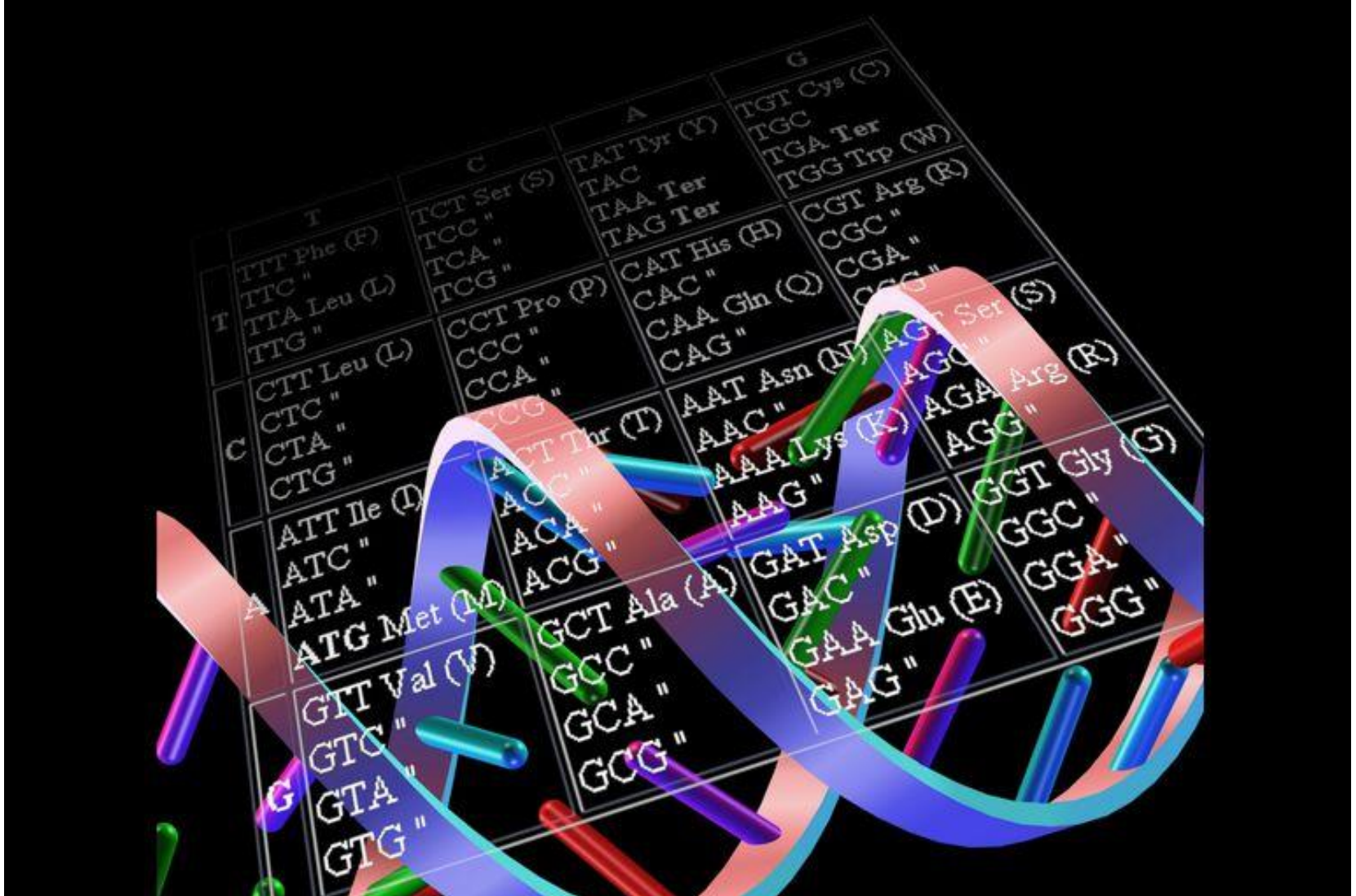


Traduction des messagers



Plan du cours

- Traduction des messagers
 - Généralités
 - Code génétique: signification et propriétés
 - Structure et fonction des adaptateurs moléculaires
 - Etapes de la traduction
 - Modifications post-traductionnelles
 - Mutations et polymorphismes: définition, classification, conséquences.

Synthèse des protéines chez les eucaryotes

- **Dernière étape du flux informationnel**: lecture des ARNm → traduction de l'information → séquences d'acides aminés
- **Participants**
 - ≈ 70 protéines ribosomales
 - > 20 enzymes → liaison + activation des acides aminés libres
 - ≈ 12 facteurs protéiques (initiation, élongation et terminaison)
 - > 40 types d'ARN ribosomiaux et de transfert
 - ≈ 100 enzymes → maturation des polypeptides
- **Vitesse**: 100 acides aminés/seconde (*Escherichia coli*)
- **Réglage fin**: équilibre → synthèse, repliement correct, distribution et dégradation des protéines.

Principe de la traduction

- **Traduction:** ARNm \rightarrow protéines, peptides

- Séquence de nucléotides \rightarrow acides aminés

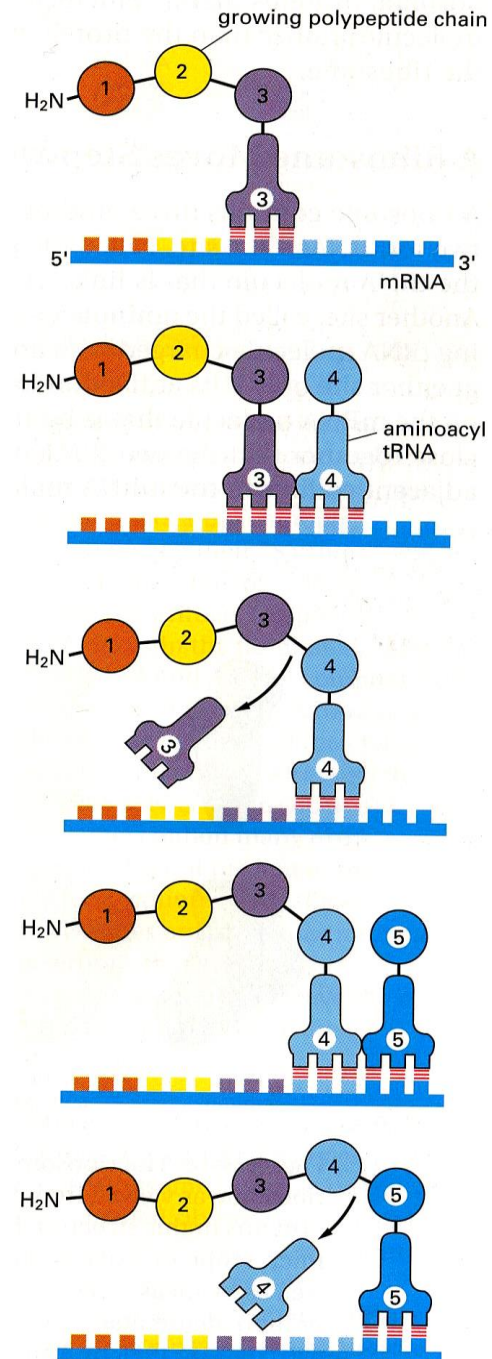
- **2 types d'adaptateurs moléculaires** (F. Crick): correspondance entre les deux séquences

- ARN de transfert (ARNt)

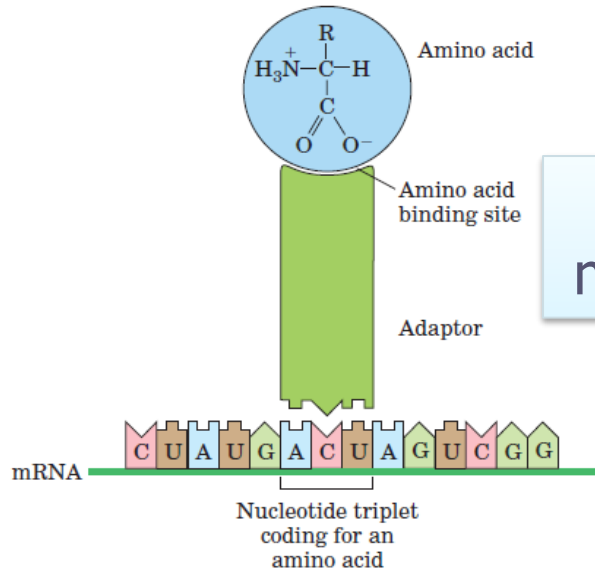
- Aminoacyl-tARN synthétases

- **Localisation:** ribosomes (cytoplasmiques, mitochondriaux)

- **Produit:** polypeptide \rightarrow modifications \rightarrow distribution cellulaire / extracellulaire.

