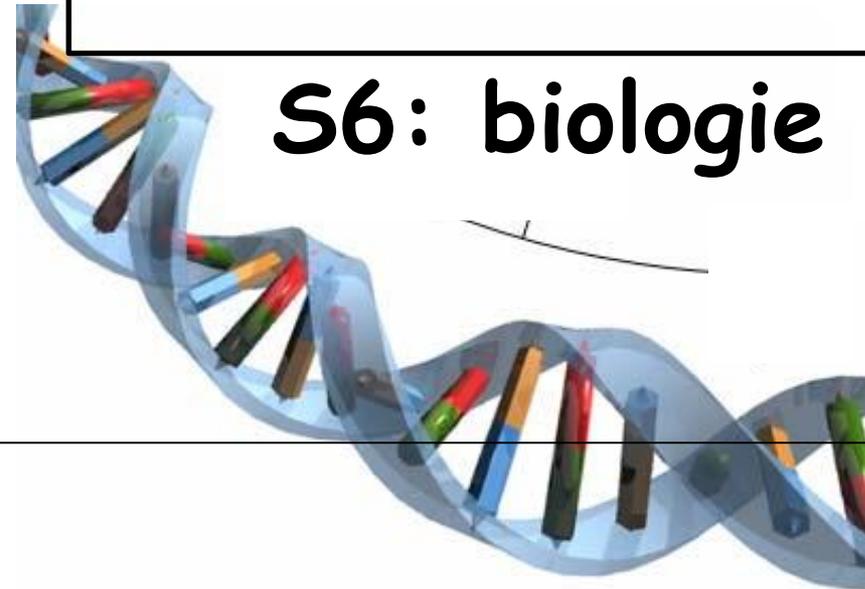


Chapitre 3: Généralités sur l'ADN et l'ARN et réplication de l'ADN

S6: biologie moléculaire



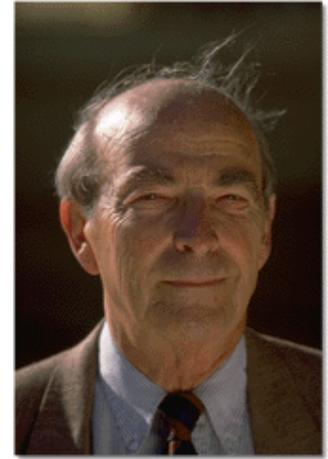
LA REPLICATION : EUCARYOTE ET PROCARYOTE

Données Littérature 2014-2020

1955: Arthur Kornberg

Travail réalisé avec *E. coli*.

Découverte des mécanismes de la synthèse d'ADN.



4 Biomolécules et réactifs :

1. dNTPs: dATP, dTTP, dGTP, dCTP
2. DNA matrice
3. DNA polymerase (*Kornberg enzyme*)
4. Mg^{2+} (optimise l'activité de DNA polymerase : **voir PCR**)

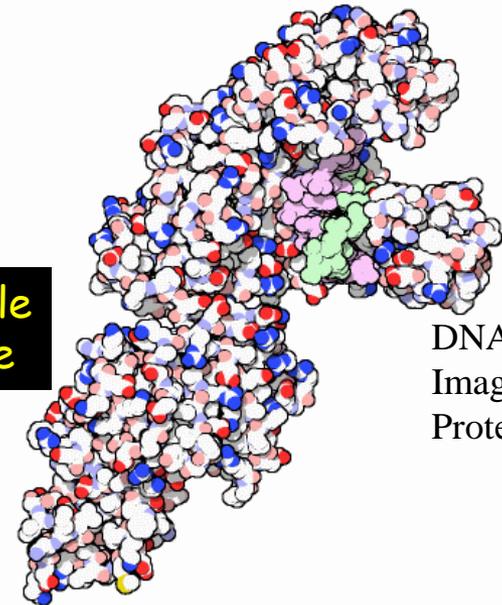


1959: Arthur Kornberg (Stanford University) & Severo Ochoa (NYU)

Trois caractéristiques de la réaction de synthèse d'ADN;

1. DNA polymerase I catalyse la formation de liaison phosphodiester entre le 3' -OH du desoxyribose et le 5' -phosphate du dNTP.
2. DNA polymerase trouve la complémentarité correcte des dNTPs à chaque étape de la polymérisation.
- Vitesse ≤ 800 dNTPs/seconde
- Faible taux d'erreur.
3. Direction de la synthèse 5' to 3'

Important pour le module Technique



DNA polymerase
Image credit:
Protein Data Bank

The mechanism of DNA replication

Arthur Kornberg

- Initiation

- Proteins bind to DNA and open up double helix
- Prepare DNA for complementary base pairing

- Elongation

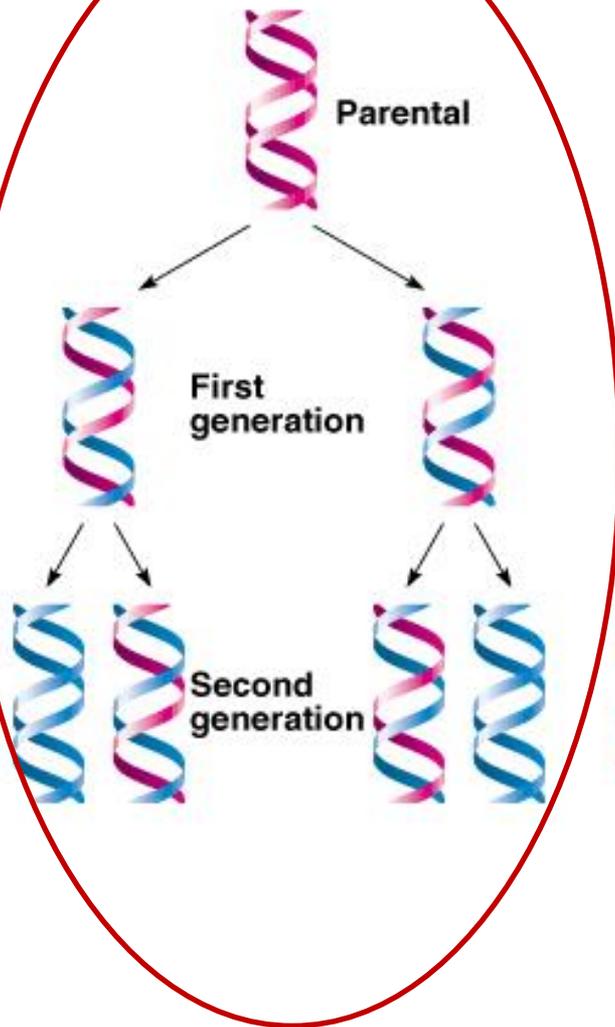
- Proteins connect the correct sequences of nucleotides into a continuous new strand of DNA

- Termination

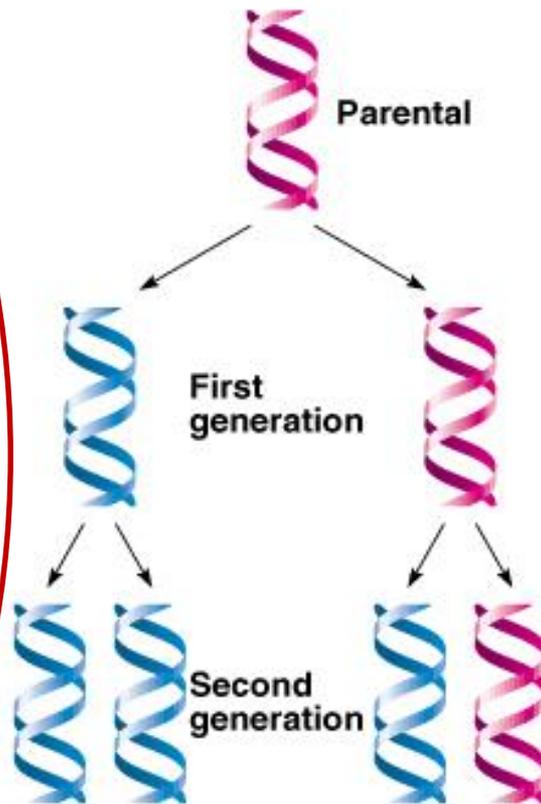
- Proteins release the replication complex

Alternative models of DNA replication

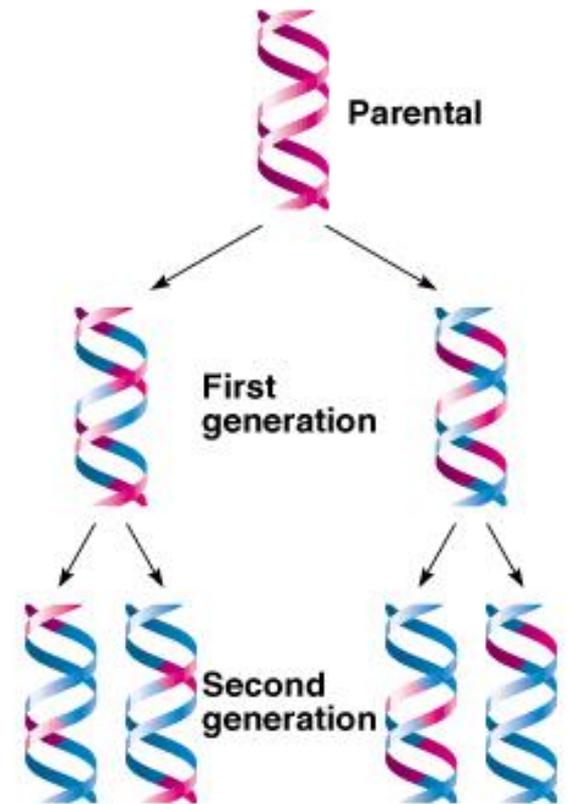
a) The semiconservative model



b) The conservative model



c) The dispersive model



La réplication chez les procaryotes:

➤ Les différents acteurs :

L'ADN parental = matrice

Les nucléotides : sous forme triphosphate dATP (désoxy Adénosine TriPhosphate)

Les enzymes (séparation des brins, incorporation des nucléotides...)

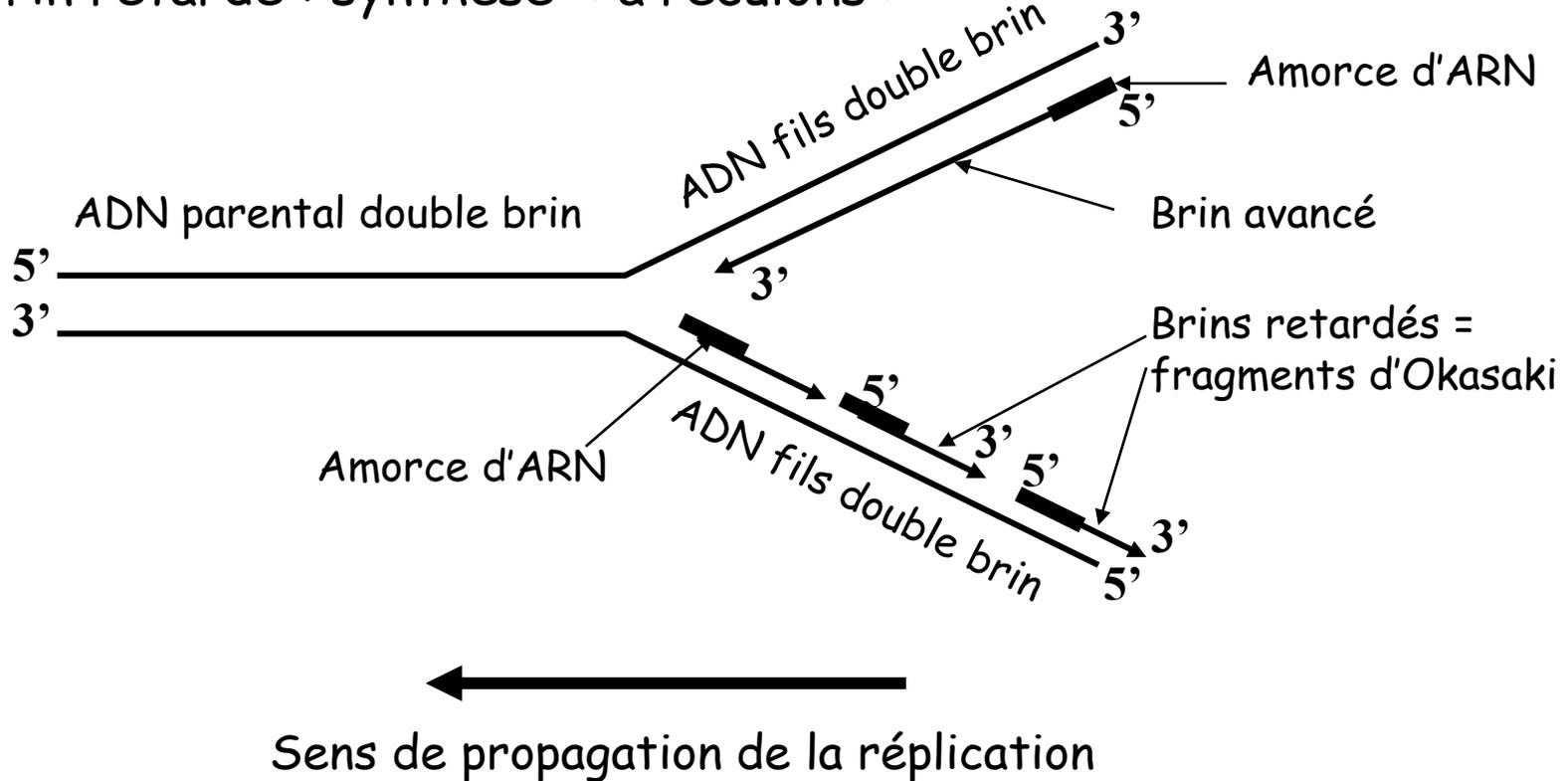
Co-facteurs (ex : Mg^{++})

➤ La réplication se déroule de 5' vers 3', de façon complémentaire et antiparallèle

➤ La réplication est bidirectionnelle

La réplication chez les procaryotes:

- La réplication est discontinue pour l'un des deux brins
- Brin avancé : synthèse dans le sens de la propagation
- Brin retardé : synthèse « à reculons »



La réplication chez les procaryotes: ex : E. coli

➤ L'initiation de la réplication :

Réplication débute dans une région précise (l'origine de réplication) : ORI C

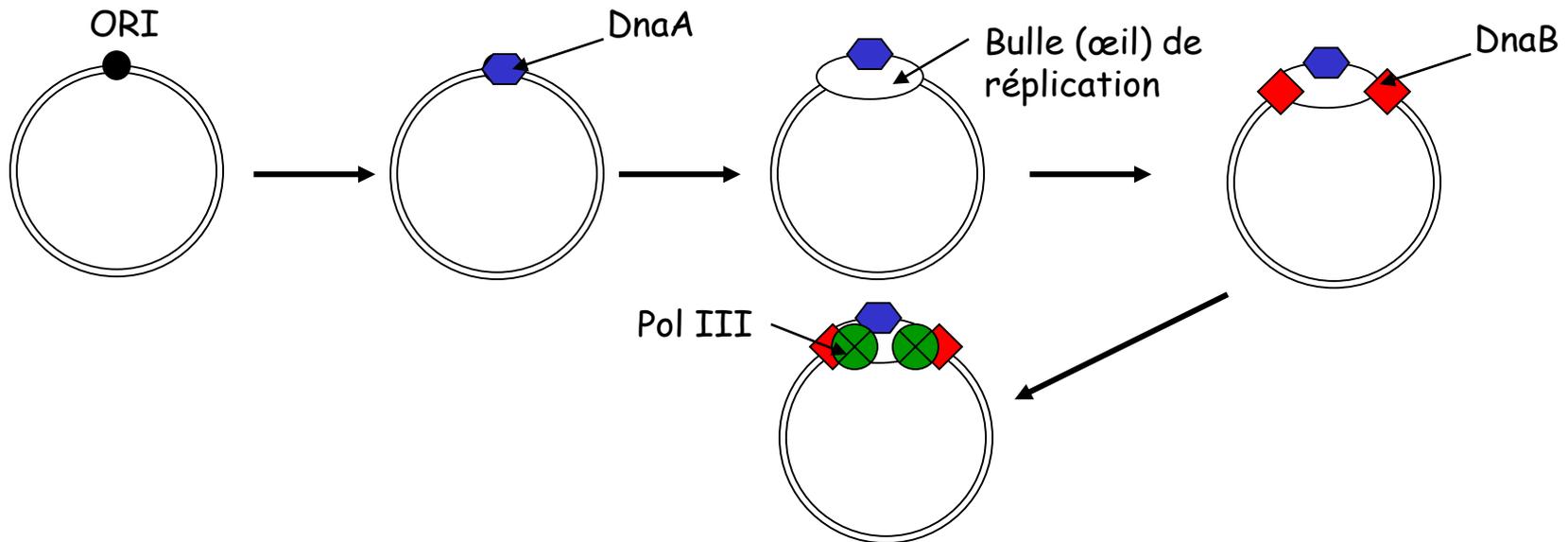
Fixation du complexe multimérique de DnaA

Ouverture de la double hélice

Fixation des protéines DnaB (hélicase)

Fixation des protéines SSB : stabilise les simples brins d'ADN

Fixation de l'ADN polymérase (Pol I et Pol III)



La réplication chez les procaryotes: ex : E. coli

➤ L'élongation :

L'hélicase DnaB ouvre la double hélice en aval de la polymérase

Synthèse des amorces ARNs par la primase

L'incorporation des nucléotides du brin avancé s'effectue par Pol III

La synthèse des fragments d'Okasaki débute par Pol III

et se termine par la digestion et le remplacement des amorces

d'ARN par la polymérase I (Pol I) et leur liaison par la ligase

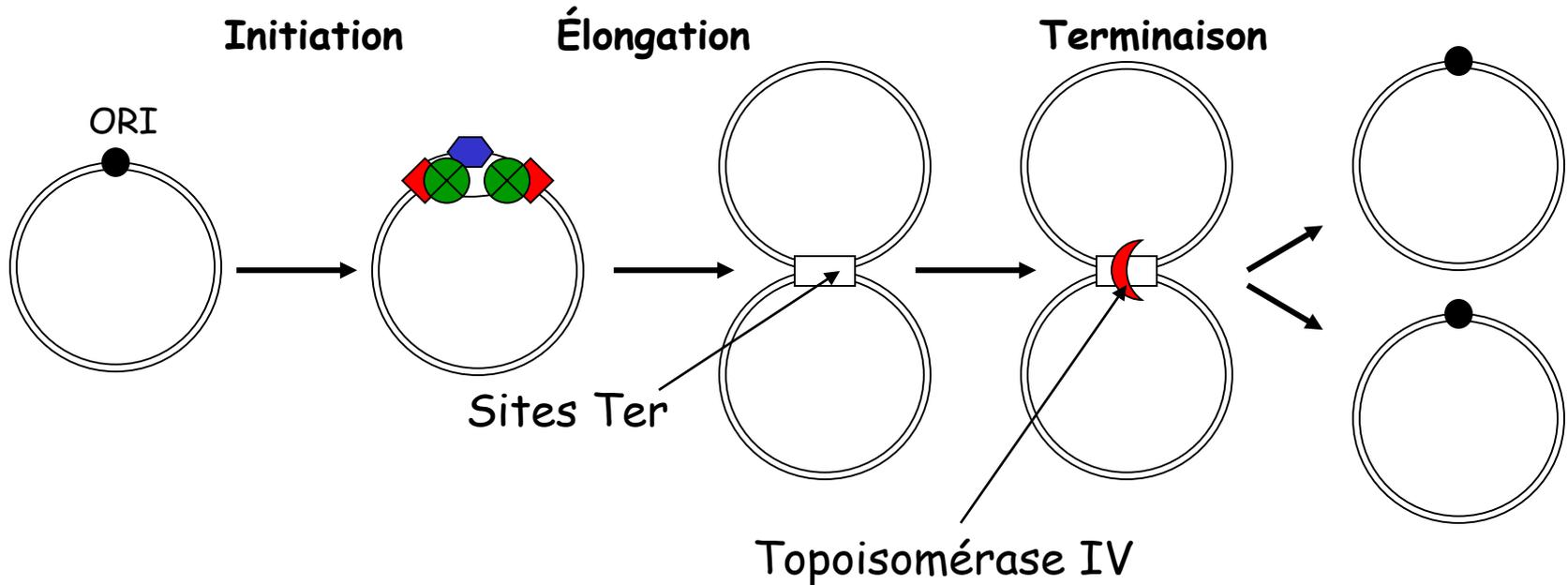
La réplication chez les procaryotes: ex : E. coli

➤ La terminaison :

Les deux fourches de réplication se rencontrent à 180° d'ORI, au niveau des sites Ter

La protéine Tus inhibe l'action de l'hélicase, donc les deux molécules d'ADN double brins restent liées

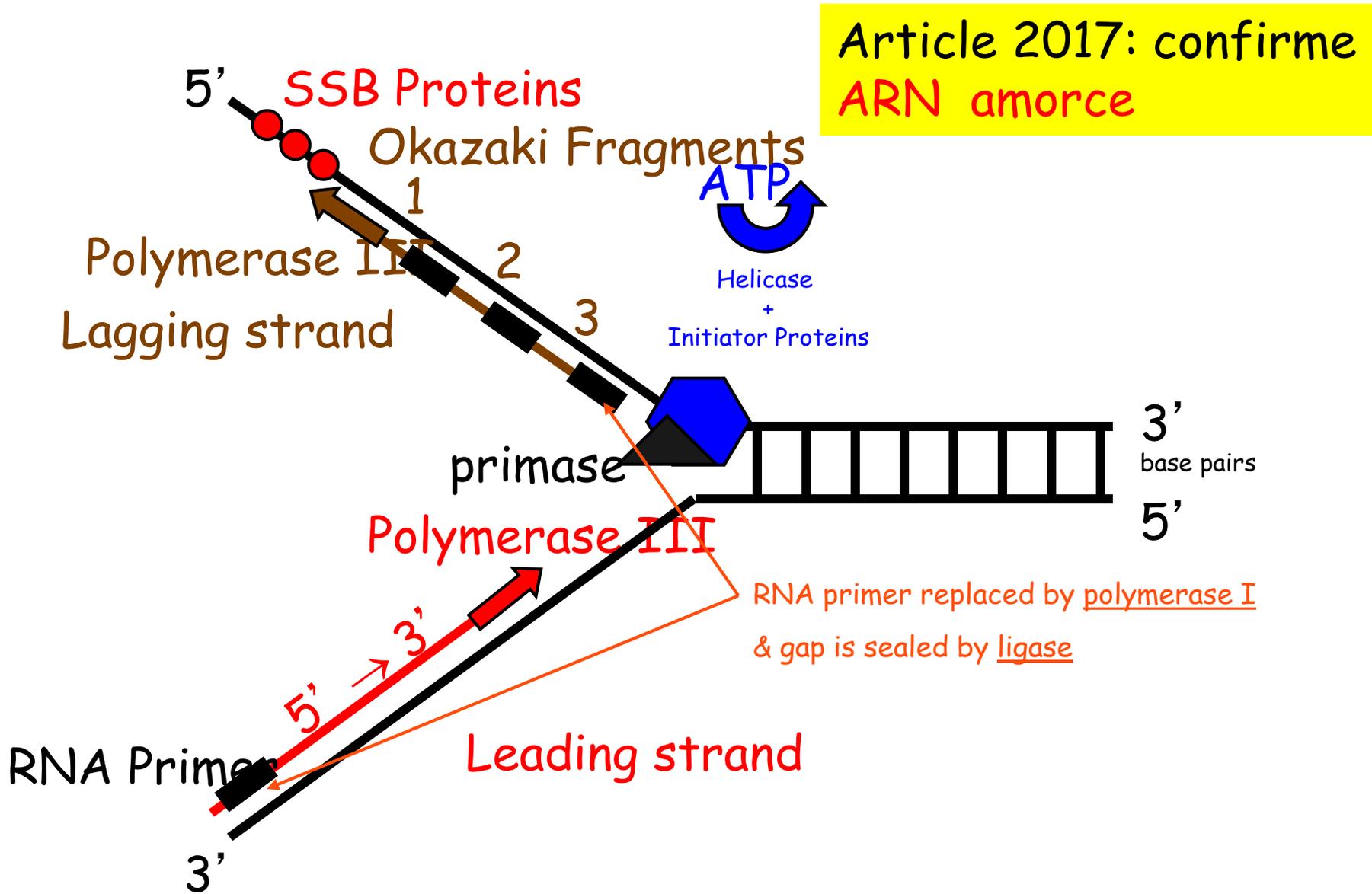
Dissociation par la topoisomérase IV



La réplication chez les eucaryotes :

- Mécanisme comparable aux procaryotes
- La réplication est bidirectionnelle, complémentaire, antiparallèle, simultanée pour chaque brin mais discontinue pour l'un des deux brins
- Elle s'effectue dans le sens 5'-3', avec des amorces d'ARN
- Mais comme le génome est plus grand et réparti sur plusieurs chromosomes, il existe plusieurs sites d'initiation sur chaque chromosome **Important**
- La réplication débute simultanément au niveau de plusieurs sites d'initiation

REPLICATION: REVUE



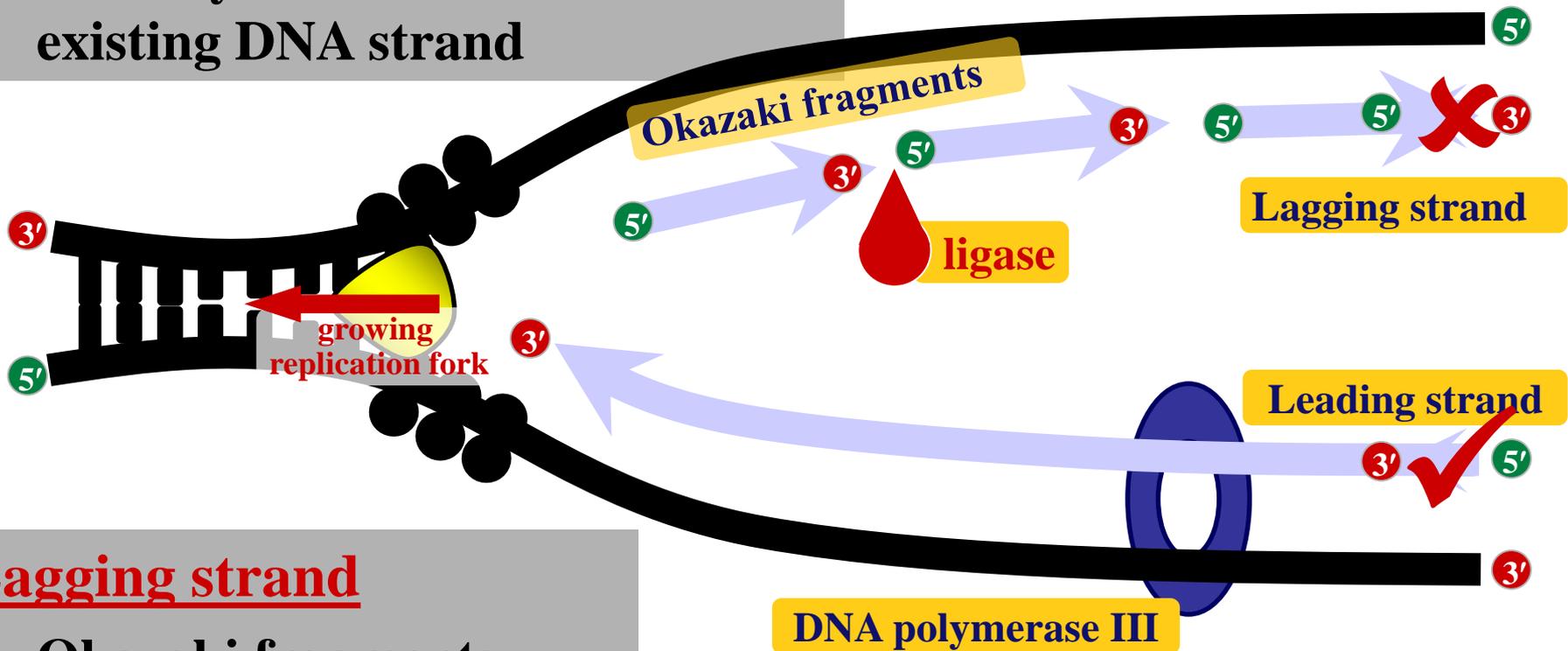
Résumé

Okazaki



Limits of DNA polymerase III

- ◆ can only build onto 3' end of an existing DNA strand



Lagging strand

- ◆ Okazaki fragments
- ◆ joined by ligase
 - “spot welder” enzyme

Leading strand

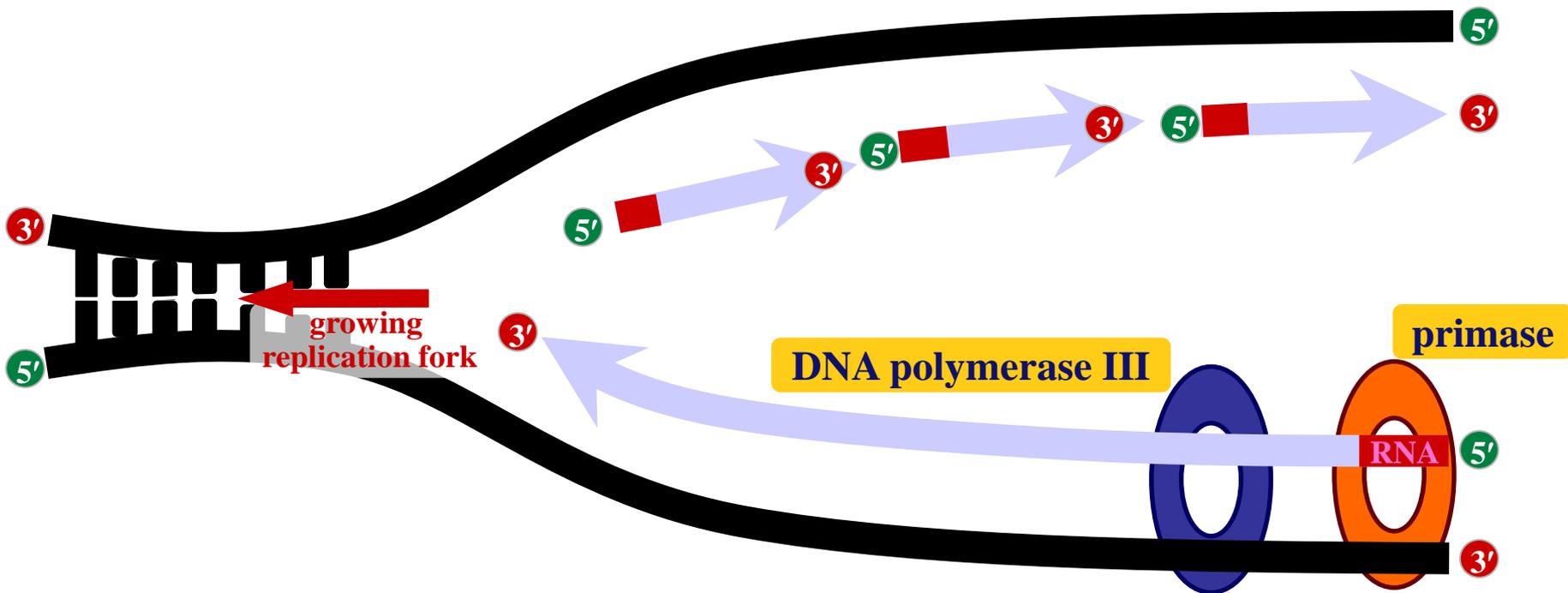
- ◆ continuous synthesis

DNA replication on the lagging strand

RNA primer is added

- ◆ built by primase
- ◆ serves as starter sequence for DNA polymerase III

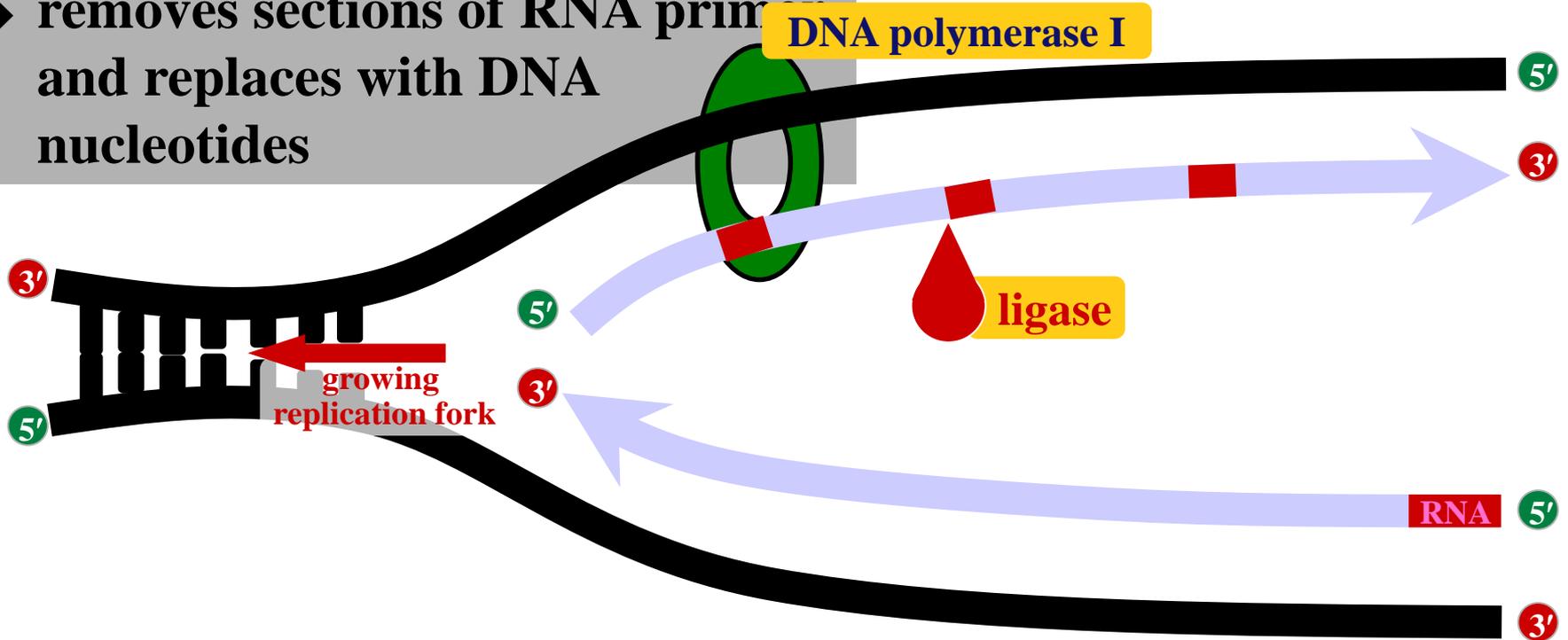
HOWEVER short segments called Okazaki fragments are made because it can only go in a 5 → 3 direction



