La Transcription et la maturation des ARN

Dr Alexandre JANIN
Service de Biochimie et Biologie Moléculaire – Hospices Civils de Lyon

ISPB – Faculté de Pharmacie de Lyon
Université Claude Bernard Lyon 1

ISPB Faculté de Pharmacie de Lyon

HCL HOSPICES CIVILS DE LYON

Plan

1. Définition et contexte général
2. Les acteurs de la transcription
3. Mécanismes de la transcription procaryote
    3.1. L'initiation de la transcription
    3.2. L'élongation
    3.3. Terminaison
4. Mécanismes de la transcription eucaryote
    4.1. Différences fondamentales avec la transcription eucaryote
    4.2. Initiation
    4.3. Elongation et maturation
    4.4. Transport hors du noyau
5. Transcription et maturation des ARN ribosomiques

1. Définition et contexte général

ADN

TRANSCRIPTION

ARNm	**ARNt**	**ARNr**	**ARNsn**	**ARNsno**	**ARNmi ARNsi LncRNA**
messagers **≈ 2 %**	de transfert **≈ 16 %**	ribosomiques **≈ 82 %**	small nuclear et small nucleolar (eucaryotes seulement) **< 1%**		**< 1%**

TRADUCTION

PROTEINES

1. Définition et contexte général

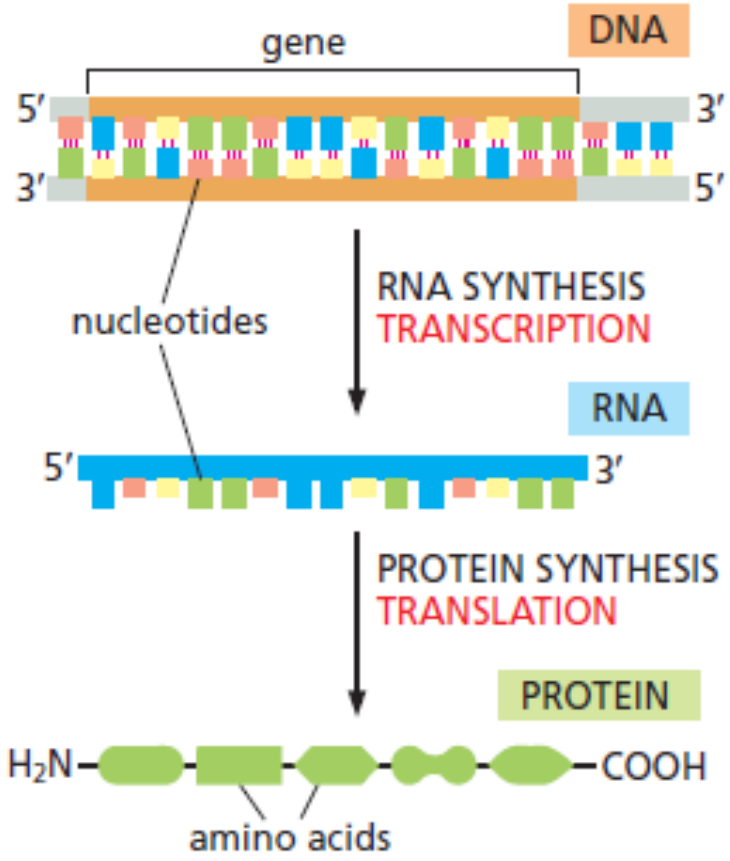
ADN

TRANSCRIPTION

ARNm	**ARNt**	**ARNr**	**ARNsn**	**ARNsno**	**ARNmi ARNsi LncRNA**
messagers	de transfert	ribosomiques	small nuclear et small nucleolar (eucaryotes seulement)		
≈ 2 %	**≈ 16 %**	**≈ 82 %**	**< 1%**		**< 1%**

TRADUCTION

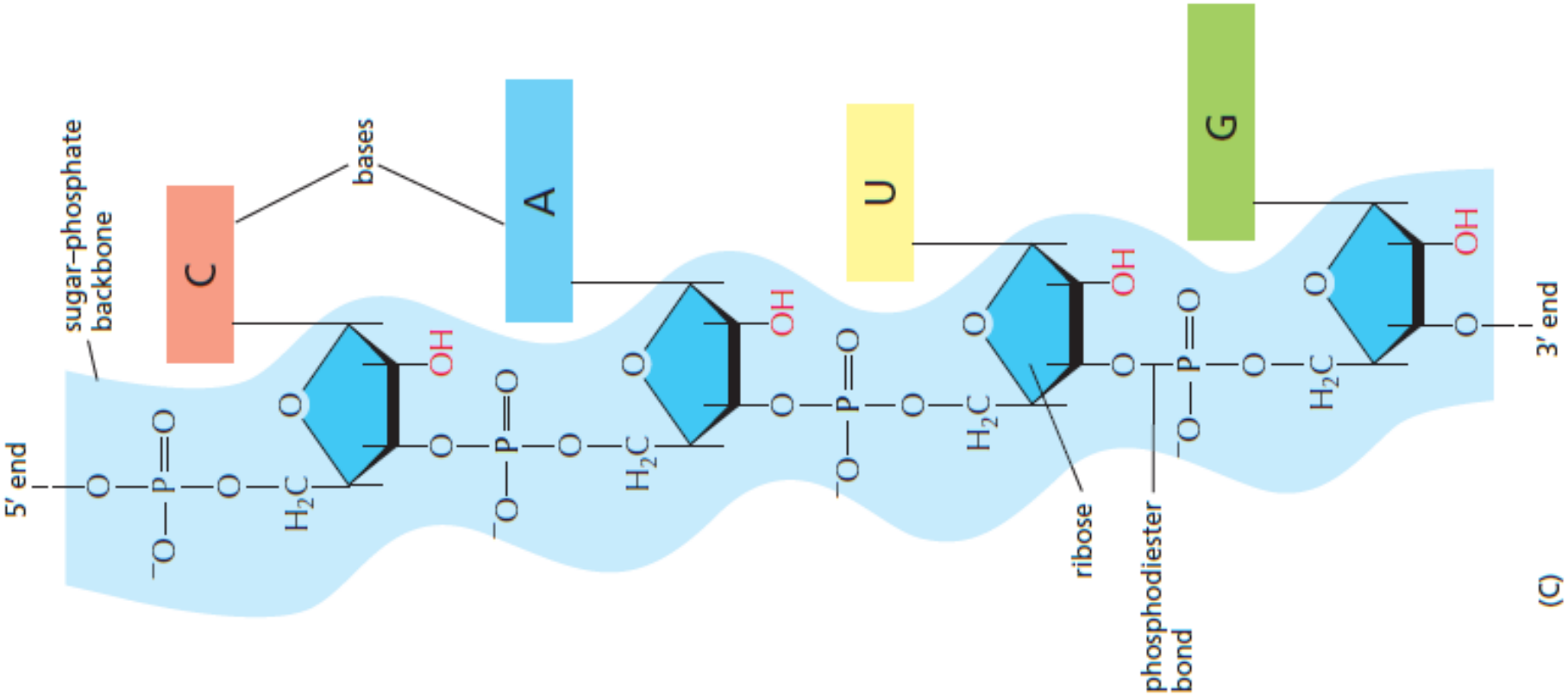
PROTEINES

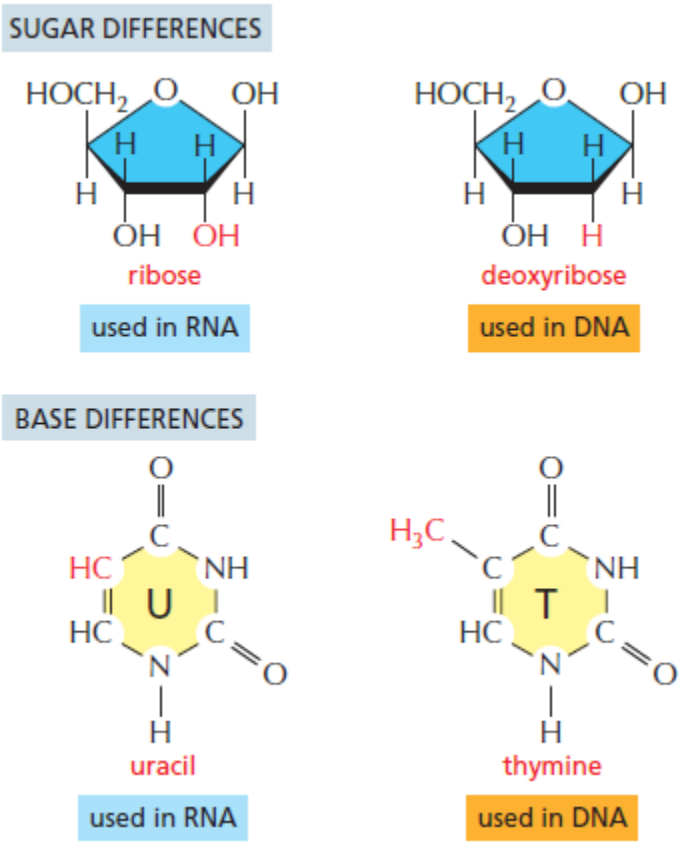


2. Les acteurs de la réplication

1 Les ribonucléosides triphosphates

ATP : Adénosine triphosphate
CTP : Cytidine triphosphate
GTP : Guanosine triphosphate
UTP : **Uridine** triphosphate



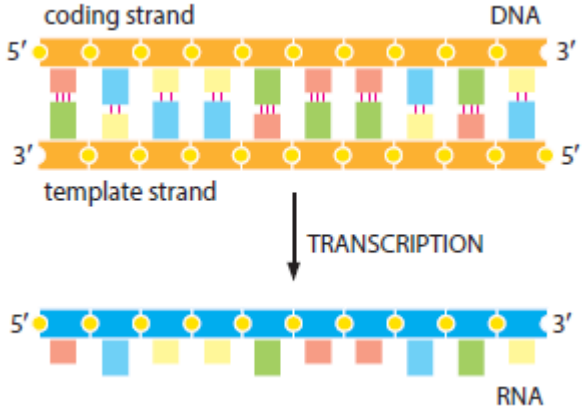


2 ARN polymérase ADN dépendante

ADNdb (matrice)
+
ATP, GTP, CTP, UTP

ARN polymérase

ADNdb + ARNsb

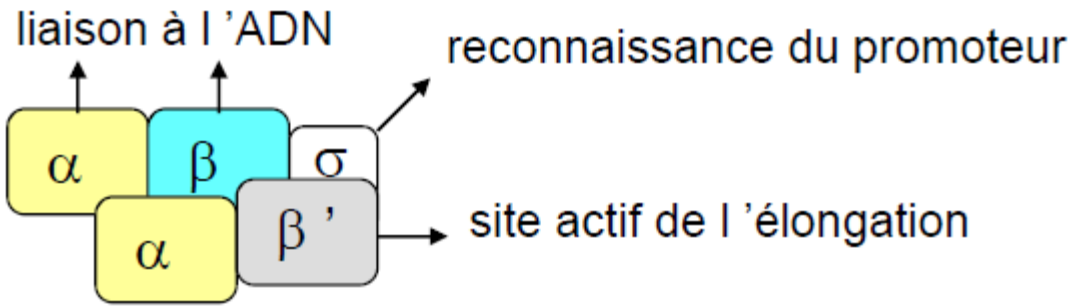


Synthèse d'ARN (transcription):

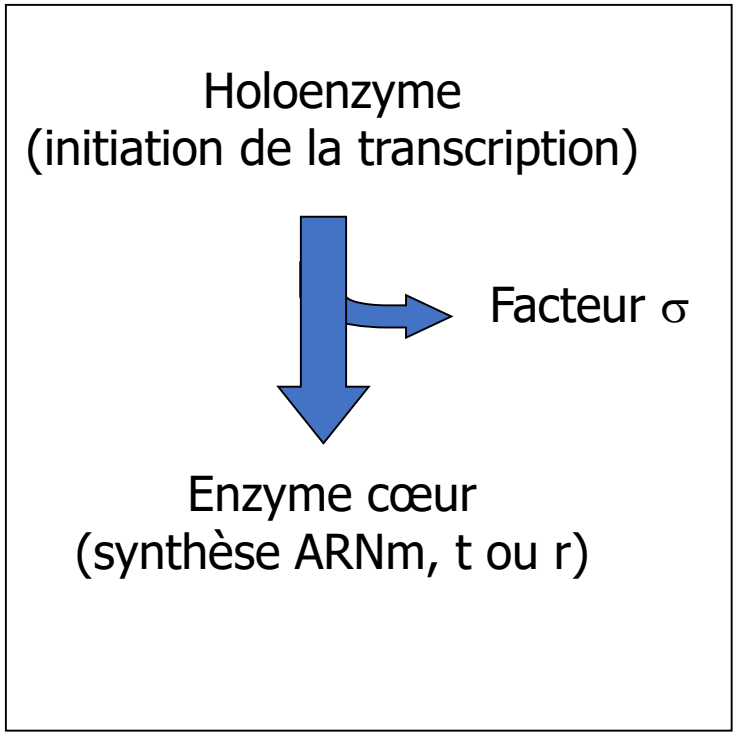
- Pas besoin d'amorce
- Sens 5′→3'
- Anti–parallèle à l'ADN matrice
- Complémentaire d'un des brins de l'ADN:

ADN		ARN
G	↔	C
C	↔	G
T	↔	A
A	↔	U

Chez les procaryotes : 1 seule enzyme



Sous-unités	Nb	Fonctions
α	2	Assemblage de l'enzyme Liaison au promoteur
β	1	Liaison nucléotides
β'	1	Liaison matrice ADN
σ	1	Reconnaissance du promoteur Initiation de la transcription



Chez les eucaryotes : 3 enzymes

3 Enzymes	Localisation nucléaire	Transcrits	Activité cellulaire
ARN polymérase I	nucléole	ARNr (5.8S, 18S, 28S)	60-70%
ARN polymérase II	nucléoplasme	ARNm ARNsn ARNsno LncRNA	10-30%
ARN polymérase III	nucléoplasme	ARNt ARNr 5S ARNsn	~10%

