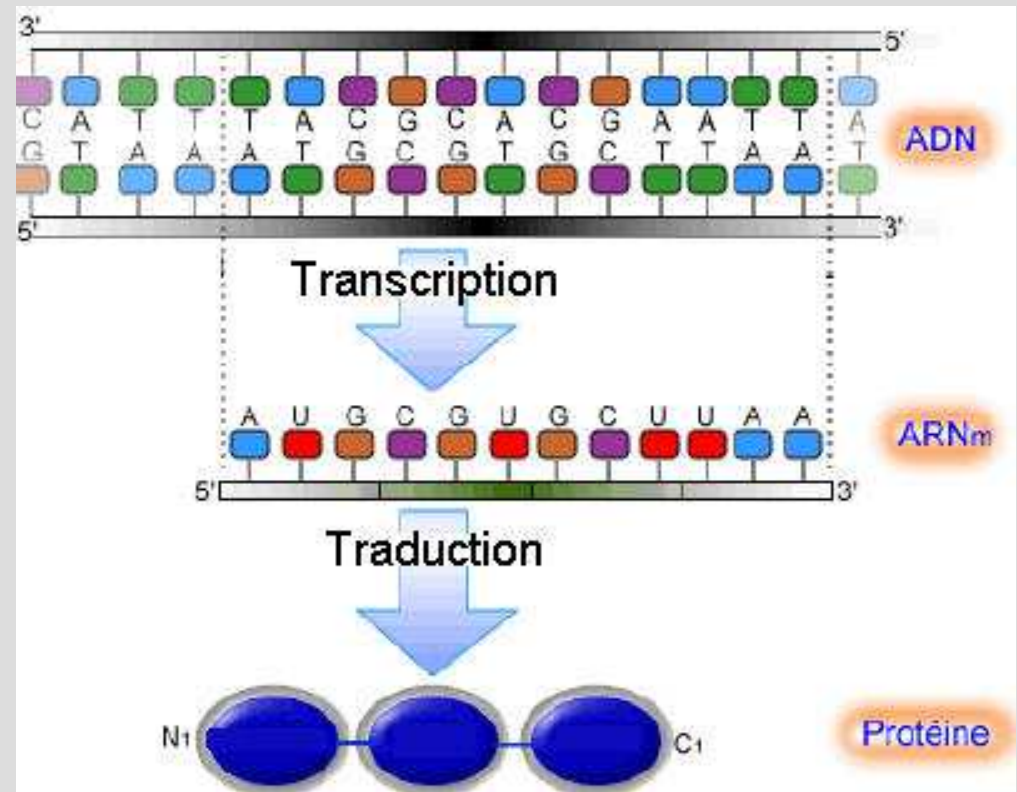
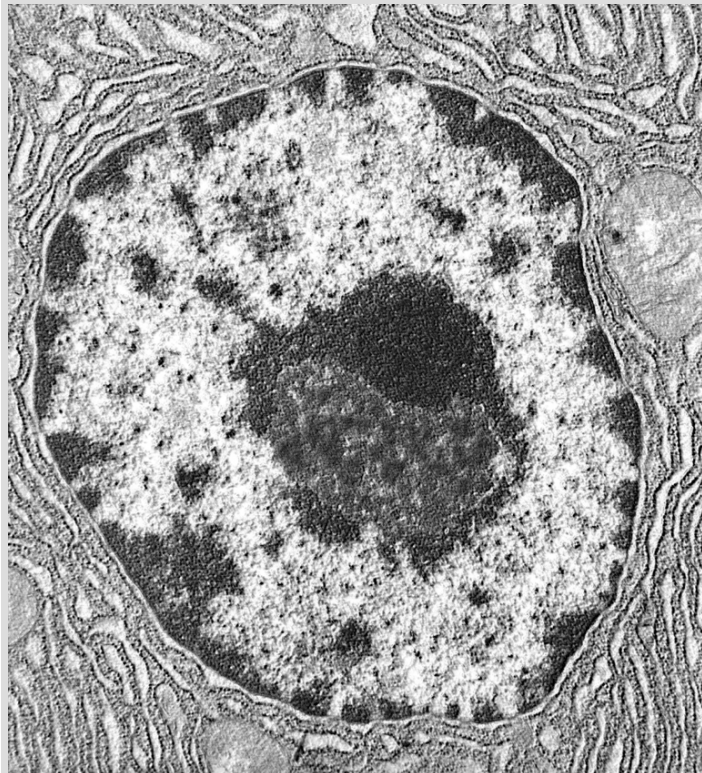
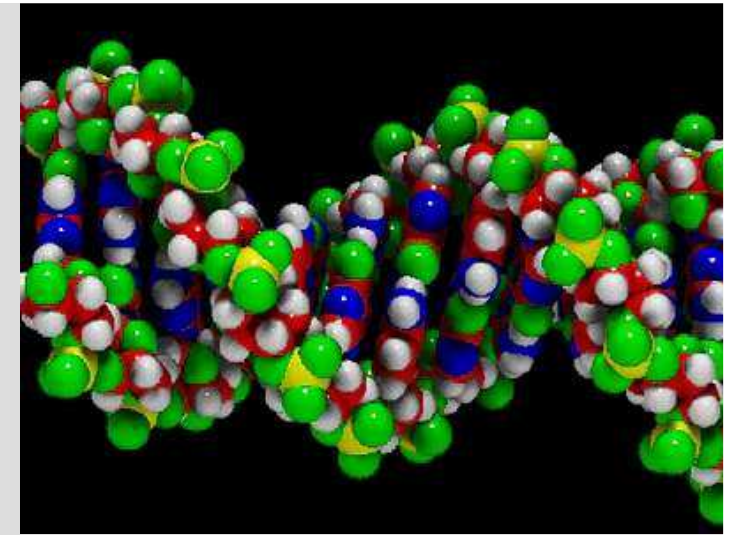
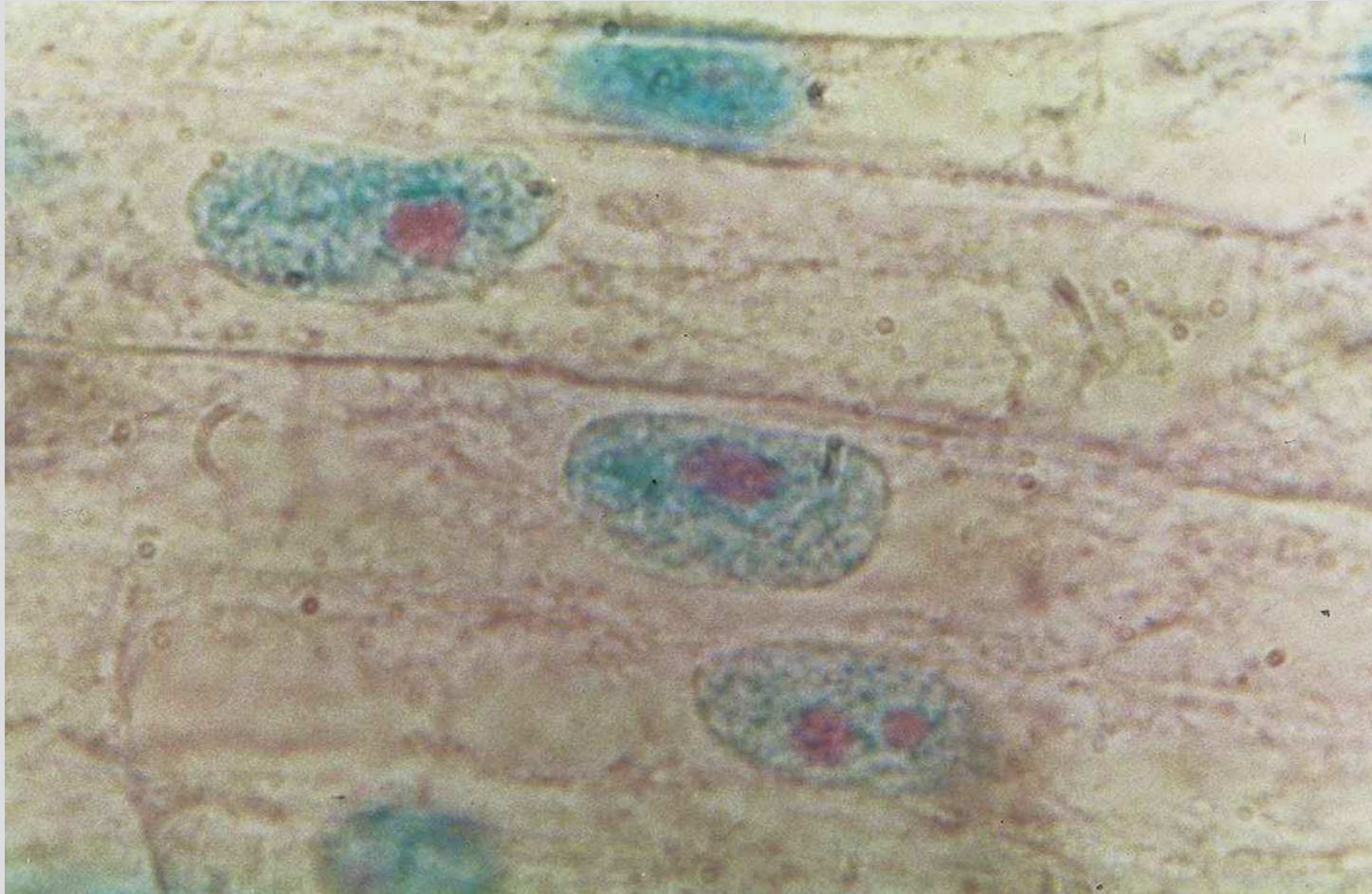


Chapitre IV – B :
Génomique structurale et fonctionnelle
Partie B :
L'expression du génome: la transcription et son contrôle





Test de Brachet
sur des cellules de racine d'Oignon (M.O.)
Le vert de méthyle colore en vert l'ADN,
la pyronine colore en rouge l'ARN.

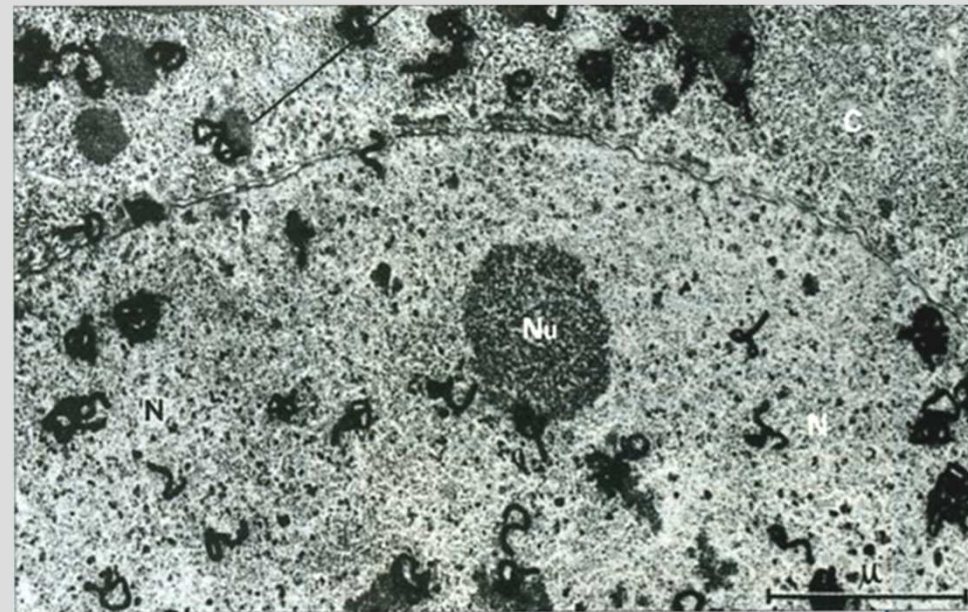
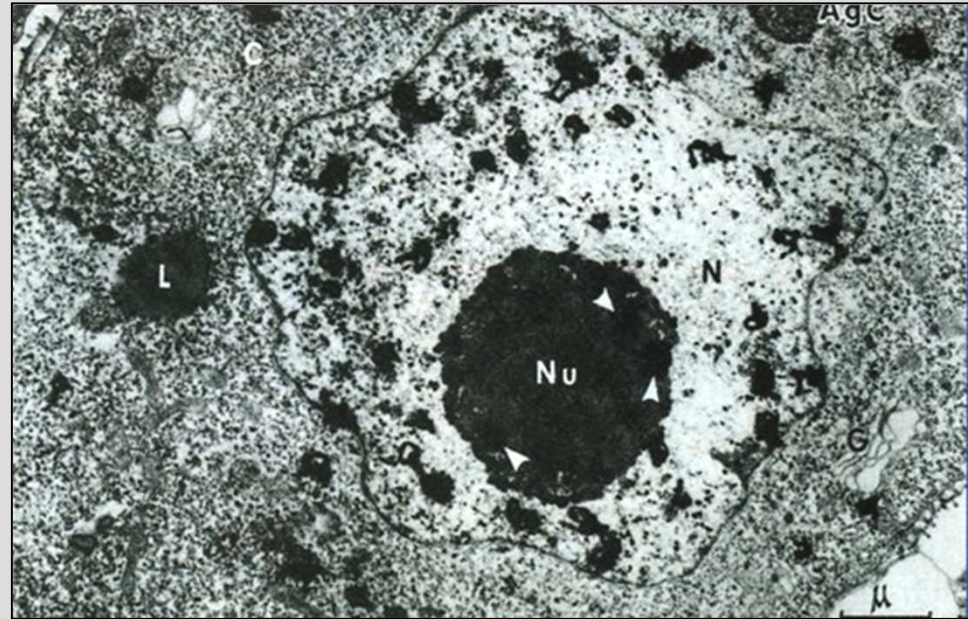
**Mise en évidence de la
synthèse et du devenir de
l'ARN.**

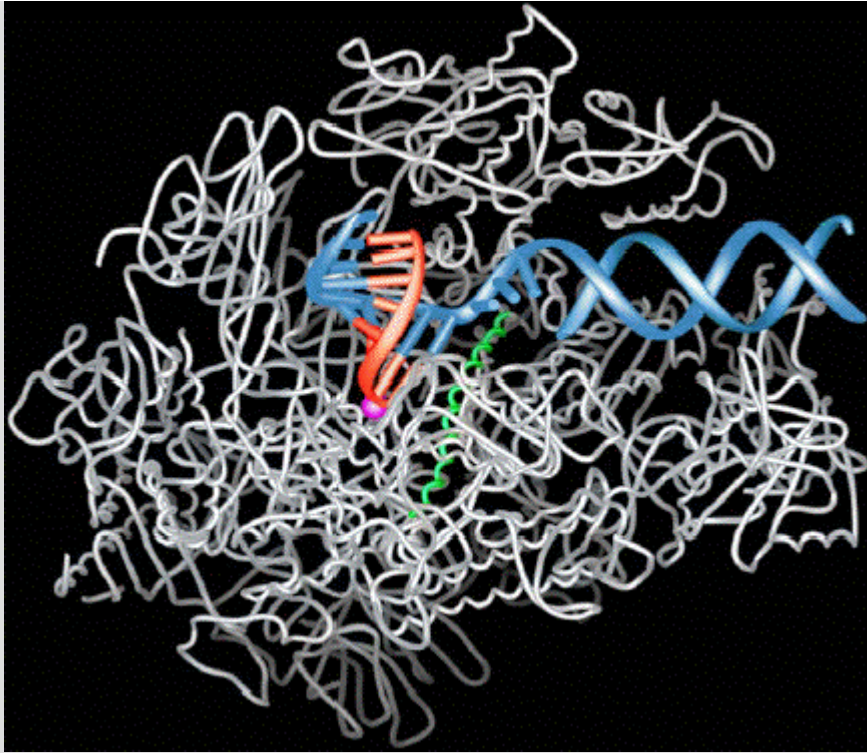
Les cellules sont mises en culture pendant quelques minutes sur un milieu contenant de l'uridine tritiée, nucléotide spécifique des ARN.

En haut : autoradiographie réalisée après 12 h de chasse (MET x 13 000).

