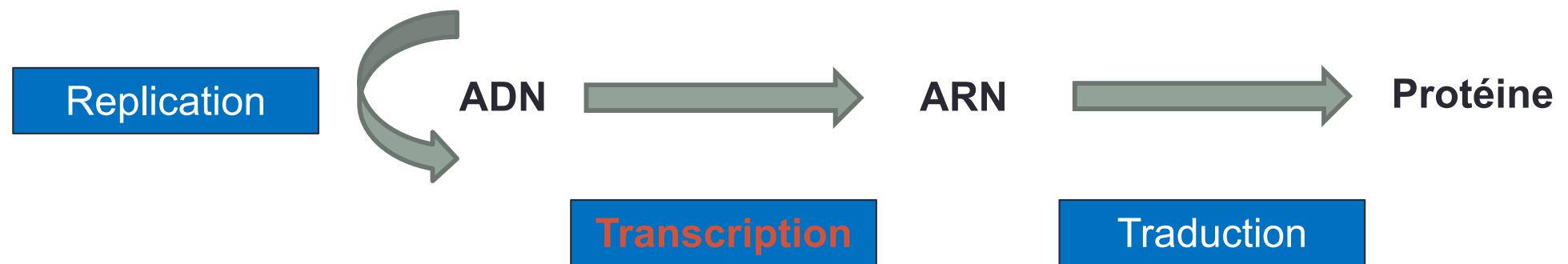


DU GÈNE À LA PROTÉINE

Transcription chez les eukaryotes

05 mars 2025

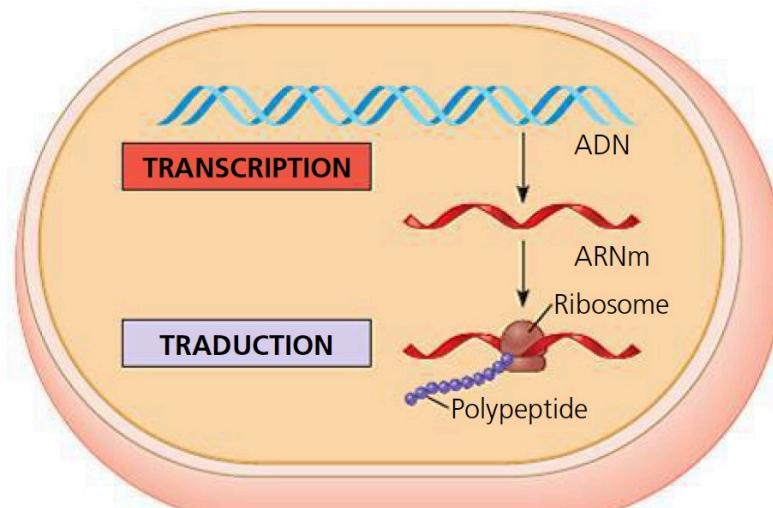


Cours d'aujourd'hui: Transcription II

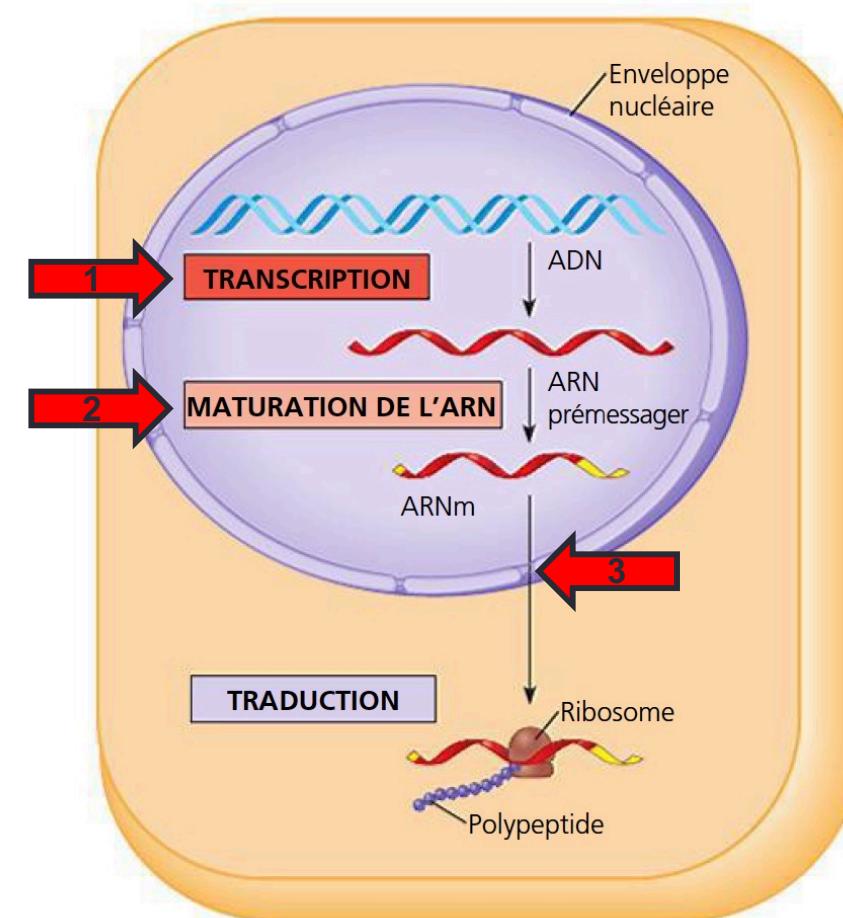
- Transcription chez les eukaryotes

- 1) 3 différences fondamentales entre bactéries et eukaryotes
- 2) Régulation de la transcription chez les eukaryotes

Bactéries ≠ Eucaryotes



Cellule bactérienne



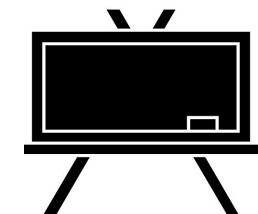
Cellule Eucaryote

3 différences fondamentales

1) Initiation de la transcription

- **Plusieurs ARN polymérases**

- ARN polymérases I, II, III
- ≠ bactéries



Les trois ARN polymérases chez les Eucaryotes

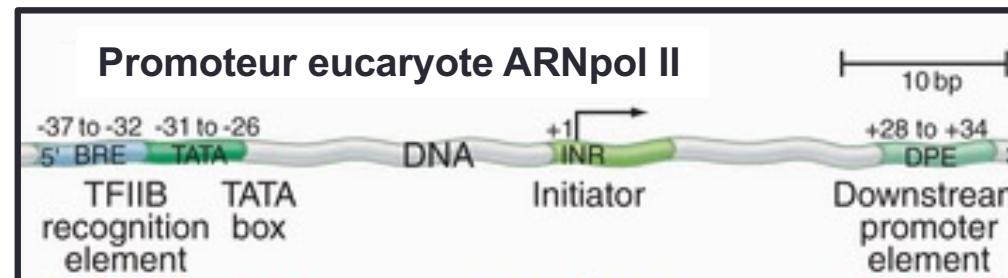
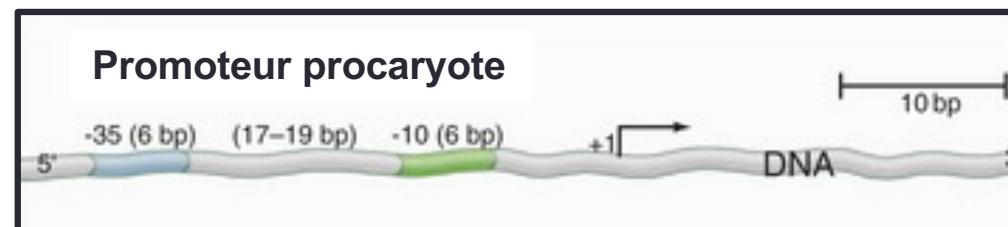
Type d'ARN polymérase	Gènes transcrits
ARN polymérase I	Gènes des ARNr 5.8S, 18S, et 28S.
ARN polymérase II	Tous les gènes codant pour des protéines, plus les snoARN et la plupart des snARN.
ARN polymérase III	Gènes des ARNt, ARNr 5S, quelques snARN, et autres petits ARN.

ARNr, ARN ribosomal; ARNt, ARN de transfer; snARN, small nuclear ARN; snoARN, small nucleolar ARN

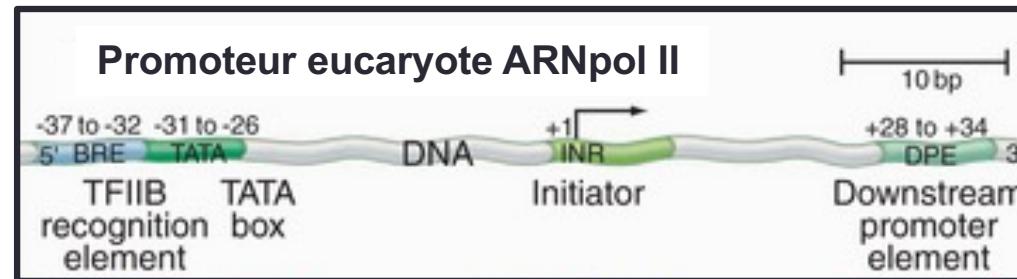
Les ARNr sont nommés selon leur valeur "S", qui correspond à leur taux de sédimentation lors d'une ultracentrifugation. Plus la valeur S est grande, plus l'ARNr est grand.

- **Plusieurs facteurs de transcription**
- Deux principaux types :
 - Facteurs de transcription généraux
 - Nécessaires pour la liaison de l'ARN polymérase au promoteur et son déplacement pendant la phase d'élongation
 - Nécessaires pour la transcription basale
 - Facteurs de transcription spécifiques
 - Régulent le taux de transcription des gènes alentour
 - Influencent la capacité de l'ARN polymérase à initier la transcription d'un gène particulier

- Les facteurs de transcription reconnaissent des éléments de régulation situés près du promoteur
 - Ces séquences sont appelées éléments de réponse, éléments de contrôle ou éléments de régulation



Transcription – Initiation



Elément	Séquence consensus	Facteur de transcription
BRE	G/C G/C R C G C C	TFIIB
TATA	T A T A A/T A/T	TBP
INR	Y Y A N T/A Y Y	TFIID
DPE	R G A/T C G T G	TFIID

BRE (B recognition element) élément de reconnaissance B

R = uniquement purines (G/A)

INR (Initiator element) élément d'initiation

N = n'importe quel nucléotide

DPE (Downstream promoter element) élément promoteur en aval

Y = uniquement pyrimidines (C/T)

TATA (boîte TATA) élément promoteur en aval

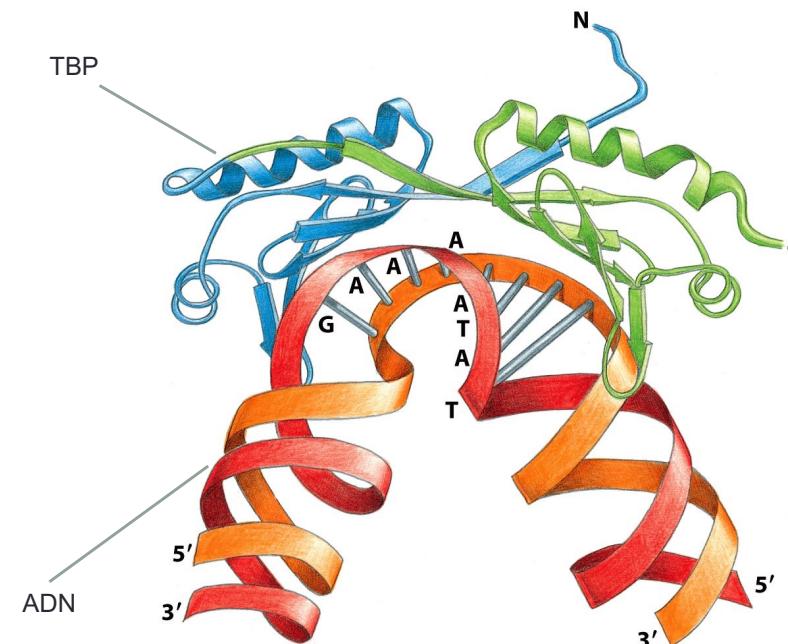
TBP (TATA Box binding protein) protéine de liaison à la boîte TATA

TF... (transcription factor) facteur de transcription

• Initiation: Etape par étape



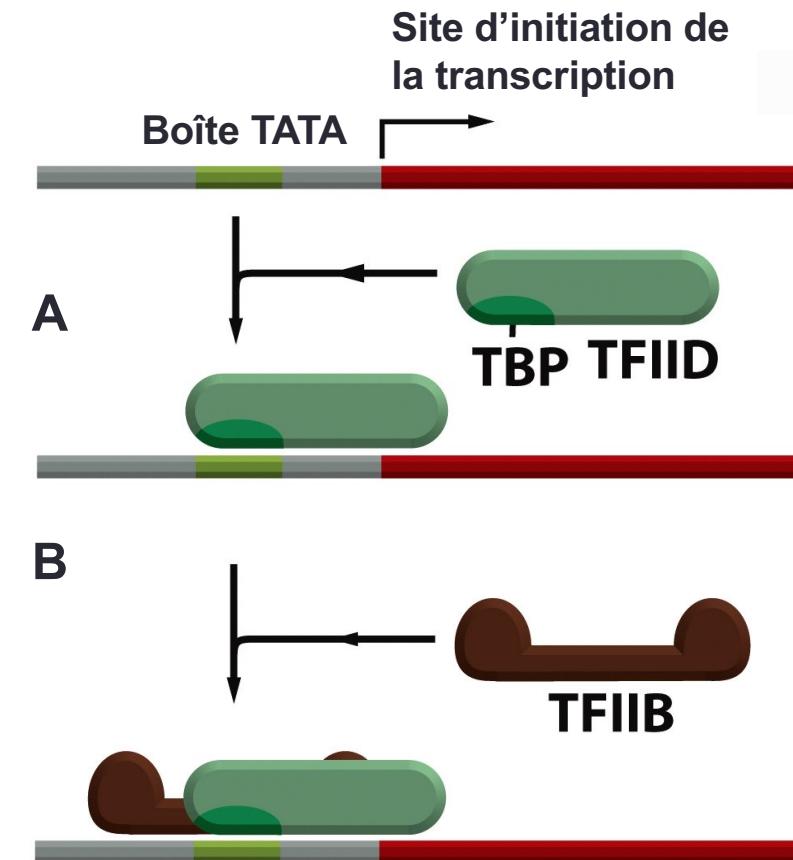
- A. TFIID se lie à la boîte TATA via sa sous-unité TBP
- L'ADN est déformé



- **Initiation: Etape par étape**

- A. TFIID se lie à la boîte TATA via sa sous-unité TBP
 - L'ADN est déformé

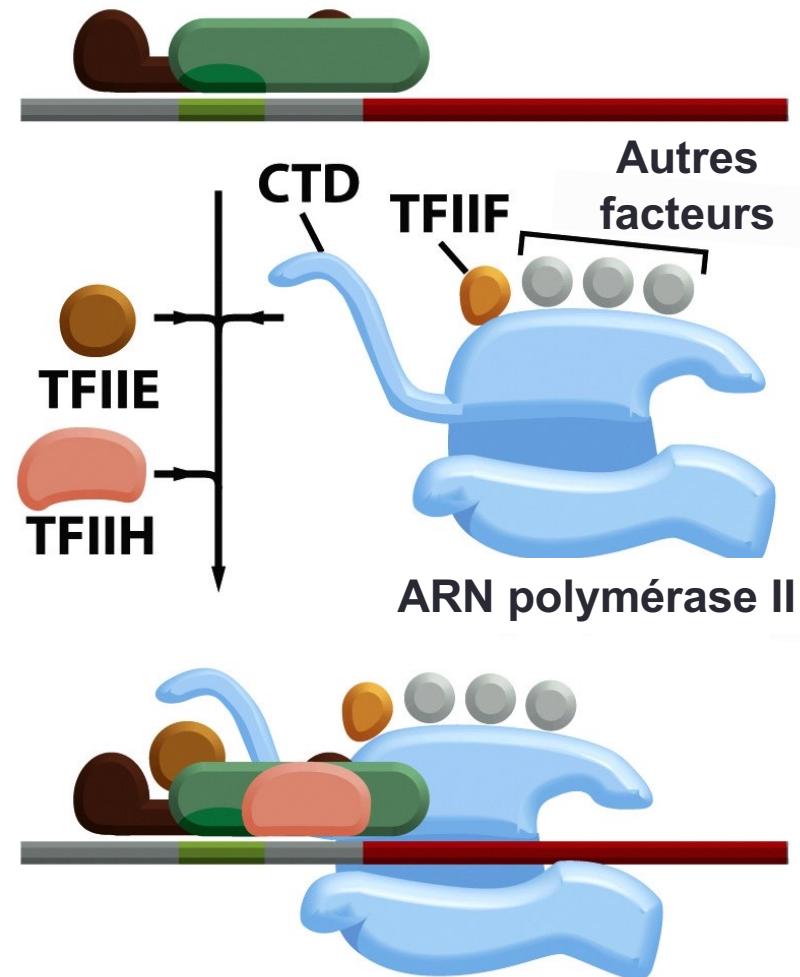
- B. TFIIB se lie à l'élément BRE



- **Initiation: Etape par étape**

- c. Liaison de TFIIIE, l'ARN Pol II et TFIIH (H pour “hélicase”)
 - TFIIH ouvre l'ADN

