

La Transcription et la maturation des ARN

Dr Alexandre JANIN

Service de Biochimie et Biologie Moléculaire – Hospices Civils de Lyon

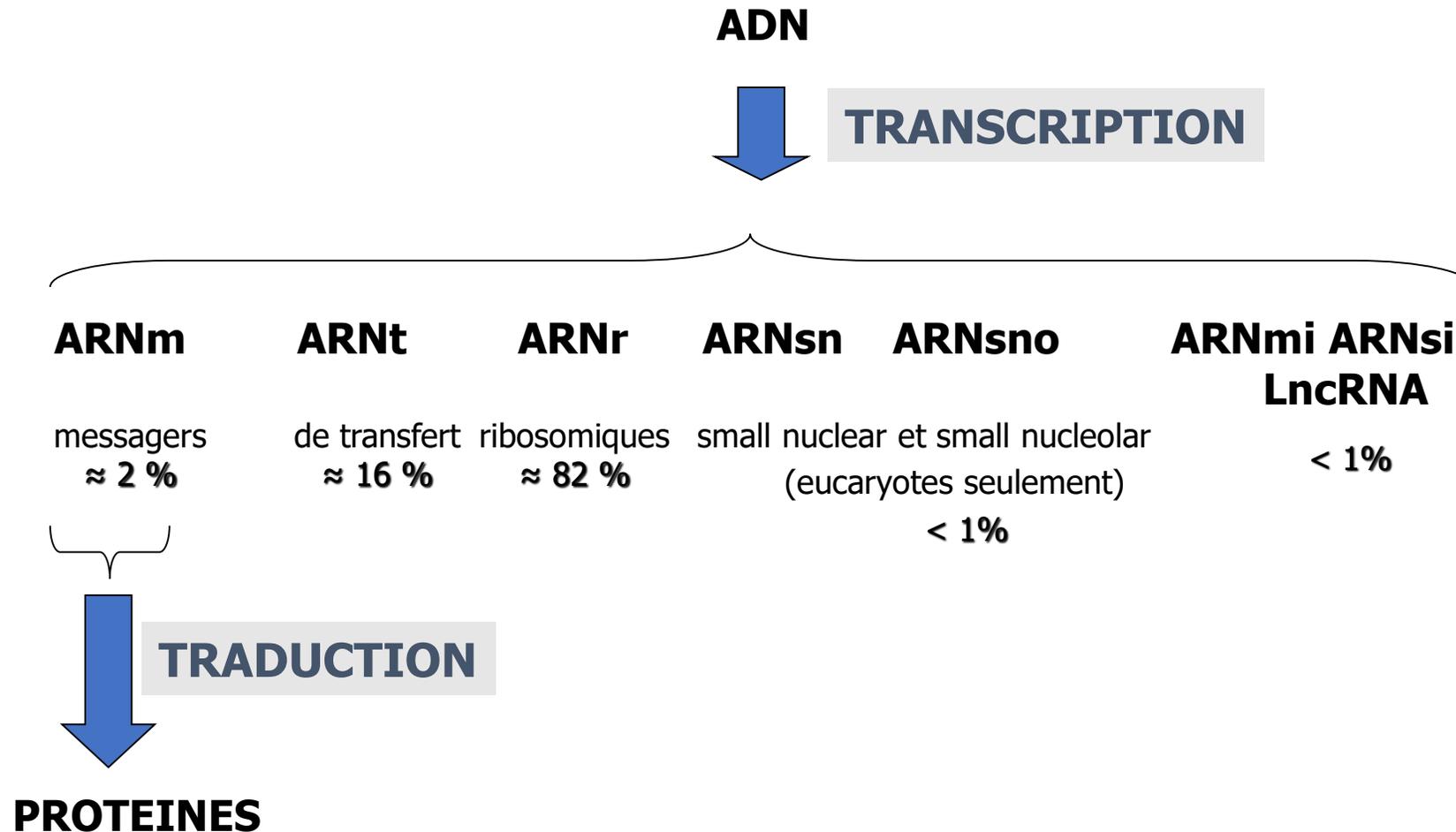
ISPB – Faculté de Pharmacie de Lyon
Université Claude Bernard Lyon 1



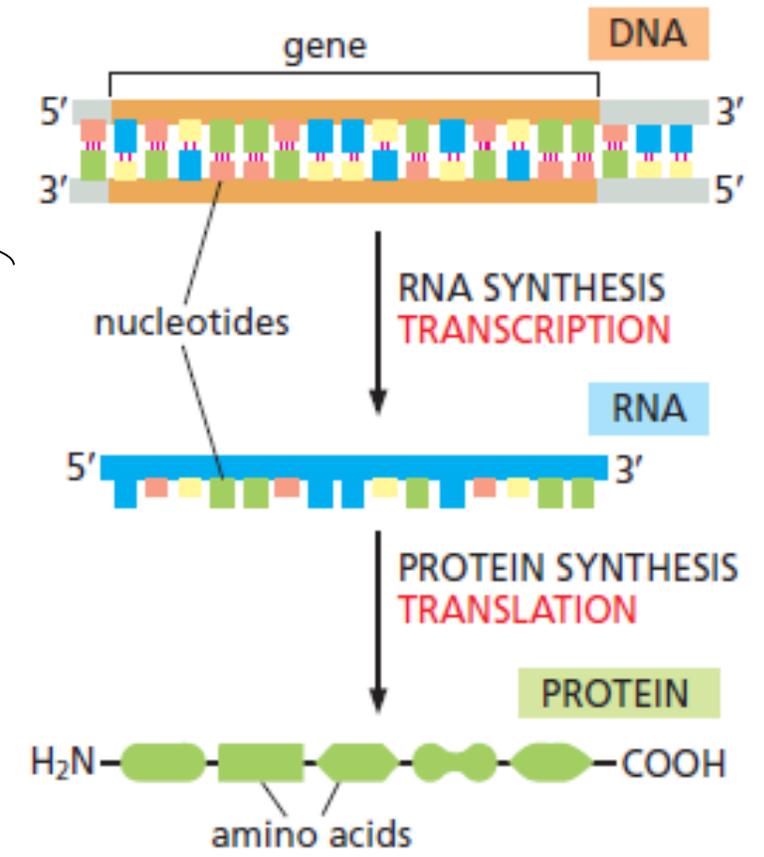
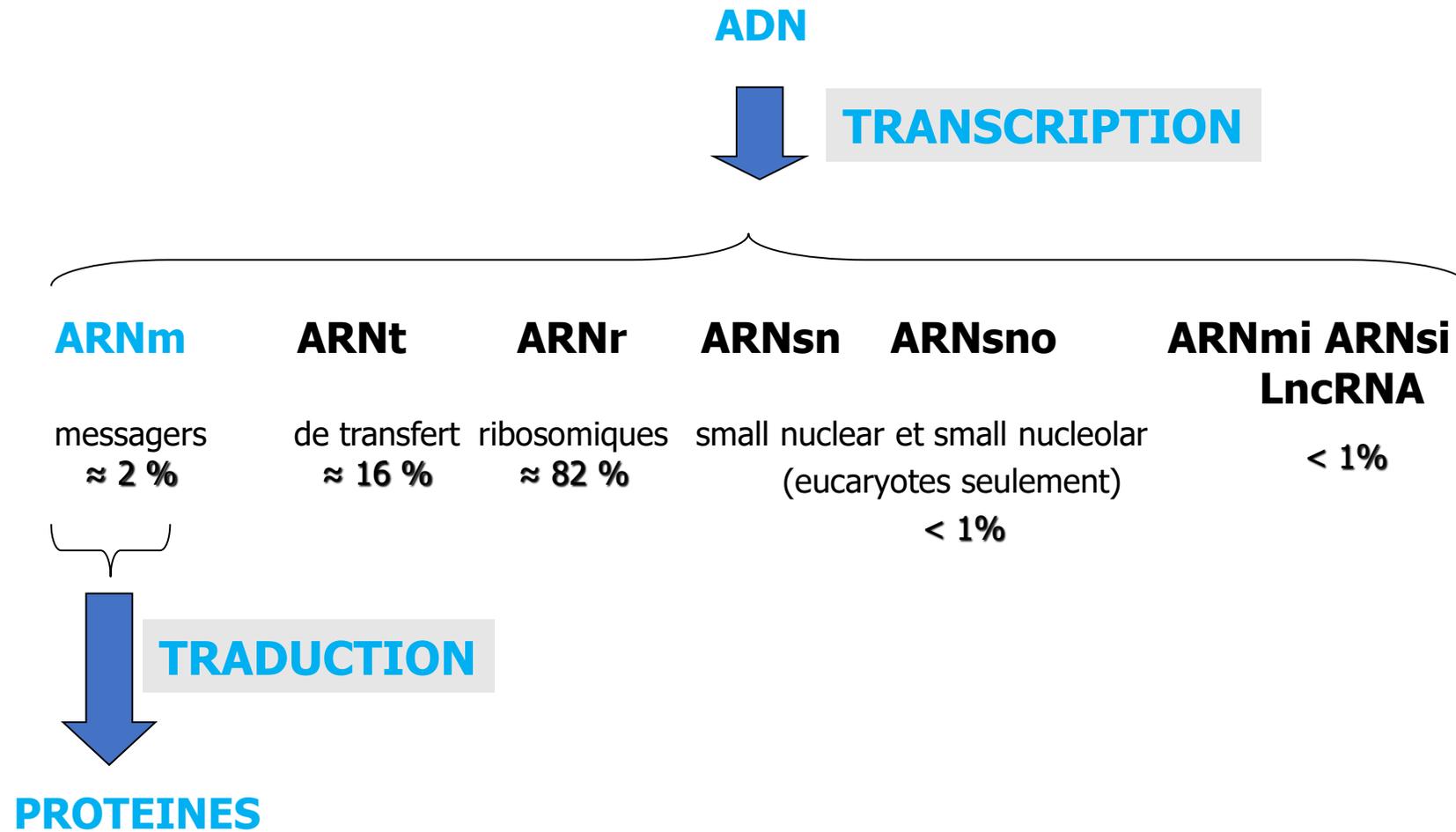
Plan

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
6. Transcription et maturation des microARN

