

LA TRADUCTION

Synthèse des protéines

Généralités :

1) le ribosome

Une grande sous unité → établit la liaison peptidique

Constitué par les ARN **5s**, **5.8s** et **28s**.

- Site **A** : **A**ttachment binding site → sur ce site le nouvel ARNt chargé d'un AA vient se fixer.
- Site **P** : **P**rotein Binding Site. C'est à ce niveau que la liaison peptidique est effectuée.
- Site **E** : **E**xit. L'ARNt débarrassé de son AA passe par là avant d'être expulsé.

Une petite sous unité → établit les interactions avec ARNm

Constituée de l'ARN ribosomal **18s**

La liaison peptidique se fait grâce à une activité peptidyl-transférase porté par l'ARNr. Le ribosome pour qu'il puisse fonctionner a besoin de facteurs de traduction de trois types.

- **EF** : **E**longation **F**actors
- **EIF** : **E**ucaryotic **I**nitiation **F**actor
- **RF** : **R**elease **F**actor.

2) Formation de liaisons peptidiques entre les AA

Pourcentage d'erreur de $1/10^4$ mais comme l'écrasante majorité des protéines a une taille moindre, le risque est vraiment faible.

3) code génétique qui est porté par les nucléotides.

→ Un triplet nucléotidique code un AA.

4) ARNt = Adaptateur entre AN et AA

Les AA sont trop gros, ils ne peuvent pas venir se fixer eux-mêmes sur les triplets nucléotidiques. Ils ont besoin d'un intermédiaire : L'ARNt.

Il possède un anticodon qui se fixe sur le codon de l'ARNm et cet ARNt va être chargé à son extrémité 3' avec l'acide aminé.

On parle d'AminoAcyl-ARNt parce que l'AA doit être activé pour pouvoir venir se fixer sur l'extrémité 3' de l'ARNt. Parmi ces AminoAcyl-ARNt, il y a l'ARNt initiateur, qui n'intervient qu'une seule fois, et qui va être uniquement fixé sur le codon d'initiation de la traduction. Et le chargement de l'AA sur l'ARNt est permis par l'ARNt-synthétase.

I) Un mot sur le code génétique :

| | | Second base | | | | |
|------------|---|---|--|---|---|------------------|
| | | U | C | A | G | |
| First base | U | UUU } Phenyl- UUC } alanine UUA } Leucine UUG } | UCU } UCC } Serine UCA } UCG } | UAU } Tyrosine UAC } UAA } Stop codon UAG } Stop codon | UGU } Cysteine UGC } UGA } Stop codon UGG } Tryptophan | U C A G |
| | C | CUU } Leucine CUC } CUA } CUG } | CCU } CCC } Proline CCA } CCG } | CAU } Histidine CAC } CAA } Glutamine CAG } | CGU } Arginine CGC } CGA } CGG } | U C A G |
| | A | AUU } Isoleucine AUC } AUA } AUG } Methionine start codon | ACU } ACC } Threonine ACA } ACG } | AAU } Asparagine AAC } AAA } Lysine AAG } | AGU } Serine AGC } AGA } Arginine AGG } | U C A G |
| | G | GUU } Valine GUC } GUA } GUG } | GCU } GCC } Alanine GCA } GCG } | GAU } Aspartic GAC } acid GAA } Glutamic GAG } acid | GGU } Glycine GGC } GGA } GGG } | U C A G |

Dégénéré : = un AA peut être codé par un ou plusieurs triplets : en effet, 64 codons possibles pour 20 AA. Par contre, un triplet donné ne code qu'un seul AA

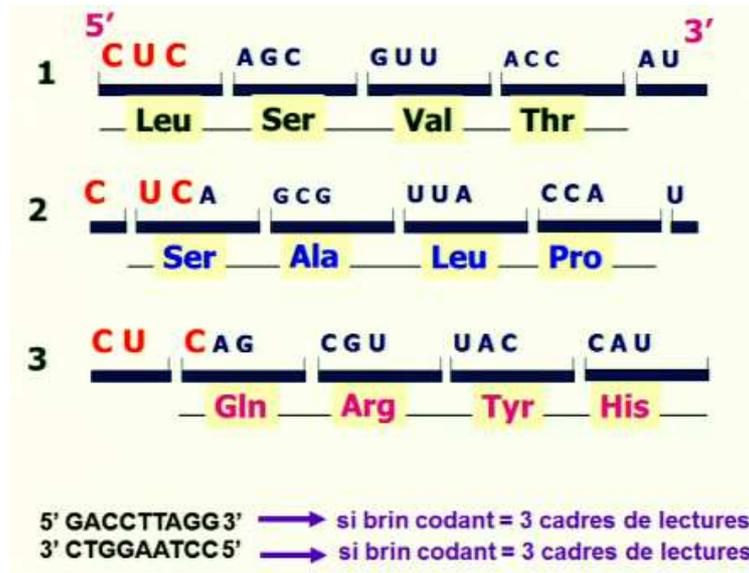
Codon d'initiation de la traduction : AUG (code aussi la méthionine)

Codons STOP : UAA UAG UGA (hue agathe !)

Seuls deux AA sont codés par un seul triplet : méthionine (AUG) et triptophane (UGG)

1) Il y a 3 cadres de lecture.

- Soit les 3 premiers nucléotides de la séquence constituent un triplet. (exemple 1)
- Soit ça commence au deuxième nucléotide (exemple 2)
- Soit ça commence au troisième nucléotide. (exemple 3)



Connaître le cadre de lecture du transcrit est essentiel !