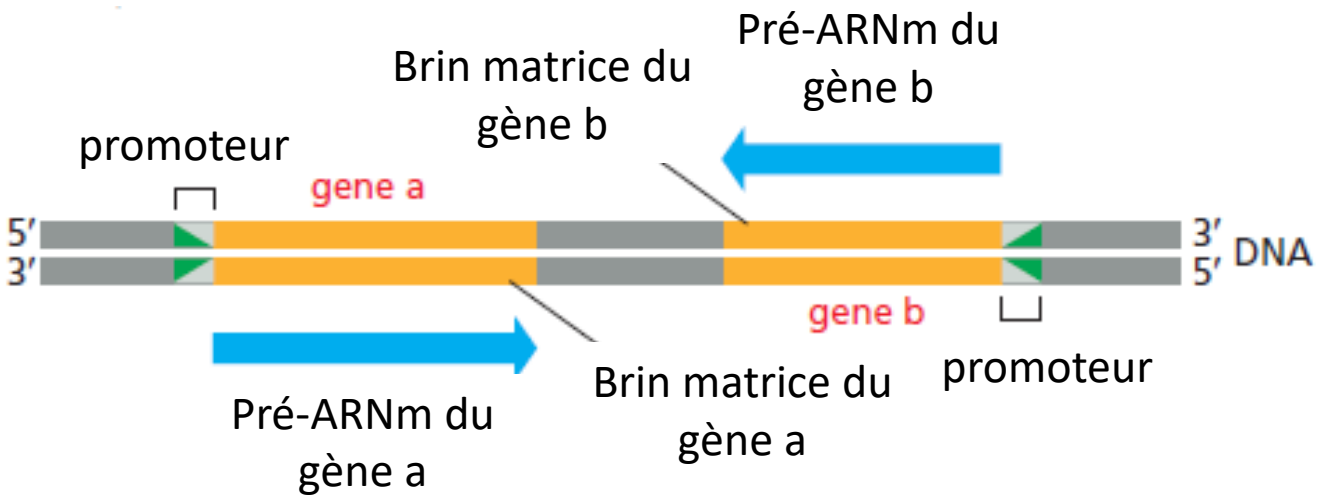
Inhibiteurs des ARN polymérases

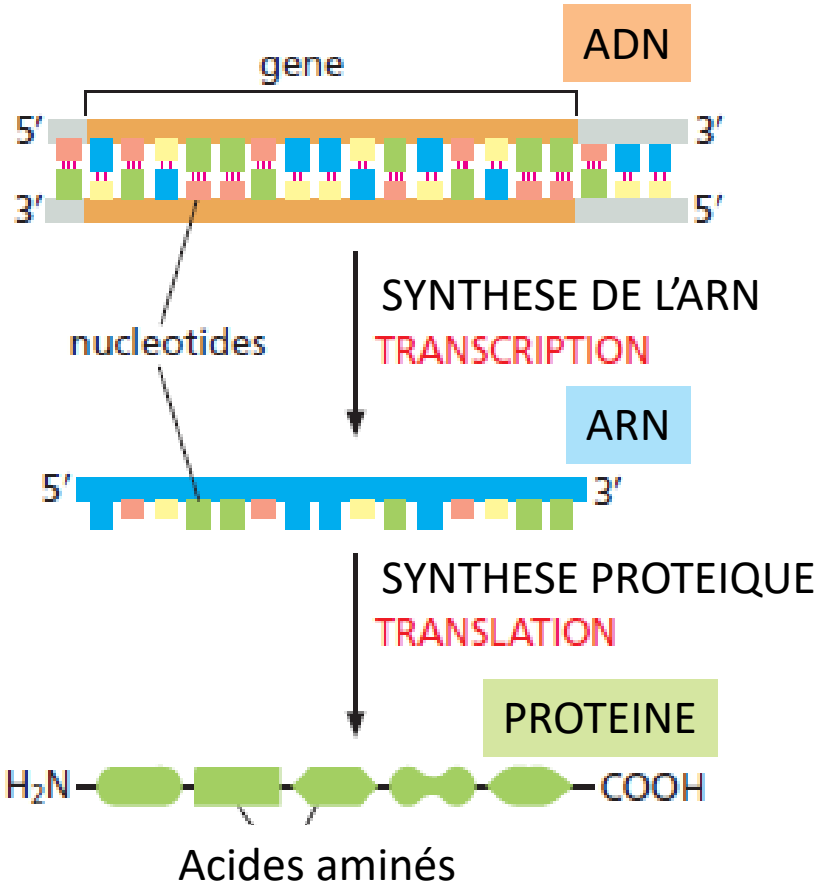
Inhibiteurs	ARN polymérase procaryote	ARN Polymérase eucaryote
Actinomycine D	X	X
Acridine	X	X
Rifampicine	X liaison sous unité β de l'ARN polymérase procaryote	
α Amanitine (toxine de champignon)		X

3 ADN double brin = matrice

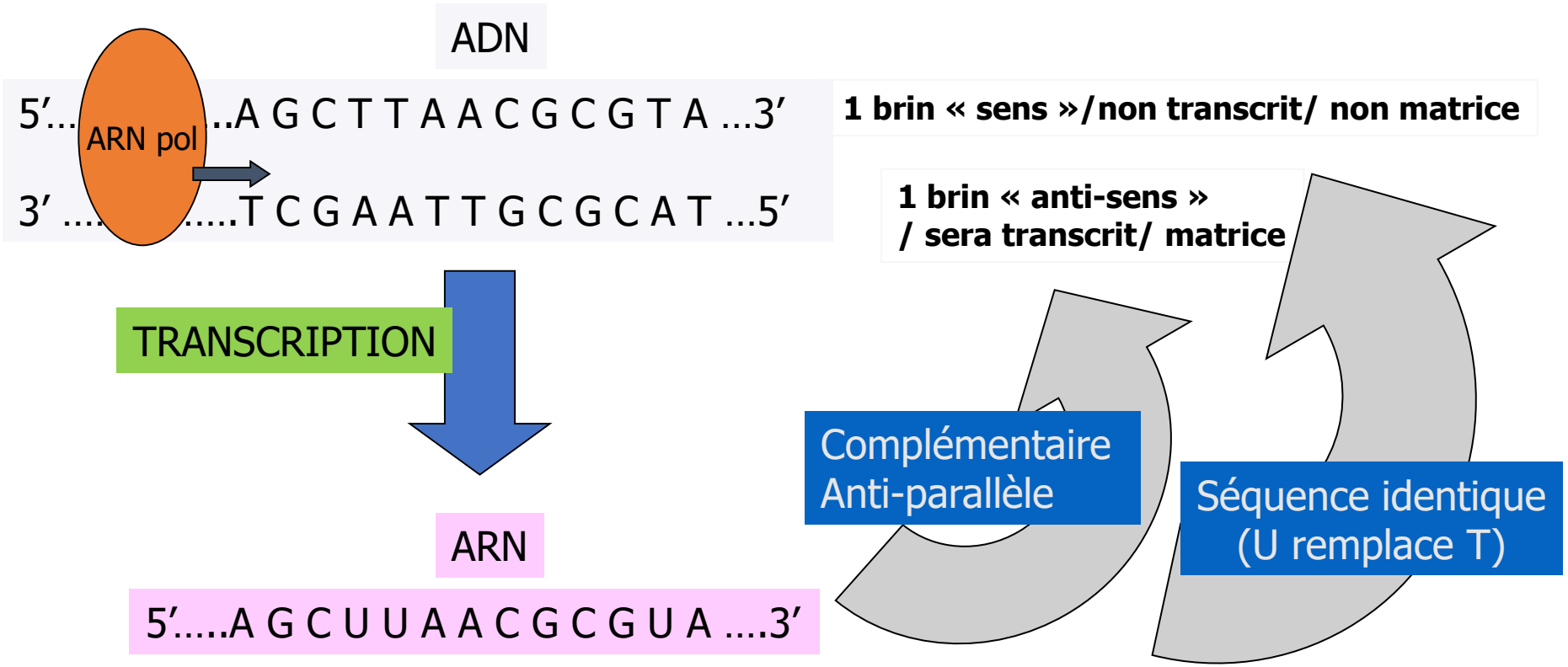
Seul un des brins **d'un gène donné** est utilisé comme matrice…

… Mais **les deux brins d'un même chromosome** peuvent servir de matrice lors de la transcription





Nomenclature des brins d'ADN



Par convention, lorsque l'on donne la séquence d'un gène, c'est celle du brin « sens »

3. Mécanismes de la transcription procaryote

3.1. L’initiation de la transcription

3.2. L’élongation

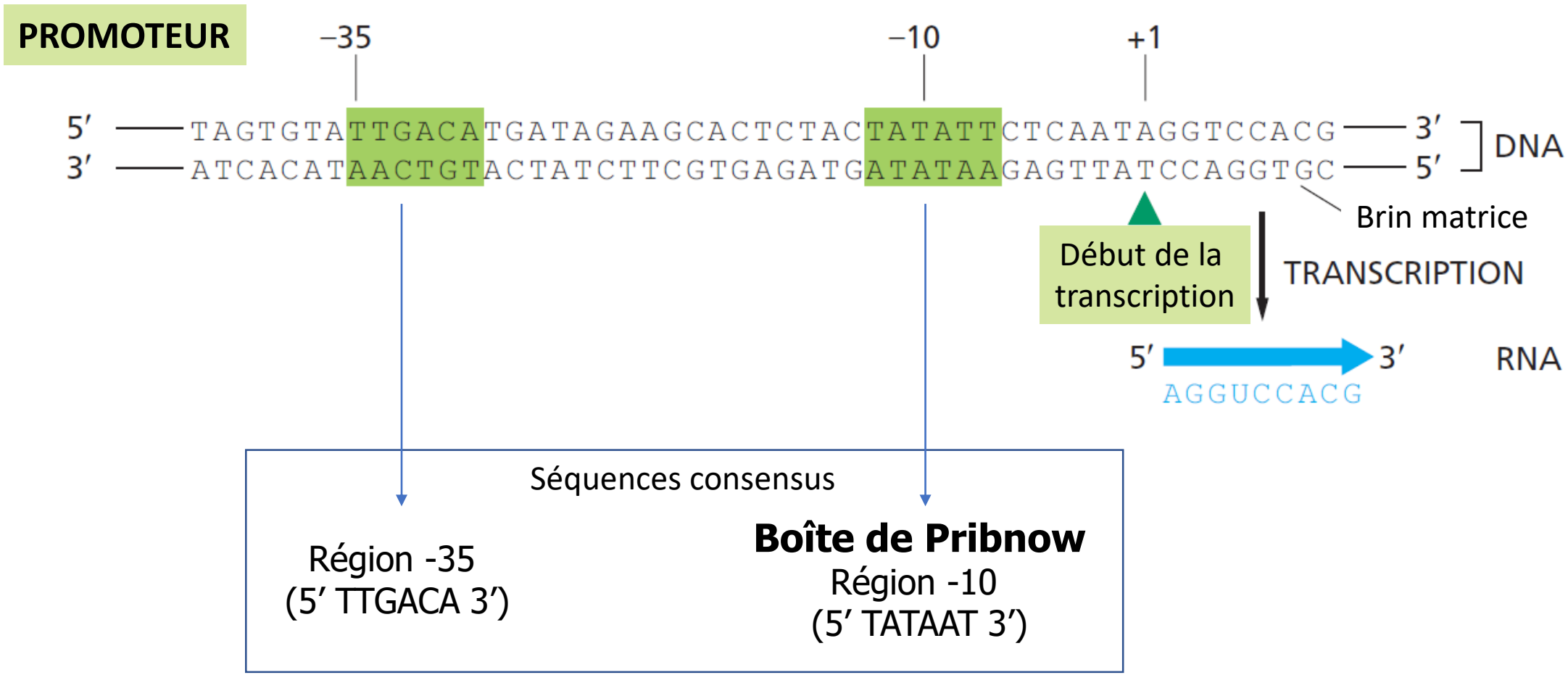
3.3. Terminaison

3.3.1. Terminaison directe (mécanisme « Rho-indépendant »)

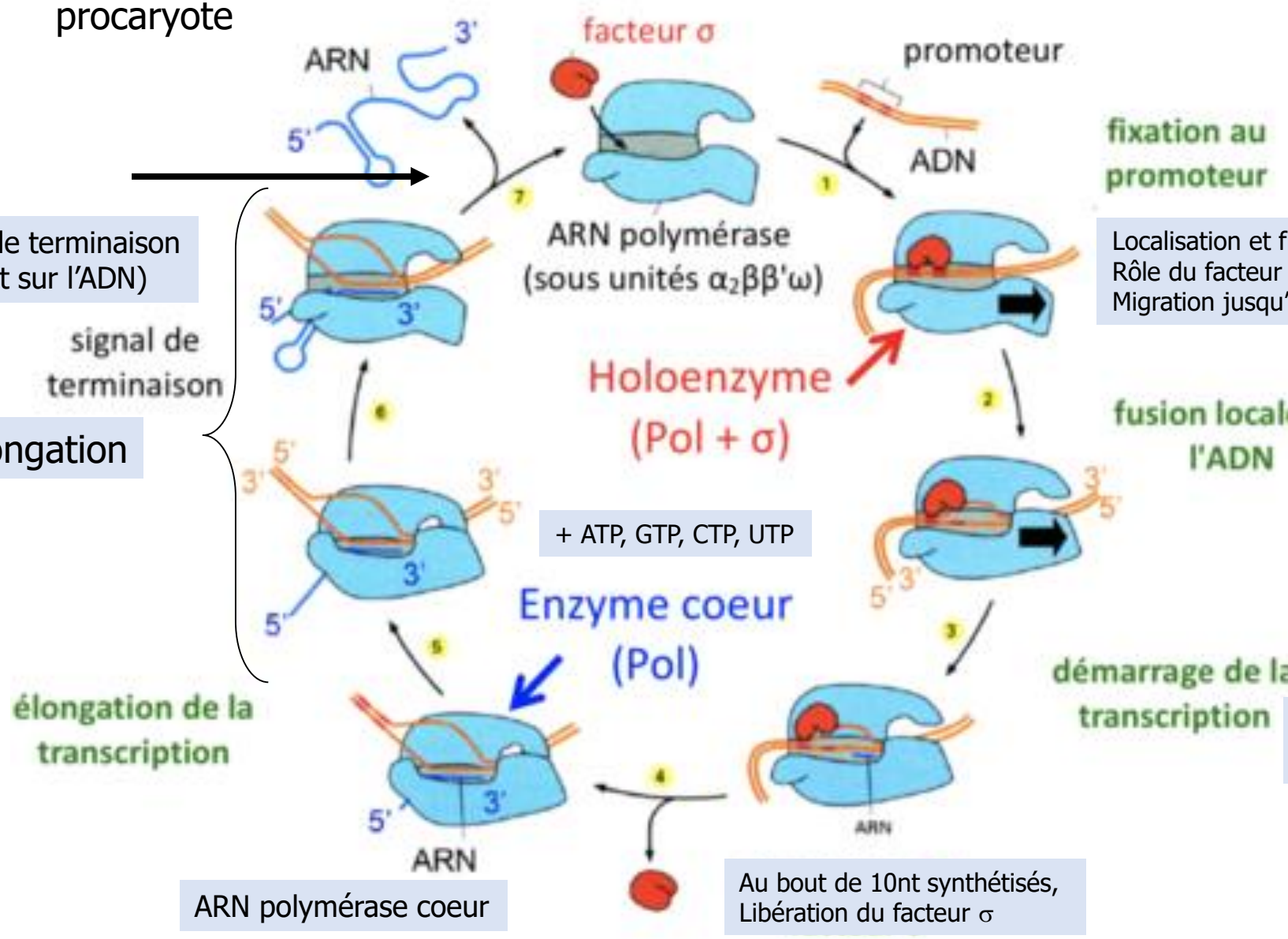
3.3.2. Terminaison indirecte : Protéine Rho à activité ATPasique

3. Mécanismes de la transcription procaryote

3.1. Initiation



ARN m, r ou t
procaryote



Signal de terminaison
(présent sur l'ADN)

Elongation

Localisation et fixation sur le promoteur -35
Rôle du facteur σ
Migration jusqu'à boite Pribnow

