

L'EXPRESSION GÉNIQUE

Polypeptide

ARNm

La traduction

Domaine SNV : Biologie, Agronomie, Science Alimentaire, Ecologie

Ribosome

Responsable M: HAMDOUCHE.N



INTRODUCTION

C'est le mécanisme par lequel le flux d'information va passer de la forme acide nucléique ARN (alphabet à 4 lettres) à la forme protéine (alphabet à 20 lettres) selon un code universel



➤ Chez les bactéries la traduction et la transcription sont couplées , dès que l'extrémité 5' de l'ARNm est synthétisée la traduction commence

➤ Vitesse de la synthèse:

- Chez E. coli ~ 5 AA / s
- Chez eucaryotes ~ 16 AA / s

:

Le code génétique

Est un code qui permet la conversion d'une séquence de nucléotides (ADN puis ARN) en séquence d'acides aminés

Le code implique les base A,C,U et G ainsi que les 20 aa

Le code génétique

Caractéristiques

- Les codons sont des triplets de nucléotides
- Le code génétique est universel
- Le code génétique est redondant ou dégénéré
- Le codon AUG (code pour formyl-MET ou MET) = codon d'initiation.

Les codons sont des triplets de nucléotides

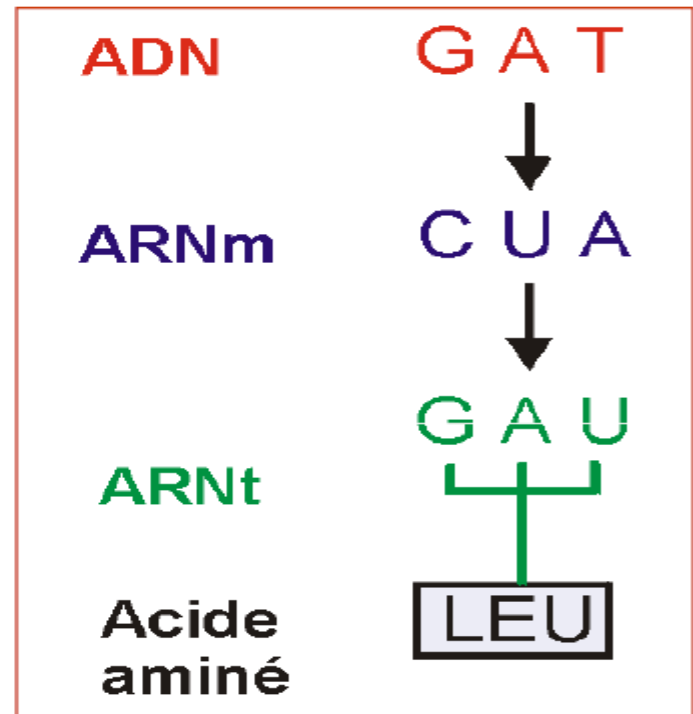
Chaque **triplet** de nucléotides sur l'ADN correspond à un **codon** de l'ARNm: 64 codons possibles (4^3)

Chaque **codon** de l'ARNm correspond à un **anti-codon** spécifique de l'ARNt.

Chaque **anti-codon** correspond à un **acide aminé** spécifique.



DONC: chaque triplet de nucléotides sur l'ADN correspond à un acide aminé.



- 
- **Le code génétique est redondant ou dégénéré**

Il y a 64 possibilités de combiner les nucléotides en codons (43).

- **Comme il y a 20 acides aminés, il y a donc 44 codons supplémentaires.**
- **3 correspondent à des codons stop ou non-sens: UAA, UAG et UGA**
- **les autres sont des synonymes qui codent pour différents acides aminés**

Le code génétique est redondant ou dégénéré

Plusieurs codons codent le même acide aminé bien qu'un seul «à la fois» soit nécessaire pour la mise en place de l'acide aminé dans la protéine.

Rôle de la redondance

Minimise les effets néfastes des mutations ! Si un changement dans l'ADN (mutation) entraîne la mise en place d'un autre codon mais que ce dernier code pour le même acide aminé que le codon d'origine, alors, la mutation ne s'exprime pas «silencieuse».

	U	C	A	G	
U	UUU } Phe UUC }	UCU } UCC } Ser UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC }	UGU } Cys UGC }	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 }	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 UNIVERSEL

**c'est le même pour tous les êtres
vivants**

sauf quelques rares exceptions:

*- Certains protistes : un seul codon STOP (UGA);
les autres codent pour un acide aminé.*

2- Les acteurs de la traduction

- **L'ARN messenger (ARNm).**
- **Les ARN de transfert (ARNt).**
- **Les ribosomes.**
- **Les acides aminés.**
- **Les amino-acyl tRNA synthétases.**
- **Le Mg^{2+} , le GTP et l'ATP.**

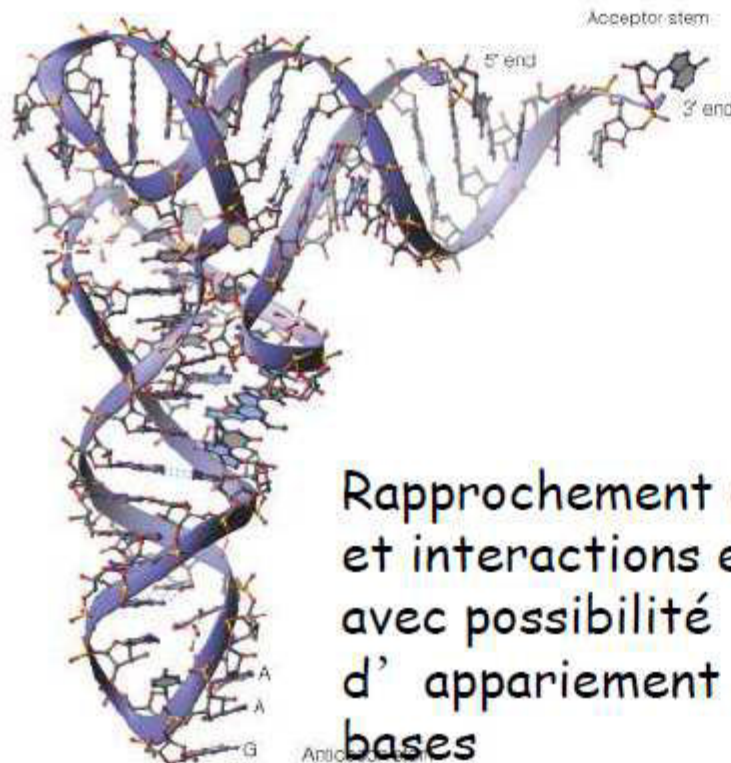


Les ARNm

- **ARNm = Contient les codons qui déterminent la liste des acides aminés de la chaîne polypeptidique**

Les ARN de transfert (ARNt)

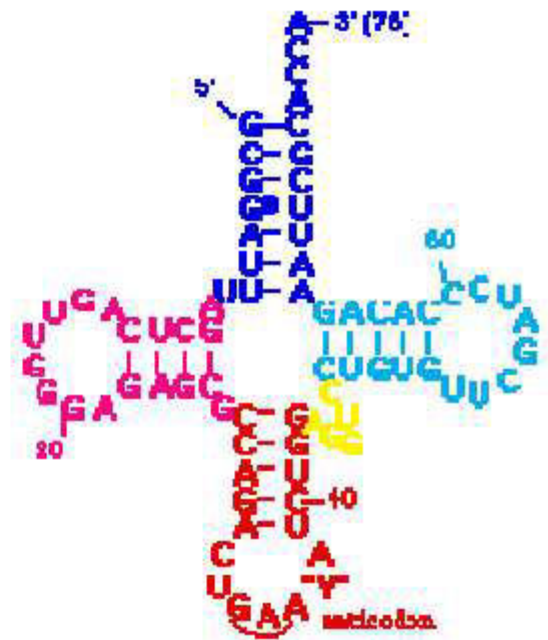
Structure : « en feuille de trèfle »



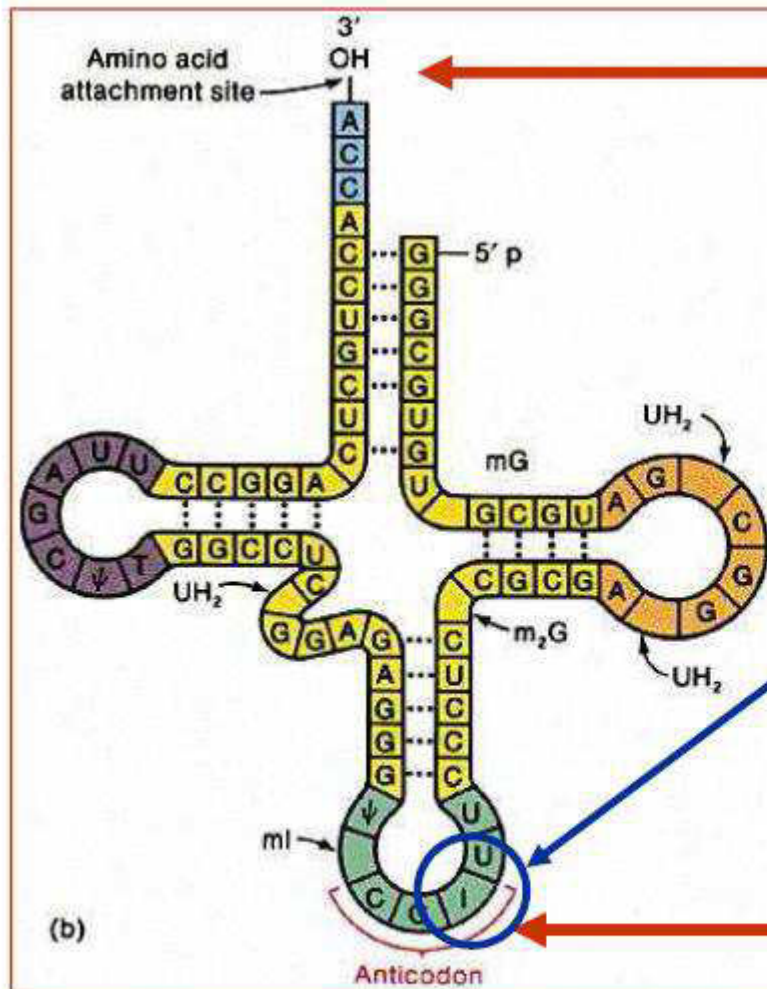
Rapprochement des boucles
et interactions entre elles
avec possibilité
d'appariement entre leurs
bases

Copyright © 2000 Benjamin/Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

ARNt = simple brin d'ARN qui
se replie sur lui-même pour
former une structure en 3D



Certaines bases et structures secondaires sont
constantes et d'autres paires sont variables.