S'il y a une mutation ponctuelle, le cadre de lecture ne change pas. Ca peut amener une substitution, le triplet code autre chose, donc la fonction de la protéine peut soit être modifiée soit non.

Par contre ce qui modifie à coup sur le cadre de lecture ce sont les **insertions** ou les **délétions**, quand cette insertion ou cette délétion n'est pas un multiple de trois.

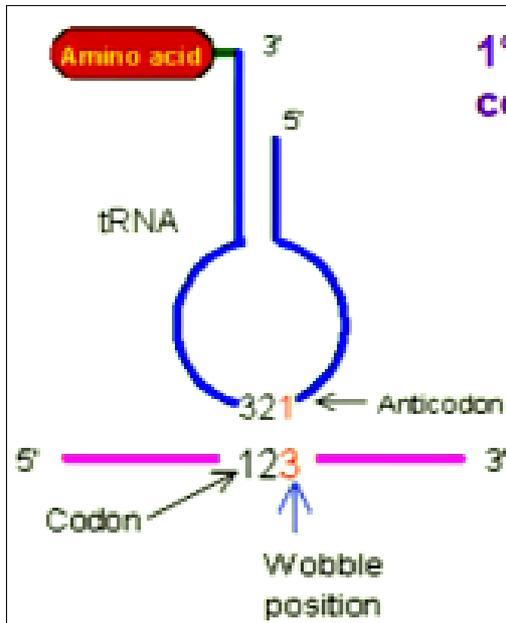
Quand on a une séquence brute sans information, il y a six cadres de lecture possible (3 cadres, dans les deux sens de l'ADN)

Il faut rechercher les indices qui permettent d'identifier le cadre de lecture utilisé :

- la position du promoteur (gauche ou droite)
- le nucléotide +1
- la localisation du codon AUG.

Si on a le codon AUG, on sait que c'est le premier codon. Après il suffit de faire le découpage 3 par 3.

2) Interaction codon / anti-codon : wobble ou « structure avec du jeu »



Voici un ARNm contenant 3 nucléotides et codant un AA. On voit aussi l'ARNt et son bras anticodon.

Le ribosome a un contrôle de qualité vérifiant les nucléotides :

- Les nucléotides 1 et 2 doivent obéir strictement aux règles de complémentarité.
- Pour le 3, une certaine variabilité est tolérée. On parle de position « wobble »

Pour l'ARNt se fixant de façon **anti parallèle**, la position wobble concerne *donc le premier nucléotide*.

Associations possibles :

| 1° base anti-codon | 3° base codon |
|--------------------|---------------|
| C | G |
| A | U |
| U | A,G |
| G | U,C |
| I | U,C,A |

L'Inosine peut s'apparier avec soit U, A, C

Exemple :

AGA, ou AGG → ne peut être reconnu que par un seul ARNt, UCU.

**Un même ARNt peut s'hybrider avec 2 codons différents, mais définissant un même AA.
Pour 61 codons → environ 40 d'ARNt → 20 AA.**

ARNt iso accepteur : Un AA donné possède plusieurs ARNt pouvant le prendre en charge.

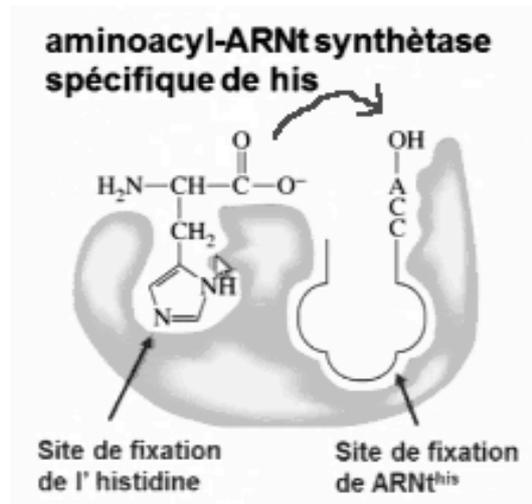
3) Les acides aminés sont chargés sur l'extrémité 3' de l'ARNt par l'AminoAcyl ARNt Synthétase.

a. Spécificité de l'AARNTS

AminoAcyl ARNt Synthétase a une double spécificité : ARNt et AA.

- Elle sait associer le codon et l'AA.
- Elle possède deux sites de fixation : pour l'AA et pour l'ARNT
- Il y a **une enzyme par AA.**

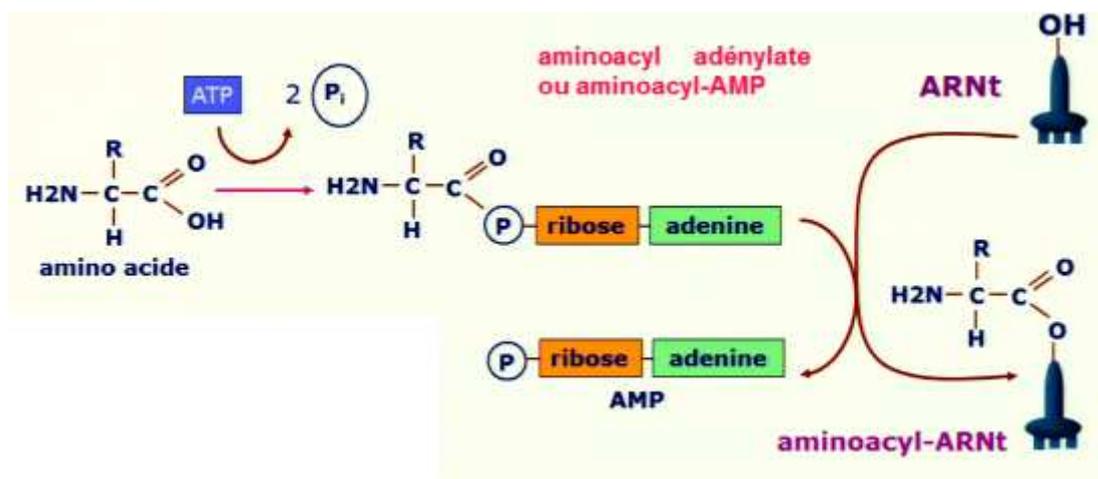
Exemple :



