recrute **RNA pol II + TFIIF**
- Recrutement de **TFIIE** et **TFIIH**
- **TFII**: complexes multiprotéiques
- **TFIID**
  - **TBP**: reconnaît TATA
  - **TAFs**: reconnaît Inr
- **TFIIH**:
  - Activité **hélicase**
  - Activité **kinase**: phosphoryle le domaine C-ter de la sous-unité RPB1 de la RNA pol II. Initiation de la transcription.
- **TFIIE**: stabilise la séparation du double brin



## 5. Expression des gènes: transcription – initiation

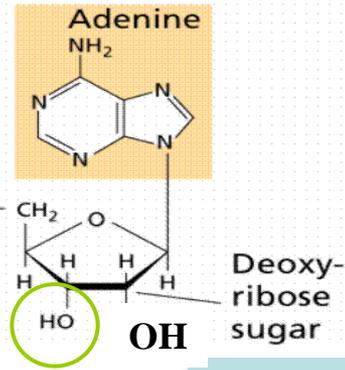
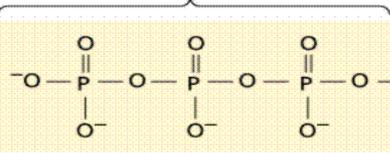


La **RNA polymérase** est associée à différents facteurs comme **TFIIF, PAP, CPSF, CstF** qui interviendront dans l'élongation de l'ARN, le clivage de l'ARNm, la polyadénylation et l'arrêt de la transcription.

## 5. Expression des gènes: transcription - élongation

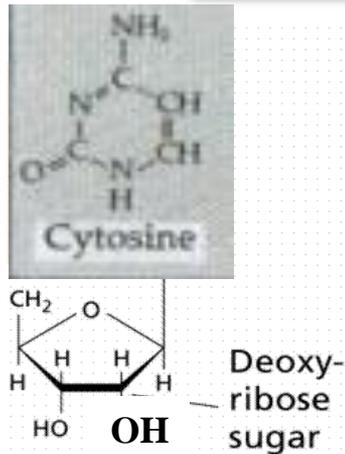
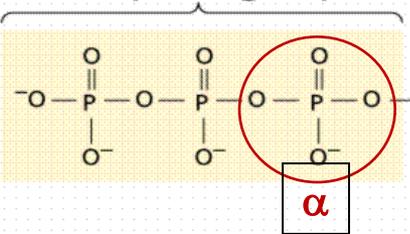
### ATP (adenosine triphosphate)

Phosphate groups

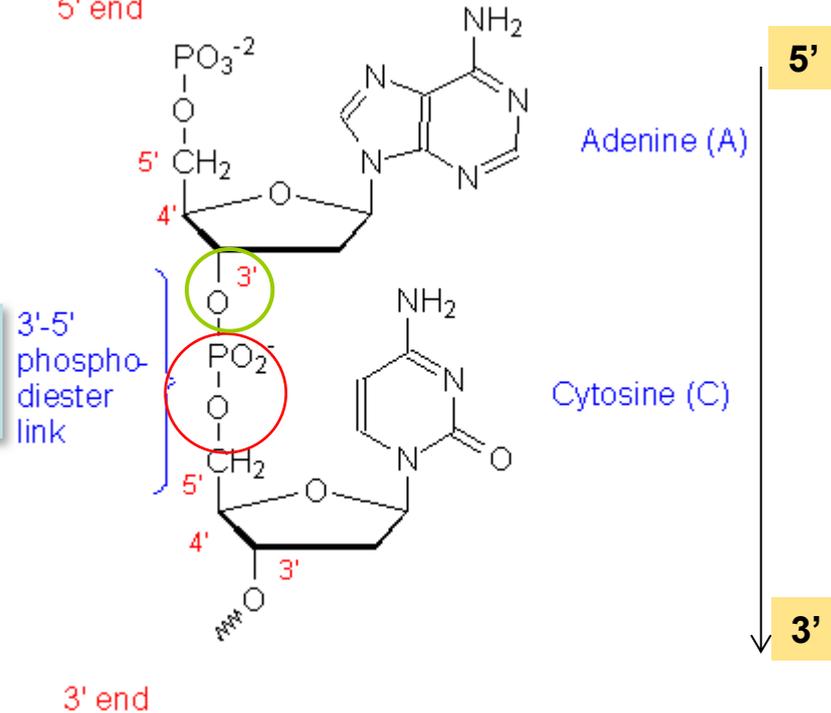


RNA polymérase

### CTP (cytosine triphosphate)



5' end



L'ARN polymérase accepte comme substrat des ribonucléotides triphosphates et elle ajoute un ribonucléotide monophosphate sur l'extrémité 3'-OH libre (estérification) du nucléotide précédent si il est apparié. **La synthèse se fait donc en allongeant le polymère toujours de 5' vers 3'** par formation d'une liaison phosphodiester.

## 5. Expression des gènes: transcription - élongation

---

### Elongation. Réactions de polymérisation: comparaison DNA et RNA polymérase

#### Points en commun:

- Séparation des deux brins d'ADN requise
- Matrice d'ADN requise
- Réaction:
  - attaque nucléophile du 3'-OH du premier nt au P-alpha du deuxième nt
  - rupture de phospho-anhydride alpha-beta
  - libération de P-Pi
  - un cofacteur enzymatique divalent est requis:  $Mg^{2+}$
- Répétition en direction 5' vers 3'

#### Différences:

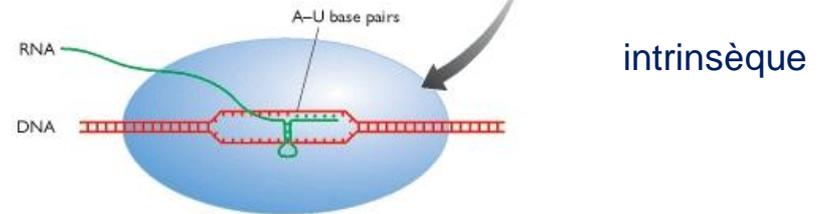
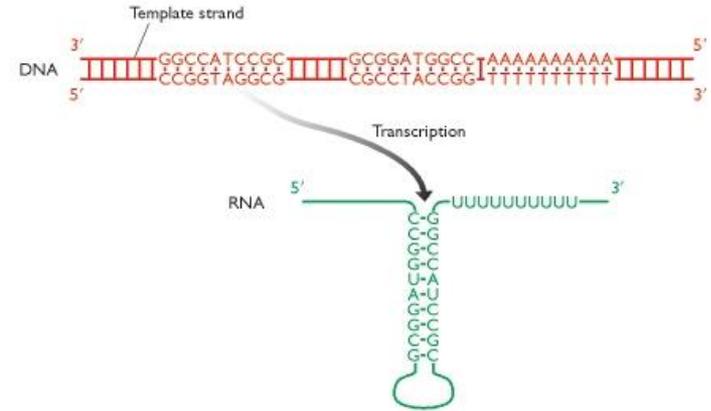
- NTP vs dNTP comme substrats
- Le premier nucléotide est placé sans amorce par appariement (ARN) ou à partir d'une amorce ARN (ADN)
- La RNA polymérase accepte aussi des cations  $Mn^{2+}$
- Les appariements A-T et C-G sont permanents (ADN) et les A-U et C-G sont transitoires (ARN)

# 5. Expression des gènes: transcription - terminaison

## Terminaison

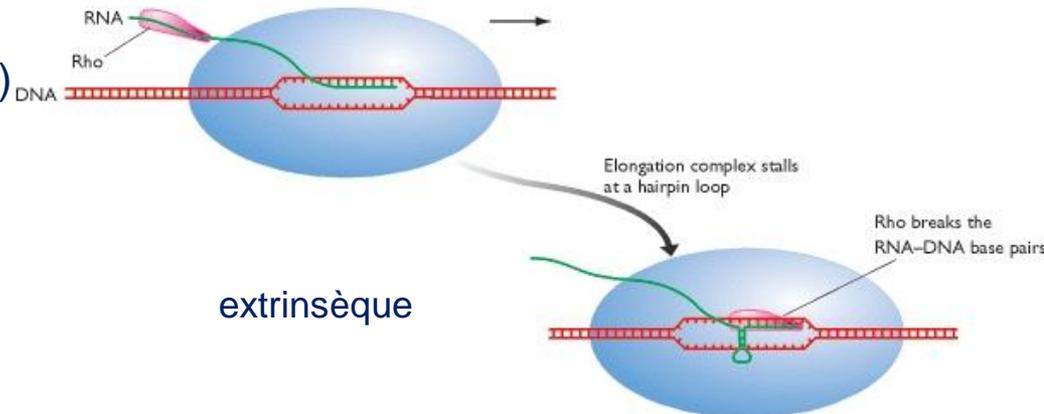
### Procaroyotes: deux types:

- **Indépendante de rho** ou intrinsèque: formation d'une séquence palindromique au niveau de l'ARN qui s'hybride sur elle-même en « épingle à cheveux », suivie d'une région riche en U (facilite séparation ARN et ADN)
- **Dépendante de rho** ou extrinsèque: la **protéine rho** (hexamère) se fixe sur des séquences spécifiques de l'ADN et sépare ADN et ARN.



