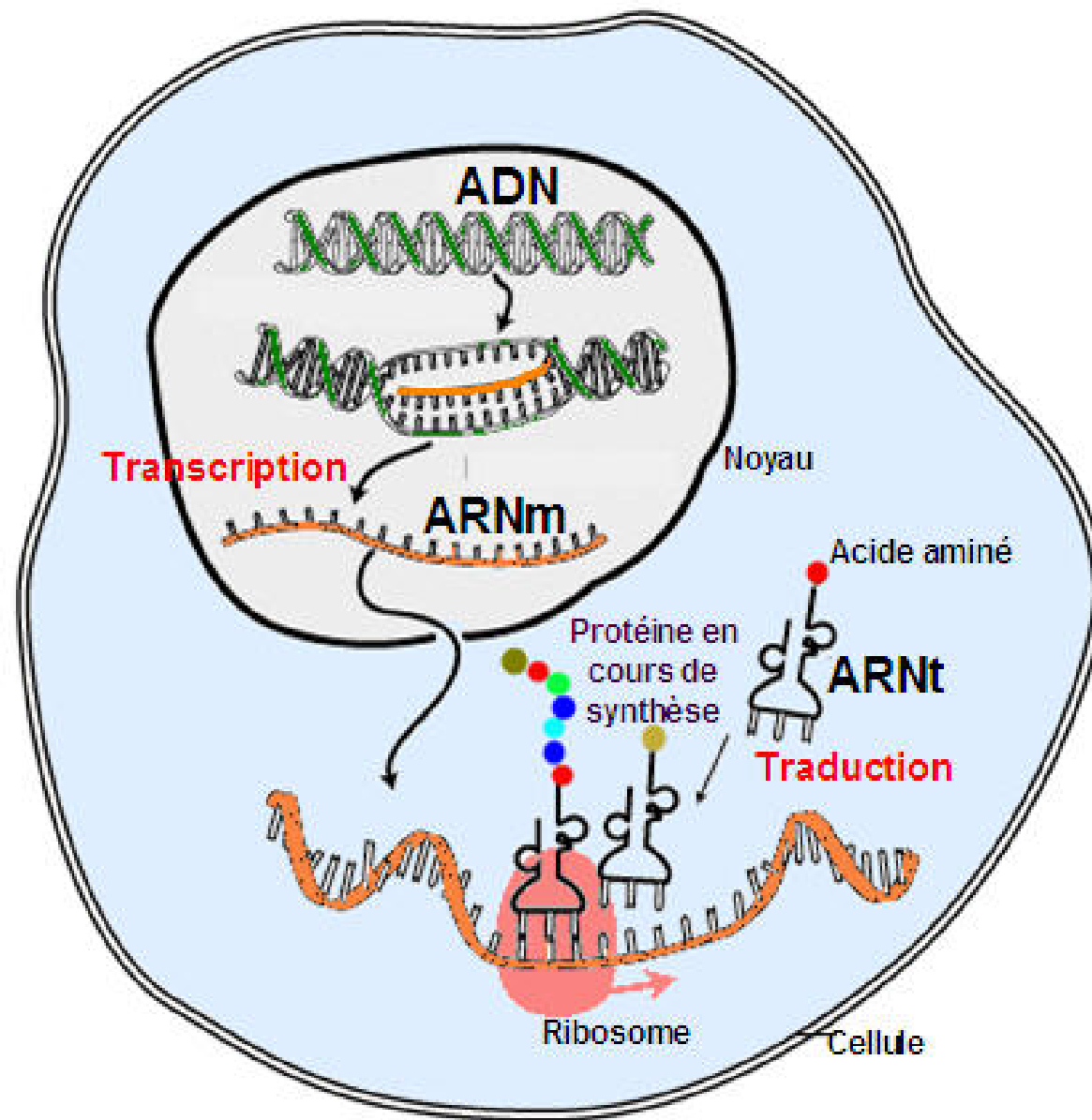


La biosynthèse des protéines (traduction de l'information génétique)

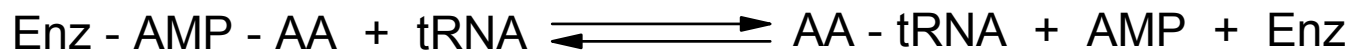
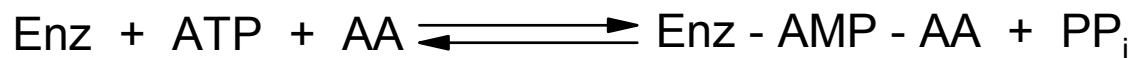
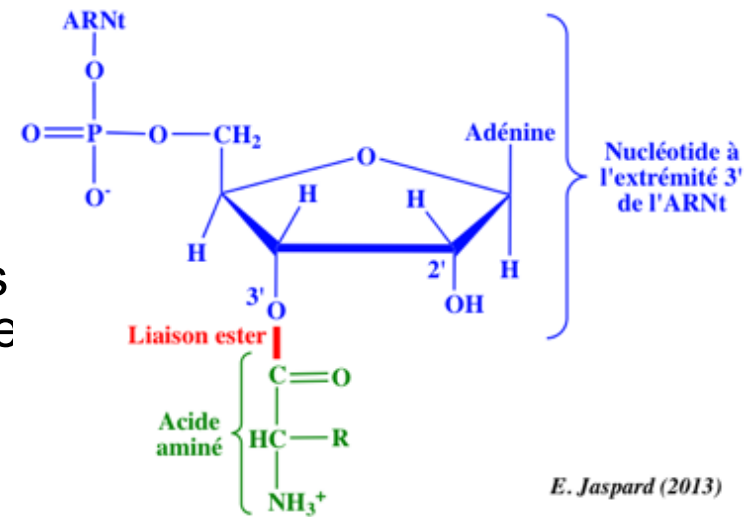
- L'information nécessaire pour la synthèse d'une chaîne polypeptidique est contenue dans le ADN d'un cistron et dans une chaîne de ARN messenger.
- Le code génétique représente la corrélation entre les triplets (codons) de l'ADN et les acides aminés de la protéine codifiée par le ADN.
- Le code génétique est universel.
- Il existe 61 triplets pour 20 acides aminés et 3 triplets (UAG, UGA, UAA) sont triplets non sens (ils représentent des signaux de fin de la synthèse). Dans ces triplets, les deux premiers nucléotides sont bien univoques, mais le troisième dans des nombreux cas peut être variable.
- [3 acides aminés sont codés par 6 triplets (Leu, Arg, Ser), 5 sont codés par 4 triplets (Val, Thr, Pro, Ala, Gly), 1 est codé par 3 triplets (Ile), 9 sont codés par 2 triplets (Phe, Tyr, His, Glu, Gln, Asp, Asn, Lys, Cys) et 2 sont codés par un seul triplet (Trp, Met).]
- On dit que le code génétique est dégénéré, la dégénérescence portant essentiellement sur le troisième nucléotide.



- L'essence de la biosynthèse protéique c'est **qu'un fragment spécifique de l'ADN est copié par le ARN messenger** qui sort du noyau (après un processus de maturation) et passe dans le cytoplasme ou, avec le ribosome, **va constituer la matrice pour la synthèse de la chaîne polypeptidique**. Les acides aminés, apportés par le ARN de transfert, sont liés entre eux par le message apporté par le ARN de message.
- **La biosynthèse des protéines a lieu dans le cytosol, aux niveau des ribosomes.**
- **La protéine est synthétisée à partir de l'extrémité -NH₂ vers l'extrémité -COOH (polarité de la synthèse).**
- Les étapes de la biosynthèse des protéines sont :
 - **activation des acides aminés**
 - **l'initiation de la formation de la chaîne polypeptidique**
 - **l'élongation de la chaîne polypeptidique**
 - **la fin de la synthèse et la libération de la chaîne polypeptidique**