1. Définition et contexte général



1. Définition et contexte général



2. Les acteurs de la réplication

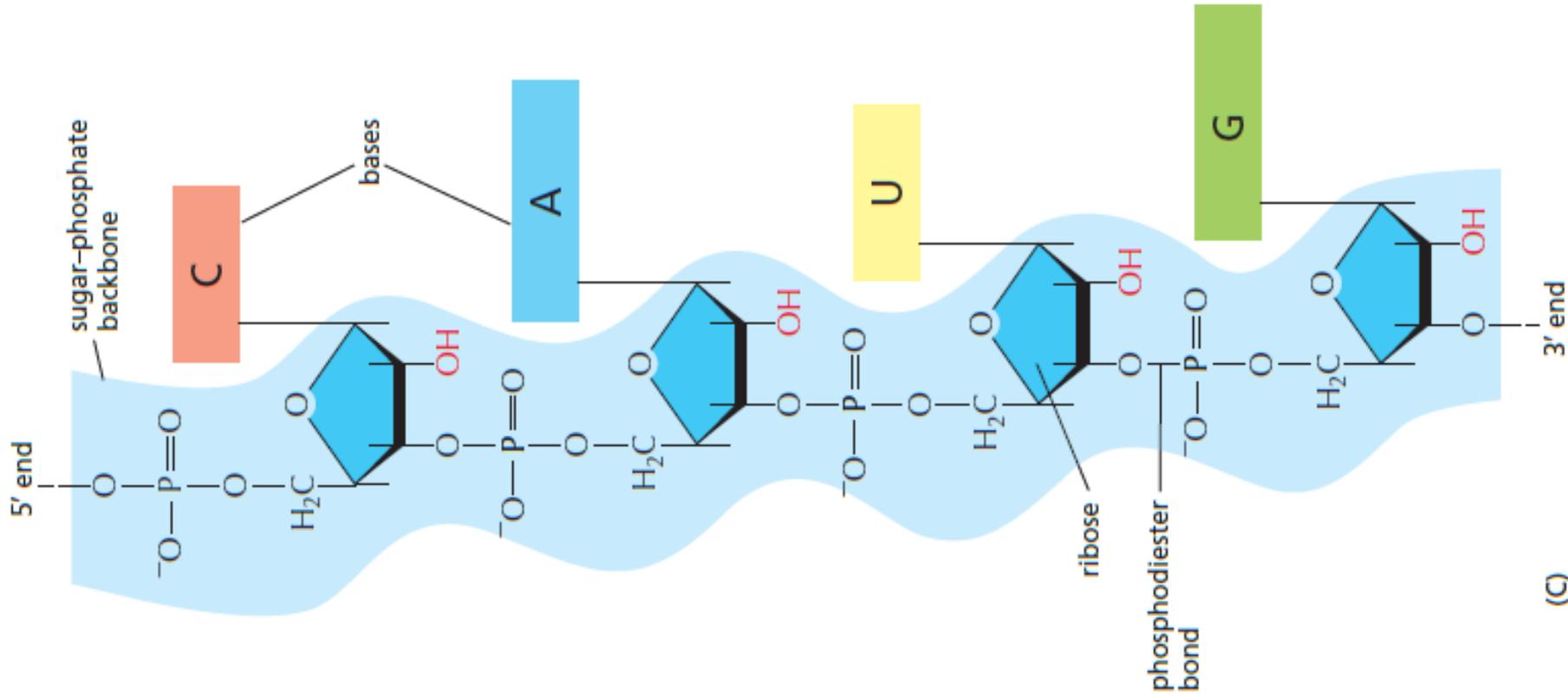
① Les ribonucléotides triphosphates

ATP : Adénosine triphosphate

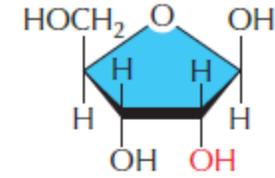
CTP : Cytidine triphosphate

GTP : Guanosine triphosphate

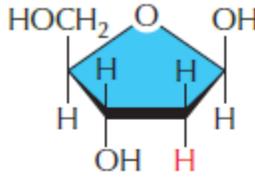
UTP : **Uridine** triphosphate



SUGAR DIFFERENCES

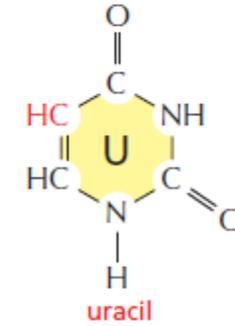


used in RNA

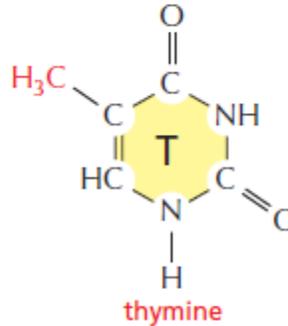


used in DNA

BASE DIFFERENCES



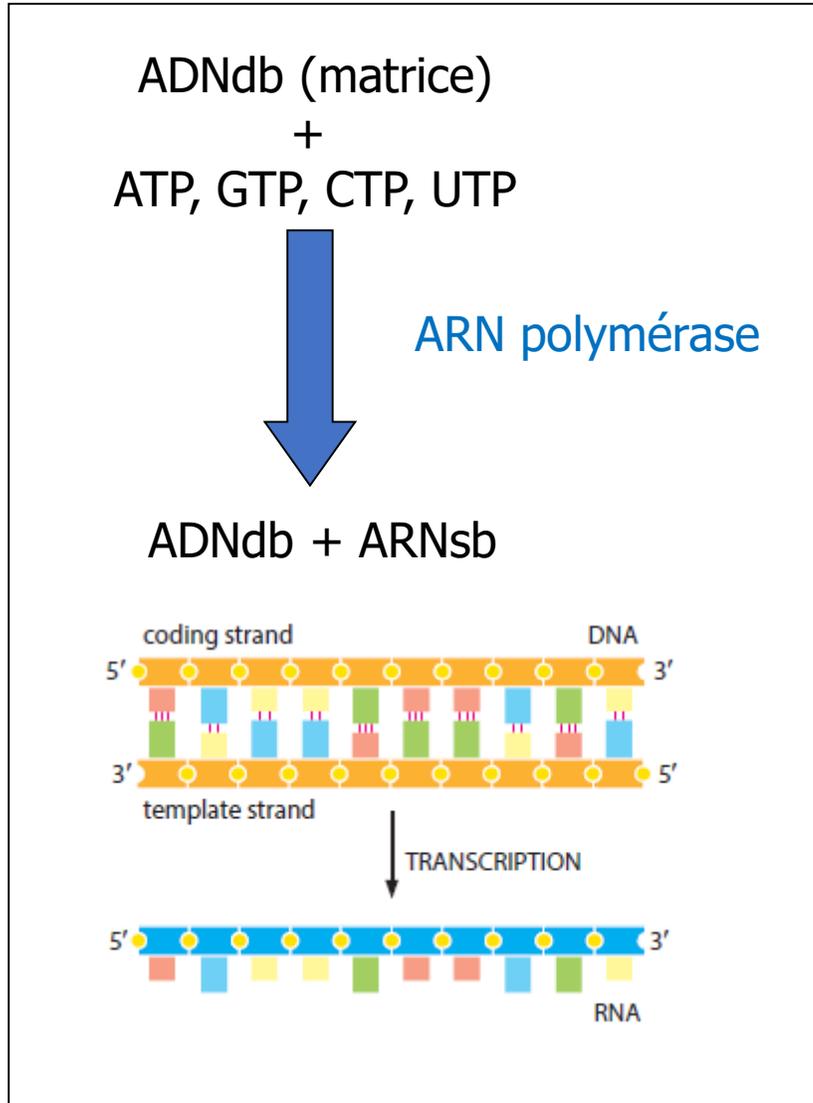
used in RNA



used in DNA

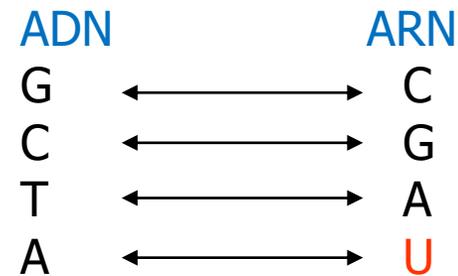
(C)

② ARN polymérase ADN dépendante

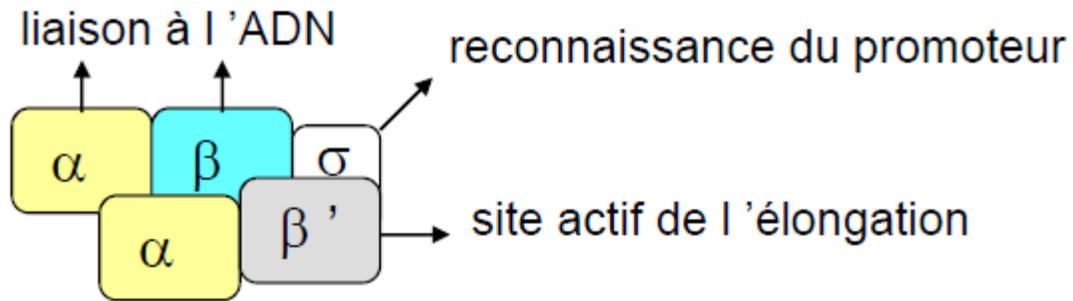


Synthèse d'ARN (transcription):

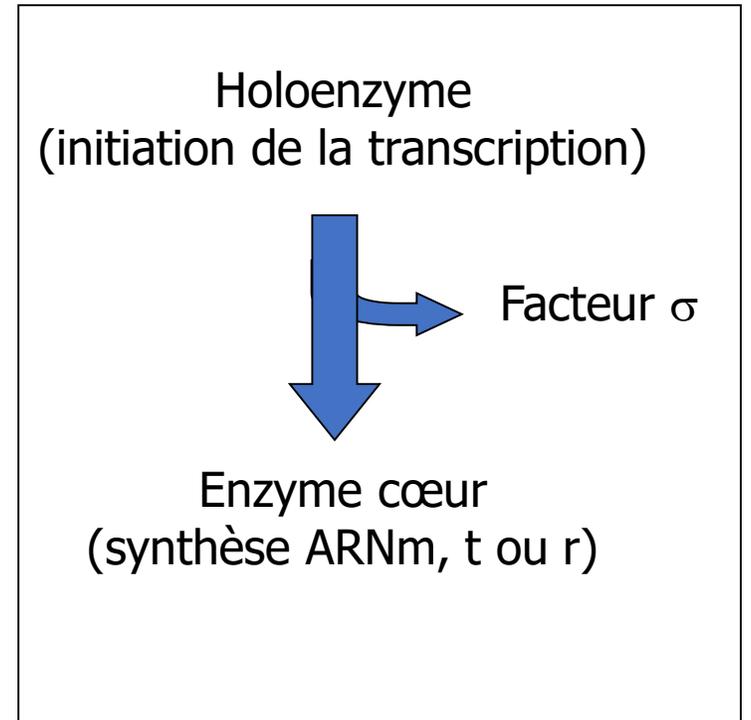
- Pas besoin d'amorce
- Sens 5'→3'
- Anti-parallèle à l'ADN matrice
- Complémentaire d'un des brins de l'ADN:



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%

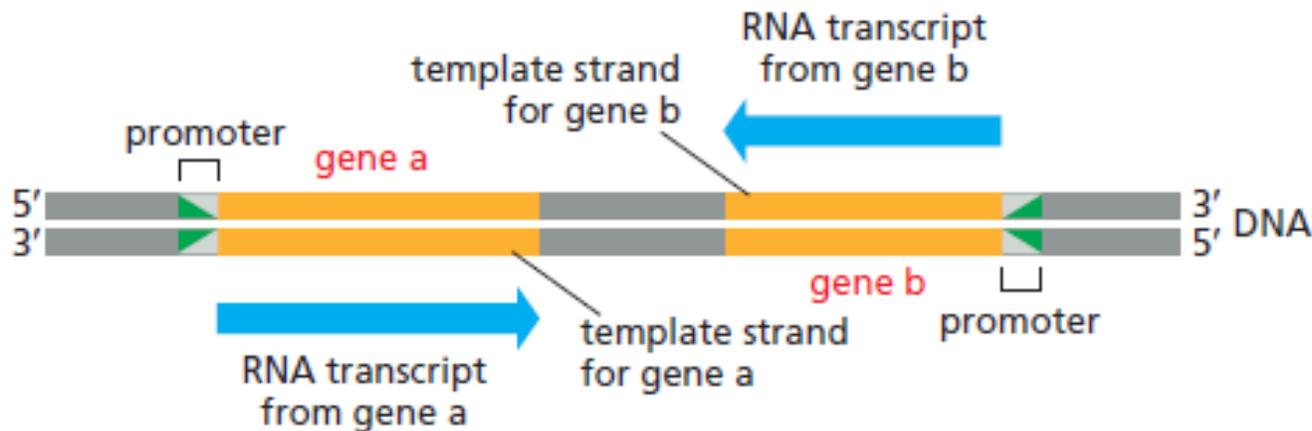
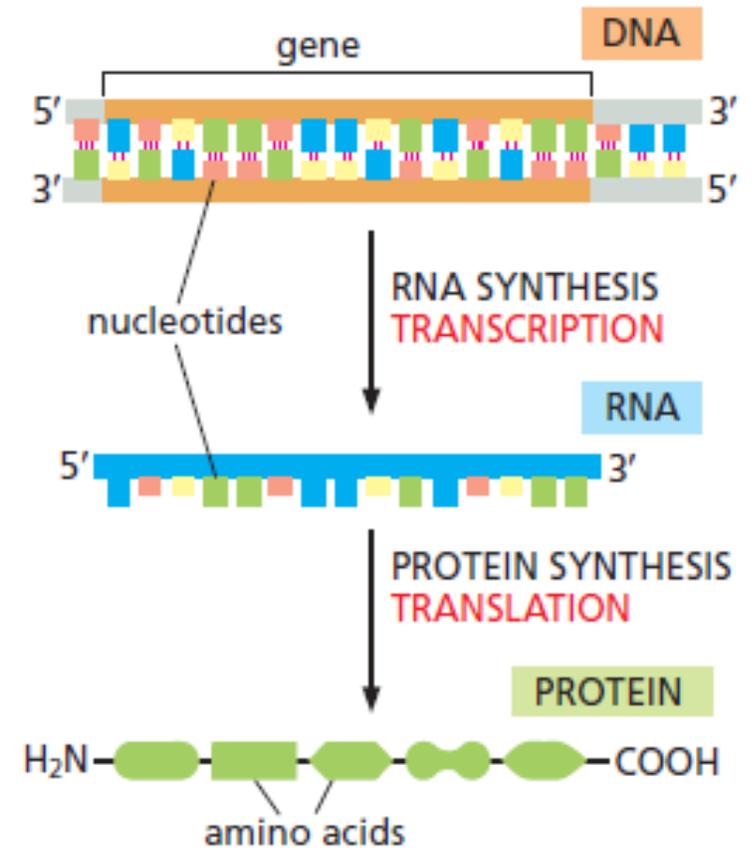
Inhibiteurs des ARN polymérase

Inhibiteurs	ARN polymérase procaryote	ARN Polymérase eucaryote
Actinomycine D	X	X
Acridine	X	X
Rifampicine	X	
α amanitine		X

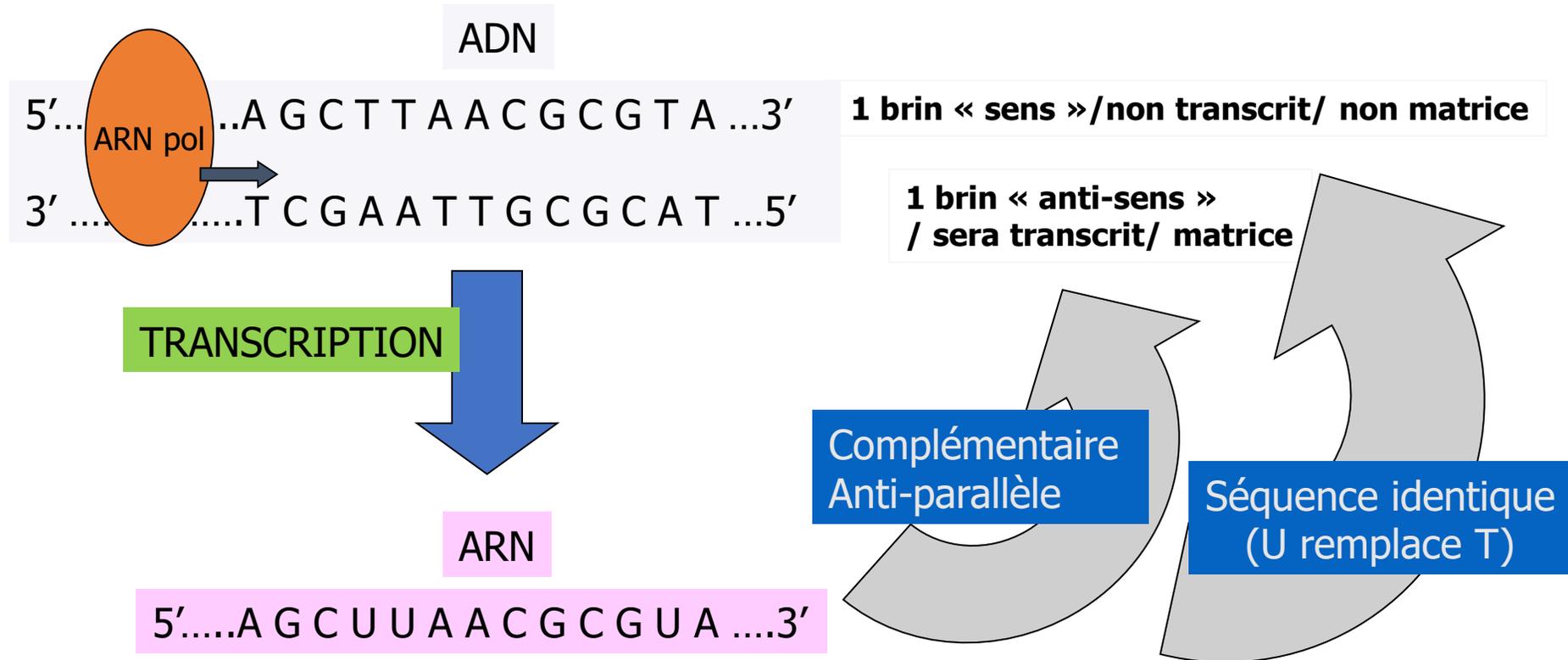
3 ADN double brin = matrice

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 »)