Ouverture de l'ADN
sur une courte région

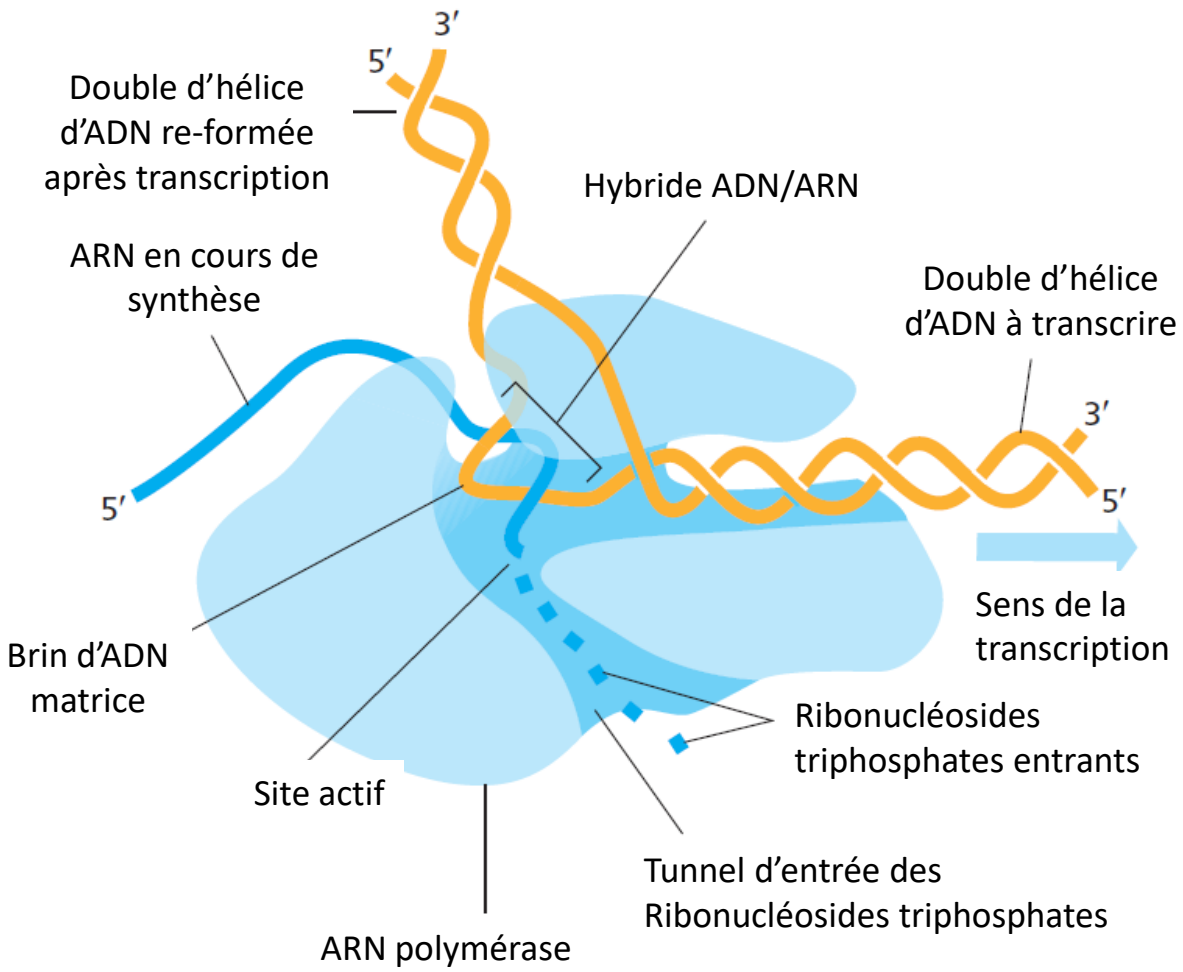
Initiation de la première
liaison phosphodiester

ARN polymérase coeur

Au bout de 10nt synthétisés,
Libération du facteur σ

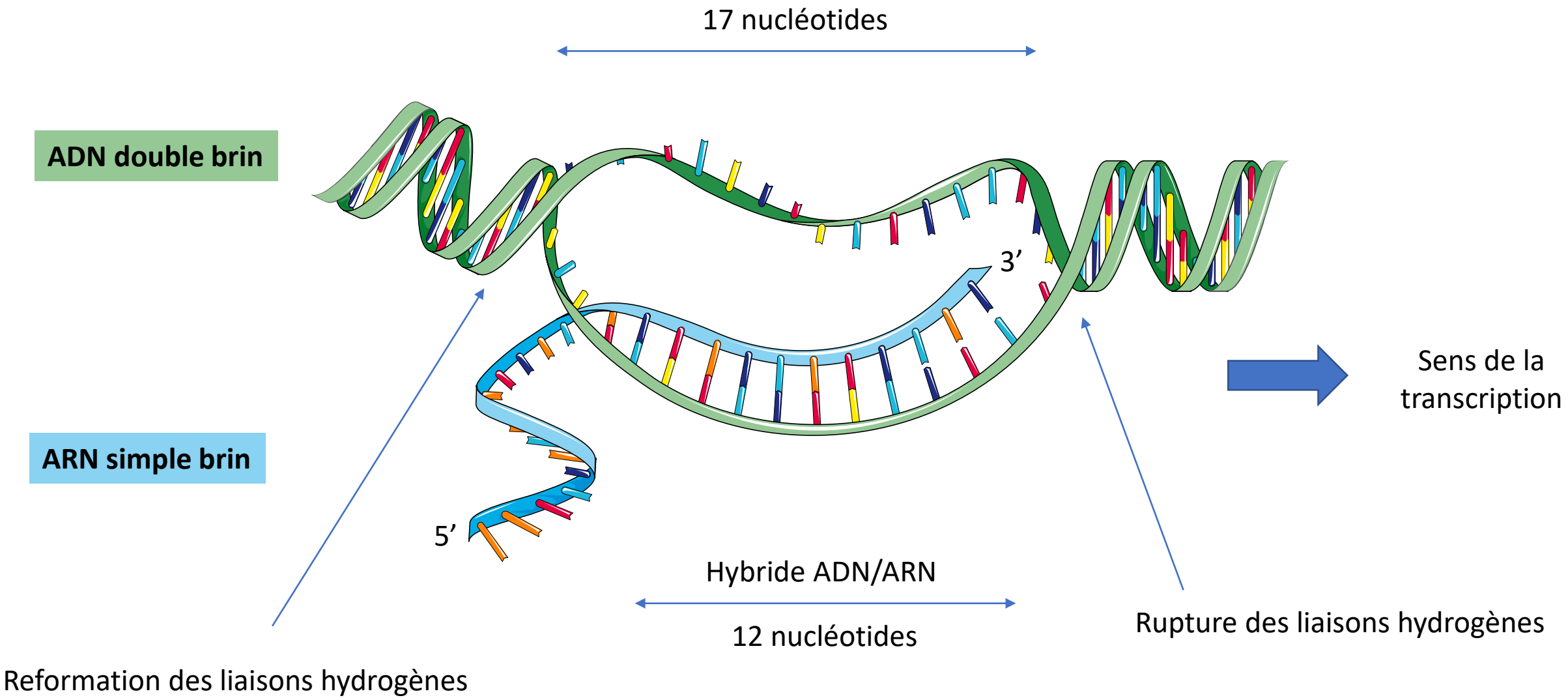
3. Mécanismes de la transcription procaryote

3.2. Elongation



- **Elongation** de l'ARN dans le sens 5' → 3' par formation de liaisons phosphodiesters
- **Lecture** du brin matrice dans le sens 3' → 5'
- Nécessité l'ouverture de l'ADN double brin sur quelques nucléotides puis ré-appariement des 2 brins d'ADN
- ARN pol associée à des facteurs d'élongation
- Possède deux fonctions correctrices :
  - correction pyrophospholytique
  - correction hydrolytique

Formation d'une boucle de transcription



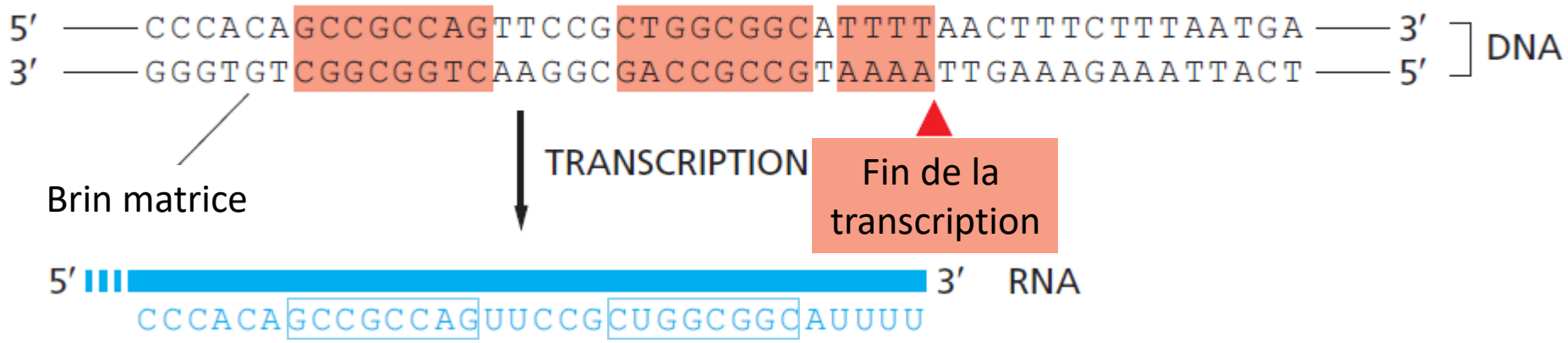
3. Mécanismes de la transcription procaryote

3.3. Terminaison

3.3.1. Terminaison directe (mécanisme « Rho-indépendant »)

SEQUENCES TERMINATRICES

Ce sont des palindromes imparfaits



SEQUENCES TERMINATRICES

Ce sont des palindromes imparfaits

5′ —— CCCACAGCCGCCAGTTCCGCTGGCGGCATTTTAACTTTCTTTAATGA —— 3′
3′ —— GGGTGTCGGCGGTCAAGGCGACCGCCGTAAAATTGAAAGAAATTACT —— 5′
DNA

Brin matrice

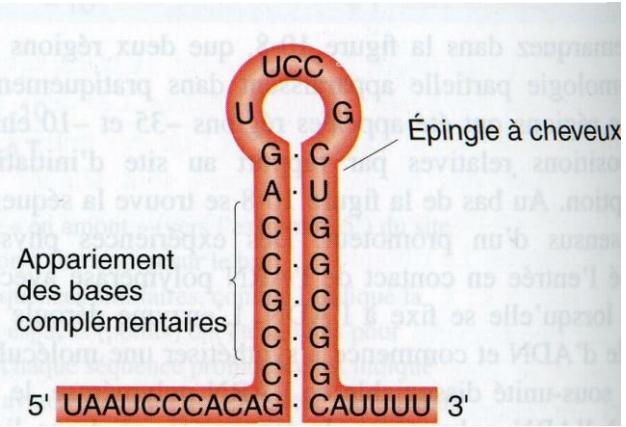
TRANSCRIPTION

Fin de la transcription

5′ 3′ RNA
CCCACAGCCGCCAGUUCCGCUGGCGGCAUUUU

Transcription de ces séquences qui sont complémentaires

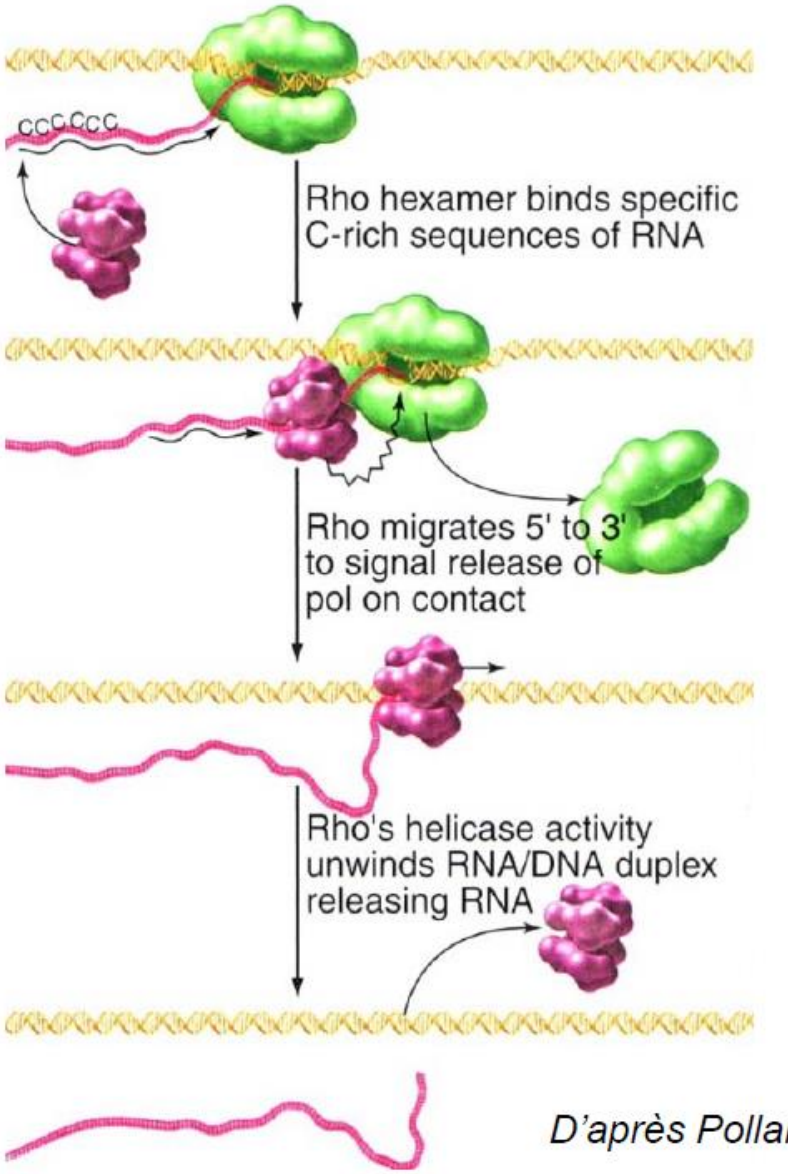
Formation d'une structure en épingle à cheveux



Hybride ADN/ARN instable

Dissociation ADN/ARN
Arrêt de la transcription

3.3.2. Terminaison indirecte : Protéine Rho à activité ATPasique



D'après Pollard and Earnshaw, Cell Biology, 2008

4. Mécanismes de la transcription eucaryote

4.1. Différences fondamentales avec la transcription eucaryote
4.2. Initiation
4.3. Elongation et maturation
    4.3.1 Schéma d'un gène eucaryote
    4.3.2 Ajout de la coiffe en 5'
    4.3.3 Coupure et polyadénylation en 3'
    4.3.4 Epissage
    4.3.5 Différence de maturation entre eucaryotes et procaryotes
    4.3.6. L'épissage alternatif
4.4. Transport hors du noyau