L'AA et l'ARNt sont fixés, maintenant il faut transférer l'AA sur l'extrémité 3'.

b. Activation de l'AA => Utilisation de 2 liaisons riches en NRJ

- AA + Adénine ribose monophosphate → amino-acyl AMP.
- Puis liaison ester sur l'extrémité 3' de l'adénine → Amino-Acyl ARNt



Quand elle sera rompue, la liaison libèrera de l'énergie qui sera utilisée pour l'établissement de la liaison peptidique dans le site P du ribosome.

Dans la grande majorité des cas l'AA va être rajouté sur l'atome d'oxygène relié au carbone 3' du ribose. Mais dans certains cas il peut être d'abord rajouté sur le carbone 2' puis être transféré sur le carbone 3'.

Le transfert de l'AA se fait dans le site actif d'AARNTS

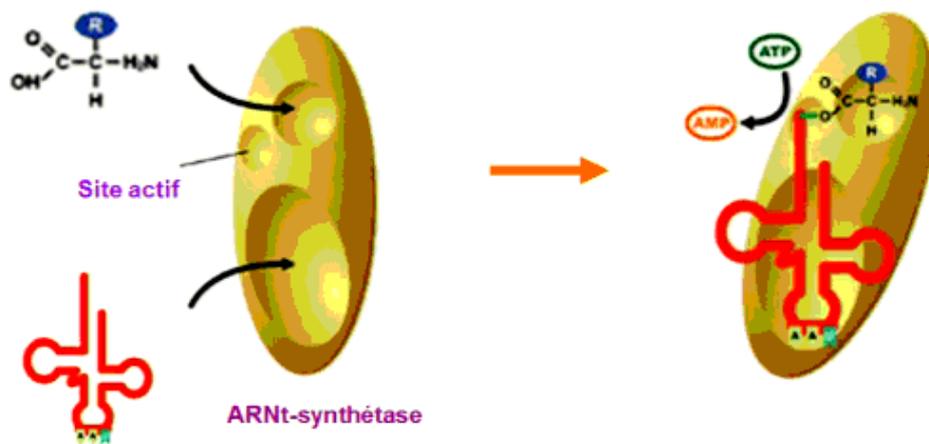
c. comment les AARNTS reconnaissent-elle les AA et les ARNt ?

1. Interaction entre ARNt Synthétase et plusieurs régions de l'ARNt

2. Interactions AARNTS et AA

- Reconnaissance de la chaîne latérale de l'AA. → liaisons chimiques.
- Reconnaissance de la taille de l'AA.

→ **Un site de correction** rejette l'AA si les caractéristiques ne sont pas les bonnes



II) Les trois étapes de la traduction

Chez les eucaryotes, **la traduction a lieu dans le cytoplasme.**

Les ARNm se courbent pour mettre en contact les extrémités 3' et 5'.

La cellule est alors sûre qu'elle a affaire à un ARN mature → traduction.

On va voir les 3 étapes dans cet ordre là : Elongation initiation et terminaison.

1) L'élongation.

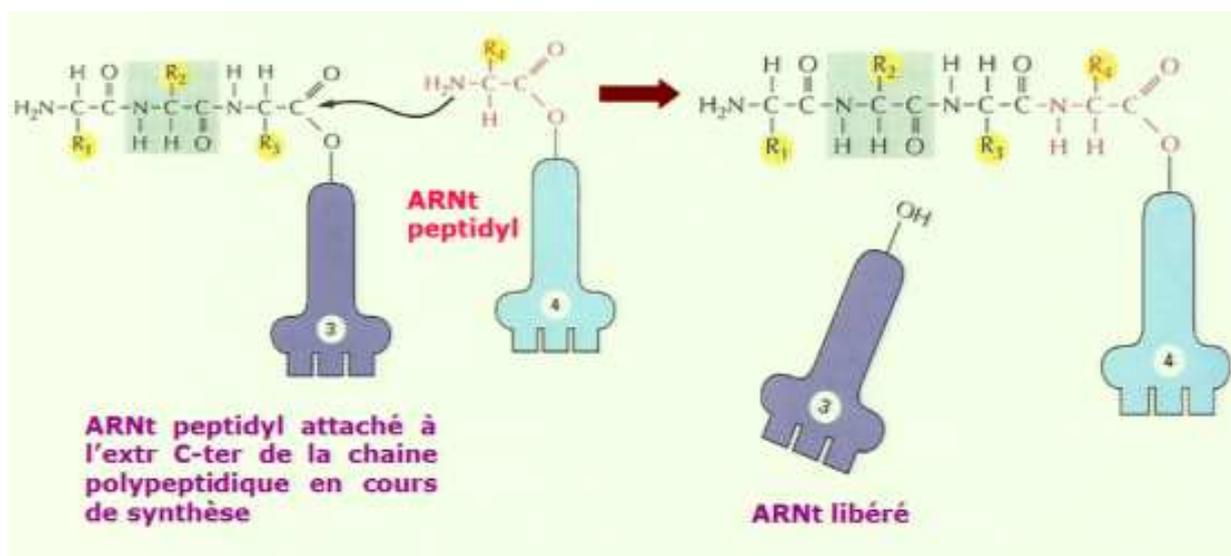
On a un ARNt avec un polypeptide dont La Σ commence par l'extrémité N-TER et progresse vers C-TER.