1. Activation des acides aminés

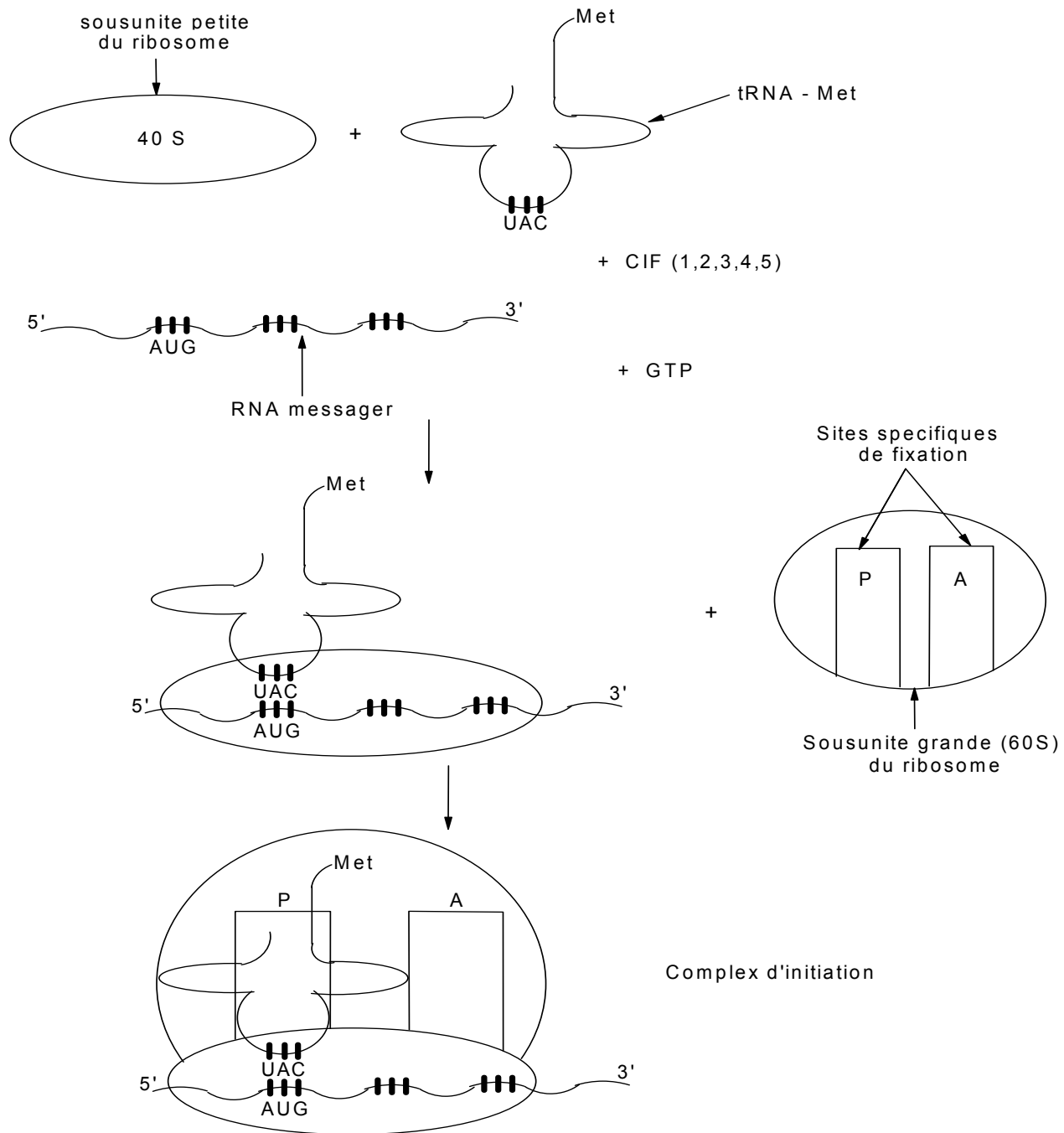
- Cette étape est réalisée par des enzymes nommées **aminoacyl-ARNt-synthétases**. Ces enzymes sont chacune spécifique d'un seul acide aminé et actionnent dans **le cytosol**.
- Il y a une **spécificité stricte de chaque type de ARNt pour un acide aminé déterminé**.
- On a pu isoler plusieurs ARNt spécifiques d'un même acide aminé qui on les appelle isoaccepteurs.
- Les ARNt sont intermédiaires entre les acides aminés et la matrice nucléique.

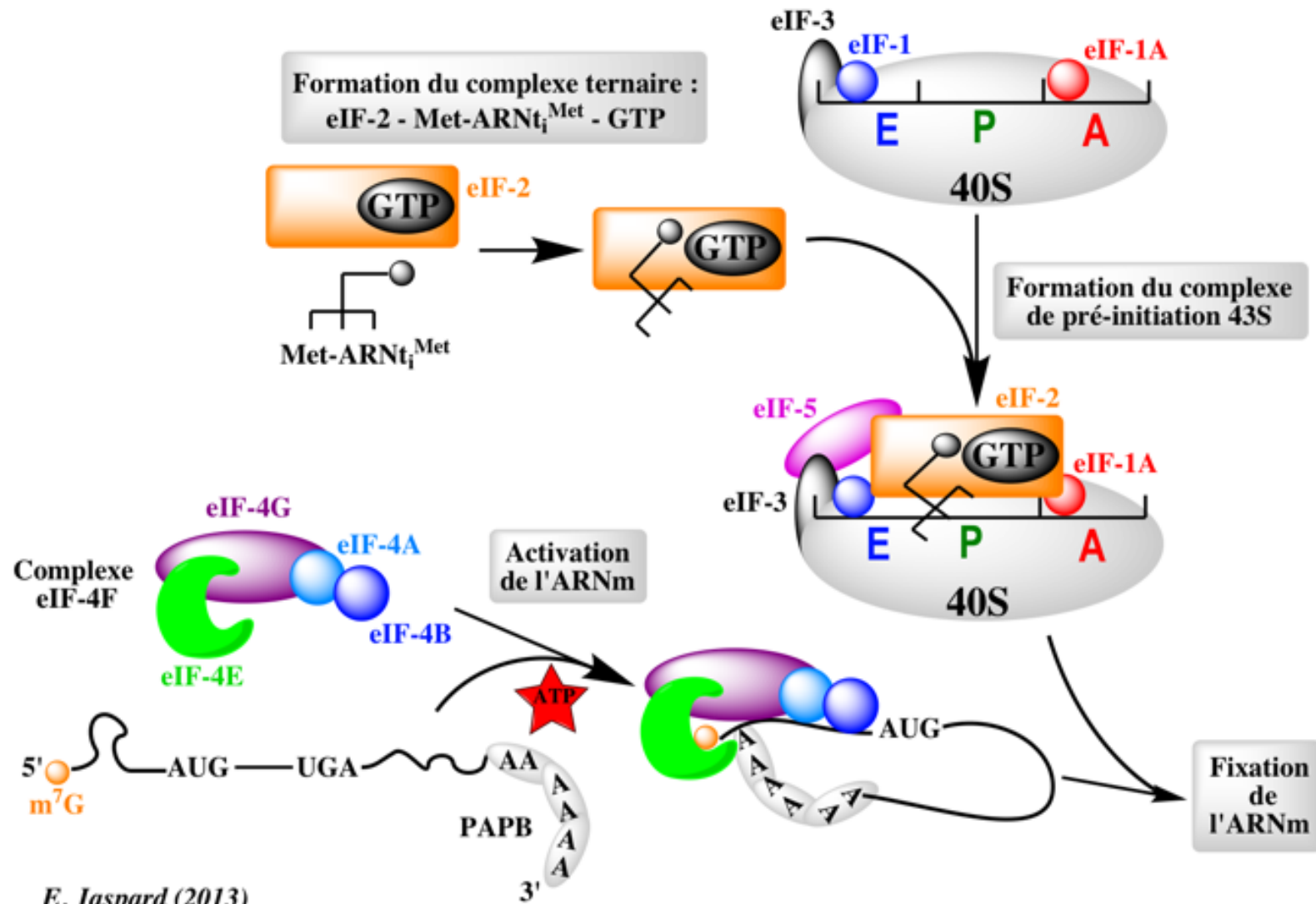


- Le ARNt a une **double spécificité: une spécificité accepteuse de l'acide aminé et une spécificité de reconnaissance du triplet (codon) de l'ARNm.**
- Le problème se pose du site de fixation de l'aminoacyl–ARNt sur le triplet d'ARNm.
- Il a été établi que ce site est formé de **la boucle centrale** de l'ARNt et plus précisément des trois nucléotides centraux de ces boucles.
- **Ces trois nucléotides sont complémentaires de ceux du triplet de l'acide aminé (ARNm) et forment l'anticodon.**
- 32 ARNt spécifique ont été isolés, chacun ayant un triplet anticodon différent. Crick a démontré que **les deux premiers nucléotides des anticodons sont rigoureusement complémentaires** des deux premiers nucléotides du ARN messager, il n'en est pas de même pour le troisième.
- Cet phénomène est appelé **flottement (effet Wobble).**