### Eucaryotes (gènes de type II):

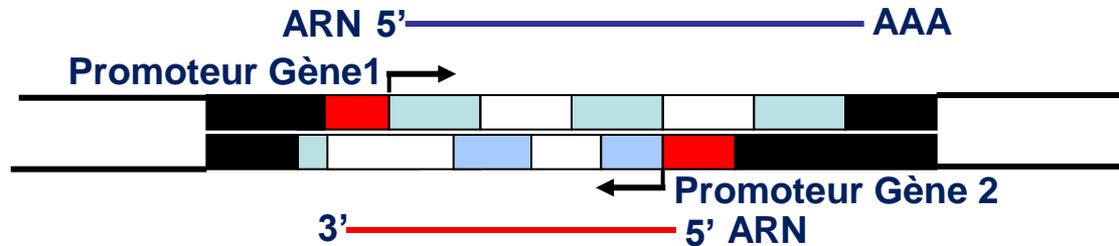
- Pas de région palindromique
- **Protéines d'arrêt** (dans un complexe) se fixent comme la protéine rho et arrête la RNA pol.
- Déphosphorylation de la RNA polymérase
- Associée à la maturation (polyadénylation)



## 5. Expression des gènes eucaryotes: gènes chevauchants et antisens naturels

### Mécanisme de régulation de l'expression génique

2 gènes peuvent se chevaucher sur l'ADN et être transcrit en directions opposées



*Ici les séquences promotrices correspondent à des introns sur l'autre gène*

Les deux transcrits vont s'hybrider et former un ARN double brin



**Dégradation, pas de traduction**

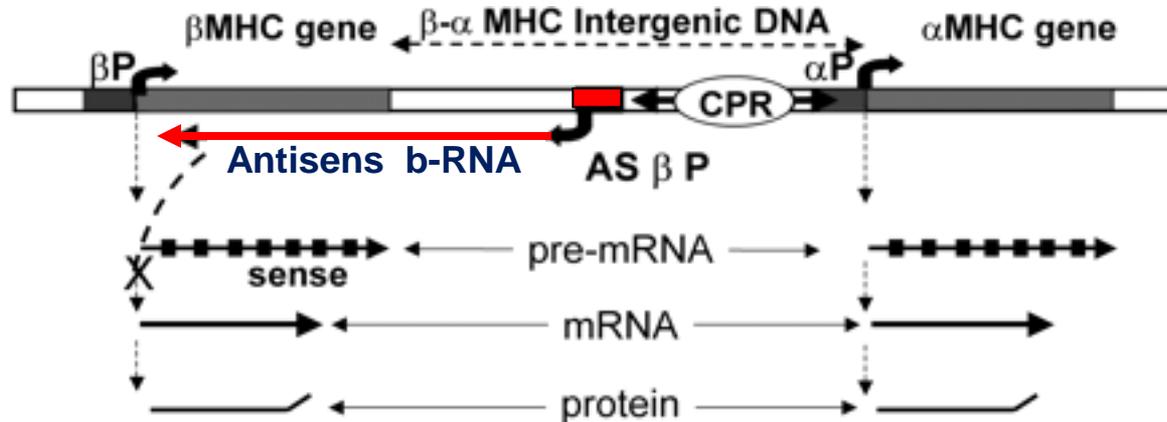
Souvent 1 des deux transcrits n'est pas un ARN messager mais un ARN anti-sens de l'ARNm obtenu à partir de l'autre brin. Cet ARN anti-sens a un rôle de régulateur.

**Exemples :**

**Xist et Tsix (régulateur) (inactivation du chromosome X)  
récepteur IGF et Air (régulateur)  
beta-MHC et anti-sens beta MHC**

## 5. Expression des gènes eucaryotes: gènes chevauchants et antisens naturels

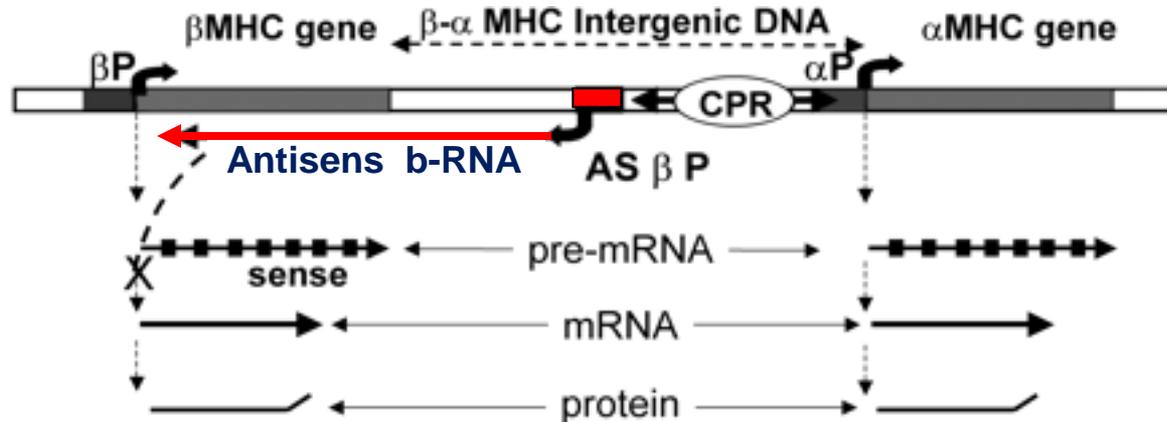
**Transcription d'ARN anti-sens et régulation de l'expression**  
ex : les gènes de la chaîne lourde de la myosine (MHC)



Locus des gènes MHC exprimés dans le cœur. Les gènes alpha-MHC et beta-MHC voisins sont transcrits pour donner les chaînes alpha et beta de la chaîne lourde de la myosine. Ces 2 gènes (25 kbp) sont séparés par une séquence de 4kbp où l'on trouve AS- $\beta$ P un promoteur à partir duquel est transcrit un ARN complémentaire de l'ARN beta MHC (donc anti-sens). Cet ARN anti-sens hybride avec l'ARN de beta-MHC et bloque sa traduction.

## 5. Expression des gènes eucaryotes: gènes chevauchants et antisens naturels

**Transcription d'ARN anti-sens et régulation de l'expression**  
ex : les gènes de la chaîne lourde de la myosine (MHC)



En amont de ce promoteur se trouve un **régulateur CPR** qui devient actif à la naissance. L'activation de CPR entraîne une activation des promoteurs AS-Beta P et alpha-P avec apparition de la forme alpha MHC et disparition de la forme beta-MHC.

L'activation du régulateur CPR coordonne le shift beta-MHC/alpha-MHC à la naissance en induisant la synthèse d'un **antisens**, qui bloque l'expression de la chaîne beta, et en activant l'expression du promoteur de la chaîne alpha

## 5. Expression des gènes: transcription de l'ADN mitochondrial

Promoteur H1, H2 : synthèse de 5' vers 3' d'un ARN complémentaire de H (transcrit L).

14 tRNAs (H2), 12 mRNA (H2), 2 rRNAs (H1)

Promoteur L : synthèse de 5' vers 3' d'un ARN complémentaire de L (transcrit H).

1mRNA, 8t RNAs, Amorce ARN

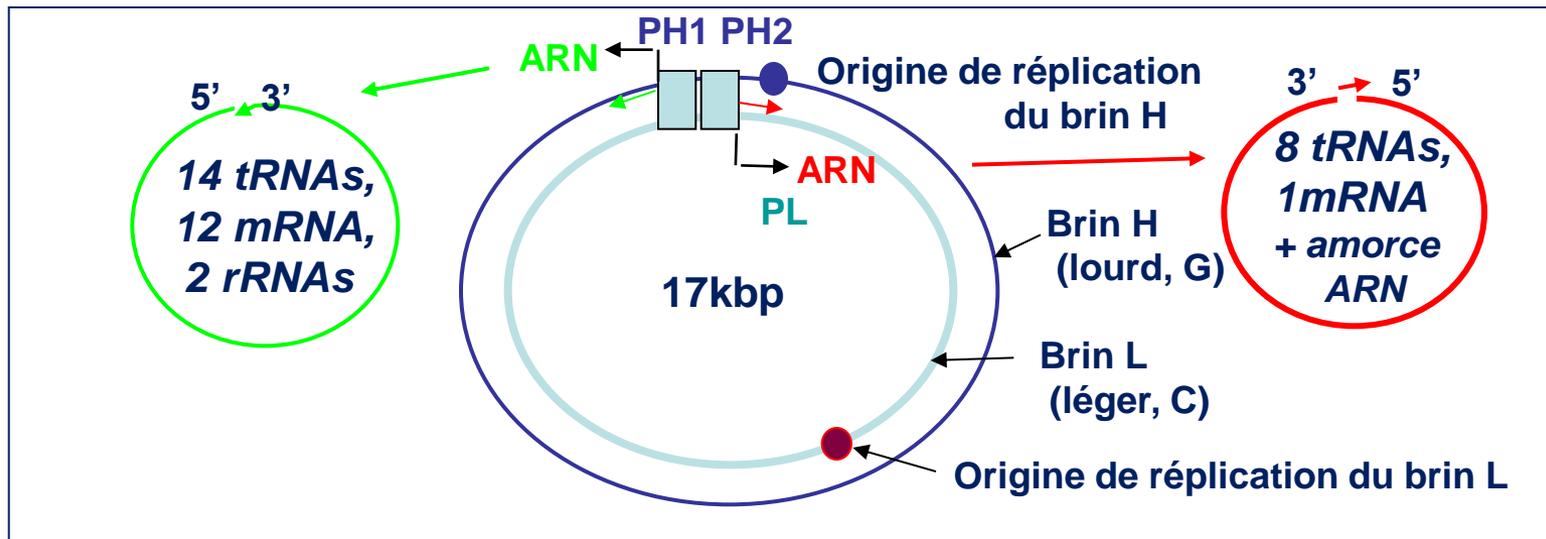
Enzymes: mtRNA polymérase

Facteur de transcription: mtTFA

Facteur de terminaison: mtTERF

Pas de distinction entre brin sens et anti-sens

Deux transcrits primaires complémentaires (L et H)



## 5. Expression des gènes: maturation de l'ARN

---

Le produit de la transcription d'un gène de type II est un transcrit primaire ou ARN messenger immature (pre-ARNm)

La maturation de ce transcrit primaire comporte 4 étapes:

- Le **coiffage** (capping) en 5'
- La **polyadénylation** en 3'
- **L'épissage**: élimination des introns
- **L'édition** de l'ARN: modification posttranscriptionnelle de la séquence d'un ARNm

Les transcrits à partir de gènes I et III procaryotes subissent une maturation.