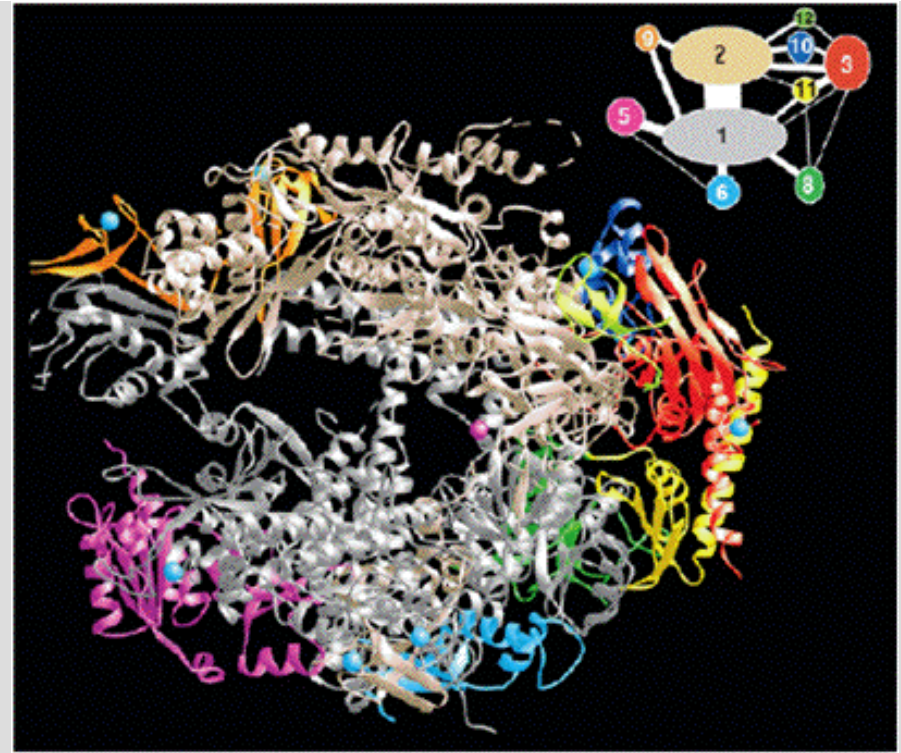
En bas : autoradiographie réalisée après trois jours de chasse (MET x 28 000).

(“ SVT 1°S ” programme 2001, Nathan Ed.)





en blanc : ARN-polymérase
 en bleu : double hélice d'ADN
 en rouge : ARN en cours de formation
 en vert : structure qui fait avancer le brin
 d'ADN dans l'enzyme



L'ARN polymérase II

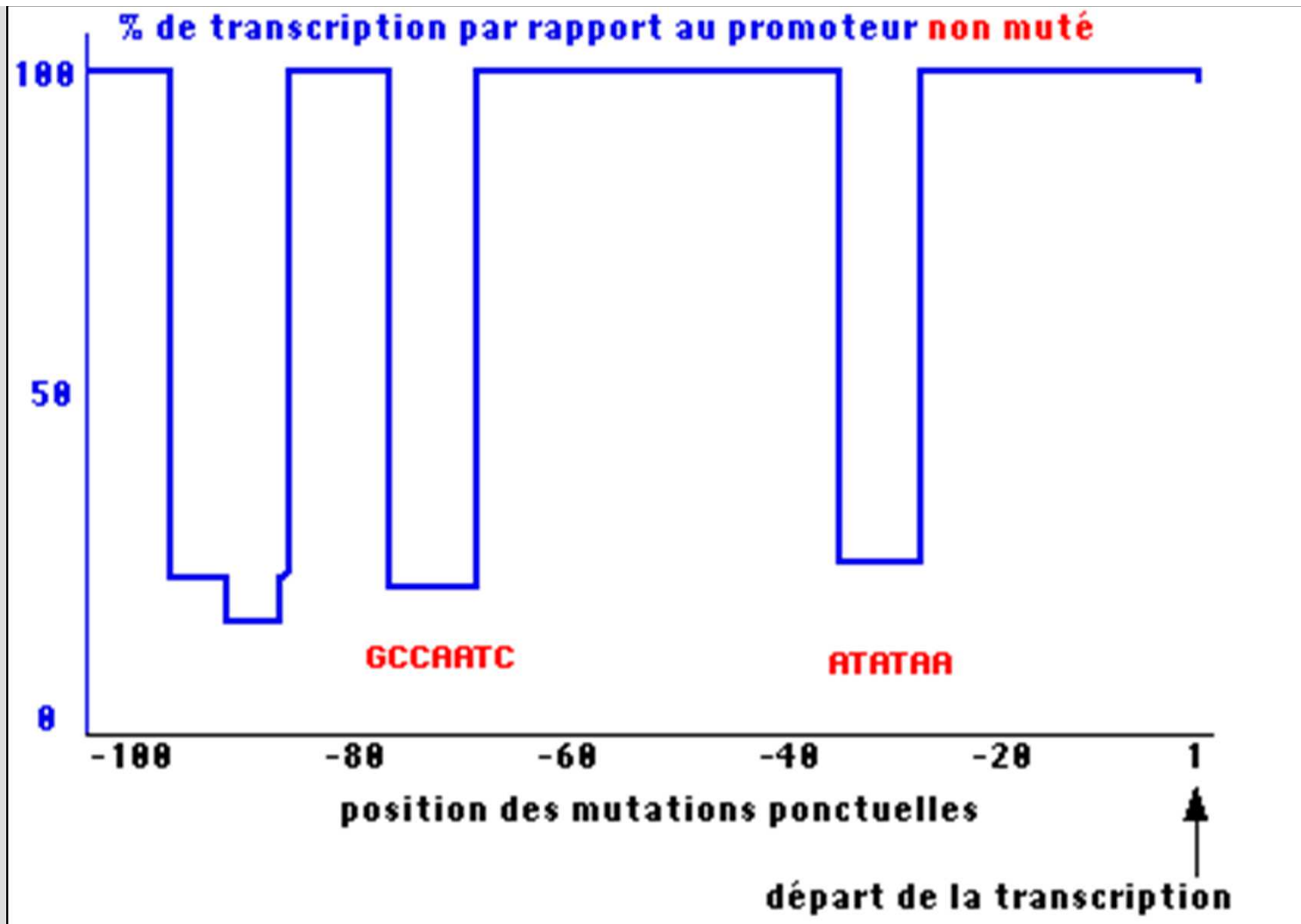
constituée de 12 sous-unités

Source des figures : R. D. Kornberg

[Nobel Lecture 2006](#) & [Cell Death and Differentiation 14](#)

L'ARN polymérase de type II

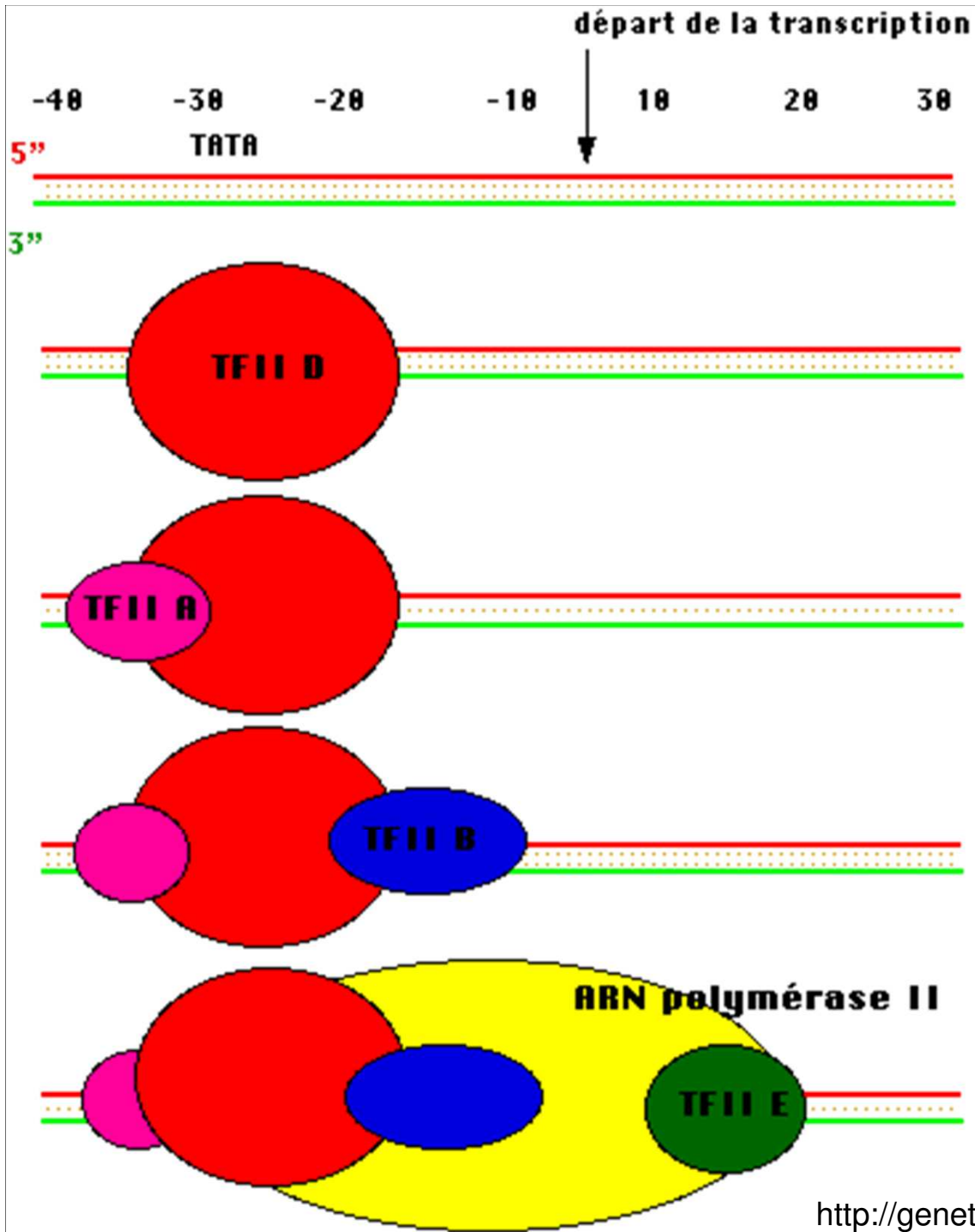
réalise la synthèse de tous les ARN messagers
 nucléaires qui seront traduits en protéines
 Elle nécessite plusieurs facteurs de transcription (TFII).



Document 10. Identification du rôle de certaines séquences du site promoteur.

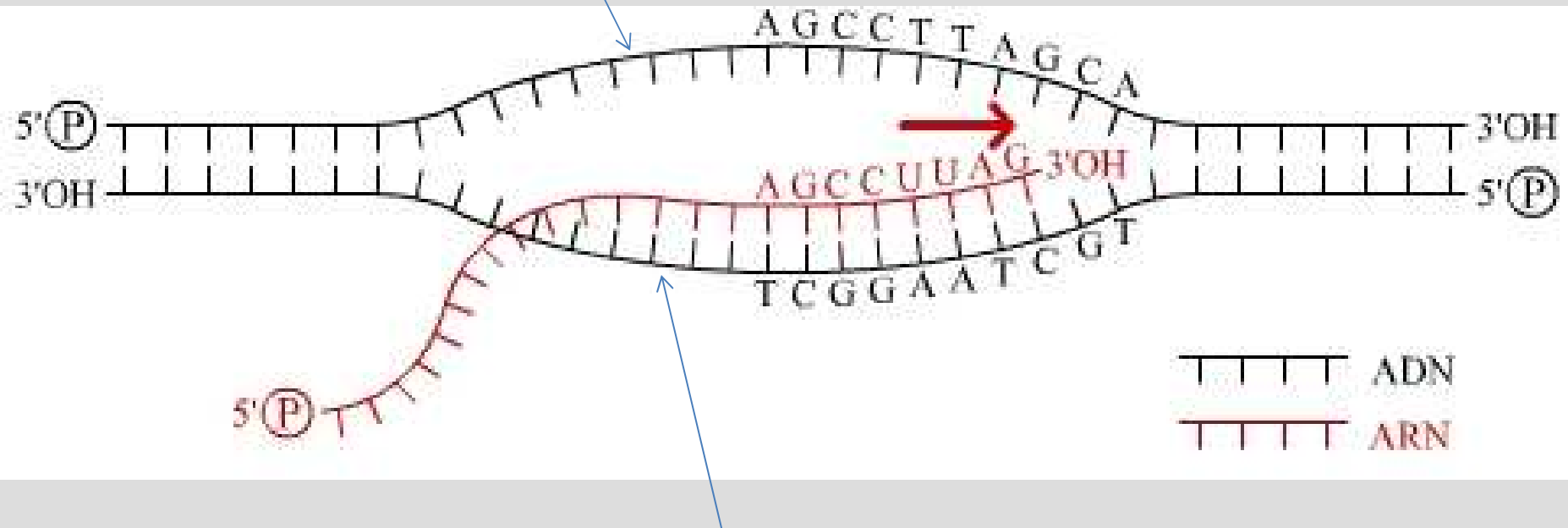
L'effet de mutations ponctuelles introduites à presque chaque position sur les 100 pb en amont du site de début de transcription est étudié pour le gène de la globine.

Pour certaines localisations, les mutations affectent de façon très importante la transcription.



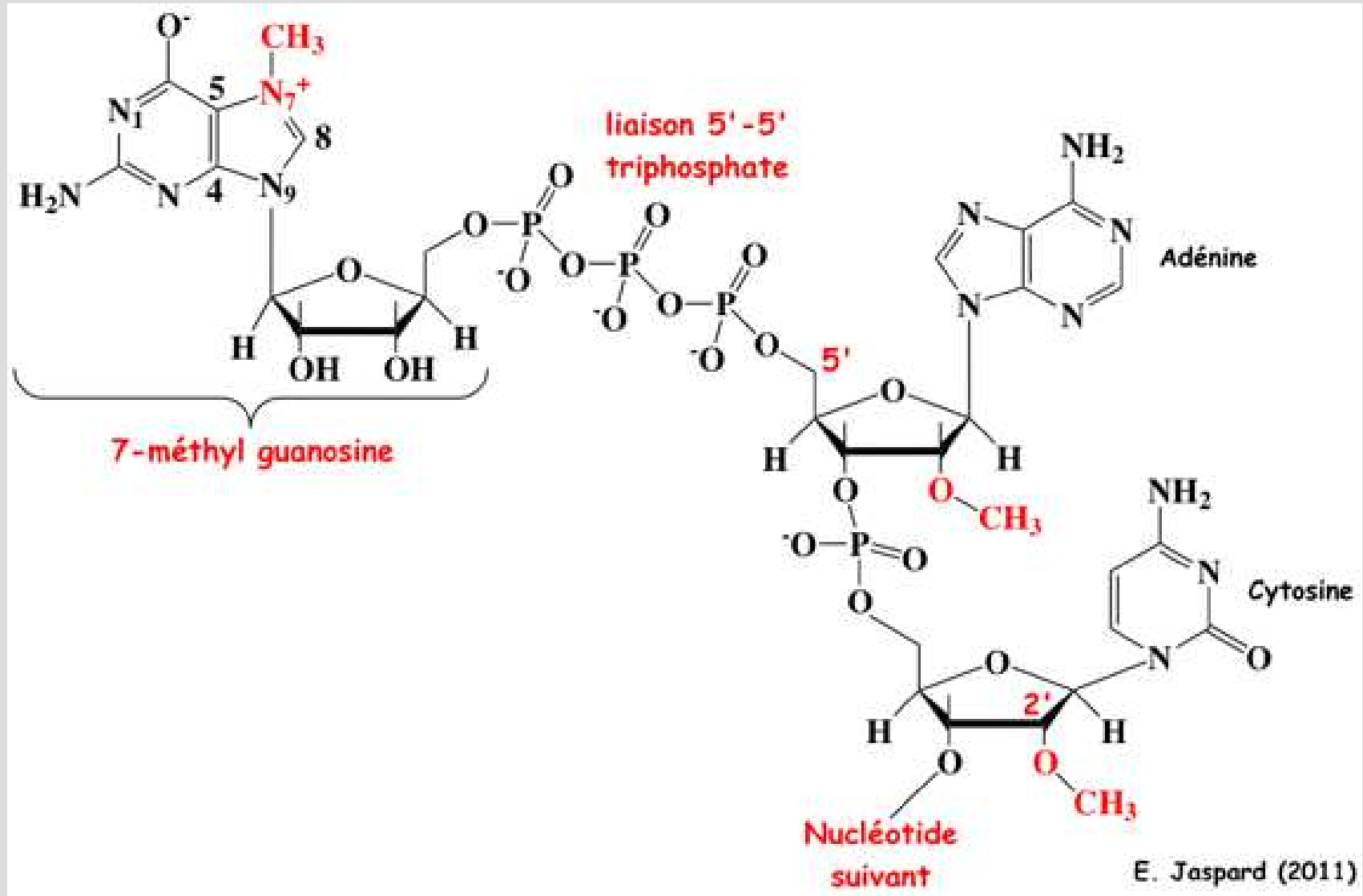
Document 11.
Formation du
complexe
d'initiation.