Replacing RNA primers with DNA

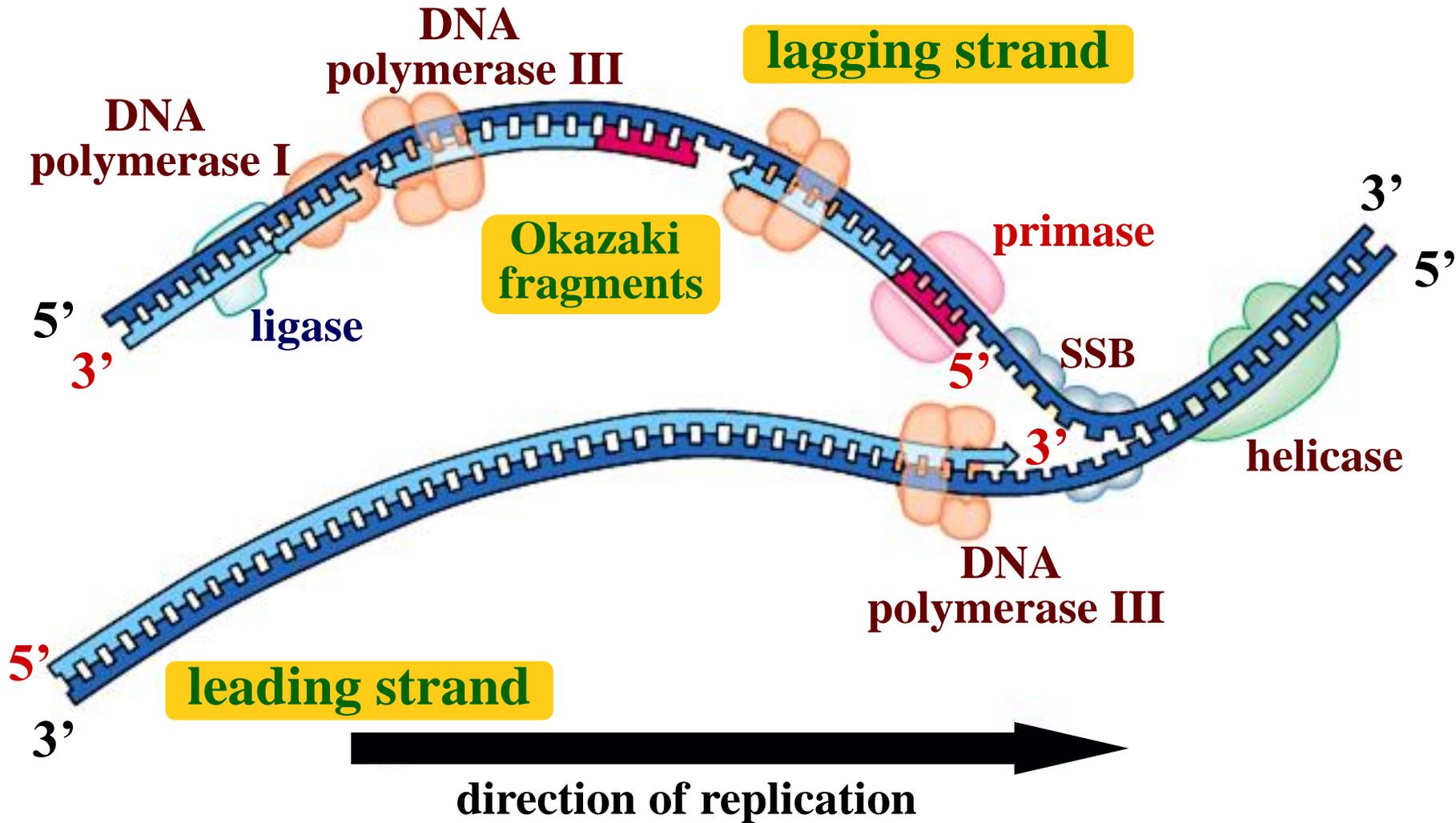
NEXT DNA polymerase I

- ◆ removes sections of RNA primers and replaces with DNA nucleotides



STRANDS ARE GLUED TOGETHER BY DNA LIGASE

Replication Synthèse



SSB = single-stranded binding proteins

Prokaryotes (1)

3 types de DNA polymerase

<u>Polymerase</u>	<u>Polymerization (5' -3')</u>	<u>Exonuclease (3' -5')</u>	<u>Exonuclease (5' -3')</u>	<u>#Copies</u>
I	Yes	Yes	Yes	400
II	Yes	Yes	No	?
III	Yes	Yes	No	10-20

Enzymes eucaryotes (2) :

5 DNA polymerases chez les mammifères:

1. Polymerase α (alpha): nuclear, DNA replication,
2. Polymerase β (beta): nuclear, DNA repair,
3. Polymerase γ (gamma): mitochondria, DNA repl.,
4. Polymerase δ (delta): nuclear, DNA replication,
5. Polymerase ε (epsilon): nuclear, DNA repair (?),

Principe de base de la replication (3)

- A. Semi-conservative
- B. Débute 'origin' ORI...
- C. Uni or bidirectionnelle
- D. Semi-discontinue
- E. Synthèse toujours in the 5-3'
- F. RNA primers sont nécessaires

Rôles des protéines (4)

- Topoisomereses** - Reconnaissance des ori de rep
- Helicases** - Séparation des 2 brins
- Primase** - Synthèse des RNA primers
- Single strand binding proteins** - Empêche la fermeture simples brins d'ADN
- DNA polymerase** - Synthèse des nouveaux brins +
- DNA ligase** - Corrections
- Liaisons phosphodiester entre les fragments d'Okasaki.

TD résumé et analyse
« anglais »



What kind of enzyme synthesizes the new DNA strand?

- 1) RNA polymerase
- 2) DNA Polymerase
- 3) Primase
- 4) Helicase
- 5) Topoisomerase



Eukaryotic chromosomes have multiple origins of replication



- 1. True**
- 2. False**

In what direction is the newly synthesized DNA produced?



1. 5'-3'

2. 3'-5'

3. In the direction of the major groove

4. Both 5'-3' and 3'-5' depending on which strand is being replicated

The *E. coli* chromosome has 4.7×10^6 bp; a bi-directional replication fork progresses at about 1000 nucleotides/sec. Therefore, the minimum time required to complete replication is

1) 12 min.

2) 24 min.

 3) 39 min

4) 78 min

5) 120 min

What is the sequence (1 to 6) in which these proteins function during DNA replication

- 3 RNA primase
- 6 DNA ligase
- 4? DNA polymerase III
- 1 Topoisomerase
- 2 DNA helicase
- 5? DNA polymerase I

Les différents ARNs :

➤ Il existe différents types d'ARN, et nous ne verrons que le cas des eucaryotes. Ces différents types d'ARN ont différentes fonctions (2000-2020):

➤ ARNr = ARN ribosomique

Ils représentent environ 80% des ARN totaux de la cellule, et constituent la partie structurale et fonctionnelles des ribosomes.

Ils participent, avec les protéines ribosomiques, à la formation des ribosomes (molécules nécessaires à la synthèse des protéines).

Leurs longueurs sont indiquées en **SVEDBERG (S)**, unité de coefficient de sédimentation.

Les différents ARNs :

➤ ARNt = ARN de transfert

Ils représentent 10% des ARN totaux de la cellule, d'environ 4S.

Ils sont impliqués lors de la traduction dans le **transport et le transfert des acides aminés** vers le lieu de synthèse des protéines, et dans la reconnaissance du codon.

Leur structure spatiale est caractéristique, en « **feuillet de trèfle** ».

Ils contiennent des nucléotides rares ou inhabituels (voir chapitre 5).

Les différents ARNs :

➤ ARNm = ARN messagers

Ils représentent à peu près 5% des ARN totaux et portent les séquences informatives des gènes.

C'est une population de molécules très variées, en séquences, en longueurs et en structures secondaires.

Ils Portent l'information génétique de l'ADN vers le lieu de synthèse des protéines.

Les différents ARNs :

- ARN nucléaires de petite taille ou ARNs_n = ARN small nuclear

(Voir chapitre suivant)

- ARN nucléolaires de petite taille ou ARNs_{no} = ARN small nucleolar

Ils sont présents dans le noyau uniquement.

Ils représentent environ 2% des ARN totaux de la cellule.

Leurs longueurs varient de 60 à 350 nucléotides et ont un rôle de régulation/maturation.

Les snARN sont impliqués dans la maturation des ARNm;

Les snoARN sont impliqués dans la maturation des ARN ribosomiques.

Participent à la régulation post-transcriptionnelle

+++++++nouvelles ? Une centaine???? Voir plus loin.

Les différents ARNs :

➤ Les ARN viraux

Le génome de certains virus est constitué d'ARN simple brin ou double brin liés par des liaisons hydrogènes intra, ou inter-chaines.

Attention???

d'une manière générale, les ARN même des eucaryotes et procaryotes peuvent être simple ou double brin.

Même l'ADN de certains virus peut être simple ou double brin.

Propriétés physico-chimiques des acides nucléiques :

- Propriétés importantes pour l'isolation et l'étude des acides nucléiques
- Stabilité : Liaisons H = spécificité de l'appariement des bases
- Solubilité : solubles dans phénol, solutions salines et alcalines
Précipités par l'alcool (TP) et les solutions acides fortes
En solution aqueuse, ils sont très acides
- Viscosité : ADN long et mince donc solution très visqueuse
- Dénaturation : chimique par l'urée ou le formamide
thermique : précise (T_m) dépendant de la taille et du contenu en G-C (propriété ayant permis la création de la PCR: module technique)

A retenir comme propriétés de l'ADN :

- L'information contenue dans la séquence d'ADN est accessible seulement quand la double hélice est déroulée.
- Protéines se fixent sur la séquence des nucléotides quand la double hélice est déroulée.

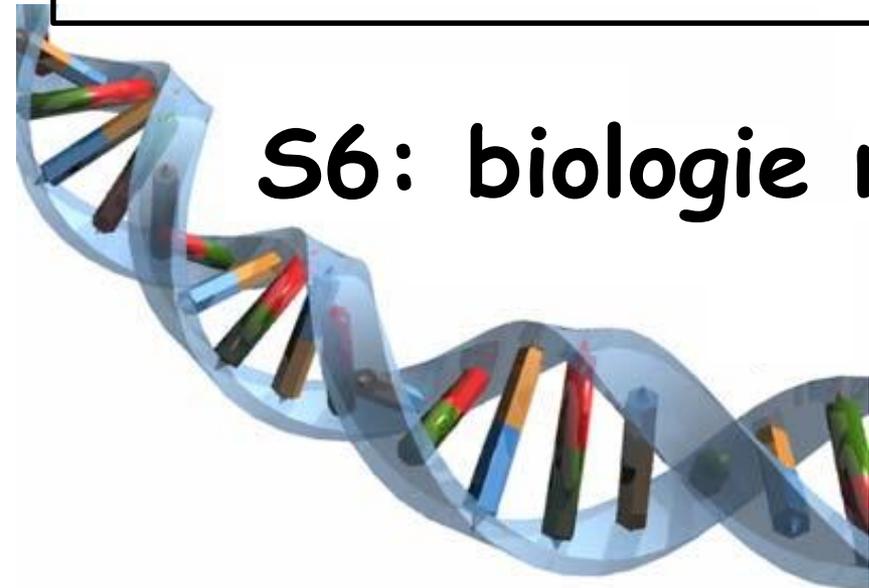
Seulement quelques protéines reconnaissent la séquence des nucléotides sous forme double brin (comme les **enzymes de restriction; voir génie génétique**).



restriction
enzyme EcoR V

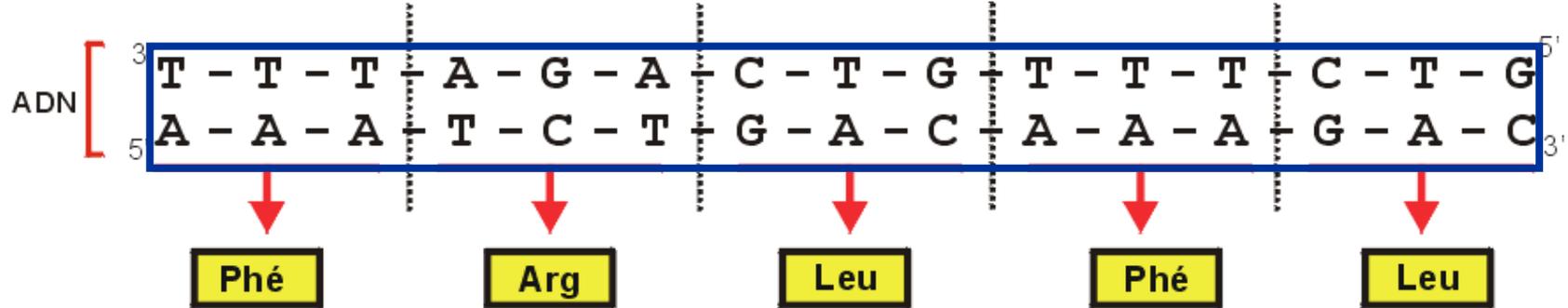
Chapitre 4: Notions de gènes, transcription et régulations métaboliques et épigénétiques

S6: biologie moléculaire



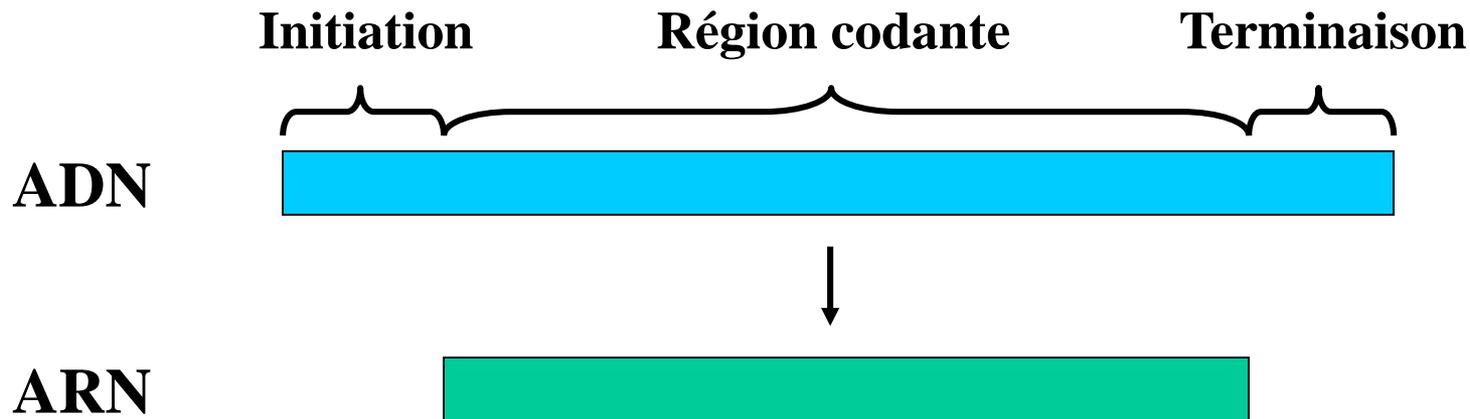
La notion de gène:

- Un segment d'ADN portant toute l'information nécessaire pour la synthèse d'une protéine = **gène (unité fonctionnelle)**
- Gène du peptide suivant comme exemple: **Phe-Arg-Leu-Phe-Leu**



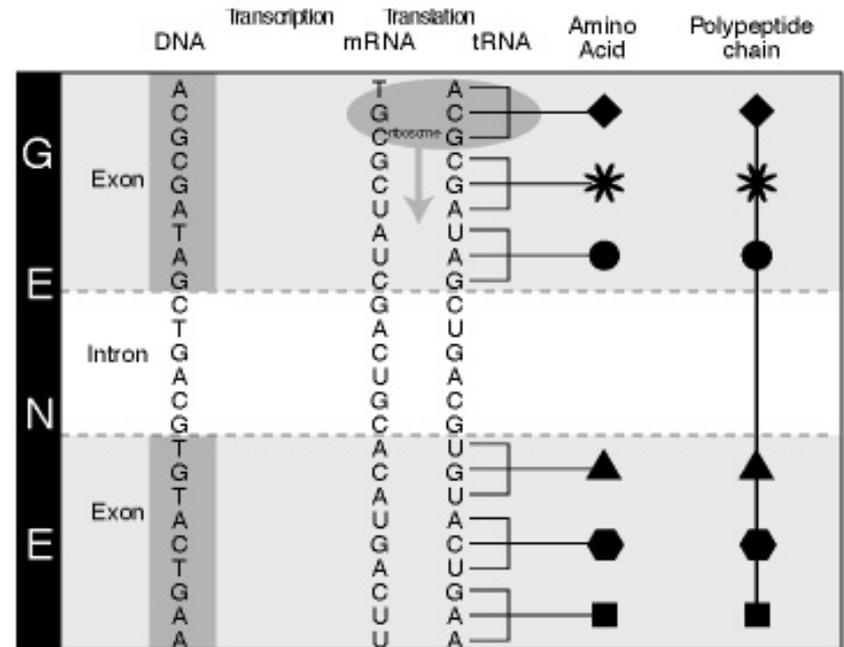
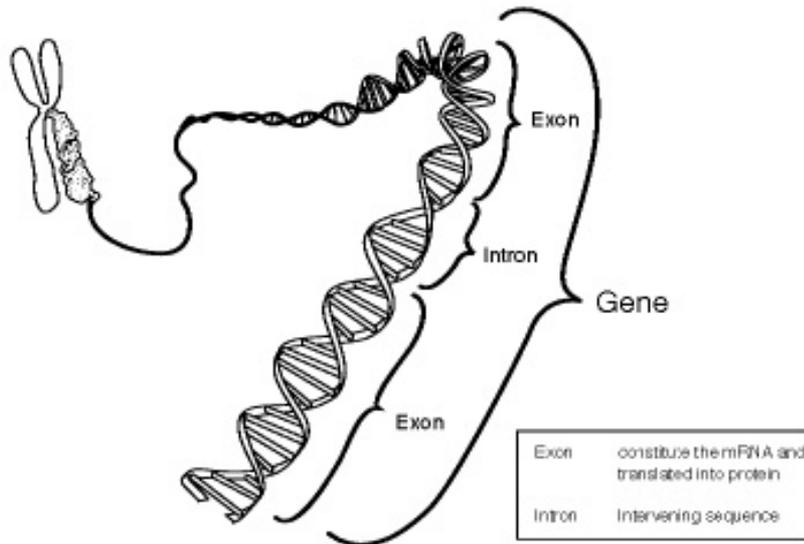
La notion de gène :

- Les gènes chez les procaryotes contiennent :
 - Une zone d'initiation de la transcription
 - Une zone de terminaison de la transcription
 - Une partie codante



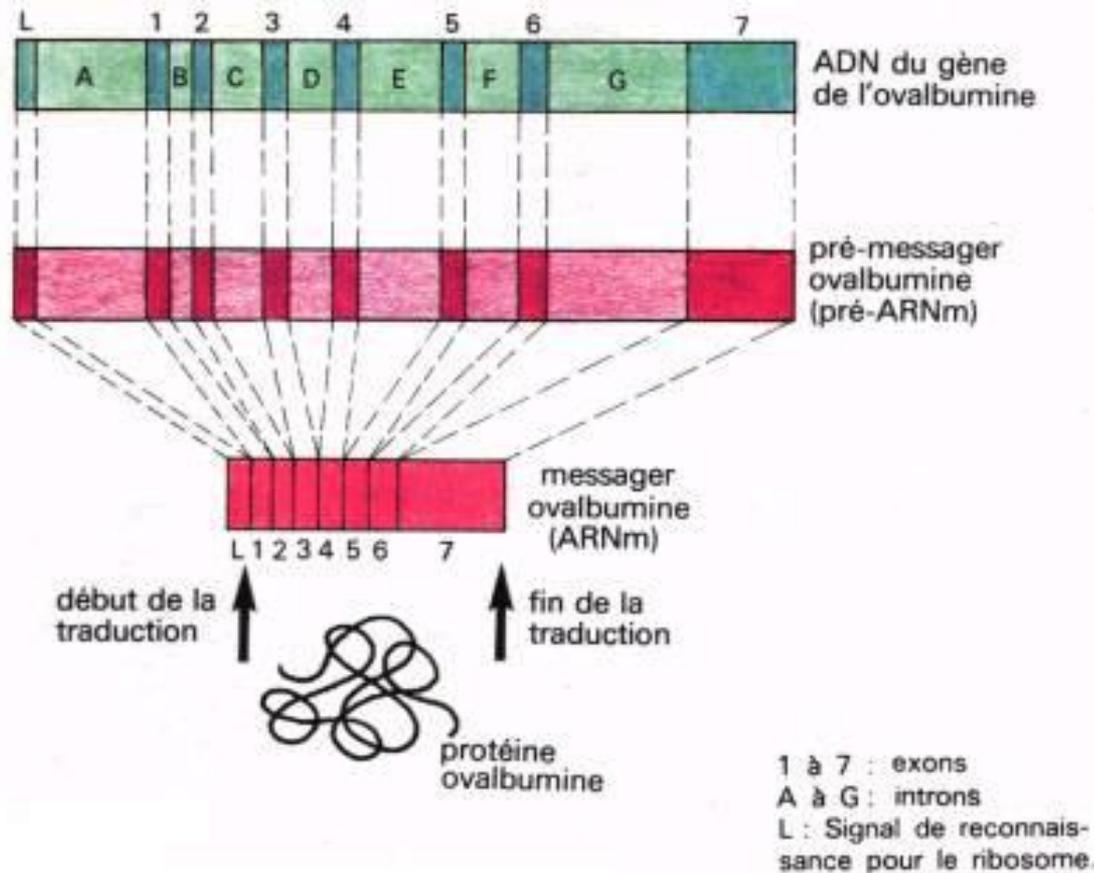
La notion de gène :

- Les gènes chez les eucaryotes contiennent :
 - Une zone d'initiation de la transcription
 - Une zone de terminaison de la transcription
 - Une partie codante composée d'introns et d'exons + maturation



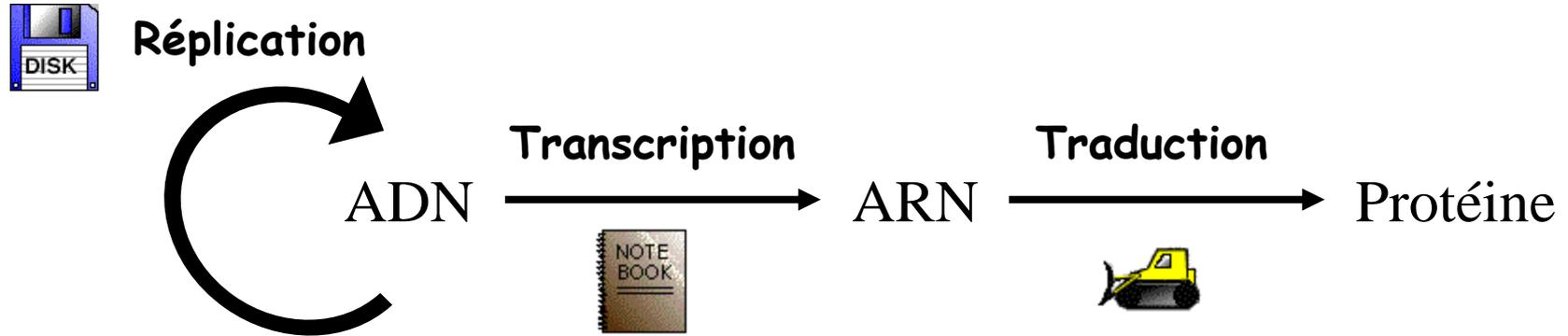
La notion de gène :

- Les Exons sont des régions de l'ADN contenant l'information génétique (régions traduites)
- Les Introns sont des régions de l'ADN qui seront éliminés lors de la maturation des ARNm (régions non traduites) ... Voir plus loin

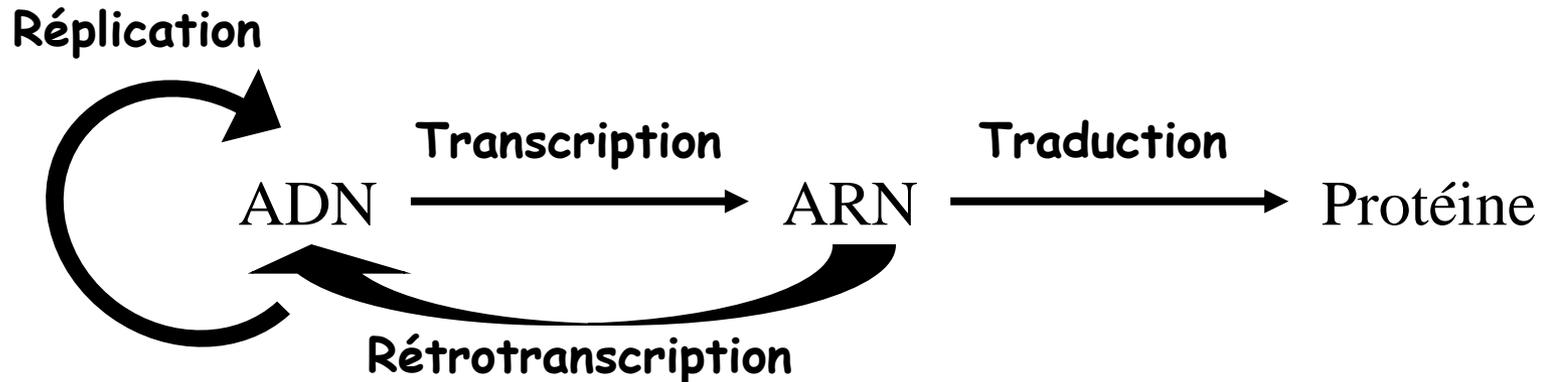


De l'ADN à la protéine:

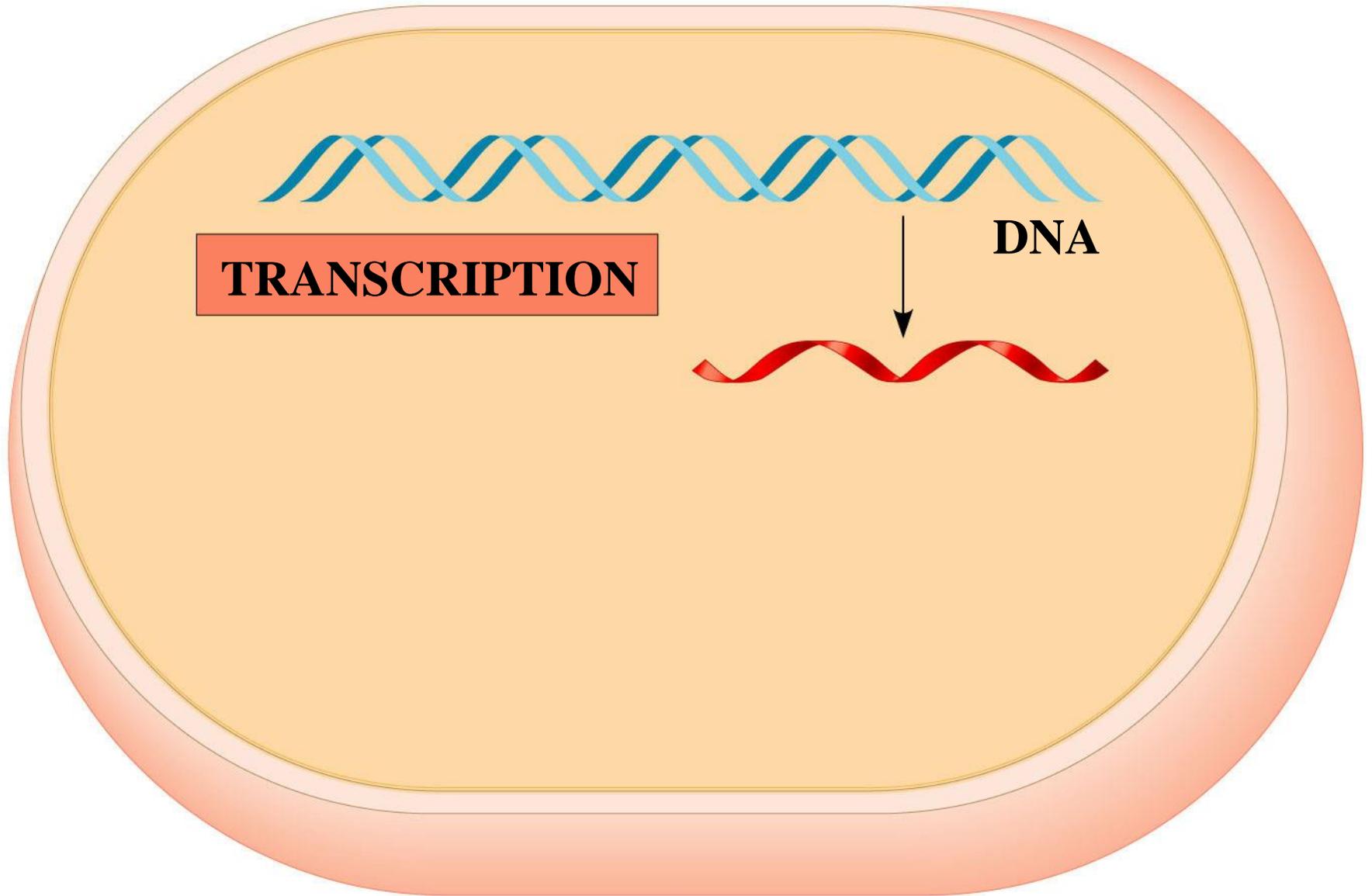
- L'information génétique n'est transmise que dans un sens