Un ARNt-peptidyl arrive qui est chargé d'un AA et qui dit « ouech grô, je voudrais faire partie du polypeptide en croissance. »

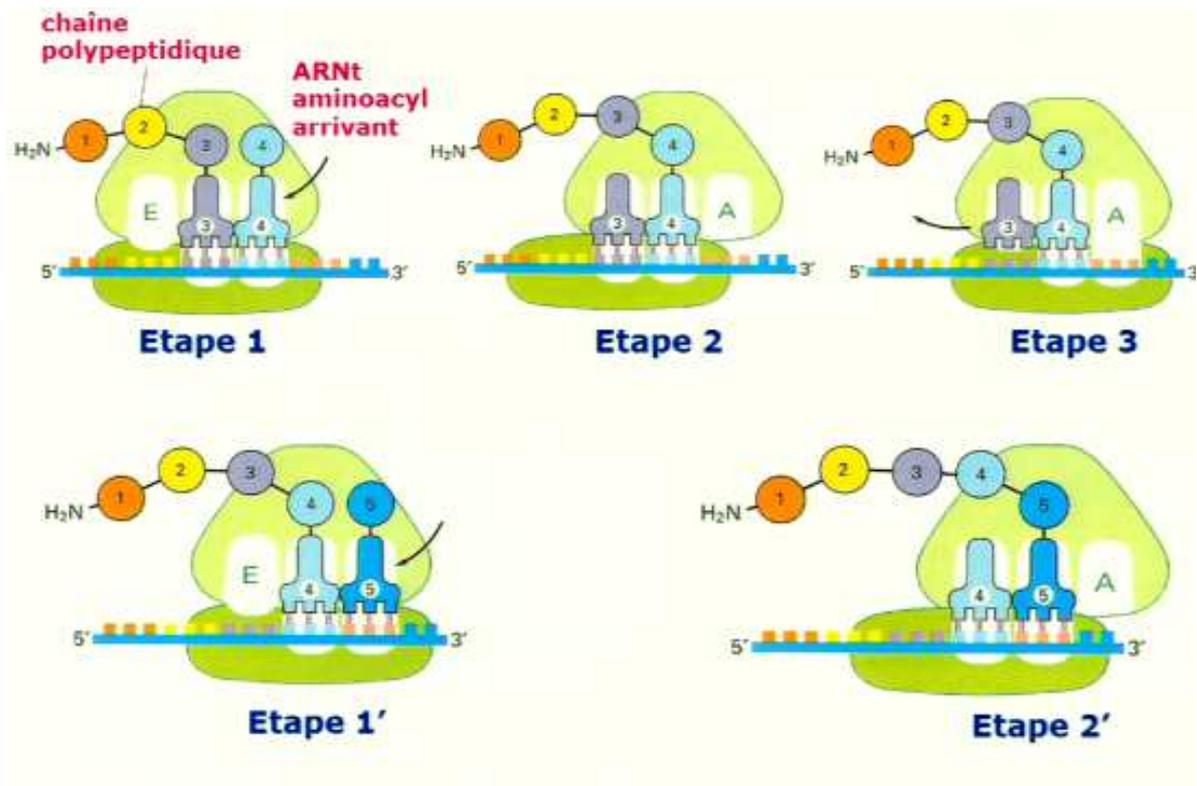
Alors, la chaîne polypeptidique en cours de Σ est transférée sur l'ARNt-peptidyl arrivant grâce à une peptidyl-transférase de la grande sous-unité ribosomale.

La chaîne polypeptidique se retrouve alors attachée sur un nouvel ARNt.

La liaison peptidique a été établie dans le site P du ribosome.



a. Les trois étapes de l'élongation.



ETAPE 1 :

On a un transcrit $5' \rightarrow 3'$ / les deux sous unités ribosomales / Et une chaîne polypeptidique en croissance fixée sur un ARNt. Trois résidus ont été incorporés. Un 4eme résidu chargé sur l'ARNt qui va venir se fixer sur le site A dans le ribosome.

ETAPE 2 :

Quand la liaison peptidique se forme il y a un changement conformationnel dans les ARN qui constituent le ribosome et ça provoque l'avancement de la grande sous unité ribosomale.

- Le site A devient disponible pour un nouvel ARNt
- La polypeptide a été transféré sur l'ARNt qui occupe maintenant le site P
- L'ancien ARNt est dans le site E prêt à être expulsé.

ETAPE 3 :

Le ribosome ne se déplacera que quand la petite sous unité ribosomale va se déplacer car c'est elle qui est en lien avec l'ARNm.

Et caetera.....

b. Les facteurs EF-1 et EF-G2 (chez les eucaryotes) garantissent le mouvement vers l'avant de la traduction. (EF-tu et EF-G chez les procaryotes)

L'ARNt chargé avec l'AA va venir se fixer sur le site A est associé avec une protéine qui s'appelle EF-1 qui est complexée au GTP.

- EF-1 peut vérifier que c'est l'AA approprié qui est fixé à l'ARNt
- EF2 est responsable de l'avancée de la grande sous-unité ribosomale

- Rôle de EF-1

EF-1 GTP se fixe sur le site A mais il n'est pas fixé de façon définitive sur le codon. Pour que ça soit le cas, il faut hydrolyser le GTP ce qui ne se fait pas immédiatement.