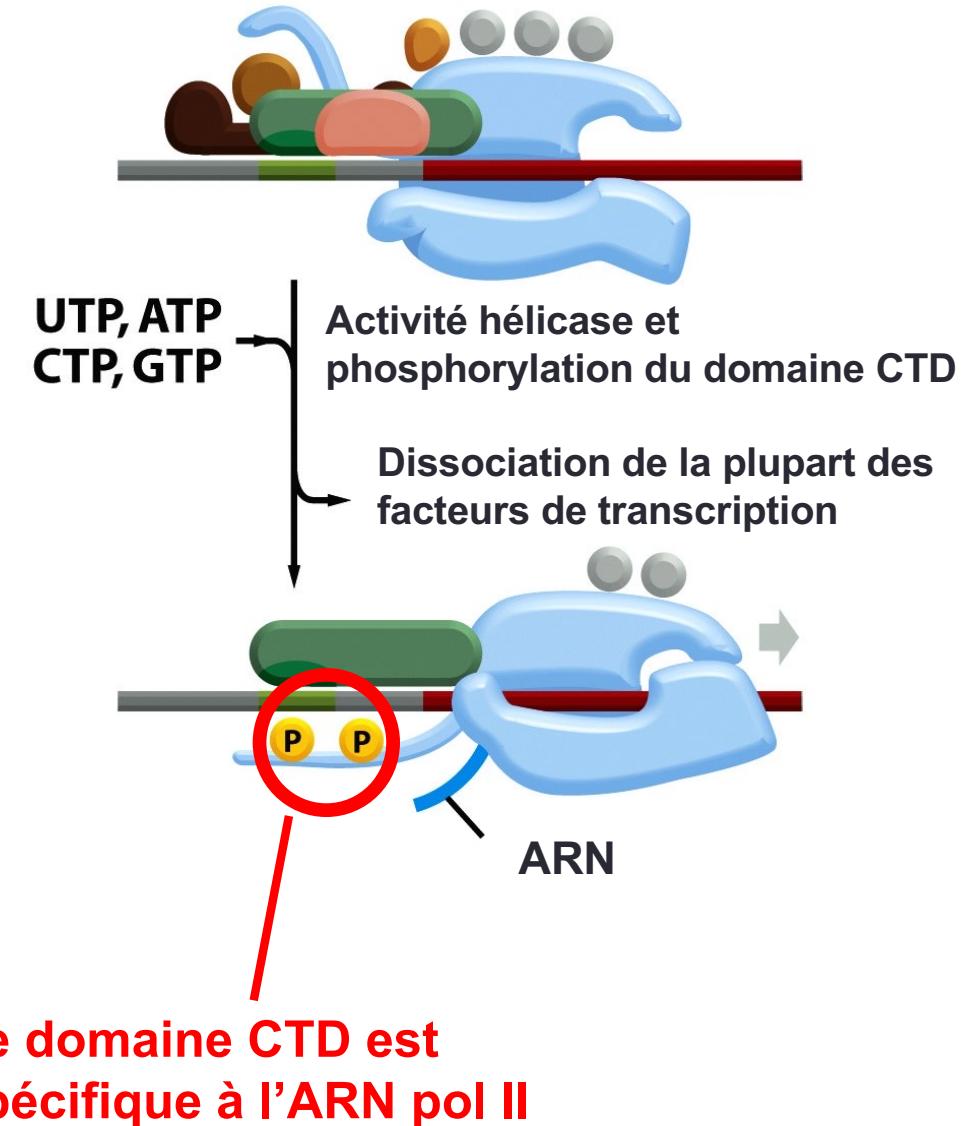
C



- **Initiation: Etape par étape**

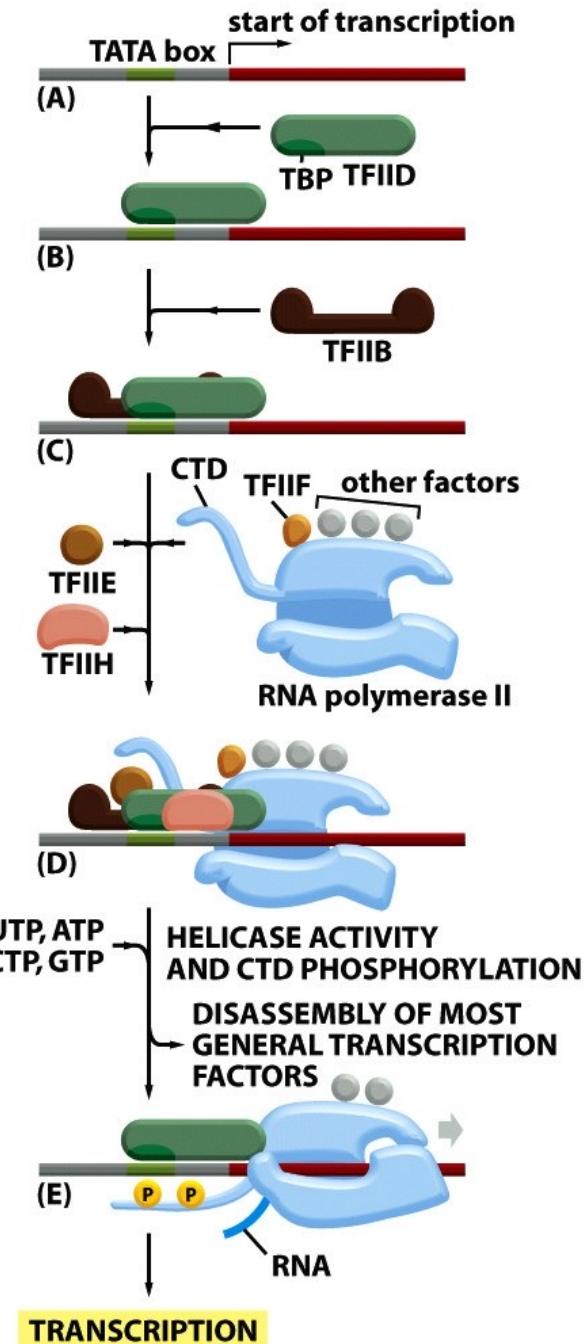
- D. TFIIH phosphoryle l'ARN pol II sur son domaine C-terminal **CTD**
 - L'ARN pol II passe en mode “élongation”
- E. La transcription commence
 - Les facteurs de transcription se dissocient et l'initiation peut recommencer

D



Transcription – Initiation

- Initiation: Vue d'ensemble



• Initiation – Resumé

- La transcription des gènes Eucaryotes nécessite **5 facteurs de transcription** pour un total de ≈ 27 sous-unités

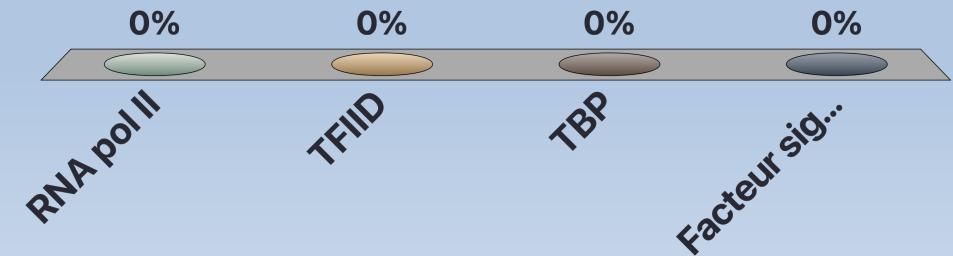
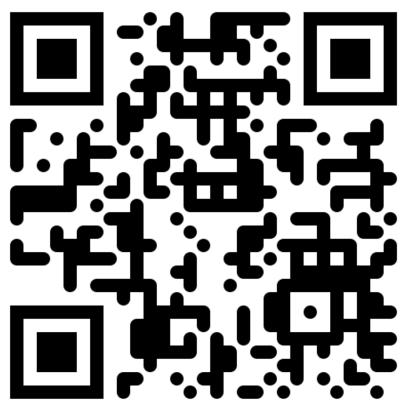
Les facteurs de transcription nécessaires à l'initiation de la transcription par l'ARN polymérase II Eucaryote

Nom	Nombre de sous-unités	Rôles dans l'initiation de la transcription
TFIID		
Sous-unité TBP	1	Reconnaît la boîte TATA
Sous-unités TAF	~ 11	Reconnaît d'autres séquences d'ADN proches du site d'initiation de la transcription, régule la liaison de TBP à l'ADN
TFIIB	1	Reconnaît l'élément BRE des promoteurs, positionne l'ARN pol précisément au site d'initiation de la transcription
TFIIF	3	Stabilise l'interaction de l'ARN polymérase avec TBP et TFIIB, aide à recruter TFIIIE et TFIIH
TFIIIE	2	Recrute et régule TFIIH
TFIIH	9	Ouvre l'hélice d'ADN au site d'initiation de la transcription, phosphoryle la sérine 5 du domaine CTD de l'ARN polymérase, libère l'ARN polymérase du promoteur

TFIID est composé de TBP et d'environ 11 sous-unités additionnelles appelées TAF (TBP associated factors). CTD, domaine C-terminal.

Quel facteur de transcription reconnaît la boîte TATA chez les eukaryotes?

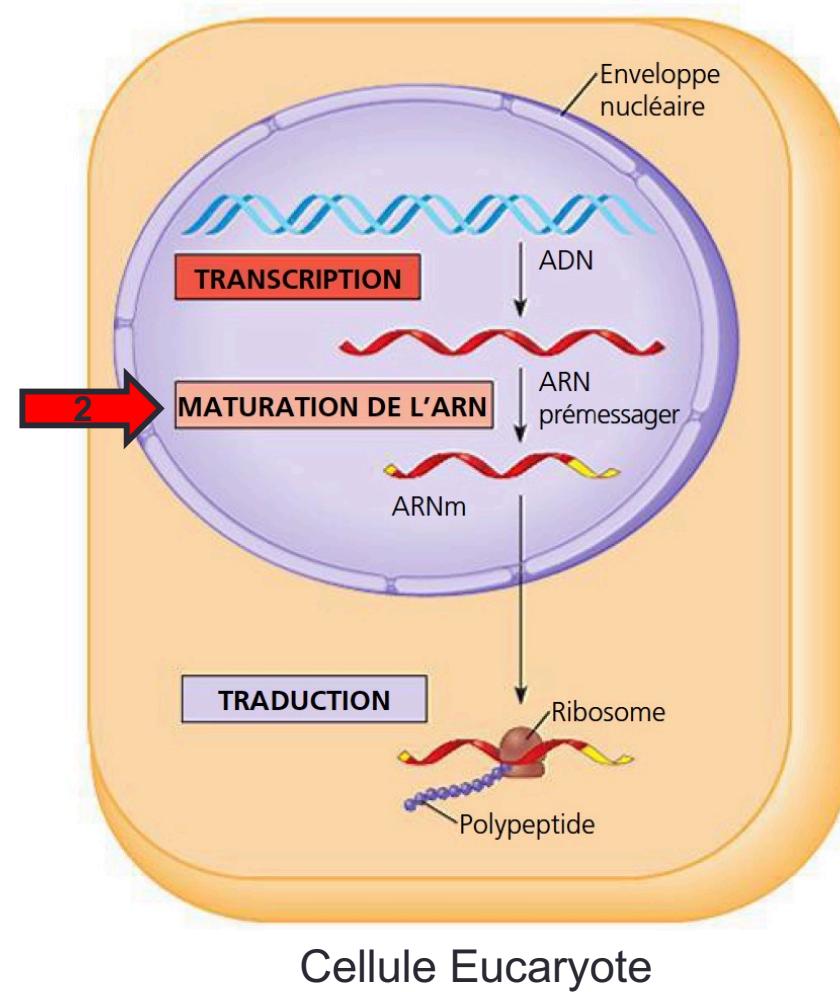
- A. RNA pol II
- B. TFIID
- C. TBP
- D. Facteur sigma



Nommez des différences entre la transcription eucaryotique et bactérienne

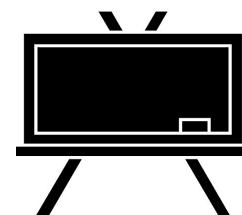
Bactéries ≠ Eucaryotes

3 différences fondamentales



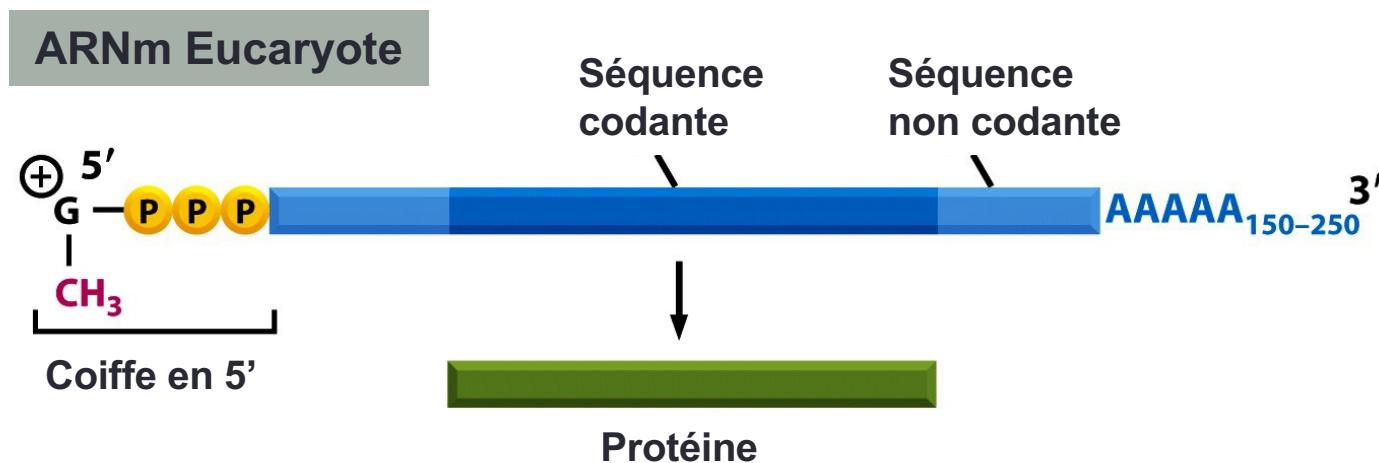
2) Maturation de l'ARN

- A lieu pendant la phase d'elongation
- 3 processus principaux:
 1. Ajout de la coiffe en 5'
 2. Epissage
 3. Ajout de la queue poly-A en 3' (\approx terminaison)



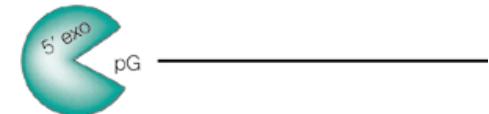
- **1) Ajout de la coiffe en 5'**

- Addition enzymatique via une liaison triphosphate d'une guanine modifiée (7-méthyl-guanosine) à l'extrémité 5' du transcrit en cours d'élongation