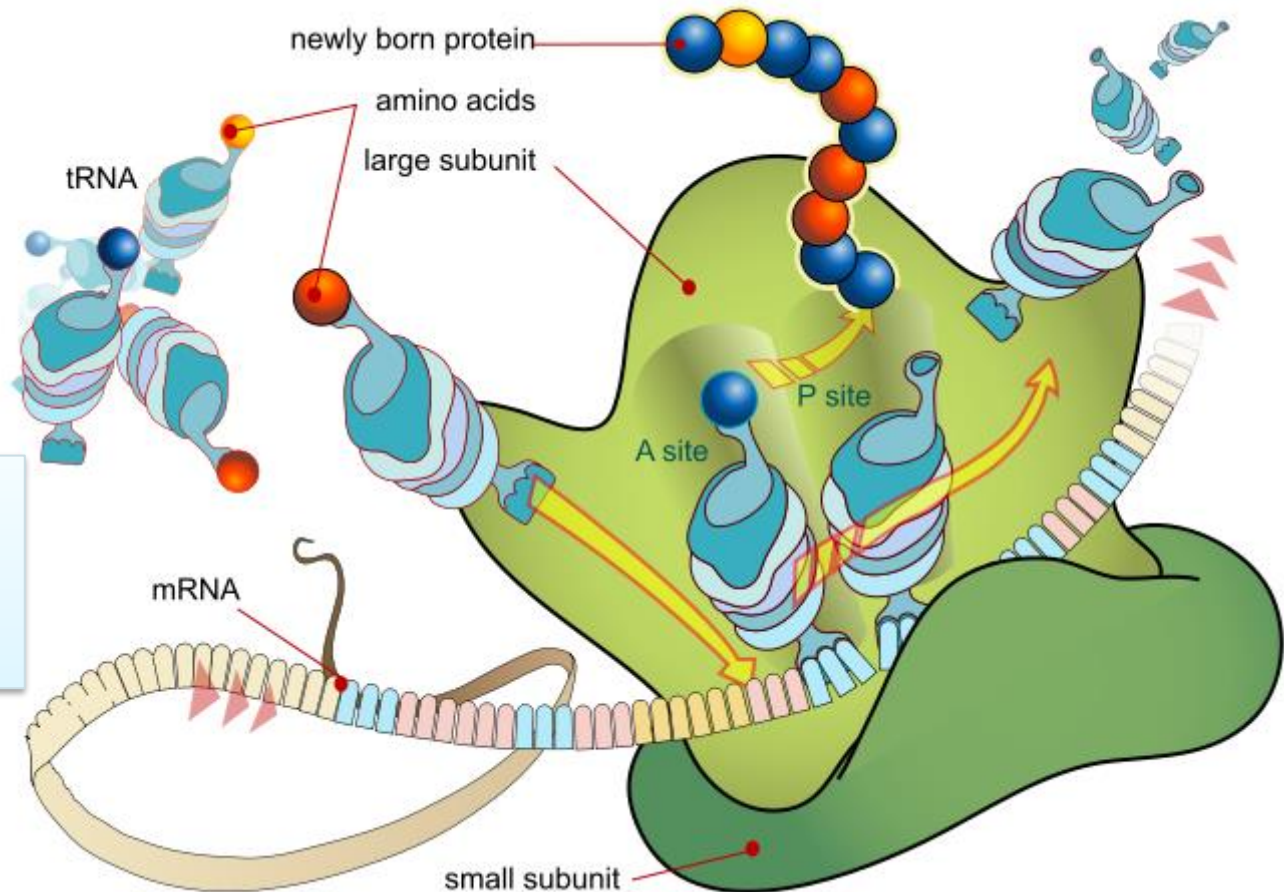


Principe de la traduction



ARNt: adaptateurs entre le messenger et les acides aminés

Aminoacyl-tARN synthétases: couplage acides aminés ↔ ARNt



Code génétique

- **Code génétique**: correspondance nucléotides du messenger (4) ↔ acides aminés standard (20)
- **Combien de nucléotides pour un acide aminé?**
 - 1 nucléotide → 4 combinaisons (< 20)
 - 2 nucléotides → $4^2 = 16$ combinaisons (< 20)
 - 3 nucléotides → $4^3 = 64$ combinaisons (> 20)
 - 4 nucléotides → $4^4 = 256$ combinaisons (» 20)
- **Codon**: série de 3 nucléotides du messenger → 1 acide aminé
 - **Séquence codante**: série de codons, chacun dirige l'insertion d'un acide aminé
 - **Code génétique**: ensemble des 64 codons → 20 acides aminés standard.

le code génétique

| | | Deuxième lettre | | | | | | | | ijk |
|---------------------------|---|--------------------|-----|-----|-----|----------------------|------|-----|------|-----|
| | | U | | C | | A | | G | | |
| Première lettre (côté 5') | U | UUU | Phe | UCU | Ser | UAU | Tyr | UGU | Cys | U |
| | | UUC | Phe | UCC | Ser | UAC | Tyr | UGC | Cys | C |
| | | UUA | Leu | UCA | Ser | UAA | Stop | UGA | Stop | A |
| | | UUG | Leu | UCG | Ser | UAG | Stop | UGG | Trp | G |
| | C | CUU | Leu | CCU | Pro | CAU | His | CGU | Arg | U |
| | | CUC | Leu | CCC | Pro | CAC | His | CGC | Arg | C |
| | | CUA | Leu | CCA | Pro | CAA | Gln | CGA | Arg | A |
| | | CUG | Leu | CCG | Pro | CAG | Gln | CGG | Arg | G |
| | A | AUU | Ile | ACU | Thr | AAU | Asn | AGU | Ser | U |
| | | AUC | Ile | ACC | Thr | AAC | Asn | AGC | Ser | C |
| | | AUA | Ile | ACA | Thr | AAA | Lys | AGA | Arg | A |
| | | AUG | Met | ACG | Thr | AAG | Lys | AGG | Arg | G |
| | G | GUU | Val | GCU | Ala | GAU | Asp | GGU | Gly | U |
| | | GUC | Val | GCC | Ala | GAC | Asp | GGC | Gly | C |
| | | GUA | Val | GCA | Ala | GAA | Glu | GGA | Gly | A |
| | | GUG | Val | GCG | Ala | GAG | Glu | GGG | Gly | G |
| | | codon d'initiation | | | | codon de terminaison | | | | |

Troisième lettre (côté 3')

Propriétés du code génétique

- **Structure**

- Codon d'initiation: premier AUG (5' de l'ARNm) → début de la séquence codante; codons AUG suivants → MET
- 3 codons STOP: UAA, UGA, UAG → fin de la séquence codante
- 61 codons sens → 20 acides aminés standard

- **Dégénérescence**: 61 codons/20 acides aminés → 2-6 codons synonymes/acide aminé (différents par le 3^{ème} nucléotide)

- **Spécificité**: 1 codon → un seul acide aminé

- **Universalité**: < 3-4 variations (bactéries, mitochondries) → ancêtre commun de tous les organismes actuels

- **Non-superposable**: chaque nucléotide est lu une seule fois.

Dégénérescence du code génétique

Deuxième nucléotide du codon

U C A G

Premier nucléotide du codon

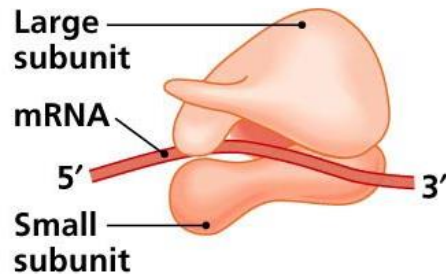
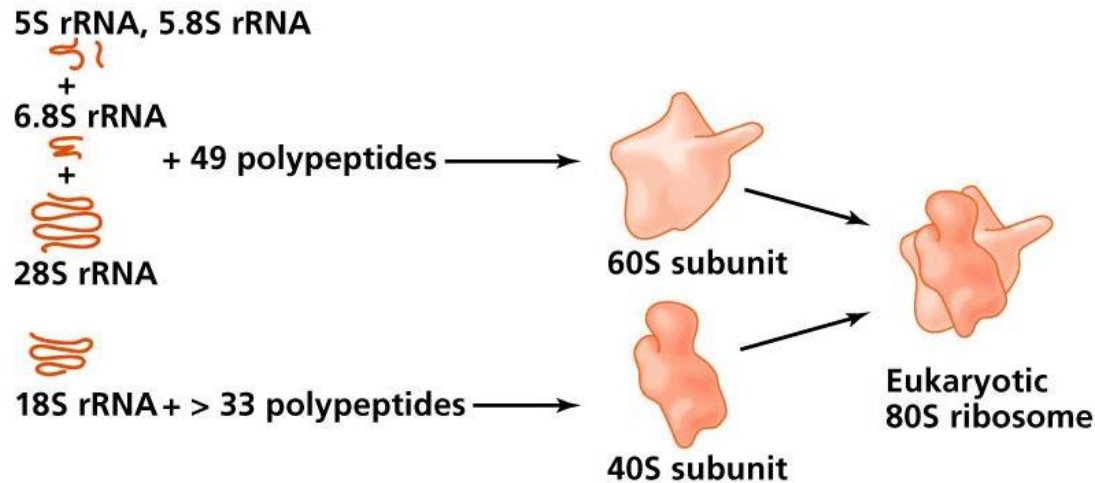
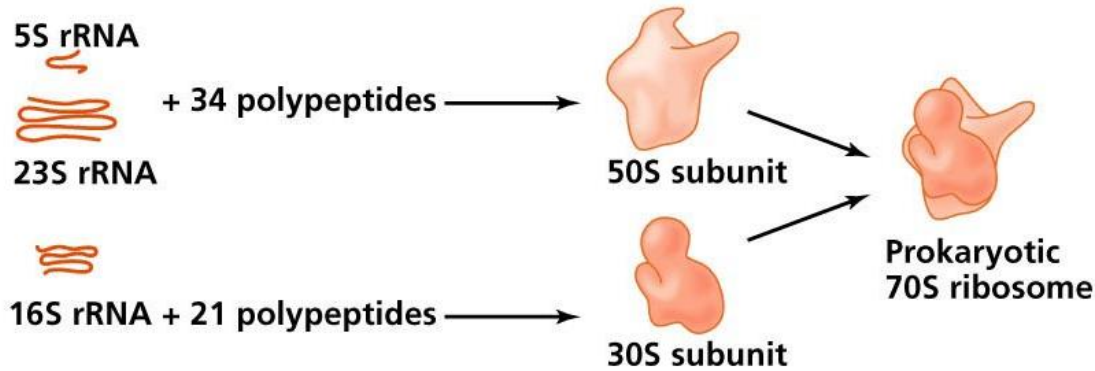
| | U | C | A | G | |
|---|--|--|--|---|------------------|
| U | UUU Phe UUC Phe UUA Leu UUG Leu | UCU Ser UCC Ser UCA Ser UCG Ser | UAU Tyr UAC Tyr UAA stop UAG stop | UGU Cys UGC Cys UGA stop UGG Trp | U C A G |
| C | CUU Leu CUC Leu CUA Leu CUG Leu | CCU Pro CCC Pro CCA Pro CCG Pro | CAU His CAC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

Troisième nucléotide du codon

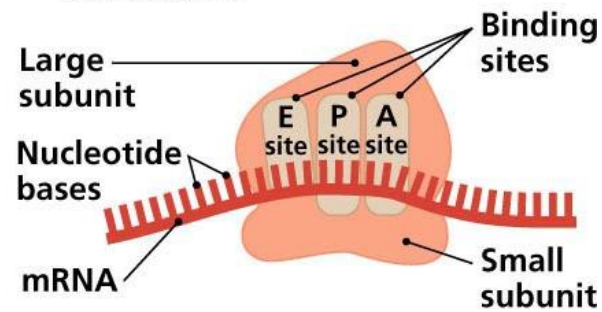
Ribosomes

- **Ensembles supramoléculaires:** synthèse des protéines
- **Ribosomes cytoplasmiques eucaryotiques:** complexes multienzymatiques (82 types de protéines + 5 types d'ARN)
 - 2 sous-unités (grande et petite), facilement dissociables
- **Sites de liaison**
 - ARNm → tunnel entre les 2 sous-unités
 - ARNt chargés → site A
 - ARNt attaché au peptide → site P
 - Sortie des ARNt libres → site E
 - Synthèse des liaisons peptidiques → site catalytique
 - Cofacteurs de la traduction (initiation, élongation, terminaison)
- **Polyribosome:** ARNm + plusieurs ribosomes ($\approx 1/100$ nucléotides)
 - Déplacement des ribosomes: $5' \rightarrow 3'$; synthèse du peptide: $\text{NH}_2 \rightarrow \text{COOH}$.