Si l'ARNt porte un AA non apparié au codon, EF-1 le refoule comme un malpropre.

C'est le premier point de contrôle,

→ ce retard dans l'hydrolyse du GTP permet aux ARNt incorrects de sortir et de se dissocier.

- Mais l'ARNt peut répondre : « Si si c'est bon j'ai l'AA qu'il faut je suis VIP, je reste ».
- Sauf que EF-1 ne va pas le croire tout de suite. Il va donc rester fixé à l'ARNt et tant qu'il n'est pas sorti du ribosome, l'interaction codon / anticodon ne peut être définitive. Il répond : « T'es sûr que t'es VIP et que c'est VRAIMENT le bon AA ? »
« Sur la vie de ma mère, j'ai l'AA approprié »

Ce deuxième temps de retard constitue le **deuxième point de contrôle.**

→ Permet d'être bien sûr que c'est bien le bon AA qui va être incorporé.

Quand toutes ces vérifications sont finies. EF-1 sort et se dissocie, quant à l'ARNt il est correctement fixé au codon.

Rôle de EF-2

Le facteur EF-2 est lui aussi complexé au GTP. Dès qu'il entre en contact avec le ribosome déclenche une modification conformationnelle responsable de l'avancée de la grosse sous-unité ribosomale. C'est comme ça que la liaison peptidique est effectuée.

EF2 constitue la cible unique de la toxine diphtérique (neurotrope : paralysie diaphragme, troubles respi, troubles déglutition, rythme cardiaque → pronostic vital engagé.)

Cette toxine va inactiver ce facteur EFG car elle entraîne son ADP ribosylation.

L'AA doit être activé (hydrolyse d'ATP et consommation de deux liaisons riches en énergie)

Donc **en tout 4 lisons énergétiques utilisées pour l'addition d'un AA.**

Résumé :

EF-1 : Rôle dans la dissociation des ARNt chargés d'un AA non approprié.

EF-2 : Rôle dans la progression du ribosome sur le transcrit

Les deux hydrolysent du GTP. Donc consommation d'énergie

2) Initiation de la transcription

a. environ 90% des ARNm sont traduits à partir du 1^{er} AUG rencontré en aval de la coiffe 5'

Fait appel à un ARNt **unique** utilisé une seule fois pour se fixer et reconnaître **AUG le codon d'initiation de la traduction**.

La petite sous unité ribosomale doit être ciblée vers extrémité 5'. Elle scanne le transcrit à la recherche de AUG. **C'est le premier codon AUG rencontré qui sert de signal de début de la traduction.**

Cet ARNt initiateur est chargé avec méthionine (car AUG code la méthionine) donc toutes les protéines commencent par Met. mais elle est rapidement clivée.

Le rôle de l'ARNt initiateur est de se fixer sur AUG.

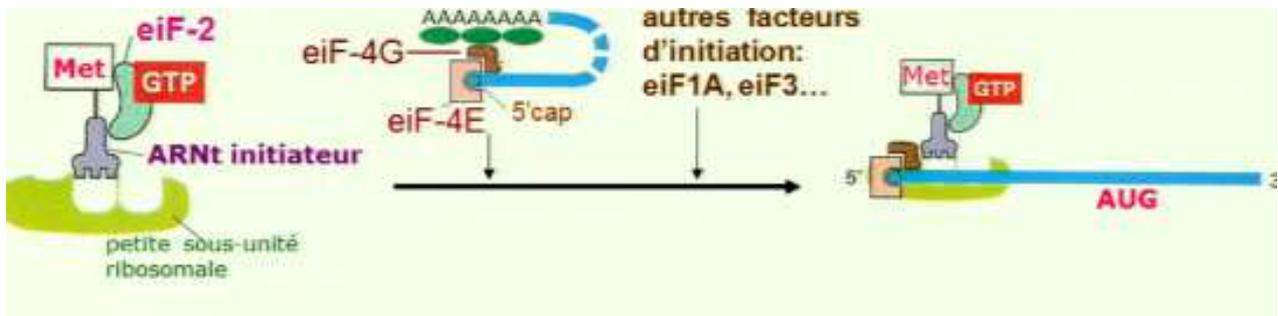
S'il y a à l'intérieur du transcrit un autre AUG qui code une méthionine, ce n'est pas l'ARNt initiateur qui se fixera dessus, mais un ARNt spécifique de la méthionine.

L'ARNt est bien spécifique de l'initiation et unique

Cet ARNt initiateur va être ciblé sur la petite sous unité ribosomale.

C'est le seul ARNt capable de se fixer sur un ribosome incomplet.

Le chargement de la méthionine est fait par un facteur Eif2 complexé au GTP.



Ce complexe va rencontrer un ARNm mature dont l'extrémité 5' possède la queue poly-A.

Les deux extrémités vont établir des contacts grâce à deux facteurs :

- **EiF4G** est le point d'ancrage autour duquel tous les autres facteurs s'articulent.
- **EiF4E** reconnaît la coiffe en 5'.

Quand EIF4E est phosphorylé, ça augmente son affinité pour 5' et active la traduction.

Ensuite il y a d'autres facteurs d'initiation qui vont intervenir.

- **EiF1A** qui facilite la fixation de L'ARNt initiateur à la petite sous unité ribosomale.
- **EiF3** : facilite la fixation du complexe d'initiation à l'ARNm

Ils se déplacent à la recherche d'AUG

Ce déplacement est possible grâce à des enzymes à activité hélicase ATP dépendante. (EiF4A intervient ici) et EiF5 participe à la reconnaissance du codon AUG.

