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

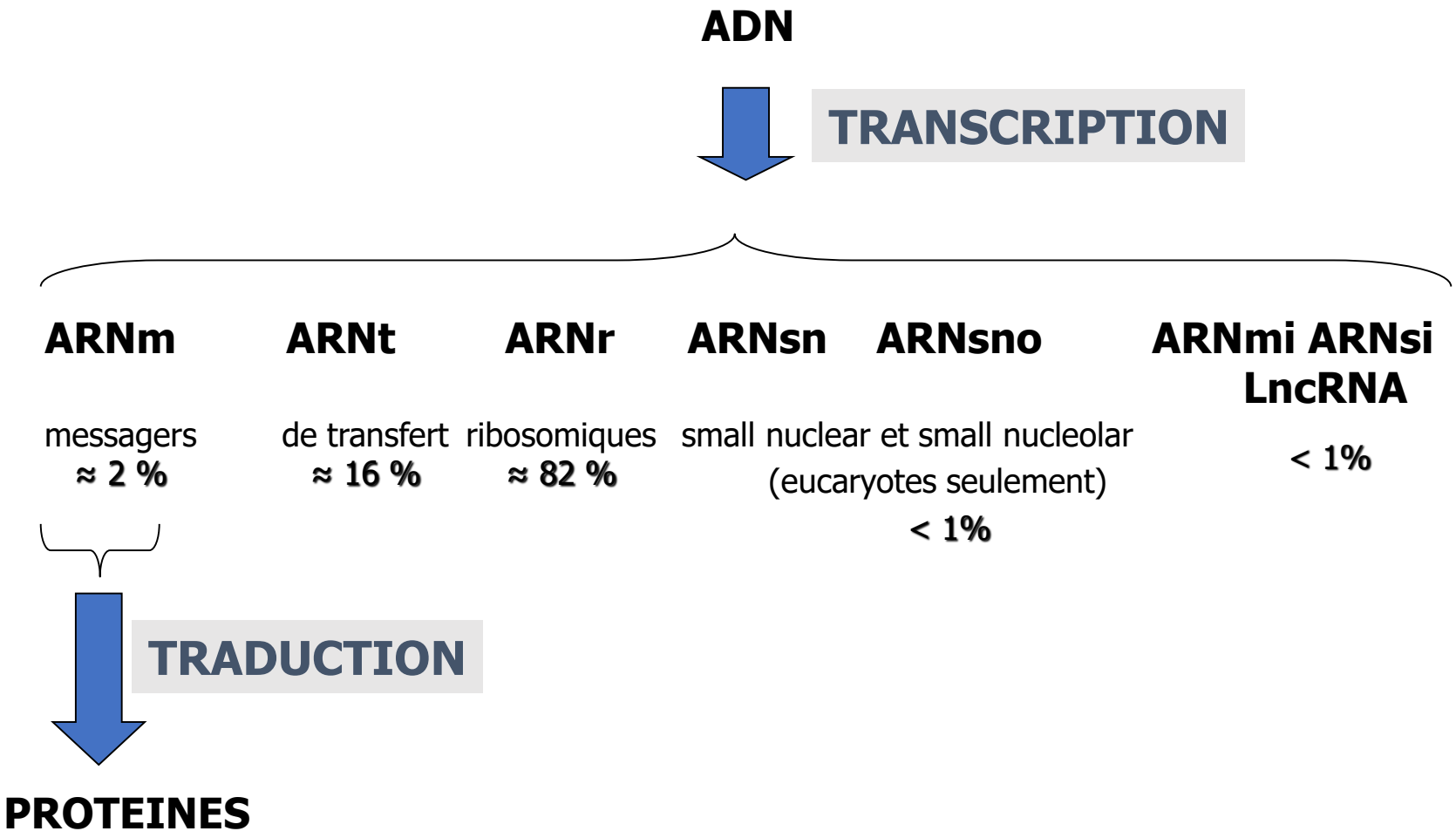




Plan

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



1. Définition et contexte général

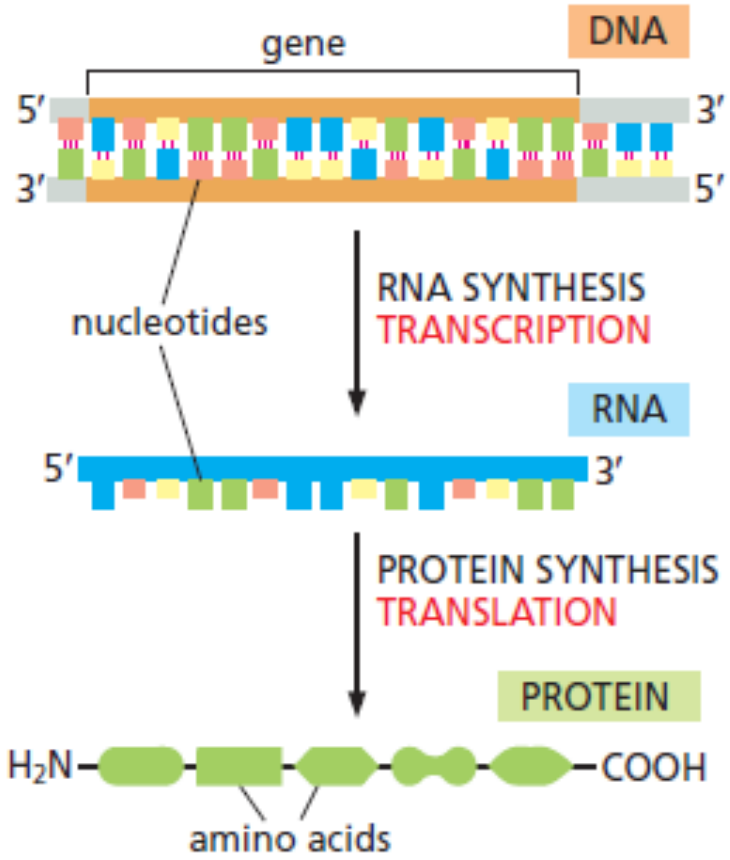
ADN

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

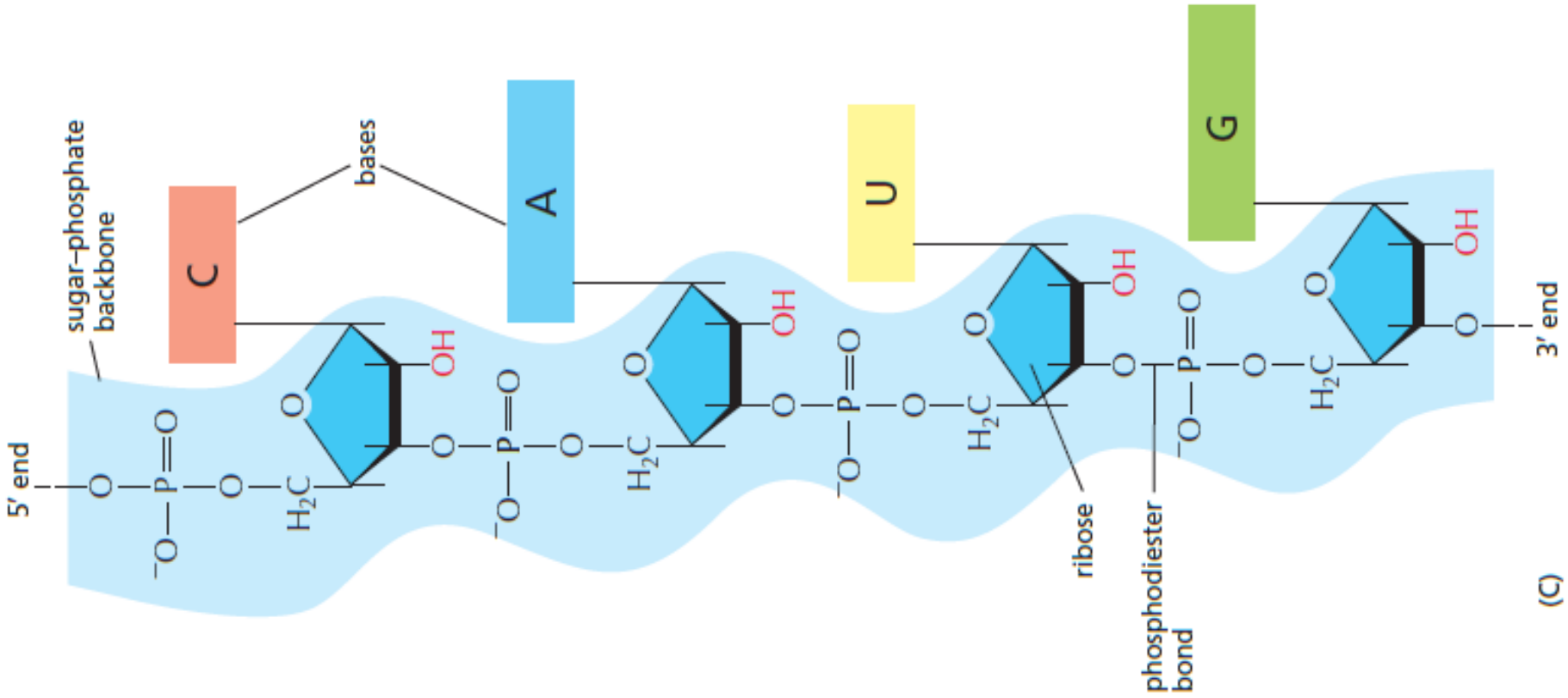
PROTEINES

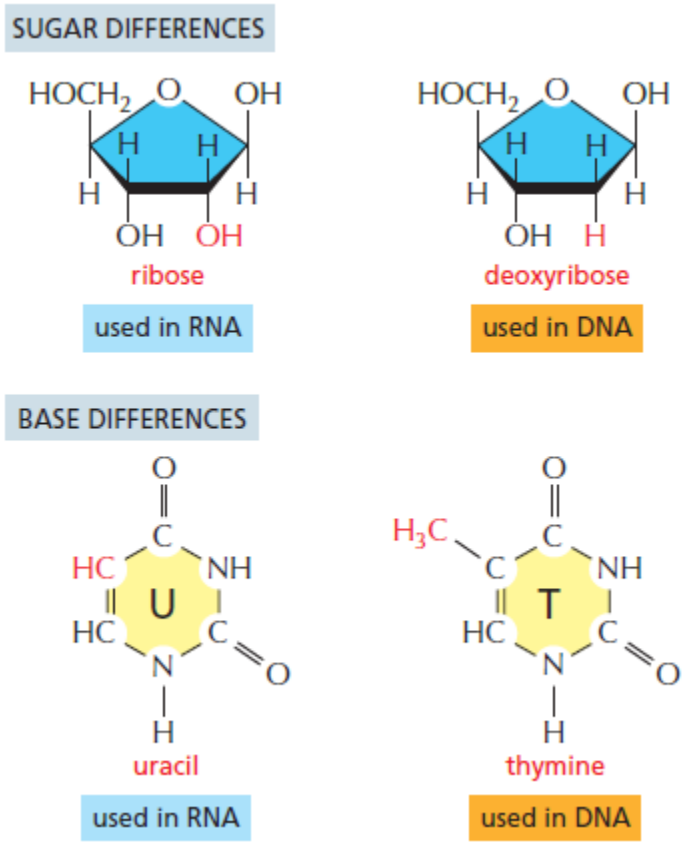


2. Les acteurs de la transcription

1 Les ribonucléosides triphosphates

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



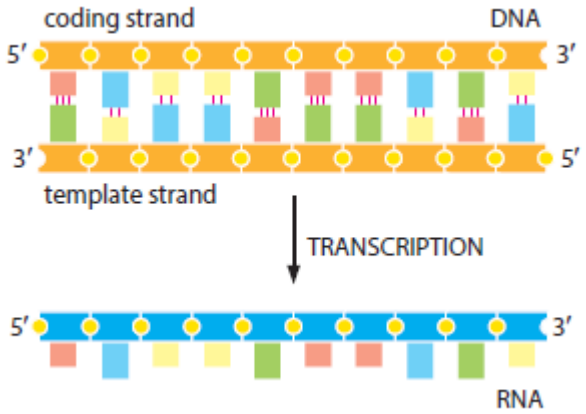


2 ARN polymérase ADN dépendante

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

ARN polymérase

ADNdb + ARNsb

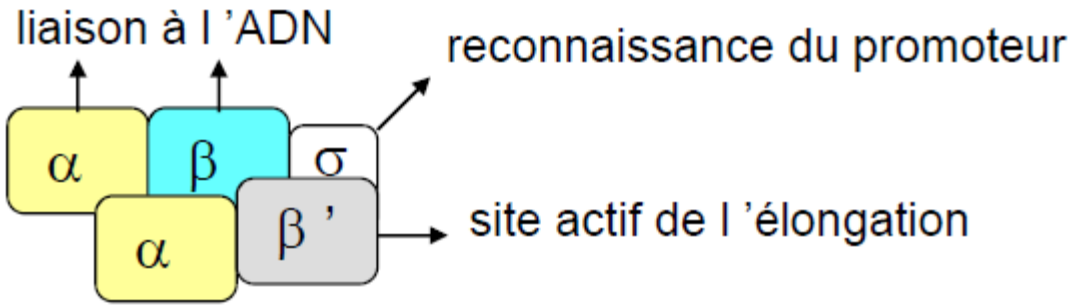


Synthèse d'ARN (transcription):

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

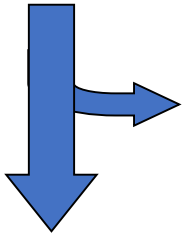
ADN		ARN
G	⟷	C
C	⟷	G
T	⟷	A
A	⟷	U

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

Holoenzyme
(initiation de la transcription)



Facteur σ

Enzyme cœur
(synthèse ARNm, t ou r)