Extrémité 3' non appariée
(se termine par CCA3') :
peut se lier à un acide
aminé, **bras accepteur**

N.B. certains nucléotides sont
*exotiques, bases modifiées
chimiquement* (différents des 4
habituels).

Exemple = I "inosine" un dérivé
de l'adénine peut s'apparier avec
U, C ou A.

Anticodon = zone formée de trois
nucléotides qui reconnaît le codon
de l'ARNm

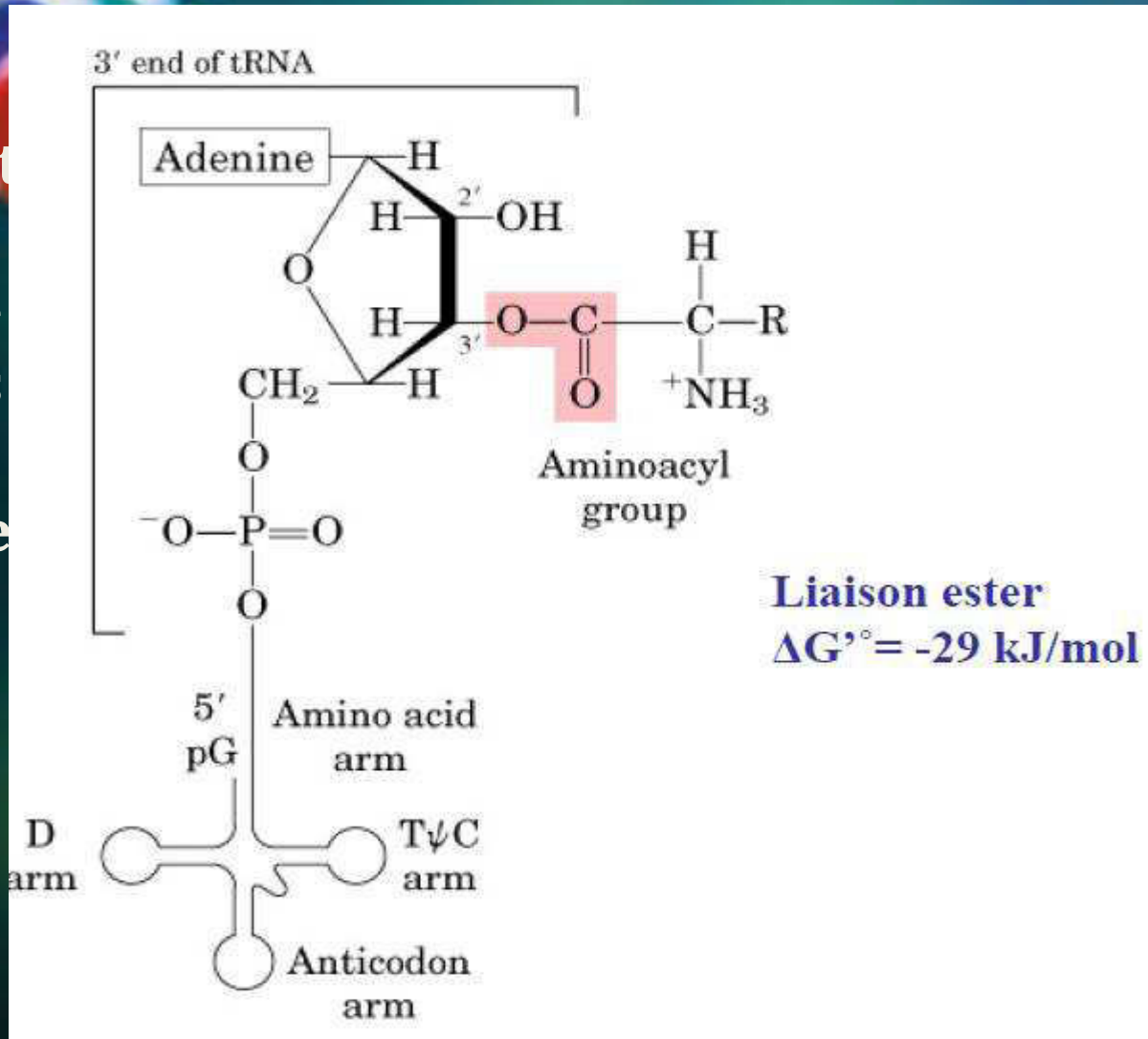
Présente des bases modifiées inhabituelles

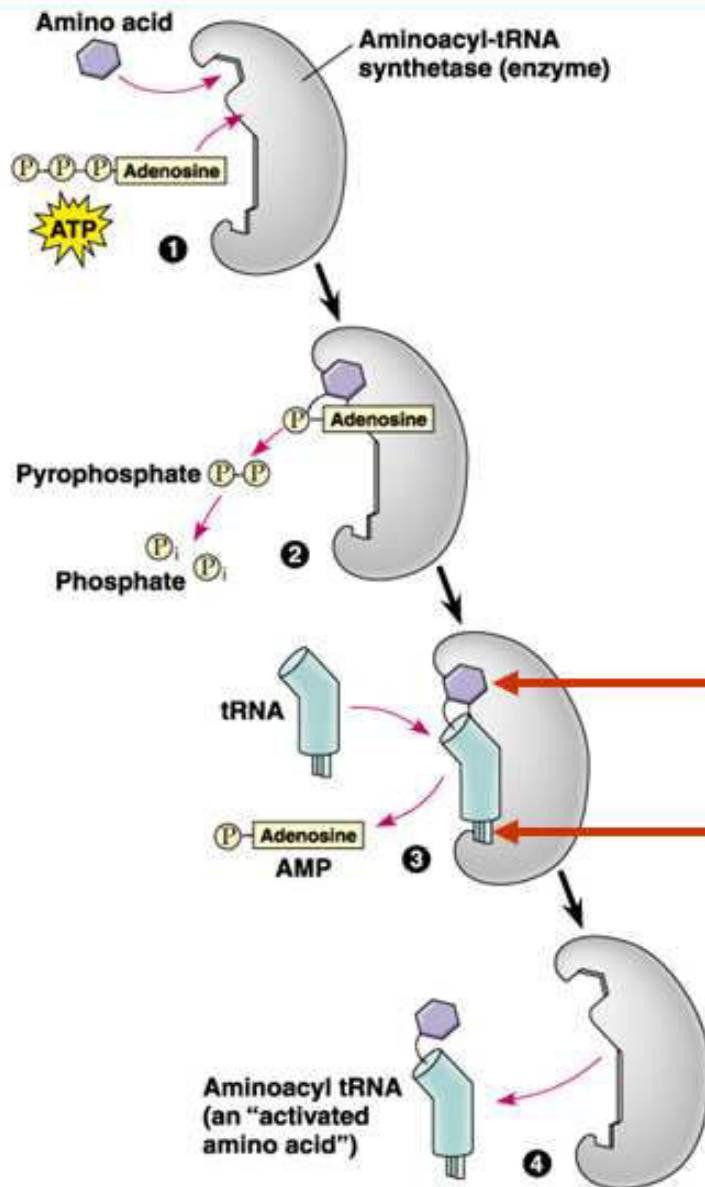
L'acide aminé est attaché au bon ARNt par l'enzyme **aminoacyl-ARNt synthétase** qui catalyse la réaction spécifique entre l'a.a. et l'ARNt

Un ARNt dépend
Il existe
chez les

Possède
- Se lier
- porter

miné: ça
00 à 110





Il existe plusieurs sortes d'aminacyl-ARNt synthétase. Chacune peut attacher un acide aminé particulier à un ARNt particulier.

Le site actif de l'enzyme reconnaît:

un acide aminé particulier
ET
un anticodon particulier.

