

# SV-F-2 L'EXPRESSION DU GÉNOME



# EXTRAIT DU B.O.

Savoirs visés	Capacités exigibles
<p>La transcription de l'ADN en ARN est assurée par des ARN polymérases. Elle se déroule en trois étapes (initiation, élongation, terminaison) et génère plusieurs types d'ARN : ARN<sub>m</sub>, ARN<sub>t</sub>, ARN<sub>r</sub>, et petits ARN. La transcription est initiée au niveau d'un promoteur reconnu par un complexe d'initiation et modulée positivement ou négativement par des facteurs de transcription.</p> <p>Un gène est une unité de transcription avec ses séquences régulatrices, c'est-à-dire une séquence d'ADN nécessaire à la synthèse d'un ARN. Ce dernier peut conduire à la synthèse d'un ou plusieurs polypeptides.</p> <p>Chez les Eucaryotes, les ARN pré-messagers subissent une maturation (excision-épissage s'ils sont morcelés, ajout d'une coiffe en 5', polyadénylation en 3') dans le noyau. Les ARN messagers obtenus sont exportés vers le cytosol.</p> <p>Des mécanismes comme l'épissage alternatif, produisent des ARNm différents pour une même unité de transcription. L'ensemble des ARN transcrits et maturés constitue le transcriptome cellulaire.</p> <p>Dans le cytosol, les ARNm matures sont traduits en polypeptides. La traduction repose sur la coopération fonctionnelle entre différentes classes d'ARN au sein des ribosomes. Elle comprend une phase d'initiation, d'élongation et de terminaison. La correspondance entre un codon et un acide aminé est assurée par les ARN<sub>t</sub> suivant le code génétique. Les amino-acyl ARN<sub>t</sub> synthétases assurent la fidélité de la correspondance acide aminé/codon sur l'ARN<sub>t</sub>. La transpeptidation est catalysée par un ARN<sub>r</sub> (ribozyme) de la grande sous-unité du ribosome. La machinerie de traduction assure la conversion de l'information codée dans la séquence nucléotidique en séquence d'acides aminés.</p> <p>Chez les Eucaryotes, la traduction est réalisée dans le cytosol et dans les organites semi-autonomes.</p> <p>Chez les bactéries, transcription et traduction sont simultanées. La protéine synthétisée ou en cours de synthèse peut être adressée à un compartiment particulier grâce à une séquence signal et une machinerie d'adressage en interaction avec le système de traduction. L'acquisition de la structure tridimensionnelle d'une protéine (repliement) peut être assistée par des protéines chaperonnes. Une protéine peut subir des modifications post- traductionnelles.</p> <p>Les virus se multiplient en détournant la machinerie d'expression de l'information génétique de la cellule hôte.</p> <p>Des modifications de l'environnement cellulaire ou des signaux internes à la cellule influencent l'expression du génome. Ces diverses influences conduisent à des phénotypes variés.</p> <p>Chez les Eucaryotes, l'ensemble des contrôles transcriptionnels, post-transcriptionnels et post-traductionnels expliquent la diversité des transcriptomes et des protéomes. La diversité des ARN et protéines produits à un instant donné est à l'origine du phénotype des cellules et des organismes.</p> <p>Des modifications expérimentales par mutagenèse aléatoire ou ciblée ou transgenèse permettent d'étudier les liens entre génotype et phénotype. Les transcriptomes et protéomes peuvent être étudiés à l'aide de sondes nucléotidiques et d'anticorps spécifiques respectivement.</p>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Expliquer le principe de polymérisation d'un ARN par l'ARN polymérase.</li><li>- Représenter schématiquement la structure d'un gène eucaryote avec l'ensemble de ses caractéristiques.</li><li>- Discuter le concept de gène.</li><li>- Expliquer l'importance des processus co- et post-transcriptionnels dans la diversification et le contrôle de la demi-vie des transcrits.</li><li>- Expliquer l'importance des interactions entre ARN au cours des différentes étapes de la traduction</li><li>- Relier le phénomène d'adressage à la spécialisation des compartiments.</li><li>- Analyser et interpréter des résultats expérimentaux issus des principales méthodes d'étude du transcriptome et du protéome, le principe de la méthode étant fourni.</li><li>- Analyser des résultats issus d'expériences de transgenèse ou de mutagenèse.</li><li>- Analyser et interpréter des résultats expérimentaux utilisant les techniques de Southern blot, northern blot, western blot, hybridation in-situ ou de puce à ADN.</li><li>- Identifier et justifier les témoins de charge des blots.</li></ul>



I. La transcription, synthèse d'une copie partielle et mobile d'ADN

- A. Rappels des caractéristiques des acides nucléiques et mise en évidence expérimentale de leur synthèse
- B. Synthèse par l'ARN polymérase
- C. Initiation et terminaison de la transcription
- D. Maturation des ARN (m uniquement traités)
- E. Bilan de la transcription

II. La traduction: synthèse de protéines par lecture d'ARNm

- A. Rappels sur le code génétique
- B. Les acteurs de la traduction
- C. Les étapes de la traduction
- D. Les modalités de la traduction diffèrent selon les sites d'adressage des protéines
- E. Des modifications des protéines cou ou post-traductionnelles

# INTRODUCTION

- Les protéines sont indispensables au fonctionnement des cellules où elles assurent une grande diversité de fonctions (structure, réserve, catalyse, transport, mouvement, défense, signalisation).
- Toute protéine est encodée par un **gène porté par l'ADN**.
- La **transcription** permet de produire une copie, sous forme **d'ARN**, de l'information génétique contenue dans un gène.
- La **traduction** permet ensuite de convertir l'information génétique de l'ARN en une **séquence d'acides aminés** (cf. code génétique).
- Au sein des organismes pluricellulaires, il existe différents types cellulaires correspondant à différents protéomes malgré un génome commun.  
→ Existence de mécanismes de **contrôle de l'expression du génome**

**Génome** : (n.m.) ensemble des molécules d'ADN dans une cellule et l'information qu'elles portent

**Transcriptome** : (n.m.) ensemble des ARN présents dans une cellule ou un organisme

**Protéome** : (n.m.) ensemble des protéines présentes dans une cellule ou un organisme

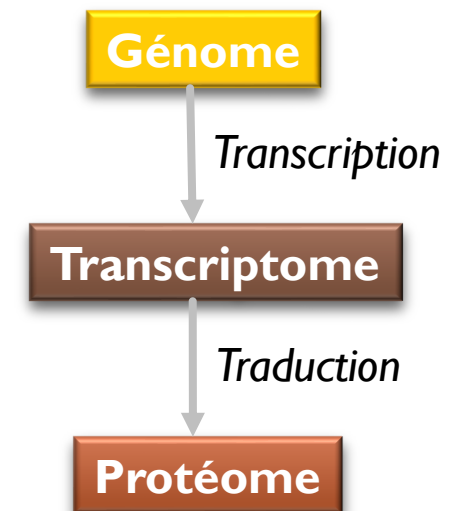


Schéma général de l'expression génétique

# INTRODUCTION GÉNÉRALE

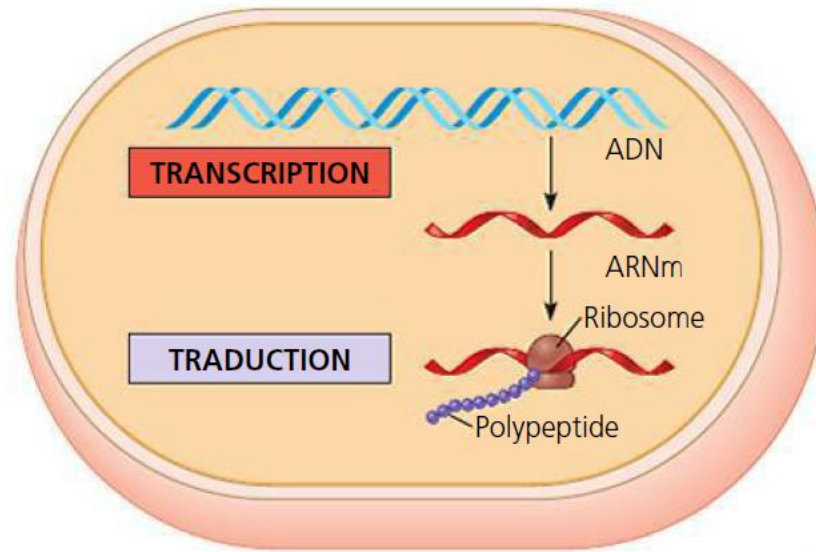
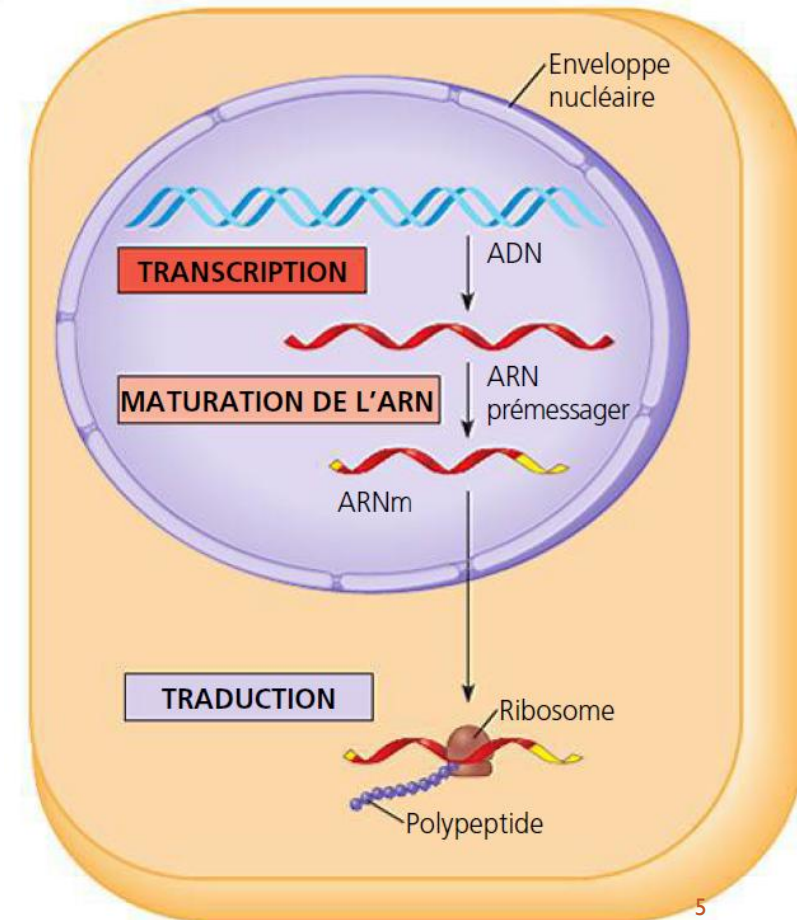
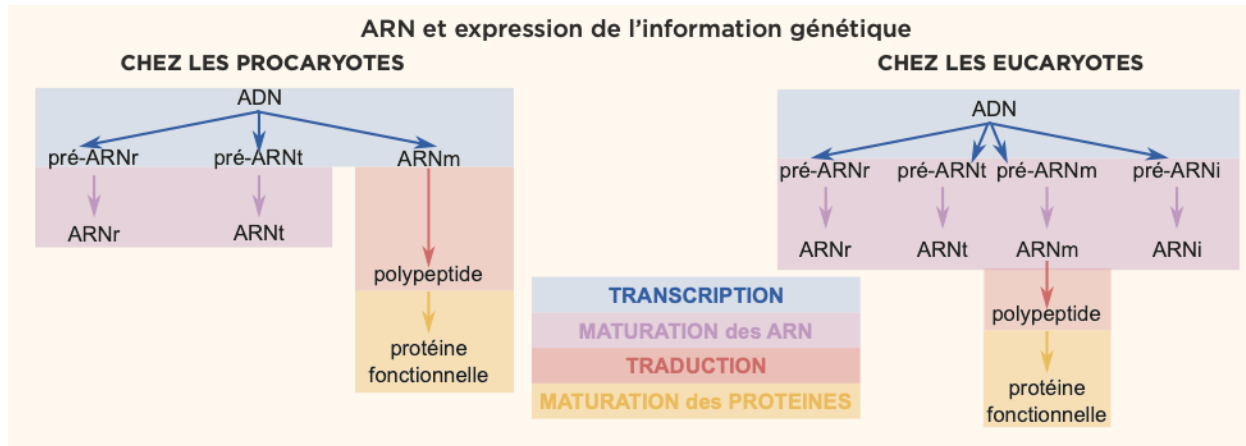


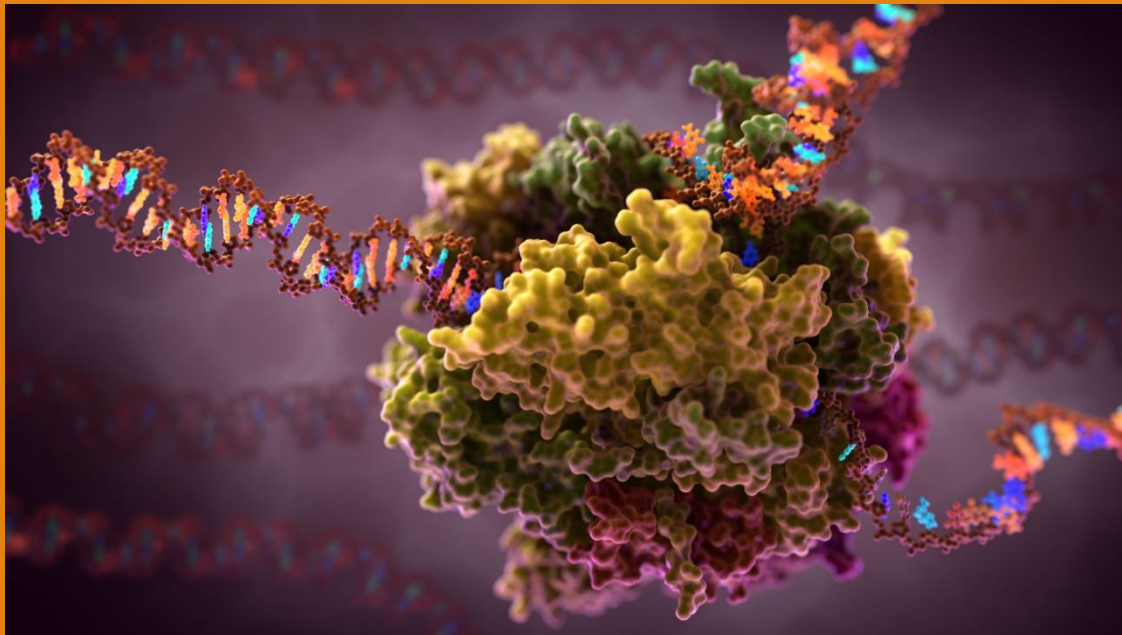
Figure 1 : Expression génétique chez les bactéries et les Eucaryotes (Campbell, 2012)



Quelles sont les modalités de l'expression génétique, et comment celle-ci est-elle contrôlée ?

# LA TRANSCRIPTION, SYNTHÈSE D'UNE COPIE PARTIELLE ET MOBILE DE L'ADN

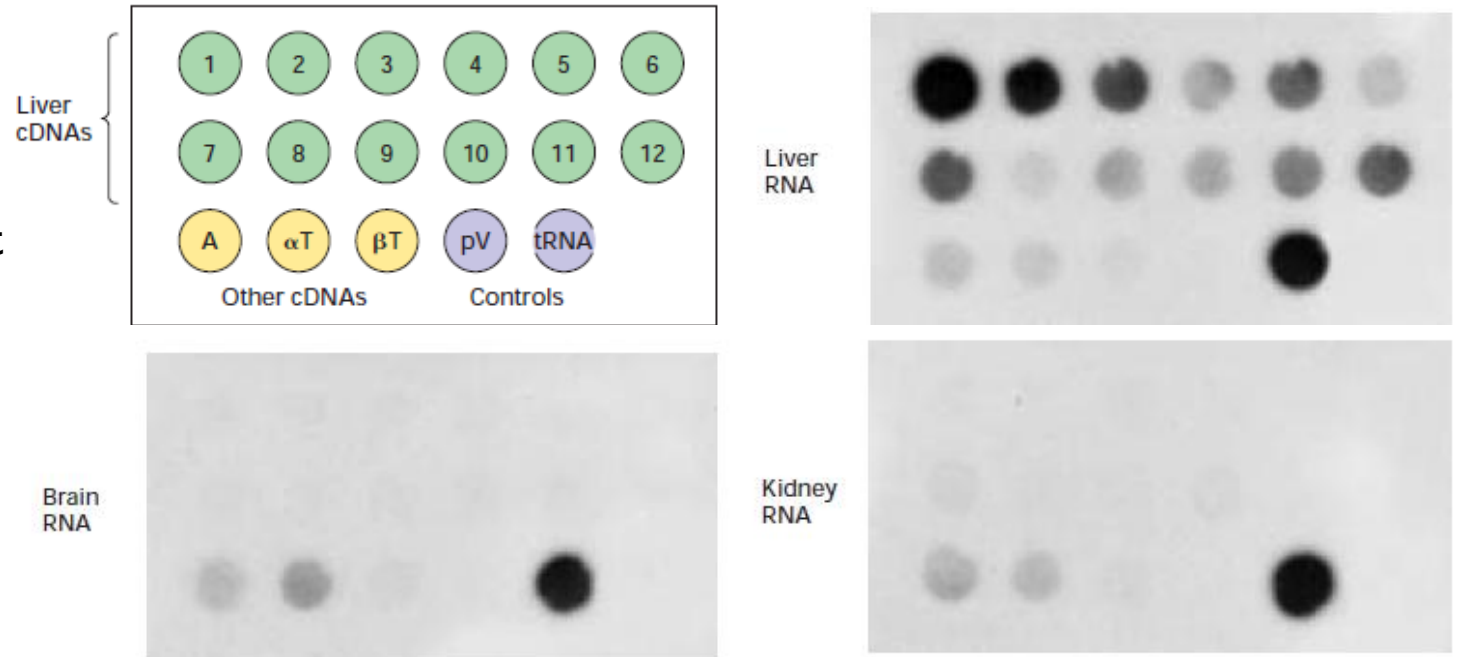
## SV-F-2- L'EXPRESSION DES GÉNOMES



## INTRODUCTION

- La transcription correspond à la première étape de l'expression du génome : l'ADN est transcrit en différents types d'ARN (t, m, r, i...).
- Expérience chez différents tissus de souris exposés à l'UTP<sup>32P</sup>
  - ARN transcrits dans ≠ cellules
  - Les ARN exprimés sont différents d'un type cellulaire à l'autre

➔ L'expression génétique est contrôlée dès la phase de transcription.



Mesure de la production d'ARN dans différents tissus d'ARN où ils sont exprimés (études réalisées chez la souris, exposés à l'UTP 32P), Lodish 2008

A: actine; αT: tubuline α; βT: tubuline β; pV: vecteur plasmidique; tRNA: ARNt

**Comment se déroule la transcription ? Comment celle-ci est-elle contrôlée afin de réguler l'expression génétique à l'échelle d'une cellule ?**

# QUIZ – RÉVISIONS GÉNOME

## Compléter ce texte

L'ADN est constitué de deux brins, on dit alors qu'il est **bicaténaire** ...

Ces deux brins s'associent grâce à la **complémentarité** des bases azotées (A et T, C et G) et avec une orientation **5' → 3'** .....

En 3D, l'ADN a une forme de double hélice dont le diamètre est de ... **2** . nm. Un tour d'hélice correspond à environ **10** paires de bases.

La surface de la double hélice représente un grand et un petit . **sillon** .. avec lesquels peuvent interagir des protéines.

Le phénomène correspondant à l'association de 2 chaînes polynucléotidiques grâce à des liaisons hydrogène est appelé **hybridation** .....



**I. La transcription, synthèse d'une copie partielle et mobile d'ADN**

**A. Rappels des caractéristiques des acides nucléiques et mise en évidence expérimentale de leur synthèse**

B. Synthèse par l'ARN polymérase

C. Initiation et terminaison de la transcription

D. Maturation des ARN (m uniquement traités)

E. Bilan de la transcription

**II. La traduction: synthèse de protéines par lecture d'ARNm**

A. Rappels sur le code génétique

B. Les acteurs de la traduction

C. Les étapes de la traduction

D. Les modalités de la traduction diffèrent selon les sites d'adressage des protéines

E. Des modifications des protéines cou ou post-traductionnelles

# I. LA TRANSCRIPTION, SYNTHÈSE D'UNE COPIE PARTIELLE ET MOBILE D'ADN

## A. RAPPEL DES CARACTÉRISTIQUES DES ACIDES NUCLEIQUES ET MISE EN EVIDENCE EXPERIMENTALE DE LEUR SYNTHÈSE

### I. Rappels sur la composition et la structure des acides nucléiques

- ADN et ARN = **acides nucléiques** → polymères de nucléotides phosphates
- 1 monomère = ribose (ou désoxyribose) + base azotée (A, T/U, C, G) + groupement phosphate.
- Polymères orientés : extrémité 3' -OH → extrémité 5' phosphate.
- **Association** de deux polymères de nucléotides par des liaisons faibles entre les bases azotées (comme dans l'ADN bicaténaire) si :
  - **Complémentarité** des bases (A-T/U et C-G)
  - Brins associés **antiparallèles** (extrémités 5' et 3' opposées)
- **Association temporaire en double hélice** durant la transcription d'un brin d'ADN et un brin d'ARN
- Brin d'ARN formé = complémentaire et antiparallèle du brin d'ADN associé, appelé **ADN matrice**

Cf SV-D-2

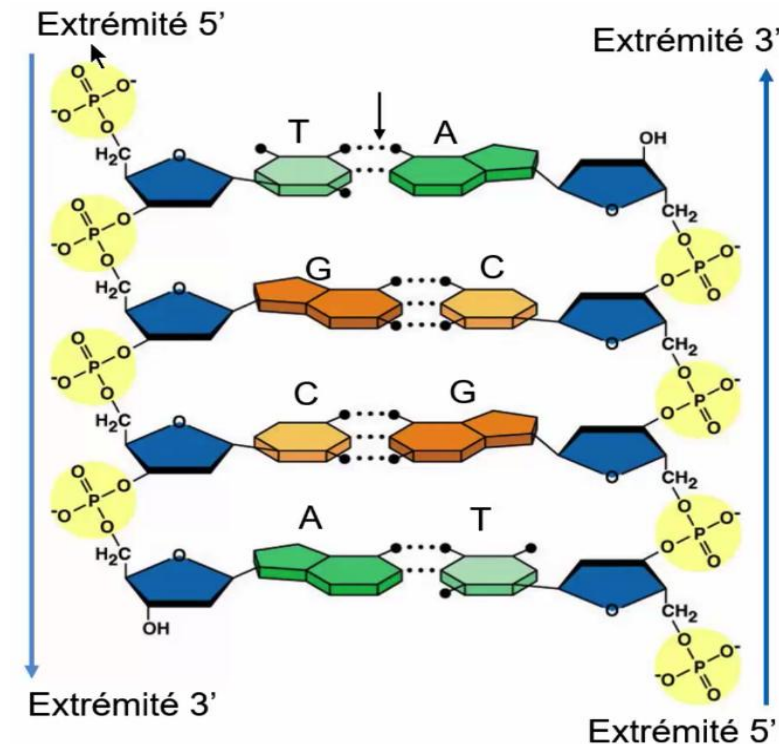


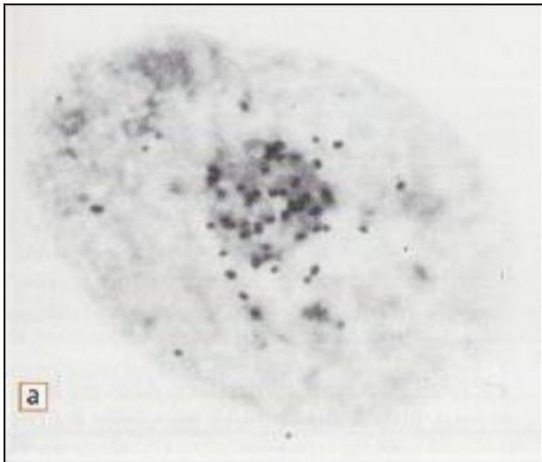
Figure 3 : Structure bicaténaire de l'ADN

# I. LA TRANSCRIPTION, SYNTHÈSE D'UNE COPIE PARTIELLE ET MOBILE D'ADN

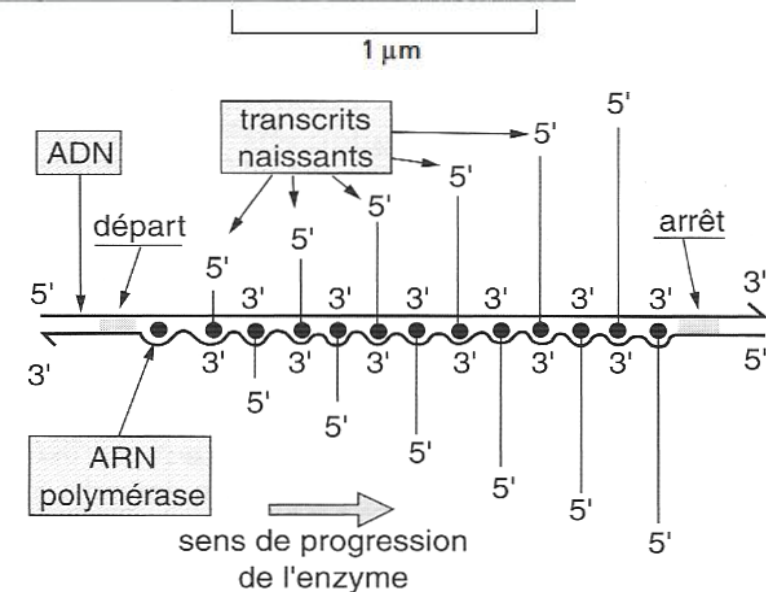
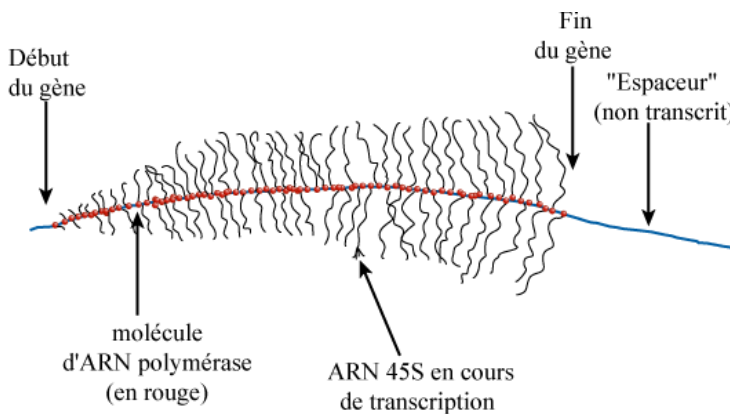
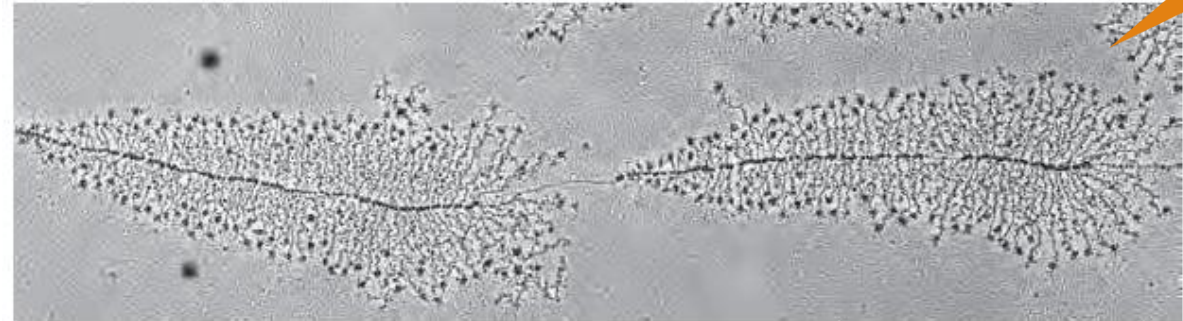
## A. RAPPEL DES CARACTÉRISTIQUES DES ACIDES NUCLEIQUES ET MISE EN ÉVIDENCE EXPERIMENTALE DE LEUR SYNTHÈSE

Identifiez le sens de la transcription

### 2. Mise en évidence expérimentale



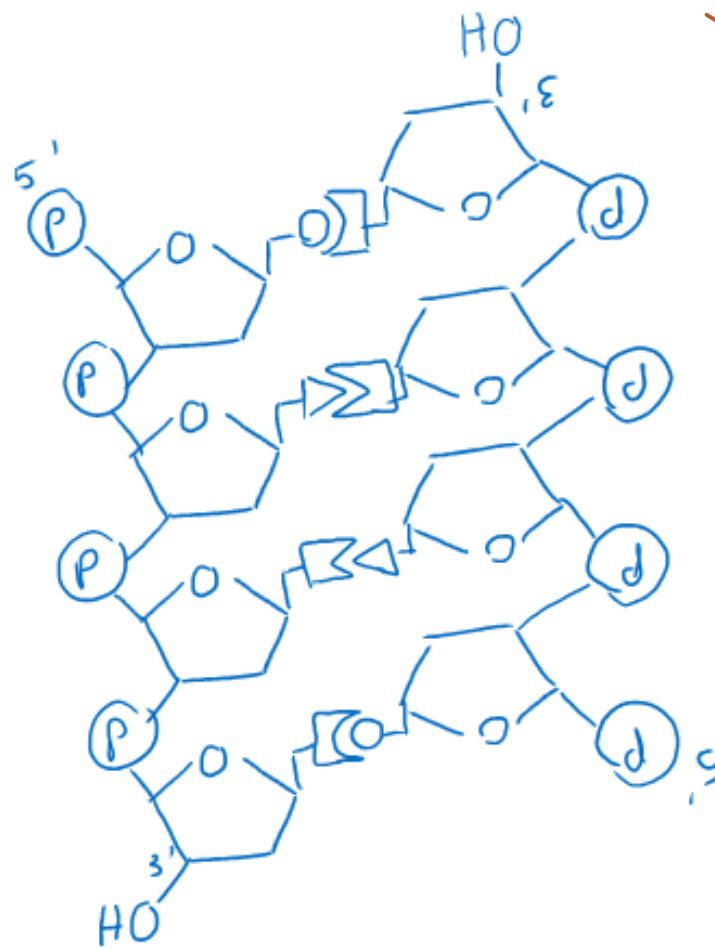
Cellules cultivées pendant 15 min dans un milieu contenant de l'UTP (uridine triphosphate)



Observation de la transcription au niveau des gènes codant les ARNr (35 S) chez les eucaryotes (MET) et schéma d'interprétation.

- Chez les **Eucaryotes**, transcription dans le **noyau**.
- Un gène est **transcrit simultanément** par **plusieurs enzymes**
  - figure en « **arbre de Noël** »
  - **Unité de transcription**

Cf SV-D-2  
Slide 48



*La double hélice est composée de deux chaînes antiparallèles*

# I. LA TRANSCRIPTION, SYNTHÈSE D'UNE COPIE PARTIELLE ET MOBILE D'ADN

## A. RAPPEL DES CARACTÉRISTIQUES DES ACIDES NUCLEIQUES ET MISE EN ÉVIDENCE EXPERIMENTALE DE LEUR SYNTHÈSE

### 2. Mise en évidence expérimentale

- Chez les Eubactéries, transcription cytoplasmique
- Transcription presque en même temps que la traduction

Cf SV-F-1-1

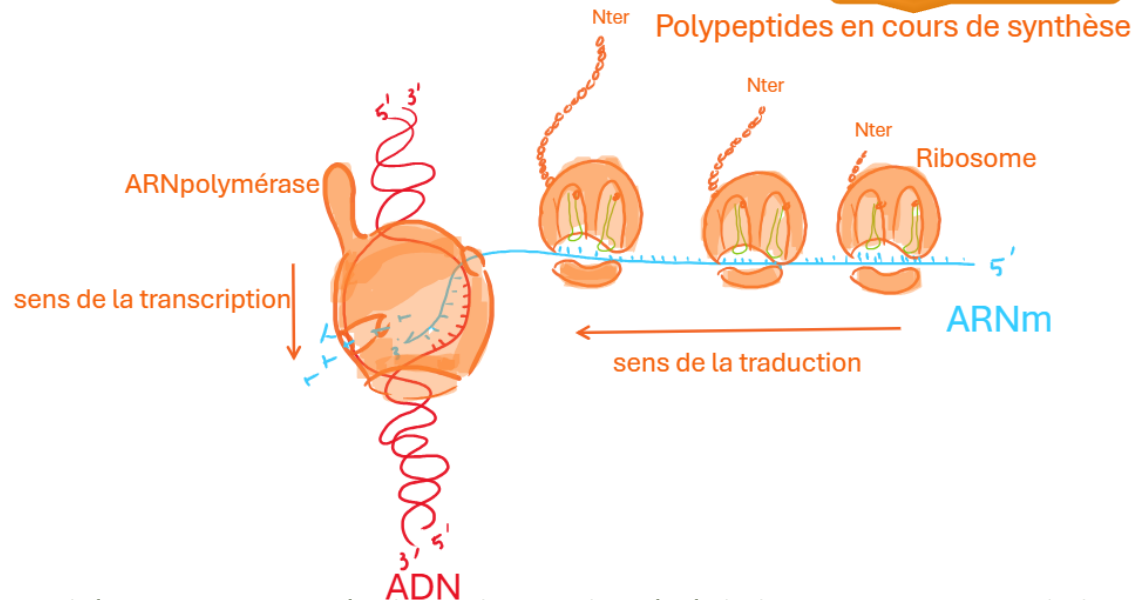
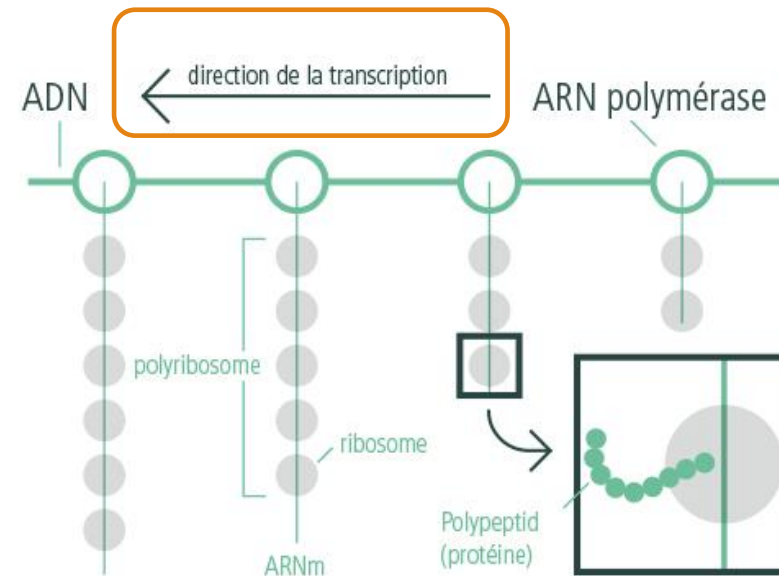
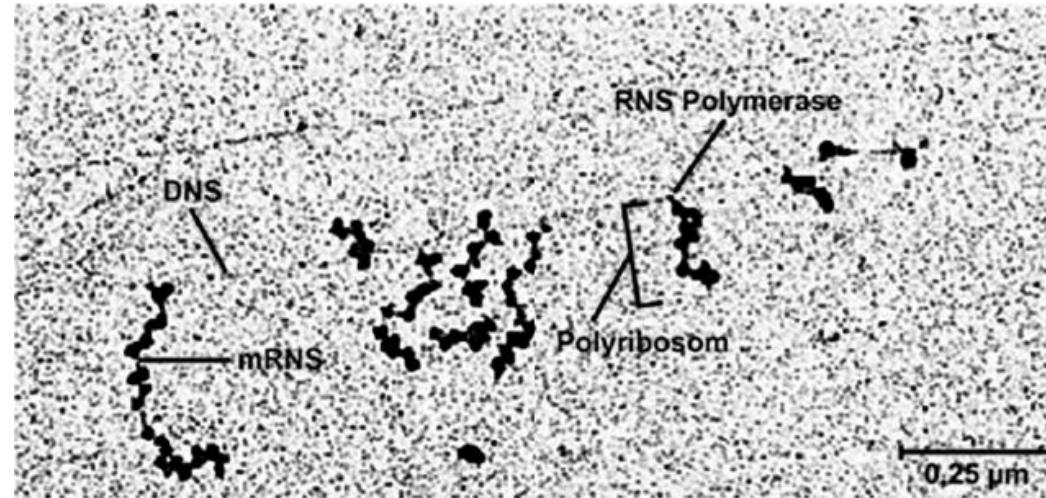


Schéma mettant en évidence la simultanéité de la transcription et de la traduction chez les bactéries (d'après A. Denis)



Transcription et traduction simultanée chez les Eubactéries



I. La transcription, synthèse d'une copie partielle et mobile d'ADN

A. Rappels des caractéristiques des acides nucléiques et mise en évidence expérimentale de leur synthèse

**B. Synthèse par l'ARN polymérase**

C. Initiation et terminaison de la transcription

D. Maturation des ARN (m uniquement traités)

E. Bilan de la transcription

II. La traduction: synthèse de protéines par lecture d'ARNm

A. Rappels sur le code génétique

B. Les acteurs de la traduction

C. Les étapes de la traduction

D. Les modalités de la traduction diffèrent selon les sites d'adressage des protéines

E. Des modifications des protéines cou ou post-traductionnelles



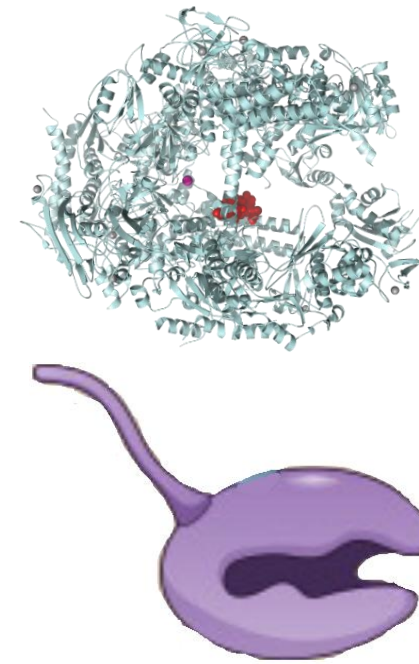


## B. SYNTHÈSE PAR L'ARN POLYMÉRASE

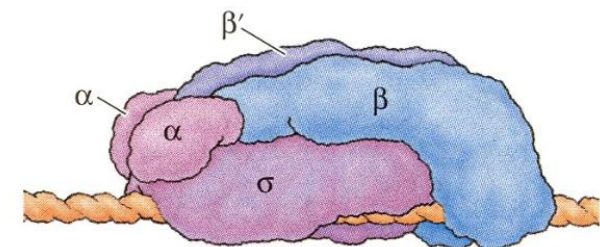
### 2. Diversité des ARN polymérases

- Les **enzymes** qui assurent la transcription sont appelées **ARN polymérases = ARN pol.**
- **Chez les Eucaryotes**, il existe 3 ARN polymérases (gros complexes protéiques) différentes, chacune étant responsable de la synthèse de certains ARN :
  - ARN pol I → produit la majorité des ARNr (28S, 18S, 5,8S)
  - ARN pol II → produit les ARNm et certains petits ARN
  - ARN pol III → produit les ARNt, une partie des ARNr (5S)
- **Chez les Eubactéries**, il y a une unique ARN pol (structure assez simple)

*Rem : d'autres ARN polymérases encore peu connues (IV et V) semblent participer à la synthèse des ARN interférents notamment chez les végétaux*



*Modèle moléculaire et schéma de l'ARN pol II eucaryote, seule ou associée à l'ADN et l'ARN. L'ARN pol II fait 500 kDa et possède 12 s.u. Elle forme une pince autour de l'ADN et possède une longue queue C-ter.*



*Structure de l'ARN polymérase d'E. coli (5 s.u.)*

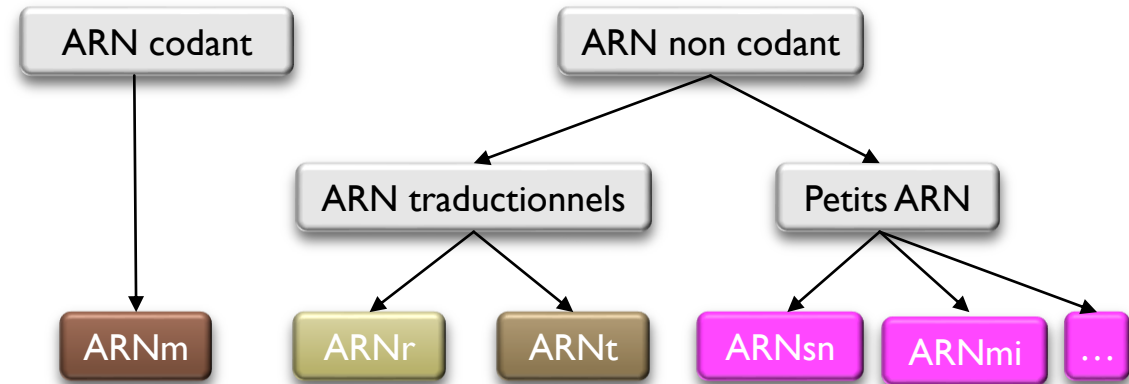
- La transcription permet de synthétiser les différents types d'ARN présents dans les cellules.