4. Mécanismes de la transcription eucaryote

4.1. Différences fondamentales avec la transcription eucaryote

1 Localisation cellulaire :

Procaryotes : cytoplasme

Eucaryotes : noyau

2 ARN polymérases :

Procaryotes : une seule

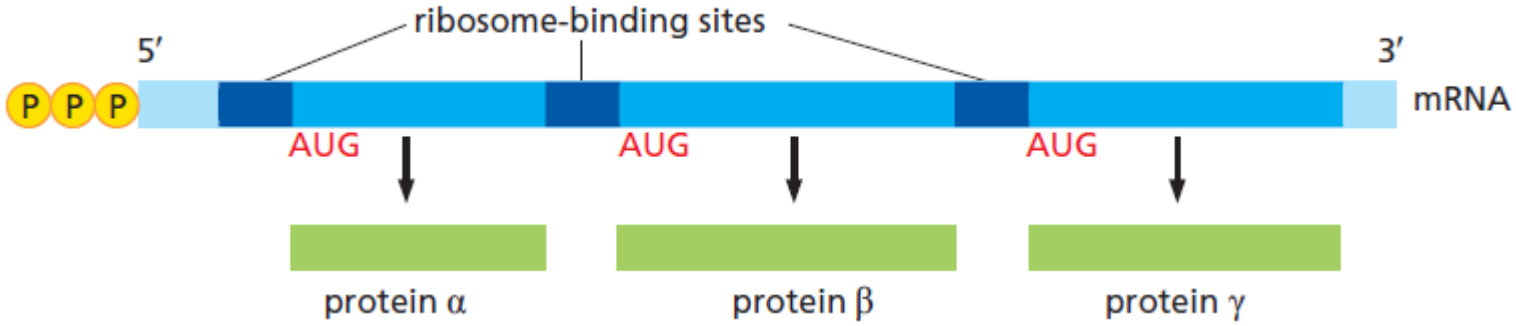
Eucaryotes : trois

3 Chez les eucaryotes uniquement :

Maturation d'un précurseur (transcrit primaire) en ARN mature fonctionnel

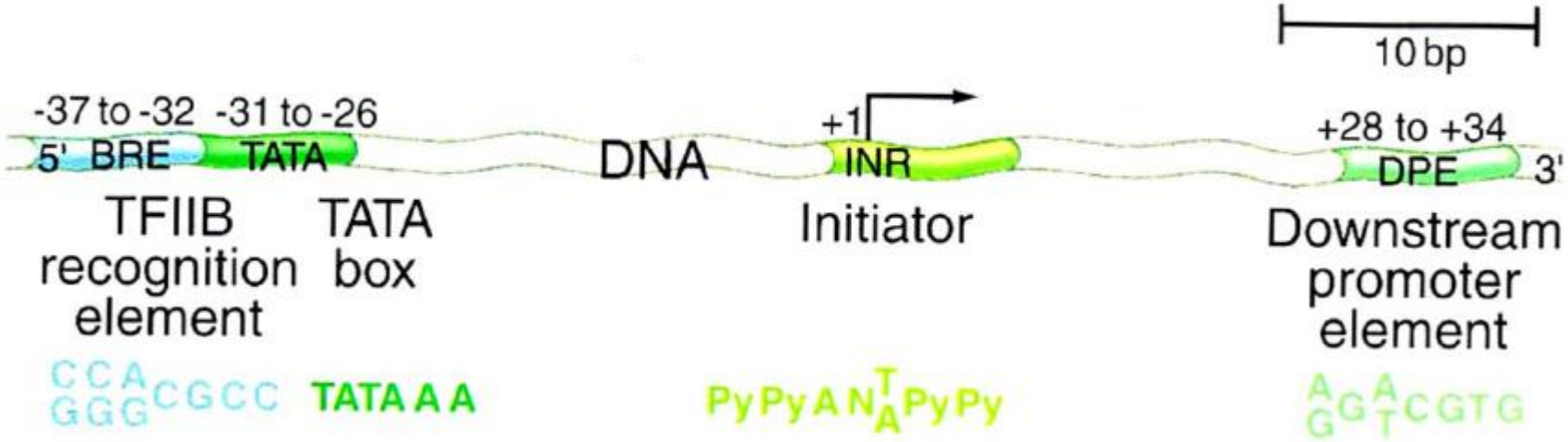
Les ARNm seront exportés hors du noyau avant d'être traduits.

Pas d'ARN polycistroniques



4. Mécanismes de la transcription eucaryote

4.2. Initiation



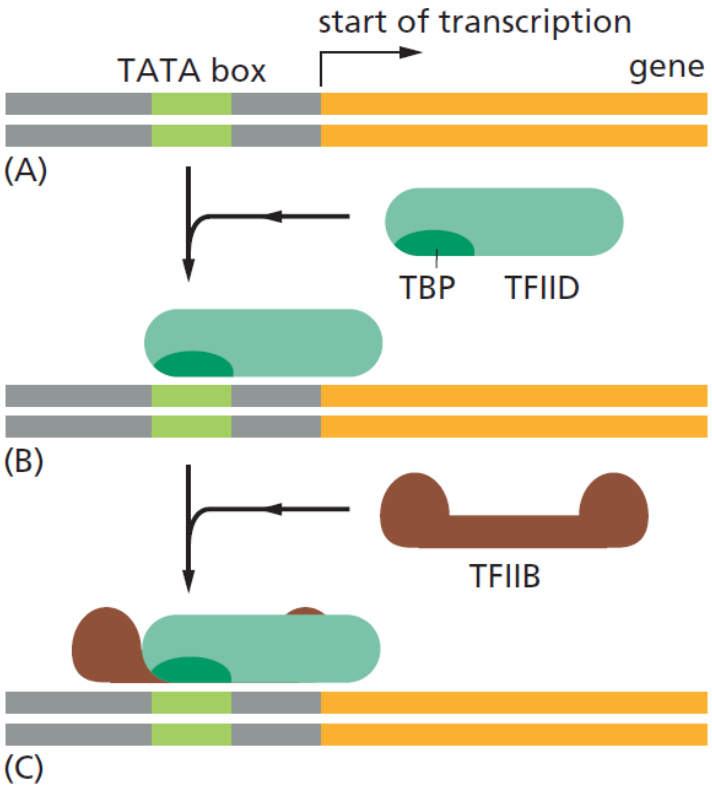
La région promotrice fait intervenir plusieurs séquences consensus

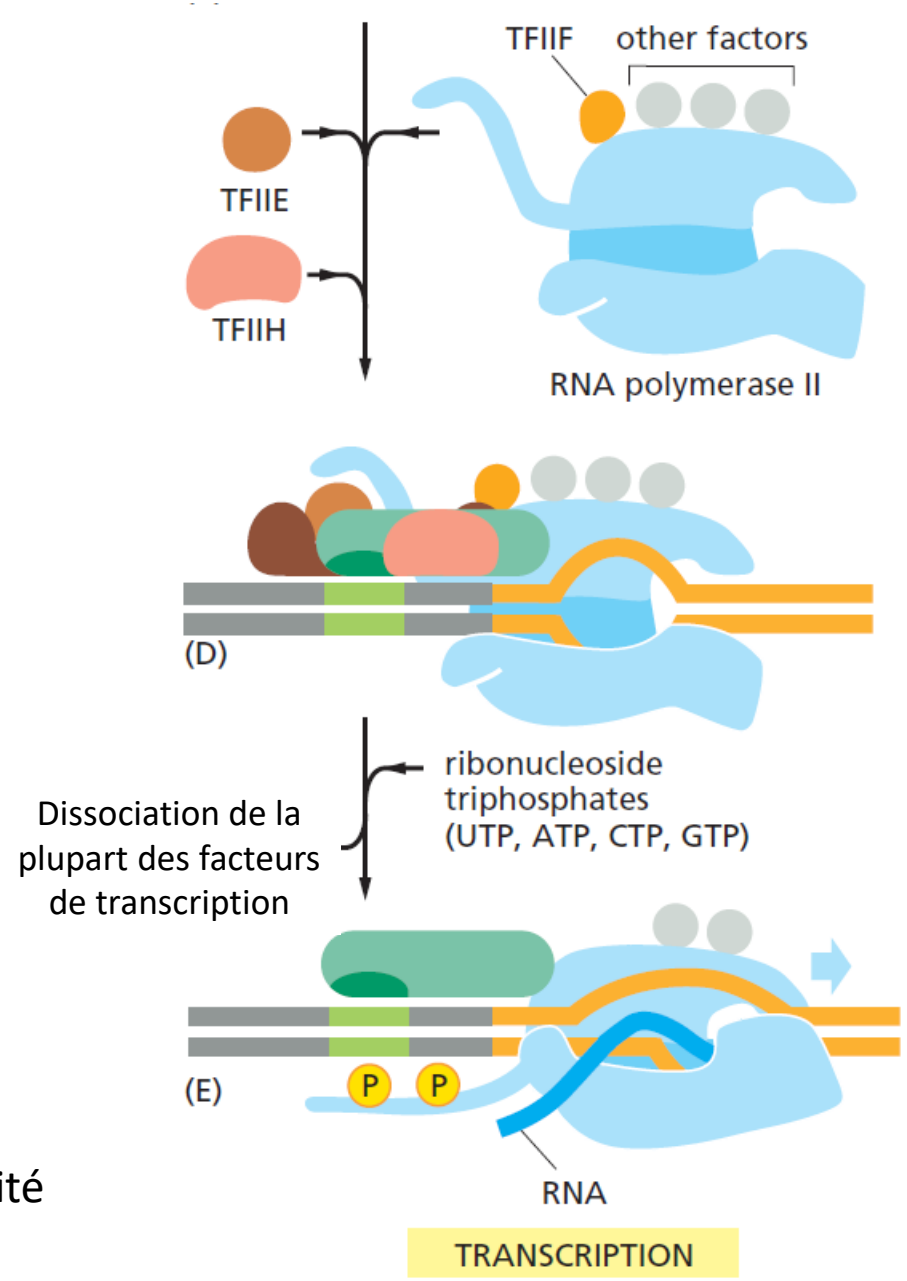
La plus importante (promoteur): **boîte TATA** (5’ TATAAA 3’)

Localisation: -31 à -26

d’après Pollard and Earnshaw, Cell Biology, 2008

Initiation de la transcription d'un gène eucaryote par l'ARN pol II

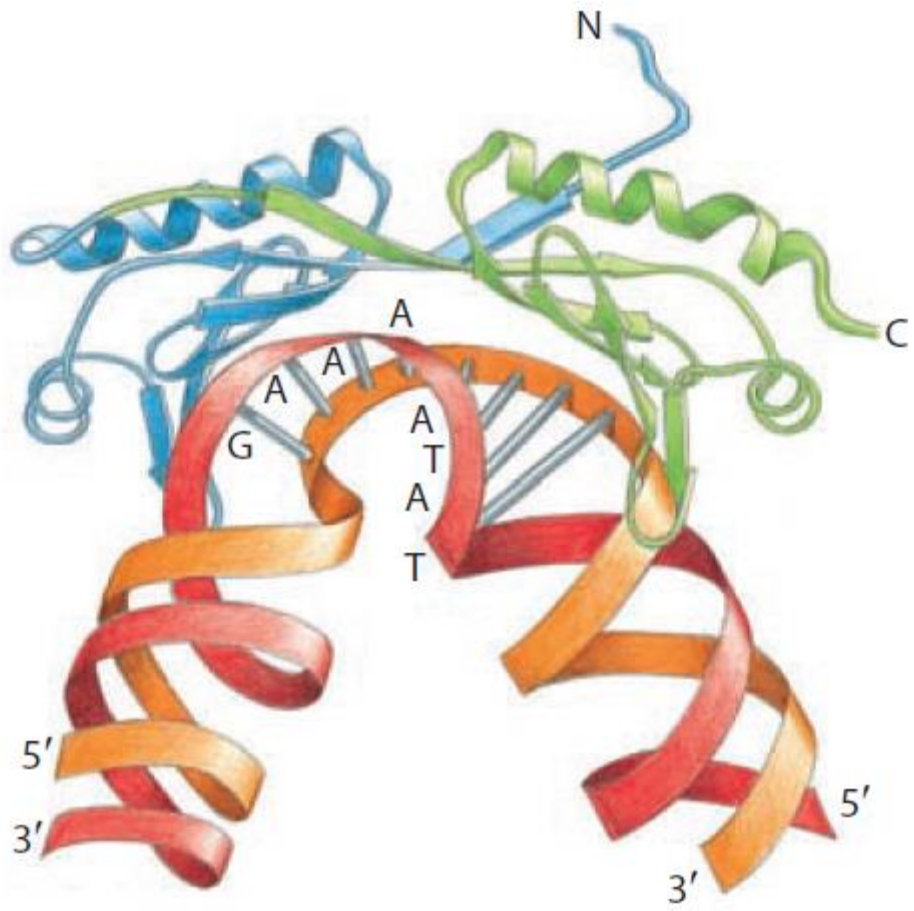




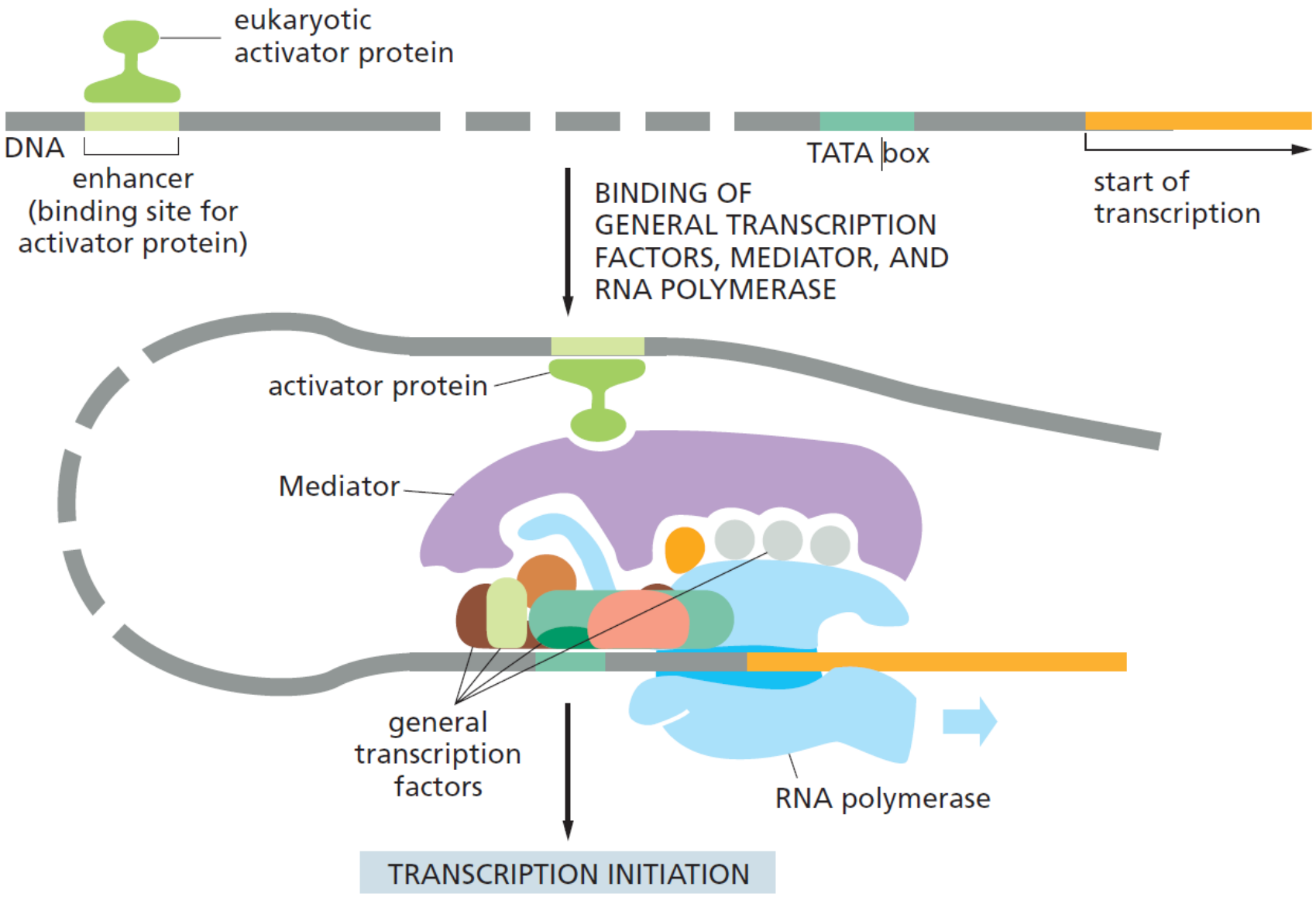
Formation d'un complexe d'initiation de la transcription