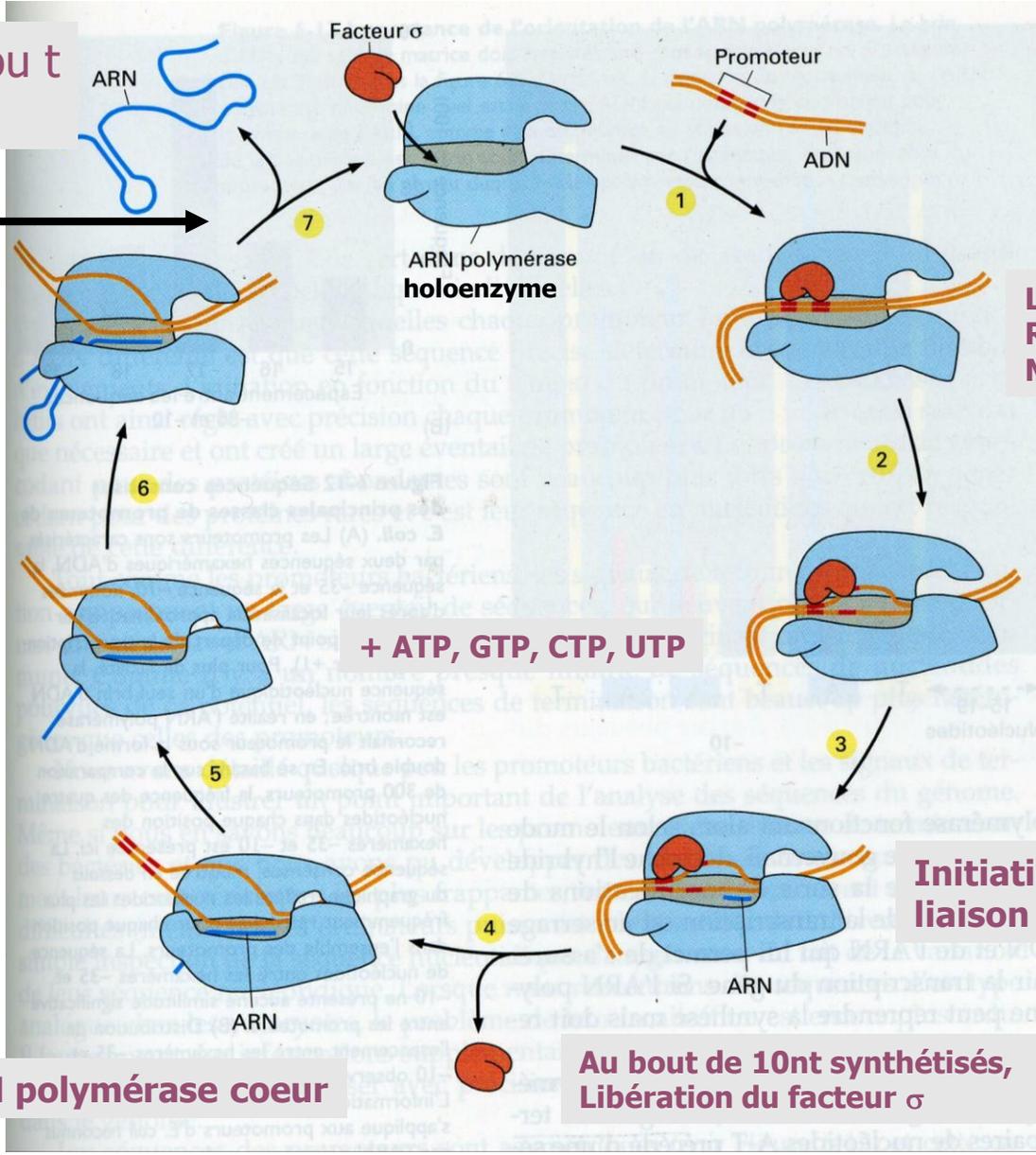
3.3.2. Terminaison indirecte : Protéine Rho à activité ATPasique

ARN m, r ou t
procaryote

Signal de terminaison
(présent sur l'ADN)

Elongation

ARN polymérase coeur



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

Ouverture de l'ADN
sur une courte région

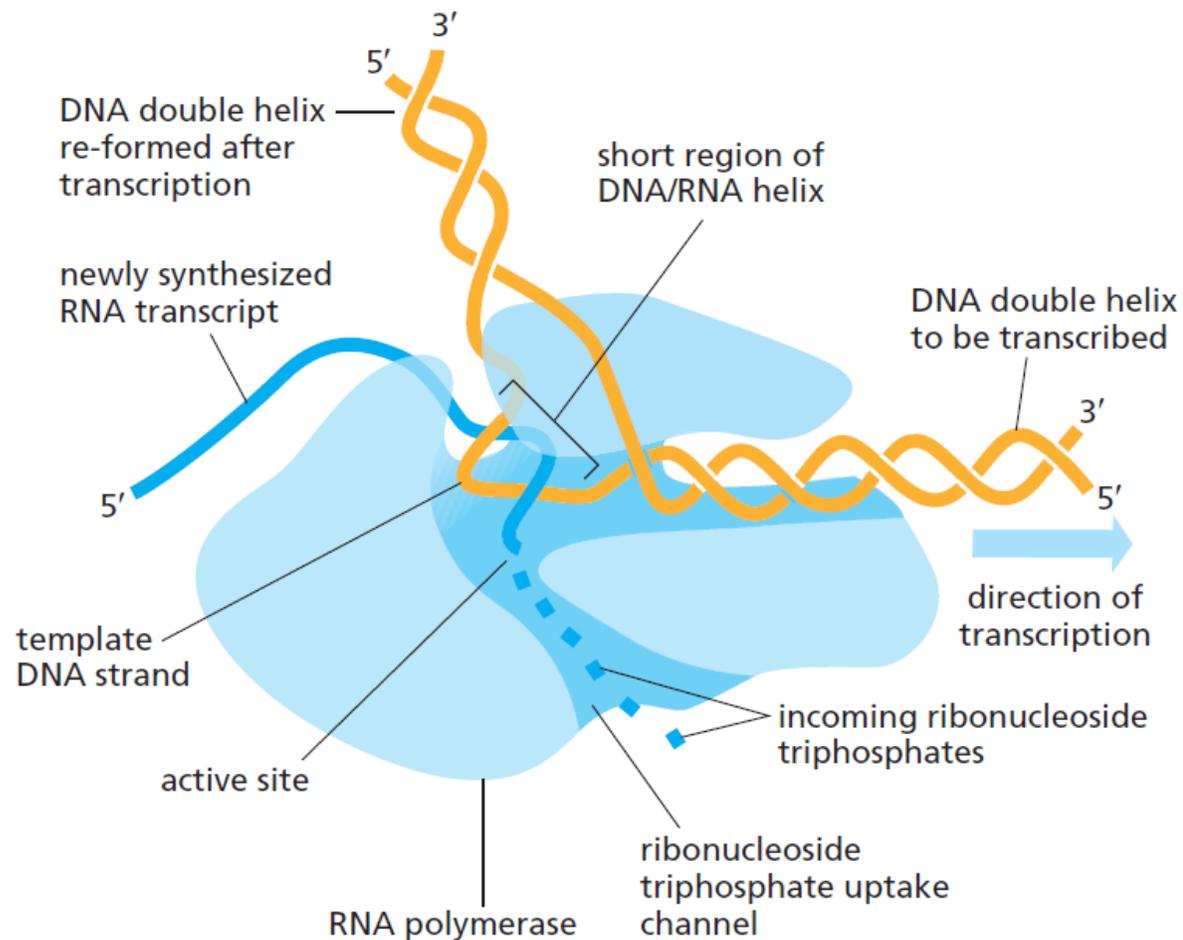
Initiation de la première
liaison phosphodiester

Au bout de 10nt synthétisés,
Libération du facteur σ

+ ATP, GTP, CTP, UTP

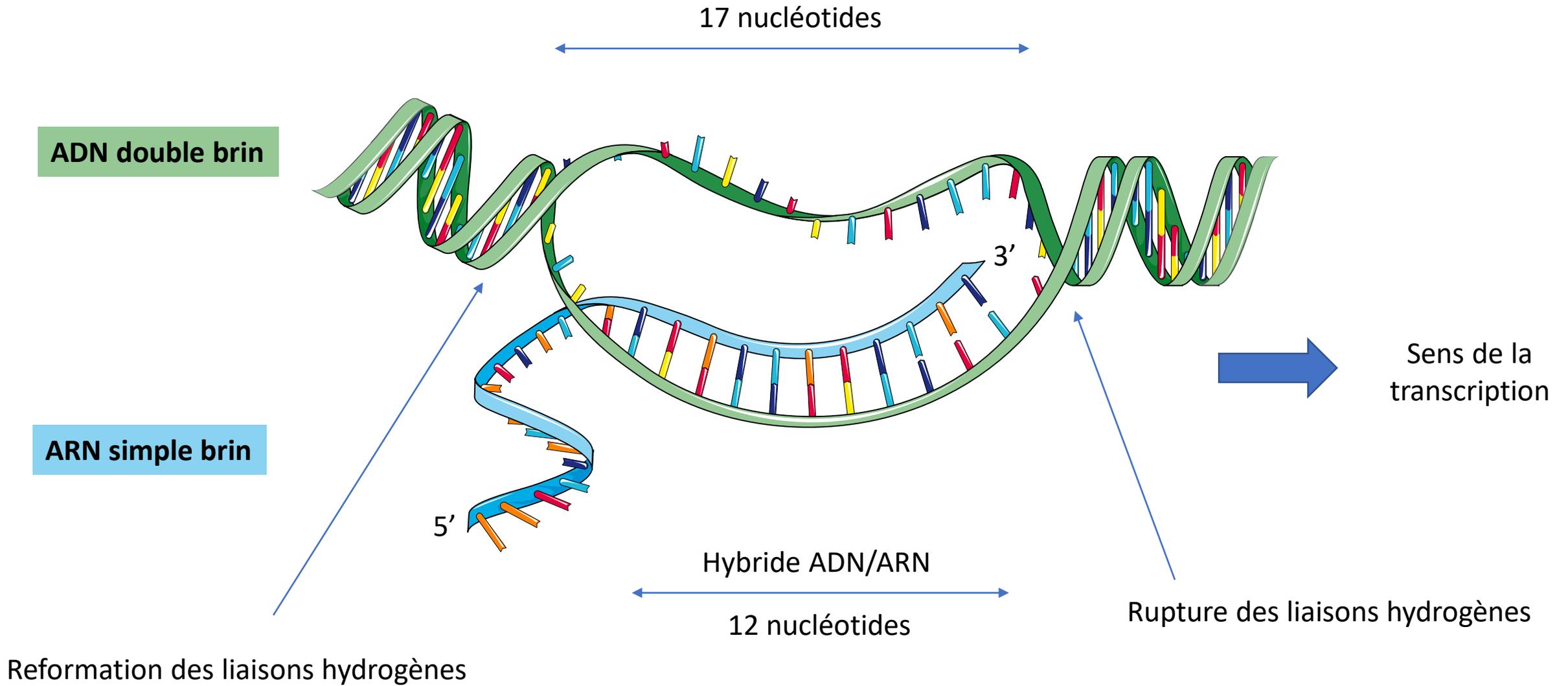
3. Mécanismes de la transcription procaryote

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



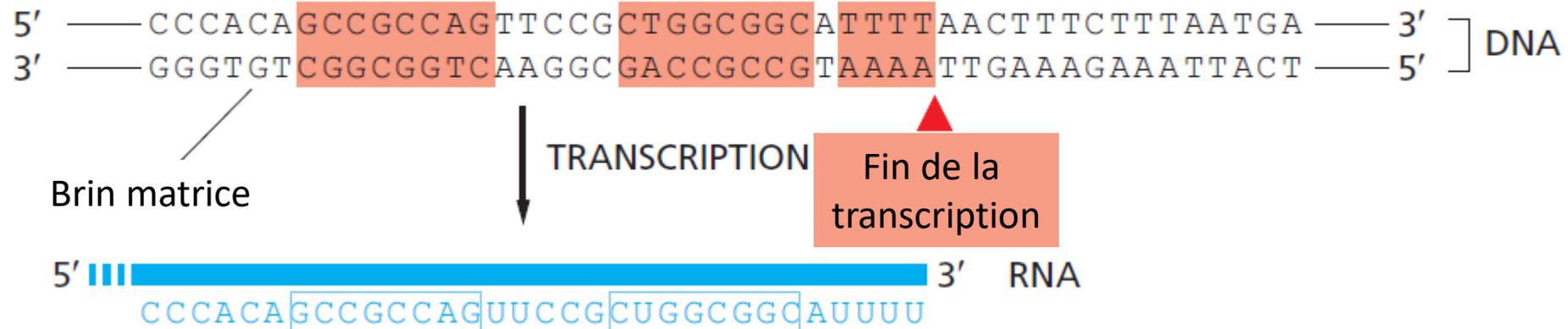
3. Mécanismes de la transcription procaryote