L'enzyme unit l'acide aminé à l'ARNt



ARNm

Polypeptide

Les ribosomes sont des organelles cytosoliques constitués pour environ $\frac{2}{3}$ d'ARNr et $\frac{1}{3}$ de protéines Formés de deux sous-unités: une petite et une grande

Leurs masse moléculaire est:

- * 2500 KkD chez les procaryotes
- * 4200 Kd chez les eucaryotes

Structure Comparée des Ribosomes

	Taille (S)	Sous - unités (S)	ARNr (S)	Nombre de Protéines
Bactéries	70	50	23 + 5	31 (L1, L2 ..)
		30	16	21 (S1, S2...)
Eucaryotes	80	60	28 + 5,8 + 5	40
		40	18	30
Mitochondries	55	35	21 + 3	-
		25	12	

Les ribosomes

- l'assemblage des petits ARNr et des protéines en sous – unités ribosomiques est fait par le nucléole
- les sous unités sont exportées , individuellement , vers le cytosol.
- Se regroupe en ribosome fonctionnel lorsqu'il se fixent à une molécule d'ARN messager

Ribosome

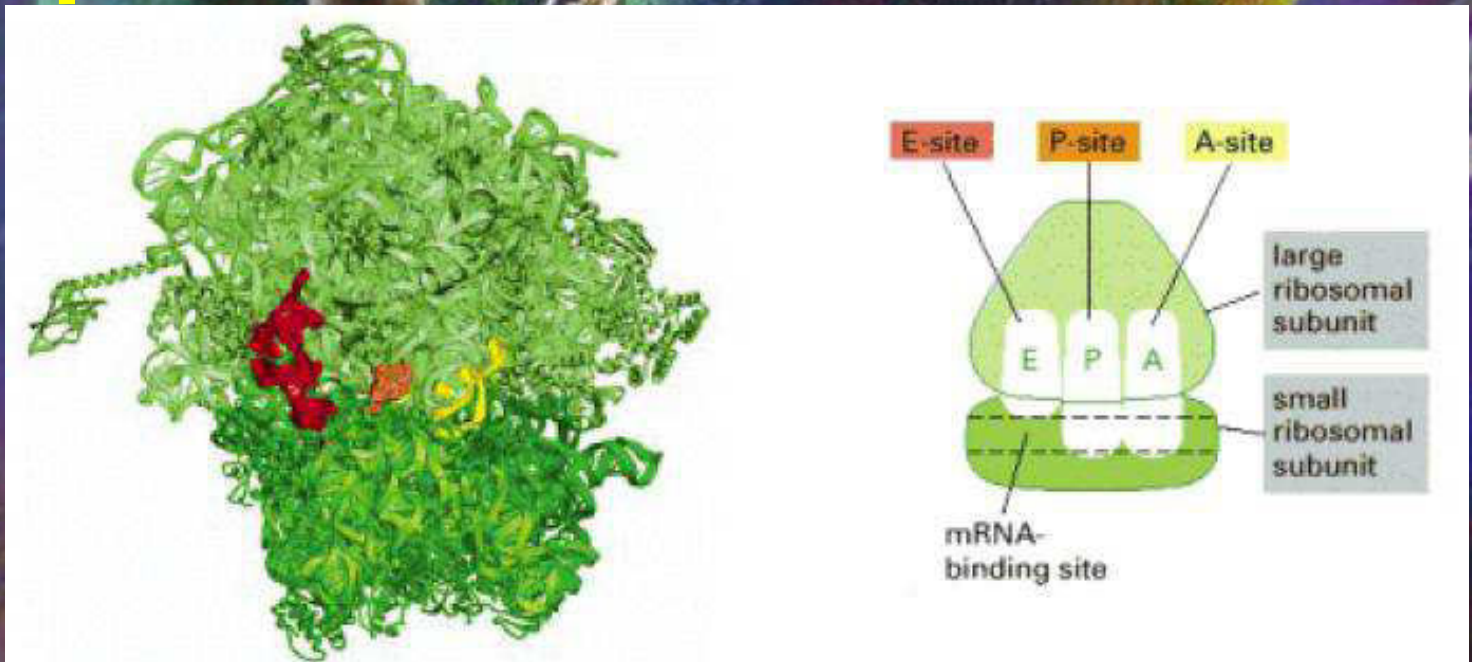
ARNm

Un ribosome comporte 3 sites de liaisons:

❖ **Le site A pour aminoacyl-ARNt**, permet l'entrée de l'ARNt chargé d'un aa

ARNm
❖ **Le site P pour peptidyl-ARNt**, porte l'ARNt chargée d'un aa lié à la chaîne polypeptidique

❖ **le site E pour exit**, contient l'ARNt déchargé avant sa libération par le ribosome



Rôles des ribosomes


Polypeptide

■ Trois rôles :

1- Rapproche l'ARNm et les ARNt.

2- Place le nouvel acide aminé «dans le bon sens» : le groupement amine près du carboxyle du polypeptide.

3- Catalyse la liaison peptidique entre les acides aminés qui s'ajoutent les uns à la suite des autres.



Polypeptide

3-Etapes de la traduction

■ Initiation

Étape la plus longue et la plus complexe.

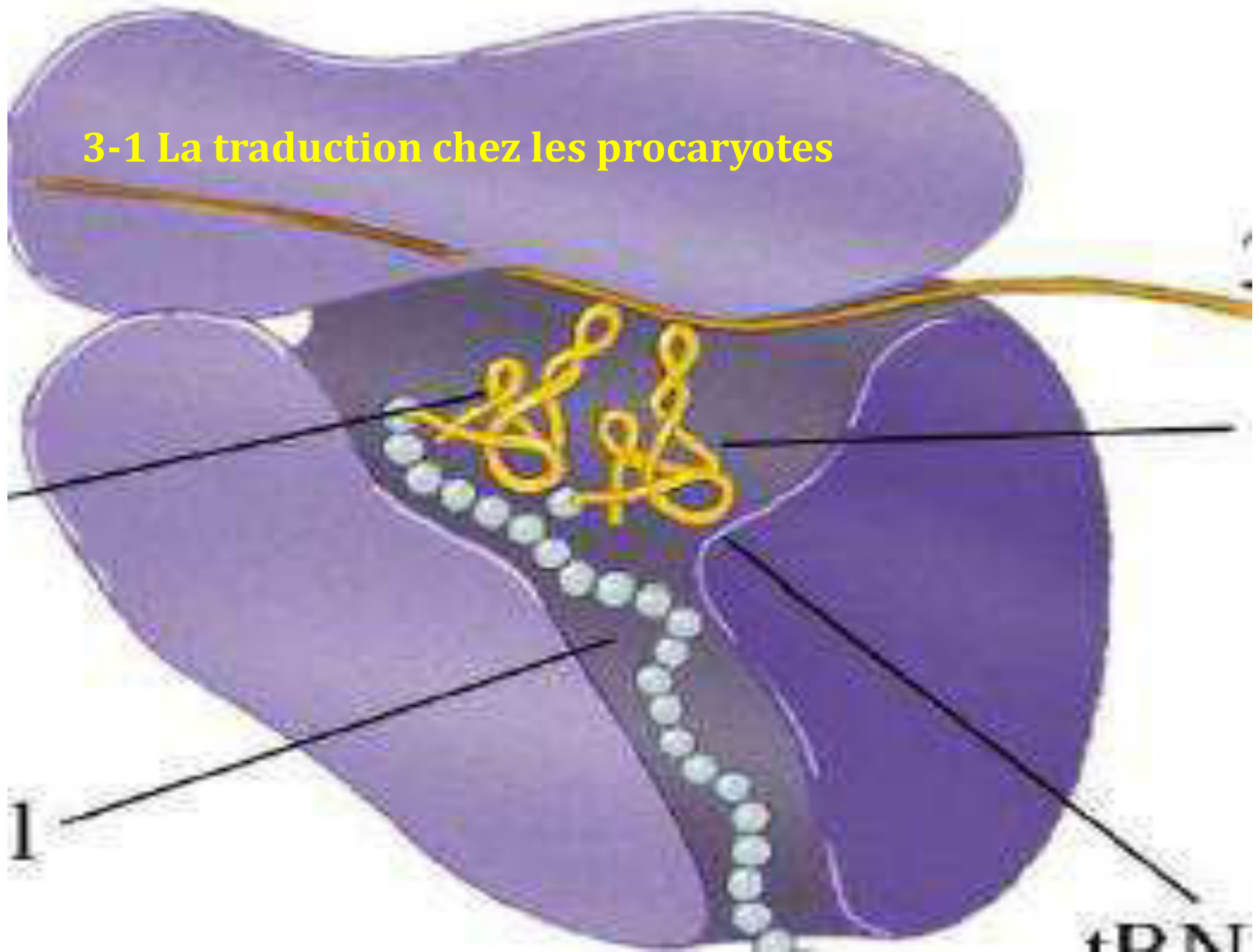
■ Élongation

Chaque cycle d'élongation lit un codon et ajoute un acide aminé à la chaîne polypeptidique.

■ Terminaison

Tous les «acteurs moléculaires de la traduction ainsi que le produit final «le polypeptide» sont libérés.