Reconnaissance de la boite TATA par une sous-unité du facteur TFIID : la *TATA-binding protein (TBP).*

Distorsion de l'ADN induite par la liaison de TFIID



Régulation de la transcription d'un gène eucaryote (cf cours dédié)

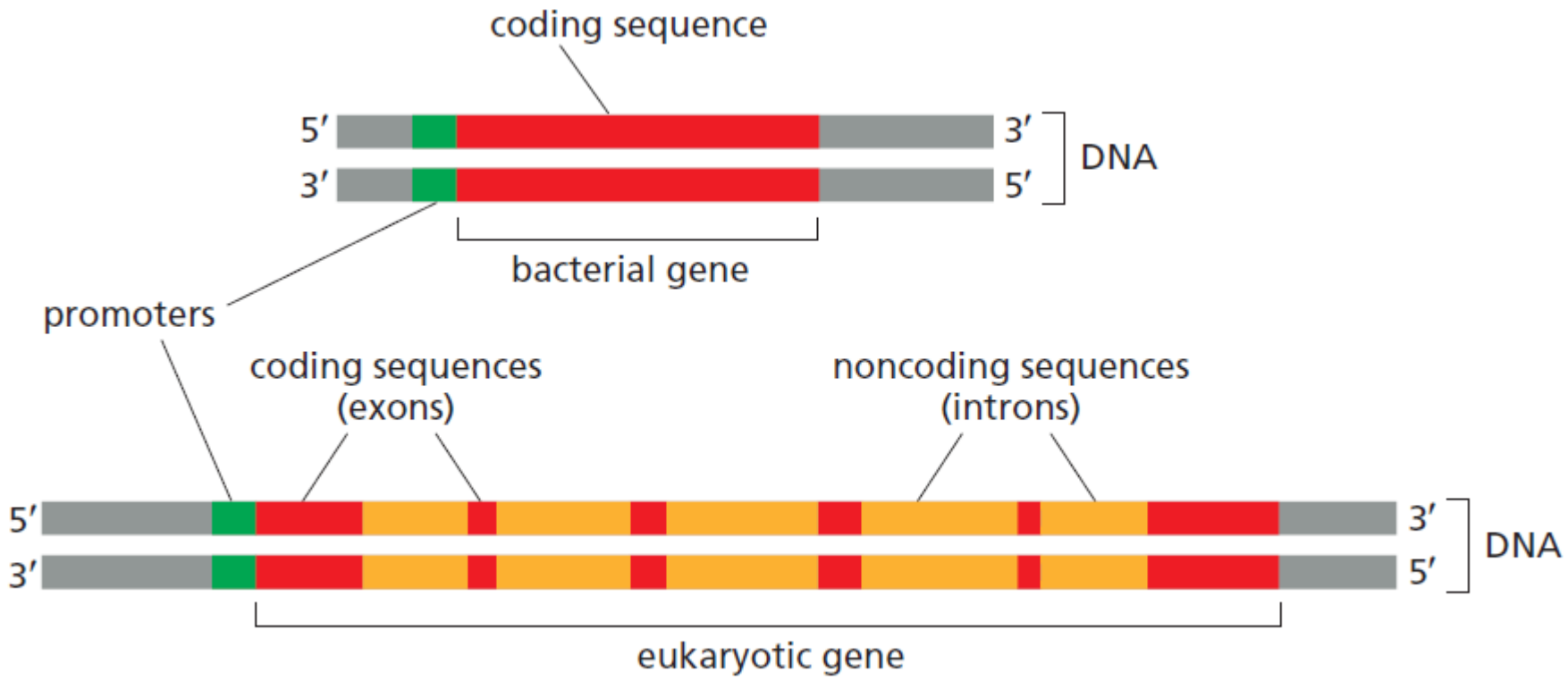


4. Mécanismes de la transcription eucaryote

4.3. Elongation et maturation

La **maturation** s'effectue dans le noyau et comprend :

- modification covalente des deux extrémités 5' et 3'
- retrait des introns par le processus d'épissage

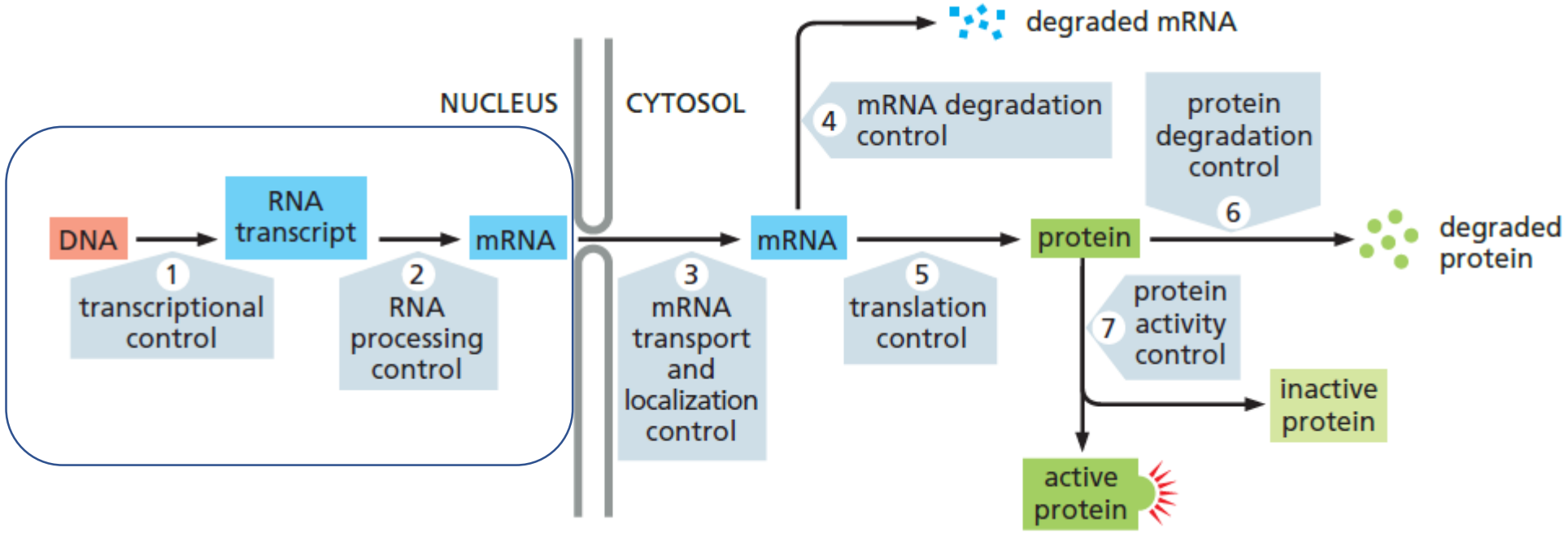


4. Mécanismes de la transcription eucaryote

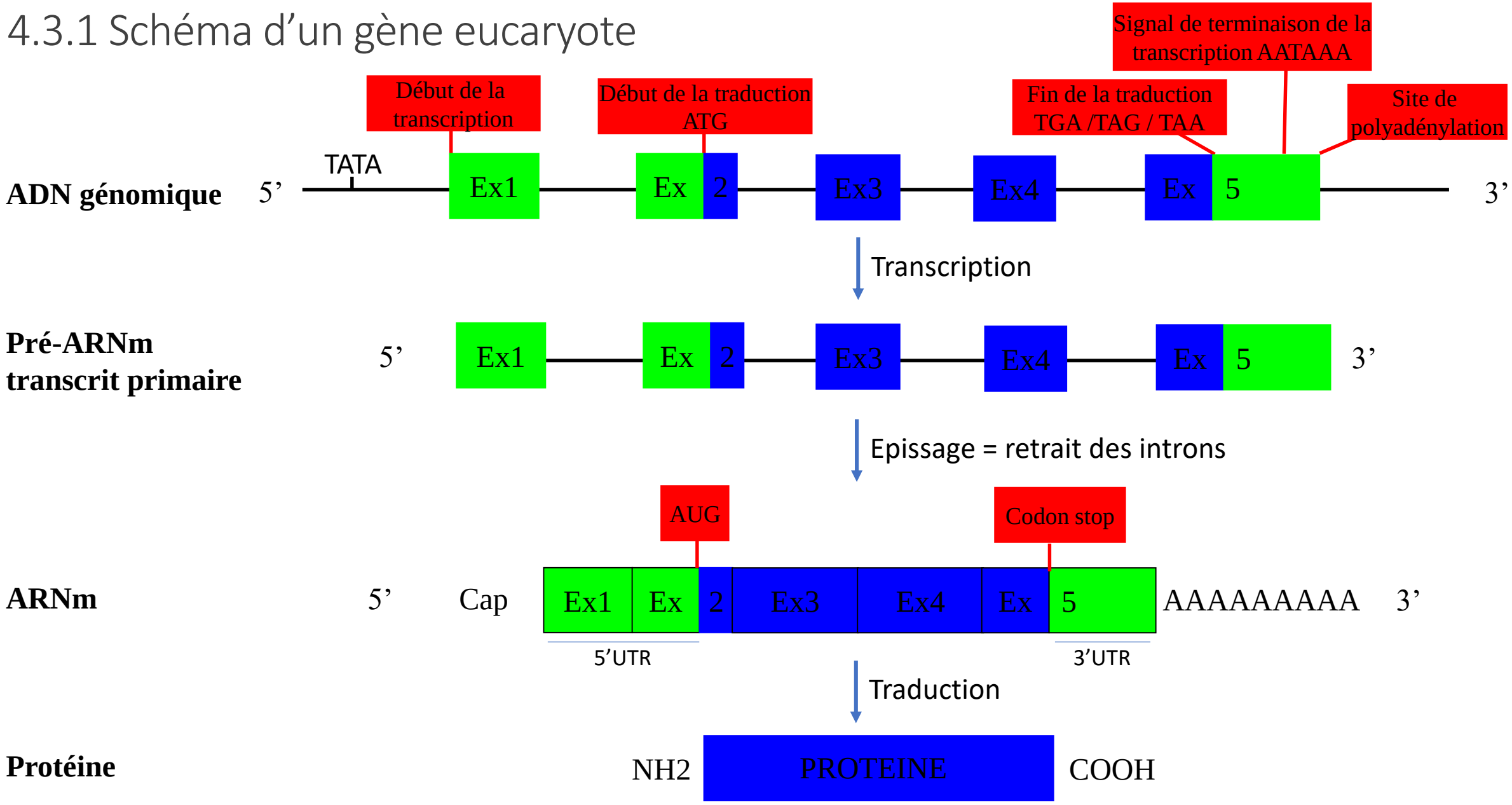
4.3. Elongation et maturation

La **maturation** s'effectue dans le noyau et comprend :

- modification covalente des deux extrémités 5' et 3'
- retrait des introns par le processus d'épissage