Les transcrits à partir de gènes II procaryotes sont matures: ils sont traduits directement

## 5. Expression des gènes: maturation de l'ARN

### Coiffage ou « capping »

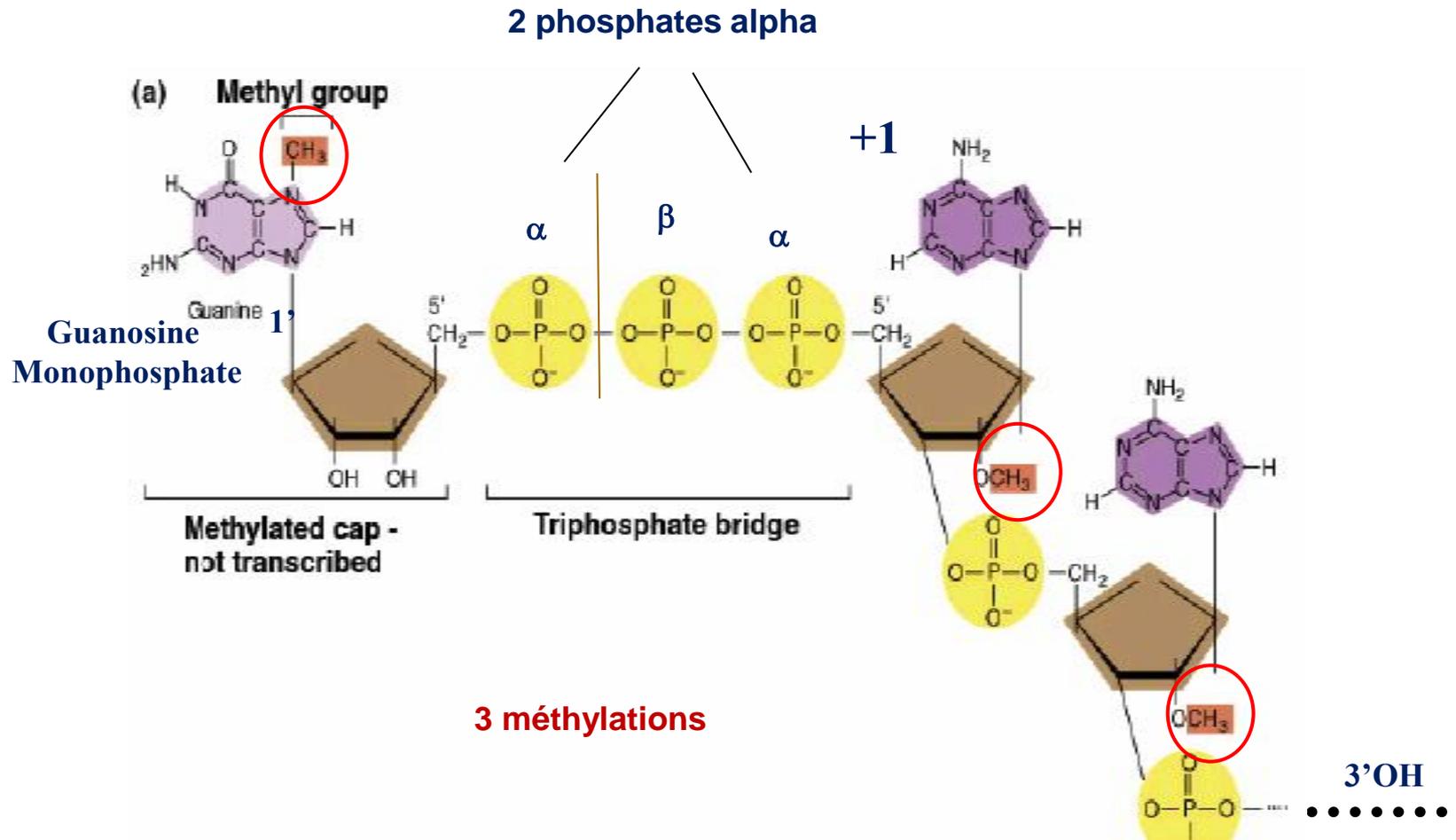
- Addition sur le transcrit primaire (en 5') d'une **guanosine monophosphate**
  - Clivage du phosphate gamma du premier nucléotide (normalement un ATP (**phosphatase**))
  - Transfert du guanilyl monophosphate (GMP) à partir d'un GTP à l'extrémité 5' du transcrit (mRNA **guanilyltransferase**) avec libération d'un pyrophosphate.
  - Formation d'une liaison tri-phosphate entre deux positions 5' (la guanosine a un sens opposé au reste des nucléotides la chaîne)
- **Méthylation** de cette guanosine (en N-7) et des 2 premiers nucléotides du transcrit sur le ribose en 2'
- Réalisé par le **CEC** (Capping Enzyme Complex).

La coiffe protège l'extrémité 5' de l'ARNm des exonucléases et est impliquée dans le transport et la traduction des ARNm.

Le coiffage a lieu peu après l'initiation (30nt) de la transcription

# 5. Expression des gènes: maturation de l'ARN

## Coiffage ou « capping »



Pas de liaison phosphodiester: pas reconnue par les exonucléases

## 5. Expression des gènes: maturation de l'ARN

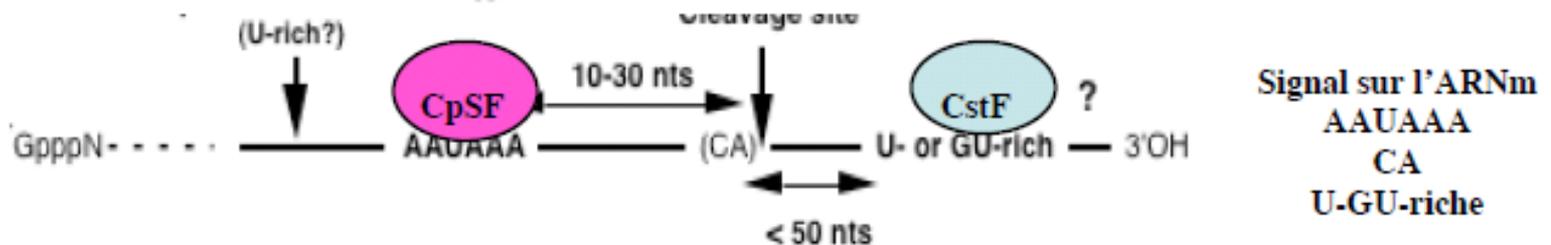
Arrêt de la transcription et **polyadénylation** de l'ARNm

Les facteurs de l'arrêt de la transcription et de la polyadénylation sont liés dans un seul complexe et associés à la RNA polymérase.

La reconnaissance des signaux de coupure et de polyadénylation (par **CpSF** et **CstF**) sur l'ARNm va entraîner

- la coupure de l'ARNm après **CA**,
- un arrêt de transcription (déphosphorylation de RNA Pol II) et
- la polyadénylation de l'ARNm par la **PAP**.

L'extrémité poly-A protège l'ARNm de la dégradation et joue un rôle dans l'initiation de la traduction

