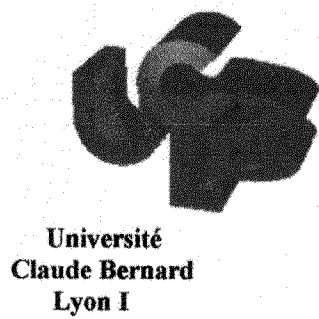
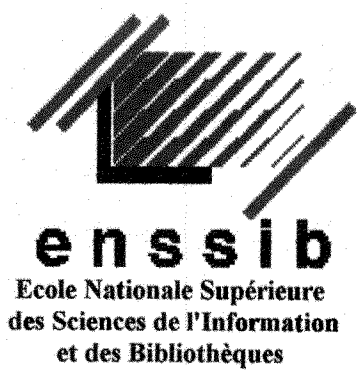




DESS Informatique Documentaire

Rapport de recherche bibliographique

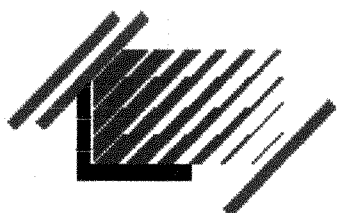
Polyadénylation des ARN messagers

Lançon Marjorie

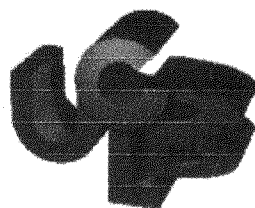
Sous la direction de
Monsieur Pelmont Jean

Université Joseph Fourier (Grenoble)

Année 1997-1998



ensib
Ecole Nationale Supérieure
des Sciences de l'Information
et des Bibliothèques



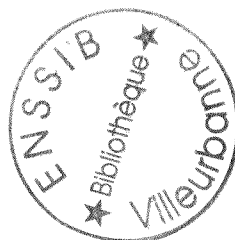
Université
Claude Bernard
Lyon I

DESS Informatique Documentaire

Rapport de recherche bibliographique

Polyadénylation des ARN messagers

Lançon Marjorie



Sous la direction de
Monsieur Pelmont Jean

Université Joseph Fourier (Grenoble)

Année 1997-1998

1998
17
15

LA POLYADENYLATION DES ARN MESSAGERS

Résumé :

La polyadénylation ou installation d'un segment poly(A) sur un ARNm est une opération clé de la maturation de cet ARN réalisée selon un protocole précis qui met en jeu de nombreux facteurs cis (éléments internes de l'ARN) et trans (protéines de fonctions et tailles variées). La polyadénylation semble impliquée dans la régulation de l'expression de certains gènes en facilitant leur passage du noyau vers le cytoplasme et/ou en augmentant leur stabilité.

Mots-clés :

polyadénylation, ARN messagers, expression génique

Abstract :

Polyadenylation or addition of a poly(A) tail on mRNAs is a key operation of their maturation realised through a precise protocol that involves a set of cis-acting elements (internal sequences of RNA) and trans-acting elements (proteins of various function and weight). Polyadenylation seems to take part in certain genes regulation by enhancing their ability to pass through the nuclear membrane and/or increasing their stability.

Keywords :

polyadenylation, messenger RNA, gene expression

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	4
1. PREMIERE PARTIE : METHODOLOGIE	5
1.1 RECHERCHE MANUELLE.....	6
1.2 RECHERCHE SUR CDROM.....	6
1.2.1 Biosis (<i>Biological Abstracts</i>).....	6
1.2.2 Embase (<i>Excerpta Medica</i>).....	6
1.2.3 Medline.....	7
1.3 RECHERCHE EN LIGNE	7
1.4 INTERNET	8
1.5 RECHERCHES COMPLEMENTAIRES	9
1.5.1 Bibliographies des publications.....	9
1.5.2 Current Contents.....	9
1.6 RESULTATS-DOCUMENTS PRIMAIRES	10
2. DEUXIEME PARTIE : SYNTHÈSE.....	11
2.1 INTRODUCTION.....	12
2.2 LA POLYADÉNYLATION CHEZ LES EUCARYOTES.....	12
2.2.1 Les mammifères.....	12
2.2.2 Les levures.....	13
2.2.3 Homologies et différences chez les eucaryotes.....	14
2.3 POLYADÉNYLATION CHEZ LES PROCARYOTES	14
2.4 TABLEAU DE COMPARAISON.....	16
2.5 LA REGULATION DE L'EXPRESSION DES GENES	16
2.5.1 L'immunoglobuline M (IgM).....	17
2.5.2 <i>Caenorhabditis elegans</i>	18
2.5.3 Mécanisme d'endocytose.....	18
2.5.4 Expression des gènes de l'adénovirus.....	19
2.5.5 Expression des gènes : conclusion.....	20
2.6 CONCLUSION.....	21
3. TROISIEME PARTIE : BIBLIOGRAPHIE.....	22

INTRODUCTION

La polyadénylation ou installation d'un segment poly(A) dans un ARN messager est une opération clé de la maturation de cet ARN ; elle est effectuée dans le noyau selon un protocole précis. Il existe cependant quelques exceptions : la maturation des messagers aboutissant à la synthèse des histones dans les cellules animales ou la production de certaines protéines virales (ces cas particuliers ne seront pas traités dans ce rapport). De récents progrès ont été réalisés : on sait aujourd'hui que la polyadénylation est réalisée par un système complexe qui reconnaît un site spécifique ou site poly(A) sur l'ARN et effectue différentes opérations.

Une mise au point sur le système de polyadénylation (le mécanisme et les divers facteurs impliqués) chez les eucaryotes (mammifères et levures) et les procaryotes (bactéries) permettra dans une seconde partie de déterminer si la polyadénylation peut dans certains cas réguler l'expression des gènes.

Je remercie Monsieur Jean Pelmont, professeur de biochimie à l'université Joseph Fourier de Grenoble, qui m'a proposé ce sujet.

1. PREMIERE PARTIE : METHODOLOGIE

1.1 RECHERCHE MANUELLE

Le sujet de ma recherche bibliographie se rapporte au domaine de la biologie moléculaire. Les bases étant interrogées dans la plupart des cas en anglais, il était important dans un premier temps de déterminer la terminologie exacte des mots-clés à utiliser en langue anglaise. Pour cela, un dictionnaire bilingue français/anglais a servi de base pour traduire les différents termes importants du sujet puis, afin d'utiliser les termes pertinents lors de la recherche (sur CDrom ou en ligne), les thesaurus de Medline et Embase se sont avérés indispensables au choix des descripteurs.

1.2 RECHERCHE SUR CDROM

Il est préférable de réaliser une recherche sur CDrom avant l'interrogation en ligne. En effet, il est ainsi possible de tester et éventuellement de modifier la stratégie de recherche, de vérifier la pertinence des mots-clés et de compléter avec les thesaurus si nécessaire. Ces opérations étant assez longues à réaliser, l'utilisation des CDrom évite de se soucier de la durée et donc du coût de l'interrogation.

Il y a cependant quelques inconvénients : les bases de données sur CDrom ne sont pas remises à jour systématiquement comme c'est le cas pour les bases en ligne. De plus, si on est amené à interroger plusieurs bases sur CDrom, il n'est pas possible de réaliser un dédoublonnage automatique : il faut le faire manuellement et cela prend beaucoup de temps.

Par le thème de ma recherche, j'ai été amenée à choisir plusieurs CDrom concernant des bases de données du domaine biomédical qui sont réunies sous un accès unique et simplifié : WinSPIRS, dont l'interface est éditée par SilverPlatters. L'utilisation des CDrom a été possible grâce à l'URFIST.

Pour obtenir des références récentes, seuls les CDrom édités en 1997 ont été consultés.

1.2.1 Biosis (*Biological Abstracts*)

Cette base couvre principalement le domaine des sciences de la vie. Les références sont disponibles avec un résumé d'auteur (elles peuvent être issues des 9000 périodiques, monographies, brevets, rapports... qui sont exploités pour l'alimentation de cette base).

Les termes d'interrogation ayant été déterminés par l'utilisation du thesaurus MeSH de Medline, la question suivante a été posée :

POLYADENYLATION AND MESSENGER RNA

Elle conduit à l'obtention de 70 références dont 43 qui sont intéressantes.