- Seuls ~5% des ARN transcrits codent des protéines et sont donc traduits.

Cf. SV-D-2



50% des ARNm sont dégradés en moins de 3 minutes..



Type	Proportion	Taille	Rôle
<b>ARNr</b> (ribosomique)	80%	—	Participe à la structure et la fonction (ribozyme) des ribosomes
<b>ARNt</b> (transfert)	15%	75-85 nt	Etablit la correspondance entre un codon et un AA
<b>ARNm</b> (messenger)	< 5%	Variable (< 10 <sup>4</sup> nt)	Transporte l'information génétique du noyau au cytoplasme
<b>snARN</b> (small nuclear)		60-300 nt	Participe à la maturation des ARNm
<b>miARN</b> (micro)	2%	21-25 nt	Régule l'expression des gènes
<b>lncARN</b> (long non-coding)		> 200 nt	Régule l'expression des gènes

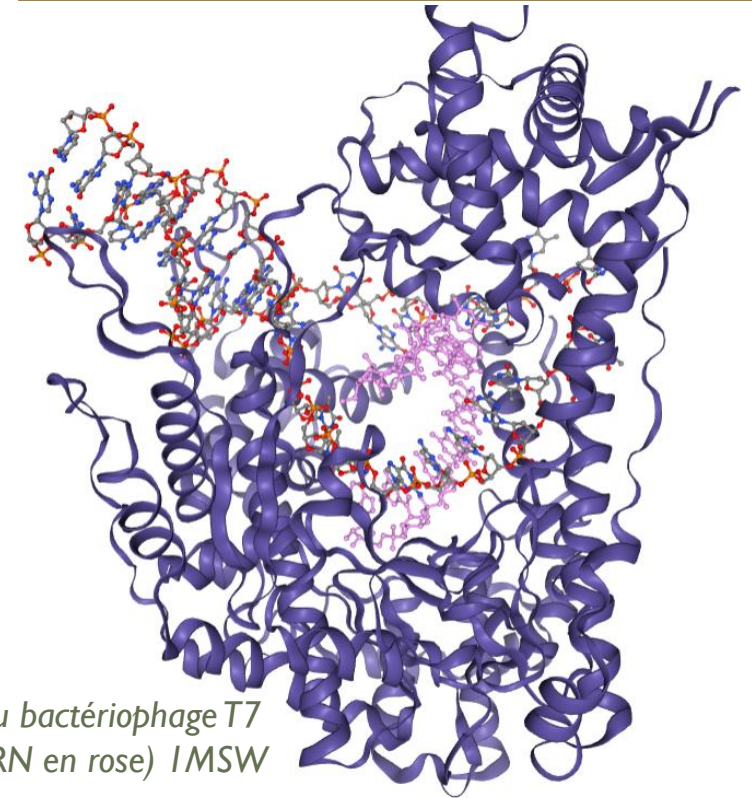


## ANALYSE SUR LIBMOL DE L'ARN POLYMÉRASE (IMSW)

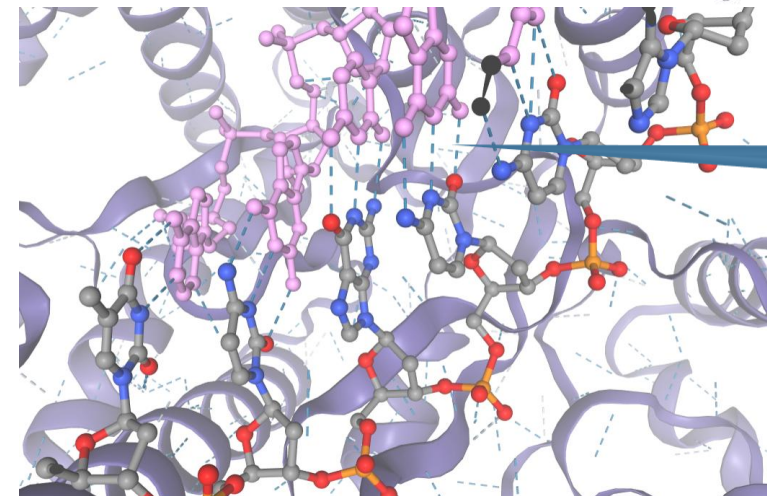
<https://libmol.org/?libmol=208>

1. Caractériser la structure tertiaire de l'enzyme.
2. Mettre en évidence la conformation tridimensionnelle de l'ARN polymérase et les acides aminés impliqués dans la fixation du substrat (site actif de l'enzyme)

- ARN polymérase : globulaire
- Double hélice de l'ADN ouverte
- Synthèse de nucléotides complémentaires
- Précurseur : guanosine-3-P (sucre : ribose)



ARN Polymérase (violet) du bactériophage T7 en cours de réplication (ARN en rose) IMSW



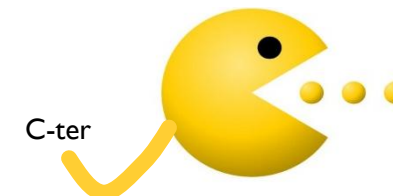
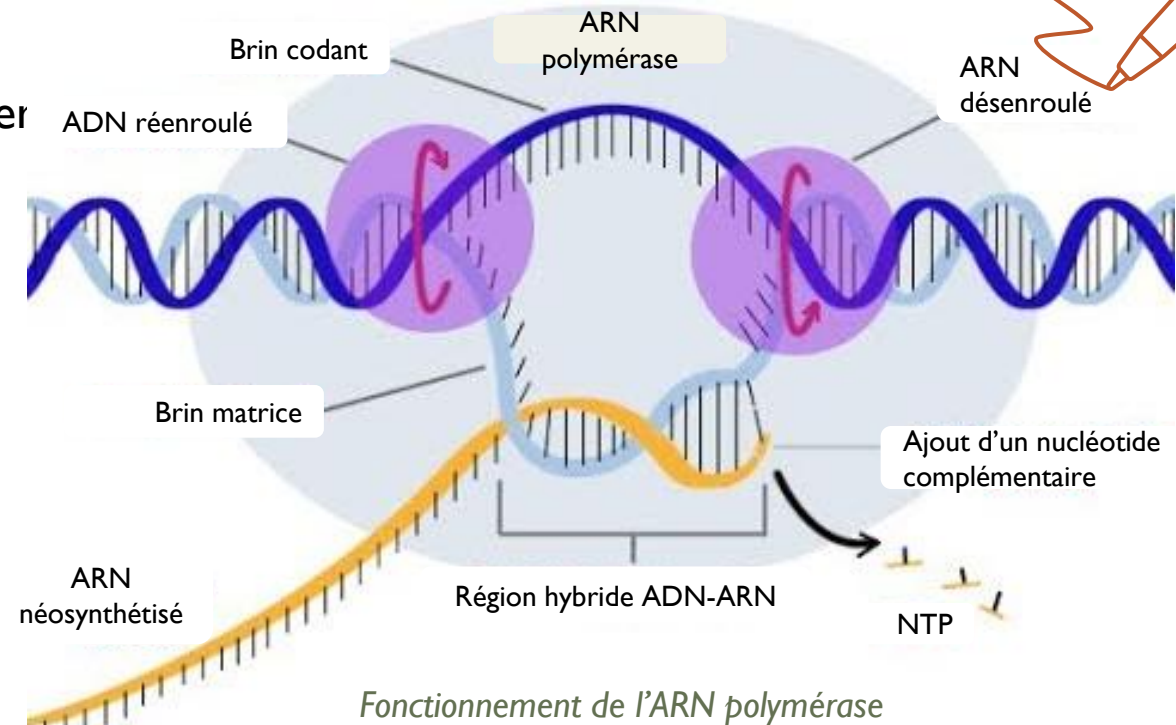
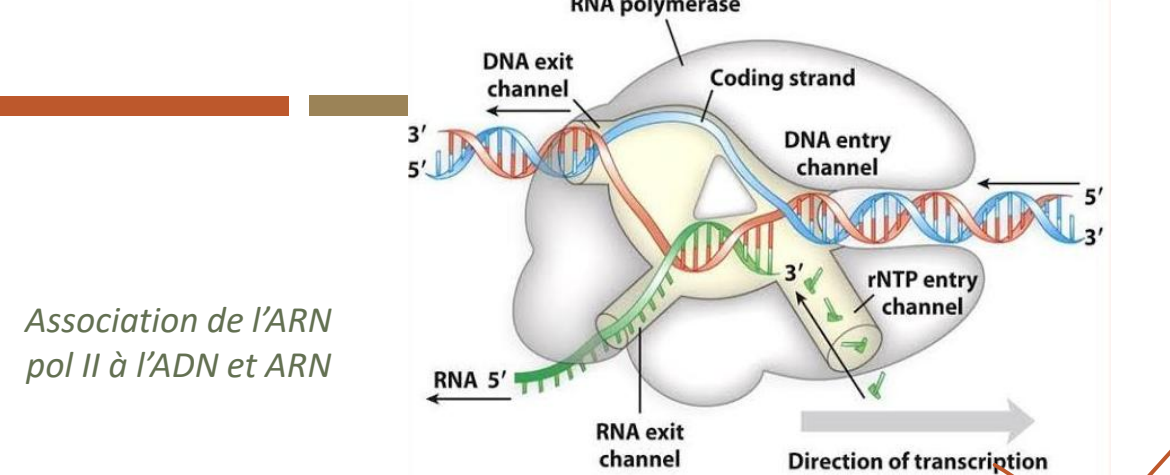
Liaisons H entre ARN et ADNc

## B. SYNTHÈSE PAR L'ARN POLYMÉRASE

### 3. Progression de la synthèse d'ARN (1/2)

Exemple étudié :ARN polymérase II des eucaryotes

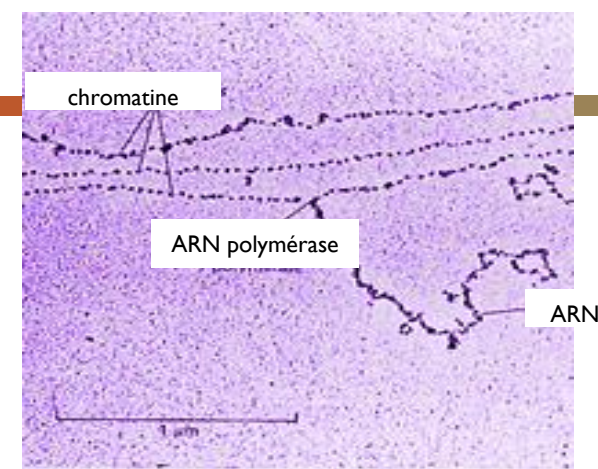
- Protéine de 500 kDa et ~12 sous-unités
- Structure globulaire en pince avec une longue extrémité C-ter
- Position de l'ARN polymérase :
  - ✓ Recouvre d'ADN sur ~30 pb
  - ✓ L'hélice est déroulée sur ~2 tours d'hélice
  - Zone déroulée = **bulle de transcription**
- Au niveau de la synthèse :
  - ✓ Une hélice ADN/ARN se forme sur qq pb (<10)
  - ✓ L'hélice ADN/ADN se reforme rapidement



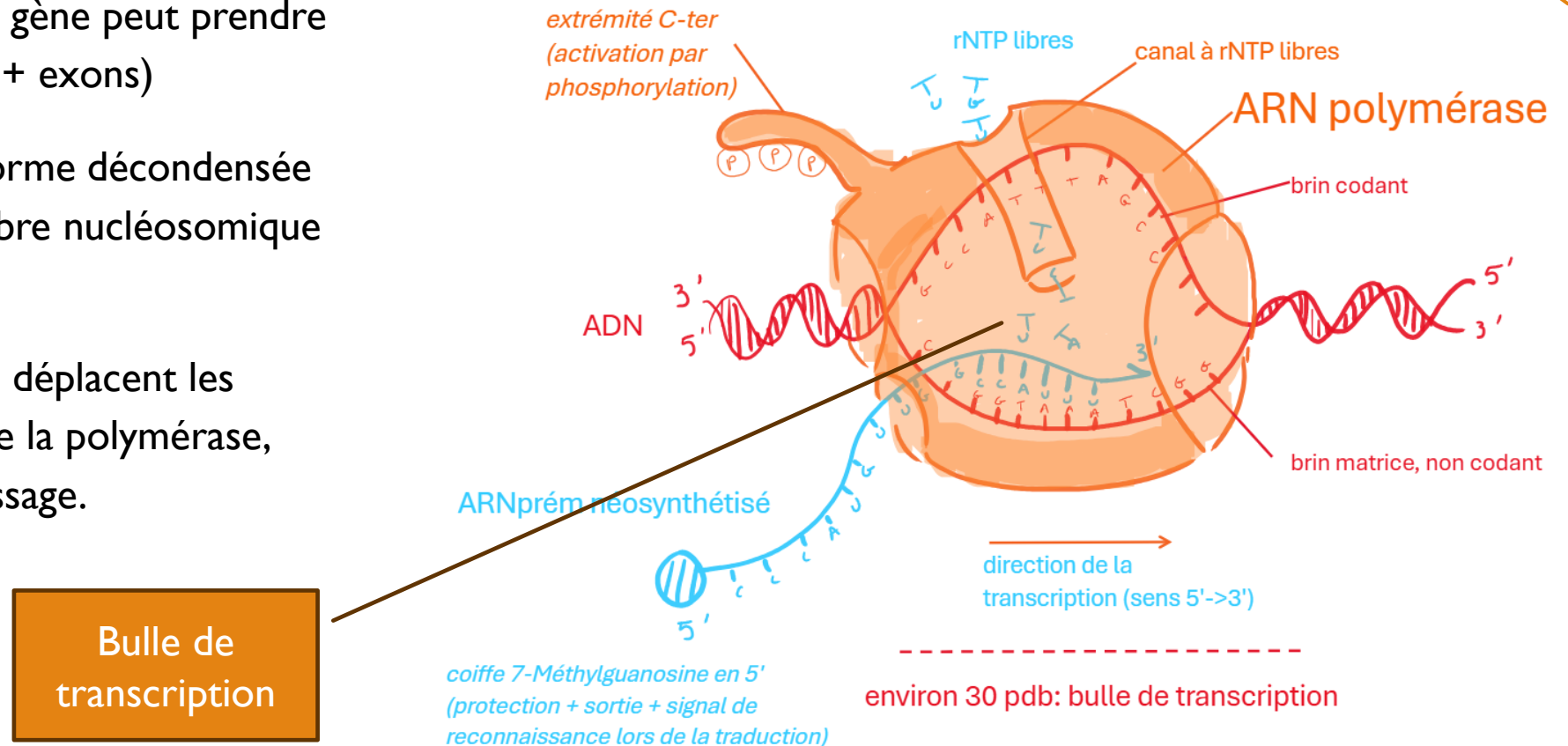
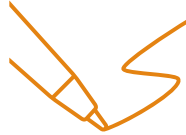
## B. SYNTHÈSE PAR L'ARN POLYMÉRISE

### 3. Progression de la synthèse d'ARN (1/2)

- **L'ARN polymérase II** progresse plutôt lentement : **2000 nt/min.**
- La transcription d'un seul gène peut prendre plusieurs heures (introns + exons)
- La chromatine est sous forme décondensée durant la transcription (fibre nucléosomique de 11 nm)
- Des facteurs d'élongation déplacent les nucléosomes en amont de la polymérase, afin de permettre son passage.



Electronographie de transcription (MET)



Complexe de transcription

**Fonctionnement de l'ARN polymérase**



I. La transcription, synthèse d'une copie partielle et mobile d'ADN

- A. Rappels des caractéristiques des acides nucléiques et mise en évidence expérimentale de leur synthèse
- B. Synthèse par l'ARN polymérase
- C. Initiation et terminaison de la transcription**
- D. Maturation des ARN (m uniquement traités)
- E. Bilan de la transcription

II. La traduction: synthèse de protéines par lecture d'ARNm

- A. Rappels sur le code génétique
- B. Les acteurs de la traduction
- C. Les étapes de la traduction
- D. Les modalités de la traduction diffèrent selon les sites d'adressage des protéines
- E. Des modifications des protéines cou ou post-traductionnelles

## C. INITIATION ET TERMINAISON DE LA TRANSCRIPTION

### I. Début de la transcription au niveau d'un promoteur

#### I.1. Fonctionnement d'un promoteur et initiation de la transcription

**Promoteur** = séquences d'initiation de transcription chez les Eucaryotes

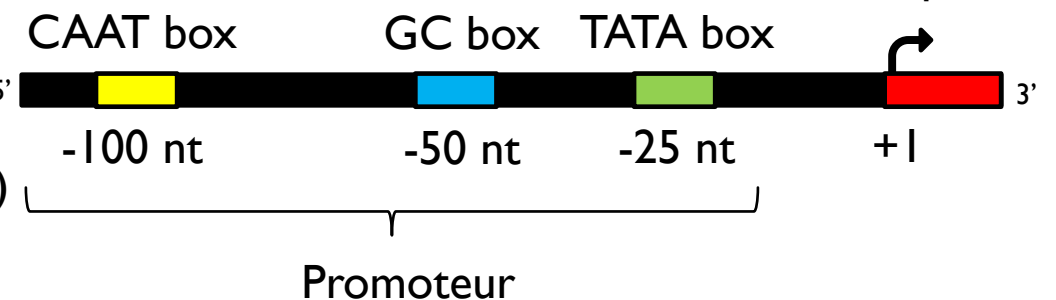
- Des séquences orientées en amont du site : rôle de **régulation**
- Liaison à des facteurs généraux de transcription

1) Séquence proche promotrice basale de la zone de transcription : 5'

- ✓ 25 nt en amont : **TATA box** (possède un motif répété TATA)

2) Il existe d'autres séquences promotrices facultatives plus proximales :

- ✓ La boîte **CAAT** : située vers -120 à -80 nucléotides
  - ✓ La boîte **GC** : située entre la CAAT box et la TATA box, parfois après la CAAT box
- Les séquences promotrices relativement conservées → **séquences consensus**



*Localisation des séquences consensus du promoteur en amont du premier nucléotide transcrit*

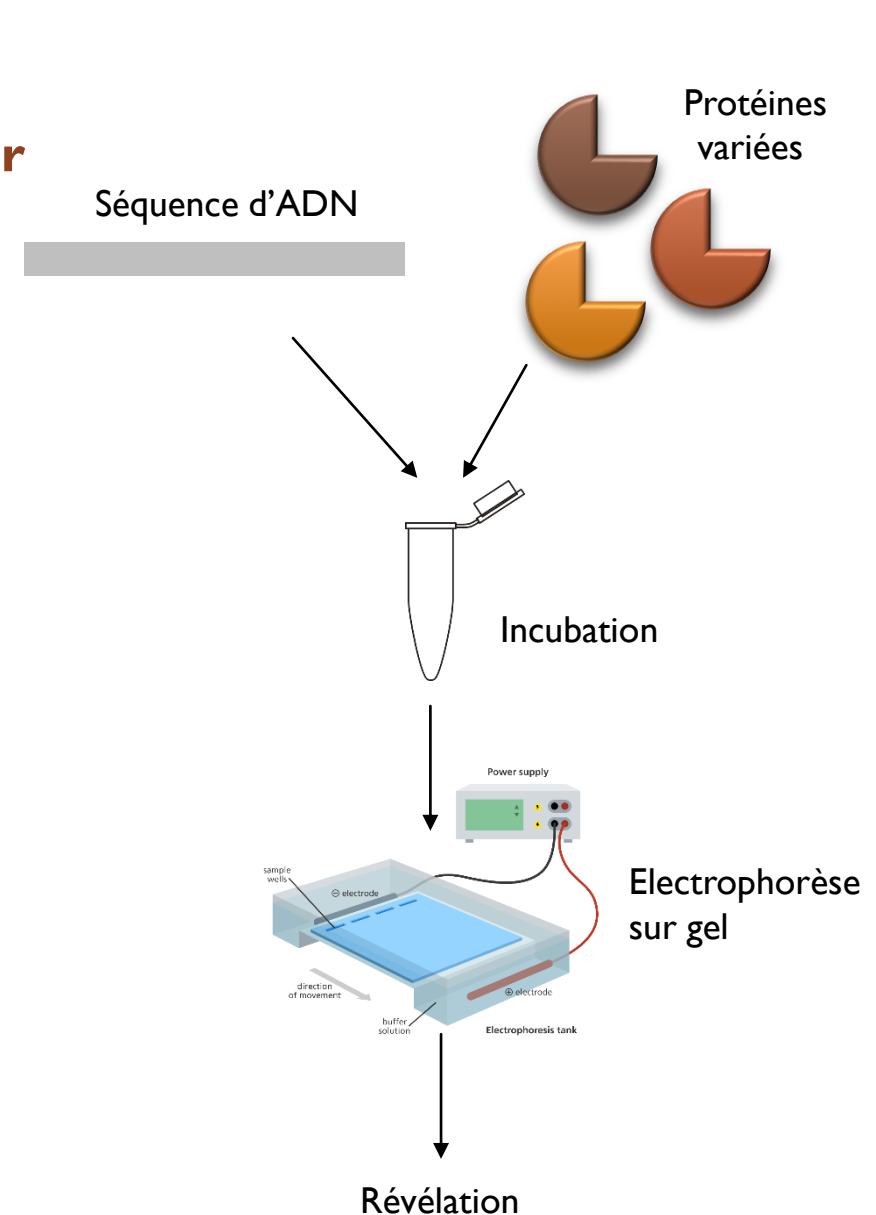
# C. INITIATION DE LA TRANSCRIPTION

## I. Début de la transcription au niveau d'un promoteur

### I.2. Expérience de retard sur gel

= EMSA (Electrophoretic Mobility Shift Assay)

- **Objectif** : identifier des interactions physiques entre acides nucléiques et protéines
- **Principe** :
  - On incube un fragment d'acide nucléique portant une séquence particulière avec une ou plusieurs protéines.
  - On soumet le mélange à une électrophorèse sur un gel, suivie d'une révélation.
  - Sur le gel, si bande correspondant à l'ADN est « décalée » en présence d'une protéine, cela indique une interaction physique entre l'ADN et cette protéine.



# C. INITIATION DE LA TRANSCRIPTION

## I. Début de la transcription au niveau d'un promoteur

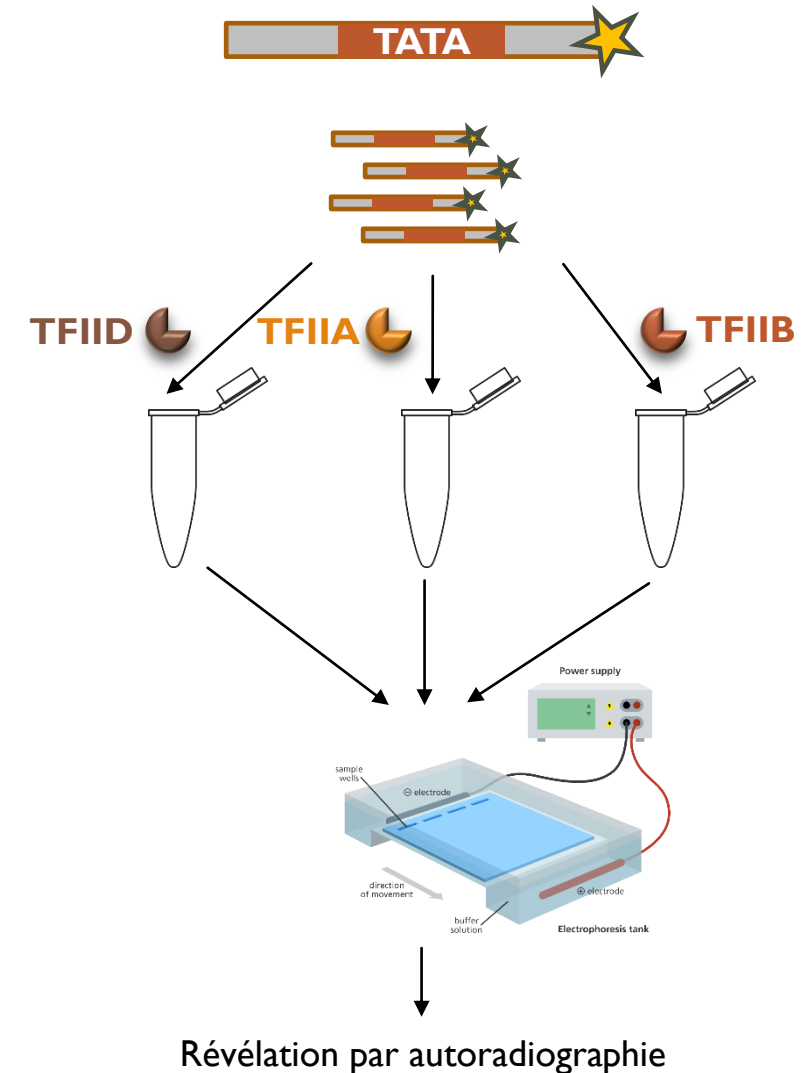
### I.2. Expérience de retard sur gel

= EMSA (Electrophoretic Mobility Shift Assay)

#### ■ Protocole :

- Synthèse *in vitro* d'un fragment d'ADN radiomarqué contenant une TATA box
- Incubation de l'ADN marqué avec différents facteurs de transcription (TF) purifiés, dans des tubes séparés.
- Electrophorèse sur gel de polyacrylamide.
- Révélation de l'ADN radiomarqué par autoradiographie

Séquence d'ADN radiomarquée contenant la TATA box



# C. INITIATION ET TERMINAISON DE LA TRANSCRIPTION

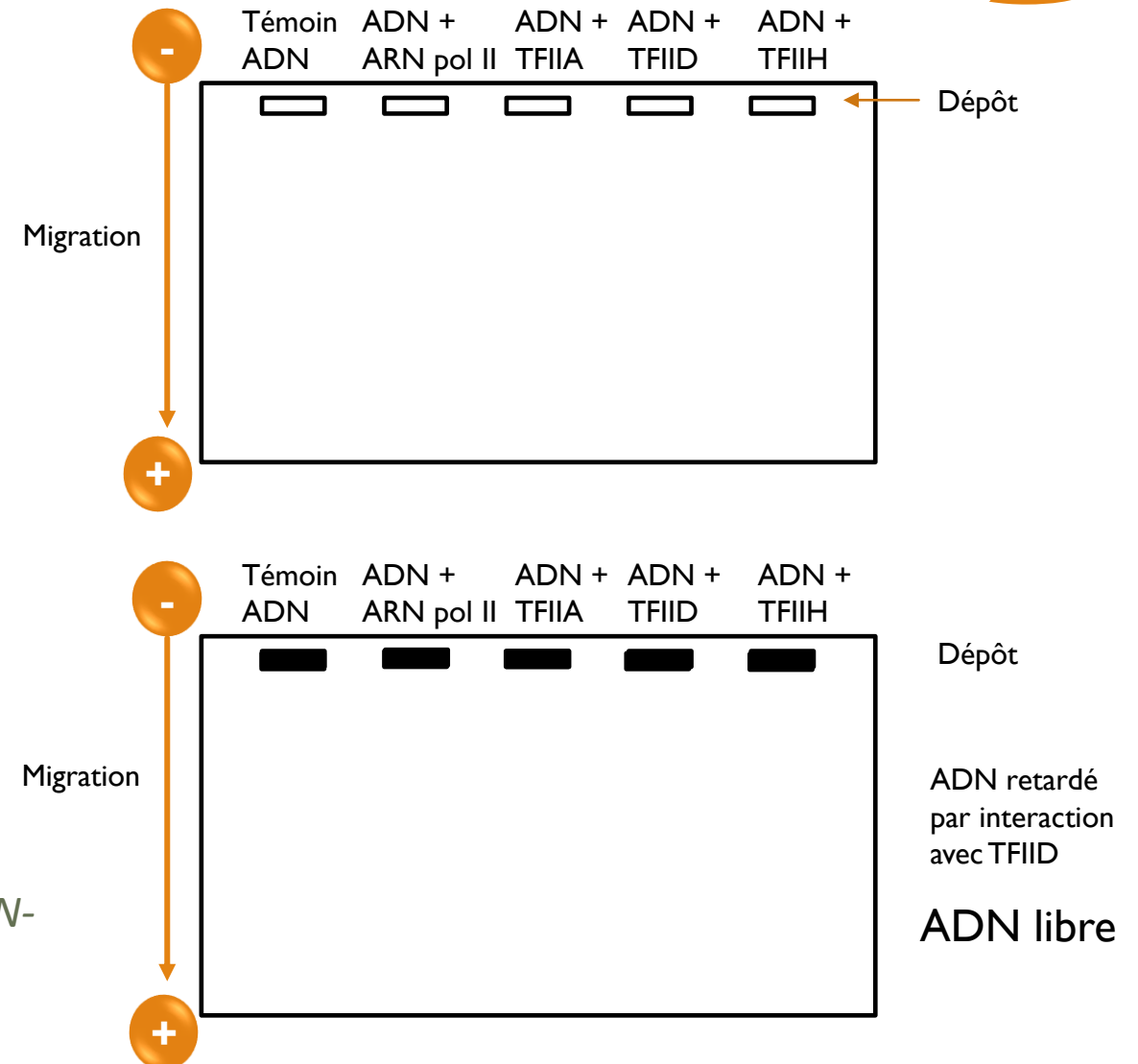


## I.2 les facteurs de transcription se lient à l'ADN

### Technique de retard sur gel

- **Objectif** : identifier des interactions entre acides nucléiques et protéines
- **Principe** :
  1. On incube un fragment d'acide nucléique portant une séquence particulière avec différentes protéines (tubes séparés).
  2. On soumet les différents mélanges à une électrophorèse sur un gel.

*Méthode de retard sur gel pour comprendre le lien ADN-facteurs de transcription*



# C. INITIATION ET TERMINAISON DE LA TRANSCRIPTION



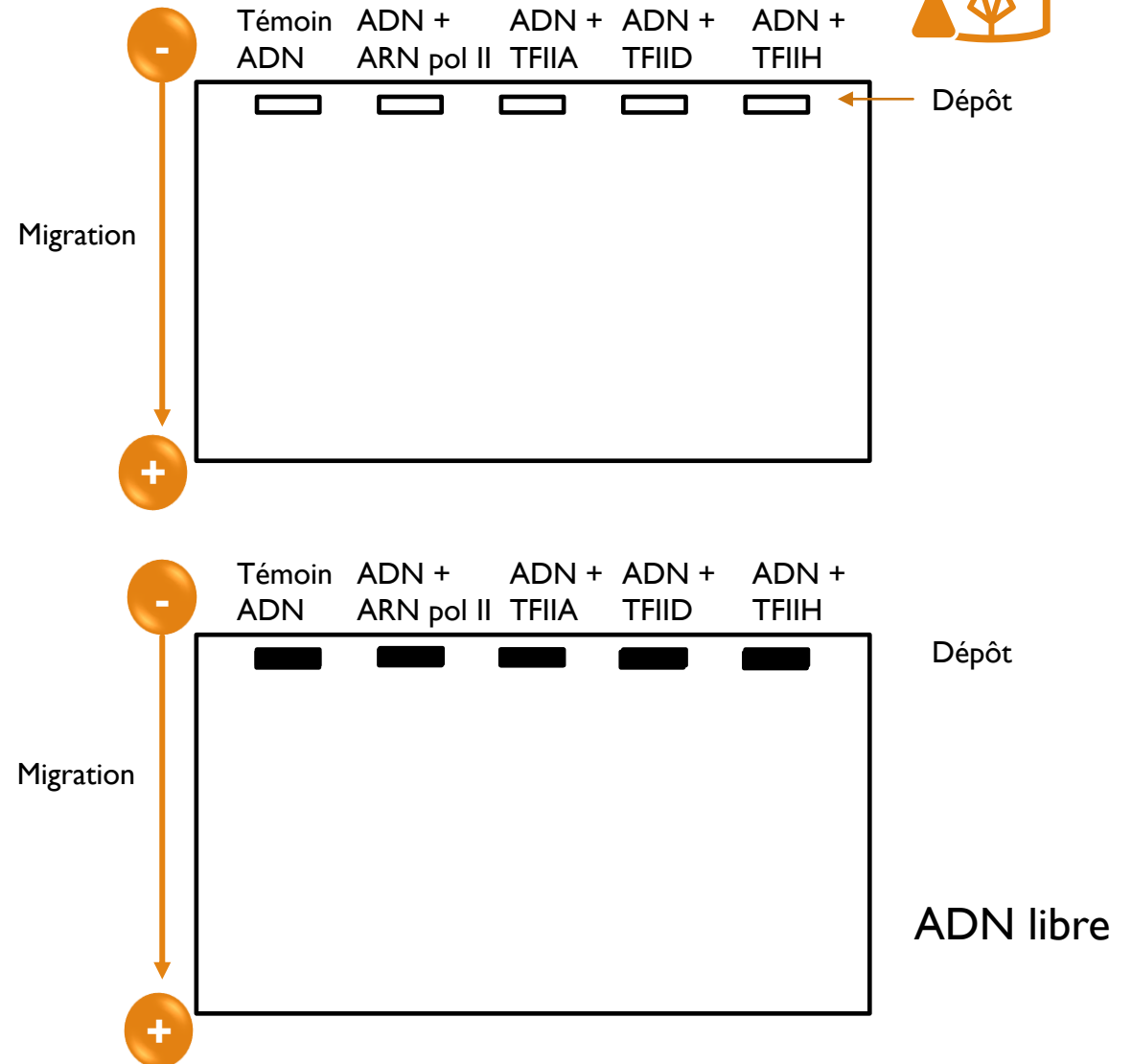
## Technique de retard sur gel

### ■ Protocole :

- Production d'un fragment d'ADN radiomarqué contenant une TATA box
- Incubation de l'ADN marqué avec différents facteurs de transcription (TF) purifiés.
- Electrophorèse sur gel de polyacrylamide,
- Révélation de l'ADN radiomarqué par autoradiographie

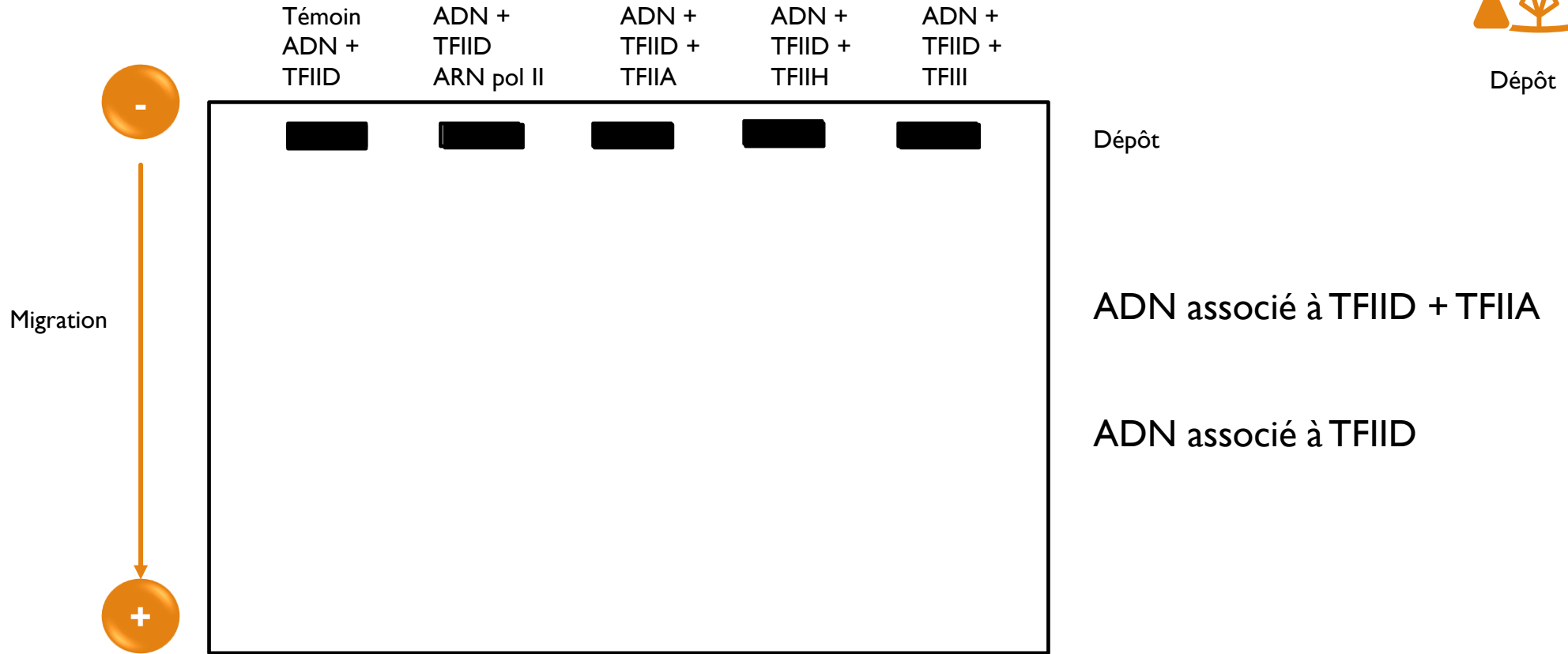
### ■ Résultats :

- Pour tous les mélanges, sauf celui avec TFIID, l'ADN migre au même niveau que l'ADN témoin
- En présence de TFIID, l'ADN migre moins vite  
⇒ retard sur gel





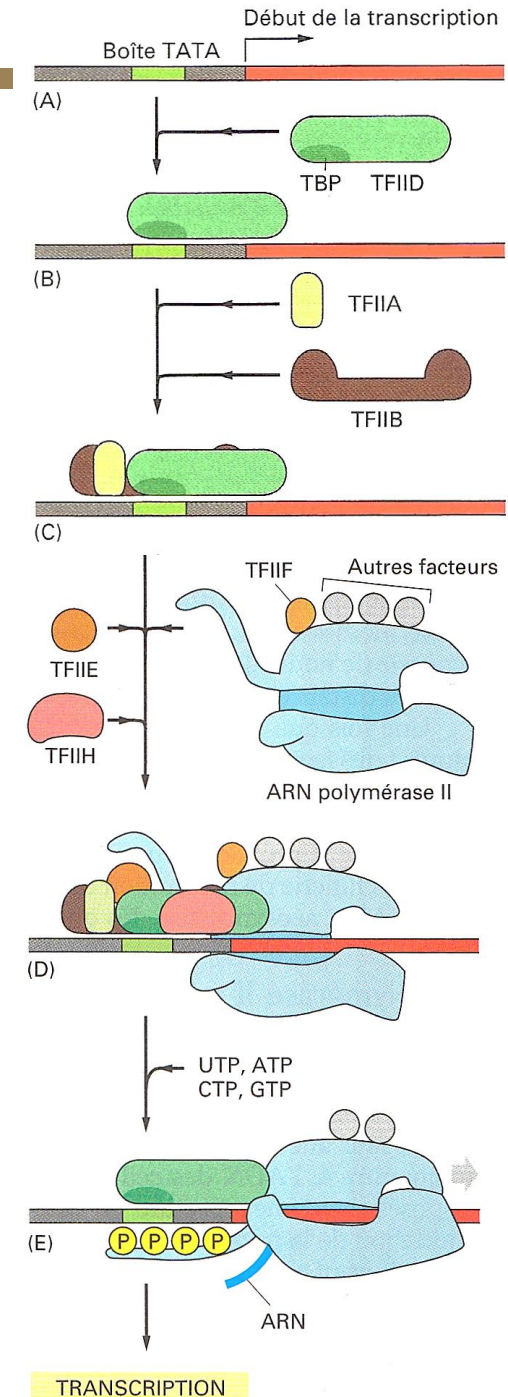
Dépôt



## C. INITIATION ET TERMINAISON DE LA TRANSCRIPTION

### Fonctionnement d'un promoteur

- Assemblage d'un complexe de pré-initiation TFIID orienté au niveau de la TATA box
  - Entraîne une courbure locale de l'ADN
    - Recrutement d'autres facteurs de transcription TFII
      - ✓ Fixation orientée de l'ARN polymérase II
- Effets du complexe de pré-initiation :
  - TFII E : activité hélicase → ouverture de la double hélice d'ADN
  - TFII H : phosphorylation de la queue C-ter de l'ARN polymérase → séparation de l'ARN pol du complexe de pré-initiation → début de la transcription
  - Détachement des facteurs de transcription



