

EXPRESSION DE L'INFORMATION GENETIQUE

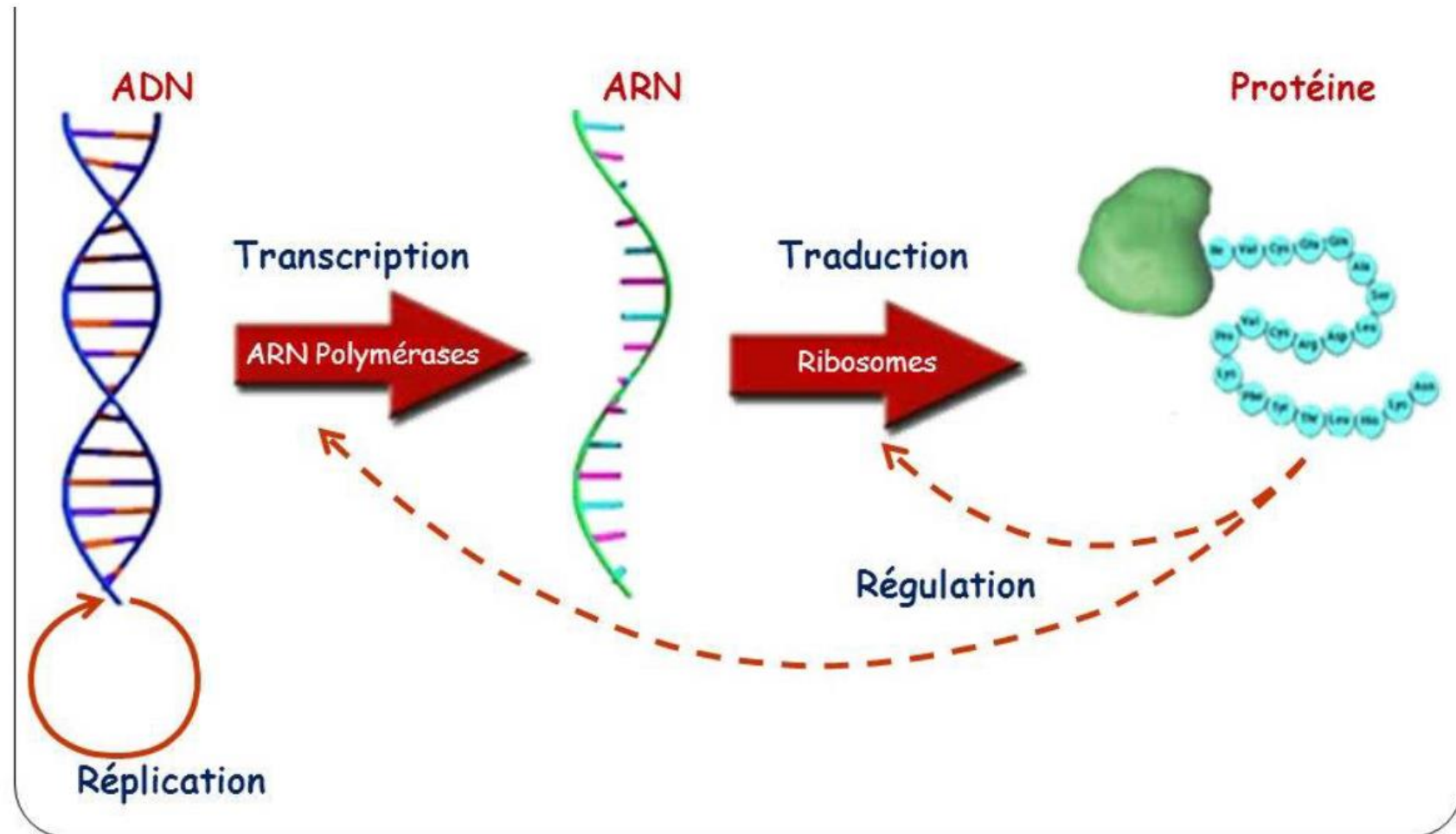
Partie II

DE L'ARN_m AU PROTEINES, LA TRADUCTION DES ARN_m

Nicolas DUBOIS – PRAG USMB – UFR Sciences et Montagne
nicolas.dubois@univ-smb.fr

LE DOGME CENTRAL DE LA BIOLOGIE MOLECULAIRE

La synthèse d'une protéine est le résultat de plusieurs étapes résumées dans le dogme de la biologie moléculaire :



1. PRINCIPES GENERAUX

DECODAGE DE L'INFORMATION

- 4 bases vs 20 acides aminés
 - lecture des bases 1 à 1 : $4^1 = 4$ combinaisons
 - lecture des bases 2 à 2 : $4^2 = 16$ combinaisons
 - lecture des bases 3 à 3 : $4^3 = 64$ combinaisons

- Mise en évidence expérimentale avec des polynucléotides de synthèse et des systèmes de traduction *in vitro*



- Motif élémentaire de lecture : le **codon** formé par 3 nucléotides

DECODAGE DE L'INFORMATION

Information dans l'ARN messenger : 4 ribonucléotides ou 4 lettres : A, U, G, C

3 lettres = 1 mot = codon ex : CGA

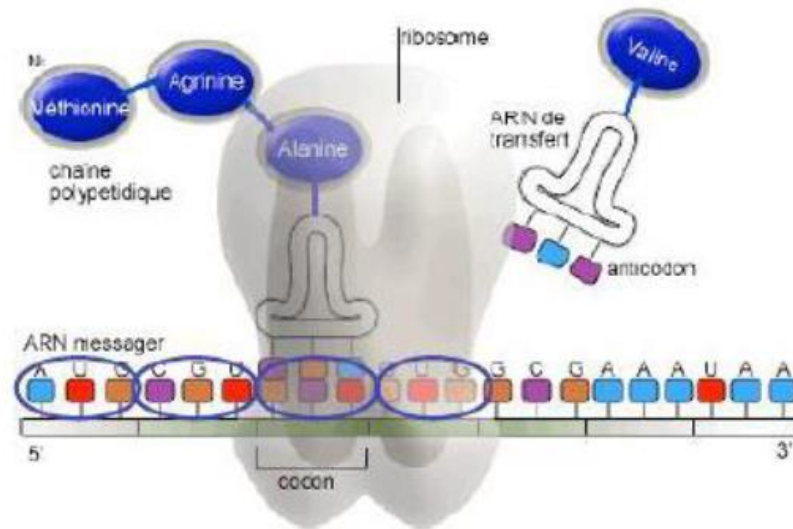
64 mots possibles (en fait 61 car 3 codons d'arrêt)

Le codon AUG indique où doit commencer et le codon stop (ex :UAA) où s'arrête la lecture sur le messenger.

5'-AUCGAGUGAUGACC...n (x3)...CCAUAACCCUGC...CAAAAAAAAA- 3''.

Seuls les mots (codons) depuis l'AUG jusqu'au codon STOP (signal d'arrêt) sont lus
La partie du message qui est lue est le « cadre de lecture » ou ORF (Open Reading Frame)

A chaque mot (codon) de la phase de lecture correspond un acide aminé dans la protéine
La reconnaissance se fait par par l'intermédiaire d'un ARNt associé a un acide aminé. Chaque ARNt possède un anticodon qui reconnaît un codon



AUG
=
Codon **START**

UAA, UAG, UGA
=
Codons **STOP**

CODE GENETIQUE

- A un codon correspond un acide aminé (sauf les stops), mais plusieurs codons possibles pour un même acide aminé (**redondance du code**).
- Le premier AUG dans le consensus de Kozak est un signal de début de lecture et correspond aussi à une méthionine.
- **Code génétique (presque) universel** (le même chez les procaryotes et les eucaryotes), les séquences sont décodées de la même façon)
- **Phase de lecture** : enchaînement de codons sur l'ARNm commençant par un AUG et se terminant par un codon stop (UAA, UGA, UAG). Cet enchaînement détermine la nature, l'ordre et la quantité d'acides aminés présents dans une protéine

Exceptions au code génétique (eucaryotes):

	Noyau:	Mitochondrie:
AGA, AGG	Arg	STOP
AUA	Ile	Met
UGA	STOP	Trp

Le code génétique est dit :

- **Universel**
- **Spécifique** (à chaque codon un AA)
- **Redondant ou dégénéré** (à chaque AA un ou plusieurs codon(s))

CODE GENETIQUE

		Second Letter					
		U	C	A	G		
1st letter	U	UUU Phe UUC UUA Leu UUG	UCU UCC Ser UCA UCG	UAU Tyr UAC UAA Stop UAG Stop	UGU Cys UGC UGA Stop UGG Trp	U C A G	
	C	CUU CUC Leu CUA CUG	CCU CCC Pro CCA CCG	CAU His CAC CAA Gln CAG	CGU CGC Arg CGA CGG	U C A G	
	A	AUU AUC Ile AUA AUG Met	ACU ACC Thr ACA ACG	AAU Asn AAC AAA Lys AAG	AGU Ser AGC AGA Arg AGG	U C A G	
	G	GUU GUC Val GUA GUG	GCU GCC Ala GCA GCG	GAU Asp GAC GAA Glu GAG	GGU GGC Gly GGA GGG	U C A G	

Code mitochondrial (vertébrés)

AGA	Stop
AGG	Stop
AUA	Met
UGA	Met

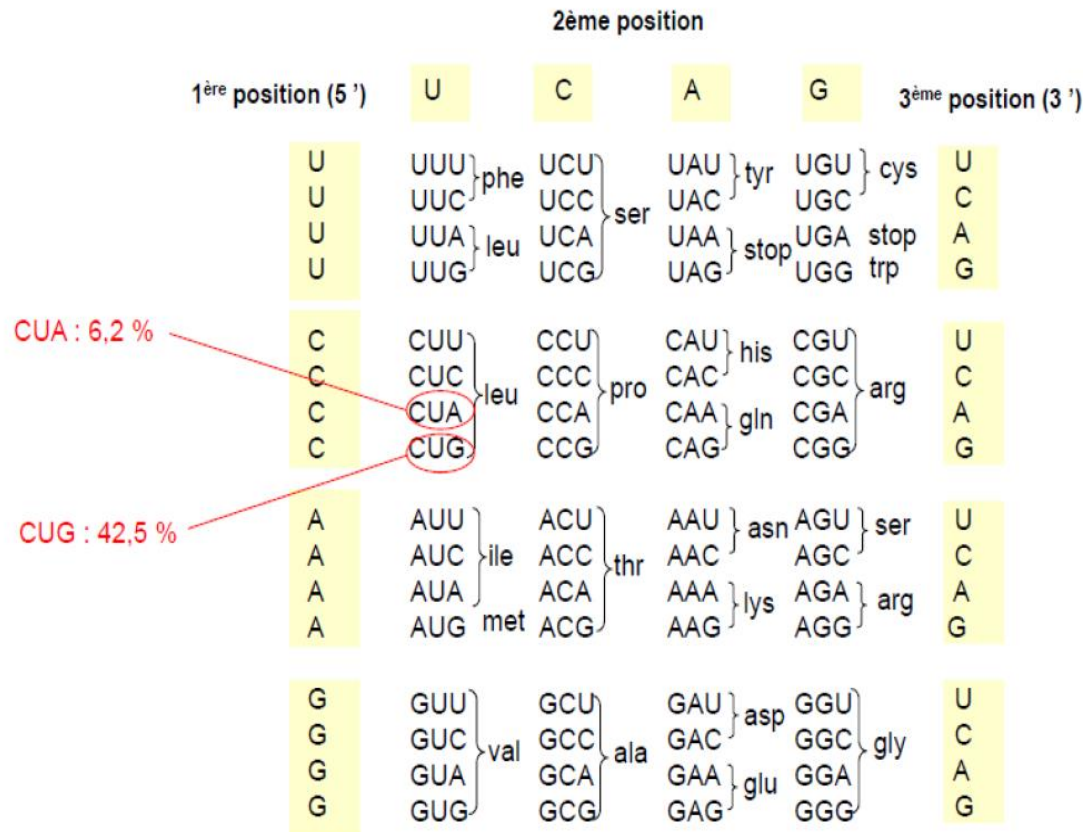
Code mitochondrial (levure)

AUA	Met
CUU	Thr
CUC	Thr
CUA	Thr
CUG	Thr
UGA	Trp
CGA	absent
CGC	absent

le code génétique est dégénéré : $4^3 = 64 > 20$!

CODE GENETIQUE

Pour un même acide aminé codé, la fréquence d'utilisation des codons dans les gènes est variable. C'est ce qu'on appelle le **biais de codons**.



	<i>Anaeromyxobacter dehalogenans</i>	<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>Aquifer aeolicus</i>	<i>Escherichia coli</i> K12	<i>Buchnera aphidicola</i>
AAA	1%	29.3%	48.1%	76.6%	91%
AAG	99%	70.7%	51.9%	23.4%	9%

TAB. 3.b – Usage de codons pour la lysine.

Le biais de codon varie entre les espèces. Il permet dans certains cas des régulations de l'expression des gènes.

NOTION DE CADRE DE LECTURE

Une même séquence nucléotidique peut être lue de 3 façons différentes en « glissant » d'une position. On parle de « cadre de lecture » pour indiquer la position des codons utilisés lors de la traduction.

Le **cadre de lecture** détermine la nature du message

5' - CCUAUUAACGCC -

cadre de lecture 1: -CCUA**UUAACGCC**- = pro-ile-asn-ala

cadre de lecture 2: -**CCUAUUAACGCC**- = leu-leu-thr

cadre de lecture 3: -**CCUAUUAACGCC**- = tyr-stop

NOTION DE MUTATION

NB: Les variations affectant l'ADN sont retrouvées au niveau de l'ARN lorsque l'ADN modifié est transcrit. Une variation de type:

- AUG > ACG au niveau de l'ARN sera équivalente à la variation
- ATG > ACG au niveau de l'ADN génomique...

La plupart du temps, les modifications ponctuelles des nucléotides de l'ADN se situent dans des régions non transcrites ou transcrites mais non traduites. Et même lorsque c'est une séquence traduite qui est touchée, la redondance du code génétique fait que la protéine obtenue *in fine* n'est pas nécessairement modifiée. Dans tous ces cas, on parle de **mutation silencieuse**.

