

REGULATION DE L'EXPRESSION DES GENES

1) GENERALITES :

Il existe trois types de gènes :

- **Gènes domestiques** : sont actifs tout le temps dans toutes les cellules (**House keeping genes**).
- **Gènes spécifiques de tissus** : sont actifs tout le temps dans certaines cellules.
- **Gènes régulés** : sont actifs à certains moments dans certaines cellules.

Une caractéristique fondamentale des cellules procaryotes aussi bien qu'eucaryotes est **leur capacité de réguler l'expression de leurs gènes**.

Chez les procaryotes cette régulation Permet l'adaptation de la cellule à son environnement immédiat. Chez les eucaryotes, la régulation **permet l'expression spécifique** des gènes de **chaque type cellulaire** bien que toutes les cellules ont le même patrimoine génétique.

2) REGULATION DE L'EXPRESSION DES GENES CHEZ LES PROCARYOTES :

Cette régulation peut s'effectuer essentiellement à trois niveaux :

1. l'initiation de la transcription +++
2. la terminaison de la transcription
3. la stabilité des ARN messagers

Elle peut être positive (systèmes inductibles) ou bien négative (systèmes répresseurs).

Chez les Procaryotes les gènes sont groupés en unités fonctionnelles appelées **OPERONS**.

OPERON : est un ensemble de gènes sous le contrôle d'un promoteur unique, transcrits (co-transcrits) en un seul **ARNm** dit **polycistronique** qui sera ensuite traduit en plusieurs protéines différentes. Au milieu du promoteur (portion de la séquence d'ADN où se fixe l'ARN polymérase) on peut trouver un **opérateur**. Cet opérateur est l'élément central dans la régulation de la transcription chez les procaryotes.

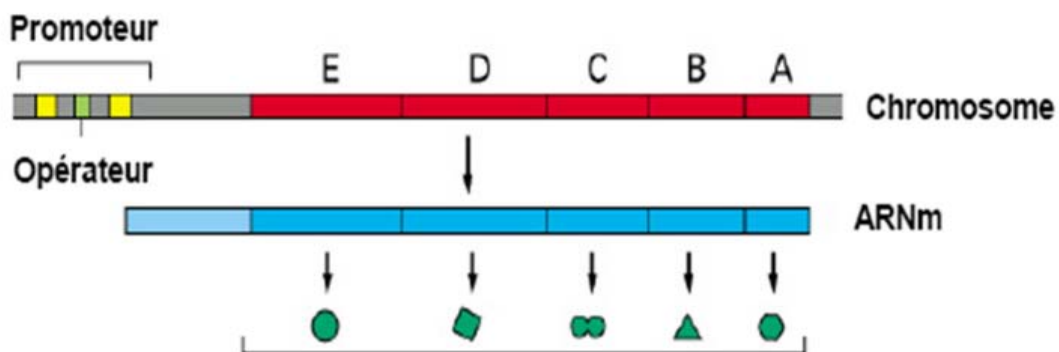


Figure 1 : opéron

Il existe deux grands types d'opérons :

-**les opérons inductibles**: codent pour des enzymes de la voie catabolique (voie de dégradation). Exemple : opéron lactose.

-**les opérons répressibles** : codent pour les enzymes de la voie anabolique (biosynthèse). Exemple : opéron tryptophane.

2.1-opéron lactose:(type de description de la régulation)

La première expérience qui a démontré l'existence de la régulation de l'expression génique est celle de l'opéron lactose qui a valu le prix Nobel de médecine en 1965 à Jacob et Monod.

L'opéron lactose, ou opéron lac est un opéron nécessaire au transport et au métabolisme du lactose chez *Escherichia coli*, ainsi que d'autres bactéries de la flore intestinale. L'opéron lactose est composé de trois gènes structurels : lacZ, lacY et lacA. Il est régulé par plusieurs facteurs, notamment la disponibilité en glucose et en lactose.