4.3.1 Schéma d'un gène eucaryote

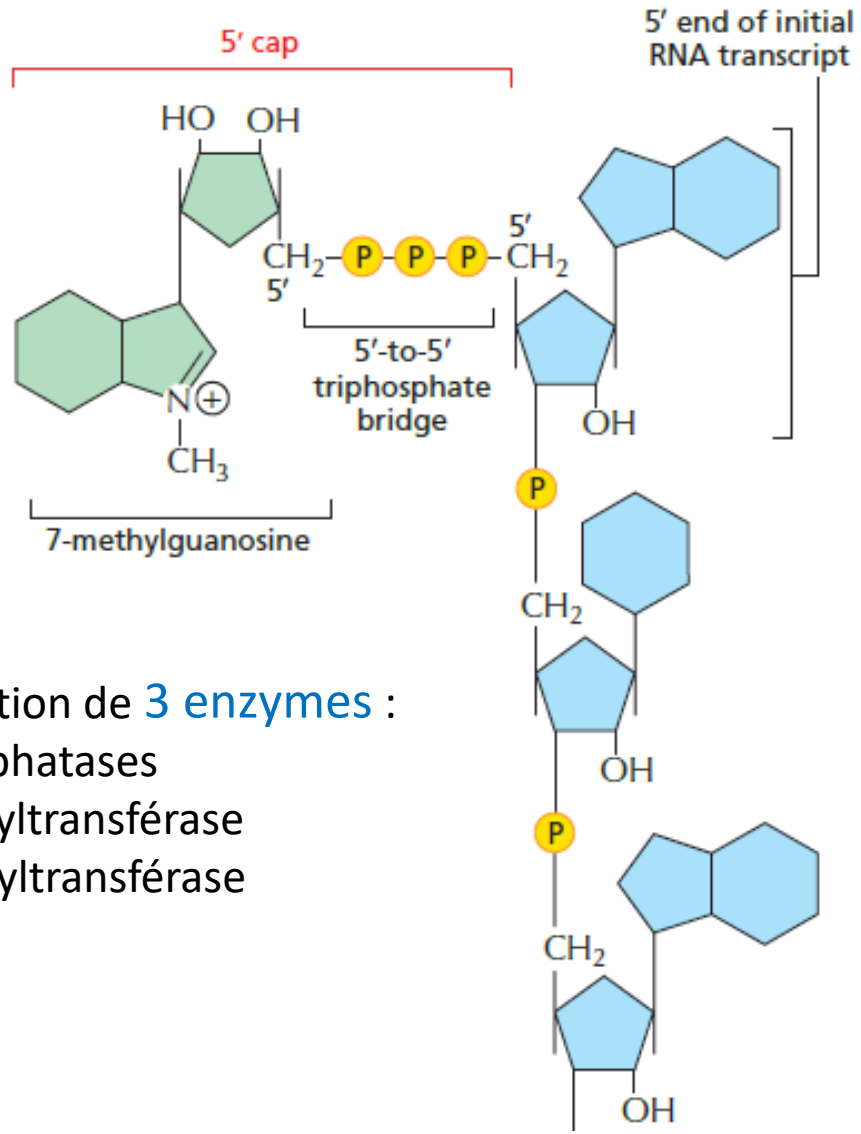


Ex Séquences exoniques non traduites

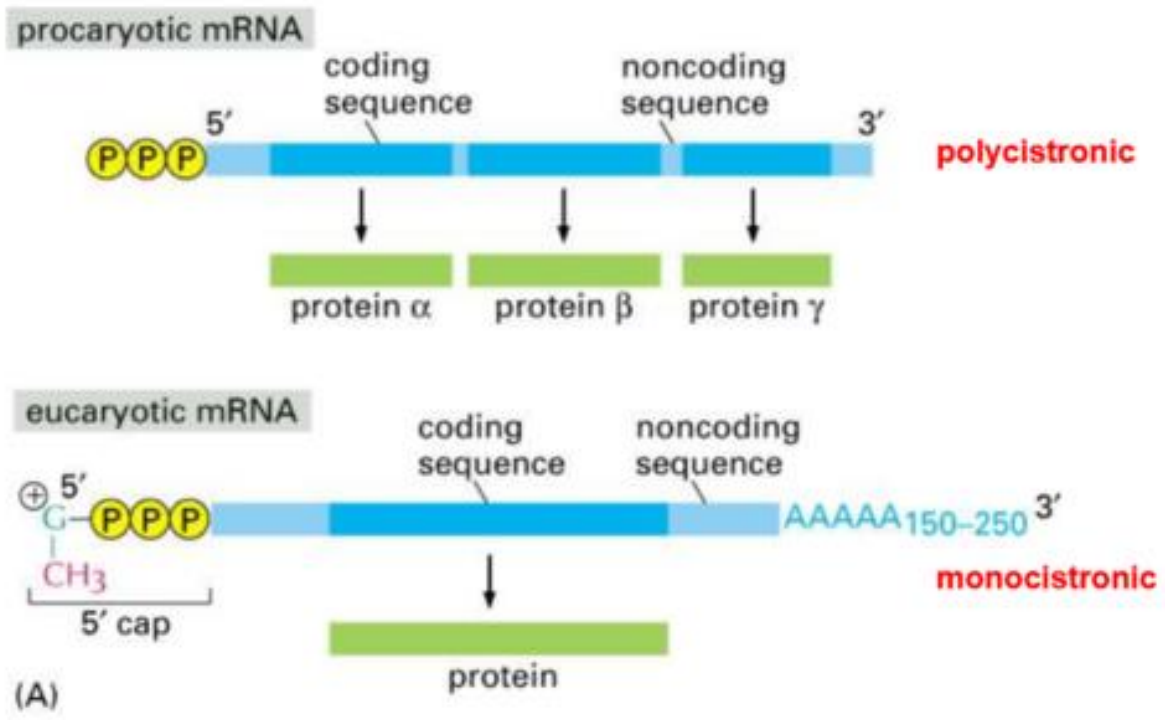
Ex Séquences exoniques traduites

Introns

4.3.2 Ajout de la coiffe en 5’



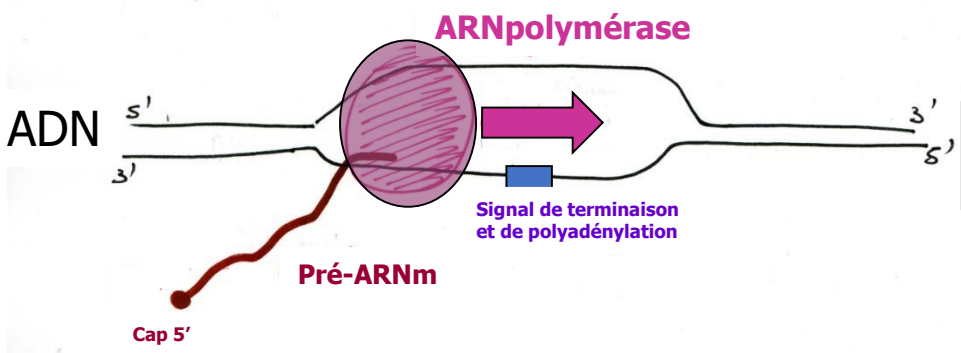
Dans les cellules eucaryotes, l’ajout de la coiffe a lieu après que l'ARN polymérase II ait transcrit environ 25 nucléotides de l'ARN pré-messager.



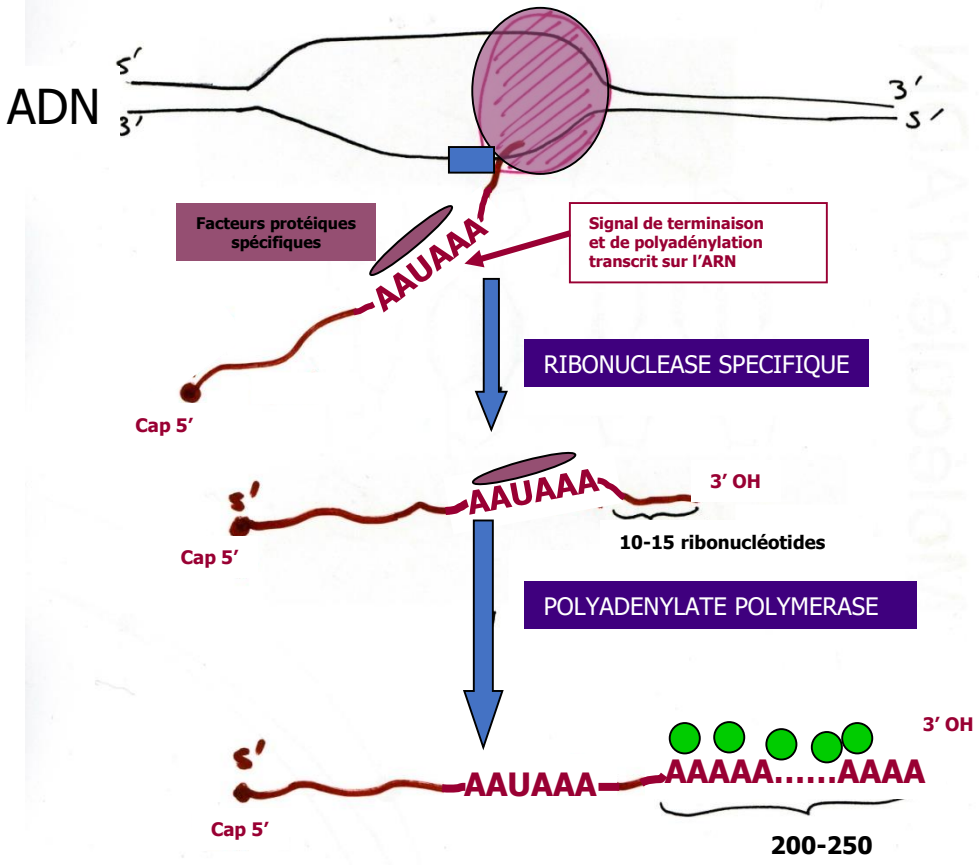
Intervention de 3 enzymes :

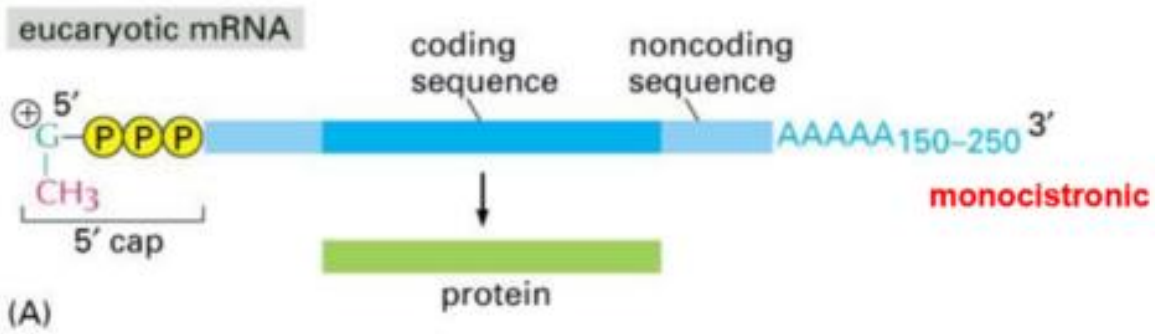
- Phosphatases
- Guanyltransférase
- Méthyltransférase

4.3.3 Coupure et polyadénylation en 3’



= séquence conservée de la terminaison de la transcription

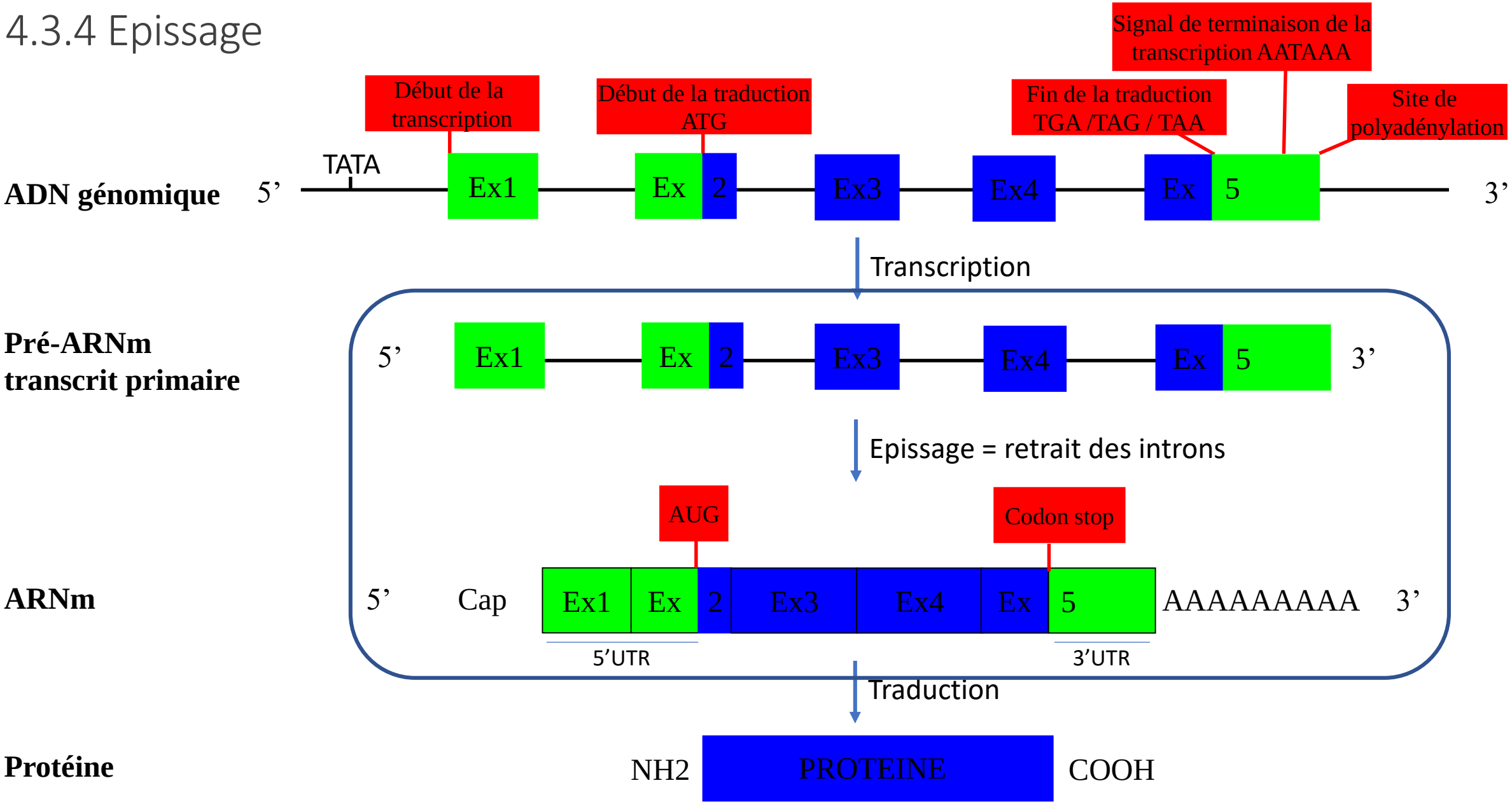




Queue polyA en 3’ spécifique des ARNm eucaryotes

● PolyA binding proteins

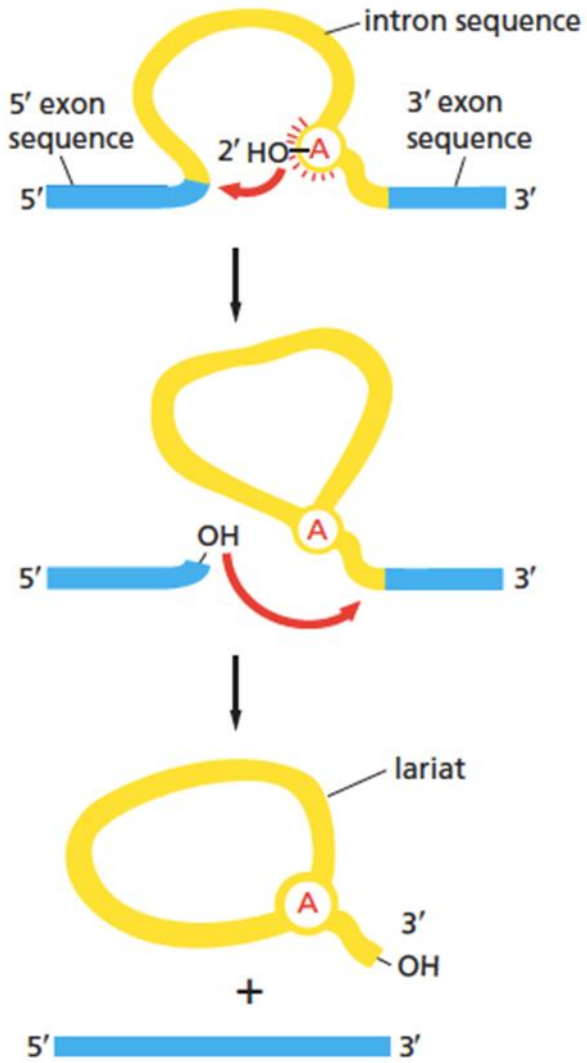
4.3.4 Epissage



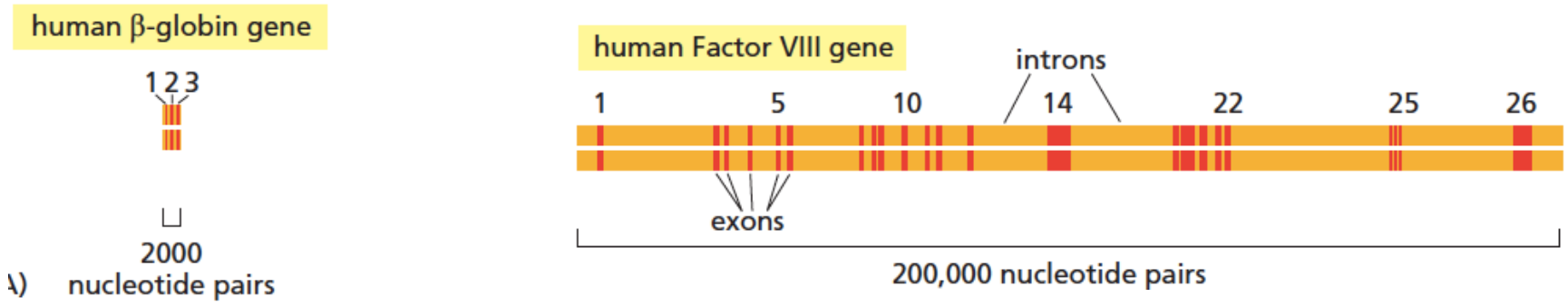
Mécanisme simplifié

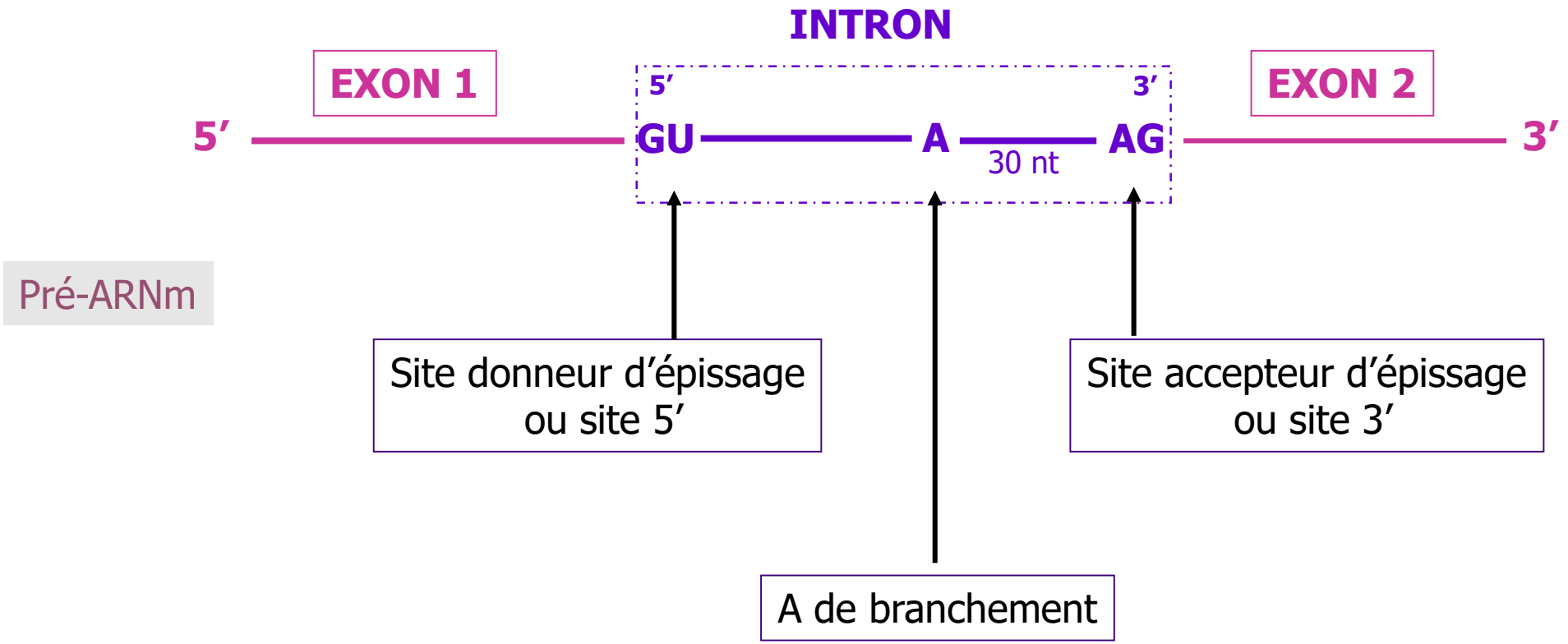
<u>Étape 1 :</u> Première coupure en 5’ de l’intron et transestérification : OH en 2’ du ribose du A de branchement se lie au 5’ du P de l’intron : formation du lasso