NOTION DE MUTATION

➤ Mutations ponctuelles de substitution

--- UGG UGC UCC --- = -- trp-**cys**-ser--

C > U = --trp-**cys**-ser-- : mutation **isosémantique**

C > G = --trp-**trp**-ser-- : mutation **faux sens**

C > A = --trp-**stop** : mutation **non sens**

= mutation
silencieuse

➤ Mutations par délétion ou insertion

--- UGG UGC UCC UUA GUU AGA
trp cys ser phe val arg

- --- UG-U GC U CC U UA G UU ---
cys ala pro **stop**

+ --- UGG UGC AUC C UU A GU U AG -
trp cys ile ile ser **stop**

} décalage
du cadre
de lecture

2. ACTEURS MOLECULAIRES DE LA TRADUCTION

LES RIBOSOMES

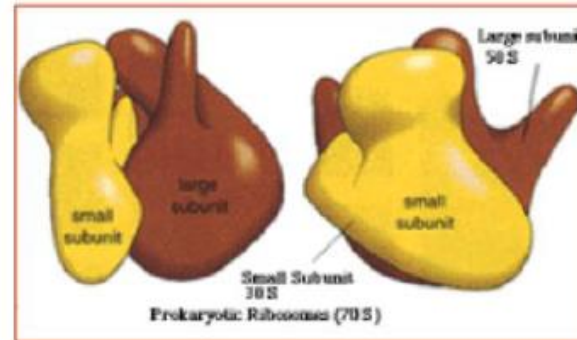
Ribosomes : Petits organites cellulaires où se fait l'assemblage des acides aminés à partir des codons sur des ARNm

Les ribosomes

Plus petites structures cellulaires : visibles au microscope électronique seulement.

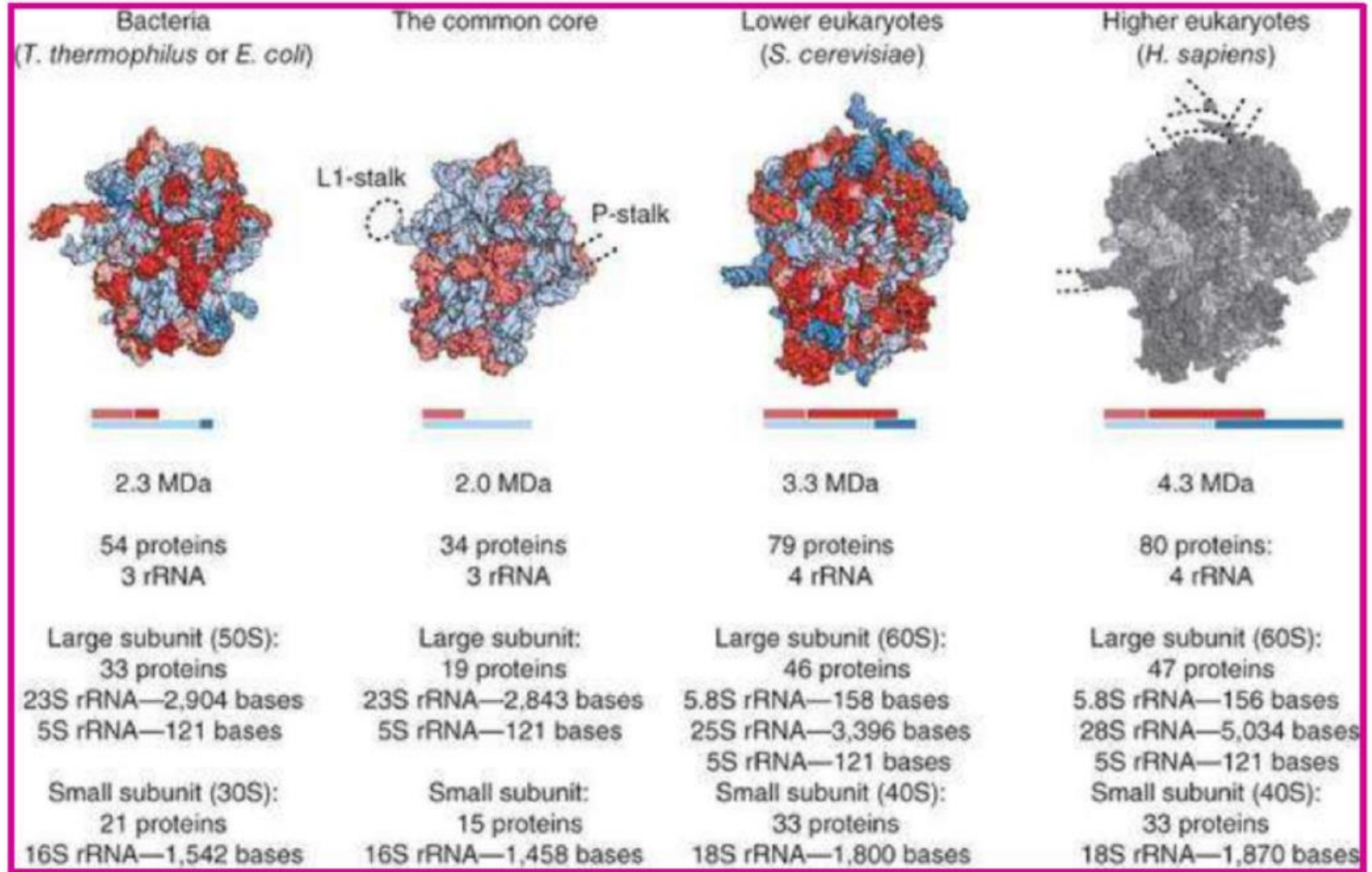
Formés de deux sous-unités: une petite et une grande

(40 S et 60 S chez eucaryotes, 30 S et 50 S chez procaryotes).



Chaque unité est formée d'un mélange d'ARN (= ARNr) et de protéines (~ 60% ARNr et 40% protéines).

LES RIBOSOMES

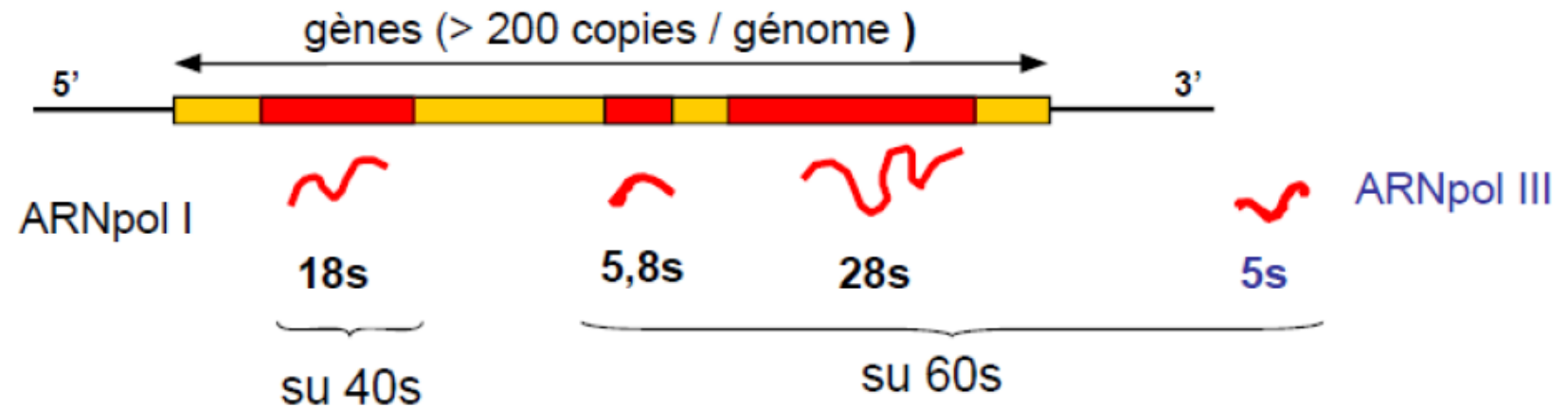


ARNm ET ARNr

➤ Les ARNm

- synthèse rapide par ARN pol II
- présence de précurseurs nucléaires (pré-ARNm)
- nombre, taille et durée de vie des transcrits variable
- association fonctionnelle avec ARNr et ARNt

➤ Les ARNr

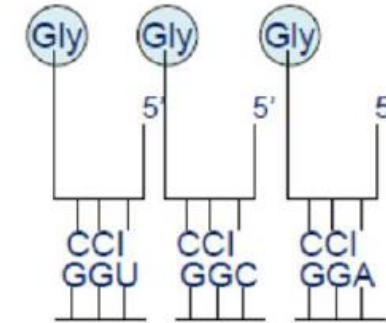
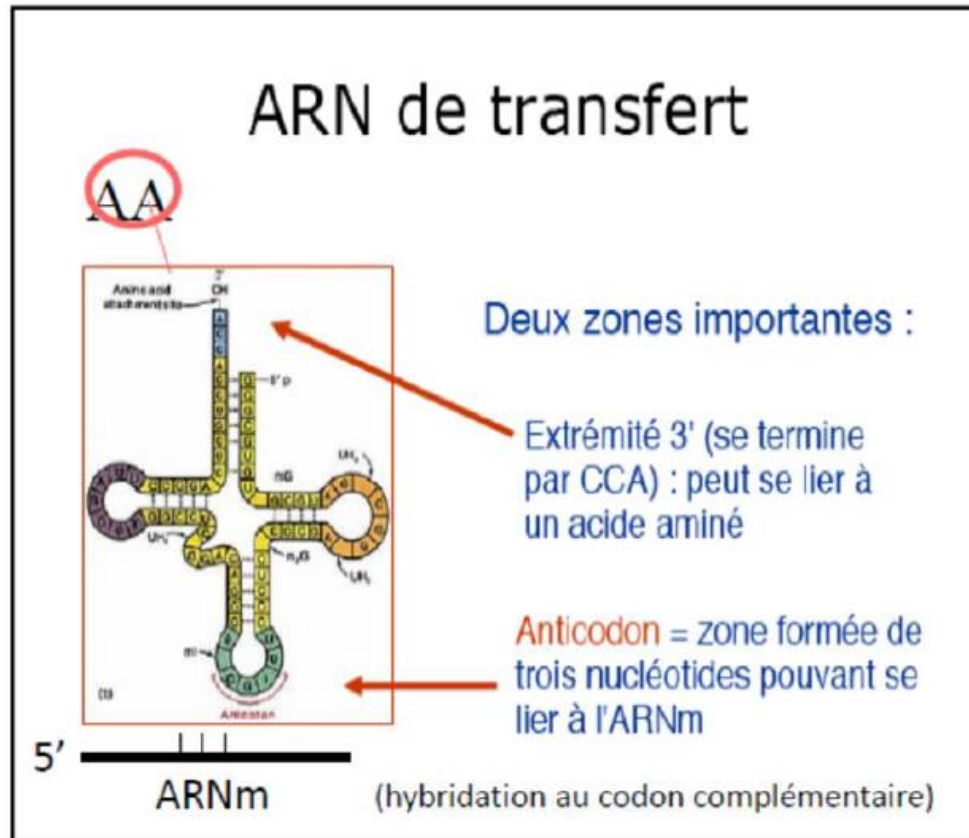


ARN DE TRANSFERT (ARNt)

ARN de transfert : « adaptateur » entre ARNm et acides aminés. Interface entre les deux langages. L'acide aminé transporté dépend de l'anti-codon.

48 tRNA (homme) pour 61 codons

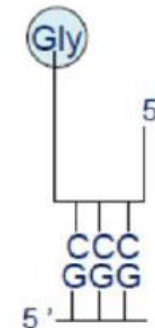
a-Certains tRNAs reconnaissent plusieurs codons. Redondance



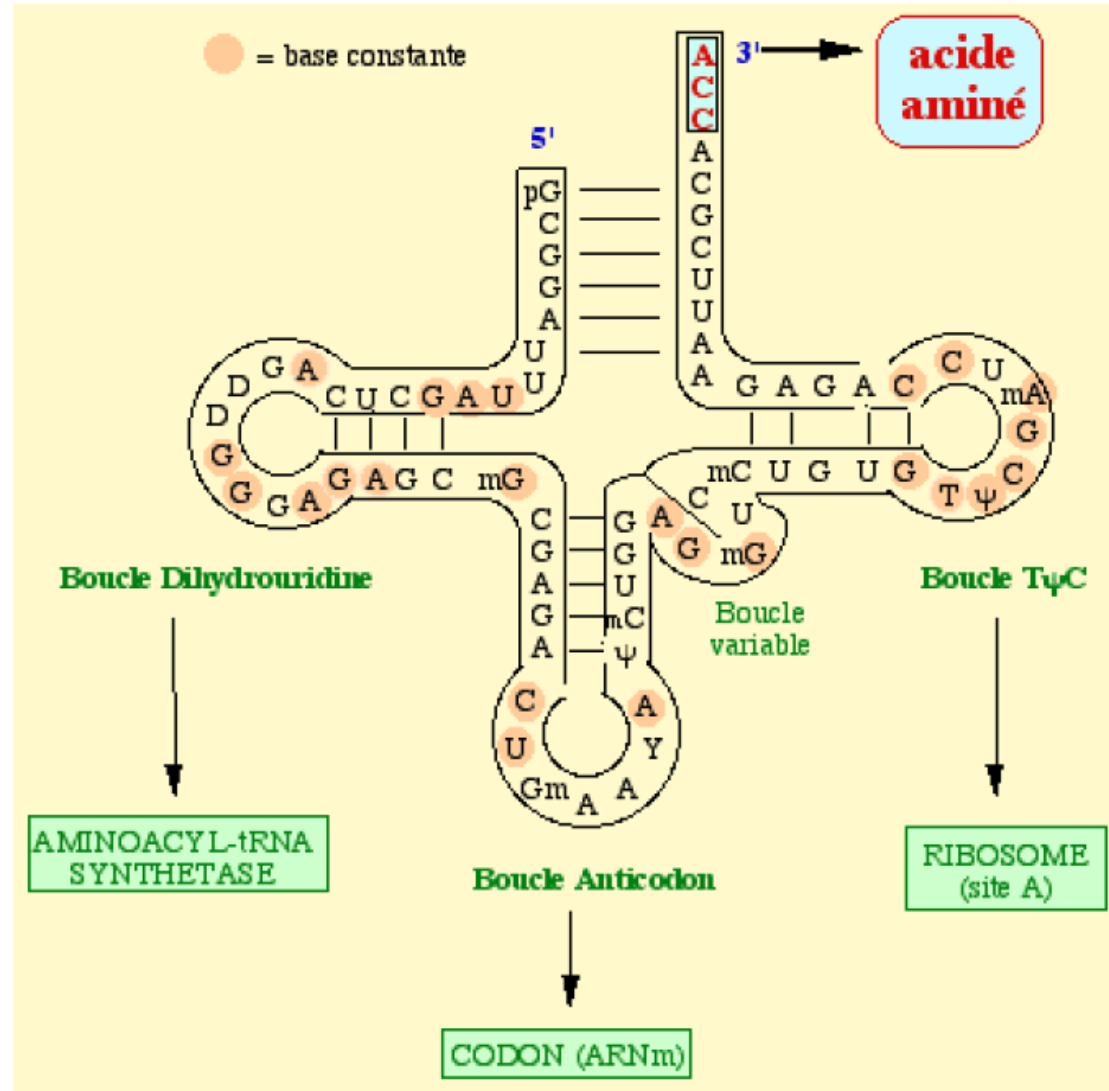
Ex : le tRNA-glycine avec anticodon CCI reconnaît 3 codons (appariement sur le 1 (G modifié) peu spécifique)