3-1 La traduction chez les procaryotes

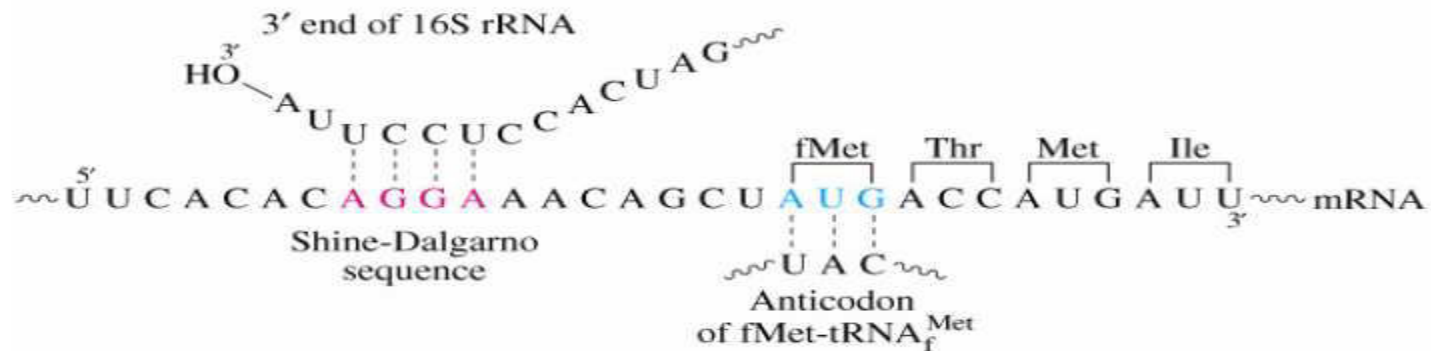


Mécanisme de Synthèse des Protéines

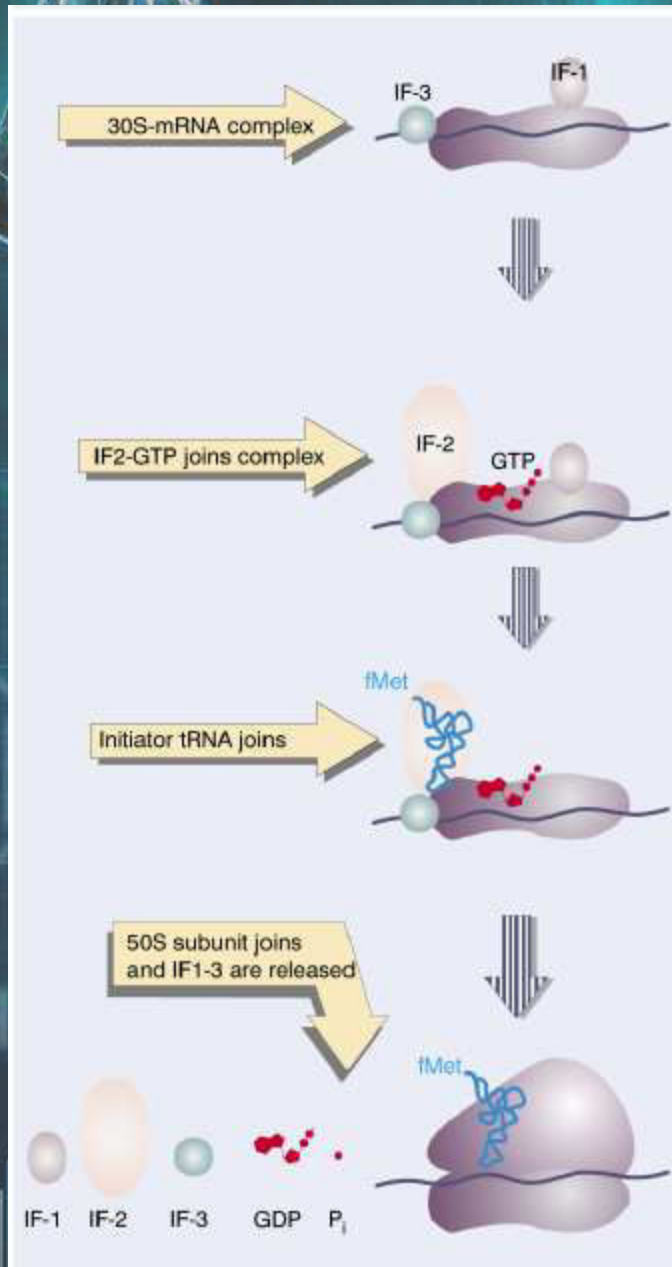
- 3 phases: initiation, élongation, terminaison
- Initiation: Association de l'ARNm et de l'aminoacyl-tRNA initiateur à la petite sous unité ribosomale, suivi par la fixation de la grande sous unité
- Élongation: synthèse du peptide avec la fixation des ARNt au site accepteur (A) et du peptidyl au site (P).
- Terminaison a lieu au niveau des " codons stop "

Initiation de la traduction chez les Procaryotes

Identification du Codon Initiateur chez les Procaryotes



- **La sous unité 30S se fixe au niveau d'une séquence spécifique sur l'ARNm (Séquence Shine-Dalgarno) située juste avant le codon initiateur. L'ARNr 16S est impliqué dans la reconnaissance de la séquence SD.**
- **Fixation de l'ARNt initiateur (N-formylméthionyl-tRNA) au codon initiateur (Premier AUG)**

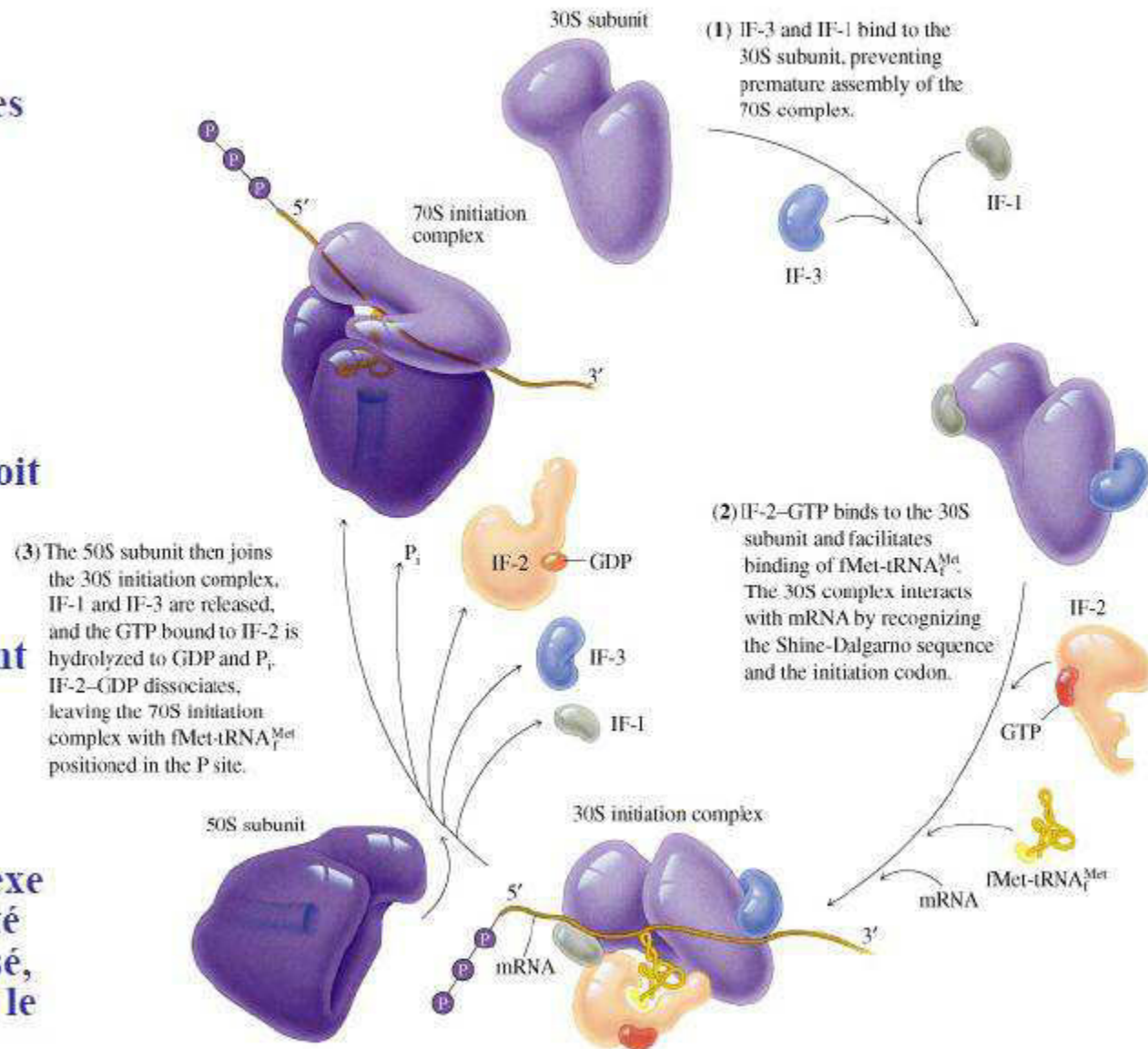


Les facteurs de traduction IF sont nécessaires à la fixation de l'ARNt-fmet au complexe 30S-ARNm.

Ils sont libérés après la fixation de la sous unité 50S et le GTP est clivé (GDP + P_i)

Initiation de la Traduction chez les Procaryotes

- **Formation du complexe d'Initiation impliquant les facteurs d'Initiation**
- **IF-3 maintient les sous unités ribosomales séparées**
- **IF-2 identifie et fixe l'ARNt initiateur. IF-2 doit fixer le GTP pour fixer l'ARNt.**
- **IF-1, IF-2, et IF-3 se fixent à la sous-unité 30S pour former le complexe d'initiation**
- **Après fixation du complexe d'initiation à la sous-unité 50S, le GTP est hydrolysé, l'ARNt initiateur occupe le site-P et les IFs se dissocient**

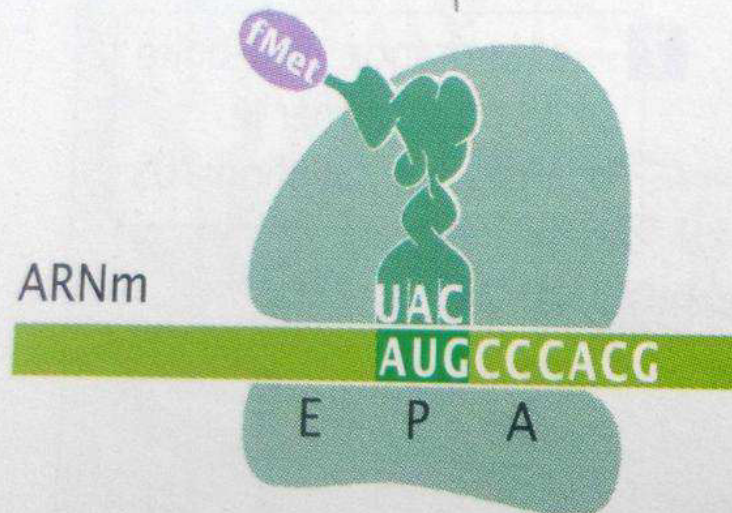


Elongation

- L'élongation correspond à une synthèse protéique par ajout d'acides aminés à l'extrémité C-Terminale de la chaîne peptidique naissante, réaction catalysée par l'activité **peptidyl-transférase** de la grande SU des ribosomes.
- L'élongation également est permise par la présence de facteurs d'élongation (EF pour *Elongation Factor*) : **EF-Tu** ; **EF-Ts** et **EF-G**.