1.2.2 Embase (*Excerpta Medica*)

Cette base est surtout orientée vers la médecine humaine mais pas uniquement. Elle couvre environ 2900 périodiques sur 110 pays. La plupart des articles sont rédigés en anglais (75 %). Le thesaurus de cette base, Emtree, a une structure similaire à celle du MeSH. Les

descripteurs étant les mêmes, l'interrogation a porté sur des termes identiques à ceux utilisés pour Biosis. Sur les 90 références obtenues, 45 ont été sélectionnées.

1.2.3 Medline

Cette base de données couvre principalement le domaine des sciences biomédicales. Elle contient uniquement des références d'articles de revues (3600 périodiques de 70 pays). Medline permet d'accéder à un résumé d'auteur de l'article (qui est rédigé en anglais).

Le thesaurus MeSH m'a permis de vérifier les descripteurs employés pour l'interrogation. La question posée était donc la même que pour les deux bases précédentes. Elle conduit à l'obtention de 104 références dont seules 45 paraissent être directement liées au sujet de recherche.

Le résultat global de cette recherche sur CDrom a permis de sélectionner des textes qui discutent des aspects généraux de la polyadénylation : sur les 264 références initiales réparties entre les trois bases, 133 concernant le sujet de façon plus précise ont été sélectionnées. Après un examen attentif de toutes les références, il s'avère qu'elles comportent de nombreux doublons et seules 90 sont des exemplaires uniques.

Il est à noter que bien qu'ayant effectué une limitation dans le temps en interrogeant les CDrom de 1997, j'ai obtenu des références antérieures à cette date, ce qui pose le problème de la mise à jour.

1.3 RECHERCHE EN LIGNE

Elle se fait sur le serveur Dialog, qui est accessible à un tarif préférentiel depuis l'ENSSIB. Ce serveur regroupe de nombreuses bases de données dans tous les domaines. Il est géré par la société Knight-Ridder.

Deux interrogations ont été réalisées :

- la première pour vérifier que des bases telles que Pascal (144 : base scientifique multidisciplinaire couvrant 8500 périodiques (93% des références) et des thèses, des conférences, des brevets...) et SciSearch (base couvrant les domaines science, technologie et biomédecine) n'apportent pas d'éléments nouveaux pour la recherche.

Le croisement des deux questions suivantes

1.(POLYADENYLATION)/DE, TI AND PY-1997

2.(MESSENGER(W)RNA)/DE, TI AND PY-1997

a permis de trouver 6 références dans Pascal (et aucune dans SciSearch) et toutes sont des doublons aux références obtenues lors de la recherche sur CDrom.

- la seconde pour explorer un point plus spécifique du sujet : le rôle joué par la polyadénylation des messagers dans la régulation de l'expression des gènes.

En utilisant les descripteurs déjà connus et ceux qui ont pu être repérés grâce aux références précédentes, une interrogation en plusieurs étapes a été réalisée sur les trois bases suivantes : Biosis (55), Embase (72) et Medline (155).

Le croisement des deux questions suivantes

1.(POLYADENYLATION)/DE, TI AND PY-1997

2.(MESSENGER(N)RNA)/DE, TI AND PY-1997

a permis d'obtenir 144 références dont 100 sont uniques (après dédoublement automatique). Ce résultat a été croisé avec une question portant sur les termes suivants : (GENE(N)EXPRESSION). Ceci a abouti à l'obtention de 28 références (7 d'entre elles serviront à la rédaction de la synthèse).

Les bases en ligne étant mises à jour régulièrement (quotidiennement pour Medline, hebdomadairement pour Embase et mensuellement pour Biosis) contrairement aux CDrom, toutes les références obtenues ont effectivement été publiées en 1997. Il n'a cependant pas été possible de récupérer par cet intermédiaire des articles de 1998.

1.4 INTERNET

Des moteurs de recherche généraux ayant une couverture internationale tels que Alta Vista, Excite, Hot Bot ou Lycos ont permis d'obtenir quelques résultats.

Ces résultats se présentent sous deux formes :

- des références à des articles de revues
- des adresses de sites Internet qui correspondent le plus souvent à des universités ou des laboratoires qui effectuent ou ont effectué des travaux sur le sujet, et qui renvoient à des résumés d'articles

Il faut noter que les données concernant ces articles ne sont pas toujours très complètes : la date des travaux (ou date de publication) n'est pas forcément mentionnée, de même que la bibliographie n'est pas toujours présente ou se limite à quelques références.

1. Pour Alta Vista les deux équations d'interrogation suivantes ont été utilisées :

- polyadénylation NEAR « messenger RNA » AND maturation
qui a permis d'obtenir 4 références dont une seule intéressante
- messenger NEAR (rna or RNA) AND maturation
qui a permis d'obtenir 30 références dont une intéressante

2. Excite a trouvé deux adresses de sites Internet (mentionnées dans la bibliographie et valides à la date des recherches) qui sont liées au sujet de la recherche (NB : seul le deuxième site permettra de récupérer le document primaire).

3. L'interrogation de Hot Bot a abouti à la sélection d'une seule référence parmi les 45 proposées et qui avait d'ailleurs déjà été proposée par le précédent moteur (NB : la source du document primaire est mentionnée).

4. Le moteur Lycos a quant à lui permis de trouver 5 sites dont seul est réellement lié au sujet mais qui n'indique pas d'où provient le document dont on obtient le résumé.

De manière générale, les résultats obtenus via Internet et ces moteurs de recherche sont assez peu pertinents (5 références seulement sur une centaine examinées). De plus, il n'est pas possible de limiter les recherches dans le temps (contrairement à l'interrogation en ligne ou sur CDrom) mais, l'utilisation d'Internet pour la mise en ligne des travaux de chercheurs est encore assez peu répandue. Ainsi, les références obtenues sont relativement récentes (1991 pour les plus anciennes).

Un autre moteur de recherche moins général et plus axé sur les sciences, Uncover, a été utilisé : 4 références d'articles ont été sélectionnées mais toutes sont antérieures à 1993.

Le principal inconvénient d'Internet est le temps nécessaire aux recherches : il a fallu beaucoup de patience pour finalement obtenir peu de résultats, même si ce système permet de mettre en contact les différents continents. L'utilisation de cet outil est donc mal aisée pour qui n'en a pas l'habitude. Il semble qu'une grande pratique des moteurs de recherche (notamment une meilleure connaissance des modalités d'interrogation) soit nécessaire pour obtenir des résultats intéressants. De même, il est préférable d'utiliser Internet en ayant une bonne maîtrise du sujet de manière à pouvoir trier les nombreuses réponses qui apparaissent.

1.5 RECHERCHES COMPLEMENTAIRES

1.5.1 Bibliographies des publications

Pour démarrer ma recherche, je disposais d'une référence de base donnée par mon commanditaire (celle-ci est par ailleurs apparue en tête des résultats obtenus par Dialog car elle est très récente (fin de l'année 1997)). Aucune des références bibliographiques de cet article n'a retenu mon attention : elles étaient pour la plupart très générales et, n'ayant à faire qu'un rappel des mécanismes de polyadénylation, je ne les ai pas sélectionnées.

De même, l'étude des bibliographies des autres références obtenues (travail long et difficile) a apporté peu d'éléments nouveaux : les articles étaient soit antérieurs à la période considérée (1997) soit ils concernaient des cas particuliers du sujet.

1.5.2 Current Contents

Les Current Contents sont utilisés pour trouver les références des publications les plus récentes et qui ne sont pas encore classées dans les bases de données (il faut compter en moyenne trois mois après la publication de l'article).

Il s'agit d'une revue hebdomadaire éditée par l'Institute of Scientific Information (ISI) situé aux Etats-Unis. Elle regroupe les sommaires des périodiques dans 7 domaines :

1. Physical, chemical and earth sciences
2. Social and behavioural sciences
3. Agriculture, biology and environmental sciences
4. Life sciences
5. Engineering, computing and technology
6. Clinical medicine (avec une partie commune à Life sciences)
7. Arts and humanities

Il aurait été intéressant de pouvoir consulter les Current Contents mais, je n'en ai malheureusement pas eut le temps.

1.6 RESULTATS-DOCUMENTS PRIMAIRES

Rappel des résultats obtenus :

- CDrom : 90 références
- Dialog : 28 références
- Internet : 5 références

Parmi les 118 références obtenues grâce à l'utilisation de Dialog et des CDrom, 80 ont été retenues pour la rédaction de la bibliographie (il faut noter que les références trouvées grâce à ces deux méthodes sont pour la plupart des doublons) mais, seules 9 d'entre elles ont servi à l'élaboration de la synthèse.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que la base la plus intéressante soit Embase : c'est elle qui a permis de rapatrier le plus de données.