3.3. Terminaison

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

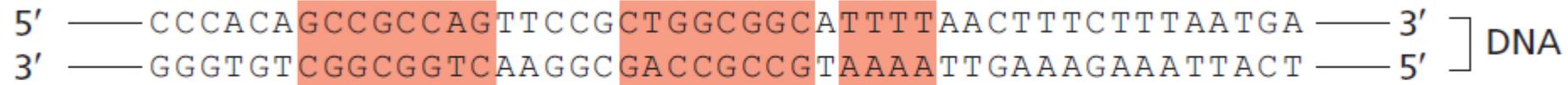
SEQUENCES TERMINATRICES

Ce sont des palindromes imparfaits



SEQUENCES TERMINATRICES

Ce sont des palindromes imparfaits



Brin matrice

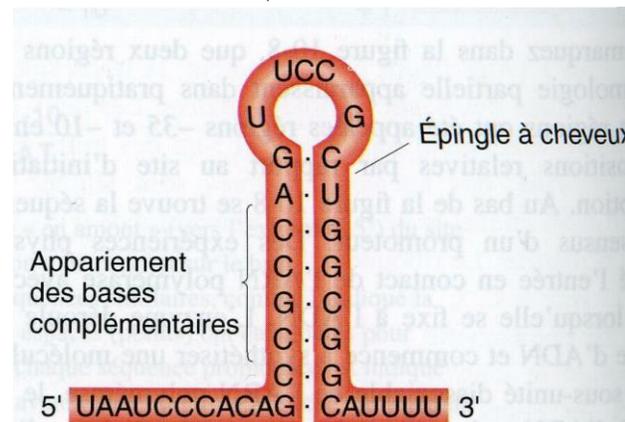
TRANSCRIPTION

Fin de la transcription



Transcription de ces séquences qui sont complémentaires

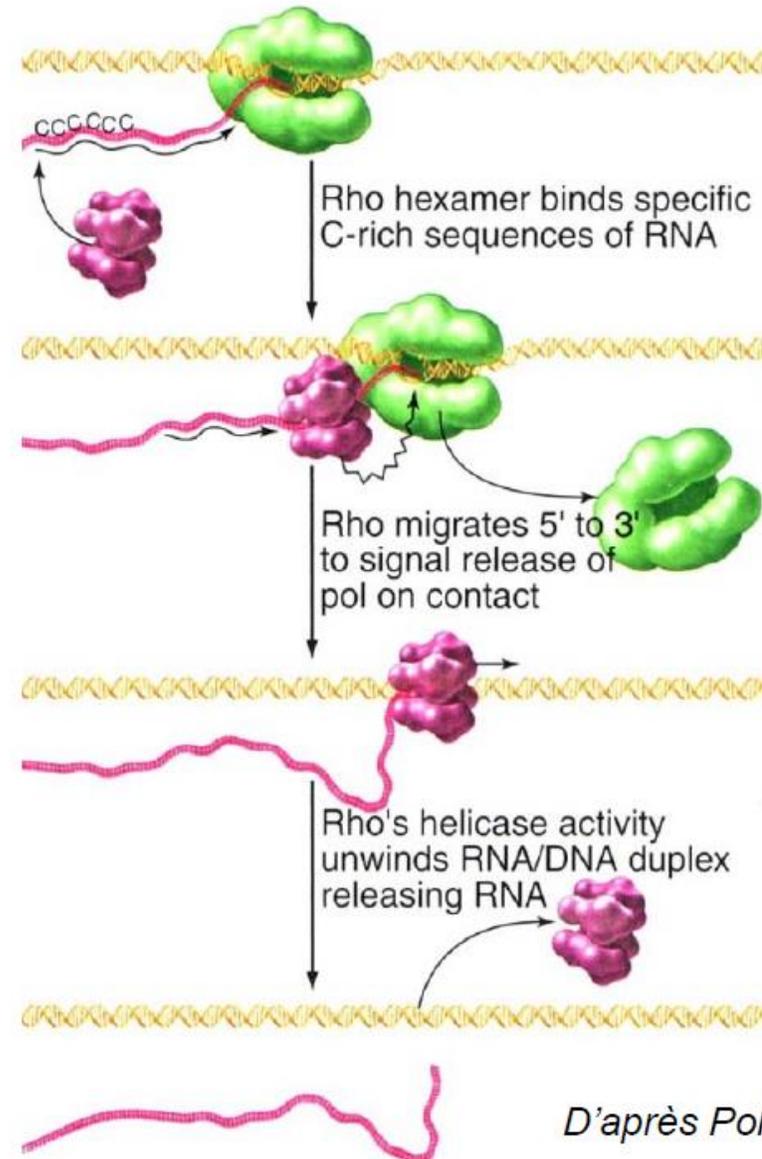
Formation d'une structure en épingle à cheveux



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

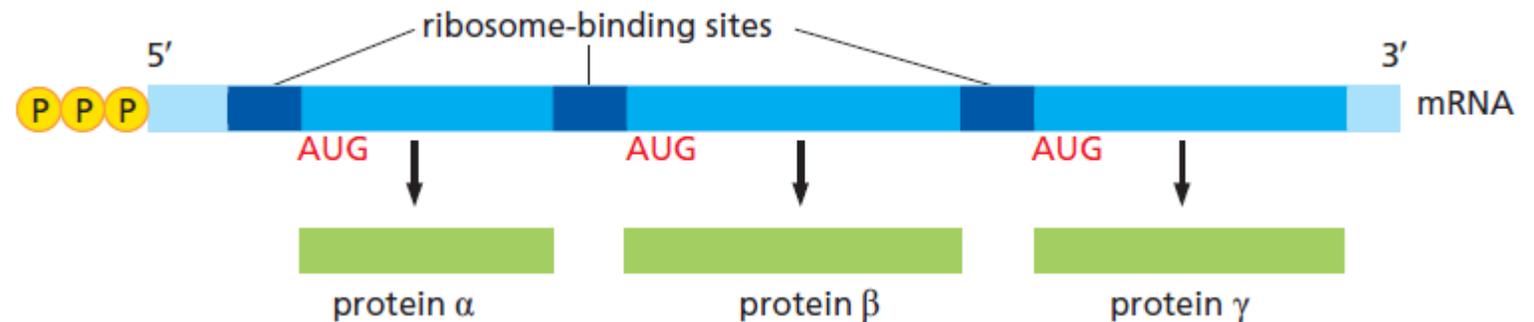
Eucaryotes : trois

③ Chez les eucaryotes uniquement :

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

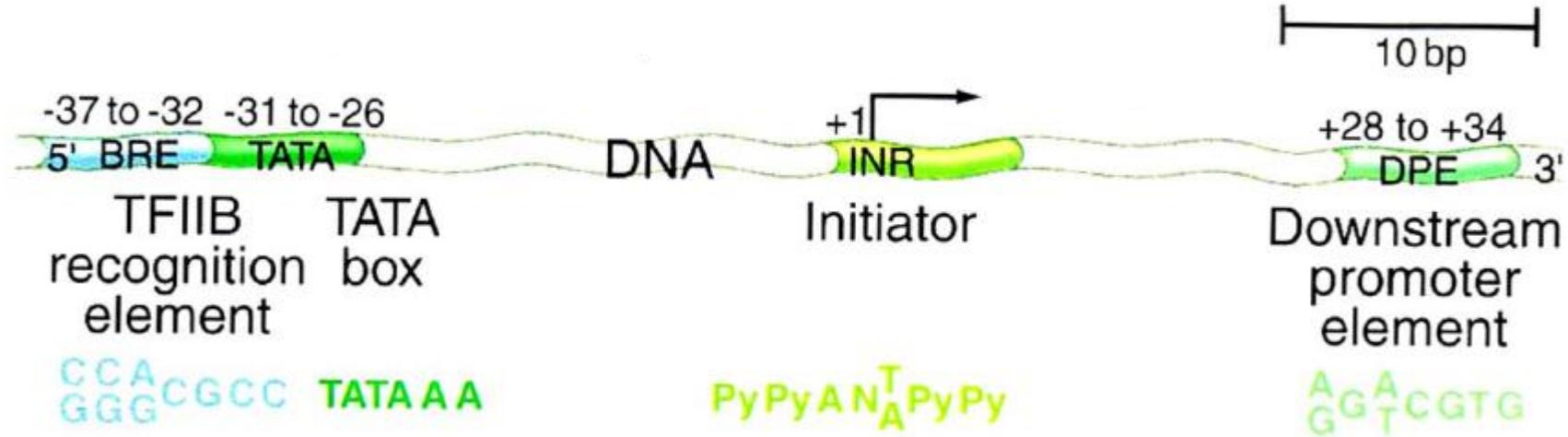
Les ARNm seront exportés hors du noyau avant d'être traduits.

Pas d'ARN polycistroniques



4. Mécanismes de la transcription eucaryote

4.2. Initiation

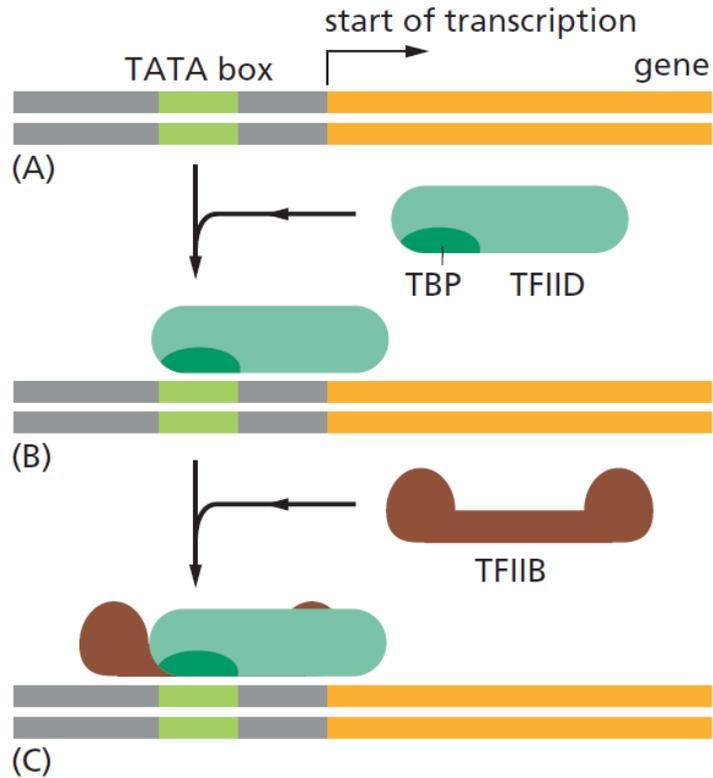


La région promotrice fait intervenir **plusieurs séquences consensus**

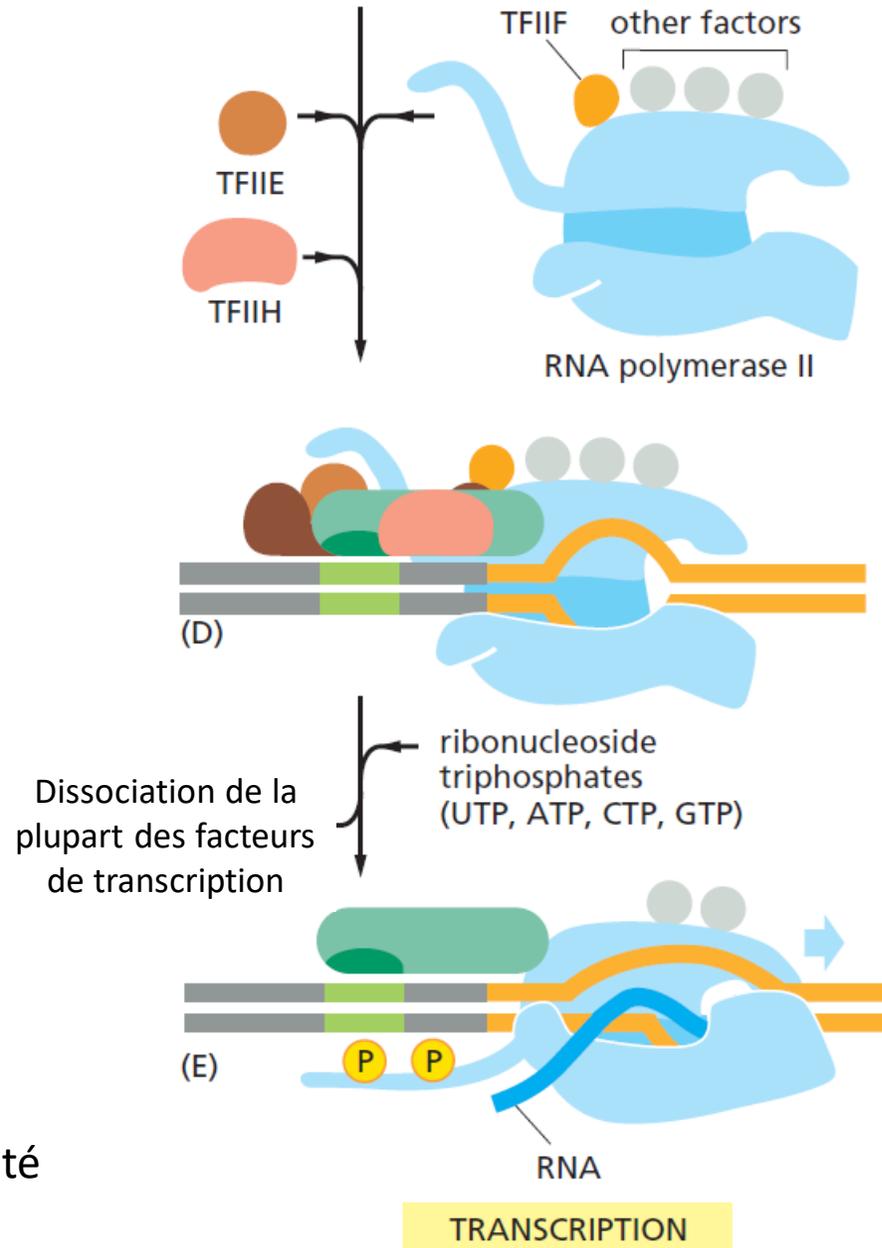
La plus importante (promoteur): **boîte TATA** (5' TATAAA 3')

Localisation: -31 à -26

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

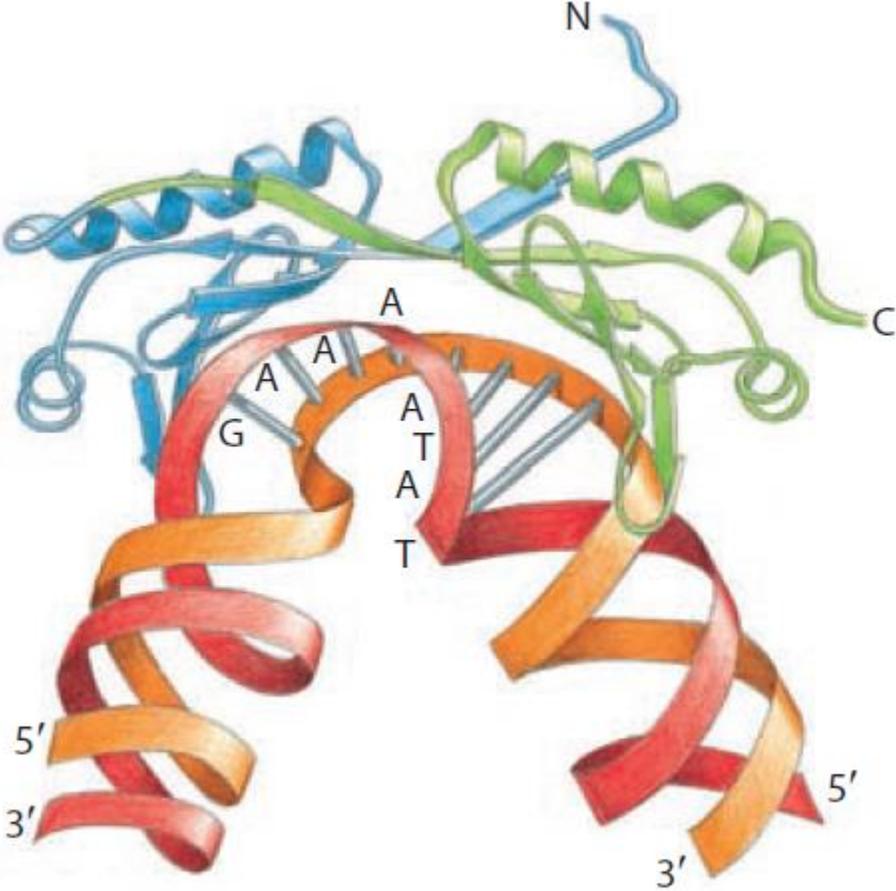


Reconnaissance de la boîte TATA par une sous-unité du facteur TFIID : la *TATA-binding protein (TBP)*.