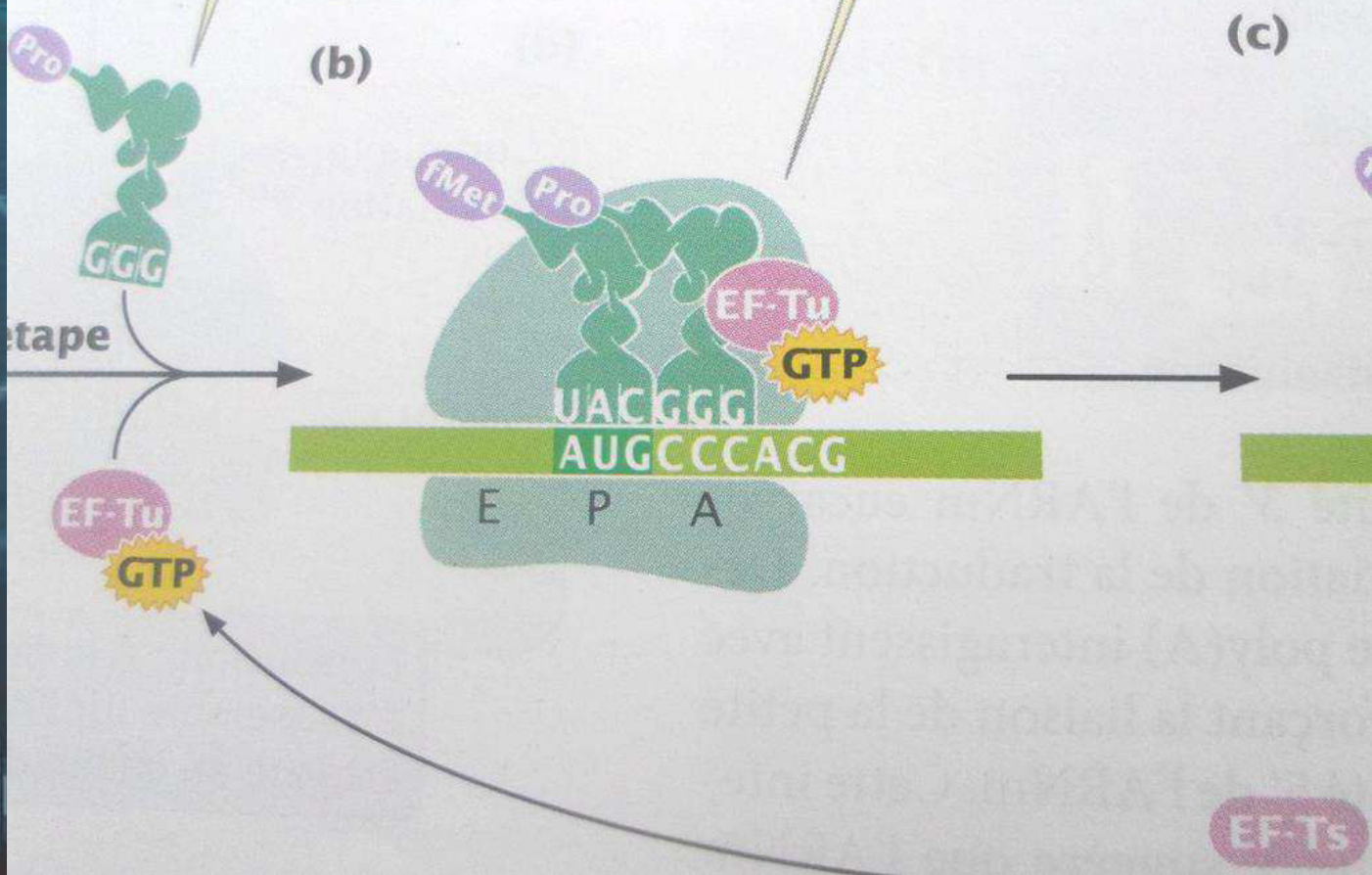
1 Un fMet-ARNt^{fMet} occupe le site P du ribosome.

(a)



2 EF-Tu, GTP et un ARNt chargé forment un complexe...

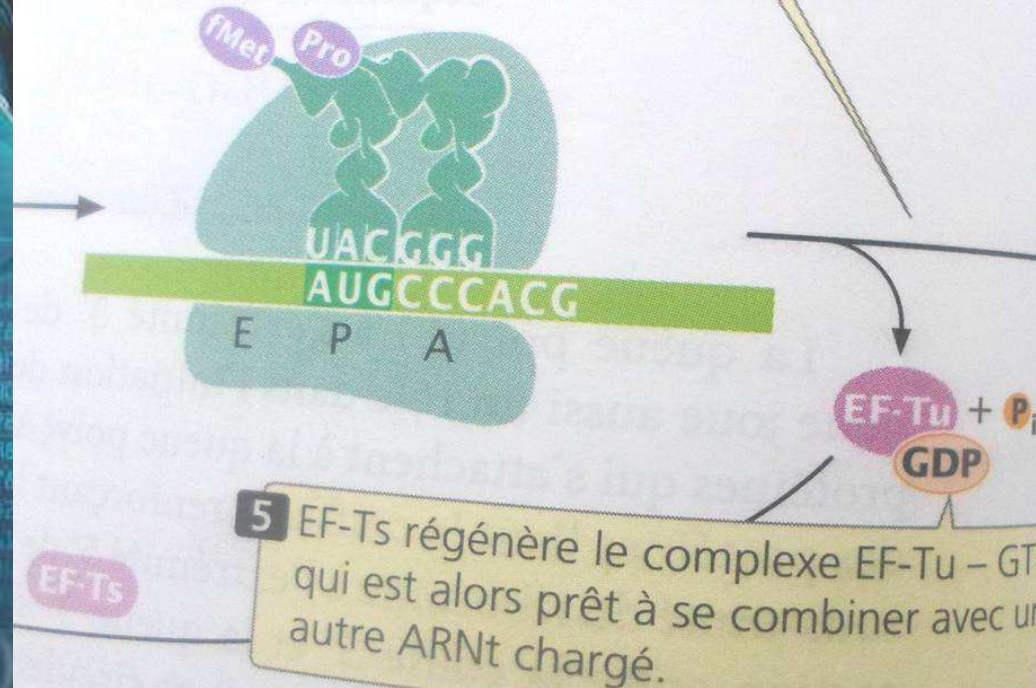
3 ...qui entre dans le site A du ribosome.



entre dans le site
osome.

4 Après positionnement de l'ARNt chargé dans le site A, le GTP est hydrolysé en GDP, et le complexe EF-Tu - GDP est libéré.

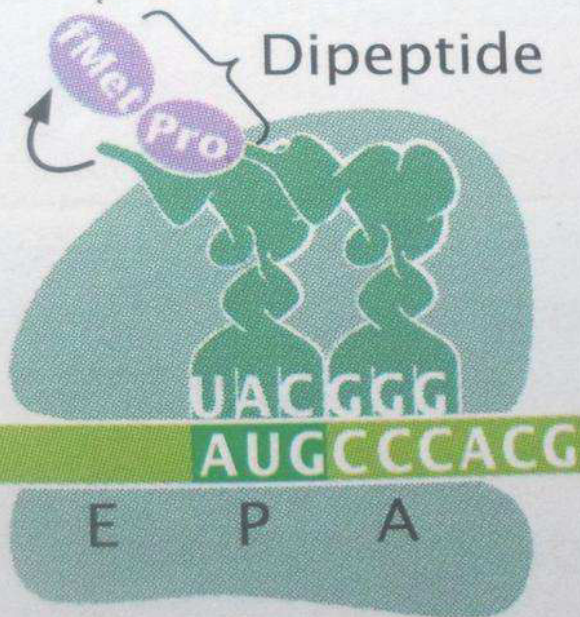
(c)



6 Une liaison peptidique se forme entre les acides aminés occupant les sites P et A, et l'ARNt du site P libère son acide aminé.