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%

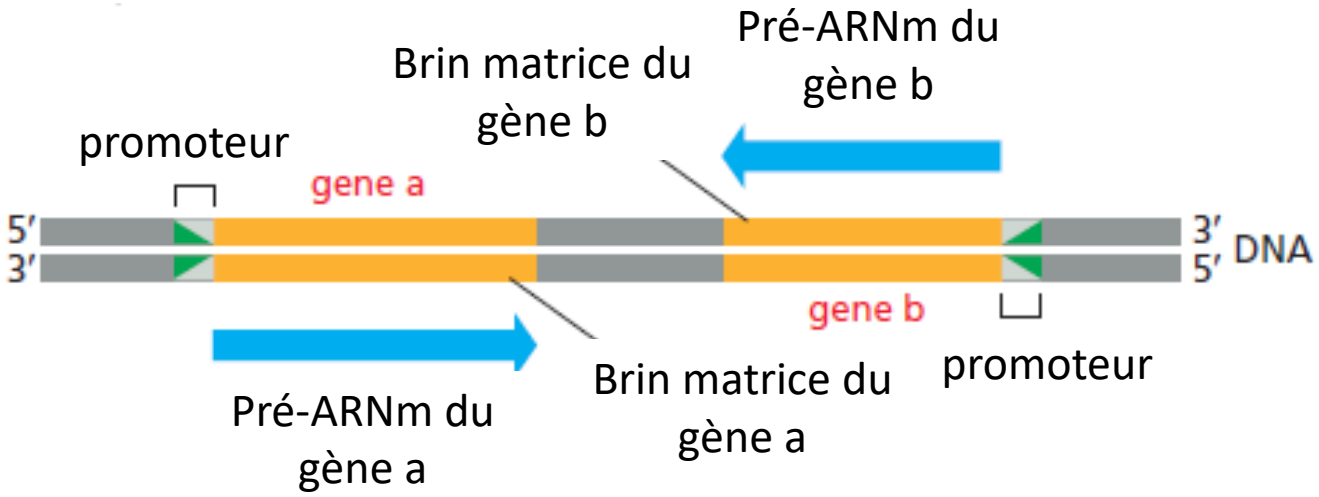
Inhibiteurs des ARN polymérases

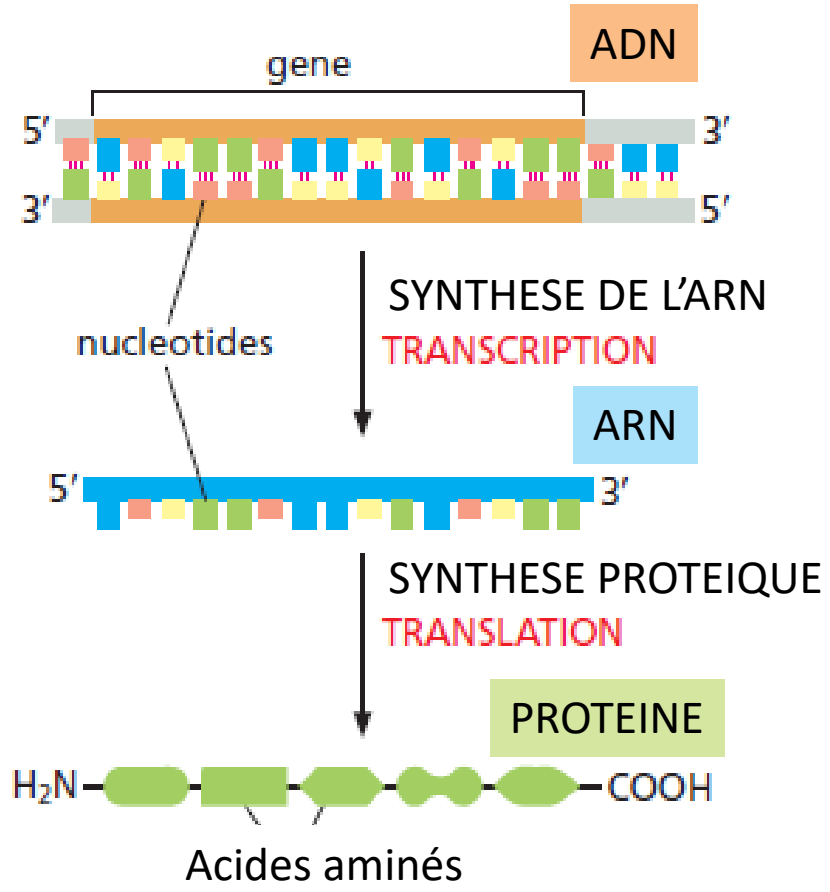
Inhibiteurs	ARN polymérase procaryote	ARN Polymérase eucaryote
Actinomycine D	X	X
Acridine	X	X
Rifampicine	X liaison sous unité β de l'ARN polymérase procaryote	
α Amanitine (toxine de champignon)		X

3 ADN double brin = matrice

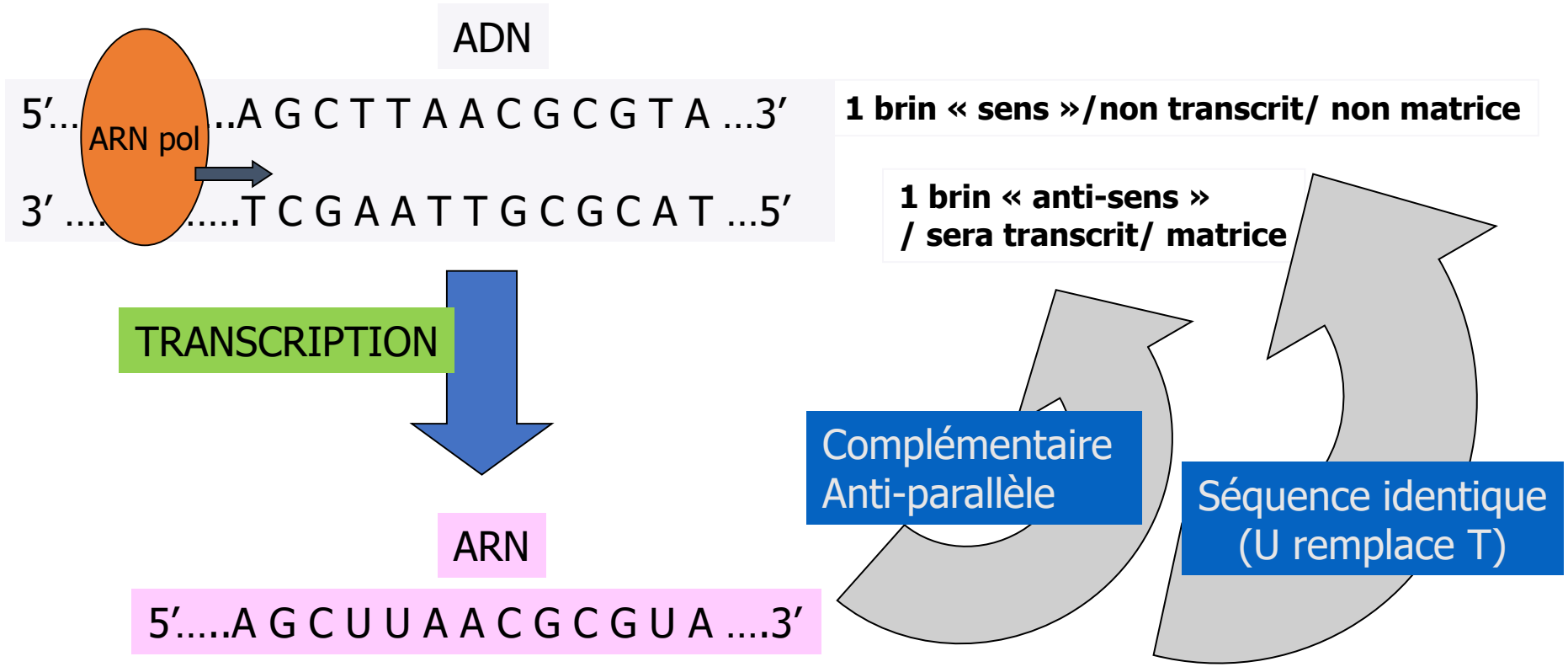
Seul un des brins **d'un gène donné** est utilisé comme matrice…

… 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

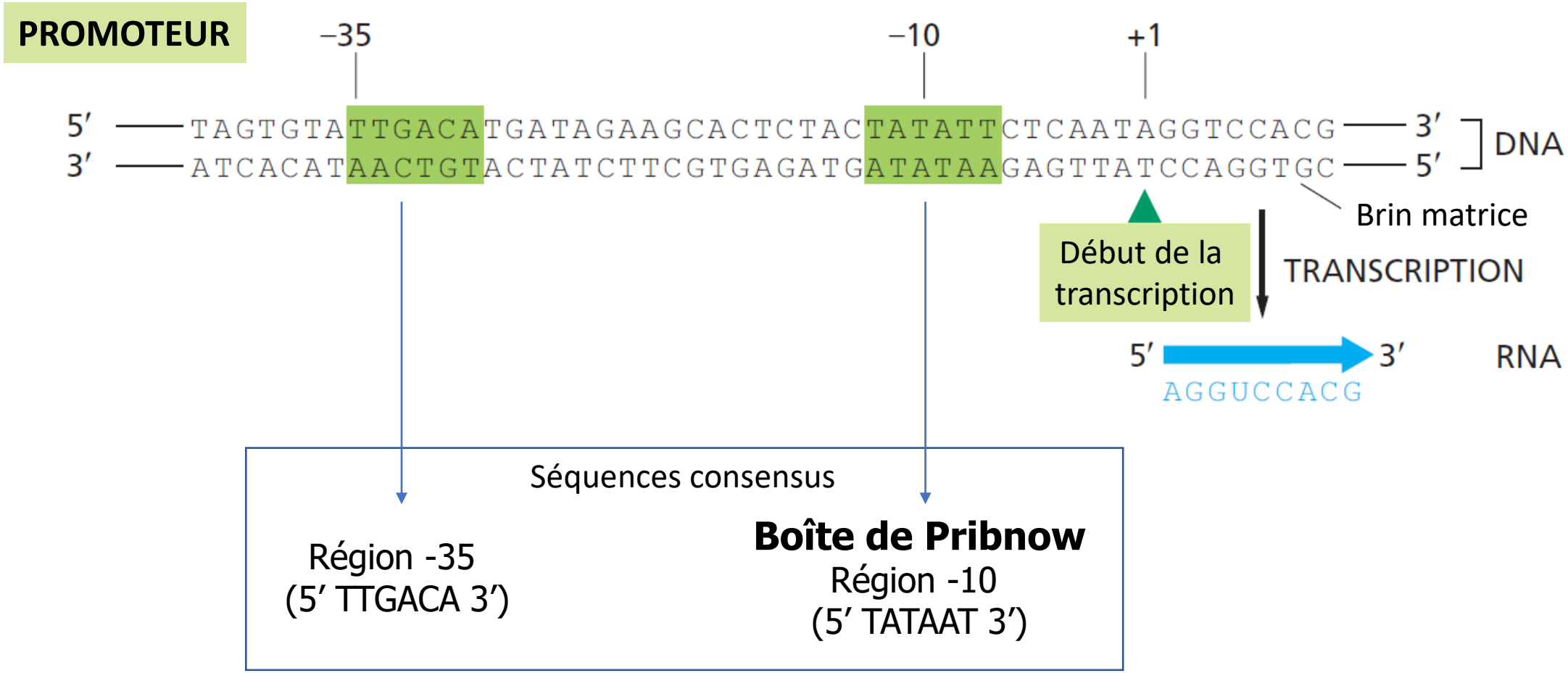
3.3. Terminaison

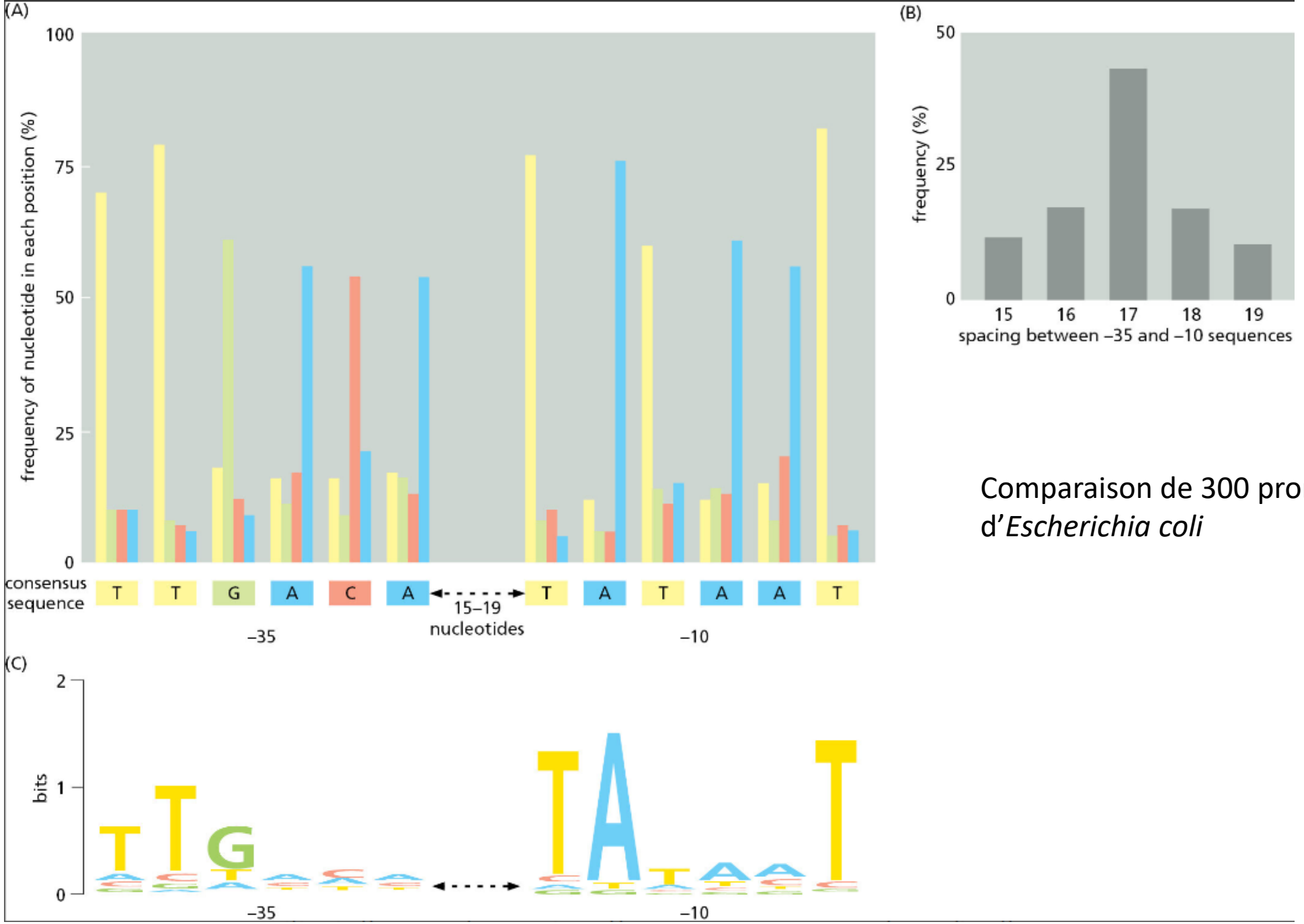
3.3.1. Terminaison directe (mécanisme « Rho-indépendant »)