En ce qui concerne Internet, il existe certainement de nombreuses possibilités, liées à la multitude de sites disponibles mais, l'obtention de résultats ne peut être possible sans une meilleure connaissance des moteurs de recherche et une grande disponibilité pour exploiter le réseau.

Pour la recherche des documents primaires, l'utilisation du CDrom « Myriade » a permis de localiser les périodiques dans lesquels se trouvent des articles intéressants.

Les références sélectionnées pour la rédaction de la synthèse se trouvaient toutes à Lyon (Bibliothèques Universitaires Science et Médecine).

Estimation du coût :

Selon les outils utilisés, le temps consacré à la recherche n'est pas le même :

- CDrom
 - bases de données : environ 1 heure
 - Myriade : environ 30 minutes
- Dialog : 40 minutes soit un coût de 13.63\$
- Internet : environ 7 heures
- collecte des documents primaires : 5 heures (budget photocopies de 50 francs environ)
- lecture, traduction, analyse des documents : 40 heures

Ce n'est pas la recherche elle-même qui prend le plus de temps mais, tout ce qui concerne le travail nécessaire après cette recherche c'est à dire la collecte des documents primaires et l'analyse de ceux-ci.

2. DEUXIEME PARTIE : SYNTHÈSE

2.1 INTRODUCTION

Les transcrits primaires (ou pré ARN messagers) d'une cellule eucaryote subissent divers stades de maturation pour devenir des ARN messagers (ARNm) totalement fonctionnels. Un de ces événements est la formation de l'extrémité 3' qui se produit en deux étapes étroitement liées, nécessitant un échantillon complexe de facteurs cis et trans et au cours de laquelle le pré ARNm reçoit une nouvelle extrémité 3' qui est quasiment toujours une queue poly(A).

Dans une première réaction, le pré ARNm est clivé dans le noyau, au niveau d'un site de polyadénylation ou site poly(A). Dans une seconde étape, étroitement couplée, se produit la réaction de polyadénylation qui consiste à l'addition de quelques 200 résidus adénosine sur le produit de clivage amont alors que dans le même temps, le fragment aval est rapidement dégradé.

Les réactions qui se produisent chez les procaryotes sont, comme nous le verrons plus loin, des réactions quasiment similaires à celles observées chez les eucaryotes.

2.2 LA POLYADÉNYLATION CHEZ LES EUCARYOTES

2.2.1 Les mammifères

Chez les mammifères, le facteur spécifique du clivage et de la polyadénylation (CPSF¹) est un élément clé de ce processus. Il est nécessaire dans les deux étapes : CPSF est un complexe protéique multimérique qui se lie à la séquence consensus hexanucléotide AAUAAA, située en amont du site de clivage, grâce à sa plus grande sous-unité. Cette liaison se produit en coopération avec le facteur de stimulation du clivage (CstF²) qui reconnaît une séquence riche en U ou GU (moins bien définie) en aval du site de clivage, grâce à sa sous-unité de 64 kDa. De plus, la réaction de clivage requiert la présence de l'enzyme poly(A)polymérase (ou PAP) ainsi que deux facteurs de clivage, CFIm³ et CFIIIm.

Après cette étape, la queue poly(A) est ajoutée par la PAP selon un processus qui nécessite CPSF et une protéine de liaison au poly(A) (ou PABII⁴).

Ainsi, d'après Beyer et al. (8), il existe chez les mammifères au moins 6 facteurs trans impliqués dans la formation de l'extrémité 3'.

On suppose que la reconnaissance de la séquence AAUAAA par CPSF est la première étape de formation du complexe de clivage/polyadénylation : ce complexe initial est ensuite stabilisé par la liaison subséquente de CstF à l'élément aval (la capacité de l'enzyme à utiliser ce site poly(A) est liée à la stabilité du complexe ternaire ainsi défini). CFIm, CFIIIm et PAP se lient alors pour former un complexe actif.

L'élément aval est référence comme élément riche en U ou GU car il comporte de nombreux résidus uracile et guanine mais, les séquences qui fonctionnent en tant qu'élément aval dans les différents gènes étudiés montrent une grande variabilité. Cependant, il a été démontré que la distance entre ces séquences aval et le signal consensus AAUAAA est critique : le fait de décaler cet élément vers l'aval abolit le clivage en même temps qu'il modifie le site de clivage. Ces séquences riches en GU semblent donc être choisies

¹ CPSF : Cleavage and Polyadenylation Specificity Factor

² CstF : Cleavage stimulation Factor

³ CF : Cleavage Factor

⁴ PAB : Poly(A) Binding Protein

préférentiellement par rapport à une interaction ARN-CstF. Il est à noter que dans la plupart des cas, l'élément aval se trouve dans la région 3' non traduite des gènes.

Chen et al. (10) ont déterminé les principaux éléments du signal de polyadénylation chez les mammifères.

AAUAAA		A>U>C>>G		RICHE EN GU	
Consensus		Région de clivage		Elément aval	
5'	-----6-----	-----11-----	-----13-----	-----10 à 30-----	-----5----- 3'

Figure 1. Les relations fonctionnelles entre les principaux éléments cis du signal de polyadénylation des mammifères.

La figure 1 montre la séquence préférentielle pour la sélection du site de clivage et de polyadénylation. Les chiffres indiqués au bas du schéma sont les longueurs des différents éléments en nucléotides.

2.2.2 Les levures

Chez la levure, l'étude exhaustive des séquences nécessaires à la formation de l'extrémité 3' a aboutit à l'identification de 2 éléments essentiels qui sont tous deux situés en amont du site de clivage :

- un « élément de positionnement », proche du site de clivage (le plus souvent la séquence AAUAAA)
- un « élément efficace » distant

In vitro, les réactions de formation de l'extrémité 3' nécessitent 4 facteurs trans : le clivage requiert les facteurs de clivage CFI et CFII alors que la polyadénylation se produit quand CFI, la poly(A)polymérase (Pap1p) et le facteur de polyadénylation I (PFI⁵) sont combinés.

Dans un modèle d'assemblage du complexe de clivage/polyadénylation proposé par Preker et al. (52), l'enzyme Pap1p liée au pré ARNm par au moins deux événements de reconnaissance différents. Premièrement, une liaison directe de PFI-Pap1p à « l'élément efficace » du fragment amont de clivage et deuxièmement, une sous-unité de PFI agit comme pont entre Pap1p et CFI qui se lie au pré ARNm, probablement au niveau de « l'élément de positionnement ».

La reconnaissance spécifique du site correct de polyadénylation serait ainsi transmise par l'assemblage d'un réseau complexe d'interactions ARN-Protéines et Protéines-Protéines, comme le montre la figure 2.

Il semble qu'une sous-unité de CFI possède une activité qui lui permette de contrôler la longueur de la queue poly(A) synthétisée par le complexe PFI-Pap1p.

⁵ PF : Polyadenylation Factor

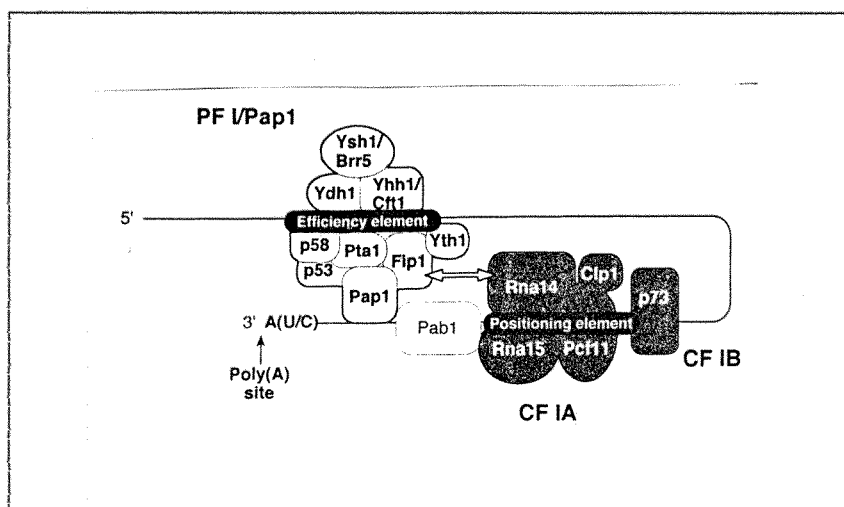


Figure 2. Représentation schématique du complexe de polyadénylation de la levure

2.2.3 Homologies et différences chez les eucaryotes

Les analyses faites par Preker et al. (52) montrent qu'il existe de nombreuses homologies entre les facteurs trans qui sont impliqués dans la formation de l'extrémité 3' chez les levures et les mammifères. En effet, il semble que CPSF (mammifère) et PFI (levure) aient des fonctions similaires dans les deux organismes : cette hypothèse est renforcée par les homologies de séquences qui existent entre les diverses sous-unité des deux composants. De même, des similitudes ont pu être observées pour les facteurs CFI (levure) et CstF (mammifère), que ce soit au niveau de leurs fonctions ou de leurs séquences.