(d)

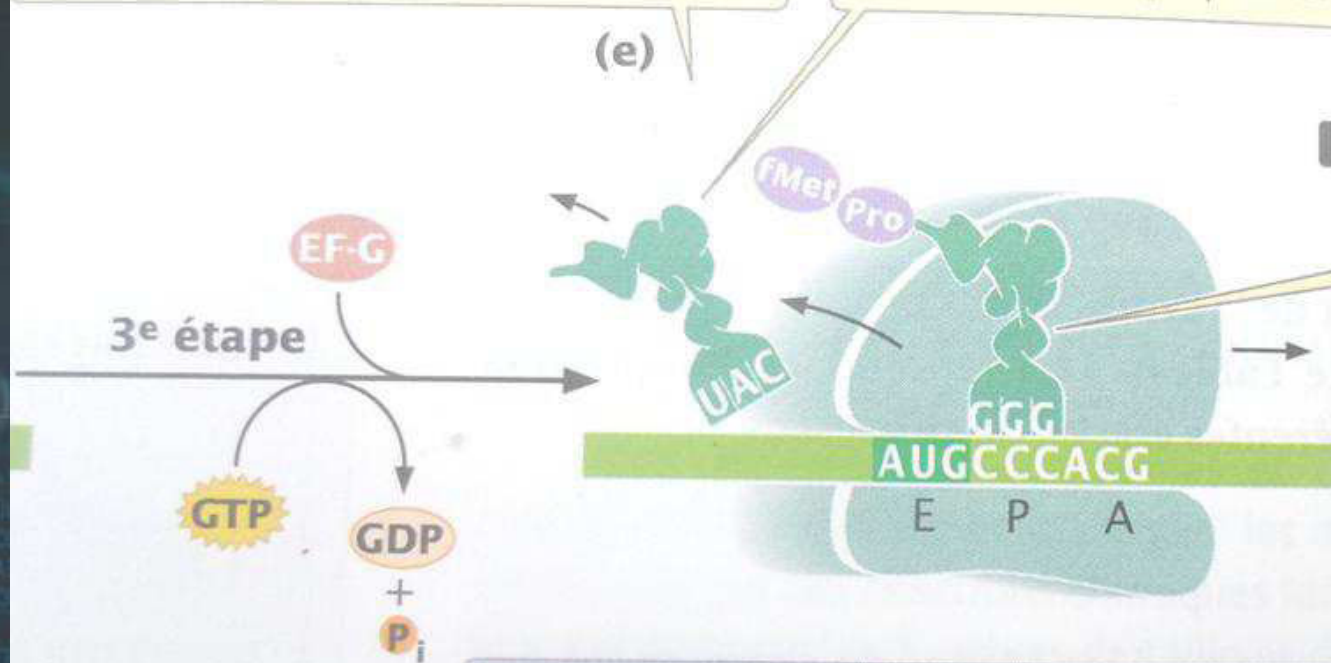
2^e étape



7 Le ribosome se déplace d'un codon sur l'ARNm (translocation), ce qui nécessite l'action de EF-G et l'hydrolyse de GTP.

8 L'ARNt qui se trouvait au site P est à présent au site E d'où il passe dans le cytoplasme.

9 L'ARNt qui occupait le site A est à présent dans le site P. Le site A est ouvert et prêt à recevoir un autre ARNt chargé.



Conclusion : À la fin de chaque cycle d'élongation, l'acide aminé qui se trouvait dans le site A est ajouté à la chaîne polypeptidique et le site A est libre et prêt à accepter un autre ARNt chargé.



ÉLONGATION

Le ribosome et l'ARNm bougent dans le sens contraire.

Translocation

La chaîne•ARNt du site A passe au site P. Le site A est maintenant libre.

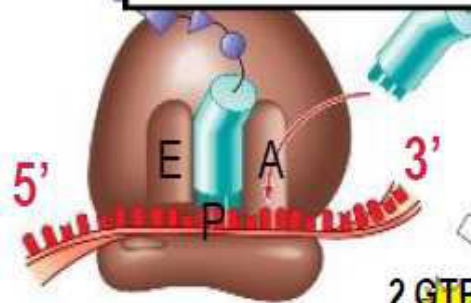
L'ARNt du site P, ayant fini son «job», passe au site E puis se libère.

1

Reconnaissance d'un codon

Un aa•ARNt s'ajoute au site A.

Début d'un nouveau cycle

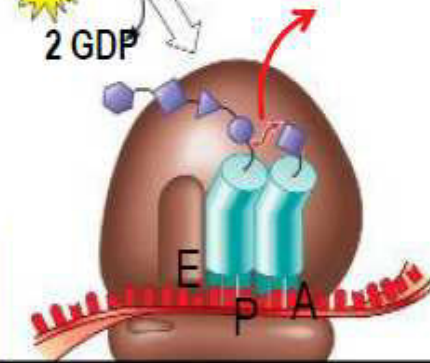


← ARNm
Ribosome →

Le nouvel acide aminé est dans la chaîne.

2 GTP
2 GDP

Lien peptidique

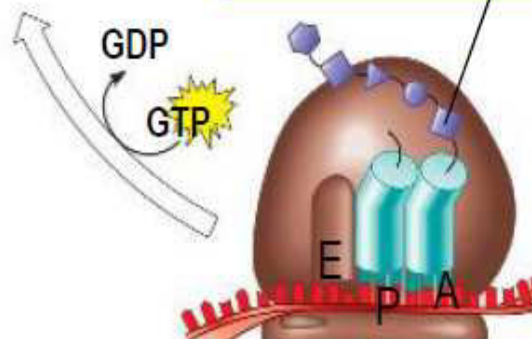
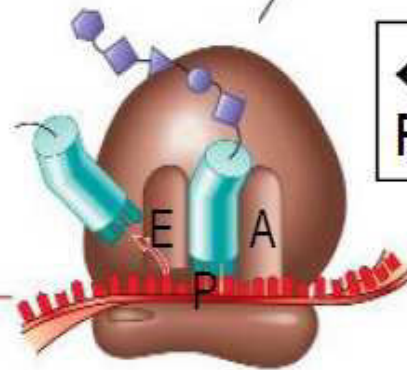


Liaison peptidique

Le lien se forme entre l'a.a. qui s'ajoute et la chaîne en formation. Transfert de la chaîne sur l'ARNt du site A. Catalyse par l'ARNr.

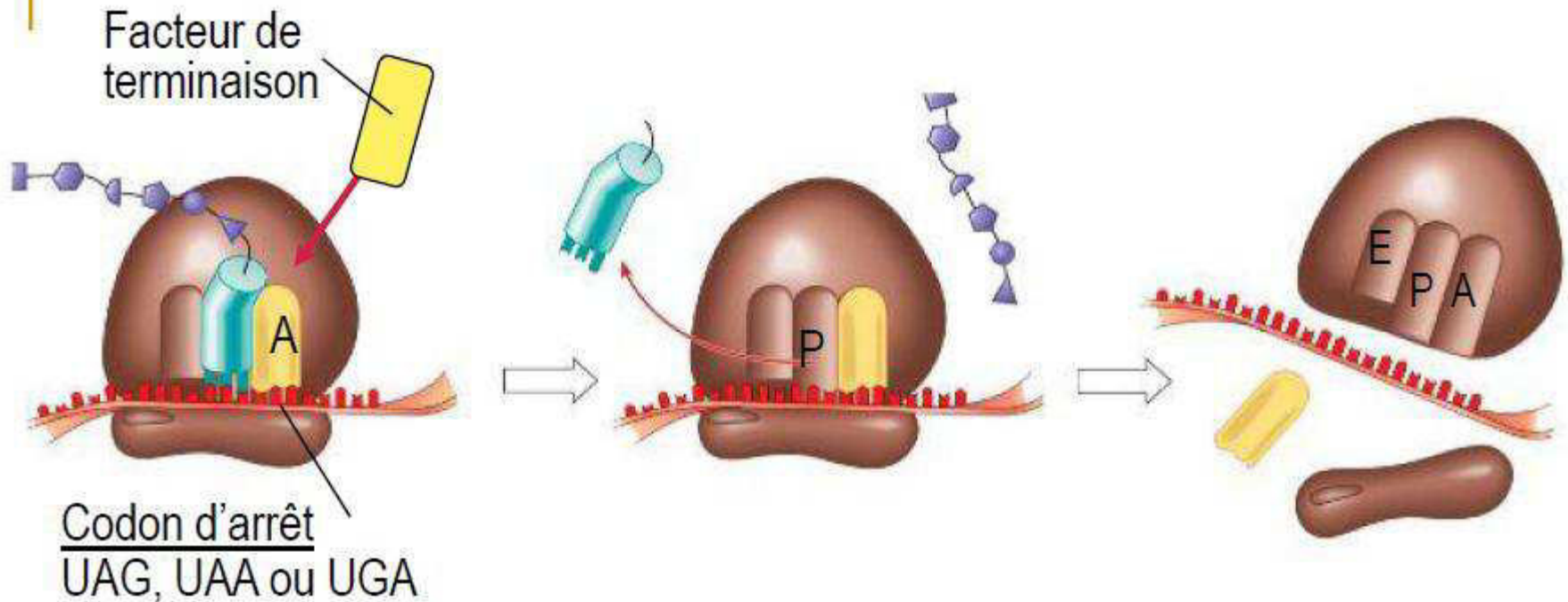
2

3





TERMINAISON



Le ribosome et le codon d'arrêt. ①

Le facteur de terminaison hydrolyse le lien qui relie le polypeptide à l'ARNt. Le polypeptide se détache ainsi que le dernier ARNt. ②