Brin codant ou brin sens

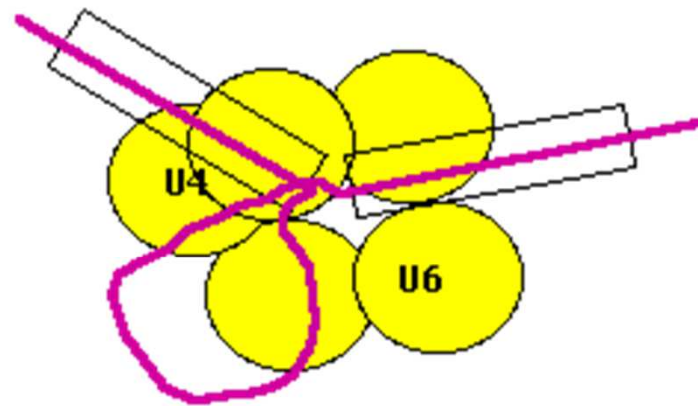
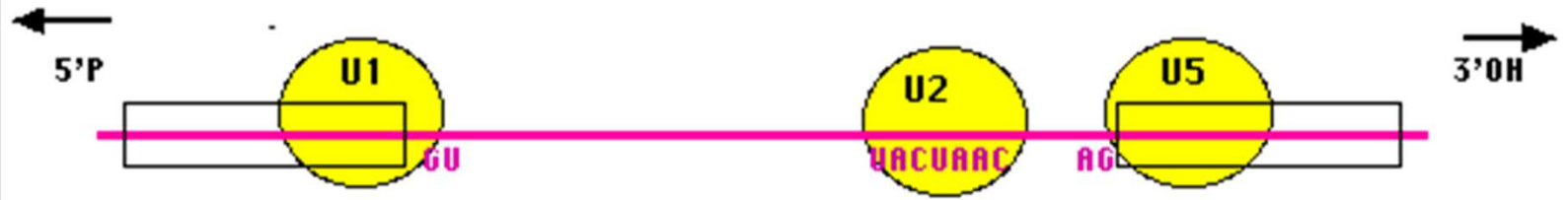


Brin matrice

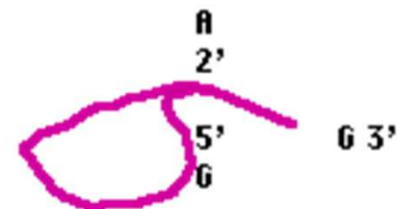
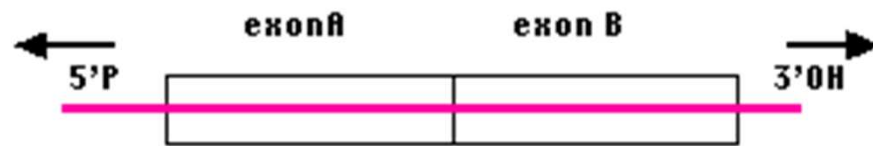
Document 12. Phase d'élongation
et formation d'une bulle de transcription.



Mise en place de la coiffe en 5'

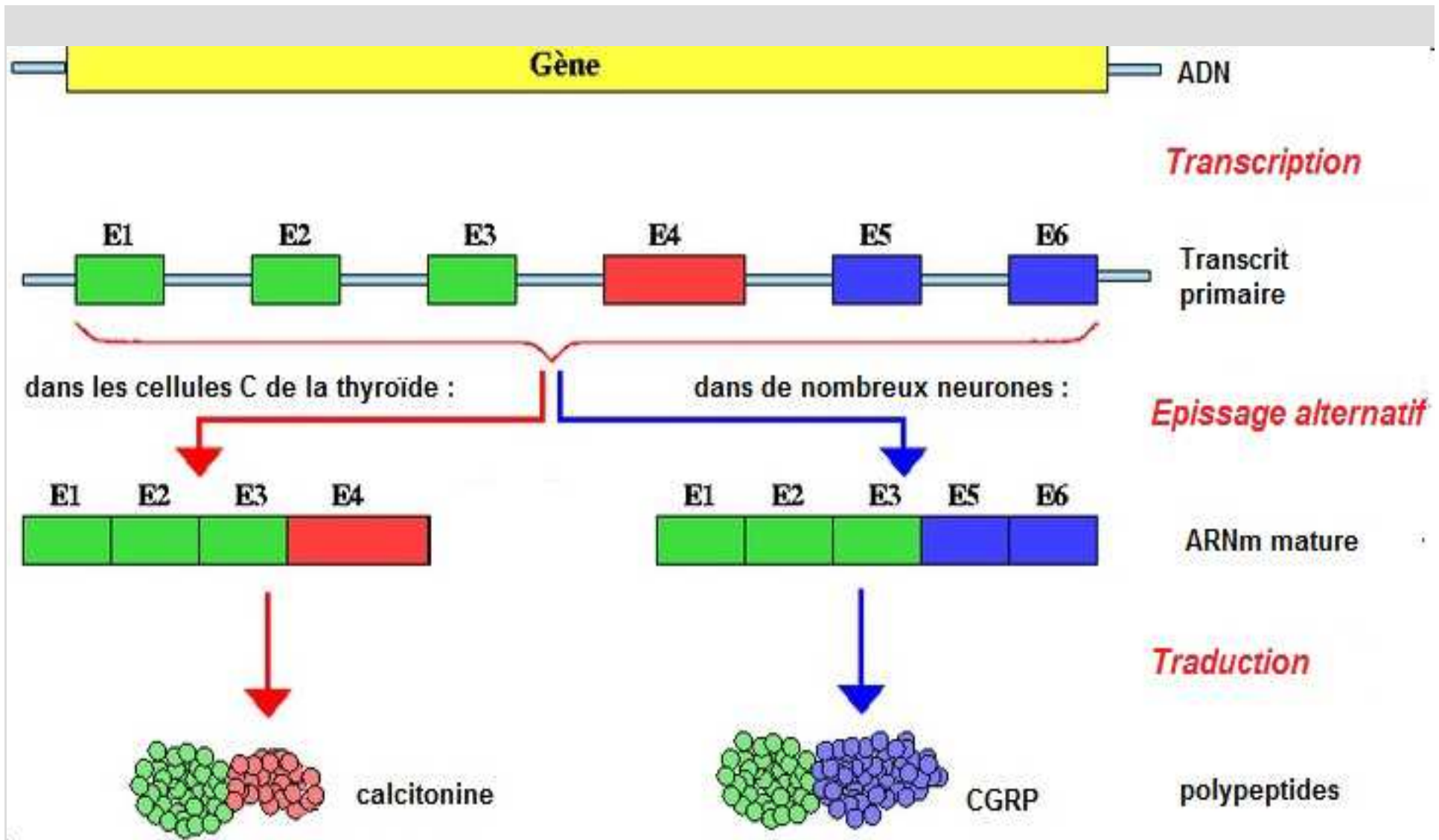


Les différents snRNP s'associent en un édifice qui replie l'intron et permet son élimination sous forme d'un « lasso ».



L'épissage

En jaune :
les snRNP

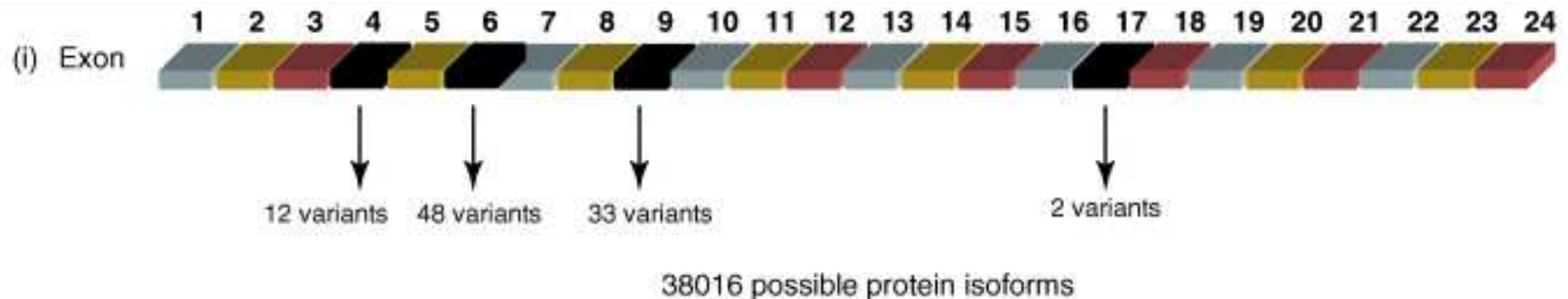


Document 13. Un épissage alternatif tissu dépendant : l'épissage alternatif calcitonine / CGRP.

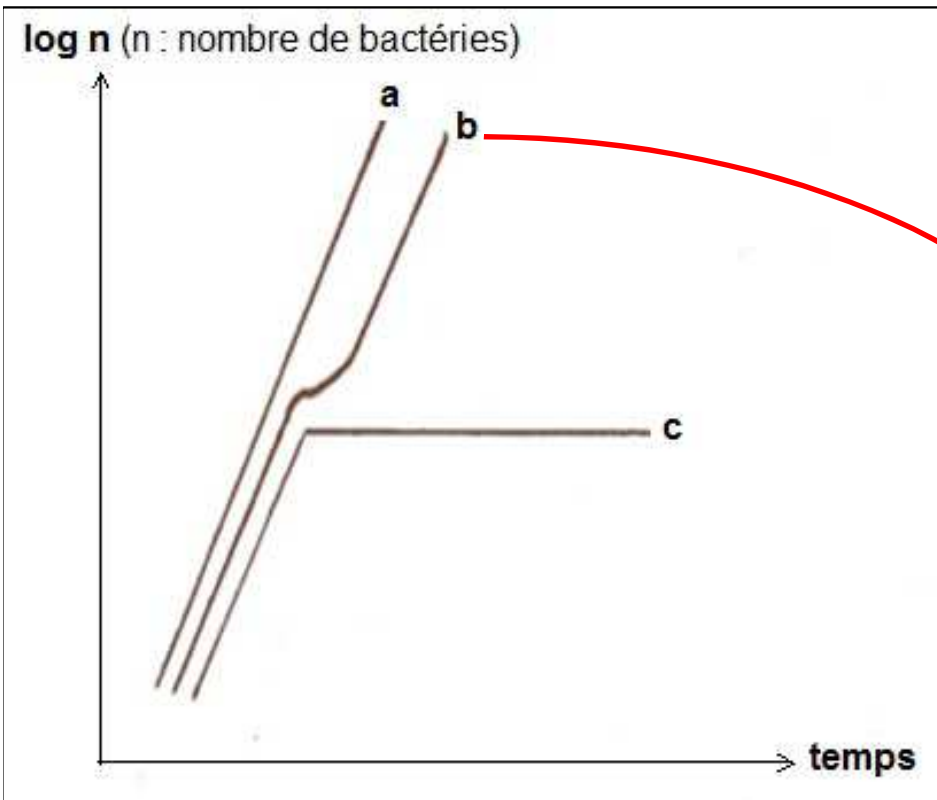
Le gène DSCAM

(Down Syndrom Cell Adhesion Molecule)

de la Drosophile peut
coder jusqu'à 38 016
ARNm différents



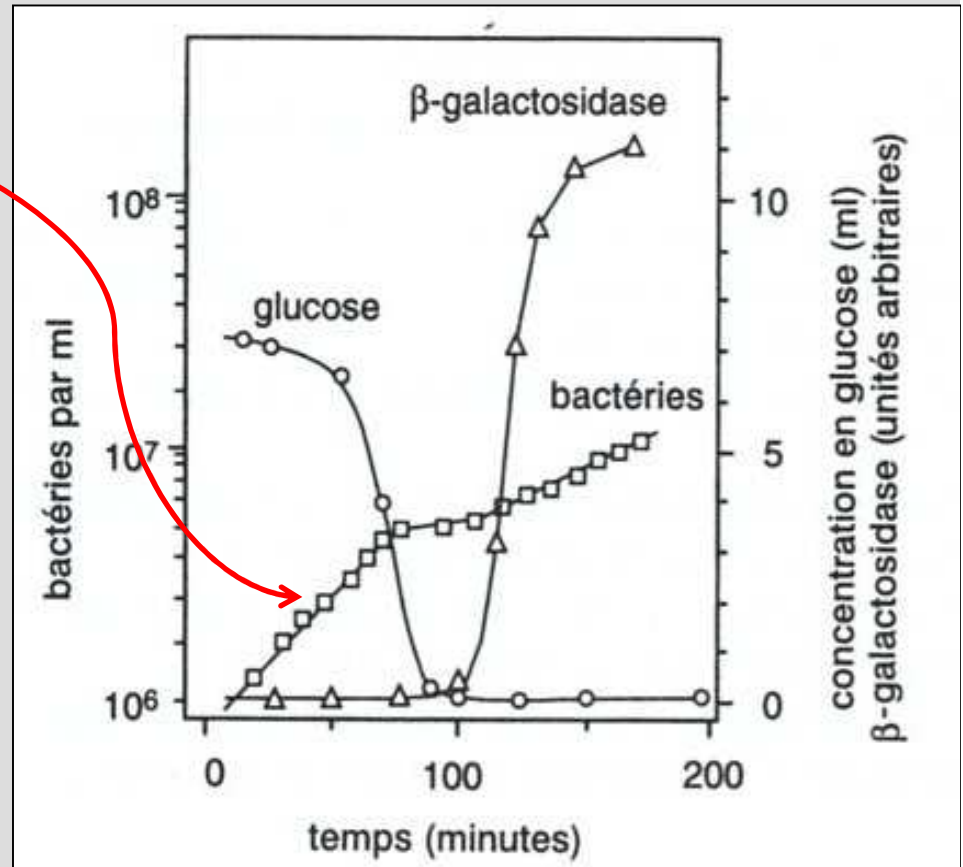
Les protéines codées sont des protéines membranaires intervenant dans le guidage des axones durant le développement post-embryonnaire.



Mise en évidence du phénomène de diauxie.

Souches d'E. coli :

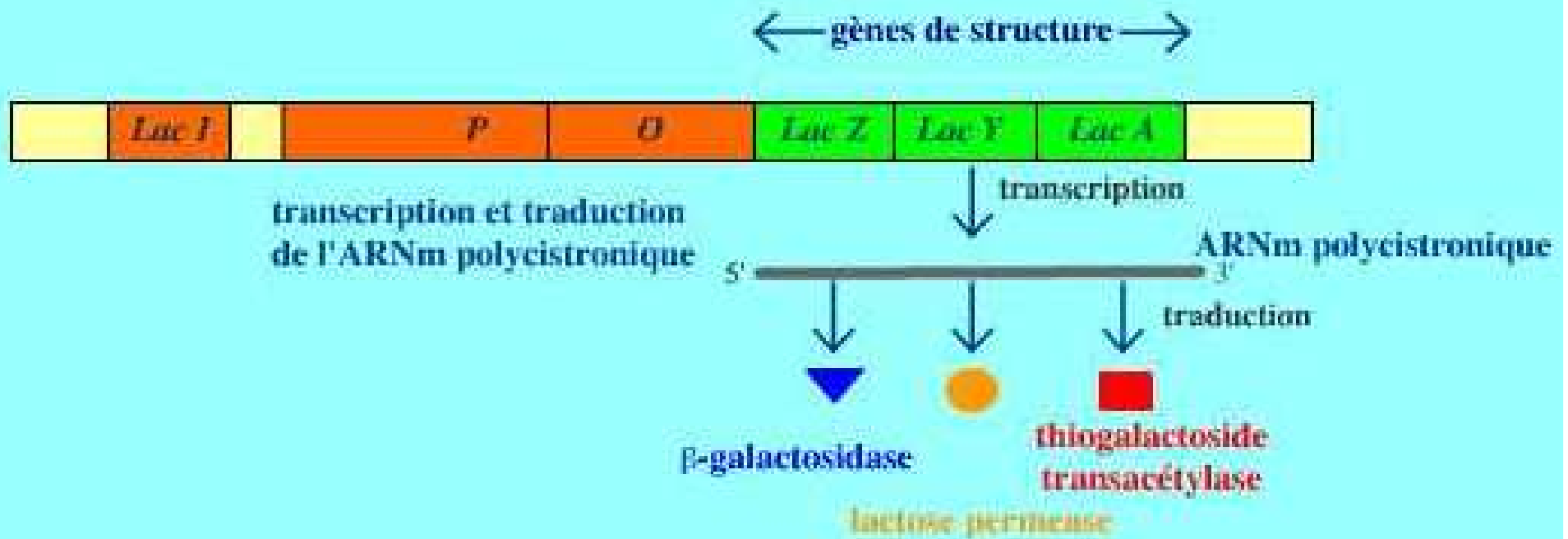
- (a) souche lac⁺ sur lactose
- (b) souche lac⁺ sur glucose limitant et lactose
- (c) souche lac⁻ sur glucose limitant et lactose



Document 14. Mise en évidence expérimentale du contrôle de l'opéron lactose.

(WILSON J. et HUNT T., " Biologie moléculaire de la cellule – livre d'exercices ", 3^e édition, Médecine-Sciences - Flammarion Ed., 1995).