Structure des ribosomes



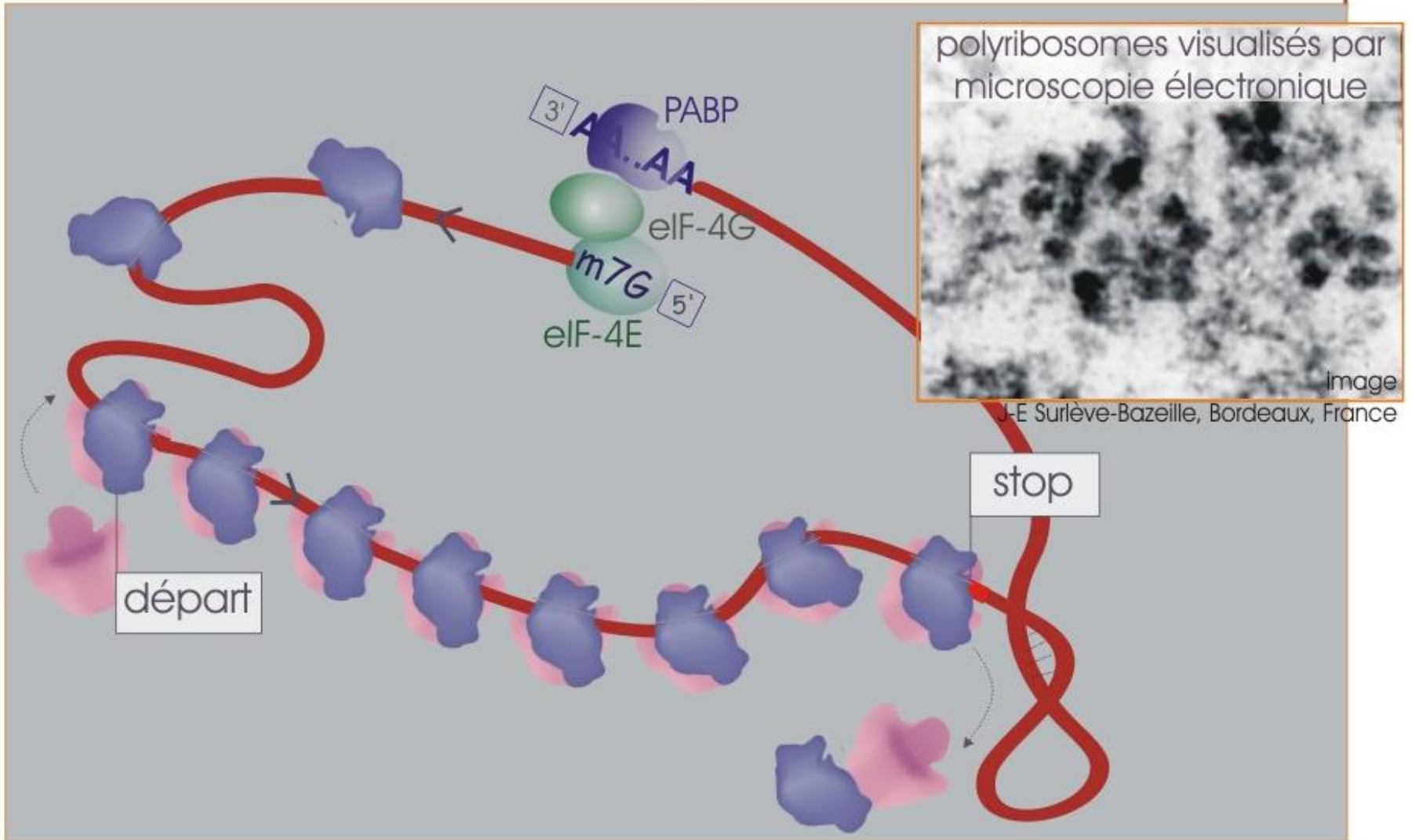
Prokaryotic ribosome (angled view) attached to mRNA



Prokaryotic ribosome (schematic view) showing tRNA binding sites

Polyribosomes

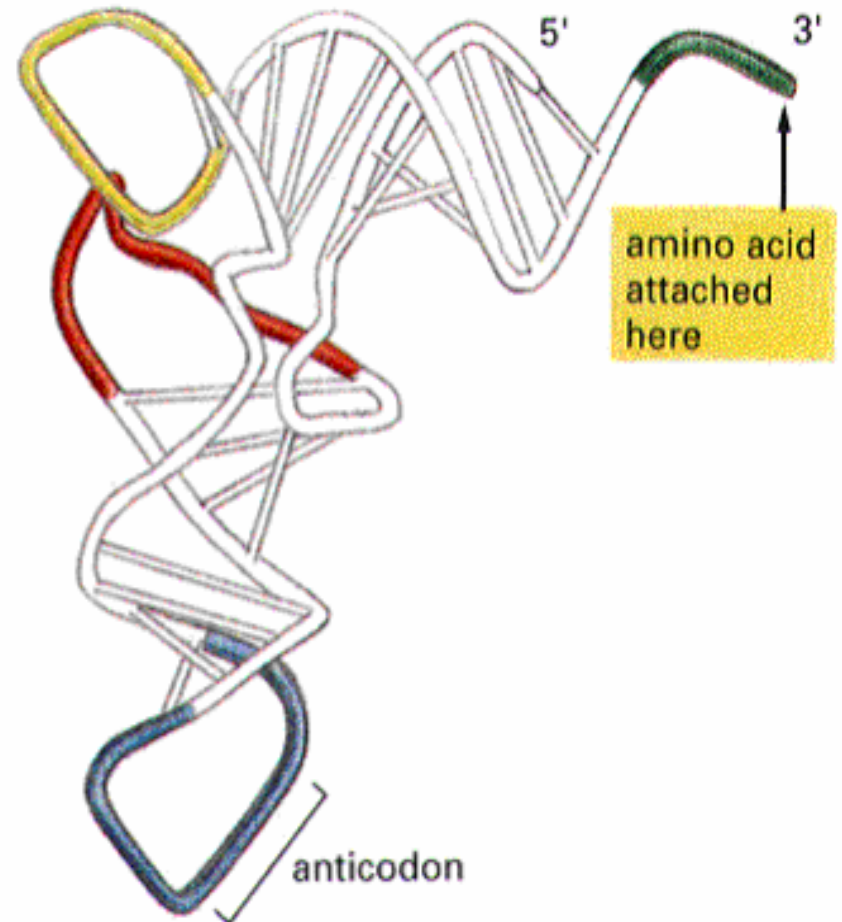
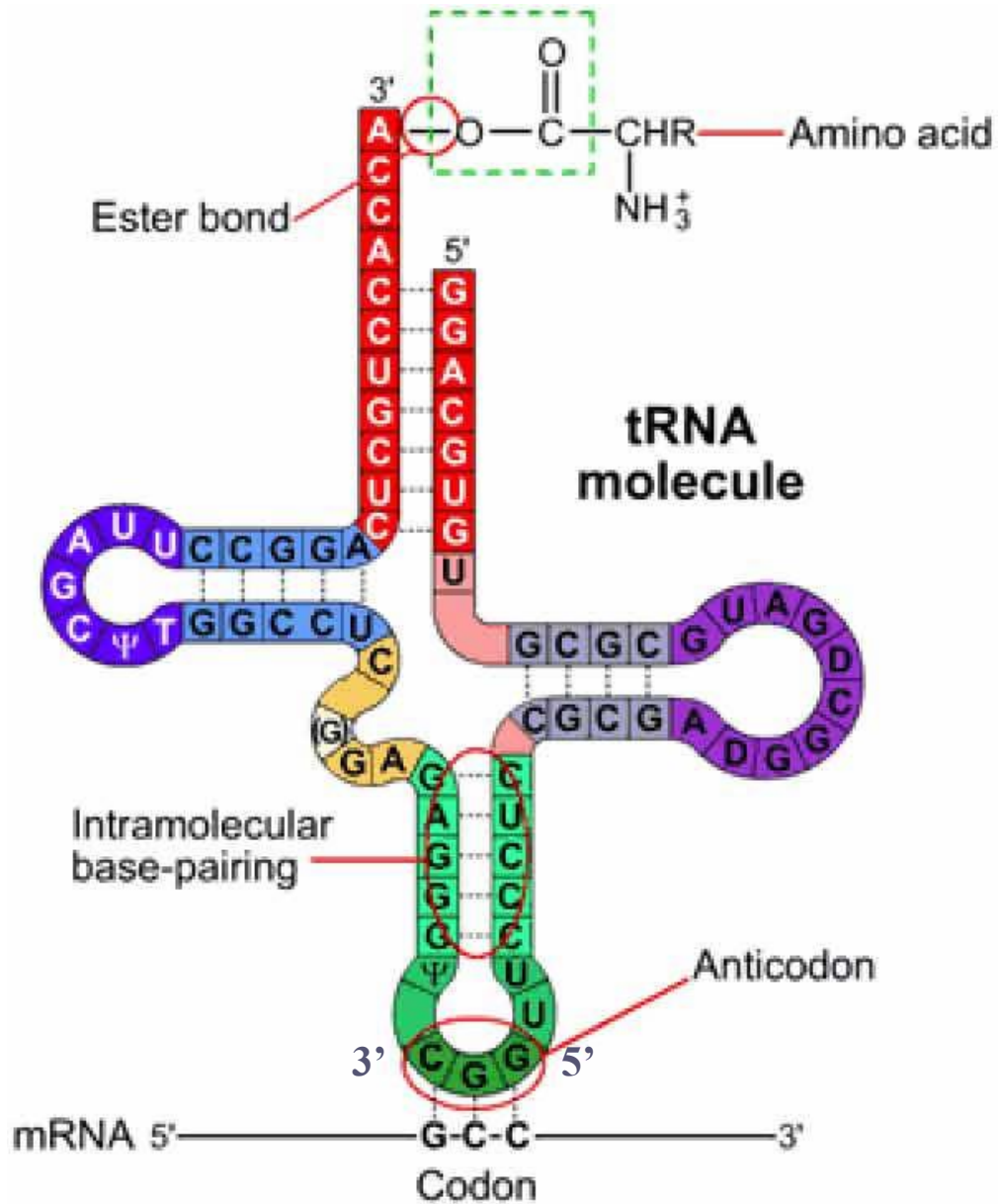
le polyribosome: ARNm parcouru simultanément par plusieurs ribosomes