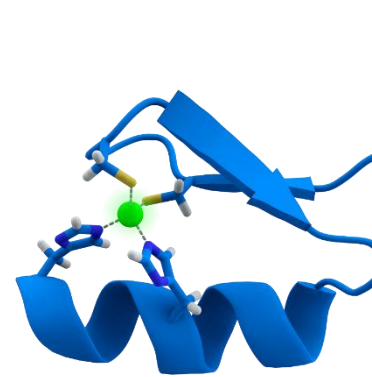
## C. INITIATION ET TERMINAISON DE LA TRANSCRIPTION



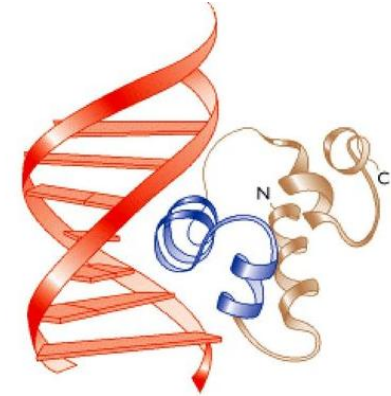
### Facteurs de transcription

**Facteur de transcription (TF)** : (n.m.) protéine nécessaire à l'initiation ou la régulation de la transcription.

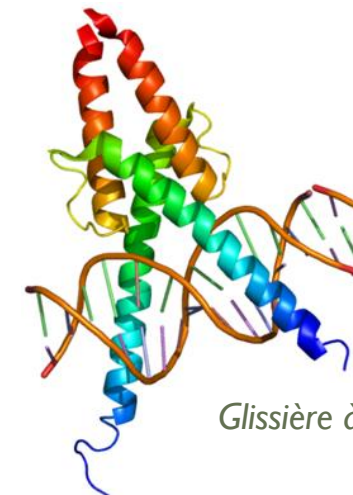
- Distinction entre facteurs **généraux** de transcription et facteurs plus **spécifiques**.
- Les TF en général composés d'au moins deux domaines :
  - un **domaine de liaison à l'ADN**
  - un **domaine d'interaction** avec d'autres protéines → activation de la transcription.
- Interaction physique des TF avec l'ADN passe par la **reconnaissance spécifique** d'une **séquence** d'ADN grâce à des motifs de liaison à l'ADN :
  - Motif en doigt de zinc
  - Motif hélice-tour-hélice
  - Motif hélice-boucle-hélice
  - Motif de fermeture à glissière à leucine



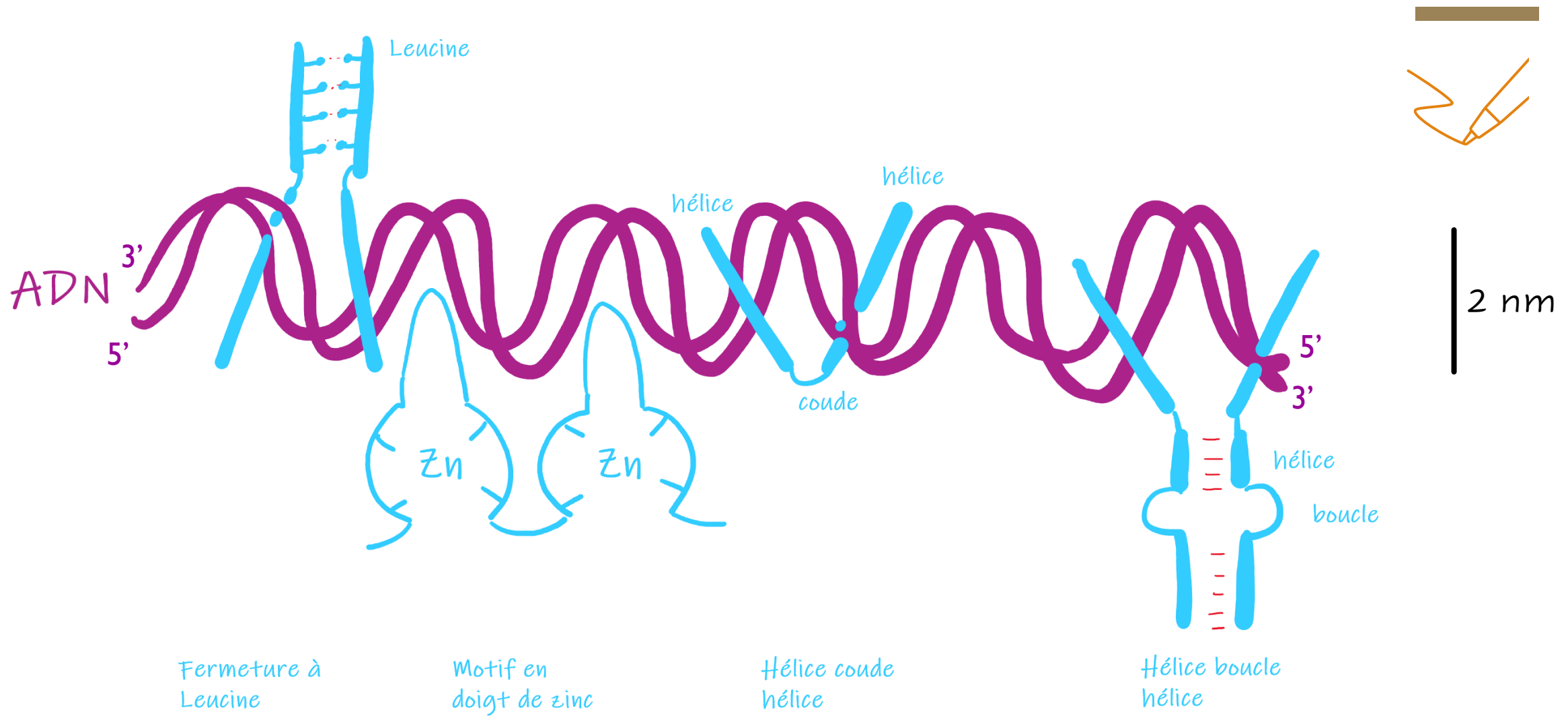
*Doigt de Zinc*



*Hélice-tour-hélice*



*Glissière à leucine*

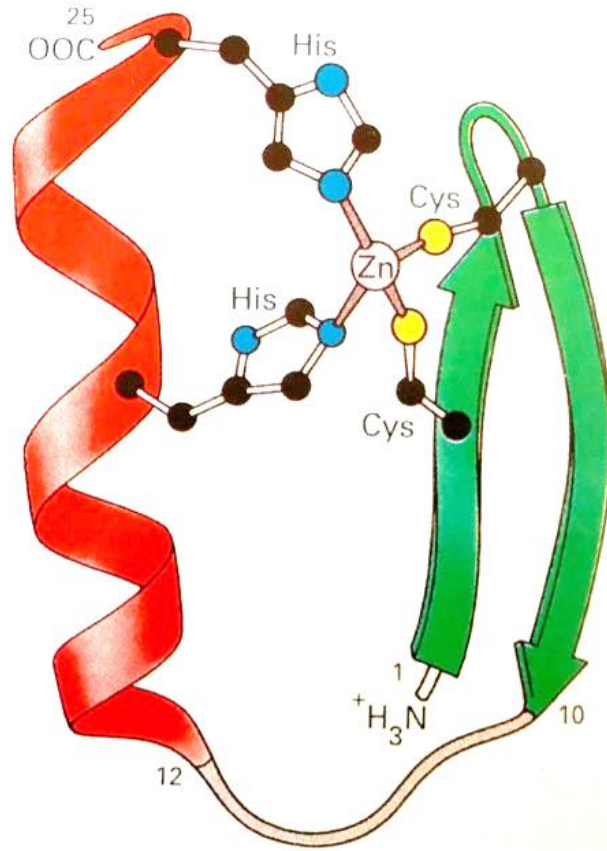


Diversité des motifs des facteurs de transcription (S. Dalaine)

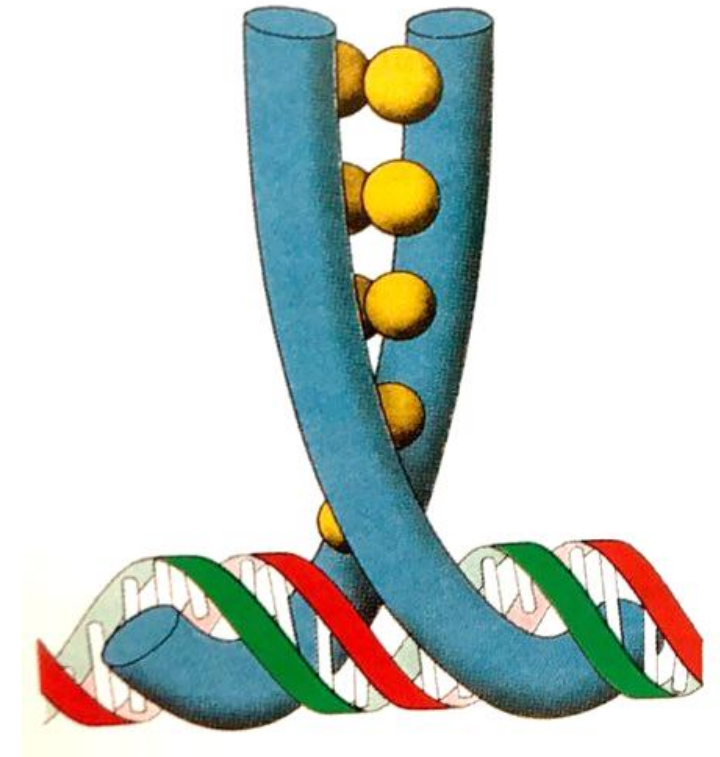
**Figure 37-33**

Représentation schématique d'un doigt de zinc. Une épingle à cheveux  $\beta$  antiparallèle (vert) et une boucle (gris) sont suivies par une hélice  $\alpha$  (rouge) qui joue un rôle clé dans la reconnaissance du DNA. Un ion zinc est lié à deux résidus histidine de l'hélice et à deux résidus cystéine du feuillet  $\beta$ . [D'après C. Branden et J. Tooze. *Introduction to Molecular Structure*. (Garland; 1991), p. 117.]

D'après Stryer 4<sup>e</sup> ed



D'après Stryer 4<sup>e</sup> ed



**Figure 37-39**

Représentation schématique montrant le mode hypothétique de liaison d'une protéine à fermeture éclair à leucine à une séquence de DNA cible palindromique. [D'après C.R. Vinson, P.B. Sigler et S.L. McKnight. *Science* 246(1989):911.]

## C. INITIATION ET TERMINAISON DE LA TRANSCRIPTION



### 2. Terminaison de la transcription

- La fin de l'unité de transcription est caractérisée par une **séquence d'ADN riche en A** (chez les mammifères : AAUAA).
- Une fois transcrite, cette séquence est reconnue sur l'ADN par un facteur protéique
- Le facteur protéique s'y fixe et provoque le **clivage** de l'ARNm en cours de synthèse après cette séquence (action **endonucléasique**)
- L'ARN polymérase se dissocie alors de l'ADN.
- La maturation de l'ARN (queue poly-A, cf II) s'enchaîne avec la terminaison

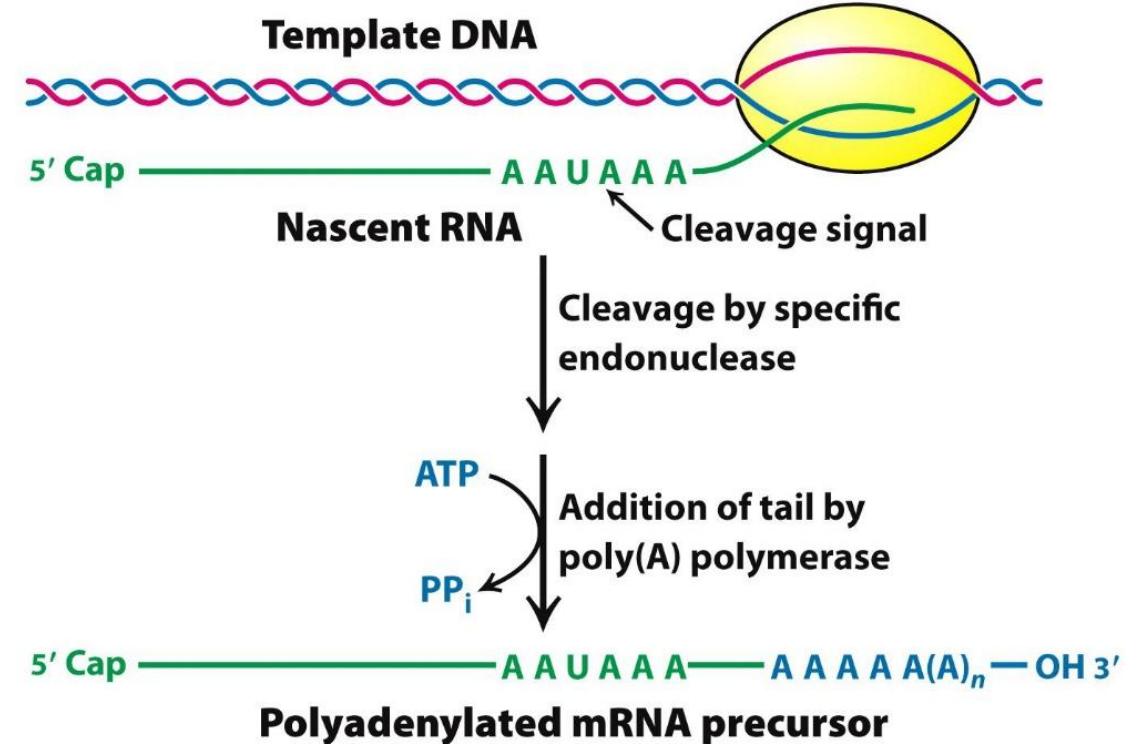
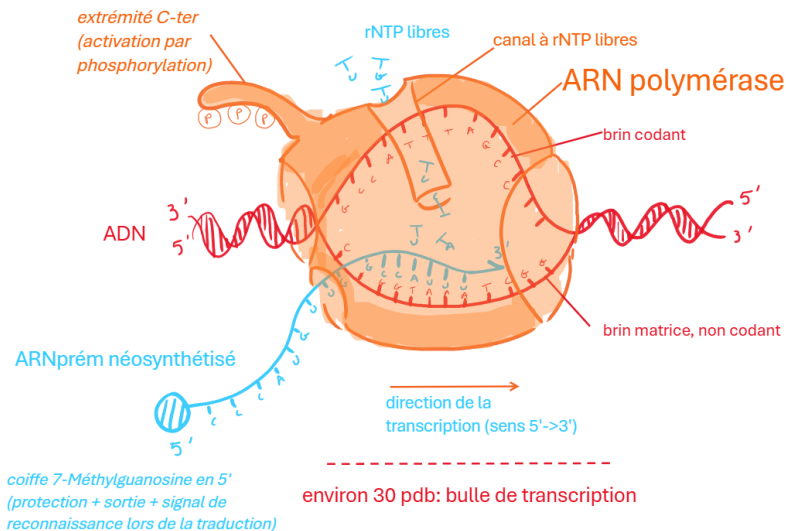


Figure 29.31  
Biochemistry, Seventh Edition  
© 2012 W. H. Freeman and Company

*Terminaison de la transcription*

# BILAN DES ÉTAPES DE LA TRANSCRIPTION

- Les **ARN polymérases** permettent la synthèse d'une diversité d'ARN à partir d'ADN.
- La **transcription** débute au niveau d'un **promoteur** reconnu par des **facteurs de transcription**.
- Des séquences spécifiques indiquent la fin de la transcription.
- Il existe des promoteurs et unités de transcription sur les deux brins. Chaque brin peut donc servir de matrice à la synthèse d'ARN



Fonctionnement de l'ARN polymérase

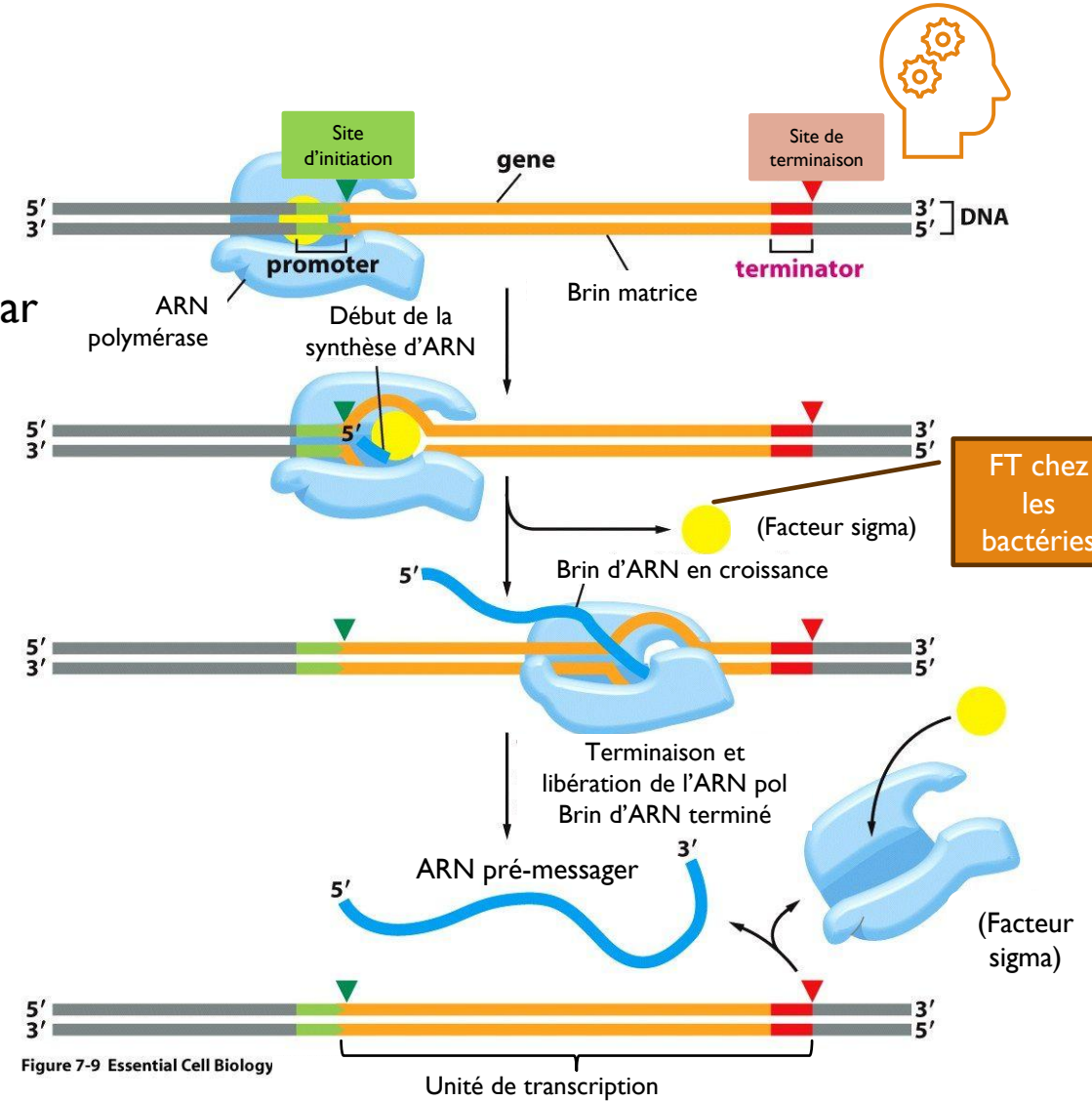


Figure 7-9 Essential Cell Biology

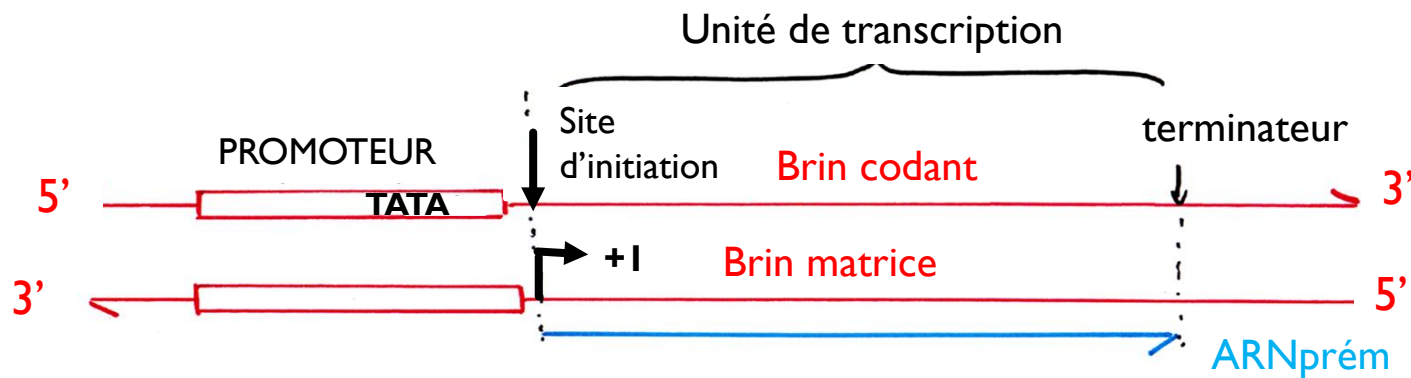
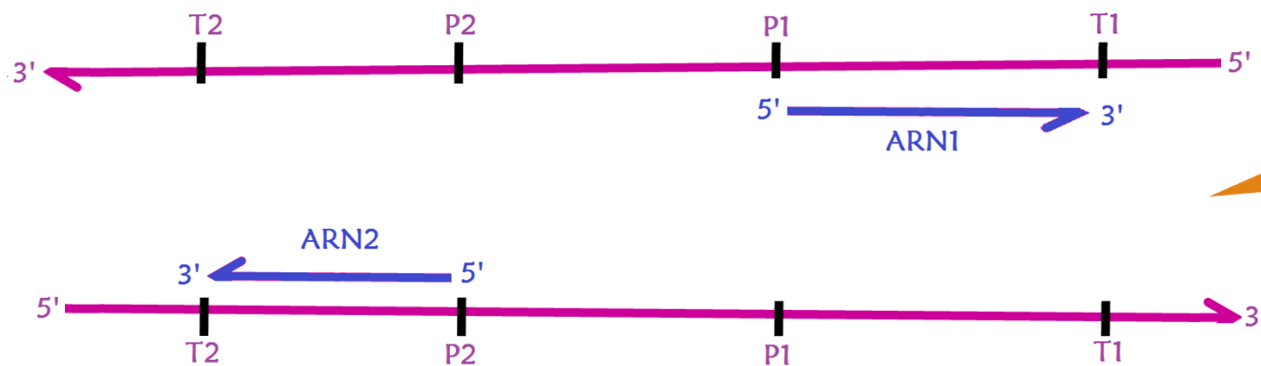


Schéma de l'organisation d'une unité de transcription d'un ARNm



Synthèse d'ARNprém sur les 2 brins d'un chromosome

Chacun des deux brins d'ADN porte des séquences promotrices. Il existe des unités de transcription sur les deux brins. Chaque brin peut donc servir de matrice.



I. La transcription, synthèse d'une copie partielle et mobile d'ADN

- A. Rappels des caractéristiques des acides nucléiques et mise en évidence expérimentale de leur synthèse
- B. Synthèse par l'ARN polymérase
- C. Initiation et terminaison de la transcription
- D. Maturation des ARN (m uniquement traités)**
- E. Bilan de la transcription

II. La traduction: synthèse de protéines par lecture d'ARNm

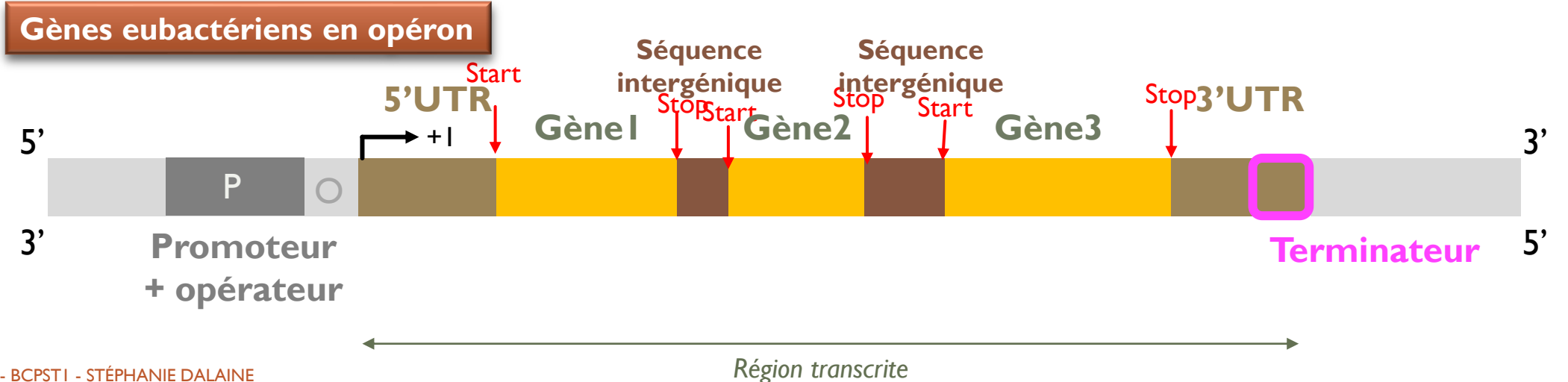
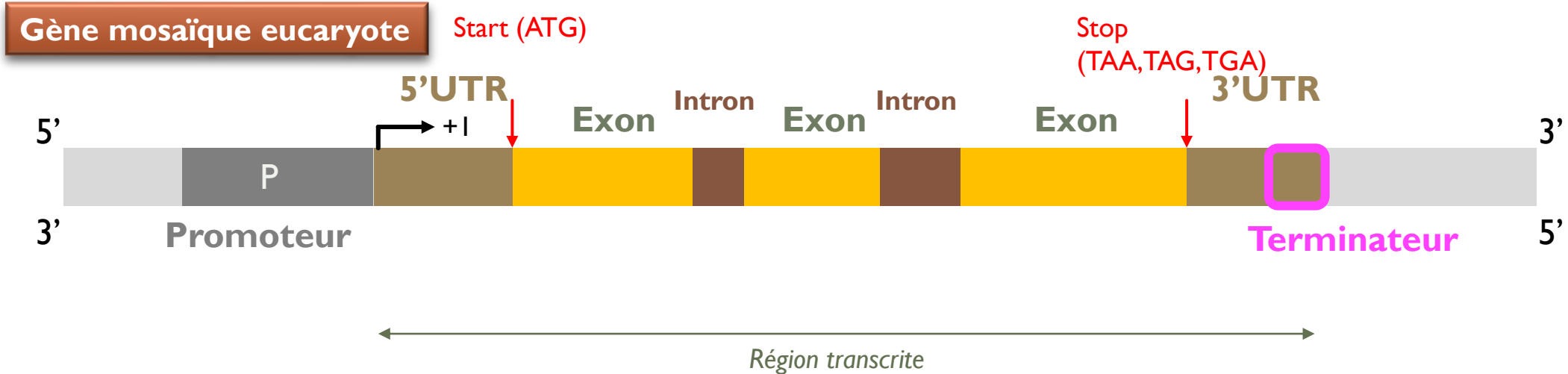
- A. Rappels sur le code génétique
- B. Les acteurs de la traduction
- C. Les étapes de la traduction
- D. Les modalités de la traduction diffèrent selon les sites d'adressage des protéines
- E. Des modifications des protéines cou ou post-traductionnelles

# INTRODUCTION



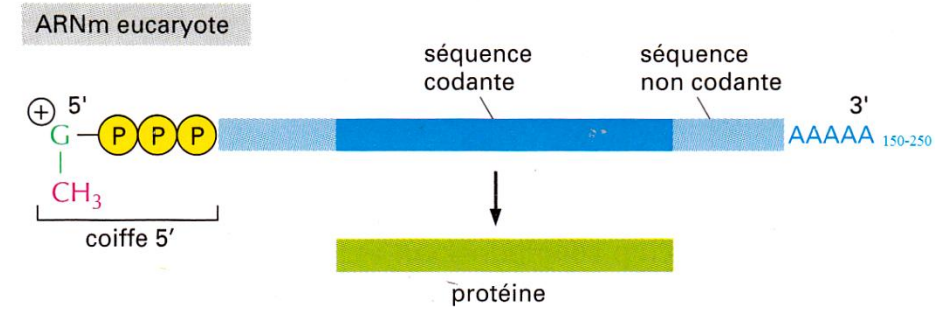
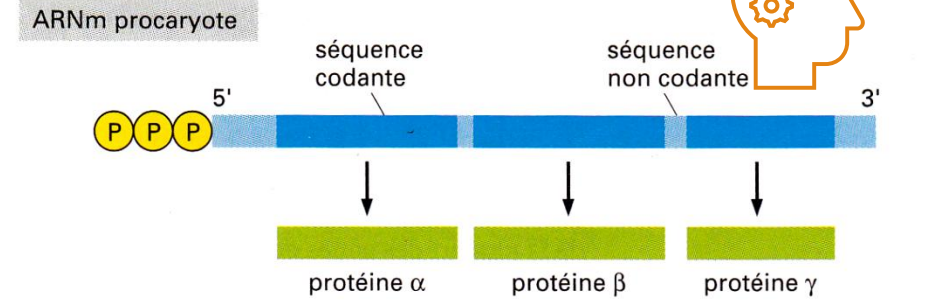
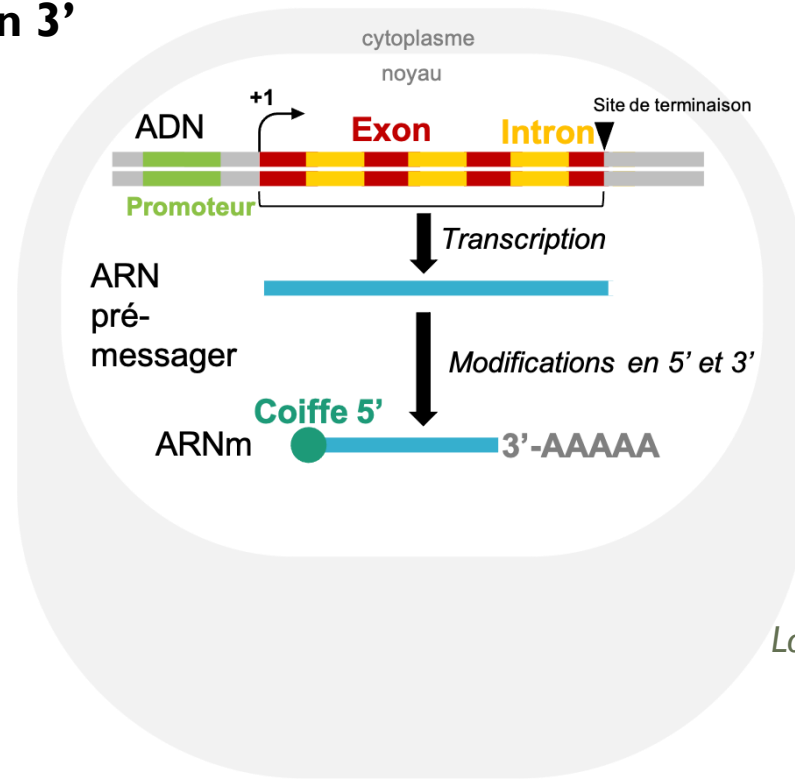
**Exon** : n.m. séquence d'ADN transcrite et présente dans l'ARNm

**Intron** : n.m. séquence d'ADN transcrite mais absente de l'ARNm



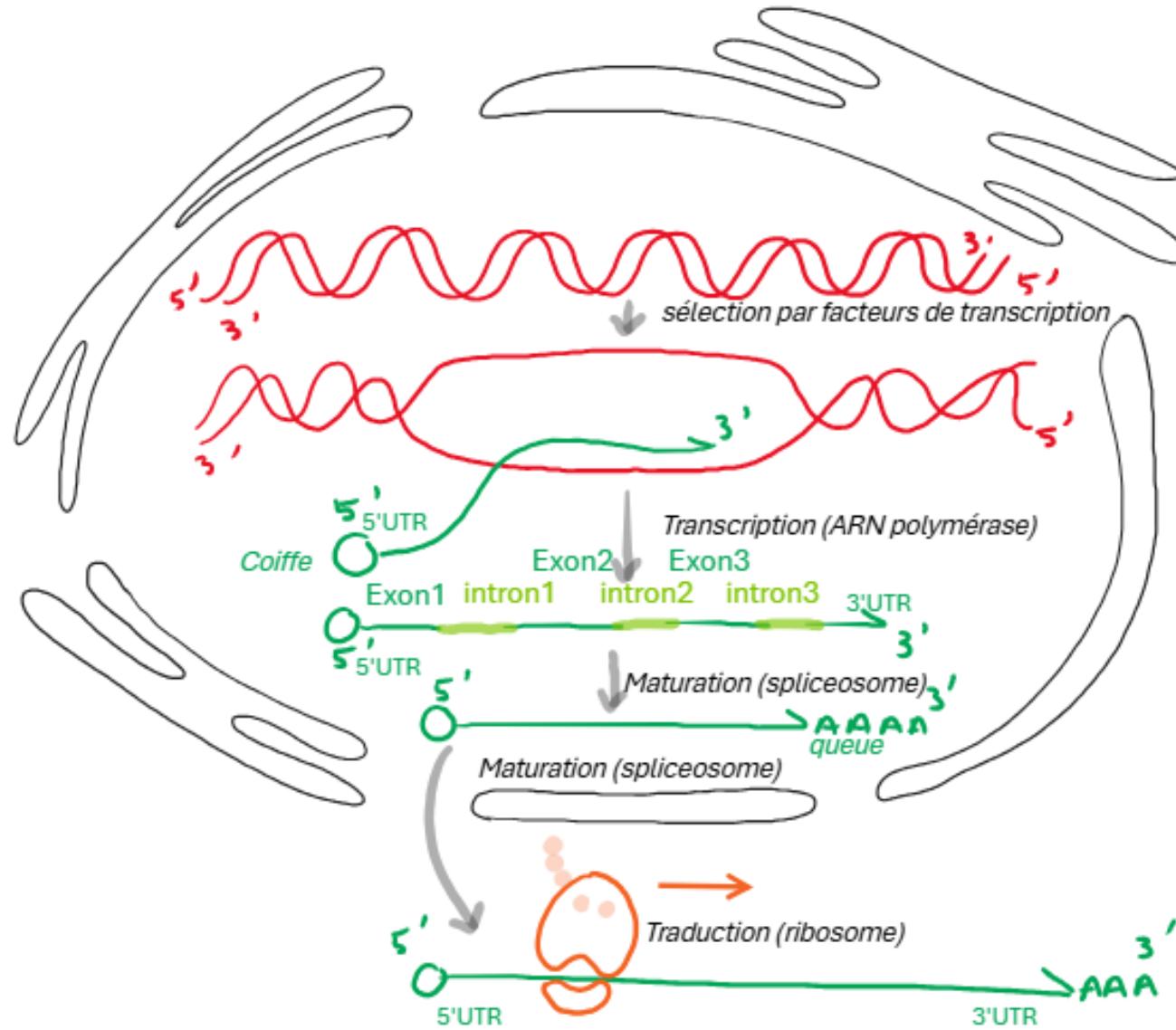
## D. MATURATION DES ARN (NOUS NE TRAITERONS QUE DES ARNm)

- Modifications des extrémités de l'ARNpm dès sa synthèse
- A lieu au sein du noyau
- Uniquement chez les Eucaryotes
  - Une coiffe de méthylguanosine en 5'
  - Une queue poly-A en 3'



Modification des extrémités des ARNm chez les Eucaryotes

Localisation spatio-temporelle de la modification des extrémités 5' et 3' des ARNm

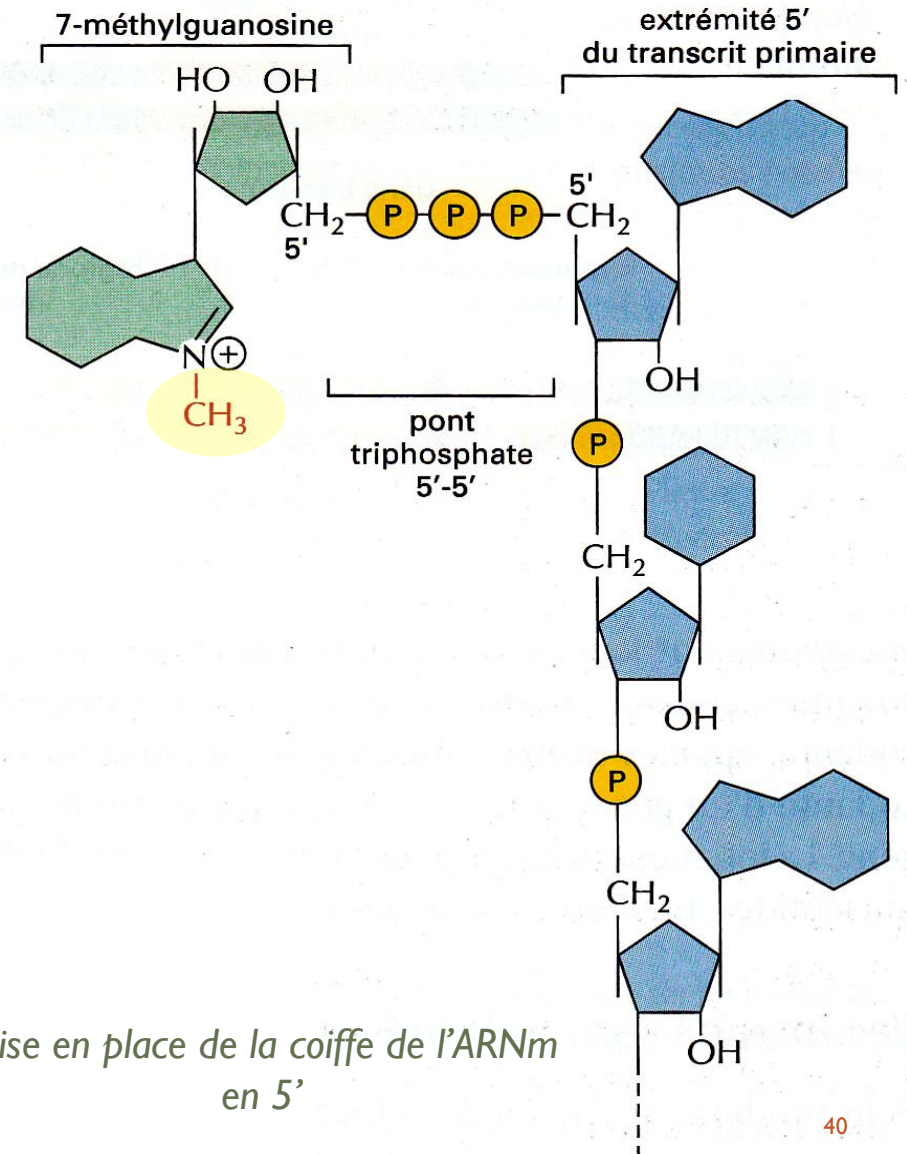


## D. MATURATION DES ARN (NOUS NE TRAITERONS QUE DES ARNm)

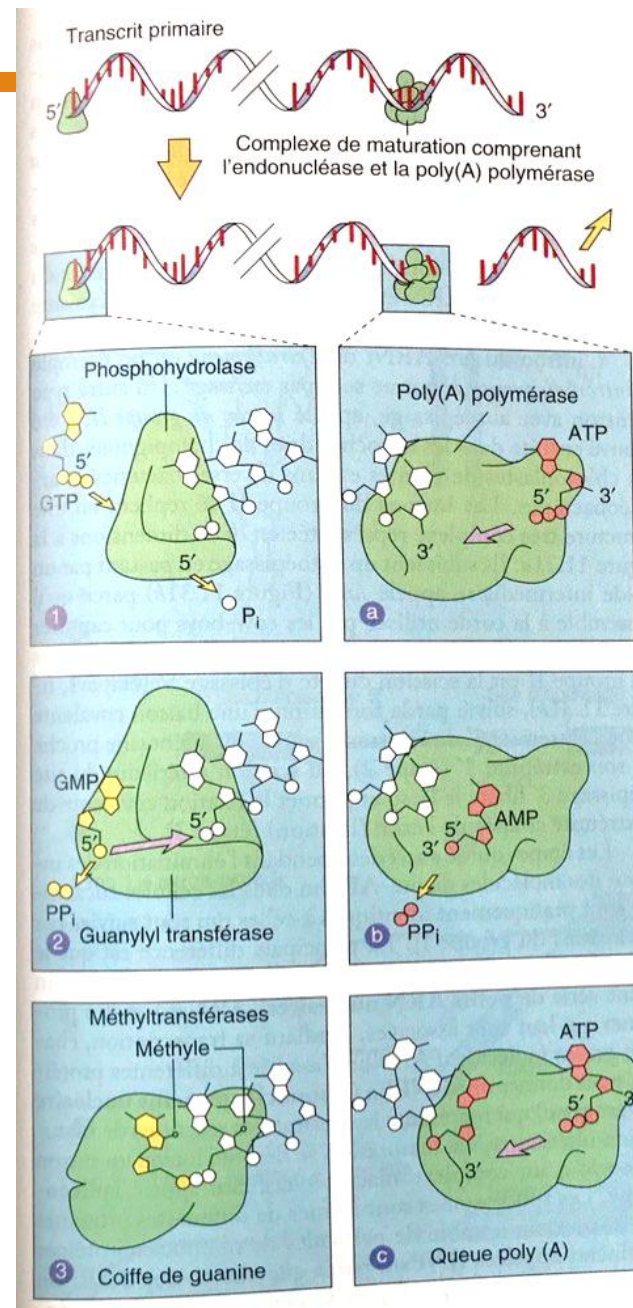


### I. À l'extrémité 5', mise en place d'une coiffe

- Dès début de la transcription (synthèse >30 résidus d'ARNpm)
- Un résidu de guanosine ajouté au premier nucléotide en 5'
- Pont tri-phosphate entre l'extrémité 5' de la guanosine et l'extrémité 5' de l'ARN
- Guanine ensuite méthylée en 7 (on obtient de la 7-méthylguanosine).
  - Ce résidu supplémentaire en 5' de l'ARNm est appelé coiffe.
  - **Rôles :**
    - ✓ protection de l'extrémité 5' face aux exonucléases (5'→3') qui pourraient détruire cet ARNm
    - ✓ Facilite sortie du noyau
    - ✓ signal de reconnaissance pour le ribosome lors de la traduction



# MATURATION DES ARNPRÉM



**Figure 11.28** Étapes aboutissant à l'adjonction d'une coiffe 5' de méthylguanosine et d'une queue 3' poly(A) à un pré-ARNm. L'extrémité 5' du pré-ARNm naissant s'unit à une enzyme de coiffage possédant, chez les mammifères, deux sites actifs qui catalysent des réactions différentes : une triphosphatase qui élimine le groupement phosphate terminal (étape 1) et une guanylyle transférase qui ajoute un résidu guanine avec une orientation inversée, par liaison 5'-5' (étape 2). Au cours de l'étape 3, des méthyltransférases différentes ajoutent un groupement méthyle à la coiffe terminale de guanosine et au ribose du nucléotide qui se trouvait à l'extrémité de l'ARN naissant. Un complexe protéique (CBC) s'unit à la coiffe complétée (non représentée). Une série très différente de réactions se produit à l'extrémité 3' du pré-ARNm, où s'assemble un volumineux complexe protéique. D'abord, une endonucléase scinde le transcrit primaire d'ARN et donne une nouvelle extrémité 3'. Au cours des étapes a-c, la poly(A) polymérase ajoute des résidus adénosine à l'extrémité 3' sans l'intervention d'un modèle d'ADN. Un ARNm de mammifère typique possède de 200 à 250 résidus adénosine dans sa queue poly(A) ; ce nombre est nettement moindre chez les eucaryotes inférieurs (D'après D.A. Micklos et G.A. Freyer, DNA Science, Carolina Biological Supply Co.)