Ainsi, les différents facteurs de cette étape de maturation des ARNm semblent être conservés entre levures et mammifères (qui appartiennent rappelés le aux eucaryotes), même si le rôle de chaque composé n'est pas absolument identique dans les deux cas (par exemple, alors que CstF participe seulement à la réaction de clivage, CFI est essentiel pour les deux phases de clivage et de polyadénylation). Mais, les discordances apparentes entre les homologies de séquences et de fonction peuvent être en partie expliquées par le fait que l'inventaire des facteurs n'est pas toujours complet et aussi parce que les mécanismes moléculaires détaillés de l'action de ces facteurs protéiques dans les réactions ne sont pas toujours bien connus.

2.3 POLYADENYLATION CHEZ LES PROCARYOTES

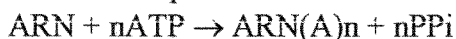
Chez les bactéries, les ARNm sont accessibles par la machinerie de synthèse des protéines aussitôt après leur transcription de l'ADN. Parce que la traduction est essentiellement cotranscriptionnelle, les ARNm bactériens sont utilisés très rapidement et très efficacement, ils ont de plus une demi-vie relativement courte (Sarkar(57)).

La longueur de la queue poly(A) de ces ARNm varie de 14 à 60 nucléotides et, contrairement aux eucaryotes, seuls 2 à 50% des ARNm bactériens sont polyadénylés.

Il n'a pas été possible de définir un consensus unique pour le site de polyadénylation (Sarkar(57)); ainsi, il existe 6 classes différentes de site poly(A). Ceci suggère que la

polyadénylation chez les bactéries peut se produire de façon indiscriminée quasiment à toutes les extrémités 3' non protégées des ARNm, sans tenir compte de la séquence ou des structures secondaires des ARN.

De plus, les études de N. Sarkar ont montré que plusieurs poly(A)polymérases différentes sont utilisées pour la réaction de polyadénylation, dérivant de gènes non liés, mais la réaction se déroule toujours selon le même processus :



La polyadénylation a sans doute plusieurs rôles chez les procaryotes :

- la régulation de l'expression du plasmide par un ARN antisens.

Le nombre de copies du plasmide bactérien est contrôlé par un mécanisme qui implique un ARN antisens (RNAI⁶) : la polyadénylation de cet ARN inactive le rôle inhibiteur de la réplication du plasmide par RNAI (peut-être en induisant un changement de structure secondaire) et facilite sa dégradation par l'exonucléase 3'.

- le contrôle de la demi-vie des ARNm.

Les réactions de polyadénylation et de dégradation par l'exonucléase sont des processus compétitifs : la polyadénylation va déstabiliser les ARNm ayant des structures terminales en « épingle à cheveux » (ils seront alors plus sensibles à la dégradation) et elle peut stabiliser les ARN n'ayant pas ces structures.

Il est donc probable que la polyadénylation des ARNm joue un rôle important dans l'initiation de la dégradation par l'exonucléase.

- la traduction des ARNm.

La protéine S1 semble associée *in vivo* avec la queue poly(A) de l'ARNm bactérien : il est possible que cette association joue un rôle dans la stimulation de l'initiation de la traduction.

⁶ RNAI : Ribo Nucleic Acid Inverse

2.4 TABLEAU DE COMPARAISON

Les différentes données mentionnées dans les paragraphes précédents permettent d'établir un tableau pour récapituler les principales caractéristiques de la polyadénylation chez les eucaryotes et les procaryotes.

	Procaryotes	Eucaryotes
Longueur du poly(A)	14-60 nucléotides	80-200 nucléotides
Proportion d'ARNm polyadénylés	2-50 %	100 %
Site de polyadénylation	sans distinction au niveau des extrémités 3' accessibles	en aval de la séquence consensus AAUAAA
Poly(A)polymérase	plusieurs enzymes codées par des gènes différents	isoformes d'une enzyme (même gène)
Fonctions		
• stabilité des ARNm	- déstabilisation des ARNm avec une structure terminale en épingle - possible stabilisation des ARNm sans structure	stabilisation des ARNm sans structure terminale en épingle
• traduction	rôle possible par la liaison de la protéine S1 au ribosome 30S	interaction de PAB sans doute impliquée dans la liaison de l'ARNm au ribosome 40S
• réplication du plasmide	dégradation de l'ARNm antisens inhibiteur	

D'après Sarkar (57), il est probable que la fonction initiale de la polyadénylation était de jouer un rôle dans la machinerie d'assemblage des macromolécules.

La découverte d'homologies de séquences entre la principale poly(A)polymérase et l'ARNi nucléotidyltransférase de *E. coli* d'une part et entre la poly(A)polymérase eucaryotique et l'ARNi nucléotidyltransférase des archéobactéries d'autre part, laisse supposer que l'addition post transcriptionnelle d'un résidu adénylate terminal à l'ARNi pour le rendre fonctionnel est sans doute le rôle ancestral de la polyadénylation.

Il est possible d'imaginer comment, à partir de ce rôle dans la synthèse de macromolécules, la polyadénylation a pu évoluer vers des fonctions régulatrices telles que le contrôle de la stabilité des ARNm ou des ARN qui modulent la réplication de l'ADN...

2.5 LA REGULATION DE L'EXPRESSION DES GENES

La plupart des ARNm eucaryotes subissent la polyadénylation dans le noyau des cellules (mais, il existe aussi des éléments de polyadénylation cytoplasmiques).

Les expérimentations menées par K. Bechler (7) montrent que l'ARNm sans aucune modification peut être traduit dans le noyau et dans le cytoplasme. Cependant, l'addition de la queue poly(A) à l'extrémité 3' augmente le niveau d'expression : ceci peut probablement être expliqué par le fait que la polyadénylation jouerait un rôle protecteur contre la dégradation exonucléolytique et assurerait une plus grande stabilité de l'ARNm.

D'autre part, la polyadénylation ainsi que le « capping » (maturation de l'extrémité 5') semblent être nécessaires pour le transport des ARNm du noyau vers le cytoplasme (K. Bechler(7) et N. Sarkar(57)) et servent de signal pour l'initiation de la biosynthèse des protéines.

Comme il ne semble pas y avoir de mécanisme général pour expliquer le rôle de la polyadénylation dans la régulation de l'expression des gènes, seule l'étude de quelques cas permettra de mieux comprendre l'importance de ce processus.

2.5.1 L'immunoglobuline M (IgM)

Les IgM interviennent dans la première phase de la réponse immunitaire : qu'elles soient circulantes ou liées à la membrane, elles constituent la première ligne de défense de l'organisme avant le changement d'isotype (et la sécrétion des anticorps spécifiques) et sont donc cruciales.

Le gène de l'IgM comporte deux sites poly(A) : un permettant la sécrétion des IgM et le second aboutissant à une IgM membranaire. L'utilisation du site permettant la sécrétion des IgM semble être régulée au cours de la différenciation des cellules β : la différenciation est donc régulée par la modulation de l'activité de la polyadénylation au niveau de ce site.

La reconnaissance du site poly(A) par le complexe de clivage/polyadénylation implique un réseau multiple d'interactions entre de nombreux éléments de séquence (éléments cis) et différents composants de la machinerie de formation de l'extrémité 3' (éléments trans) ainsi que des interactions entre les composants eux-mêmes. La limitation de l'un de ces éléments trans, lors de tests *in vitro*, aboutit à la dépendance vis à vis de ce composé (Phillips et al. (50)) : il est possible que la régulation se produise simplement par la modulation de l'abondance des facteurs de clivage/polyadénylation. Cependant, la structure des éléments du substrat ARN jouera aussi un rôle dans la détermination de cette dépendance.