3.3.2. Terminaison indirecte : Protéine Rho à activité ATPasique

3. Mécanismes de la transcription procaryote

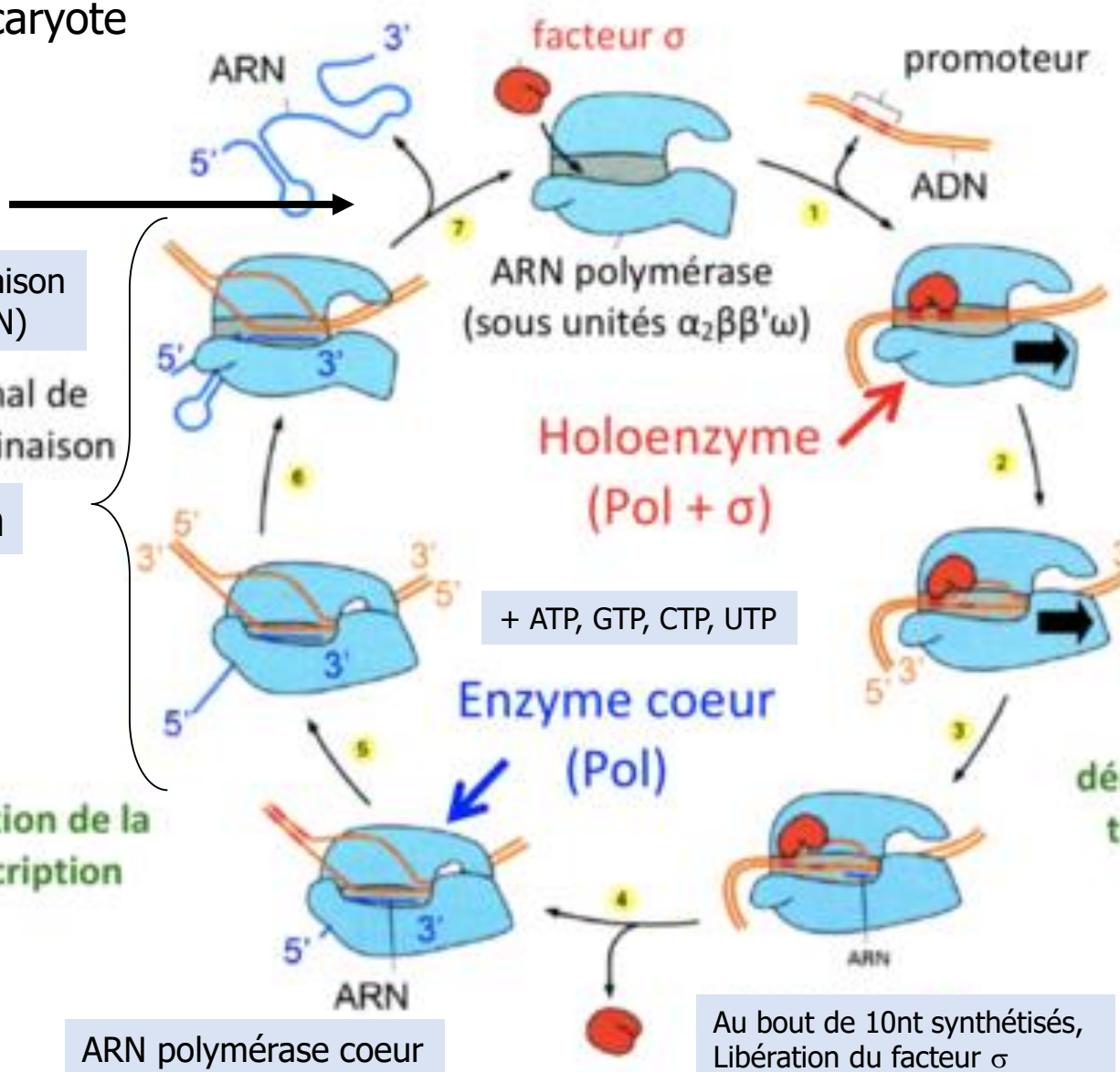
3.1. Initiation





Comparaison de 300 promoteurs d'*Escherichia coli*

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

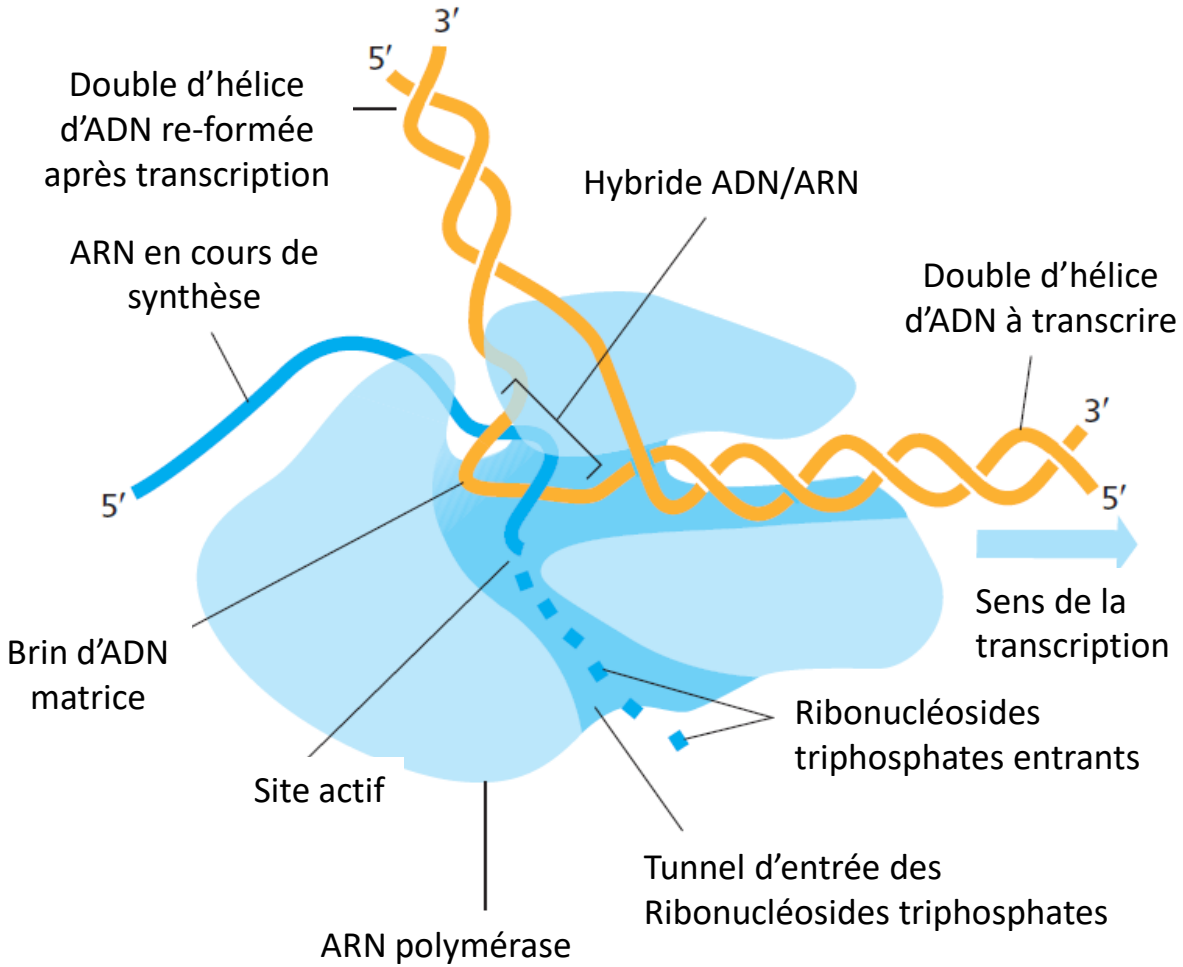
Initiation de la première liaison phosphodiester

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

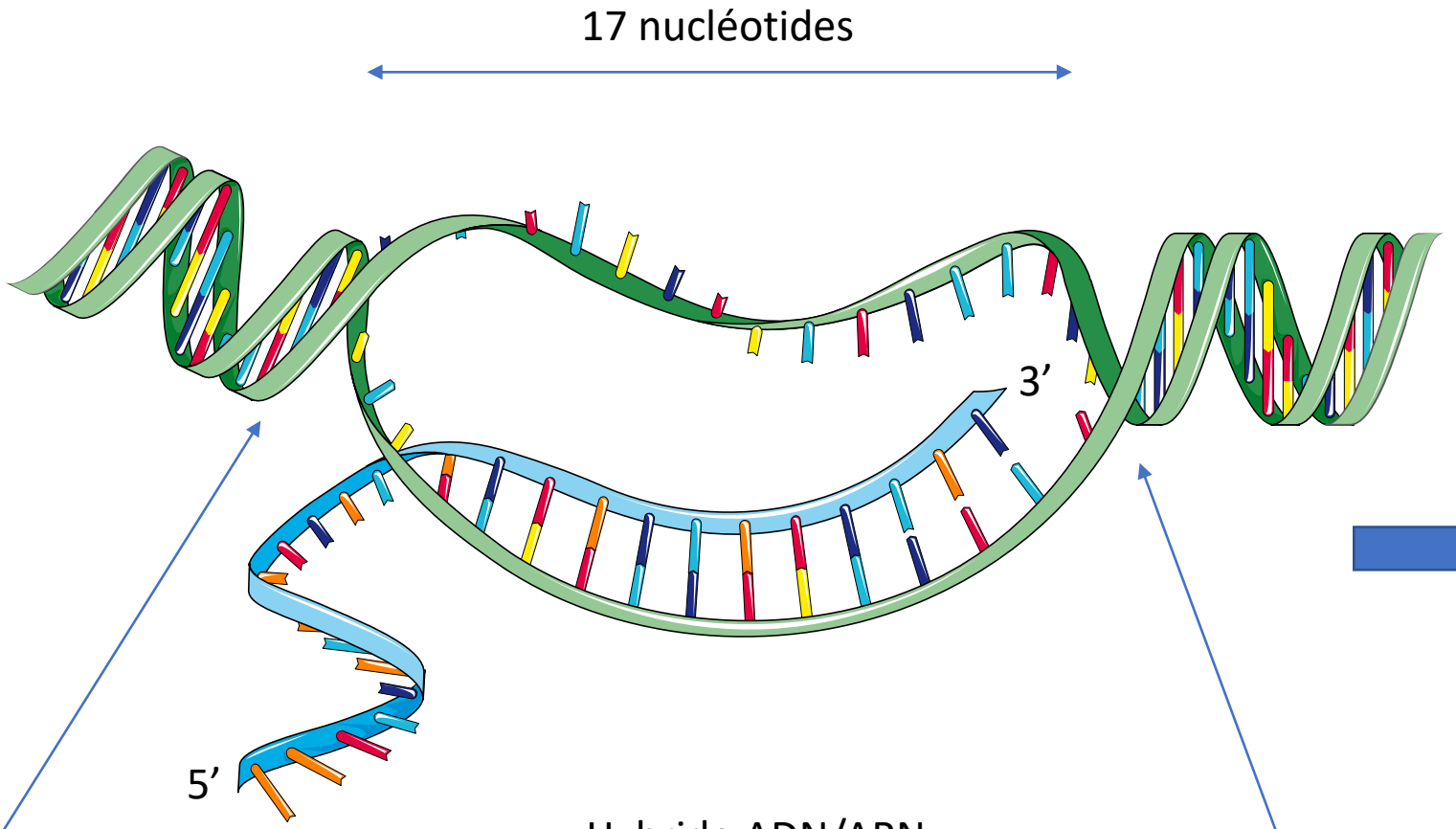
- **Lecture** du brin matrice dans le sens 3' → 5'

- 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



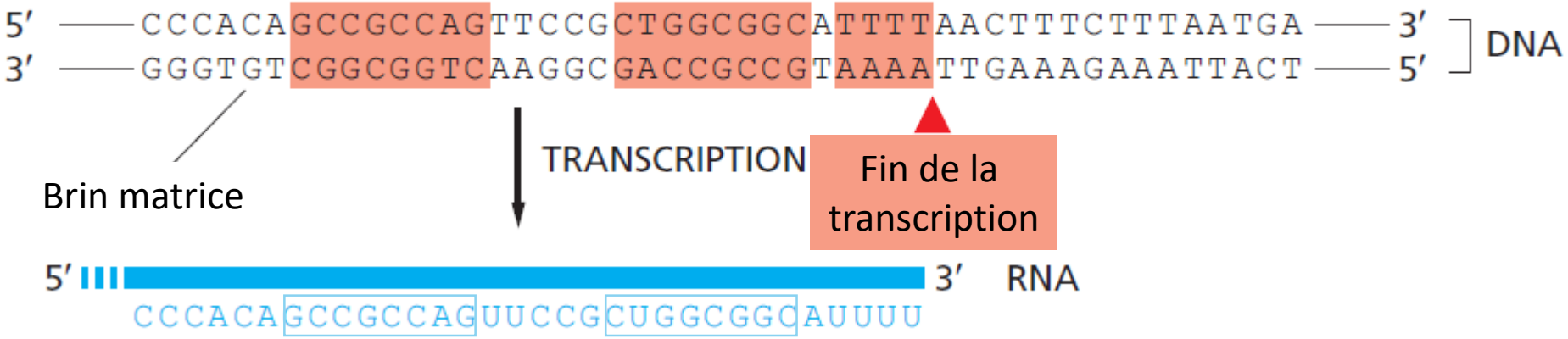
3. Mécanismes de la transcription procaryote

3.3. Terminaison

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

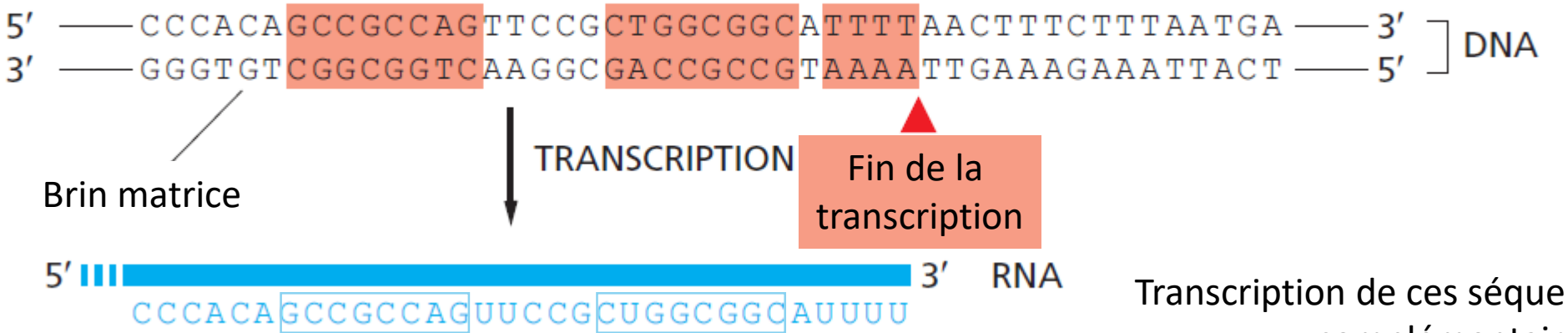
SEQUENCES TERMINATRICES

Ce sont des palindromes imparfaits



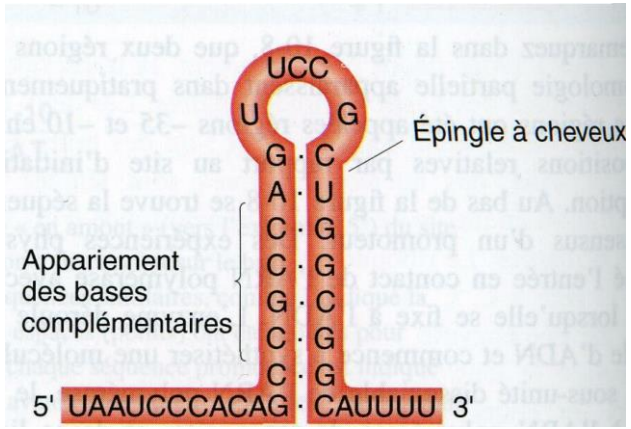
SEQUENCES TERMINATRICES

Ce sont des palindromes imparfaits



Transcription de ces séquences qui sont complémentaires

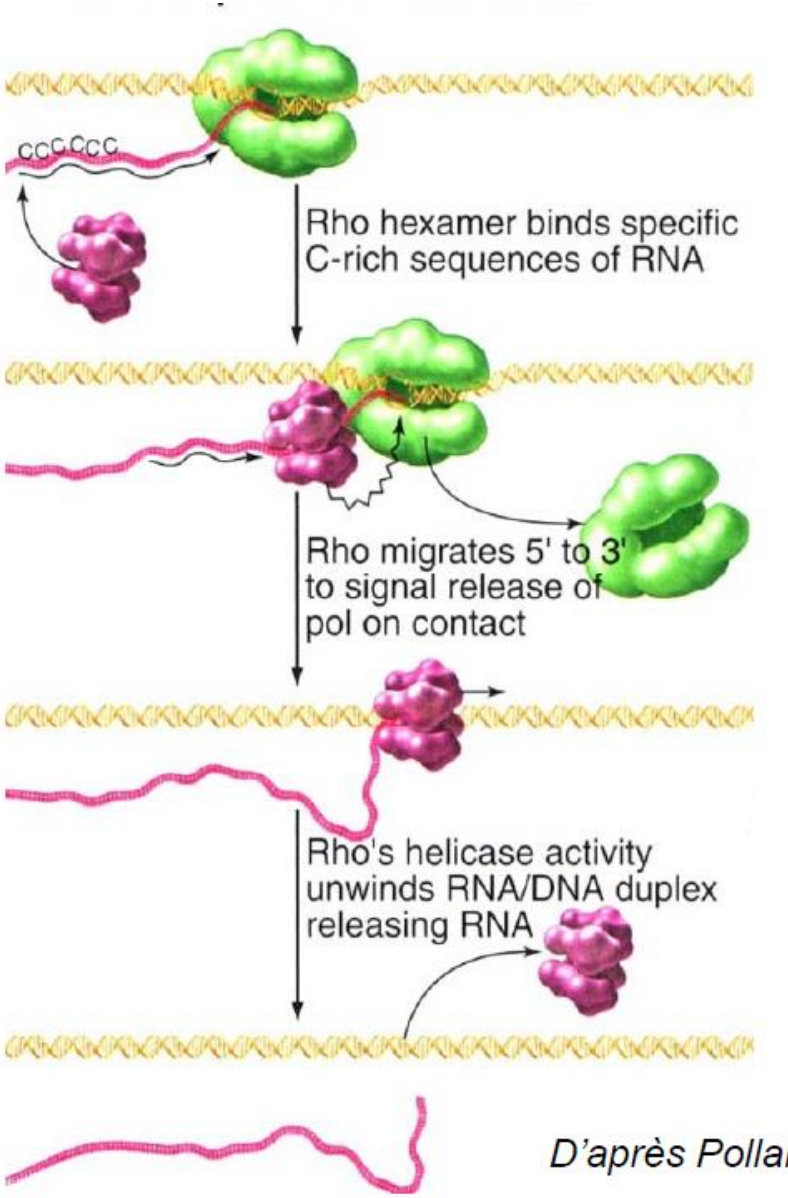
Formation d'une structure en épingle à cheveux