<u>Étape 2 :</u> Deuxième réaction de transesterification: le 3’OH de l’exon libéré vient attaquer le PO_4 de la jonction intron-exon en aval

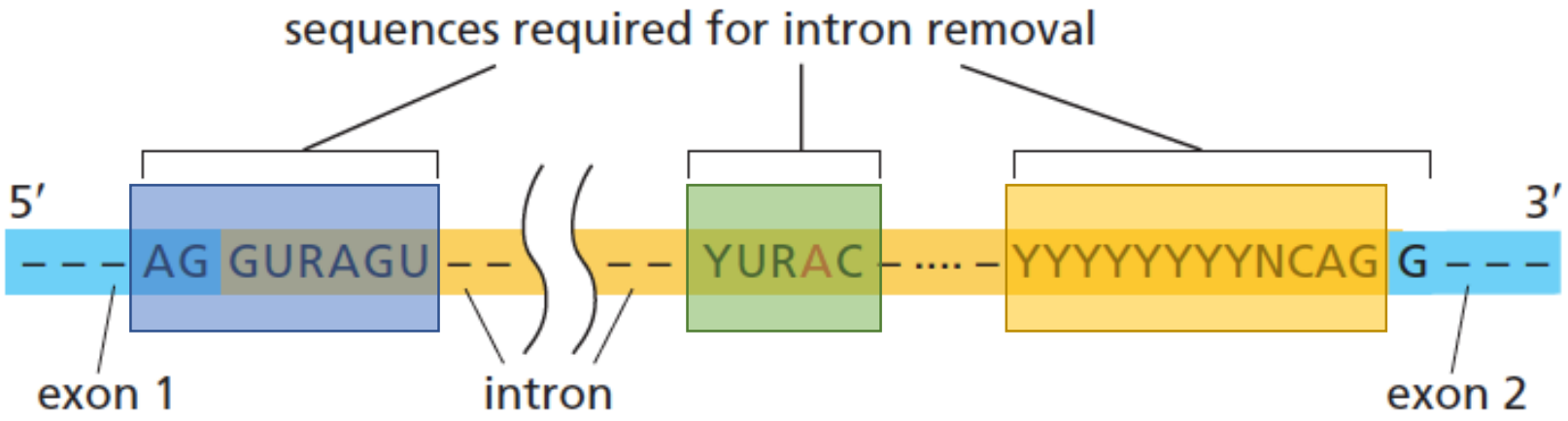


Structure simplifiée des introns





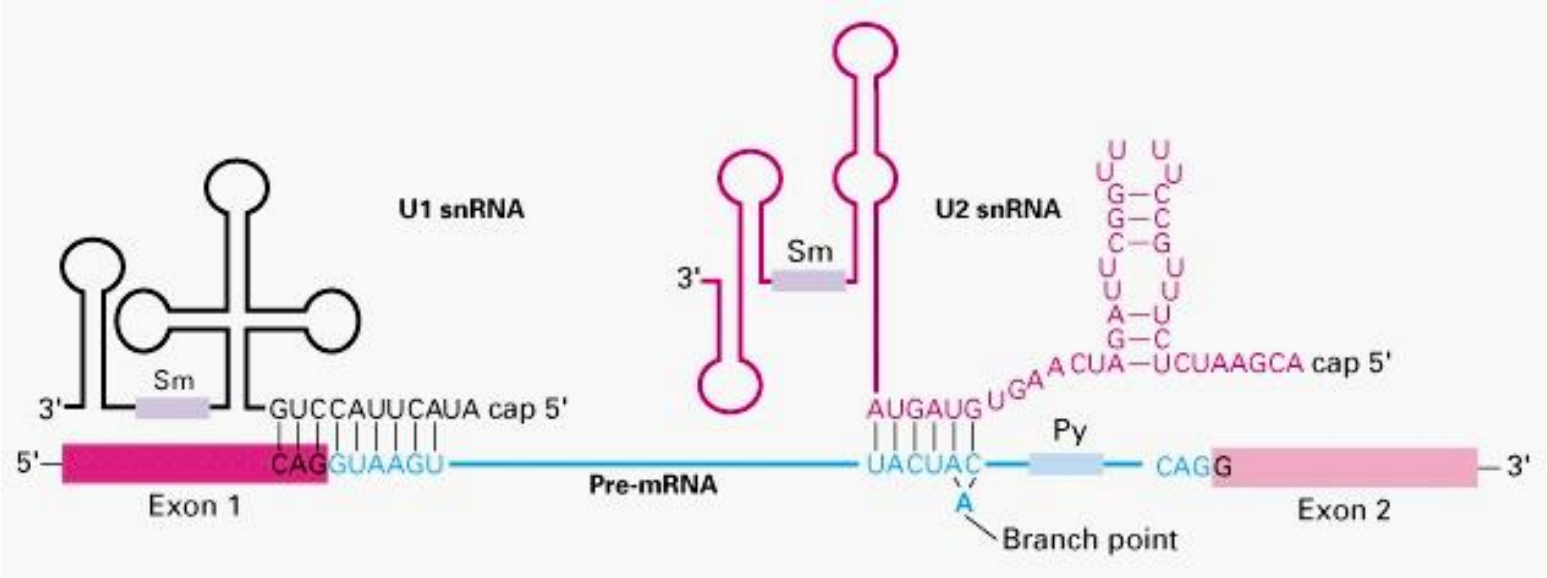
Structure détaillée des introns



Site **Donneur** = en 5’ de l’intron	**Boite** de branchement	Site **Accepteur** = en 3’ de l’intron
+1 et +2 : GU en 5’ dans 100% des introns +3 : A ou G dans 95% des cas	Contient le « A » de branchement 20 à 50 nt en amont du site accepteur	-1 et -1 : AG en 3’ dans 100% des introns -3 : C dans 80% des cas 15 pb : Région Riche en Pyridimine

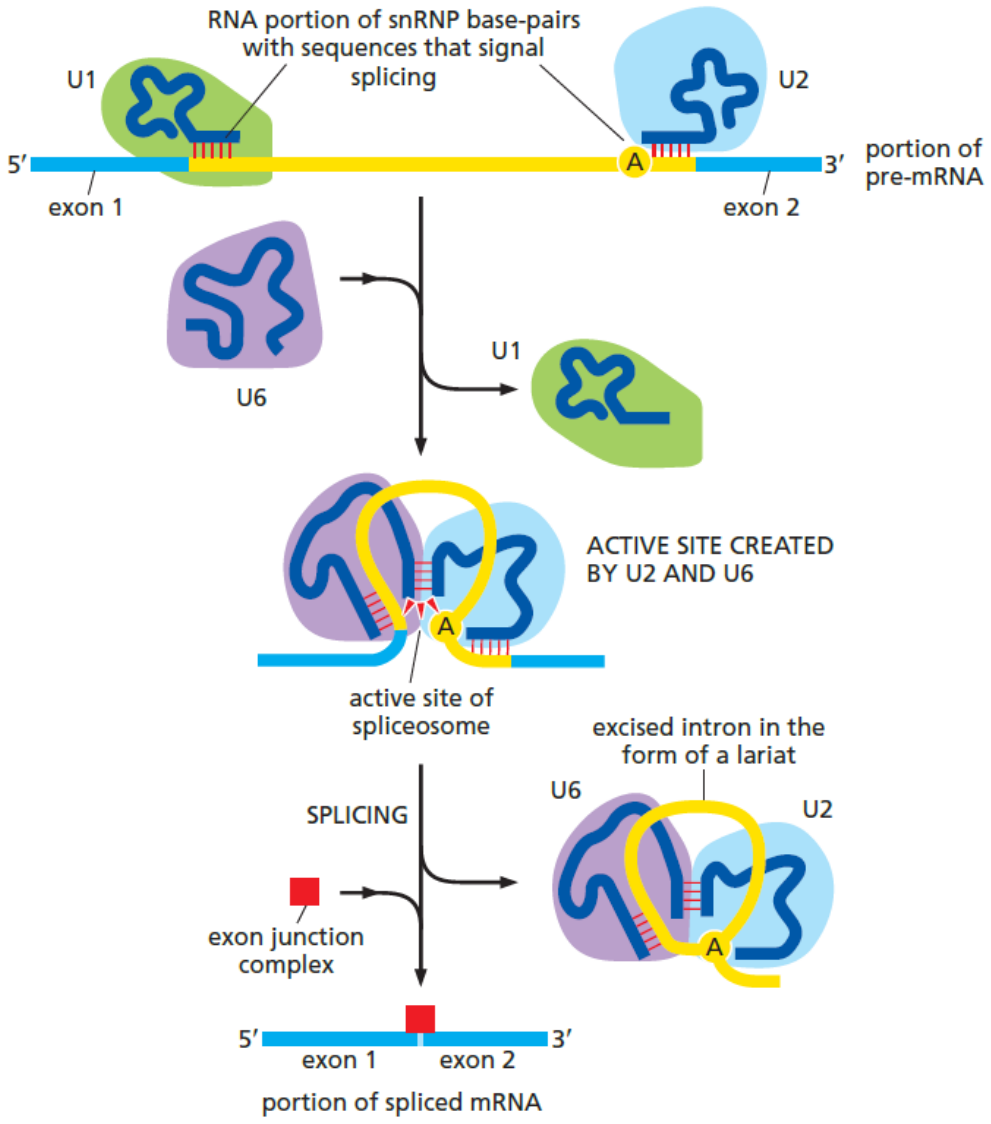
Le Spliceosome

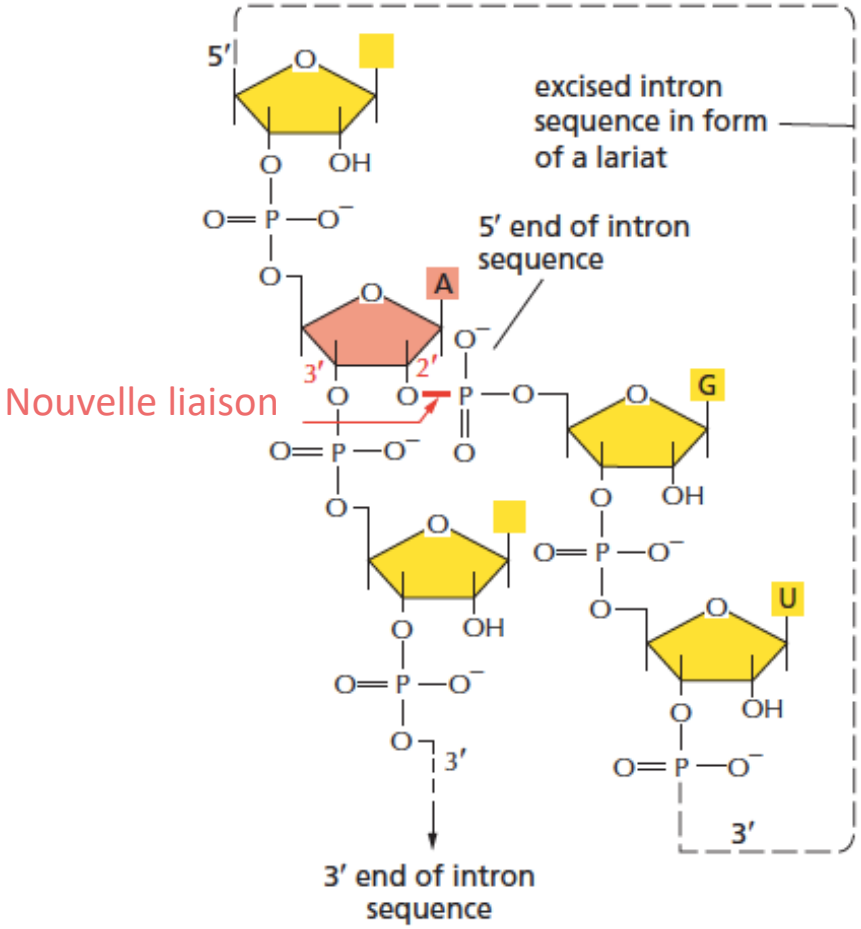
- **Acteur de l'épissage : snRNP associées à des snRNA**
  - Petites molécules d'ARN < 200 nt
  - 5 snRNA (small nuclear RNA) majeurs : U1, U2, U4, U5, U6
  - Associés à des snRNP (small nuclear Ribonucleoprotein) : au moins 7 par snRNA
  - Certaines snRNP sont communes (protéines Sm) et d'autres sont spécifiques du snRNA
- **Rôle des snRNP :**
  - Reconnaissance des jonctions introns/exons et de la boite de branchement par appariement de bases
  - Catalyse de la réaction couper-coller pour excision des introns et ligation des exons



Mécanisme de l'épissage

Épissage : mécanisme dynamique avec une succession précise de différents évènements au cours desquels les snRNP s'associent et se dissocient du spliceosome selon un processus ATP dépendant +++