Dans son environnement naturel, l'opéron lac permet la digestion efficace du lactose. La cellule peut utiliser le lactose comme source d'énergie en produisant l'enzyme β -galactosidase et ainsi digérer le lactose en glucose et en galactose. Toutefois, la production de l'enzyme est inutile quand le lactose n'est pas disponible, ou s'il y a une source d'énergie plus facilement exploitable de disponible comme le glucose. L'opéron lac utilise un mécanisme de contrôle en deux parties qui font que la cellule ne dépense d'énergie pour produire la β -galactosidase, la perméase β -galactoside et la thiogalactoside transacétylase (ou galactoside O-acétyltransférase) que lorsque c'est nécessaire. Il y parvient avec le répresseur lac, dont il active la production en l'absence de lactose, et la protéine activatrice des catabolites (CAP), dont il active la production en l'absence de glucose.

L'opéron est constitué de trois gènes de structure :

- lacZ codant la β -galactosidase qui hydrolyse le lactose en glucose et galactose ;
- lacY codant la β -galactoside perméase, protéine membranaire qui permet la pénétration des β -galactosides contre un gradient de concentration ;
- lacA codant la β -thiogalactoside acétyltransférase permettant à la cellule d'utiliser les thiogalactosides. Seuls lacZ et lacY semblent nécessaires au catabolisme du lactose.
- Deux sites de contrôle :
 - p le promoteur où se fixe l'ARN polymérase ;
 - o l'opérateur non codant sur lequel peut se fixer la forme active du répresseur empêchant l'action de l'ARN polymérase : il contrôle les trois gènes z, y et a.
- une séquence terminatrice.

En amont de cet opéron l'on trouve aussi un gène régulateur :

- lacI codant le répresseur dont la forme active se place au niveau du site opérateur o et dont la complexation avec l'allolactose (isomère du lactose) change sa conformation (il ne peut plus se fixer au site o).

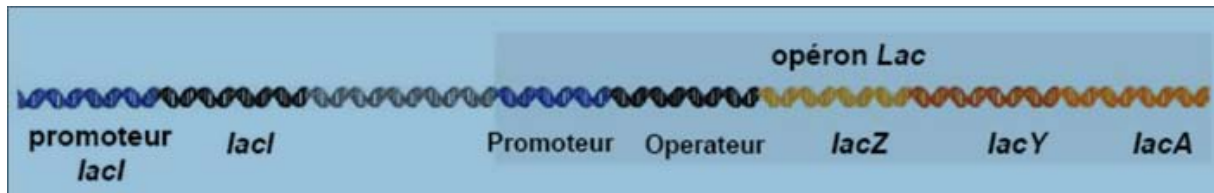


Figure 2 : opéron lactose

2.1.1- fonction de l'opéron lactose:

Pour que l'ARN polymérase entame la transcription deux conditions sont essentielles:

-il faut que le répresseur ne soit pas lié à l'opérateur.

-il faut qu'un complexe CAP-AMP cyclique (catabolite gene activator protein) soit lié au promoteur.

A- absence de lactose:

En absence du lactose la transcription du gène lac I s'effectue et donc synthèse du répresseur qui bloque la transcription.

B- Présence de lactose :

La fixation du lactose sur le répresseur entraîne la dissociation du complexe répresseur-opérateur permettant à l'ARN polymérase de transcrire les gènes de structure.

Le lactose agit comme inducteur des enzymes chargés de sa métabolisation.

C- Présence de glucose et absence de lactose:

Les trois enzymes ne sont pas produites donc les gènes correspondants ne s'expriment pas, ils sont réprimés.

Le gène lacI code pour une protéine : le Répresseur qui se lie à l'opérateur, ce qui empêche l'ARN polymérase de progresser pour effectuer la transcription.