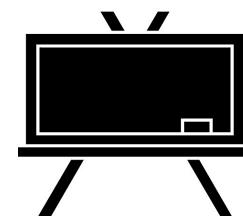
• Rôle de la coiffe

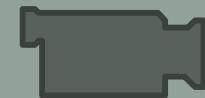
1. Empêche la dégradation de l'ARN
 - Protection contre des enzymes appelés “5' exonucléases”
2. Aide à différencier différents types d'ARN
 - Seulement les pré-ARNm et les ARNm ont une coiffe en 5'
3. La coiffe peut être liée par le “complexe de liaison de la coiffe” CBC (Cap Binding Complex)
 - Cela permet de contrôler ↗l'export nucléaire



2) Maturation de l'ARN

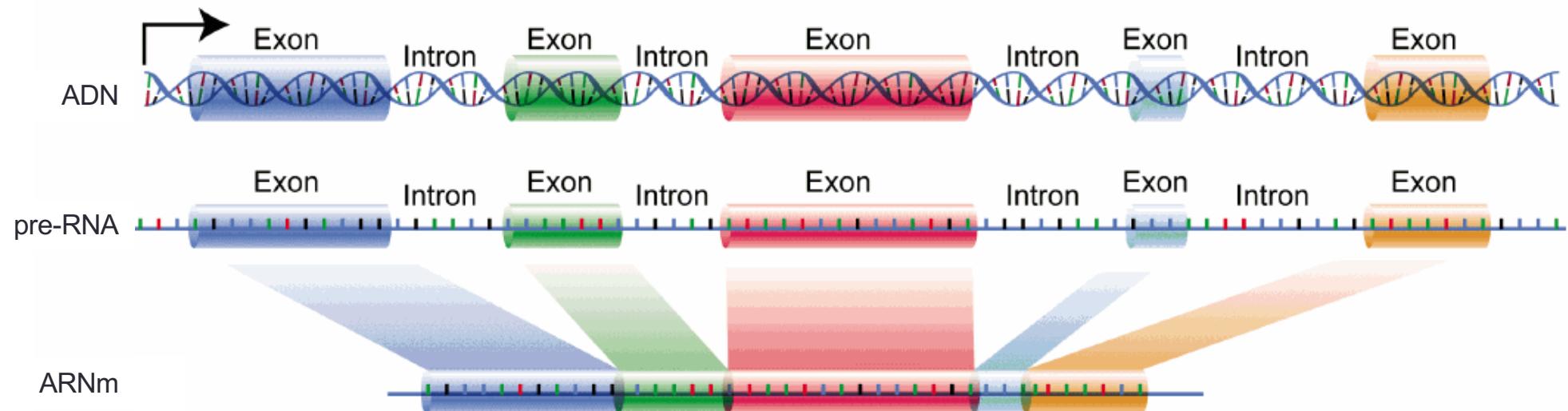
- Pendant la phase d'élongation, 3 processus principaux ont lieu :
 1. Ajout de la coiffe en 5'
 2. **Epissage**
 3. Ajout de la queue poly-A en 3' (\approx terminaison)





moodle

- 2) Epissage



• 2) Epissage

- Procédé pendant lequel, dans les pré-ARNm :
 - Les **introns** sont enlevés
 - Les **exons** sont reliés entre eux
- **Introns** :
 - Segments des pré-ARNm qui ne font PAS partie de la séquence codante
 - **Les introns** restent dans le noyau (à l'intérieur)
- **Exons**:
 - Segments des pré-ARNm qui font partie de la séquence codante
 - **Les exons** sortent du noyau (à l'extérieur)

• Epissage – Mécanisme

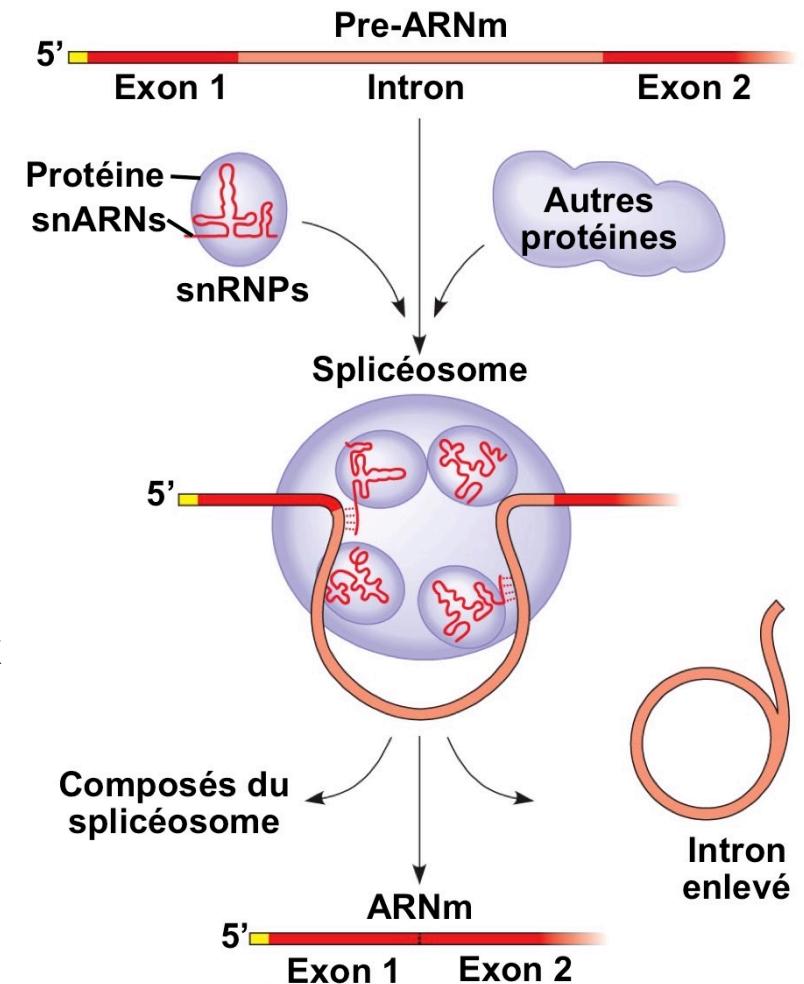
1. Assemblage du **splicéosome** (ou complexe d'épissage)
 - Des snARNs avec au moins 7 autres protéines forment des snRNPs (small nuclear ribonucleoproteins)

2. Formation du lasso

- Les snRNPs avec d'autres protéines se lient aux sites d'épissage 5' et 3' et rapprochent les exons

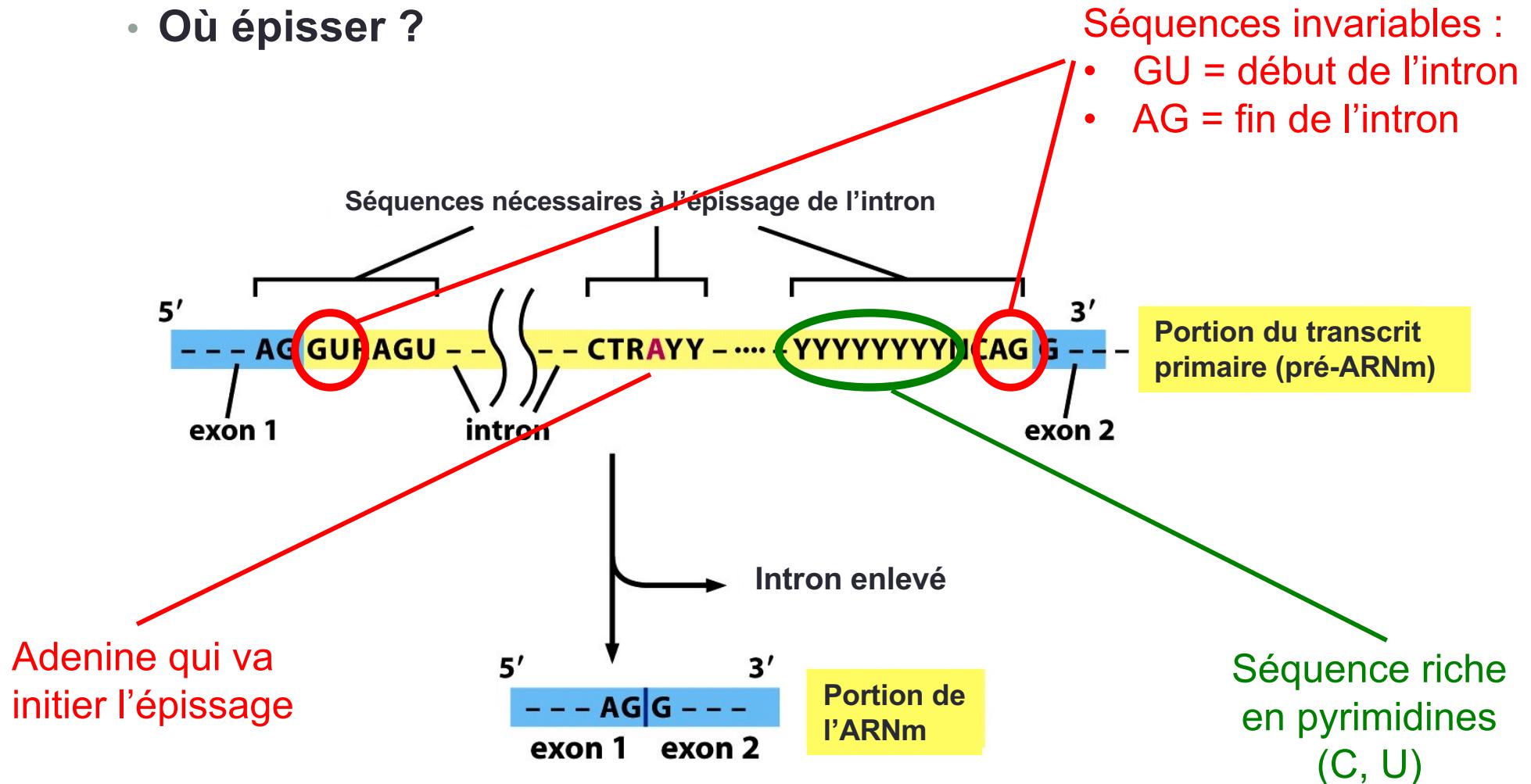
3. Coupure et liaison des extrémités

- Coupe aux sites 5' et 3'
- Dissociation du splicéosome, dégradation de l'intron



• Epissage – Mécanisme

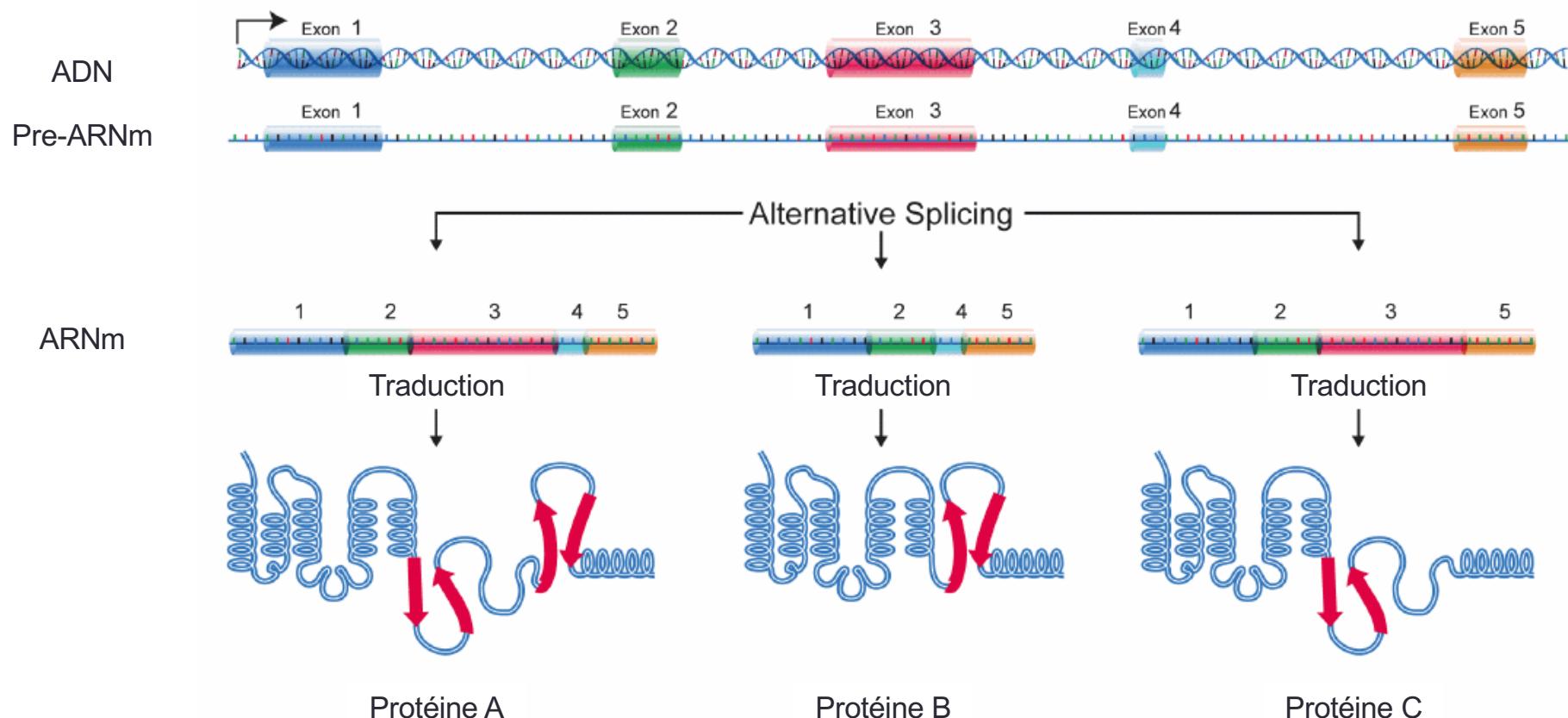
• Où épisser ?