Il est donc important de comprendre le rôle des différents cis et trans impliqués ; la séquence hexanucléotide consensus AAUAAA du site poly(A) est comprise dans une séquence riche en AU. De plus, il existe deux régions riches en GU, de 8 et 11 nucléotides de long, qui sont localisées respectivement 21 et 58 nucléotides en aval de séquence consensus. Par comparaison avec des substrats types, les distances entre le site hexanucléotide et ces deux séquences ne semblent pas optimales : l'un étant trop éloigné et l'autre trop proche du consensus.

Phillips et al. (50) ont montré que les deux régions riches en GU ainsi que l'hexanucléotide consensus contribuent à la stabilité du complexe primaire d'initiation (formé par l'interaction de CPSF avec AAUAAA et de CstF avec les éléments riches en GU : il semble qu'une seule molécule de chaque facteur soit mise en jeu). Suite à ces expérimentations, il a été proposé que la nature multiprotéique de CstF module l'affinité de liaison de CstF au cours des différentes étapes de la différenciation. Le taux de CstF dans la cellule semble pouvoir, dans un système reconstitué *in vitro*, réguler l'efficacité de la polyadénylation au niveau du site poly(A) qui permet la sécrétion des IgM.

Des comparaisons de séquences révèlent que :

- la présence des deux éléments aval à proximité du site poly(A) permettant la sécrétion des IgM diffère des autres sites poly(A) « sécréteurs » des Ig
- la présence de la région riche en AU (adjacente au consensus hexanucléotide) est conservée au niveau des sites poly(A) « sécréteurs » d'IgM

On suppose que cette double structure en aval du site poly(A) apporte une flexibilité qui devrait permettre une adaptation aux changements des conditions de formation du

complexe de clivage/polyadénylation (structure et abondance des facteurs de ce complexe notamment) au cours de la régulation de l'efficacité de la polyadénylation.

2.5.2 *Caenorhabditis elegans*

Les contrôles traductionnels sont essentiels pour de nombreuses décisions liées au développement. Pour beaucoup d'organismes, des éléments cis régulateurs situés dans la région 3' non traduite (3'UTR⁷) des gènes gouvernent des événements majeurs tels que la formation de l'axe embryogénique, l'expression des ARNm maternels ou la détermination du sexe.

Chez *C. elegans*, le gène *tra-2* est responsable de la détermination du sexe : si il fonctionne normalement, il aboutit à la génération de nématodes femelles et sa régulation négative aboutit au développement des mâles et hermaphrodites.

La traduction de ce gène est régulée par deux éléments de 28 nucléotides (DRE⁸) localisés dans la région 3'UTR ; ils lient un facteur appelé DRF⁹. Récemment, Jan et al. (21) ont montré que les DRE contrôlent la longueur de la queue poly(A). Ces données suggèrent que la traduction de *tra-2* est régulée par inhibition de la polyadénylation : ils ont travaillé sur l'hypothèse que la liaison de DRF aux DRE réprime la traduction et ainsi inhibe le développement des nématodes femelles.

Jan et al. (21) ont également montré que les DRE de *tra-2* font probablement partie d'une famille d'éléments régulateurs hautement conservés qui peuvent contrôler la traduction d'autres ARNm dans de nombreux organismes : l'oncogène humain GLI est régulé de façon traductionnelle par des éléments similaires aux DRE, idem pour *C. briggsae*. Ces découvertes suggèrent que le contrôle traductionnel est conservé et présent non seulement chez les nématodes mais aussi chez les mammifères.

La régulation de la traduction par des éléments de la région 3'UTR est donc importante pour le contrôle de l'activité des gènes de nombreux organismes. A ce jour, il y a peu d'information sur la manière dont sont conservés les différents contrôles 3'UTR.

2.5.3 Mécanisme d'endocytose

Les ovocytes (cellules de la lignée germinale femelle n'ayant pas encore subi la méiose) des insectes sont hautement spécialisés dans l'endocytose, via des récepteurs, de précurseurs des protéines du jaune d'oeuf. La chaîne lourde de la clathrine (CHC¹⁰) est le principal élément structural des vésicules formées : 3 CHC se combinent avec 3 chaînes légères (CLC¹¹) pour créer un squelette hexamérique. Il est à noter que la clathrine est exprimée de façon ubiquitaire dans toutes les cellules eucaryotes analysées jusqu'à aujourd'hui, des protozoaires aux métazoaires.

Kokoza et al. (26) ont utilisé comme modèle d'étude le processus d'endocytose des ovocytes en développement du moustique responsable de la fièvre jaune, *Aedes aegypti*. Les résultats obtenus montrent que le gène *chc* est régulé aux niveaux transcriptionnel et post transcriptionnel : la combinaison de l'épissage différentiel et de la polyadénylation alternative

⁷ 3'UTR : 3' Untranslated Region

⁸ DRE : Down Regulating Element

⁹ DRF : Down Regulating Factor

¹⁰ CHC : Clathrin Heavy Chain

¹¹ CLC : Clathrin Light Chain

conduit à l'obtention de 3 transcrits CHC matures distincts qui montrent une expression spécifique en fonction des tissus, du stade de développement et du sexe.

Le gène *chc* de *A. aegypti* s'étend sur environ 45 kb ; il est composé de sept exons dont cinq codent la protéine. La séquence codante de ce gène est hautement conservée, que ce soit au niveau des nucléotides ou des acides aminés.

Le clonage des ADNc (amplifiés par RT PCR¹²) a permis d'identifier deux classes d'ARNm qui diffèrent par la taille de leur 3'UTR :

- une classe possédant une longue région 3'UTR de 1.4 kb
- une classe possédant une courte région 3'UTR de 0.35 kb

La polyadénylation alternative est probablement le mécanisme qui permet de générer des ARNm de tailles différentes : deux signaux potentiels de polyadénylation ont été identifiés (AAUAAA et AAUAUA). De plus, des analyses par Northern blot ont montré qu'il existe 2 types de transcrits CHC dans les tissus de *A. aegypti* : un ARNm « ovarien » de 6.5 kb, détecté seulement dans les ovaires des femelles pendant les périodes de prévitellogénèse et de vitellogénèse et un ARNm « somatique » de 7.5 kb présent dans les tissus somatiques (c'est à dire non différenciés) des femelles et dans tous les tissus des mâles. L'utilisation alternative de ces signaux est sans doute la raison de l'obtention de deux transcrits différents dans les tissus somatiques et les tissus reproductifs femelles.

L'épissage différentiel de l'extrémité 5' et la polyadénylation alternative de l'extrémité 3' sont combinés pour produire trois types de transcrits matures du gène *chc* dans les différents tissus de *A. aegypti* :

- CHCa-O¹³ transcrit ovarien traduit par un promoteur distant
- CHCb-O¹⁴ transcrit ovarien traduit par un promoteur proximal
- CHCb-S¹⁵ transcrit somatique traduit par un promoteur proximal

L'expression des gènes eucaryotes est partiellement régulée par le taux de dégradation des ARNm, qui est en général fonction des séquences régulatrices contenues dans la région 3'UTR. La longue région 3'UTR du transcrit CHCb-S contient plus de séquences consensus potentielles qui causent la dégradation des ARNm que n'en contiennent les régions 3'UTR plus courtes des transcrits CHCa-O et CHCb-O. Ces données suggèrent que les transcrits ovariens de CHC sont plus stables que les transcrits somatiques. Une telle stabilité faciliterait l'accumulation de l'ARNm CHC dans les ovocytes en développement, permettant ainsi une grande production de clathrine pendant la vitellogénèse au cours de laquelle se produit l'endocytose d'une quantité massive vitellogénine.

2.5.4 Expression des gènes de l'adénovirus

La principale unité de tardive de transcription (MTLU¹⁶) de l'adénovirus est un modèle de régulation de l'expression des gènes au niveau de la formation de l'extrémité 3' ; sa longueur est de 25 kb et, elle contient cinq sites poly(A) différents (numérotés I.1 à I.5). Chacun de ces sites est associé à plusieurs accepteurs potentiels d'épissage.