D'après Karp p. 457)

## D. MATURATION DES ARN (NOUS NE TRAITERONS QUE DES ARNm)

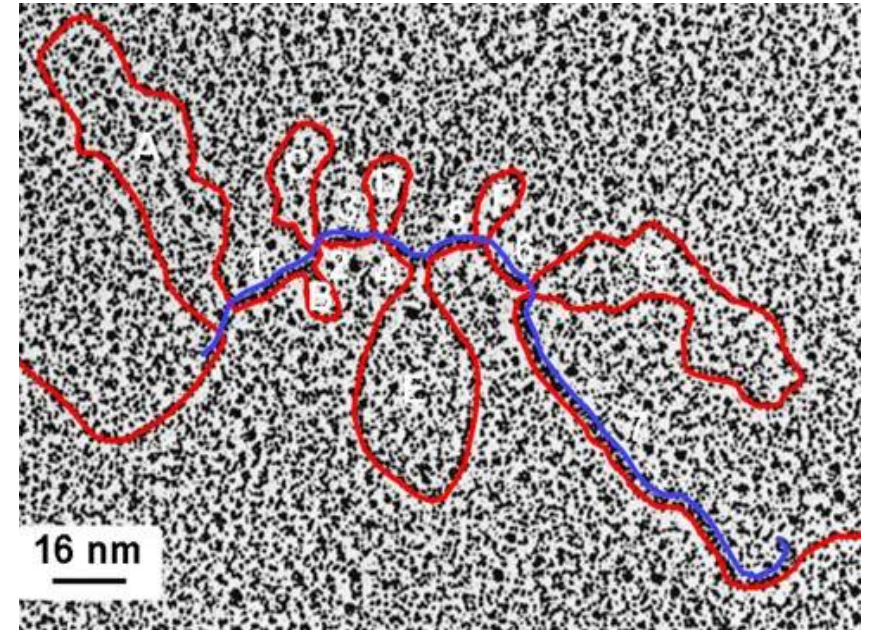


### 2. Excision-épissage par le splicéosome

#### Mise en évidence expérimentale

Expérience de Chambon chez les Eucaryotes :

- Chez les Eucaryotes, hybridation d'une séquence d'**ADN** (en rouge sur l'image) et d'**ARNm post-maturation** (en bleu sur l'image)
- Séquences d'ADN non présentes dans le transcrit final (boucles)
- Autres expériences de marquage bref :
  - ✓ Longueur de l'ARNm juste transcrit = longueur de la séquence d'ADN initial.
    - ⇒ Il existe une étape de maturation où l'ARNm est raccourci
    - ⇒ Notion d'épissage de l'ARNpm durant sa maturation en ARNm



*Expérience de Chambon : hybridation ADN/ARNm :  
électronographie d'ADN d'ovalbumine de poule  
monocaténaire hybridé avec de l'ARNm*

# D. MATURATION DES ARN (NOUS NE TRAITERONS QUE DES ARNm)



## 2. Excision-épissage par le splicéosome

### 2.2. Sites d'excision-épissage

Séquences consensus des introns de l'ARN pm chez l'Homme

R = purine (A,G)

Y = pyrimidine (T,C)

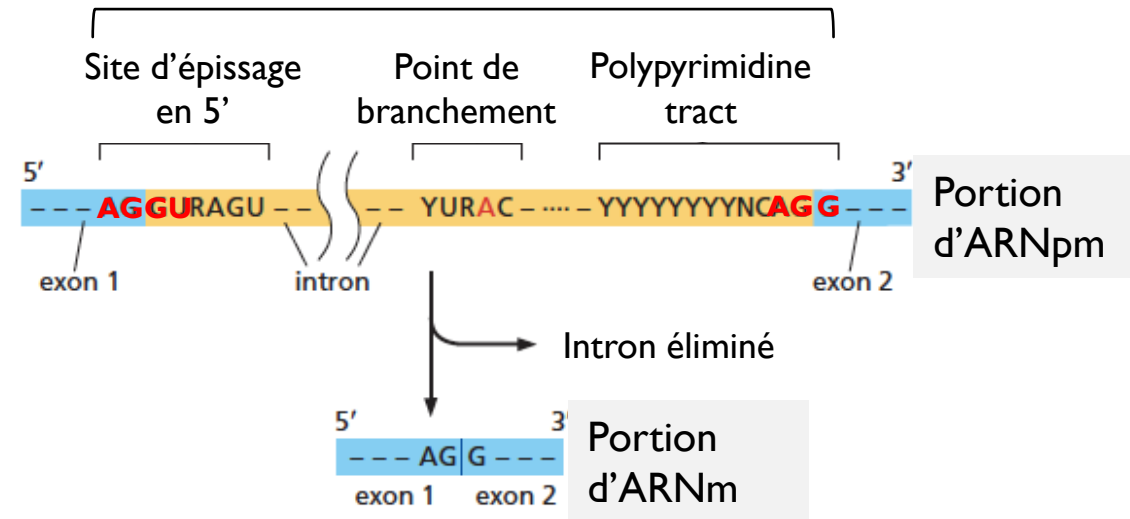
N = A,T,C ou G

En rouge : nucléotides invariants

Polypyrimidine tract = 10-20 pyrimidines

Point de branchement ~ 30 pb en amont du 3' de l'intron

### TROIS SÉQUENCES NÉCESSAIRES À L'EXCISION DE L'INTRON



- Épissage à la jonction entre exons (parties conservées) et introns (parties éliminées).
- Sites à épisser identifiés par 2 types de séquences :
  - ✓ Des **séquences** de reconnaissance consensus, situées aux extrémités **3' et 5' des introns** (séquences ≠ en 5' et 3', mais identiques pour tous les gènes).
  - ✓ Des séquences spécifiques dites «**activateurs d'épissage des exons**» situées dans les exons.
  - ✓ → Introns et exons bien identifiables

## D. MATURATION DES ARN (NOUS NE TRAITERONS QUE DES ARNm)

### 2. Excision-épissage par le splicéosome

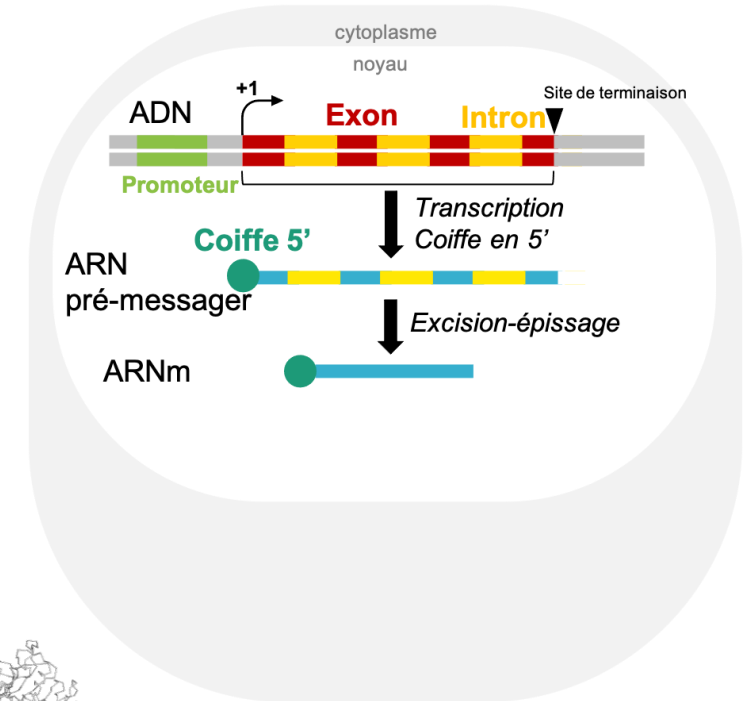
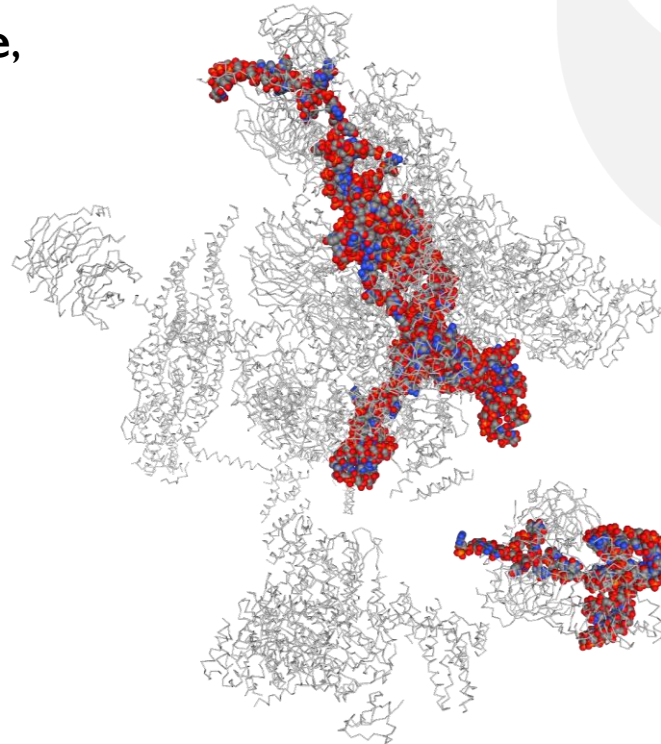
#### 2.3. Le splicéosome

- L'excision-épissage dans le **noyau** et réalisés par le **splicéosome**.
- Le splicéosome = **complexe ribonucléoprotéique**, le snRNP (small nuclear ribonucleoproteins), constitué de :
  - Petits ARN, les small nuclear RNA (snRNA)
  - Protéines
- Les snRNA du splicéosome assurent la **reconnaissance** des sites d'épissage et la **catalysent**  
→ notion de **ribozymes**

**Ribozyme** : (n.m.) ARN à activité catalytique



Localisation de l'excision-épissage



Modélisation du splicéosome de la levure.

En gris : squelette de la partie protéique.

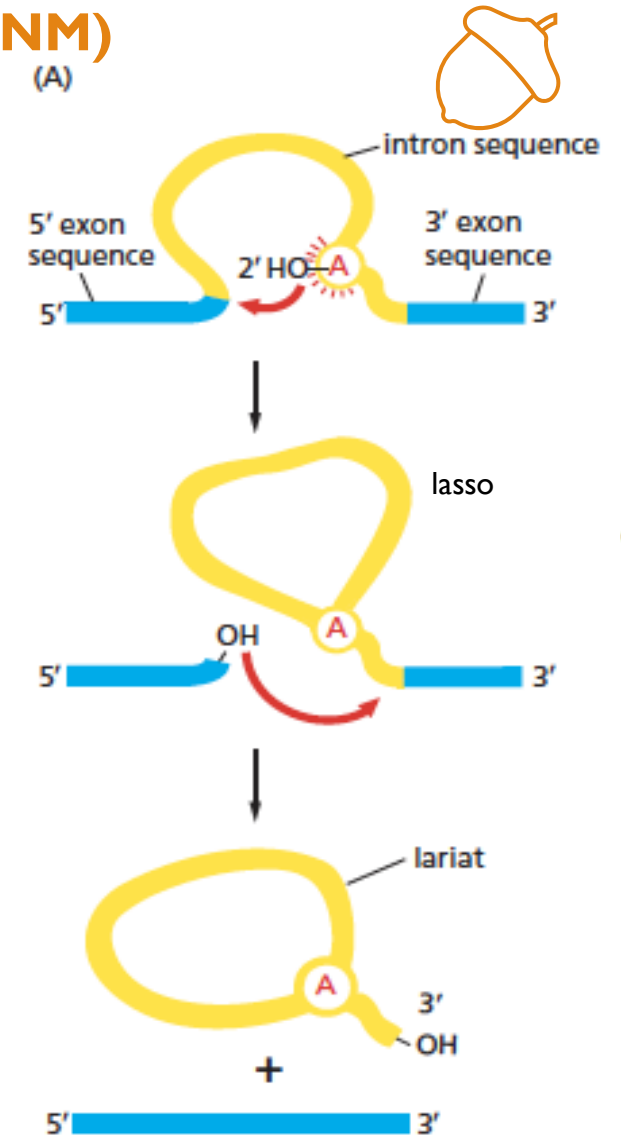
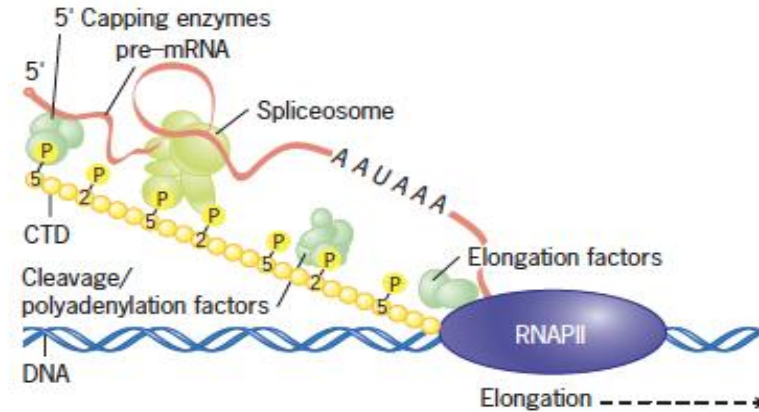
En couleurs : snARN colorés par atomes

## D. MATURATION DES ARN (NOUS NE TRAITERONS QUE DES ARNM)

### 2. Excision-épissage par le splicéosome

#### 2.4. Mécanisme

- L'excision-épissage **pendant la transcription**, par interaction entre le splicéosome et la queue C-ter de l'ARN pol II.
- Etapes :
  - 1) **Reconnaissance** : Le splicéosome reconnaît les sites 5' et 3' de l'intron, grâce aux snARN, et s'y fixe.
  - 2) **Excision** : le splicéosome replie l'intron en boucle et l'excise en 5' (fonction catalytique des snRNA).
  - 3) **Epissage** : le splicéosome raboute (= épisse) les deux exons.
  - 4) **Dégradation des introns** par l'exosome (comme les autres débris d'ARN).
- Ce mécanisme permet une **excision précise, sans décalage** du cadre de lecture.



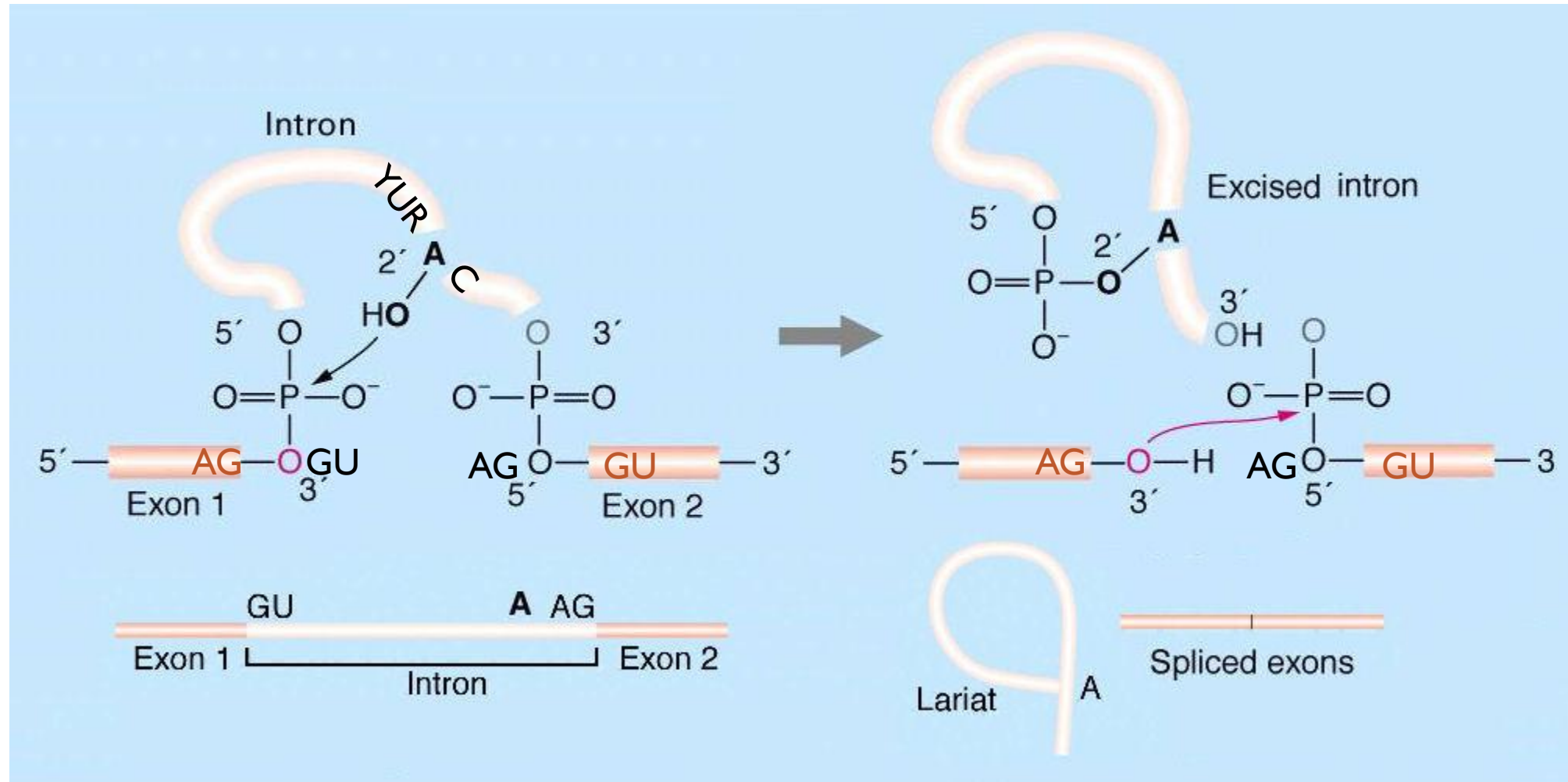
2 étapes de transestérification

Les étapes de l'excision-épissage  
(in Alberts)

<https://www.youtube.com/watch?v=aVgwr0QpYNE>

## D. MATURATION DES ARN (NOUS NE TRAITERONS QUE DES ARNM)

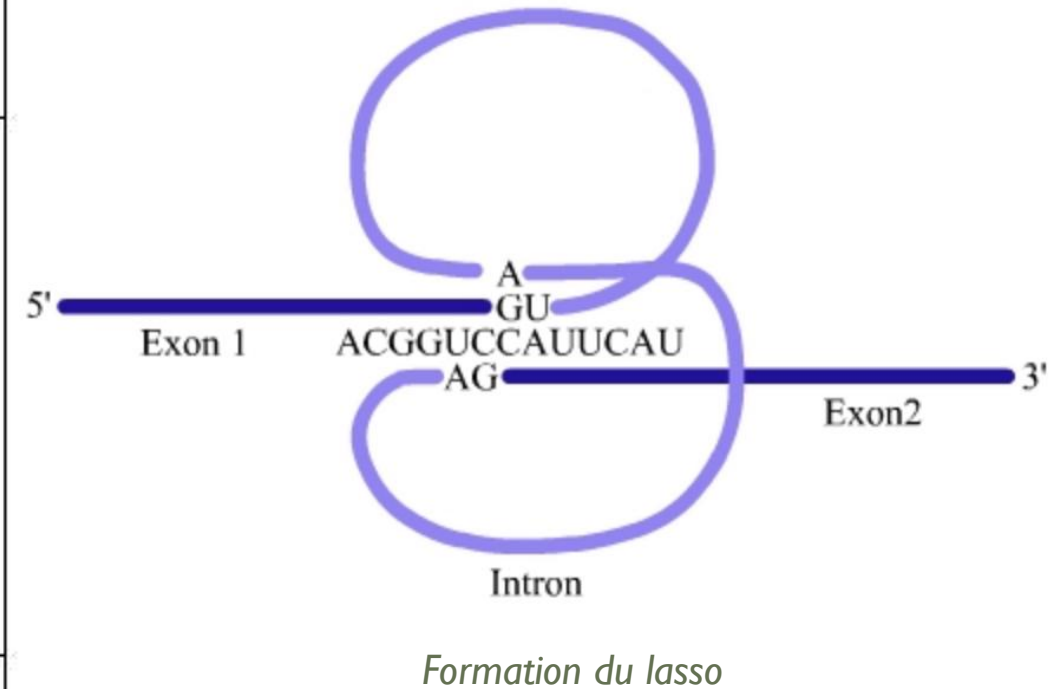
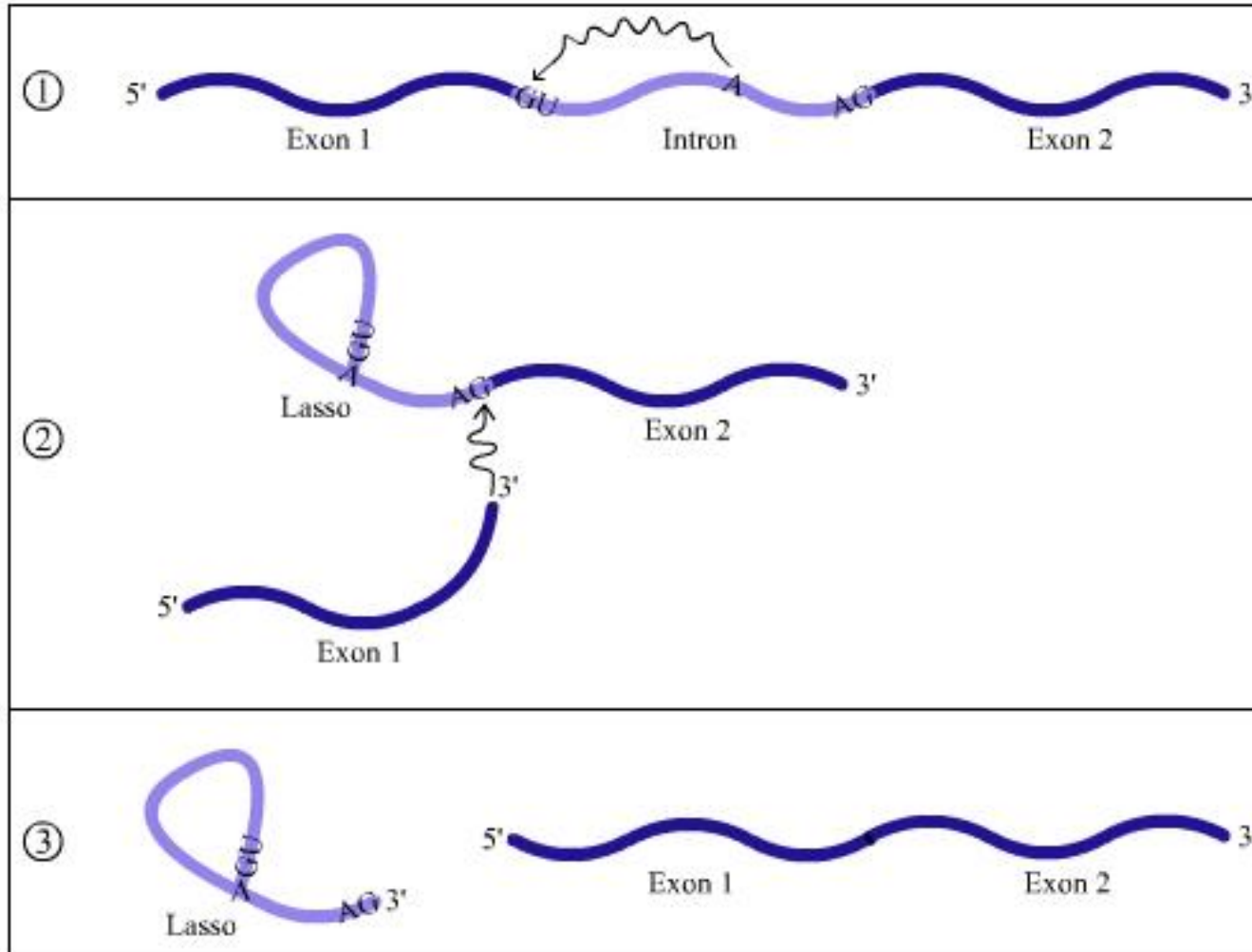
### 2. Excision-épissage par le splicéosome



*Épissage d'exon et excision d'intron dans les ARN<sub>prém</sub> des Eucaryotes*

## D. MATURATION DES ARN (NOUS NE TRAITERONS QUE DES ARNM)

### 2. Excision-épissage par le splicéosome



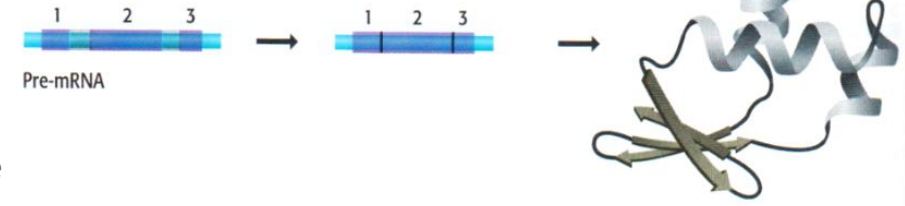
## D. MATURATION DES ARN



### 3. Notion d'épissage alternatif

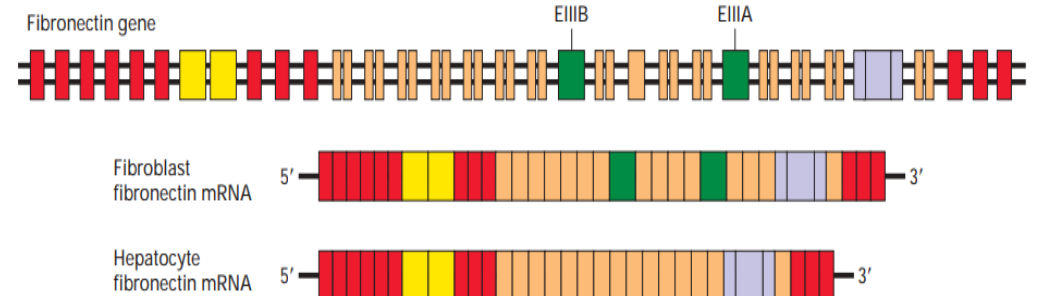
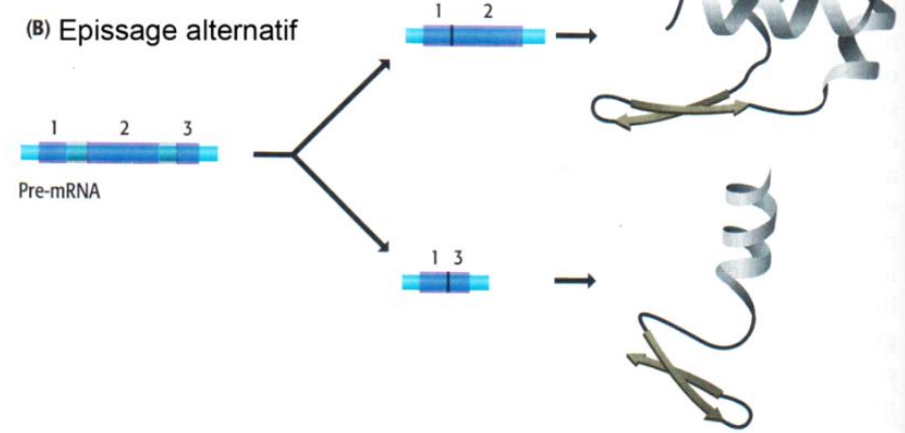
- Un même ARNpm peut subir plusieurs épissages  $\neq$  (cas de  $> 90\%$  des gènes humains)  
→ **Épissage alternatif**
- Épissage alternatif  $\Rightarrow$  **complexification du protéome**
  - Obtention de plusieurs protéines  $\neq$  à partir d'un même gène
- L'épissage alternatif  $\Rightarrow$  **différenciation cellulaire**
  - Contrôle de l'épissage selon le type de tissu dans lequel le gène est exprimé
  - Des protéines activatrices ou inhibitrices agissent au niveau des sites d'épissage.
    - ✓ Ex : protéines isoformes aux activités proches mais  $\neq$
    - ✓ Ex : fibronectine de fibroblaste vs. d'hépatocyte

(A) Epissage simple



Principe de l'épissage alternatif

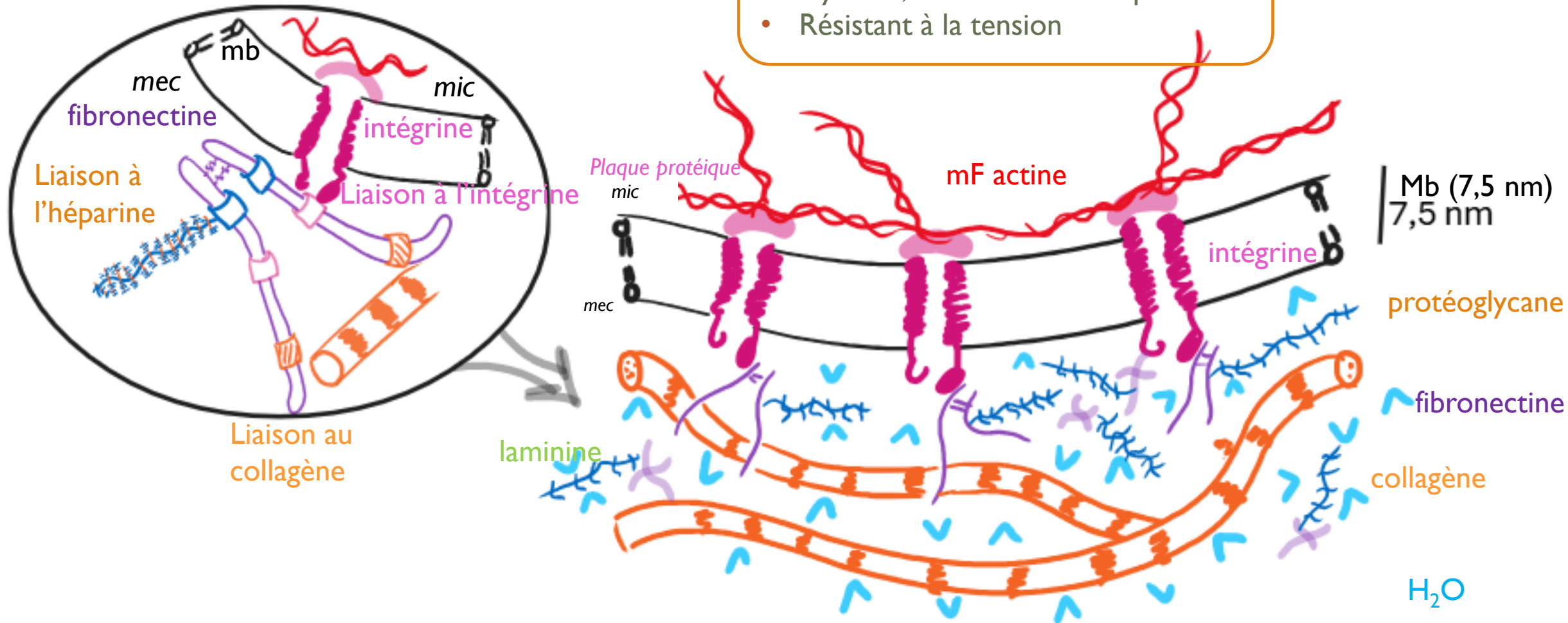
(B) Epissage alternatif



Epissage alternatif d'une protéine, la fibronectine, selon le type cellulaire.

La MEC:

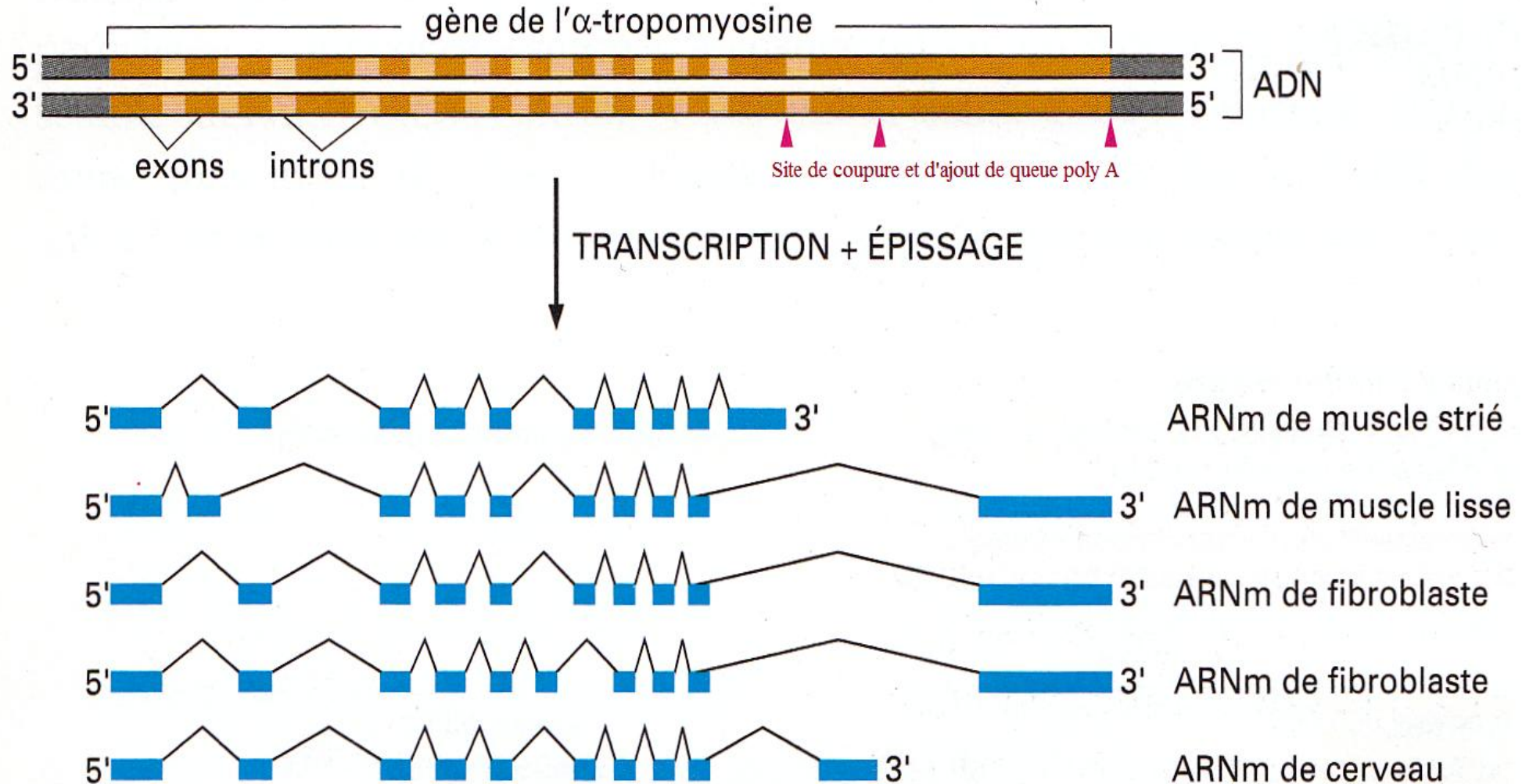
- Un réseau
- Hydraté, résistant à la compression
- Résistant à la tension



Les constituants moléculaires de la matrice extracellulaire et leurs interactions

## D. MATURATION DES ARN

### 3. Notion d'épissage alternatif

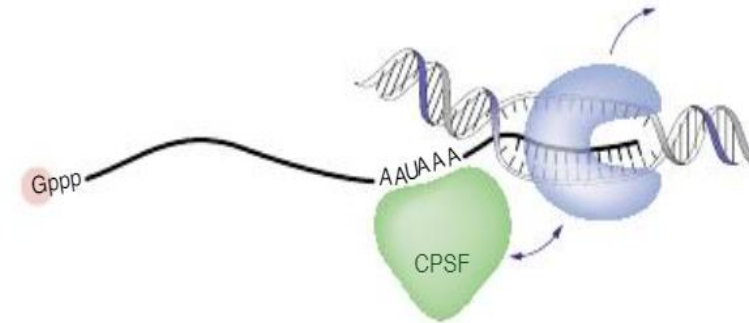
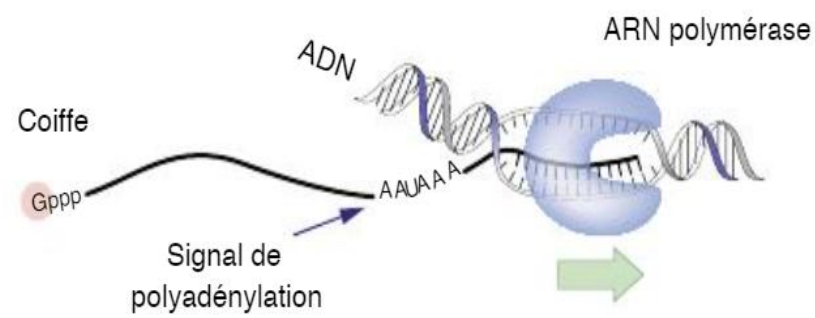


*Epissage alternatif de l'ARN prém de l' $\alpha$  –tropomyosine selon les types cellulaires*

## D. MATURATION DES ARN

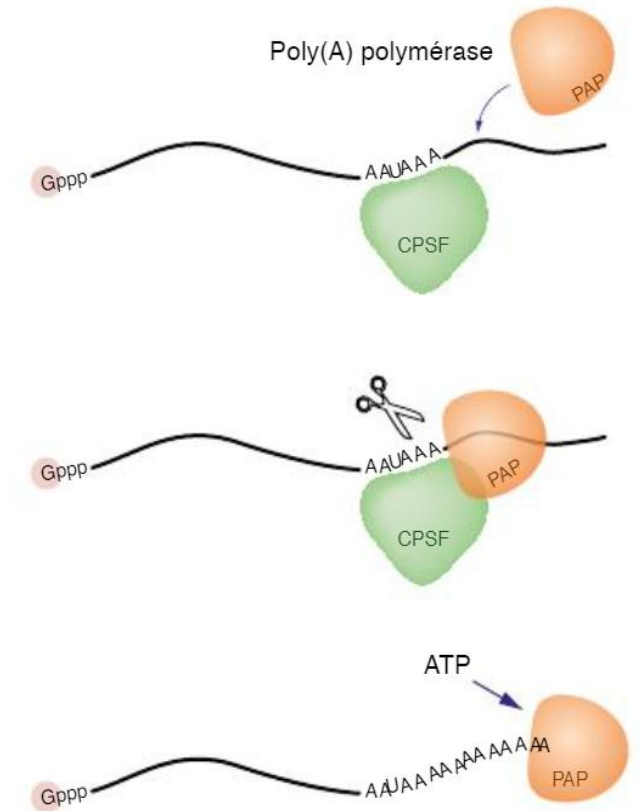
### 4. Clivage et addition d'une queue poly-A à l'extrémité 3'