- **Rôle de l'épissage**

- 1 gène → plusieurs protéines

- **Epissage alternatif**

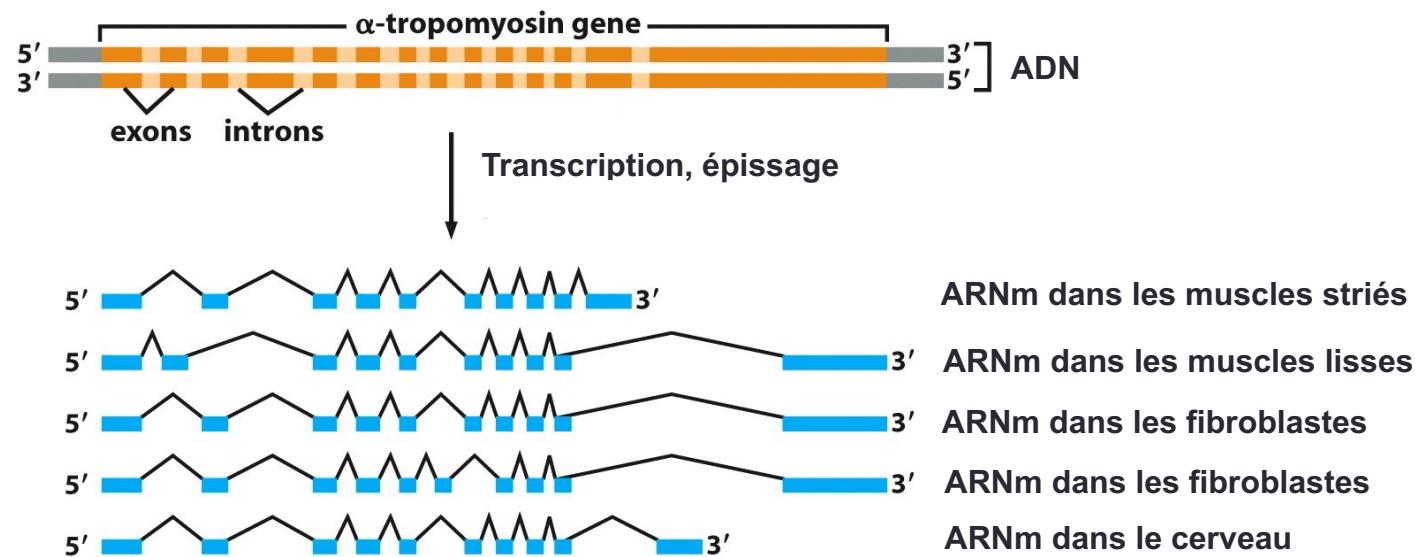


- **Rôle de l'épissage**

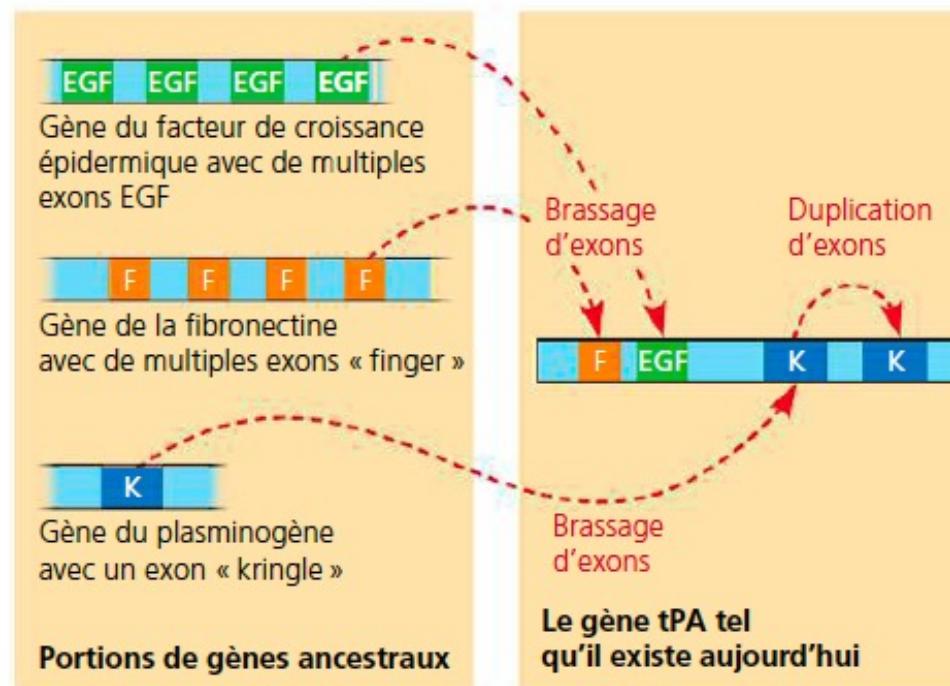
- 1 gène → plusieurs protéines

- **Epissage alternatif**

- Exemple réel: gène codant la α -tropomyosine (régulation de la contraction musculaire)



- **Forme extrême de l'épissage alternatif: Brassage d'exons**
 - Exemple de gène TPA (tissue plasminogen activator)
 - Formation de nouveaux gènes
 - Important pour l'évolution ?!



- L'ARN pol II coordonne l'ajout de la coiffe, l'épissage et la terminaison**

- Le domaine C terminal (CTD) de l'ARN pol II contient 52 répétitions de séquences de 7 acides aminés
 - 2 d'entre eux sont des Ser pouvant être phosphorylées

- Ajout de la coiffe**

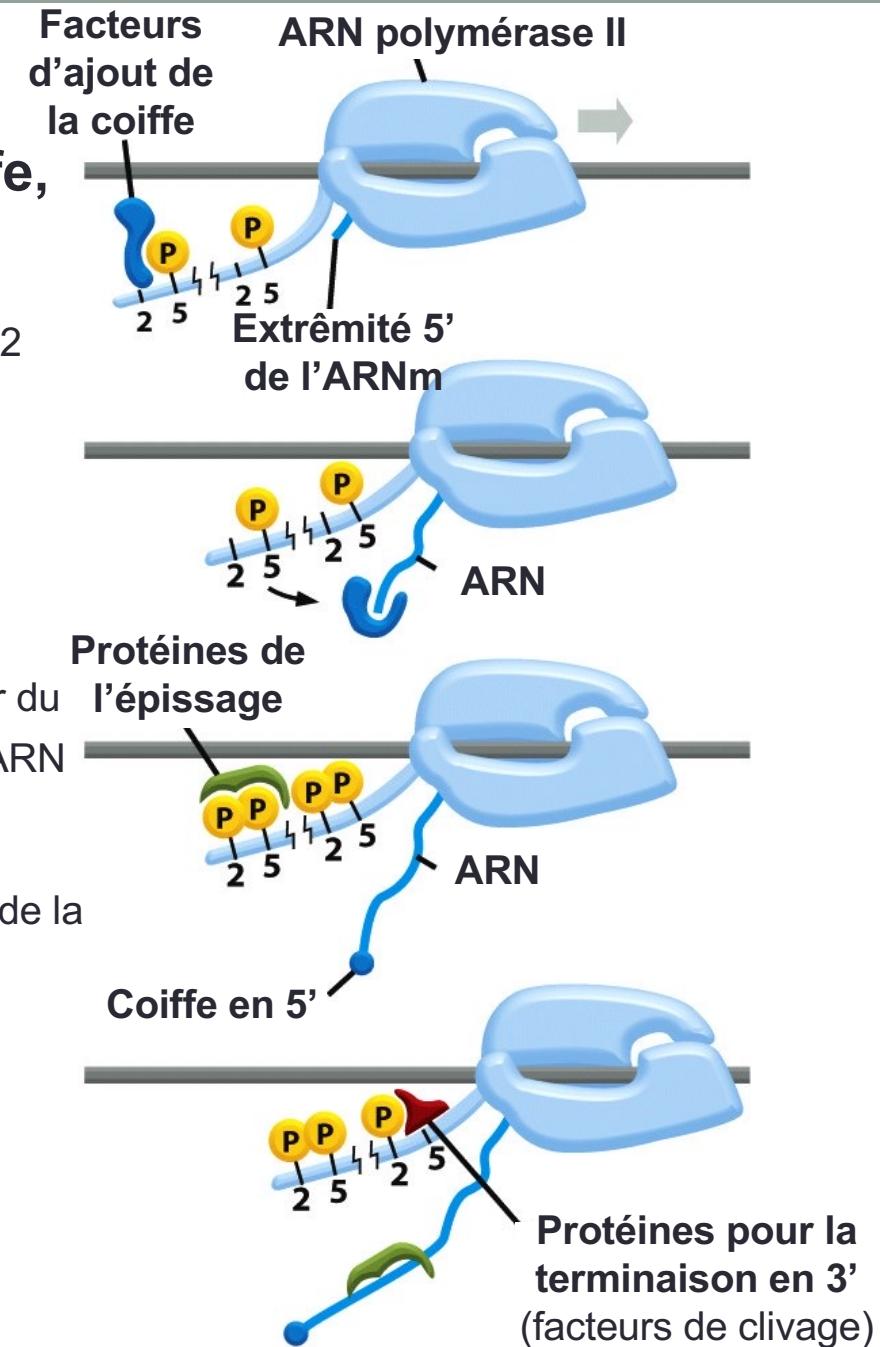
- Phospho-Ser₅ recrute les facteurs d'ajout de la coiffe
- La phosphorylation du CTD augmente avec la longueur du transcript ARN : les facteurs se déplacent du CTD sur l'ARN

- Epissage**

- Plus la Ser₂ est phosphorylée, plus les facteurs d'ajout de la coiffe sont remplacés par les protéines de l'épissage
- Les protéines de l'épissage se déplacent sur l'ARNm

- Terminaison**

- Plus tard, la Ser₅ est déphosphorylée et les protéines impliquées dans la terminaison en 3' sont recrutées



2) Maturation de l'ARN

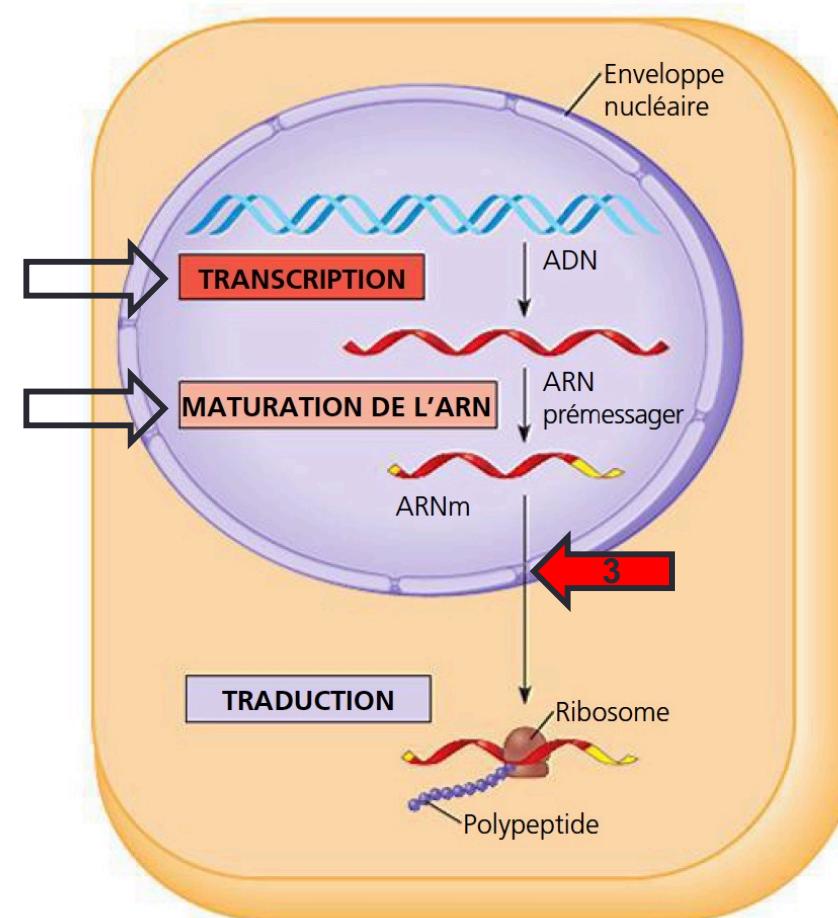
- Pendant la phase d'élongation, 3 processus principaux ont lieu :
 1. Ajout de la coiffe en 5'
 2. Epissage
 3. **Ajout de la queue poly-A en 3' (\approx terminaison)**

- **Rôle de la queue poly-A**

1. Empêche la dégradation de l'ARN
2. Permet de différencier différents types d'ARN
 - Seuls les ARNm ont une queue poly-A
3. Régule l'export nucléaire

3) L'export nucléaire

3 différences fondamentales

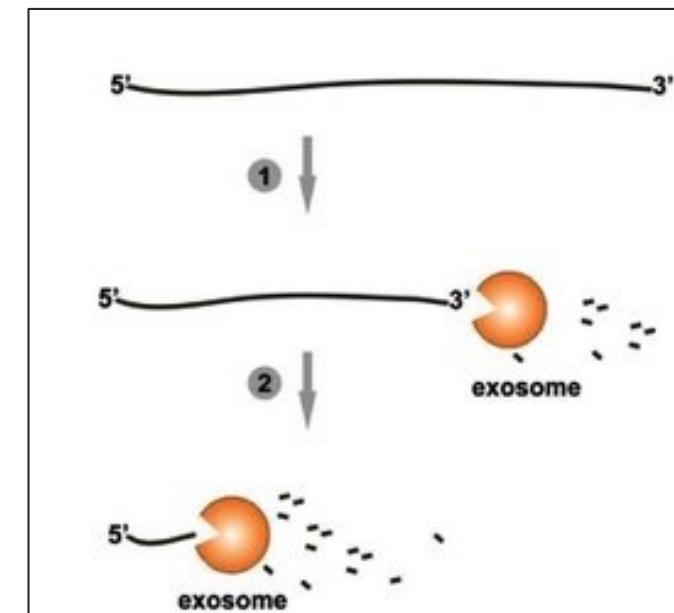


- **Caractéristiques de ce qui peut être exporté hors du noyau :**

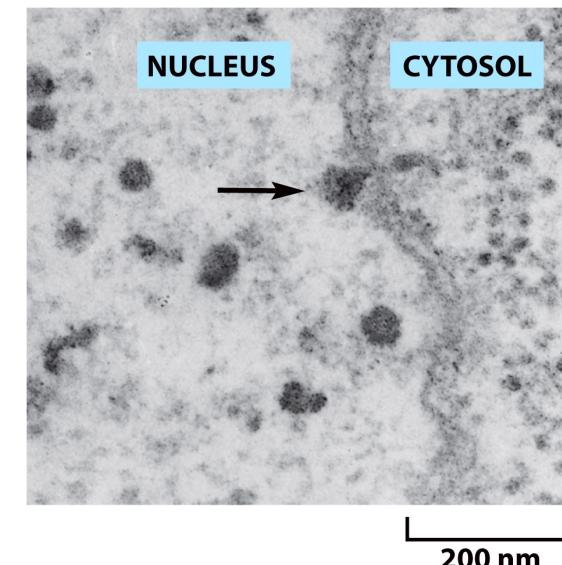
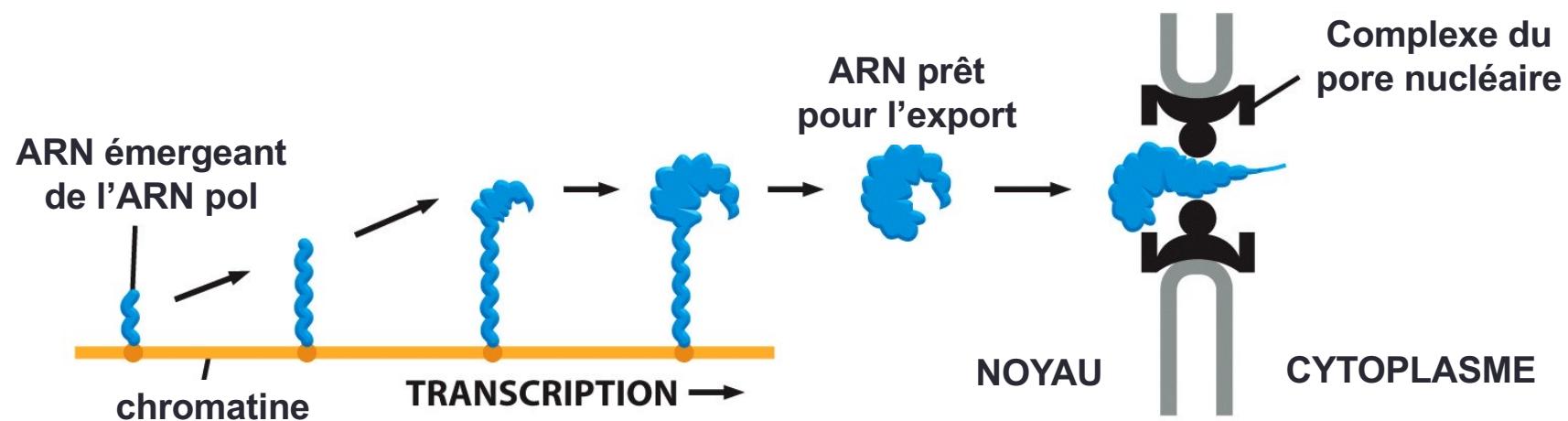
- Présence de...
 - Coiffe en 5'
 - Queue poly-A en 3'
 - Ces 2 signaux indiquent un ARN mature