2. L'initiation de la synthèse protéique

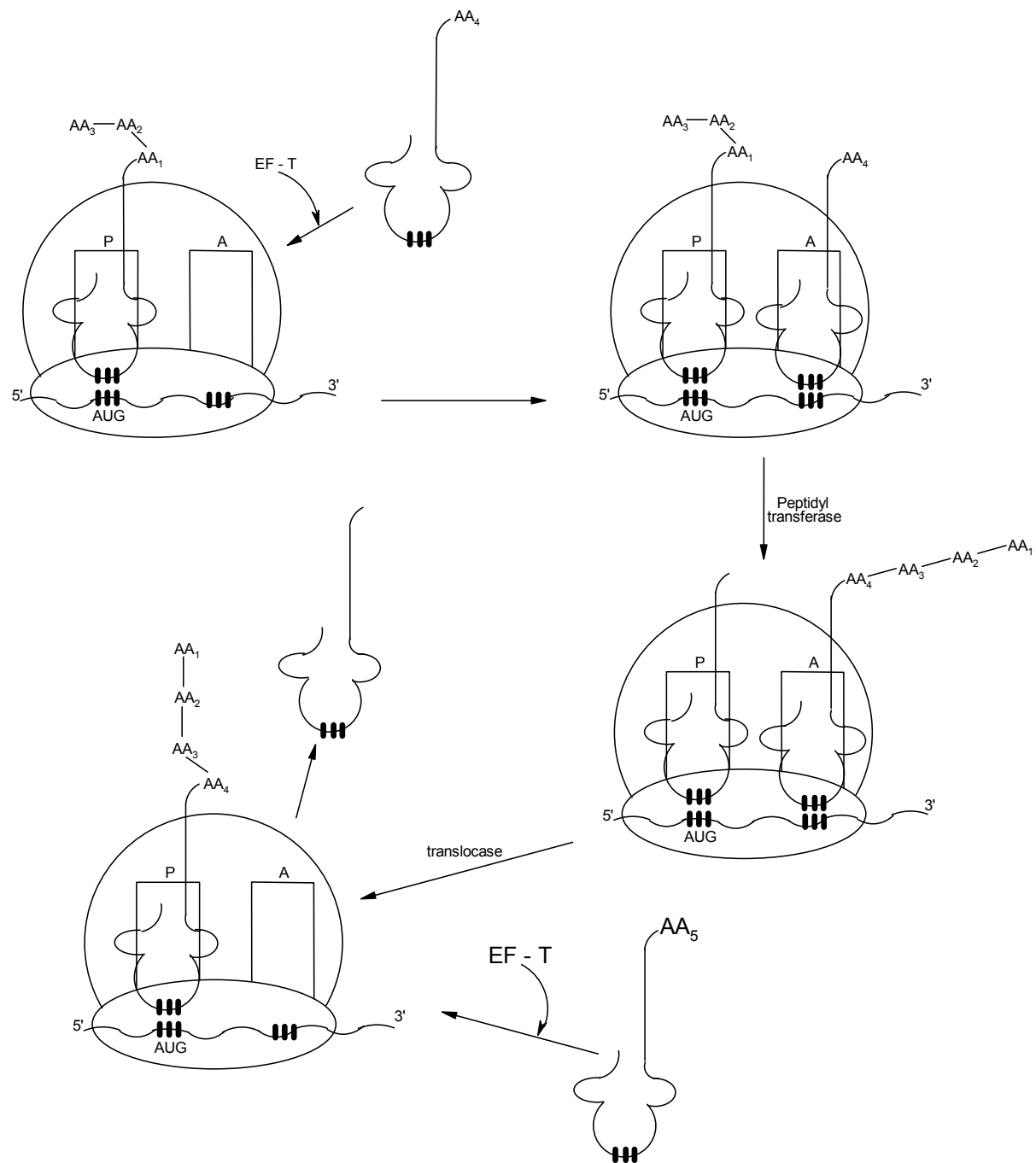
- Le complexe d'initiation est formé par l'assemblage du ribosome avec l'ARN messager.
- Le ribosome contient deux sous unités :
 - une sous unité petit de 40 S qui fixe légèrement le ARN messager et
 - la sous unité de 60 S qui possède **deux sites catalytiques, P (peptidyl) et A (aminoacyl)** qui fixent l'anticodon des ARNt. Il y a aussi un autre site, **E – élimination** pour le ARNt détaché de l'acide aminé. Ces sites de fixation P et A correspondent chacun à un **triplet complémentaire**, exposé par le ARN messager.
 - **L'association des unités ribosomales est réalisée seulement par le ARN messager.**
- La formation du complexe d'initiation a lieu aussi sous l'action des **facteurs d'initiation eIF1 – eIF10** et par la participation du **Met-ARNt qui est l'acide aminé initiateur** de la synthèse protéique.
- Le processus **consomme d'énergie (GTP, ATP).**
- **Pour toutes les protéines, le premier acide aminé inséré (l'extrémité NH₂ terminale) c'est la methionine**

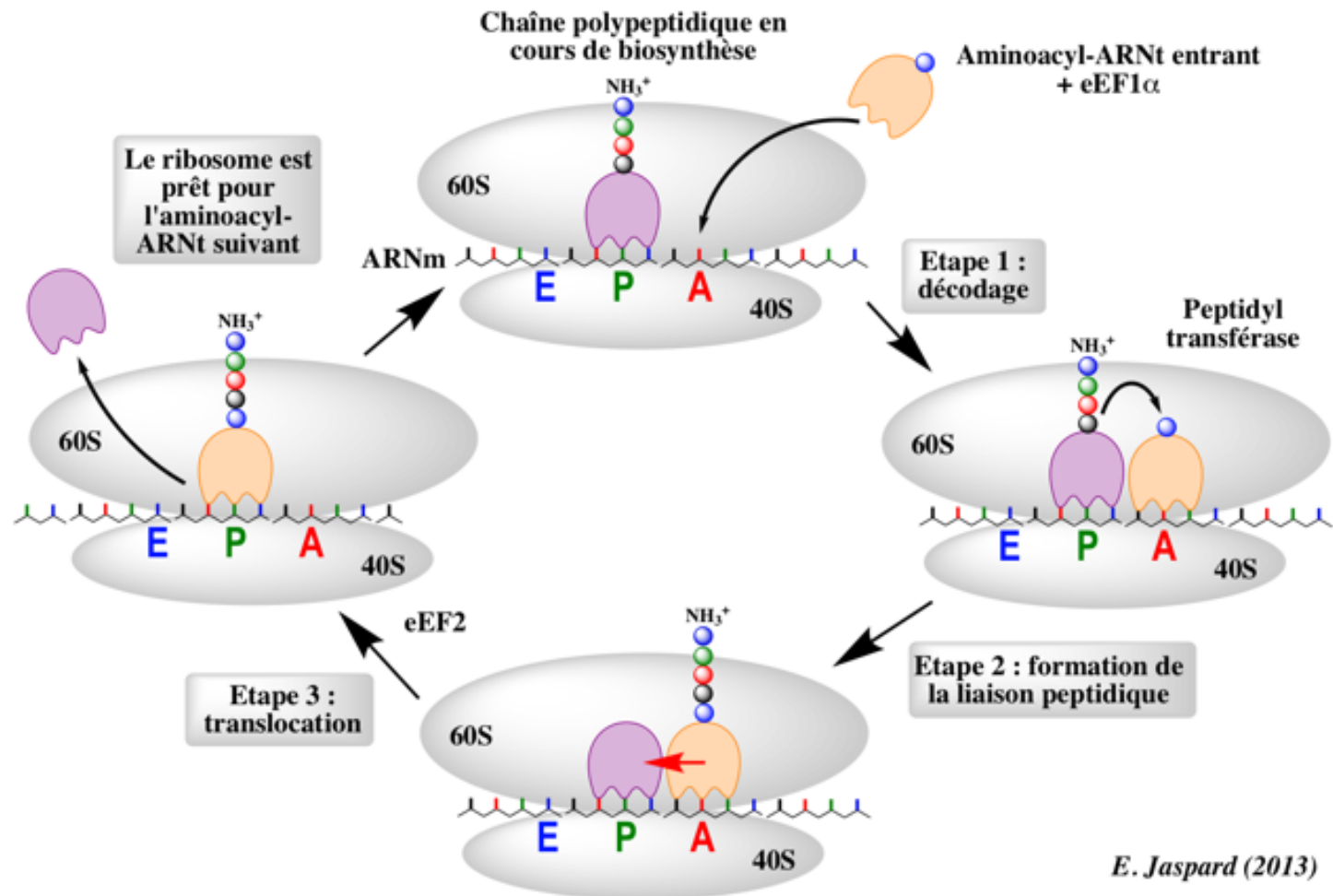




3. L'élongation

- La mise en place successive des acides aminés et leur association représente l'élongation de la chaîne peptidique.
- L'élongation a besoin de plusieurs facteurs appelés **facteurs d'élongation – EF**.
- Pendant l'élongation, **ARN messenger glisse dans le ribosome en exposant successivement les triplets qui fixent les anticodons complémentaires des différents ARNt – AA**.
- Les acides aminés fixés se lient entre eux en formant la chaîne peptidique. La succession des acides aminés dans la chaîne peptidique est déterminée donc par la succession des triplets de l'ARN messenger.
- L'élongation se fait en trois étapes :
 - un facteur d'élongation, EF – T forme un complexe avec le **GTP** et un aminoacyl –ARNt. **L' aminoacyl –ARNt est mis en place sur le site A**. EF –T est libéré, le GTP est hydrolysé en GDP
 - une enzyme ribosomale, **la peptidyl transférase**, fait passer le peptidyl – **tARN du site P sur le site A**. Ceci chasse le ARNt lié au peptide et allonge celui-ci d'un acide aminé.
 - un facteur d'élongation EF – G provoque **la translocation** du ribosome sur le ARN messenger, ce qui amène le peptidyl–ARNt augmenté de nouveau sur le site P. Ceci s'accompagne de l'hydrolyse d'un **GTP**.