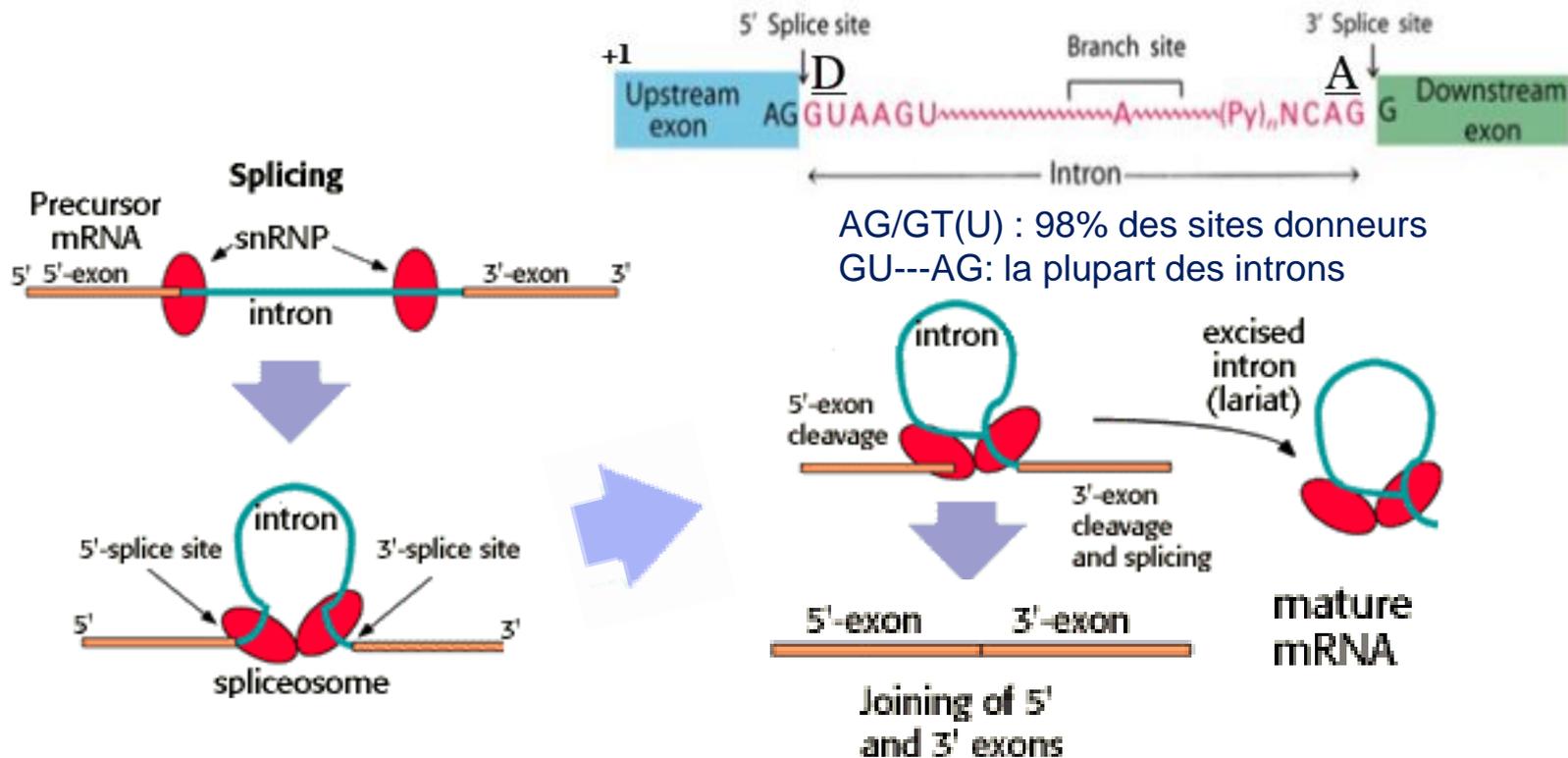




# 5. Expression des gènes: maturation de l'ARN

## Épissage ou « splicing »

Élimination des introns, définis par un site « **donneur** » et un site « **accepteur** »  
Les sites donneurs et accepteurs d'épissage sont reconnus par des complexes ribonucléoprotéiques (**snRNP**) qui en s'associant forment le « **spliceosome** » ou complexe d'épissage qui va cliver l'ARN et associer les extrémités 3'OH d'un exon avec l'extrémité 5'P de l'exon suivant en 3 étapes.



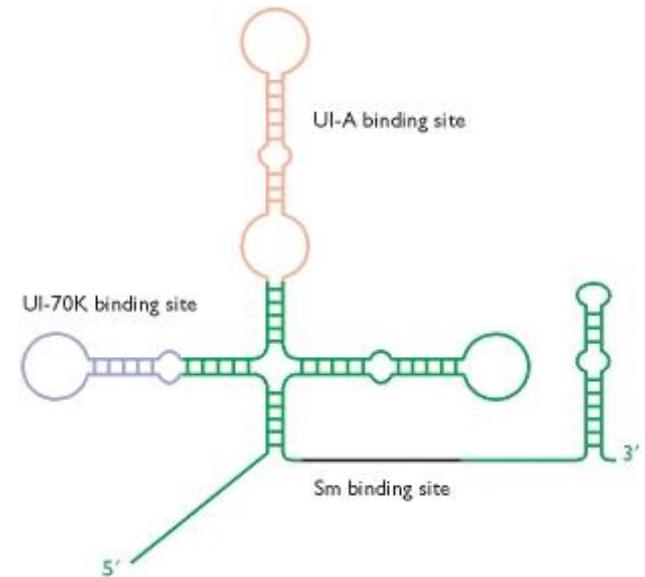
## 5. Expression des gènes: maturation de l'ARN

### Épissage ou « splicing »: le spliceosome

Les composants principaux du spliceosome sont snRNAs U1, U2, U4, U5 et U6, des petits ARN (entre 106 nt [U6] et 185 nt [U2]) qui s'associent avec des protéines pour former des « small nuclear ribonucleoproteins » (snRNPs). Elles forment séquentiellement ces complexes:

1. **Complexe d'engagement** : U1-snRNP, qui s'associe au site donneur
2. **Pre-spliceosome**: complexe d'engagement plus U2-snRNP (sur site de branchement). U2AF sur site accepteur.
3. **Spliceosome**: complexe pre-spliceosome plus U4/U6-snRNP et U5-snRNP. Réactions de transestérification

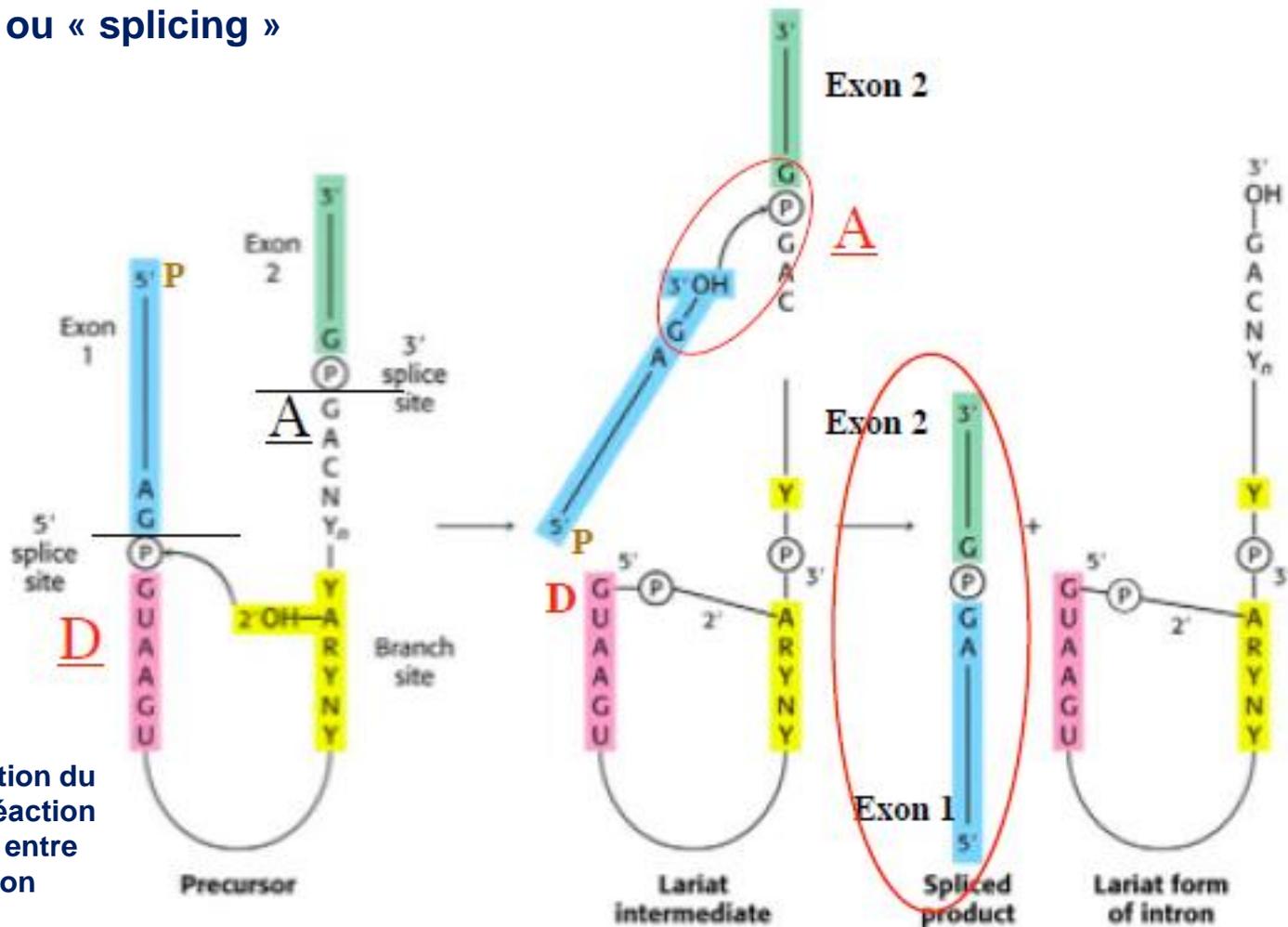
Exceptions: **auto-épissage**, **trans-épissage**



Structure du U1 snRNA, et ses sites d'interaction avec les protéines qui forment le U1 snRNP (U1 ribonucléoprotéine), un composant du spliceosome.