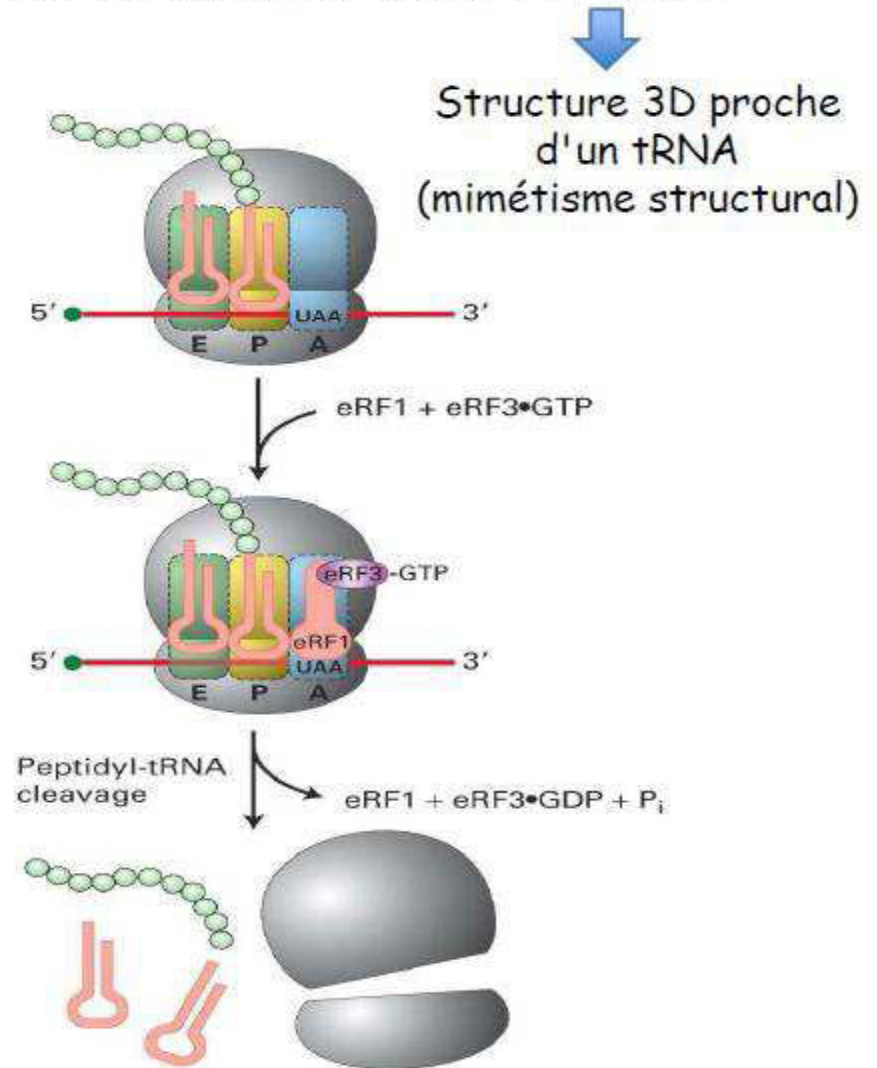
Les sous-unités du ribosome et l'ARNm sont libérés. ③

Terminaison

- La terminaison de la traduction se fait au niveau des codons stop **UAA**, **UAG** et **UGA** qui ne codent pour aucun acide aminé. Ces codons stop sont reconnus par les facteurs de terminaison RF 1, RF 2 et RF 3 (RF pour *Releasing Factor*) :
- Terminaison RF 1, RF 2 et RF 3 (RF pour *Releasing Factor*) :
 - **RF 1** reconnaît UAA et UAG.
 - **RF 2** reconnaît UAA et UGA.
 - **RF 3** stimule l'activité des 2 autres facteurs.
- La liaison ester unissant l'ARNt au dernier acide aminé de la chaîne peptidique est hydrolysée par la peptidyl-transférase. Le ribosome se redissocie en deux sous-unités qui pourront recommencer de nouvelles lectures d'ARNm.
La terminaison fait intervenir, tout comme l'initiation, l'hydrolyse d'une molécule de GTP.

La terminaison se fait grâce à 3 facteurs de terminaison : RF1, RF2 et RF3

- ❖ Protéines appelées « Facteurs de Terminaison - RF (Release Factor) » reconnaissent le codon stop (UGA, UAG, ou UAA) au site A
- ❖ **RF-3** fixe le GTP et stimule les activités de **RF-1** et **RF-2**.
- ❖ La fixation des RF au codon non sens au site A transforme la **peptidyl transférase** en une **hydrolase**, qui coupe la chaîne peptidique de l' ARNt auquel elle est fixée
- ❖ Hydrolyse de **GTP** est nécessaire pour la dissociation des facteurs RFs, des sous-unités ribosomales et du nouveau peptide



RF1 reconnaît les codons stop UAA et UAG
RF2 reconnaît les codons stop UAA et UGA

Initiation factors

IF-1	Unclear; X-ray crystallography studies show that binding of IF-1 blocks the A site (see page 329), so its function may be to prevent premature entry of <u>tRNAs</u> into the A site. Alternatively IF-1 may cause conformational changes that prepare the small subunit for attachment to the large subunit
IF-2	Directs the initiator <u>tRNA^{Met}</u> to its correct position in the initiation complex
IF-3	Prevents premature reassociation of the large and small subunits of the ribosome

Elongation factors

EF-Tu	Directs the next <u>tRNA</u> to its correct position in the ribosome
EF-Ts	Regenerates EF-Tu after the latter has yielded the energy contained in its attached GTP molecule
EF-G	Mediates translocation

Release factors

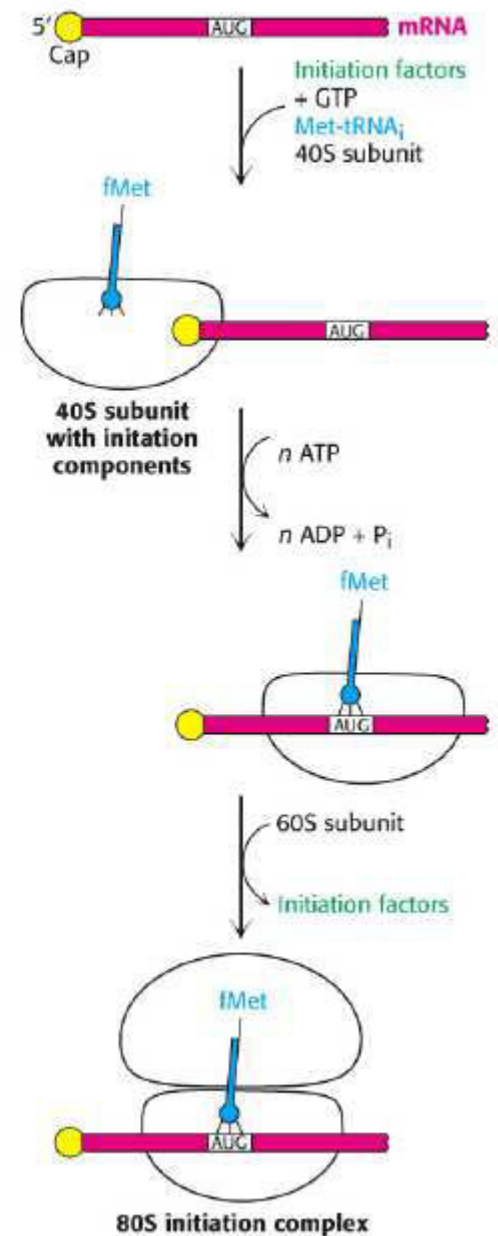
RF-1	Recognizes the termination codons 5'-UAA-3' and 5'-UAG-3'
RF-2	Recognizes 5'-UAA-3' and 5'-UGA-3'
RF-3	Stimulates dissociation of RF1 and RF2 from the ribosome after termination

Ribosome recycling factor

RRF	Responsible for disassociating the ribosome subunits after translation has terminated
-----	---

Initiation de la traduction chez les Eucaryotes

- Pas de séquence S-D.
- Une protéine de liaison CBP (CAP binding protein) se fixe à la Coiffe à l'extrémité 5' de l'ARNm
- Un complexe d'initiation est formé avec CBP, les facteurs d'initiation et la sous-unité 40S.
- Le complexe analyse l'ARNm à la recherche du premier AUG le plus proche de l'extrémité 5' de l'ARNm
- eIF-2 analogue de IF-2, transfère l'ARNt au site - P. Il y a hydrolyse du GTP



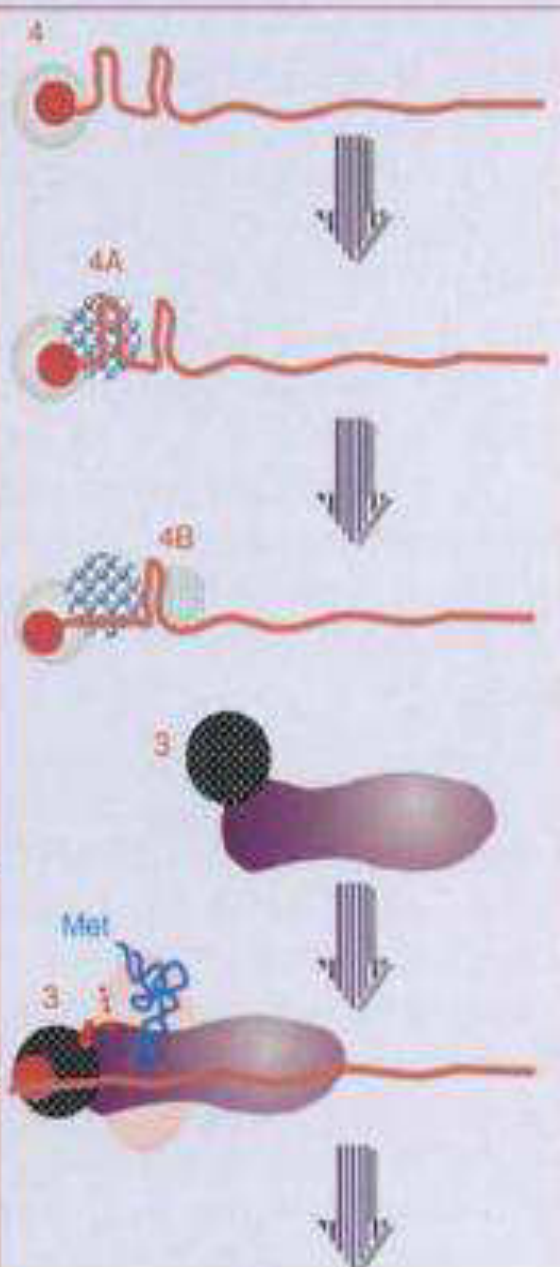
eIF-4
se lie à la coiffe
en 5'

eIF-4A
supprime
les structures
secondaires en 5'

eIF-4B
aide à leur
suppression

eIF-3
est nécessaire pour
maintenir les sous-
unités 40S à l'état libre

eIF-3
intervient pour que
la sous-unité 40S
associée au complexe
ternaire, se fixe à
l'extrémité 5'