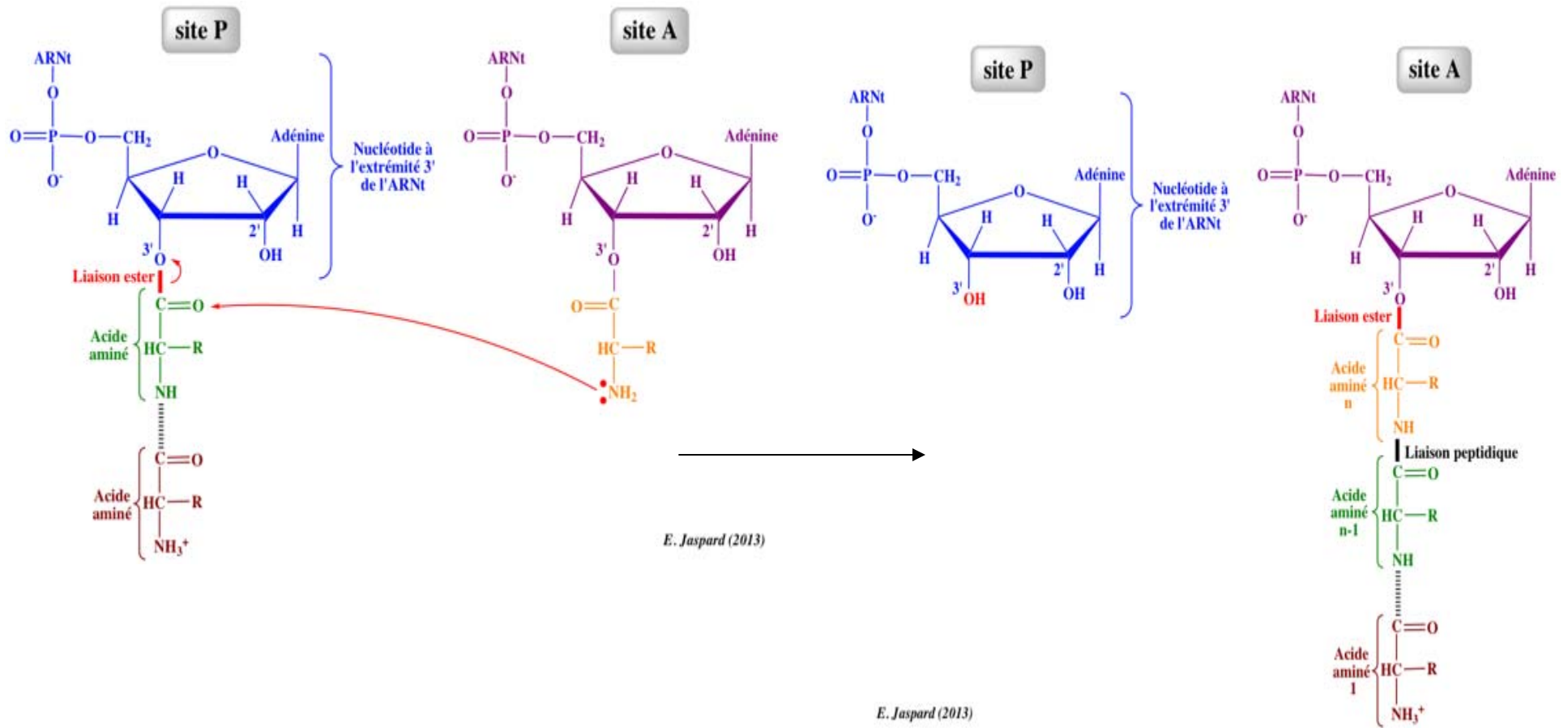


E. Jaspard (2013)

- Pendant la translocation du peptidyl de la position A \rightarrow P le ribosome glisse le long de l'ARN messenger avec 3 nucléotides (un triplet) dans la manière que dans la position A arrive à lire le triplet suivant de l'ARN messenger.
- Ce triplet va fixer l'ARNt – aminoacyl ayant l'anticodon complémentaire avec ce triplet. Après ça, la peptidyl transférase va transférer le peptidyl du site P sur l'aminoacyl de la position A, en formant un peptidyl qui a un acide aminé en plus. **Ce peptidyl, sous l'action de la transférase passe de nouveau dans la position P,** libérant le site A pour la fixation d'un nouvel acide aminé.
- **Chaque fois, l'ARNt libéré de l'acide aminé passe dans le site E et après ça est libéré dans le cytosol.**

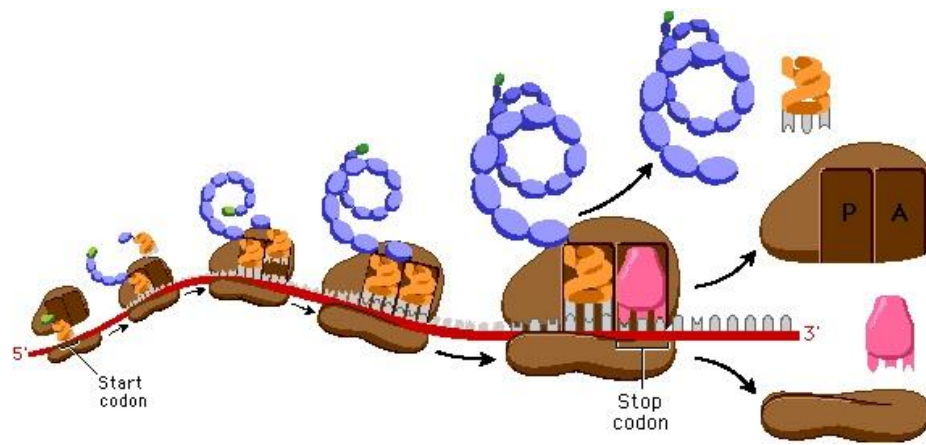
4. La libération de la chaîne peptidique