- Juste après la terminaison de la transcription
- L'ARN<sub>pm</sub> clivé en 3', en aval d'une séquence AAUAAA, présente dans la séquence de terminaison
- Polyadénylation grâce à une poly-A polymérase (PAP)
- Ajout de 150-250 adénosines phosphates à l'extrémité 3' → queue poly-A
- Rôle : protection face aux nucléases



*Clivage et addition d'une queue poly-A à l'extrémité 3' de l'ARNm*

CPSF (cleavage/polyadenylation specific factor)

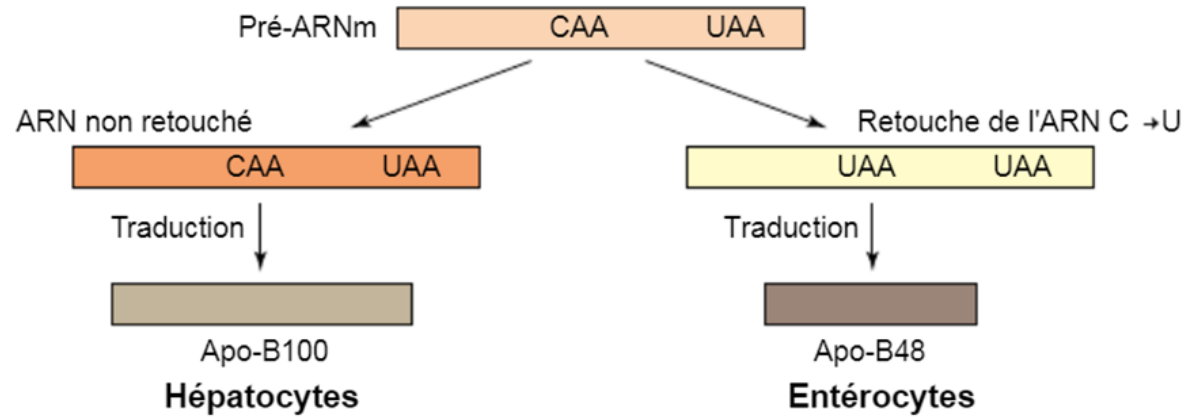


## D. MATURATION DES ARN

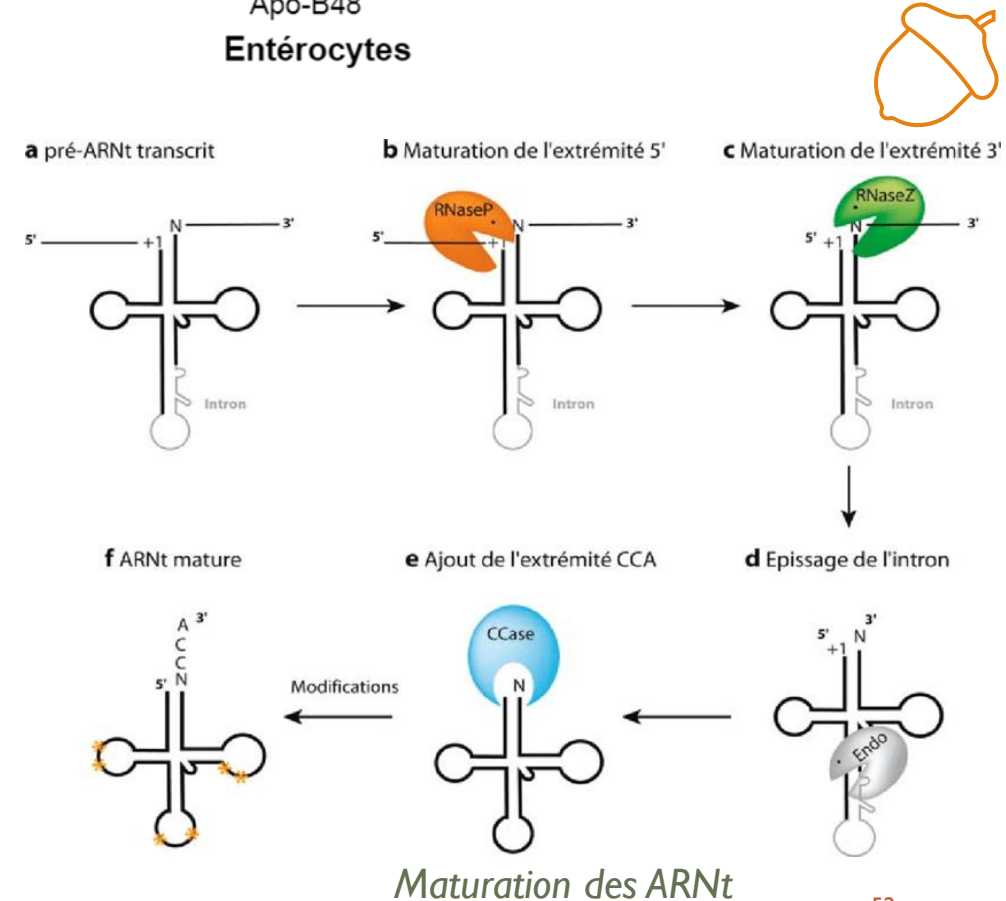
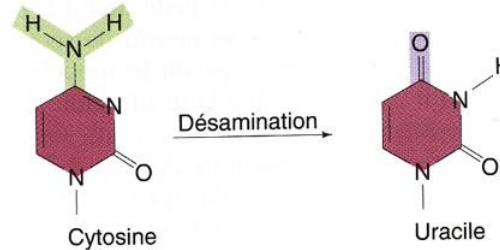
### 5. Edition post-transcriptionnelle des ARN

#### 5.1. Modifications chimiques

- Tous les ARN subissent une maturation post-transcriptionnelle
- Les ARNr et ARNt souvent chimiquement modifiés après transcription → structure définitive
- Certains ARNm également modifiés avec un changement de séquence : ils sont **édités**

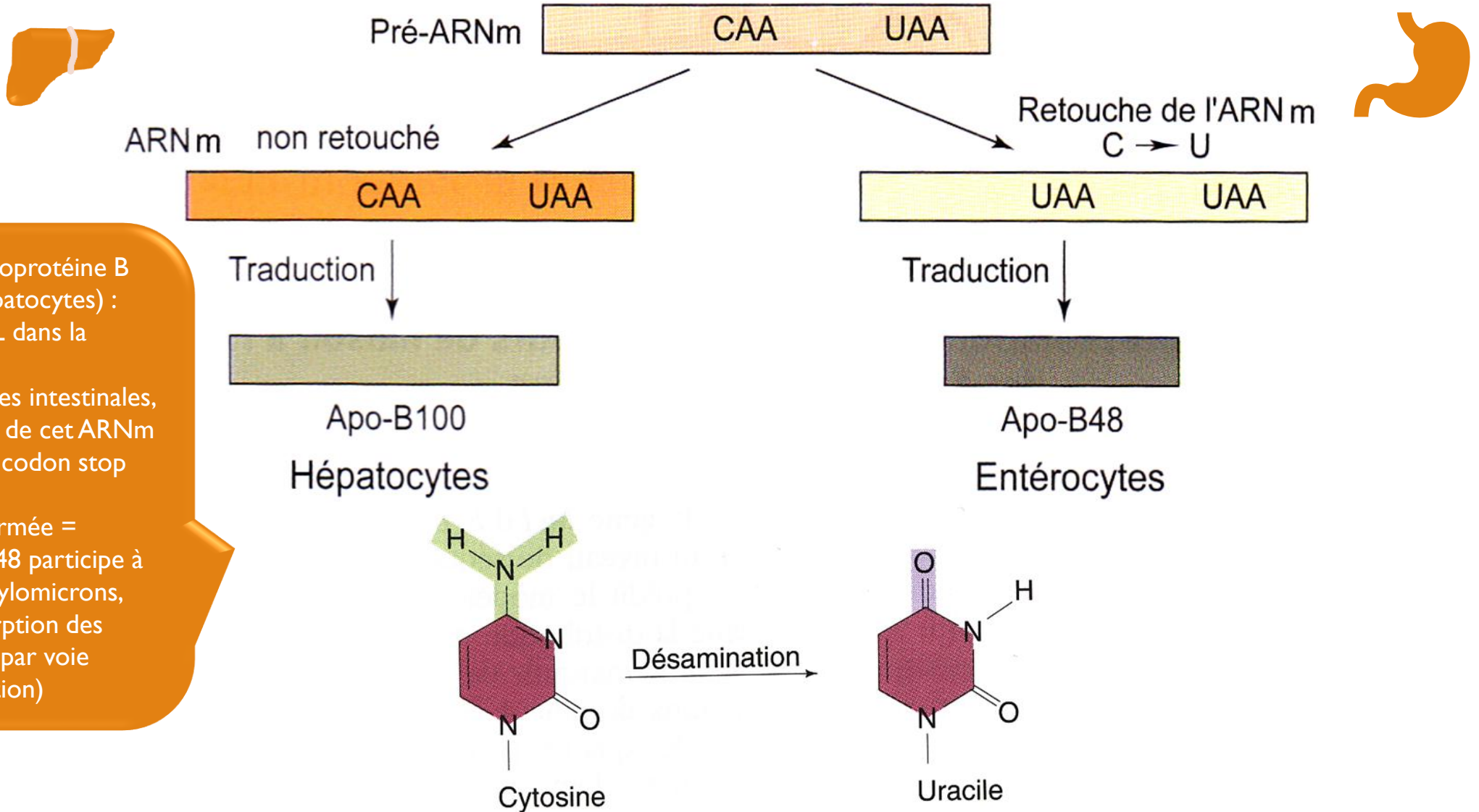


*Edition de l'ARNm de l'apolipoprotéine*



*Maturation des ARNt*

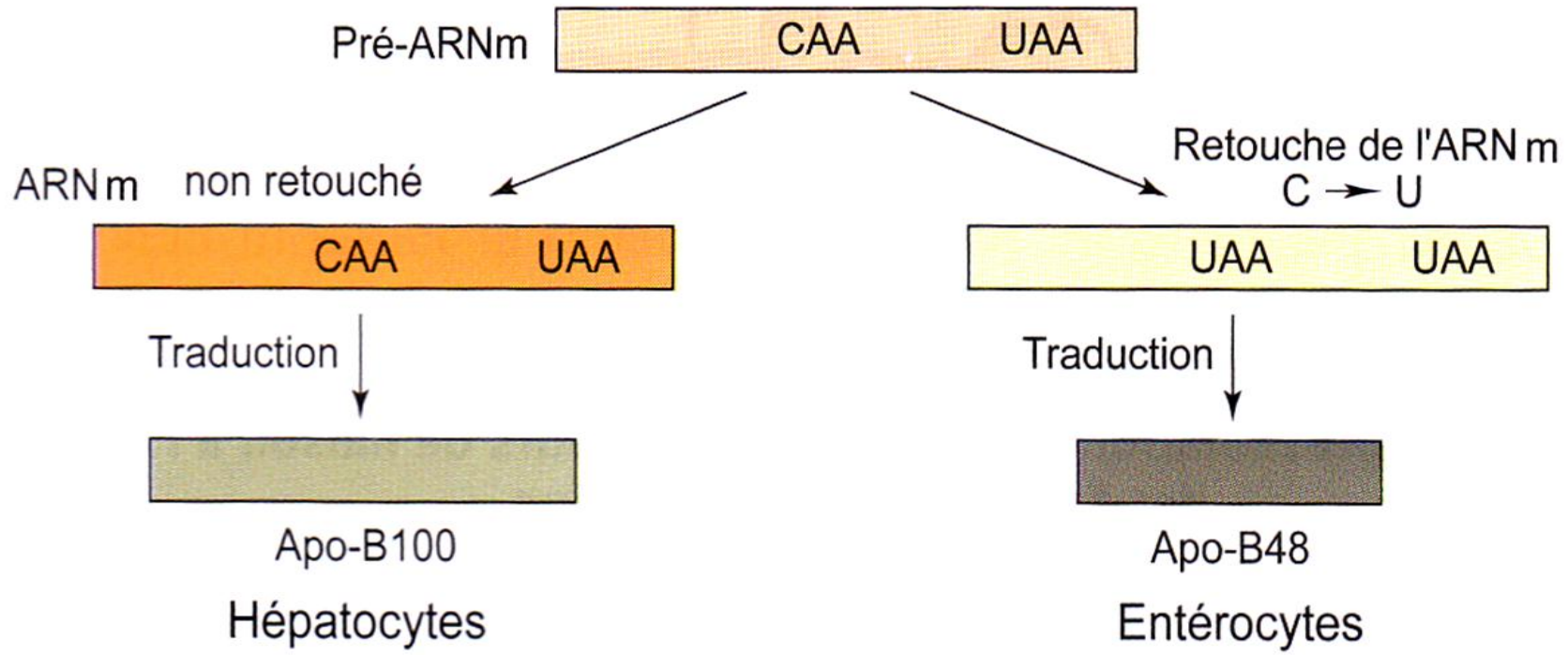
## Une modification post transcriptionnelle par retouche ou édition des ARN m.



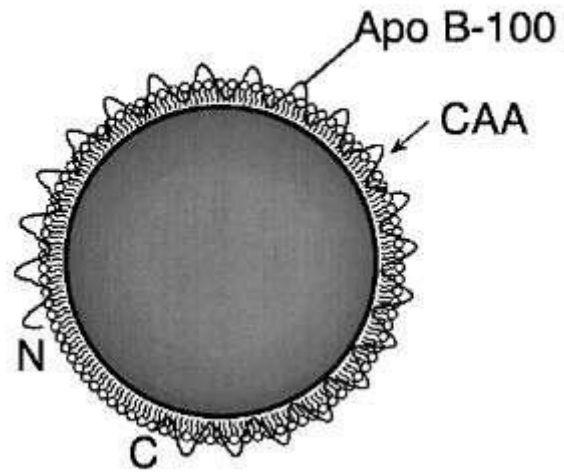
ARNm de l'apolipoprotéine B (B100 dans les hépatocytes) : formation des LDL dans la cellule

✓ Dans les cellules intestinales, édition d'une base de cet ARNm → formation d'un codon stop précoce.

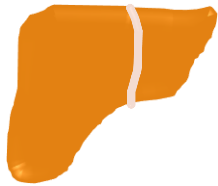
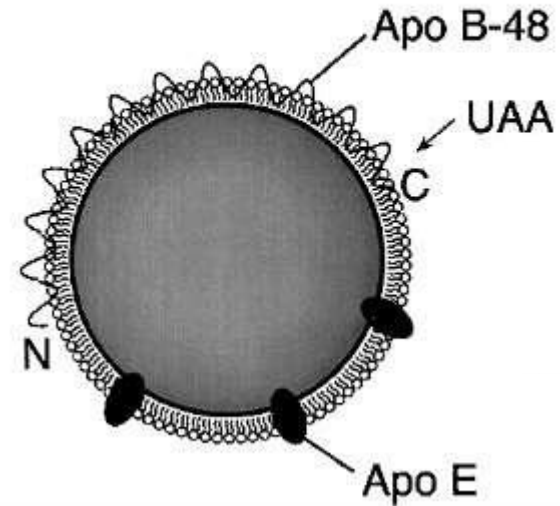
✓ La protéine formée = apolipoprotéine B48 participe à la formation de chylomicrons, permettant l'absorption des lipides intestinaux par voie sanguine (cf. digestion)



### LDL



### Chylomicron



## D. MATURATION DES ARN

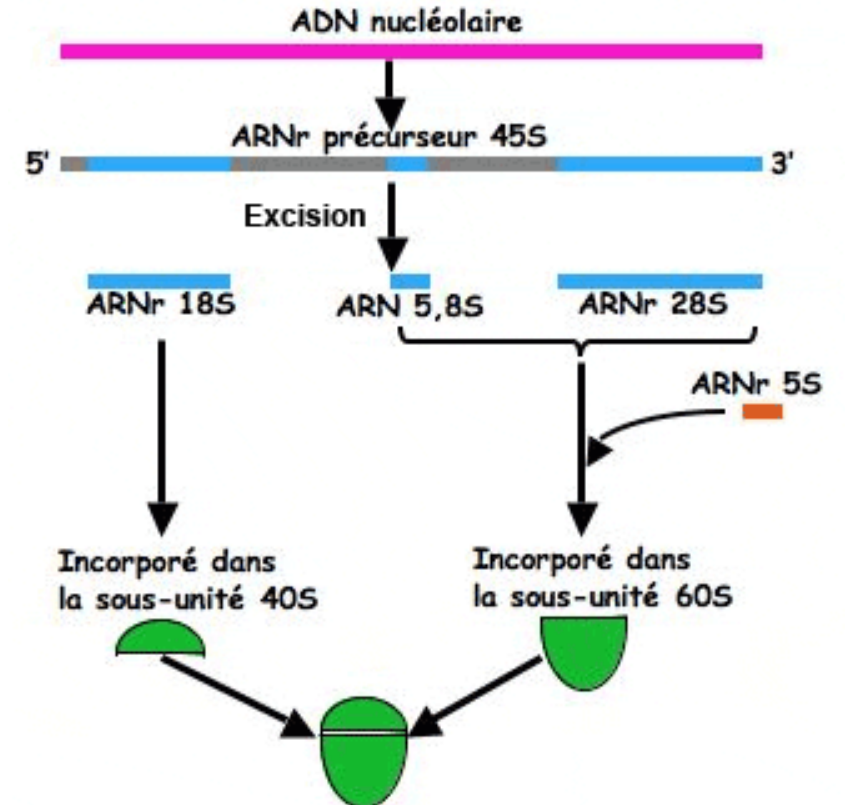
### 5. Edition post-transcriptionnelle des ARN

#### 5.2. Clivages

- ARNr (sauf ARN 5S) codés par un même gène
- Nombreuses copies à la suite
  - gènes en tandem
- Dans une cellule en interphase, ces gènes : dans le nucléole
- Gène transcrit en un long ARNr précurseur (45S) qui est ensuite clivé en 3 ARNr.
- Après transcription et maturation, les ARNr sont incorporés aux ribosomes.



Transcription des gènes des ARNr dans le nucléole 2  $\mu$ m



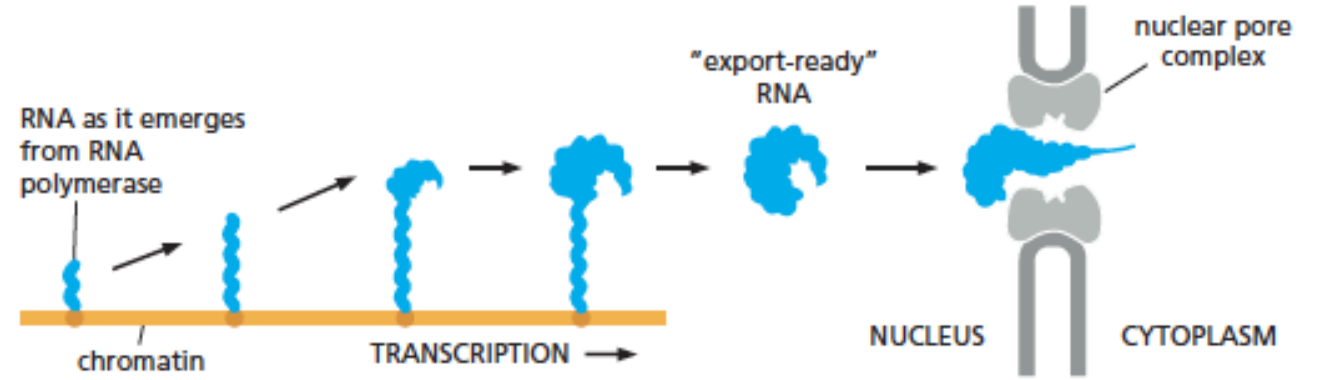
Synthèse et maturation des ARNr

## D. MATURATION DES ARN

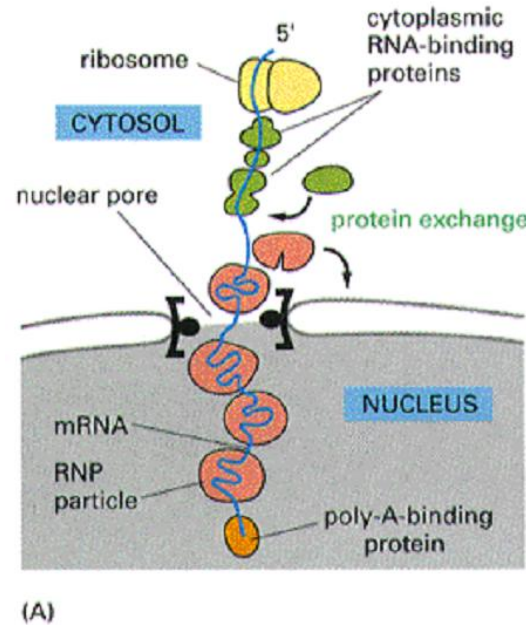
### 5. Edition post-transcriptionnelle des ARN

#### 5.3. Association à des protéines

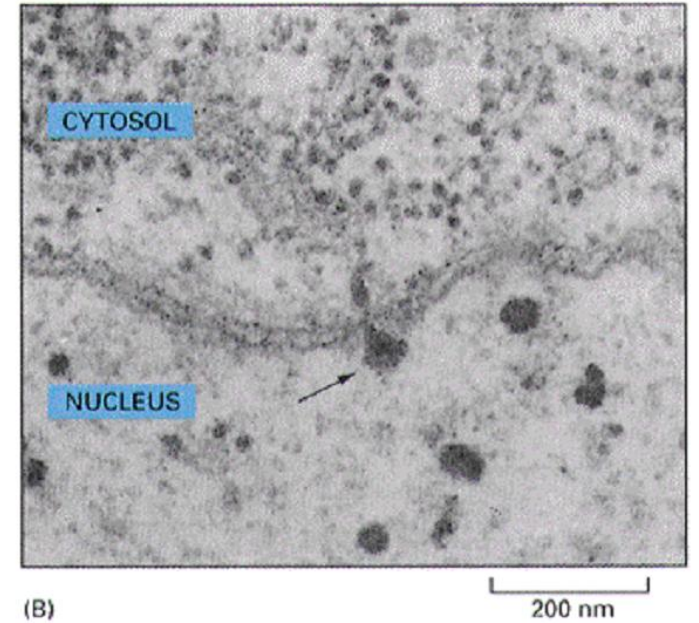
- ARN = molécules fragiles
- A partir du moment de leur maturation, les ARNm toujours associés à des protéines = **complexes ribonucléoprotéiques (RNP)**
- RNP exportés du noyau par interaction avec les protéines des pores nucléaires (reconnaissance de la coiffe 5')
- Après arrivée dans le cytosol, ARNm traduits au niveau des ribosomes



*Empaquetage d'un ARNm grâce à des protéines nucléaires permettant l'export du noyau*



*Diversité des protéines nucléaires associées à l'ARNm*



*Complexe ARN-protéine traversant un pore nucléaire (MET)*



I. La transcription, synthèse d'une copie partielle et mobile d'ADN

- A. Rappels des caractéristiques des acides nucléiques et mise en évidence expérimentale de leur synthèse
- B. Synthèse par l'ARN polymérase
- C. Initiation et terminaison de la transcription
- D. Maturation des ARN (m uniquement traités)
- E. **Bilan de la transcription**

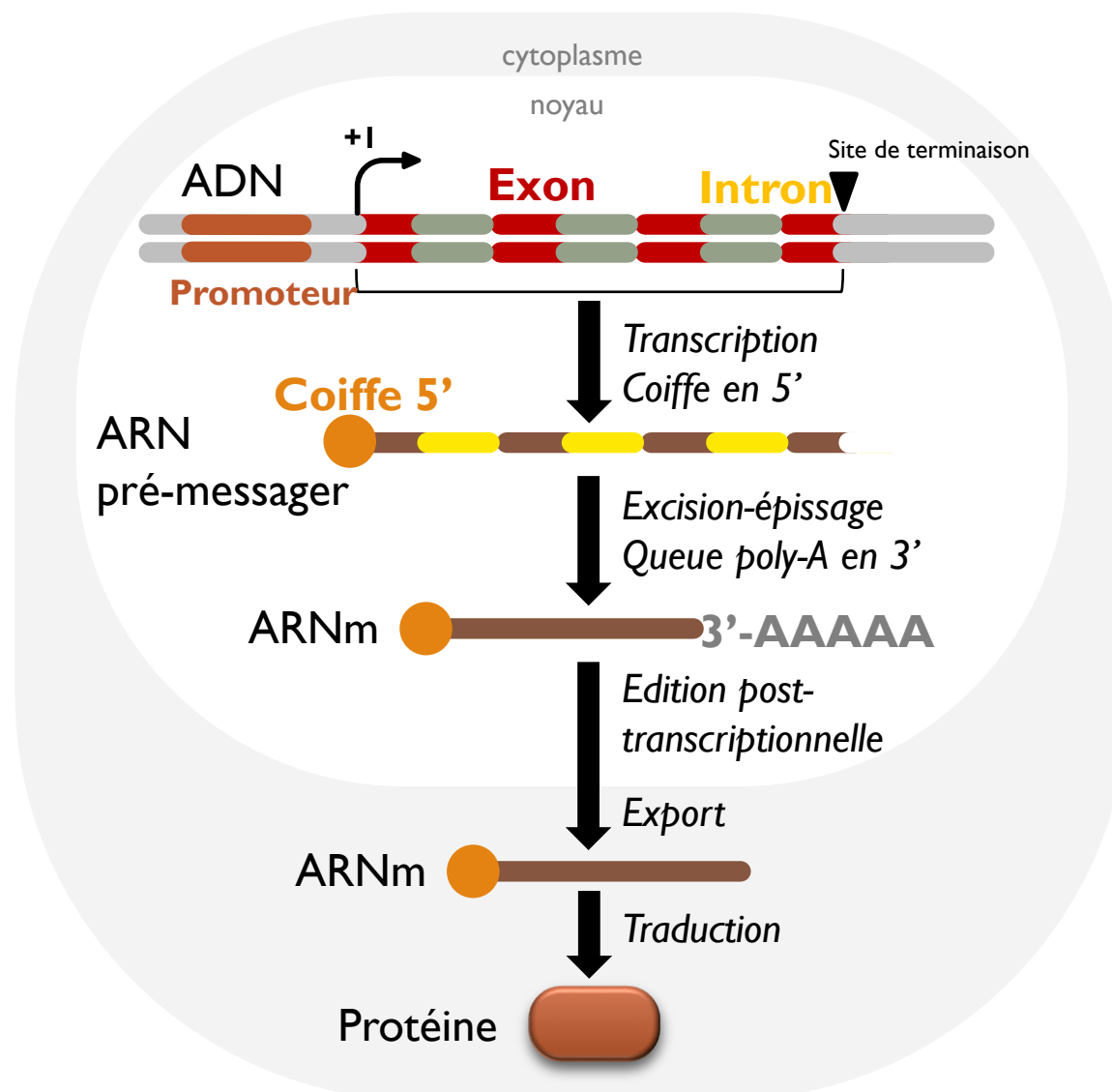
II. La traduction: synthèse de protéines par lecture d'ARNm

- A. Rappels sur le code génétique
- B. Les acteurs de la traduction
- C. Les étapes de la traduction
- D. Les modalités de la traduction diffèrent selon les sites d'adressage des protéines
- E. Des modifications des protéines cou ou post-traductionnelles

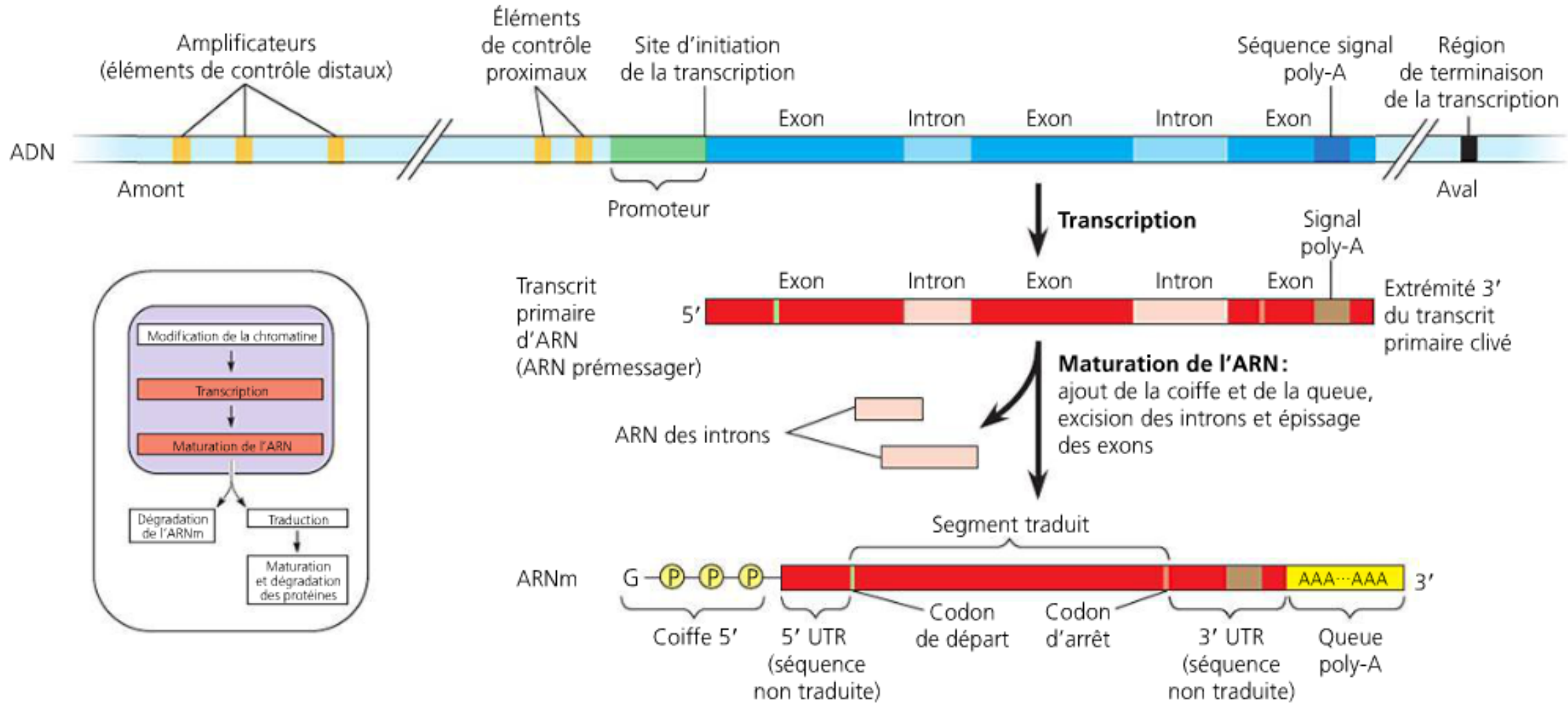


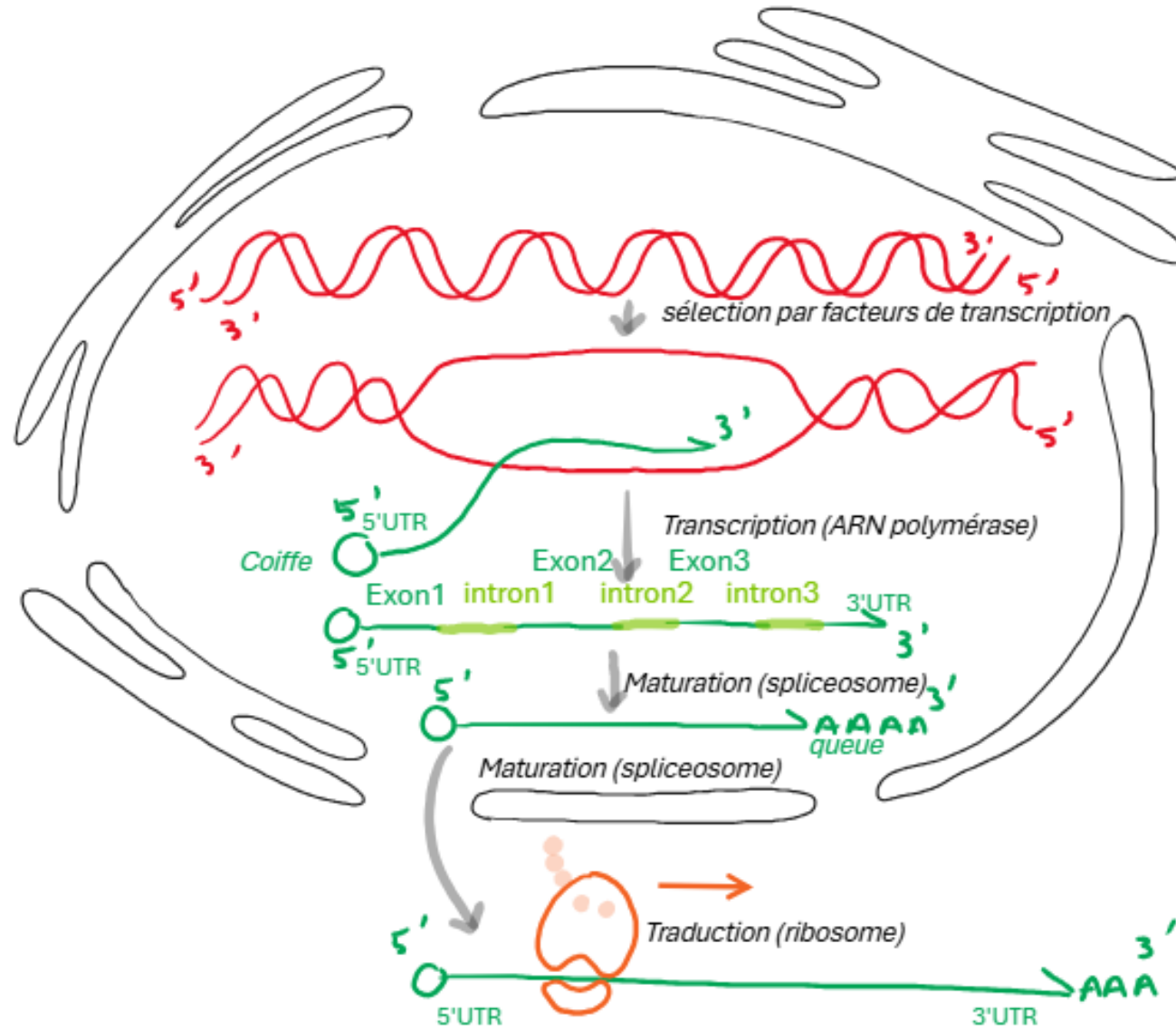
## BILAN

- Les ARN subissent plusieurs transformations durant leur maturation :
  - La maturation des extrémités de l'ARNm (chez les Eucaryotes) :
    - ✓ Coiffe en 5'
    - ✓ Queue poly-A en 3'
  - L'excision-épissage, changeant la séquence d'ARN obtenu en retirant différentiellement des introns.
  - L'édition post-transcriptionnelle
    - ✓ Modifications chimiques
    - ✓ Clivage
- Ces mécanismes permettent d'aboutir à des ARN matures, prêts à être utilisés par la cellule, notamment lors de la traduction.



# BILAN GÉNÉRAL





- I. La transcription, synthèse d'une copie partielle et mobile d'ADN
  - A. Rappels des caractéristiques des acides nucléiques et mise en évidence expérimentale de leur synthèse
  - B. Synthèse par l'ARN polymérase
  - C. Initiation et terminaison de la transcription
  - D. Maturation des ARN (m uniquement traités)
  - E. Bilan de la transcription

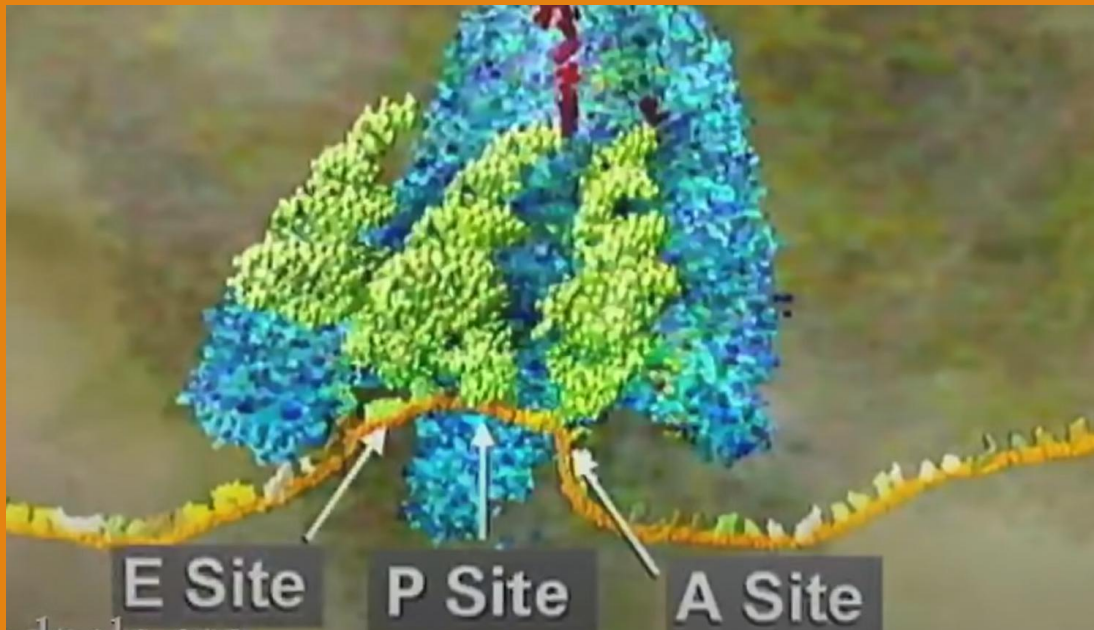
## II. La traduction: synthèse de protéines par lecture d'ARNm

- A. Rappels sur le code génétique
- B. Les acteurs de la traduction
- C. Les étapes de la traduction
- D. Les modalités de la traduction diffèrent selon les sites d'adressage des protéines
- E. Des modifications des protéines cou ou post-traductionnelles

- SV-F-Génomique structurale et fonctionnelle

# LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION ET SON CONTRÔLE

## SV-F-2- L'EXPRESSION DES GÉNOMES



# TRADUCTION. LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION ET SON CONTRÔLE

## INTRODUCTION

- Protéines indispensables au fonctionnement des cellules où elles assurent une grande diversité de fonctions (structure, réserve, catalyse, transport, mouvement, défense, signalisation).
- Toute protéine est codée par un **gène porté par l'ADN**.
- La **transcription** permet de produire une copie, sous forme **d'ARN**, de l'information génétique contenue dans un gène.
- La **traduction** permet ensuite de convertir l'information génétique de l'ARN en une **séquence d'acides aminés** (cf. code génétique).
- Au sein des organismes pluricellulaires, il existe différents types cellulaires correspondant à différents protéomes malgré un génome commun.  
→ Existence de mécanismes de **contrôle de l'expression du génome**

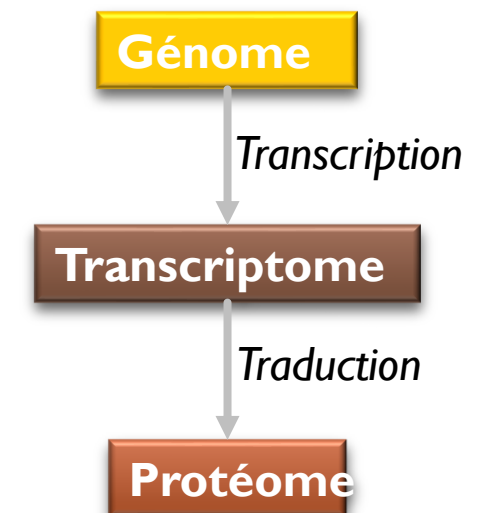
**Quelles sont les principales modalités d'expression des génomes et comment peuvent-elles être contrôlées ?**

**Génome** : (n.m.) ensemble du matériel génétique d'une cellule ou un organisme

**Transcriptome** : (n.m.) ensemble des ARN présents dans une cellule ou un organisme

**Protéome** : (n.m.) ensemble des protéines présentes dans une cellule ou un organisme

Schéma général de l'expression génétique

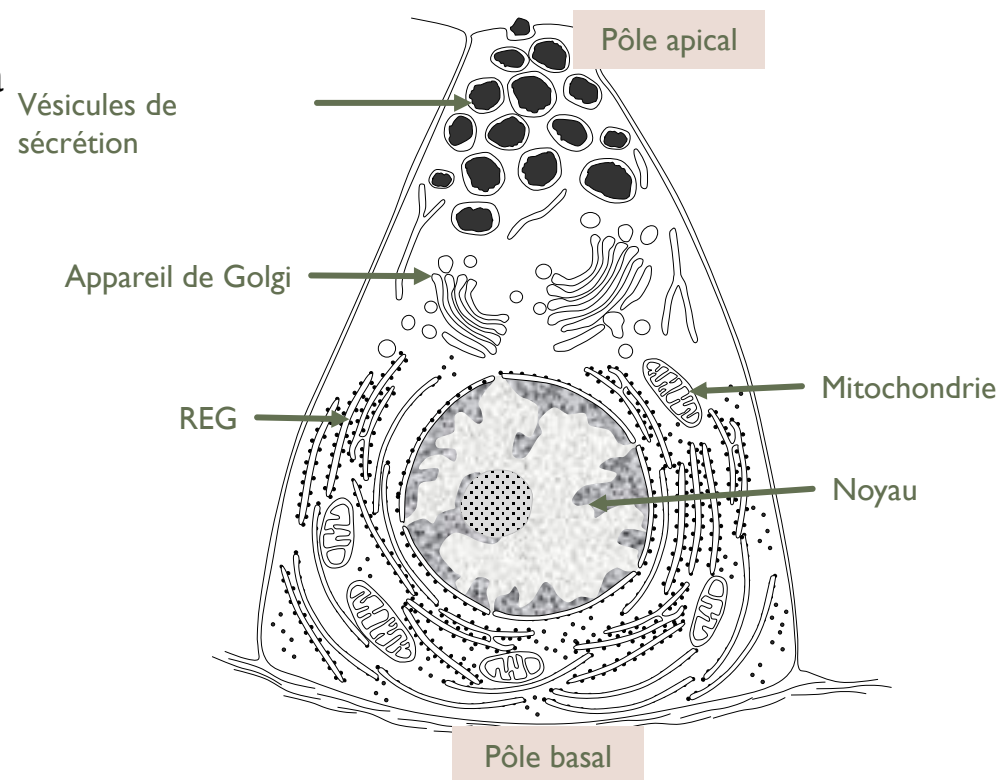


# TRADUCTION. LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION ET SON CONTRÔLE

## INTRODUCTION

- Expérience historique de Palade en 1967
- **Objectif** : suivre le devenir de protéines néosynthétisées, destinées à être sécrétées.
- **Question** : quelle est la voie empruntée par les protéines sécrétées, depuis leur synthèse jusqu'à leur sécrétion, et selon quelle cinétique ?
- **Modèle** : la cellule acineuse pancréatique
  - Production massive de protéines sécrétées
  - Sécrétion cyclique et contrôlée (notamment par la prise de nourriture)
  - Les protéines produites sont des enzymes donc faciles à quantifier

➔ La traduction a lieu dans le cytoplasme.