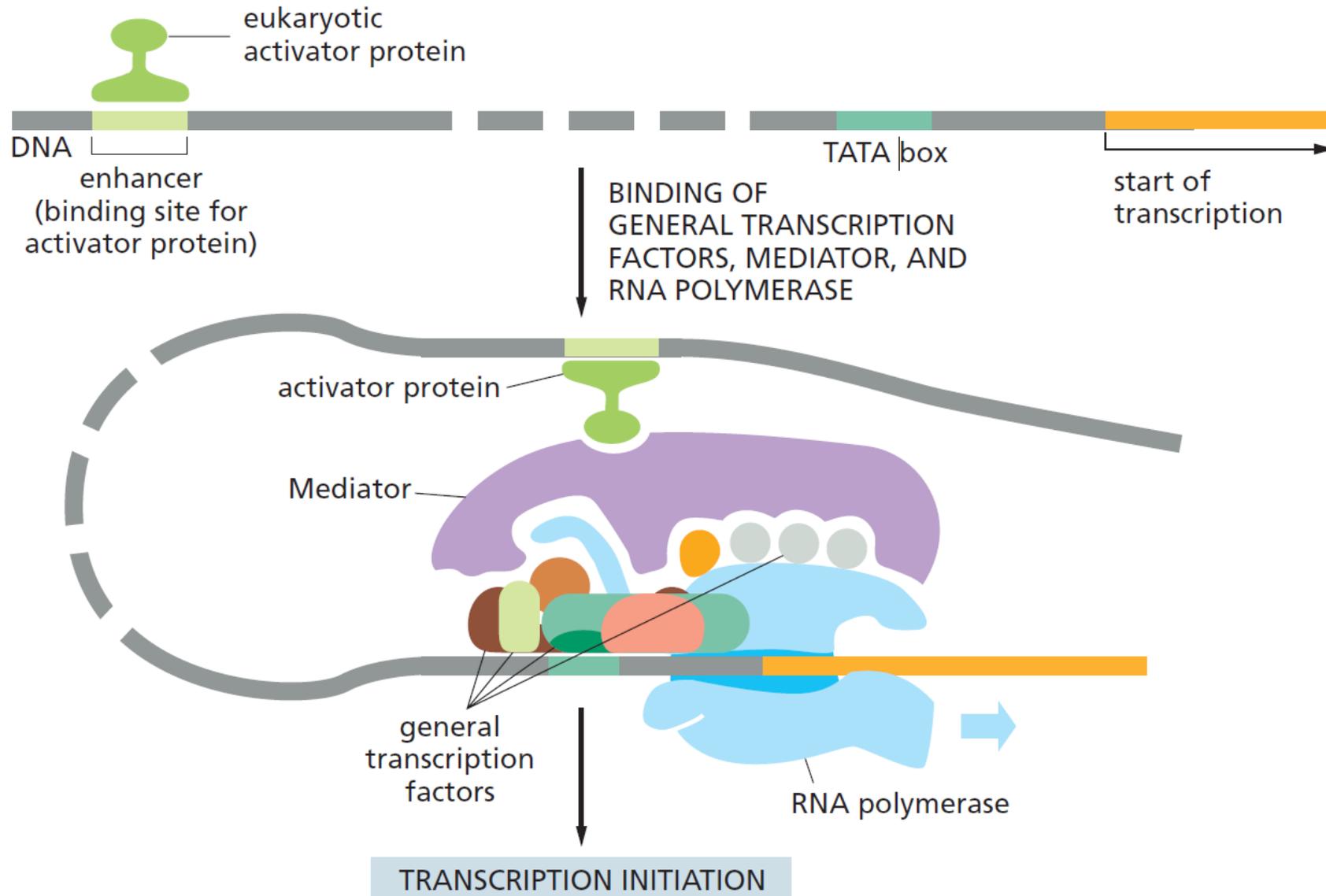


Formation d'un complexe d'initiation de la transcription

Distorsion de l'ADN induite par la liaison de TFIID



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

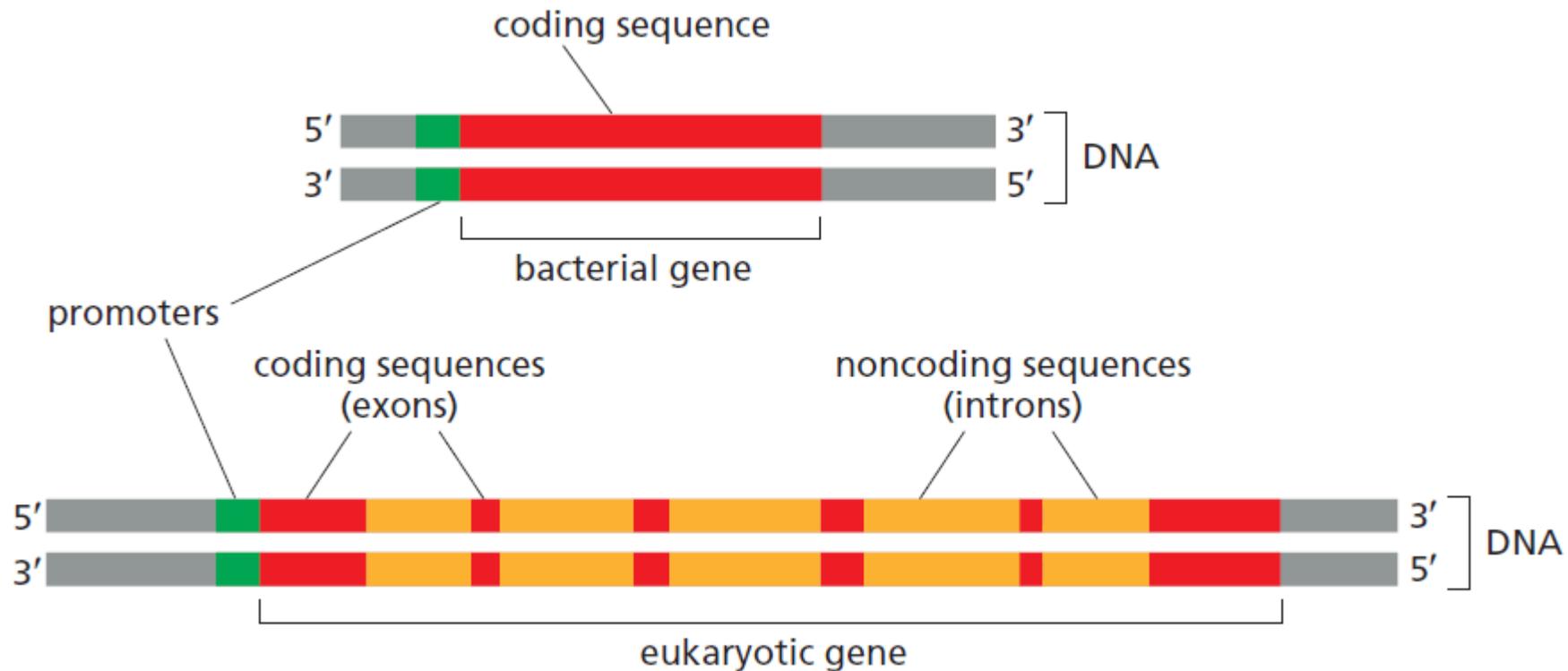


4. Mécanismes de la transcription eucaryote

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**

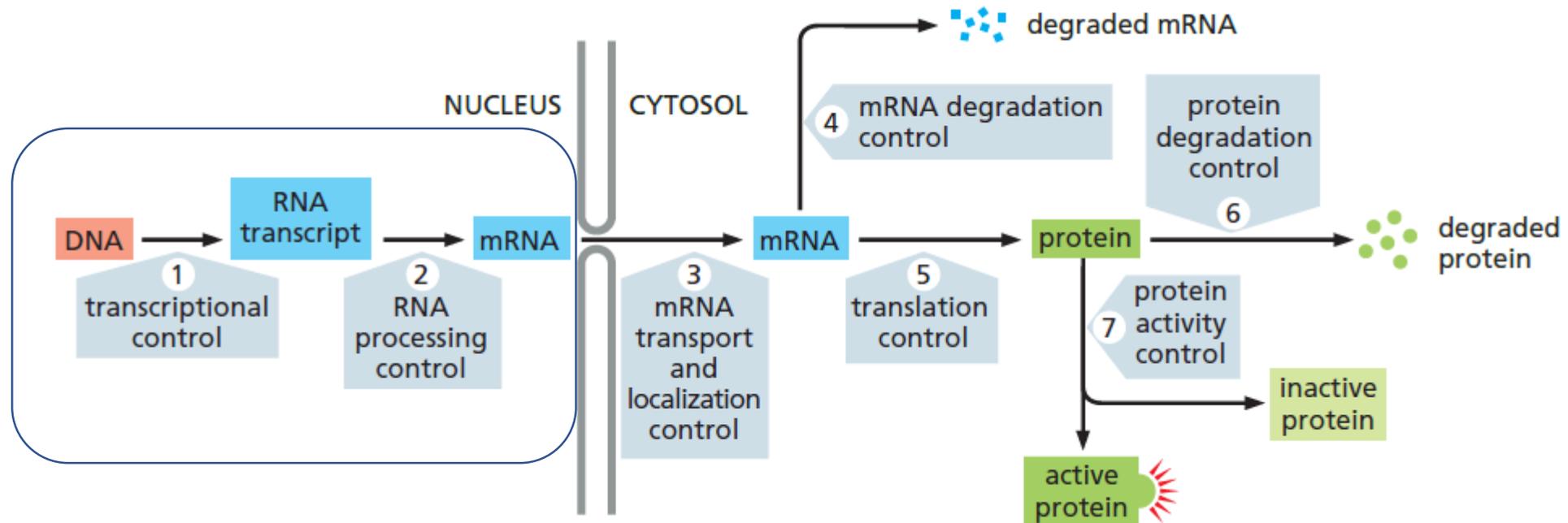


4. Mécanismes de la transcription eucaryote

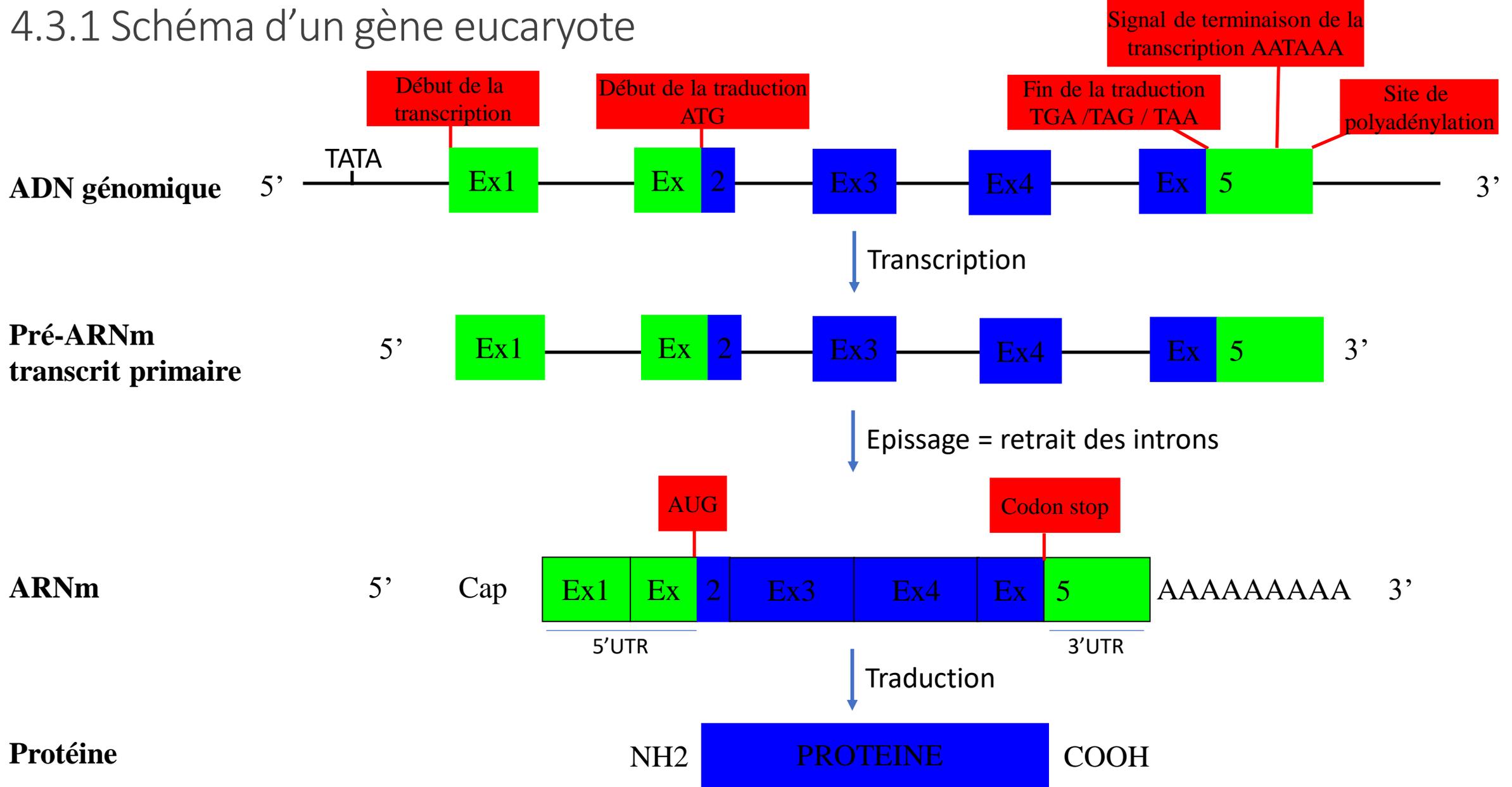
4.3. Elongation et maturation

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

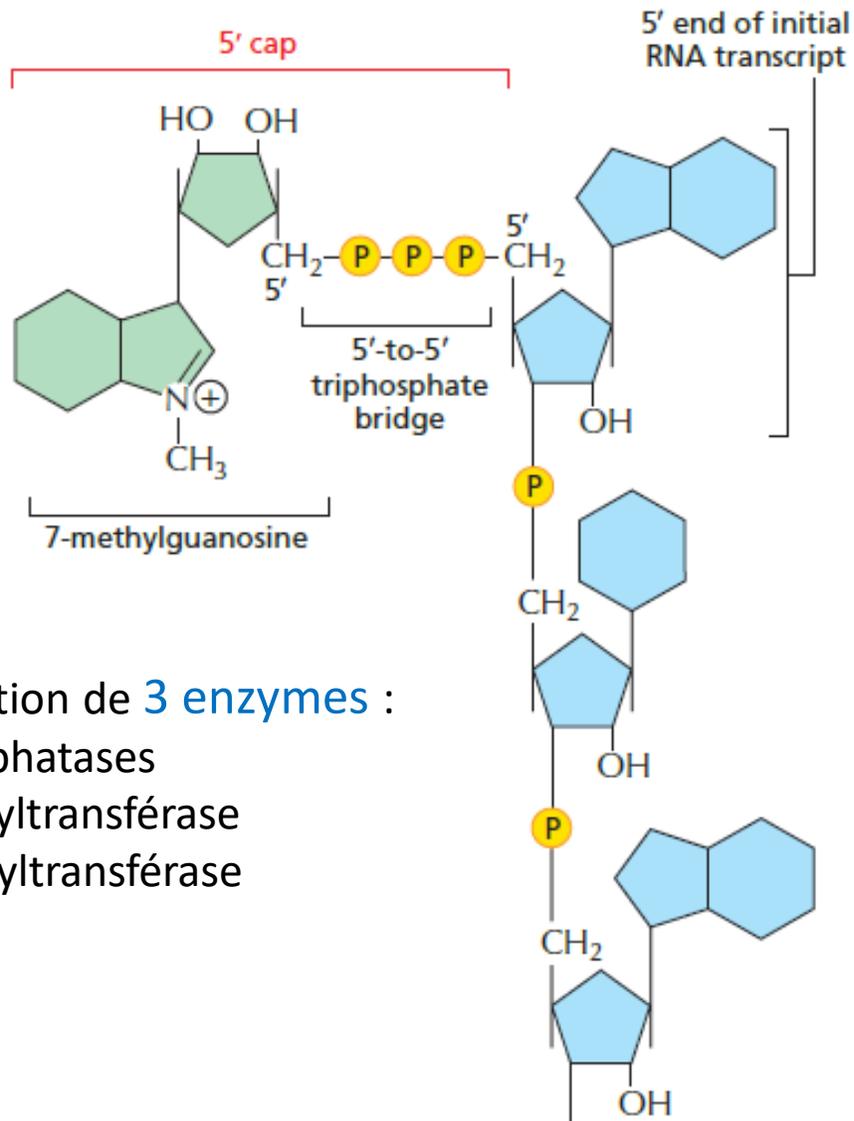