Pendant la phase tardive de l'infection par l'adénovirus, les cinq poly(A) sont utilisés en combinaison avec les différents sites d'épissage pour conduire à la formation d'au moins 45 ARNm matures distincts. Par contre, lors de la phase précoce, la polyadénylation se

¹² RT PCR : Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

¹³ CHCa-O : CHCa Ovarian

¹⁴ CHCb-O : CHCb Ovarian

¹⁵ CHCb-S : CHCb Somatic

¹⁶ MTLU : Multiple Transcription Late Unit

produit seulement au niveau des trois premiers sites et, la grande majorité des transcrits stables sont obtenus à partir du site poly(A) L1.

Prescott et al. (53) ont montré que les ARNm issus de L1 sont cinq à dix fois plus abondants que ceux issus du site aval L3. Ceci laisse supposer que des facteurs cellulaires plutôt que des facteurs viraux sont responsables de l'utilisation préférentielle du site L1 : des études *in vivo* ont permis d'observer que des éléments cis, flanquants le site L1 contribuent à sa domination lors de la phase précoce de l'infection.

L'utilisation de virus recombinants contenant le tandem de site poly(A) L1 et L3 ou un seul de ces sites (Prescott et al.(53)) a abouti à plusieurs conclusions :

- quand il est seul, le poly(A) L1 est un substrat ARN faible pour la machinerie de polyadénylation
- en présence de L3, le site poly(A) L1 est capable d'inhiber l'accumulation d'ARNm stables produit à partir de L3
- cette inhibition ne nécessite pas la formation du complexe de clivage/polyadénylation au niveau de L1
- en dépit de cette inhibition, le site aval L3 est biologiquement actif (indication donnée par le fort taux de terminaison de la transcription résultant de la construction contenant L1/L3)
- un élément cis en amont du site L1 est nécessaire pour cette répression

Il a été montré que cette inhibition n'est pas uniquement due au fait que le site L1 étant le plus en amont, il est le premier exposé aux facteurs de clivage/polyadénylation. Il semble que deux éléments cis en amont de L1 aient aussi un effet sur la domination de ce site poly(A) : ces éléments contribuent à l'efficacité de clivage au niveau du site L1 et, ils peuvent être considérés comme une partie du signal qui empêche les ARNm non issus de la polyadénylation au site L1 de devenir des ARNm cytoplasmiques stables.

Cependant, les mécanismes qui permettent aux éléments de sélection de L1 d'inhiber le transport des ARNm et/ou de faciliter leur dégradation ne sont pas encore bien connus. Il en est de même pour les mécanismes permettant de passer outre cette sélection lors de la phase tardive de l'infection par l'adénovirus.

2.5.5 Expression des gènes : conclusion

Capping, épissage et polyadénylation sont des étapes obligatoires de la maturation des ARNm et sont probablement nécessaires pour le transport efficace de ces transcrits du noyau vers le cytoplasme. De même que les séquences en aval du site poly(A) sont très rapidement dégradées, les transcrits primaires dont les réactions de clivage/polyadénylation ne se sont pas déroulées correctement sont rapidement dégradés.

Bien qu'il ne soit pas possible de définir un mécanisme général de régulation des gènes par la polyadénylation, l'étude de différents exemples a montré que dans tous les cas, il est fait usage d'une polyadénylation alternative pour favoriser l'expression de certains transcrits ARN. Les mécanismes qui permettent de sélectionner les transcrits primaires ne sont pas encore très bien compris.

2.6 CONCLUSION

Que ce soit chez les procaryotes (bactéries...) ou chez les eucaryotes (mammifères, levures...), la polyadénylation semble être un phénomène très conservé, bien que les taux de polyadénylation observés pour ces deux grandes familles diffèrent.

Les mécanismes de formation du complexe de clivage/polyadénylation sont maintenant assez bien caractérisés, notamment grâce aux récents travaux de Preker et al. (52) ainsi que ceux de Beyer et al. (8) en ce qui concerne les eucaryotes et les travaux de N. Sarkar (57) sur les procaryotes. Il en est de même pour les différents facteurs impliqués dans ces deux réactions.

L'étude de plusieurs exemples a permis de démontrer le rôle important joué par la polyadénylation dans l'expression des gènes via différentes fonctions :

- facilitation du passage des ARNm du noyau vers le cytoplasme
- stabilisation des ARNm vis à vis du clivage par l'exonucléase 3' chez les eucaryotes
- probable implication de la protéine PAB dans la liaison de l'ARNm avec le ribosome 40 S chez les eucaryotes (protéine S1 et ribosome 30 S pour les procaryotes)

3. TROISIEME PARTIE : BIBLIOGRAPHIE

1 - Articles de périodiques

1. **AKHAMANOVA, A., MIEDEMA, K., KREMER, H. et al.** Two types of polyadenylated mRNAs are synthesized from *Drosophila* replication-dependent histone gene. *European Journal of Biochemistry*, 1997, vol. 244, n° 2, p 294-300.
2. **AMRANI, N., MINET, M., LE GOUAR, M. et al.** Yeast Pab1 interacts with rna15 and participates in the control of the poly(A) tail length in vitro. *Molecular and Cellular Biology*, 1997, vol. 17, n° 7, p 3694-3701.
3. **ANAND, S., BATISDA, F.D., TKACH, T. et al.** Multiple transcripts of the murine immunoglobulin epsilon membrane locus generated by alternative splicing and differential usage of two polyadenylation sites. *Molecular Immunology*, 1997, vol. 34, n° 2, p 175-183.
4. **ANTIC, D. and KEENE, J.D.** Embryonic lethal abnormal visual RNA-binding proteins involved in growth, differentiation, and posttranscriptional gene expression. *American Journal of Human Genetics*, 1997, vol. 61, n° 2, p 273-278.
5. **BALLANTYNE, S., DANIEL, D.L. and WICKENS, M.** A dependent pathway of cytoplasmic polyadenylation reactions linked to cell cycle control by c-mos and CDKI activation. *Molecular Biology of the Cell*, 1997, vol. 8, n° 8, p 1633-1648.
6. **BARABINO, S.M.L., HUBNER, W., JENNY, A. et al.** The 30 kDa subunit of mammalian cleavage and polyadenylation specificity factor and its yeast homologue are RNA-binding zinc finger proteins. *Genes and Development*, 1997, vol. 11, n° 13, p 1703-1716.
7. **BECHLER, K.** Influence of capping and polyadenylation on mRNA expression and on antisense RNA mediated inhibition of gene expression. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1997, vol. 241, p 193-199.
8. **BEYER, K., DANDEKAR, T. and KELLER, W.** RNA ligands selected by cleavage stimulation factor contain distinct sequence motifs that function as downstream elements in 3'-processing of pre-mRNA.. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, vol. 272, n° 42, p 26769-26779.
9. **CAO, G.J., KALAPOUS, M.P. and SARKAR, N.** Polyadenylated mRNA in *Escherichia coli*: modulation of poly(A)RNA levels by polynucleotide phosphorylase and ribonucleotide. *Biochimie*, 1997, vol. 79, n° 4, p 211-220.
10. **CHEN, F., MACDONALD, C. and WILUSZ, J.** Cleavage site determinants in the mammalian polyadenylation signal. *Nucleic Acids Research*, 1995, vol. 23, n° 14, p 2614-2620.
11. **CHEN, J.C., CHEN, Y.M., and YEH, K.W.** Isolation and characterization of new sporamin gene members from sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam). *Taiwania*, 1997, vol. 42, n° 1, p 34-42.