# 5. Expression des gènes: maturation de l'ARN

## Epissage ou « splicing »



Etape 1: Estérification du 2'OH du ATP par réaction avec le phosphate entre les 2 G de la jonction exon-intron

Etape 2: Coupure qui libère l'exon 1 avec une extrémité G-3'OH (et structure en lasso)  
Contact du 3'OH avec le phosphate à la jonction intron-exon2 du site accepteur

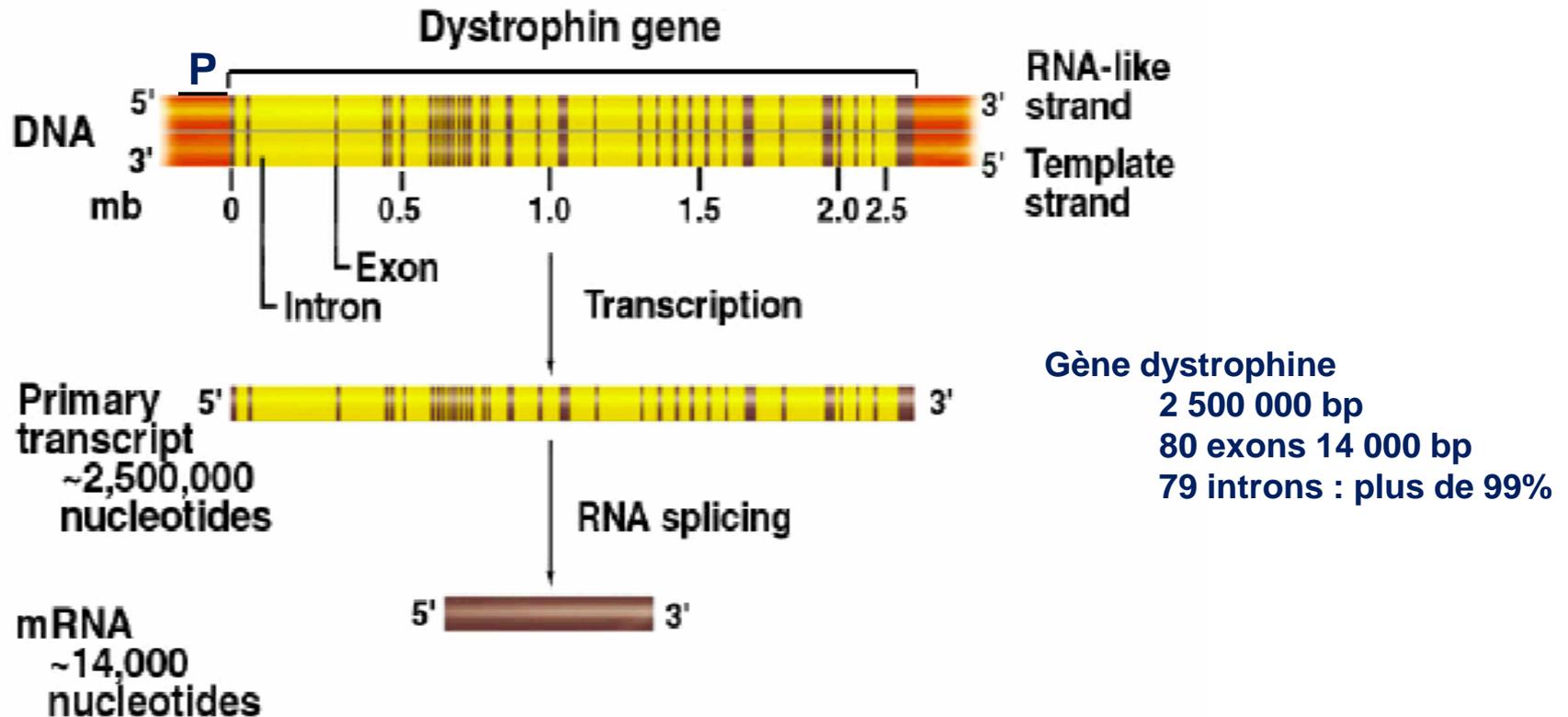
Etape 3: Jonction exon-1-exon2 par estérification et élimination de la boucle (intron)

## 5. Expression des gènes: maturation de l'ARN

### Exemple: Epissage du mRNA de la dystrophine

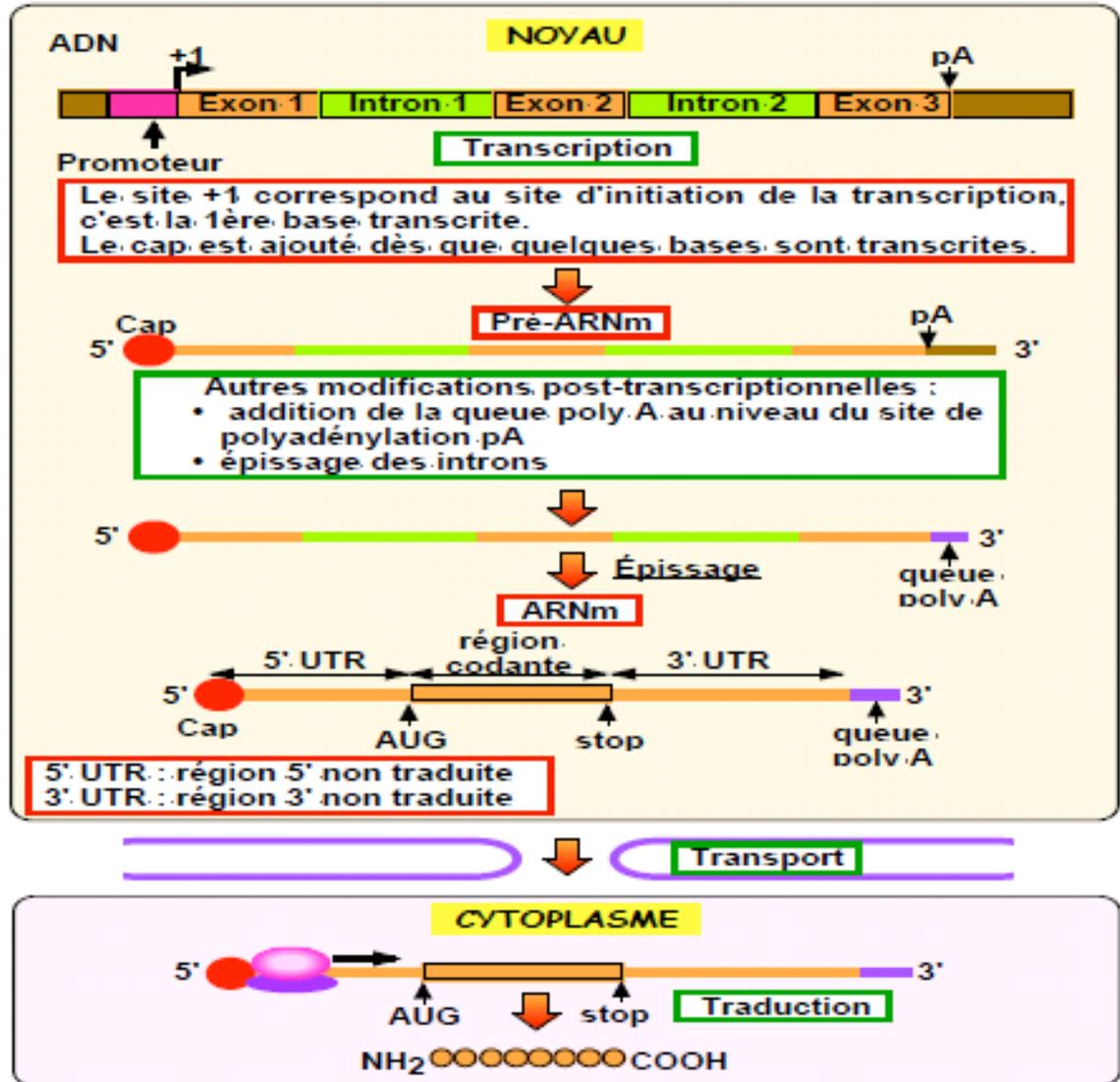
Après épissage les exons des ARNm matures ne représentent que 10% en moyenne de la séquence du transcrit primaire

Pour la dystrophine c'est moins de 1%



# 5. Expression des gènes: maturation de l'ARN

Transcription et maturation des ARNm



A/GnnAUGA/G

Environnement de Kozak

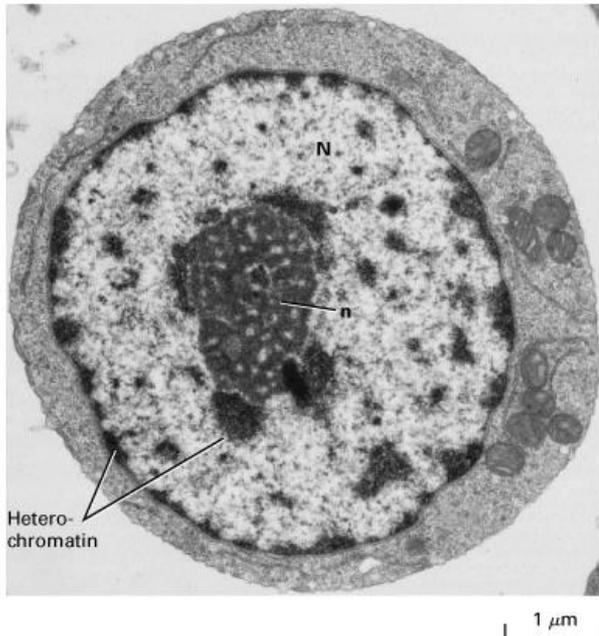
ARN mature

# 5. Expression des gènes: maturation de l'ARN

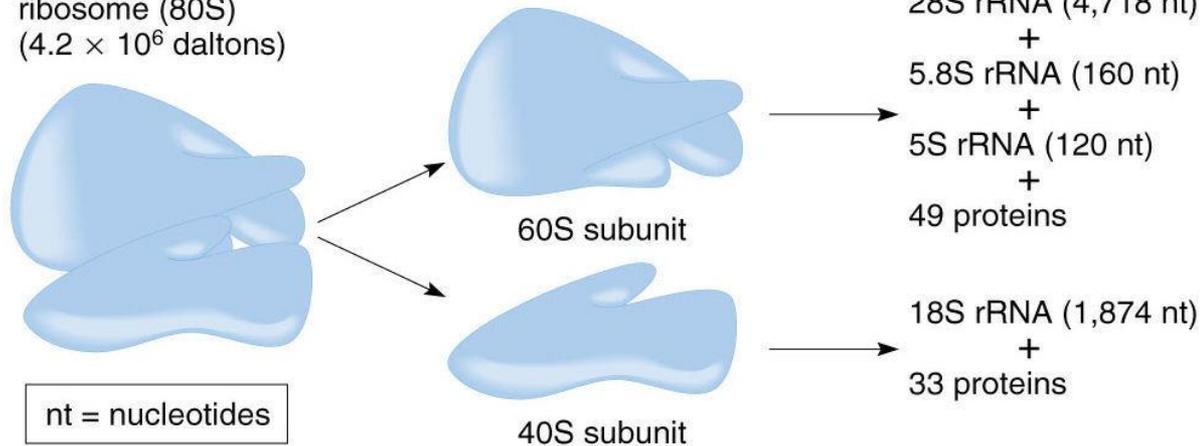
## Maturation des ARN ribosomiaux et de transfert:

### ARNr:

- un seul transcrit pour les 28S, 18S et 5.8S dans le nucléole
- Les différents ARN sont clivés par les ARNsn
- Le ARNr 5S est synthétisé dans le nucléoplasme, il n'est pas modifié et migre au nucléole pour s'associer aux autres ARNr
- Exportés au cytoplasme, ils subissent une maturation:
  - ARN 40S: 18S + 33 protéines
  - ARN 60S: 28S + 5.8S + 5S + 49 protéines



Mammalian ribosome (80S)  
( $4.2 \times 10^6$  daltons)



© 2010 Pearson Education, Inc.