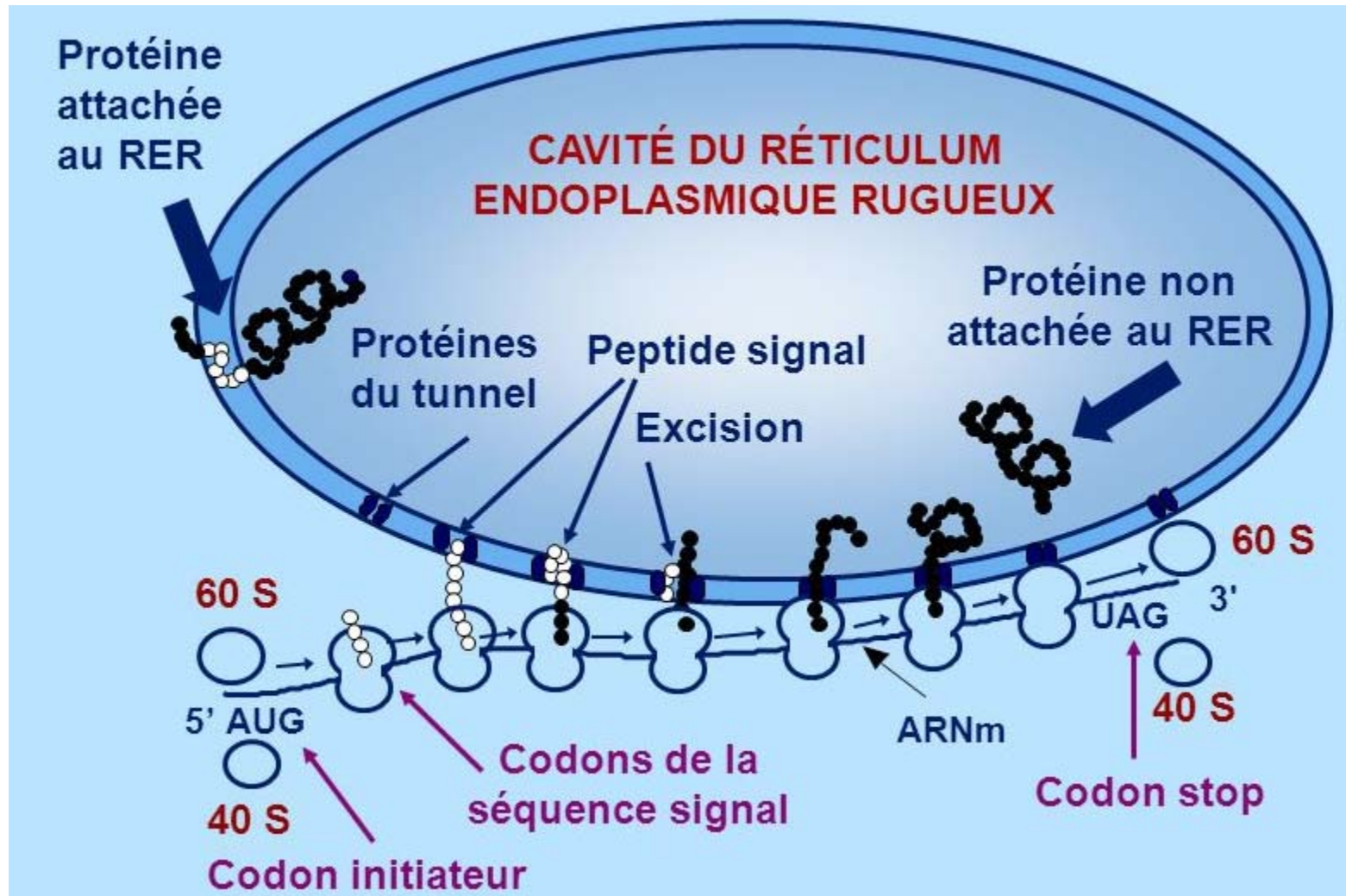
- Chacun ARN messenger qui code la synthèse d'une chaîne polypeptidique a, **à la fin de la séquence**, au moins un des triplets « **fin de chaîne** » - UAG, UGA, UAA.
- Des **facteurs RF (releasing factors)** reconnaissent un des triplets fin de chaîne et **arrêtent l'élongation**. En présence de **peptidyl – transférase ribosomale**, il y a la coupure du peptidyl – tARN et libération de la peptide terminée.
- La méthionine est détachée.



Les polysomes

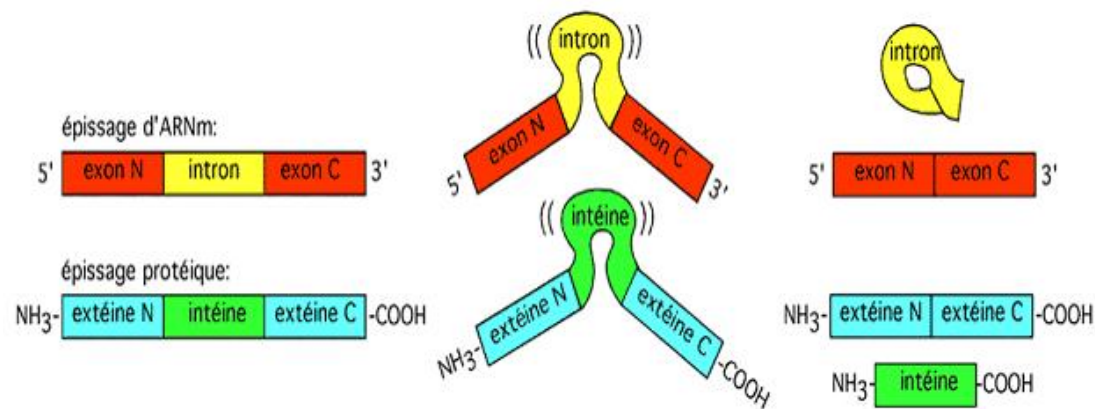
- Les polysomes sont des ensembles de ribosomes. La même molécule d'ARNm peut être traduite par plusieurs ribosomes simultanément.
- Les multiples ribosomes accrochés à une même molécule d'ARNm forme un polyribosome ou un « polysome ».
- Les polyribosomes en cours de synthèse protéique peuvent exister sous forme de **particules libres** dans le cytoplasme ou être **attachés aux feuillettes des membranes du réticulum endoplasmique** dans le cytoplasme (apparence « rugueuse » de RE).
- Les protéines synthétisées par les **polyribosomes attachés au RE rugueux** sont exportées ailleurs.
- Les **polyribosomes libres** dans le cytosol sont responsables de la synthèse protéique nécessaire aux fonctions intracellulaires.





5. Modifications post – traductionnelles

- Pour la majorité des protéines, une **structure inactive biologique** est obtenu à la fin de la synthèse peptidique, qui, pour atteindre sa conformation définitive, active biologique, va subir un certain nombre des **modifications** de nature très variée. Ces modifications peuvent être :
 - **coupure des liaisons peptidiques**, un fragment peptidique est éliminé, ce qui provoque modifications de la structure secondaire – tertiaire.
 - **Epissage protéique** – analogue au épissage d'ARNm – **les intéines sont enlevées** (analogues protéiques des introns) et les **extéines sont liées entre eux** (analogues aux exons).



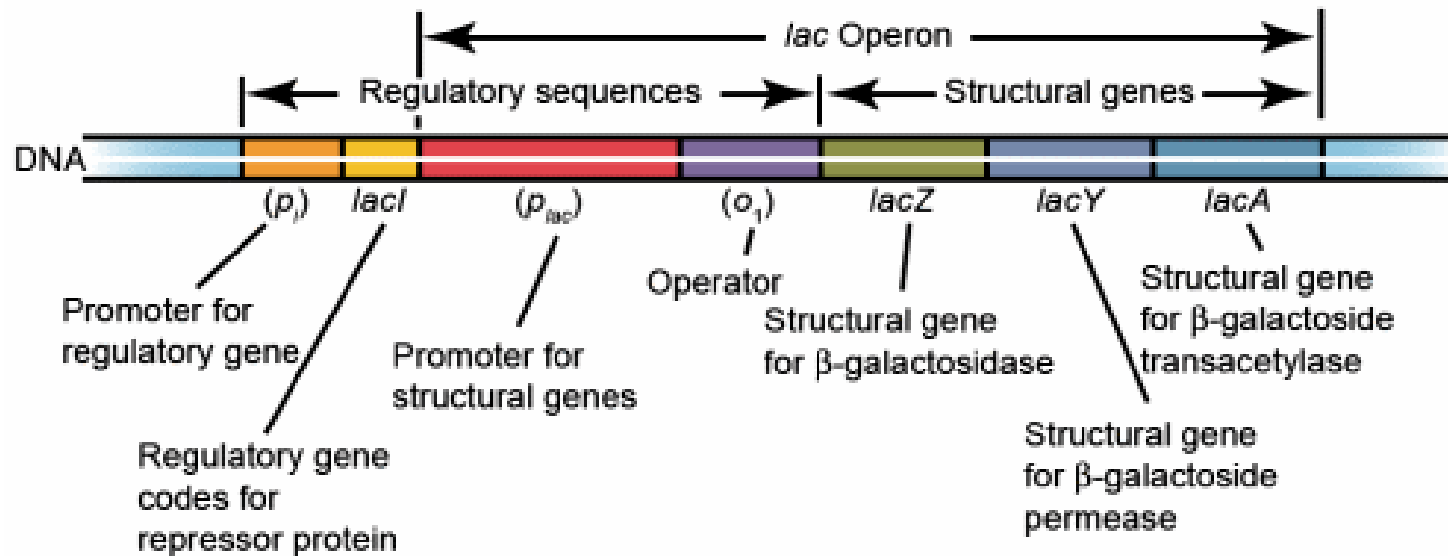
- **Racémisation des acides aminés** ($L \rightarrow D$) (non-enzymatique)
- **Glycation** – liaison non-enzymatique du glucose aux groupements amine des protéines plasmatiques (Hb_{1c}).
- **Carbamylation** – liaison non-enzymatique de l'urée du sang aux protéines.
- **Oxydation non-enzymatique** des chaînes latérales des acides aminés de protéines. Ce phénomène affecte 30-40% des protéines partiellement détruit et non-fonctionnelles des personnes âgées.
- **Conversion des acides aminés**. Un certain nombre d'acides aminés subissent des modifications après avoir été incorporés dans les chaînes peptidiques. Quelques exemples :
 - Pro \rightarrow hydroxyproline (collagènes)
 - Lis \rightarrow hydroxylysine (collagènes, élastines)
 - Glu \rightarrow acide γ -carboxyglutamique (protéines de la coagulation, des os)
 - Cys \rightarrow cystine

- **fixation de radicaux** sur les acides aminés incorporés :
 - **le radical phosphoryle** est attaché par les protéines kinases aux résidus de serine, de thréonine et tyrosine des enzymes, histones, récepteurs, etc. Ces protéines phosphorylées ont une activité biologique modifiée.
 - **radical acétyle** fixé par l'action des transacétylases
 - **radicaux glucidiques** qui se combinent avec les résidus de serine et d'asparagine en forment les glycoprotéines. Les réactions sont catalysées par les glycosyl-transférases.
 - **ions métalliques** qui forment des liaisons coordinatrices qui lient entre eux plusieurs chaînes peptidiques en forment des protéines complexes avec une structure quaternaire.
 - **S-nitrosylation** (NO est lié) – utilisé pour le réglage des gènes
 - **Méthylation** (Lys, Arg) – ex. les histones pour leur réglage.
 - **Ubiquitinylation** – attachement de l'ubiquitine pour marquer la protéine qui doit être catabolisée.
 - **Acylation (lipidation)** attachement des résidus **d'acide miristique ou palmitique, de glycérophospholipide, polyisoprène**, etc. généralement pour les protéines membranaires ou le réglage des protéines.