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

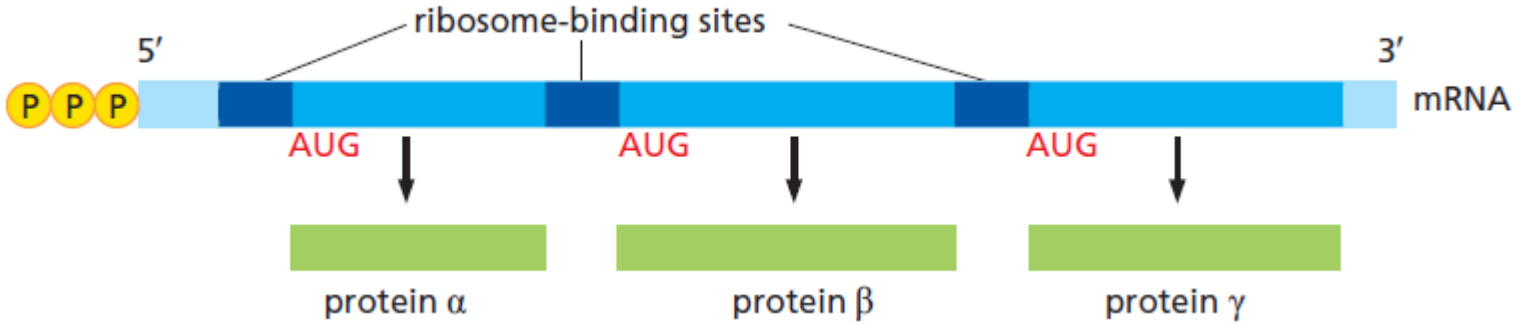
Eucaryotes : trois

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

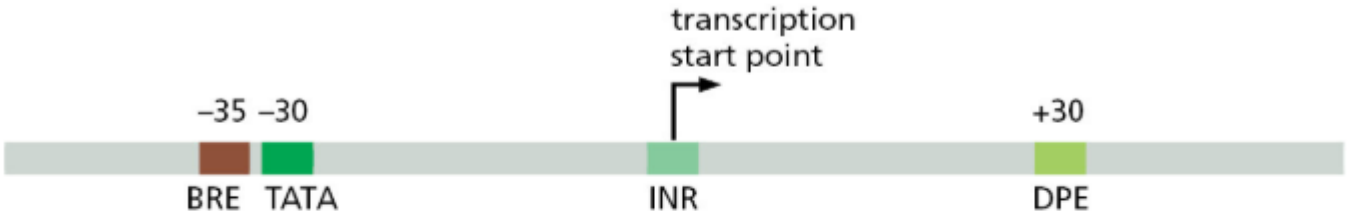


4. Mécanismes de la transcription eucaryote
4.2. Initiation

La région promotrice fait intervenir
plusieurs séquences consensus

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

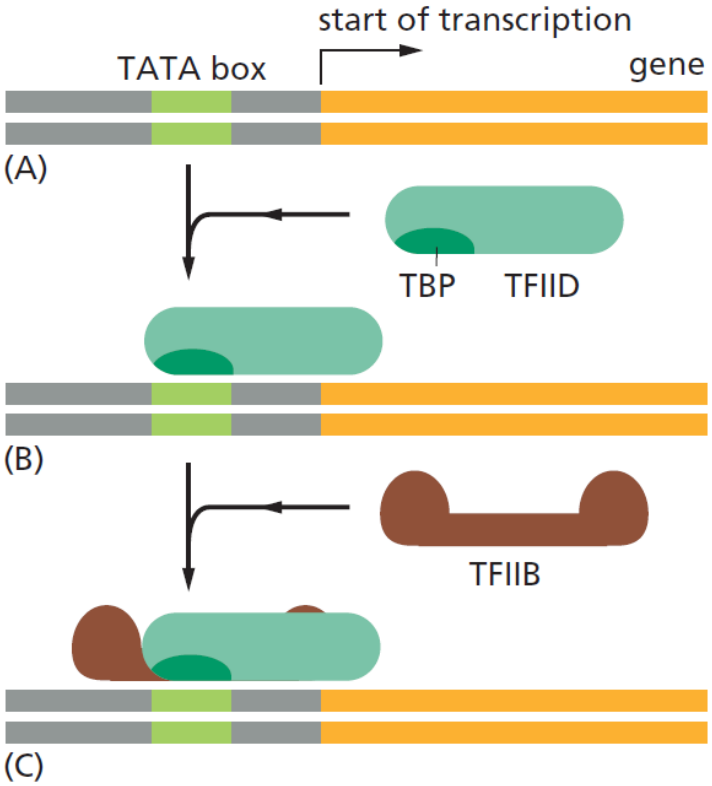
Localisation: -31 à -26

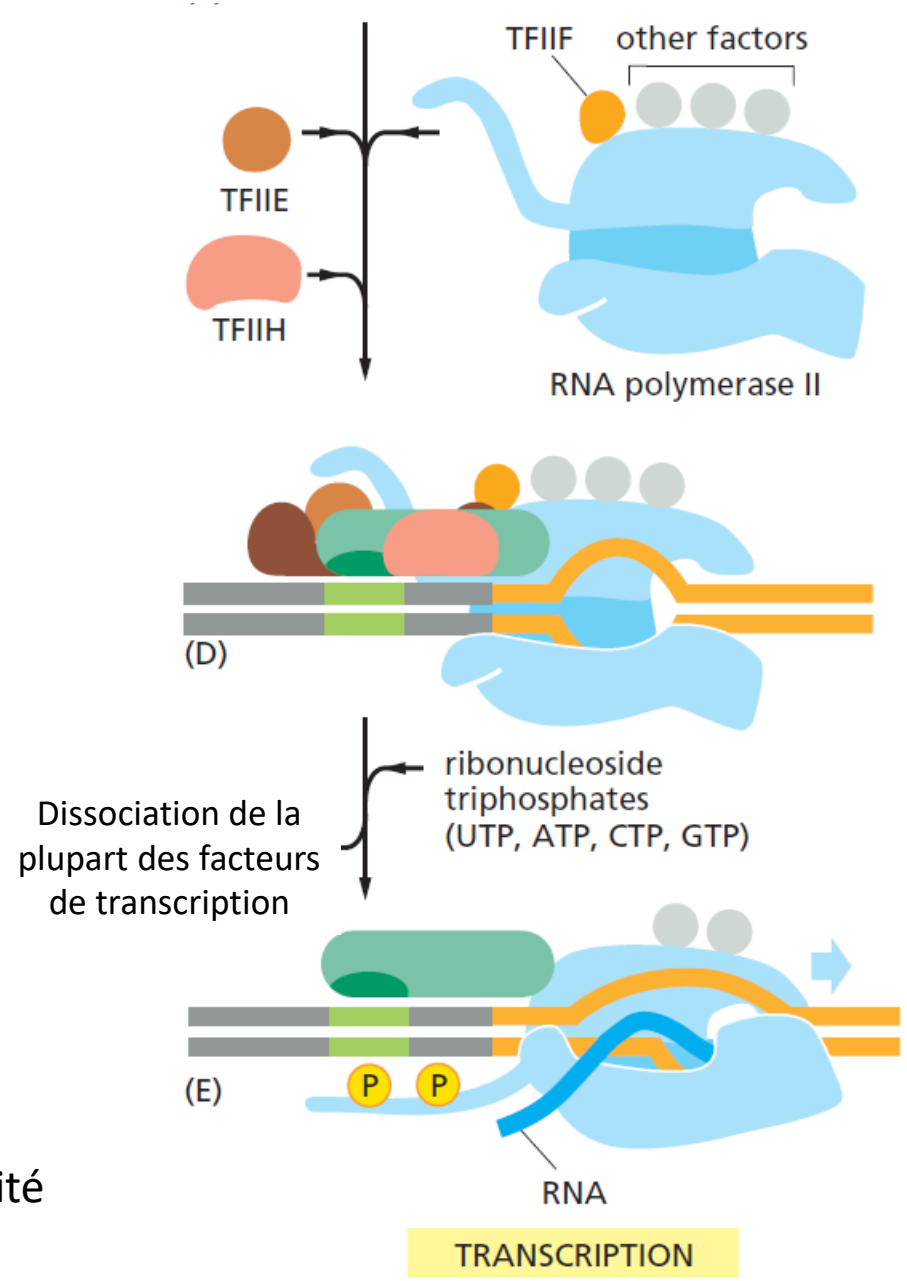


element	consensus sequence	general transcription factor
BRE	G/C G/C G/A C G C C	TFIIB
TATA	T A T A A/T A A/T	TBP subunit of TFIID
INR	C/T C/T A N T/A C/T C/T	TFIID
DPE	A/G G A/T C G T G	TFIID

d'après Pollard and Earnshaw, Cell Biology, 2008

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

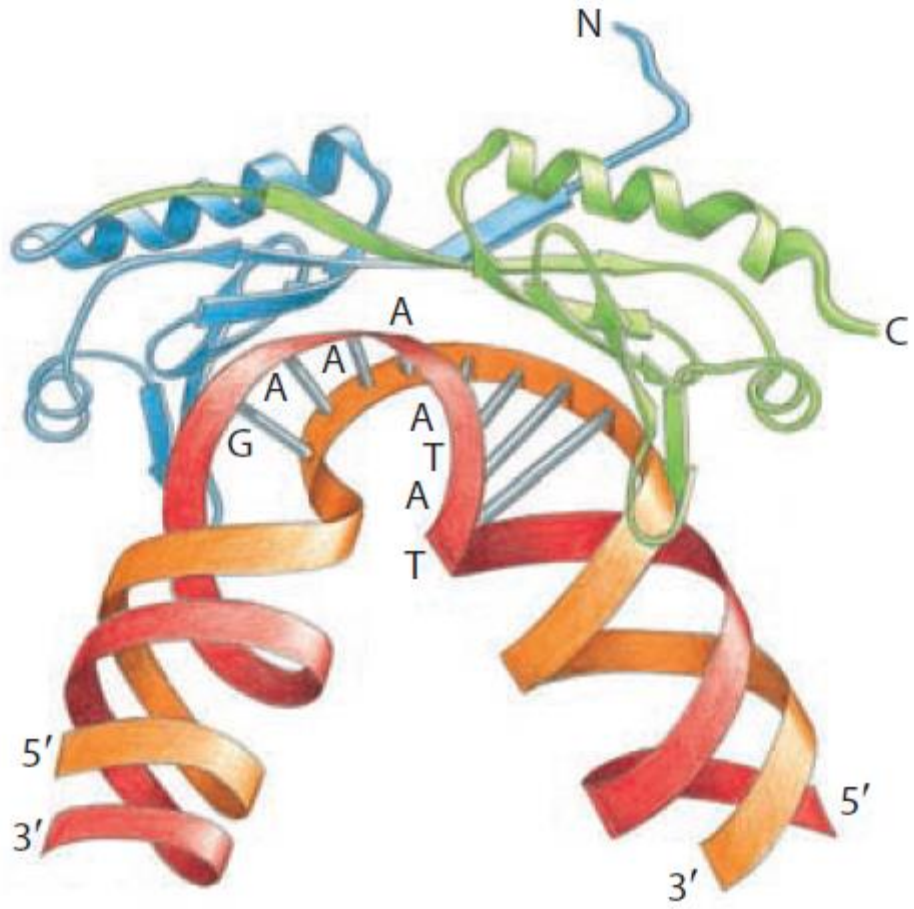




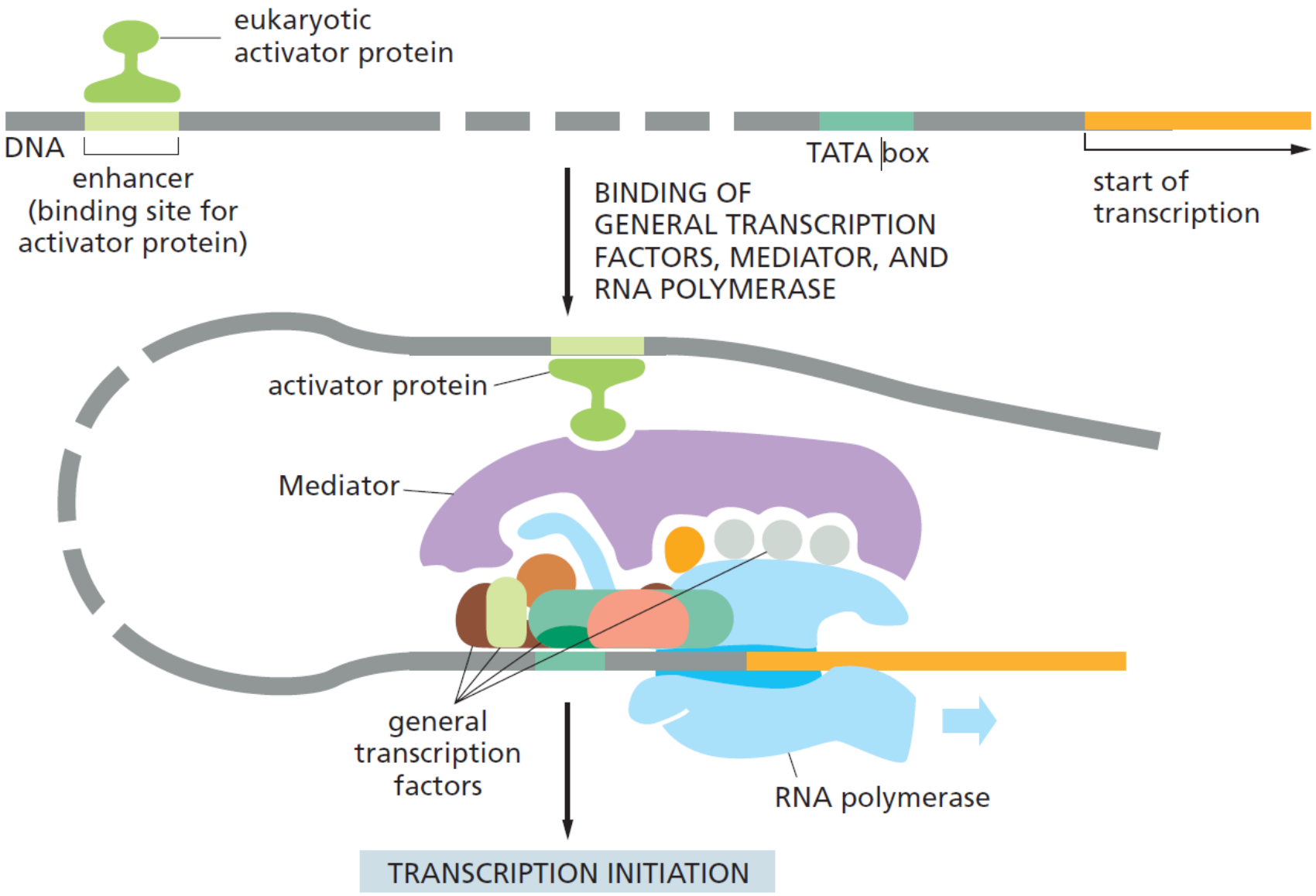
Formation d'un complexe d'initiation de la transcription