b-Certains acides aminés peuvent être apportés par 2 ARNt. Redondance

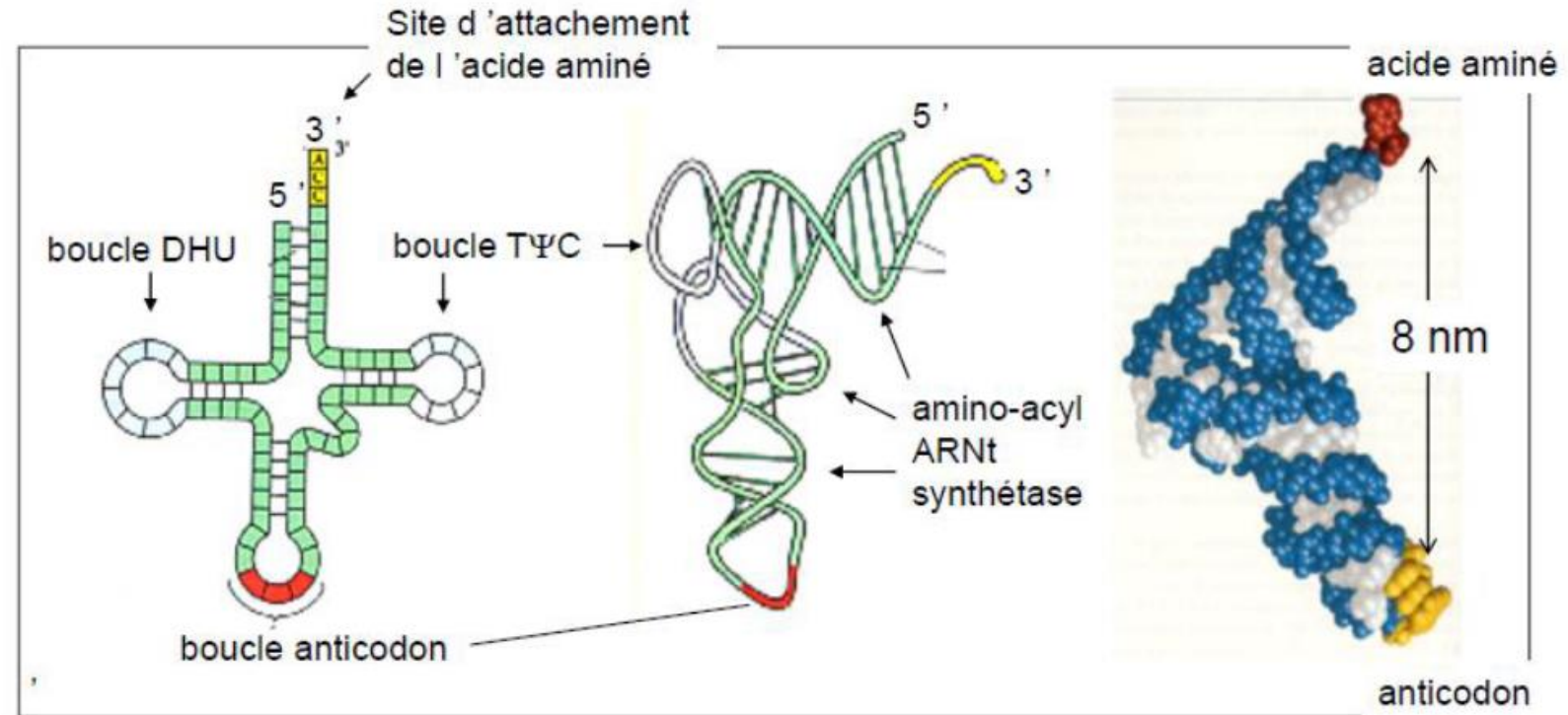
Ex : l'ARNt avec l'anticodon CCC est aussi associé à la glycine



ARN DE TRANSFERT (ARNt)

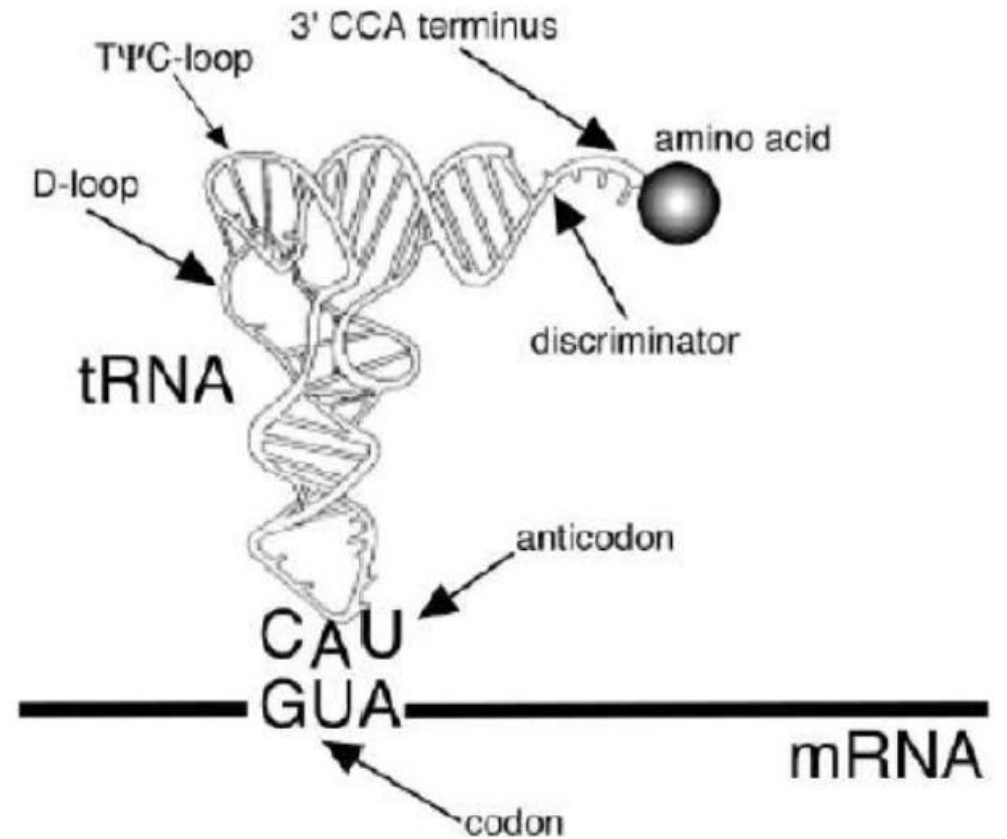
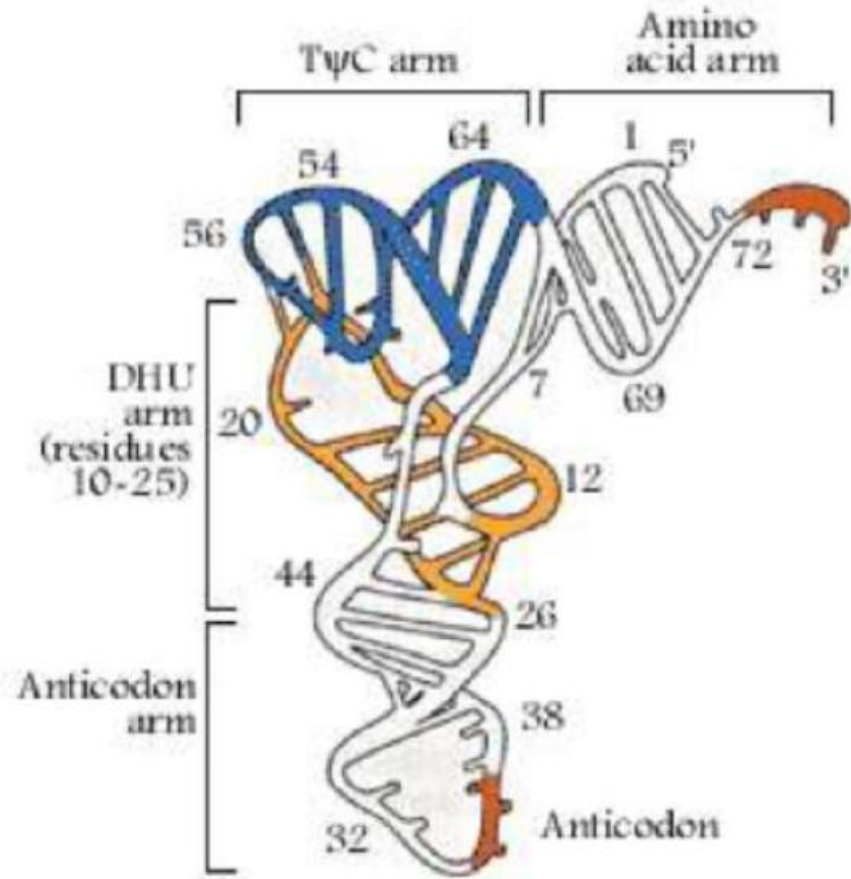


ARN DE TRANSFERT (ARNt)



- 70 à 95 nt avec de nombreuses bases modifiées
- ≈ 50 % des bases « appariées »
- Pi en 5', boucles DHU, anticodon, TΨC, CCA en 3', sites de reconnaissance par l'amino-acyl ARNt synthétase

ARN DE TRANSFERT (ARNt)

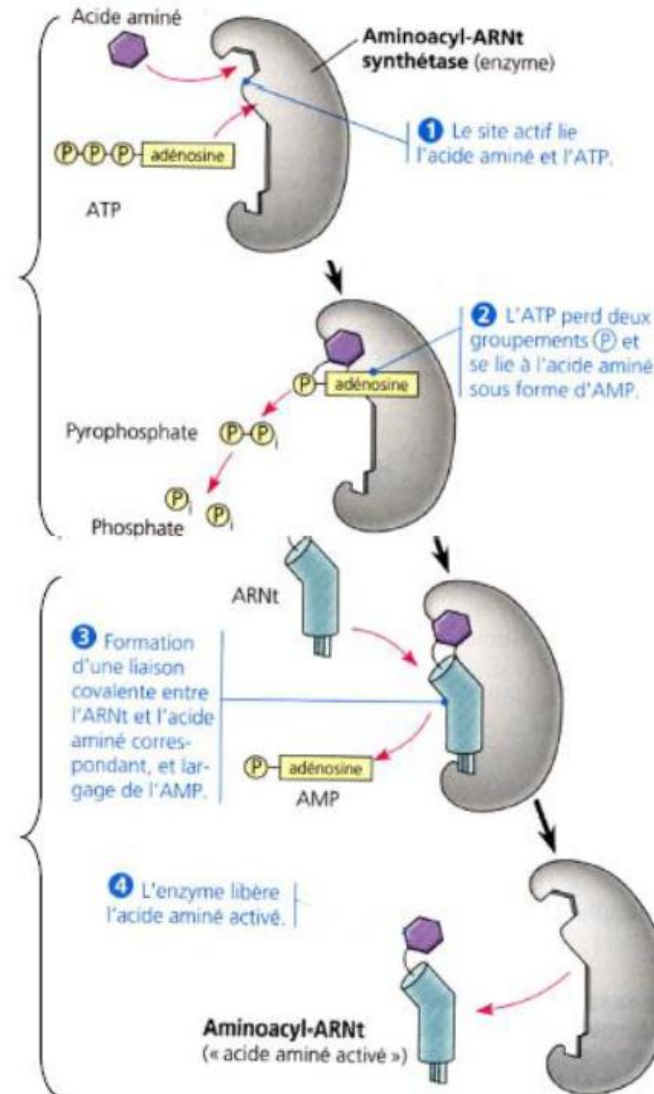
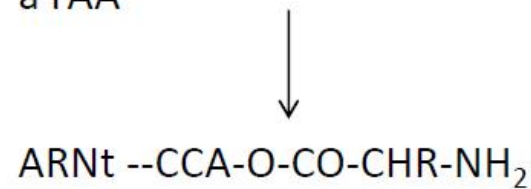


ACTIVATION DES ARNt

- a. appariement à l'ARNm
- b. fixation des acides aminés

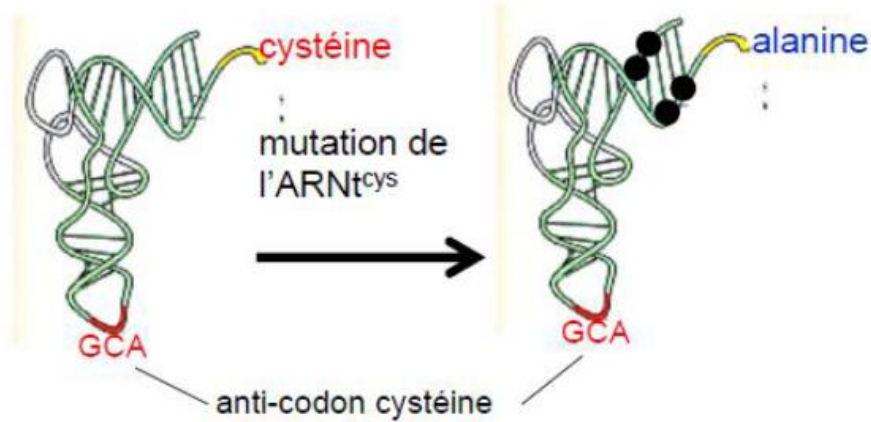
phase d'activation : la synthétase reconnaît et active 1 seul AA