Régulation de l'expression des gènes

Régulation de la transcription chez les procaryotes

- lorsque l'on fait croître des microorganismes sur un nouveau milieu, ils développent parfois un système enzymatique leur permettant de pousser sur ce milieu.
- **L'induction** d'un système enzymatique par un **inducteur spécifique** (le substrat de l'enzyme) a été expliqué par la **théorie de l'opéron** (Jacob et Monod, 1962, Prix Nobel). L'opéron est une unité génétique qui comprend les gènes suivants :
 - **les gènes de structure** qui contiennent le code des enzymes appartenant à une chaîne métabolique.
 - **un gène régulateur** qui commande la synthèse à un taux constant mais faible d'une protéine nommée **répresseur**. Celui-ci peut se combiner avec une forte affinité au gène opérateur.
 - **le gène opérateur** - commande le fonctionnement ou le non fonctionnement de l'ensemble des gènes de structure de l'opéron. Lorsque ce gène est libre il commande le fonctionnement, lorsqu'il est combiné au répresseur il arrête le fonctionnement.
 - **le gène promoteur** sert de point d'attache de la ARN polymérase. L'enzyme pourra donc transcrire les gènes de structure de l'opéron.



L'opéron lactose (le gène *lac*)

Cet opéron comprend 3 gènes de structure :

Z - qui spécifie la β -galactosidase,

Y - qui spécifie la perméase et

A - qui spécifié l'acétylase.

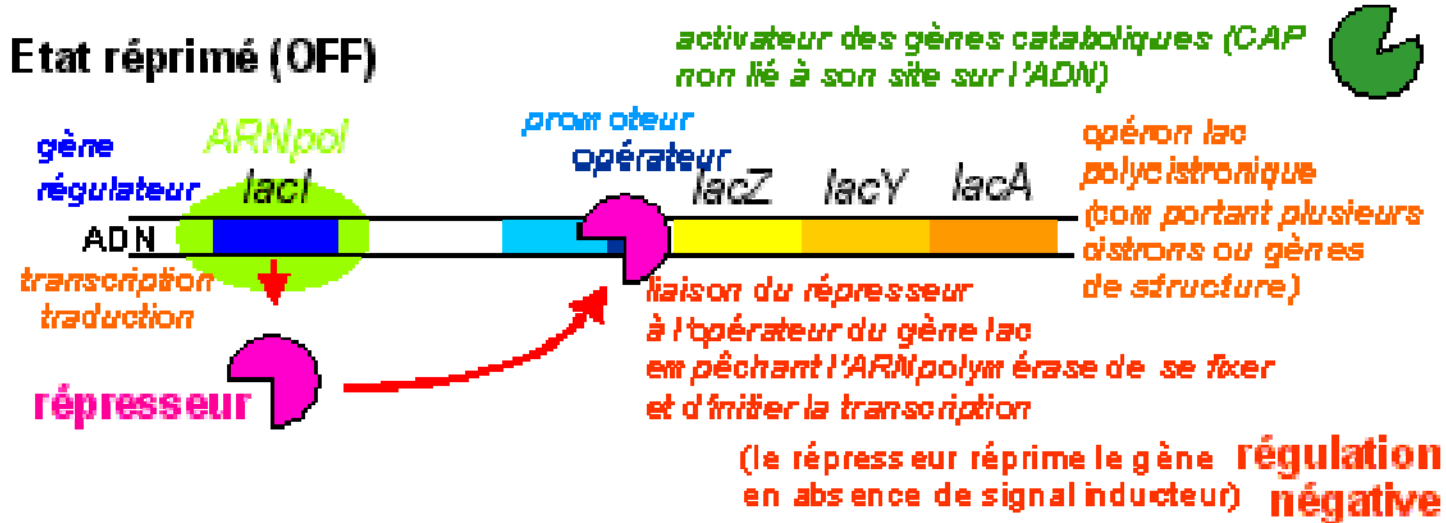
Le gène régulateur spécifie une protéine, le **répresseur**, qui peut se combiner à l'**opérateur**.

L'inducteur, le lactose ou une molécule similaire en structure, empêche cette combinaison (en se combinant lui-même avec la protéine répresseur) et permet la transcription des gènes de structure.

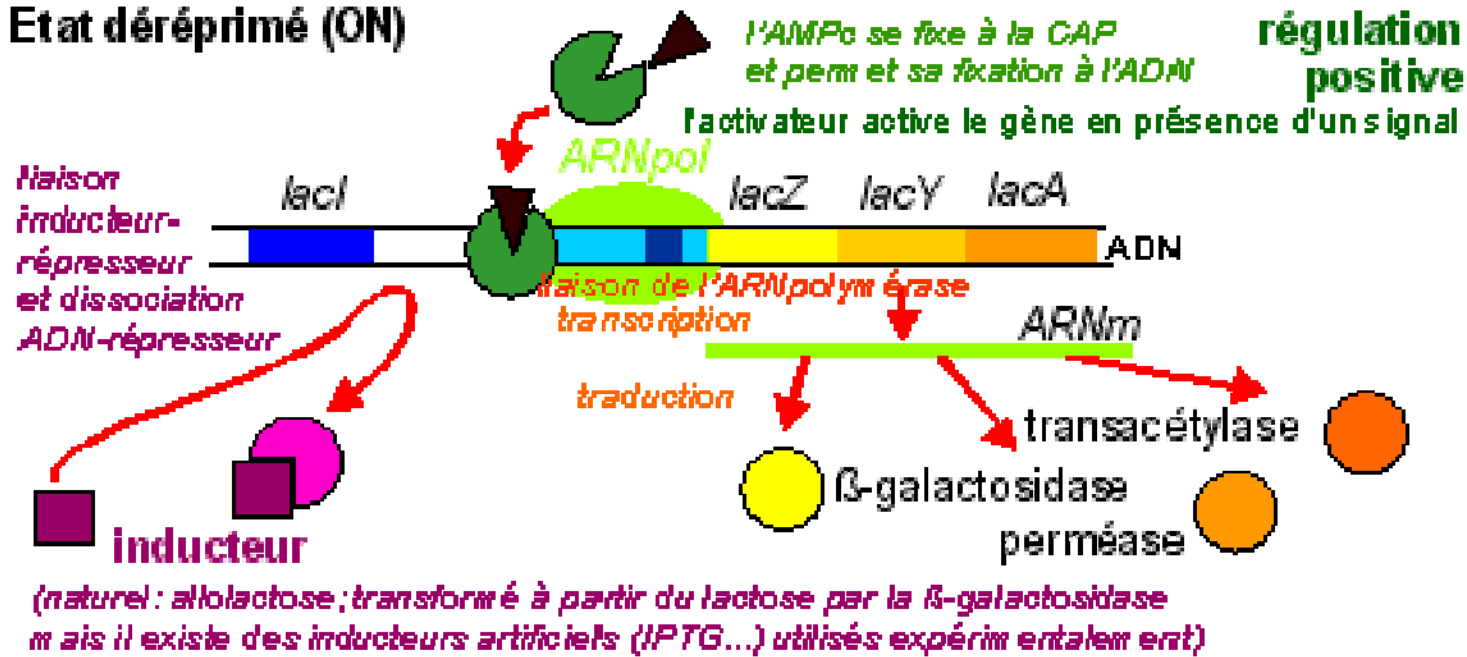
Le gène promoteur est le lieu de fixation de la ARN polymérase.