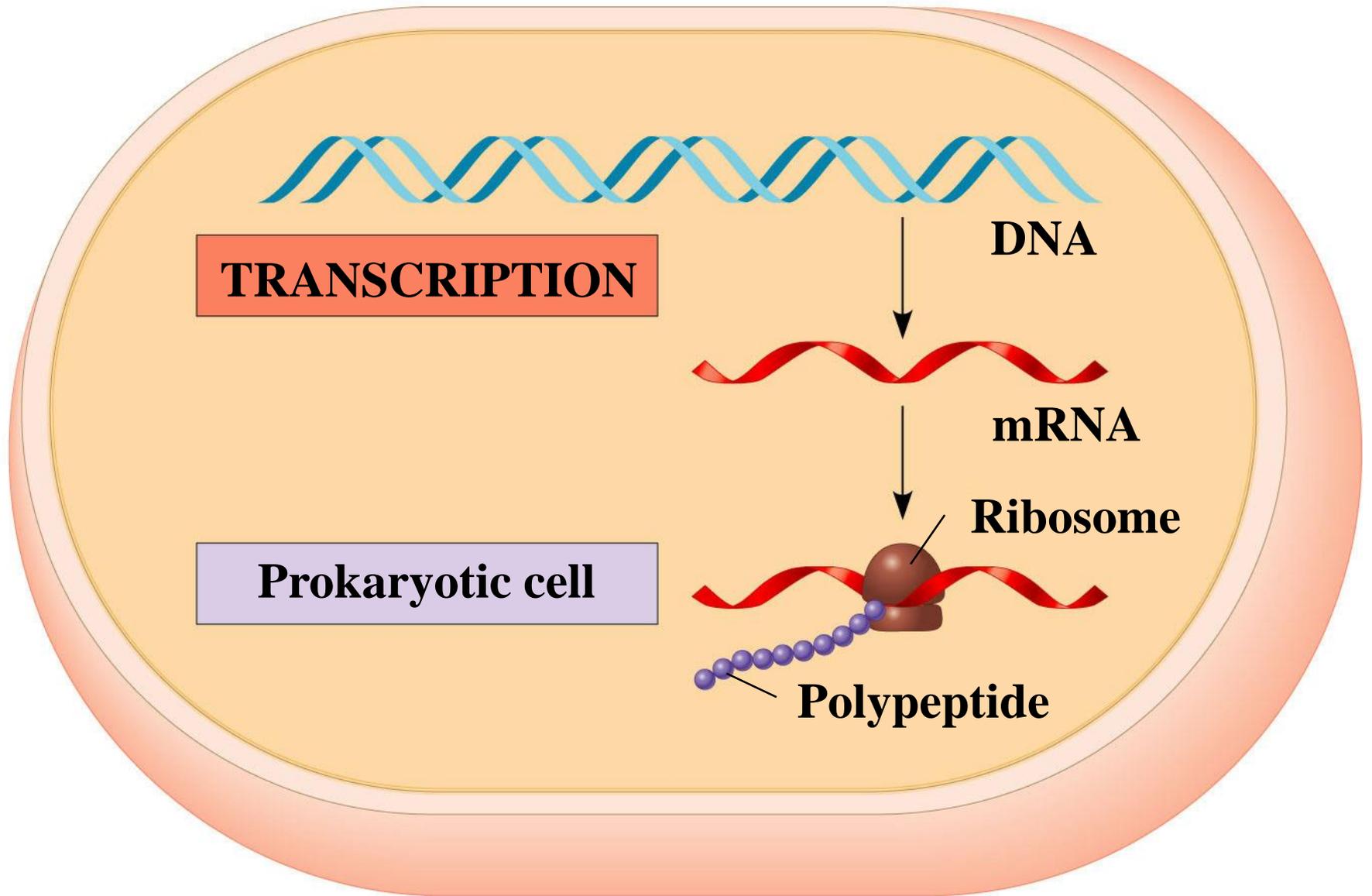
- Exception : les Virus à ARN : **important pour les techniques (RT-PCR)**



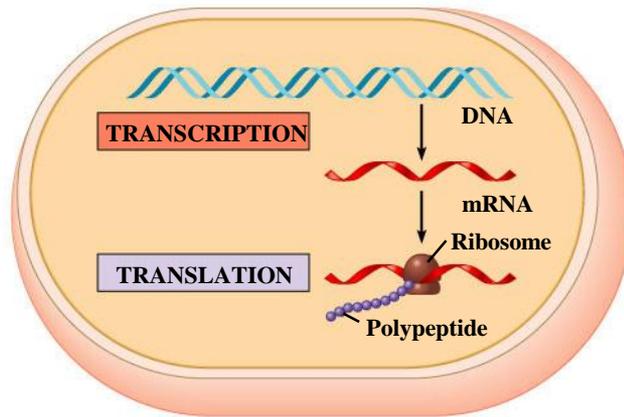
Expression des gènes: La transcription



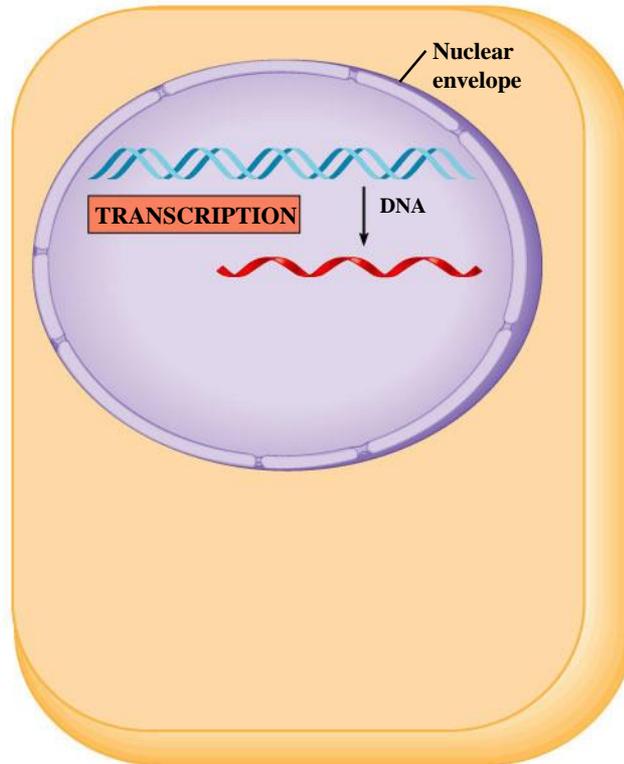
(a) Prokaryotic cell



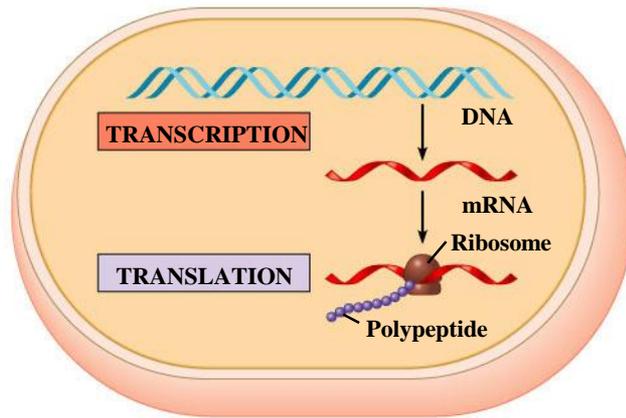
(a) Prokaryotic cell



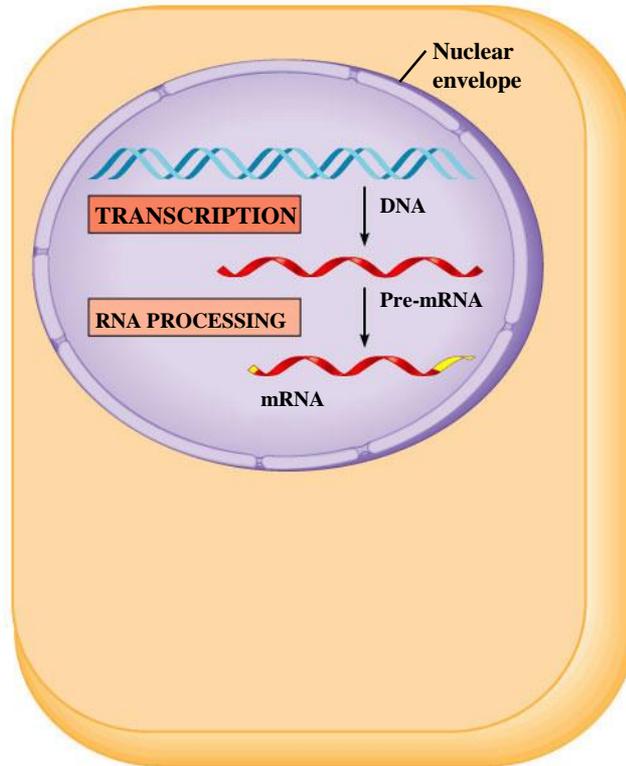
(a) Prokaryotic cell



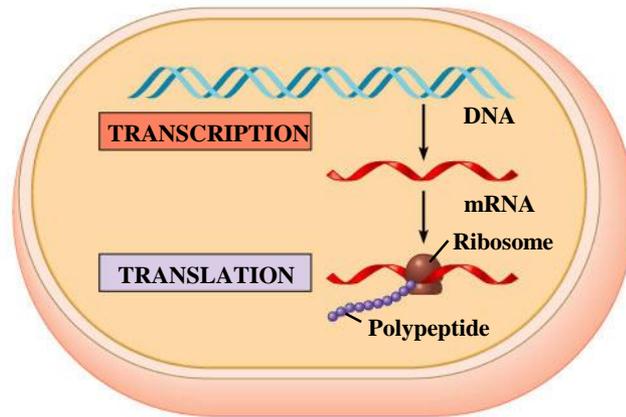
(b) Eukaryotic cell



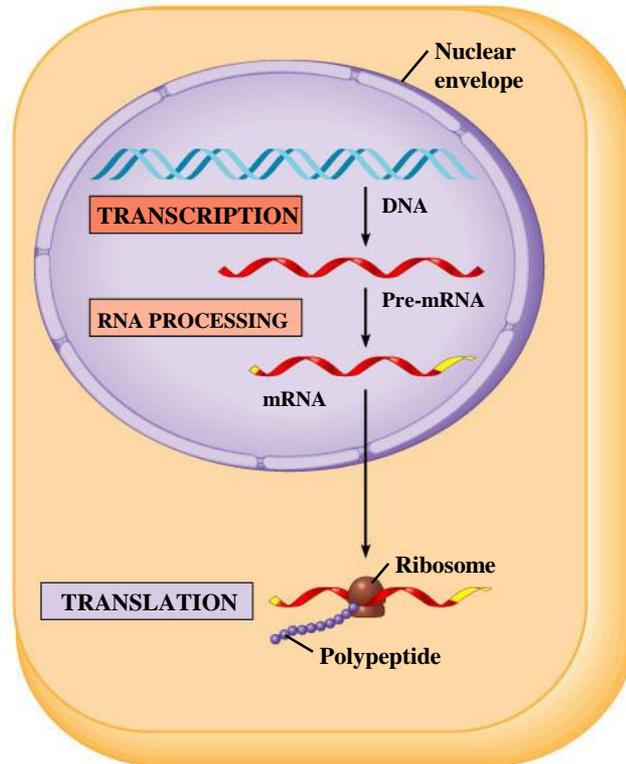
(a) Prokaryotic cell



(b) Eukaryotic cell



(a) Prokaryotic cell



(b) Eukaryotic cell

La transcription :

- Mécanisme de synthèse des ARNs
 - ARNm : copie d'une portion d'ADN (gène)
 - Tout l'ADN n'est pas transcrit
 - Attention ARN molécule reine, ARNs de régulation transcrites?????
 - Synthèse : dans le sens 5'-3'
de manière antiparallèle par rapport à l'ADN copié
de façon complémentaire
 - Les différents acteurs :
 - Matrice d'ADN
 - Nucléotides sous forme triphosphate ATP, CTP, GTP UTP
 - RNA polymérase (plusieurs sous-unités : $\alpha\beta\beta'\sigma$)
 - Cofacteurs (Mn^{++} , Mg^{++})
- Attention RT Mn^{++}

Transcription

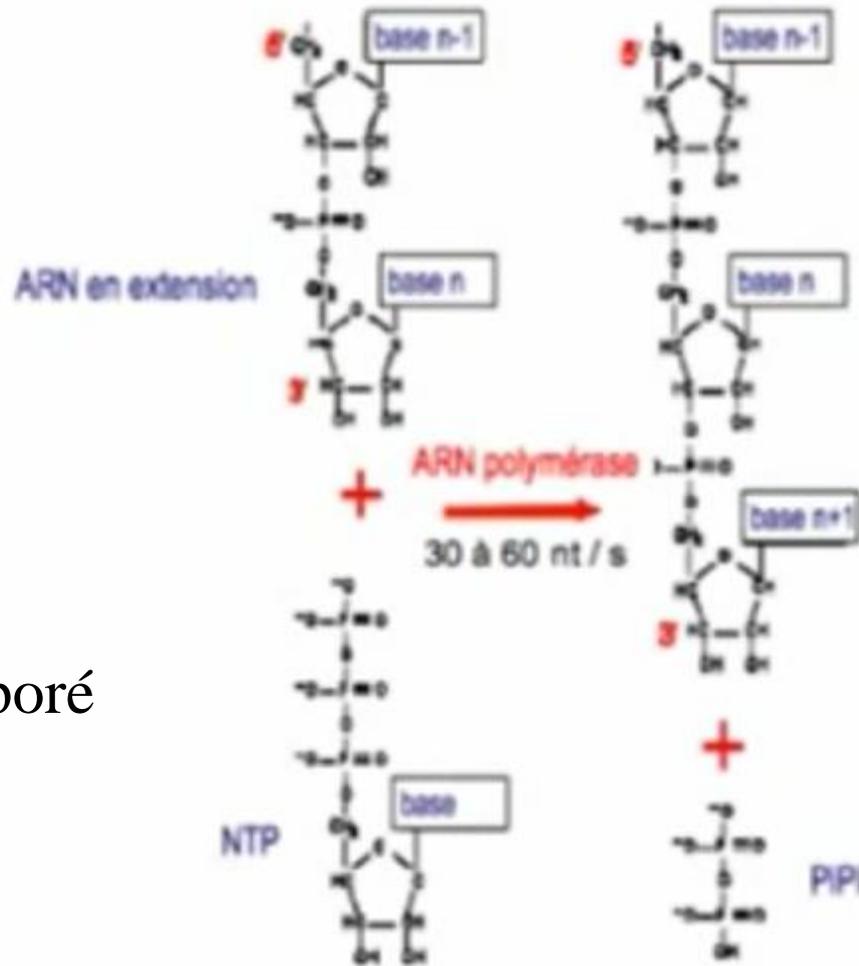
- 3étapes :
 - Initiation
 - Elongation
 - Termination

Expression des gènes: La transcription

Cas des
procaryotes

Rappel: sens polymérasation

❖ L'ARN polymérase catalyse la polymérisation du brin d'ARN



NTP mais incorporé
en NMP...

Rappel: sens polymérasation

Nucléotide Tri-P mais incorporé
en Nucléotide Mono-P...



(désoxy)nucléoside		(désoxy)ribose	+ Base	
(désoxy)nucléoside monophosphate	(d)NMP	(désoxy)ribose	+ Base	+ 1 P
(désoxy)nucléoside diphosphate	(d)NDP	(désoxy)ribose	+ Base	+ 2P
(désoxy)nucléoside triphosphate	(d)NTP	(désoxy)ribose	+ Base	+ 3P

Réplication

ADN polymérases

Transcription

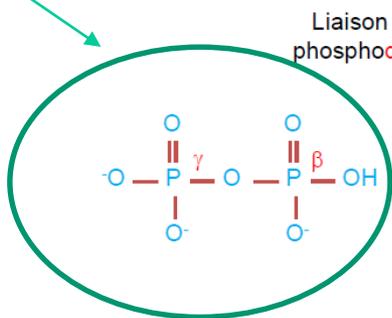
ARN polymérases



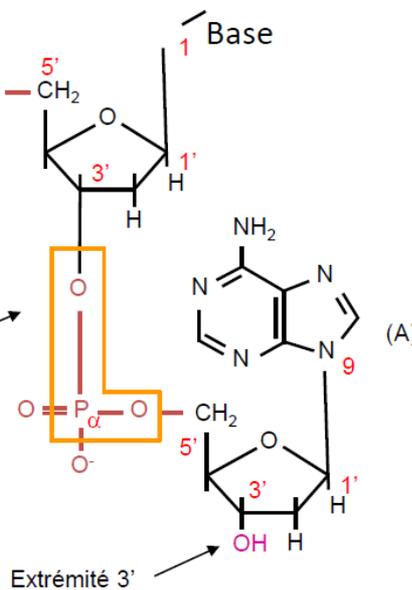
Rappel: sens polymérasation

Nucléotide Tri-P mais incorporé
en Nucléotide Mono-P...

Pyrrophosphate???



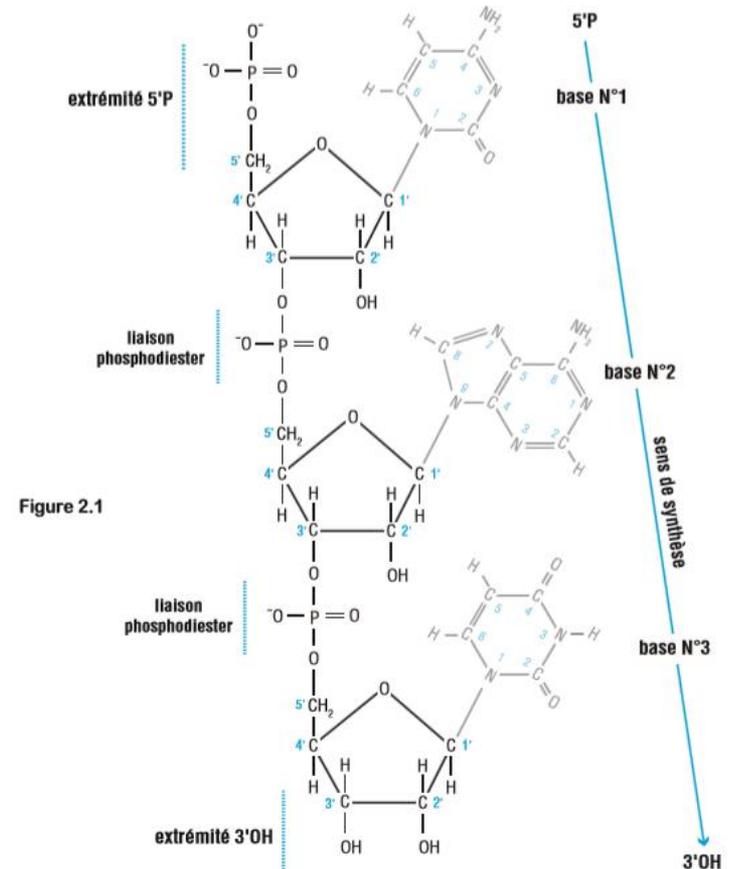
Liaison 3'-5'
phosphodiester



C'est un enzyme qui catalyse cette réaction... l'ADN polymérase

Réplication

ADN polymérasés



Transcription

ARN polymérasés

Rappel: sens polymérasation + rôles des Pol

Réplication
ADN polymérases

Polymérases 5'-3'
Exonucléases 5'-3' et 3'-5'
Hydrolyses des dNTP

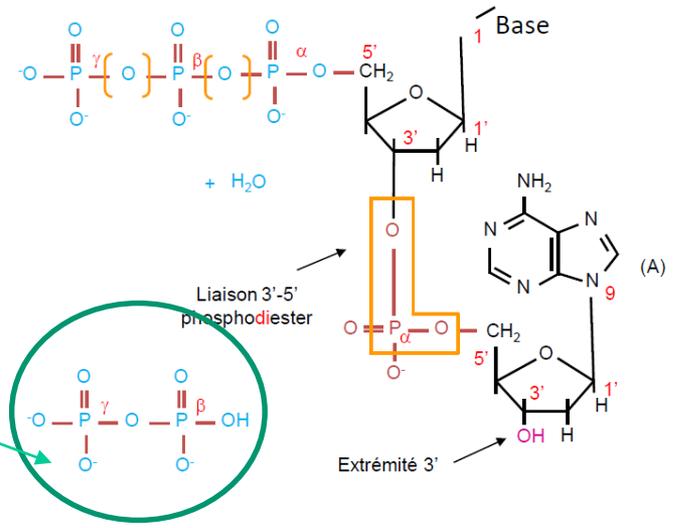
Transcription
ARN polymérases

Polymérases 5'-3'
?????????
Hydrolyses des NTP

Attention!
En PCR:
Inhibe la réaction
en fin de cycles

Pyrrophosphate???

Acidifie le milieu!!!



C'est un enzyme qui catalyse cette réaction... l'ADN polymérase

La transcription : chez les procaryotes

- Initiation de la transcription :
- Par convention : +1 = 1^{er} nucléotide transcrit
-1 = nucléotide précédent le 1^{er} nucléotide transcrit
- ARN polymérase doit reconnaître les gènes à transcrire
- Le promoteur = séquence d'ADN en amont de la région transcrite du gène, qui est spécifiquement reconnue par l'ARN polymérase
- Séquences -35 et -10 : séquences à environ 35 et 10 paire de base en amont du site d'initiation, 3 bases fortement conservées (TTGACA et TATATT)

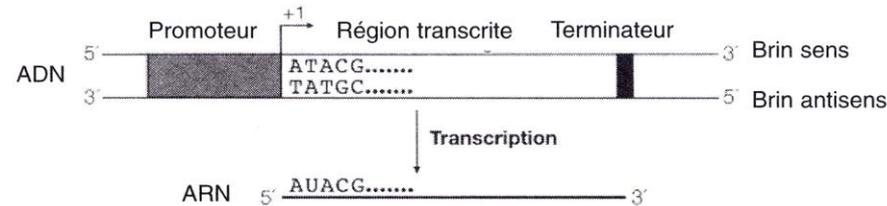
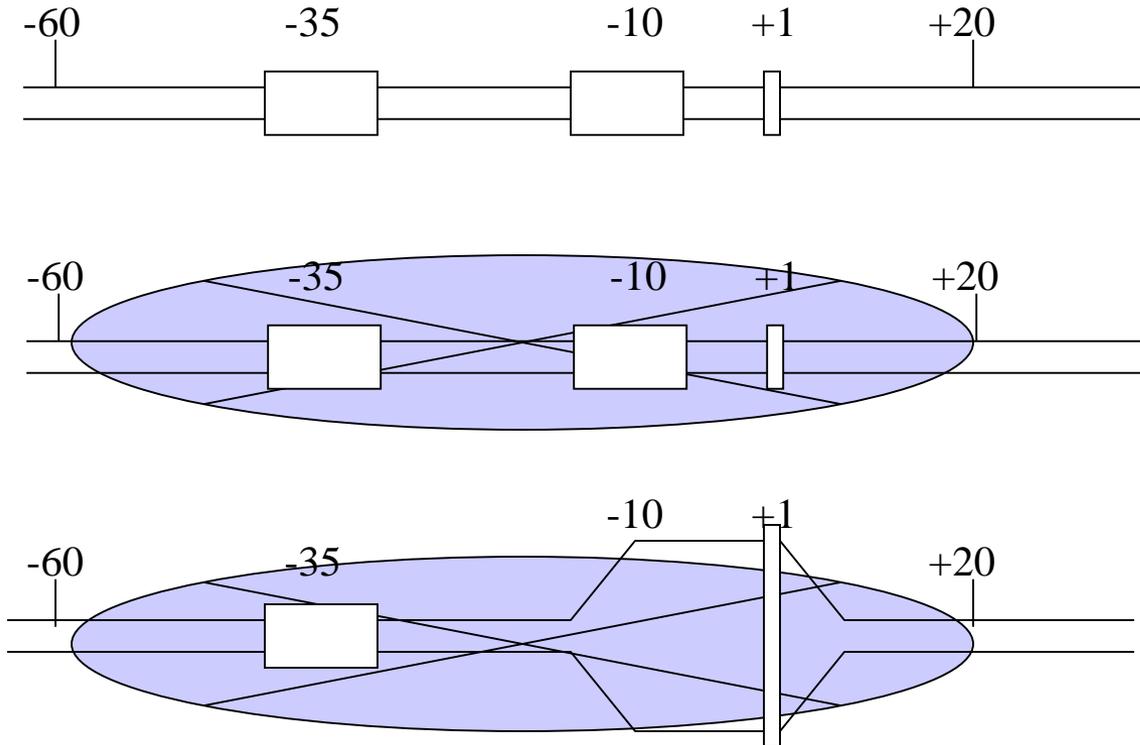


Fig. 2. Structure d'une unité de transcription typique montrant les séquences du terminateur et du promoteur.

La transcription : chez les procaryotes

- Initiation de la transcription :
- L'ARN polymérase se fixe sur l'ADN grâce aux séquences -35 et -10
- L'ADN double brin est ouvert attention ARN hélicase entre les position -10 et +1

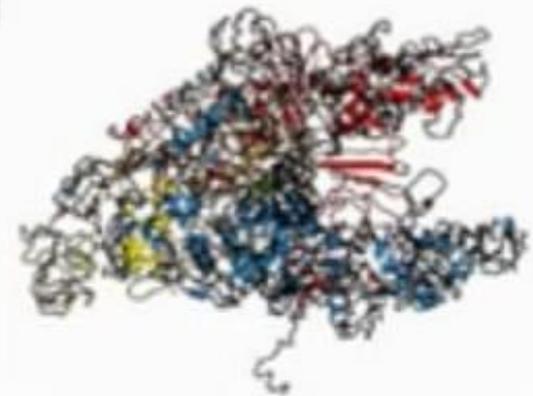
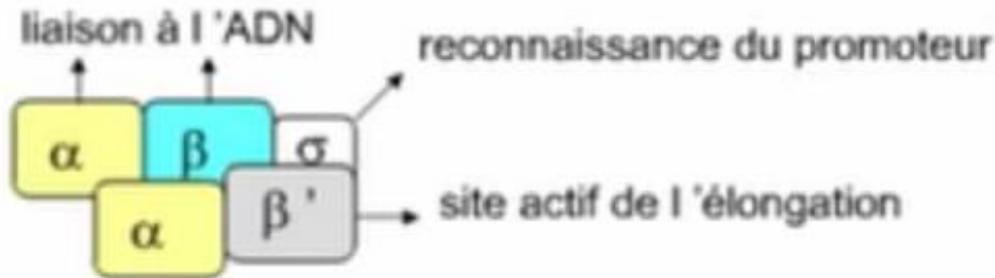


La transcription : chez les procaryotes

➤ Initiation de la transcription :

❖ L'ARN polymérase est un complexe protéique

● ARN polymérase des bactéries → ARNm, ARN



Structure d'une ARN polymérase procaryote

Il existe :

- **2 α** : Assemblage de l'enzyme, assure la **liaison au promoteur**.
- **1 β** : Assure la **liaison des nucléotides**.
- **1 β'** : Assure la **liaison à la matrice d'ADN**.
- **1 σ** : Assure la **reconnaissance du promoteur**, initiation de la transcription.

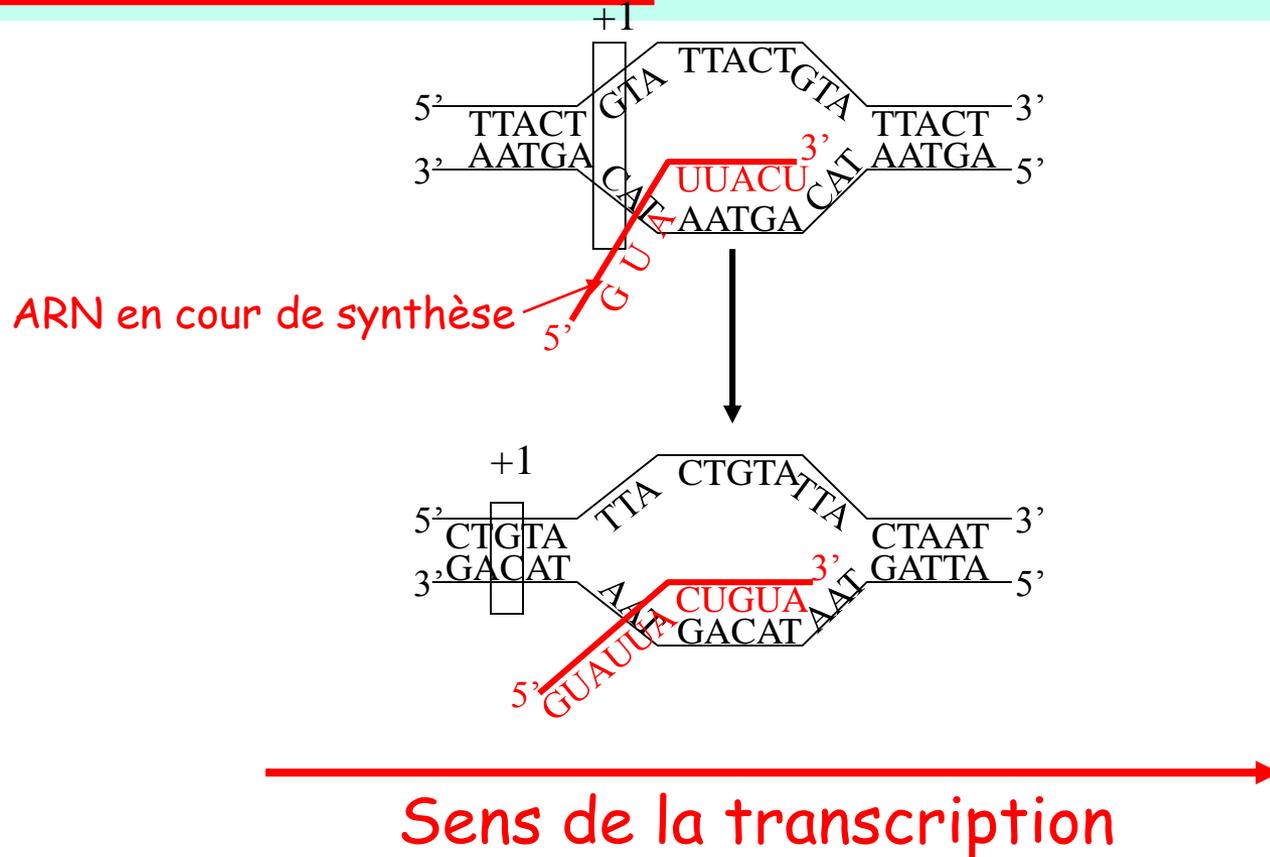
La transcription : chez les procaryotes

➤ Élongation :

ARN polymérase ajoute des nucléotides à l'extrémité 3' de l'ARN.

Elle avance dans la direction 3' vers 5' du brin matrice, donc

synthèse 5' vers 3'.



La transcription : chez les procaryotes

➤ Élongation : Important

Fonctions de correction :

L'ARN pol possède **deux fonctions de correction** pour corriger les erreurs possibles de nucléotides. Elles sont différentes des fonctions correctrices de l'ADN polymérase.

- **Correction pyrophospholytique** : réaction miroir par rapport à la fonction de polymérisation : réaction qui catalyse l'enlèvement du ribonucléotide incorrect par incorporation forcée d'un pyrophosphate. Le ribonucléotide qui avait été incorporé était sous forme monophosphate, il se retrouve alors sous forme triphosphate et est retiré de la chaîne en cours de synthèse.
- **Correction hydrolytique** : l'enzyme « recule » de quelques ribonucléotides, clive l'ARN pour éliminer sur quelques ribonucléotides la séquence qui contient l'erreur, et de par son activité polymérasique reprend la synthèse d'ARN. (//!\ *Ce n'est pas une fonction exonucléasique*).

Ces fonctions de corrections sont différentes de la fonction **d'édition (exonucléasique)** de l'ADN polymérase.

Rappel: sens polymérasation + rôles des Pol

Réplication

ADN polymérases

Polymérases 5'-3'

Exonucléases 5'-3' et 3'-5'

Hydrolyses des dNTP

Transcription

ARN polymérases

Polymérases 5'-3'

Corrections ?

Hydrolyses des NTP

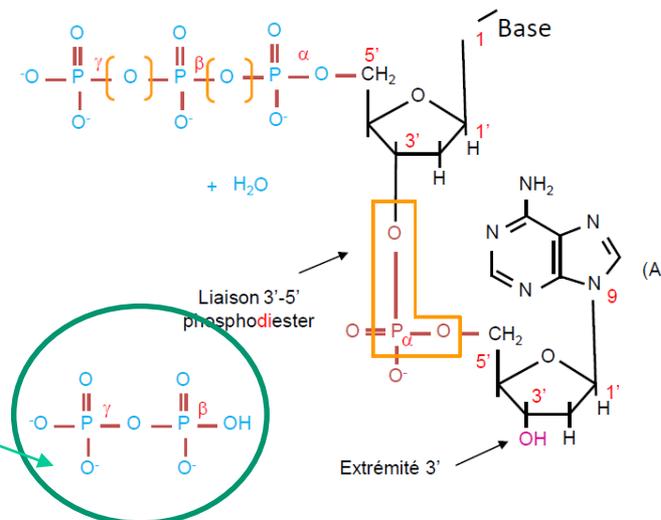
Attention!