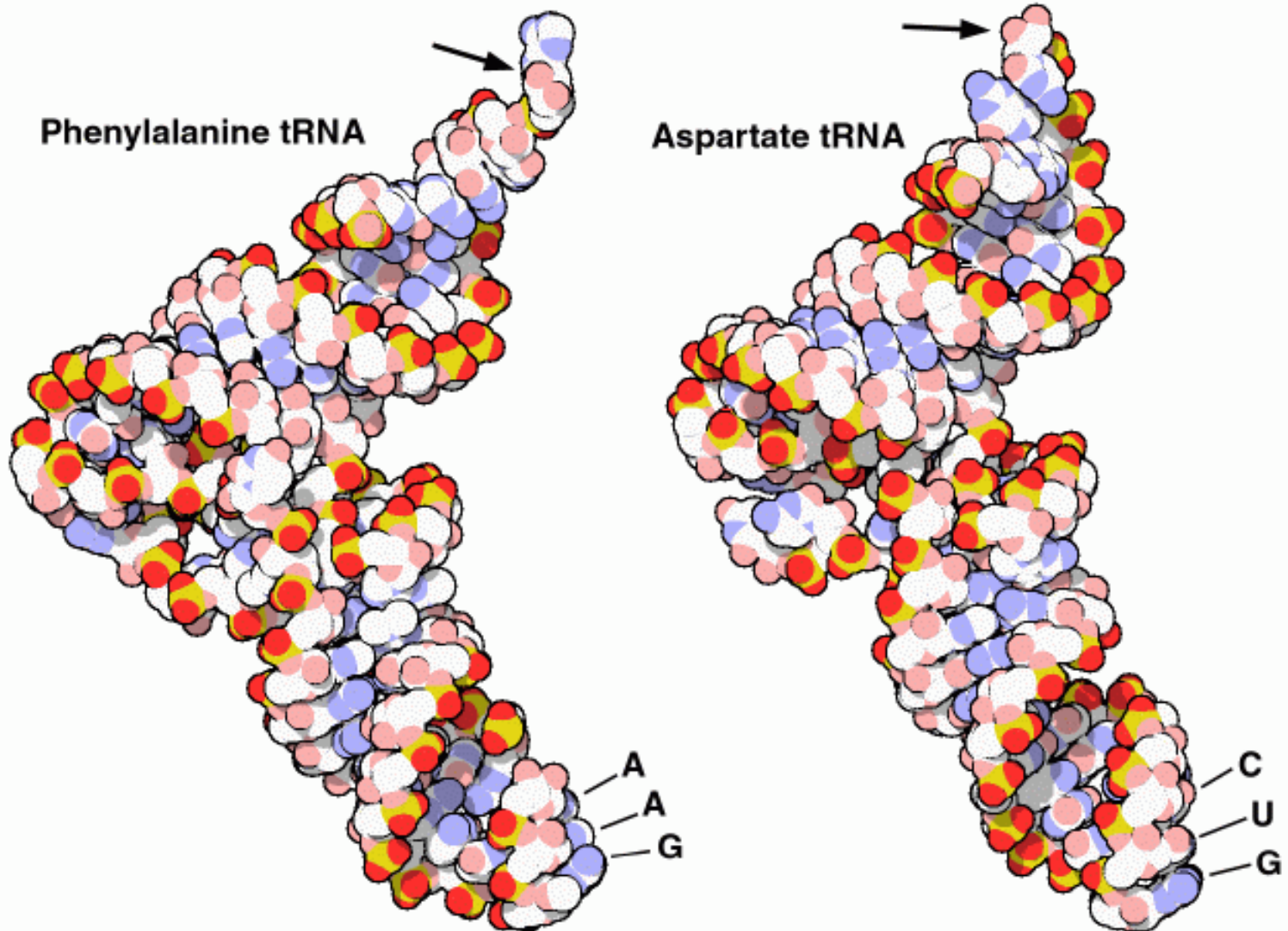
ARN de transfert

- Lien chimique entre le codon et l'acide aminé qu'il détermine
 - Les acides aminés ne peuvent pas reconnaître spécifiquement les nucléotides
- Reconnaissance des codons sens: \approx 50 ARNt / 20 acides aminés \rightarrow ARNt synonymes (liaison, transport du même acide aminé)
- Structure: \approx feuille de trèfle \rightarrow branches (appariements intramoléculaires) + boucles (segments non-appariés)
 - Site de liaison de l'acide aminé: adénosine en 3' \rightarrow ARNt chargé
 - Branche T ψ C (ribothymidine, pseudouridine)
 - Branche D (dihydrouridine)
 - Branche + boucle de l'anticodon: 3 nucléotides \rightarrow anticodon
 - Anticodon: complémentaire, antiparallèle au codon de l'acide aminé lié en 3'
- Hybridation codon-anticodon: inclusion correcte des acides aminés.

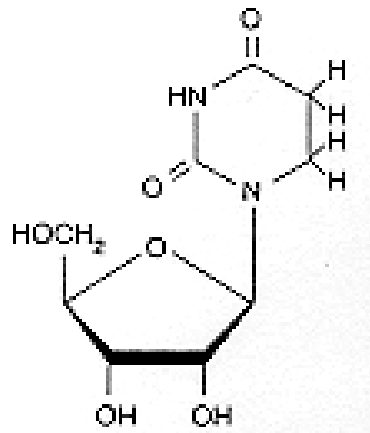
Structure des ARN de transfert



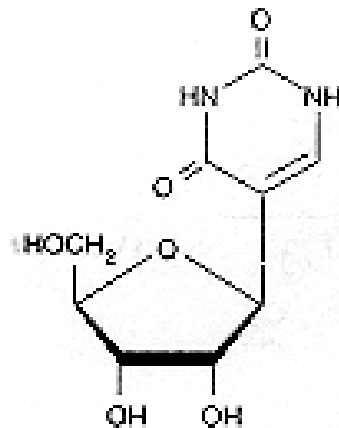
Structure tertiaire



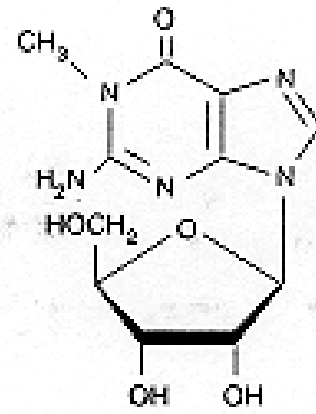
Nucléosides modifiés dans les ARN



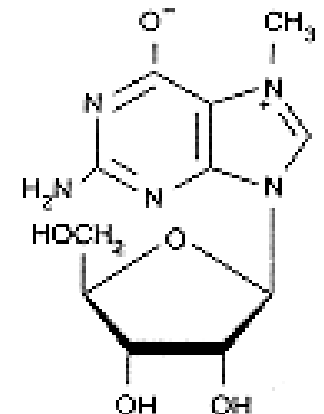
Dihydrouridine



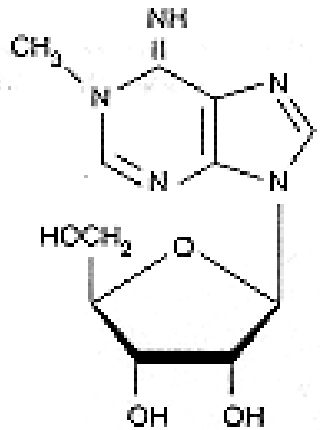
Pseudouridine



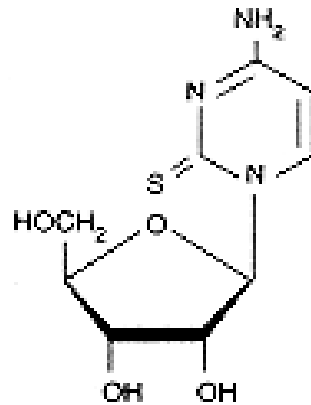
1-méthylguanosine



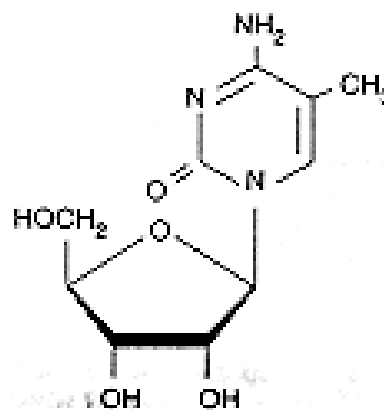
7-méthylguanosine



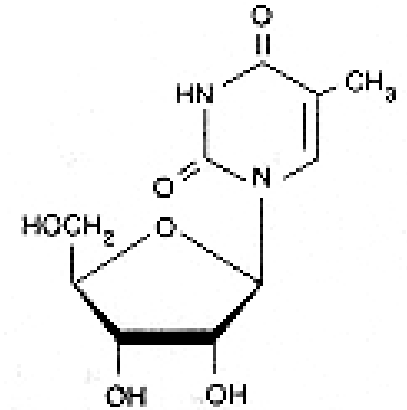
1-méthyladenosine



2-thiocytidine



5-méthylcytidine

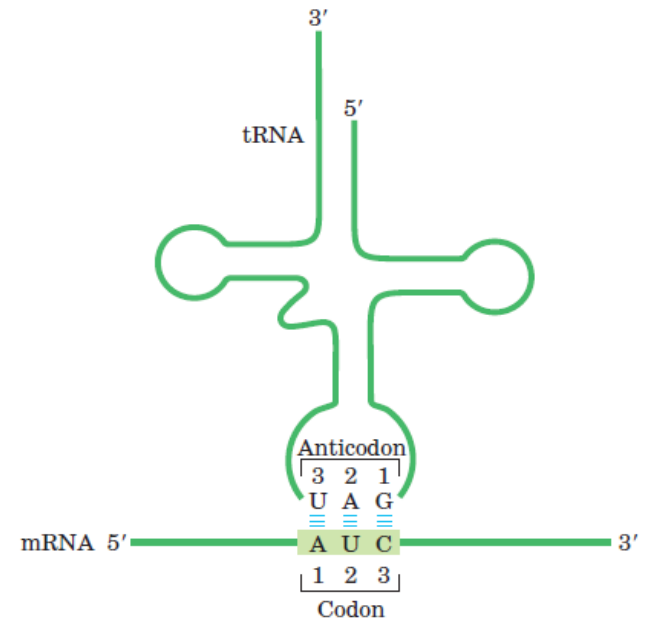


Ribothymidine

Interaction codon-anticodon

- **Dégénérescence du code génétique** (3^{ème} place du codon) → appariements non-standard codon-anticodon
- **Interactions flexibles**: nucléotide-3' (codon) ↔ nucléotide-5' (anticodon)

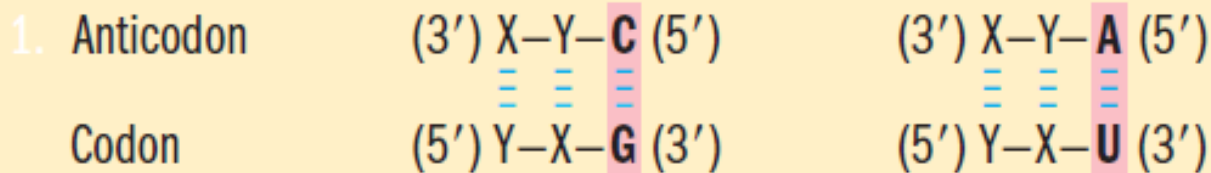
- C ≡ G, C = I (hypoxanthine + ribose)
- A = U, I
- G ≡ C, G = U
- U = A, G, I
- I = U, C, A



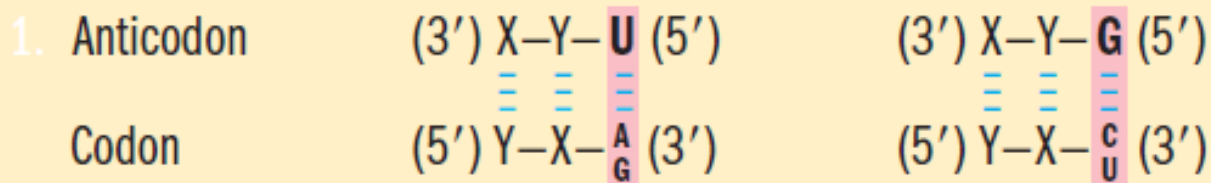
- **Conséquence**: reconnaissance de plusieurs codons synonymes par un même ARNt chargé (≈ 50 ARNt pour 61 codons sens)
 - Exemple: même ARNt^{Leu} reconnaît 2, parmi les 6 codons synonymes de la LEU.