- Absence de...
 - snRNPs
 - Ce qui indique un ARN immature

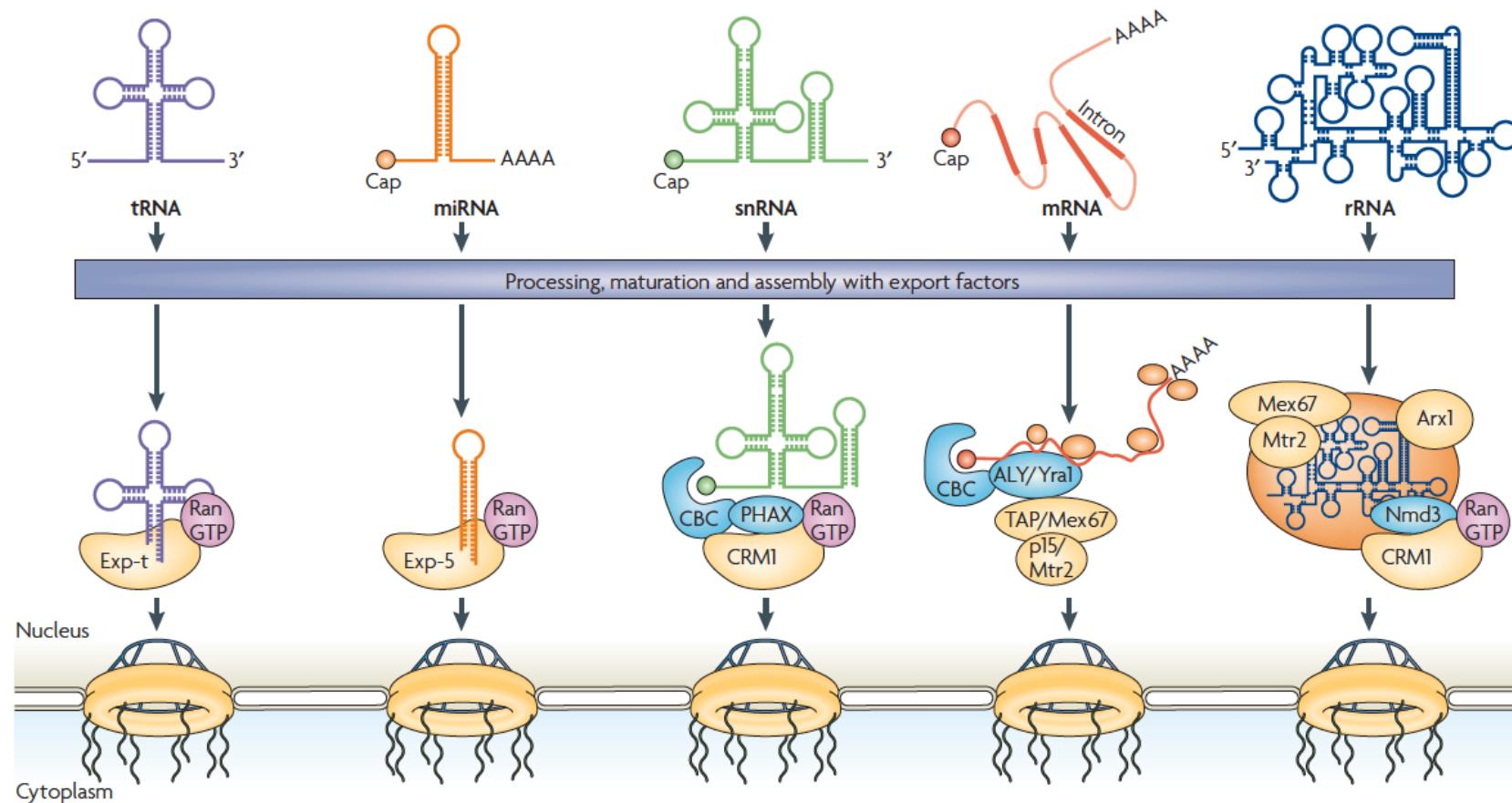
- Un ARNm qui ne remplit pas ces conditions est dégradé à partir de l'extrémité 3' par un complexe enzymatique, **l'exosome nucléaire**



- Export nucléaire via le complexe du pore nucléaire

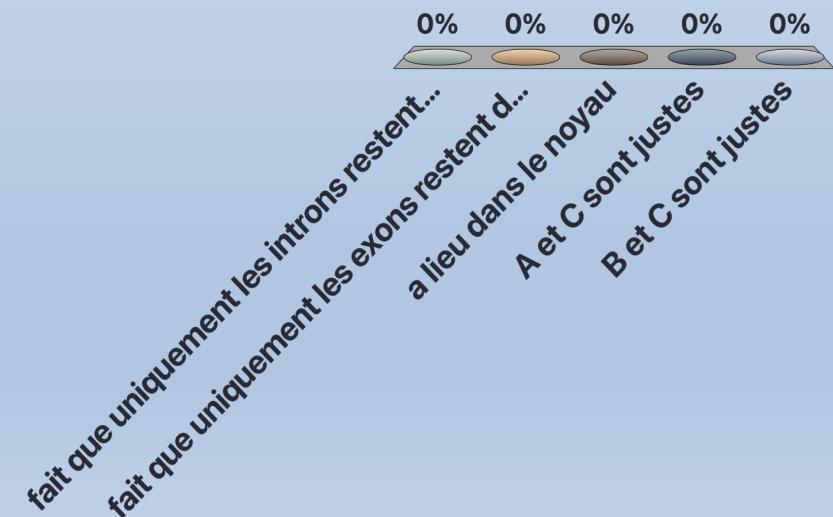


• Export nucléaire



L'épissage....

- A. fait que uniquement les introns restent dans la molécule mature d'ARNm
- B. fait que uniquement les exons restent dans la molécule mature d'ARNm
- C. a lieu dans le noyau
- D. A et C sont justes
- E. B et C sont justes

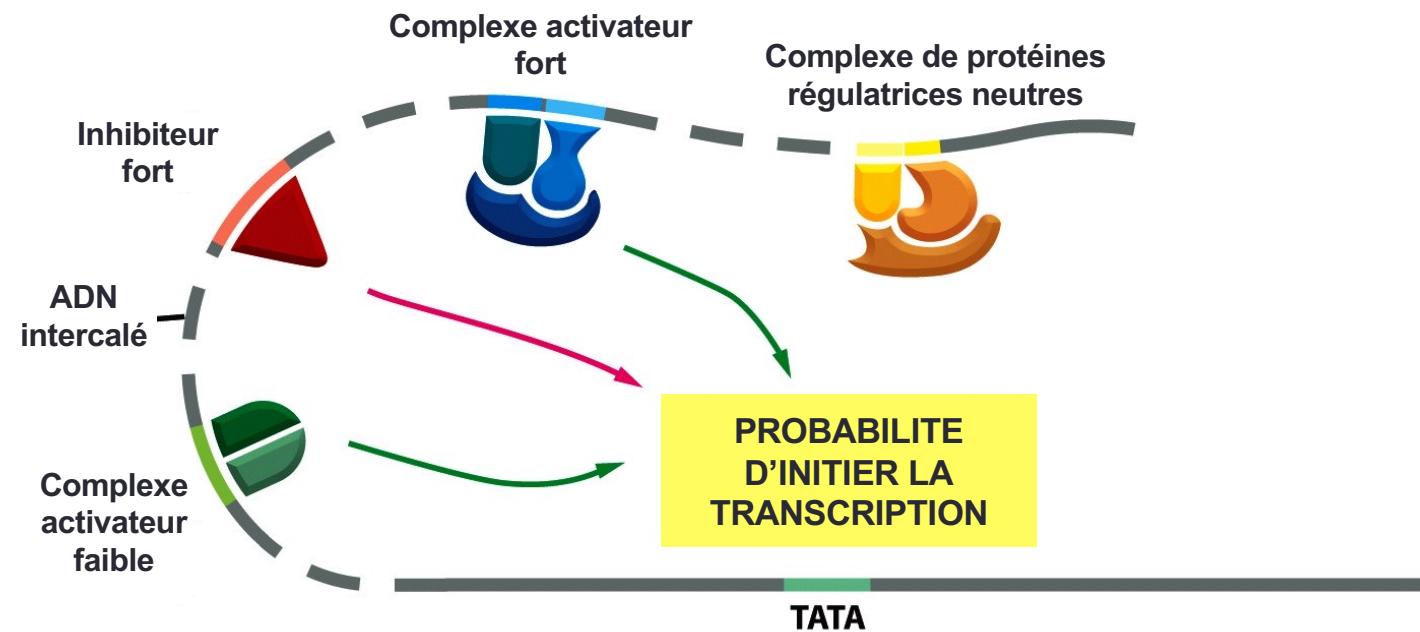


Cours d'aujourd'hui: Transcription II

- Transcription chez les eukaryotes

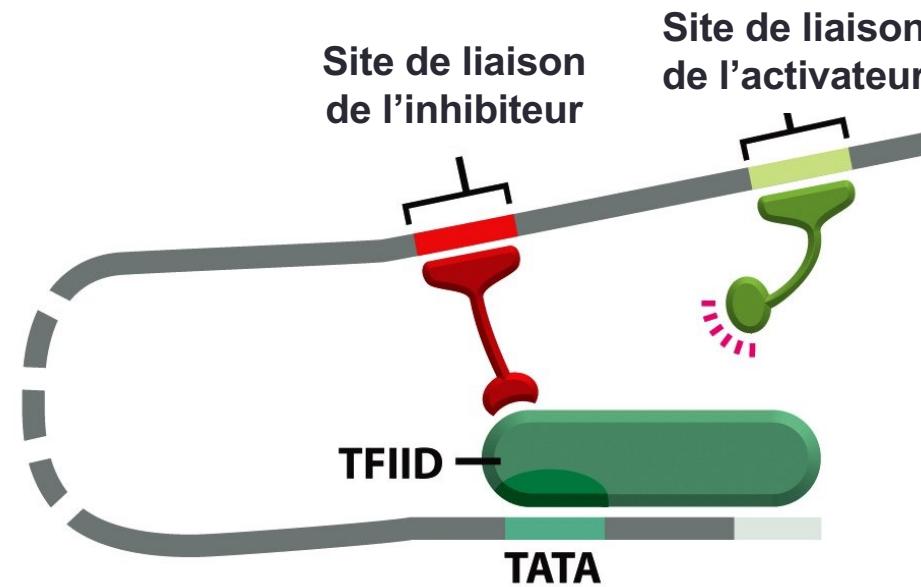
- 1) 3 différences fondamentales entre bactéries et eukaryotes
- 2) Régulation de la transcription chez les eukaryotes
 - Contrôle combinatoire

Contrôle combinatoire de la transcription



Contrôle combinatoire de la transcription

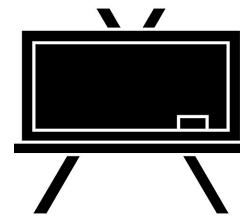
- Les activateurs et les inhibiteurs sont **en compétition**



- Qui gagne?
 - Dépend de l'accessibilité de leur site de liaison
 - Dépend de la structure en 3D (looping) aux alentours du TSS

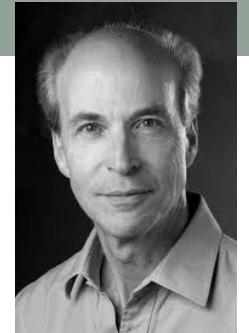
Contrôle combinatoire de la transcription

- Les activateurs/ represseurs reconnaissent des éléments de régulation dans **la région de contrôle** du gène
 - **Région de contrôle d'un gène** = Ensemble des séquences d'ADN qui sont impliquées dans la régulation de la transcription de ce gène



Contrôle combinatoire de la transcription

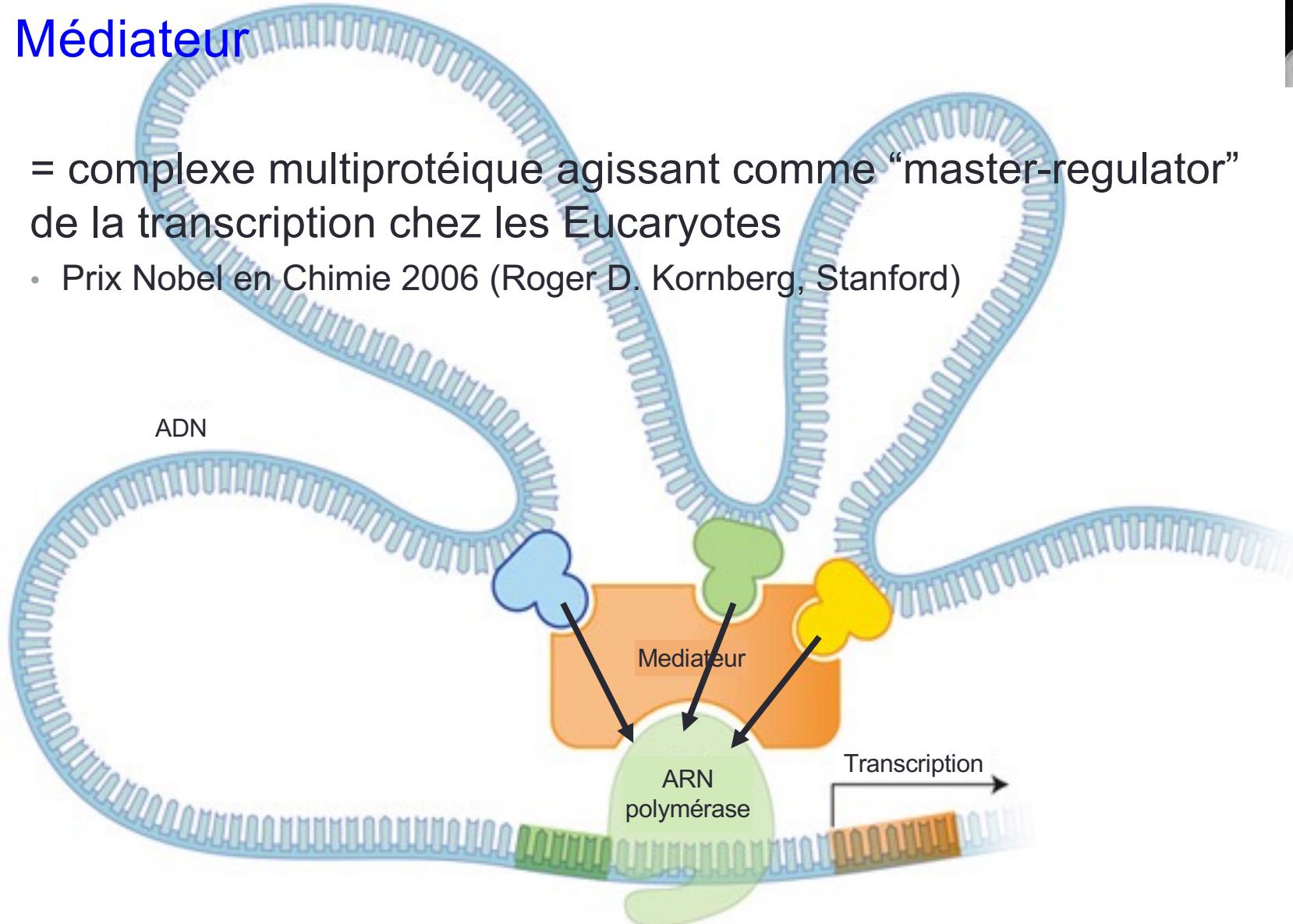
- Le contrôle combinatoire est rendu possible par l'interaction physique des séquences régulatrices et de leurs protéines associées.
- Mécanismes:
 - Médiateur
 - Protéines responsables de la courbure de l'ADN
 - Boucles d'ADN



- **Médiateur**

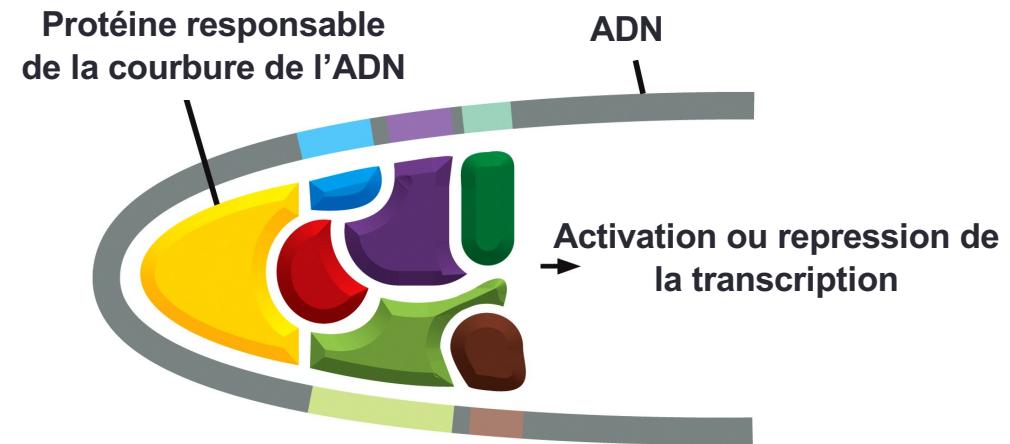
= complexe multiprotéique agissant comme “master-regulator” de la transcription chez les Eucaryotes