En PCR:

Inhibe la réaction
en fin de cycles

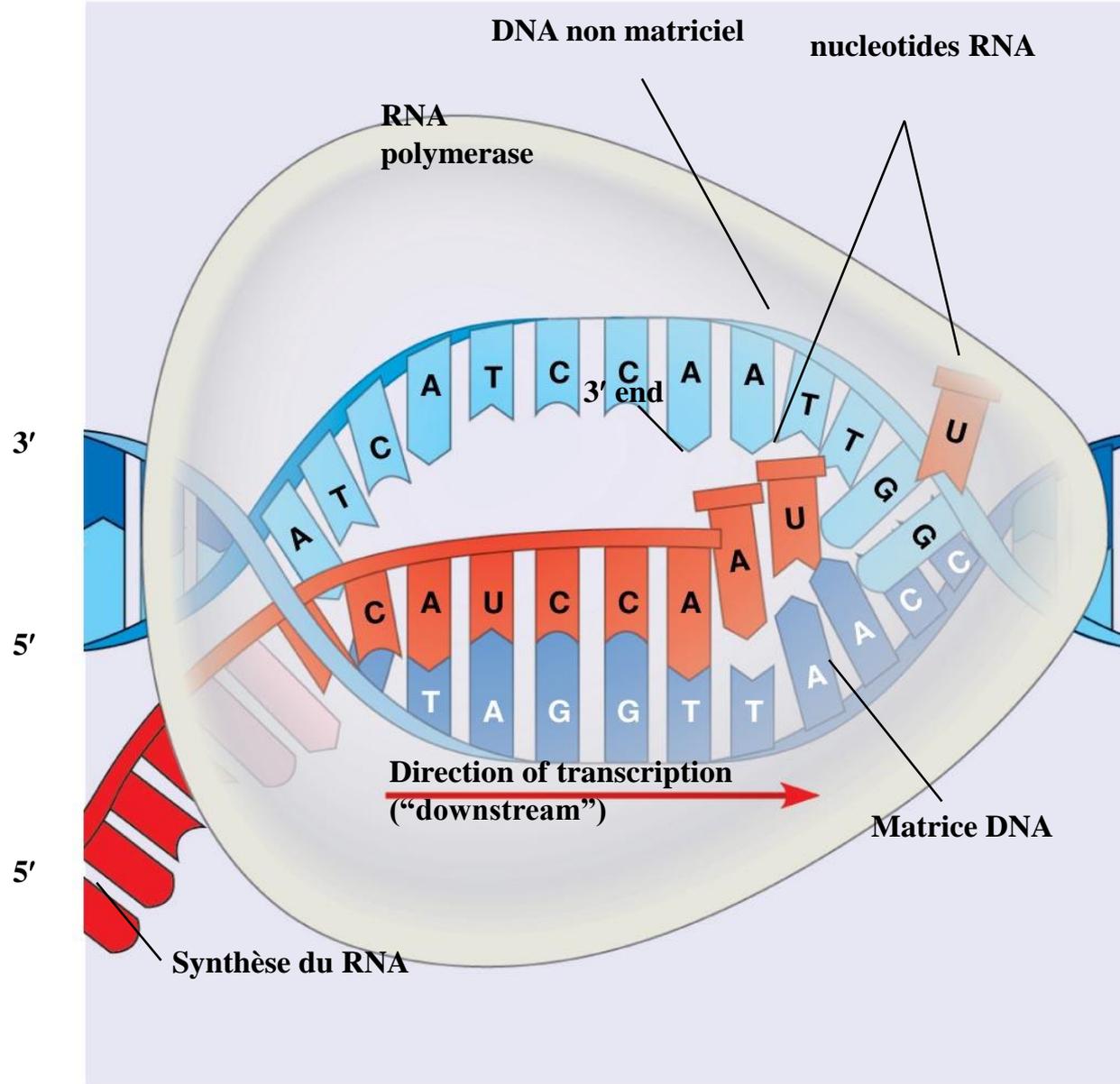
Pyrrophosphate???

Acidifie le milieu!!!



C'est un enzyme qui catalyse cette réaction... l'ADN polymérase

La transcription : chez les procaryotes



La transcription : chez les procaryotes

➤ Terminaison : Toujours incertaine mais hypothèses????? Voir plus loin

- Termineur = séquence d'ADN formant une structure secondaire de type épingle à cheveux, suivie d'une région riche en AT
- Transcription du termineur
- Formation de l'épingle à cheveux sur l'ARN
- Ralentissement de l'ARN polymérase
- Arrêt et décrochage de l'ARN polymérase

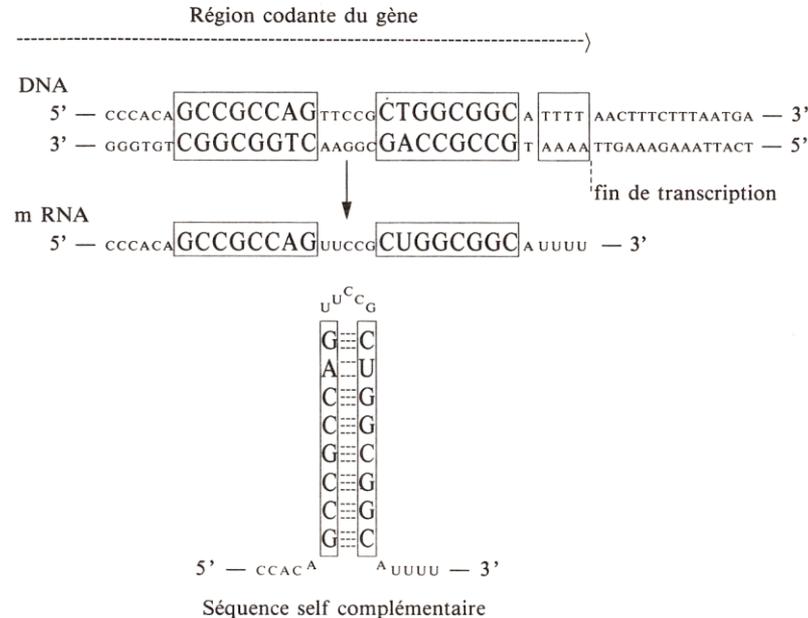


Fig. 52. — Séquence de fin de transcription chez les procaryotes (exemple de l'extrémité 3' du mRNA transcrit à partir de l'opéron Trp d'*E.coli*).

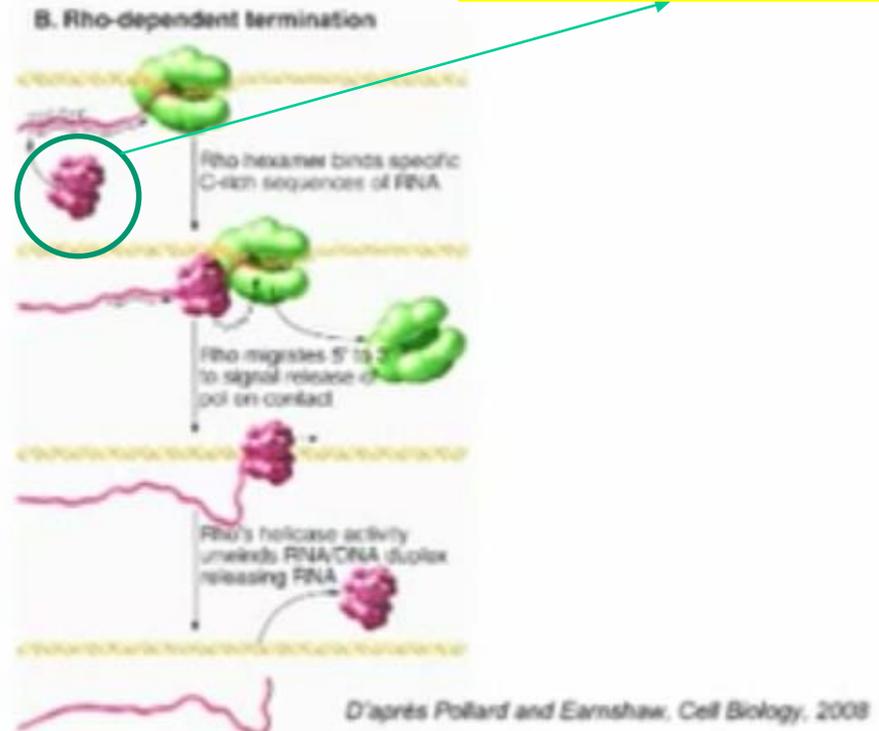
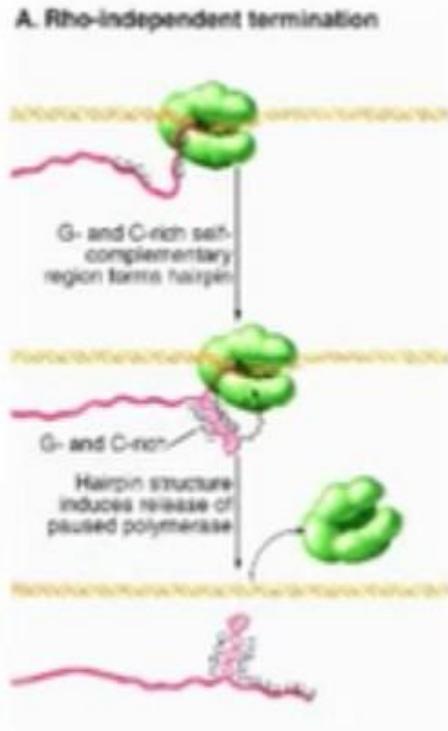
Transcription procaryotes: Terminaisons

Plus de mécanismes

3. Phase de terminaison

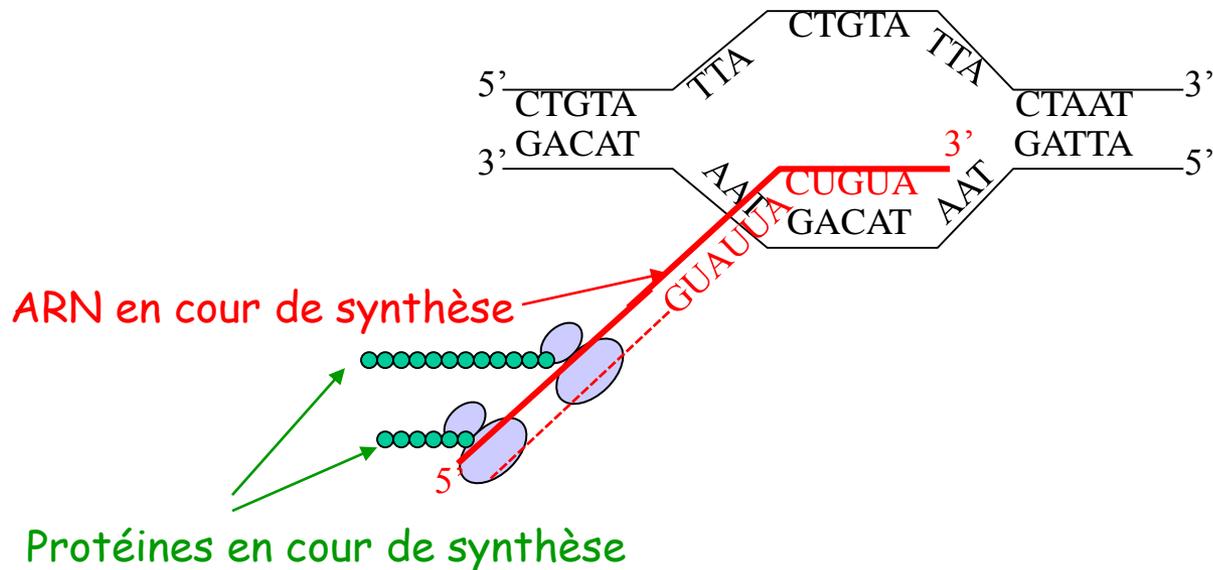
- ❖ L'arrêt de la transcription chez les procaryotes fait intervenir des séquences « terminateur » et des facteurs de terminaison (facteur rho)

Rho factor=Helicase like



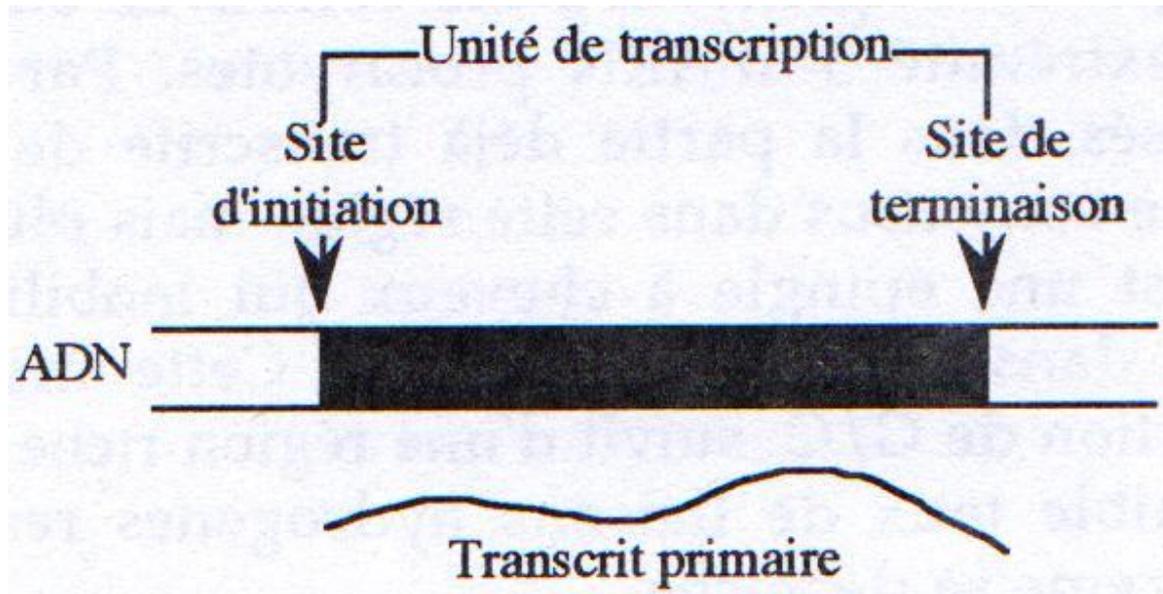
La transcription : chez les procaryotes

- Modification post-transcriptionnelle (important en génie génétique)
- Peu ou pas de modification des ARNm
- Traduction débute avant la fin de la transcription



Transcription procaryote: ce qu'il faut retenir

L'unité de transcription d'un gène correspond à la séquence présente dans le transcrit primaire d'ARN.



Chez les procaryotes comme chez les eucaryotes, la transcription est divisée en trois étapes: initiation, élongation et terminaison.

Transcription procaryote: ce qu'il faut retenir

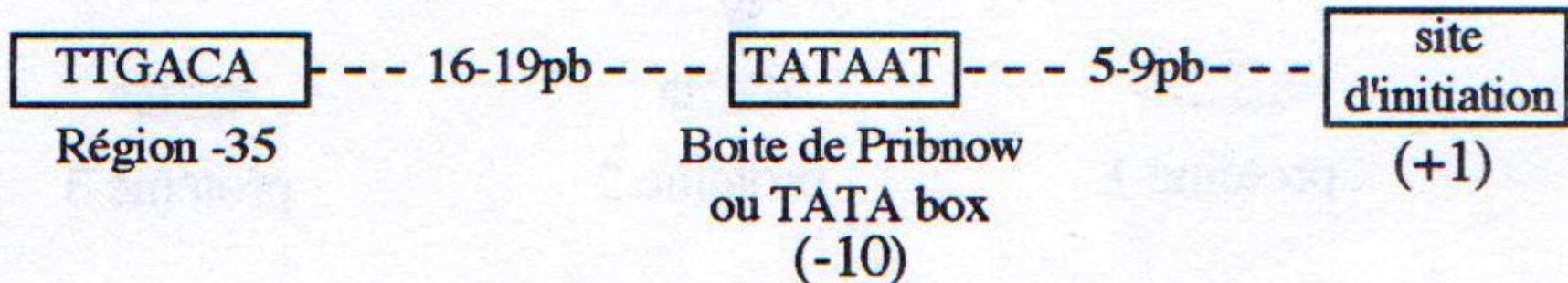
I\ Transcription chez les procaryotes.

L'ARN polymérase ADN dépendante est une enzyme formée de plusieurs sous-unités chez E. coli. Elle polymérise les nucléotides dans le sens 5'→3' à partir d'un promoteur. Cette enzyme n'a pas besoin d'amorce, n'utilise qu'un brin comme matrice et progresse à une vitesse d'environ 30 nucl./sec.

L'initiation.

L'initiation de la transcription se fait au niveau d'une séquence appelée promoteur. Ce promoteur est constitué de deux séquences très conservées, situées respectivement 35 et 10 pb en amont du site d'initiation de la transcription (+1).

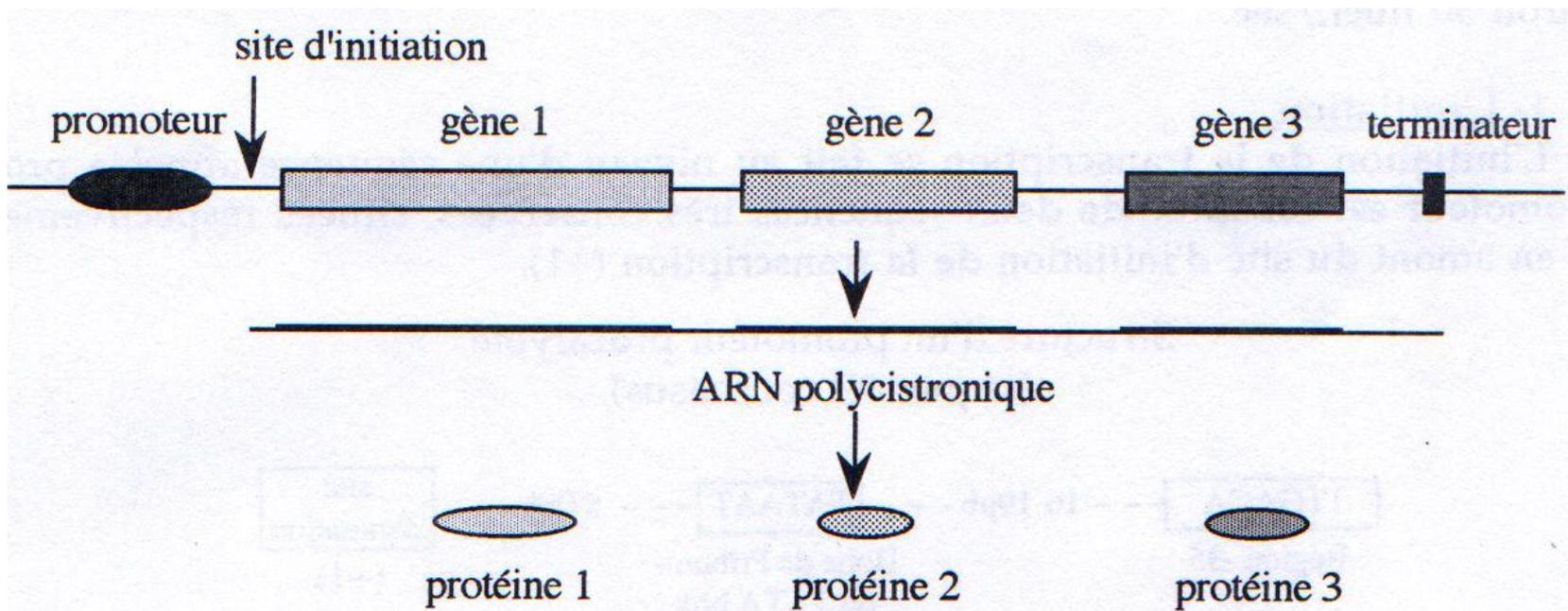
Structure d'un promoteur procaryote (séquences consensus)



Transcription procaryote: ce qu'il faut retenir

II\ Les ARNs polycistroniques.

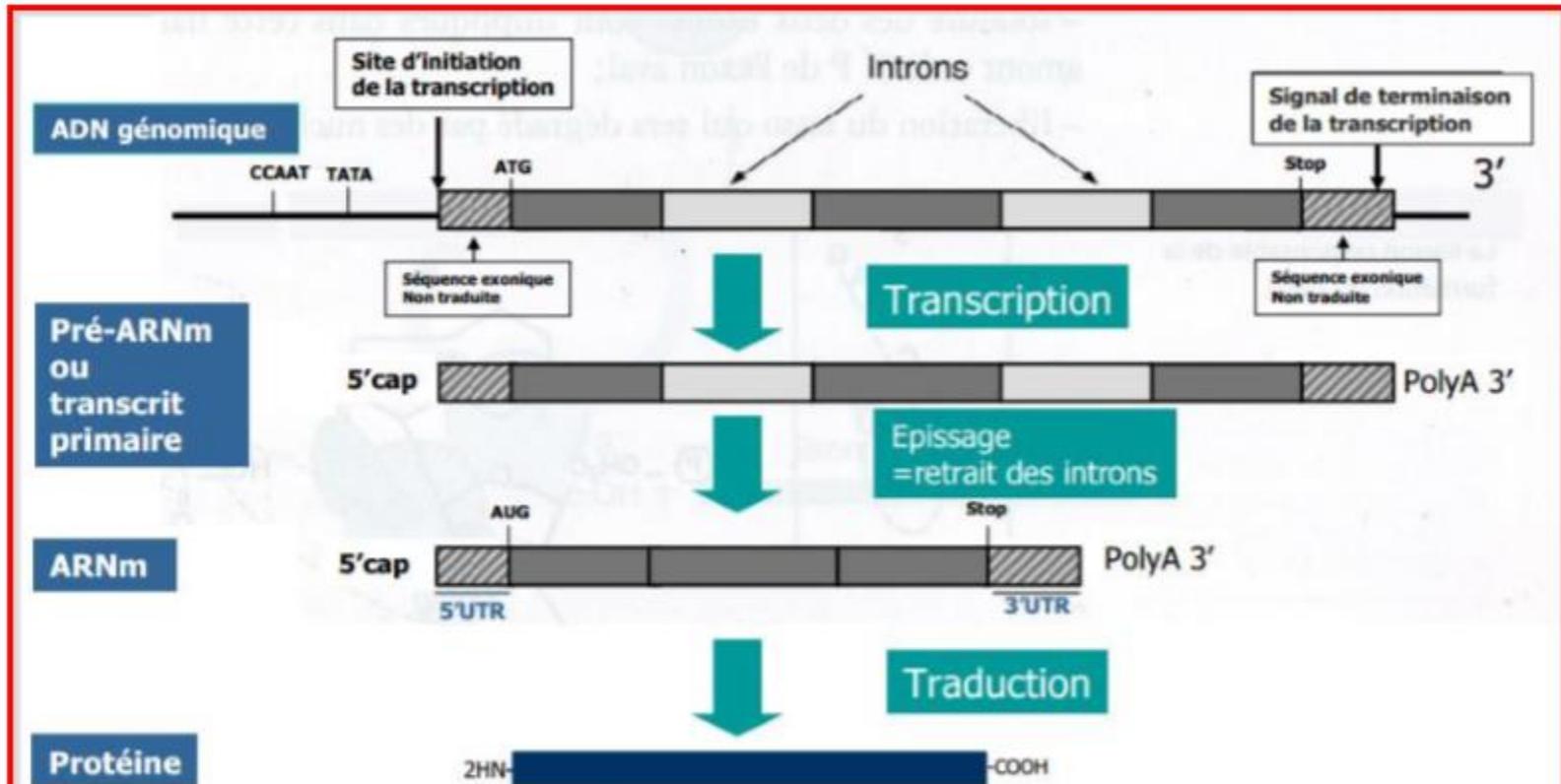
Certains gènes procaryotes sont rassemblés en opérons structures qui renferment plusieurs gènes, impliqués dans une même voie métabolique, sous le contrôle d'un même promoteur. On retrouve donc au sein d'un même ARN, des séquences codant pour plusieurs protéines.



Expression des gènes: La transcription

Cas des
Eucaryotes

Cas des Eucaryotes: généralités



Légende :



Séquences exoniques non traduites



Séquences exoniques traduites



Introns

5' UTR et 3'UTR: Régions 5' et 3' de l'ARNm non traduites (UTR=UnTranslated Region)

La transcription : chez les eucaryotes

➤ Mécanisme similaire, mais beaucoup plus complexe

➤ Plusieurs ARN polymérase :

ARN polymérase I : ARNr

ARN polymérase II : ARNm, ARNsn

et ARNsno

ARN polymérase III : ARNt

● ARN polymérases des eucaryotes (5 à 10 su)

ARN pol I (nucléole)

ARN pol II (nucléoplasme)

ARN pol III (nucléoplasme)



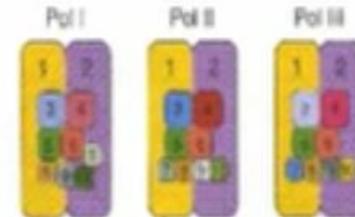
ARNr



ARNm



ARNt



➤ Nombreux cofacteurs protéiques nécessaire à la fixation de l'ARN polymérase sur l'ADN (65 attendus mais 13 caractérisés)

➤ Structure des gènes des eucaryotes :

Gènes fragmentés

Exons : ADN contenant l'information génétique (traduit en acides aminés)

Introns : séquences intercalaires fonctions ? **A voir ???**

La transcription : chez les eucaryotes

- Les différentes phases de la transcription :
 - Étapes nucléaires :
 - Transcription intégrale du gène (exons + introns)
 - Maturation du pré-ARNm
 - Épissage = coupure et élimination des introns
 - Addition du « cap » en 5' :
 - GMP méthylé sur l'azote 7 (donc charge +)
 - Mise en place rapide (avant la fin de la transcription)
 - Liaison au 1er nucléotide par une liaison anhydride
 - Protection de l'ARNm des enzymes de dégradation (ARNase)
 - Addition de polyA
 - Après transcription, addition d'environ 250 A
 - Aide passage vers cytoplasme

Transcription Eucaryotes

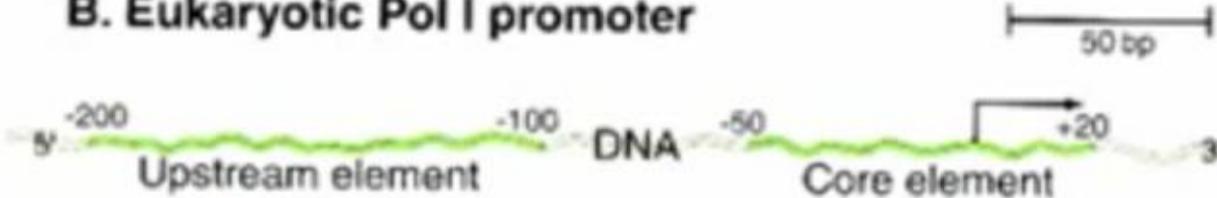
1. Phase d 'initiation

❖ L 'ARN polymérase reconnaît une séquence localisée en 5 ' du gène : le **promoteur** qui contient des motifs particuliers

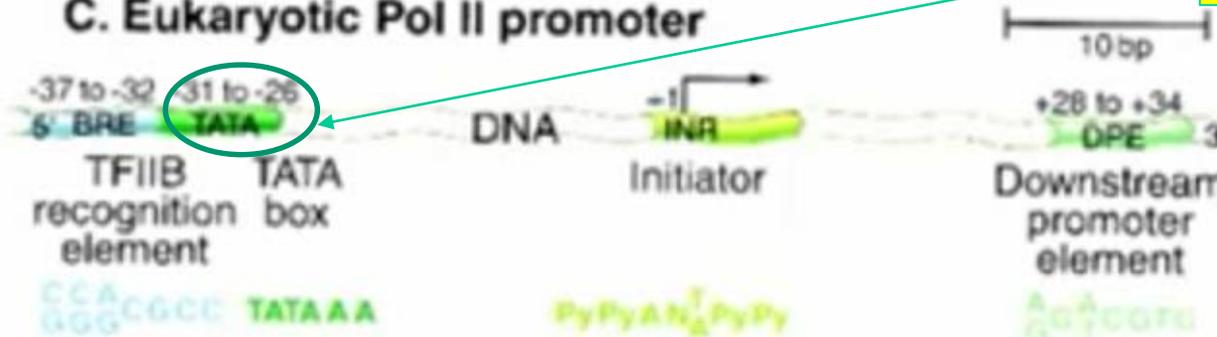
A. Prokaryotic promoter



B. Eukaryotic Pol I promoter



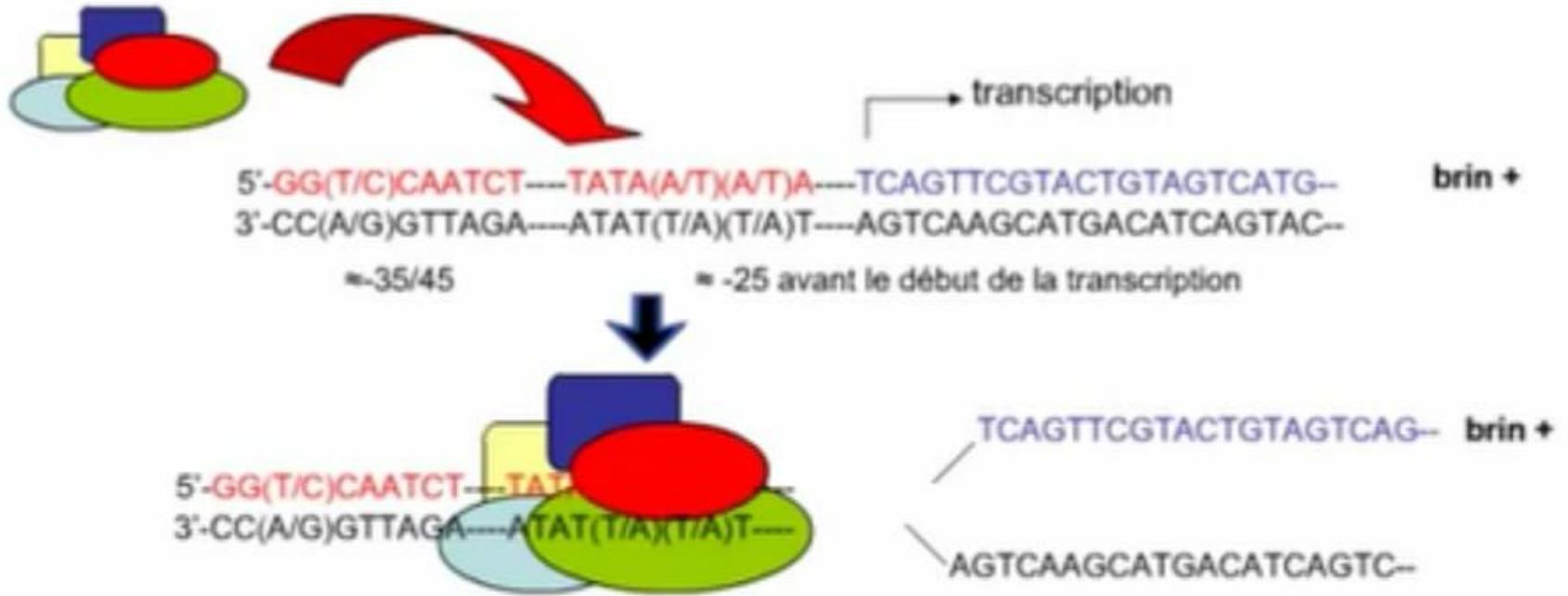
C. Eukaryotic Pol II promoter



Attention: "promoteurs ARNm
Motif TATA

Transcription Eucaryotes

- ❖ La fixation du complexe ARN polymérase entraîne l'ouverture de la double hélice