12. **DANTONEL, J.C., MURTHY, K.G.K., MANLEY, J.L. et al.** Transcription factor TFIID recruits factor CPSF for formation of 3' end of mRNA. *Nature*, 1997, vol. 389, p 399-402.
13. **DAS, A.T., KLAVER, B., KLASSENS, B.I.F. et al.** A conserved hairpin motif in the R-U5 region of the human immunodeficiency virus type 1 RNA genome is essential for replication. *Journal of virology*, 1997, vol. 71, n° 3, p 2346-2356.
14. **DEL OLMO, M., MIZRAHI, N., GROSS, S et al.** The uba2 and ufd1 proteins of *Saccharomyces cerevisiae* interact with poly(A)polymerase and affect the polyadenylation activity of cell extracts. *Molecular and General Genetics*, 1997, vol. 255, n° 2, p 209-218.
15. **EDWARLDS-GILBERT, G., VERALDI, K.L. and MILCAREK, C.** Alternative poly(A) site selection in complex transcription units : means to an end? *Nucleic Acids Research*, 1997, vol. 25, n° 13, p 2547-2561.
16. **FISLAGE, R., BERCEANU, M., HUMBOLT, Y. et al.** Primer design for a prokaryotic differential display RT-PCR. *Nucleic Acids Research*, 1997, vol. 25, n° 9, p 1830-1835.
17. **GARSON, K., DUHIG, T. and FRIED, M.** Tissue-specific processing of the surf-5 and surf-4 mRNAs. *Gene Expression*, 1997, vol. 6, n° 4, p 209-218.
18. **GUNDERSON, S.I., VAGNER, S., POLYCARPOU-SCHWARTZ, M. et al.** Involvement of the carboxyl terminus of vertebrate poly(A)polymerase in U1A autoregulation and in the coupling splicing and polyadenylation. *Genes and Development*, 1997, vol. 11, n° 6, p 761-773.
19. **HASTINGS, M.L., MILCAREK, C., MARTINCIC, K. et al.** Expression of the thyroid hormone receptor gene, erbA-alpha, in B lymphocytes : alternative mRNA processing is dependent of differentiation but correlates with antisens RNA levels. *Nucleic Acids Research*, 1997, vol. 25, n° 21, p 4296-4300.
20. **HOUGH, R.F. and BASS, B.L.** Analysis of *Xenopus* dsRNA adenosine deaminase cDNAs reveals similarities to DNA methyltransferase. *RNA*, 1997, vol. 3, n° 4, p 356-370.
21. **JAN, E., YOON, J.W., WALTERHOUSE, D. et al.** Conservation of *C. elegans* tra-2 3'UTR translational control. *The Embo Journal*, 1997, vol. 16, n° 20, p 6301-6313.
22. **JIMENEZ-LINAN, M., RUBIN, B.S. and KING, J.C.** Examination of guinea pig luteinizing hormonoreleasing hormone gene reveals a unique decapeptide and existence of two transcripts in the brain. *Endocrinology*, 1997, vol. 138, n° 10, p 4123-4130.
23. **KELLER, W. and MINVIELLE-SEBASTIA, L.** A comparison of mammalian and yeast pre-mRNA 3' end processing. *Current Opinion in Cell Biology*, 1997, vol. 9, n° 3, p 329-336.
24. **KEY, S.C.S. and PAGANO, J.S.** A noncanonical poly(A) signal, UAUAAA, and flanking elements in Epstein-Barr virus DNA polymerase mRNA function in cleavage and polyadenylation assays. *Virology*, 1997, vol. 234, n° 1, p 147-159.

25. **KIOLA, T., YAMAGAMI, S., MUI, K. et al.** Nuclear polyadenylate polymerase activity in the brain of seizure-prone EL mice. *Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 1997, vol. 51, n° 3, p 151-155.
26. **KOKOZA, V.A. and RAIKHEL, AS.** Ovarian- and somatic-specific transcripts of the mosquito clathrin heavy chain gene generated by alternative 5'-exon splicing and polyadenylation. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, vol. 272, n° 2, p 1164-1170.
27. **KREBBER, H. and PONSTINGL, H.** Ubiquitous expression and testis-specific alternative polyadenylation of mRNA for the human Ran GTPase activator Ran GAP1. *Gene*, 1996, vol. 180, n° 1, p 7-11.
28. **KUDLA, J., HAYES, R. and GRUISEM, W.** Polyadenylation accelerates degradation of chloroplast mRNA. *The Embo Journal*, 1996, vol. 15, n° 24, p 7137-7146.
29. **KUERSTEN, S., LEA, K., MACMORRIS, M. et al.** Relationship between 3' end formation and SL2-specific trans-splicing in polycistronic *Caenorhabditis elegans* pre mRNA processing. *RNA*, 1997, vol. 3, n° 3, p 269-278.
30. **KUO, L., FEARN, R. and COLINS, P.L.** Analysis of the gene start and gene end signals of human respiratory syncytial virus : quasi-templated initiation at position 1 of the encoded mRNA. *Journal of virology*, 1997, vol. 71, n° 7, p 4944-4953.
31. **LEQUARRE, A.S., GRISARD, B., MOREAU, B. et al.** Glucose metabolism during bovine preimplantation development : analysis of gene expression in single oocytes and embryos. *Molecular Reproduction and Development*, 1997, vol. 48, n° 2, p 216-226.
32. **LEVY, N.S., GOLBERG, M.A. and LEVY, A.P.** Sequencing of the human vascular endothelial growth factor (VEGF) 3' untranslated region (3'UTR) : conservation of five hypoxia-inducible RNA-protein binding site. *Biochemica et Biophysica Acta*, 1997, vol. 1352, n° 2, p 167-173.
33. **LIANG, S., BRIGGS, M.W., and BUTLER, J.S.** Regulation of the tRNA supressor activity by an intron-incoded polyadenylation signal. *RNA*, 1997, vol. 3, n° 6, p 648-659.
34. **LINKELS, M., BUSSEMAKERS, M.J.G., NOLLET, F. et al.** Molecular cloning of an alternative human alphaE-catenin cDNA. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1997, vol. 237, n° 1, p 177-188.
35. **LISITSKY, I., KLAFF, P. and SCHUSTER, G.** Addition of destabilizing poly(A)-rich sequences to endonuclease cleavage sites during the degradation of chloroplast mRNA. *Proceedings of the National Academy of Science of The USA*, 1996, vol. 93, n° 23, p 13398-13403.
36. **LISITSKY, I., KLAFF, P. and SCHUSTER, G.** Blocking polyadenylation of mRNA in the chloroplast inhibits its degradation. *Plant Journal*, 1997, vol. 12, n° 5, p 1173-1178.

37. **LISITSKY, I., KOTLER, A. and SCHUSTER, G.** The mechanism of preferential degradation of polyadenylated RNA in the chloroplast : the exoribonuclease 100RNP/polynucleotide phosphorylase displays high binding affinity for poly(A) sequence. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, vol. 272, n° 28, p 17648-17653.
38. **MACCRACKEN, S., FONG, N., YANKULOV, K. et al.** The C-terminal domain of RNA polymerase II couples mRNA processing to transcription. *Nature*, 1997, vol. 385, n° 6614, p 357-361.
39. **MAHADEVAN, S., RAGHUNAND, T.R., PANICKER, S. et al.** Characterization of 3' end formation of the yeast HIS3 mRNA. *Gene*, 1997, vol. 190, n° 1, p 69-76.
40. **MATIS, S.A., MARTINCIC, K. and MILCAREK, C.** B-lineage regulated polyadenylation occurs on weak poly(A) sites regardless of sequence composition at the cleavage and downstream regions. *Nucleic Acids Research*, 1996, vol. 24, n° 23, p 4684-4692.
41. **MERIC, F., SEARFOSS, A.M., WORMINGTON, M. et al.** Ending the message is not so simple. *The Journal of Biological Chemistry*, 1996, vol. 271, n° 48, p 30804-30810.
42. **MINVIELLE-SEBASTIA, L., PREKER, P.J., WIEDERKEHR, T. et al.** The major yeast poly(A)-binding protein is associated with cleavage factor IA and functions in pre-messenger RNA 3' end formation. *Proceedings of the National Academy of Science of The USA*, 1997, vol. 94, n° 15, p 7897-7902.
43. **MISKOVIC, D., SALTER-CID, L., OHAN, N. et al.** Isolation and characterization of a cDNA encoding a Xenopus immunoglobulin binding protein, BiP (Grp78). *Comparative Biochemistry and Psycology*, 1997, vol. 116, n° 2, p 227-234.
44. **NEWTON, R., SEYBOLD, J., LIU, S.F. et al.** Alternative COX-2 transcripts are differentially regulated : implications for post-transcriptional control. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1997, vol. 231, n° 1, p 85-89.
45. **NOMURA, O., NAKABAYASHI, O., NISHIMORI, K. et al.** The cDNA cloning and transient expression of a chicken gene encoding cytochrome P450. *Gene*, 1997, vol. 185, n° 2, p 217-222.
46. **OKAMOTO, M., TAKEMORI, H., HALDER, S.K. et al.** Cytochrome P450 (11 beta): ectopic expression in oocyte and its physiological implications. *Endocrinology Research*, 1996, vol. 22, n° 4, p 471-477.
47. **OSBORNE, H.B. and RICHTER, J.D.** Translational control by polyadenylation during early development. *Prog. Mol. Subcell. Biol.*, 1997, vol. 18, p 173-98.
48. **PARTHASARATHY, L., PARTHASARATHY, R. and VADNAL, R.** Molecular characterization of coding and untranslated regions of rat cortex lithium-sensitive myo-inositol monophosphatase cDNA. *Gene*, 1997, vol. 191, n° 1, p 81-87.