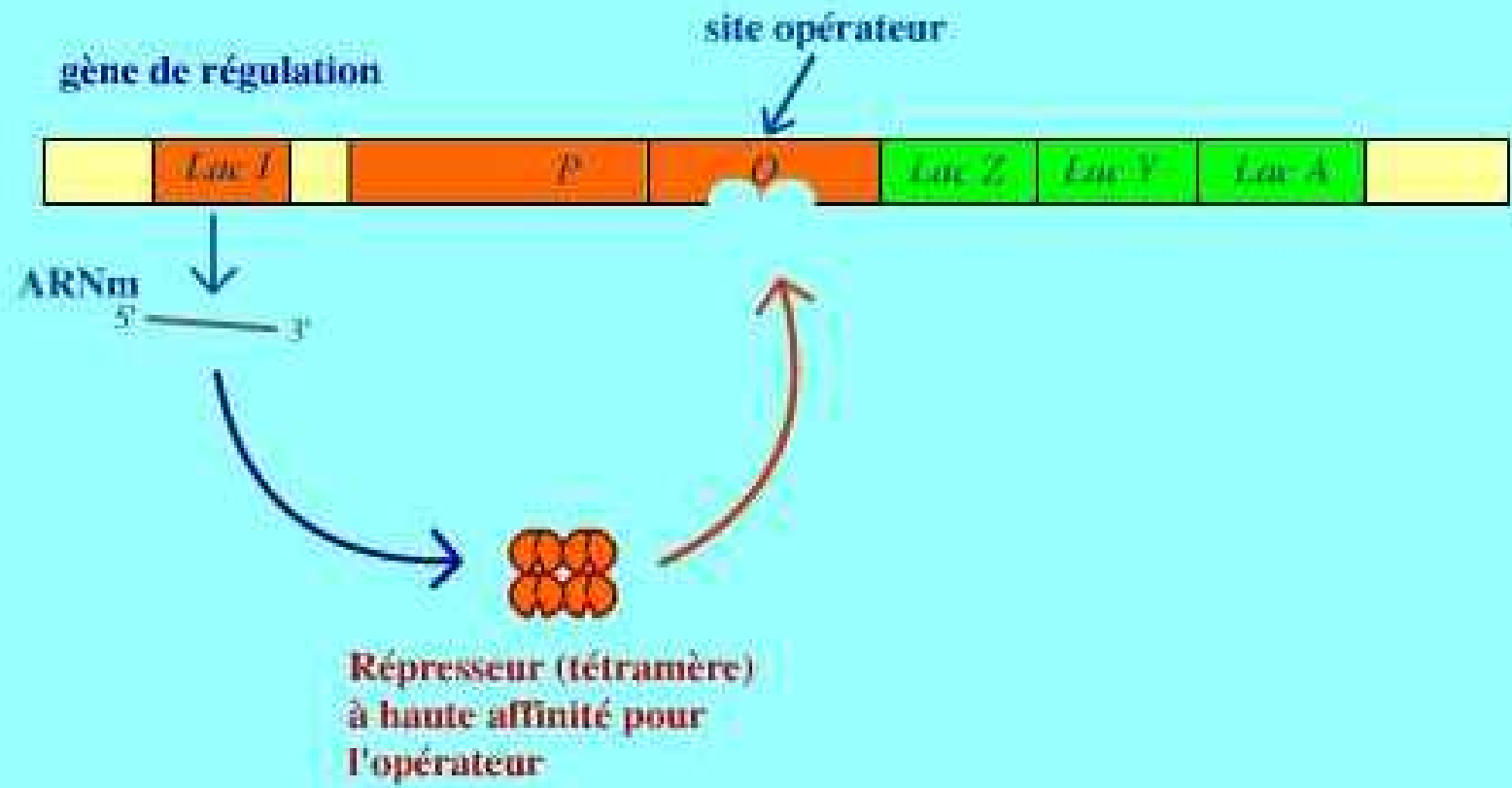
Expression des gènes de l'opéron lactose en présence de lactose



Animation : <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/operonlactose/>

Régulation de l'opéron lactose

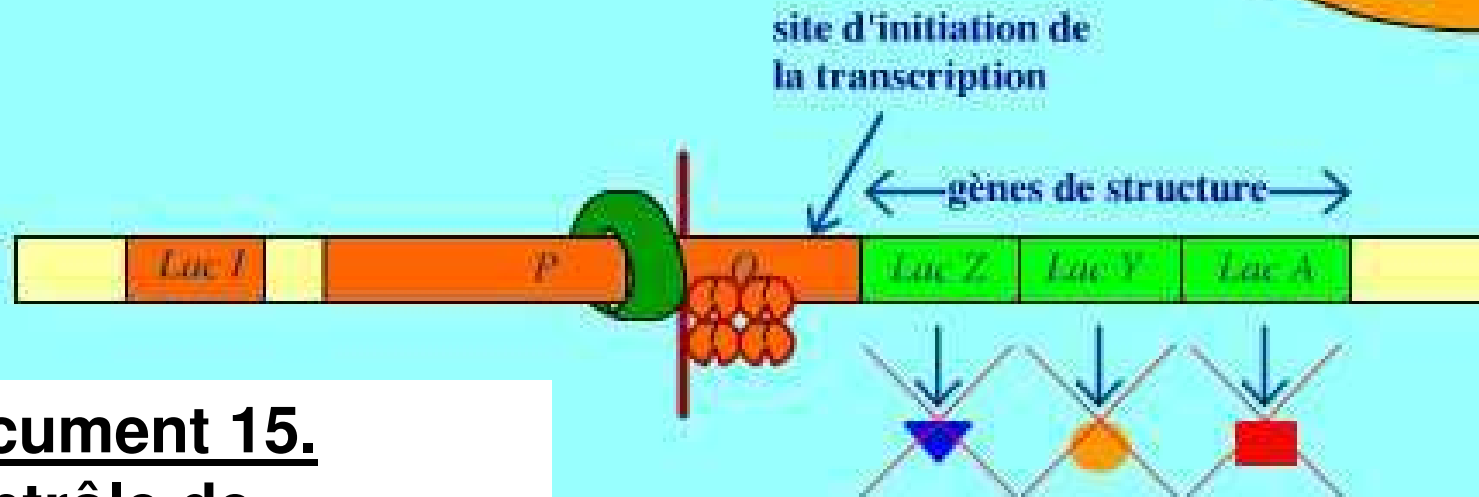
Synthèse du répresseur



Animation : <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/operonlactose/>

Régulation de l'opéron lactose

En
absence de lactose



Les gènes structuraux ne sont pas exprimés

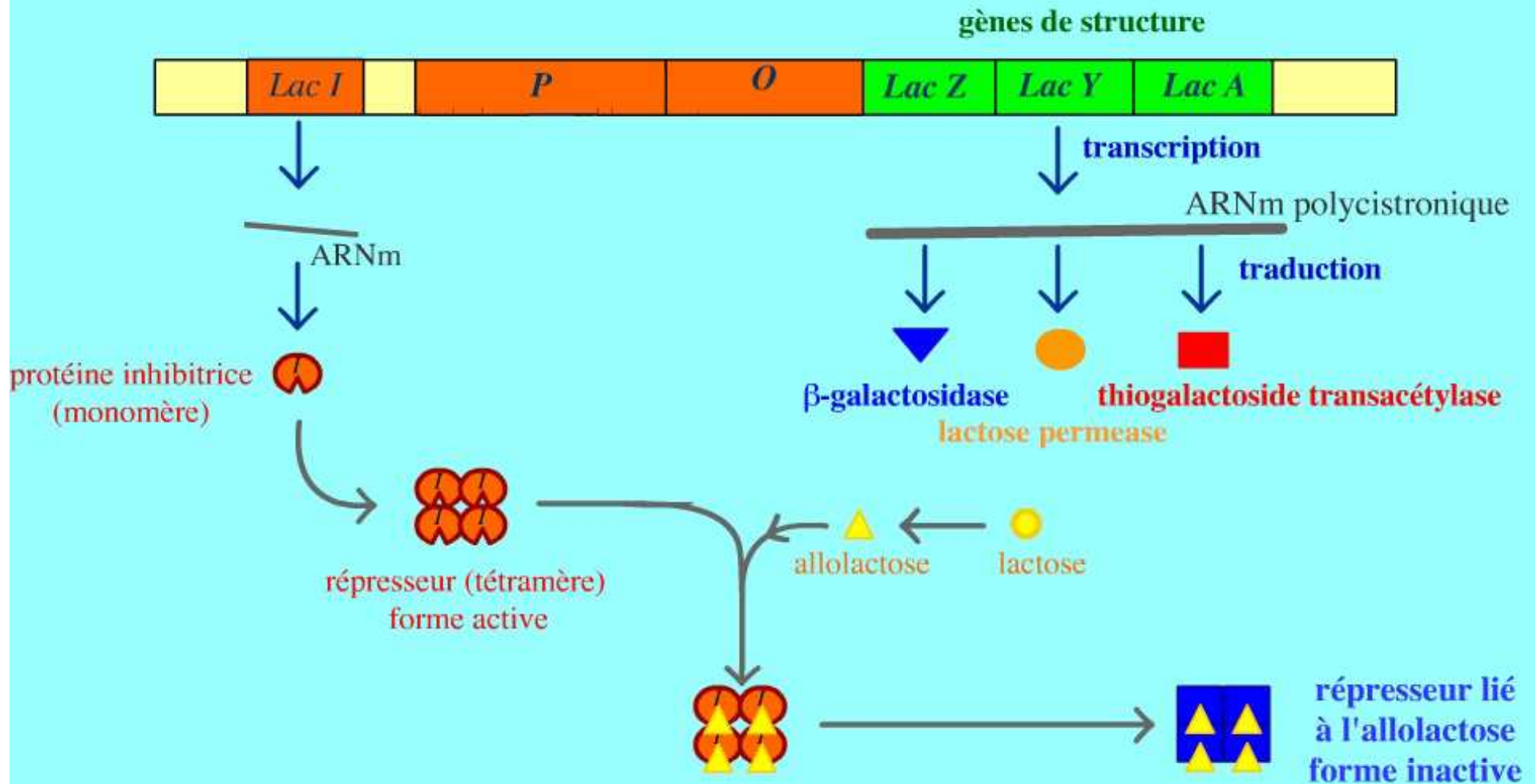
L'ARN polymérase peut se lier au promoteur mais elle est bloquée au niveau de l'opérateur et ne peut pas atteindre le site d'initiation de la transcription

Document 15.
**Contrôle de
l'expression
génétique dans le
cas des eubactéries.**

**Inhibition de l'expression
des gènes structuraux de l'opéron lactose**

Animation : <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/operonlactose/>

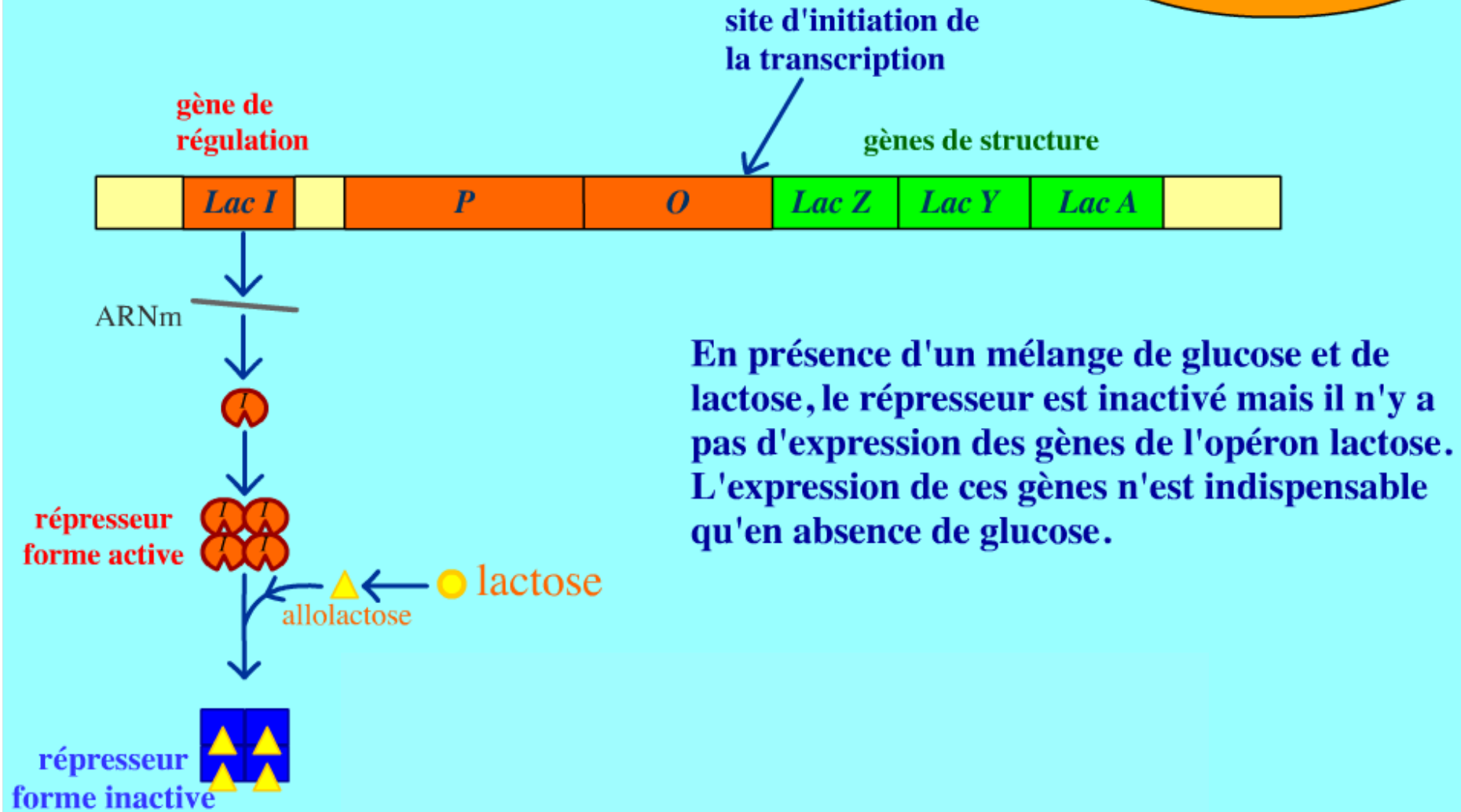
Régulation de l'opéron lactose en présence de lactose



Animation : <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/operonlactose/>

Régulation de l'opéron lactose

mélange de
lactose + glucose

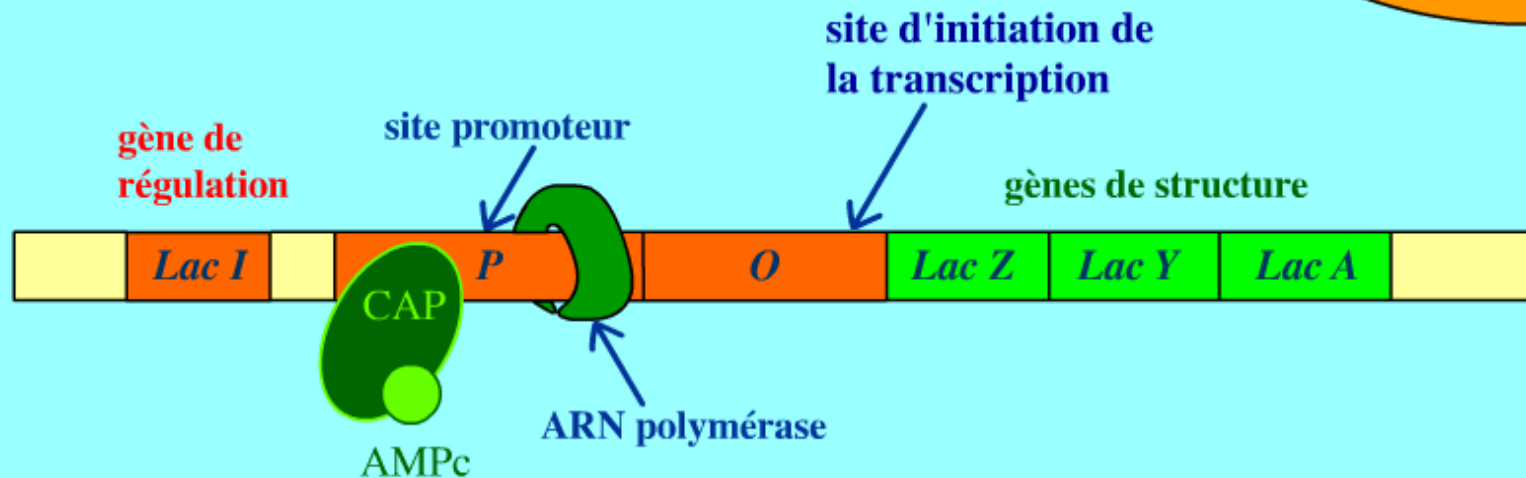


Animation : <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/operonlactose/>

Lorsque le glucose vient à manquer...