phase de fixation : la synthétase reconnaît l'ARNt correspondant à l'AA



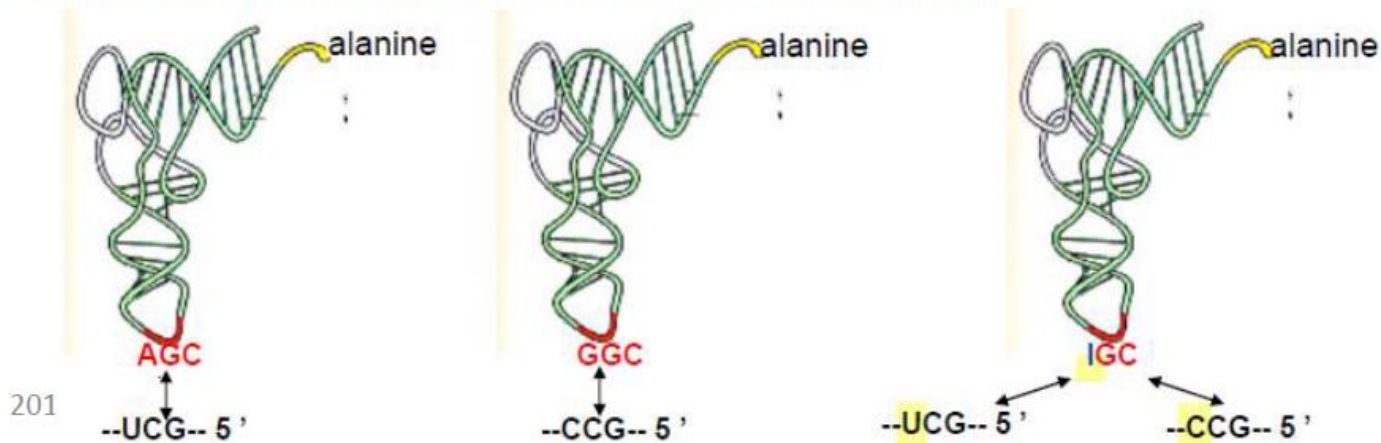
MUTATIONS DES ARNt ET CONSEQUENCES

Altérations de la fixation des AA sur l'ARNt



Mutations à l'origine de modifications du code génétique

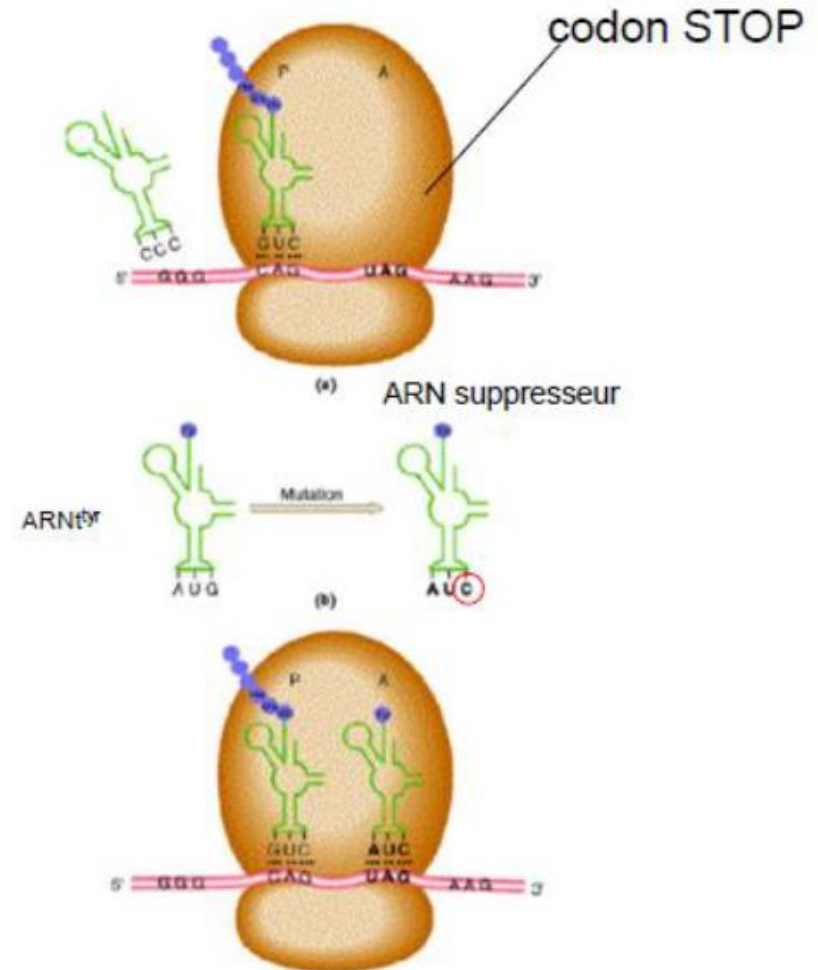
Altérations de la reconnaissance des codons



MUTATIONS DES ARNt ET CONSEQUENCES

ARNt suppresseurs

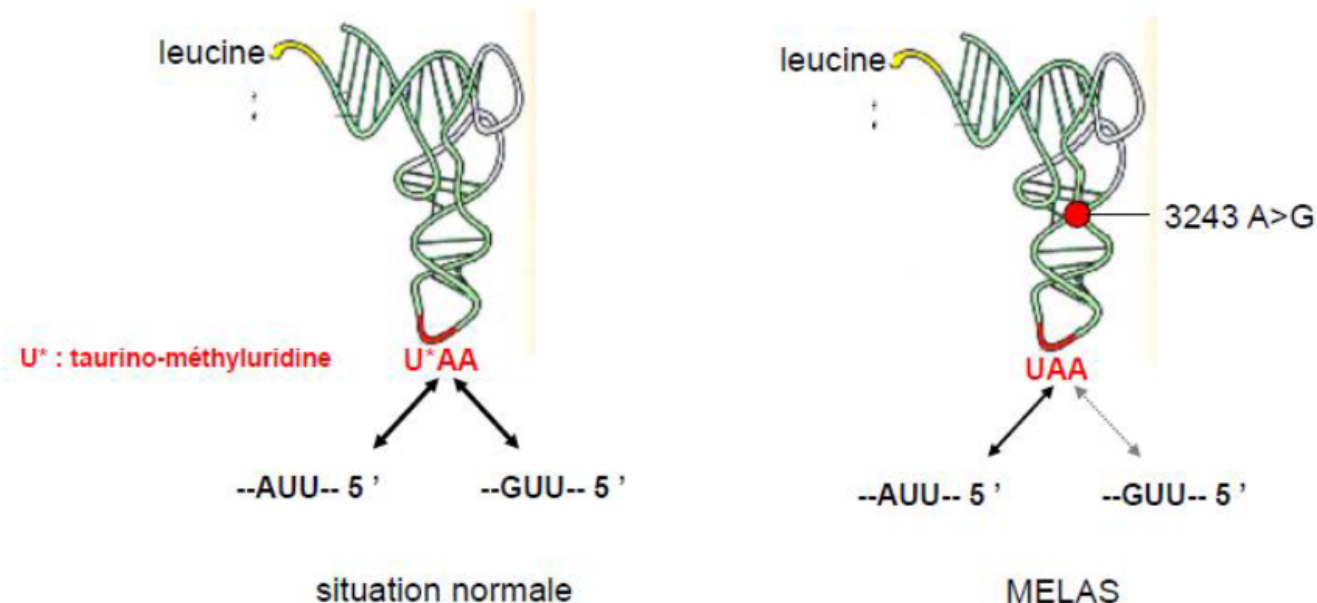
Une mutation d'un ARNt au niveau de la séquence anticodon peut former un ARNt suppresseur capable de reconnaître un codon stop et de permettre ainsi la poursuite de la traduction



MUTATIONS DES ARN^t ET CONSEQUENCES

La mutation 3243 A>G du gène mitochondrial codant l'ARN^t^{leu} (UUR) est responsable d'une encéphalopathie mitochondriale MELAS (épilepsie myoclonique avec acidose lactique et accidents vasculo-cérébraux).

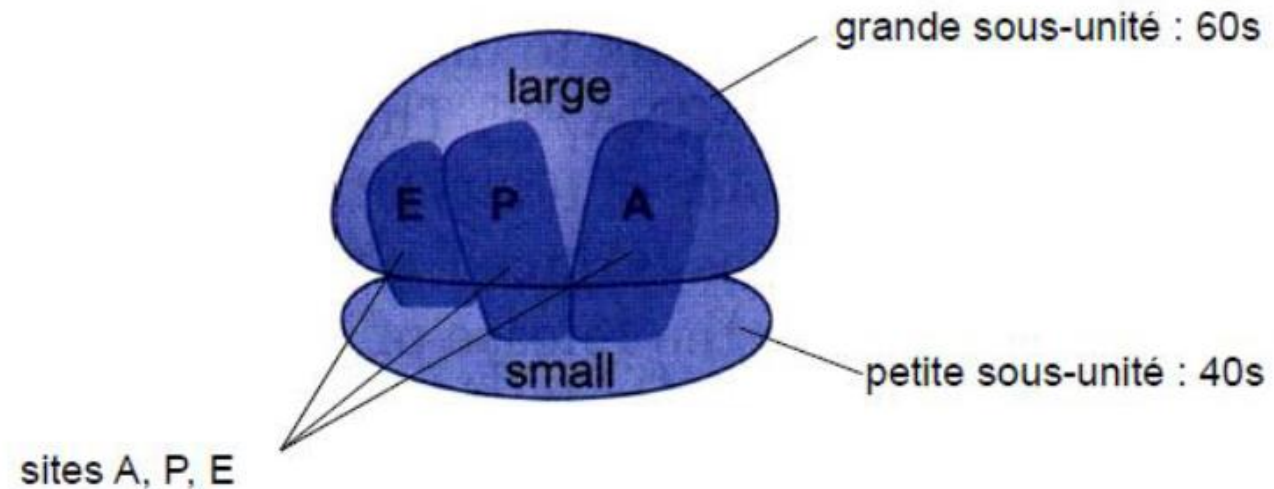
La mutation provoque une absence de synthèse de taurino-méthyl uridine au niveau de la boucle anti-codon. D'où une altération de la reconnaissance des codons de l'ARN^m et une modification la traduction des protéines codées par l'ADN mitochondrial (complexes de la chaîne respiratoire).



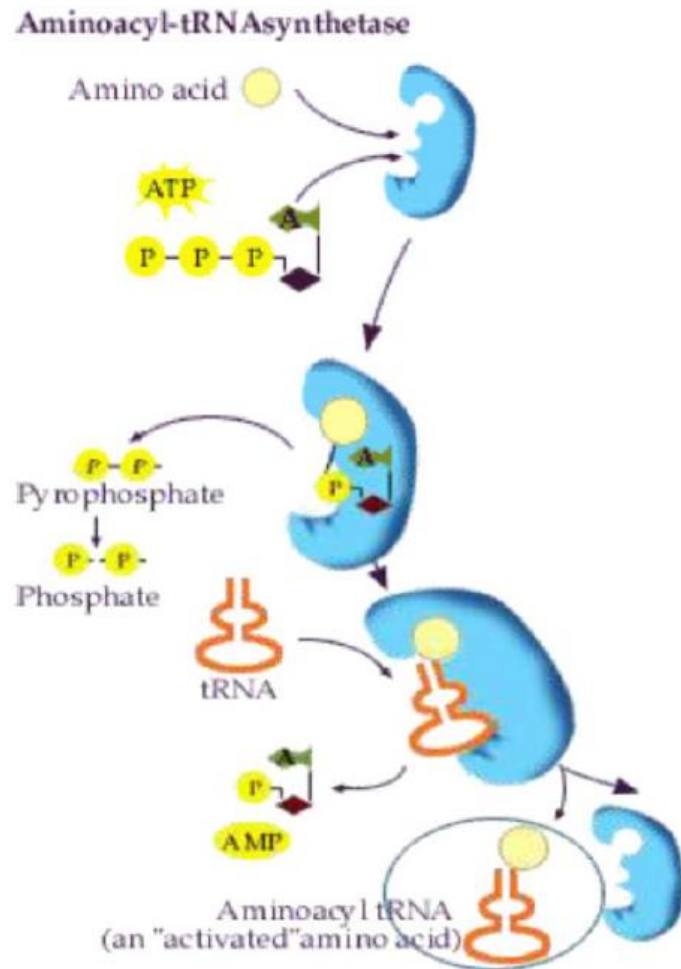
3. MECANISMES DE LA TRADUCTION

VUE D'ENSEMBLE

1. Activation des AA par les amino-acyl ARNt synthétases
2. Mécanisme de la synthèse protéique dans le ribosome



CHARGEMENT DES AA SUR LES ARNt



L'estérification de l'acide aminé spécifique à l'extrémité 3'-OH de l'ARNt est une étape clef du décodage du code génétique. On appelle cette étape l'**aminoacylation** et, dans toutes les cellules vivantes, il existe une vingtaine d'enzymes, les aminoacyl-ARNt synthétases, dont la fonction est de catalyser cette étape.

Chacune de ces enzymes est spécifique d'un acide aminé donné et reconnaît le ou les ARNt correspondant. Ces enzymes sont capables de discriminer les ARNt spécifiques de son acide aminé, en reconnaissant des motifs de nucléotides particuliers, souvent dans l'anticodon lui-même, mais parfois dans d'autres régions de l'ARNt. Cette reconnaissance est cruciale, car il n'y a plus de contrôle qualité ultérieur au niveau du ribosome : toute erreur dans l'aminoacylation se traduira donc ensuite par une erreur dans le décodage du message génétique.

L'aminoacylation comprend deux étapes: l'activation de l'acide aminé par adénylylation et la formation du lien ester entre l'acide aminé et l'hydroxyle 2' ou 3' du ribose du nucléotide 3' de l'ARN de transfert.