Il faut que la grosse sous unité vienne s'associer.

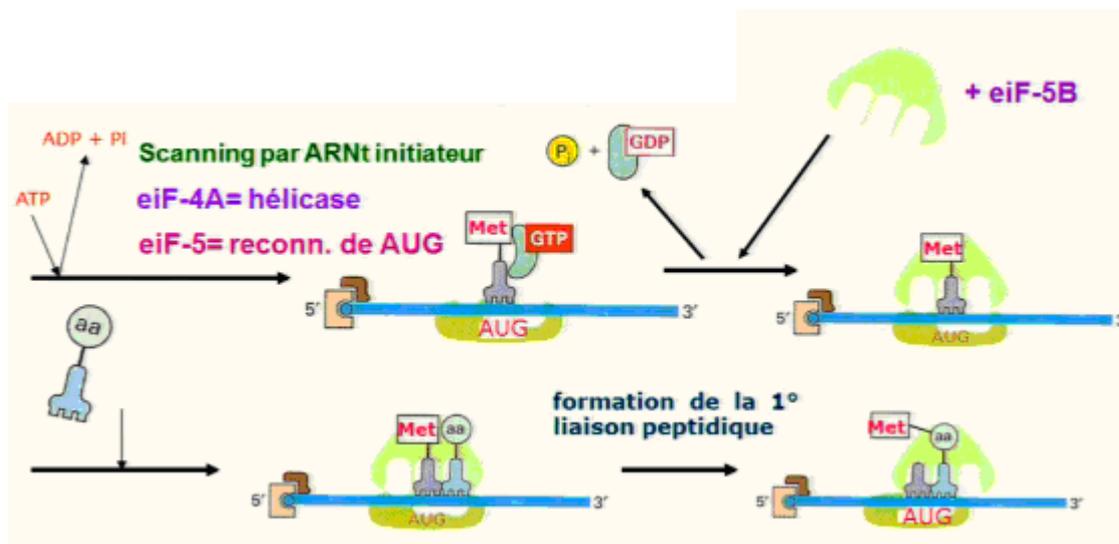
Mais il faut une hydrolyse de GTP

EiF2B dissocie EiF2

Si le facteur EiF2 est phosphorylé il y a une fixation définitive avec le facteur EiF2B qui ne peut plus jouer son rôle de facteur d'échange.

Donc la phosphorylation EiF2 => inhibition de la traduction.

Quand il y a des mutations dans EiF2 ceci peut entraîner des pathologies (atteinte du système nerveux : leucoencéphalites)



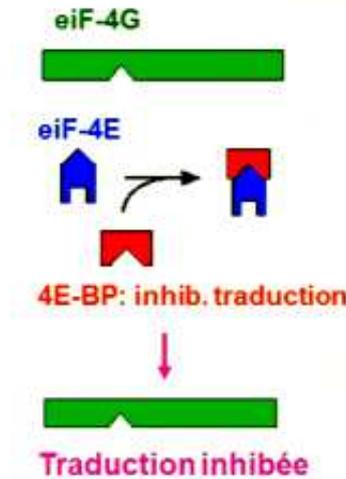
EiF2 : inhibition

EiF4E : activation.

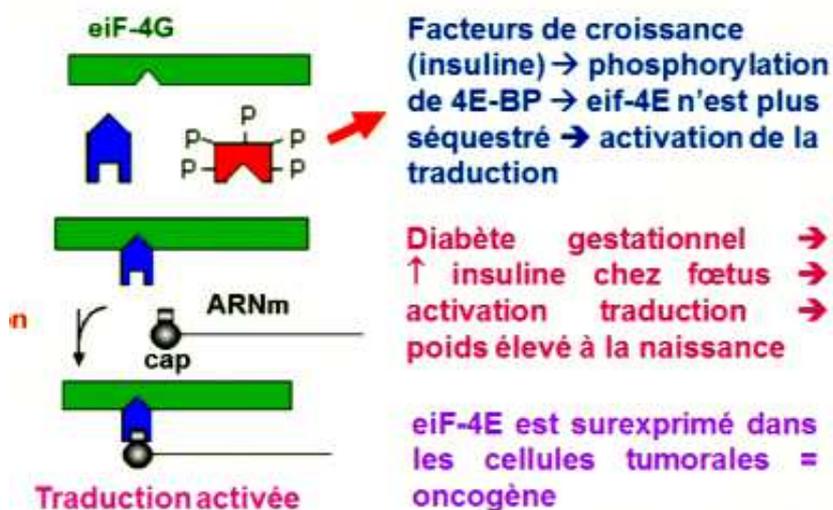
EiF5B recrute la grosse unité ribosomale, on a le ribosome complet : l'élongation peut avoir lieu.

b. La phosphorylation des différents facteurs active la traduction.

Si 4E – BP se fixe à EiF4E, elle empêche la fixation à EiF–4G
→ traduction inhibée.



Si 4EBP est phosphorylée, elle se fixe plus à EiF4E qui peut interagir avec EiF–4G
→ activation de la traduction.



L'insuline phosphoryle la protéine E-BP et active la traduction.

Dans le diabète gestationnel = apparition d'une hyperglycémie chez la femme enceinte, transmise au fœtus qui augmente sa sécrétion d'insuline par réaction d'équilibre des concentrations de glucose. L'insuline entraîne la phosphorylation de 4E–BP → activation de la traduction → Ça fera un gros bébé gras à la naissance.