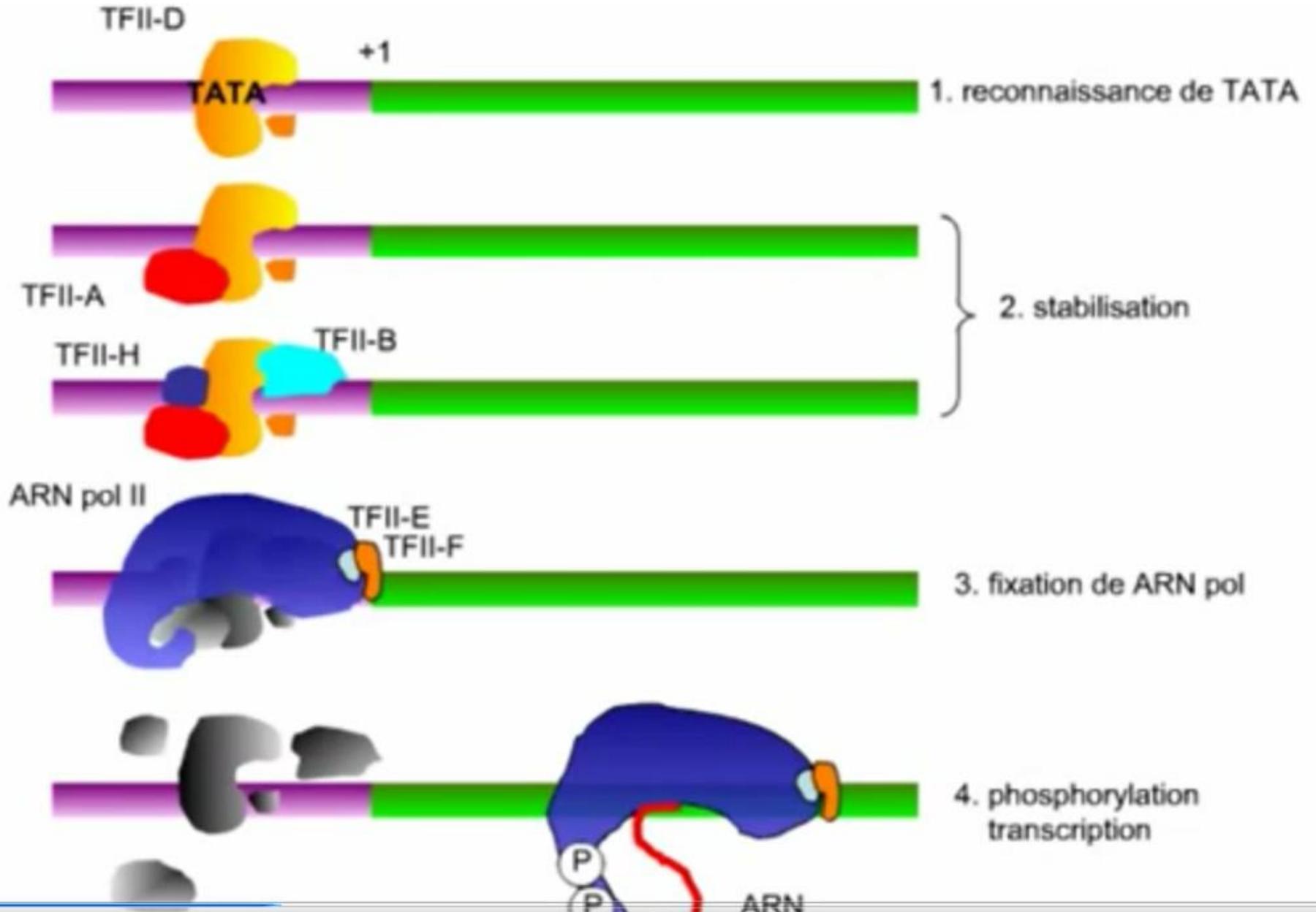


- ❖ La reconnaissance du promoteur implique de nombreux facteurs protéiques

- procaryotes : facteurs σ
- eucaryotes : nombreux facteurs de transcription spécifiques des différentes ARN polymérases : ARNpol II (TFIIA-H), ARN pol I (TAFs), ARN pol III (TFIIIA-C)

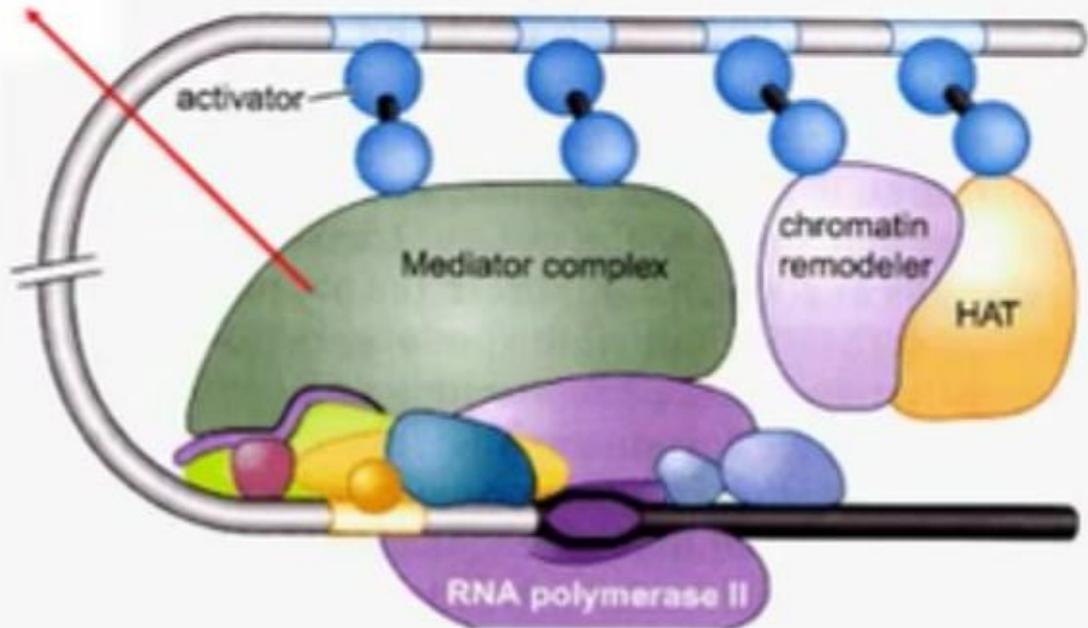
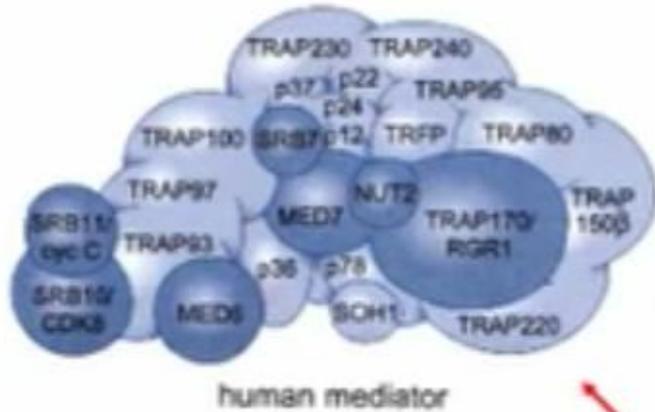
- ❖ La fixation de l'ARN polymérase est conditionnée par la séquence d'intervention des facteurs de transcription

Transcription Eucaryotes



Transcription Eucaryotes

➡ in vivo, la formation du complexe pré-initiateur nécessite de nombreux facteurs protéiques et s'accompagne d'une modification de la structure de la chromatine



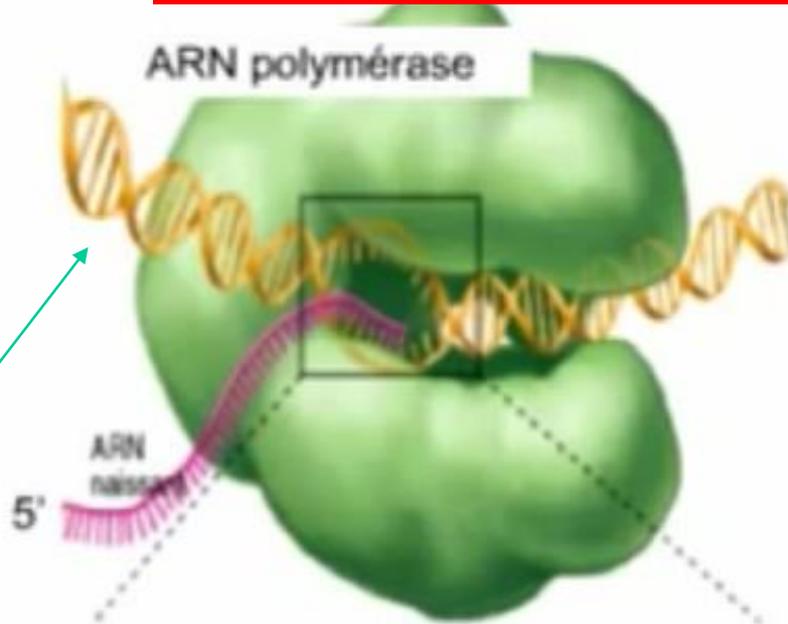
Initiation plus complexe!

Transcription Eucaryotes

2. Phase d' élongation

- ❖ L' élongation se fait dans le sens 5' - 3' par formation de liaisons phosphodiester
- ❖ La lecture du brin « - » par l'ARN polymérase s'accompagne de l'ouverture de la double hélice d'ADN et est suivi par le ré-appariement des 2 brins d'ADN. La transcription s'accompagne d'un remodelage des histones et des nucléosomes.

REMODELAGE AVEC LES HISTONES:
Eucaryotes



Relâchement transitoire
du nucléosome

Les deux brins d'ADN se ferment et reformation de la double hélice sinon!!!!

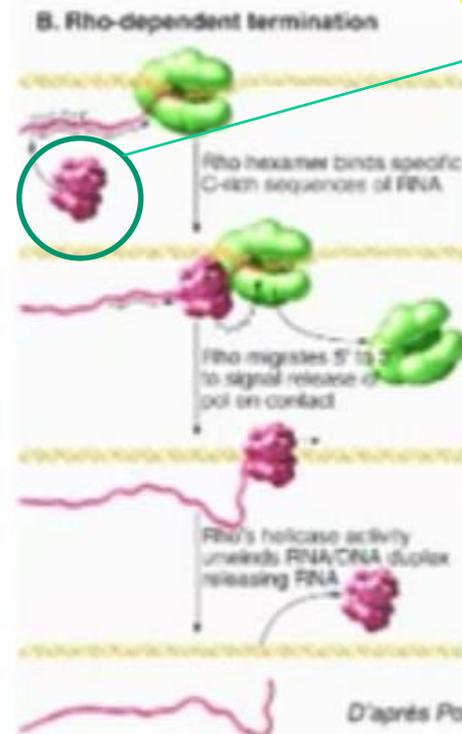
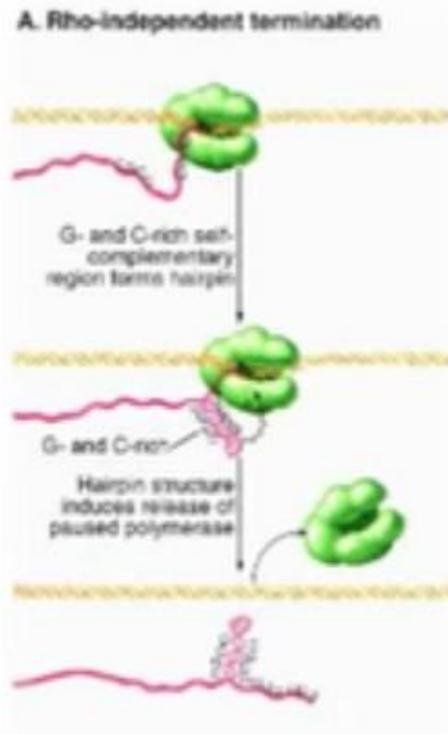
Transcription Eucaryotes/procaryotes: Terminaisons

Plus de mécanismes

3. Phase de terminaison

- ❖ L'arrêt de la transcription chez les procaryotes fait intervenir des séquences « terminateur » et des facteurs de terminaison (facteur rho)

Rho factor=Helicase like

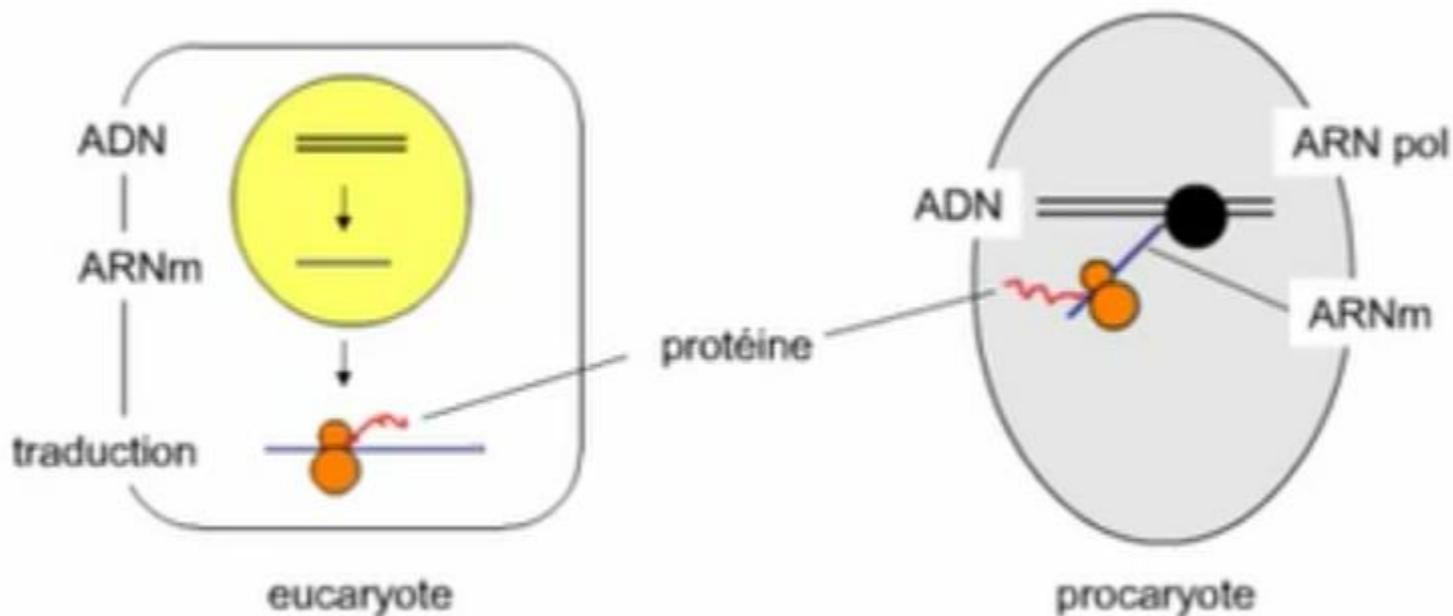


D'après Pollard and Earnshaw, Cell Biology, 2008

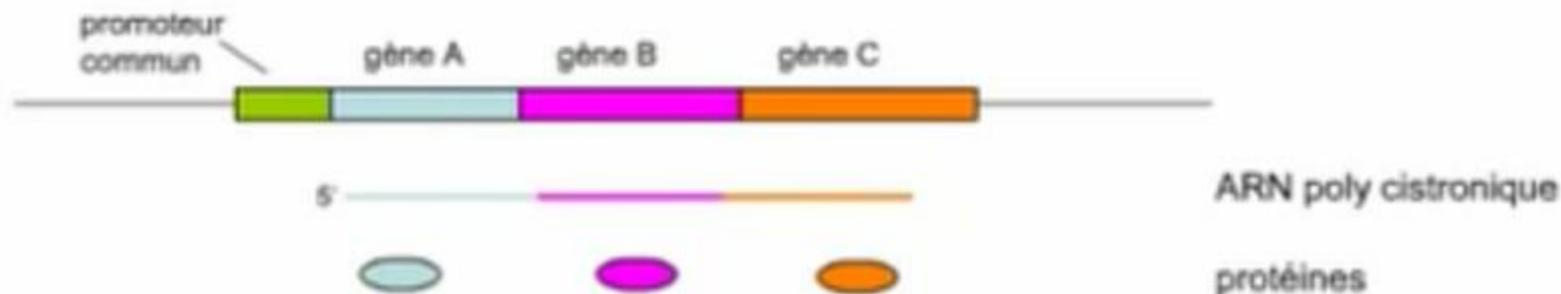
- ❖ Chez les eucaryotes, la terminaison de l'activité pol III impliquerait des séquences riches en résidus U, celle de Pol I un facteur protéique qui bloquerait la transcription. En ce qui concerne Pol II, la terminaison est couplée à la maturation des ARNm

4. Transcription des procaryotes vs eucaryotes

- ❖ Chez les procaryotes, la transcription est couplée à la traduction alors que chez les eucaryotes les ARNm seront exportés hors du noyau avant d'être traduits.



- ❖ Chez les procaryotes, plusieurs gènes peuvent être transcrits à partir d'un promoteur unique



Transcription Eucaryotes: **modifications des ARNs**

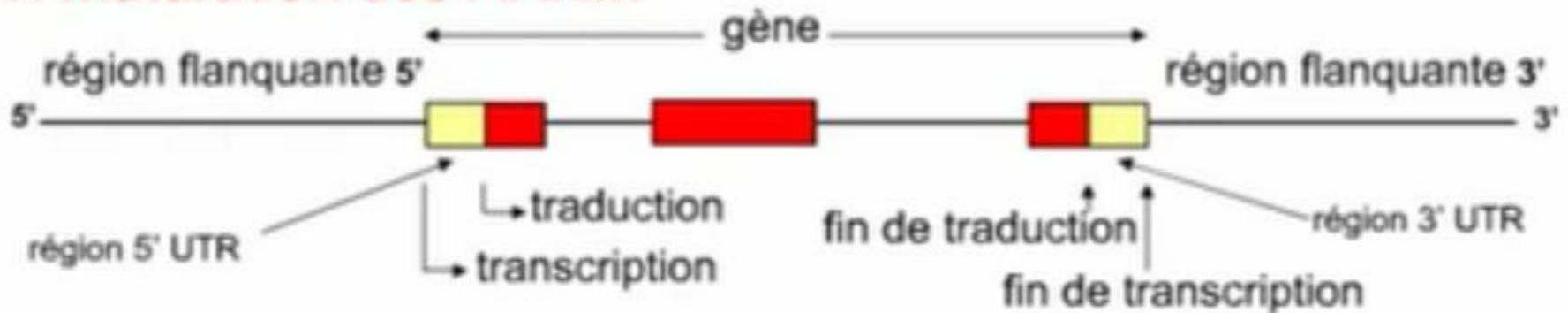
Chez les eucaryotes le mécanisme de base de la transcription est **identique** à ce qui a été décrit pour les procaryotes. Cependant, la structure des promoteurs est différente et les transcrits primaires obtenus sont toujours monocistroniques. Enfin, une des différences majeures concerne les modifications post-transcriptionnelles des ARN eucaryotes;

.

Transcription Eucaryotes: modifications des ARNs

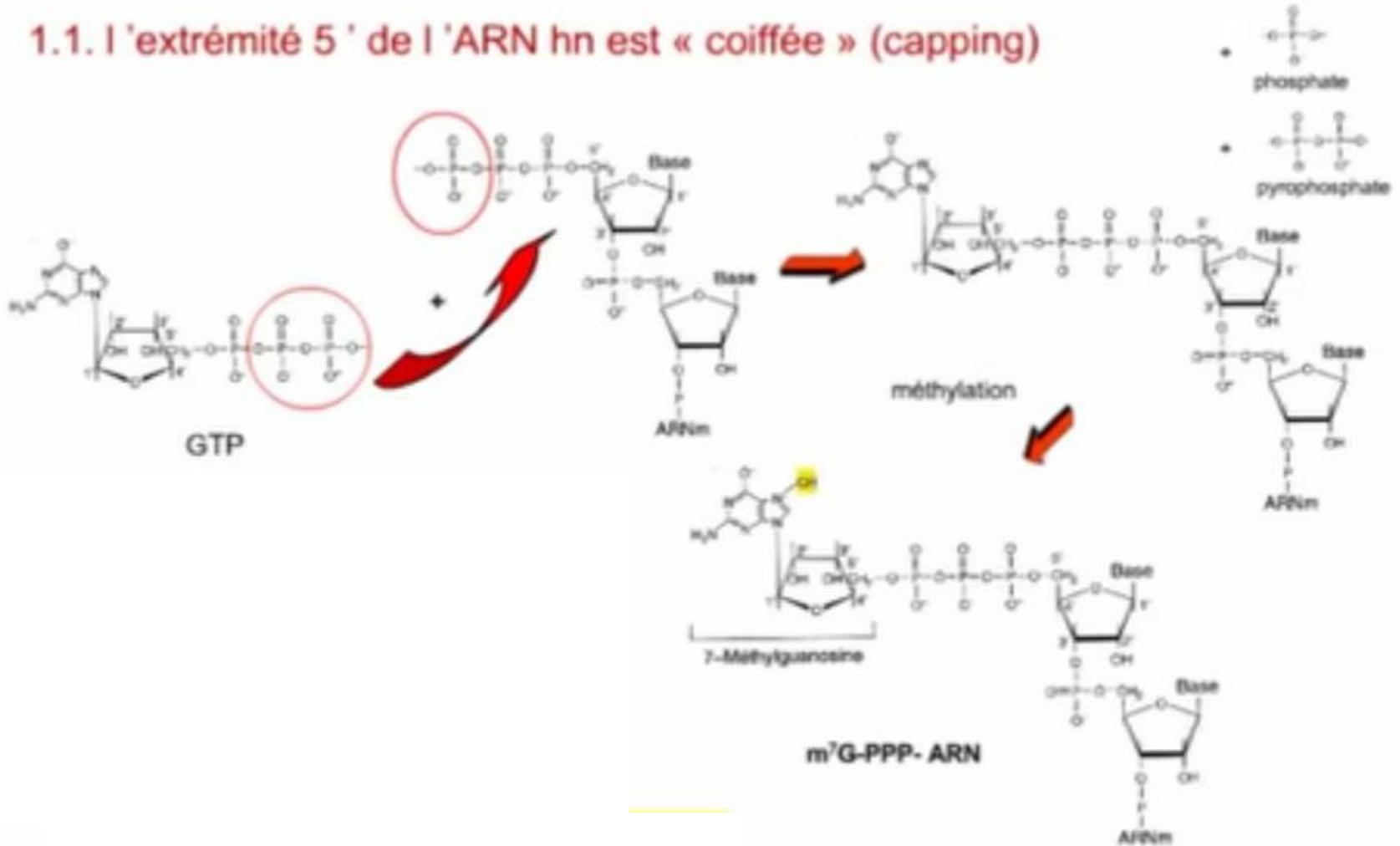
Important cours: ARNm : coiffés, épissés et polyadénylés.

1. Maturation des ARNm



Transcription Eucaryotes: modifications des ARNs

1.1. l'extrémité 5' de l'ARN hn est « coiffée » (capping)



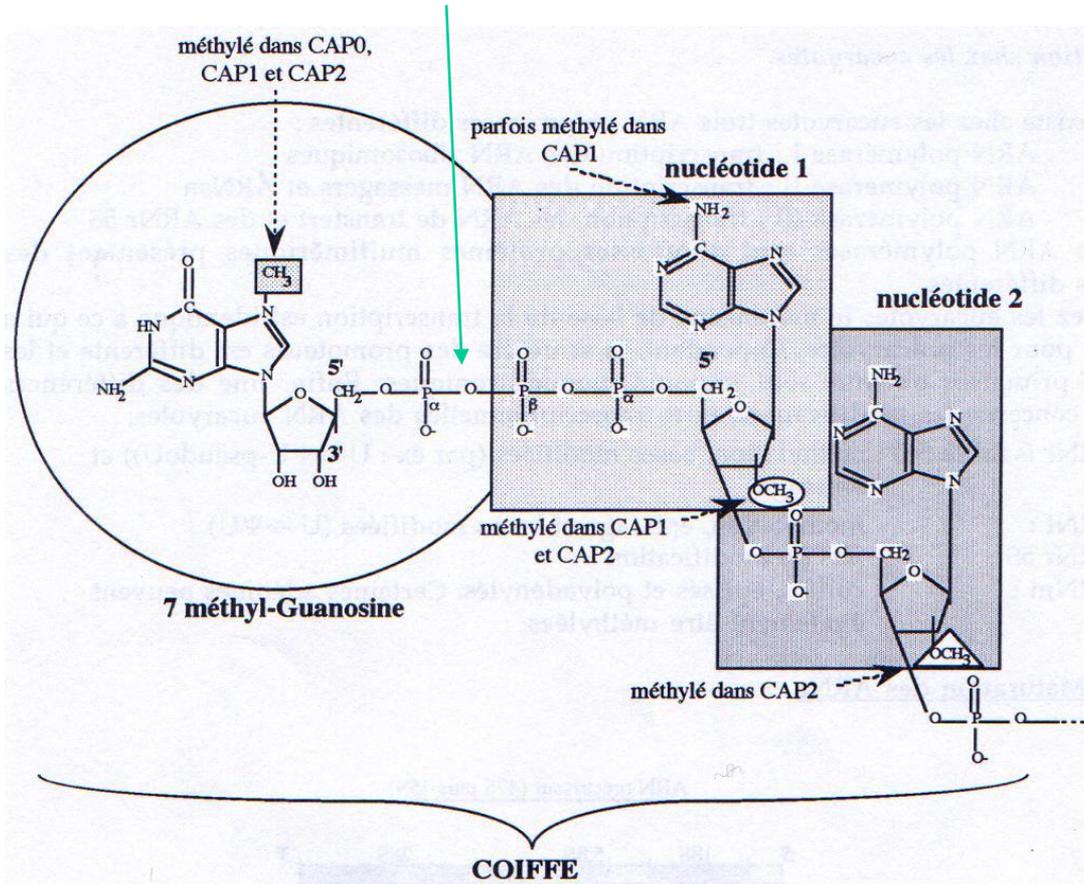
Rôle majeur de protection!!!

Transcription Eucaryotes: **modifications des ARNs**

B\ Capping.

Au cours de la transcription, lorsque les ARNs atteignent 20 à 30 nucléotides de longueur, une 7 méthyl-guanosine est ajoutée sur le premier nucléotide en 5', par une liaison phosphodiester 5'→5'.

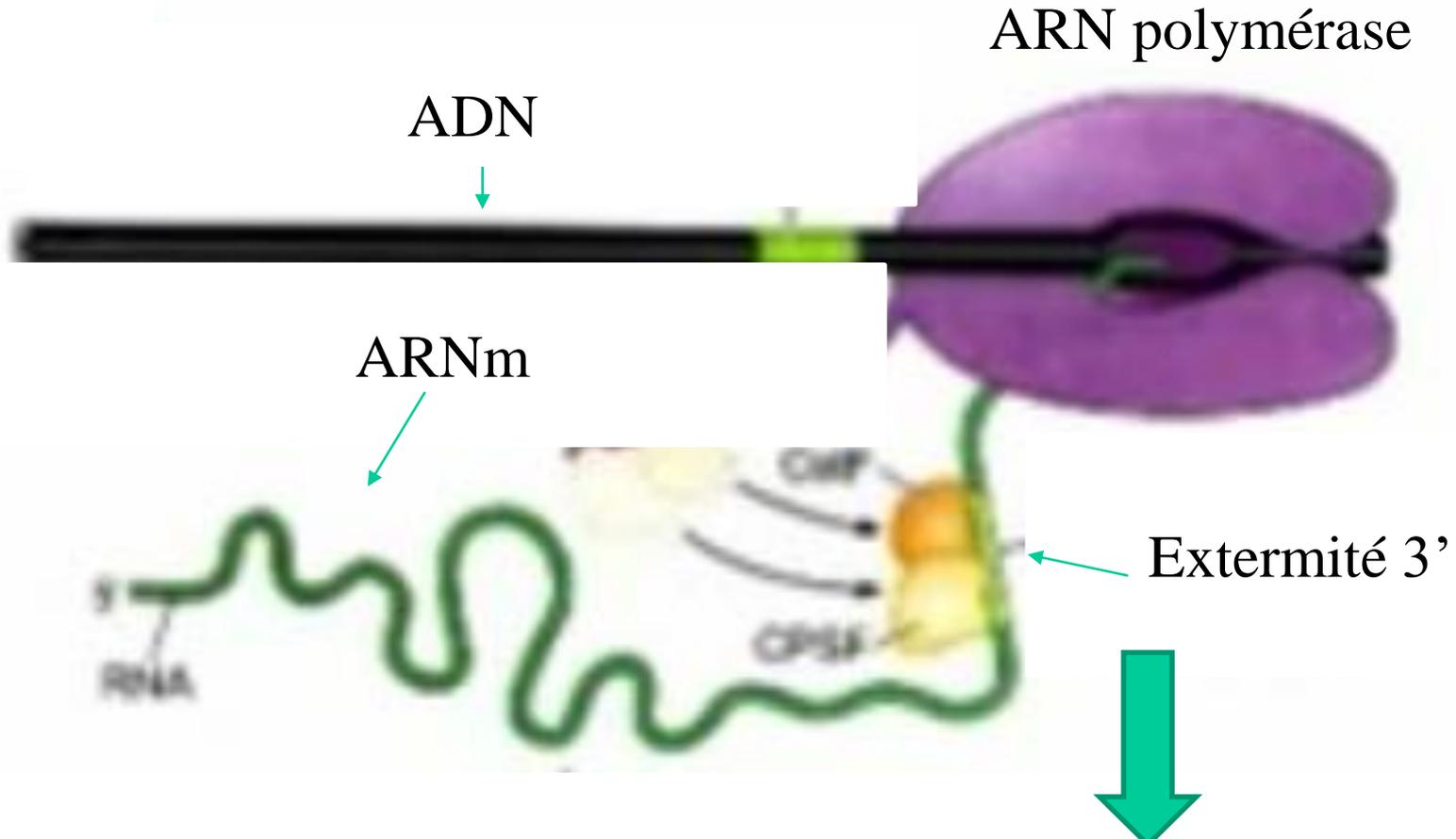
Seule liaison possible



Transcription Eucaryotes: **modifications des ARNs**

C\ Polyadénylation.

A la fin de la transcription, une extrémité poly A est rajoutée à l'extrémité 3' de l'ARNm



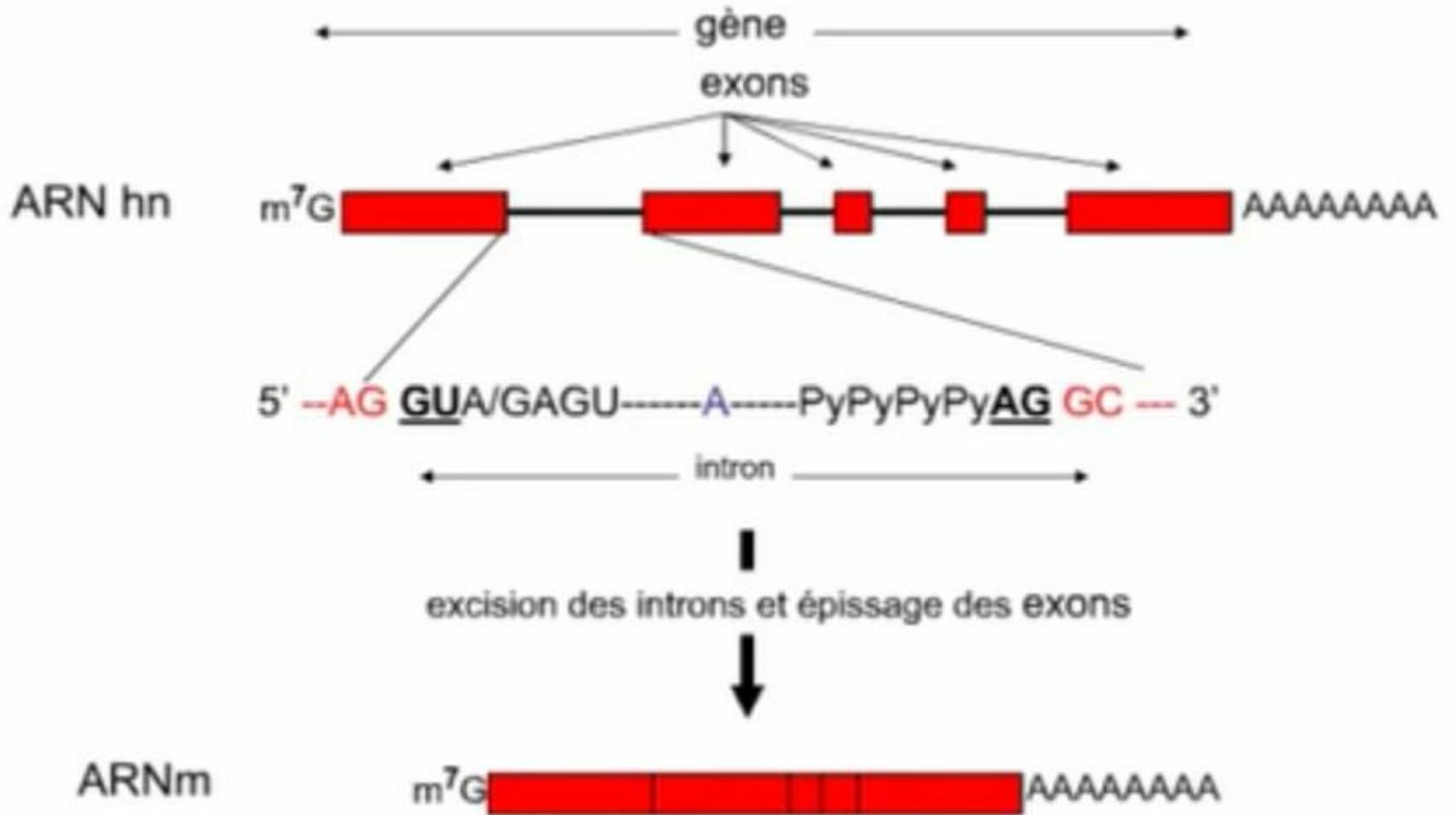
D\ Epissage.

A la fin de la transcription, alors que **le polyA** vient d'être rajouté, **les introns** vont être éliminés. Les introns font donc partie du transcrit primaire et sont absents de **l'ARN mature**.

Le mécanisme d'épissage se fait grâce à l'intervention de particules **ribonucléo-protéiques** appelées les **snRNP** (U1 à U6). Chacune de ces particules est formée d'un ARN et de plusieurs protéines. Un type d'épissage est décrit dans la figure ci dessous :

Bioinformatique!