Ex Séquences exoniques non traduites

Ex Séquences exoniques traduites

— Introns

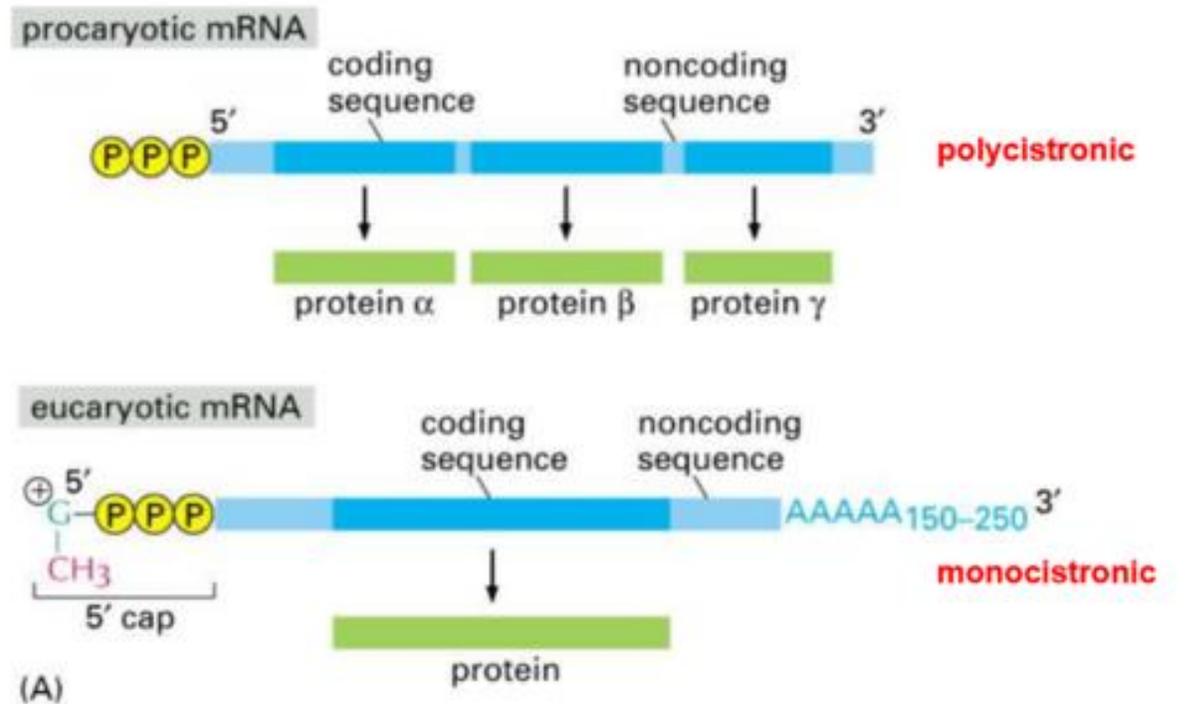
4.3.2 Ajout de la coiffe en 5'



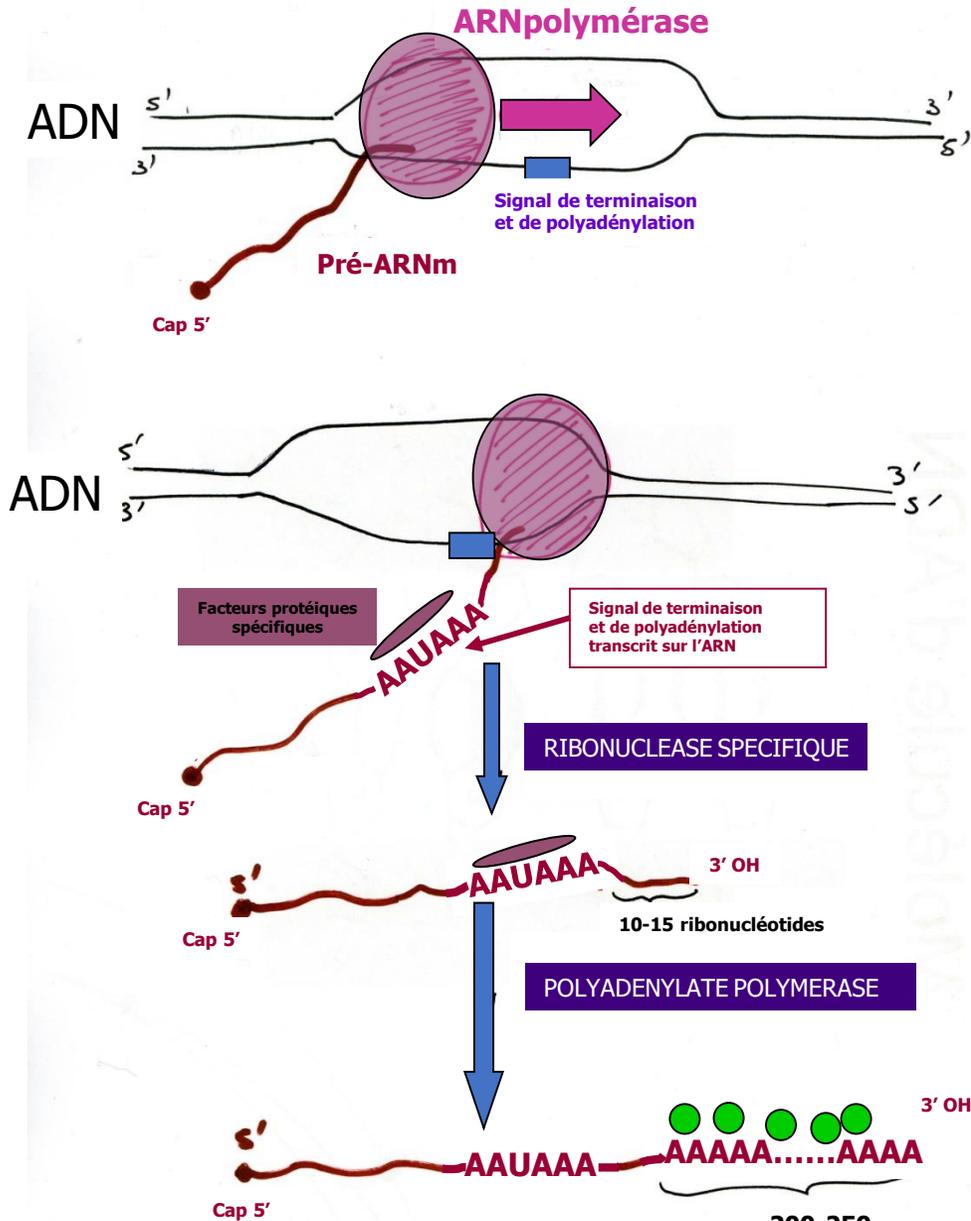
Intervention de 3 enzymes :

- Phosphatases
- Guanyltransférase
- Méthyltransférase

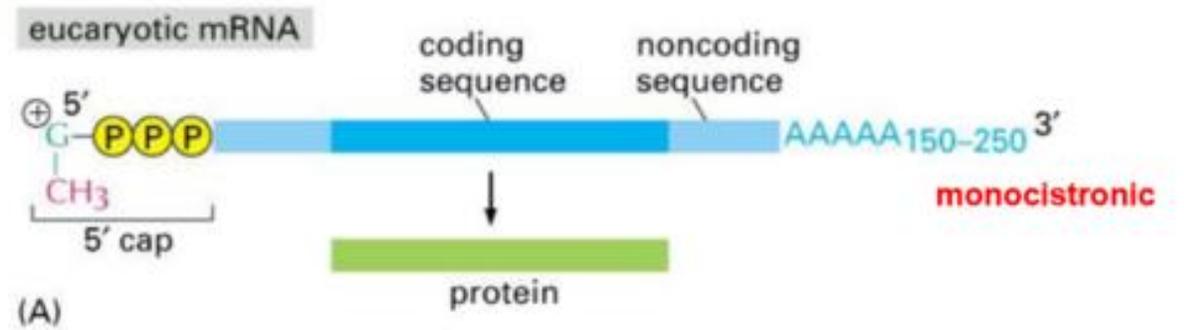
Dans les cellules **eucaryotes**, l'ajout de la coiffe a lieu après que l'ARN polymérase II ait transcrit environ **25 nucléotides** de l'ARN pré-messager.



4.3.3 Coupure et polyadénylation en 3'



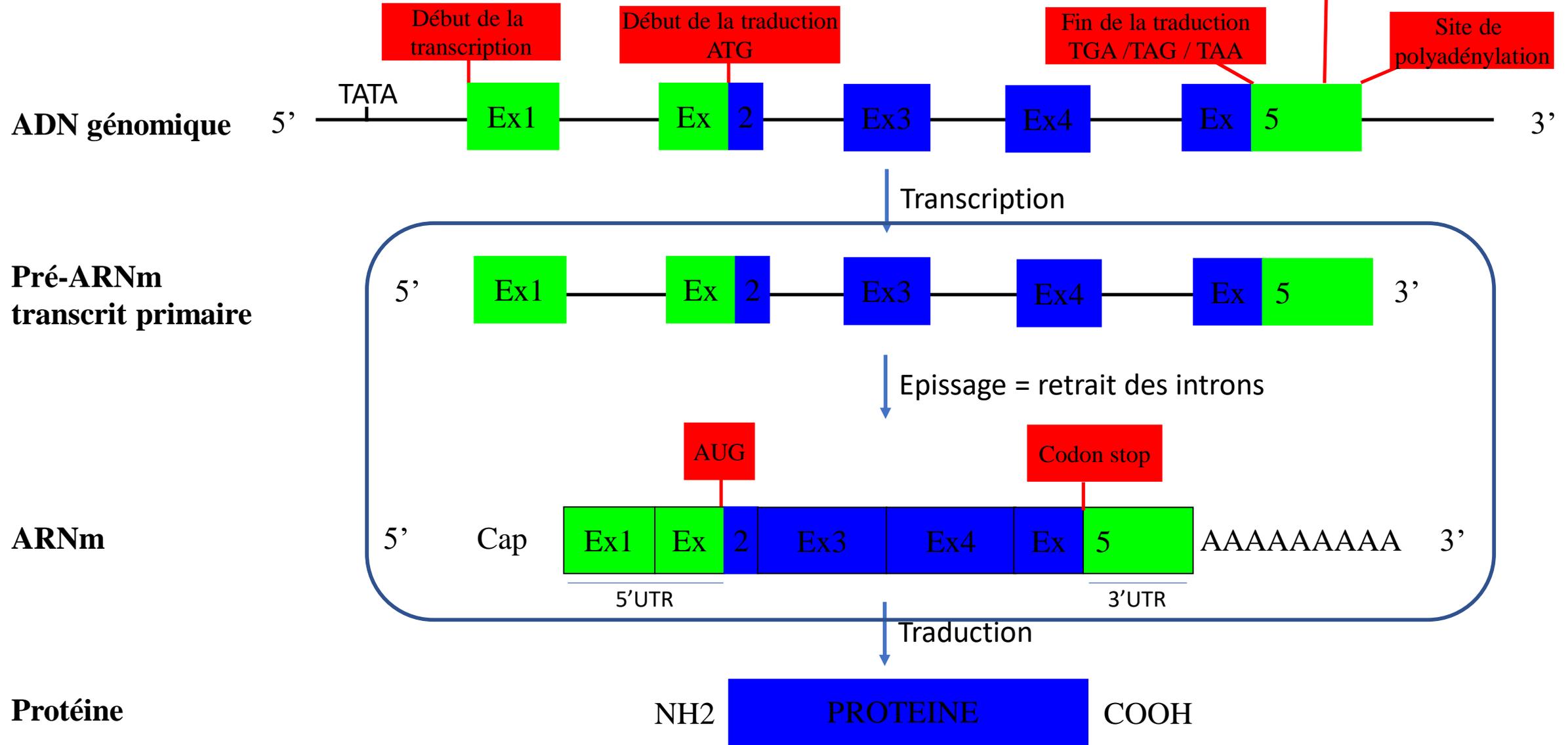
= séquence conservée de la terminaison de la transcription