D- Présence de lactose et absence de glucose :

Le second mécanisme de contrôle est une réponse au glucose, qui utilise la protéine activatrice des catabolites (CAP), pour augmenter considérablement la production de β -galactosidase en absence de glucose. L'adénosine monophosphate cyclique (AMPc) est une molécule signal qui se lie à la CAP (connue aussi sous le nom de CRP pour AMP Cyclique Receptor Protein), qui permet à son tour au complexe formé de se lier au site de liaison CAP (une séquence d'ADN de 16 paires de bases en amont du promoteur), qui aide l'ARN polymérase à se lier à l'ADN. En absence de glucose, la concentration d'AMPc est élevée et la liaison de CAP-AMPc à l'ADN augmente de manière significative la production de β -galactosidase, permettant à la cellule d'hydrolyser le lactose et de libérer le galactose et le glucose.

E- Présence de glucose et de lactose:

E. Coli utilise d'abord le glucose puis le lactose.

En présence de glucose la bactérie ne contient pas d'AMPcyclique. Quand le glucose est épuisé, la bactérie est privée de source d'énergie, elle accumule l'AMPcyclique qui va se lier au CAP. Le complexe va se lier à son tour au promoteur et l'ARN polymérase pourra effectuer la transcription.

Le répresseur est un régulateur négatif.

Le complexe AMPc-CAP est un régulateur positif.

GLUCOSE	LACTOSE	OPERON LACTOSE
	+	Inactif car CAP non fixé au promoteur (pas d'AMPc)
+	-	Inactif car répresseur fixé à l'opérateur et CAP non fixé
-	-	Inactif car répresseur fixé à l'opérateur
-	+	Actif car répresseur non fixé à l'opérateur et AMPc-CAP fixé au promoteur

2.2- opéron arabinose : Il est constitué de trois gènes structuraux :

- araA : code la L-arabinose isomérase qui catalyse la réaction L-arabinose L-ribulose₂
- araB : code la ribulokinase qui catalyse la réaction : ATP + L(ou D)-ribulose ; ADP + L(ou D)-ribulose 5-phosphate₄
- araD : code la L-ribulose-5-phosphate 4-épipimérase qui catalyse la réaction : L-ribulose 5-phosphate ; D-xylulose 5-phosphate₆
- Promoteur pBAD : site de fixation de l'ARN polymérase pour la transcription des gènes araB, araA et araD
- Promoteur pC : site de fixation de l'ARN polymérase pour la transcription du gène araC
- Gène régulateur :
 - araC : code la protéine régulatrice AraC possédant un domaine de liaison de l'arabinose. La protéine AraC est impliquée dans la régulation positive et négative de l'opéron ara.
- 3trois séquences régulatrices auxquelles se lie la protéine AraC:
 - araO1 : Site de liaison de la protéine AraC pour inhiber sa propre transcription par le promoteur pC.
 - araO2 : Site de liaison de la protéine AraC qui, en absence d'arabinose, permet l'inhibition de la transcription par le promoteur pBAD en formant un complexe avec la protéine AraC liée au site ara1.
 - ara1 : Site de liaison de la protéine AraC qui, en absence d'arabinose, permet l'inhibition de la transcription par le promoteur pBAD en formant un complexe avec la protéine AraC liée au site araO2.

REGULATION NEGATIVE

Lorsque l'arabinose est absent, la protéine AraC agit comme répresseur. La liaison de la protéine AraC au site araO1 et ara1 permet la répression de l'opéron et inhibe la transcription des gènes araB, araA et araD. Une interaction entre les deux molécules d'AraC est responsable de cette inhibition puisqu'elle engendre une courbure de l'ADN, empêchant

la fixation de l'ARN polymérase au promoteur pBAD. En absence d'arabinose, AraC agit donc comme **répresseur** et inhibe la transcription des gènes de l'opéron.

REGULATION POSITIVE

Lorsque l'arabinose est présent, la protéine AraC agit comme activateur de l'opéron ara pour cataboliser l'arabinose en xylulose-5-phosphate. Les protéines AraC liées aux séquences régulatrices de l'opéron (araO2, araO1 et aral) possèdent un domaine de liaison de l'arabinose. Ainsi, lorsque l'arabinose est présent, celui-ci se lie à son domaine de liaison sur les protéines AraC fixées aux séquences régulatrices. Le complexe AraC-arabinose formé au site aral stimule la transcription des gènes. Les complexes AraC-arabinose formés aux sites araO2 et aral empêchent quant à eux l'interaction entre les deux protéines AraC et par le fait même, empêchent l'ADN de se recourber sur lui-même. L'ARN polymérase peut alors se lier au promoteur pBAD et effectuer la transcription des gènes araB, araA et araD. En présence d'arabinose, AraC agit donc comme **activateur** de la transcription des gènes de l'opéron.