Régulation de l'opéron lactose

mélange de
lactose + glucose

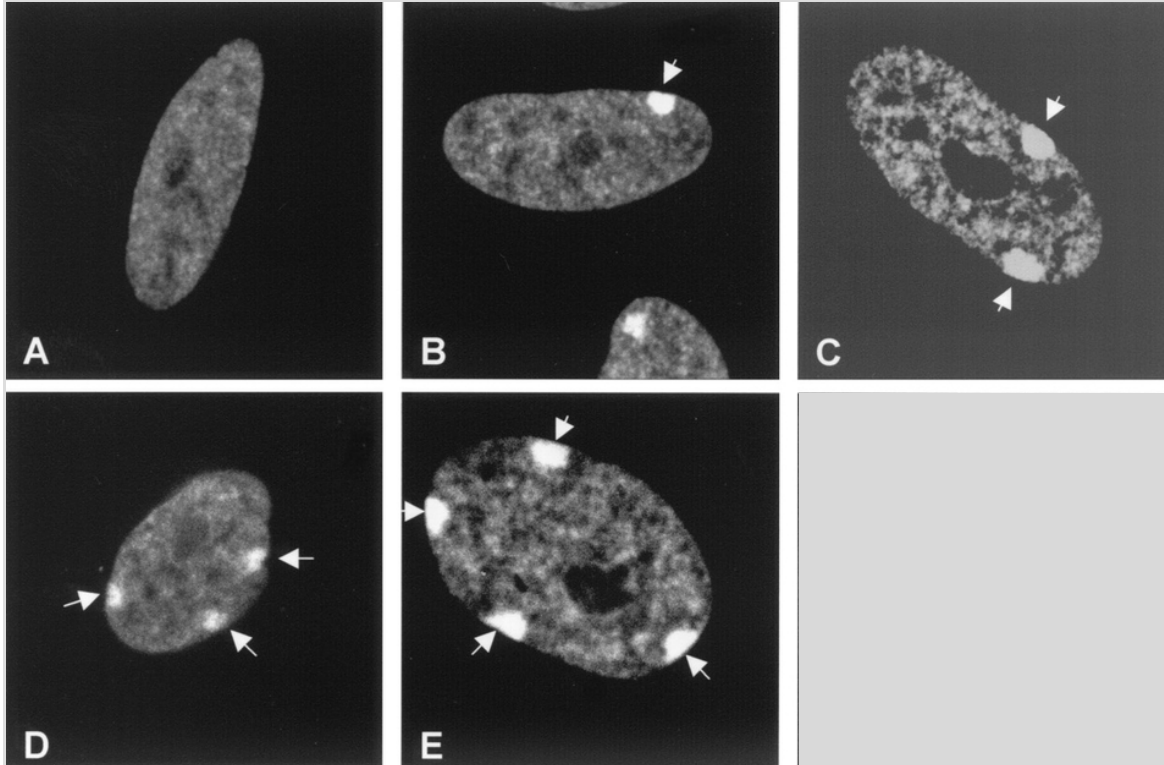


↓ **glucose** → ↑ **AMPc**
(signal de
carence
alimentaire)

L'interaction du complexe CAP-AMPc avec l'ADN permet d'augmenter l'affinité de l'ARN polymérase pour le promoteur de l'opéron. La transcription est alors fortement augmentée.

Répression catabolique :
régulation positive par le CAP et l'AMPc

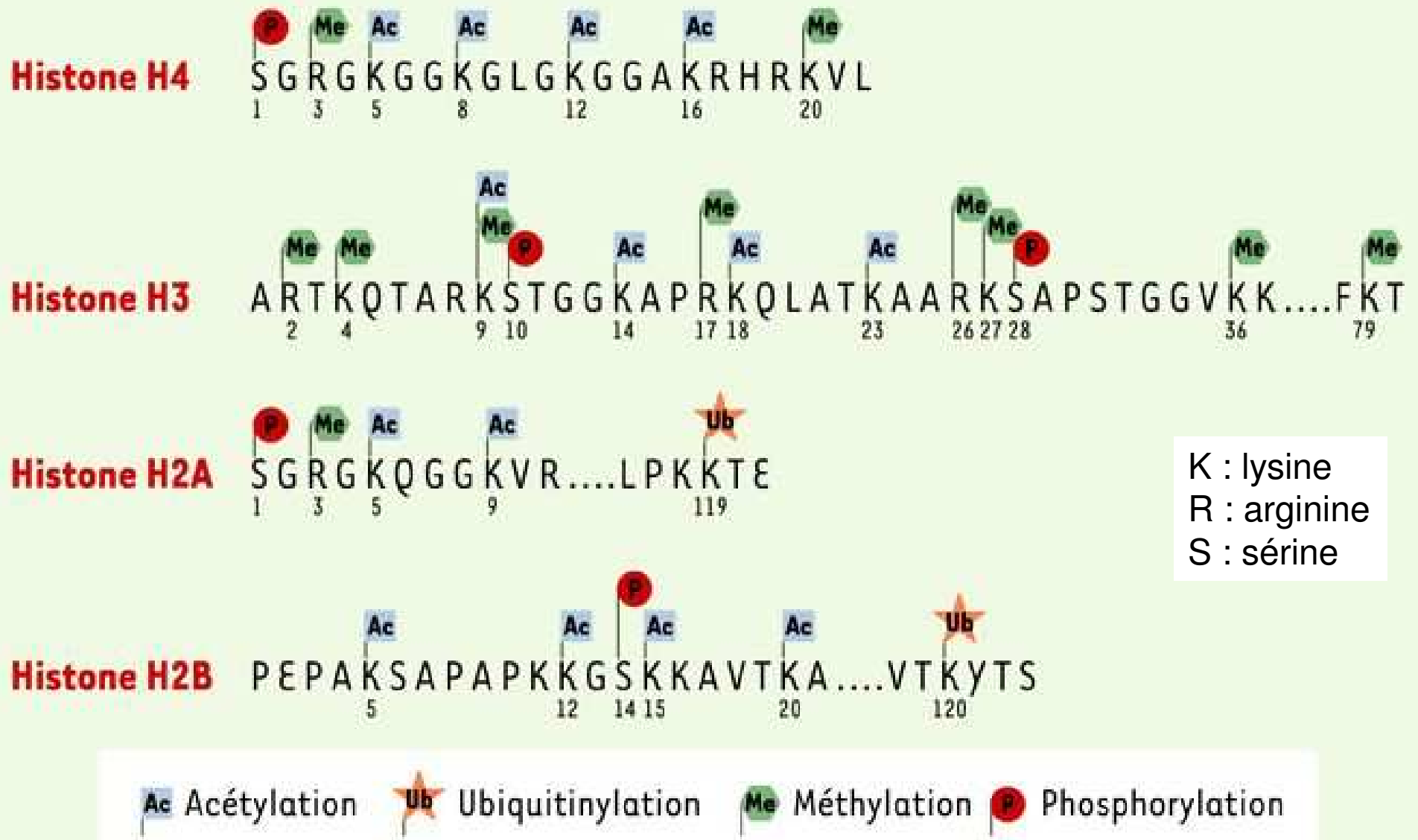
Mise en évidence du corpuscule de Barr par immunofluorescence



Les cellules utilisées sont des fibroblastes humains au caryotype atypique, contenant un nombre variable de chromosomes X :

A : 46 chromosomes dont XY, 0 cb;
B : 46 chromosomes dont XX, 1 cb;
C : 47 chromosomes dont XXX, 2 cb;
D : 48 chromosomes dont XXXX, 3 cb;
E : 49 chromosomes dont XXXXX, 4 cb.

Présent dans le noyau des cellules des femelles de Mammifères, le corpuscule de Barr a été découvert en 1948 par le Docteur Barr. Il est localisé contre la face interne de l'enveloppe nucléaire. C'est de l'hétérochromatine qui correspond à l'un des deux chromosomes X inactivé, indifféremment d'origine maternelle ou paternelle.



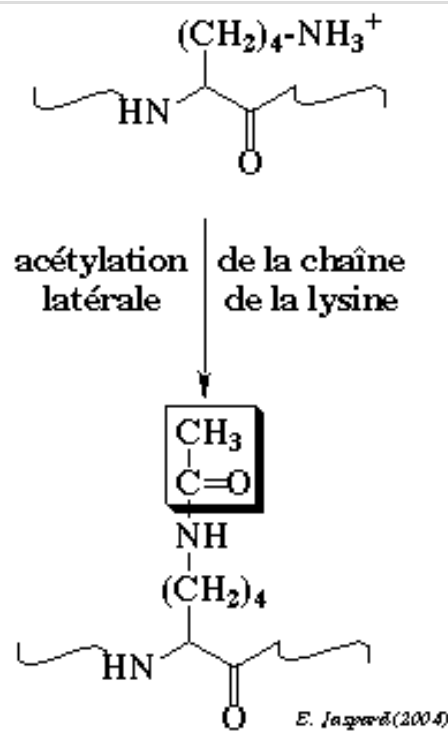
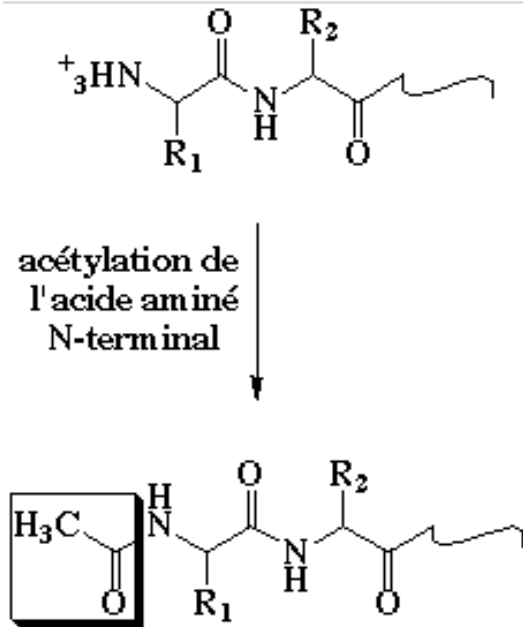
K : lysine
 R : arginine
 S : sérine

Les modifications post-traductionnelles des histones

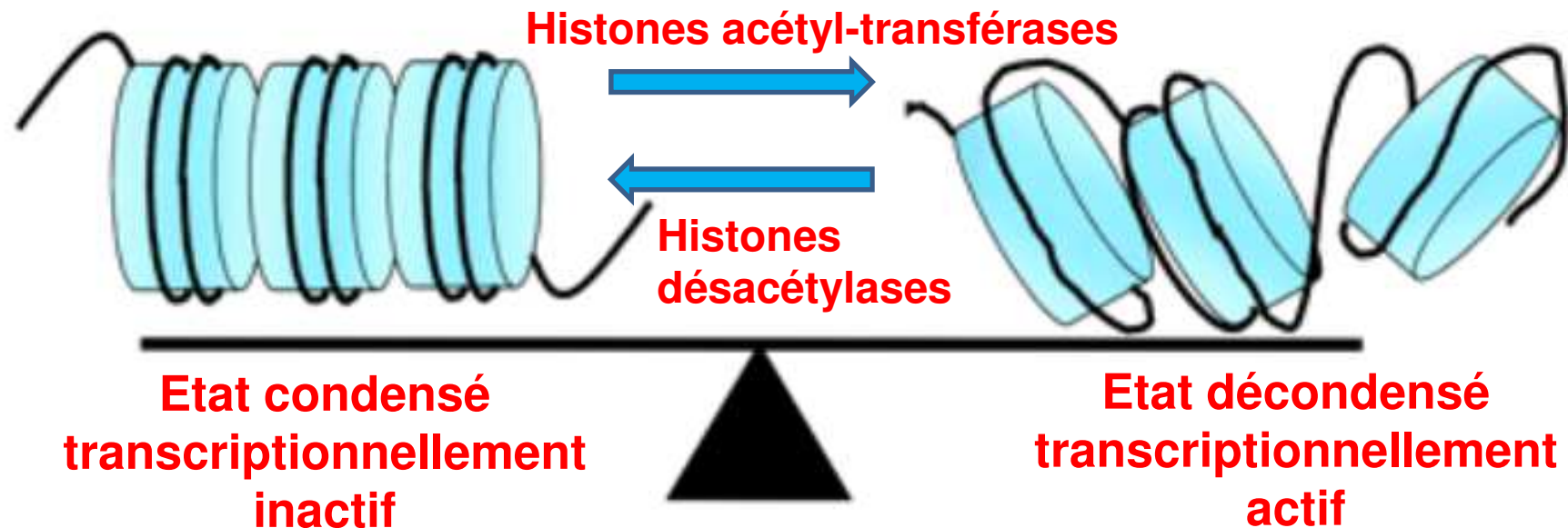
La lysine 9 de l'histone H3 peut être soit acétylée, soit méthylée.

N. Lacoste, J. Côté, M/S : médecine sciences Vol 19, n°10, oct 2003, p. 955-959

<http://www.erudit.org/revue/ms/2003/v19/n10/007166ar.html>



L'acétylation / désacétylation des histones



Effets de l'absence de méthylation CG



Effets de l'absence de méthylation CG sur des fleurs d'*Arabidopsis thaliana*.

A gauche : fleur sauvage.

Au milieu : l'absence de la méthylation CG conduit notamment à la formation d'étamines supplémentaires toutefois ces plantes restent fertiles.

A droite : dans des mutants déficients pour les mécanismes de sauvetage déclenchés en l'absence de méthylation CG, l'organisation florale est profondément bouleversée et ces plantes sont totalement stériles .

Effets de l'absence de méthylation CG sur la structure de noyaux de cellules de feuille d'*A. thaliana*.

A gauche : architecture habituelle, les séquences hétérochromatiques (en rouge) sont compactées.

A droite : forte relaxation de l'hétérochromatine consécutive à l'absence de méthylation CG pendant plusieurs générations successives.

La méthylation de l'ADN est contrôlée

Comment l'abeille devient reine

On comprend pourquoi la gelée royale fait que certaines larves deviennent des reines et d'autres des ouvrières.

De grande taille, lente à se mouvoir, la reine d'une colonie d'abeilles passe l'essentiel de sa vie – quatre à cinq ans – à pondre, choyée par sa cour. Les



Une reine et sa cour.

ouvrières, au contraire, petites, agiles et stériles ne vivent que quelques semaines. Pourtant, la reine et les ouvrières sont génétiquement identiques. Comment un même génome peut-il produire des individus si différents? Une équipe germano-australienne vient d'éclairer les mécanismes moléculaires en jeu.

On savait l'alimentation en jeu: les larves élevées comme de futures reines et la reine survivante (après avoir éliminé ses rivales) sont nourries exclusivement de gelée royale. Les autres larves, qui deviendront des ouvrières, sont nourries surtout de miel et de pollen.

En 2008, l'équipe de Sylvain Forêt et Ryszard Maleszka, de l'Université de Canberra, en Australie, a montré que la suppression d'une enzyme, l'ADN méthyle-

transférase, chez des larves nourries pour devenir ouvrières, fait qu'elles se développent en reines fécondes: supprimer cette enzyme a le même effet que la gelée royale. Cette enzyme étant nécessaire à la méthylation de l'ADN, c'est-à-dire à l'ajout de groupes méthyle sur certaines bases (des cytosines) de l'ADN, la gelée royale apporte vraisemblablement des substances inhibant ce processus, dit épigénétique.

Supposant que les gènes ne s'expriment pas de la même façon chez la reine et les ouvrières, ces biologistes associés à un groupe du Centre allemand de recherche sur le cancer, à Heidelberg, ont séquencé les génomes de reines et d'ouvrières et identifié tous les sites méthylés de l'ADN. Ils ont observé que quelque 560 gènes

étaient méthylés différemment. La méthylation paraît réguler le type et la quantité des protéines produites chez une reine et chez une ouvrière.

Comment les enzymes de méthylation repèrent-elles les cytosines cibles parmi les dix millions de sites possibles chez l'abeille? On l'ignore, mais un mécanisme expliquant les différences entre reines et ouvrières se dessine: la présence ou l'absence de gelée royale détermine différents profils de méthylation de leur ADN. En ajustant l'expression de certains gènes, ces profils donnent lieu à des caractéristiques anatomiques, physiologiques et comportementales distinctes.

→ Jean-Jacques Peulier

F. Lyko et al., *PLoS Biology*, vol. 8, n°1000006, 2010

8 | Actualités

© Pour la Science - n° 398 - Décembre 2010

L'alimentation du père entraîne des variations de la méthylation de gènes dans les spermatozoïdes, ce qui exerce des effets dans la génération suivante

Pères gras, filles diabétiques ?



L'empreinte de l'environnement sur les gènes se transmettrait des pères à leurs filles.