Interactions « flexibles » codon-anticodon

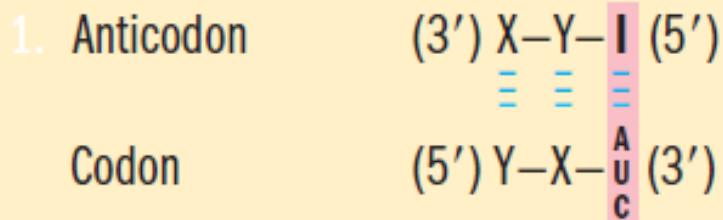
1. Un seul codon reconnu



2. Deux codons reconnus



3. Trois codons reconnus

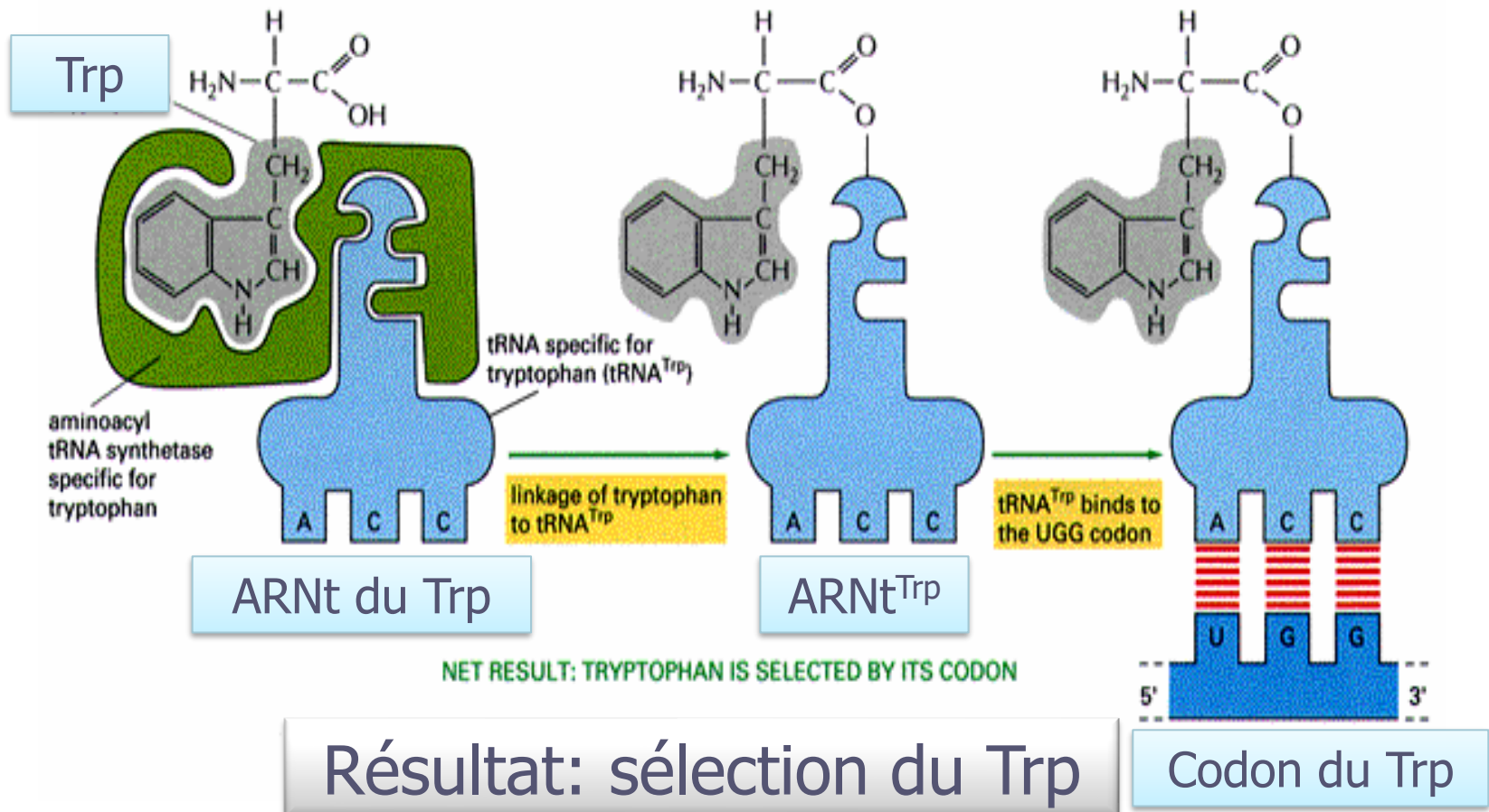


Conséquence: accélération de la vitesse de lecture du messenger par les ARNt chargés, sans affecter la fidélité de la traduction

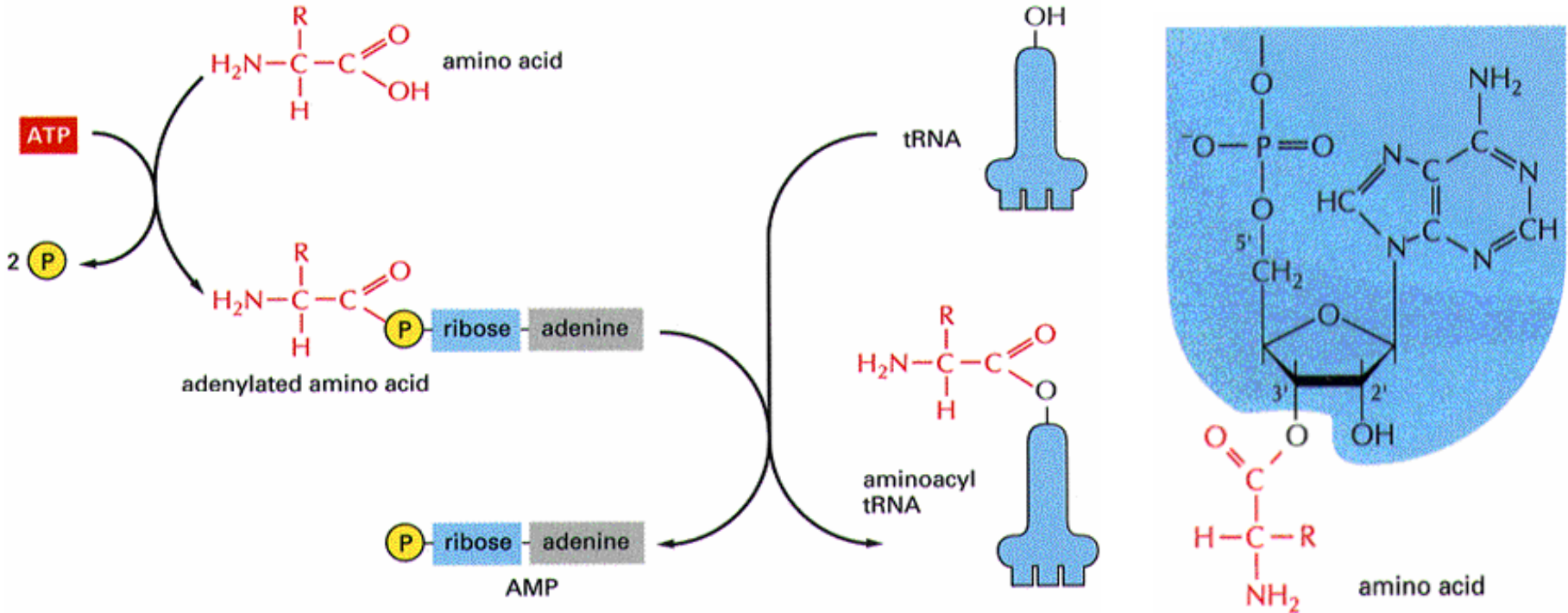
Aminoacyl-tARN-synthétases

- **Réaction:** acides aminés libres + ARNt \rightarrow ARNt chargés
- **Substrats**
 - Acide aminé: correspondant à l'anticodon
 - ARNt: transporteur de l'acide aminé, anticodon complémentaire au codon de l'acide aminé
- **Double spécificité:** acide aminé + ARNt
 - Exactitude de la traduction entièrement dépendante de cette double spécificité (« connaissance » du code génétique)
- **Energie:** ATP \rightarrow AMP + PP_i
- **Reconnaissance de l'ARNt:** anticodon et/ou séquences communes aux ARNt synonymes
- **Liaison acide aminé \leftrightarrow ARNt:** ester, riche en énergie (utilisable au cours de la traduction).

Action des aminoacyl-tARN-synthétases



Synthèse des aminoacyl-tARN



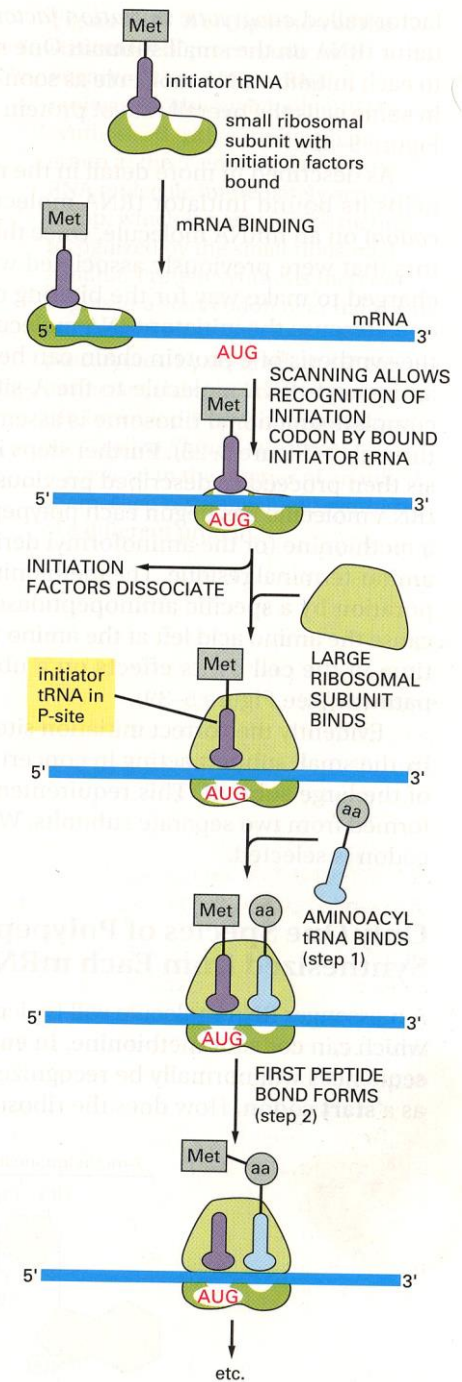
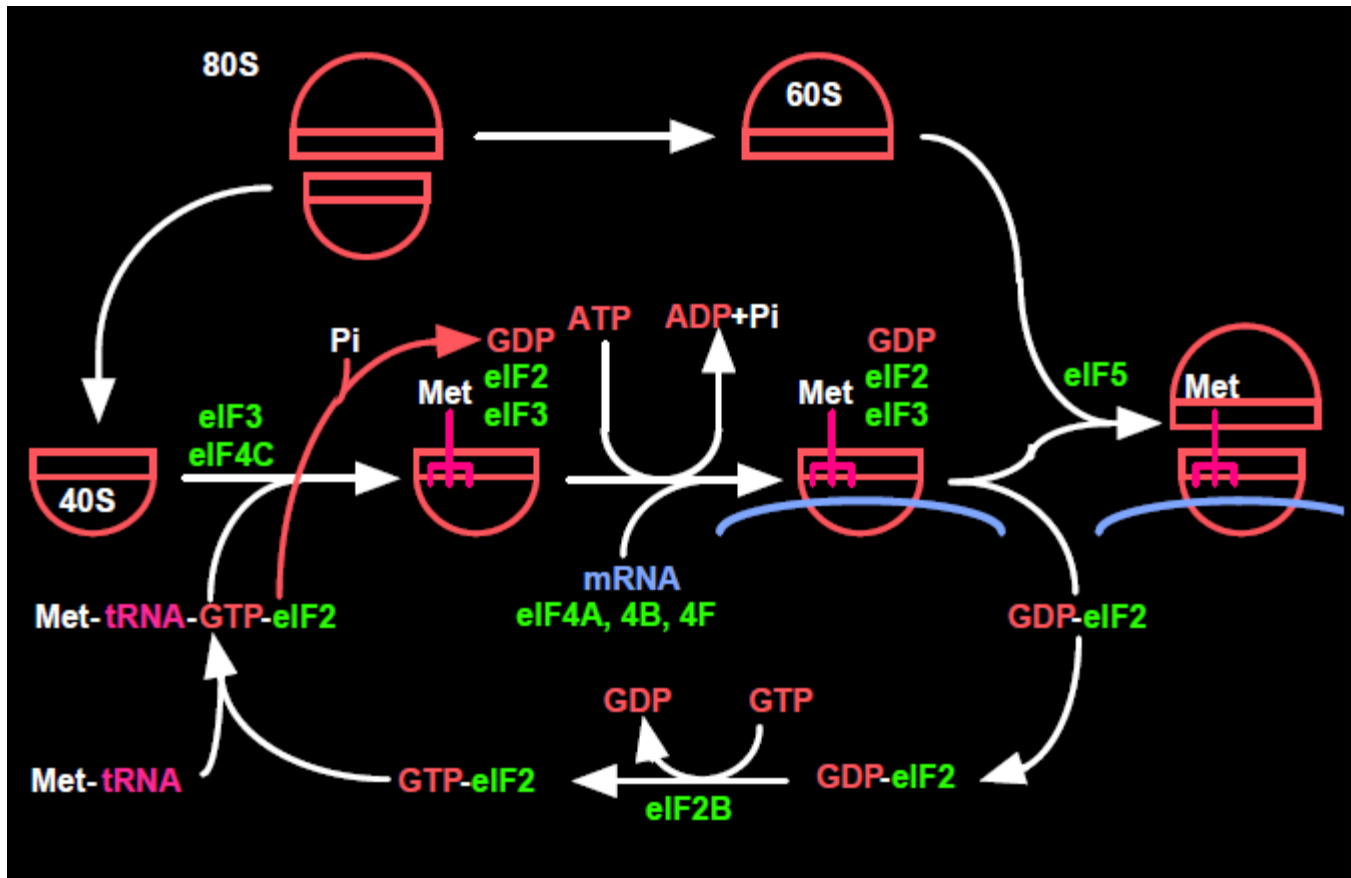
- **Couplage d'un acide aminé sur l'ARNt**