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)

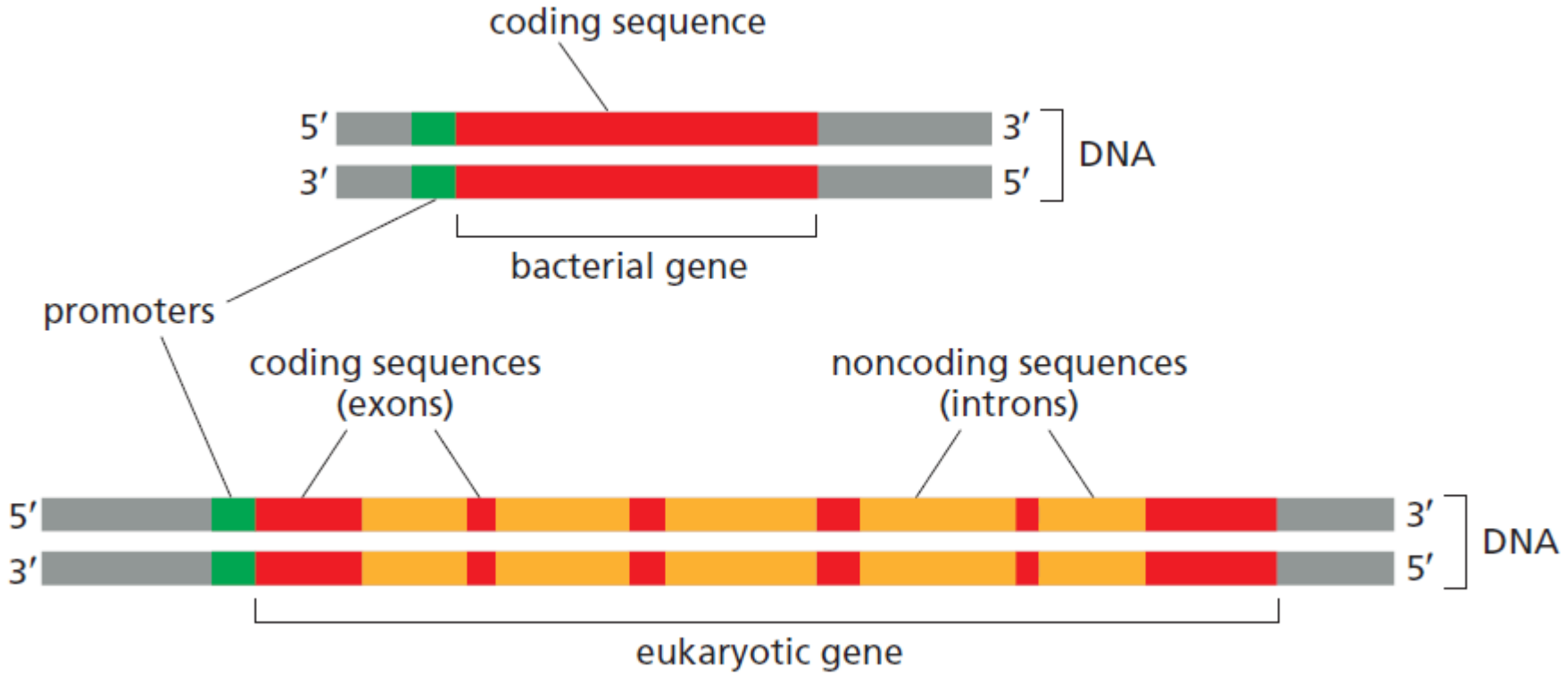


4. Mécanismes de la transcription eucaryote

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

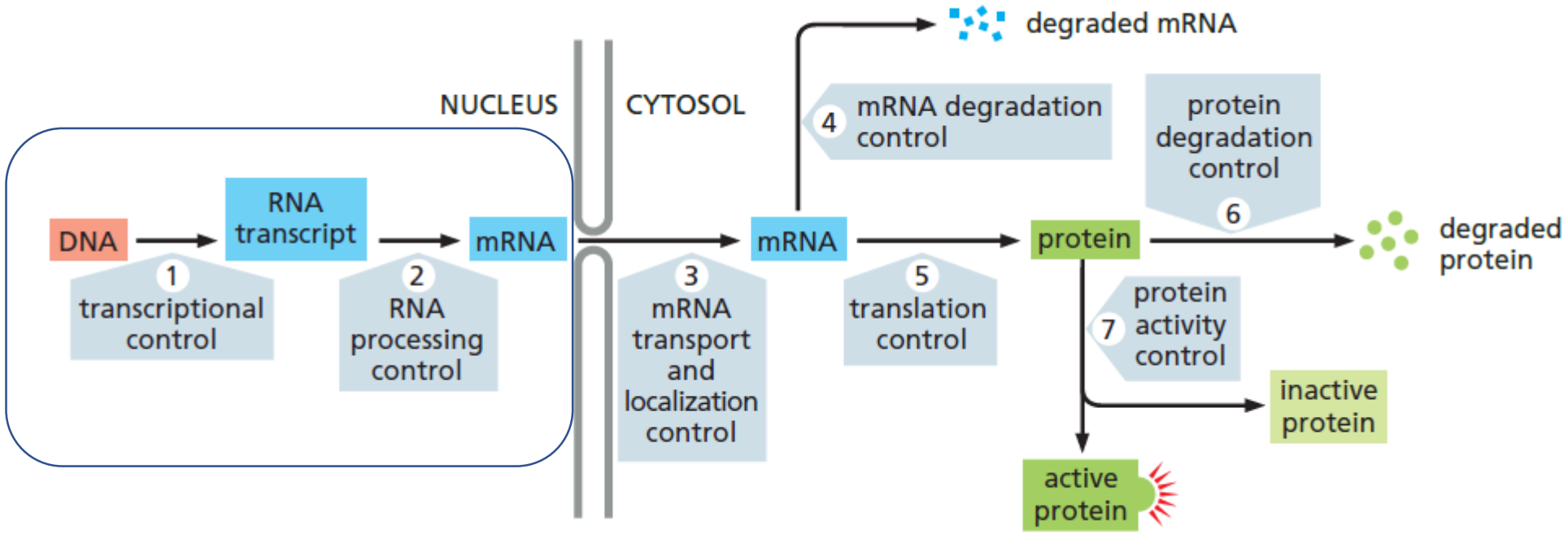


4. Mécanismes de la transcription eucaryote

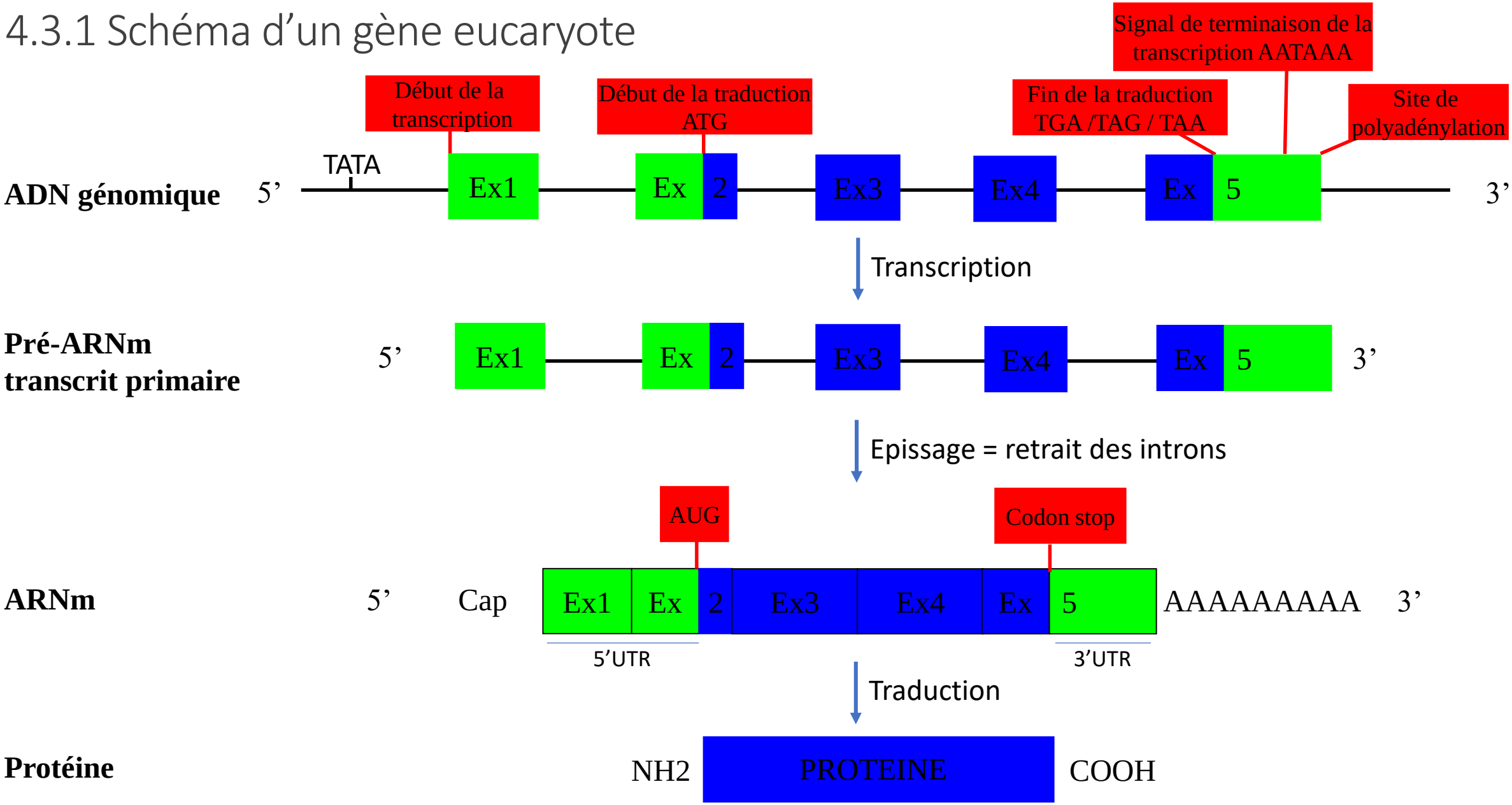
4.3. Elongation et maturation

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



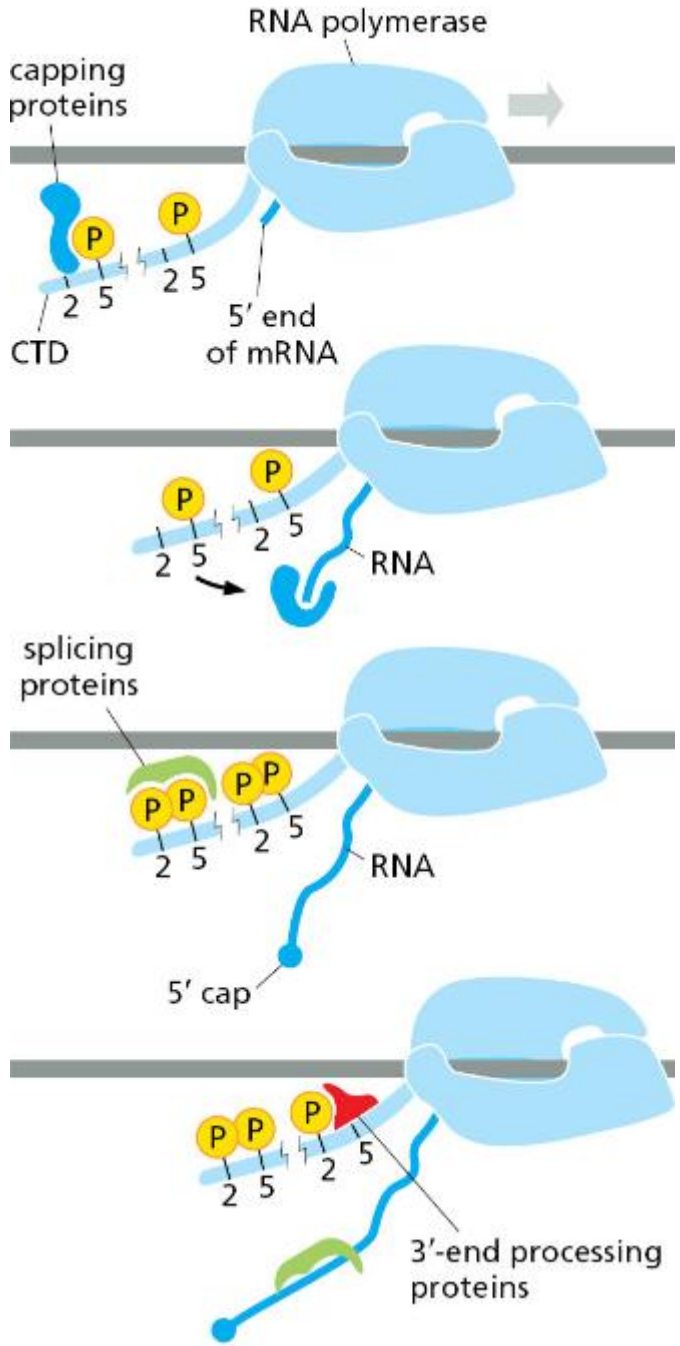
4.3.1 Schéma d'un gène eucaryote



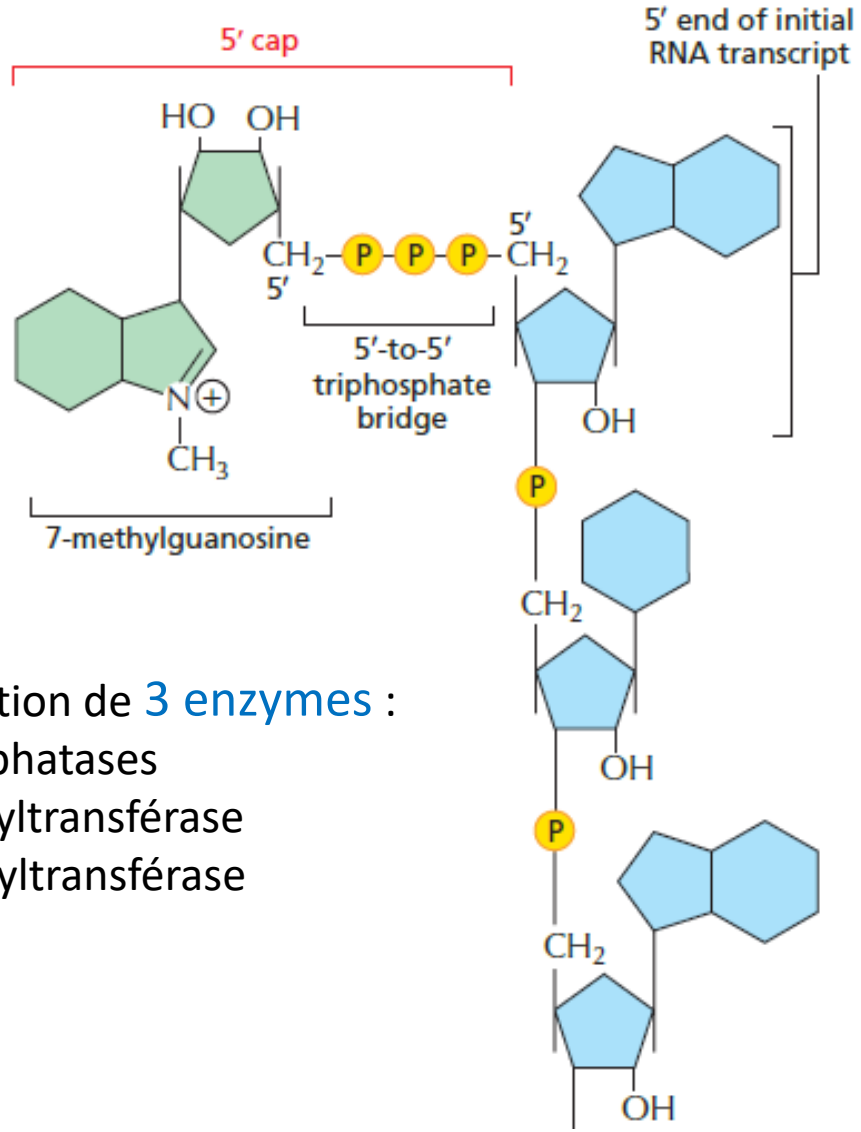
Ex Séquences exoniques non traduites

Ex Séquences exoniques traduites

— Introns


RNA polymerase
capping proteins
P
P
2 5
2 5
CTD
5′ end of mRNA
P
P
2 5
2 5
RNA
splicing proteins
P P
P P
2 5
2 5
RNA
5′ cap
P P
P
2 5
2 5
3′-end processing proteins