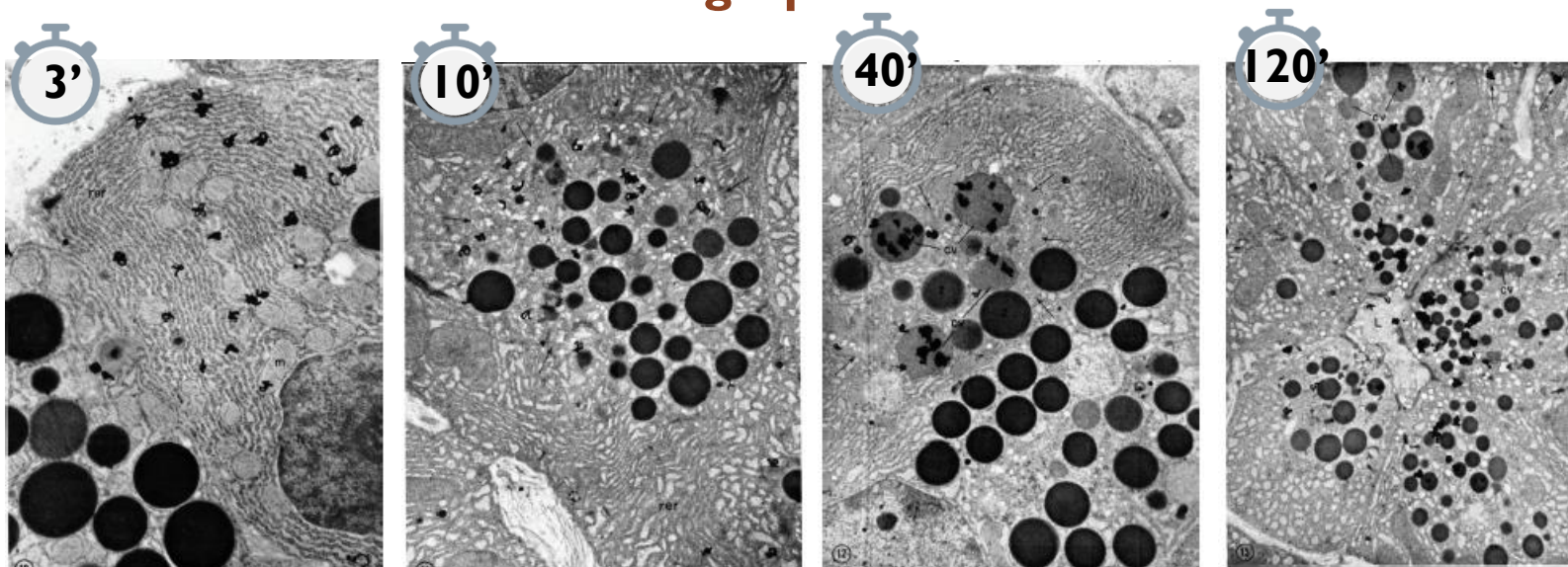


### III. LES CELLULES : DES SYSTÈMES THERMODYNAMIQUES OUVERTS TRAVERSÉS PAR DES FLUX

#### A. DES FLUX DE MATIÈRE

##### I. Mise en évidence d'un flux de matière

##### I.1. Résultats : l'autoradiographie



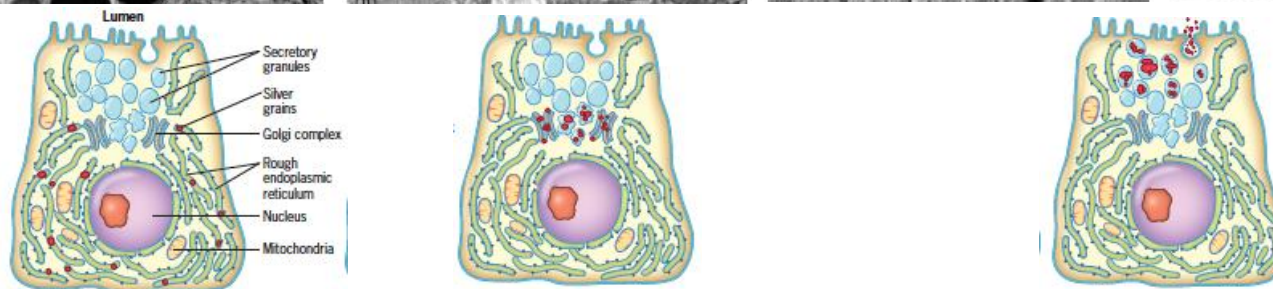
*Electronographie suite à l'autoradiographie des coupes de pancréas marquées à la Leucine tritiée*

La radioactivité est localisée à différents endroits selon le temps de chase utilisé :

T = 3' → REG

T = 10' → Golgi

T > 40' → vésicules de condensation ; grains de zymogènes, lumière du canalicule

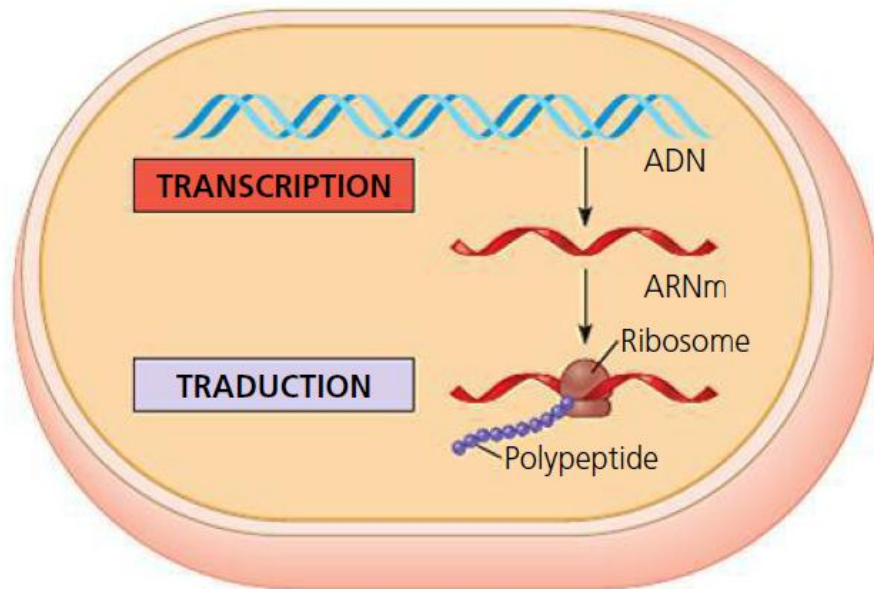


→ Temps

→ Les protéines synthétisées pendant le pulse se déplacent dans la cellule au cours du temps

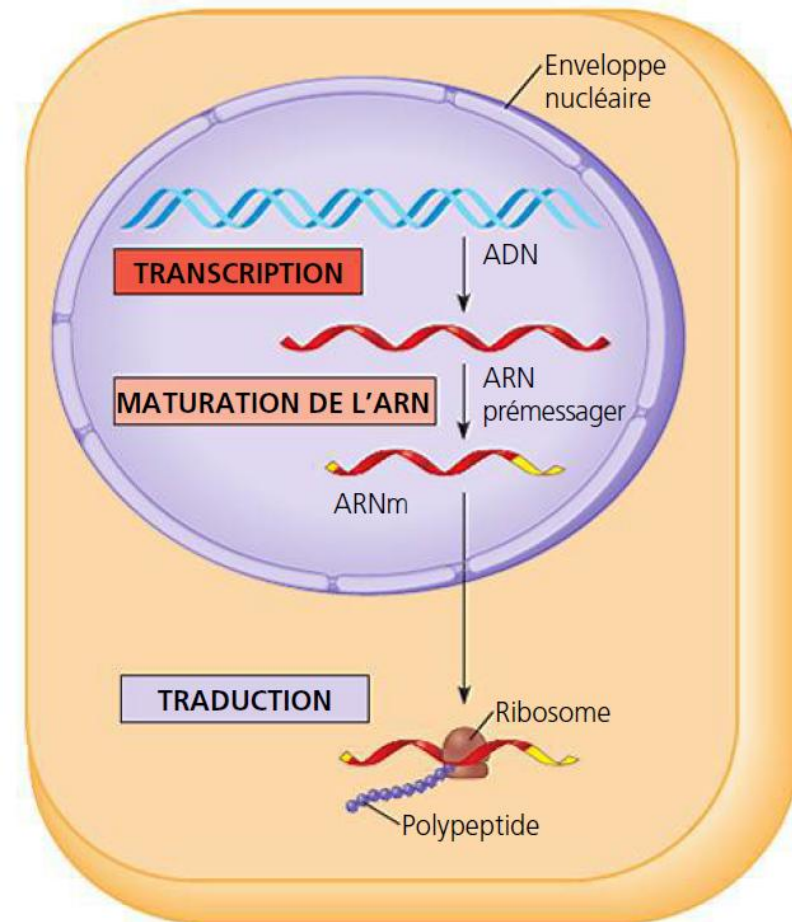
# TRADUCTION. LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION ET SON CONTRÔLE

## INTRODUCTION



**Quelles sont les étapes et les mécanismes de la traduction ?**

**Comment est-elle régulée ?**



*Expression génétique chez les bactéries et les Eucaryotes (Campbell, 2012)*

## II. LA TRADUCTION : SYNTHÈSE DE PROTÉINES PAR LECTURE D'UN ARNm

### A. RAPPELS SUR LE CODE GÉNÉTIQUE

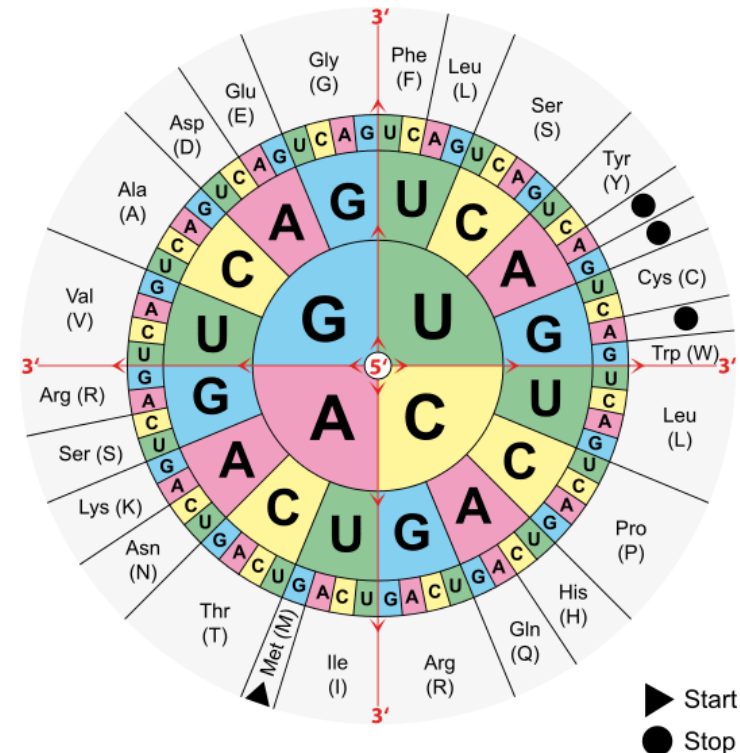
#### I. Approche théorique

- Dans l'ARNm, information génétique sous forme d'une **séquence de 4 bases azotées**.
- Dans une protéine, information génétique présente sous la forme d'une **séquence de 20 acides aminés**.
- ✓ **Quelle est la correspondance entre les deux ???**
- **Code génétique = système de correspondance** entre l'information en nucléotides et l'information en acides aminés.

- ✓ Si 1 base code 1 AA → 4 AA différents
- ✓ Si 2 bases codent 1 AA →  $4^2 = 16$  AA différents
- ✓ Si 3 bases codent 1 AA →  $4^3 = 64$  AA différents

→ **Un AA est codé par un triplet de nucléotides = un codon**

George Gamow (1904-1968), Physicien  
Père du concept de code génétique,  
proposé en 1954



Le code génétique

## II. LA TRADUCTION : SYNTHÈSE DE PROTÉINES PAR LECTURE D'UN ARNM

### A. RAPPELS SUR LE CODE GÉNÉTIQUE

#### 2. Approche expérimentale

#### 2.2. Travaux de Crick et Brenner (1961)

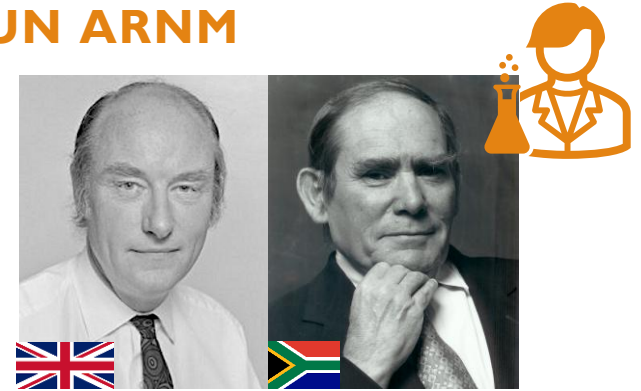
**Hypothèse** : un AA est codé par un triplet de nucléotides (concept proposé par Gamow en 1954)

**Principe** : Mutagenèse de l'ADN d'un virus de type indel.

#### Résultats :

- Une indel de 1 ou 2 nt induit d'importants changements dans la séquence en AA de la protéine virale
- Une indel de 3 nt ne modifie qu'un AA

→ **Un AA est codé par un triplet de nucléotides**



Francis Crick (1916-2004), Biologiste  
Sydney Brenner (1927-2019), Biologiste

Modification du nb de nucléotides dans ADN viral	Comparaison des séquences en AA de la protéine obtenue et de la protéine virale de référence	Virulence du virus
0	identique	Oui
+1 ou -1	Nombreux AA différents	Non
+2 ou -2	Nombreux AA différents	Non
+3	Identique SAUF un AA supplémentaire	Oui
-3	Identique SAUF un AA manquant	Oui

Résultats de l'expérience



## II. LA TRADUCTION : SYNTHÈSE DE PROTÉINES PAR LECTURE D'UN ARNM

### A. RAPPELS SUR LE CODE GÉNÉTIQUE

#### 2. Approche expérimentale

#### 2.3. Travaux de Yanofsky (1964)

Charles Yanofski  
(1925-2018)  
Généticien



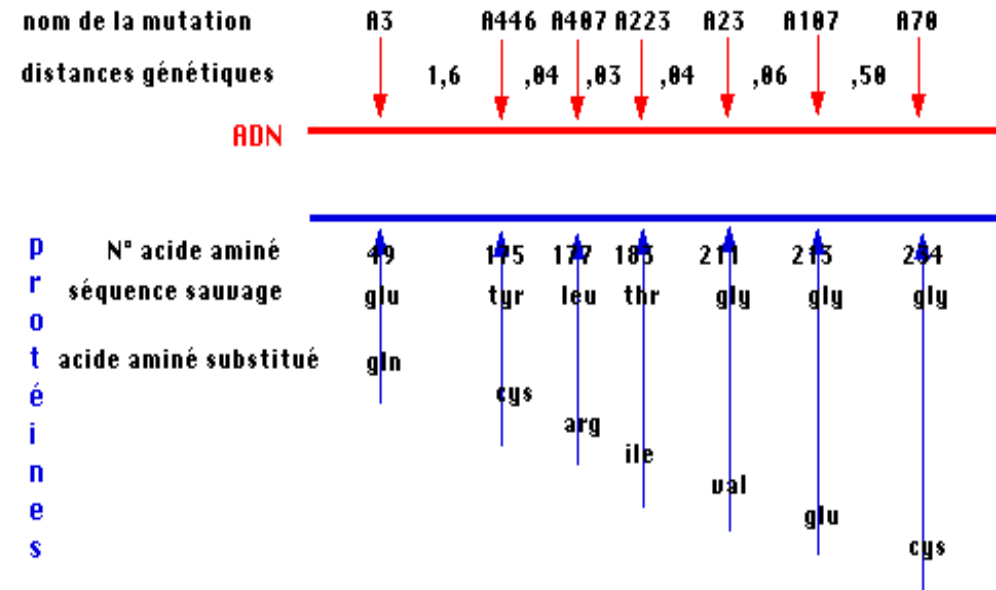
**Objet d'étude** : une enzyme de *E. Coli* (Trp synthétase)

#### Principe :

- cartographie à haute résolution de plusieurs mutations dans le gène codant l'enzyme
- séquençage de l'enzyme
- comparaison des 2

**Conclusion** : il y a un parallèle entre la position des mutations et les modifications d'AA de la protéine

→ **Colinéarité gène-protéine**



[http://genet.univ-tours.fr/gen000600\\_fichiers/chap5-1.htm](http://genet.univ-tours.fr/gen000600_fichiers/chap5-1.htm)

## II. LA TRADUCTION : SYNTHÈSE DE PROTÉINES PAR LECTURE D'UN ARNM

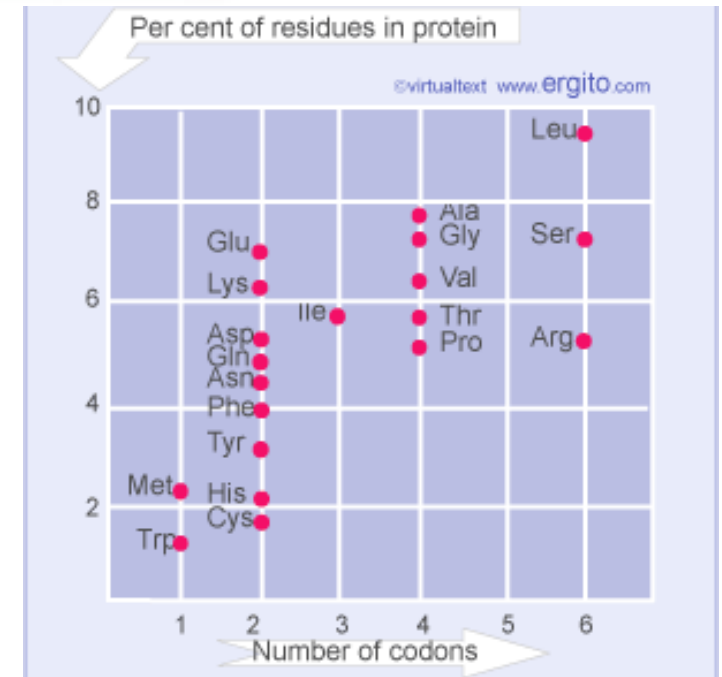
### A. RAPPELS SUR LE CODE GÉNÉTIQUE

### 3. Propriétés

- Le code génétique est...
  - **Univoque** (= non ambigu) : un codon correspond à un seul AA
  - **Redondant** (= dégénéré) : un même AA est codé par plusieurs (2-6) codons (qui souvent diffèrent au niveau de la 3<sup>e</sup> lettre)
  - **Universel** (ou presque) : valable dans toutes les espèces (sauf qq variantes chez certaines espèces, dans la mitochondrie)
  - **Non chevauchant** : un nucléotide donné n'intervient que dans un seul codon
  - **Ponctué** : il existe...
    - ✓ 1 codon initiateur (AUG)
    - ✓ 3 codons stop ne codant aucun AA

		Second letter					
		U	C	A	G		
First 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	Third letter
	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	

Le code génétique



Nombre de codons synonymes et abondance des AA dans les protéines

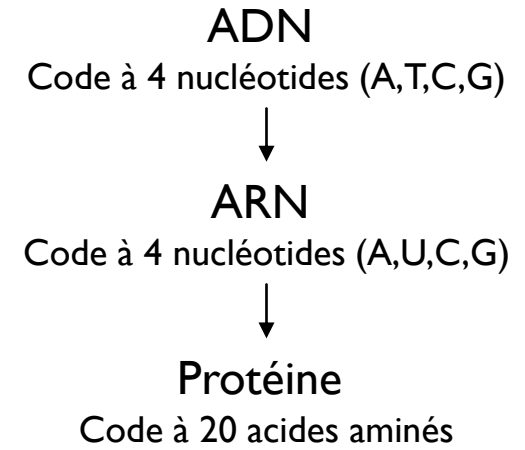
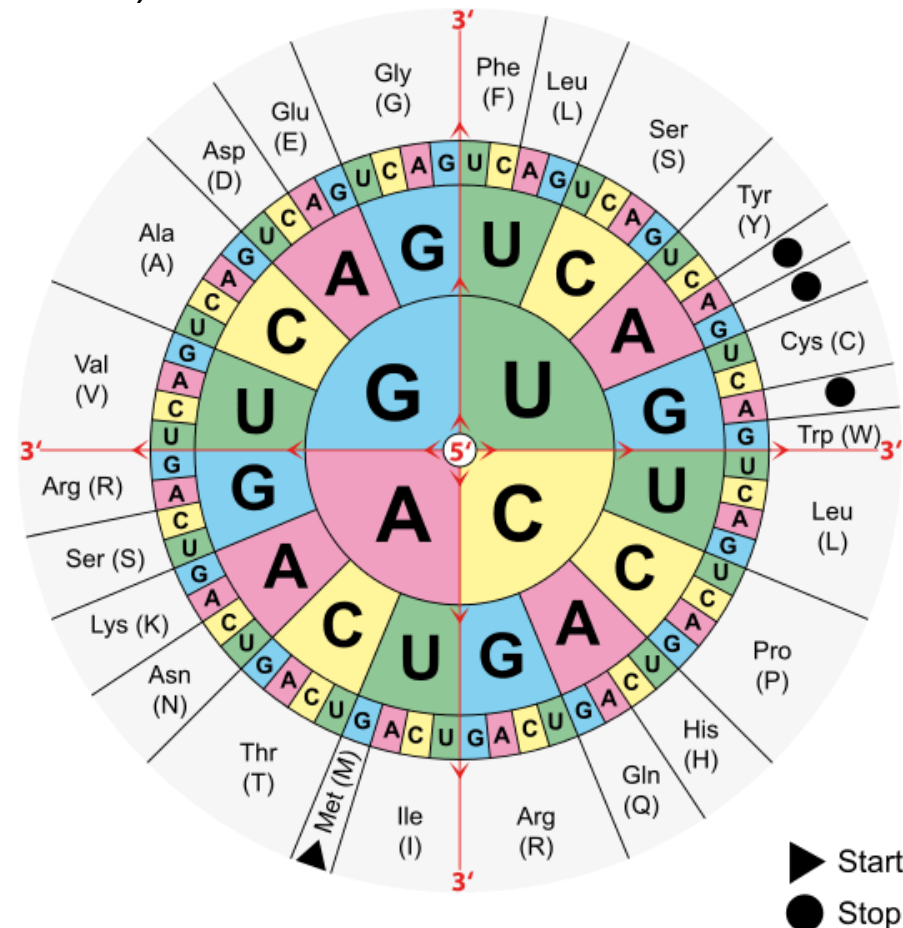
## II. LA TRADUCTION : SYNTHÈSE DE PROTÉINES PAR LECTURE D'UN ARNM

### A. RAPPELS SUR LE CODE GÉNÉTIQUE

#### BILAN

- Le **code génétique** est le système de correspondance entre un codon (= triplet de nucléotide) et un acide aminé.
- Le code génétique est :
  - Universel
  - Univoque
  - Redondant
  - Non chevauchant
  - Ponctué

Le code génétique





I. La transcription, synthèse d'une copie partielle et mobile d'ADN

- A. Rappels des caractéristiques des acides nucléiques et mise en évidence expérimentale de leur synthèse
- B. Synthèse par l'ARN polymérase
- C. Initiation et terminaison de la transcription
- D. Maturation des ARN (m uniquement traités)
- E. Bilan de la transcription


II. La traduction: synthèse de protéines par lecture d'ARNm

- A. Rappels sur le code génétique
- B. Les acteurs de la traduction**
- C. Les étapes de la traduction
- D. Les modalités de la traduction diffèrent selon les sites d'adressage des protéines
- E. Des modifications des protéines cou ou post-traductionnelles

# B. LES ACTEURS DE LA TRADUCTION

## I. L'ARNm: produit de la transcription et matrice de la traduction

### I.1. Approche expérimentale

- Première **détection** dans le cytoplasme en 1961 par Jacob et Gros.
  - Marquage très bref de l'ARN par du phosphore radioactif ( $^{32}\text{P}$ ) dans une culture de *E. Coli*.
- Travaux de Jacob et Monod (Nobel 1965 ): Mise en évidence du **rôle** de l'ARNm
  - L'ARN joue un rôle **d'intermédiaire** entre ADN et protéine
  - L'ARN est une molécule très **instable**

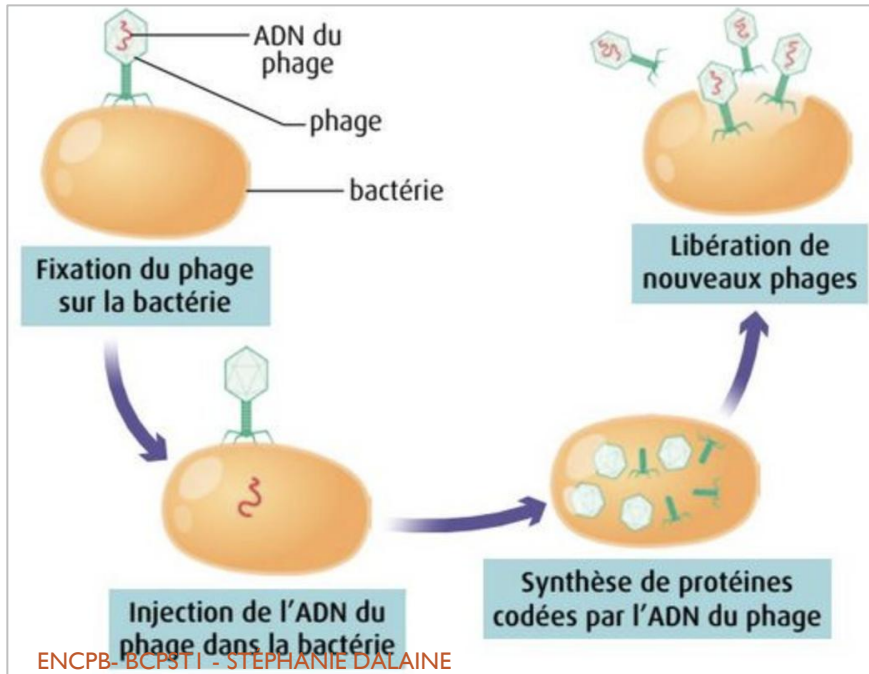
François Gros (1925-2022), Biologiste.

François Jacob (1920-2013), Biologiste et médecin

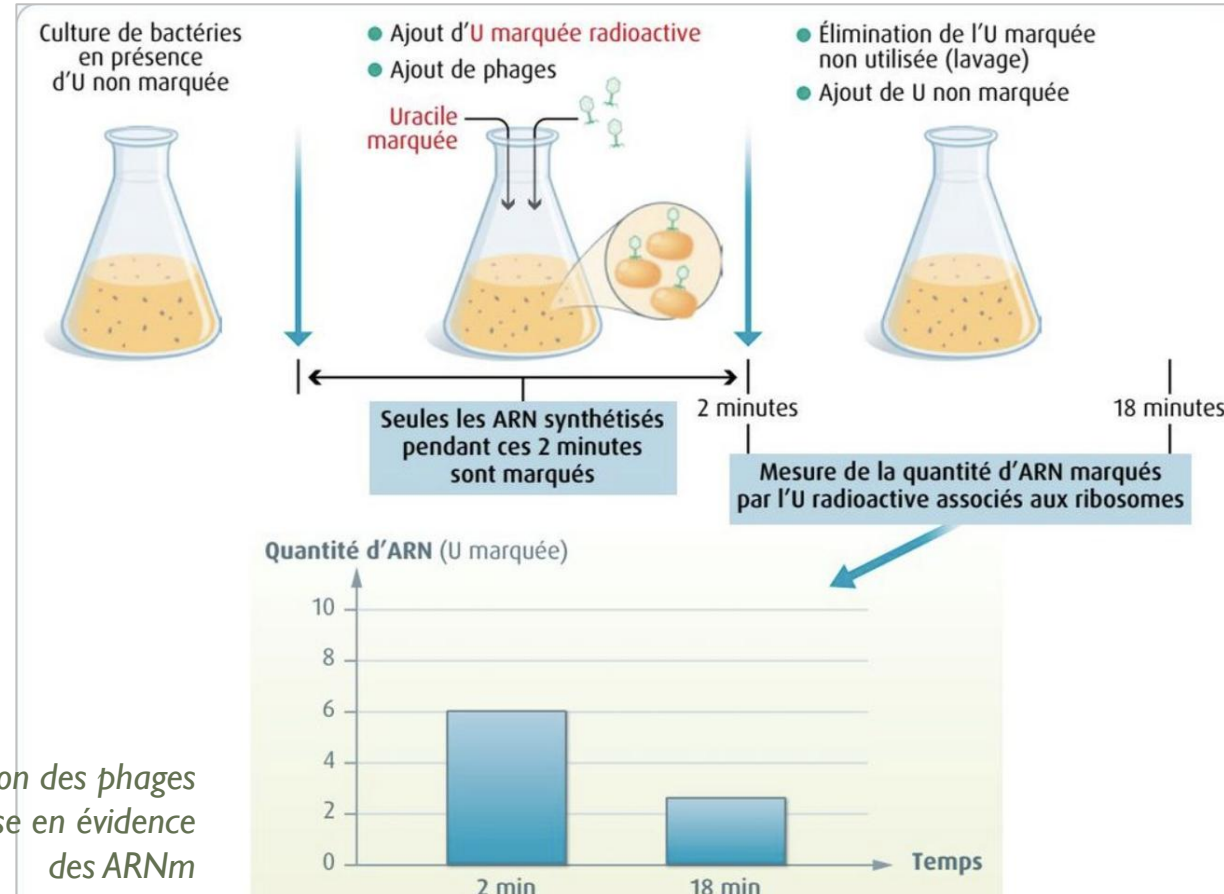
Jacques Monod (1910-1976), Biologiste



<https://www.ina.fr/ina-eclaire-actu/1964-francois-gros-reproduit-l-experience-qui-lui-a-permis-de-mettre-en-evidence-l-arn>



Fonctionnement des phages



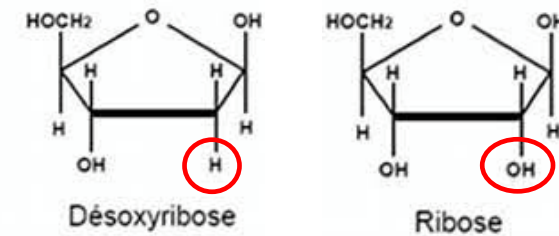
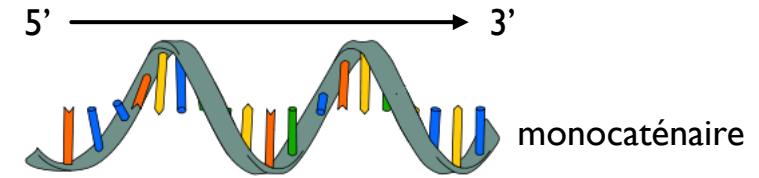
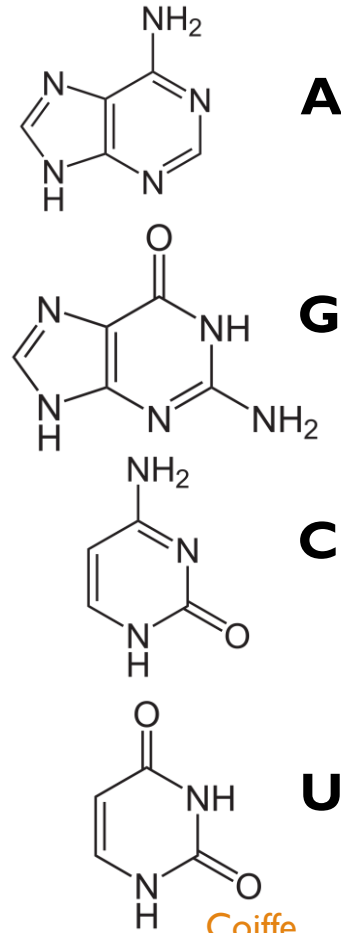
## B. LES ACTEURS DE LA TRADUCTION



### I. L'ARNm: produit de la transcription et matrice de la traduction

#### I. 2. Structure

- ARN = acide ribonucléique
- Polymère de **ribonucléotides** (A,U,C,G)
  - Groupe -OH du ribose réactif  
→ ARN plus instable que l'ADN
  - Demi-vie ~ qq min
- Molécule **orientée** (5'-3')
- **Monocaténaire** mais possibilité de structures secondaires par repliement et hybridation
- **Longueur variable** (selon la longueur du gène)
- Extrémités modifiées :
  - **coiffe** méthylée en 5'
  - **queue poly-A** en 3'



Caractéristique structurale de l'ARN



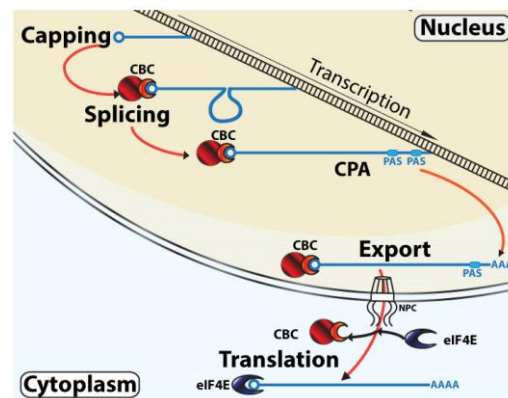
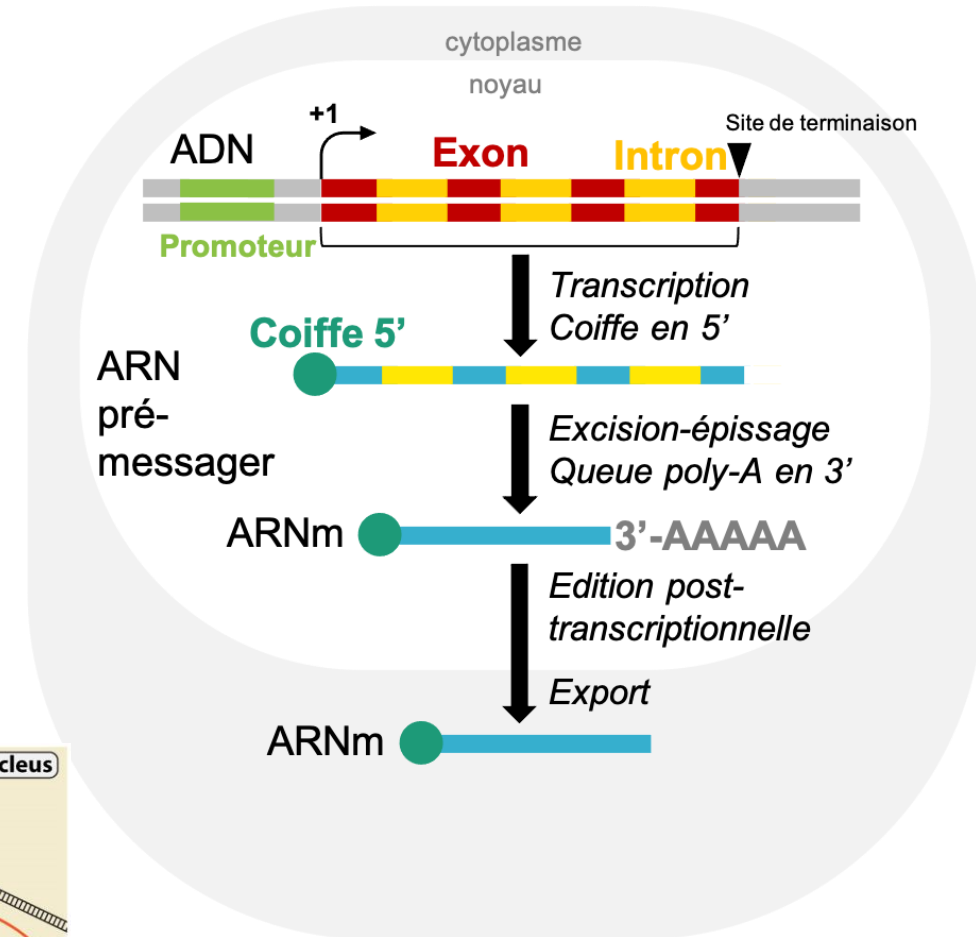
## B. LES ACTEURS DE LA TRADUCTION



### I. L'ARNm: produit de la transcription et matrice de la traduction

#### I.3. Synthèse et export

- Synthétisés par **transcription** de l'ADN
  - ARNm = 5% de tous les ARN transcrits par la cellule
  - Localisation : dans le noyau
  - Enzyme : ARN pol II
  - Modifications co-transcriptionnelles :
    - ✓ Excision-épissage
    - ✓ Modification des extrémités 5' et 3'
  - Modifications post-transcriptionnelles :
    - ✓ Clivage
    - ✓ Modification de bases
    - ✓ Association à des protéines
- **Export** du noyau via les **pores nucléaires**, grâce à la reconnaissance de la coiffe ( $m^7G$ -PPP-G) par le CBC (cap-binding complex)



« Les originaux restent au coffre, les copies sont transmises à l'usine »

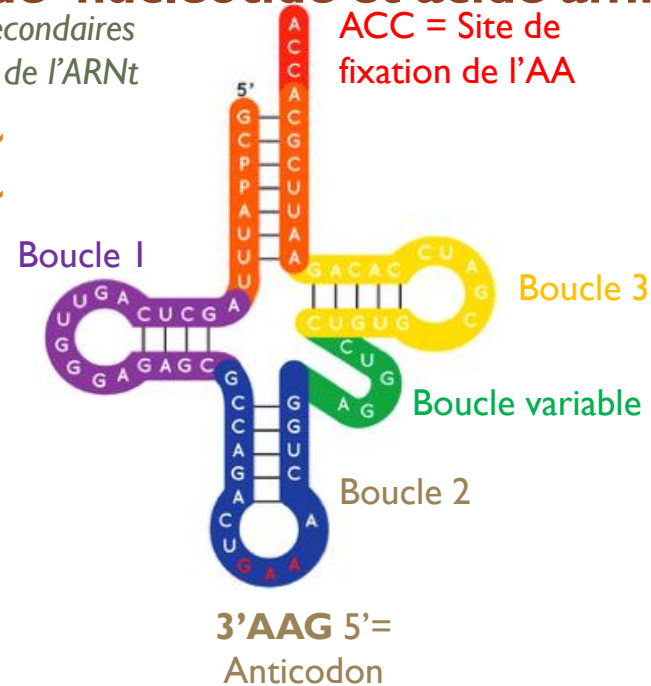
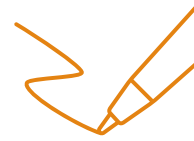
## B. LES ACTEURS DE LA TRADUCTION

### 2. Les ARNt : des adaptateurs entre codon de nucléotide et acide aminé

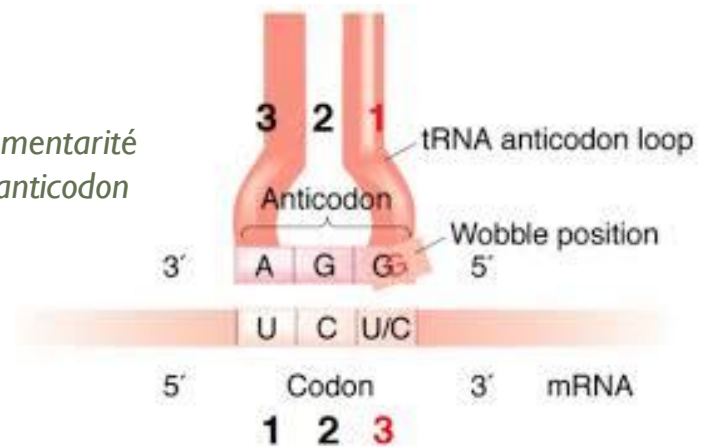
#### 2.1. Structure

- ARNt = ARN de transfert
  - localisés dans le **cytoplasme**
  - 15% des ARN transcrits
- Séquence : 70-85 nt
- Structures secondaires : appariements non canoniques des bases azotées de l'ARNt
  - 4 boucles
  - forme de trèfle
- Structure 3D : forme en L
- Régions d'importance fonctionnelle :
  - La **tige acceptrice** en 3' (ACC) est capable de fixer un **AA**
  - La boucle de l'**anticodon**, triplet de nt complémentaires du codon de l'ARNm.