- Prix Nobel en Chimie 2006 (Roger D. Kornberg, Stanford)



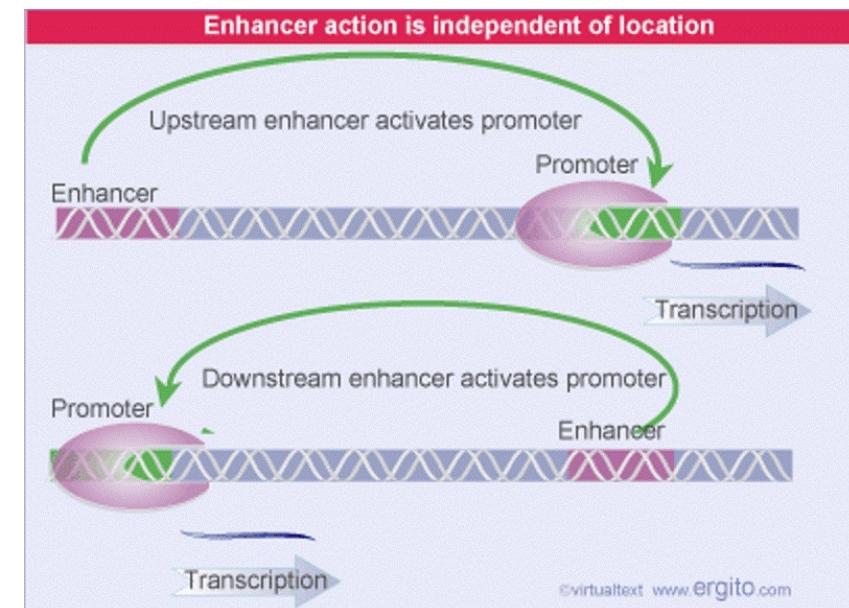
- **Protéines responsables de la courbure de l'ADN**

= Protéines avec des structures en forme de bras qui interagissent avec l'ADN (de façon spécifique à la séquence ou non)



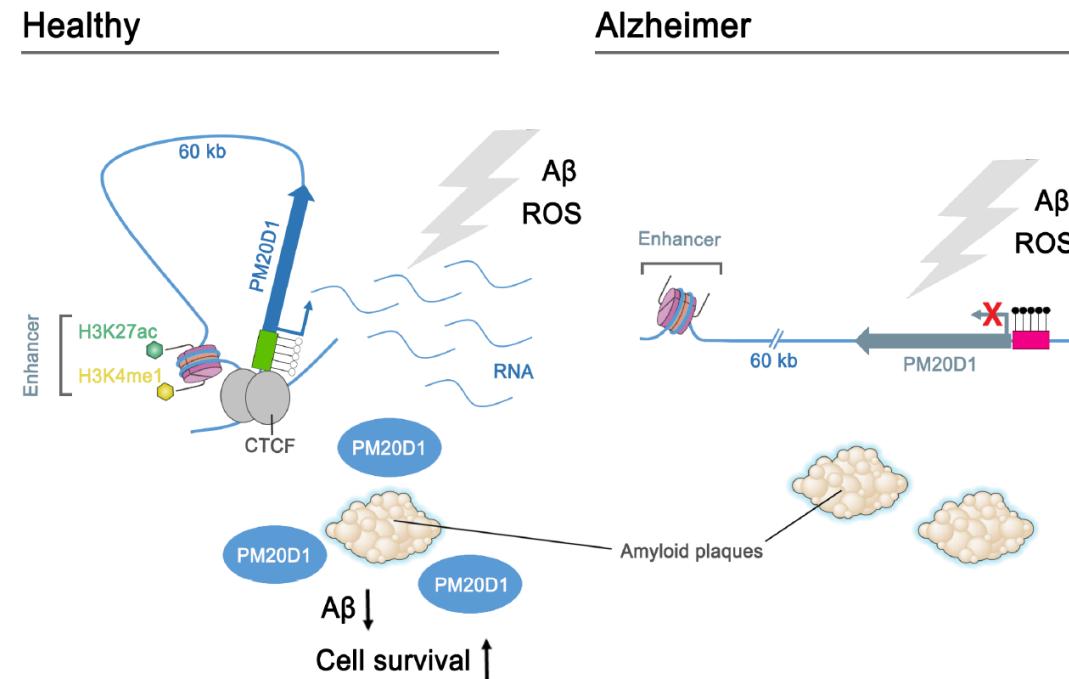
• Boucles d'ADN

- Les boucles d'ADN (“DNA looping”) rapprochent physiquement les gènes et les éléments de contrôle génique
- C'est souvent le cas pour les séquences “**enhancers**” (“amplificateurs”)
 - Enhancer = élément de contrôle situé à distance du promoteur (en amont ou en aval)
 - Les enhancers facilitent l'initiation de la transcription



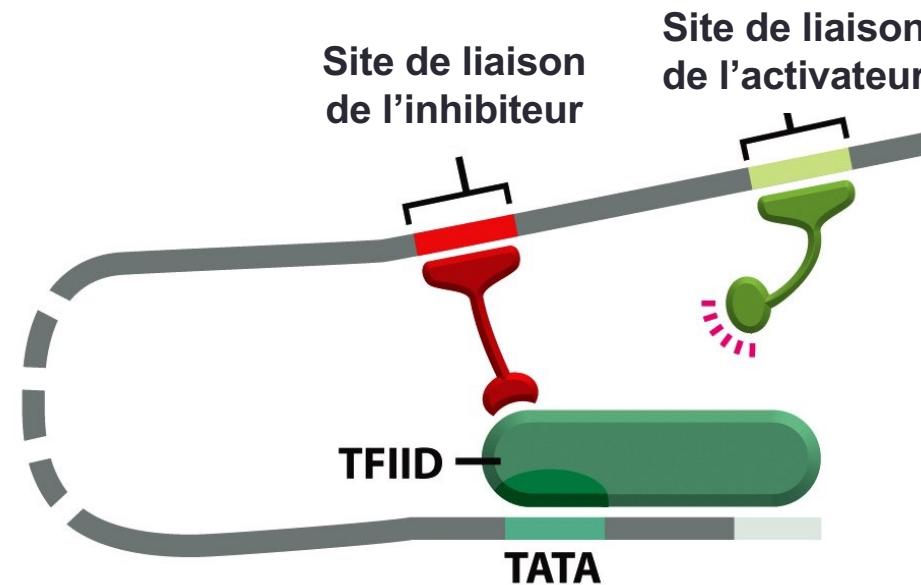
- Boucles d'ADN importante pour des maladies

Example de la maladie d'Alzheimer:



Contrôle combinatoire de la transcription

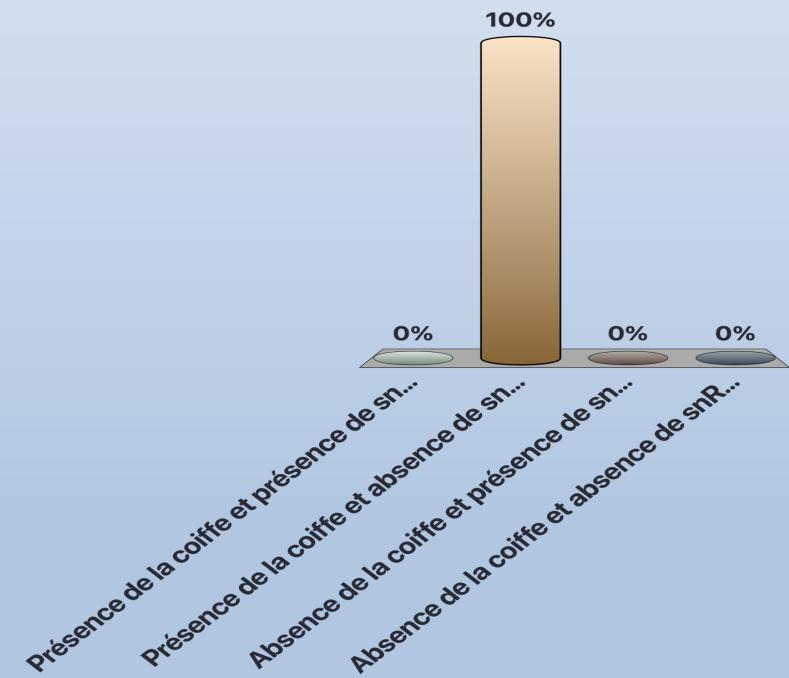
- Les activateurs et les inhibiteurs sont **en compétition**



- Qui gagne?
 - Dépend de l'accessibilité de leur site de liaison
 - Dépend de la structure en 3D (looping) aux alentours du TSS
 - Dépend aussi de la concentration/combinaison des protéines régulatrices

Qu'est ce qui définit qu'une molécule de ARNm soit exportée du noyau?

- A. Présence de la coiffe et présence de snRNPs
- B. Présence de la coiffe et absence de snRNPs
- C. Absence de la coiffe et présence de snRNPs
- D. Absence de la coiffe et absence de snRNPs



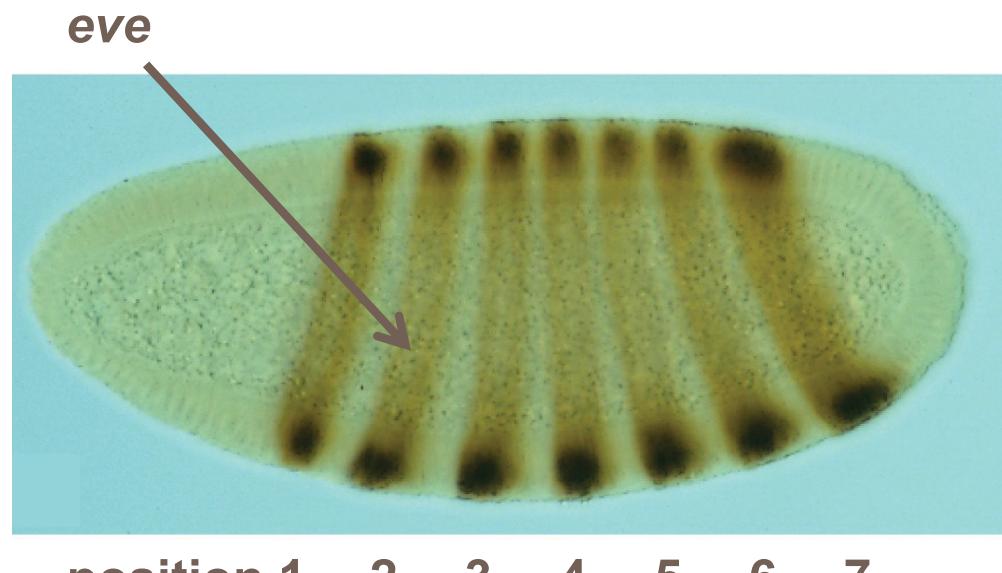
Combinaison des protéines régulatrices

- L'exemple du gène even-skipped (eve) chez *Drosophila melanogaster*



Combinaison des protéines régulatrices

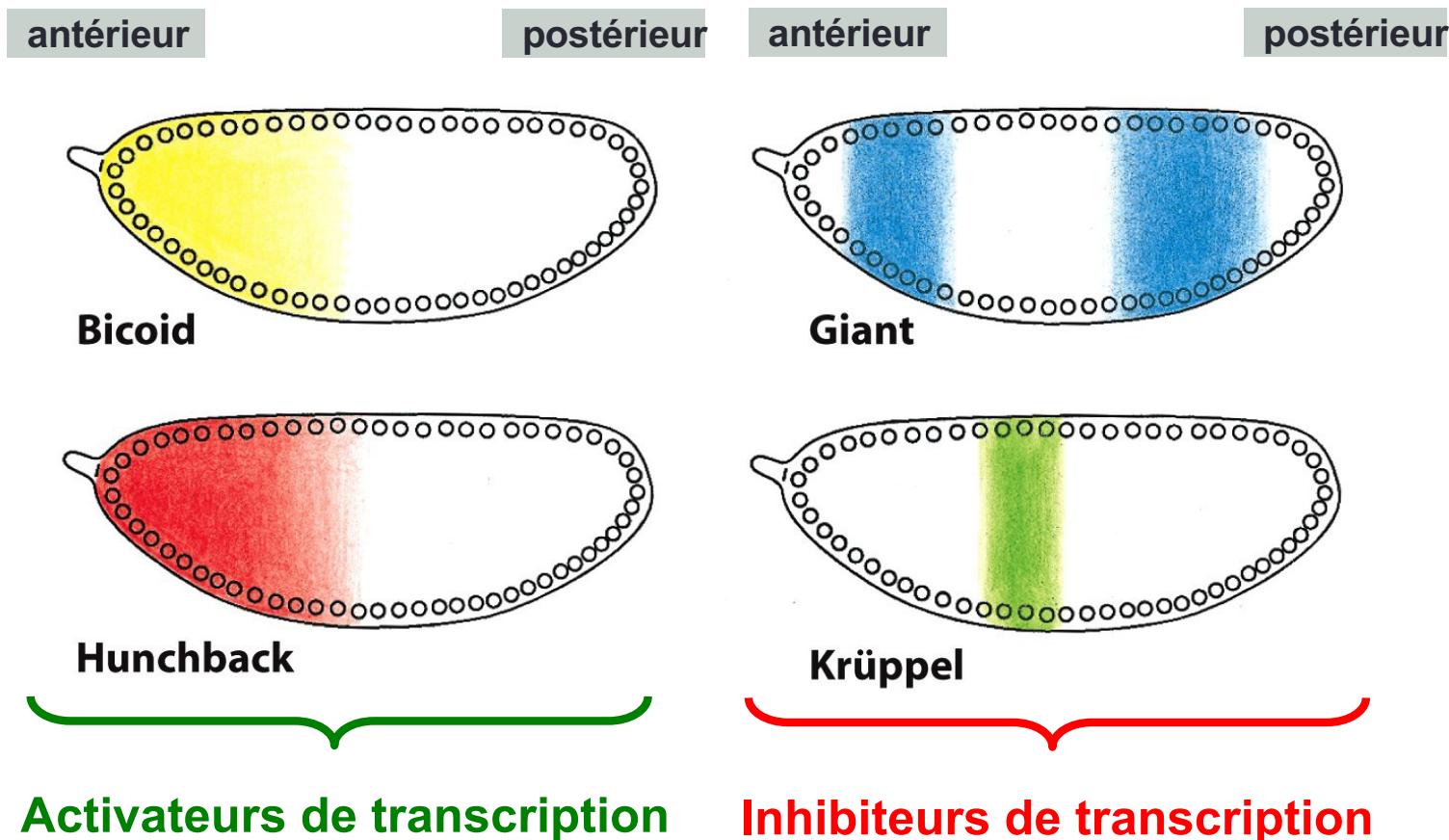
- *eve* est exprimé très tôt dans le développement embryonnaire de façon barrée/en bandes