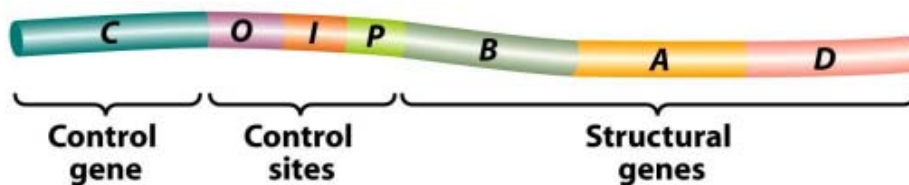
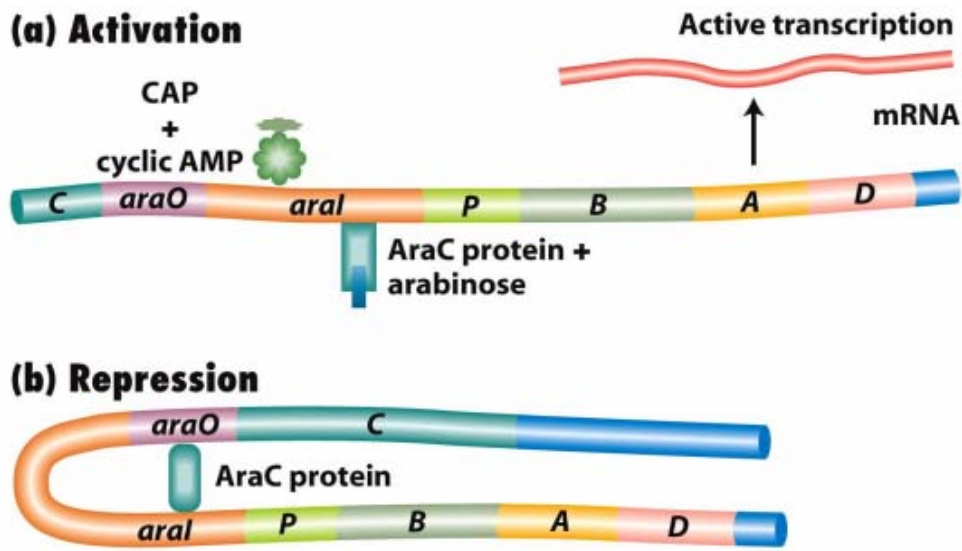


Figure 10-19
Introduction to Genetic Analysis, Ninth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

l'opéron arabinose



3) REGULATION DE L'EXPRESSION DES GENES CHEZ LES EUCARYOTES :

Il existe plusieurs niveaux de contrôle :

3.1- au niveau de l'activation du gène :

Pour qu'un gène soit transcrit, il doit être activé.

Un gène activé est situé dans des régions non compactées de la chromatine (euchromatine). On les appelle : régions sensibles ou hypersensibles.

L'autre condition pour que le gène soit transcrit ; il ne faut pas qu'il soit méthylé.

La méthylation de l'acide désoxyribonucléique (ADN) est un processus épigénétique dans lequel certaines bases nucléotidiques peuvent être modifiées par l'addition d'un groupement méthyle. Cette modification de l'ADN est effectuée par des enzymes particulières appelées DNMTs pour "DNA methyl-transferase". Chez l'humain il en existe quatre, le Dnmt1 est une méthyl-transferase de maintien dont le rôle principal est de maintenir la méthylation sur les deux brins d'ADN lors de la réplication.

3.2- Régulation de la transcription :

Les principaux phénomènes de régulation concernent surtout cette étape.

On distingue les séquences cis-régulatrices et les facteurs trans.