Structures secondaires  
et forme 3D de l'ARNt



Complémentarité  
codon-anticodon



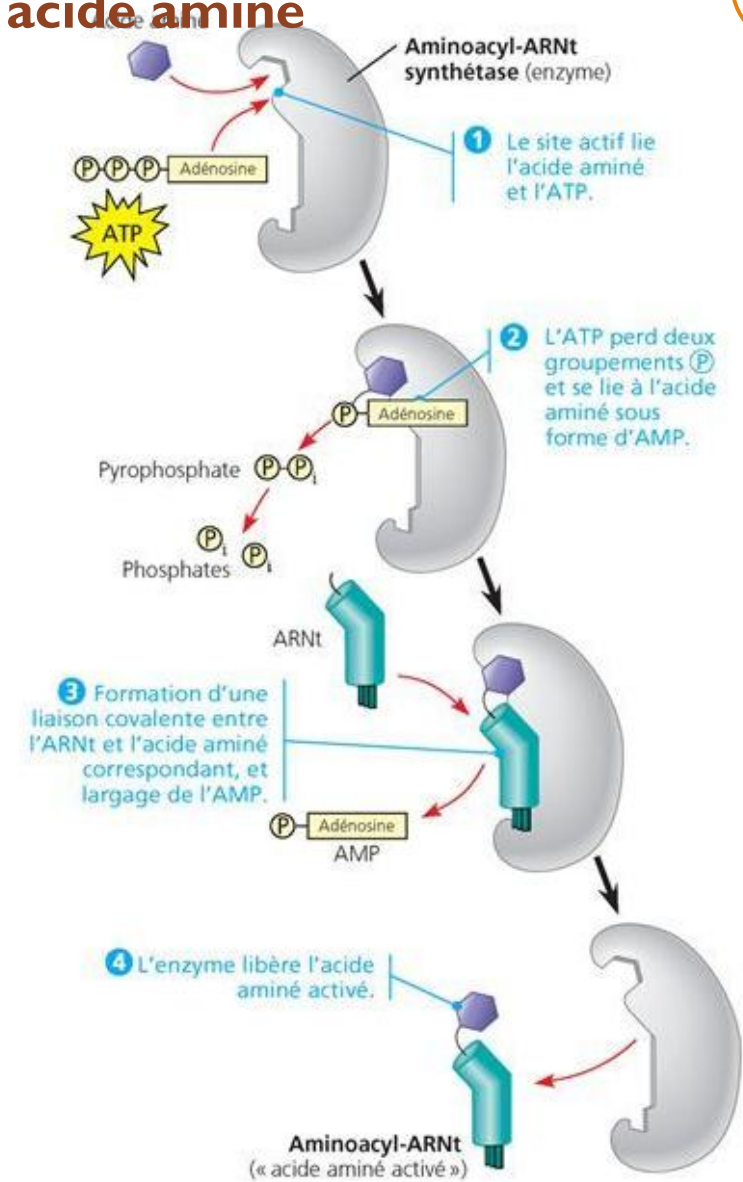
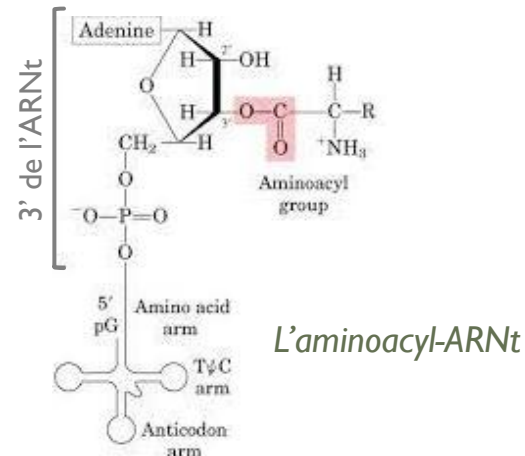
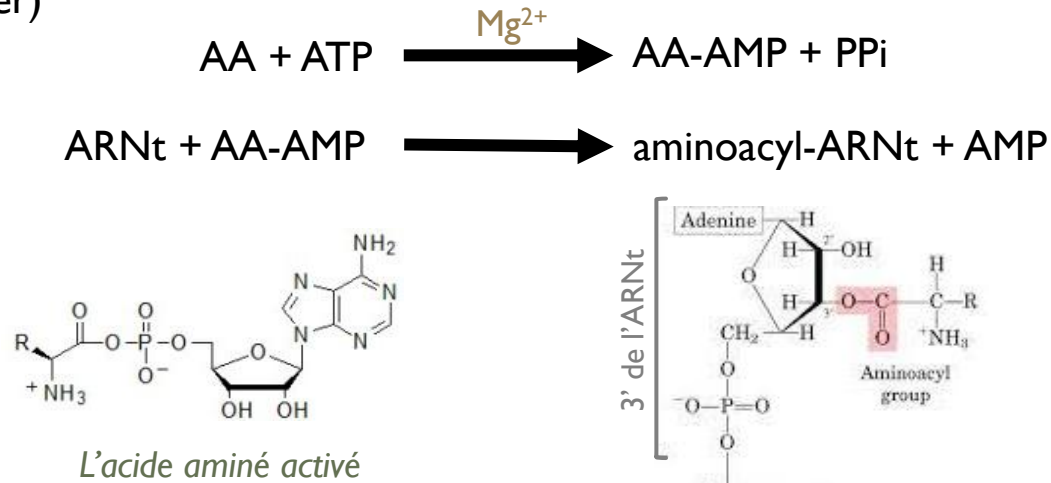


## B. LES ACTEURS DE LA TRADUCTION

### 2. Les ARNt : des adaptateurs entre codon de nucléotide et acide aminé

#### 2.2. Fixation de l'acide aminé

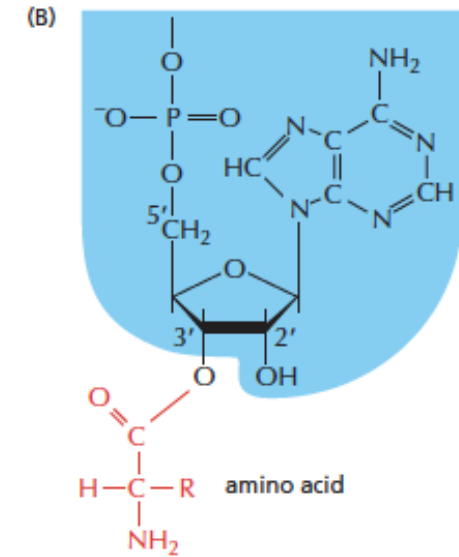
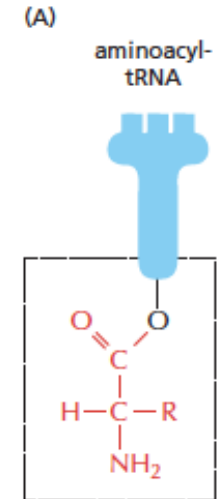
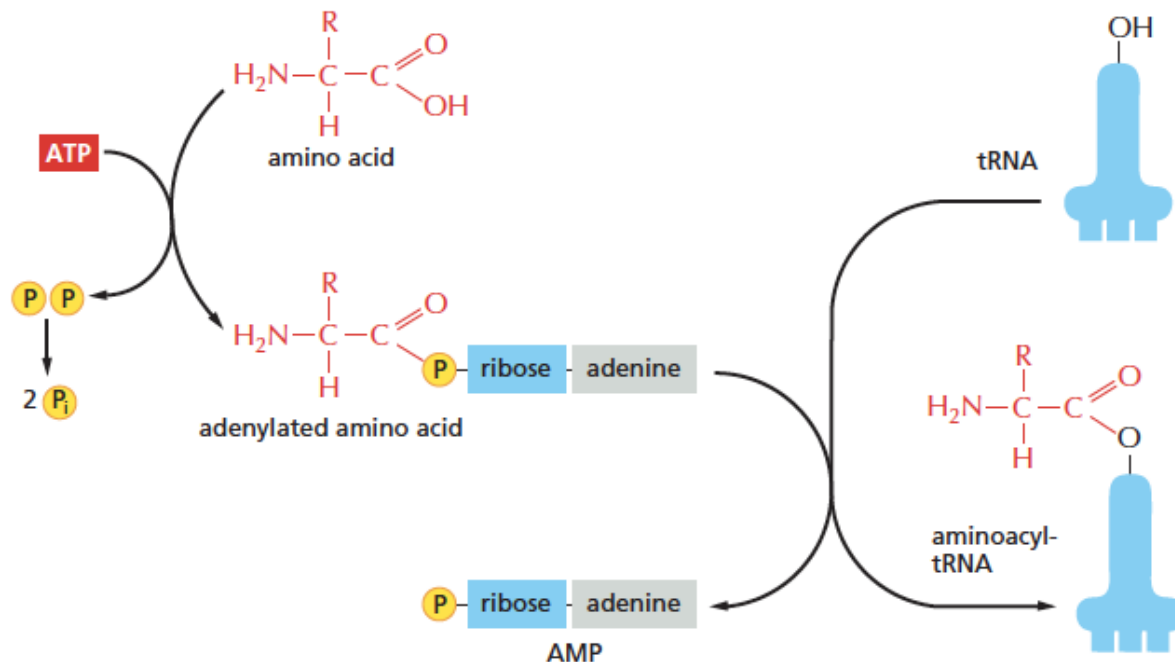
- La fixation des AA sur les ARNt est catalysée par des enzymes : **aminoacyl-ARNt synthétases**
- Cela se fait en 2 étapes :
  - Activation de l'AA → AA-AMP
  - Fixation de l'AA activé sur la tige acceptrice 3' de l'ARNt (liaison ester)



## B. LES ACTEURS DE LA TRADUCTION

### 2. Les ARNt : des adaptateurs entre codon de nucléotide et acide aminé

#### 2.2. Fixation de l'acide aminé



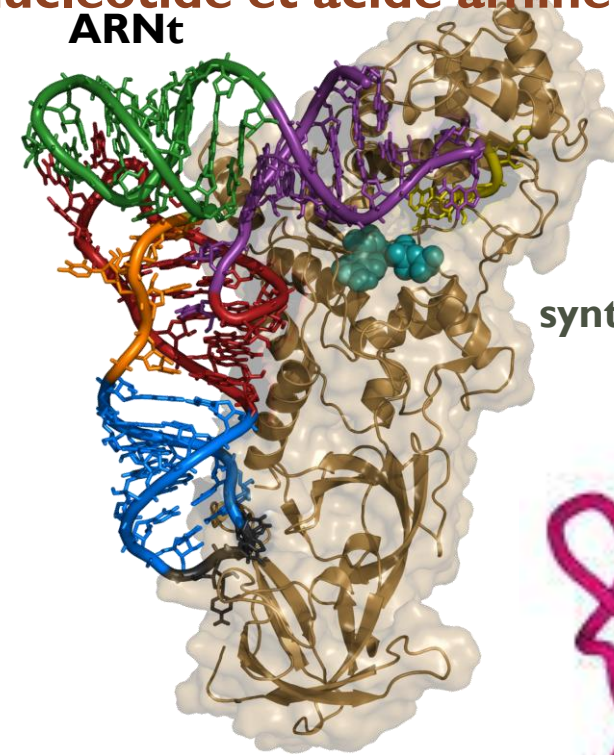
## B. LES ACTEURS DE LA TRADUCTION

### 2. Les ARNt : des adaptateurs entre codon de nucléotide et acide aminé

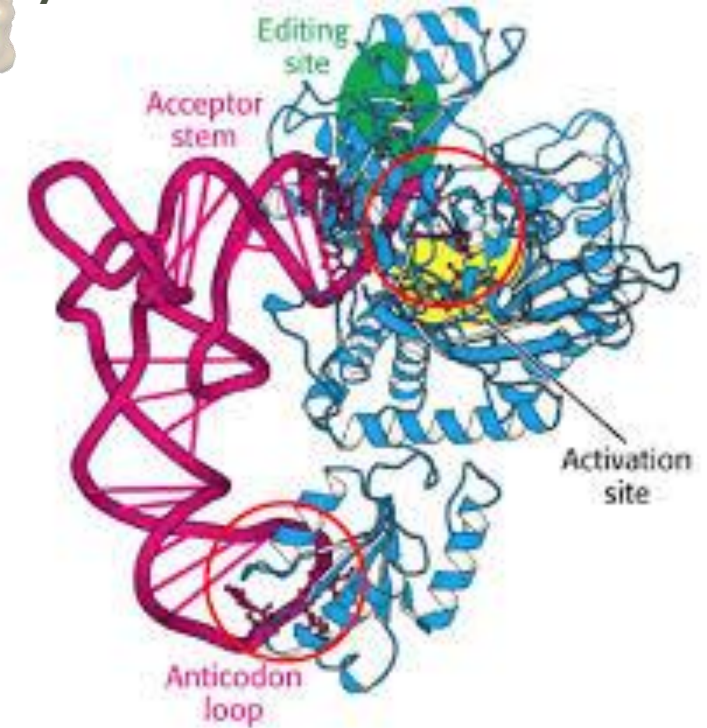


#### 2.2. Fixation de l'acide aminé

- 64 codons, 20 AA différents
- 47 ARNt ≠ regroupés en 20 familles d'ARNt isoaccepteurs (fixant un même AA mais avec des anticodons différents)
- Problème : comment se fait la reconnaissance entre un AA et l'ARNt portant l'anticodon approprié ?
- **Correspondance** entre anticodon et AA **assurée** par les **aminoacyl-ARNt synthétases**.
- Elles possèdent 2 sites de reconnaissance spécifiques :
  - I site de reconnaissance de l'AA
  - I site de reconnaissance de l'anticodon→ **Double spécificité de substrat**



synthétase



ARNt

Synthétase

## B. LES ACTEURS DE LA TRADUCTION

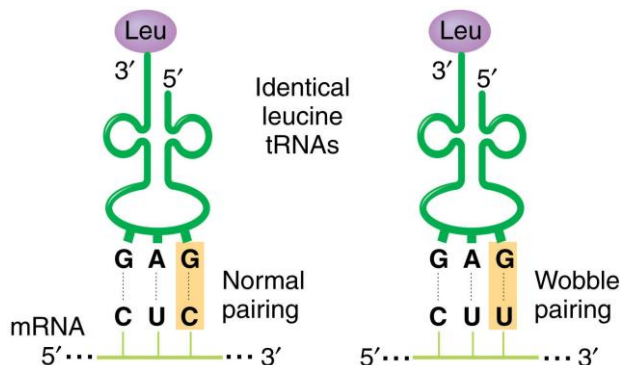
### 2. Les ARNt : des adaptateurs entre codon de nucléotide et acide aminé

#### 2.3. Spécificité de l'ARNt

- **Spécificité** d'un ARNt due à son **anticodon** et non à l'AA qu'il porte
- Cependant spécificité pas stricte
  - **effet Wobble** sur le 3<sup>e</sup> nucléotide du codon permet à un même ARNt de reconnaître plus d'un codon.

L'ARNt-Leu a pour anticodon (3' → 5') : GAG.

Cependant, par effet Wobble, il reconnaît 2 codons variant au niveau de la 3<sup>e</sup> base (5' → 3') : CUC, CUU.



eukaryotes

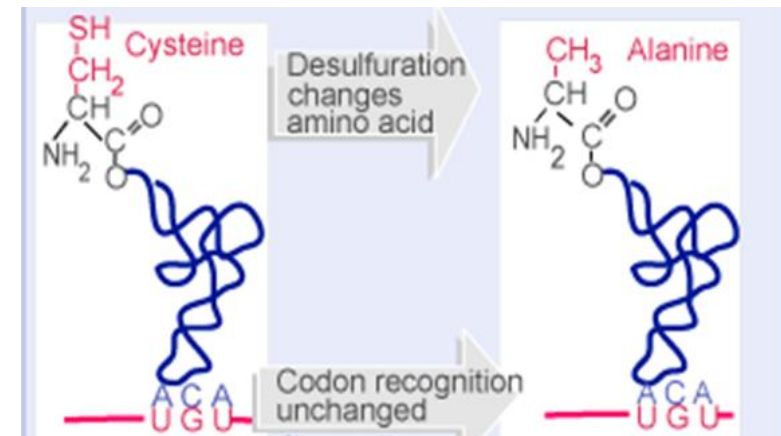
wobble codon base	possible anticodon bases
U	A, G, or I
C	G or I
A	U
G	C

➔ L'effet Wobble explique (en partie) la dégénérescence du code génétique

#### Expérience de Chapeville

**Principe** : remplacer l'AA (Cys) fixé sur un ARNt par un autre AA (Ala)

→ Perte de correspondance anticodon-AA



**Résultat** : L'Ala est incorporé au sein de la protéine à la place de Cys.

**Conclusion** : C'est l'**anticodon** (et non l'AA qu'il porte) qui détermine la **spécificité** d'un ARNt.

## B. LES ACTEURS DE LA TRADUCTION

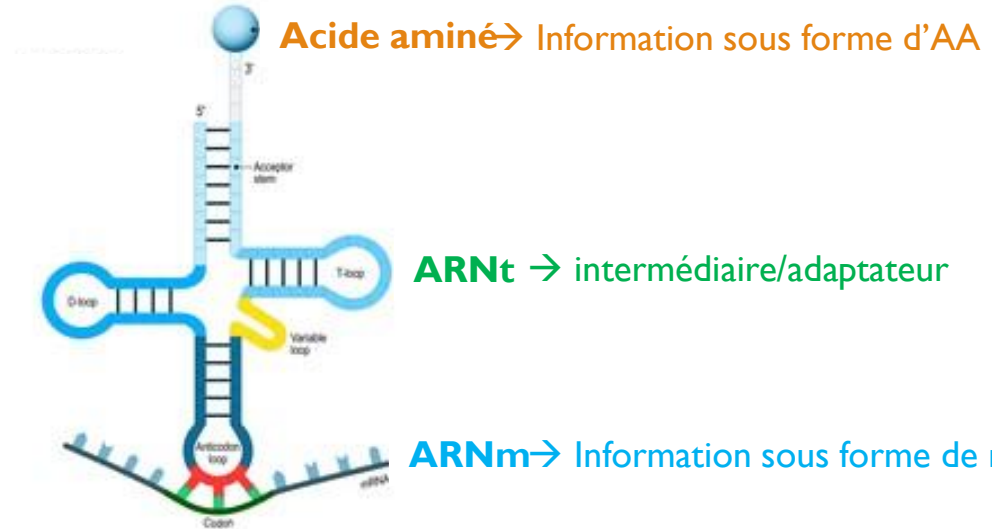
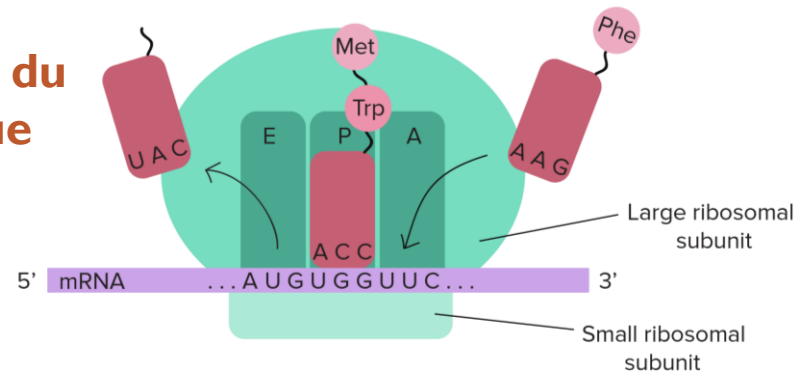
### 2. Les ARNt : des adaptateurs entre codon de nucléotide et acide aminé



#### 2.4. Rôle

- ARNt = rôle d'adaptateur de l'acide aminé.
- Ils apportent les AA au ribosome lors de la traduction et se fixent au niveau du site A.
- La reconnaissance entre l'ARNm et l'ARNt se fait par **complémentarité des bases** entre le codon sur l'ARNm et l'anticodon sur l'ARNt.

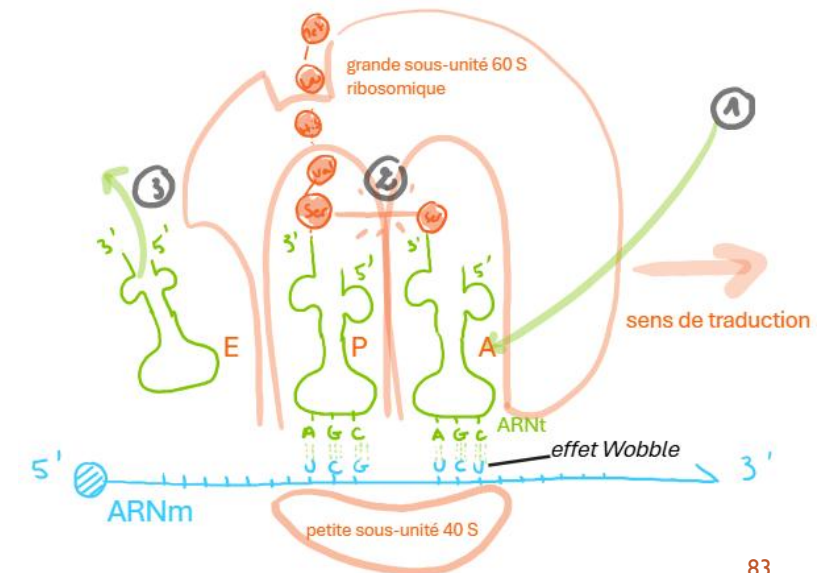
→ Les ARNt sont les acteurs du décodage du code génétique



Acide aminé → Information sous forme d'AA

ARNt → intermédiaire/adaptateur

ARNm → Information sous forme de nt



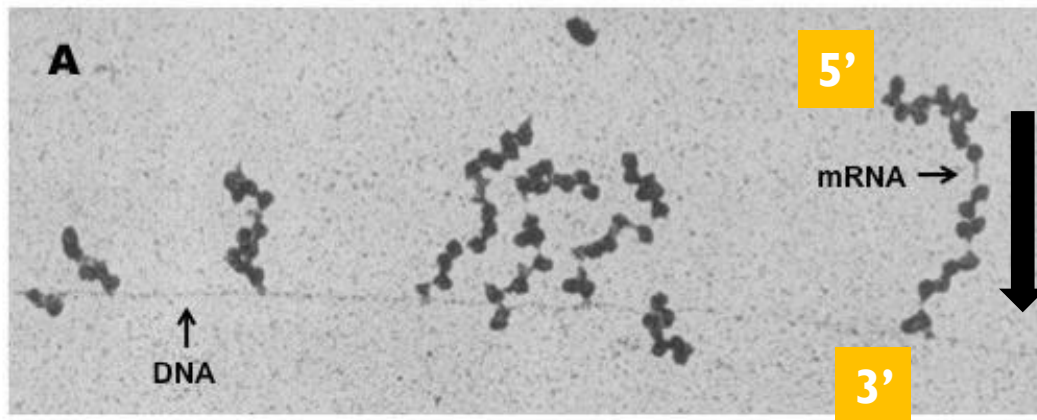


## B. LES ACTEURS DE LA TRADUCTION

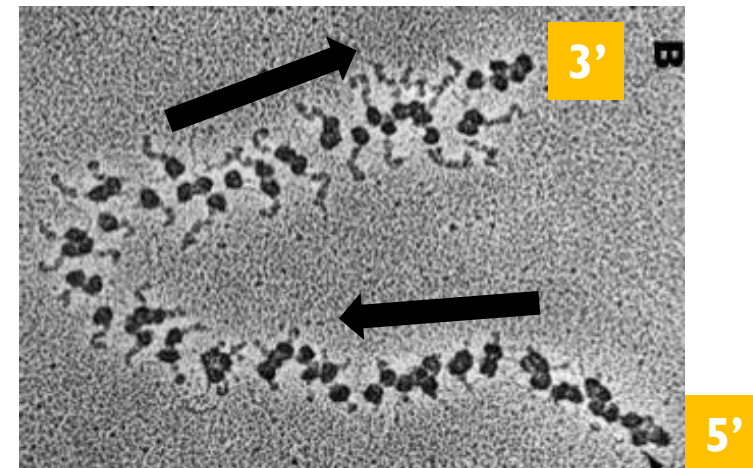
### 3. Le ribosome : complexe nucléoprotéique catalysant les étapes de la traduction

#### 3.1. Approche expérimentale

Observations au MET



*Ribosomes dans le cytoplasme d'un procaryote (MET)*



*Ribosomes dans le cytoplasme d'une cellule Eucaryote (MET)*

**Comment sont orientés les ARNm sur ces 2 images ?  
Dans quel sens se déplace les ribosomes ?**

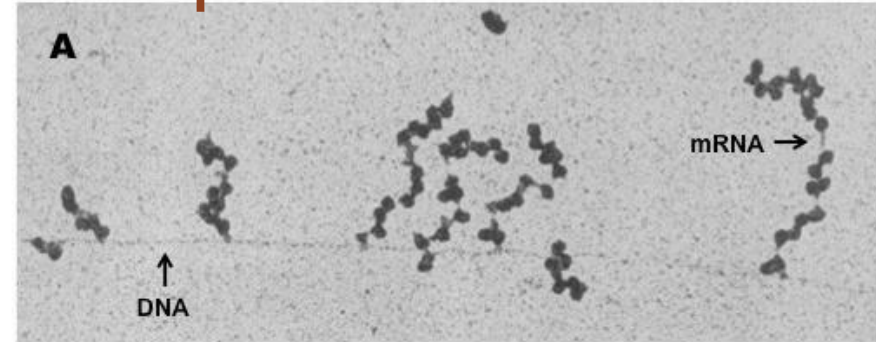
## B. LES ACTEURS DE LA TRADUCTION

### 3. Le ribosome : complexe nucléoprotéique catalysant les étapes de la traduction

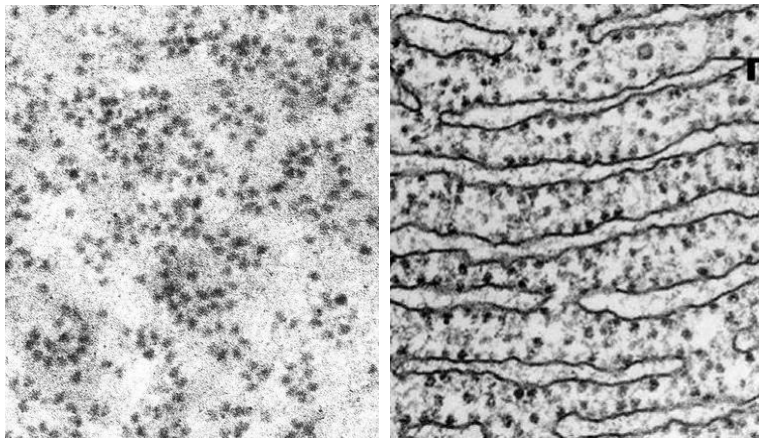


#### 3.1. Observations au MET

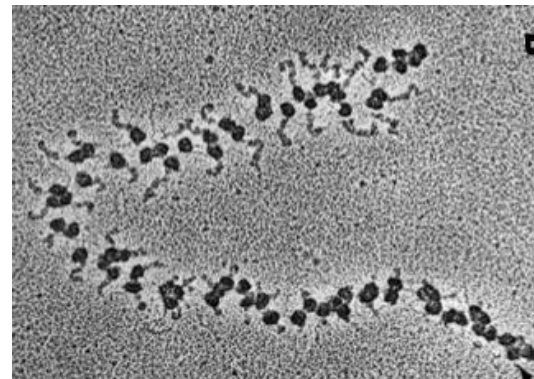
- Chez les **Procaryotes** :
  - **Transcription et traduction simultanément** dans le cytoplasme
- Chez les **Eucaryotes** :
  - Transcription et traduction **séparés dans le temps et l'espace**
  - Ribosomes libres dans le cytoplasme ou associés au REG.
  - Plusieurs ribosomes libres peuvent se fixer à un même ARN = **polysome** = **polyribosome**  
→ **Amplification** de l'information portée par l'ARNm



Ribosomes dans le cytoplasme d'un procaryote (MET)



Ribosomes libres et associés au REG (MET)



Ribosomes dans le cytoplasme d'une cellule Eucaryote (MET)

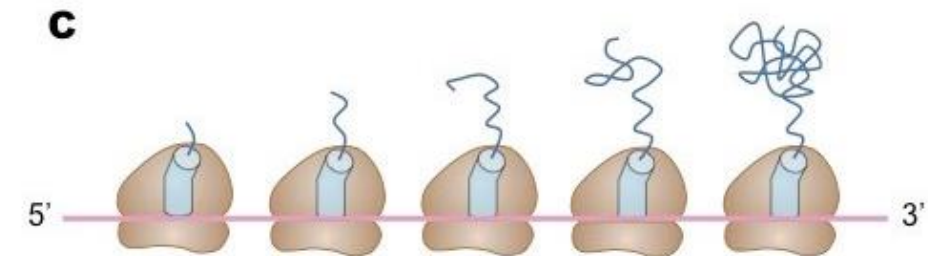


Schéma d'interprétation

## B. LES ACTEURS DE LA TRADUCTION

### 3. Le ribosome : complexe nucléoprotéique catalysant les étapes de la traduction

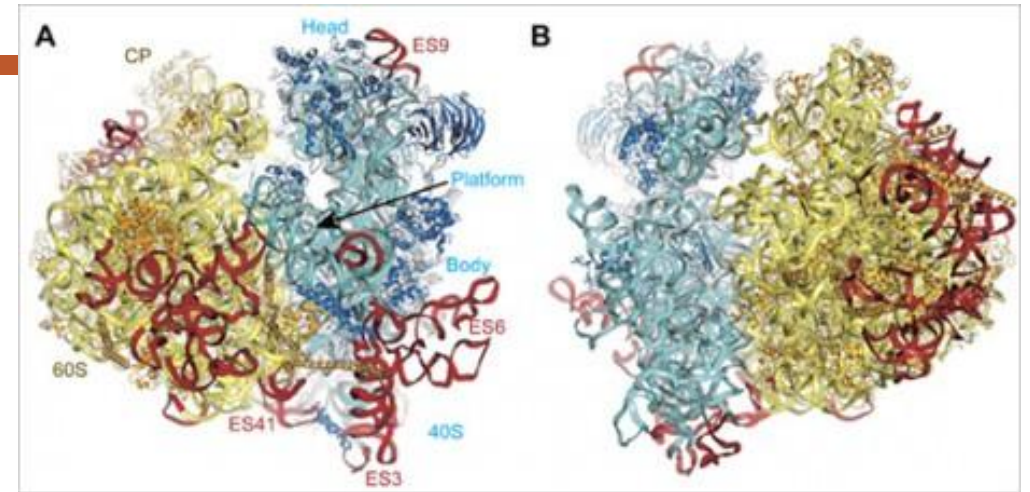
#### 3.2. Structure générale (1/2)

- Ribosomes = complexes macromoléculaires.
  - $\emptyset \sim 30$  nm
  - Masse : 80S chez les Eucaryotes
- Ribosome = 2 s.u. qui s'assemblent lors de la traduction
  - Petite s.u. (40S chez les Eucaryotes)
  - Grande s.u. (60S chez les Eucaryotes)



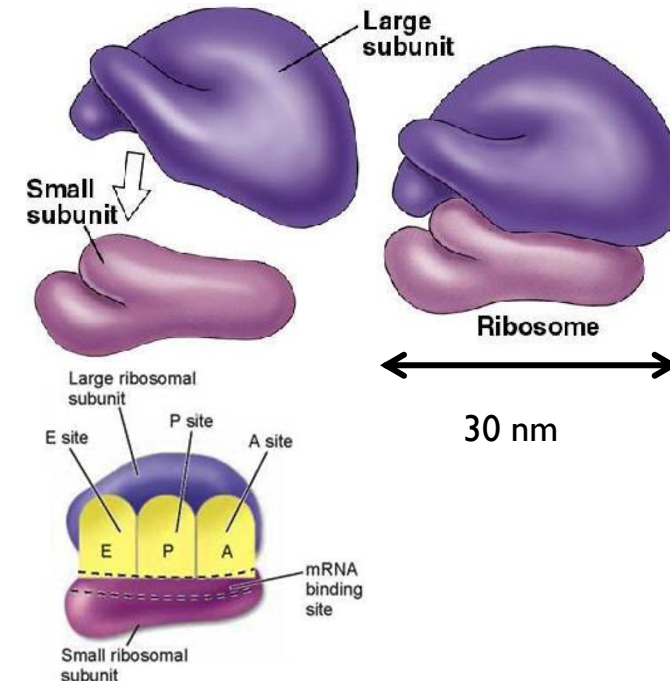
#### Remarque

S = « Svedberg » = unité de sédimentation qui mesure la masse moléculaire



Différentes vues de la structure du ribosome de levure : la petite sous-unité est représentée en bleu tandis que la grande apparaît en jaune. L'ARN ribosomique est représenté en rouge.

<https://presse.inserm.fr/le-ribosome-eucaryote-devoile-enfin-sa-structure/14721/>

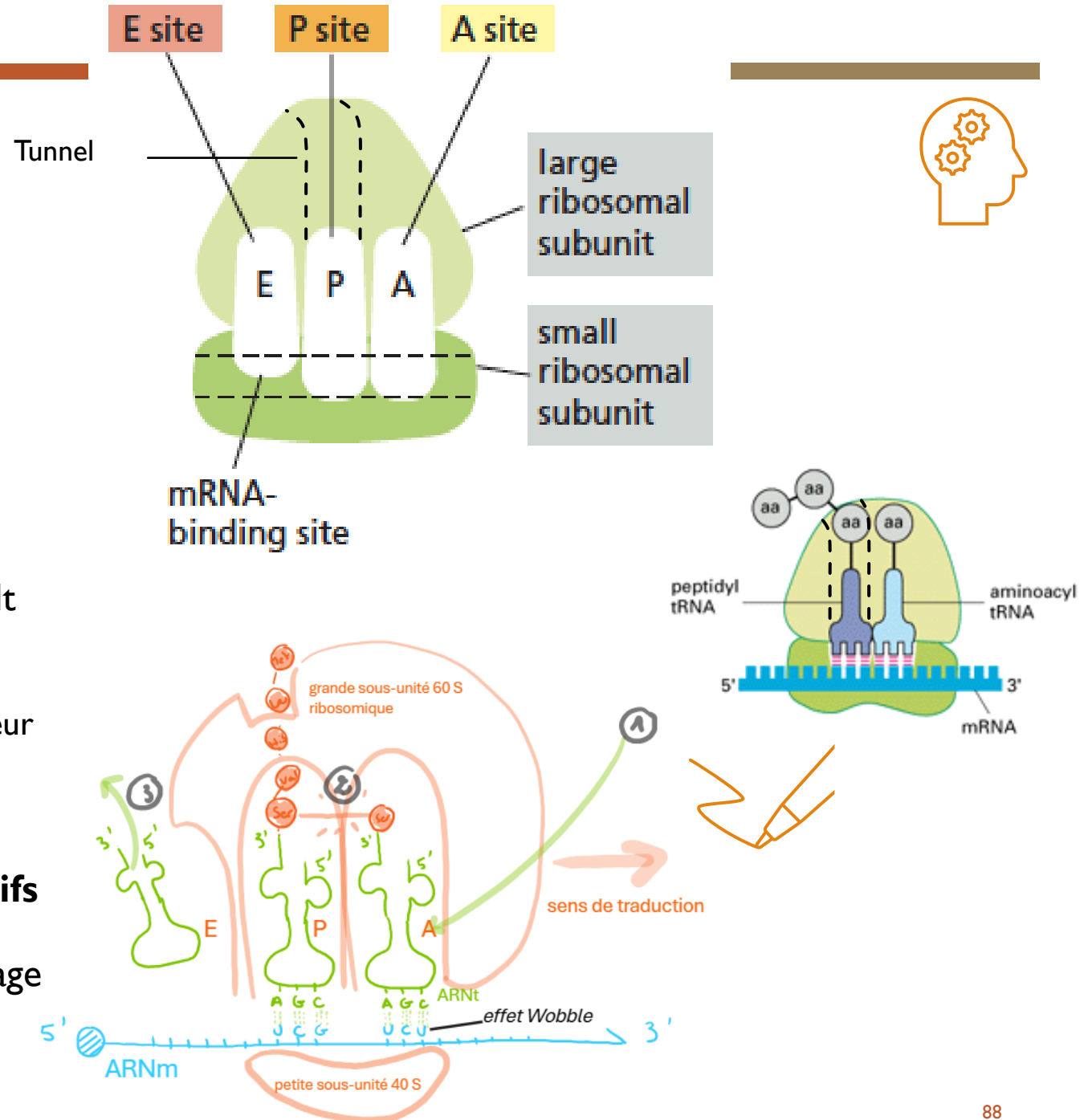


## B. LES ACTEURS DE LA TRADUCTION

### 3. Le ribosome : complexe nucléoprotéique catalysant les étapes de la traduction

#### 2. Structure générale (2/2)

- Interaction du ribosome avec différentes molécules via...
  - 1 site de **liaison** à l'ARNm
  - 3 sites de liaison aux ARNt notés **E, P** et **A**
- 3 sites de fixation à des formes différentes d'ARNt
  - **Site A** : fixation aux « **aminoacyl-ARNt** »
  - **Site P** : fixation aux « **peptidyl-ARNt** »
  - **Site E** : « **exit** » libération des ARNt séparés de leur AA
- Sites A et P assez proches  
→ fixation de 2 ARNt sur des **codons successifs**
- Site P** surmonté d'un **tunnel** permettant le passage du polypeptide en cours de synthèse



## B. LES ACTEURS DE LA TRADUCTION

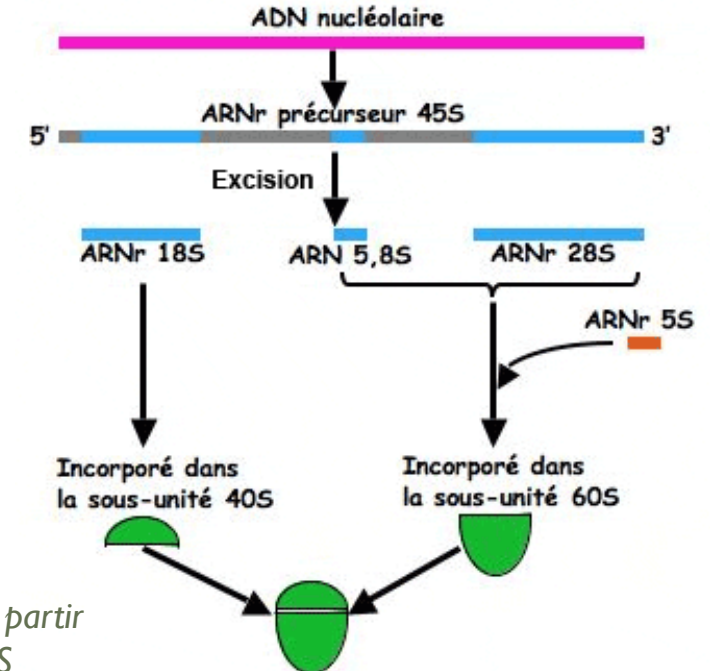
### 3. Le ribosome : complexe nucléoprotéique catalysant les étapes de la traduction

#### 3.3. Constituants

- Ils sont des **complexes ribonucléoprotéiques**, constitués de :
  - Plusieurs dizaines de **protéines ribosomiques**
  - 4 types d'**ARN ribosomiques** (ARNr) très stables et compacts (majoritaire en masse)
- Les ARNr sont codés par des **gènes répétés en tandem**, localisés dans le nucléole → 200 copies
- Il y a **2 gènes** différents :
  - 1 gène codant un **précurseur 45S** des ARNr 28S, 5,8S et 18S
    - transcription du précurseur puis clivage
    - Production synchrone et équilibrée des différents ARNr
  - 1 gène codant l'**ARNr 5S**

Sous-unité	Protéines	ARNr	Nb de nt (chez l'Homme)
Grande s.u. 60S	49 protéines	28S	5070 nt
		5,8S	156 nt
		5S	121 nt
Petite s.u. 40S	33 protéines	18S	1869 nt

Constituants des deux s.u. du ribosome Eucaryote



Production des ARNr à partir du précurseur 45S

## B. LES ACTEURS DE LA TRADUCTION

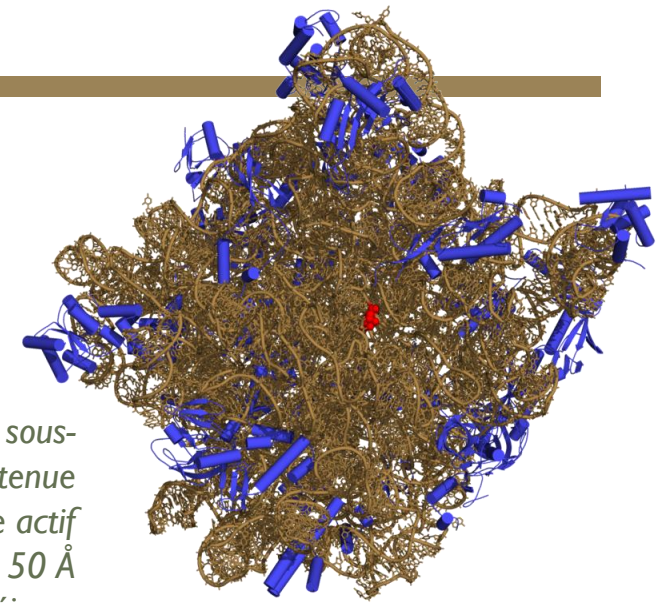
### 3. Le ribosome : complexe nucléoprotéique catalysant les étapes de la traduction

#### 3.4. Rôles

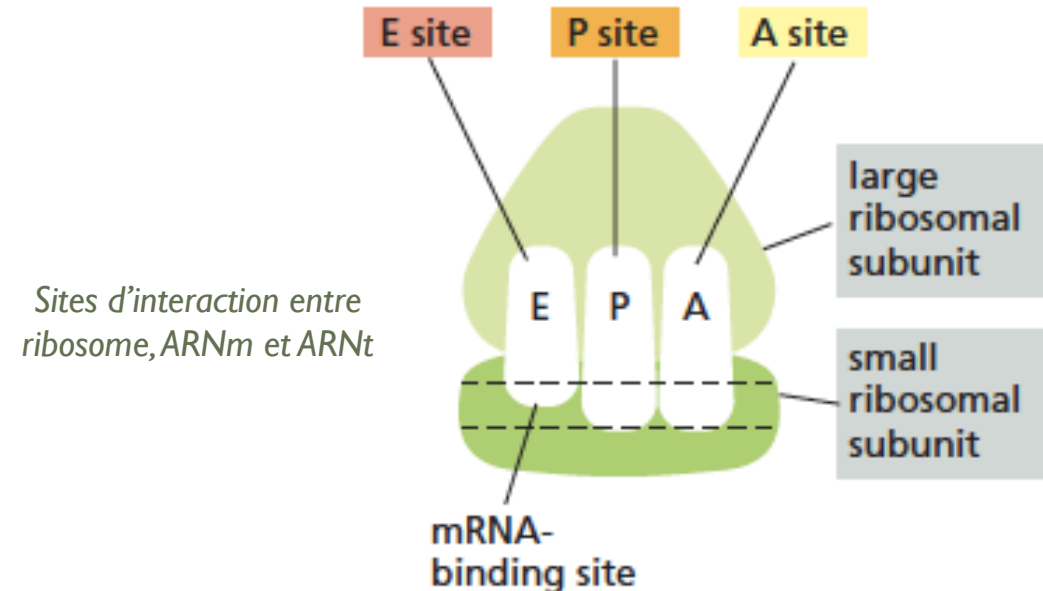


- **ARNr double fonction :**
  - Rôle **structural**
  - Rôle **catalytique** → notion de **ribozyme**
- **Petite s.u. = lecture de l'information de l'ARNm**
  - L'ARN 18S impliqué dans la **liaison** et la **lecture** de l'ARNm
  - Il vérifie l'**interaction** entre le **codon** situé dans le site A du ribosome et l'**anticodon** de l'ARNt
  - Rôle de **contrôleur** de la **fidélité** de la traduction
- **Grande s.u. = polymérisation de la protéine**
  - L'ARN 28S impliqué dans la formation des liaisons peptidiques
  - Rôle de **catalyseur** de la biosynthèse protéique

Protéines en bleu  
ARNr  
Site actif



Structure de la grande sous-unité du ribosome obtenue par cristallographie. site actif est éloigné de plus de 50 Å de tout domaine protéique.