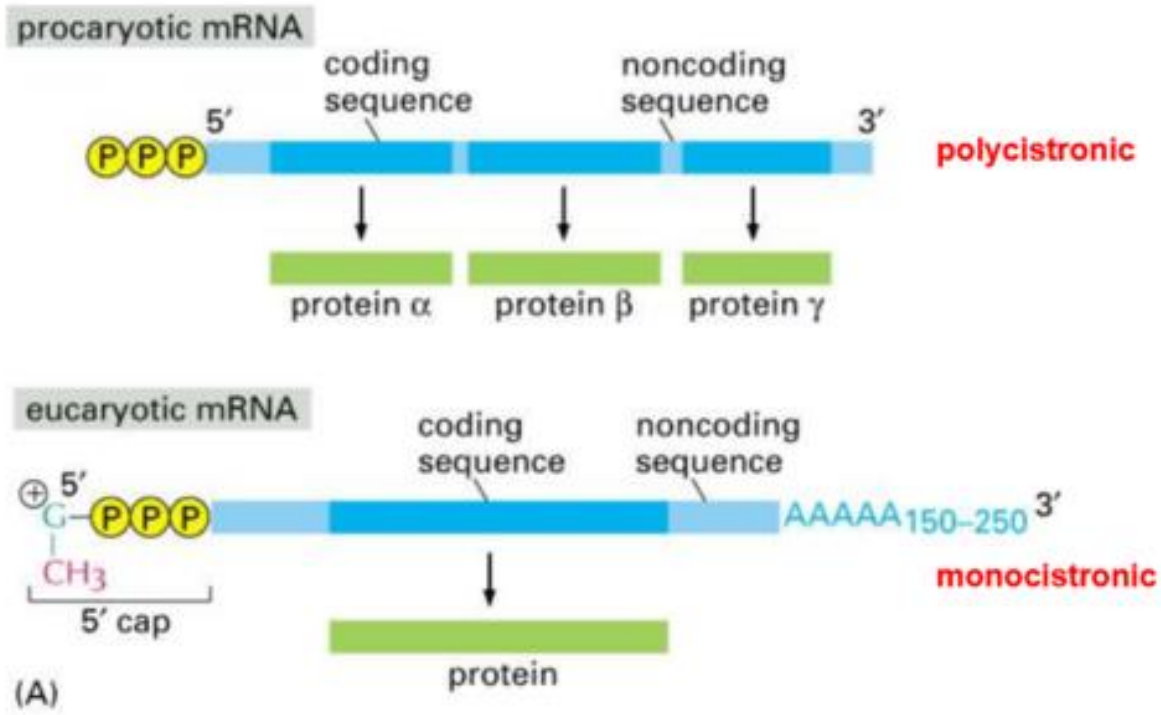
4.3.2 Ajout de la coiffe en 5’



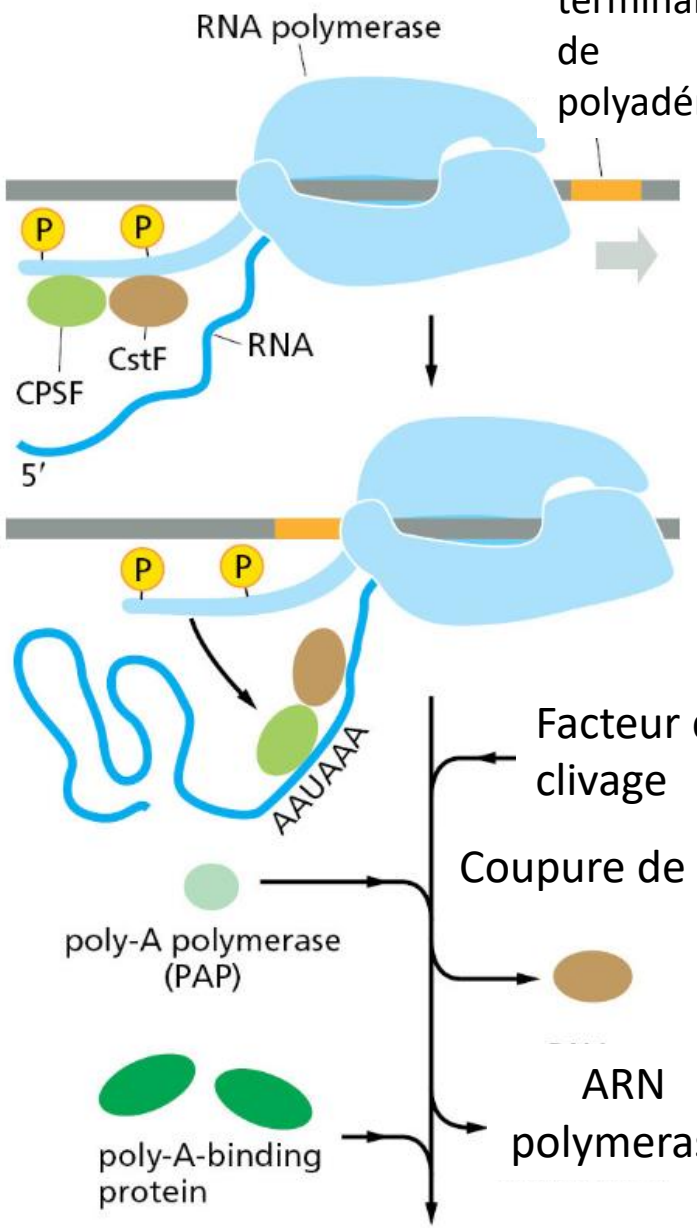
Intervention de 3 enzymes :

- Phosphatases
- Guanyltransférase
- Méthyltransférase

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.



4.3.3 Coupure et polyadénylation en 3’



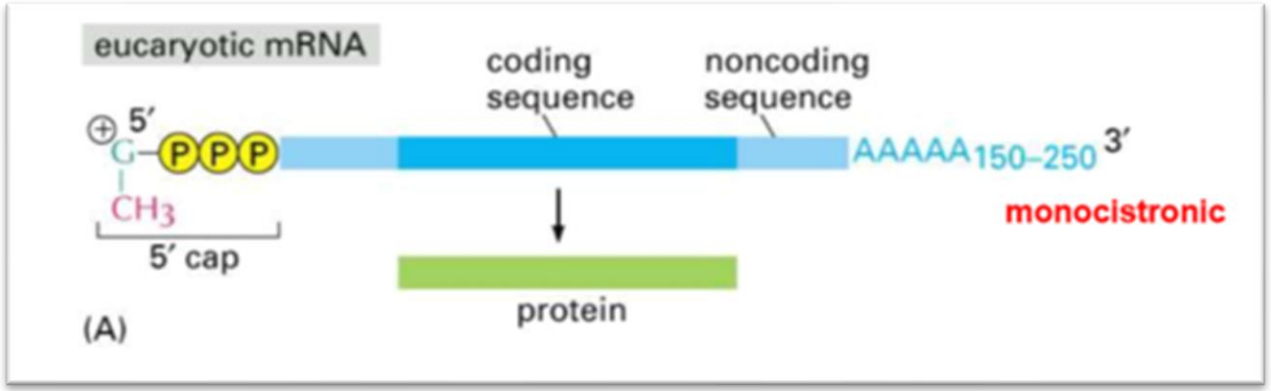
Signal de terminaison et de polyadénylation