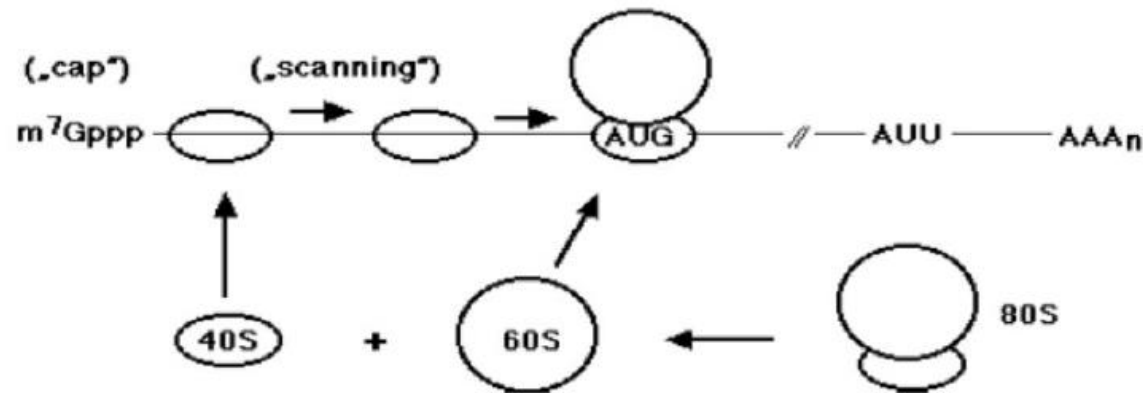
MECANISME GENERAL CHEZ LES EUCARYOTES

Trois étapes: initiation, lecture ou élongation, arrêt

Traduction des ARNm chez les **eucaryotes** :

- initiation dépendante de la **coiffe**
- reconnaissance de la coiffe par 40S (contient ARN 18S)
- 40S est associé au tARN initiateur
- déplacement du complexe sur l'ARN jusqu'à AUG (consensus de **Kozak**)
- assemblage du ribosome 40S + 60S (ARN 28S + 5.8S)= 80S
- traduction jusqu'au codon stop
- dissociation du complexe et réassemblage (sur le même ou sur un autre ARNm)

Consensus KOZAK : GCC(A/G)ccAUGG



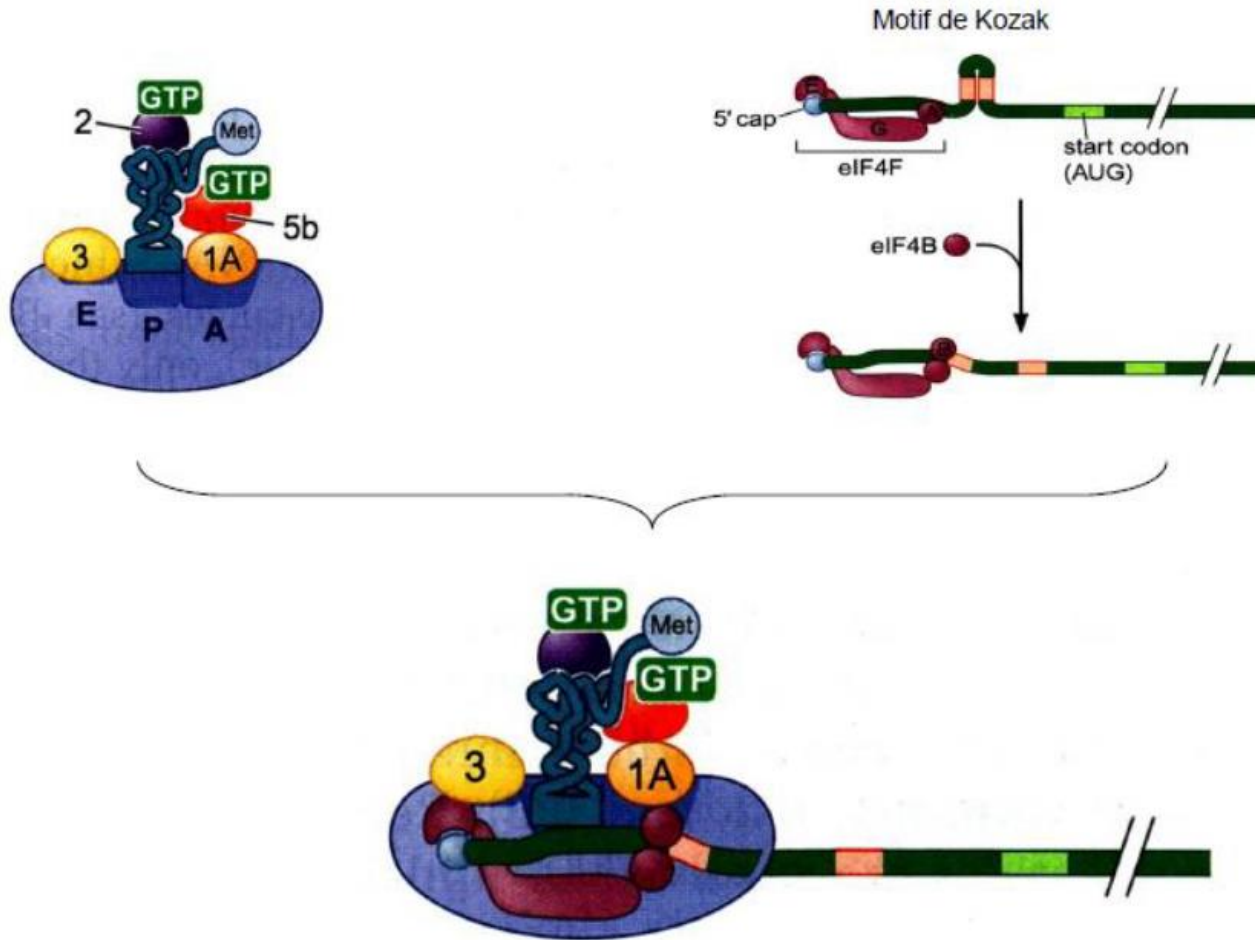
MECANISME GENERAL CHEZ LES PROCARYOTES

Traduction des ARNm chez les **procaryotes** :

- traduction coiffe-indépendante. Pas de coiffe, pas de polyA
- Reconnaissance interne par le ribosome de la séquence **Shine-Dalgarno** 10 nt en amont de l'AUG initiateur (pas de reconnaissance du cap et pas de balayage du 5' non traduit).
- Plusieurs Shine Dalgarno sur un ARNm polycistronique, plusieurs initiations de la traduction et plusieurs protéines synthétisées
- Ribosomes 30S (ARN 16S) et 50S (ARN 23S) assemblés en 70S

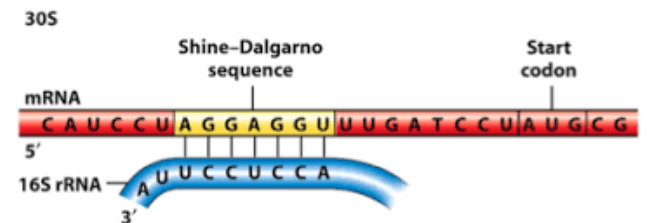
- Séquence de Shine-Dalgarno: **AGGAGGU**

MOTIF DE KOZAK / SEQUENCE DE SHINE-DALGARNO



Procaryotes:

Le motif d'accrochage du ribosome est appelé séquence de Shine-Dalgarno

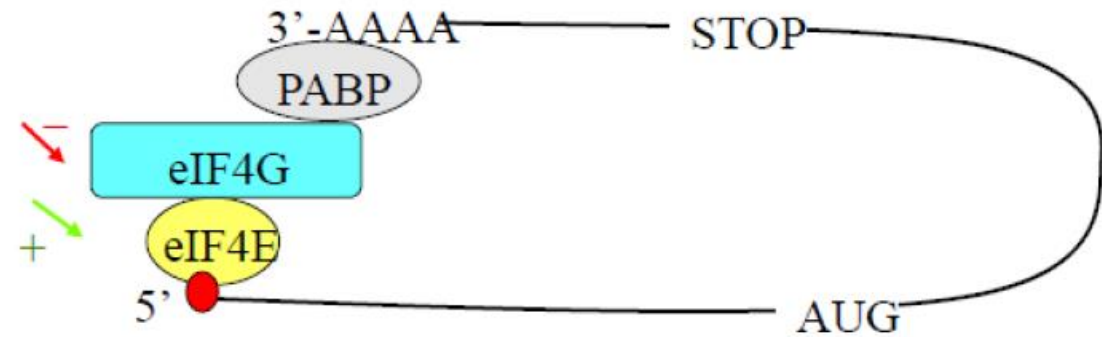


INITIATION DE LA TRADUCTION CHEZ LES EUCARYOTES

a-Formation du **complexe de reconnaissance du « cap »** et circularisation de l'ARNm

eIF: eucaryotic initiation factor

eIF4G et eIF4E peuvent recevoir des signaux de régulation de l'initiation

b-Formation du **complexe ternaire** puis du **complexe de pré-initiation (43S)**

2
eIF2

Met
GTP
Ternary complex

eIF3

Met
GTP
40S
43S pre-initiation complex

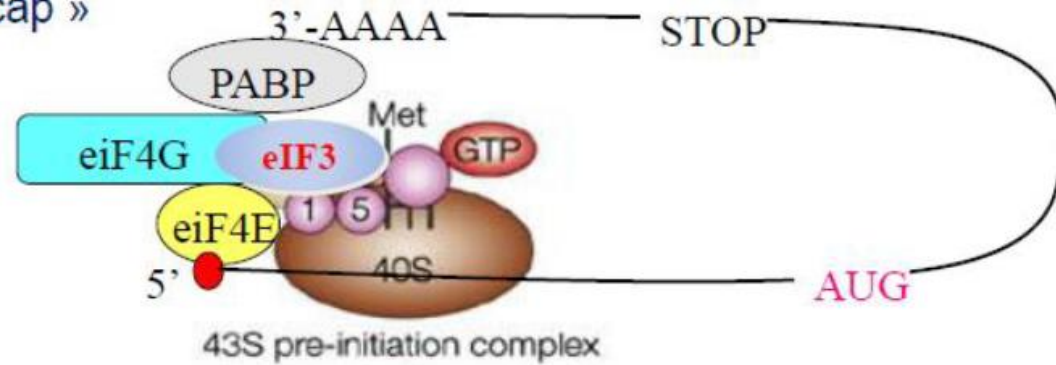
Le complexe ternaire (tRNA initiateur avec methionine et eIF2-GTP) va s'associer au ribosome 40S (et autres facteurs) par l'intermédiaire d'eIF3 pour former le complexe de pre-initiation 43S

INITIATION DE LA TRADUCTION CHEZ LES EUCARYOTES

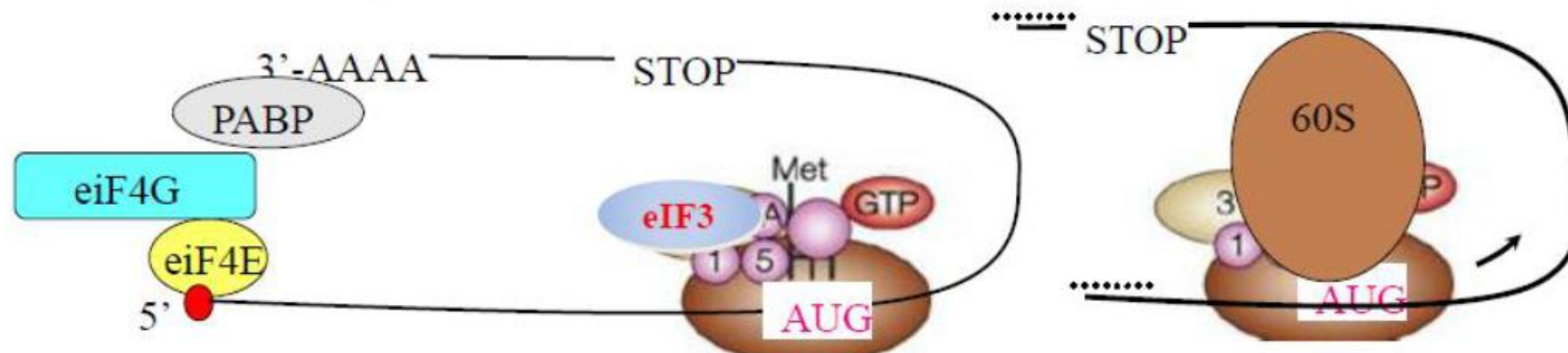
c- Le complexe de pre-initiation 43 S reconnaît le complexe du cap par l'intermédiaire d'eIF3

Complexe de reconnaissance du «cap»

Interaction eIF3/eIF4G



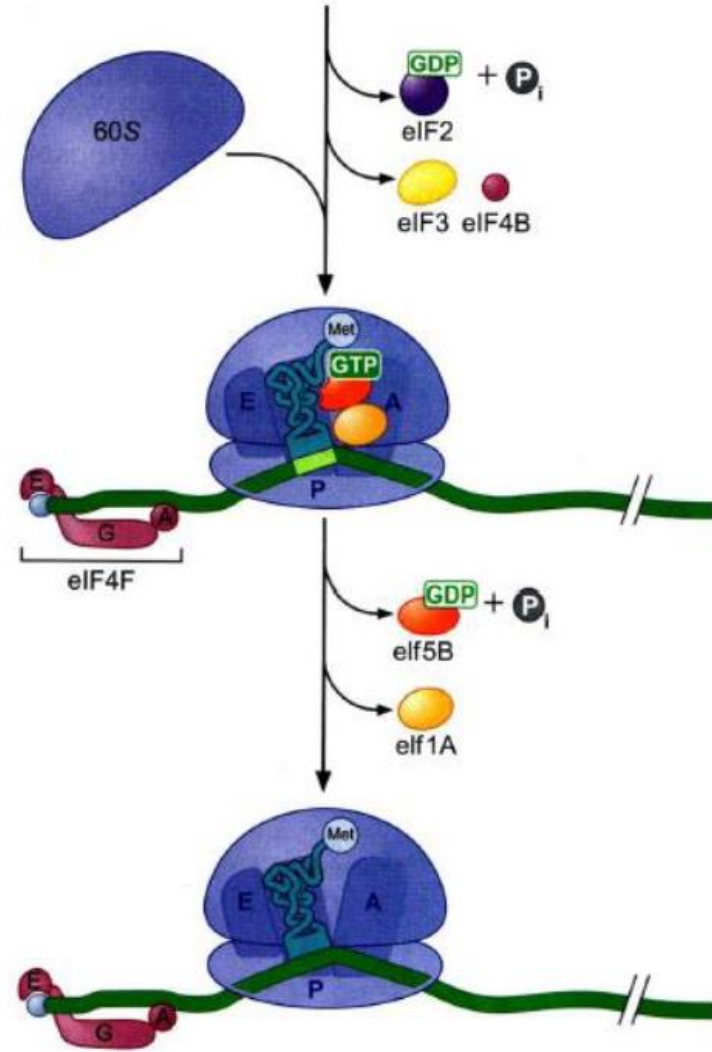
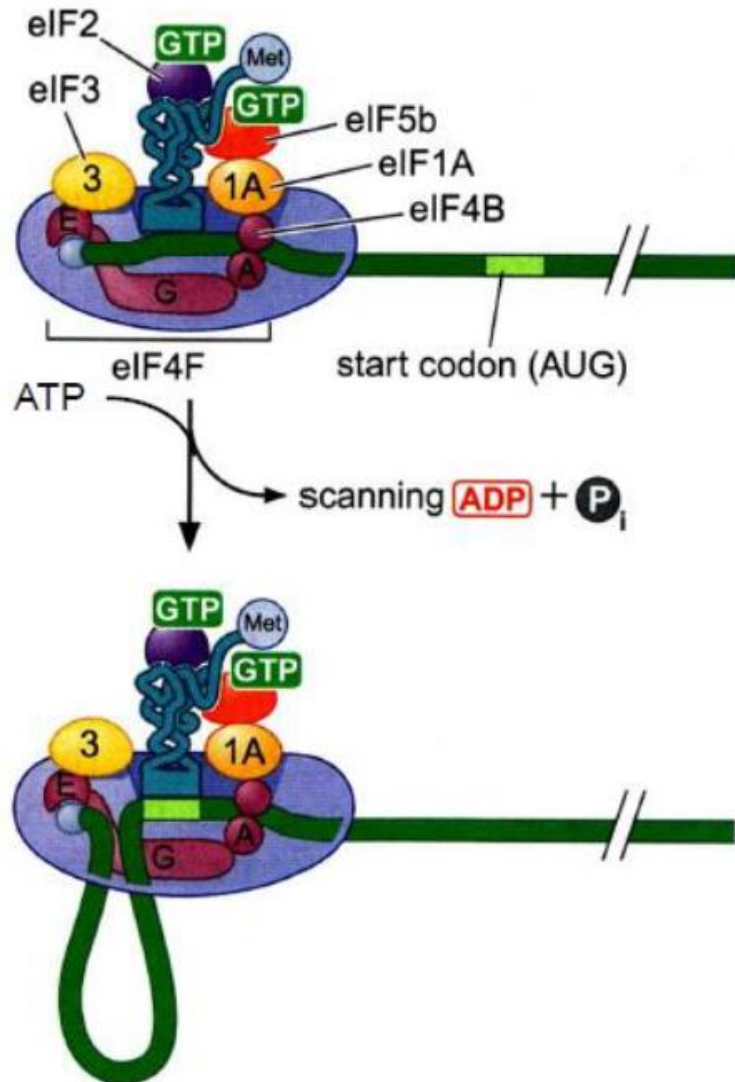
d- Le complexe de pre-initiation 43S balaye l'ARNm jusqu'à l'AUG initiateur : Formation du **complexe d'initiation 48S**