Chez l'animal, des mères obèses durant la gestation et la lactation enfantent plus souvent que la normale des petits atteints eux-mêmes d'obésité ou de maladies métaboliques à l'âge adulte. Le surpoids des pères a-t-il aussi un effet sur la descendance? Probablement, montre l'équipe de Margaret Morris, de l'Université des Nouvelles Galles du Sud, à Sydney: des femelles de rats sont plus souvent atteintes de diabète si leur géniteur a été nourri trop grasement.

Les chercheurs australiens ont soumis neuf rats mâles à un régime

hypergras dès leur quatrième semaine, et huit rats contrôlés à un régime normal, puis les ont mis chacun en présence d'une femelle nourrie normalement, pour qu'ils se reproduisent. Les descendants femelles ainsi obtenus ont présenté, à partir de quatre semaines, deux signes de diabète dont l'intensité a augmenté avec l'âge. La cause en était la réduction du volume des îlots de Langerhans, qui, dans le pancréas, produisent l'insuline. De plus, l'expression de plusieurs centaines de gènes y était anormale.

Ces résultats suggèrent que des changements chimiques, dits épi-

génétiques, sont intervenus dans l'ADN des spermatozoïdes des pères: des variations de la méthylation de l'ADN (la fixation de groupes méthyle en différents sites de la molécule), qui perturbent l'expression de certains gènes. Ainsi, en modifiant l'expression des gènes paternels, l'alimentation exercerait des effets d'une génération de rats à la suivante. Chez l'homme, il est vraisemblable que des facteurs liés au mode de vie influent aussi sur la régulation épigénétique et l'expression des gènes.

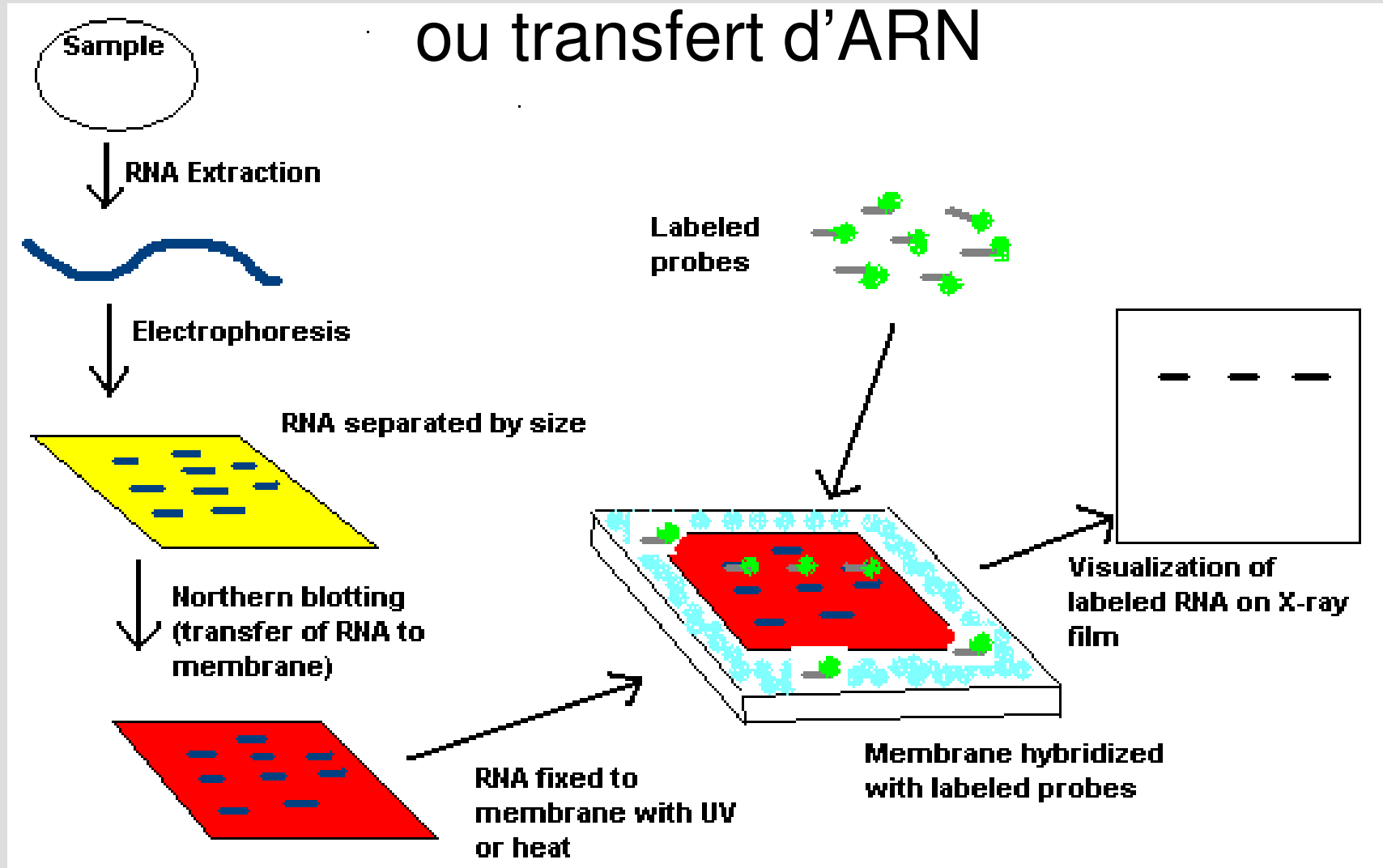
→ J.J.P.

S.-F. Ng et al., *Nature*, vol. 467, pp. 963-967, 2010

12 | Actualités

© Pour la Science - n° 398 - Décembre 2010

Document 17. Technique de Northern blot ou transfert d'ARN

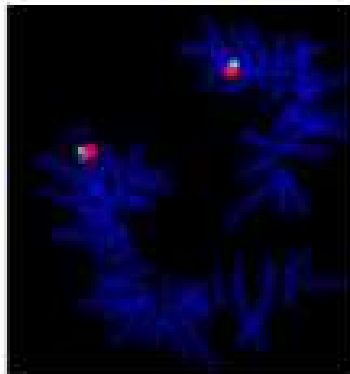


Elle consiste à transférer les molécules à analyser sur un support solide (par exemple, une membrane de nitrocellulose ou de nylon) puis à utiliser une sonde spécifique ARN de la cible recherchée.

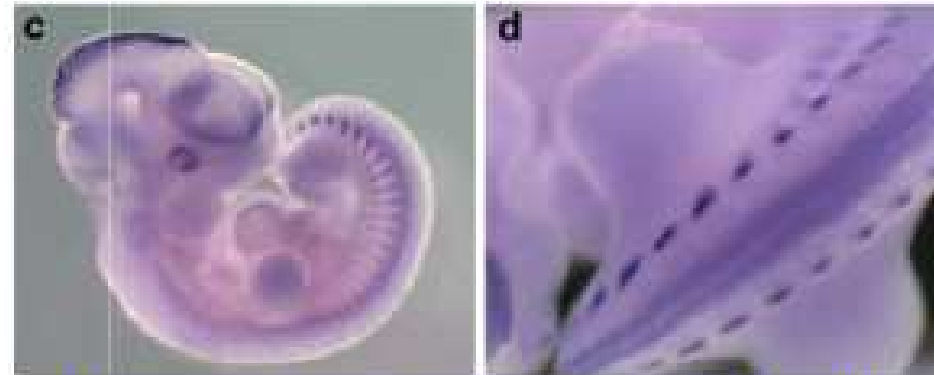
Définition de l'hybridation *in situ*

= révélation *in situ* d'une séq. d'acide nucléique dans une cellule

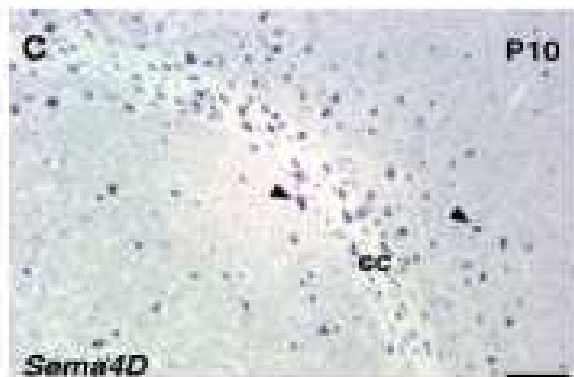
L'HIS consiste à repérer donc identifier et localiser une portion ± grande d'un acide nucléique.



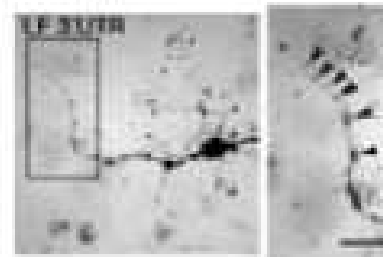
Chromosomes
Interphasiques
(FISH)



Un organisme entier de petite taille



Une préparation
histologique



Cellules en
culture

➔ Présence d'ARNm témoignant de la transcription du gène correspondant

Principe de l'HIS:

- Repose sur la propriété qu'ont 2 séquences nucléiques complémentaires de s'apparier de façon spécifique avec une affinité extrêmement forte.

- acide nucléique marqué : « sonde »

- acide nucléique recherché : « séquence-cible »

Séquence-cible

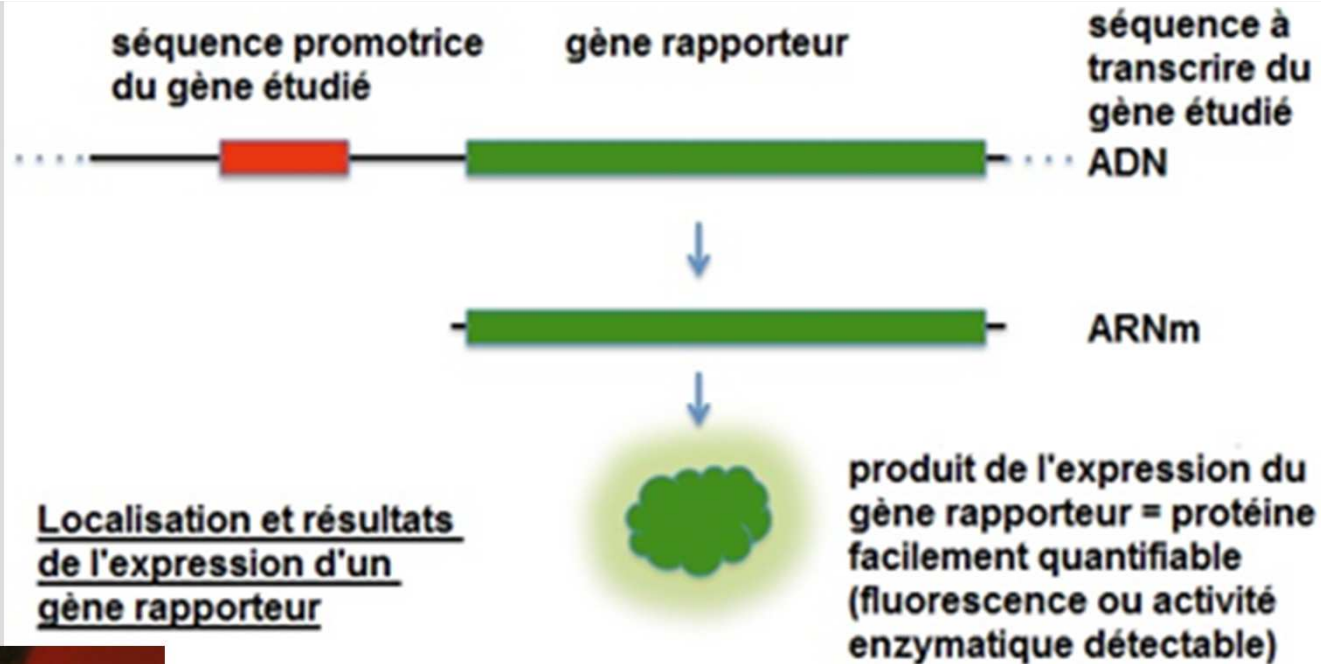


Sonde



- ARNm = structure monocaténaire

enchaînement de 4 ribonucléotides monophosphate
(adénosine, guanosine, uridine et cytidine)



Lucie, souris transgénique exprimant le gène de la GFP.

Laboratoire de Biologie Animale, (Université de Limoges <http://www.unilim.fr>)

Analyse de la transcription à l'aide des gènes rapporteurs

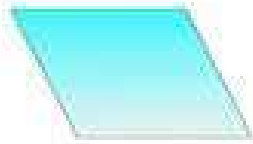


Fleur d'*A. thaliana* en cours de développement.

Le gène GUS a été inséré après le promoteur du gène dont on étudie le rôle. Barre d'échelle = 100 µm. (<http://www.biomedsearch.com/nih/Arabidopsis-bZIP-transcription-factors-TGA9/20805327.html>)

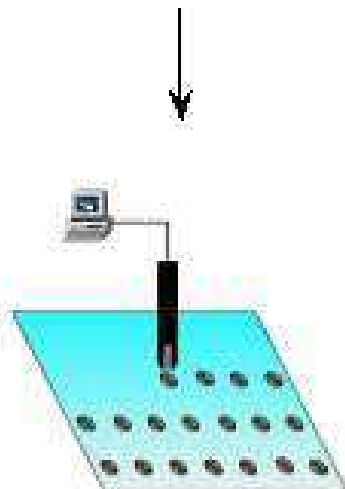
Fabrication des puces à ADN

Lames de verre recouvertes de polylysine



+

6116 ORFs de levure amplifiées par PCR



Spotting (dépôt)

Hybridation

Souche 1



Souche 2



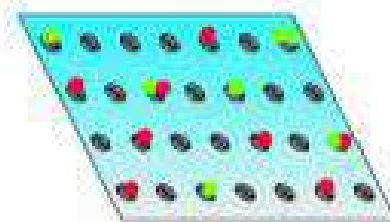
Extraction des ARN



Cy3

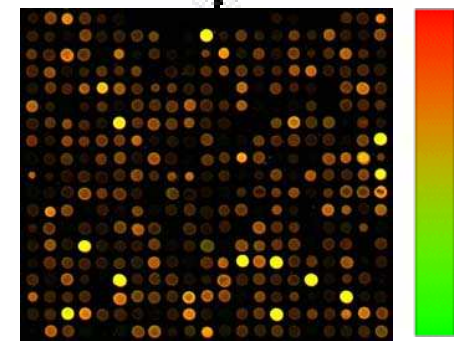
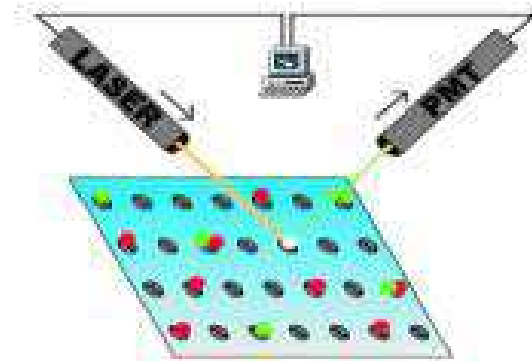
Transcription des ARNm en ADNc

Cy5



Obtention des résultats

Lecture (scanner)



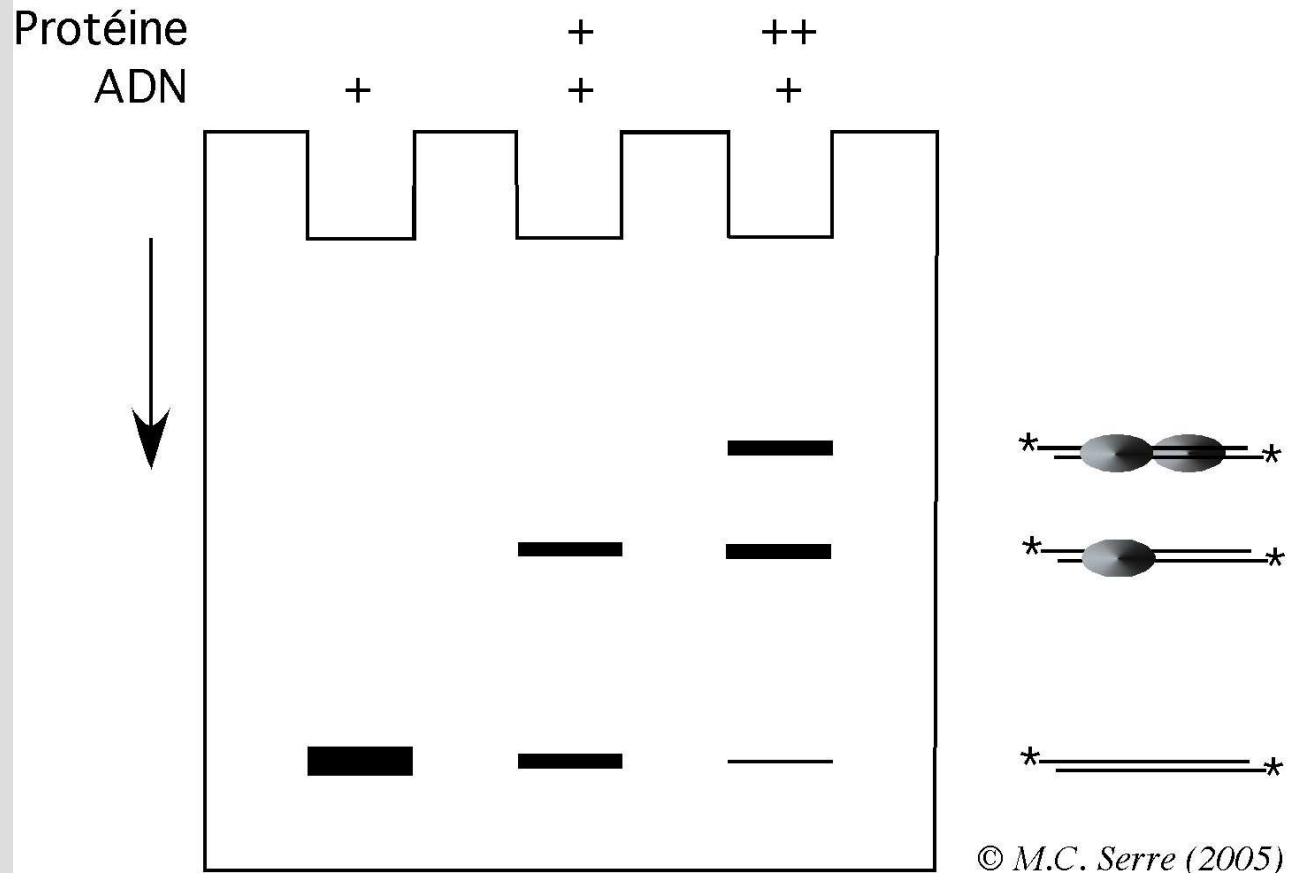
Analyses des résultats

Le principe de la puce à ADN

Document 16. Technique de retardement sur gel

Un complexe ADN-protéine ou ARN-protéine migre moins vite sur un gel qu'un ADN ou un ARN nu. Ce retard de migration permet de juger au premier coup d'oeil si une séquence particulière d'ADN ou d'ARN a été reconnue et liée par une protéine.