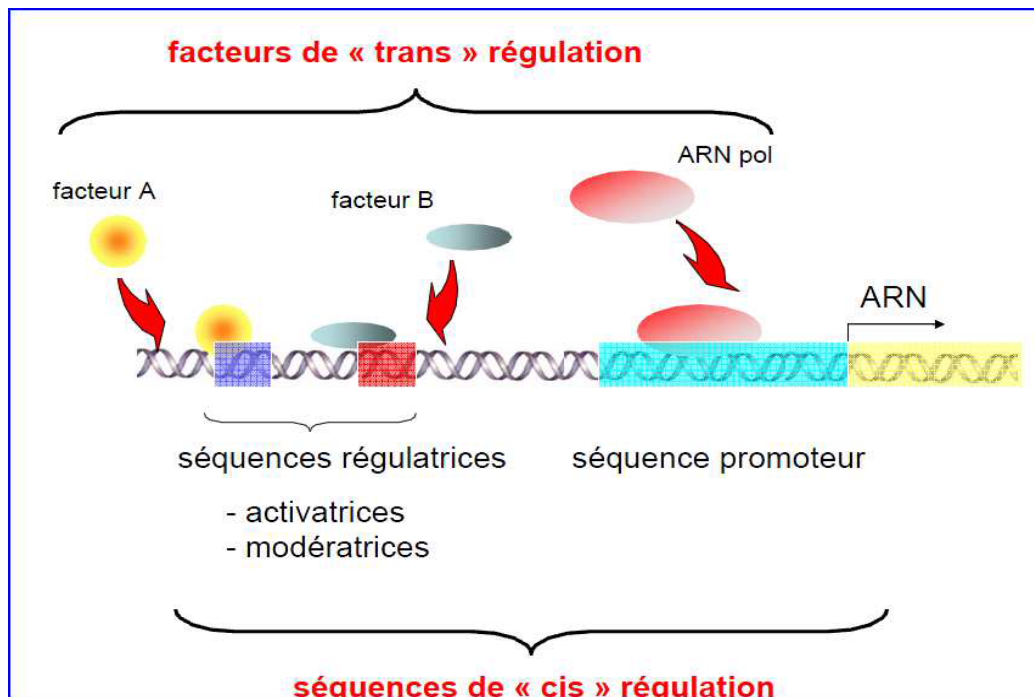
cis-régulatrices

Des séquences régulent l'activité des promoteurs : ce sont les amplificateurs et les inactivateurs. Une séquence enhancer active les promoteurs de certains gènes en utilisant des facteurs de transcription. Les séquences silencers, quant à elles, ont l'activité inverse : elles inhibent la transcription. Les promoteurs des gènes sont des séquences cis-régulatrices. Ils permettent la fixation de l'ARN polymérase II. Un promoteur est constitué de séquences conservées. Au point d'initiation de la transcription se trouve généralement une adénine encadrée par deux pyrimidines. A -25 chez les eucaryotes se trouve la TATA box et en -75 se trouve la CAAT box (en), qui augmente l'efficacité du promoteur. Enfin en -90, on retrouve la CG box, une séquence GGGCGG régulant également la transcription. Suivant les promoteurs, le nombre et la position de ces séquences varient. Il arrive que des promoteurs soient dépourvus de certaines de ces séquences. Mais tous ces facteurs influent sur la performance du promoteur.

Les facteurs trans

Ces protéines viennent se fixer aux séquences cis et peuvent être des activateurs, capables de recruter l'ARN polymérase et le complexe protéique nécessaires à la transcription, ou bien des enzymes capables de modifier les nucléosomes, ou encore des répresseurs empêchant la fixation, entre autres, de l'ARN polymérase. Les facteurs de transcription sont des protéines capables de se fixer à l'ADN d'une part, et d'activer la transcription d'autre part. Par exemple, les protéines à homéodomaine effectuent une régulation transcriptionnelle des gènes. Ces protéines présentent un homéodomaine leur permettant de se lier à l'ADN, ainsi qu'un domaine d'activation de la transcription capable de recruter l'ARN polymérase et les complexes protéiques. Certaines de ces protéines utilisent pour se lier à l'ADN un doigt de zinc : elles contiennent un atome de zinc interagissant avec les résidus cystéine et histidine. Généralement, ces protéines sont spécifiques d'un tissu particulier, et elles n'activent donc l'expression de gènes que dans ces tissus. Il existe aussi