Complexe 80S

D'après Nature reviews (molecular cell biology) 2004 vol.5, 827, Gebauer F. Hentze MW

RECHERCHE DU CODON INITIATEUR

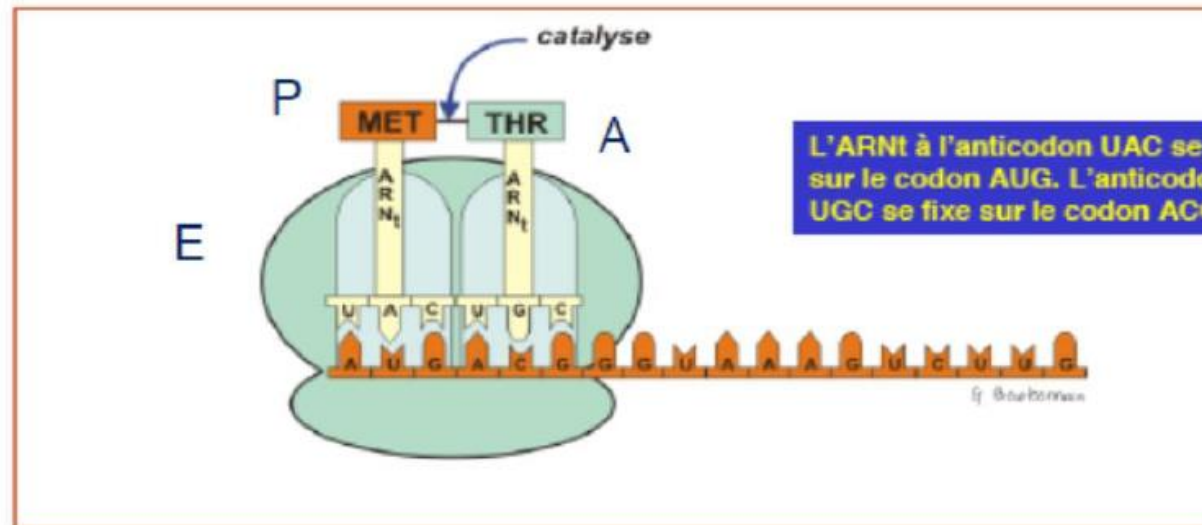


LA PHASE D'ÉLONGATION

Lecture ou élongation: Synthèse de la protéine. Allongement

Trois sites sur le ribosome: P (peptidyle), E (exit), A (aminoacyl)

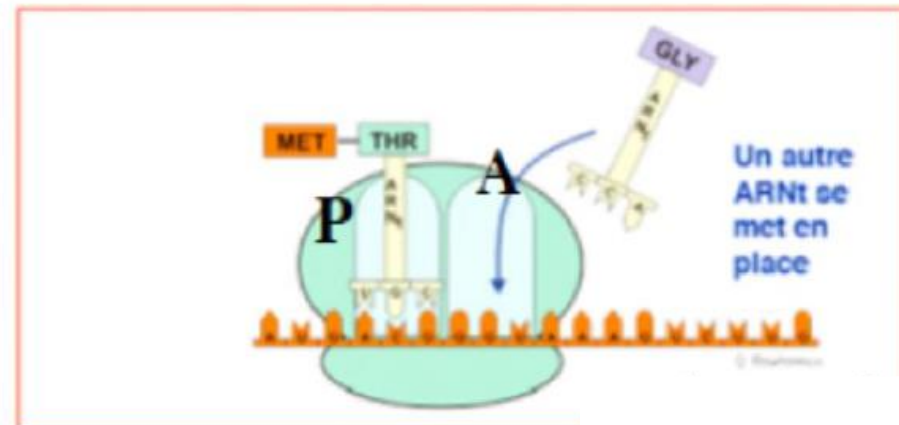
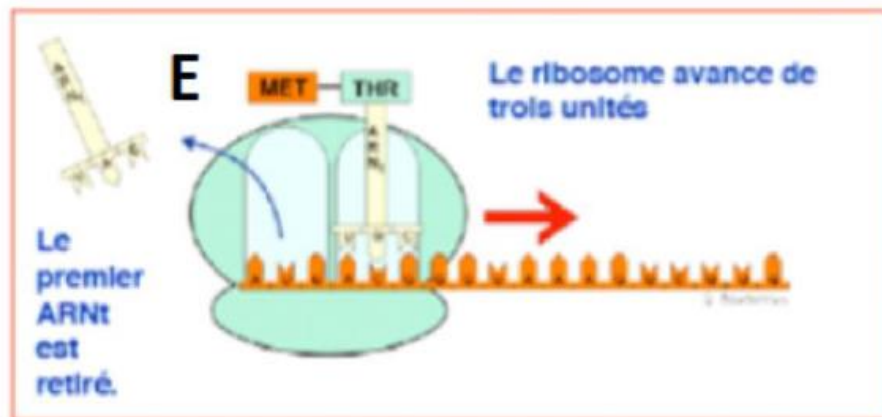
Suite à la formation du complexe d'initiation de la traduction, l'ARNt-méthionine se fixe sur le codon AUG par complémentarité de son anticodon dans le site P du ribosome, la traduction commence.



Un 2ème ARNt (associé à un facteur **eEF1 α** et GTP) , portant un anti-codon complémentaire du 2ème codon ACG se positionne sur le site voisin (A) du ribosome. Il apporte un acide aminé (thréonine) à côté de la méthionine : formation d'une **liaison peptidique** (début de la protéine).

LA PHASE D'ÉLONGATION

Lecture ou élongation: Synthèse de la protéine. Allongement
L'ARNt qui n'est plus associé à la méthionine quitte le site P vers le site E.
Déplacement du ribosome au codon suivant par l'action d'une **translocase (eEF2) + GTP**.
Le second ARNt passe en P libre et A peut recevoir un ARNt qui porte l'anticodon
correspond au codon en face de A sur l'ARN en apportant un nouvel acide aminé.....

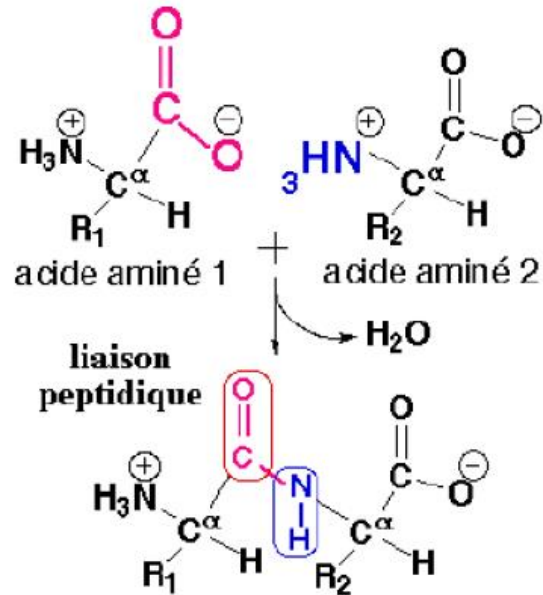


LA PHASE D'ELONGATION

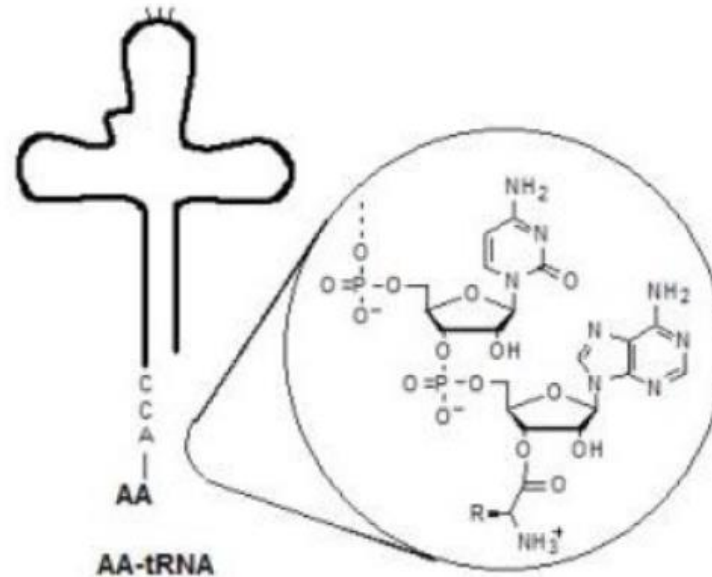
Formation de la liaison peptidique

Liaison peptidique

(Activité peptidyltransférase)
 Attaque nucléophile du
 groupe amino (2 e-) sur le
 carboxyle. Condensation

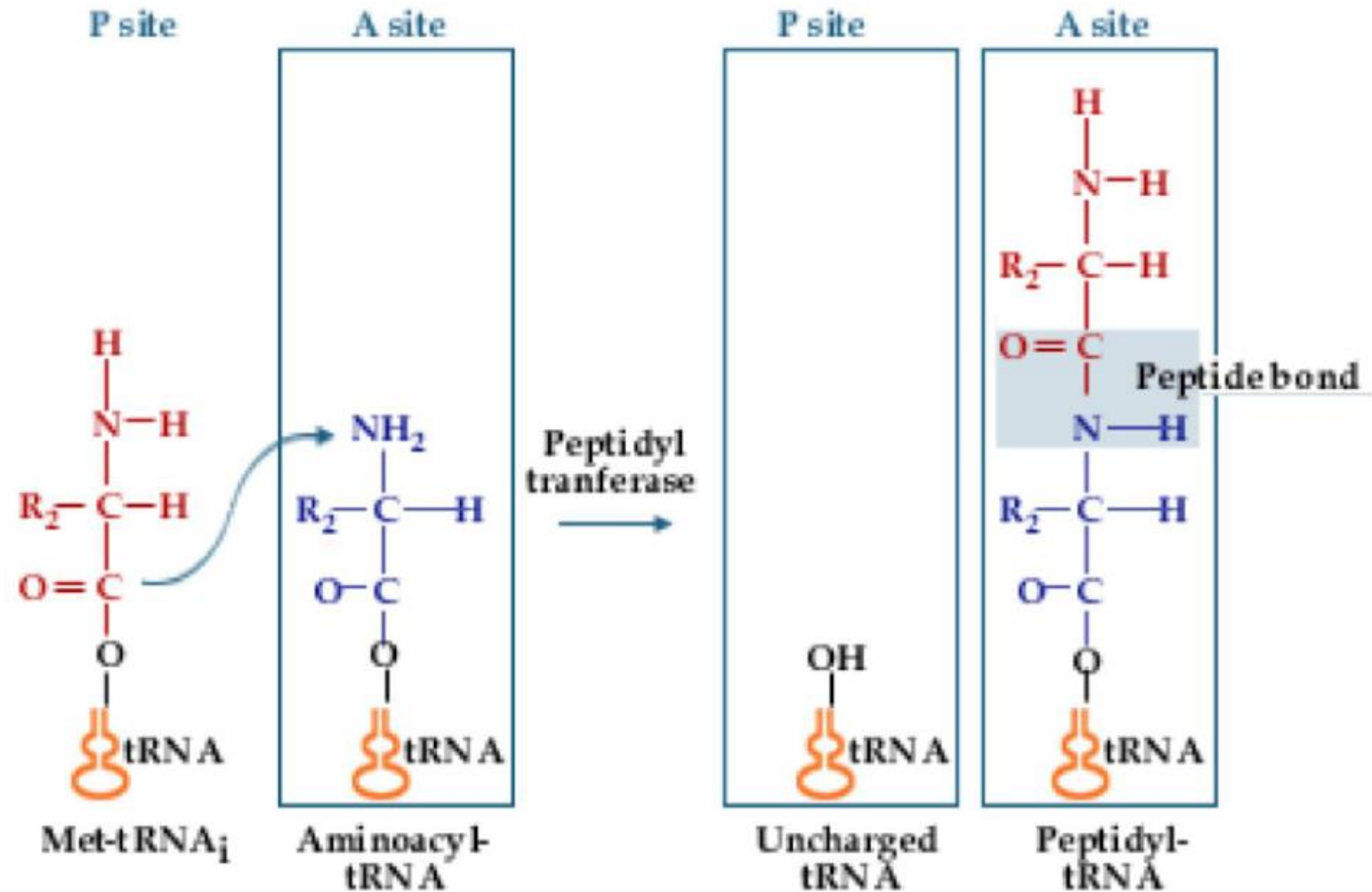


Liaison ARNt – acide aminé

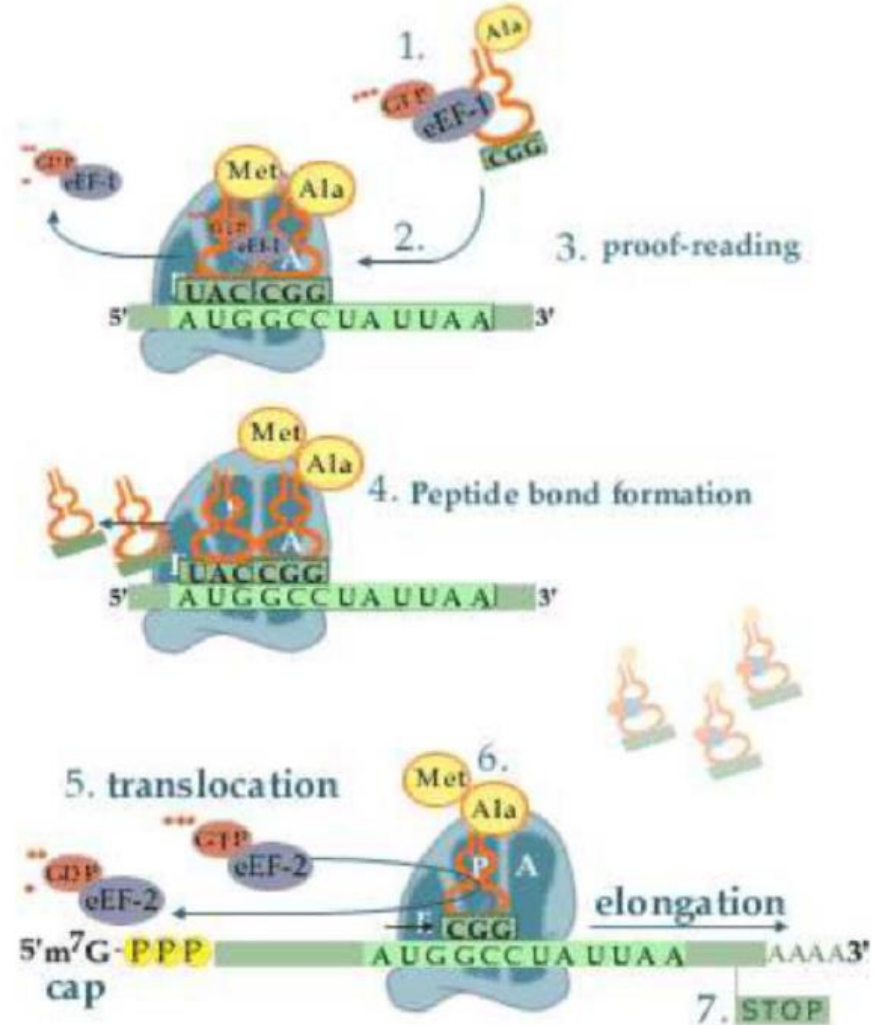
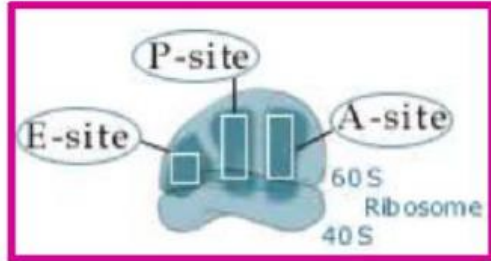