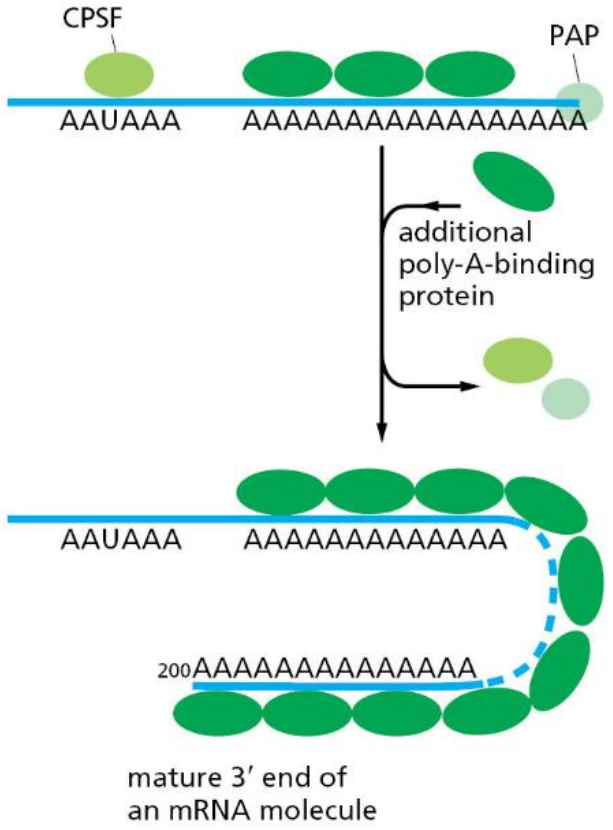
Transcription du signal AATAAA

Facteur de clivage

Coupure de l’ARN

ARN polymerase

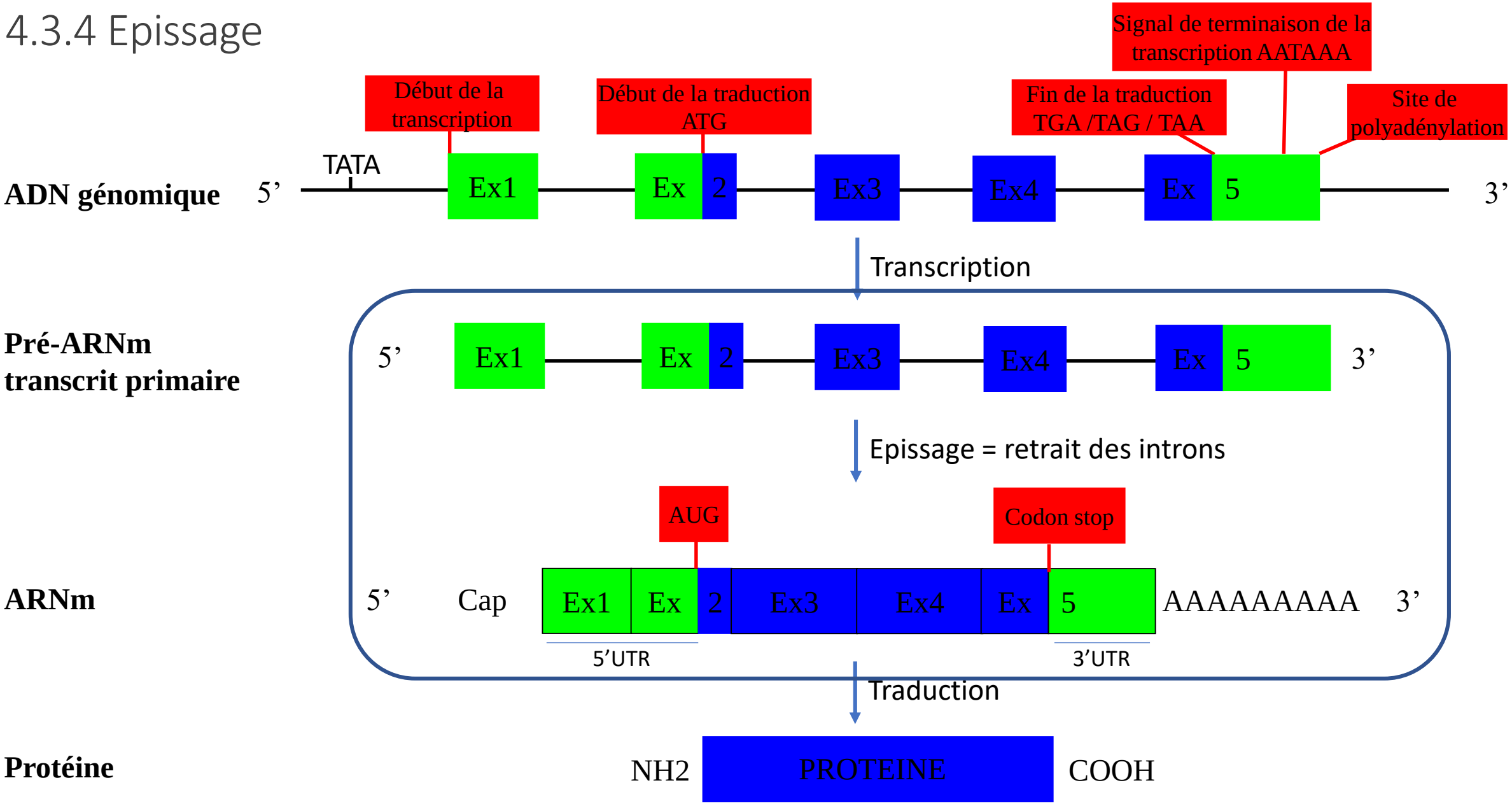




CPSF : Cleavage and polyA specificity factor

CstF : Clevage Stimulation Factor

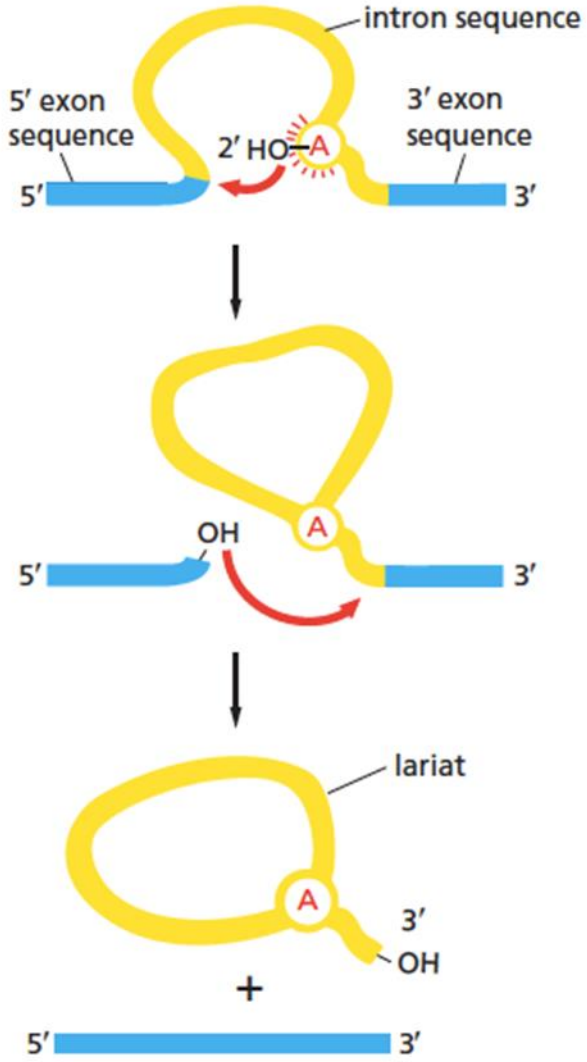
4.3.4 Epissage



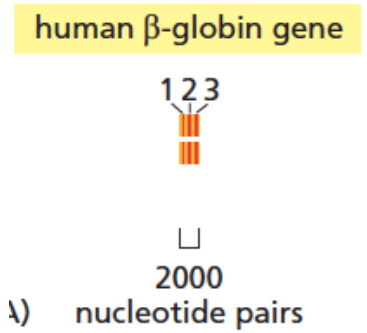
Mécanisme simplifié

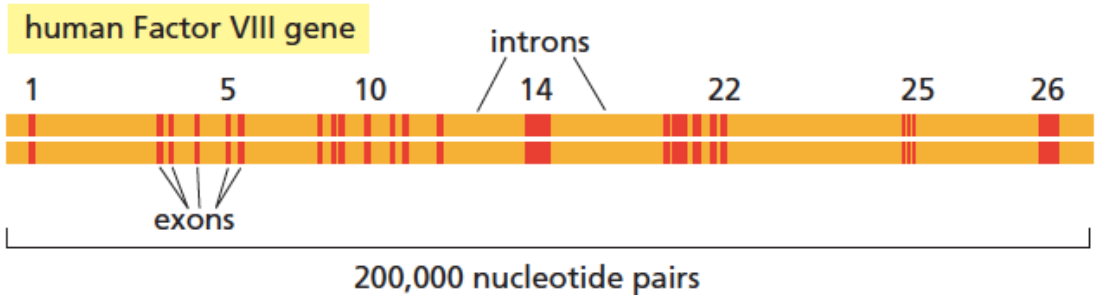
Étape 1 : Première coupure en 5’ de l’intron et transestérification : OH en 2’ du ribose du A de branchement se lie au 5’ du P de l’intron : formation du lasso