des facteurs de transcription régulés par la fixation d'un ligand. Ce sont des protéines exprimées à la surface de la membrane cellulaire ou bien à la surface du noyau. Ces récepteurs sont activés par des ligands (hormones ou autres), ils libèrent alors une molécule réprimant leur activité, entrent dans le noyau et activent la transcription de gènes cibles.



3.3- Contrôle de la maturation de l'ARNm :

Exemple : l'épissage alternatif de l'ARNm.

Grâce à l'épissage alternatif, un gène peut coder des protéines différentes (quoiqu'elles soient similaires).

Par exemple le transcrite primaire de la calcitonine (pré ARNm) contient six exons. Il peut donner deux ARNm matures différents.

Un ARNm mature qui contient les quatre premiers exons (exons : 1, 2, 3, 4) est produit dans la cellule thyroïdienne et donne la calcitonine. L'autre ARNm mature ne possède pas le quatrième exon (donc constitué des exons : 1, 2, 3, 5, 6). Il code une protéine proche de la calcitonine dans les cellules de l'hypothalamus (CGRP : calcitonin gene related product).

À côté de l'épissage alternatif il existe d'autres phénomènes qui interviennent dans la maturation de l'ARNm : différents sites promoteurs, différents sites de polyadénylation, durée de vie de l'ARNm (dépend de la queue poly A, car plus elle est longue plus la durée de vie de l'ARNm est longue).

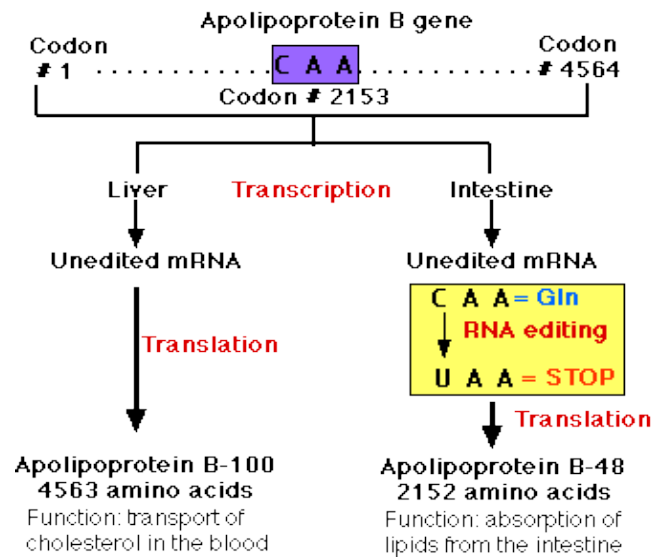
3.4- Contrôle de la traduction :

Un exemple important est celui du gène de l'apolipoprotéine B impliqué dans le métabolisme des lipides. Il code pour une protéine de 4538 acides aminés : l'apolipoprotéine B. Celle-ci est synthétisée dans le foie et sécrétée dans le sang, ou elle transporte les lipides.

Une forme apparentée mais plus courte que la protéine précédente : l'apo B-48 (2153 acides aminés) est synthétisée dans l'intestin. Le gène de l'apolipoprotéine B est transcrit, puis

une désaminase intestinale convertit la cytosine du codon 2158 CCA (codon glutamine) en uracile.

Le codon glutamine se transforme en codon STOP (UAA), ce qui entraîne l'interruption de la traduction au niveau de ce codon.



3.5- Contrôle post traductionnel :

Il englobe les différents mécanismes qui sont mis en jeu dans la maturation et l'activation des protéines produites. (Forme active ou inactive de la protéine selon les besoins de la cellule).