- **Activation de l'acide aminé:** $\text{ATP} \rightarrow \text{AMP} + \text{PP}_i$; $\text{AMP} + \text{groupe COOH} \rightarrow \text{acide aminé adénylé}$
- **Couplage de l'acide aminé:** $\text{OH}-\text{C}_{3'}$ (adénosine terminale).

Initiation de la traduction

- Etape la plus lente
- **Sous-unités ribosomales initialement dissociées**: assemblage du complexe d'initiation
 - Facteur eIF2/GDP inactif → eIF2/GTP actif (facteur eIF2B) → liaison de l'ARNt^{Met} initiateur (anticodon complémentaire à l'AUG d'initiation)
 - Hydrolyse du GTP: la petite sous-unité fixe l'ARNt^{Met} initiateur
 - Facteurs spécifiques: reconnaissance de la séquence 5' non-traduite du messenger
 - Hydrolyse ATP: liaison du messenger → hybridation (site P) entre l'AUG d'initiation et l'anticodon de l'ARNt^{Met} initiateur
 - Libération du facteur eIF2/GDP + autres facteurs d'initiation → nouveau cycle
- **Liaison de la grande sous-unité** → ribosome fonctionnel → début de la traduction.

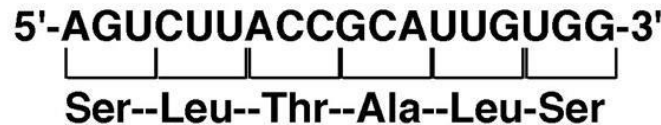
Initiation de la traduction



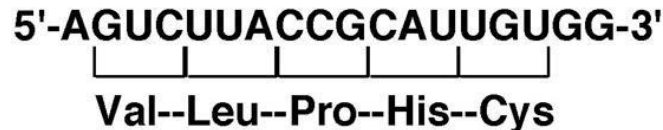
Cadre de lecture

- **Lecture de la séquence du messenger:** séries de 3 nucléotides (codons)
- **Cadre de lecture:** place d'un nucléotide du messenger dans le codon, au cours de la traduction (1^{ère}, 2^{ème}, 3^{ème} place)
 - Chaque séquence: 3 cadres de lecture possibles
- **Choix du cadre de lecture:** emplacement du messenger sur le ribosome → reconnaissance de l'AUG d'initiation.

Reading frame #1



Reading frame #2

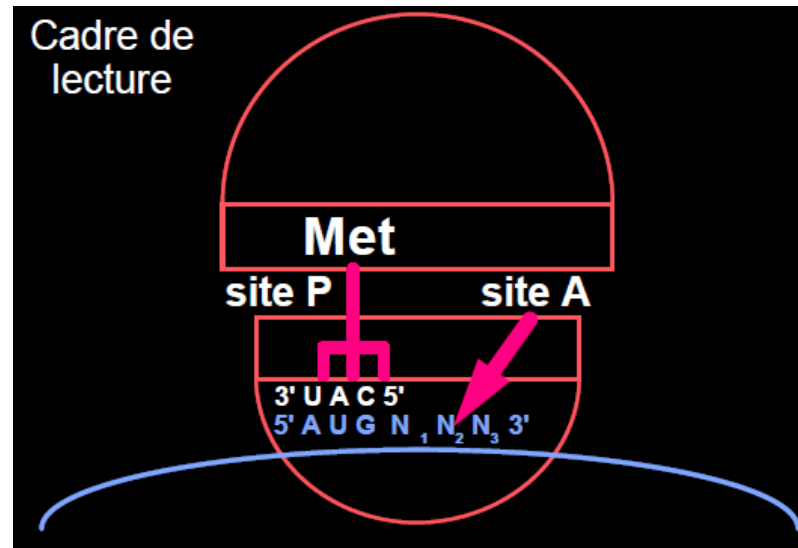


Reading frame #3



Choix du cadre de lecture

- **Eucaryotes**: le ribosome reconnaît la coiffe et parcourt l'ARNm (5' → 3') → AUG d'initiation
 - **Site P**: hybridation AUG d'initiation ↔ anticodon de ARNt^{Met} initiateur → choix du cadre de lecture → lecture correcte du messenger
 - **Site A**: codon suivant → liaison du nouvel ARNt chargé.



5' coiffe du messenger

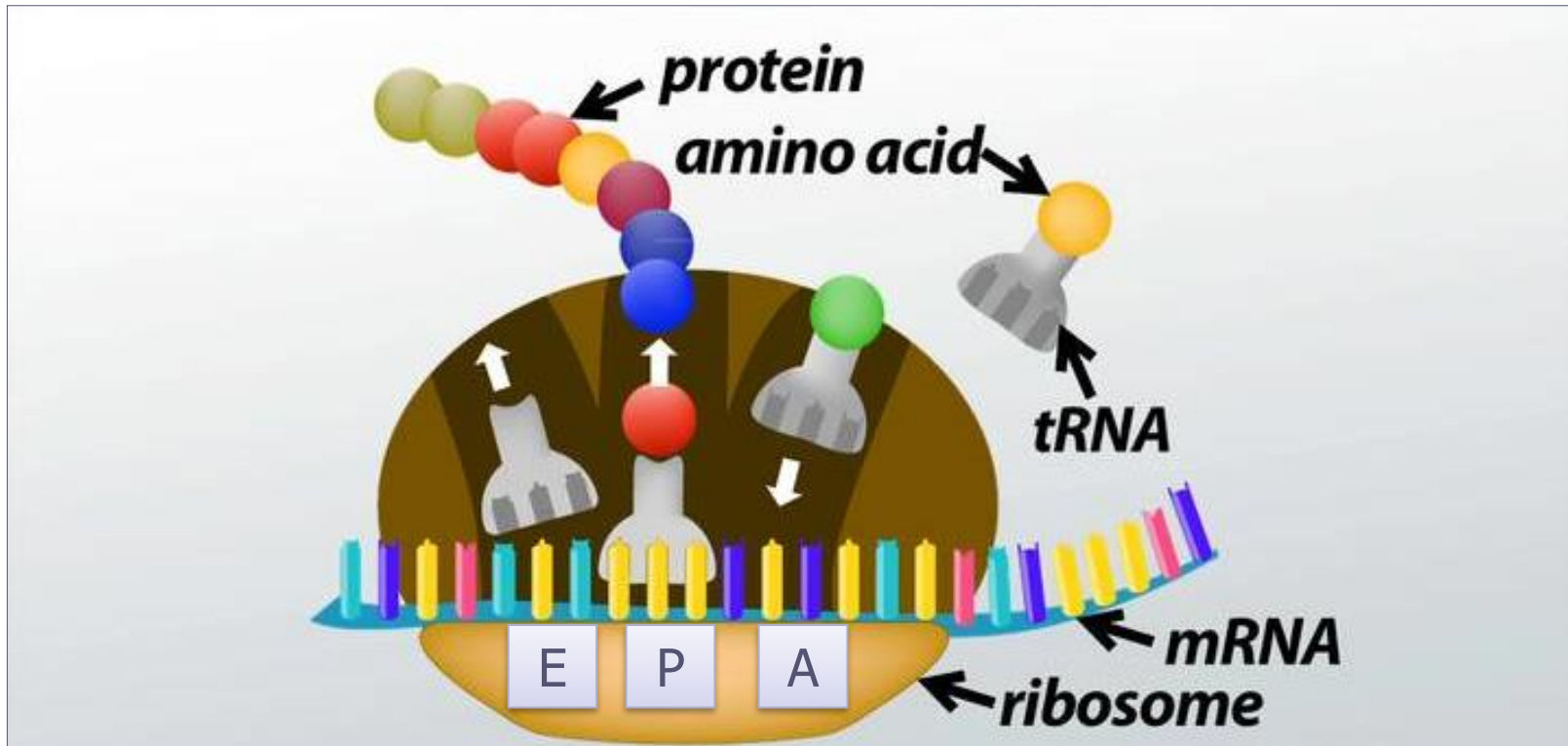
AUG

AUG

Codon interne → MET

Codon d'initiation: premier AUG après la coiffe en 5'