EiF4E est oncogène (=facilite la prolifération) donc surexprimé dans les cellules tumorales.

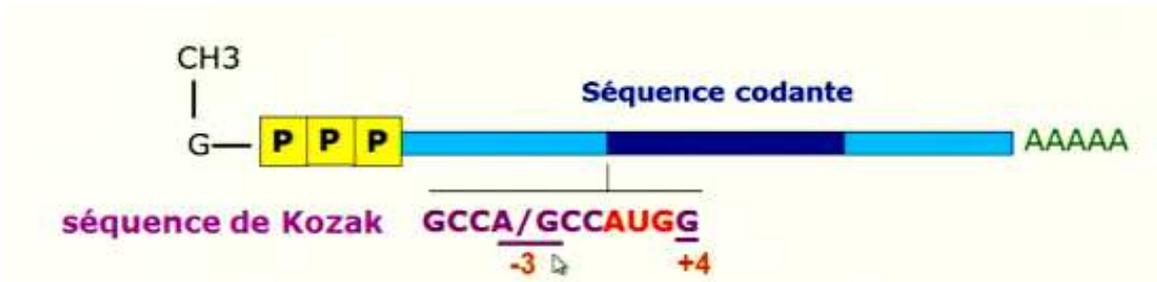
c. Site consensus d'initiation de la traduction.

Chez les eucaryotes 1 ARN → 1 AUG:

AUG doit se trouver dans un contexte nucléotidique favorable.

AUG doit se trouver au sein d'une séquence flanquante dite « de kozak »

- Le nucléotide + 4 (par rapport au A du codon AUG) doit être une **G**
- Le nucléotide - 3 doit être **A ou G**



Chez les procaryotes 1 ARNm → Plusieurs AUG :

Un seul ARNm → plusieurs transcrits → protéines différentes.

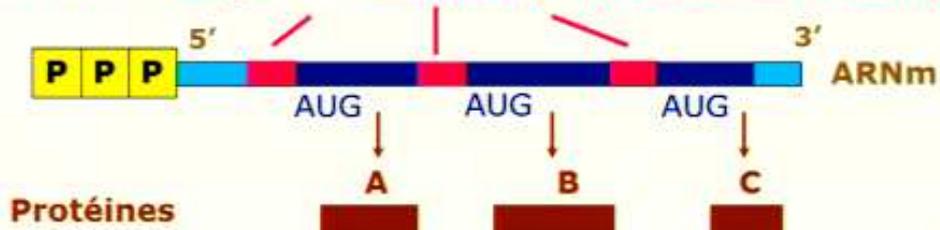
En amont d'AUG, il y a une séquence de shine-Dalgarno

= **AGGAGGU** = **RBS** = **Ribosomal Binding Site**.

Elle recrute le ribosome, en amont du codon AUG

Procaryotes: ARNm polycistronique
1 ARNm → plusieurs AUG

Séquence de Shine-Dalgarno: 5'-AGGAGGU-3' = RBS = ribosome binding site



d. Deux mécanismes pour initier la traduction.

Dépendant de coiffe en 5' :

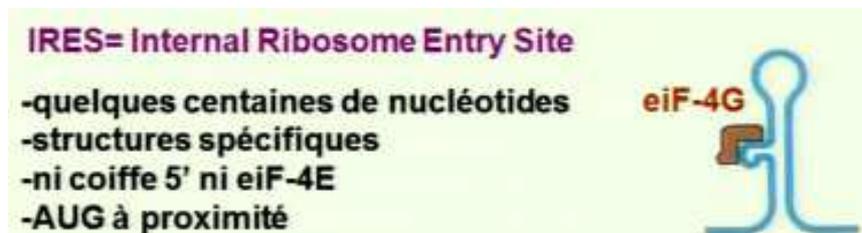
Avec EiF4E

Indépendant de la coiffe en 5' : séquences IRES

On peut avoir une initiation de la traduction à partir de séquences internes, les IRES

→ Internal ribosomal entry sites

Séquences dans le transcrit qui ont en leur sein ou à proximité un codon AUG et qui fixent des facteurs d'initiation, ex : EiF4G



(Mais pas EiF4E. Parce que SA SEULE MISSION c'est reconnaître la coiffe en 5'.)

Rôle dans la mitose :

Dans les cellules eucaryotes, les séquences IRES peuvent jouer un rôle dans la phase M

→ Déphosphorylation de EiF4E. Son affinité pour la coiffe diminue :

→ Diminution de la traduction.

Mais certains transcrits sélectionnés peuvent continuer à être traduits à partir des séquences IRES.

Rôle dans l'apoptose :

clivage EiF4G → baisse de la traduction mais certaines protéines peuvent continuer à être produites car dans ce cas la traduction est déclenchée par d'autres facteurs que EiF4G qui viennent reconnaître la séquence IRES.

Virus :

Certains virus pénètrent dans la cellule et provoquent un clivage de EiF-4G de la cellule hôte.

→ Plus d'initiation de la traduction. Le facteur EiF4G même clivé peut être utilisé par le virus. **Donc il va servir à traduire les protéines du virus.**

→ **initiation de la traduction sur IRES appartenant au virus.**

3) Terminaison de la traduction

Codons stop: **UAG UGA UAA**

Pas reconnus par les ARNt mais par des « release factors » qui miment un ARNt.

Les RF → homologues structurales avec les ARNt, notamment la partie équivalente aux ARNt (qui porte CCA).

Le RF transporte une molécule d'eau.