Queue polyA en 3' spécifique des ARNm eucaryotes

● PolyA binding proteins

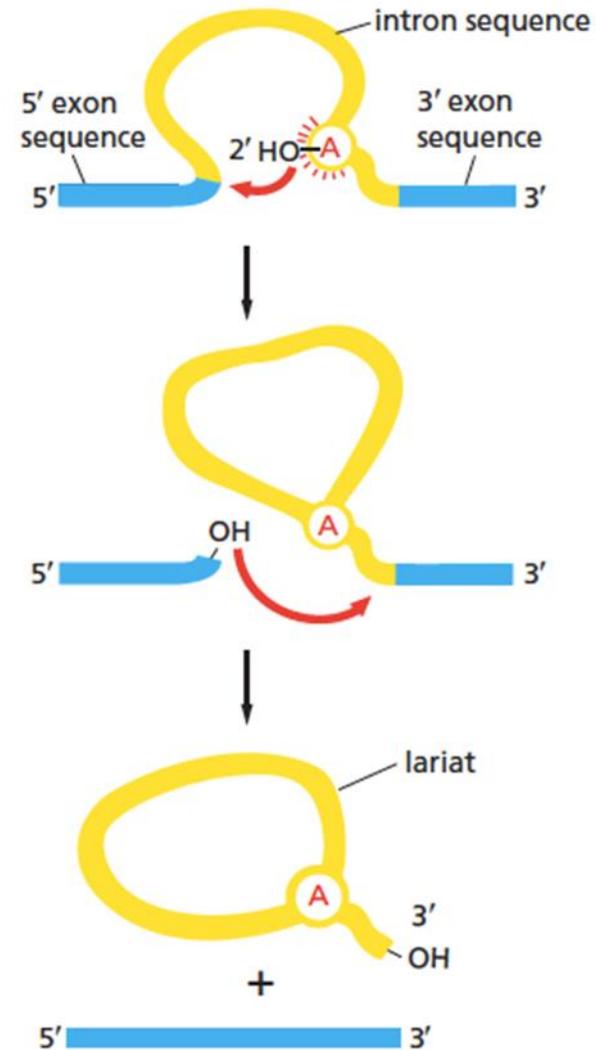
4.3.4 Epissage



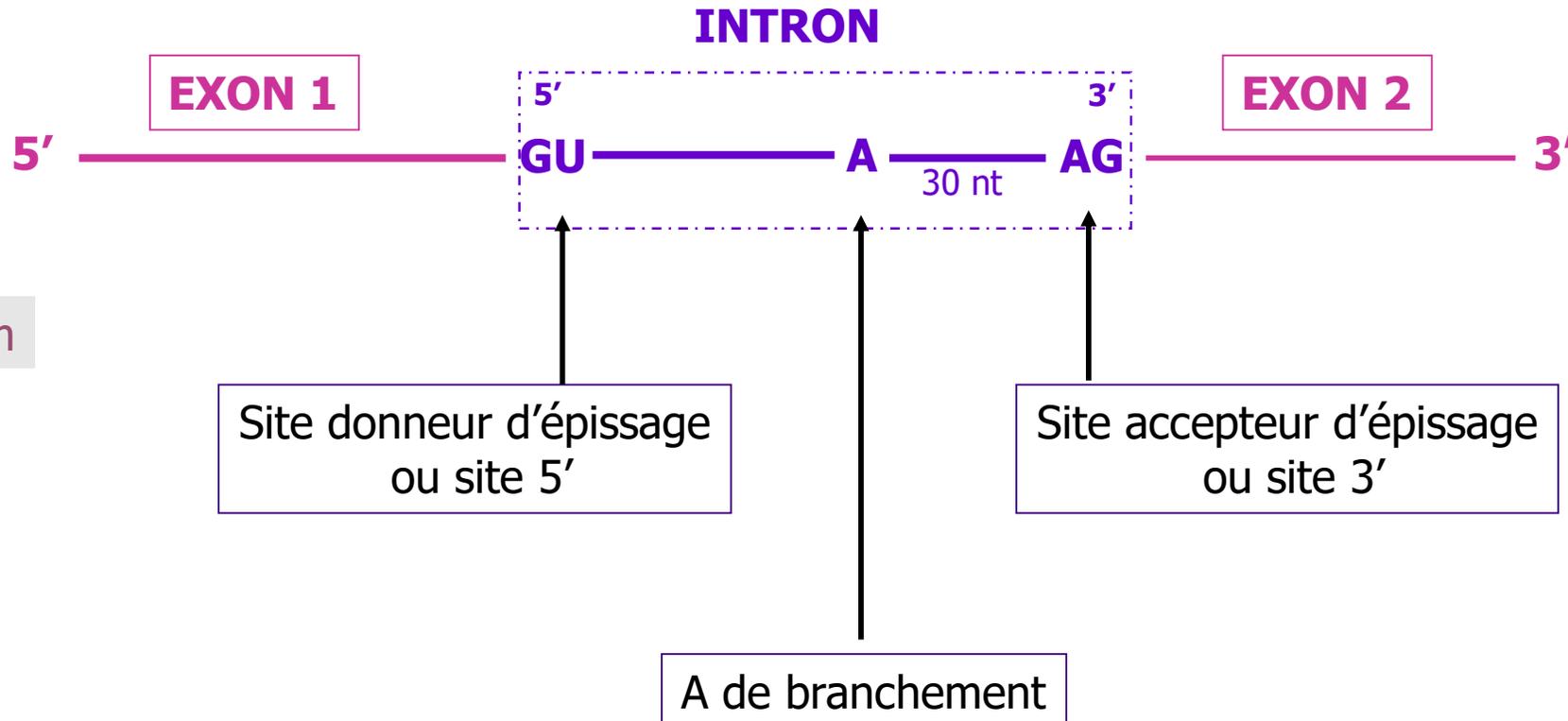
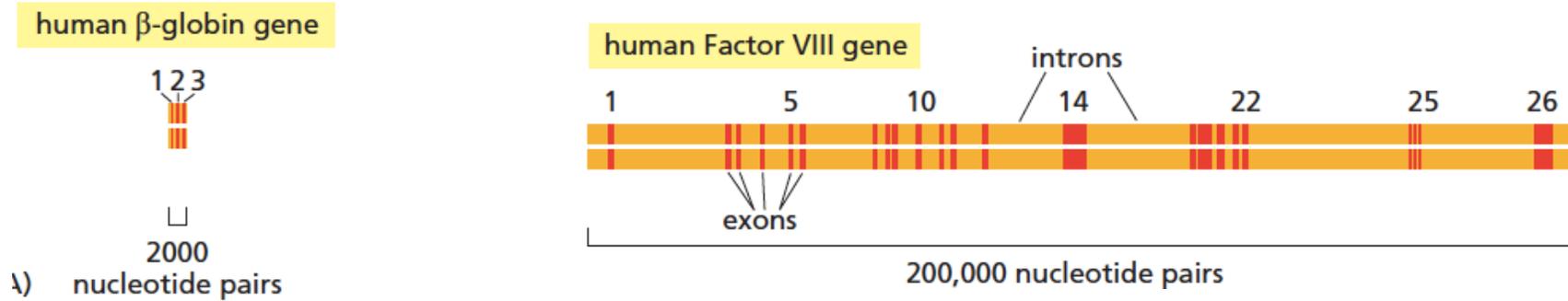
Mécanisme simplifié

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

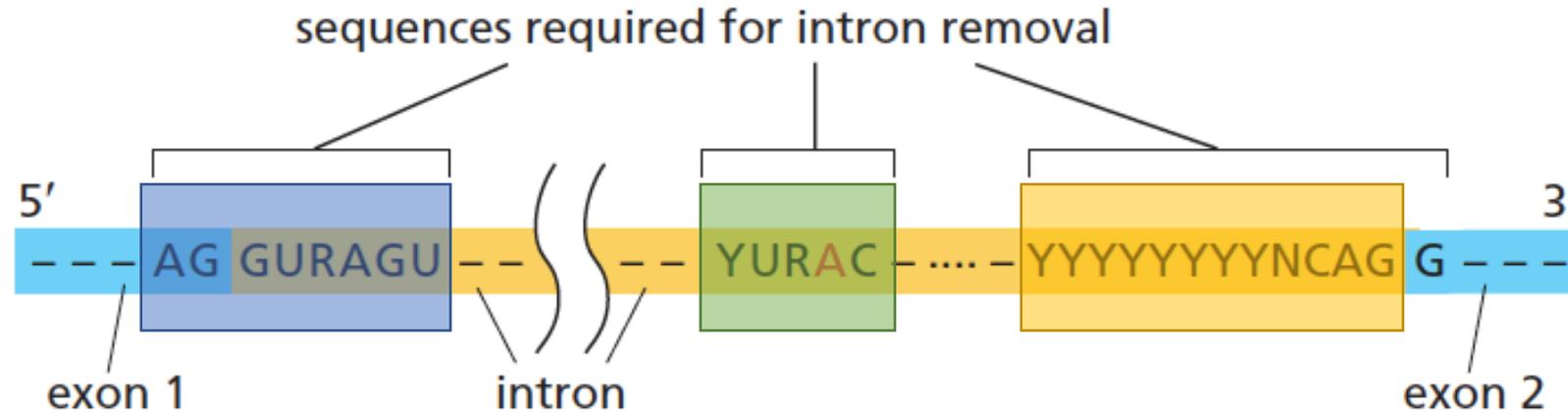
Étape 2 : Deuxième réaction de transesterification: le 3'OH de l'exon libéré vient attaquer le PO_4 de la jonction intron-exon en aval



Structure simplifiée des introns



Structure détaillée des introns



Site Donneur = en 5' de l'intron

+1 et +2 : GU en 5'
dans 100% des
introns
+3 : A ou G dans 95%
des cas

Boîte de branchement

Contient le « A » de
branchement
20 à 50 nt en amont
du site accepteur

Site Accepteur = en 3' de l'intron

-1 et -1 : AG en 3'
dans 100% des
introns
-3 : C dans 80% des
cas
15 pb : Région Riche
en Pyridimine