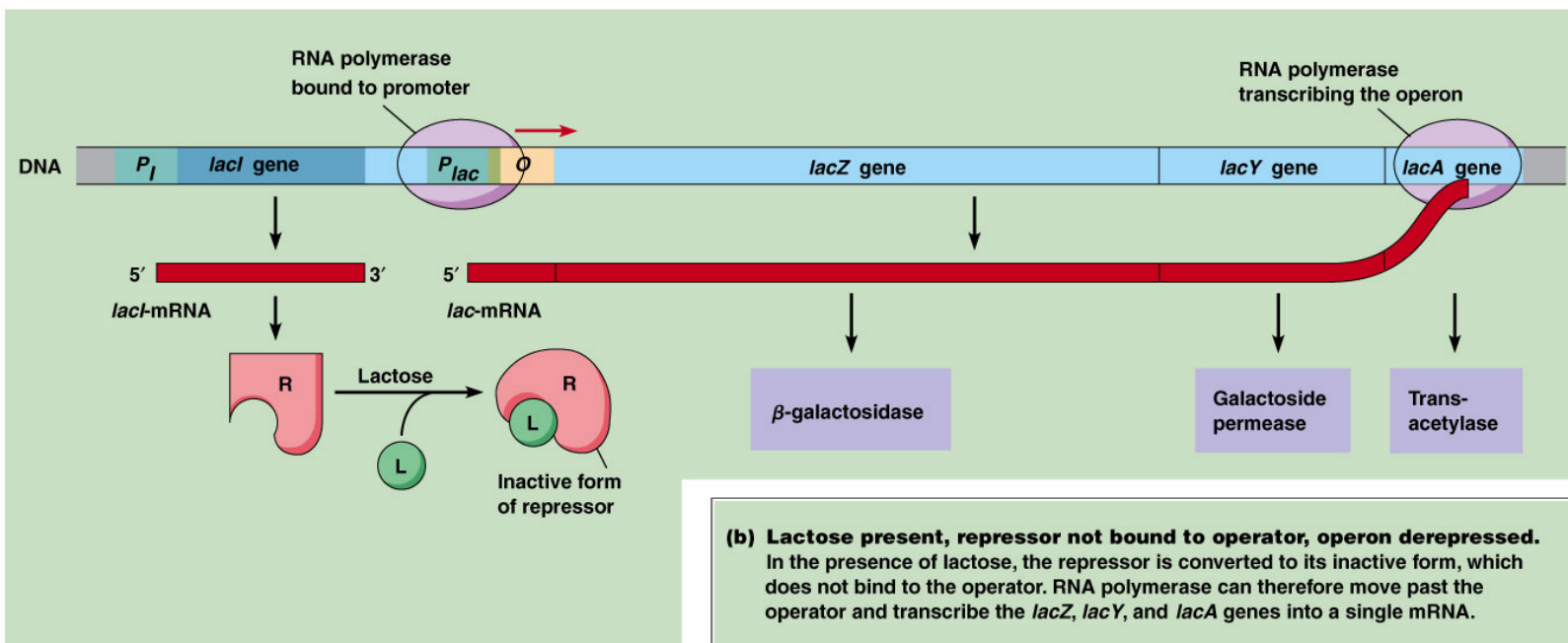
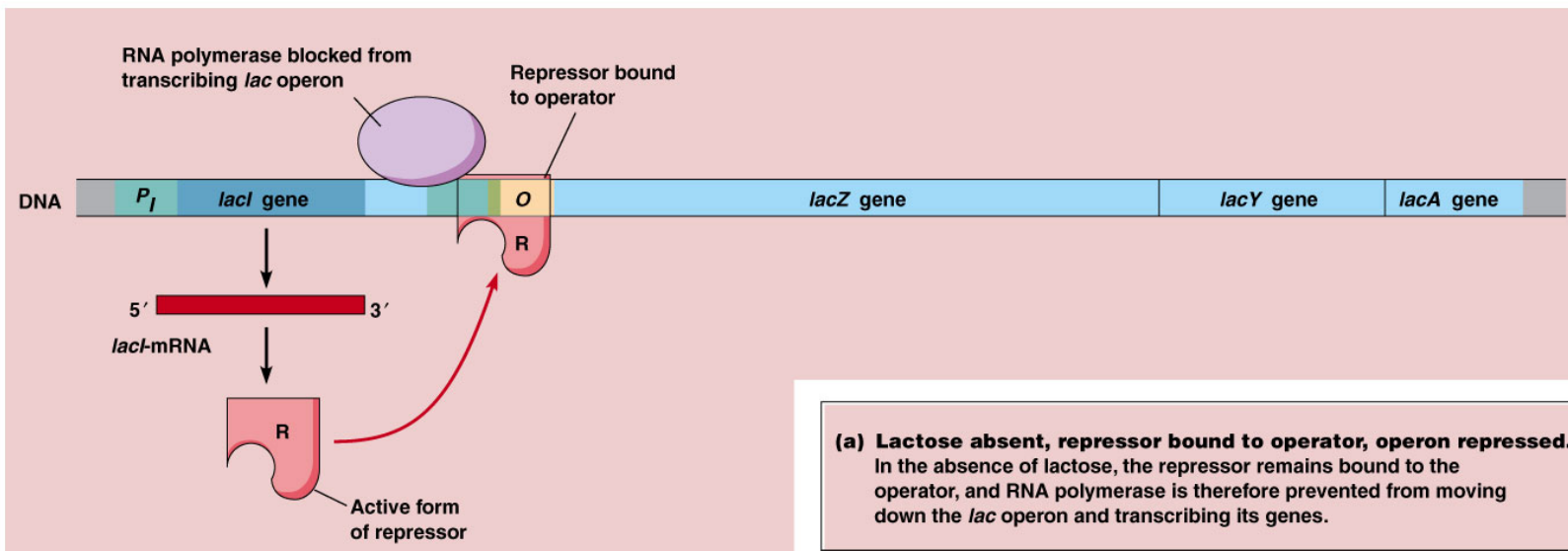
L'opéron lactose avec une logique binaire

Etat réprimé (OFF)

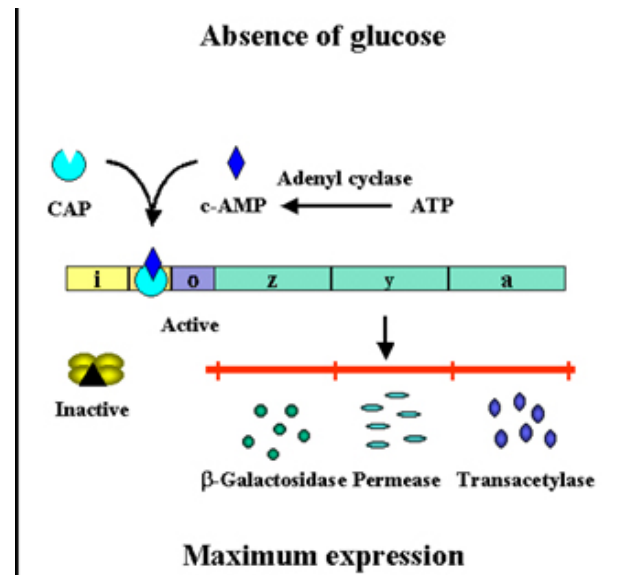


Etat déréprimé (ON)





Cependant l'ARN polymérase ne peut pas fonctionner que si le gène promoteur est combiné à **une protéine** présente chez les bactéries mais qui ne devient active **qu'en présence d'AMP cyclique**, la CRP (cAMP receptor protein).



Dans ce cas, l'ARN messager est **polycistronique**, il code pour les 3 protéines spécifiées par les 3 gènes de structure.

Ce modèle est valable pour les procaryotes ou les gènes sont actifs et seulement un nombre réduit des gènes sont inactifs (représsés) et l'activation est fait en présence d'un activateur (ex. le substrate pour la synthèse d'une enzyme).

Dans ce mécanisme de contrôle on a seulement **deux côtés: l'induction et la répression**. Ce réglage est possible en raison de la demi-vie de l'ARNm très court (de l'ordre de quelques minutes).

Le contrôle de l'expression génique chez les eucaryotes

- Est plus complexe en raison de:
 - la quantité beaucoup plus élevée de l'ADN,
 - le degré plus élevé de son organisation,
 - la localisation dans le noyau de l'ADN et
 - la demi-vie beaucoup plus longue de l'ARNm.
- Chez l'homme uniquement 5,2% de l'ADN est transcrit comme ARNm.
- **⇒ Le réglage est réalisé par l'activation de gènes à l'aide de protéines activateurs et pas en bloquant l'activité de gènes,** comme il est chez les procaryotes.
- Il se agit d'un **réglage positif** car il est plus avantageux d'activer 2% du matériel génétique que d'inhiber 98%.
- Pour les eucaryotes le modèle est plus complexe, il comprend une **multitude de facteurs qui actionnent soit au niveau de la transcription soit au niveau de la maturation des ARN.**

- **Les niveaux de contrôle** de l'expression des gènes sont:
 - contrôle de transcription qui régule où, quand et comment la transcription génique est réalisée
 - le contrôle de la maturation post transcriptionnelle de l'ARN
 - le contrôle du transport de l'ARN et son localisation
 - le contrôle de la traduction
 - le contrôle de la dégradation de l'ARNm
 - le contrôle de l'activité de protéines
- La diversité de cellules n'est pas le produit de la perte de gènes au cours de la différenciation des cellules, mais des changements d'expression génique.
- Cela est démontré par la simple injection dans une cellule anucléée d'un mammifère le noyau des cellules différenciées d'un mammifère adulte; l'oeuf obtenu va générer un animal en bonne santé, identique à celui dérivé du noyau (le clonage).