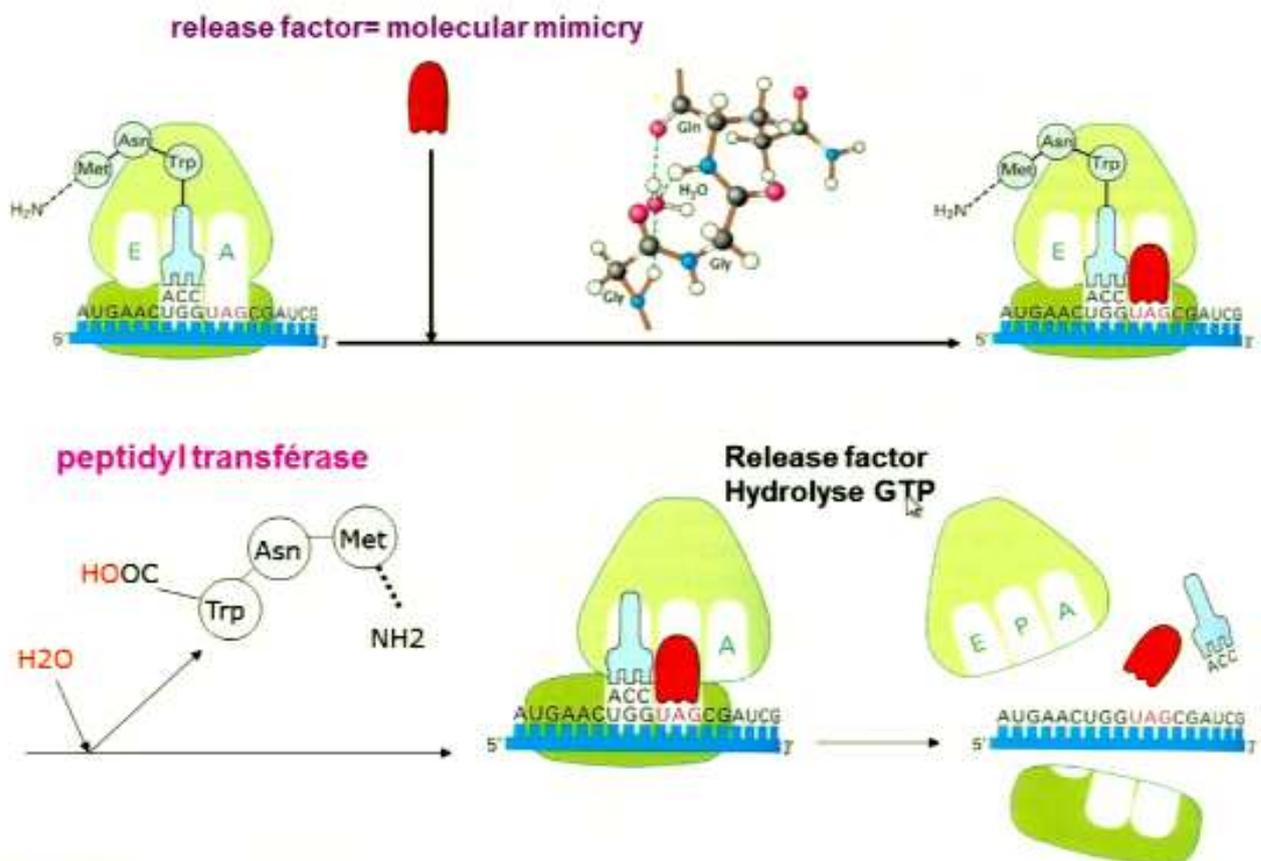
Rôle des RF :

Se fixer sur le codon stop et informer le ribosome qu'il met à sa disposition une molécule d'eau au cas où il en aurait besoin pour rajouter au dernier AA qui se trouve en C-TER et constituer la fonction carboxylique.

L'élongation ne peut plus se faire car il n'est alors plus possible d'établir une liaison peptidique.

Ce n'est pas le RF qui est responsable de l'expulsion du peptide du ribosome mais l'activité **peptidyl-transférase**.

Ensuite, le RF hydrolyse une molécule de GTP → dissociation des 2 sous unités ribosomales.



Alors là on est très en retard donc il nous fait un genre de cartographie résumée du gène, donc c'est super important parce que c'est un des objectifs de l'année.

Il faut savoir où se trouvent les sites d'initiation, où se trouvent la région 5'UTR, 3'UTR
Calculer la taille des exons, etc etc

Un gène c'est une succession exons introns.

On a vu que le site de l'initiation porte le numéro +1. C'est le premier nucléotide du transcrit primaire.

Juste en amont il y a le promoteur minimal qui contient les séquences qui vont indiquer où la transcription doit commencer et qui contient aussi les séquences qui vont avoir un rôle dans le rythme de la traduction.

C'est dans le promoteur minimal qu'on a les boîtes TATA. On peut dire que ces boîtes TATA et leur équivalent constituent le promoteur proprement dit alors que les boîtes CAAT et GC sont le promoteur proximal.

Pour la β globine → boîte CACC mais des régions régulatrices sont en amont et en aval ou dans l'intérieur de la région transcrite et on peut avoir des régions régulatrices distales (enhancer) qui sont à des milliers de pb en amont ou en aval du site d'initiation. Pour les introns il y a les dinucléotides GT et AG.

Signal de polyadénylation : instructions pour le clivage

Point important : le codon ATG est à l'intérieur de l'exon 1 donc une partie de l'exon 1 n'est pas traduite c'est la région 5'UTR

Dans le dernier exon en général il y a un codon stop. Dans certains cas il peut y avoir un codon stop AVANT et donc avoir un exon entier non codant.