<http://www.igmors.u-psud.fr/enseignement/mcserre/Cours-IPAN/cours-IPAN.html>

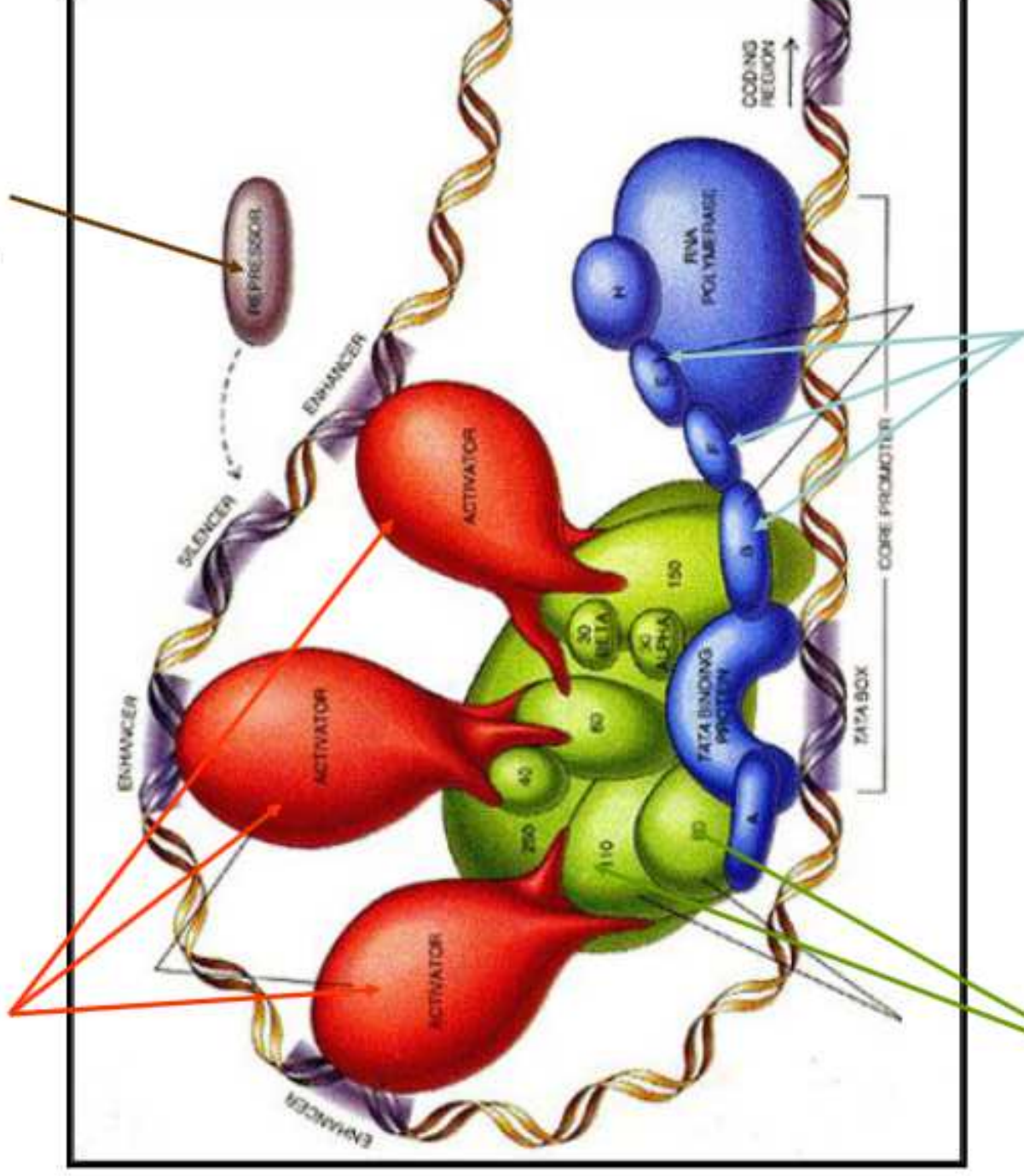


Dans le cas présent, le fragment d'ADN porte deux sites de fixation de la même protéine. Selon la concentration en protéine de la solution, le second complexe apparaît ou pas.

Enhancer/silencer

répresseur

activateurs

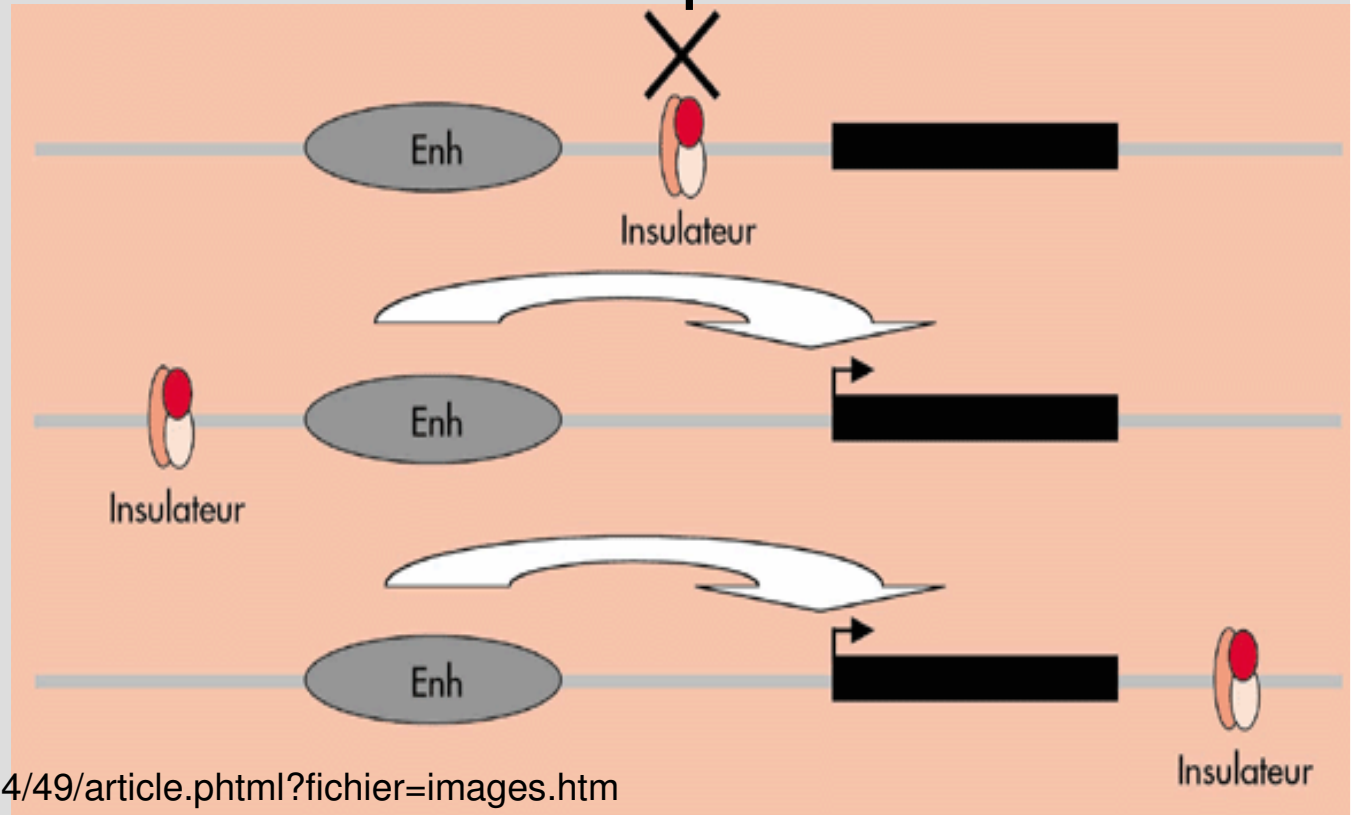


Facteurs de transcription communs

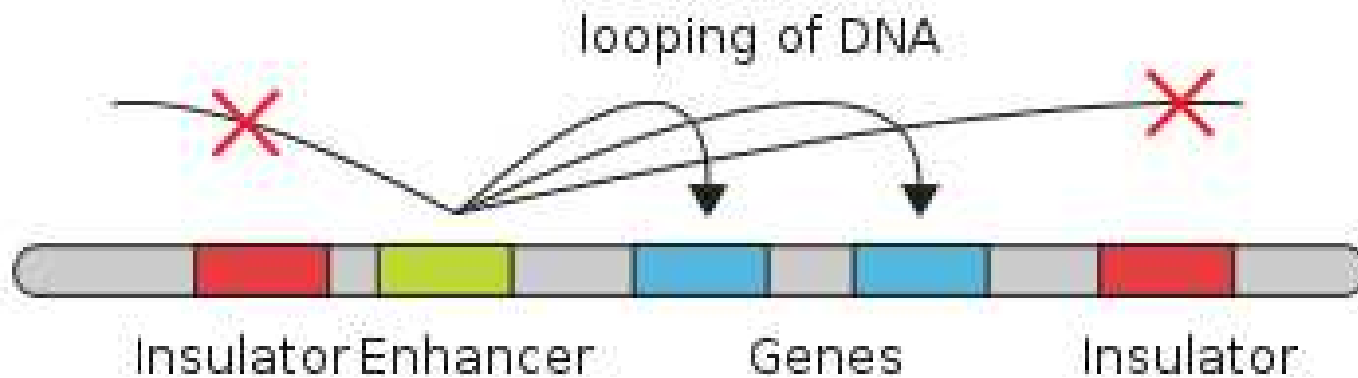
Nécessité d'éléments *cis*-régulateurs et *trans*-régulateurs

Document 19. Séquences insulateurs et domaines de transcription.

L'insulateur « protège » un gène (en noir) de l'action d'un enhancer uniquement s'il est situé entre ce gène et l'enhancer.