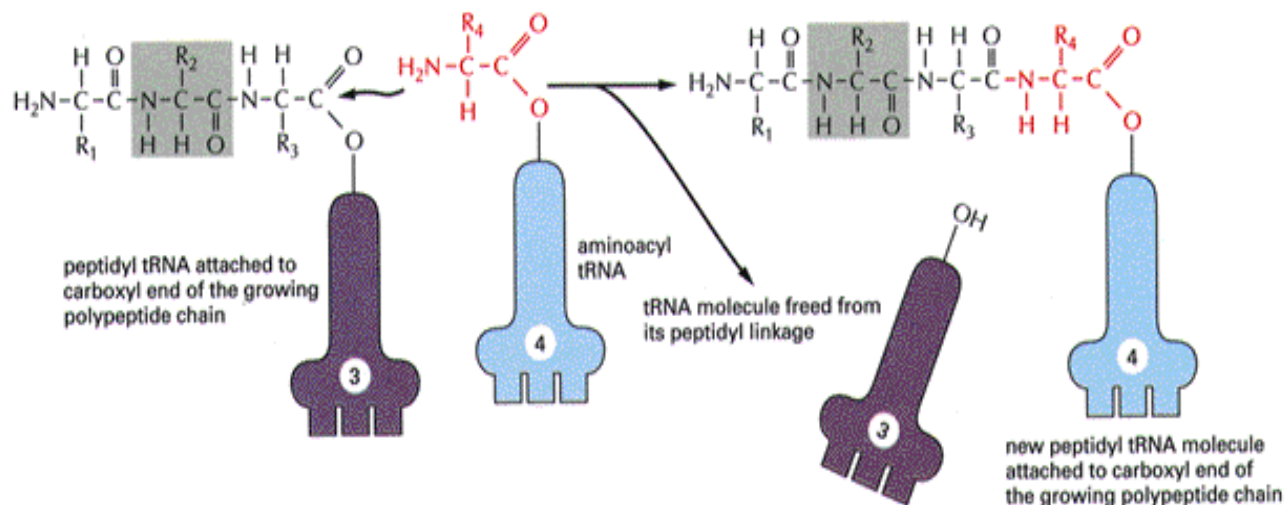
Élongation de la traduction



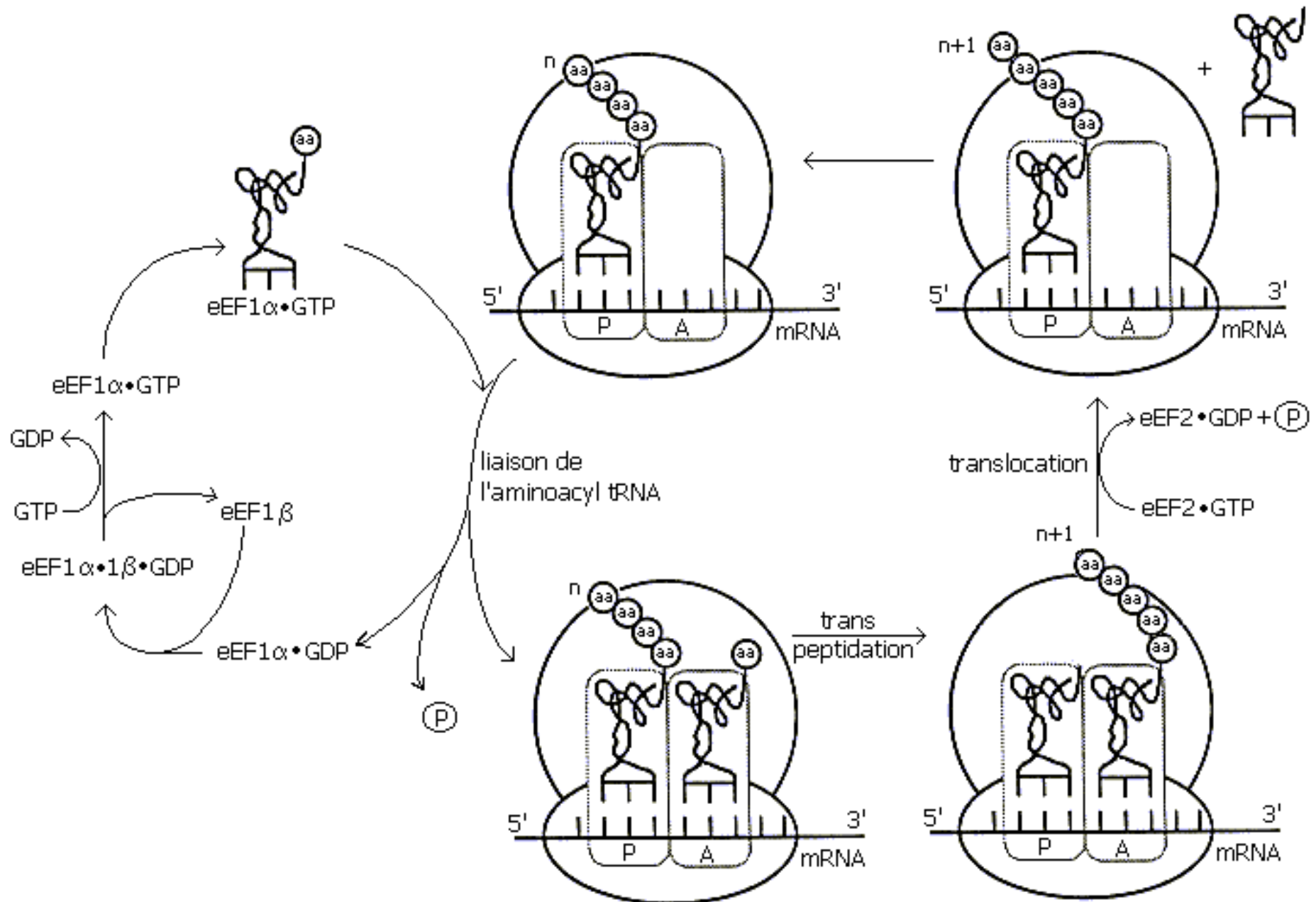
→
Déplacement du ribosome

Élongation

- Cycle de réactions identiques pour chaque acide aminé
 - **Liaison de l'ARNt chargé sur le site A:** hydrolyse du GTP (facteur eEF1 α)
 - **Insertion de l'acide aminé:** complémentarité codon \leftrightarrow anticodon (site A)
 - **Peptidyl-transférase (ribozyme):** transfert du peptide (lié à l'ARNt du site P) sur le groupe NH₂ du nouvel acide aminé \rightarrow nouvelle liaison peptidique (recueil de l'énergie de la liaison ester peptide \leftrightarrow ARNt)
 - **Translocation du messenger:** hydrolyse du GTP (facteur eEF2) \rightarrow déplacement du ribosome \rightarrow transfert de l'ARNt lié au peptide du site A \rightarrow site P
 - **Site E:** sortie de ARNt libre.

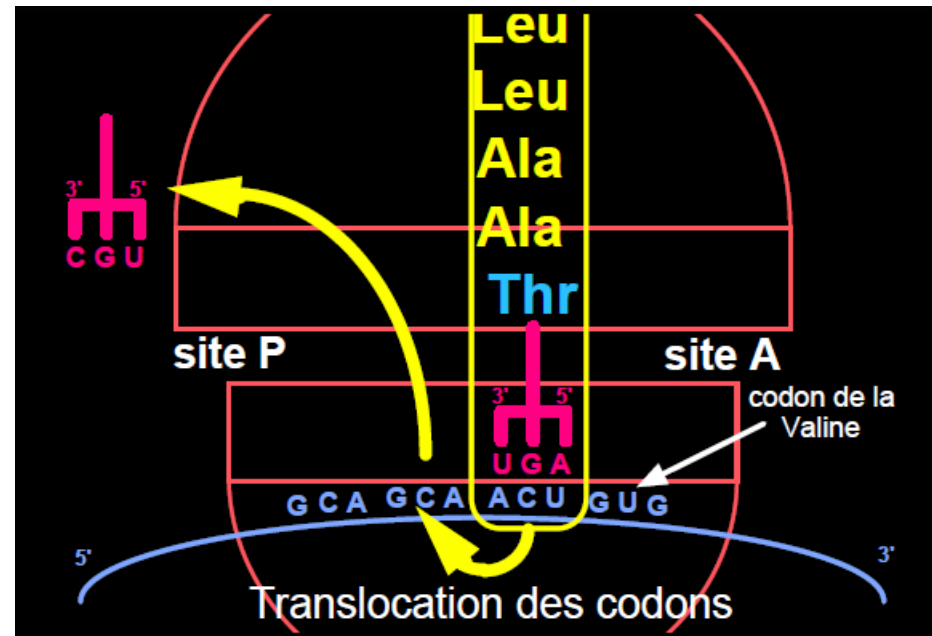
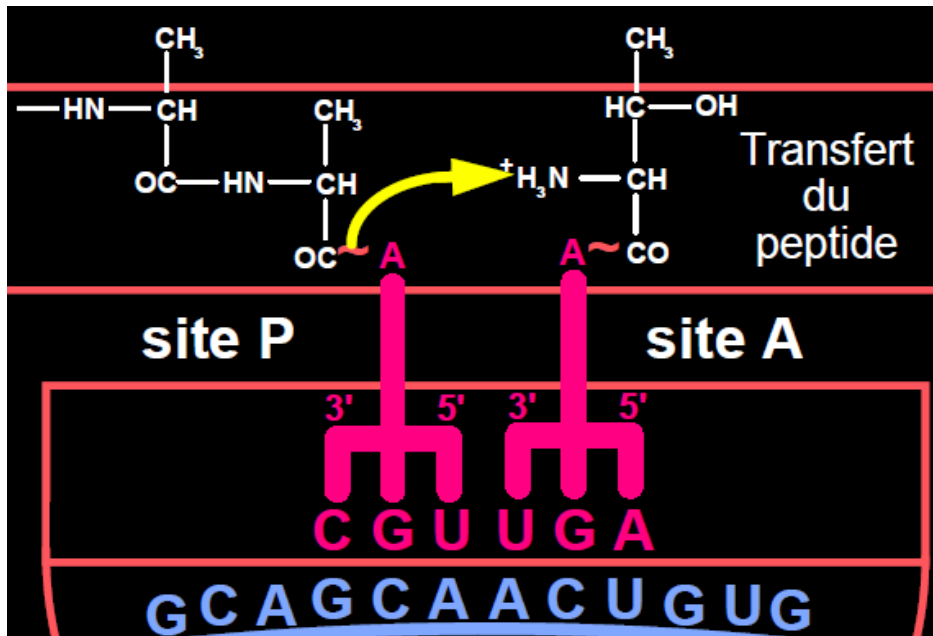