Le facteur eIF-4 est un oligomère qui reconnaît la coiffe et défait toutes les structures secondaires qui ont pu se former dans les 15 premières bases de l'ARNm. L'énergie nécessaire pour les supprimer est fournie par l'hydrolyse d'ATP. La suppression de la torsion au-delà de ces 15 bases d'ARNm est assurée conjointement par eIF-4 et un autre facteur, eIF-4B. La liaison du complexe ternaire associé à la sous-unité 40S dépend de eIF-3, qui intervient directement dans la fixation à l'ARNm. D'autres facteurs (dont eIF-4A et eIF-4B) sont également impliqués.

Les facteurs eIF-3 et eIF-6 sont nécessaires pour maintenir les sous-unités dans leur état dissocié. eIF-3 est un très grand facteur, formé de 8 à 10 sous-unités. eIF-3 se fixe à la petite sous-unité, tandis que eIF-6 (dont le rôle est plutôt d'empêcher la réassociation) se lie à la grande sous-unité ribosomale. Il est libéré lorsque la grande sous-unité rejoint le complexe d'initiation.

L'association des sous-unités 60S avec le complexe d'initiation ne se produit pas tant que eIF-2 et eIF-3 n'ont pas été libérés du complexe d'initiation, une fonction assurée par eIF-5, qui est une GTPase. Les facteurs restants sont probablement libérés lorsque le ribosome 80S complet est formé.

eIF-3

est nécessaire pour maintenir les sous-unités 40S à l'état libre

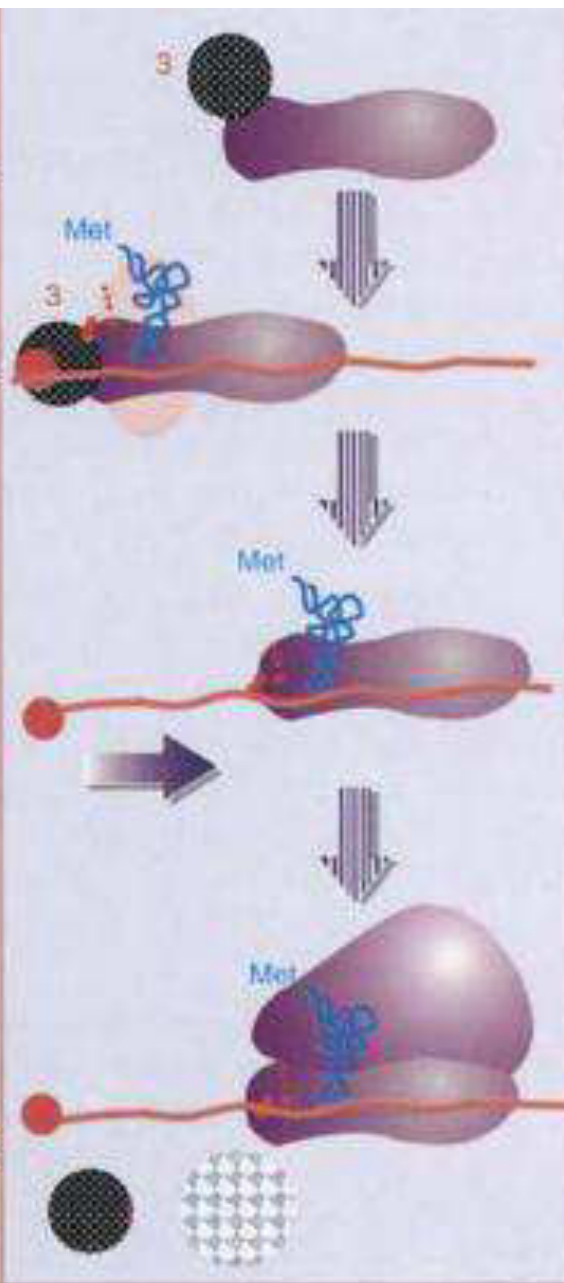
eIF-3

intervient pour que la sous-unité 40S associée au complexe ternaire, se fixe à l'extrémité 5'

La sous-unité 40S migre le long de l'ARNm jusqu'au codon AUG

eIF-5

La GTPase est nécessaire pour l'association de 60S et la libération de eIF-2 et eIF-3

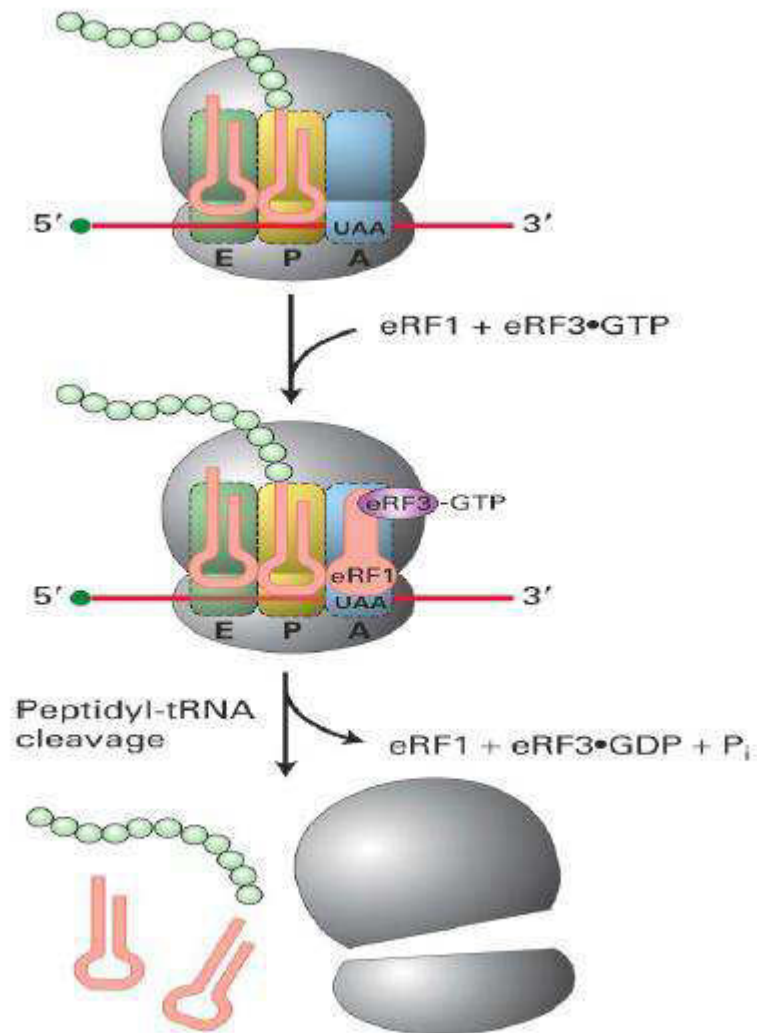


eIF-3 se fixe à la petite sous-unité, tandis que eIF-2 (dont le rôle est plutôt d'empêcher la réassociation) se lie à la grande sous-unité ribosomale. Il est libéré lorsque la grande sous-unité rejoint le complexe d'initiation.

L'association des sous-unités 60S avec le complexe d'initiation ne se produit pas tant que eIF-2 et eIF-3 n'ont pas été libérés du complexe d'initiation, une fonction assurée par eIF-5, qui est une GTPase. Les facteurs restants sont probablement libérés lorsque le ribosome 80S complet est formé.

La traduction chez les eucaryotes.

- Le ribosome est de taille différente et composé d'ARN ribosomiques différents bien que la structure générale et l'activité soit comparable.
- Le ribosome reconnaît le début de la séquence codante grâce à la coiffe.
- Le codon initiateur est également AUG et c'est généralement le 1er AUG présent sur l'ARNm.
- Chez les eucaryotes le premier acide aminé est la méthionine et non pas la f-Met présent chez les procaryotes. La méthionine sera le plus souvent enlevée juste après la synthèse de la chaîne peptidique.
- Les facteurs d'initiation sont du type eIF (pour *eukaryotic Initiation Factor*), d'eIF1 à eIF6.
- Les facteurs d'élongation sont également du type eEF (eEF1 α , eEF1 β et eEF2).
- Les facteurs de terminaison sont du type eRF (pour *eukaryotic Releasing Factor*).



Antibiotiques inhibiteurs de la traduction:

- **STREPTOMYCINE**
- **TETRACYCLINES**
- **PUROMYCINE**
- **CHLORAMPHENICOL**
- **ERYTHROMYCINE**



	ADN chromosomique	ADN mitochondrial
<u>AUA</u>	Ile	Met
<u>UGA</u>	STOP	Tyr
<u>AGA</u> <u>AGG</u>	Arg	STOP