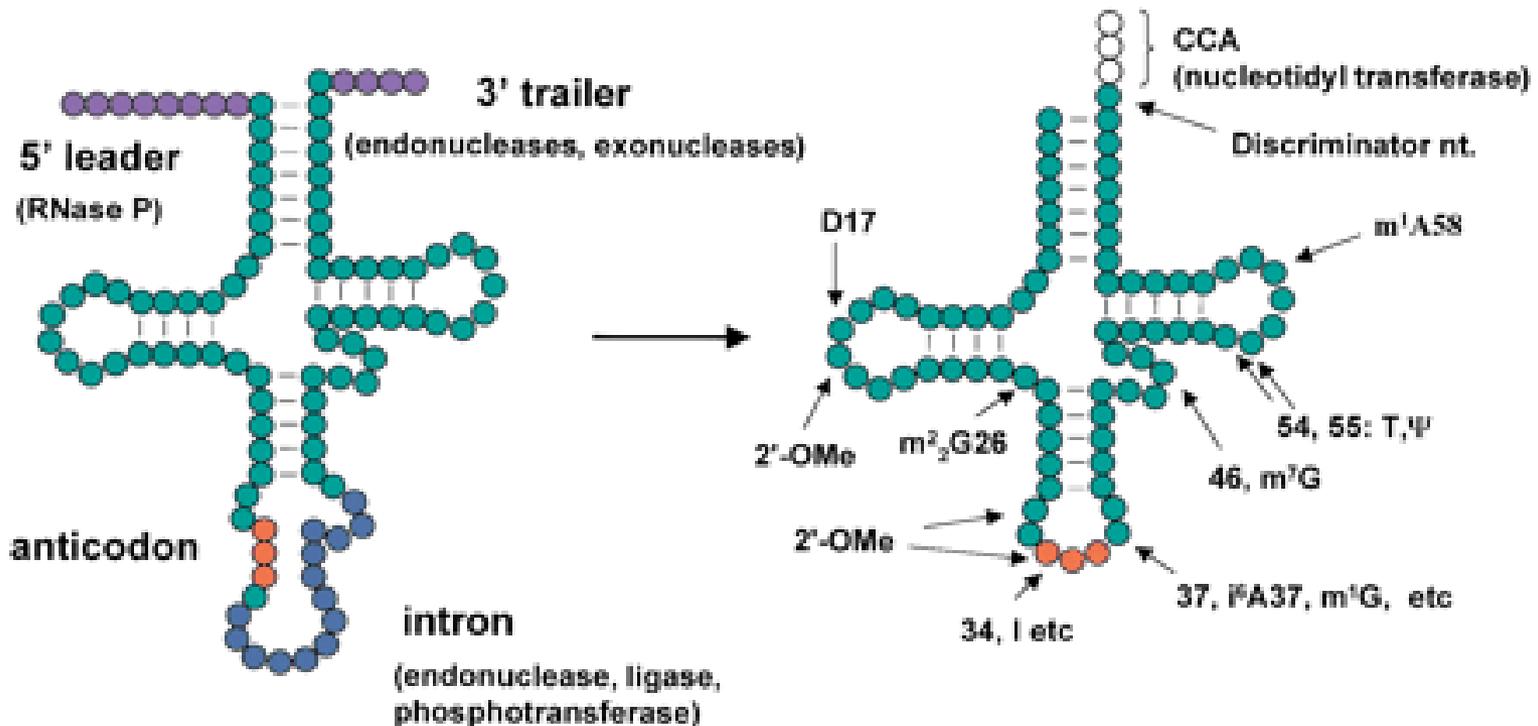
2010 PJ Russell, *iGenetics 3rd ed*

## 5. Expression des gènes: maturation de l'ARN

### Maturation des ARN ribosomiaux et de transfert:

**ARNt.** Pour être fonctionnel:

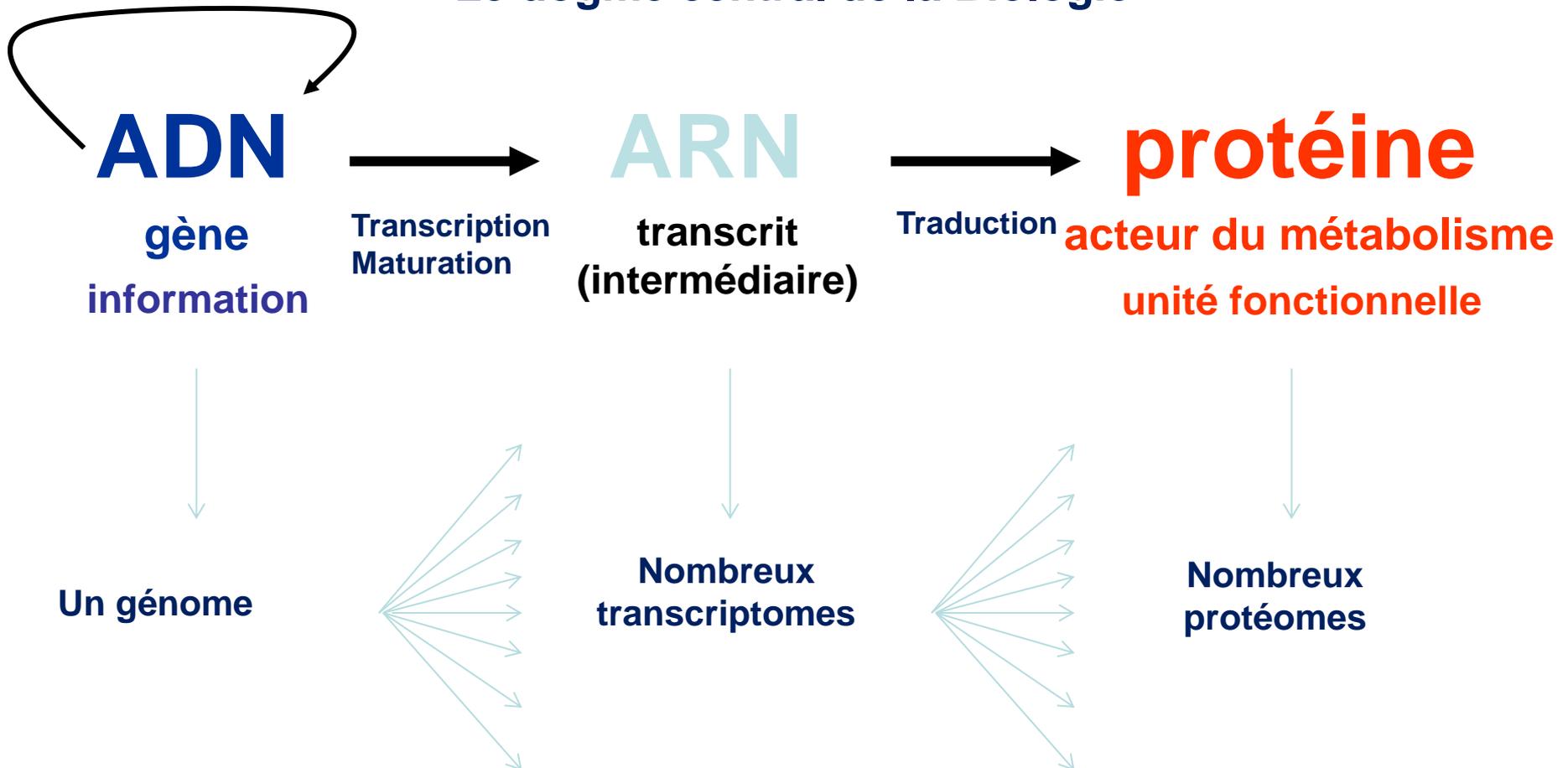
- Un segment de 16nt en 5' est clivé par la RNase P
- Un intron de 14 nt est éliminé au niveau de la boucle anticodon
- Des UU sont remplacés par CCA en 3'
- Quelques bases sont modifiées (méthylations, éditions)