4.3.5 Différence de maturation entre eucaryotes et procaryotes

PROCARYOTES

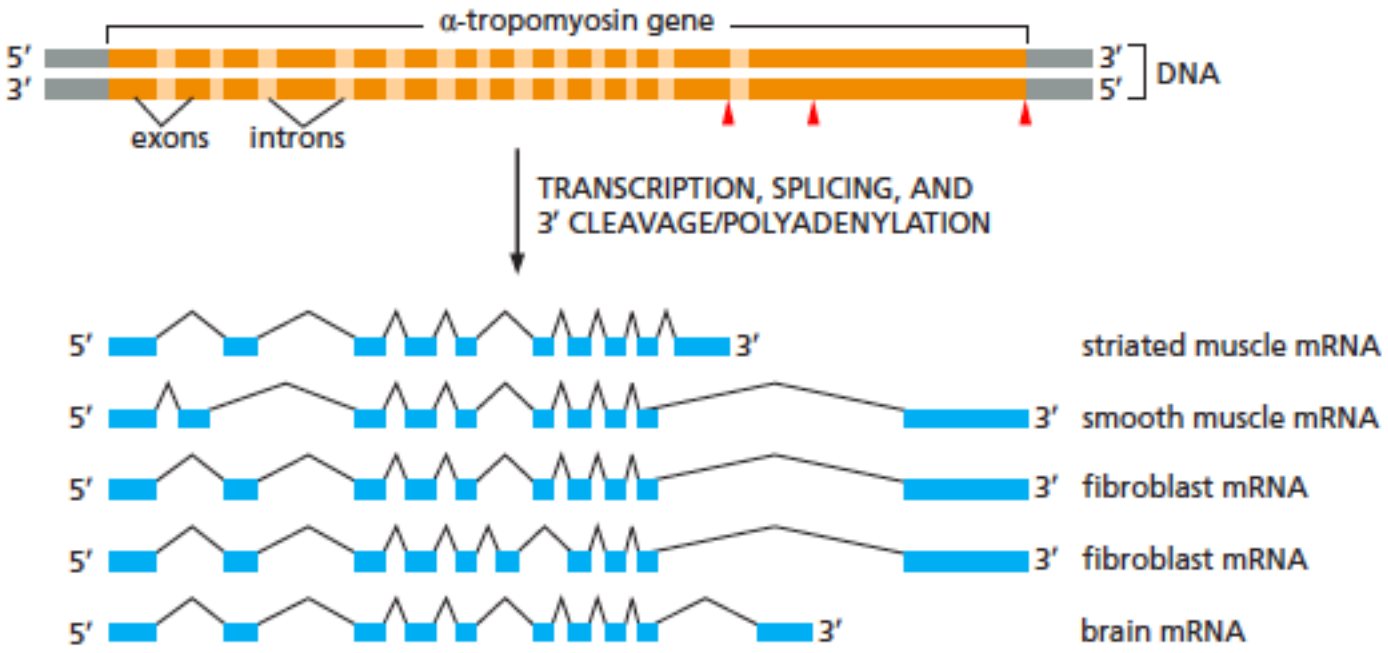
- Pas de polyadénylation
- Pas de cap
- Pas d'épissage (pas d'intron)
- 1 gène → 1 protéine
- Plusieurs gènes transcrits en un même ARNm polycistronique (opéron bactérien)

EUCARYOTES

- Maturation
  - Coiffe
  - Queue polyA
  - Epissage)
- 1 gène peut générer différents ARN (plusieurs sites de polyadénylation, plusieurs promoteurs)
- Epissage alternatif: 1 pré-ARNm peut donner naissance à différentes protéines

4.3.6. L'épissage alternatif

- **Contexte :**
  - Nombre de gènes (*Homo sapiens*) : 20 à 30 000
  - Nombre de protéines (*Homo sapiens*) : 100 000 à 1 million
  - Donc 1 gène → Plusieurs protéines
- **Rôle :**
  - L'épissage alternatif permet d'obtenir, à partir d'un même gène et d'un même transcrit primaire, plusieurs versions d'ARNm matures et donc plusieurs protéines avec une **spécificité tissulaire**



« Challenge » de l'épissage

L'épissage doit se faire « à la base près » pour conserver le cadre de lecture des exons.

Les erreurs d'épissage sont responsables d'anomalies touchant le produit du gène : environ **15% des maladies génétiques sont dues à un défaut d'épissage**.

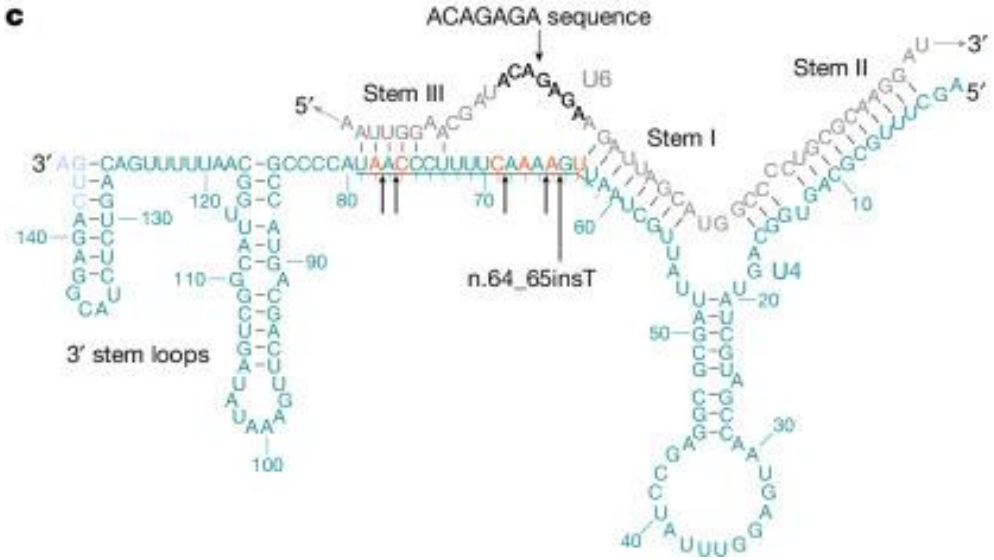
Structure des introns **primordiale** et très (partiellement) **conservée** !

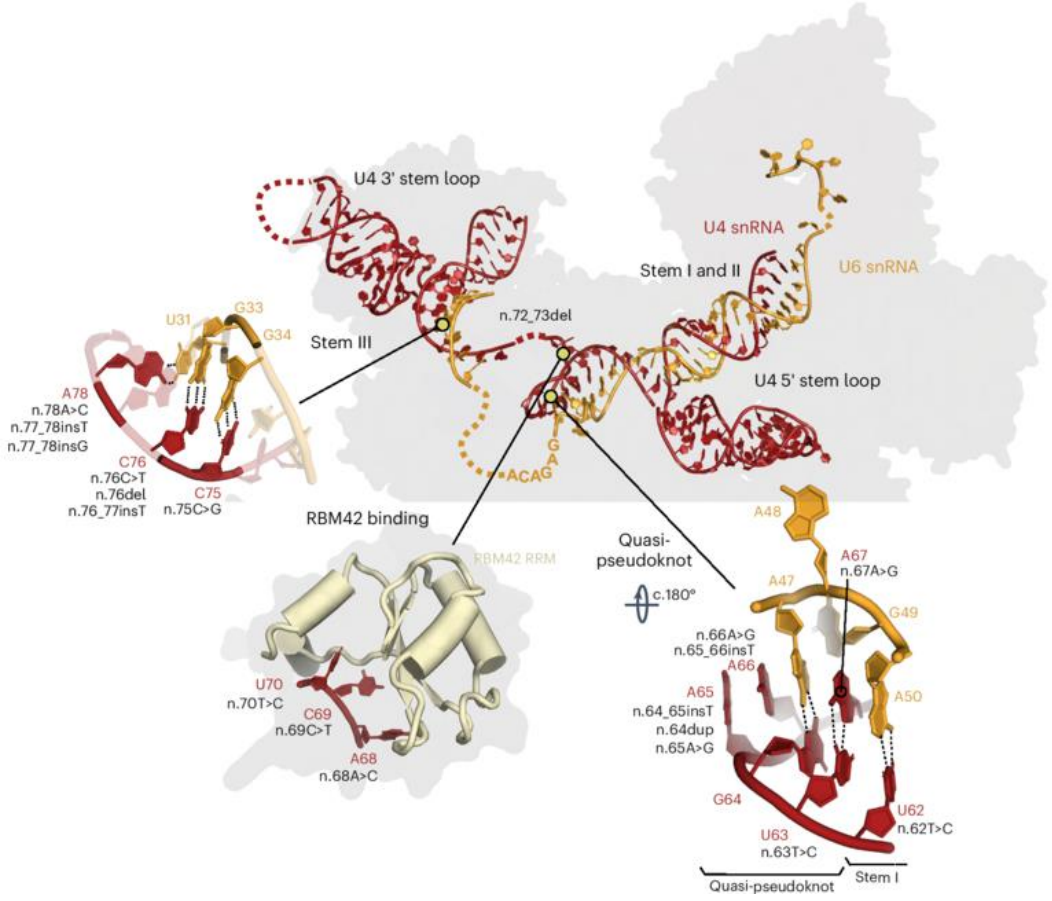
Un U4-snRNA très fréquemment impliqué en pathologie : le syndrome ReNU

Nat Med. 2024 Aug;30(8):2165-2169. doi: 10.1038/s41591-024-03085-5. Epub 2024 May 31.

Mutations in the U4 snRNA gene RNU4-2 cause one of the most prevalent monogenic neurodevelopmental disorders

Daniel Greene [1 2], Chantal Thys [3], Ian R Berry [4 5], Joanna Jarvis [6], Els Ortibus [7 8], Andrew D Mumford [5 9], Kathleen Freson [3], Ernest Turro [10 11 12 13]



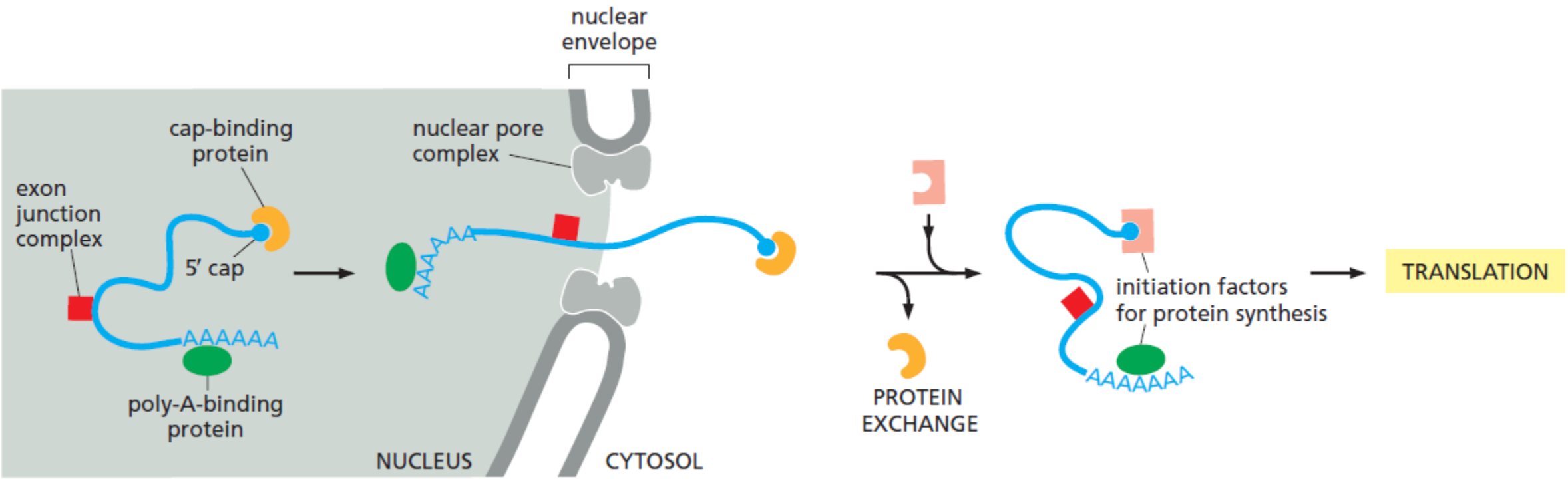
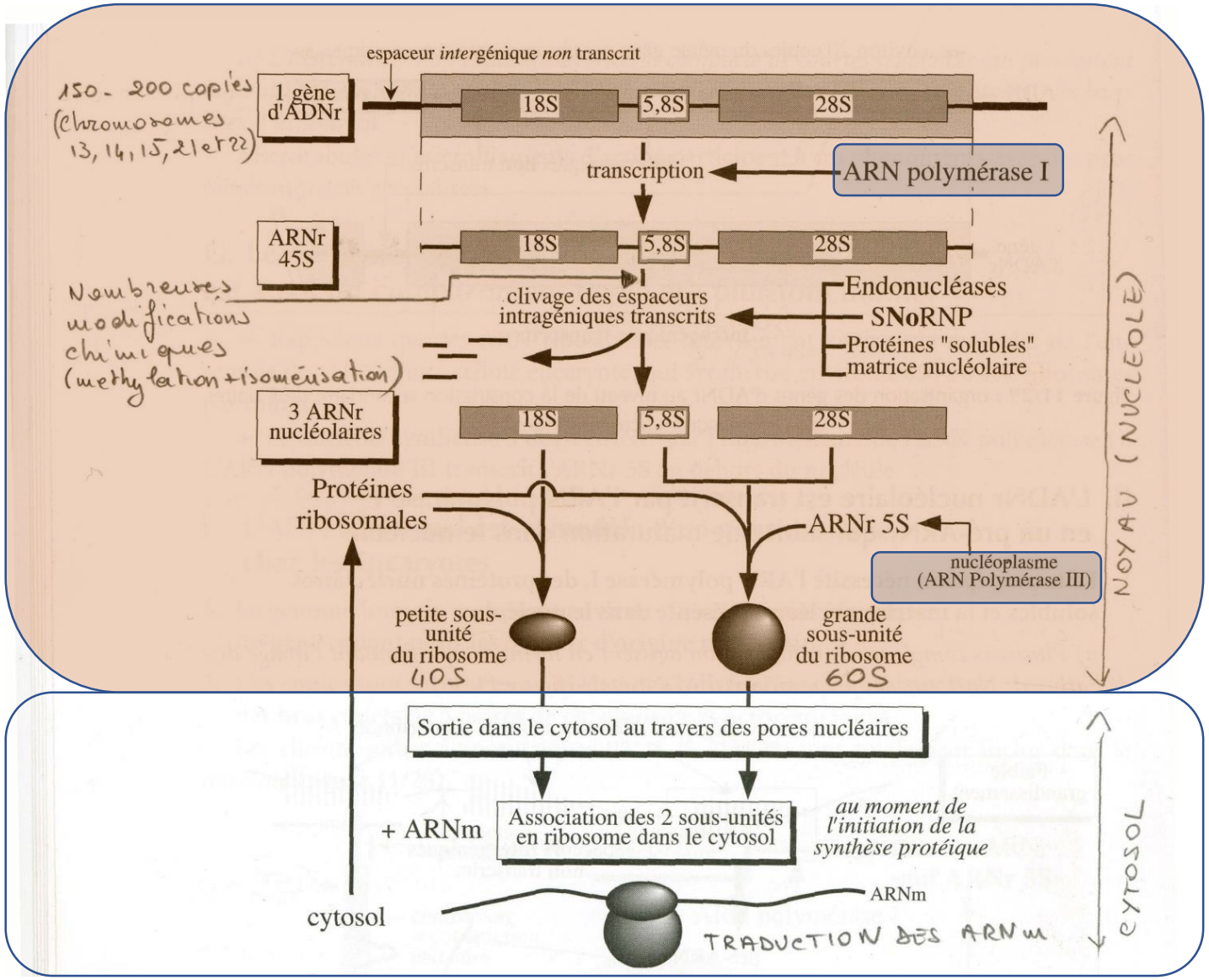


Greene D et al. Nat Med. 2024;30(8):2165-2169
Chen Y et al . Nature. 2024;632(8026):832-840.

4. Mécanismes de la transcription eucaryote

4.4. Transport hors du noyau

Mécanisme **actif**



5. Transcription et maturation des ARN ribosomiques