Reconnaissance intron via motif

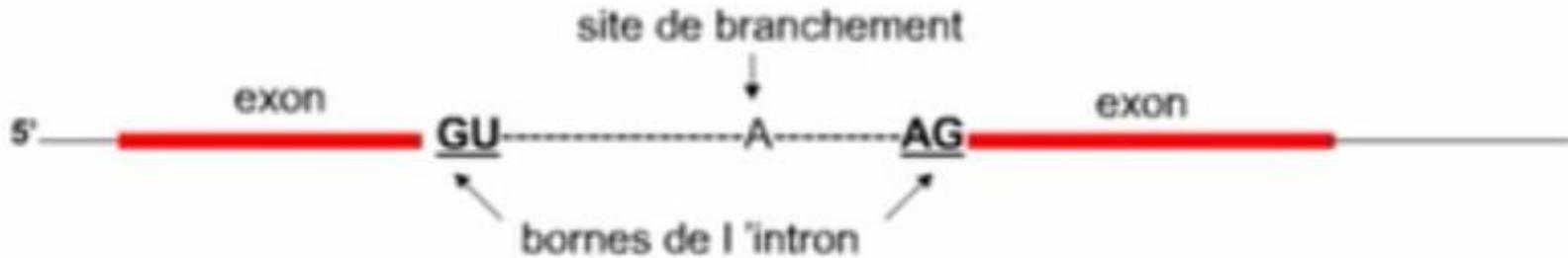


Transcription Eucaryotes: modifications des ARNs

Attention littératures????????

- ❖ L'épissage est réalisé par le **spliceosome** constitué de protéines associées à des snRNA : les **snRNP** (U1, U2, U4, U5, U6)

1 snRNP = 1 snRNA + 10-20 polypeptides

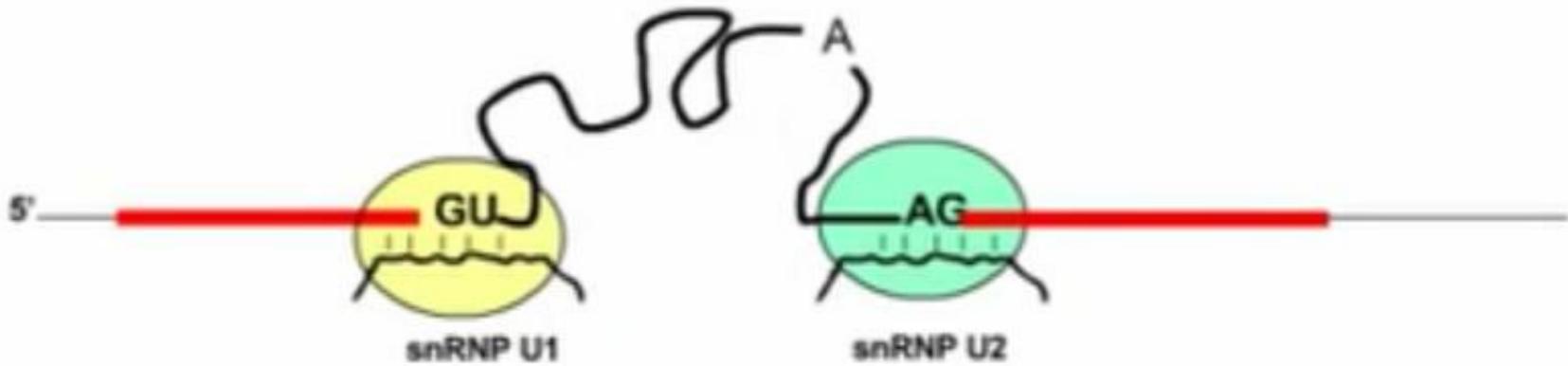


- Reconnaissance des bornes donneur et accepteur

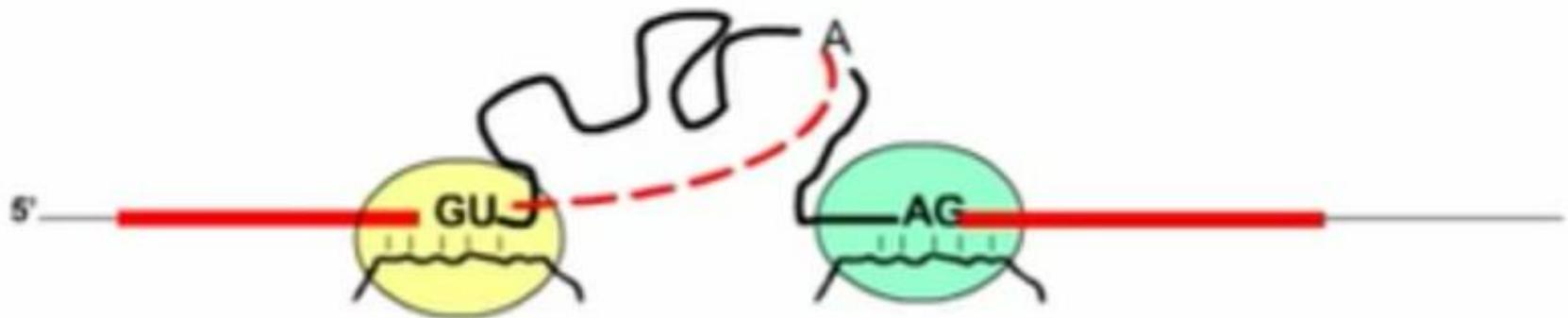


Transcription Eucaryotes: **modifications des ARNs**

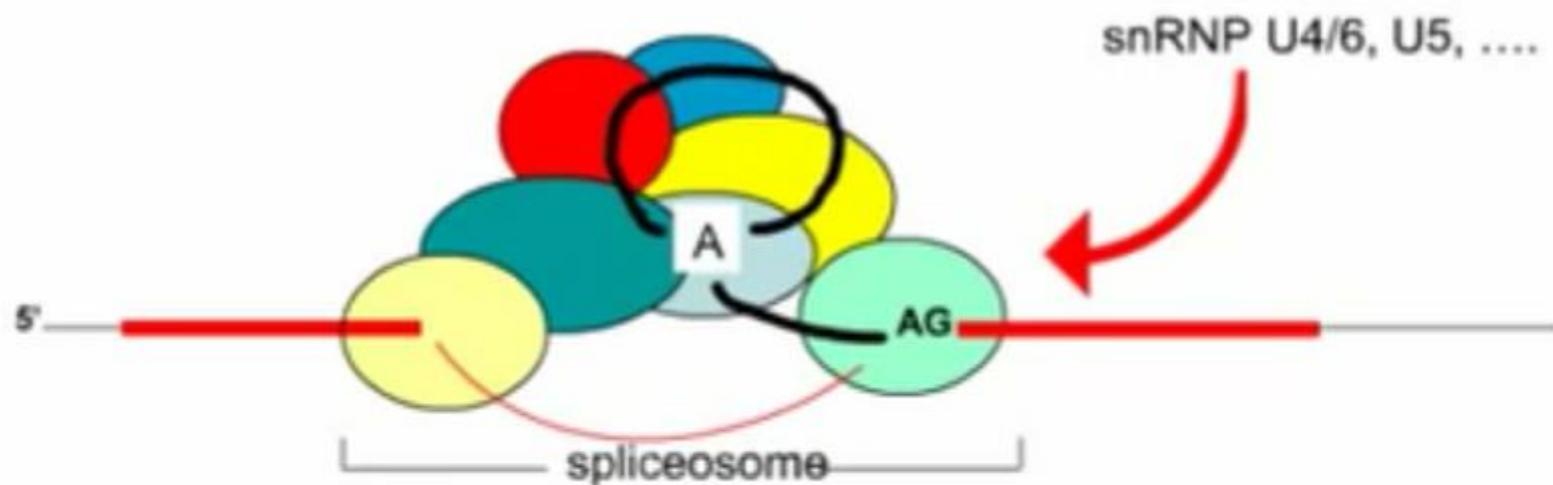
- Fixation des snRNP U1 et U2 sur les bornes



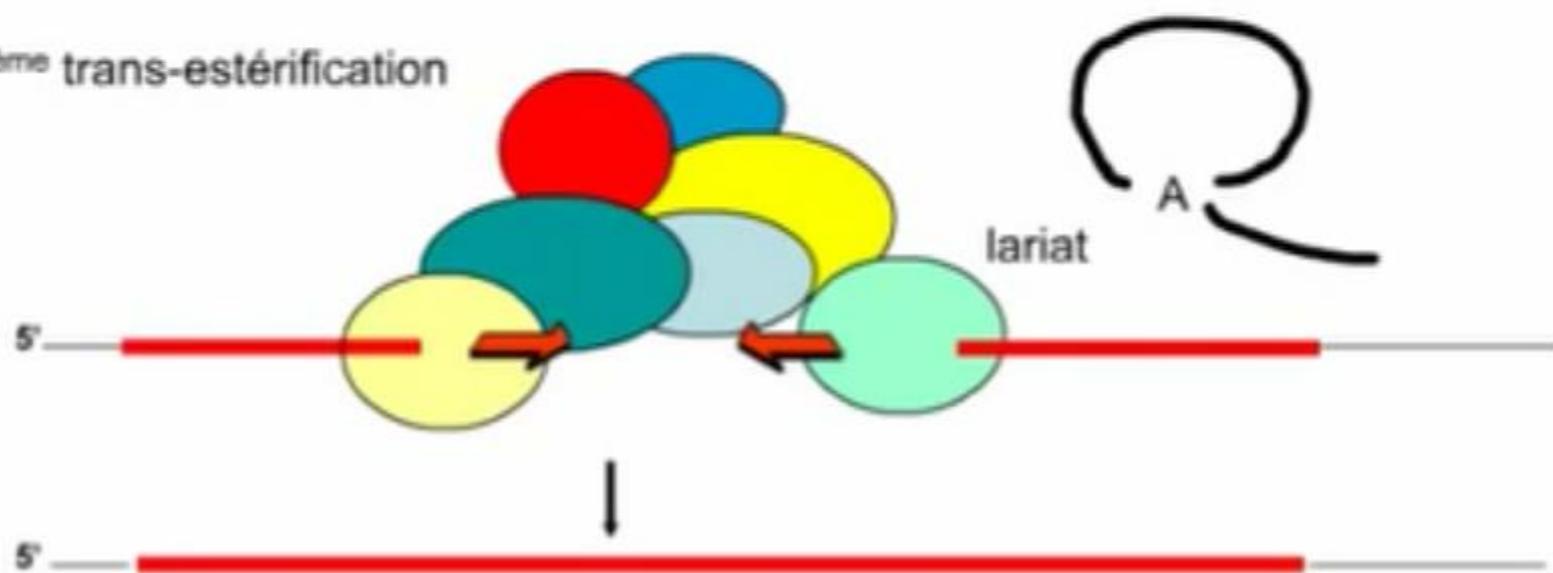
- 1^{ère} réaction de trans-estérification



○ Recrutement du spliceosome



○ 2^{ème} trans-estérification

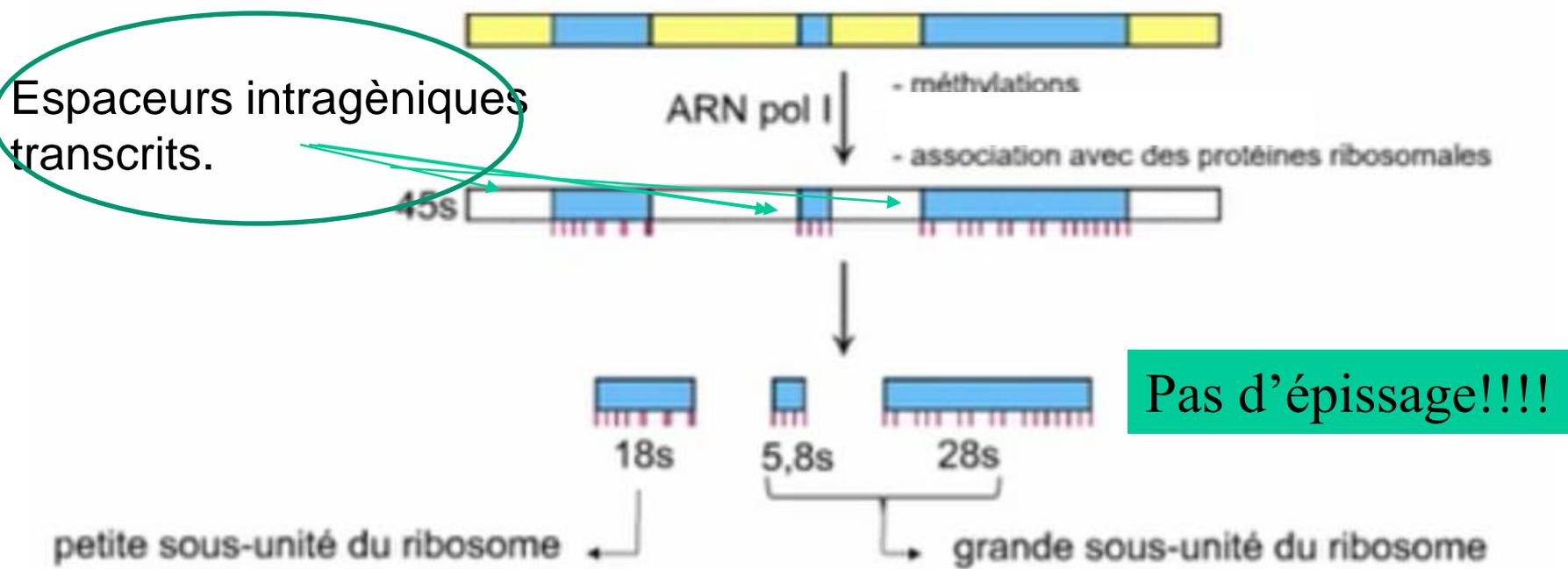


⊕ Les mutations affectant les sites d'épissage modifient la nature du transcrit et sont généralement la cause de maladies.

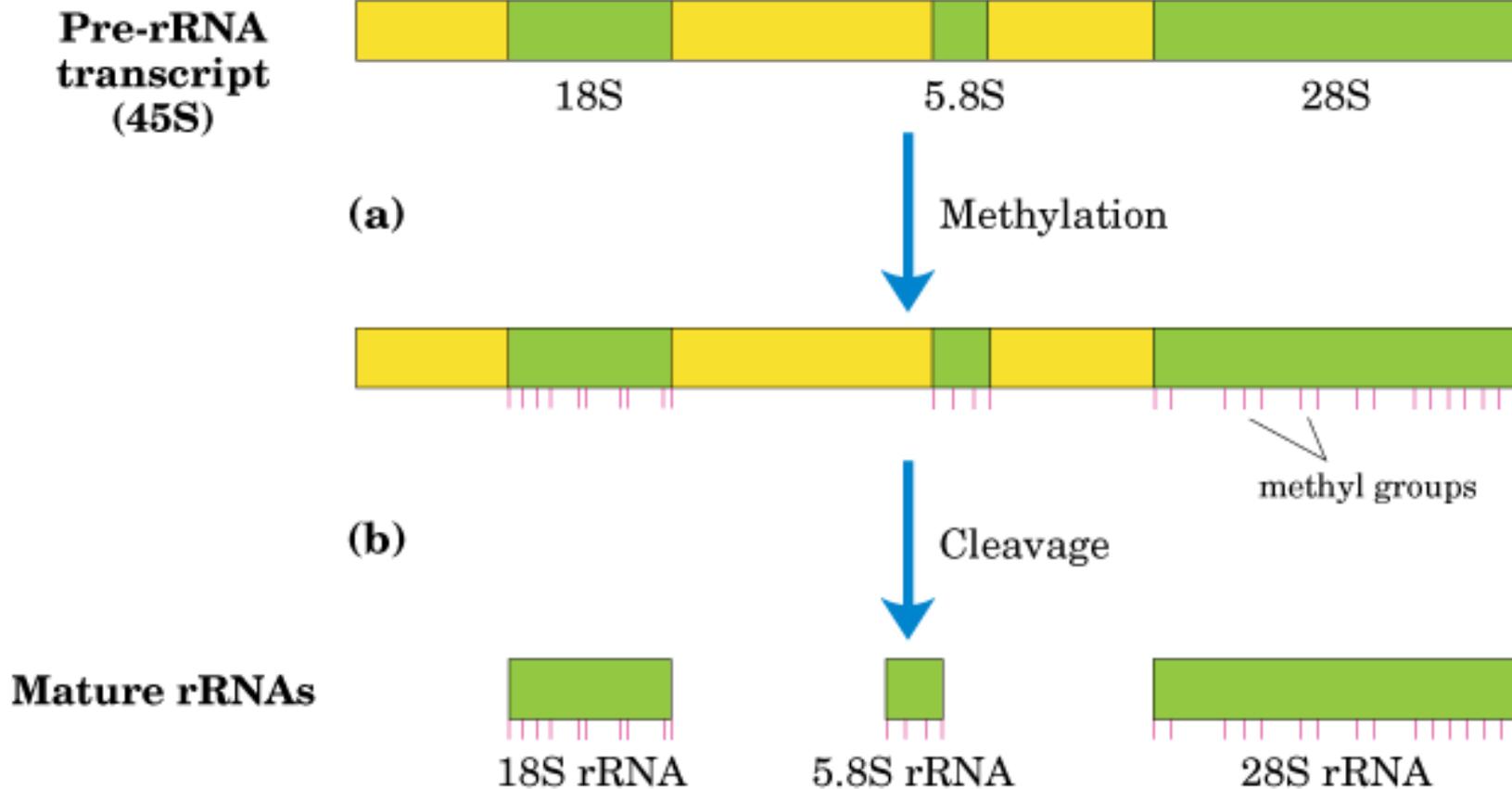
Transcription Eucaryotes: modifications des ARNr (Attention)

2. Maturation des ARNr

- ❖ les ARNr sont le produit de gènes multi-copies (28+18+5,8s et 5s)
- ❖ les ARNr eucaryotes 5,8s, 18s et 28s sont transcrits par l'ARN pol I
l'ARNr 5s est transcrit par l'ARN pol III
- ❖ les ARNr 5,8, 18 et 28s sont produits et maturés au niveau du nucléole
- ❖ présence d'un 5' NTP, absence de polyadénylation : protection des extrémités par la formation de structures II et une association avec des protéines
- ❖ absence d'épissage



Transcription Eucaryotes: modifications des ARNr (Attention)



Pas d'épissage!!!

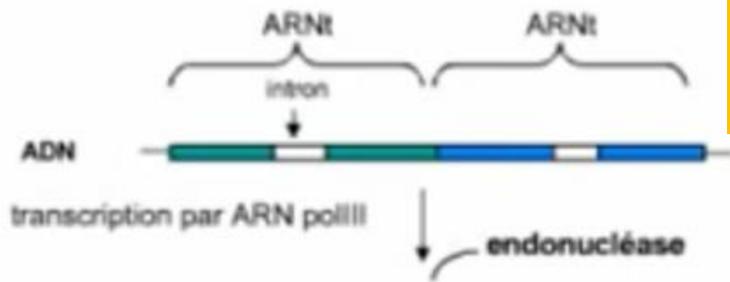
Ces modifications sont guidées par **des snoRNP (ribonucléoprotéines)**, qui sont des complexes de protéines et d'ARN. Les ARN qui entrent dans leur composition sont les petits ARNsno, qui agissent en participant à la maturation des ARNr. Ce sont donc **des guides de méthylation et d'isomérisation**

Rappel rôles des snoRNA

- Small nucleolar RNA (snoRNA) maturation des rRNA (methylation+ autres non encore confirmées) des pre-rRNA..

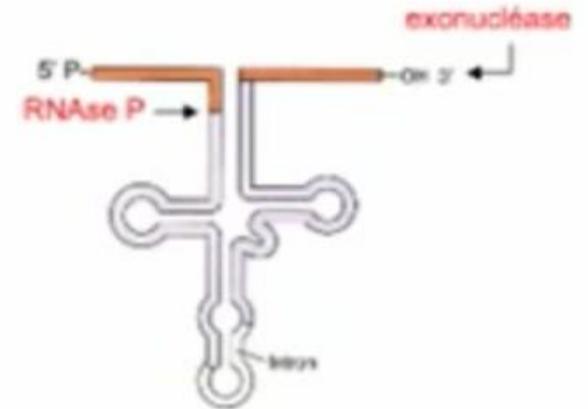
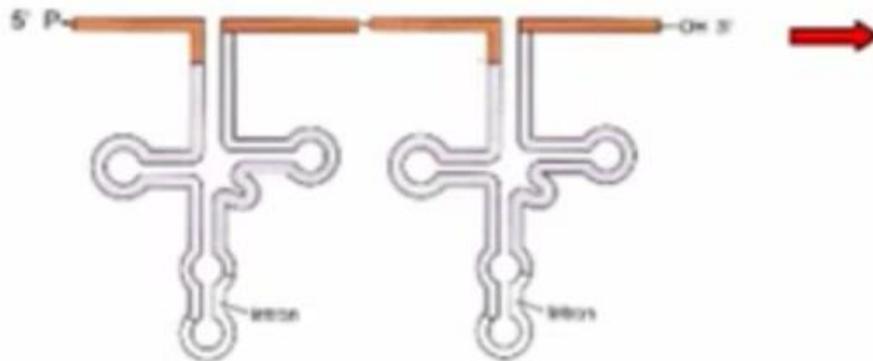
Transcription Eucaryotes: modifications des ARNt (Attention)

3. Maturation des ARNt

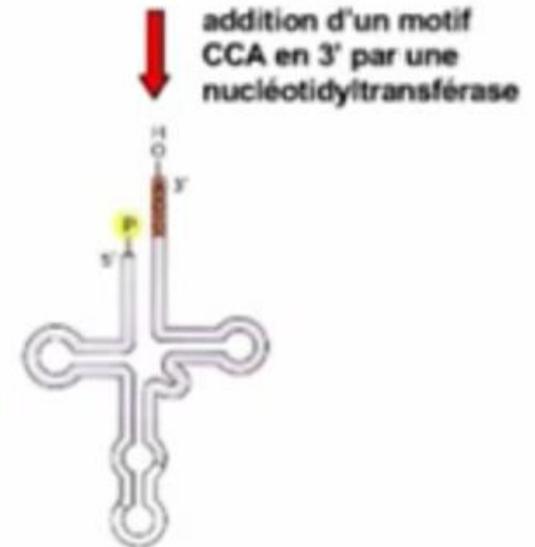
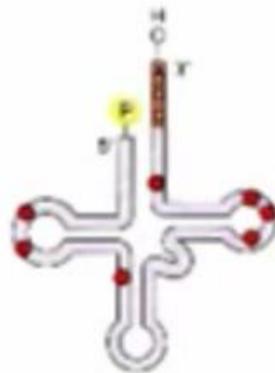


ARNt en groupe!!!!

Ok: épissage!!!!



modification des bases
élimination de l'intron



4 enzymes:

-Endo

-Exo

-RNAaseP

NucléotidylTransférase

Voir chapitre
Traduction

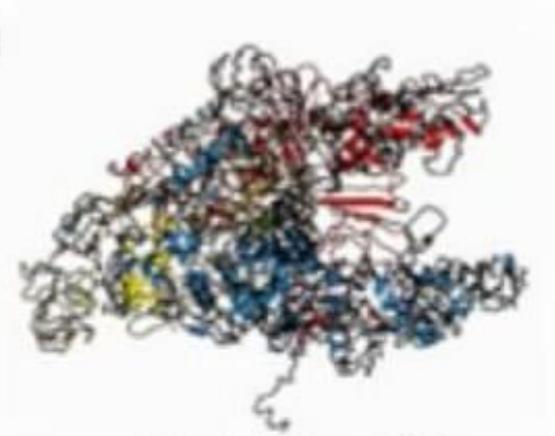
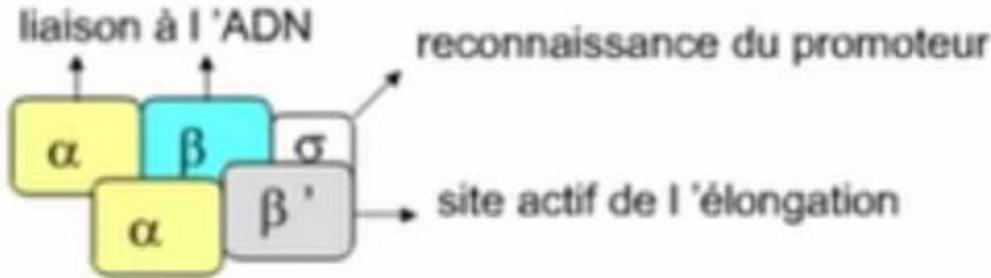
La notion de gène : Quelques exceptions (A retenir)

- Eukaryotes
 - The occurrence of introns varies.
 - The majority of genes in vertebrates contain introns.
 - **genes encoding histones do not have introns.**
 - The yeast have many genes that lack introns
- Prokaryotes
 - Most prokaryotes do not have introns.
 - **A few bacteria and archaeobacteria have introns.**

(A retenir)

❖ L'ARN polymérase est un complexe protéique

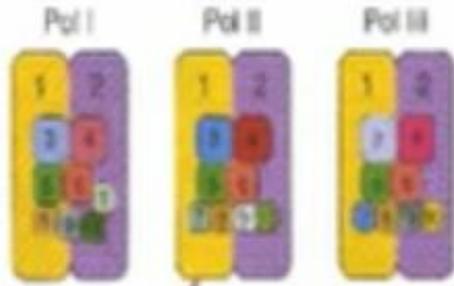
● ARN polymérase des bactéries → ARNm, ARN



Structure d'une ARN polymérase procaryote

● ARN polymérases des eucaryotes (5 à 10 su)

ARN pol I (nucléole)	→	ARNr
ARN pol II (nucléoplasme)	→	ARNm
ARN pol III (nucléoplasme)	→	ARNt



répétitions du motif d'acide-aminés Y-S-P-T-P-S

La régulation de l'expression

I. Régulation génique des procaryotes

1. Les opérons  Deux types: cours
2. Les régulons, les ribo-régulateurs

II. Régulation génique des eucaryotes

1. Régulation chromatinienne  Epigénétique: cours
2. Régulation transcriptionnelle
3. Régulation post transcriptionnelle
4. Régulation traductionnelle
5. Régulation post-traductionnelle

La régulation **catabolique et anabolique**
de la transcription chez les procaryotes

La régulation **catabolique** de la transcription : chez les procaryotes

- L'opéron Lactose (GAL-GLU) :
 - Séquence d'ADN contenant :

Gènes lac Z, lac Y et lac A codant pour enzymes nécessaires à l'utilisation du lactose par la bactérie (**gènes de structure**)
Un promoteur unique pour les trois gènes (ARN polycystronique)
Séquence opérateur = élément de contrôle de la transcription
Gène régulateur : lac I codant pour le répresseur

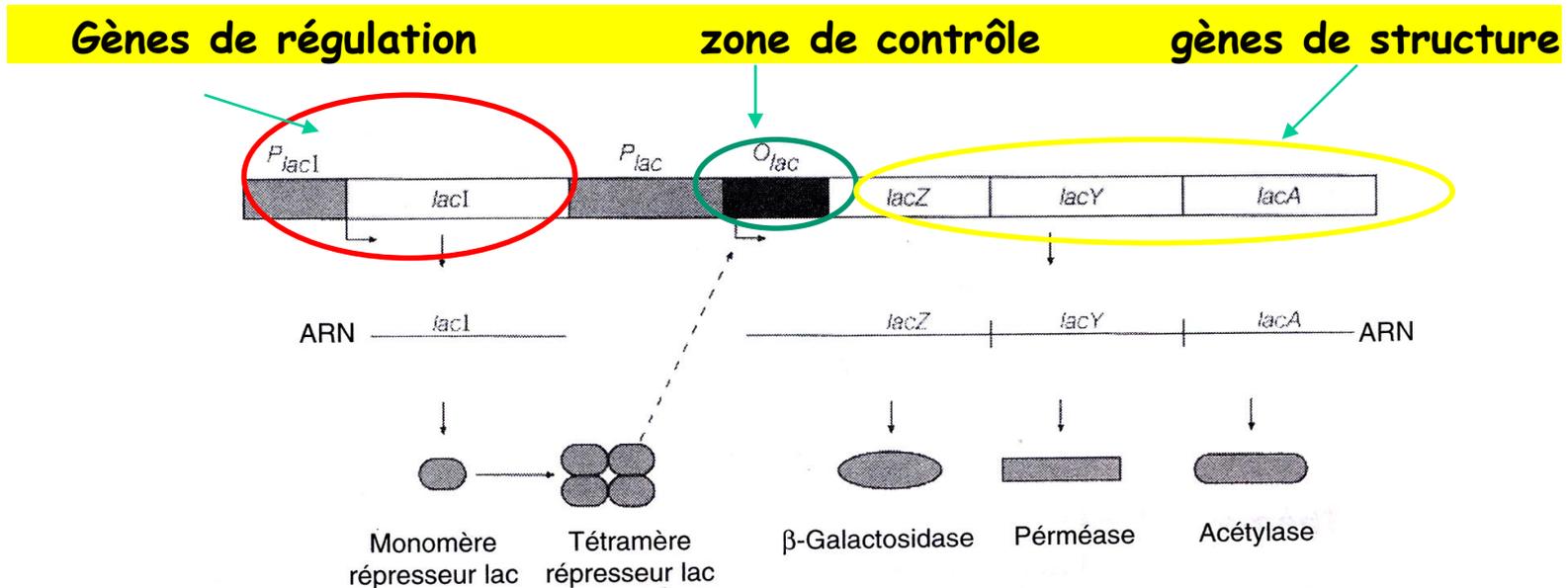


Fig. 1. Structure de l'opéron du lactose.