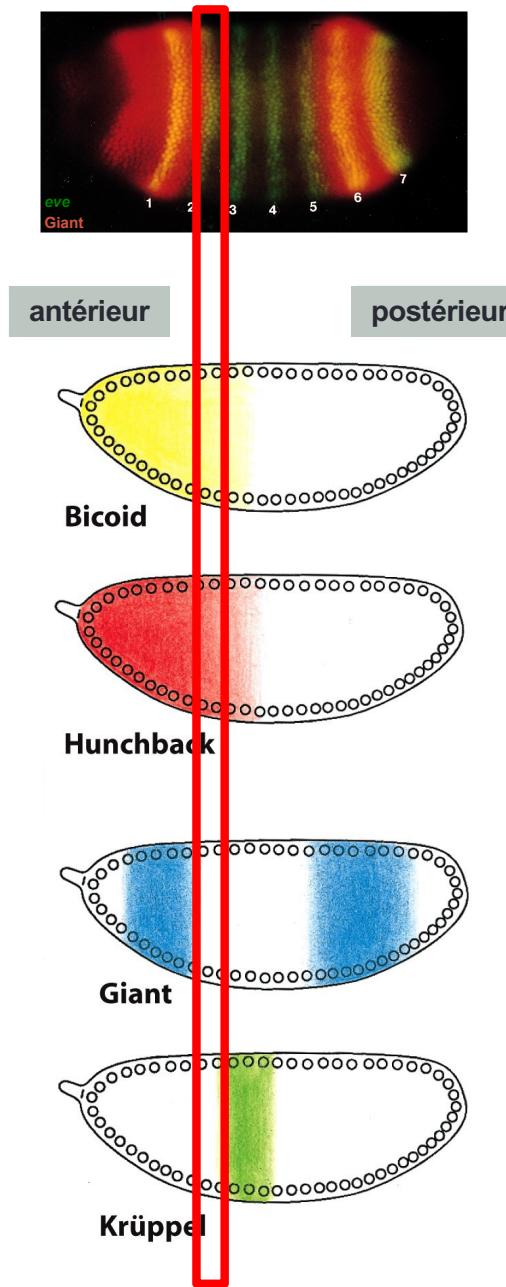
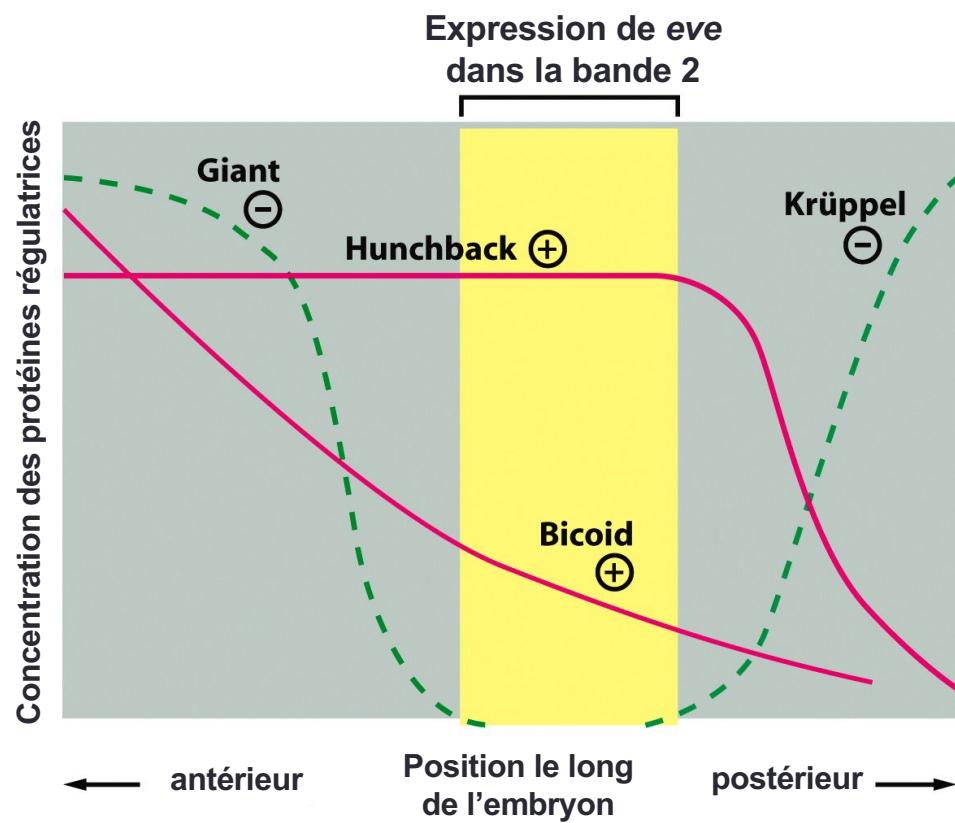
On veut comprendre quelles sont les protéines régulatrices responsable pour que *eve* soit exprimé dans la 2ème bande

Observation:

Gradient de concentration de facteurs de transcription



- Pour que **eve** soit exprimé sur la bande 2...
 - Bicoid et Hunchback doivent être présents
 - Krüppel et Giant doivent être absents



Comment les facteurs de transcription exécutent leur travail?

➤ Y a-t-il des **éléments de réponse** spécifiques pour ces facteurs de transcription dans le promoteur du gène eve?

Transcription – Initiation

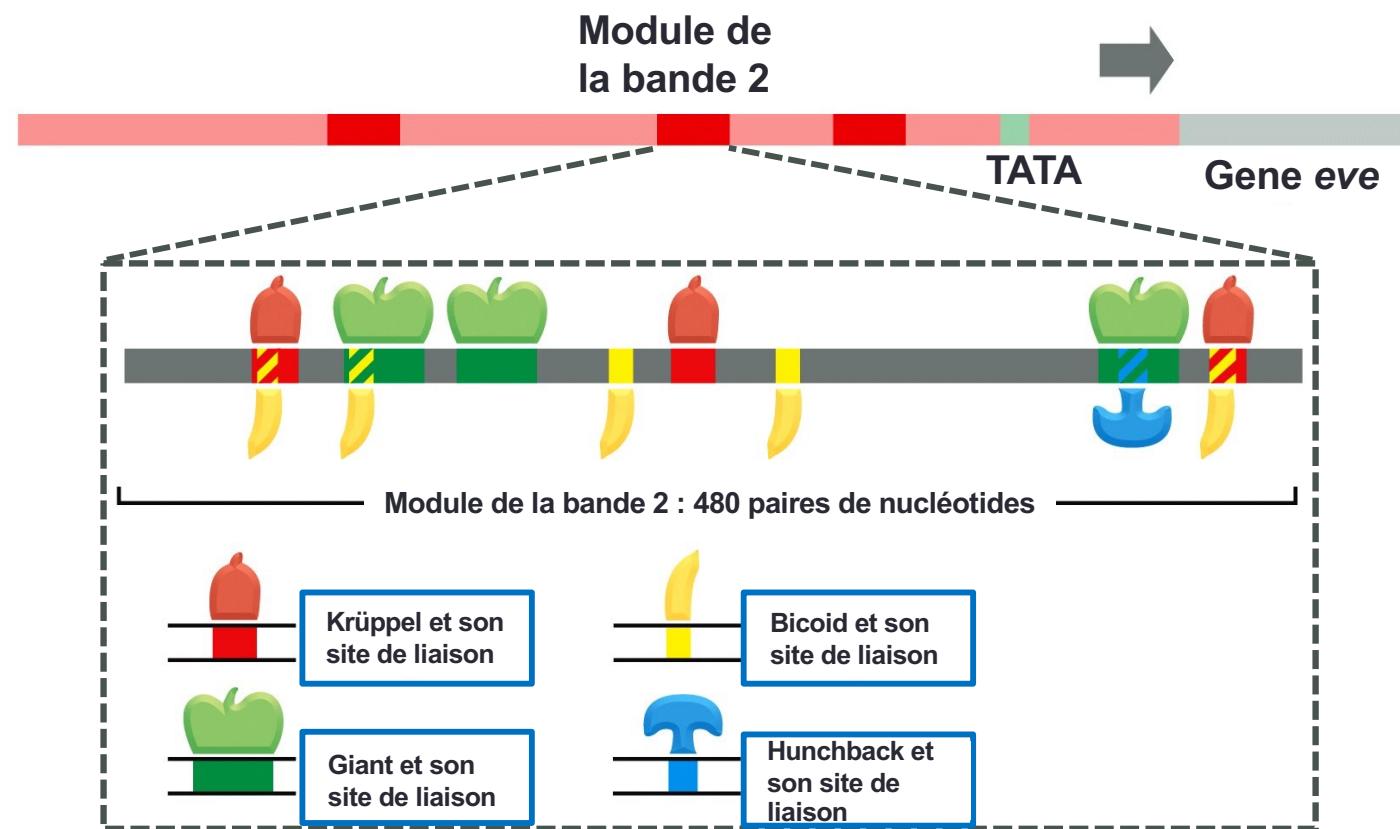
- Les facteurs de transcription reconnaissent des éléments de régulation situés près du promoteur
 - Ces séquences sont appelées éléments de réponse, éléments de contrôle ou éléments de régulation

The diagram illustrates the structural differences between prokaryotic and eukaryotic promoters during transcription initiation.

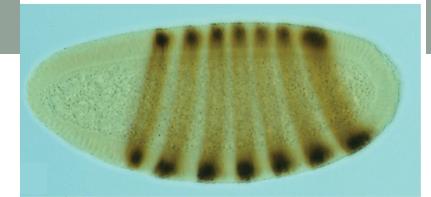
Promoteur procaryote: Shows a DNA double helix with transcription starting at position +1. Key elements include the -35 (6 bp) operator, the -10 (6 bp) promoter, and the -10 (17-19 bp) Pribnow box. A scale bar indicates 10 bp.

Promoteur eucaryote ARNpol II: Shows a more complex organization. It includes the TFIIB recognition box element (from -37 to -32), the TATA box (from -31 to -26), and the Initiator element (from +1). The DNA sequence is labeled +1 INR. Downstream elements include the DPE (from +28 to +34) and the Downstream promoter element. A scale bar indicates 10 bp.

Y a-t-il des **éléments de réponse** spécifiques pour ces facteurs de transcription dans le promoteur du gène eve?

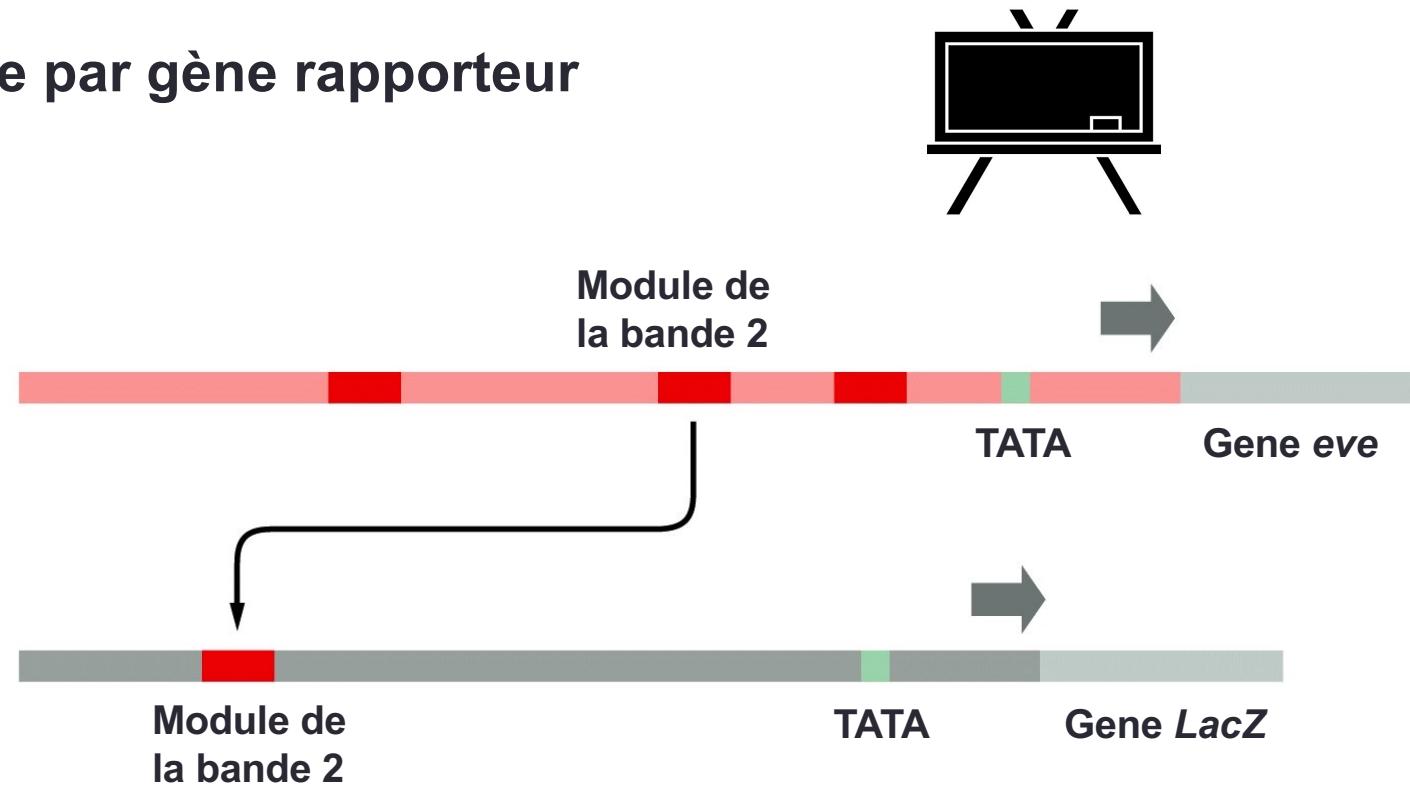


- Le module de la bande 2 contient des **sites de liaisons** pour les 4 facteurs de transcription



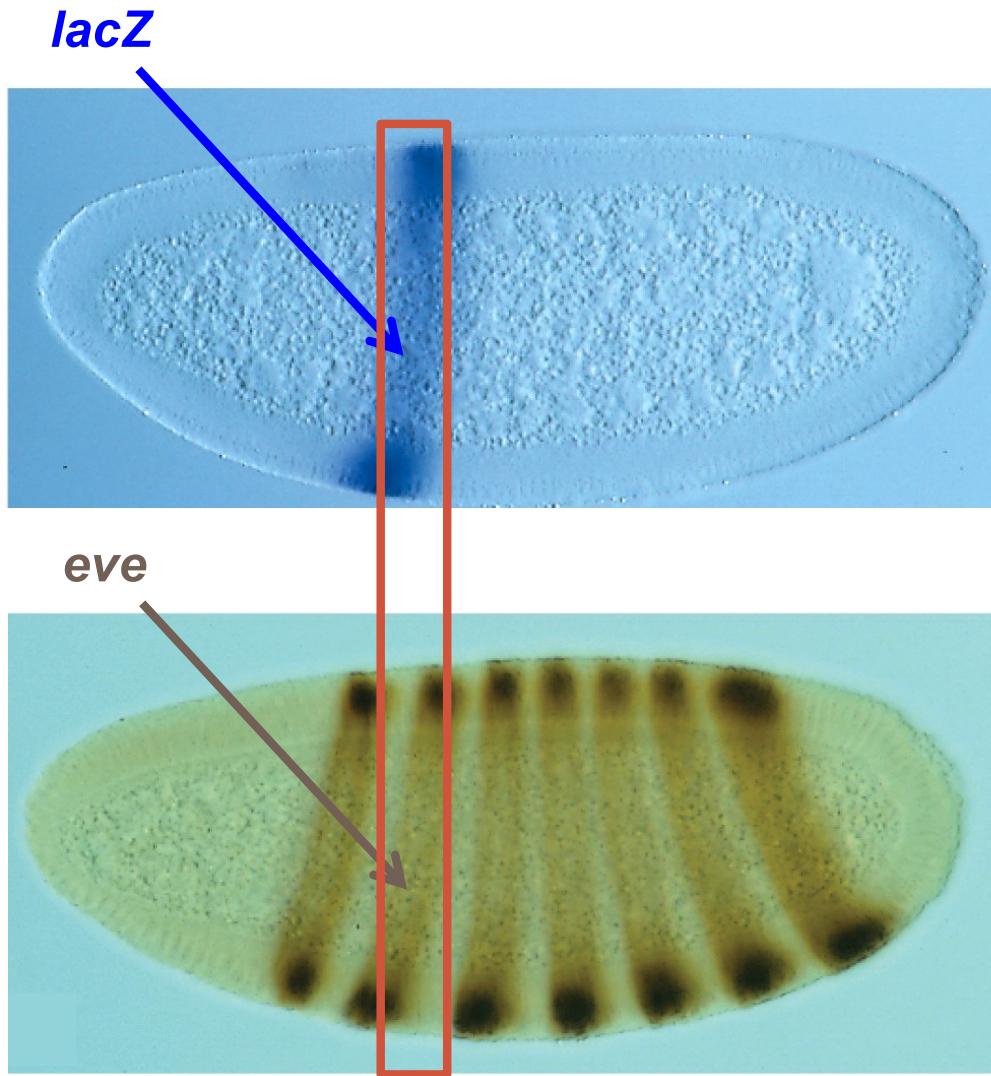
Est-ce que ce module est fonctionnel pour déterminer l'expression de *ève* exactement à la bande 2?