- Les protéines sont le reflet ultime de l'expression génique; elles sont classées comme suit:
 - **protéines communes à toutes les cellules** d'un organisme telles que les protéines de structure des chromosomes, les ARN polymérases, les enzymes de réparation d'ADN, les protéines ribosomales, les protéines cytosquelettiques, etc.
 - **protéines caractéristiques de certains tissus**. Par exemple, l'hémoglobine ne se trouve que dans la série érythrocytaire.
- Les cellules humaines produisent les ARNm correspondant en moyenne au 10 - 20000 gènes sur un total estimé de 30000 à 40000 gènes.
- **Les modifications post-transcriptionnelles et post-traductionnelles sont possibles de générer, à partir d'un gène, toute une famille de protéines.**

Le réglage se fait par deux types de mécanismes:

- 1) **l'ajustement génétique à court terme ou réversible**
– on modifie l'activité des gènes, ce qui reflète les variations dans la synthèse de l'ARN et des protéines.
- 2) **l'ajustement génétique à long terme** (irréversible), impliquant des mécanismes liés à la différenciation cellulaire - se produisent au cours du développement ontogénétique. Ce type de contrôle est intégré dans la séquence d'ADN.

Inhibiteurs de la transcription et de la traduction

- Ces inhibiteurs bloquent la synthèse des acides nucléiques et des protéines.
- La majorité sont **antibiotiques**, substances qui s'opposent à la vie ou à la croissance de microorganismes et qui sont eux-mêmes produits par de microorganismes, des moisissures ou des champignons.
- Les antibiotiques atteignent les mécanismes moléculaires fondamentaux de la vie des cellules microbiennes.
- Ces mécanismes sont parfois communs à ceux des cellules animales, ce qui explique que beaucoup d'antibiotiques ne soient pas utilisable en thérapeutique, car ils sont trop toxiques.
- Certaines antibiotiques ont un **pouvoir anti-cancéreux**, car ils agissent surtout sur les cellules en division rapide : bactéries, cellules cancéreuses, cellules précurseurs des globules sanguins. Ces substances sont souvent utilisées comme **cytostatiques**.

Contrôle au niveau transcriptionnel

- la forme la plus prédominante dans la régulation de l'expression des gènes.
- 1. **Suppression de la transcription** est un mécanisme clé dans le contrôle de l'expression génique.
 - Le processus peut être effectué par des **protéines répresseurs** en agissant **directement** sur les gènes cibles par leurs **domaines de liaison à l'ADN** ou **indirectement**, par interaction avec des **protéines de liaison à l'ADN**.
 - **La méthylation de l'ADN** – au résidus de cytosine du promoteur, obligatoires pour la liaison des facteurs de transcription. La méthylation de CG de l'ADN est effectuée par méthyltransférase.
 - La réduction du méthylation des régions répétitives crée l'instabilité génomique, en favorisant l'émergence de mutations
 - **La méthylation des CG des promoteurs de gènes réprime la transcription.**
 - **Si ce processus inhibe la transcription d'un gène répresseur d'un tumeur, alors il crée des conditions pour le développement du processus néoplasique.**

2. Le contrôle de la vitesse d'initiation de la transcription est réalisée par des facteurs d'amplification ou d'inhibition qui augmentent ou diminuent la vitesse de formation du complexe d'initiation de transcription.

3. Epissage (Splicing) alternative. Au moins un tiers des gènes humains produisent de multiples protéines à l'aide de ce mécanisme. L'ajustement du site d'épissage d'ARN génère des versions différentes de la même protéine dans différents tissus.

4. Sites alternatifs d'initiation ou de terminaison de la transcription de l'ARN (points de départ ou d'arrêt différents). Certains gènes sont transcrits à partir de différents points de départ et la transcription se termine dans différents segments polyadénylés.

- En conséquence l'ARNm résultant aura des parties terminales 3' ou 5' différentes.
- Par exemple: **la glucokinase** dans des hépatocytes et des cellules pancréatiques - elle a des tailles différentes; entre les deux formes d'ARNm de l'enzyme existe une différence de 26 000 nucléotides.

5. Modifications dans l'édition de l'ARN. En général, il existe une colinéarité entre les exons du gène, l'ARNm et la protéine. Il existe des cas où l'ARNm est modifié par voie enzymatique après maturation dans le noyau. Dans le noyau des cellules intestinales, l'ARNm d'apolipoprotéine B est soumis à l'action de la cytidine desaminase, enzyme qui modifie le codon CAA en codon UAA (codon d'arrêt), ce qui bloque la synthèse de la protéine à ce niveau. Pour cette raison, il y a une différence de l'apolipoprotéine hépatique B (AA 4536) appelé ApoB 100, de celle de l'intestin ApoB48 contenant 2152 AA.

6. Régulation du transport de l'ARN à partir du noyau vers le cytoplasme. Il est considéré que seulement 1/20 de l'ARN total synthétisé dans le cytoplasme passe vers le noyau. La plupart de l'ARN est dégradé dans le noyau d'un complexe protéique appelé **exosomes**: le critère principal étant un processus incomplet d'épissage .

7. Localisation de l'ARNm dans différentes régions du cytoplasme est en fonction de différentes séquences signaux qui se trouvent dans le segment de l'extrémité 3'de l'ARNm, entre le codon d'arrêt et la terminaison 3' polyA

- Par exemple l'ARNm de l'actine des fibroblastes est dirigé vers une région riche en filaments d'actine.

Control au niveau traductionnel

- 1. Le blocage du site de départ** par des protéines suppresseurs, régulées par **l'effet physiologique de la protéine traduite**. Ex. – une ferro-protéine bloque la traduction de l'ARNm pour la ferritine (protéine de stockage du fer) lorsque la concentration cellulaire de Fe^{2+} augmente.
- 2. Centre interne multiples de l'ARNm pour initier** la synthèse des protéines. Ces centres initient la synthèse, en **sautant le codon AUC initiant + le facteur d'initiation** de la traduction. Ce mécanisme est utilisé par des **virus** qui bloquent la synthèse de la protéine hôte et dirigent la synthèse des protéines virales; ils possèdent différents centres internes pour initier la synthèse.
- 3. Contrôle de la stabilité de l'ARNm.** La route principale utilisée pour la dégradation de l'ARN est de **raccourcir la queue polyadenylique** (dans le sens $3' \rightarrow 5'$), et lorsqu'il reste environ 30 résidus d'adénine, la protection des extrémités $5'$ est retirée et l'ARNm est rapidement dégradé.

4. Contrôle des facteurs impliqués dans la traduction (facteurs d'initiation, d'élongation et de terminaison). Ces facteurs peuvent être bloqués ou activés par l'action des **inhibiteurs/activateurs** ou par des processus de phosphorylation / déphosphorylation. **Le réglage par phosphorylation-déphosphorylation des facteurs d'initiation de la traduction est une réponse à différents facteurs environnementaux** (température, facteurs de croissance ou de la nourriture, des infections, etc.)

5. Contrôle de l'expression génique par des molécules d'ARN

98% de l'ARN obtenu par transcription est dérivé des régions non codantes pour des protéines. (98% de l'ADN total)

Les fonctions de ces types d'ARN sont les suivants:

- de liaison et de blocage de l'ARNm (**inhibiteurs de traduction**)
- de liaison et de blocage de l'ADN (**contrôle de la transcription**)
- de liaison et de blocage des protéines (**blocage de la transcription**).

Inhibiteurs chemotherapytiques de l'expression des gènes

Inhibiteurs de la synthèse des bases puriques

- asaserine
- diasonorleucine
- 6 – mercaptopurine

inhibiteurs de la synthèse des bases pyrimidiques

- 5 – fluorouracyle
- aminoptherine
- ametoptherine (methotrexat)

inhibiteurs de la réplication d'ADN

- mitomycine
- Cyclophosphamide

inhibiteurs de la transcription d'ARN

- rifampicine
- actynomycine
- Amanitine (naturel)

inhibiteurs de la traduction des protéines

- puromycine
- streptomycine
- chloramphénicol
- cycloheximide
- érythromycine