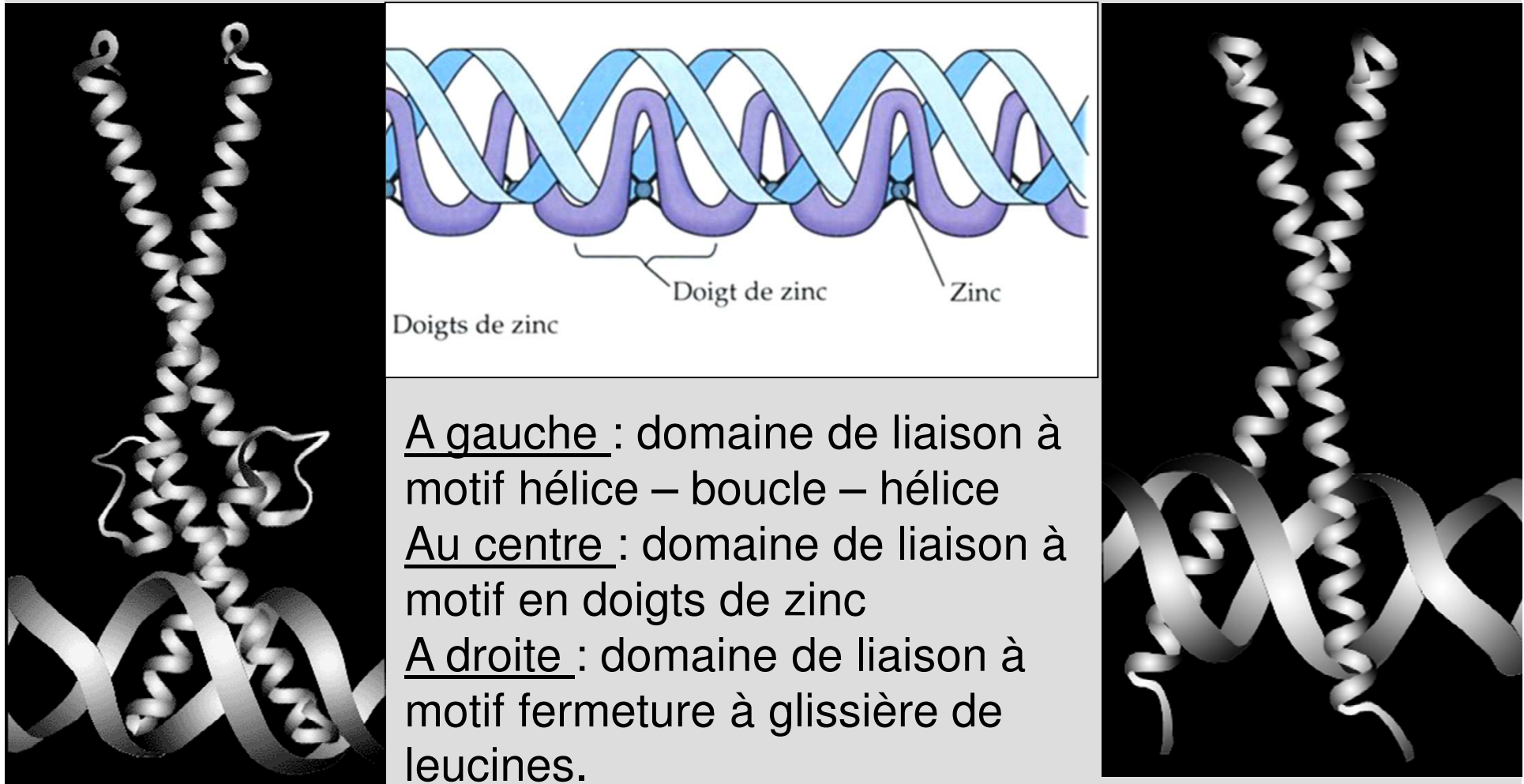


<http://www.jle.com/e-docs/00/02/24/49/article.phtml?fichier=images.htm>

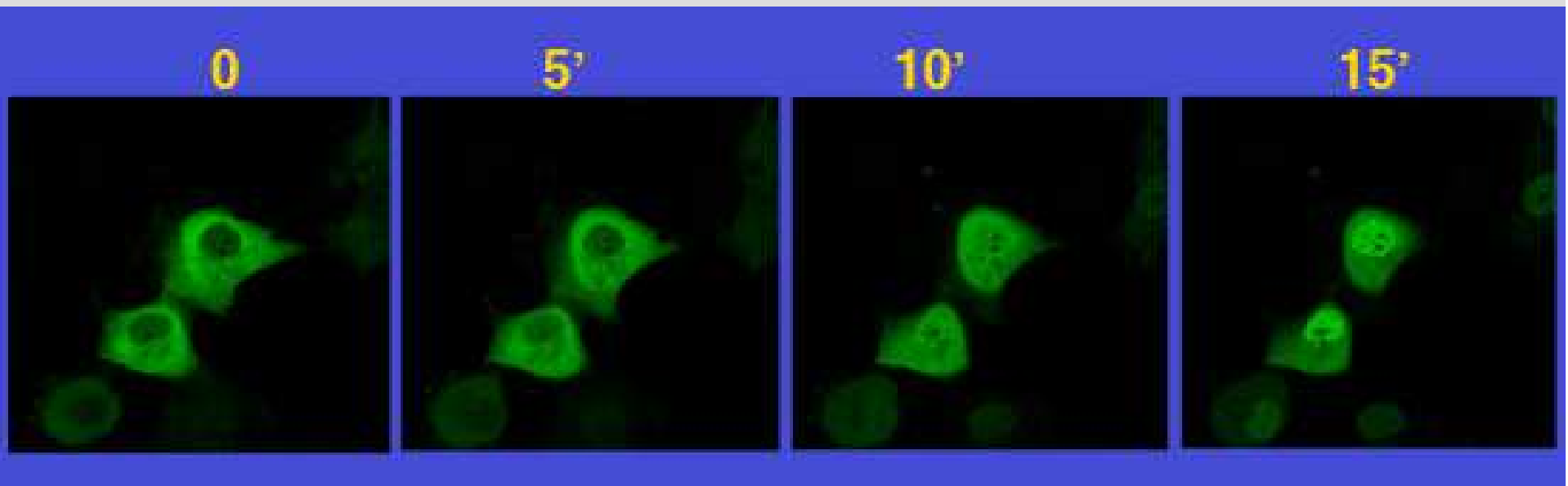


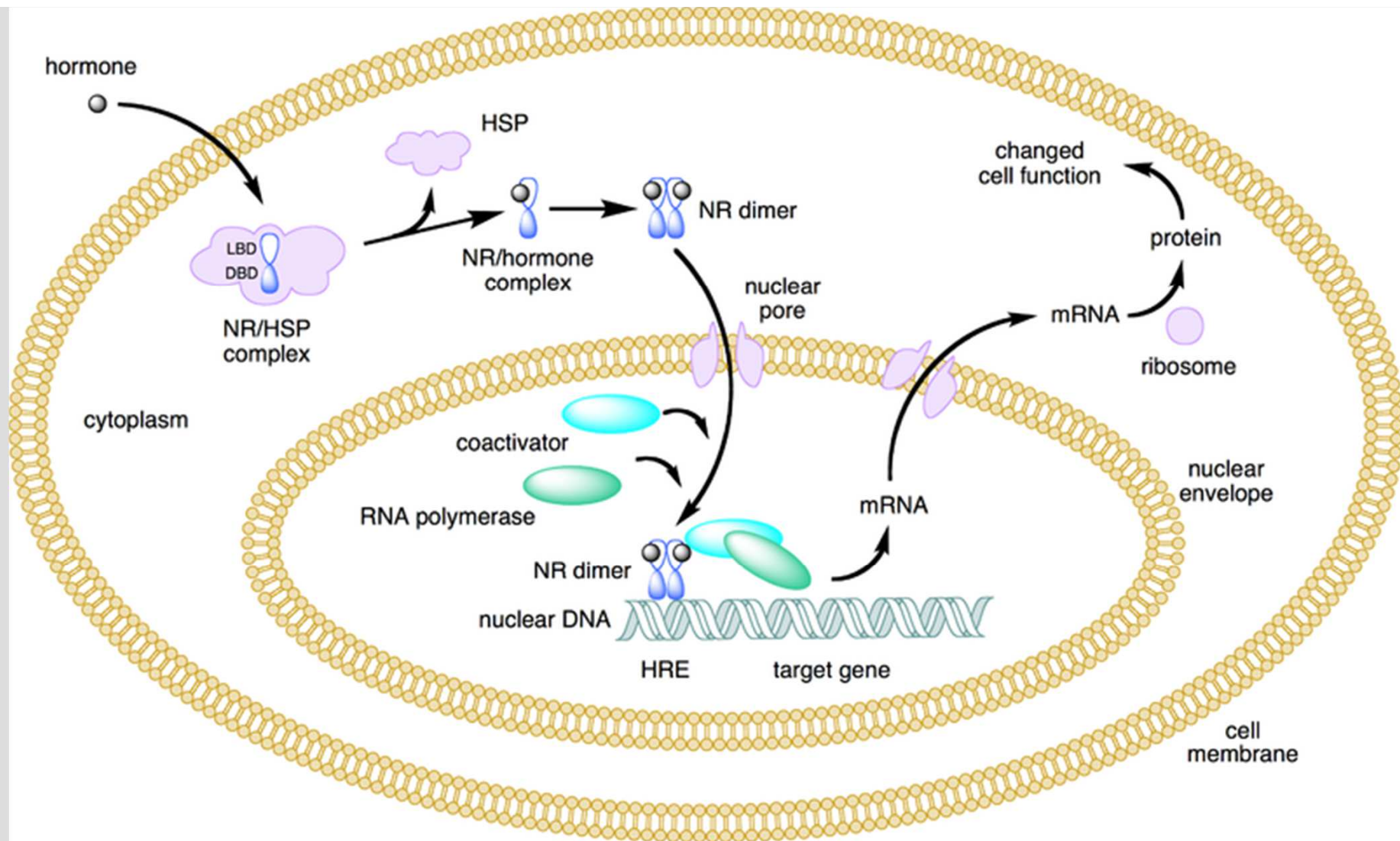
Les insulateurs délimitent des domaines de transcription.

Quelques motifs communs des protéines qui se lient à l'ADN (voir document 20).



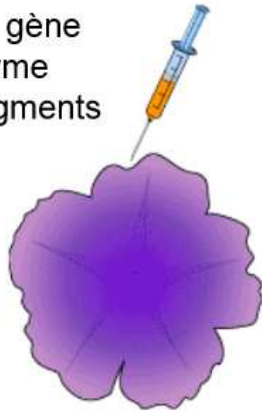
Mise en évidence de l'importation dans le noyau d'un récepteur nucléaire suite à la liaison avec une hormone stéroïdienne.





Régulation de la transcription via un facteur de transcription ligand dépendant :
le récepteur nucléaire aux hormones stéroïdes.

Introduction gène
codant enzyme
synthèse pigments



Résultat attendu



Résultat observé



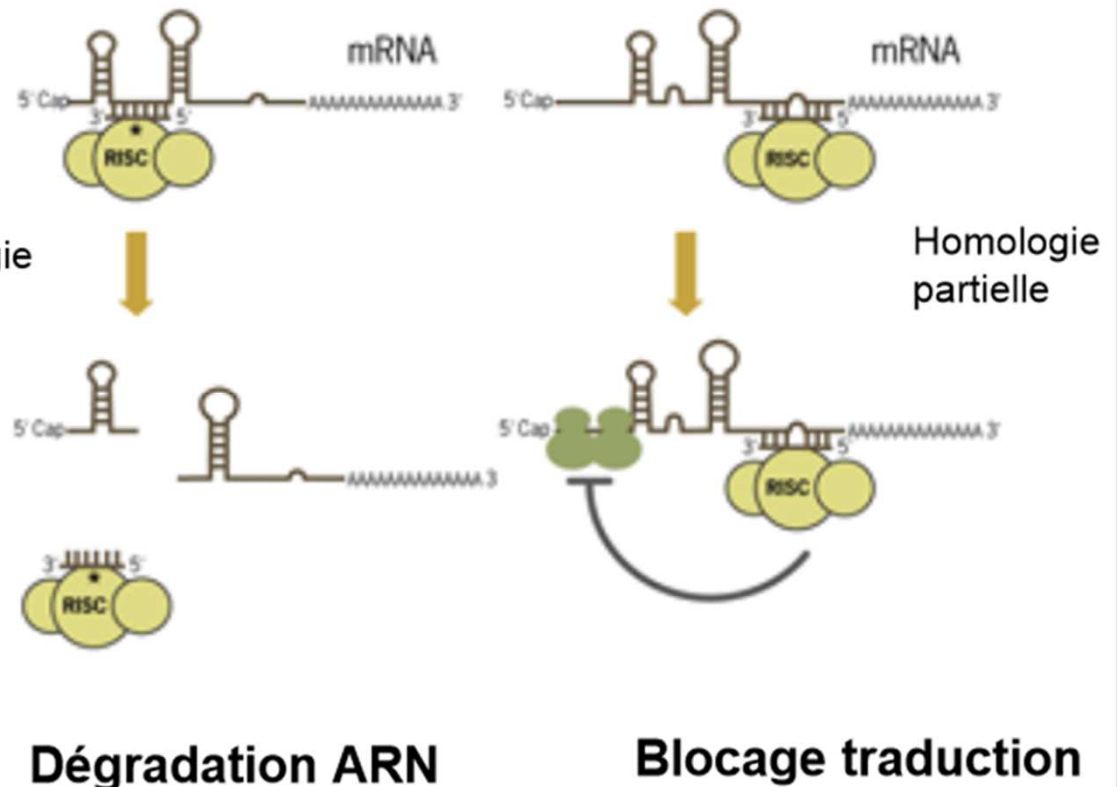
Les ARN interférents

Historique de la découverte

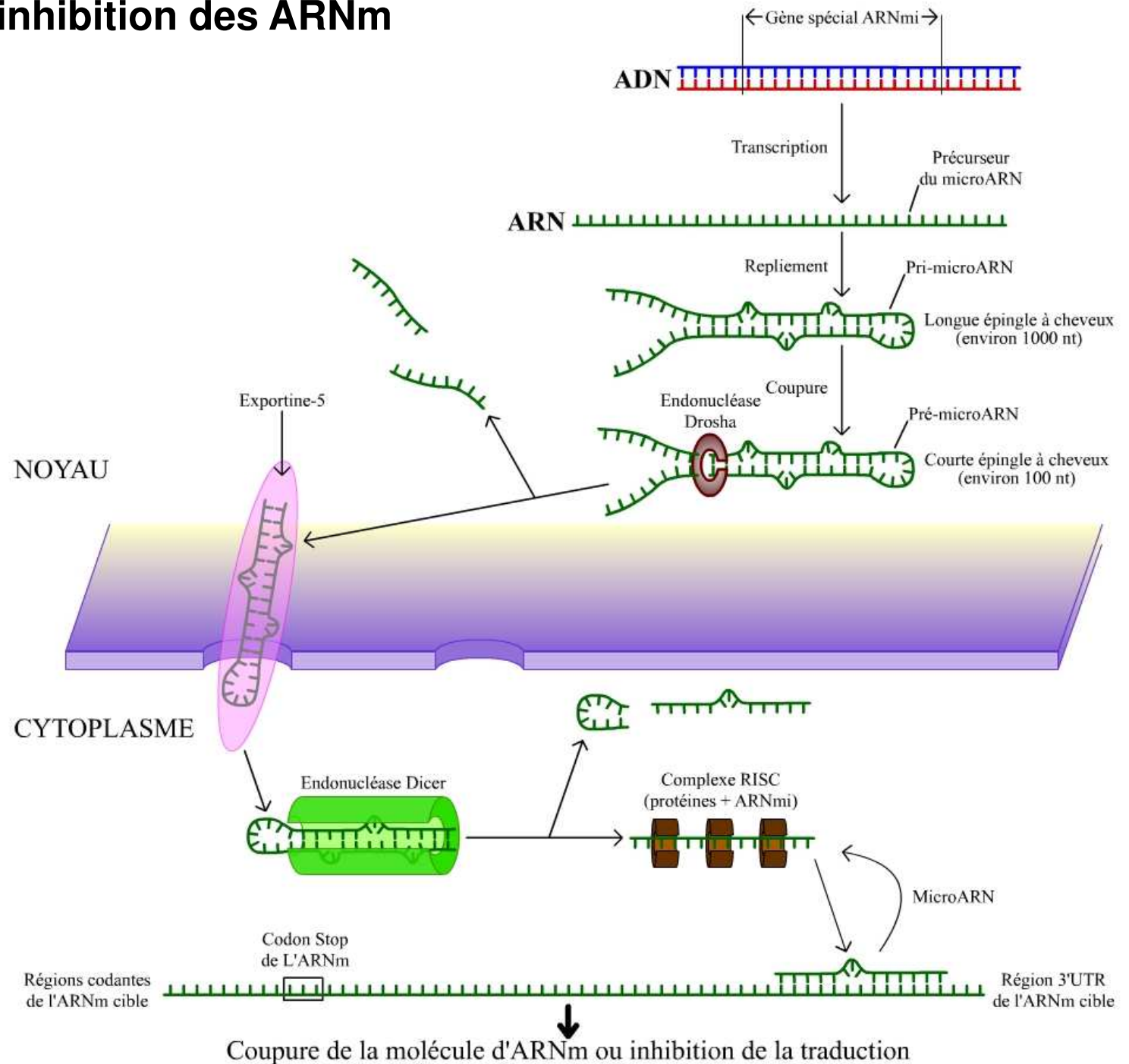
Deux mécanismes de contrôle

[→ Vidéo ARN interférents](#)

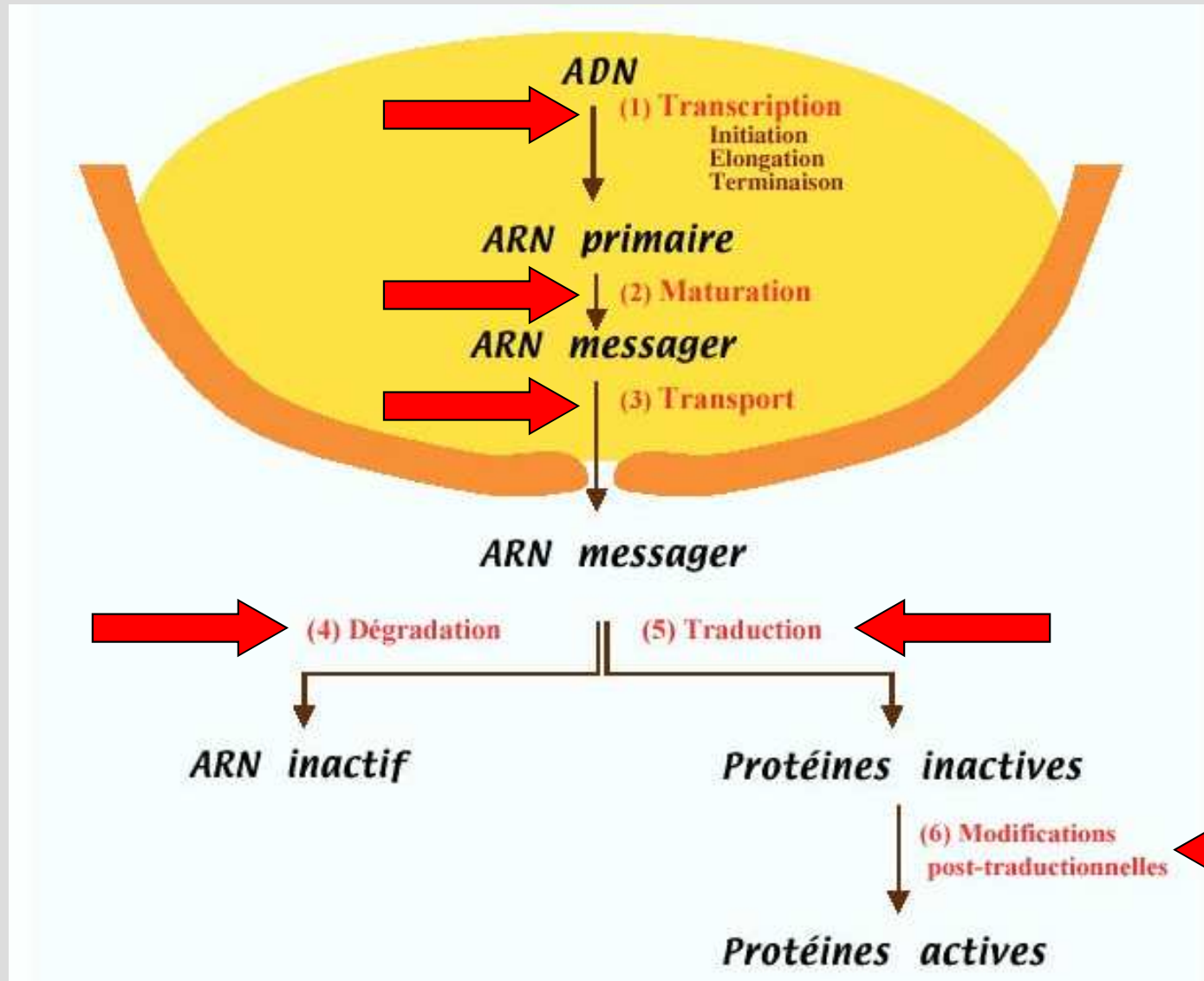
<http://www.u-picardie.fr/servlet/com.univ.utils.LectureFichierJoint?CODE=1225182978501&LANGUE=0>



Mécanisme de l'inhibition des ARNm par les ARNmi



<http://planet-vie.ens.fr/content/petits-arn-interferents>



Les différents niveaux de contrôle de l'expression des gènes chez les Eucaryotes