49. **PENHOAT, A., NAVILLE, D., JAILLARD, C. et al.** Presence of multiple functional polyadenylation signals in the 3' untranslated region of human corticoprotein receptor cDNA. *Biochemica et Biophysica Acta*, 1997, vol. 1356, n° 3, p 249-252.
50. **PHILLIPS, C. and VIRTANEN, A.** The murine IgM secretory poly(A) site contains dual upstream and downstream elements which affect polyadenylation. *Nucleic Acids Research*, 1997, vol. 25, n° 12, p 2344-2351.
51. **PHILLIPS, C., SCHIMPL, A., DIETRICH-GOETZ, W. et al.** Inducible nuclear factors binding the IgM heavy chain pre-mRNA secretory poly(A) site. *European Journal of Immunology*, 1996, vol. 26, n° 12, p 3144-3152.
52. **PREKER, P.J., OHNACKER, M., MINVIELLE-SEBASTIA, L. et al.** A multisubunit 3' end processing factor from yeast containing poly(A) polymerase and homologues of the subunits of mammalian cleavage and polyadenylation specificity factor. *The Embo Journal*, 1997, vol. 16, n° 15, p 4727-4737.
53. **PRESCOTT, J.C., LIU, L. and FALCK-PEDERSEN, E.** Sequence-mediated regulation of adenovirus gene expression by repression of mRNA accumulation. *Molecular and Cellular Biology*, 1997, vol. 17, n° 4, p 2207-2216.
54. **PROWELLER, A. and BUTLER, J.S.** Ribosome concentration contributes to discrimination against poly(A)-mRNA during translation inhibition in *Saccharomyces cerevisiae*. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, vol. 272, n° 9, p 6004-6010.
55. **QUE, X., SVARD, S.G., MENG, T.C. et al.** Developmentally regulated transcripts and evidence of differential mRNA processing in *Gardia lamblia*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 1996, vol. 81, n° 1, p 101-110.
56. **ROTHNIE, H.M.** Plant mRNA 3' end formation. *Plant Molecular Biology*, 1996, vol. 32, n° 1, p 43-61.
57. **SARKAR, N.** Polyadenylation of mRNA in prokaryotes. *Annual Review of Biochemistry*, 1997, vol. 66, p 173-197.
58. **SAVITSKY, K., PLATZER, M., UZIEL, T. et al.** Ataxia-telangiectasia : structural diversity of untranslated sequences suggests complex post-transcriptional of ATM gene expression. *Nucleic Acids Research*, 1997, vol. 25, n° 9, p 1678-1684.
59. **SCOTT, J.M. and IMPERIALE, M.J.** Promoter-proximal poly(A) sites are processed efficiently, but the RNA products are unstable in the nucleus. *Molecular and Cellular Biology*, 1997, vol. 17, n° 4, p 2127-2135.
60. **SMUDA, C., BOGNER, E. and RADSACK, K.** The human cytomegalovirus glycoprotein b gene (ORF UL55) is expressed early in the infectious cycle. *Journal of General Virology*, 1997, vol. 78, n° 8, p 1981-1992.

61. **STUTZ, A., HUARTE, J., GUBLER, P. et al.** In vivo antisens oligodeoxynucleotide mapping reveals masked regulatory elements in an mRNA dormant in mouse oocytes. *Molecular and Cellular Biology*, 1997, vol. 17, n° 4, p 1759-1767.
62. **SUGIMOTO, T., UMEZAWA, A. and HATA, J.I.** Neurogenic potential of Ewing's sarcoma cells. *Virchows Archiv*, 1997, vol. 430, n°1, p 41-46.
63. **TAKAGAKI, Y. and MANLEY, J.L.** RNA recognition by the human polyadenylation factor CstF. *Molecular and Cellular Biology*, 1997, vol. 17, n° 7, p 3907-3914.
64. **TASHEVA, E.S., CORPUZ, L.M., FUNDERBURGH, J.L. et al.** Differential splicing and alternative polyadenylation generate multiple mimecan mRNA transcripts. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, vol. 272, n° 51, p 32551-32556.
65. **TEMEKES, G.L. and SCHULTZ, R.M.** Transient polyadenylation of maternal mRNA following fertilization of mouse eggs. *Journal of reproduction and fertility*, 1997, vol. 109, n° 2, p 223-228.
66. **URBERO, B., EURWILAICHTIR, L., STANSFIELD, I. et al.** Expression of the release factor eRF1 (Sup45p) gene of higher eukaryotes in yeast and mammalian tissues. *Biochimie*, 1997, vol. 79, n° 1, p 27-36.
67. **VAN DER LEIJ, F.R., TAKENS, J., VAN DER VEEN, A.Y. et al.** Localization and intron usage analysis of the human CTP1B gene for muscle type carnitine palmitoyltransferase. *Biochemica et Biophysica Acta*, 1997, vol. 1352, n° 2, p 123-128.
68. **VERROTI, A.C. and STICKLAND, S.** Oocytes selection of mutations affecting cytoplasmic polyadenylation of maternal mRNA. *Molecular Reproduction and Development*, 1997, vol. 46, n° 4, p 482-488.
69. **VERVOORT, R., BUIST, N.R.M., KLEIJER, W.J. et al.** Molecular analysis of the beta-glucuronidase gene : novel mutations in mucopolysaccharidosis type VII and heterogeneity of the polyadenylation region. *Human Genetics*, 1997, vol. 99, n° 4, p 432-468.
70. **VOGEL, F., DECHEND, F., MANZ, E. et al.** Organization and expression of bovine TSPY. *Mammalian Genome*, 1997, vol. 8, n° 7, p 791-496.
71. **WAHLE, E. and KUHN, U.** The mechanism of 3' cleavage and polyadenylation of eukaryotic pre-mRNA. *Prog. Nucleic. Acid. Res. Mol. Biol.*, 1997, vol. 57, p 41-71.
72. **WEIDNER, G., STEFFAN, B. and BRAKHAGE, A.A.** The *Aspergillus nidulans* lysF gene encodes homoaconitase, an enzyme involved in the fungus-specific lysine biosynthesis pathway. *Molecular and General Genetics*, 1997, vol. 255, n° 3, p 237-247.
73. **WREDEN, C., VERROTI, A.C., SCHISA, J.A. et al.** Nanos and pumilio establish embryonic polarity in drosophila by promoting posterior deadenylation of hunchback of mRNA. *Development*, 1997, vol. 124, n° 15, p 3015-3023.

74. **WYLER-DUDA, P., BERNARD, V., STADLER, M. et al.** Histone H4 mRNA from the nematode *Ascaris lumbricoides* is cis-spliced and polyadenylated. *Biochemica et Biophysica Acta*, 1997, vol. 1350, n° 3, p 259-261.
75. **YAMAUCHI, J., SUGITA, A., FUJIWARA, M. et al.** Two forms of avian (chicken) TATA-binding protein mRNA generated by polyadenylation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1997, vol. 234, n° 2, p 406-411.
76. **ZHAO, J., KESSLER, M.M. and MOORE, C.L.** Cleavage factor II of *Saccharomyces cerevisiae* contains homologues to subunits of the mammalian cleavage/polyadenylation factor and exhibits sequence-specific, ATP-dependent interaction with precursor RNA. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, vol. 272, n°16, p 10831-10838.
77. **ZHOU, Y., HE, L., BAUMANN, G. et al.** Deletion of the mouse GH-binding protein (mGHBP) polyadenylation and splicing sites does not abolish production of mGHBP. *Journal of Molecular Endocrinology*, 1997, vol. 19, p 1-13.
78. **ZIEGER, B., HASHIMOTO, Y. and WARE, J.** Alternative expression of platelet glycoprotein Ibbeta mRNA from an adjacent 5' gene with an imperfect polyadenylation signal sequence. *Journal of Clinical Investigation*, 1997, vol. 93, n° 3, p 520-525.

2 - Sites Internet

1. <http://zygote.swarthmore.edu/rna3a.html>
2. <http://www.biozentrum.unibas.ch/~biocomp/report/2nd/keller.html>
3. <http://www.columbia.edu/cu/biology/faculty/manley/manley7.html>
4. <http://www.uky.edu/~aghuntau/polya.html>
5. <http://www.grad.ttuhsu.edu/Grad/macdonald/resume.html>