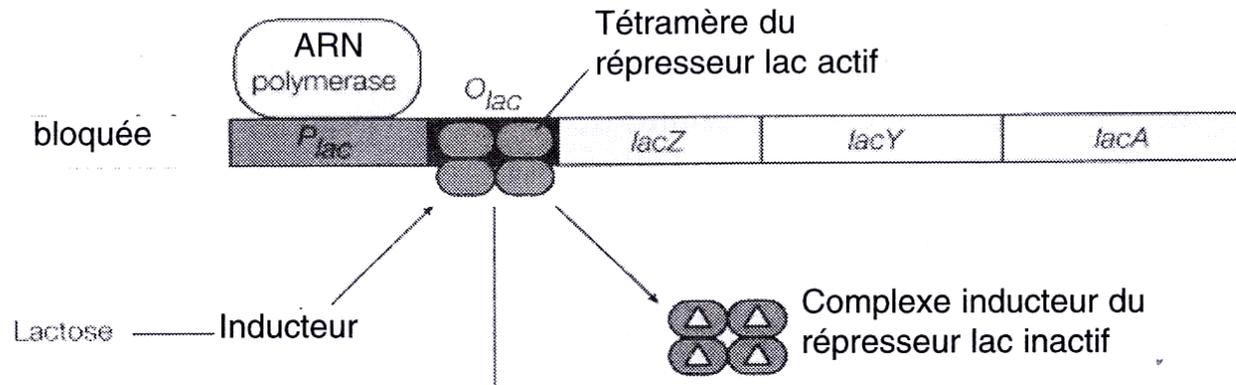
La régulation **catabolique** de la transcription : chez les procaryotes

➤ L'opéron Lactose :

- E. coli utilise le lactose quand il est la seule source de carbone disponible
- Fonctionnement :
Inducteur = lactose, allolactose et IPTG (isopropylthiogalactopyranoside)

Absence d'inducteur :

Le promoteur de lac I permet la transcription du gène lac I, donc la synthèse du répresseur (lac)
Formation de tétramère lac
Fixation du tétramère lac sur la région opératrice O lac
blocage de la transcription des gènes de structure



La régulation **catabolique** de la transcription : chez les procaryotes

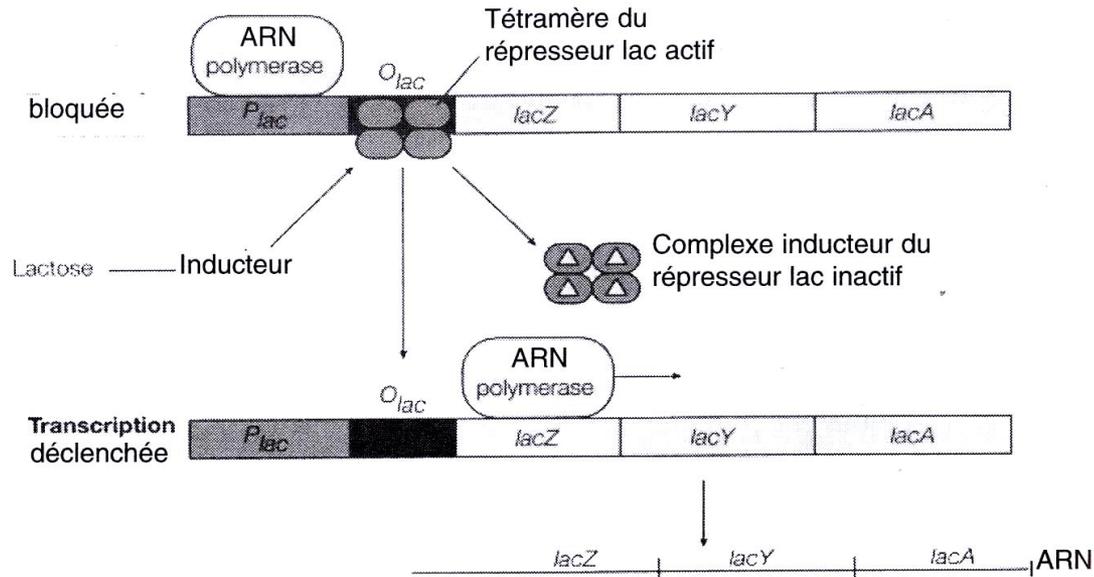
➤ L'opéron Lactose :

➤ **Présence d'inducteur :**

Inducteur se fixe sur le tétramère lac

Changement de conformation et perte de l'affinité pour O_{lac}

Transcription des gènes de structure ok

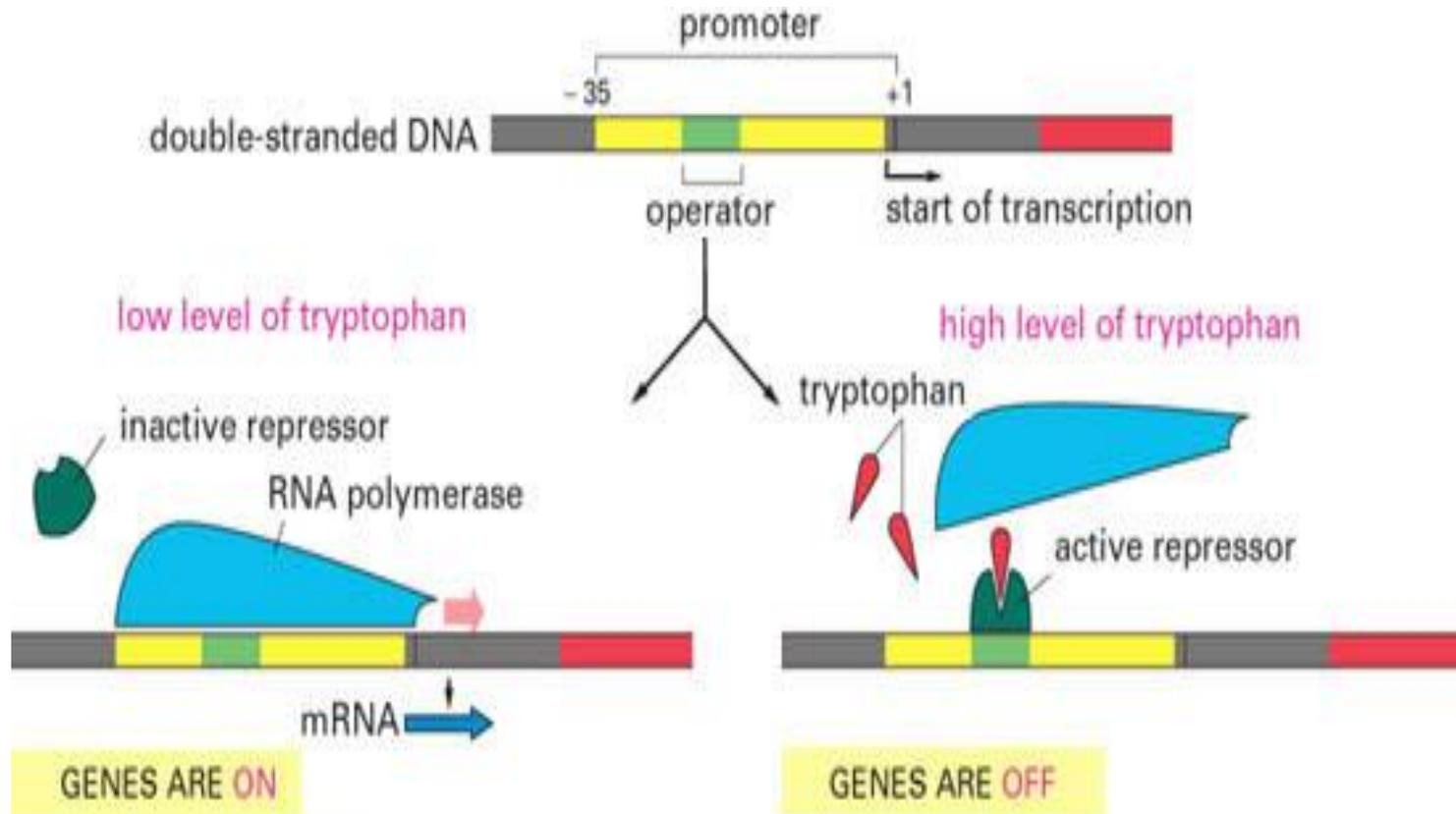


➤ **Inducteur épuisé :**

Tétramère lac se fixe sur O_{lac}

Transcription bloquée

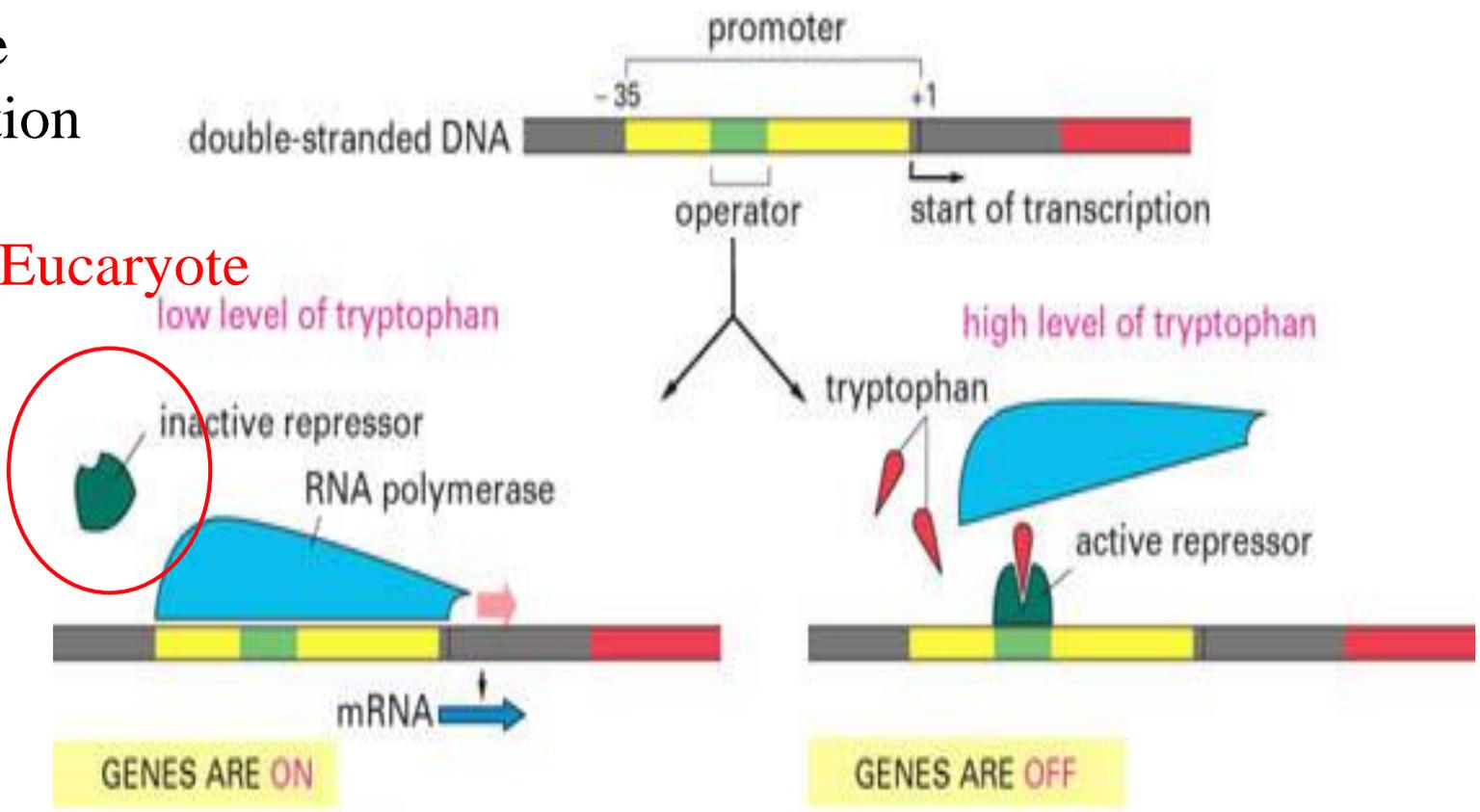
La régulation **anabolique** de la transcription : chez les procaryotes



La régulation **anabolique** de la transcription : chez les procaryotes

Facteur de
Transcription
???

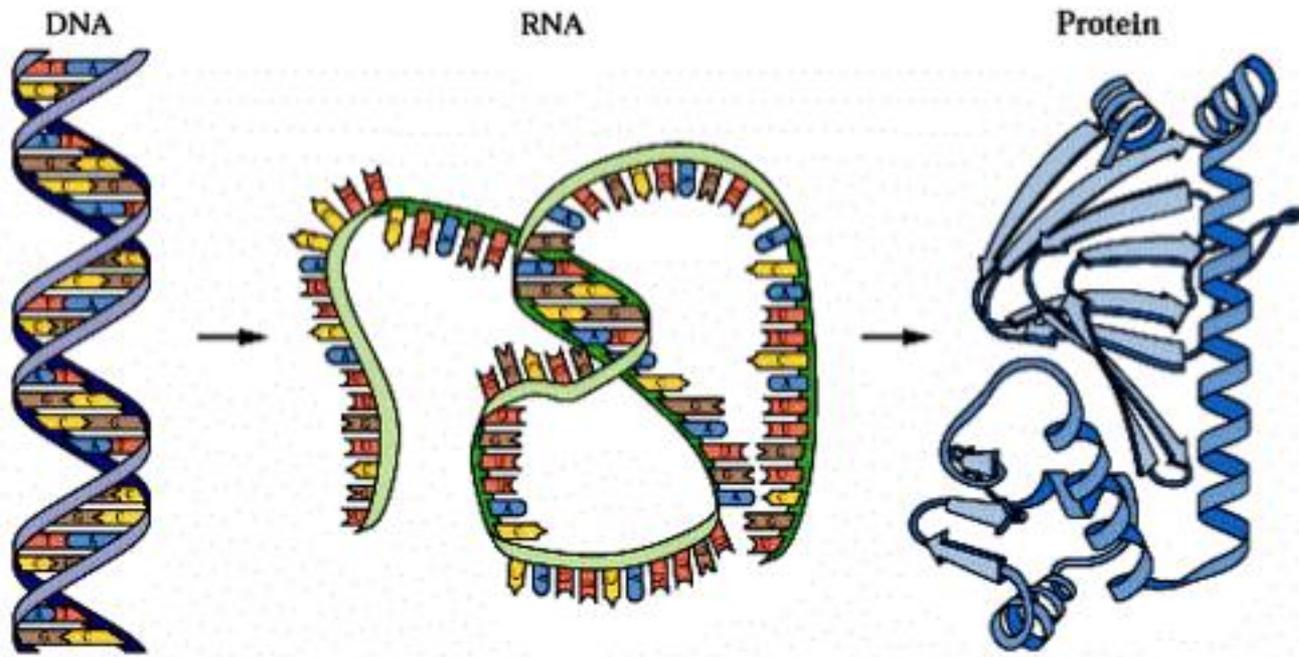
Attention Eucaryote



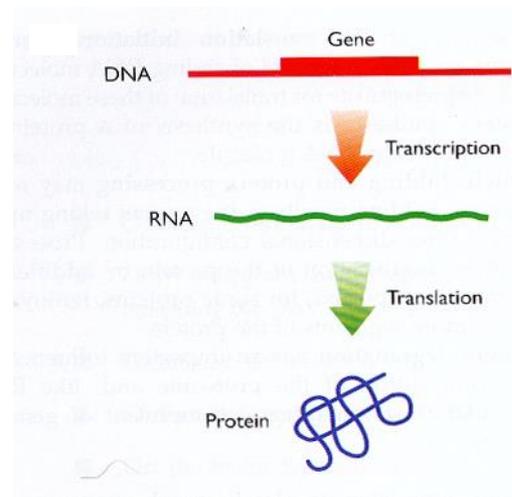
Résumé : Le dogme central de la biologie moléculaire

Au niveau des molécules

ADN \longrightarrow ARN \longrightarrow Protéine
Transcription Traduction



En 1964



En 2000

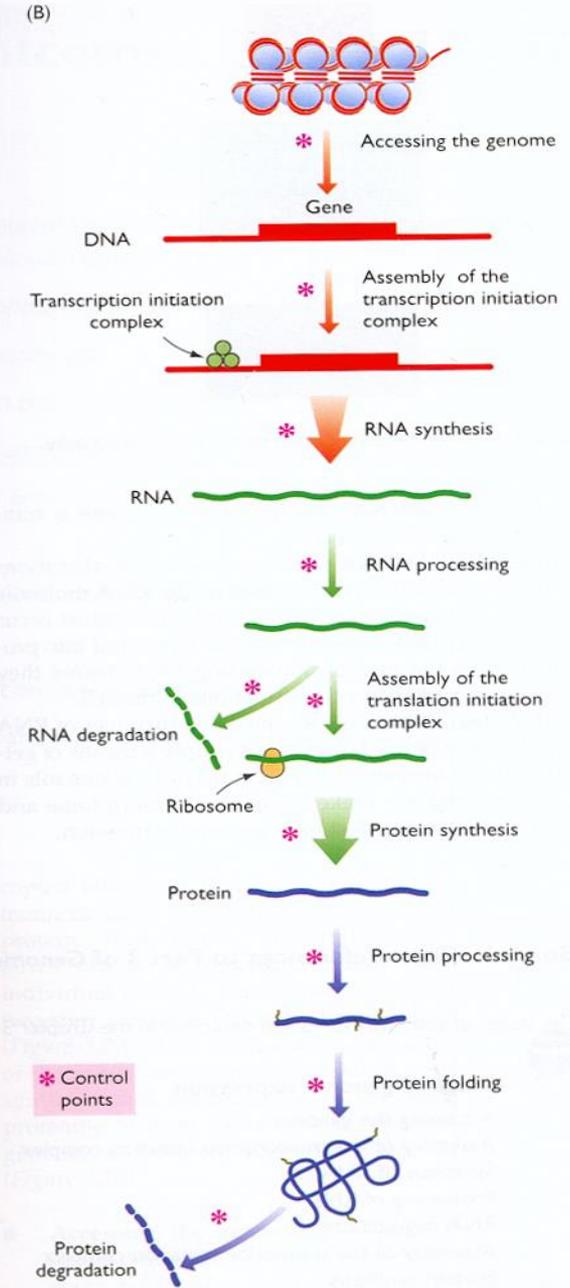
Transcription

Traduction



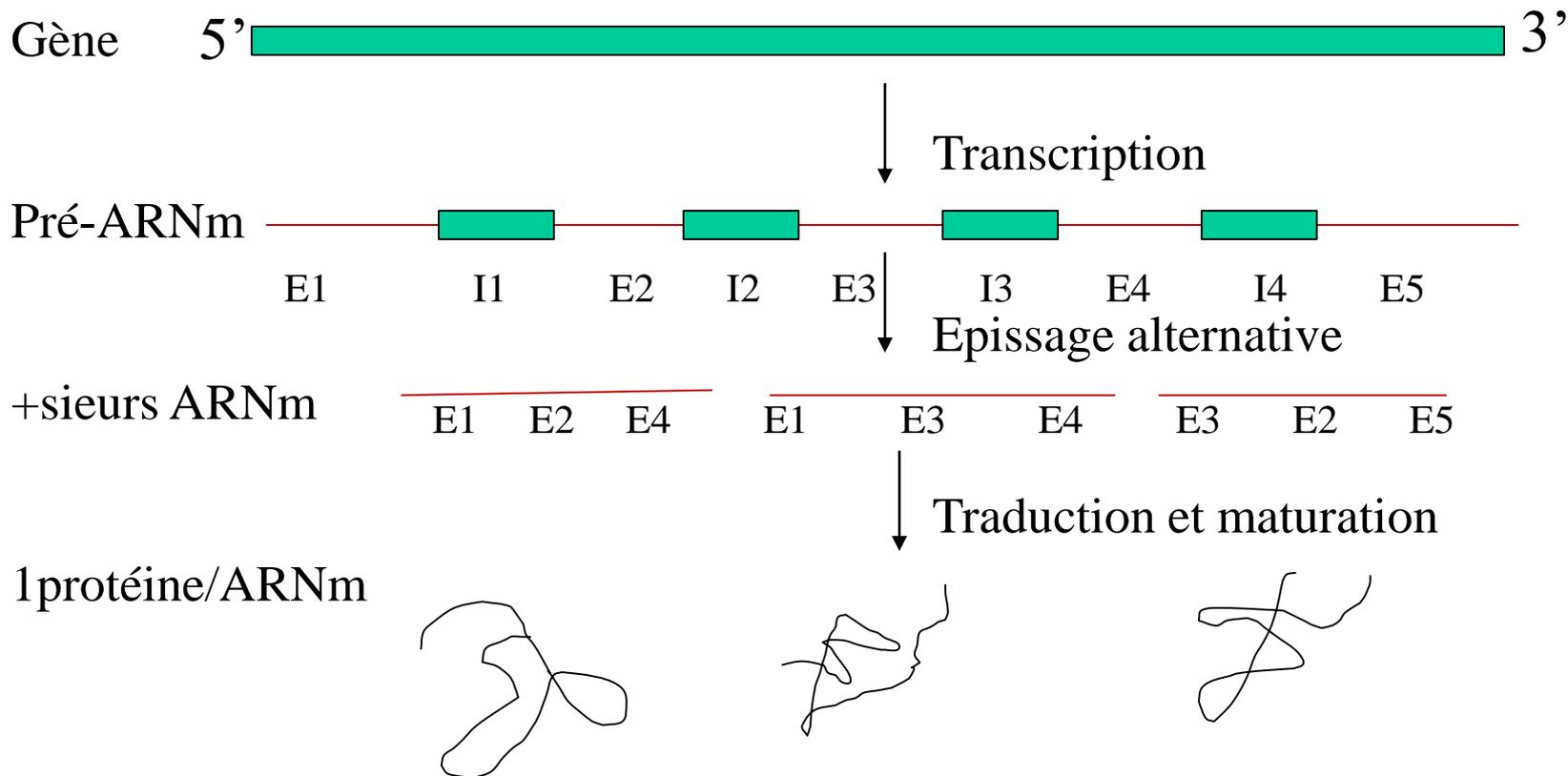
2008/ PLEIOGENIE?
Et 2012? Et 2020?

(d'après Brown, 2002, in *genomes*)

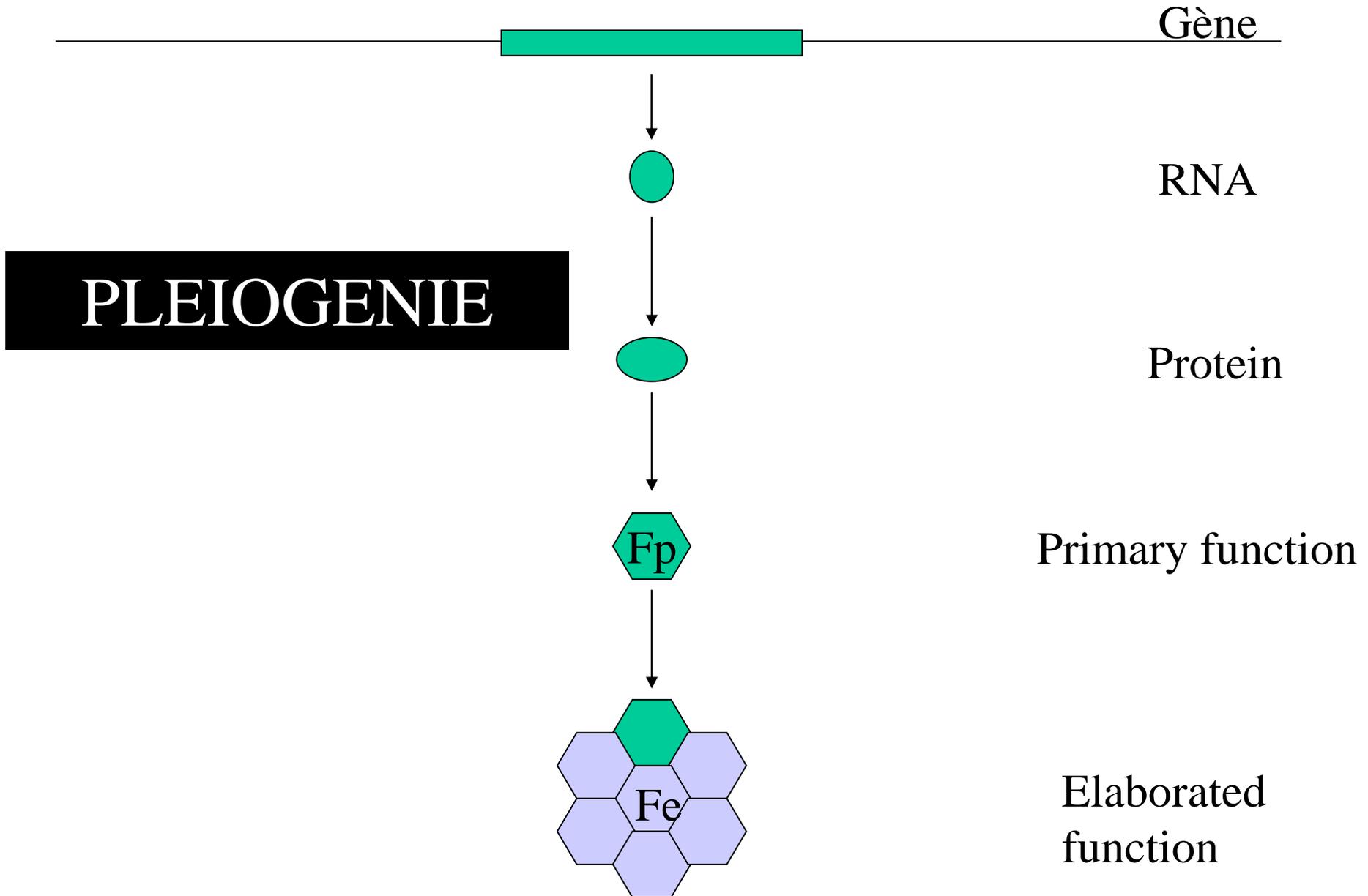


Résumé : Le dogme central de la biologie moléculaire

EPISSAGE ELTERNATIF



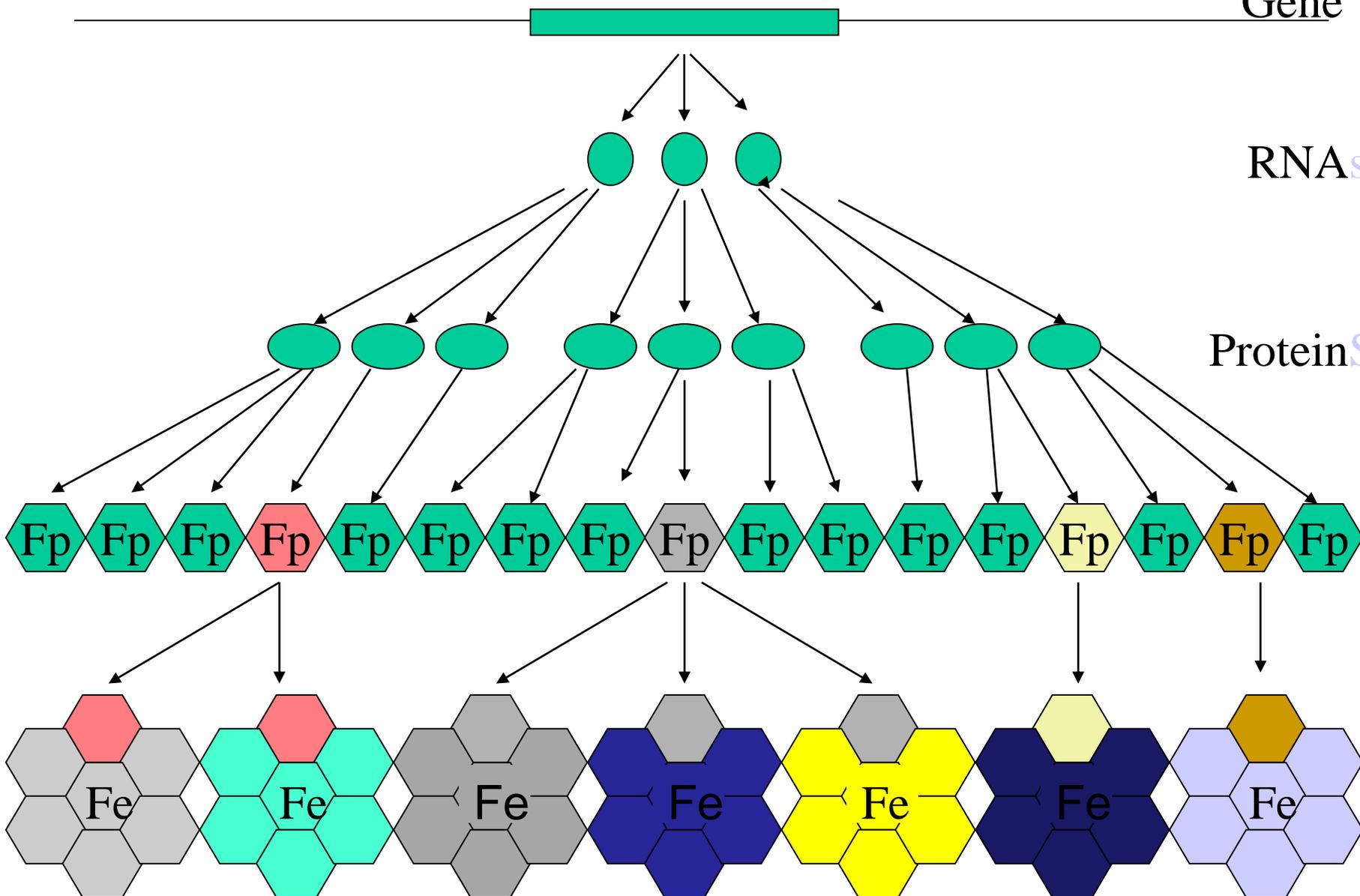
Résumé : Le dogme central de la biologie moléculaire