LA PHASE D'ELONGATION

Formation de la liaison peptidique

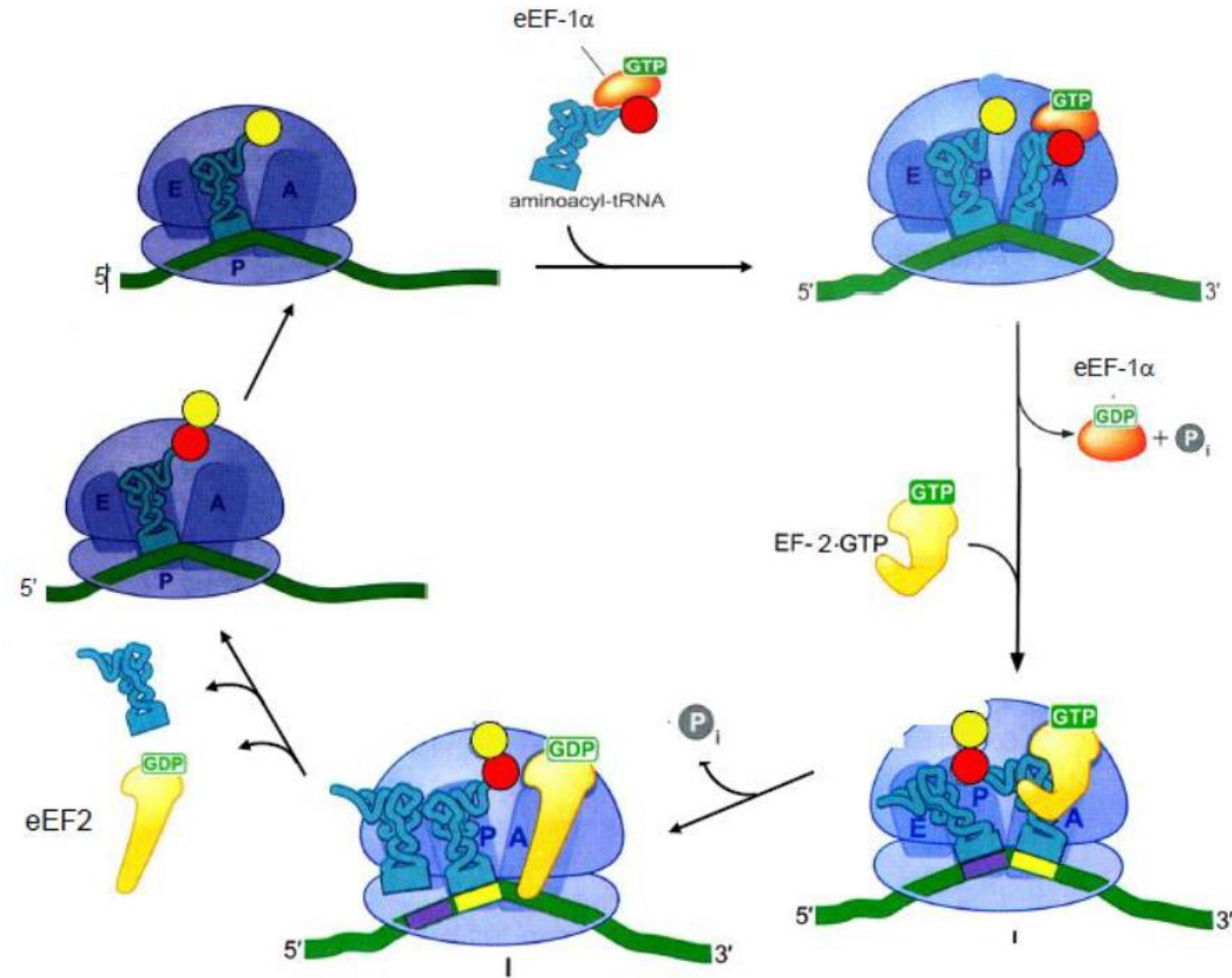


LA PHASE D'ELONGATION



LA PHASE D'ÉLONGATION

Phase d'élongation



LA TERMINAISON DE LA TRADUCTION

Arrêt

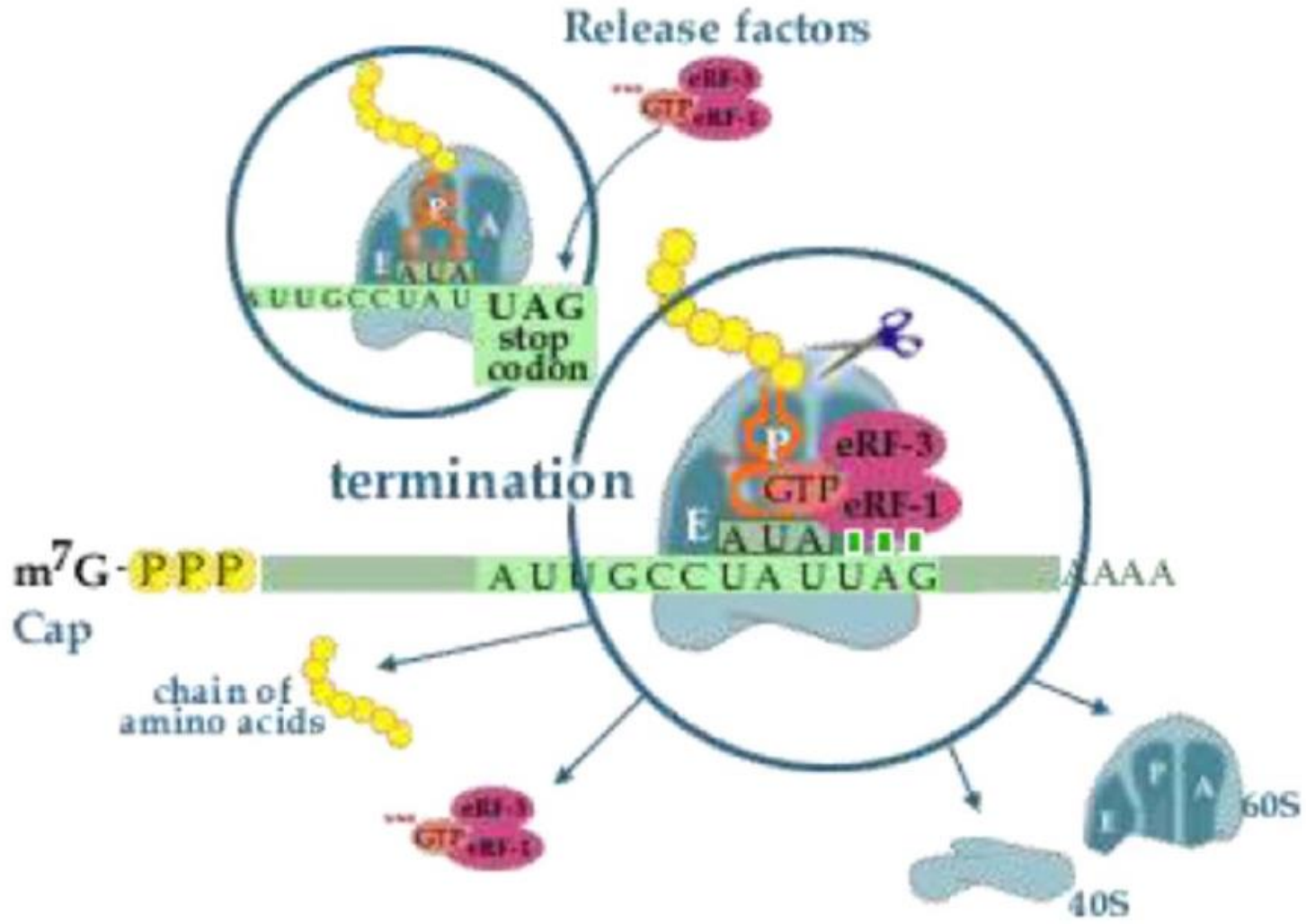
Quand le codon stop (UGA, UAA, UAG) occupe le site A il est reconnu par **eRF1 et 3** (eukaryotic release factor, associé à GTP).

Hydrolyse de la liaison ester du peptidyl-ARNt. Arrêt de la lecture et de la synthèse de la protéine

Dissociation des sous-unités ribosomales. La sous-unité 40S du ribosome devra retourner au cap pour initier la synthèse d'une nouvelle copie de la protéine.

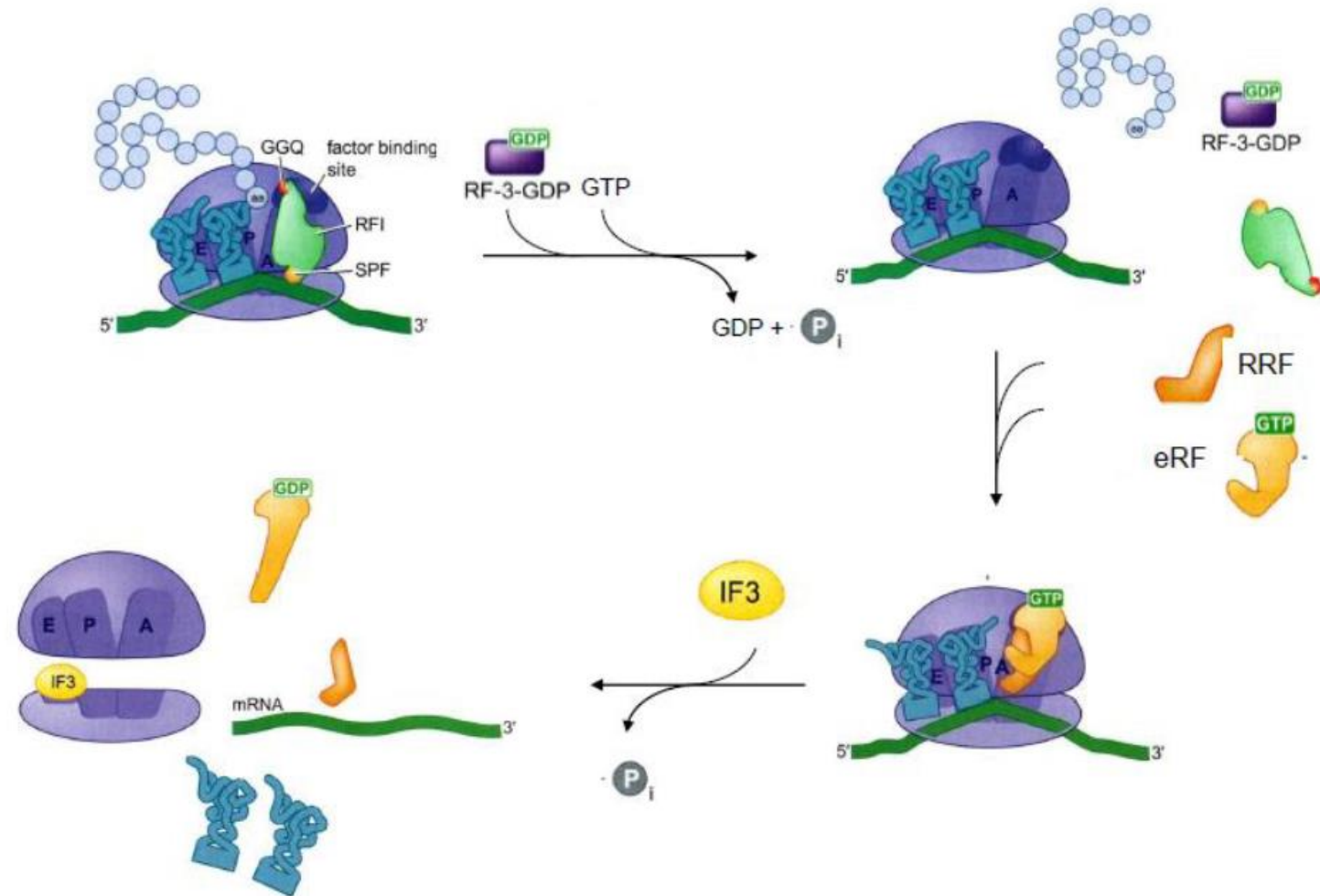
A un instant T, plusieurs complexes sont engagés dans la traduction d'un même ARNm.