➤ Analyse par gène rapporteur



Combinaison des protéines régulatrices

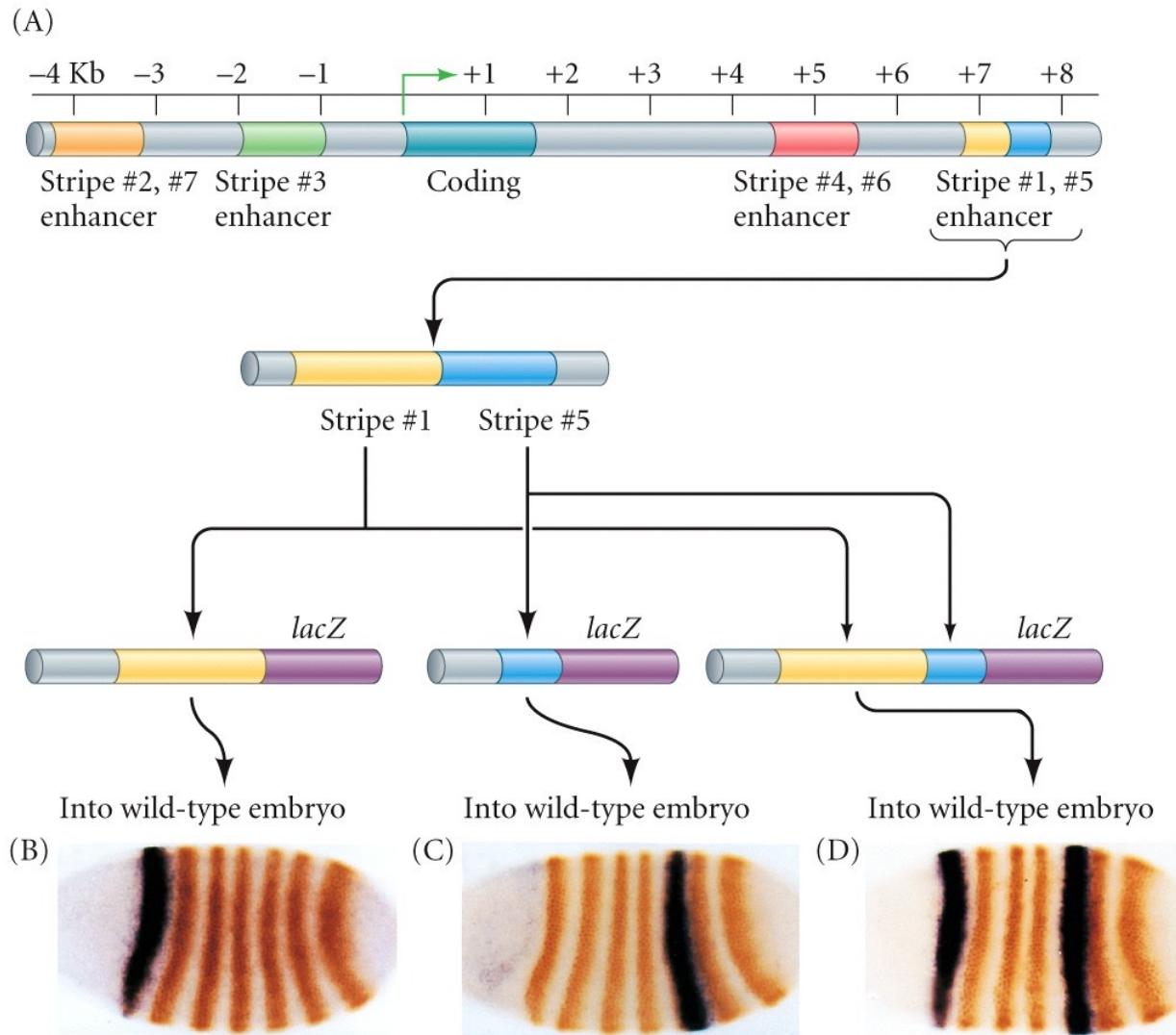
Résultat:



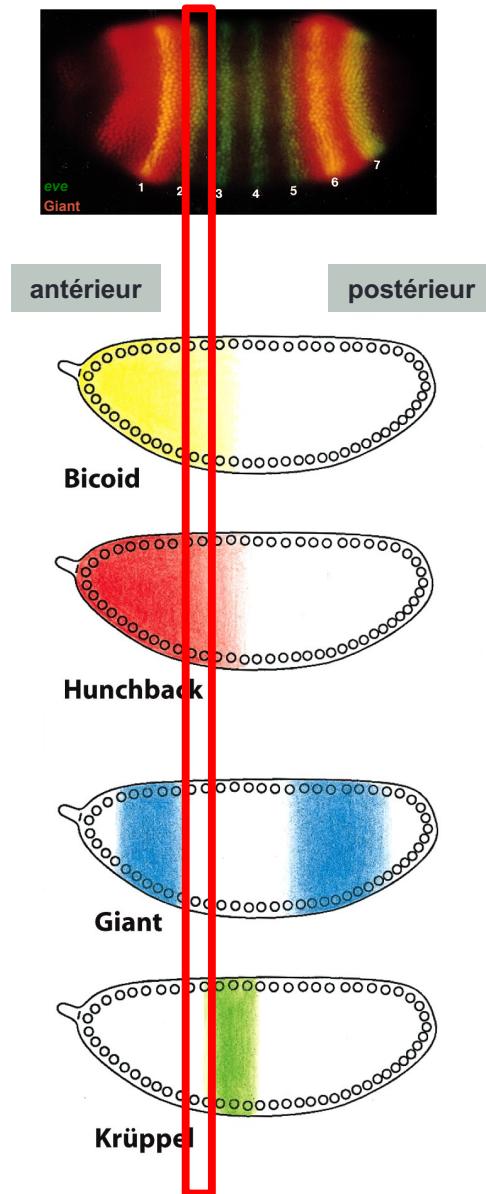
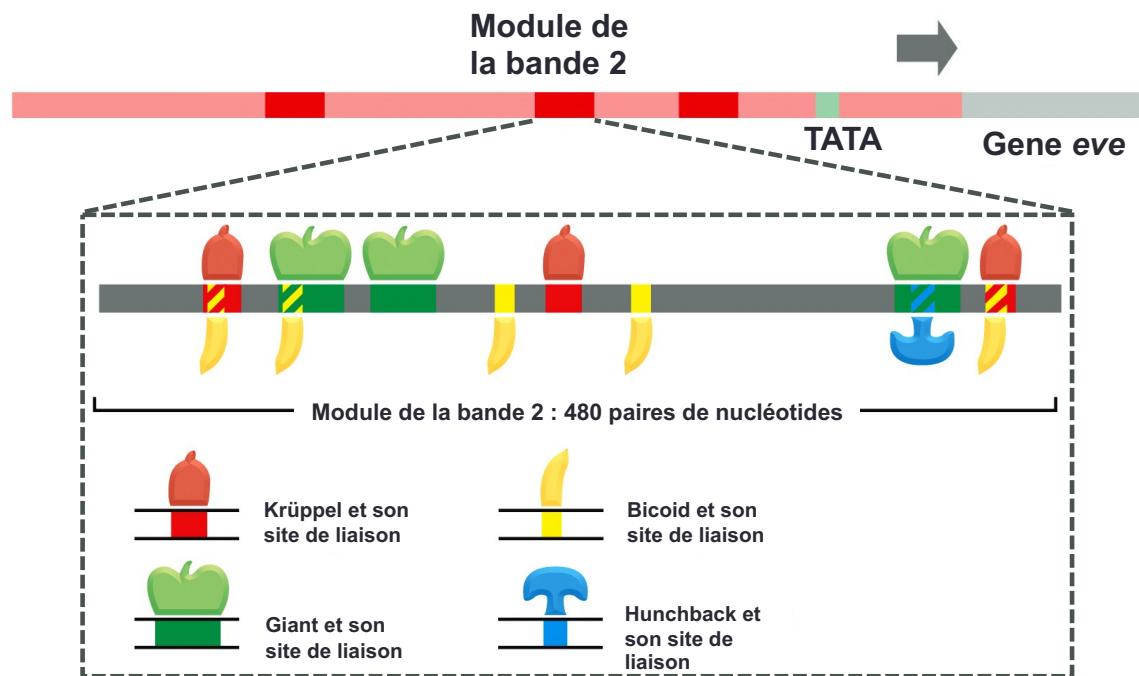
- *lacZ* est exprimé à la même position que le gène *eve* sur la bande 2
- Le module génétique de la bande 2 détermine l'expression de *eve*

Combinaison des protéines régulatrices

- Ceci est d'ailleurs vrai pour chaque bande



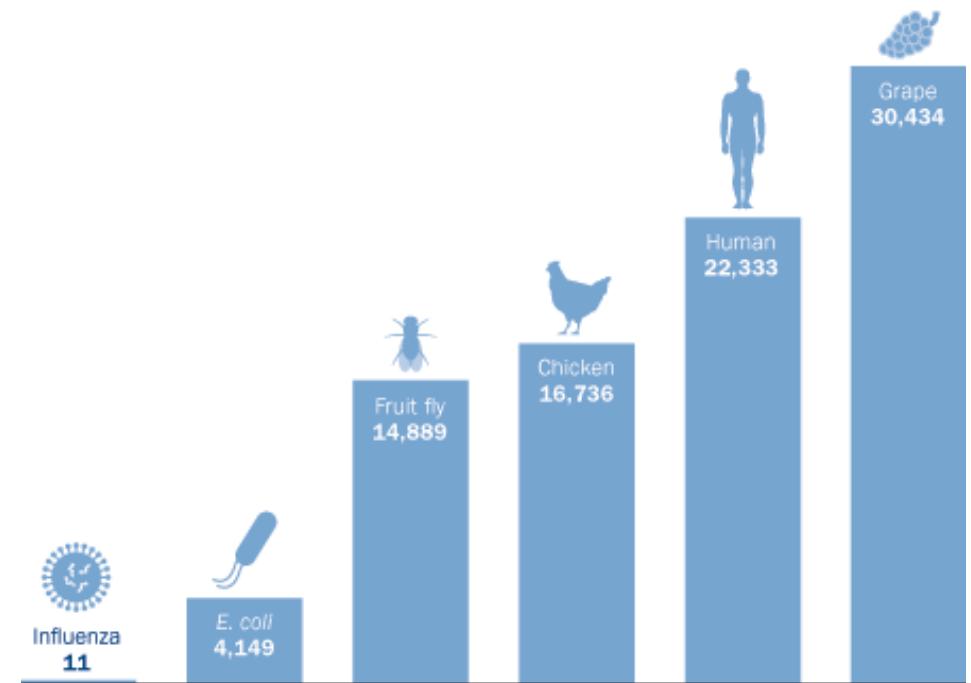
- Résumé eve:



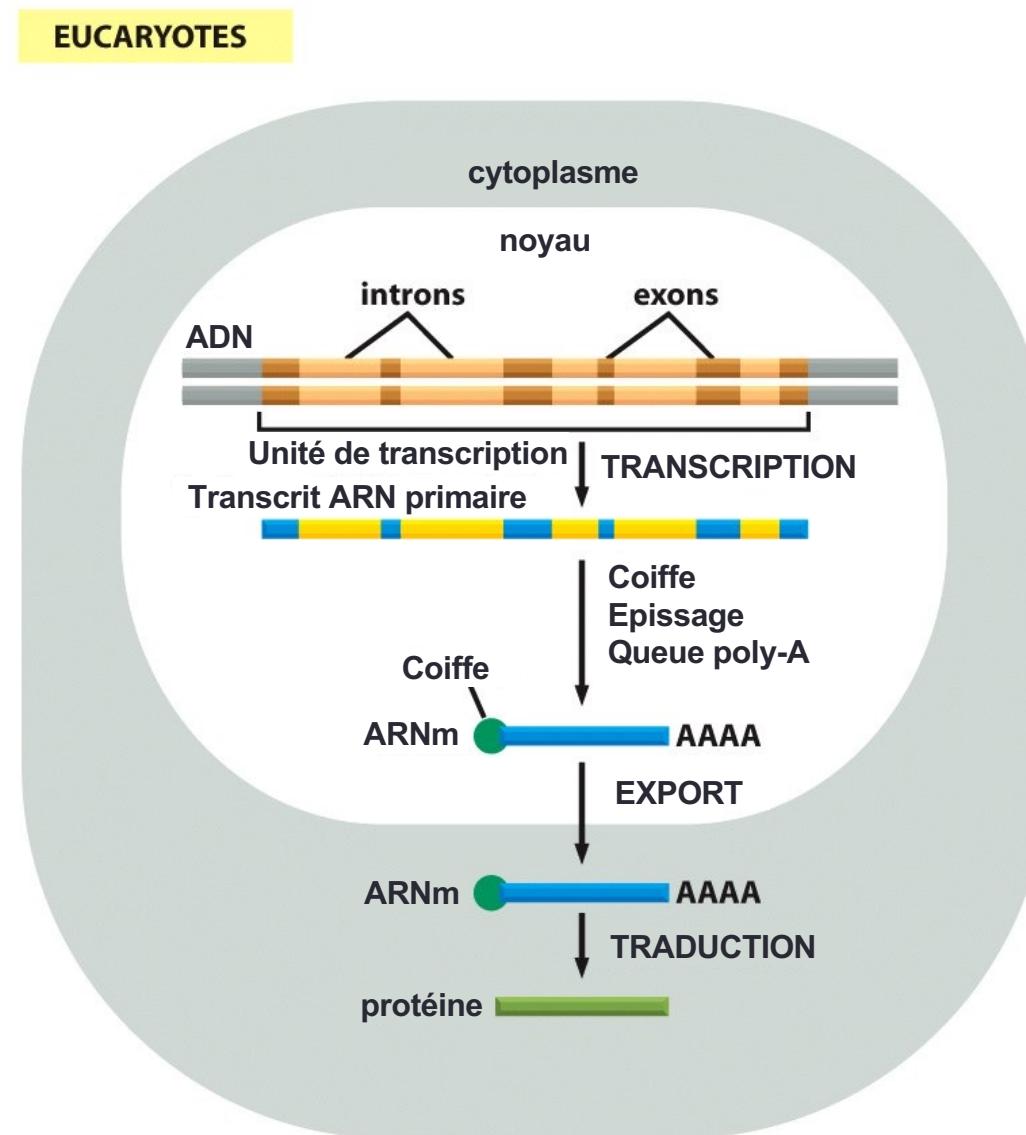
- Le **gradient de concentration** des activateurs et des répresseurs ainsi que leur **éléments de réponses** garantissent que *eve* est exprimé précisément (à la bande 2)

Contrôle combinatoire de la transcription

- permet la grande complexité de la nature humaine...
 - Estimation du nombre de gènes par organisme :



Résumé transcription eucaryotique:



Mots clés:

maturation exon ARNPolI
Giant brassage médiateur BRE
TFIIE queue-poly-A eve ARNSn
Bicoid coiffe intron ARNm eve ARNSn
TFIIC TBP ARNr épissage TATA Hunchback
TFIIC Hunchback ARNPolII
ARNPolII ARNPolIII ARNPolIII ARNPolIII ARNPolIII ARNsno

Transcription II

- **Objectifs d'apprentissage:**
 - Connaître les différences entre la transcription chez les bactéries et celle des eucaryotes
 - Connaître les étapes clés de la transcription chez les eucaryotes
 - Connaître les rôles de la coiffe, de l'épissage et de la queue poly-A
 - Connaître le concept du contrôle combinatoire, la notion de la région de contrôle d'un gène ainsi que les mécanismes de l'approchement physique des éléments importants pour la transcription
 - Connaître le concept de la combinaison des facteurs de transcription en se basent sur l'exemple du gène eve chez la Drosophile, y inclus l'essai par gène rapporteur