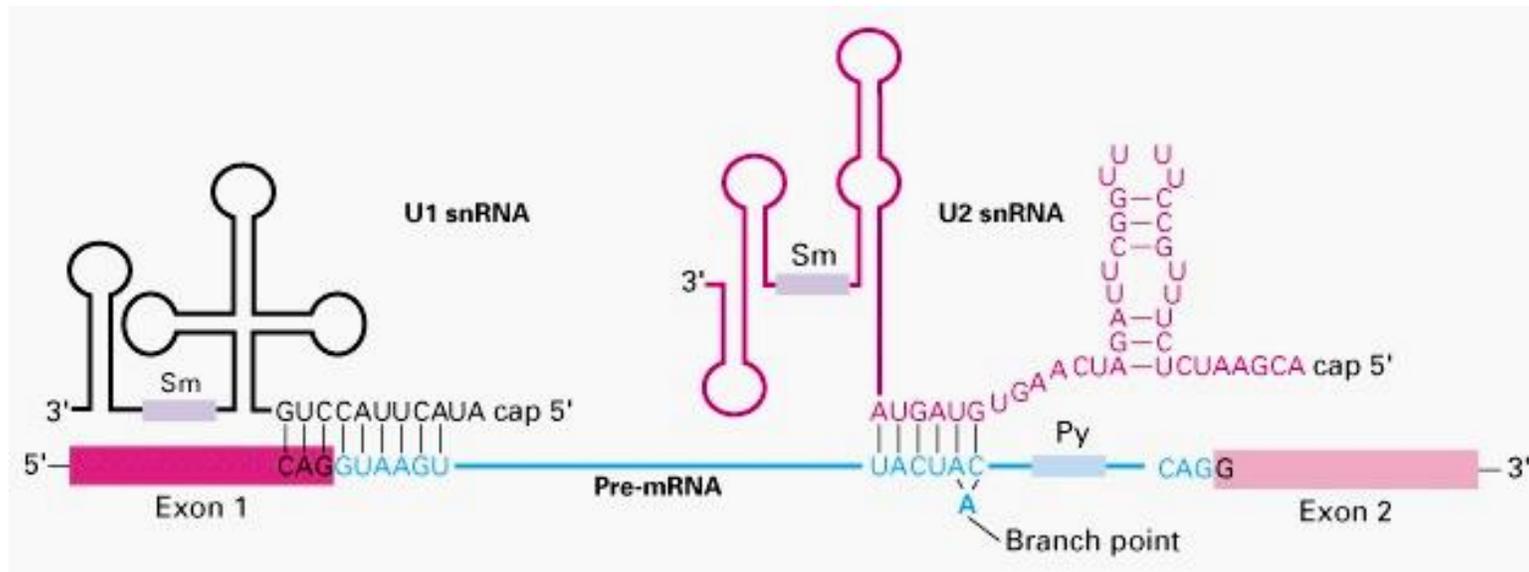
Le Spliceosome

○ 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

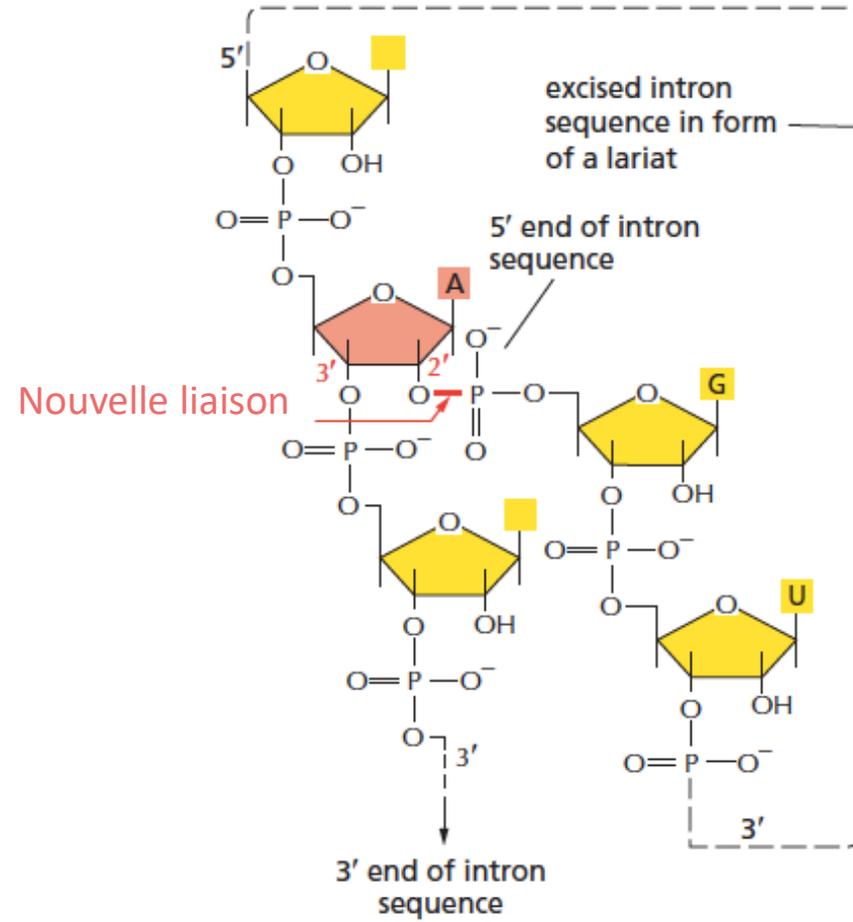
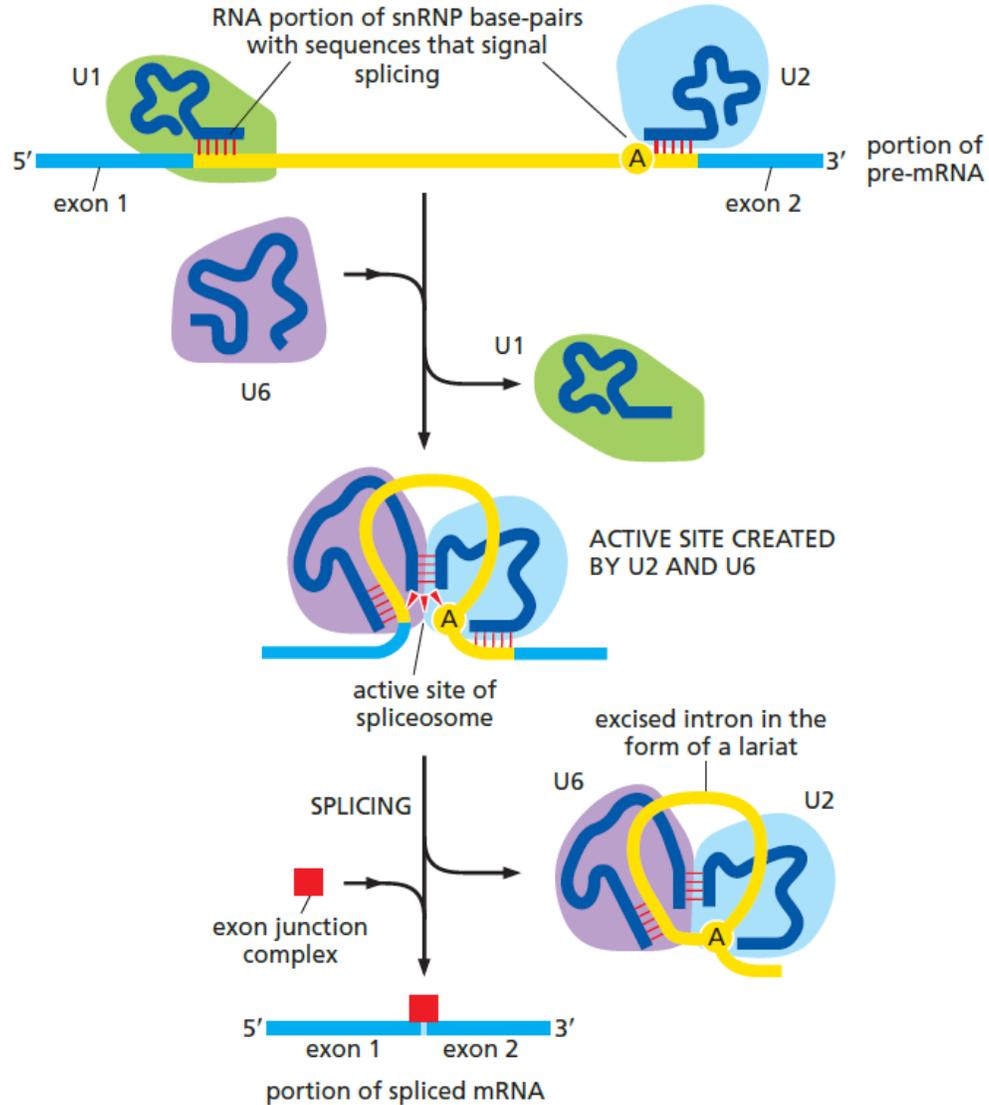
○ Rôle des snRNP :

- Reconnaissance des jonctions introns/exons et de la boîte 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

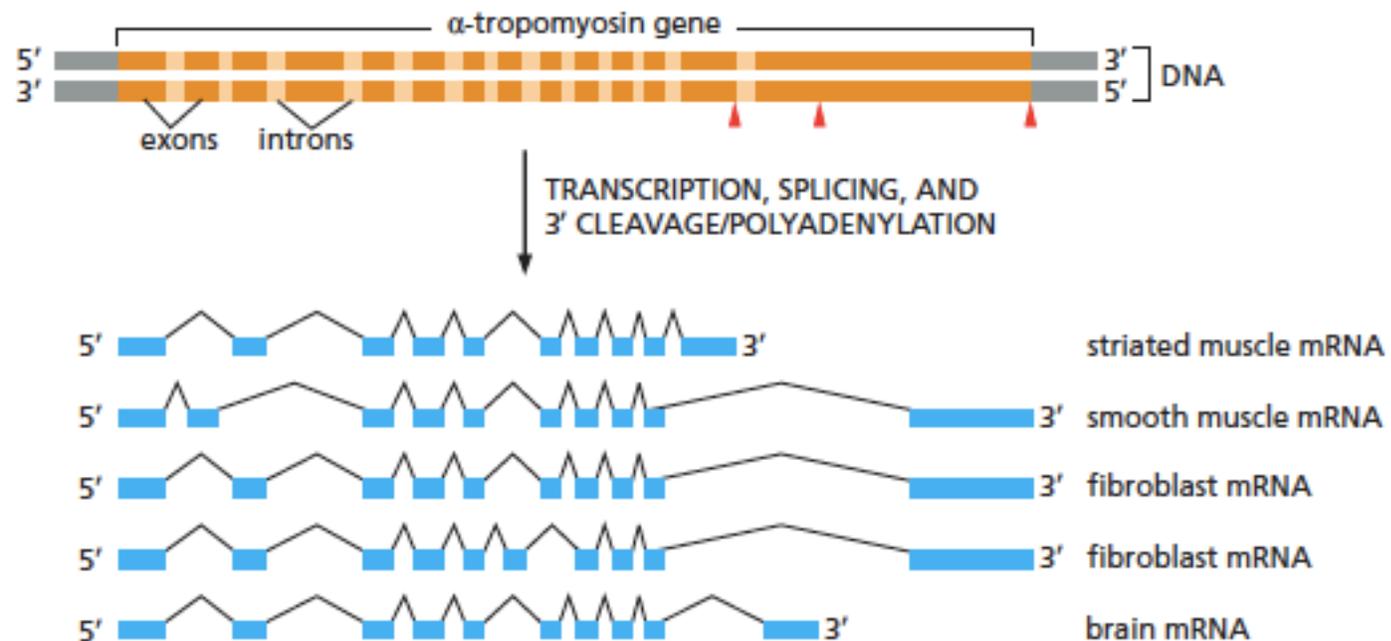
○ Contexte :

- 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.**

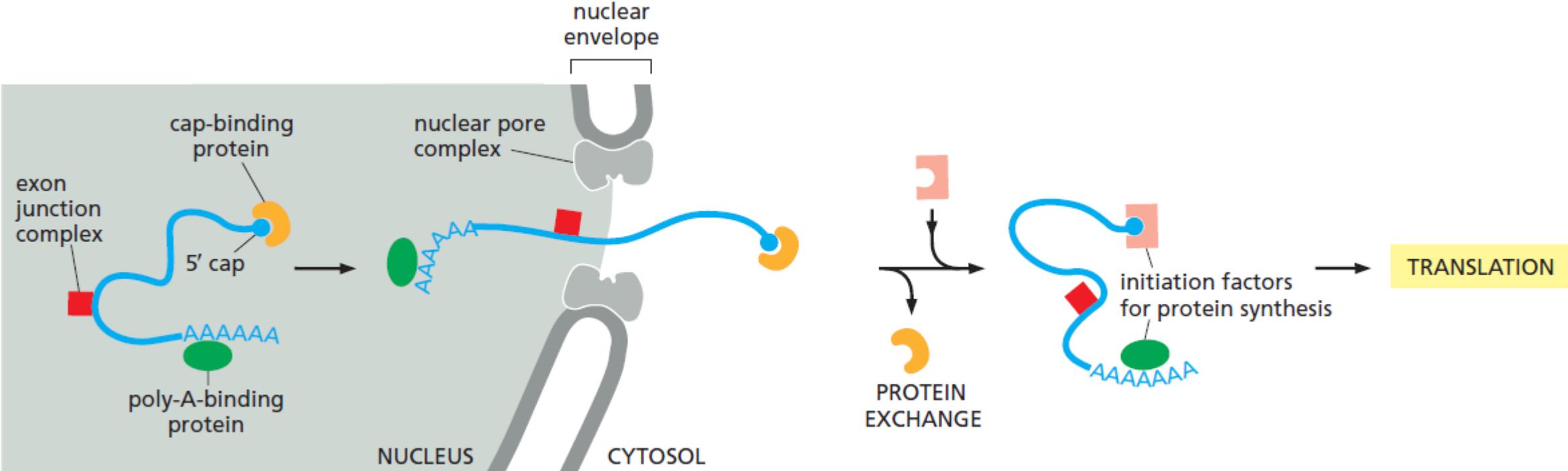


Structure des introns **primordiale** et très
(partiellement) **conservée !**

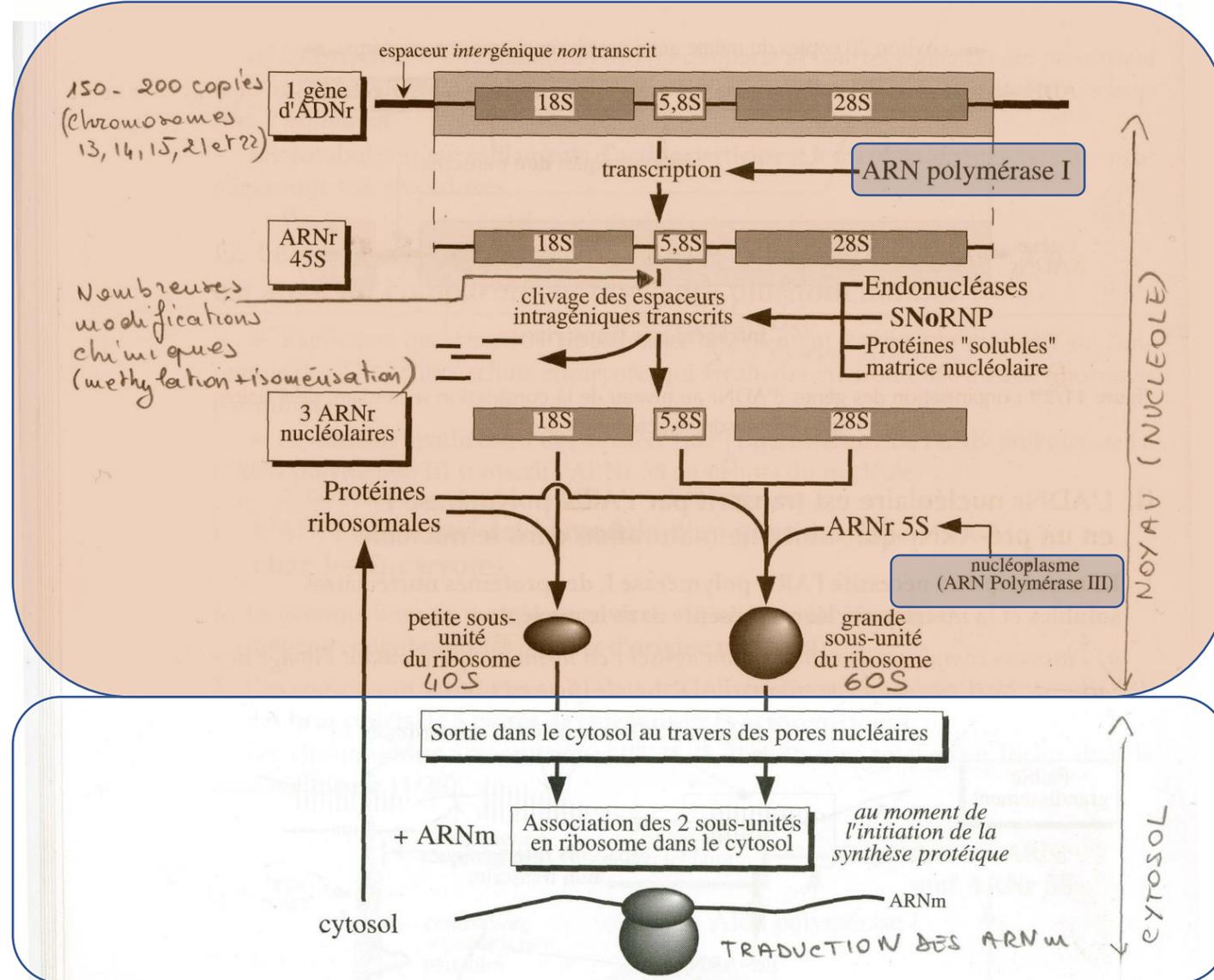
4. Mécanismes de la transcription eucaryote

4.4. Transport hors du noyau

Mécanisme **actif**



5. Transcription et maturation des ARN ribosomiques



6. Transcription et maturation des microARN