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

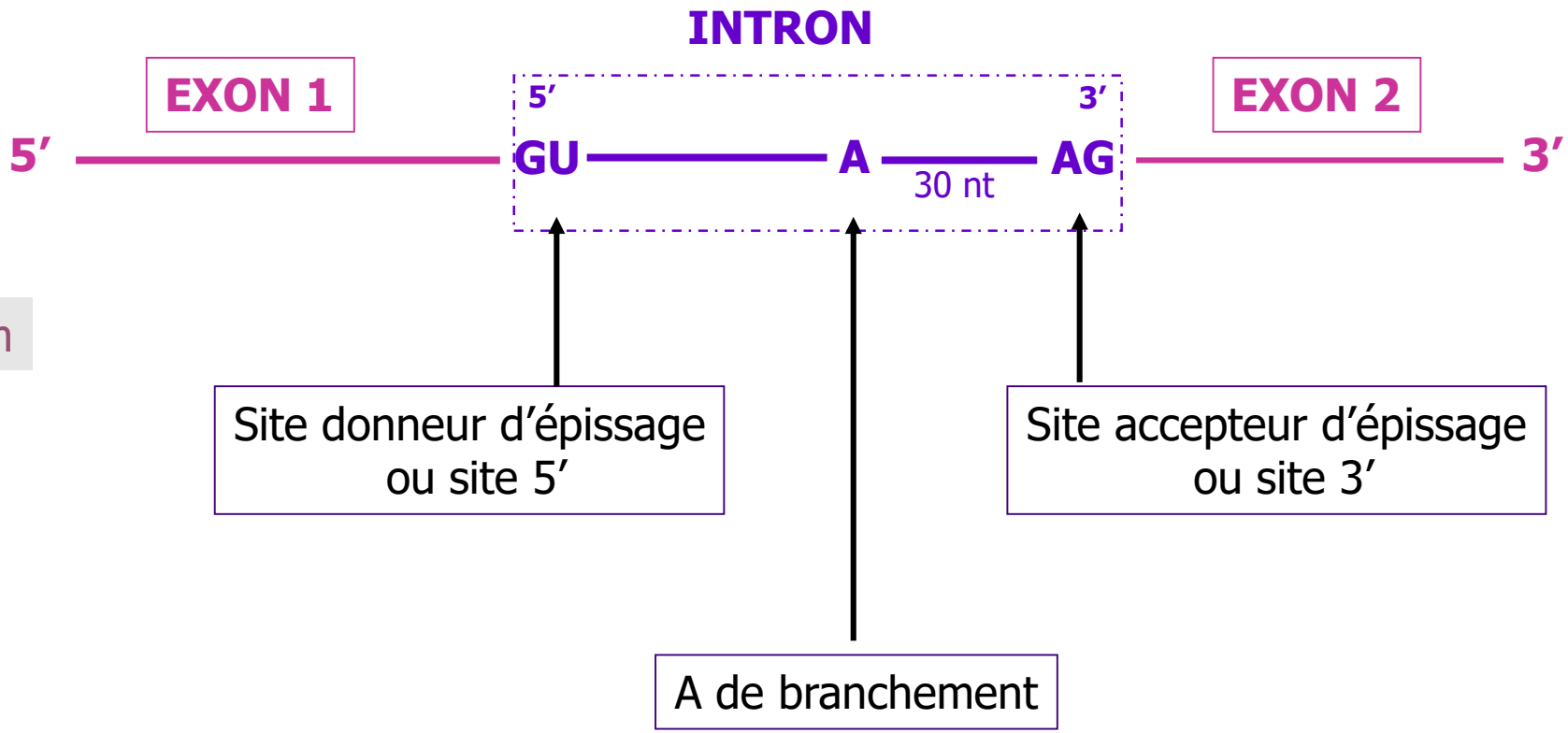


Structure simplifiée des introns

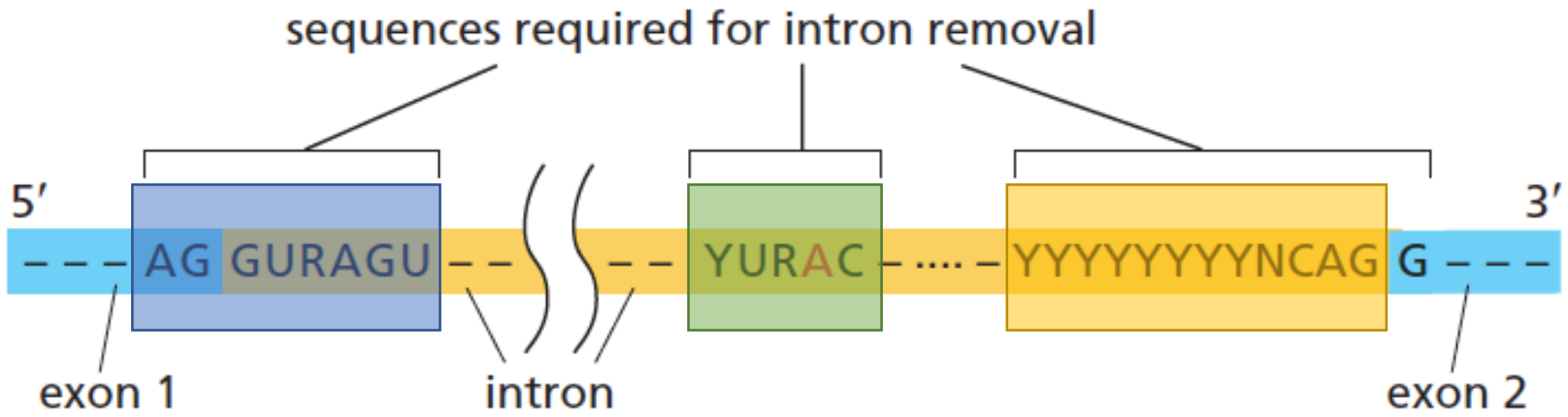




Pré-ARNm



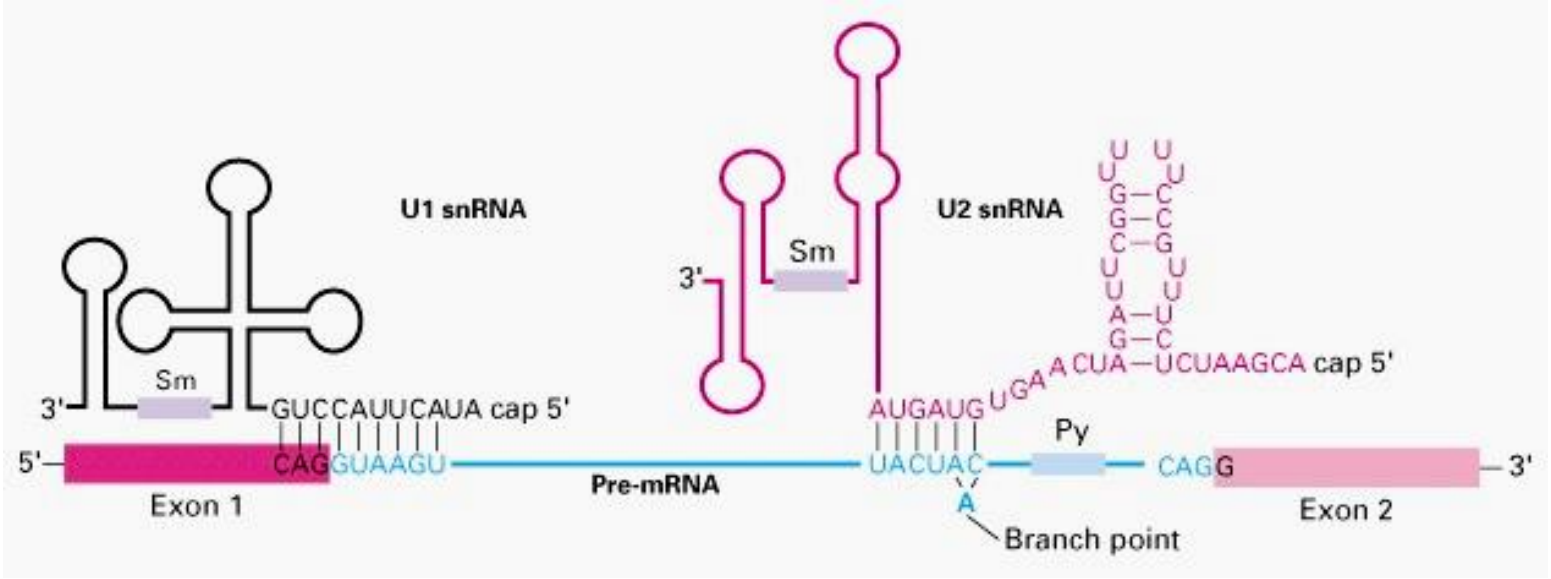
Structure détaillée des introns



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

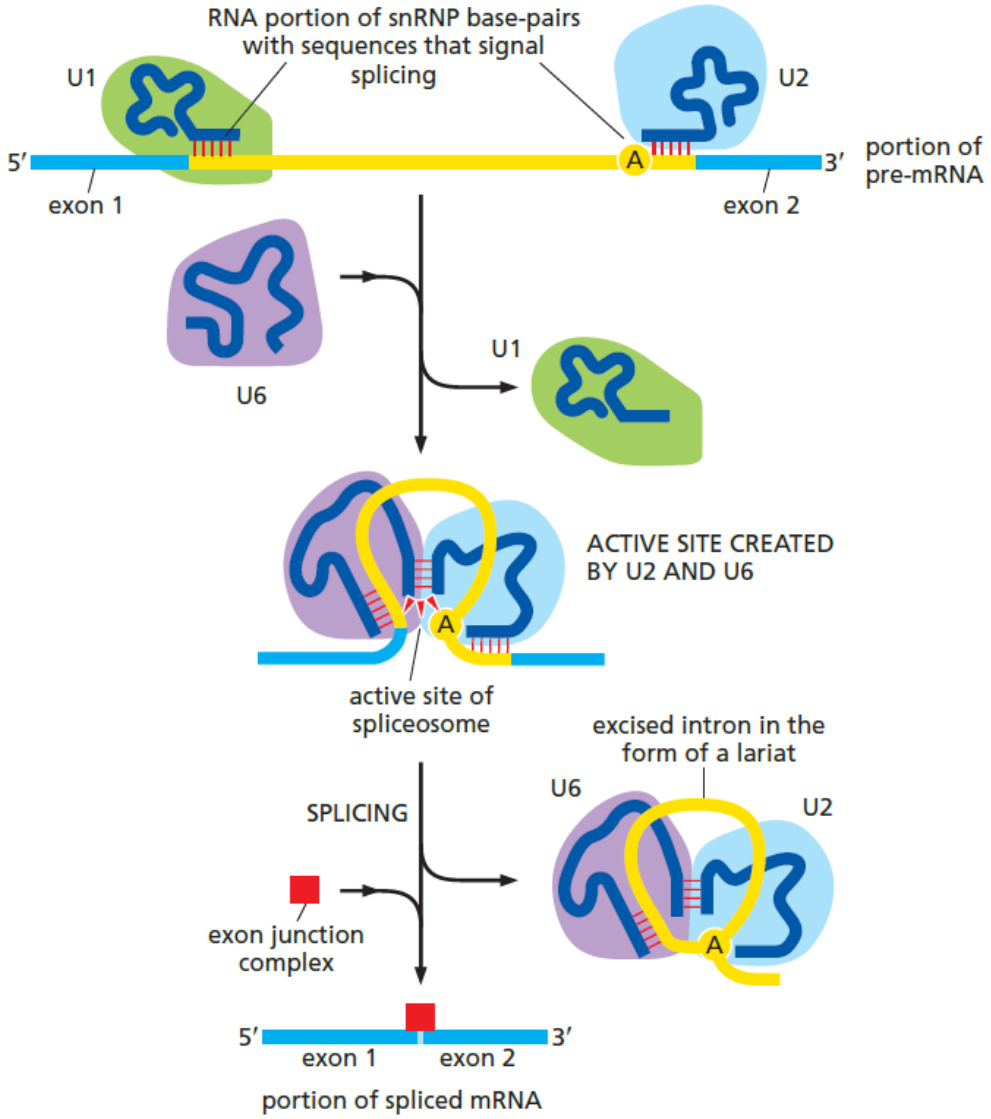
Le Spliceosome

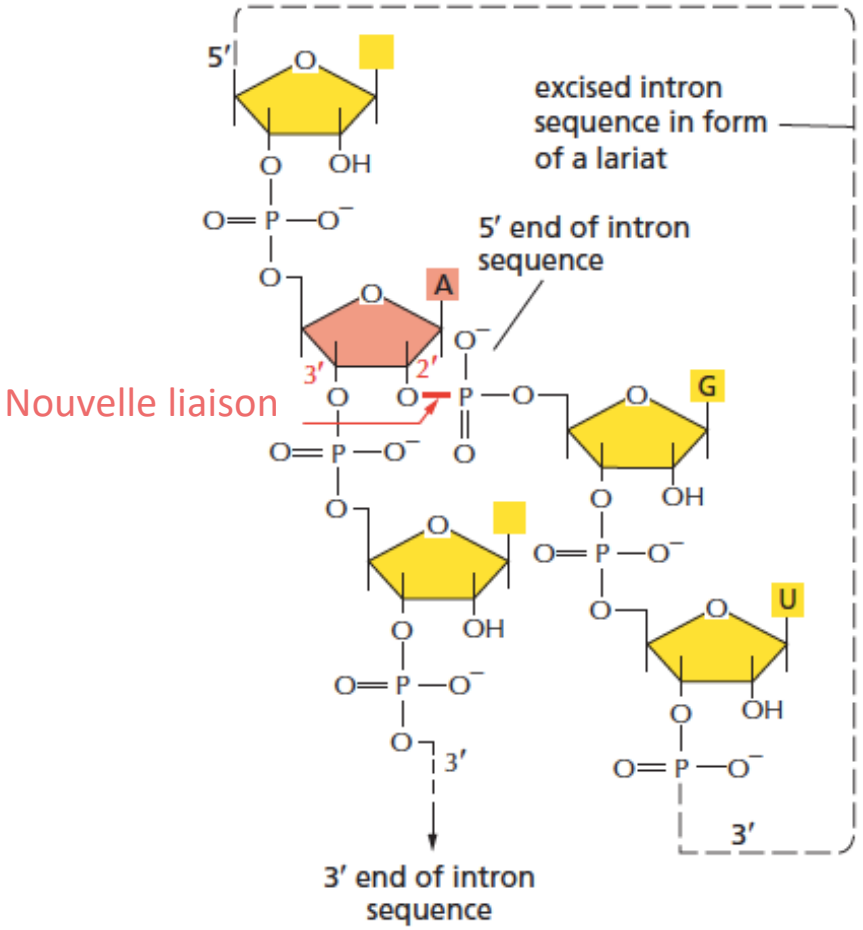
- **Acteur de l'épissage : snRNP associées à des snRNA**
  - Petites molécules d'ARN < 200 nt
  - 5 snRNA (small nuclear RNA) majeurs : U1, U2, U4, U5, U6
  - Associés à des snRNP (small nuclear Ribonucleoprotein) : au moins 7 par snRNA
  - Certaines snRNP sont communes (protéines Sm) et d'autres sont 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

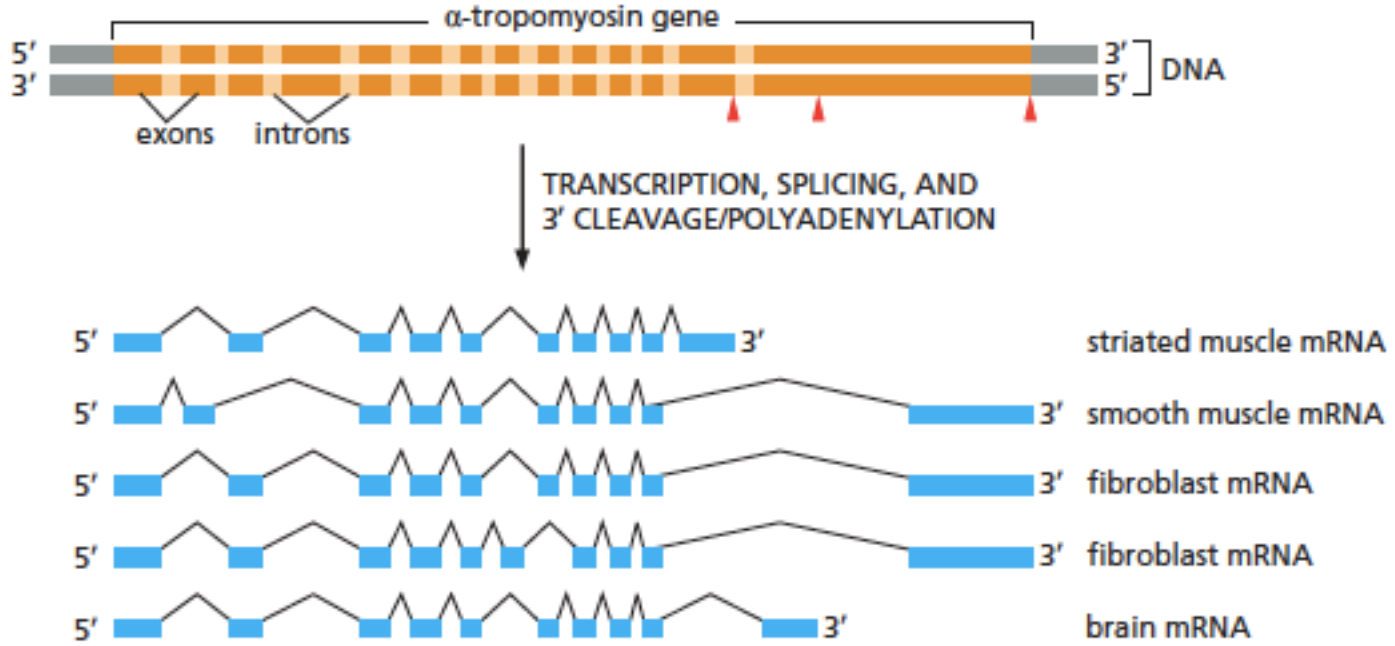
- Pas de polyadénylation
- Pas de cap
- Pas d'épissage (pas d'intron)
- 1 gène → 1 protéine
- Plusieurs gènes transcrits en un même ARNm polycistronique (opéron bactérien)

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**.

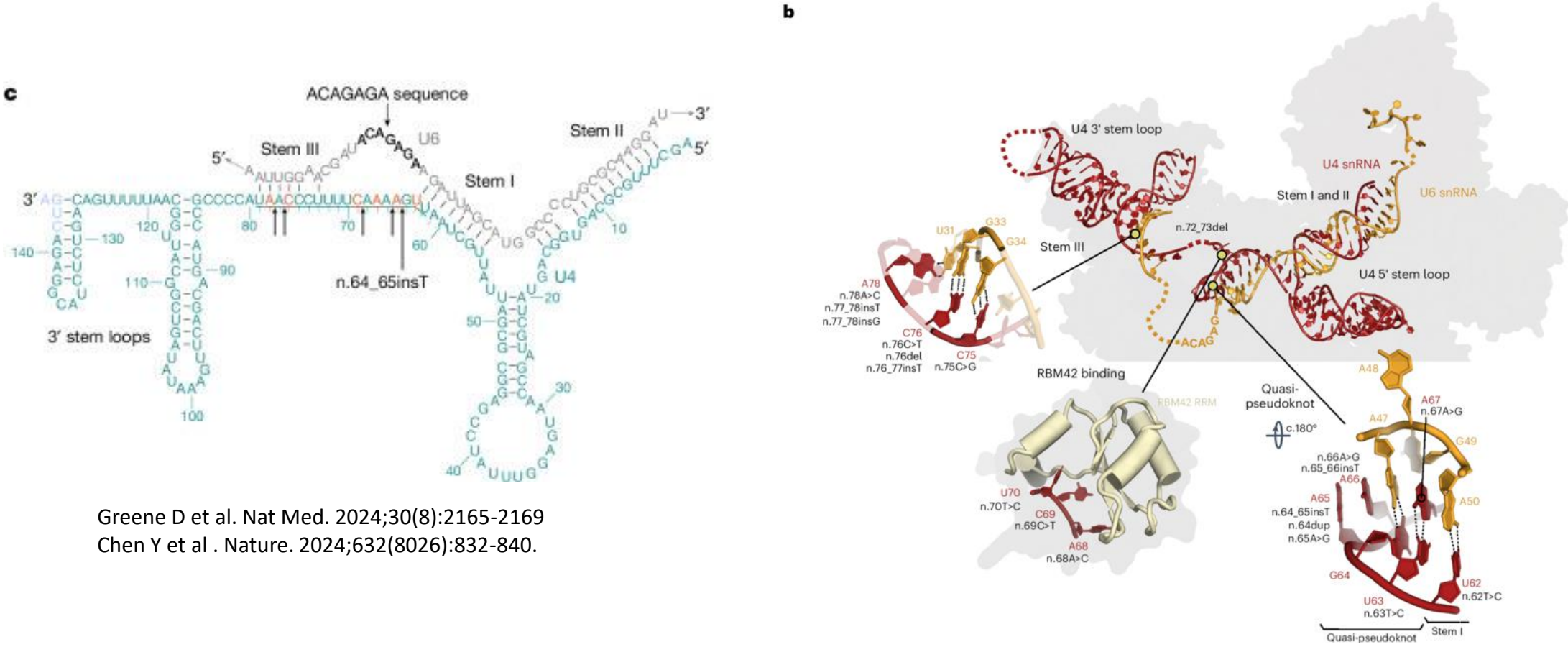
Structure des introns **primordiale** et très (partiellement) **conservée** !

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]

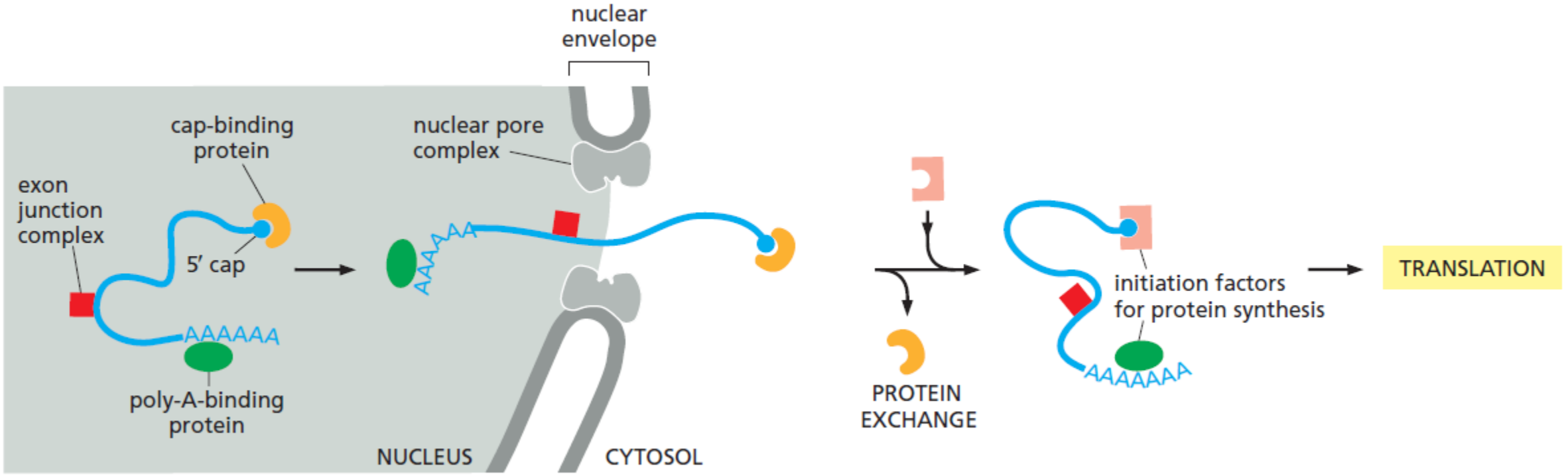


Greene D et al. Nat Med. 2024;30(8):2165-2169
Chen Y et al . Nature. 2024;632(8026):832-840.

4. Mécanismes de la transcription eucaryote

4.4. Transport hors du noyau

Mécanisme **actif**



5. Transcription et maturation des ARN ribosomiques

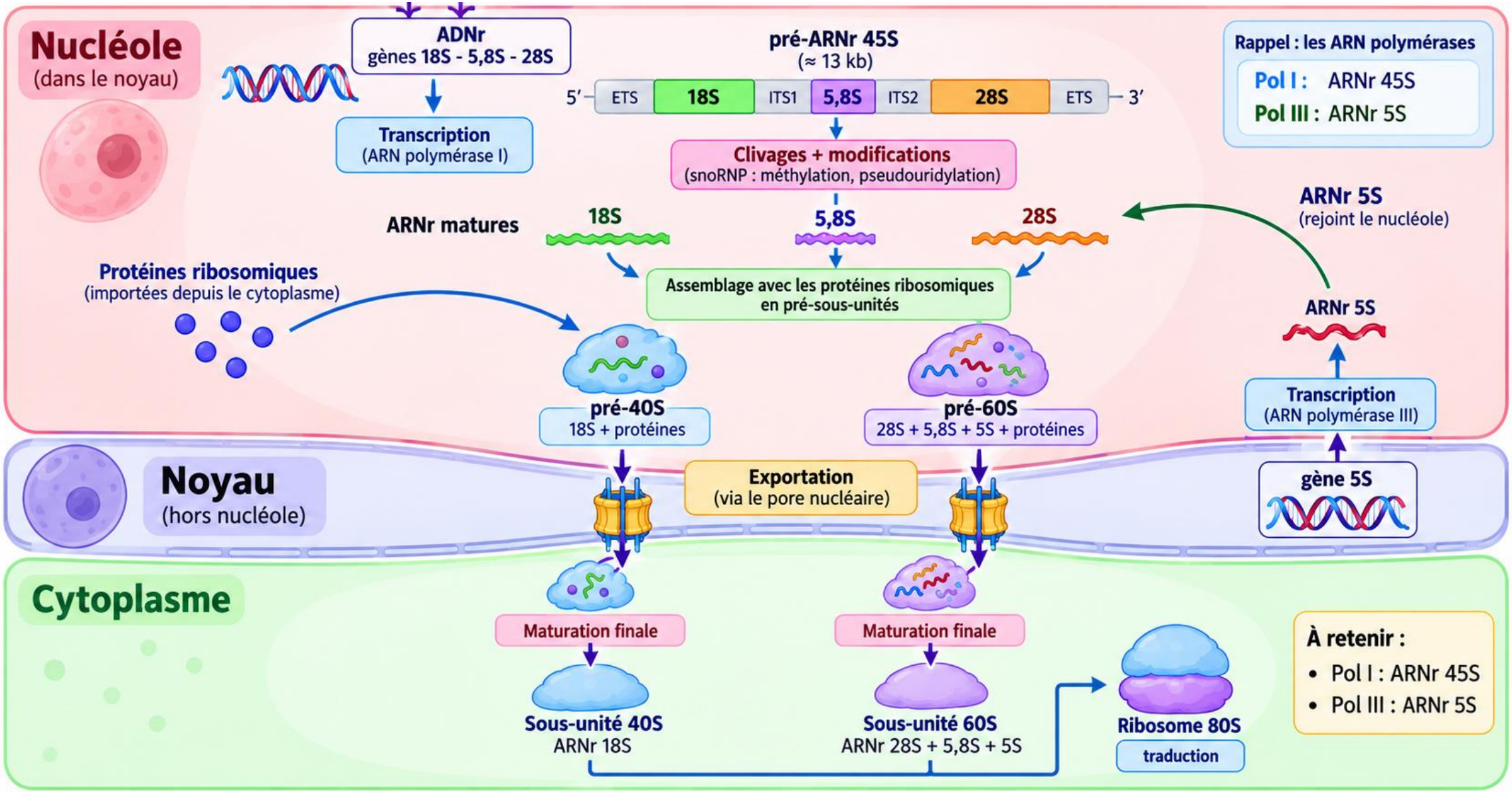


Image générée par CoPilot