Étapes de l'élongation



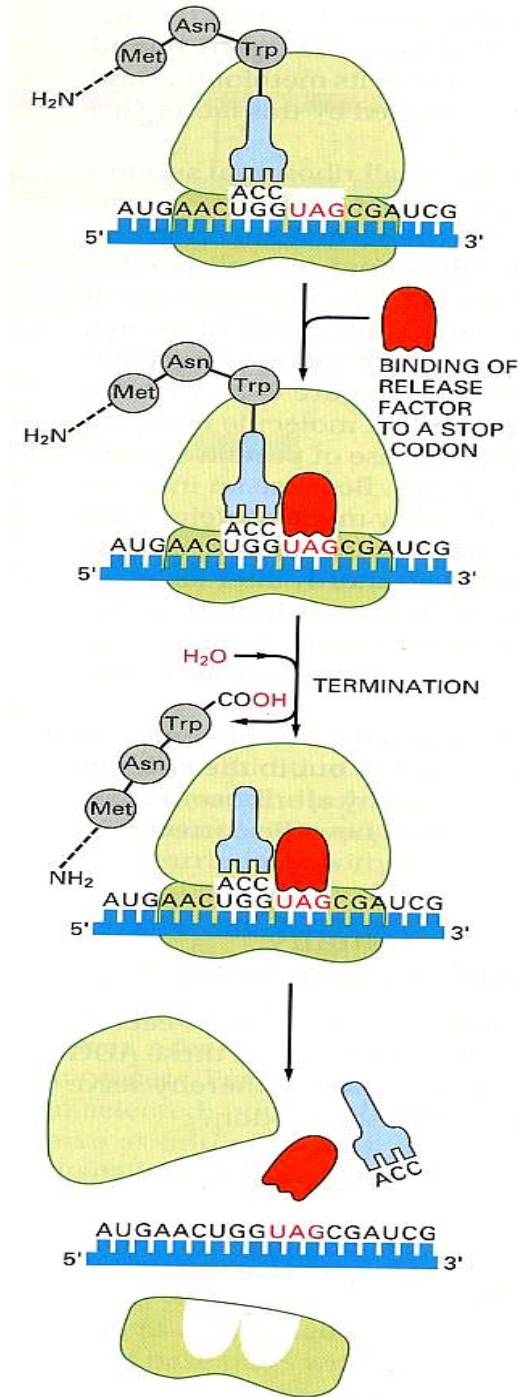
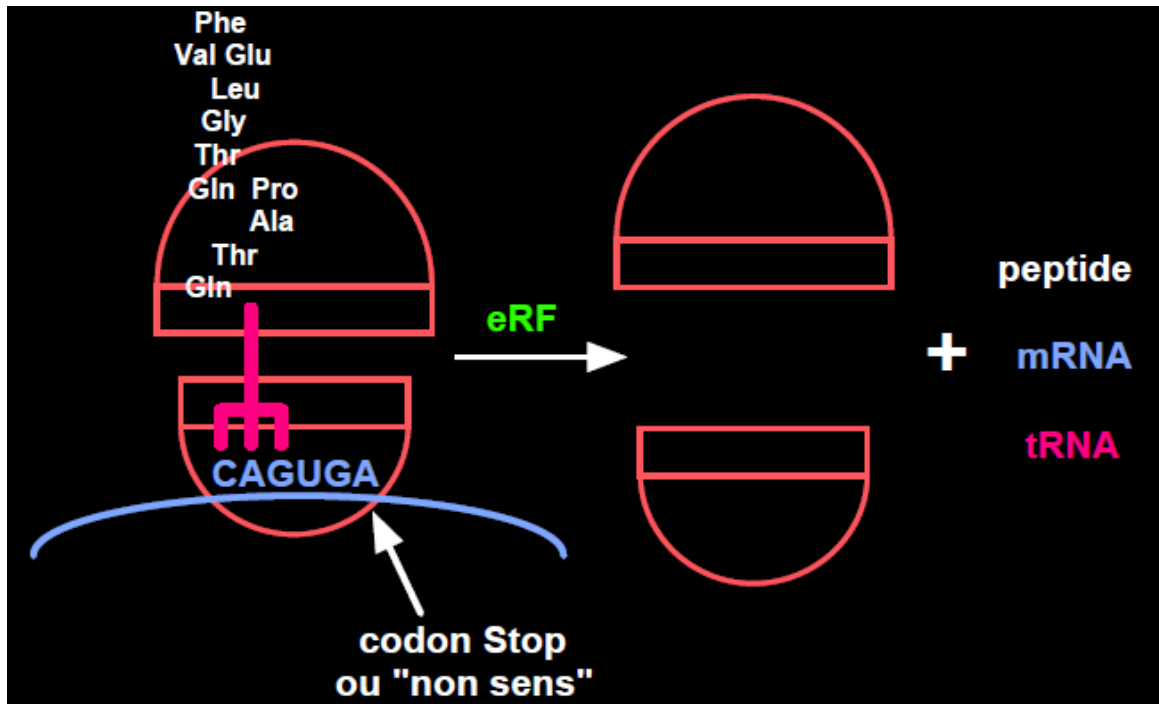
Bilan énergétique

- Inclusion de chaque acide aminé: 4 liaisons riches en énergie
 - Action de l'aminocyl-tARN-synthétase: 2 liaisons riches en énergie (ATP \rightarrow AMP + PP_i)
 - Recrutement de l'ARNt chargé: hydrolyse du GTP (facteur eEF1 α)
 - Translocation du messenger: hydrolyse du GTP (facteur eEF2).



Terminaison de la traduction

- **Codon Stop** (UAA, UAG, UGA) → site A: recrutement du facteur de dissociation eRF
- **Complexe eRF ↔ codon Stop**: peptide + H₂O → libération de l'extrémité COOH-terminale
- **Dissociation des sous-unités ribosomales**: libération de l'ARNm, du polypeptide, du dernier ARNt.

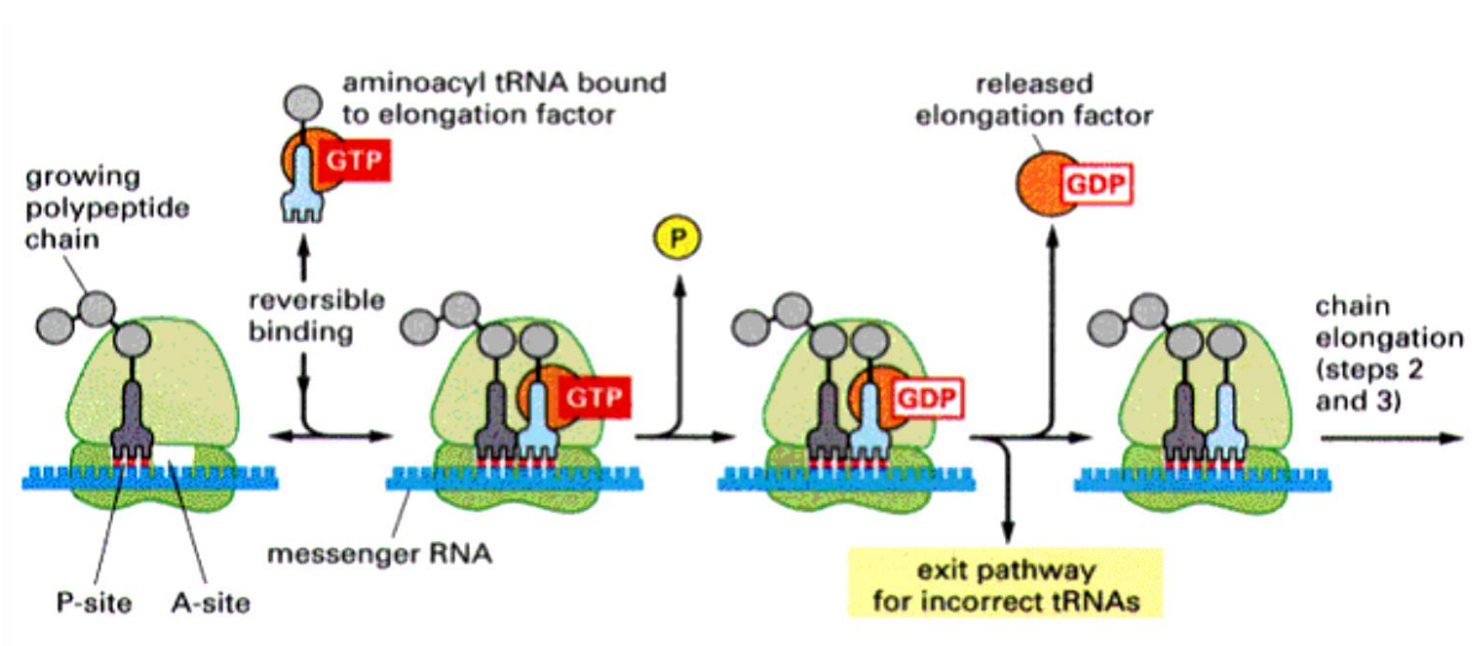


Vérification

- Taux d'erreur: 1/10 000 acides aminés
- Prévention des erreurs

1. Double spécificité des aminoacyl-tARN-synthétases

2. **Vérification cinétique**: délai entre la liaison de l'ARNT chargé (site A) et la synthèse de la liaison peptidique → hydrolyse du GTP (facteur eEF1 α) → dissociation de l'ARNT incorrect (avant l'inclusion de son acide aminé).



Modifications post-traductionnelles

- **Modifications chimiques**: actives après l'inclusion des acides aminés dans la chaîne peptidique → protéine mature → fonction biologique
- **Classification**
 - **Modifications co-traductionnelles**: actives pendant la traduction (peptide naissant attaché au ribosome)
 - **Modifications post-traductionnelles**: actives après la fin de la traduction.

1) Protéolyse : signal-peptide, fragmentation

2) Glycosylation : Ser-O, Asn-N

3) Acylation : Farnésyl, Géranyl, Myristyl, Palmityl,

4) Hydroxylation (OH-Pro, OH-Lys, OH-Asp),

méthylation (CH₃-His), **carboxylation** (CO₂-Glu)

5) Désamination (Cit)

6) Phosphorylation : Ser, Thr, Tyr, His

7) Liaison d'un cofacteur : Métal, flavine, hème

8) Blocage des extrémités (pyroGlu, carboxylamide)

Modifications post-traductionnelles

- Exemples de modifications

- **Protéolyse**: clivage du peptide signal, activation des zymogènes
- **Glycosylation**: liaison des oligosaccharides (Ser, Thr, Tyr, Asn)
- **Hydroxylation**: Pro, Lys
- **Méthylation**: His
- **Carboxylation**: Glu → Gla
- **Acylation**: liaison d'un radical acyle (myristyl, palmityl, farnésyl...)
- **Phosphorylation**: Ser, Thr, Tyr
- **Liaison d'un cofacteur**: ion métallique, coenzymes liés (hème)...

Mutations et polymorphismes

- **Mutations**: variations de la séquence de nucléotides (gènes et séquences régulatrices) → apparition des maladies
- **Mutations des gènes nucléaires**
 - Fréquence < 1% dans la population générale
 - ADN des cellules germinales → transmission aux descendants
 - ADN des cellules somatiques: accumulation progressive (\pm environnement) → maladies dégénératives, cancers, vieillissement (pas de transmission directe)
- **Polymorphismes**: variations fréquentes (1-2% de l'ADN nucléaire)
 - Polymorphismes d'un seul nucléotide (SNP): variations ponctuelles, fréquentes (1/500-1/1000 pb) → relation incertaine avec les maladies
 - Polymorphismes du nombre de répétitions: variations du nombre de répétitions d'une séquence → maladies par expansion de triplets.

Mutations fixes

- **Substitutions ponctuelles:** changement d'un seul nucléotide
 - **Silencieuses:** codon muté synonyme (aucun effet sur la protéine)
 - **Faux-sens:** codon muté différent (protéine modifiée, parfois non-fonctionnelle)
 - **Non-sens:** codon sens → codon STOP (arrêt précoce de la traduction → protéine incomplète, dépourvue de fonction)
 - **Sens:** codon STOP → codon sens → addition d'acides aminés (modification/perte de la fonction protéique)
 - **Splice-site:** mutations des séquences consensus des introns → erreurs de l'excision-épissage (modification/perte de la fonction protéique)
 - **Insertions:** addition un/plusieurs nucléotides
 - **Délétions:** suppression un/plusieurs nucléotides
- } ± décalage du cadre de lecture → protéine non-fonctionnelle.

Exemples de mutations

| Type de mutations | Propriétés | Exemples |
|-------------------------------------|---|--|
| 1. Substitutions ponctuelles | Changement d'un nucléotide | |
| - Silencieuses | Codon muté → même acide aminé | CGA → CGG Arg → Arg |
| - Faux-sens | Codon muté → acide aminé différent | CGA → CCA Arg → Pro |
| - Non-sens | Codon sens → codon STOP | CGA → UGA Arg → Stop |
| - Sens | Codon STOP → codon sens | UAA → CAA Stop → Gln |
| - Splice-site | Anomalies de l'excision-épissage | |
| 2. Insertions | Addition de nucléotides ± décalage du cadre de lecture | CATGTCACCTGTACCA GTACAGTGGACATGGT |
| 3. Délétions | Perte de nucléotides ± décalage du cadre de lecture | CATTCACCTGTACCA GTA GTGGACATGGT |