# 5. Expression des gènes eucaryotes: 1 gène, plusieurs ARNm

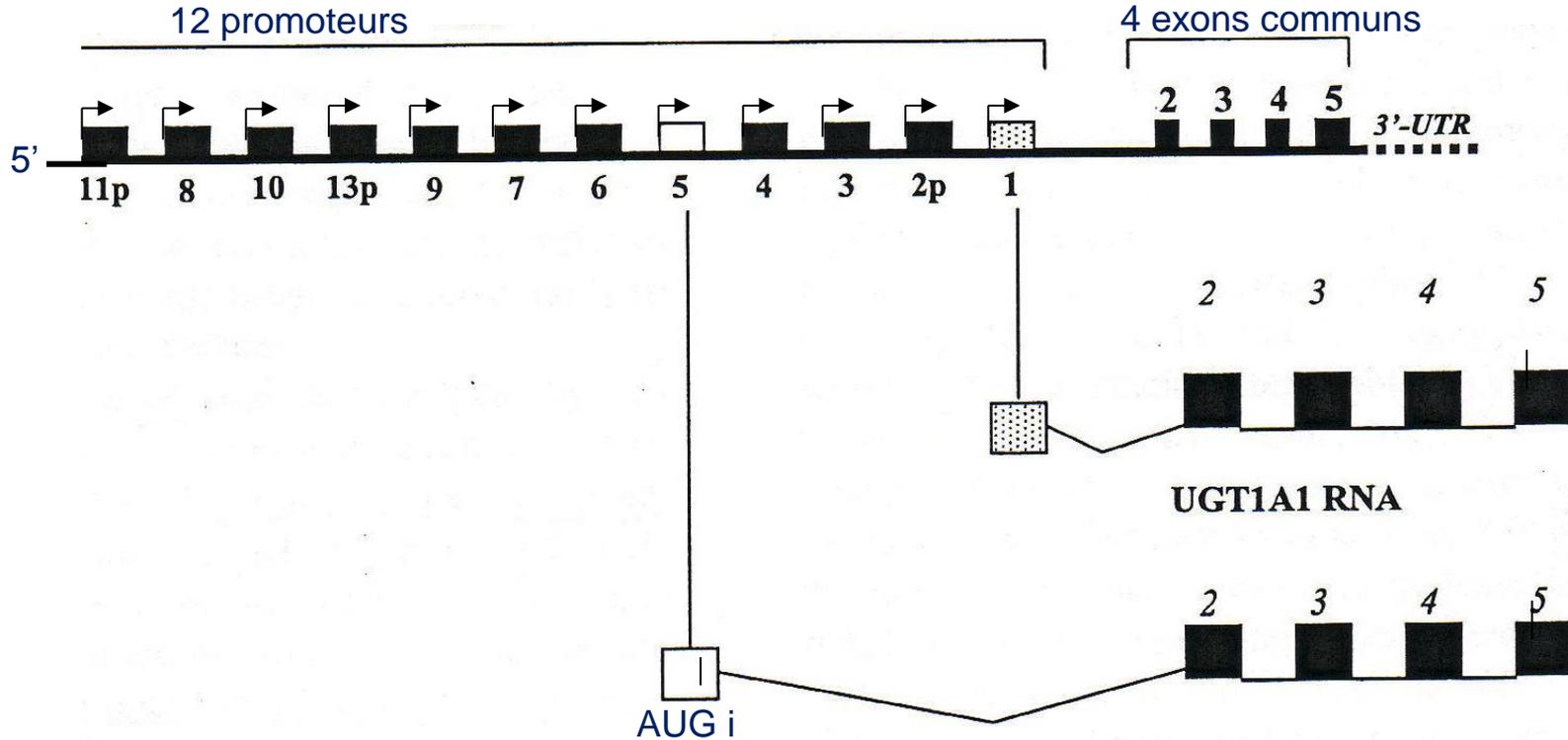


## Le dogme central de la Biologie



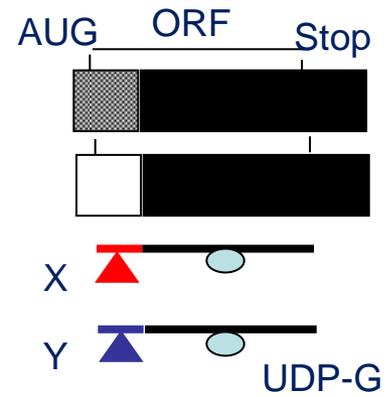
# 5. Expression des gènes eucaryotes: 1 gène, plusieurs ARNm

## 1-Gènes à promoteurs multiples (ex : le gène UGT1A, *UDP glucuronosyltransferase 1*)



Pour chaque ARNm : 1er exon différent

Des protéines différentes dans leur partie NH2T  
 Fixation de substrats différents : X, Y.....



# 5. Expression des gènes eucaryotes: 1 gène, plusieurs ARNm

## 2-Epissage alternatif

Des combinaisons différentes d'exons à partir d'un pre-ARNm. C'est le résultat de l'élimination de certains exons lors de l'épissage.

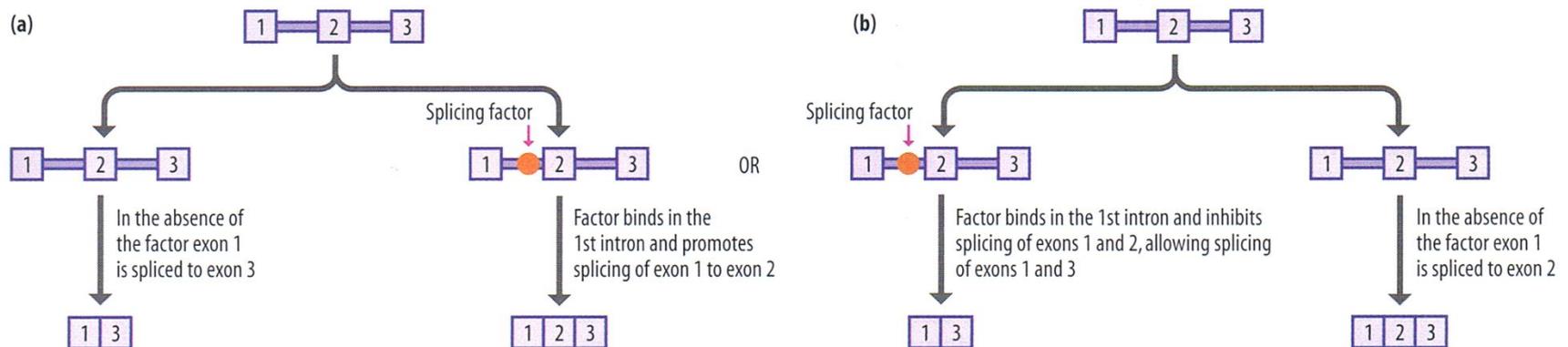
L'épissage alternatif est **régulé** par des **facteurs d'épissage** (splicing factors) qui reconnaissent certaines séquences (ex. protéines **SR**).

Les facteurs peuvent être tissu-spécifiques. Exemples en mammifères:

**nPTB** (polypyrimidine tract binding protein) dans le neurone

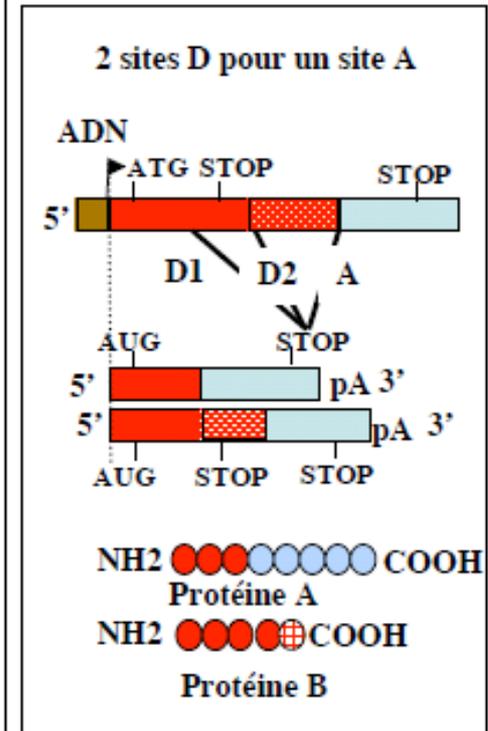
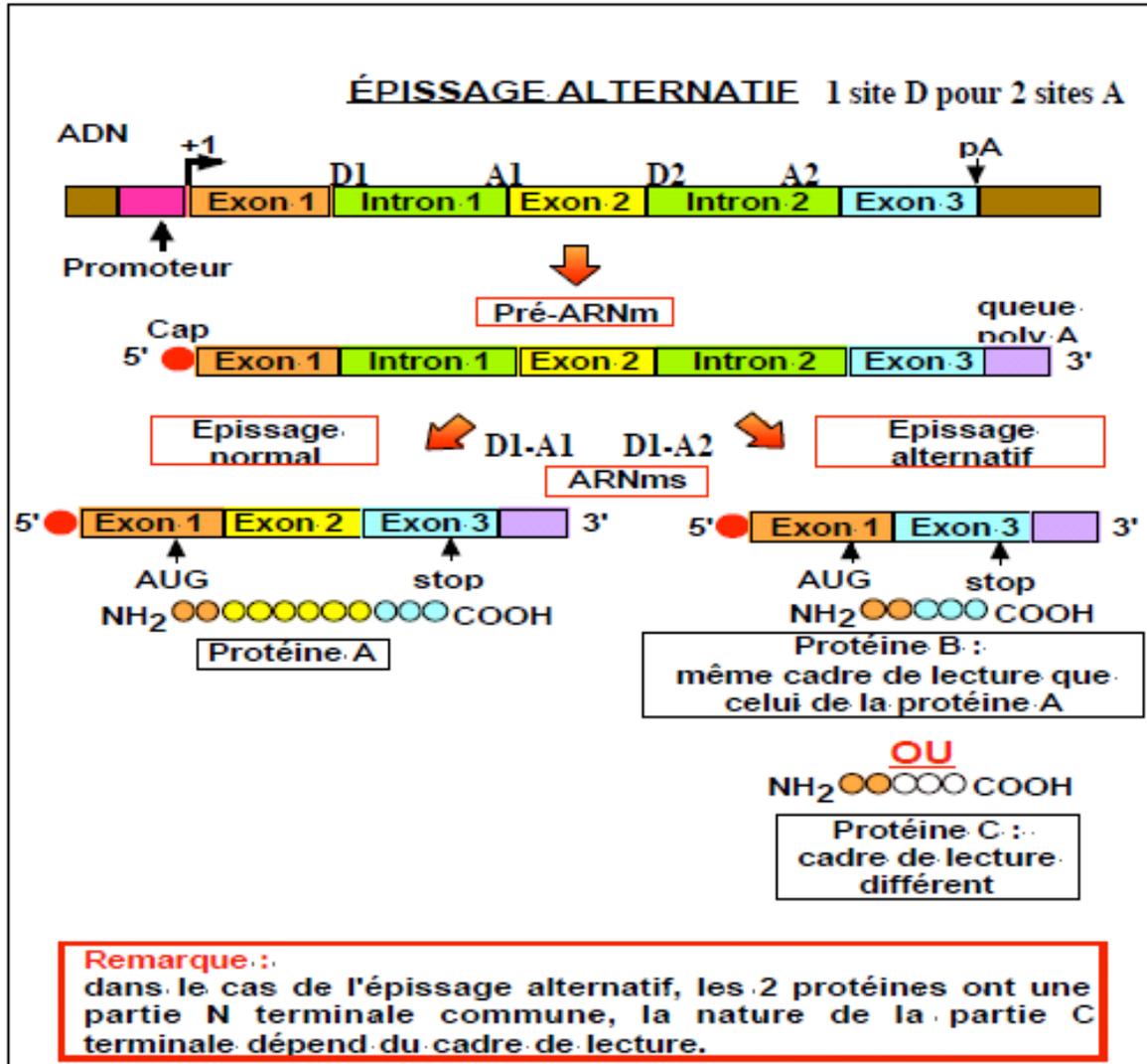
**Nova 1** et **Nova 2** dans le neurone