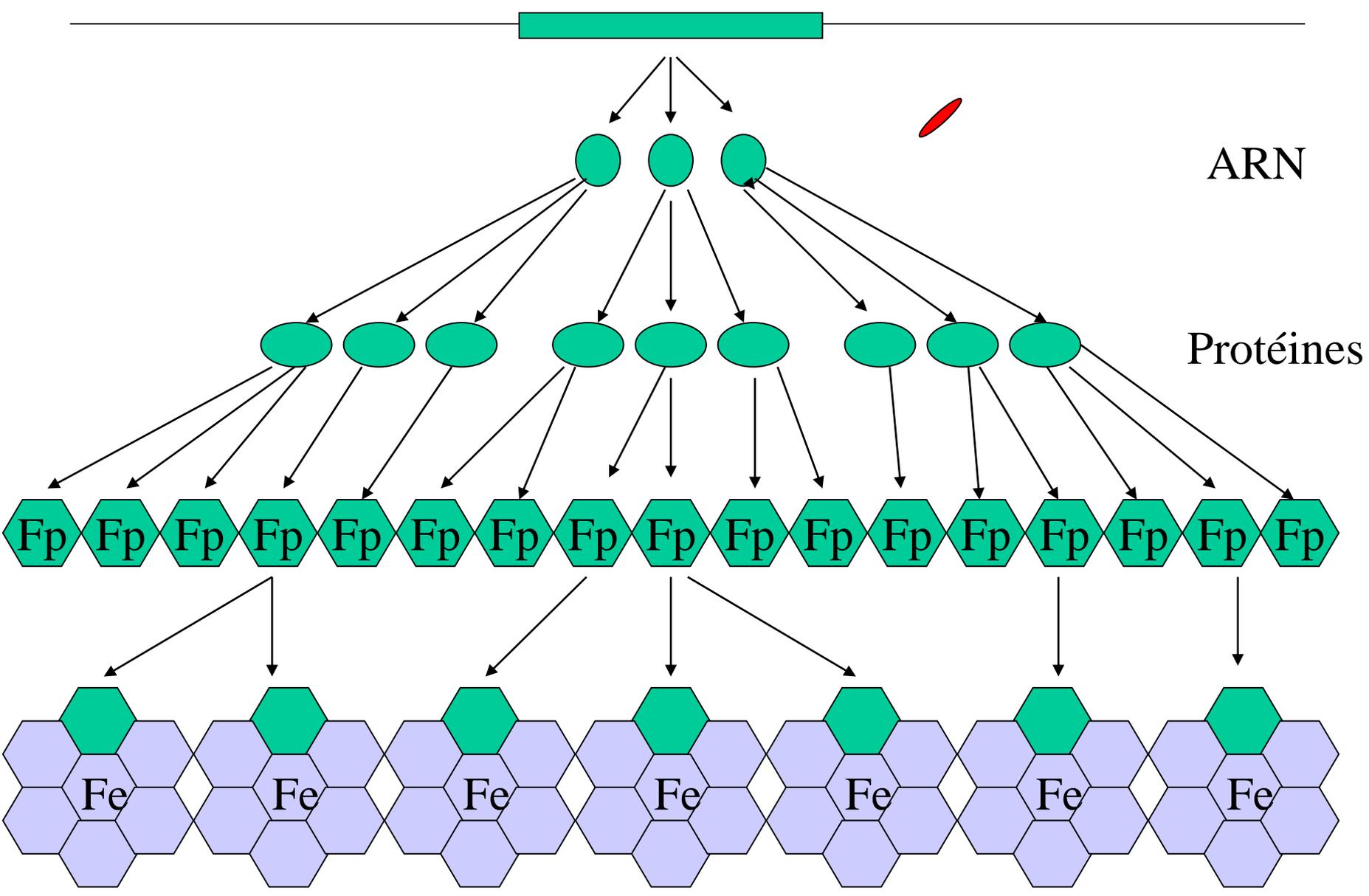


Gene

RNAs

ProteinS



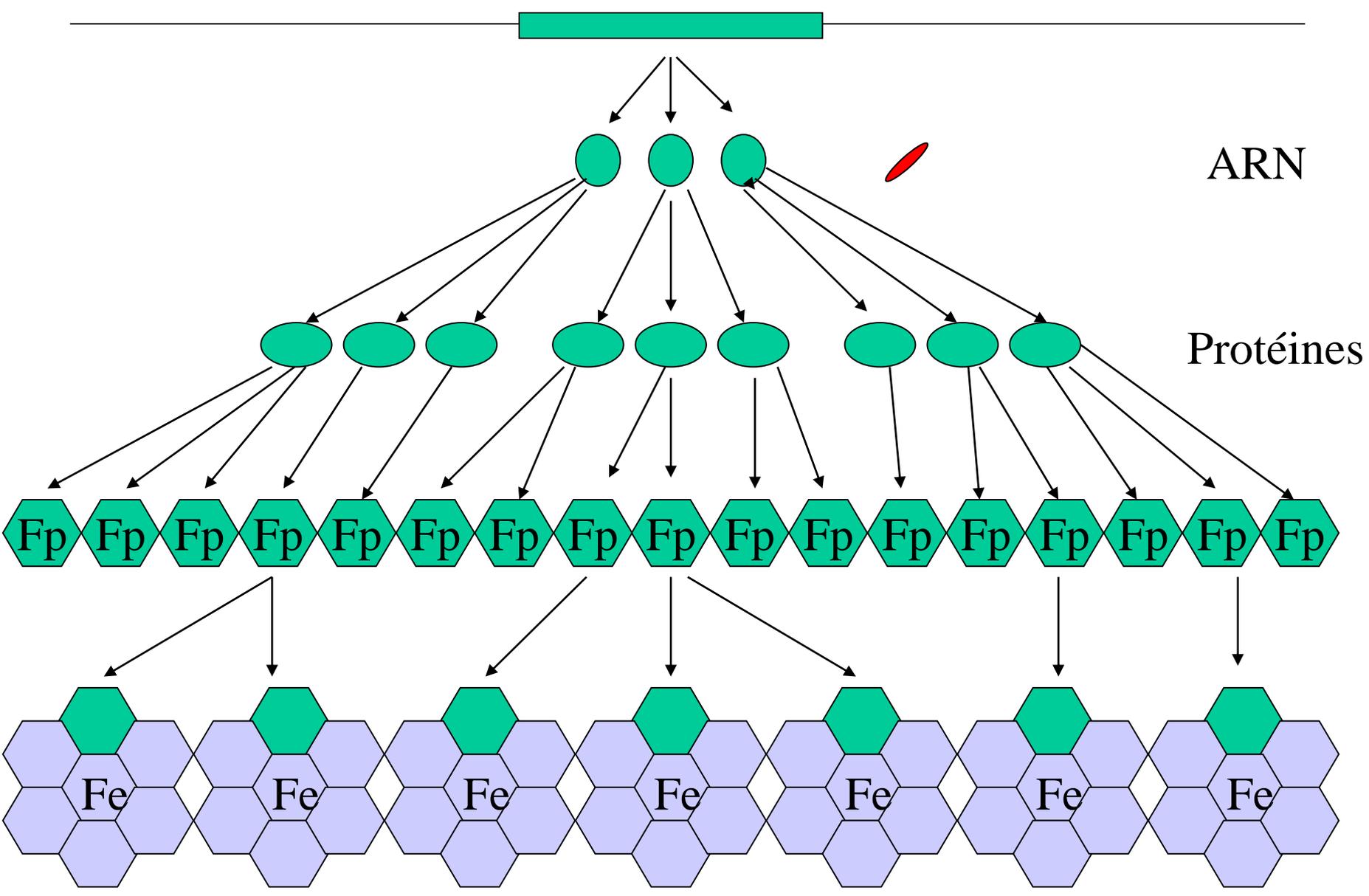


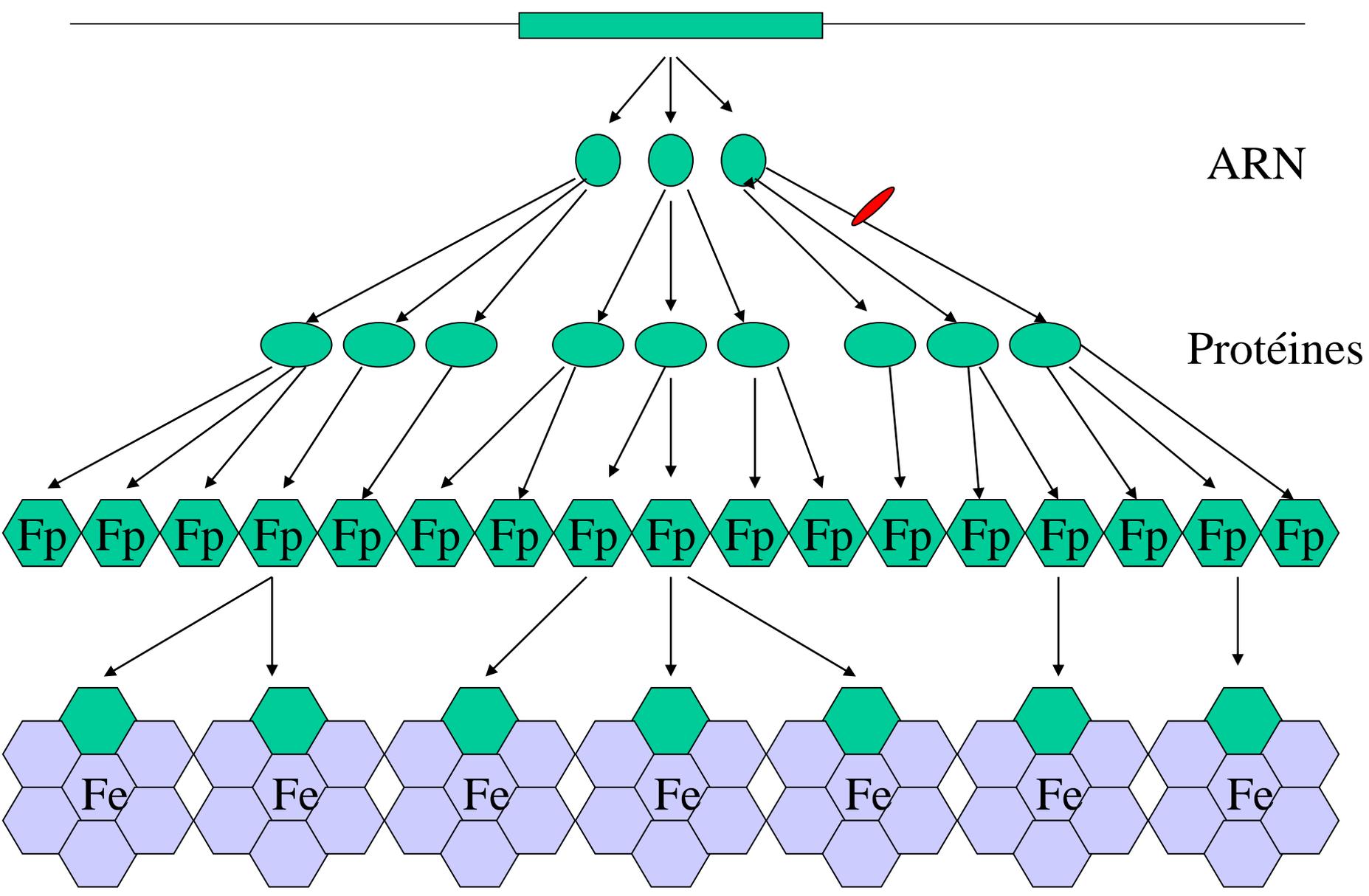
ARN

Protéines

Fp Fp

Fe Fe Fe Fe Fe Fe Fe



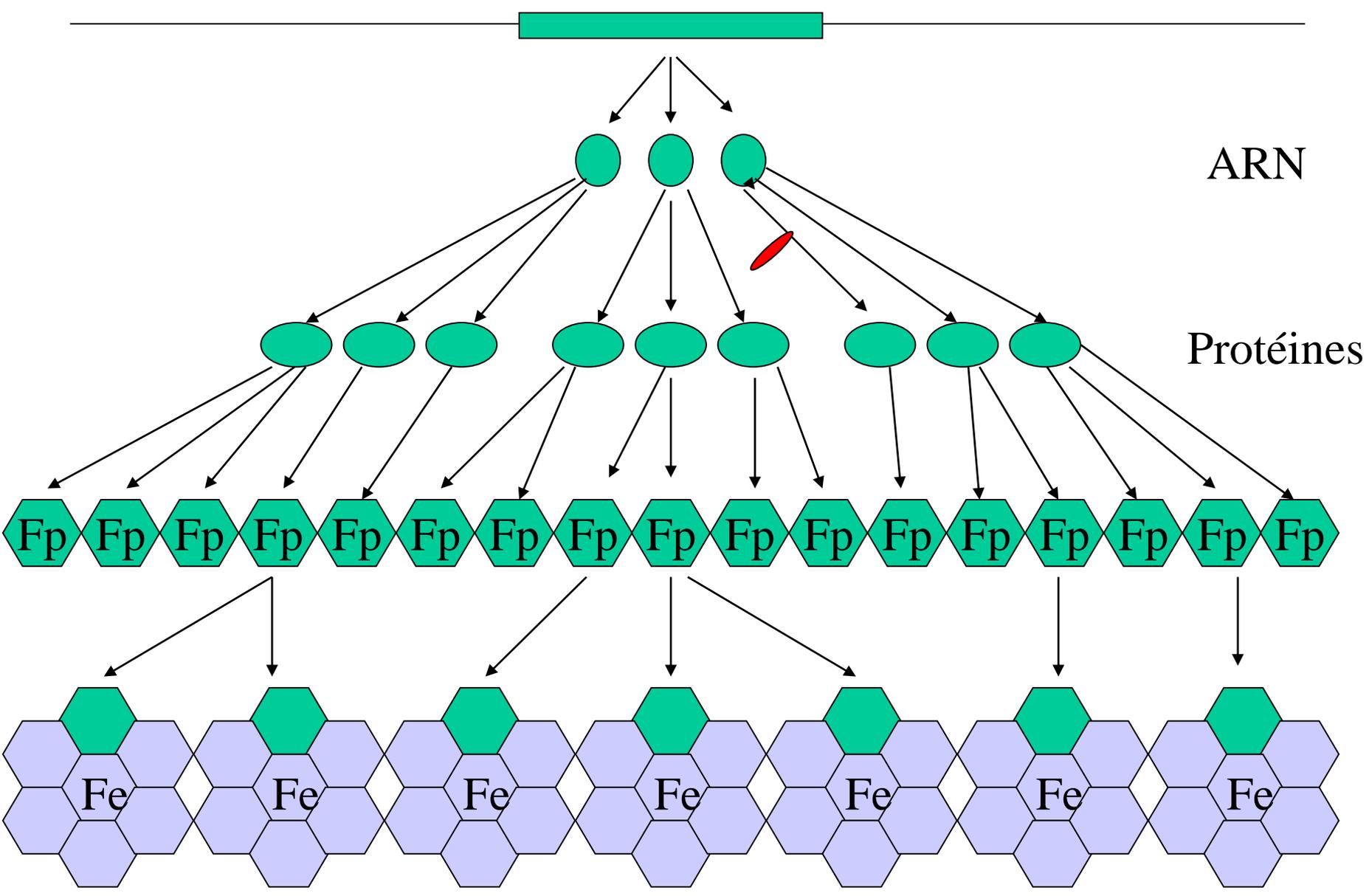


ARN

Protéines

Fp Fp

Fe Fe Fe Fe Fe Fe Fe

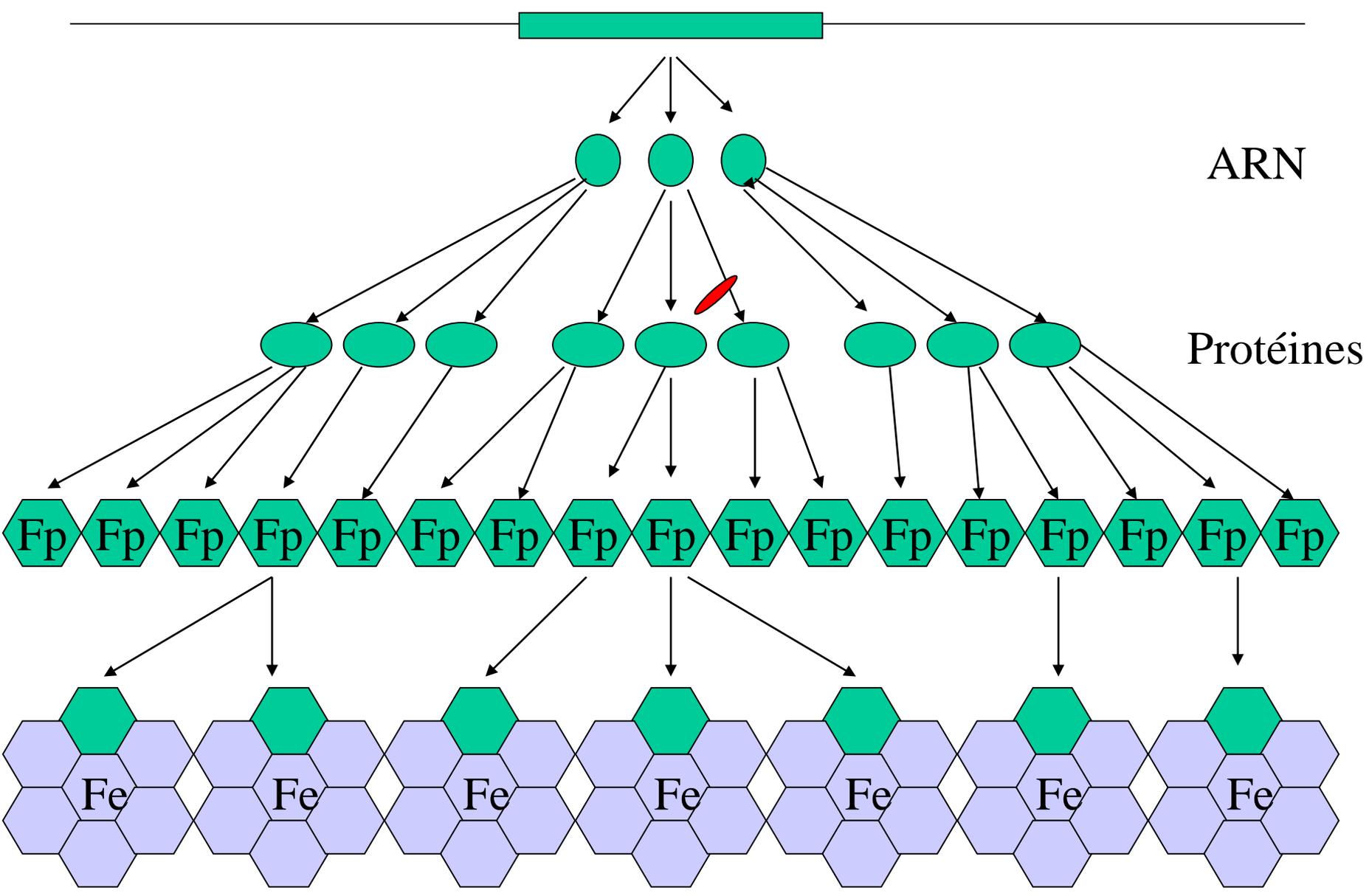


ARN

Protéines

Fp Fp

Fe Fe Fe Fe Fe Fe Fe

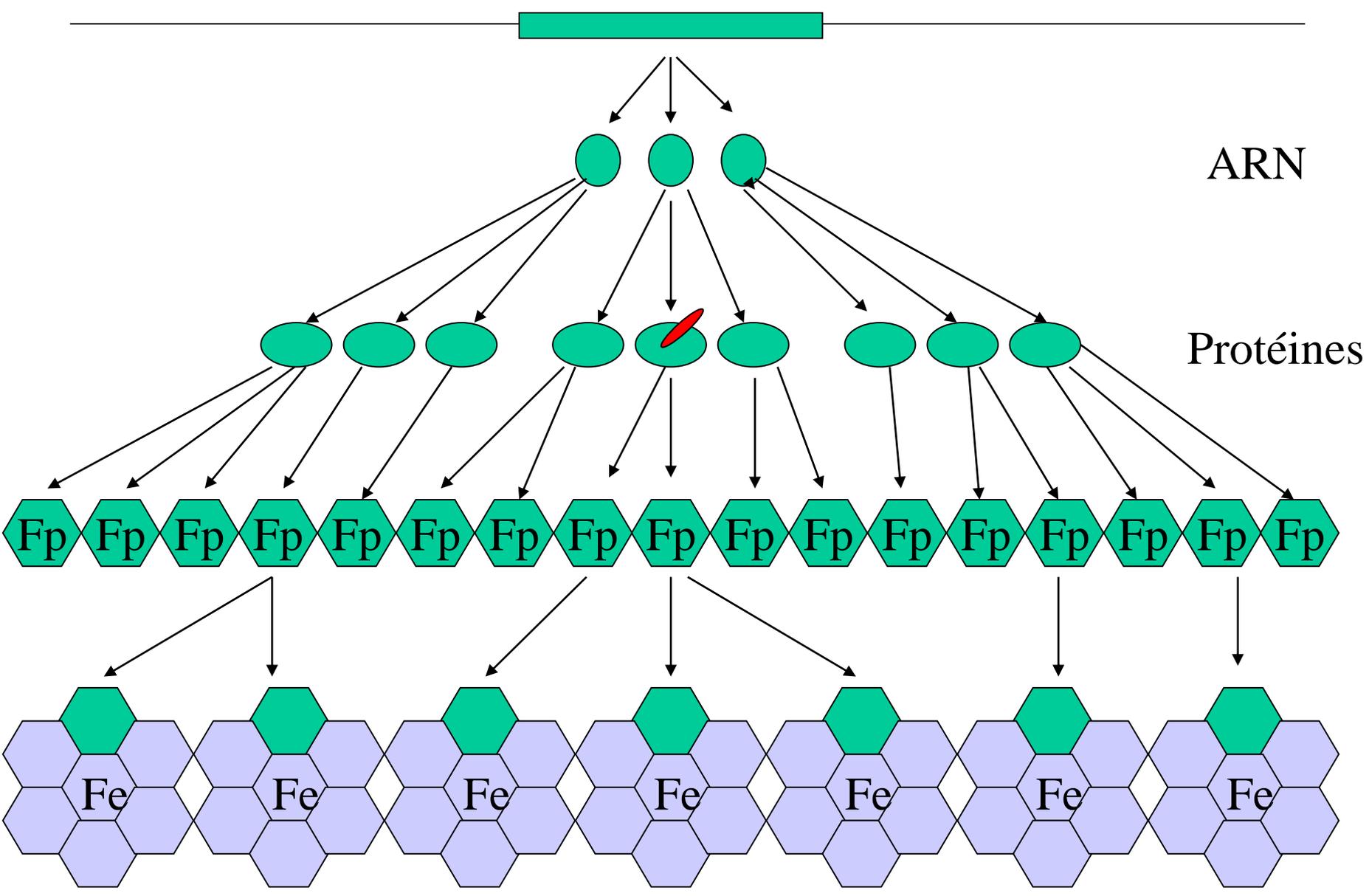


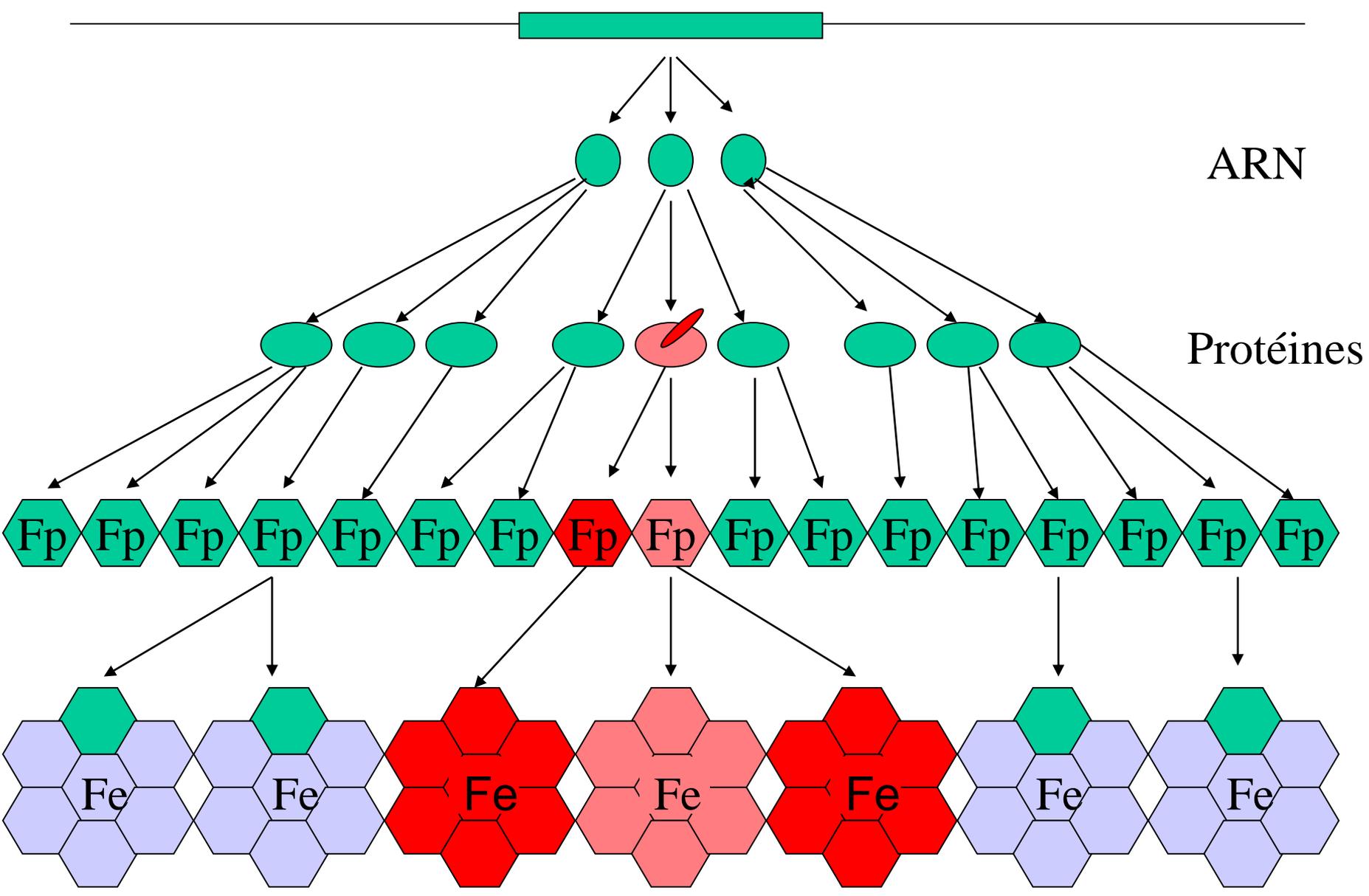
ARN

Protéines

Fp Fp

Fe Fe Fe Fe Fe Fe Fe





ARN

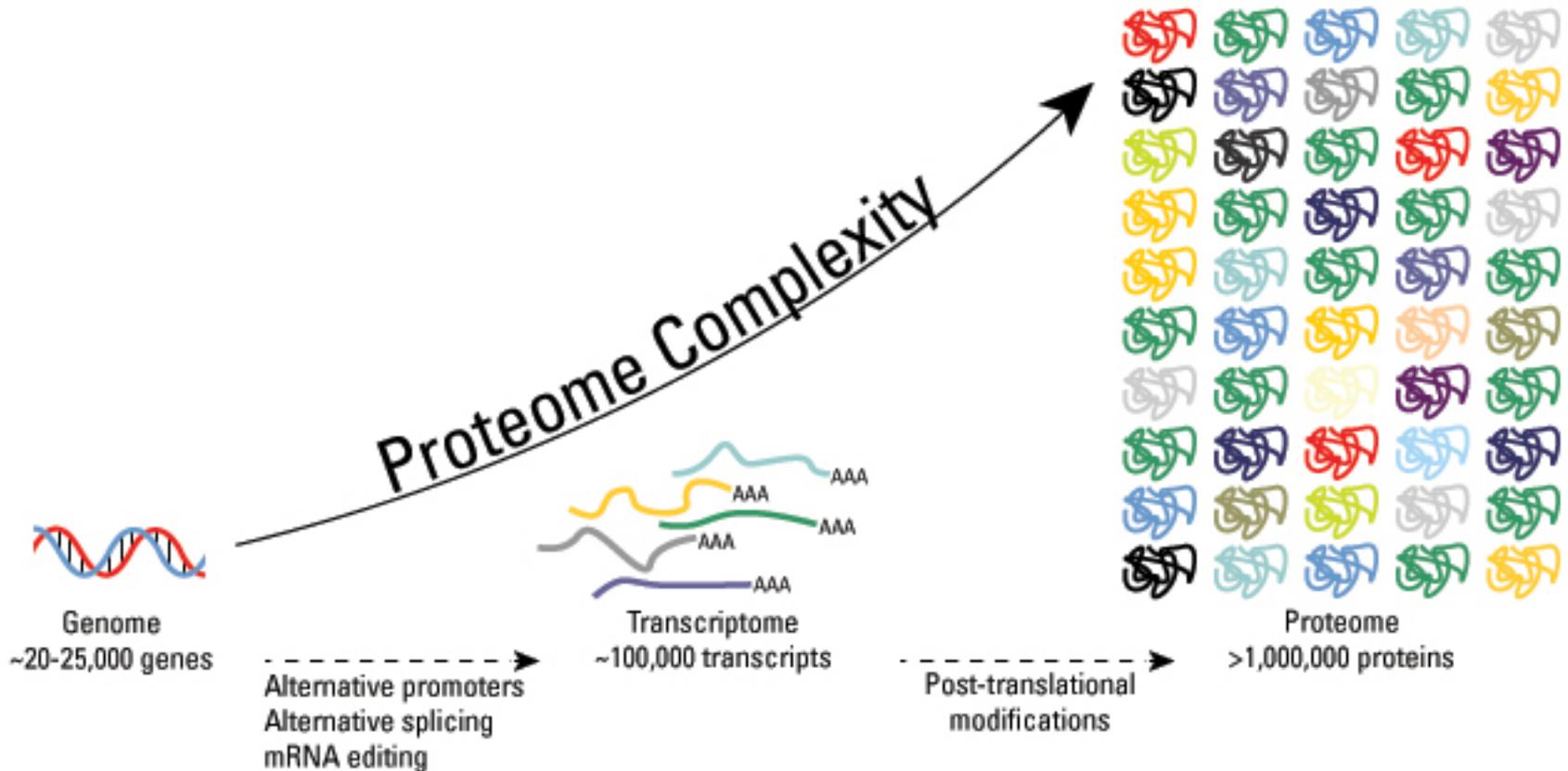
Protéines

Fp Fp

Fe Fe Fe Fe Fe Fe Fe Fe

Résumé : Le dogme central de la biologie moléculaire

Post-translational protein modifications help increase the possible variety in the products of a single gene



Résumé : Le dogme central de la biologie moléculaire

<http://www.dnalc.org>

La régulation
de la transcription chez les eucaryotes

=

Facteurs de transcriptions
Différence majeure avec les procaryotes

<https://www.youtube.com/watch?v=WsofH466lqk>

<http://www.dnalc.org/view/16933-3D-Animation-of-DNA-to-RNA-to-Protein.html>

Résumé : Le dogme central de la biologie moléculaire

Enzymes can modify proteins by the addition of molecular moieties *i.e.* ‘post-translational modifications’

Although the genetic code specifies for the incorporation of only 20 amino acids into proteins, these can be extensively modified to confer differing functionalities by:

Phosphorylation

Glycosylation

Methylation

N-acetylation

N-myristoylation

Deamination

S-prenylation

Sumoylation

S-palmitoylation

GPI-anchoring

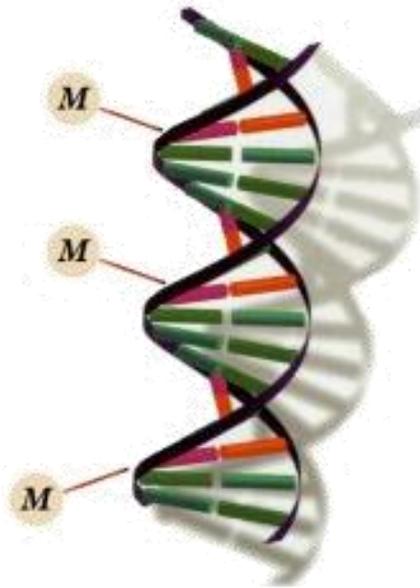
Lipidation

Ubiquitination

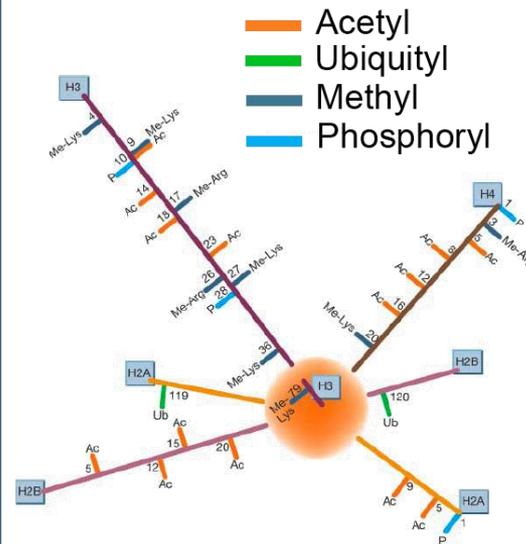
S-Nitrosylation

MODIFICATIONS EPIGENETIQUES

Méthylation de l'ADN

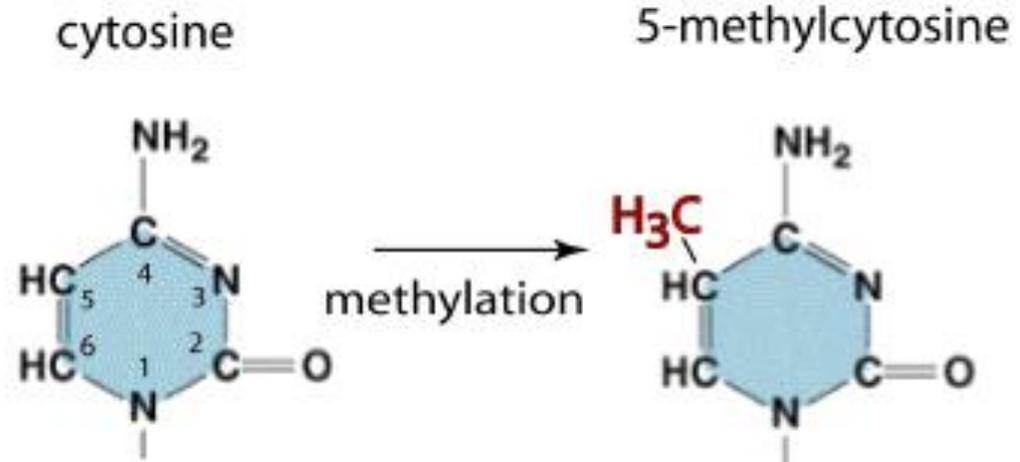


Modifications des histones



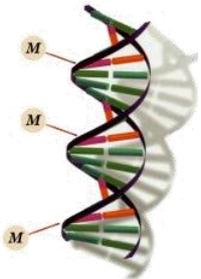
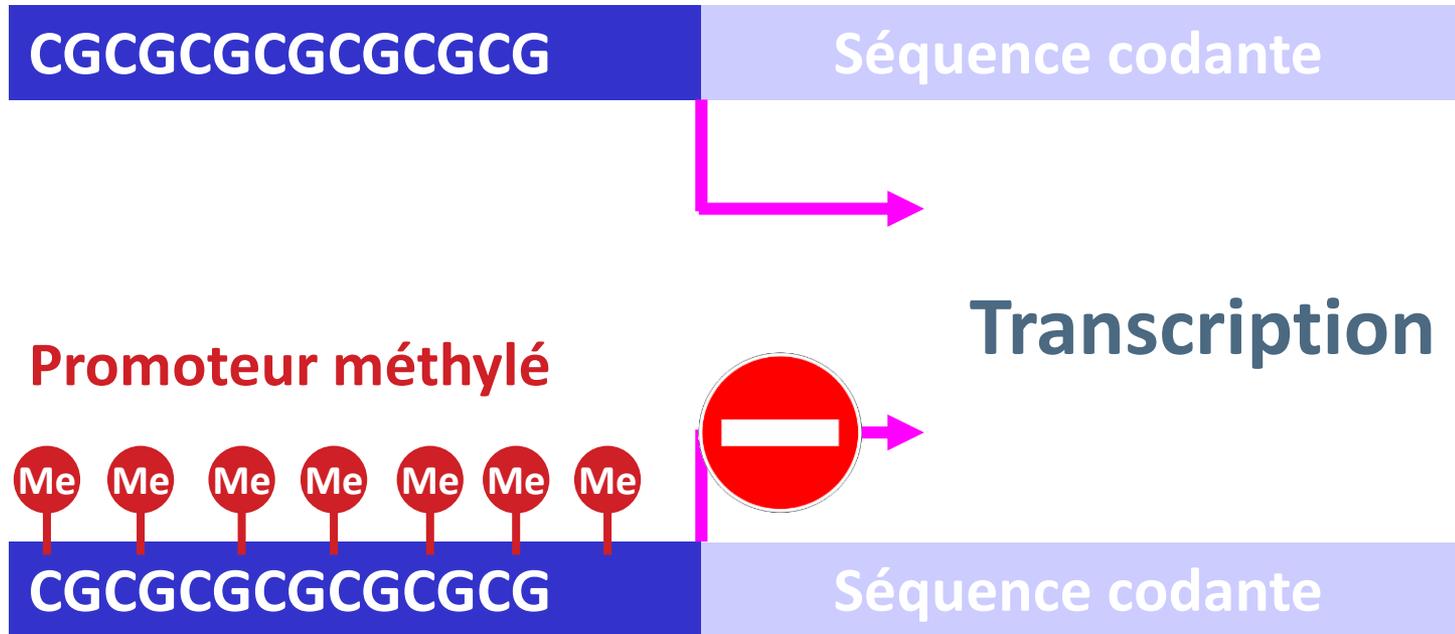
METHYLATION DE L'ADN

Liaison d'un groupement méthyl (CH₃) au niveau des bases cytosine des promoteurs.



CpG: cytosine phosphate guanosine:
cytosine suivie d'une guanosine Motifs CpG
très fréquents au niveau des régions
promotrices des gènes

METHYLATION DE L'ADN



La **méthylation** bloque le promoteur et réprime toute possibilité de transcription du gène.