LA TERMINAISON DE LA TRADUCTION

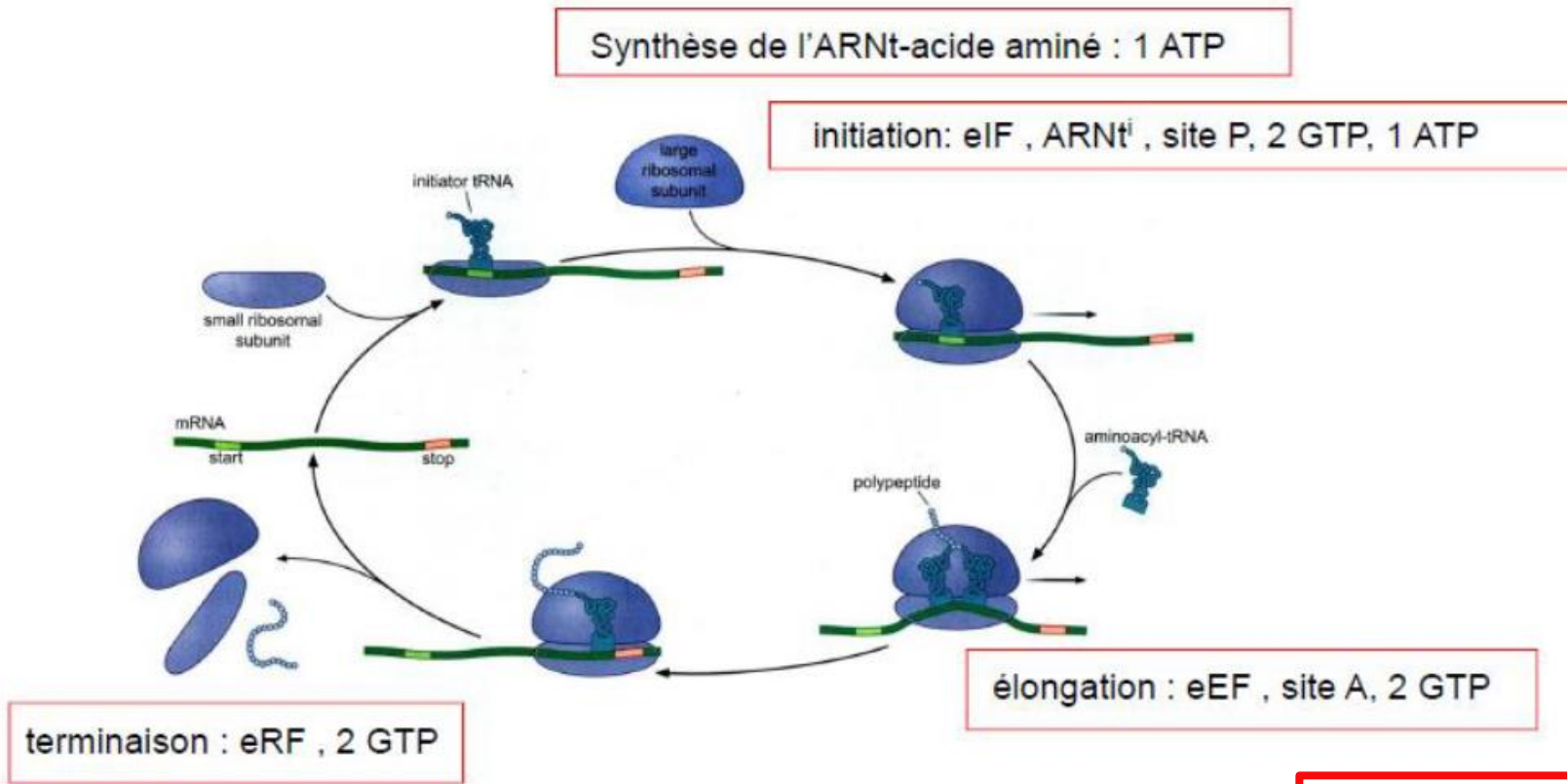


LA TERMINAISON DE LA TRADUCTION

Phase de terminaison



COÛT ÉNERGETIQUE DE LA TRADUCTION



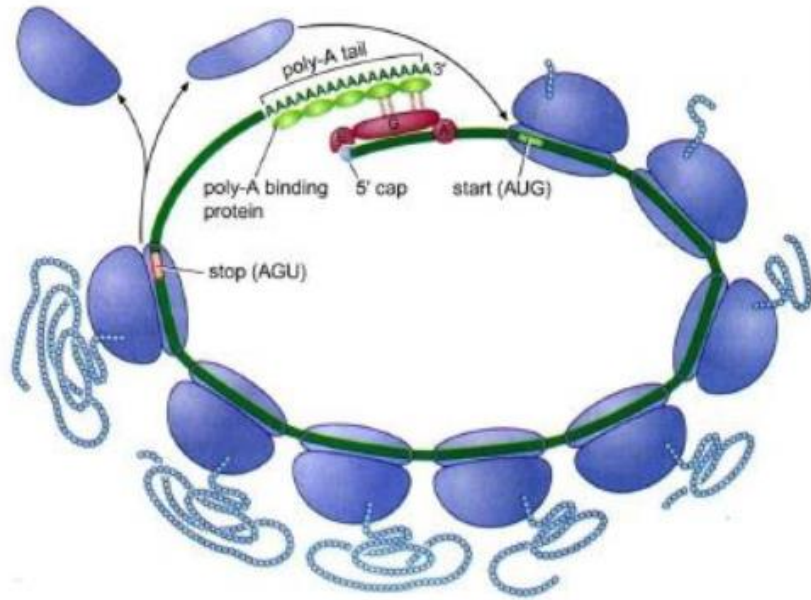
exemple d'une protéine de 100 acides-aminés :

$$[1 \text{ ATP} \times 100] + [(2 \text{ GTP} + 1 \text{ ATP}) \times 1] + [2 \text{ GTP} \times 99] + [2 \text{ GTP} \times 1]$$

acylation des ARNt initiation élongation terminaison

La traduction est un processus très coûteux en énergie. Pour une protéine de 100 AA, il faut consommer l'équivalent de quelques 300 molécules d'ATP !

POLYRIBOSOME ET AMPLIFICATION



Dans un contexte cellulaire, une molécule d'ARNm est prise en charge à un instant t par plusieurs ribosomes, ce qui permet de produire rapidement de nombreux exemplaires de la protéine que code cet ARNm.

Cela permet une amplification :

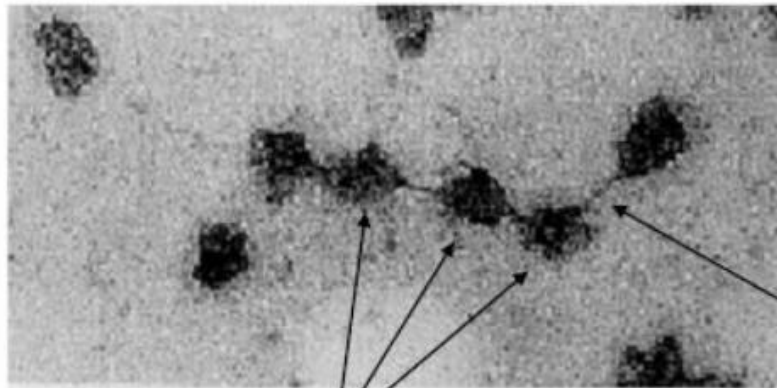
Lorsqu'un signal déclenche l'expression d'un gène



Plusieurs molécules d'ARNm sont produites par transcription de ce gènes



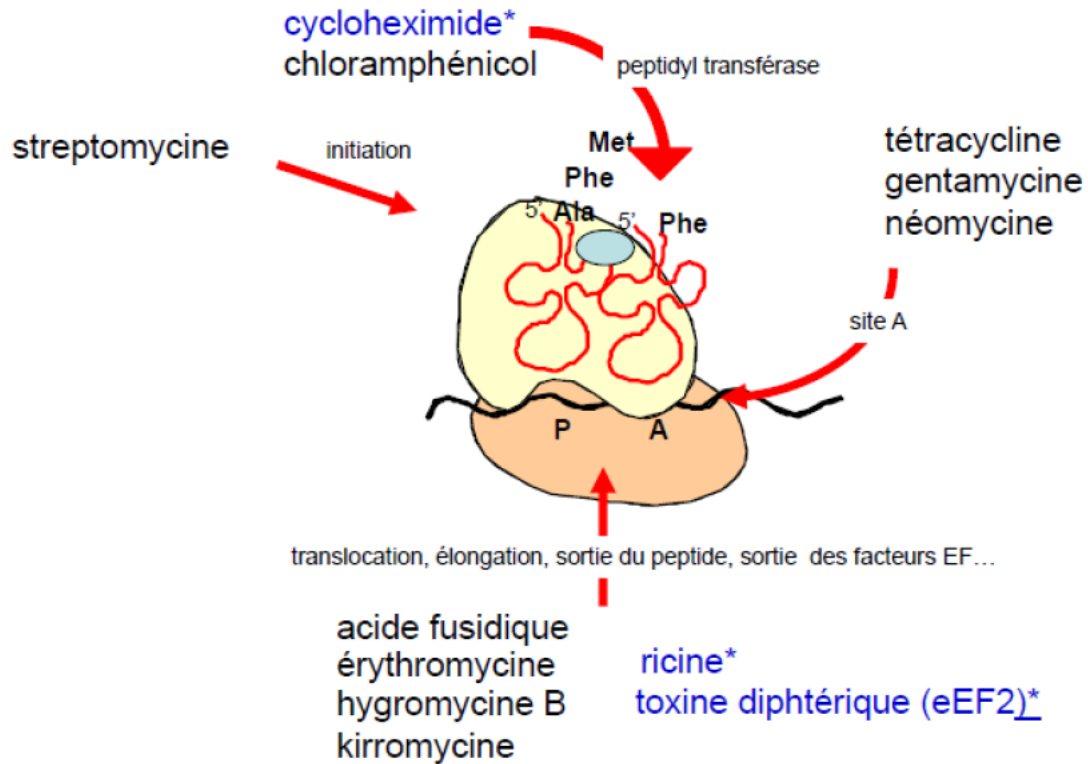
Plusieurs molécules de protéine sont produites à partir de chacune de ces molécules d'ARNm



ARNm

ribosomes

INHIBITEURS DE LA TRADUCTION



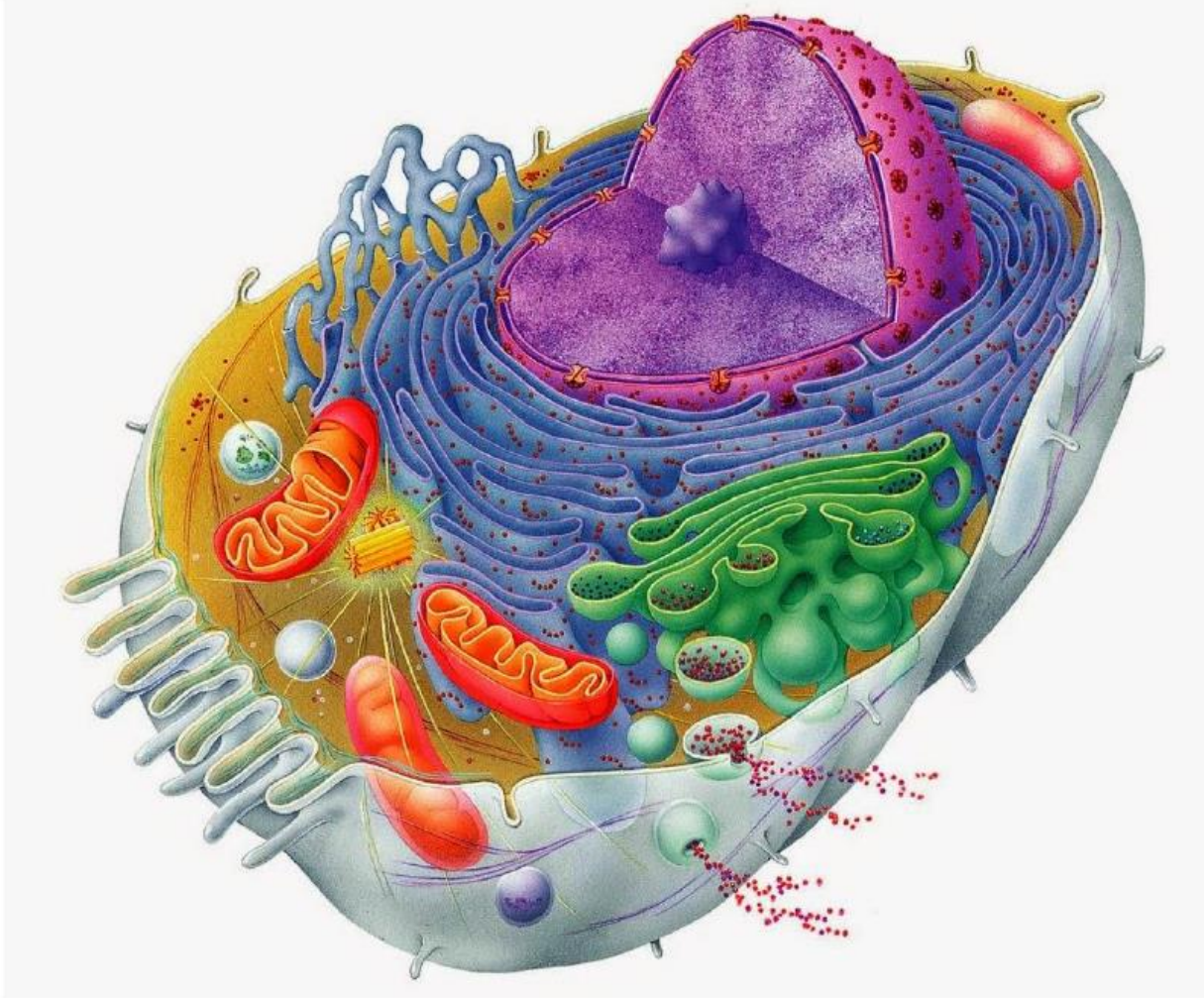
Il existe un certain nombre de molécules identifiées en laboratoire qui interfèrent avec le processus de la traduction.

Parmi ces molécules, plusieurs sont utilisées comme **antibiotiques**.

* Antibiotiques actifs sur la traduction des cellules eucaryotes

CONCLUSION

LA TRADUCTION EN CONTEXTE CELLULAIRE



Chez les eucaryotes, la traduction est un processus cytoplasmique. Cependant, un certain nombre de protéines sont destinées à changer de compartiment (adressage au noyau, à la mitochondrie...)

Certaines protéines destinées à être insérées dans la membrane plasmique ou libérées dans le milieu extracellulaire sont produites à la membrane du réticulum endoplasmique granuleux (REG). Elles subissent alors des maturations le long de leur trajet jusqu'à leur externalisation (passage par le REG puis l'appareil de Golgi puis les vésicules d'exocytose).

D'autres protéines nécessitent des modifications structurales pour être parfaitement fonctionnelles (clivage protéolytique, assemblage avec d'autres polypeptides via la formation de ponts disulfure etc...)