**SF2/hnRPA1**: ubiquitaires, mais leurs fonctions, opposées, dépendent de leur abondance dans un tissu. hnRPA1 (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1)



# 5. Expression des gènes eucaryotes: 1 gène, plusieurs ARNm

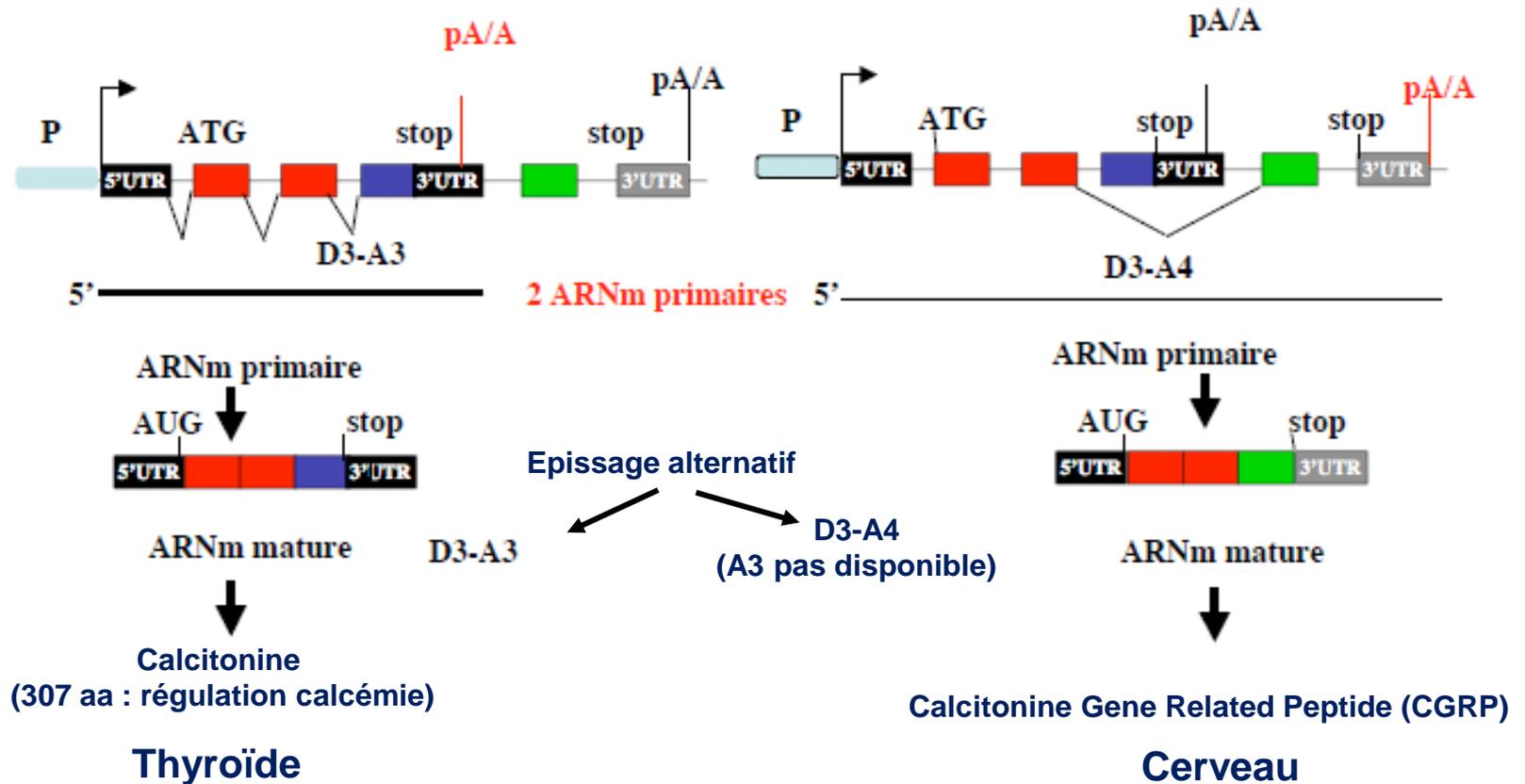
## 2-Epissage alternatif: schéma général et produits



# 5. Expression des gènes eucaryotes: 1 gène, plusieurs ARNm

## 3. Plusieurs sites d'arrêt de la transcription : plusieurs ARNm différents

Exemple: Le gène de la calcitonine code pour deux ARNm différents qui vont donner des protéines différentes dans la thyroïde et le cerveau



## 5. Expression des gènes eucaryotes: 1 gène, plusieurs ARNm

---

### Estimation du nombre d'ARNm chez les mammifères

#### 23 000 gènes

- 10 000 transcrits pourraient subir un épissage alternatif et donner 30 000 ARN matures.
- 13 000 transcrits ne subiraient pas d'épissage alternatif

#### 43 000 ARN matures pour le génome complet

Il faudrait aussi prendre en compte les gènes qui ont des promoteurs multiples ou plusieurs signaux d'arrêt de la transcription

**Estimation : 25 000 gènes, plus de 50 000 ARNm matures (100000), plus de 50 000 protéines (1M)**

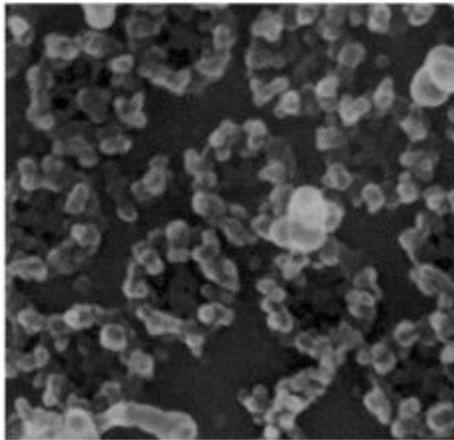
## 5. Expression des gènes eucaryotes: Export de l'ARN

L'ARNm mature, pour être traduit, est exporté au cytoplasme à travers les complexes de pores nucléaires (**NPC**).

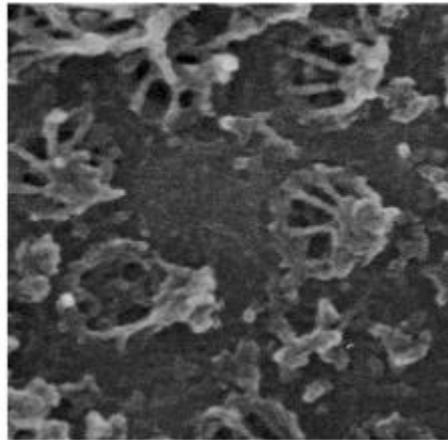
Complexes: 125 M Da. Plusieurs copies de 50 à 100 protéines

Les ARNm s'associent à **hnRNP** constituant les **mRNP**

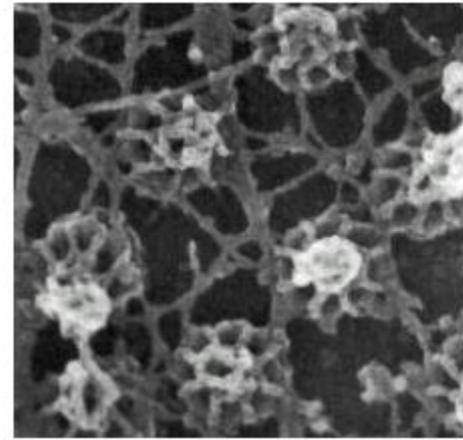
(a)



Coté cytoplasmique



Env. nucléaire



Env. nucléaire sans membrane

Coté nucléoplasmique

## 5. Expression des gènes eucaryotes: Export de l'ARN

Le complexe associé à la coiffe, **CBC** (nuclear cap – binding complex), mène l'ARNm à travers le NPC.

Les récepteurs connus comme **exportines** interagissent séquentiellement avec les protéines du complexe mRNP, qui passe à travers le pore grâce à un apport d'énergie de l'hydrolyse de GTP par la protéine **Ran**, stimulée par RanGAP

Les hnRNP sont déplacées et remplacées par protéines cytoplasmiques, comme la **PABP** (poly-A binding protein)