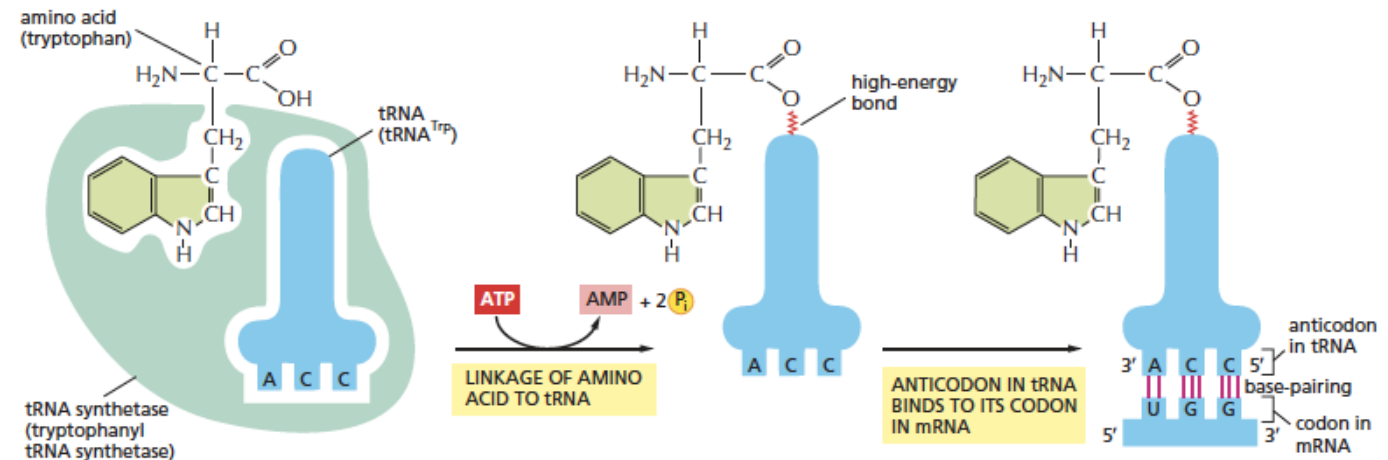
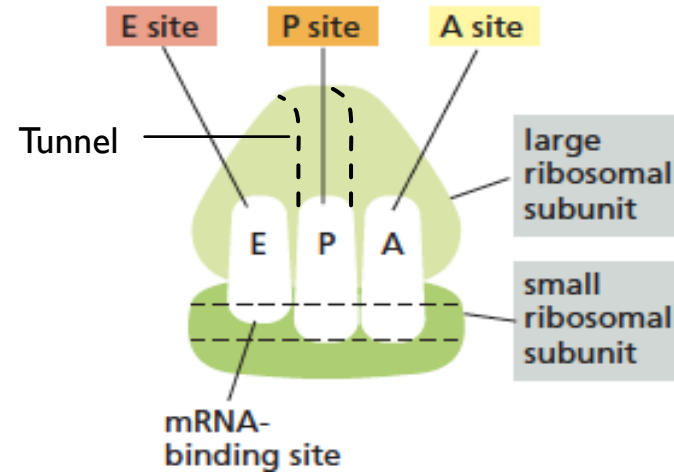


## B. LES ACTEURS DE LA TRADUCTION

### 3. Le ribosome : complexe nucléoprotéique catalysant les étapes de la traduction

#### BILAN

- La traduction se déroule au sein des ribosomes.
- Ils sont formés de 2 sous-unités, constituées d'ARNr et de protéines.
- Leur structure est adaptée à l'interaction avec d'une part l'ARNm et d'autre part différentes formes d'ARNt.
- Ils permettent ainsi la lecture de l'information génétique et la catalyse de la synthèse protéique.
- Ils permettent ainsi la lecture de l'information génétique et la catalyse de la synthèse protéique.
- L'ARNm transporte l'information génétique du noyau vers le cytoplasme.
- Les ARNt jouent de rôle d'intermédiaire physique entre un codon (via leur anticodon) et un acide aminé.
- Cependant, l'association entre un ARNt et l'AA approprié est assurée par des enzymes qui reconnaissent spécifiquement l'anticodon et l'AA : les aminoacyl-ARNt synthétases.
- Ce sont elles les acteurs centraux du décodage de l'information génétique.



NET RESULT: AMINO ACID IS SELECTED BY ITS CODON IN AN mRNA

## C. LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION

### I. l'initiation : reconnaissance du codon start et recrutement de la machinerie de traduction

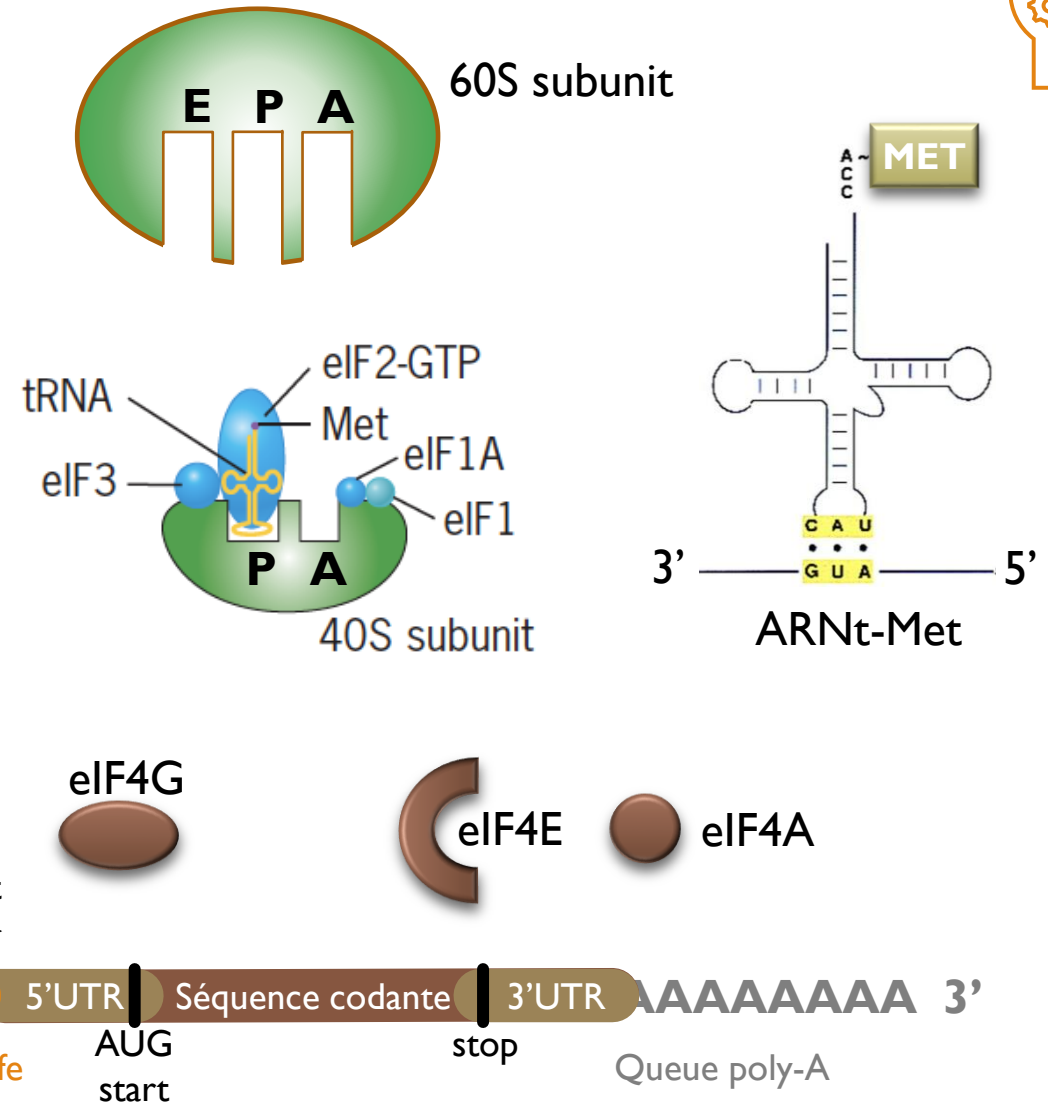
#### I.1. Les acteurs

- Chez les Eucaryotes, l'initiation nécessite 5 éléments :

- Un ARNm
- Un ribosome
- Un ARNt initiateur portant une méthionine
- Des facteurs d'initiation (protéines) notés eIF (eucaryote initiation factor)
- Du GTP (source d'énergie)



- L'initiation a lieu au niveau du **codon start (AUG)** de l'ARNm, codant une méthionine et **situé à distance variable du 5' (pas nécessairement dans le 1<sup>er</sup> exon)**





I. La transcription, synthèse d'une copie partielle et mobile d'ADN

- A. Rappels des caractéristiques des acides nucléiques et mise en évidence expérimentale de leur synthèse
- B. Synthèse par l'ARN polymérase
- C. Initiation et terminaison de la transcription
- D. Maturation des ARN (m uniquement traités)
- E. Bilan de la transcription

II. La traduction: synthèse de protéines par lecture d'ARNm

- A. Rappels sur le code génétique
- B. Les acteurs de la traduction
- C. Les étapes de la traduction**
- D. Les modalités de la traduction diffèrent selon les sites d'adressage des protéines
- E. Des modifications des protéines cou ou post-traductionnelles

## C. LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION

### I. l'initiation : reconnaissance du codon start et recrutement de la machinerie de traduction

#### I.2. Etapes

##### 1) Assemblage du **complexe de préinitiation (43S)**

- Petite s.u. du ribosome + **ARNt-Met** + facteurs d'initiation (eIF1, 2 et 3)
- L'**ARNt-Met** se place dans le **site P** de la petite s.u.

##### 2) Assemblage du **complexe d'initiation (48S)**

- **Reconnaissance** de la **coiffe 5'** de l'ARNm par un facteur d'élongation (eIF4)
- Association du complexe de préinitiation sur la coiffe 5'
- **Balayage** du 5'-UTR jusqu'au **codon start (AUG)** (hydrolyse de ATP)
- **Appariement codon start** de l'ARNm/anticodon de l'ARNt-Met

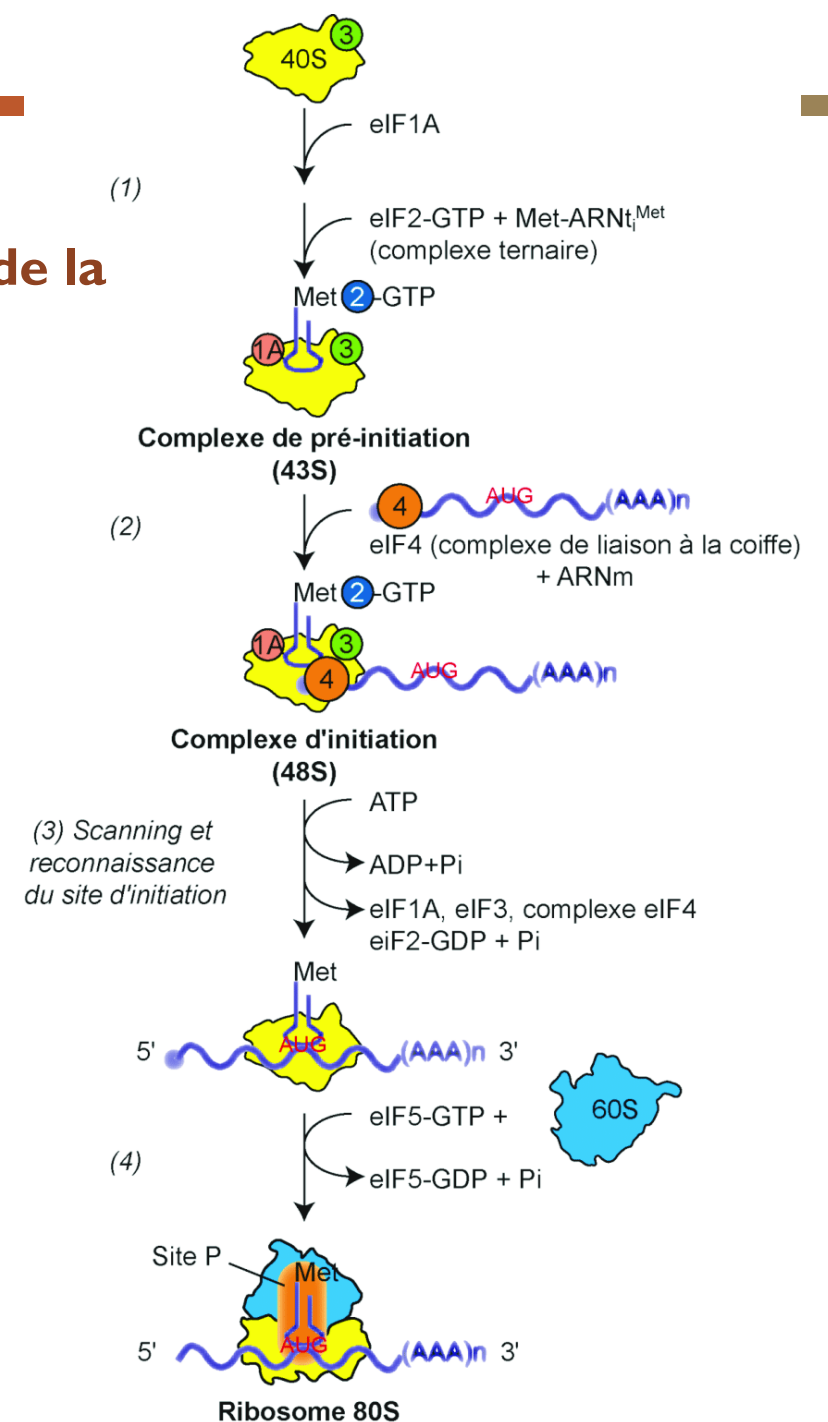
##### 3) Assemblage du **complexe d'initiation (80S)**

- Libération des eIF (hydrolyse du GTP)
- Fixation de la **grosse s.u.** du ribosome grâce à un facteur (eIF5) + énergie (hydrolyse du GTP)

⇒ Ribosome prêt pour l'élongation

→ **Initiation dépendante de la coiffe 5' et nécessitant du GTP**

Rem : la Met initiatrice est en général clivée après traduction



## C. LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION

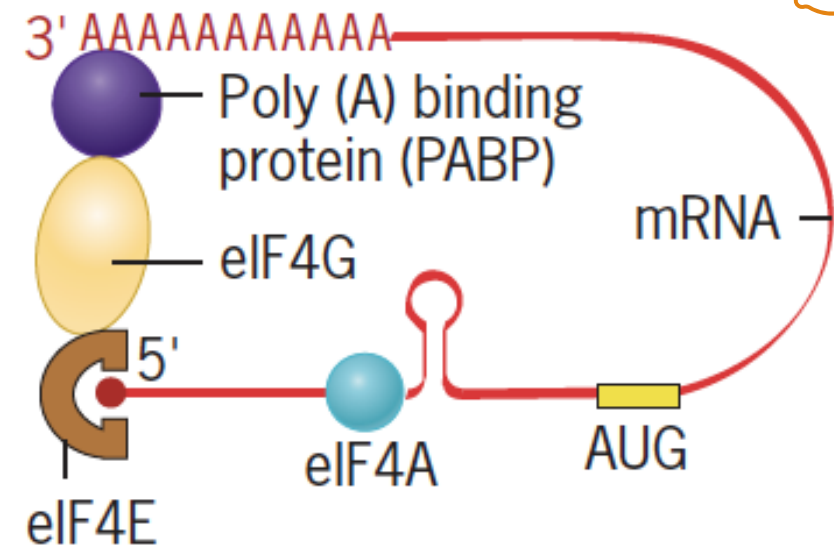
### I. l'initiation : reconnaissance du codon start et recrutement de la machinerie de traduction

#### I.3. Régulation

- **Données expérimentales** : la vitesse d'initiation est maximale en présence de la coiffe ET de la queue polyA
- **Hypothèse** :
  - In vivo, il y a une **interaction fonctionnelle** entre la coiffe et la queue polyA, stimulant l'initiation de la traduction.
- **Mécanisme : Modèle « closed-loop » (1998)**
  - Coiffe associée aux facteurs eIF4
  - Queue polyA associée à PABP (PolyA Binding Protein)
  - **Interaction physique** entre un eIF4 et PABP  
→ **Circularisation de l'ARNm**
- **Intérêt** :
  - Contrôle qualité des ARNm
  - Recyclage des ribosomes de 3' en 5'

*Effet de la coiffe et de la queue polyA sur la vitesse d'initiation de la traduction chez la levure (efficacité relative)*

ARNm utilisé		Vitesse de l'initiation de la traduction
Coiffe	Queue poly-A	
-	-	1
+	-	20
-	+	3-4
+	+	100



*Closed-loop modèle (d'après Wells, 1998)*

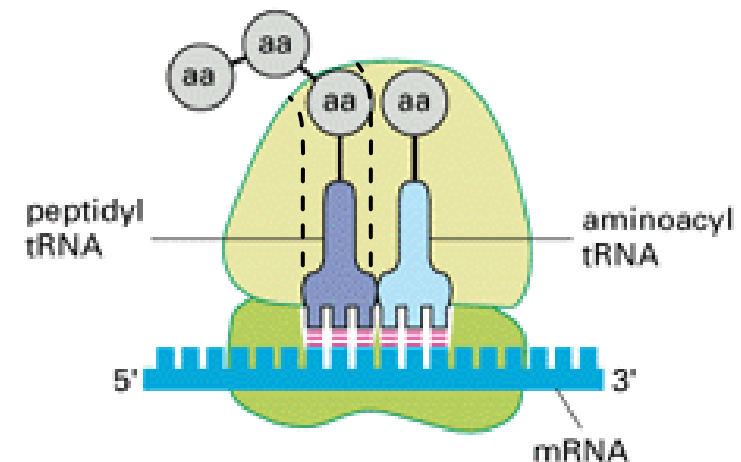
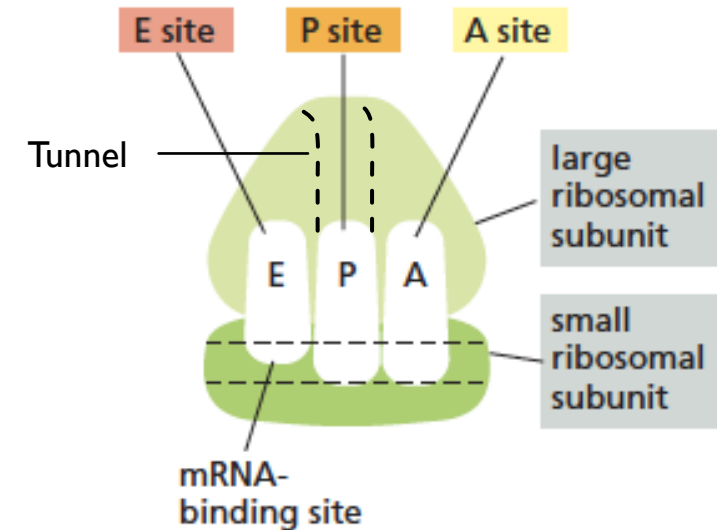
## C. LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION



### 2. L'élongation : déplacement du ribosome et synthèse d'une chaîne polypeptidique

#### 2.1. Acteurs

- L'élongation de la traduction fait intervenir :
  - Le **ribosome**
  - **L'ARNm**
  - Les différents **ARNt** associés aux différents AA
  - Des **facteurs d'élongation** : eEF1 et eEF2
  - Du GTP
- Le ribosome peut s'associer simultanément à deux types d'ARNt correspondant à des codons successifs
  - Maintien du cadre de lecture
  - Proximité physique facilitant la réaction
- Les différents sites du ribosome accueillent des formes différentes d'ARNt
  - Site A : fixation aux « aminoacyl-ARNt »
  - Site P : fixation aux « peptidyl-ARNt »
  - Site E : « exit » libération des ARNt séparés de leur AA

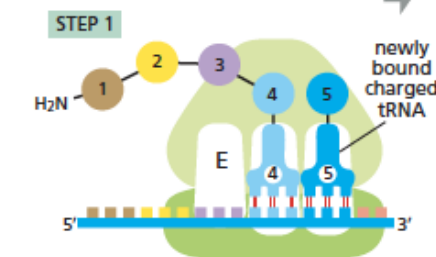
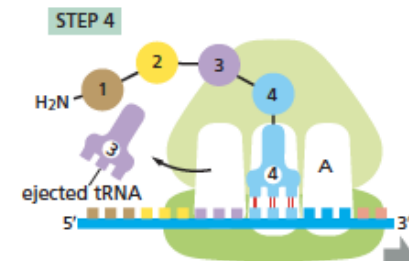
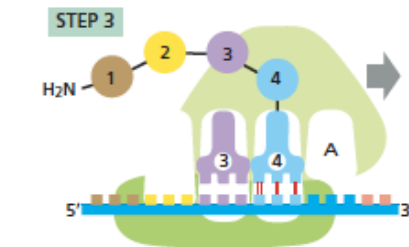
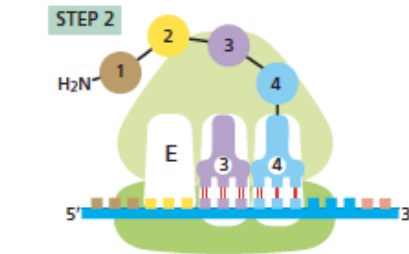
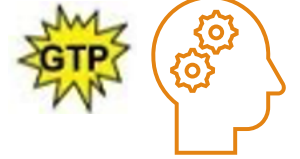
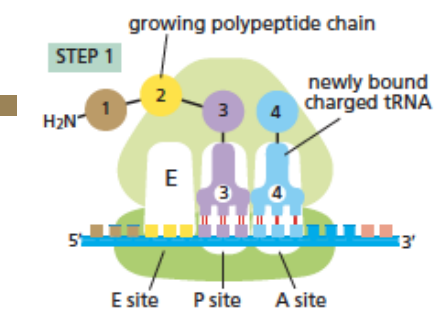


## C. LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION

### 2. L'élongation : déplacement du ribosome et synthèse d'une chaîne polypeptidique

#### 2.2. Cycle de traduction

- Elongation = ajout des AA, un à un, sur la chaîne polypeptidique par formation de liaison peptidique
- Cycle en 3 phases :
  - 1) Fixation de AA-ARNt dans le site A par interaction codon/anticodon
    - Intervention d'eEF1
    - hydrolyse du GTP
  - 2) Formation de la liaison peptidique, catalysée par le ribosome
    - ARNt déchargé dans le site P
    - Peptidyl-ARNt dans le site A
  - 3) Translocation du ribosome de 3 nt vers le 3' de l'ARNm
    - Intervention d'eEF2
    - hydrolyse du GTP
      - Peptidyl-ARNt dans le site P
      - ARNt déchargé dans le site E → dissociation



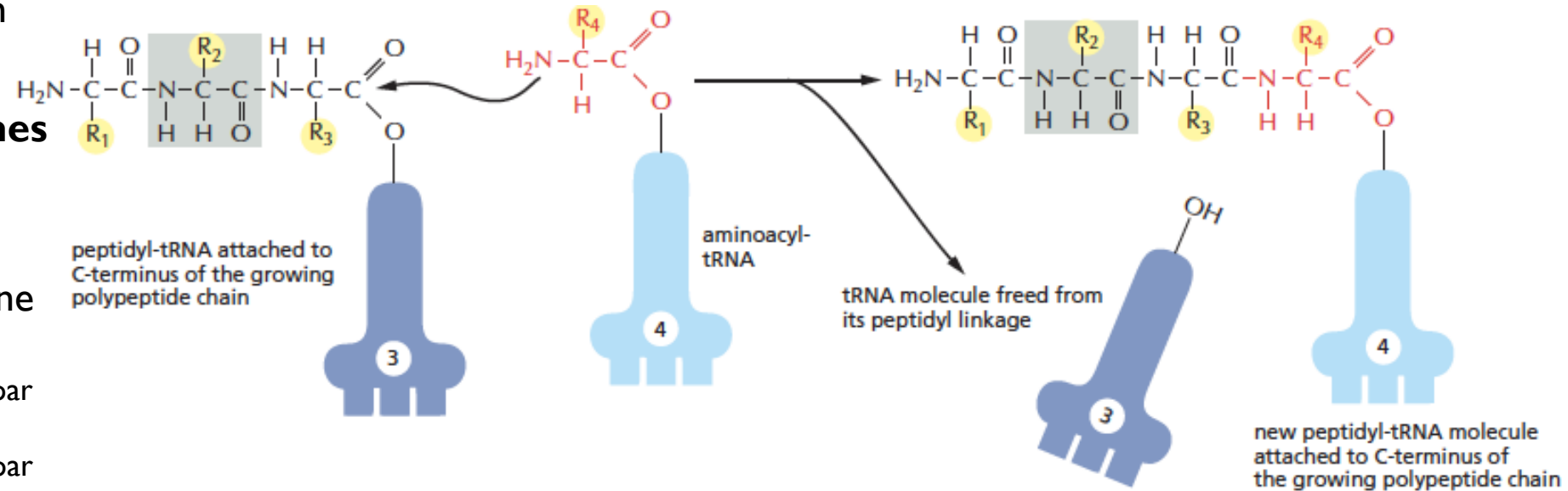
Mécanisme de l'élongation de la traduction

## C. LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION

### 2. L'élongation : déplacement du ribosome et synthèse d'une chaîne polypeptidique

#### 2.3. Formation de la liaison peptidique

- Liaison peptidique = liaison amide
  - Catalysée par les **ribozymes** du ribosome.
  - La formation de la liaison peptidique correspond à une attaque nucléophile :
    - du  $-COOH$  de l'AA porté par l'ARNt dans le site P
    - sur le  $-NH_2$  de l'AA porté par l'ARNt dans le site A
- Transfert de la chaîne polypeptidique sur le nouvel AA
- Transpeptidation



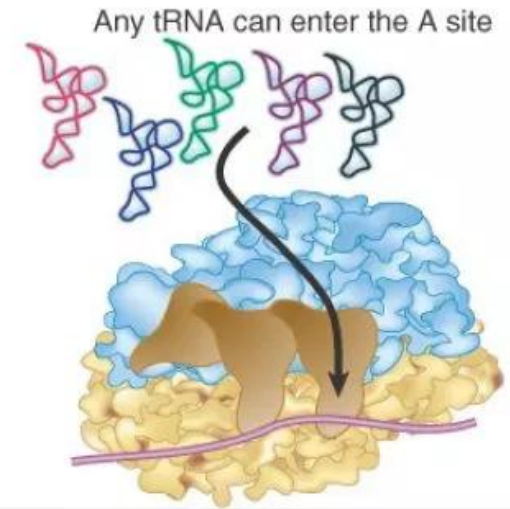
## C. LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION

### 2. L'élongation : déplacement du ribosome et synthèse d'une chaîne polypeptidique

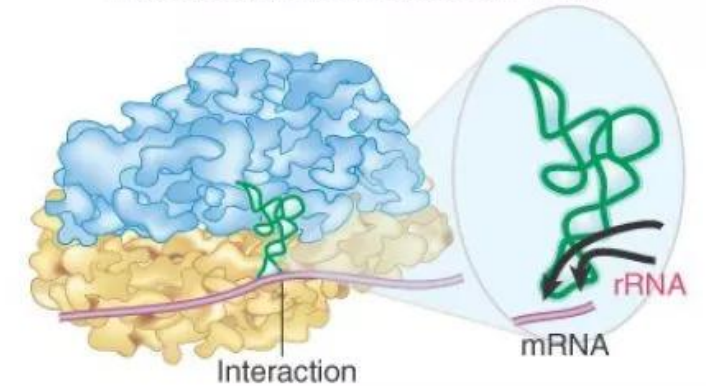
#### 2.4. Correction (proof-reading)

- Interaction aléatoire des AA-ARNt avec le ribosome
- Sélection de l'AA-ARNt approprié assurée par un système de **proof-reading** (« relecture »):
  - Si **appariement** codon/anticodon **fort** :
    - ✓ hydrolyse du GTP et dissociation en eEF1
    - ⇒ Formation de liaison peptidique
  - Si **appariement** codon/anticodon **faible** :
    - ✓ Ejection de l'AA-ARNt hors du site A
    - ⇒ Pas de formation de liaison peptidique
- Ce système assure une **grande fidélité** de la traduction : moins de 1 erreur tous les  $10^4$  AA

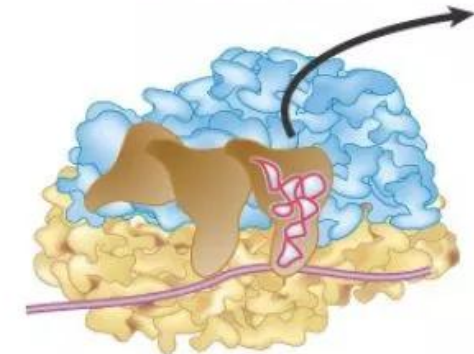
*Choix des ARNt au niveau du ribosome*



The correct tRNA interacts with rRNA



An incorrect tRNA diffuses out

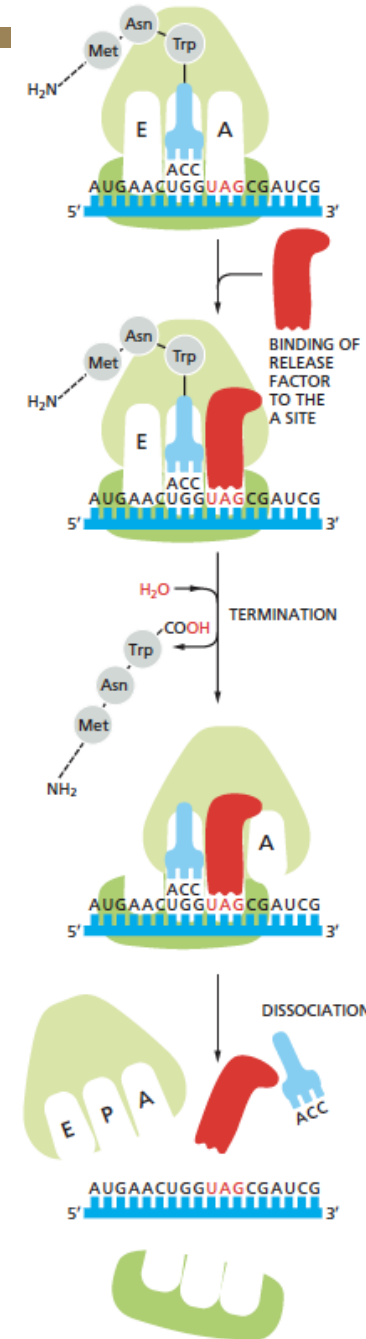


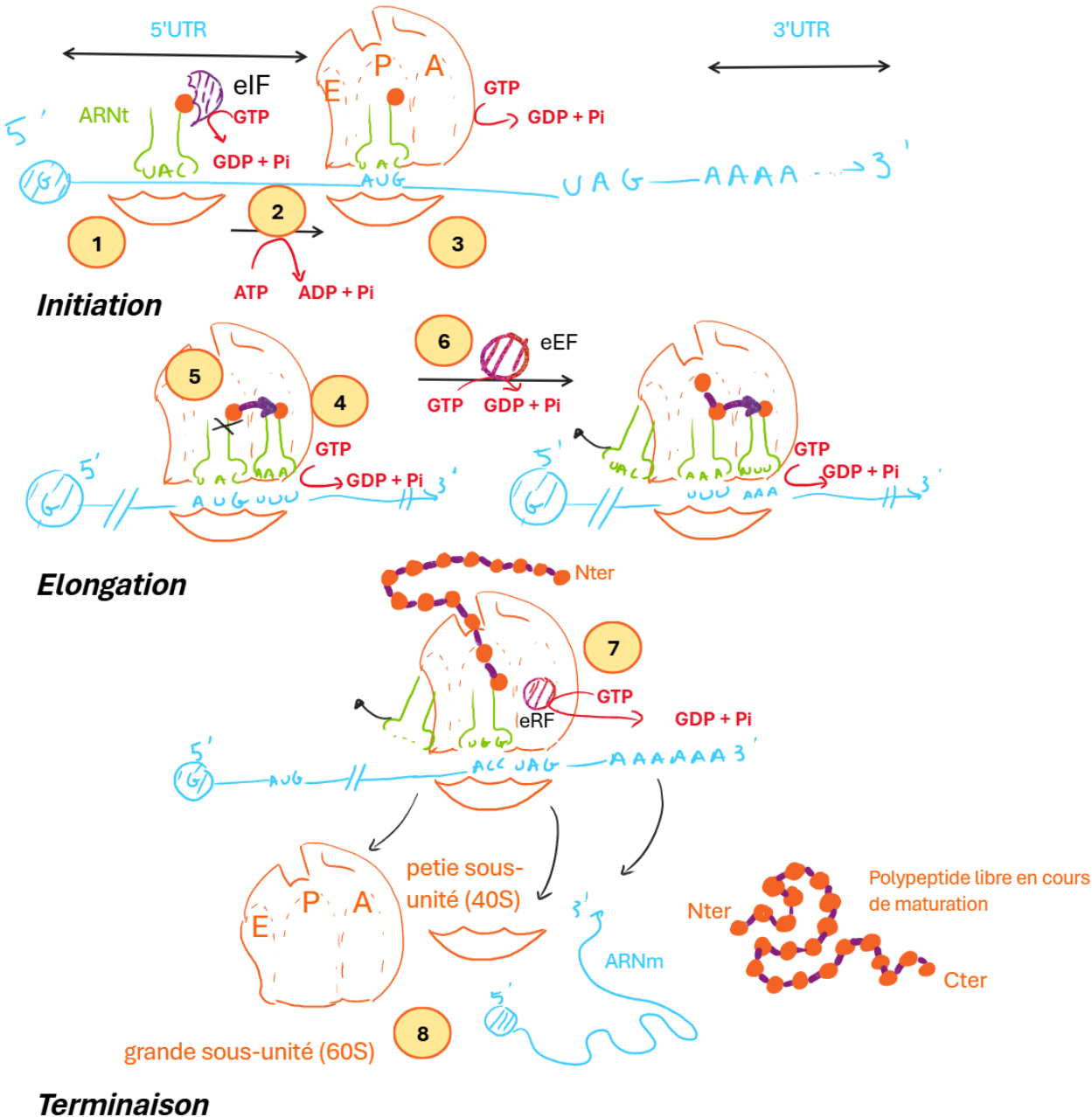
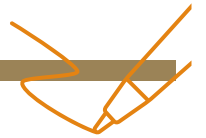
## C. LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION

### 3. la terminaison : démantèlement du complexe de traduction

- Terminaison codée par **3 codons STOP** :
  - UAG
  - UAA
  - UGA
- Lorsque le ribosome arrive à la fin de la séquence codante, le codon **STOP** se retrouve au niveau du **site A**.
- Problème : il n'existe pas d'ARNt correspondant au codon STOP.
- Codon **STOP** reconnu par une **protéine eRF** (ou eRF = « Eucaryote Releasing/ Terminaison factor »).
  - eRF associée à un GTP → **hydrolyse du GTP**
  - Clivage de la liaison ester entre le peptide et l'ARNt (dans le site P)
  - Libération de la chaîne polypeptidique
- Le ribosome se **dissocie** et l'ARNm est **libéré**.

Mécanisme de la terminaison de la traduction





- ① Reconnaissance extrémité 5' de ARNm et **association AA-ARNt initiateur avec petite sous-unité du ribosome (eIF) (IGTP)**
- ② Déplacement jusqu'au codon start (**scanning**) en face de AA-ARNt initiateur (**IATP**)
- ③ **Recrutement de la grande sous-unité (eIF)(IGTP)**
- ④ Entrée et **fixation AA-ARNt n+1 dans site A (eEF) (IGTP)**
- ⑤ Couplage rupture liaison AA-ARNt + établissement de liaison peptidique : **transpeptidation**
- ⑥ **Translocation du ribosome d'un codon (eEF) (IGTP): sortie d'un ARNt déchargé de son AA et entrée d'un AA.ARNt dans le site A**
- ⑦ **Reconnaissance codon stop** par facteur de terminaison (**eRF)(IGTP)**
- ⑧ Fin de la traduction et libération des acteurs

**Les étapes de la traduction**

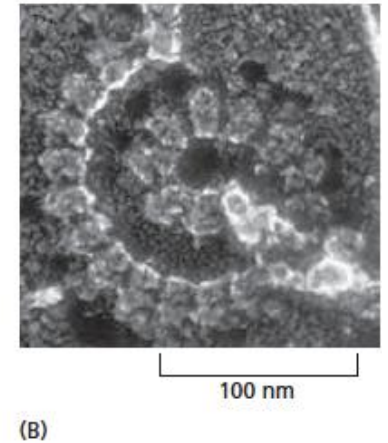
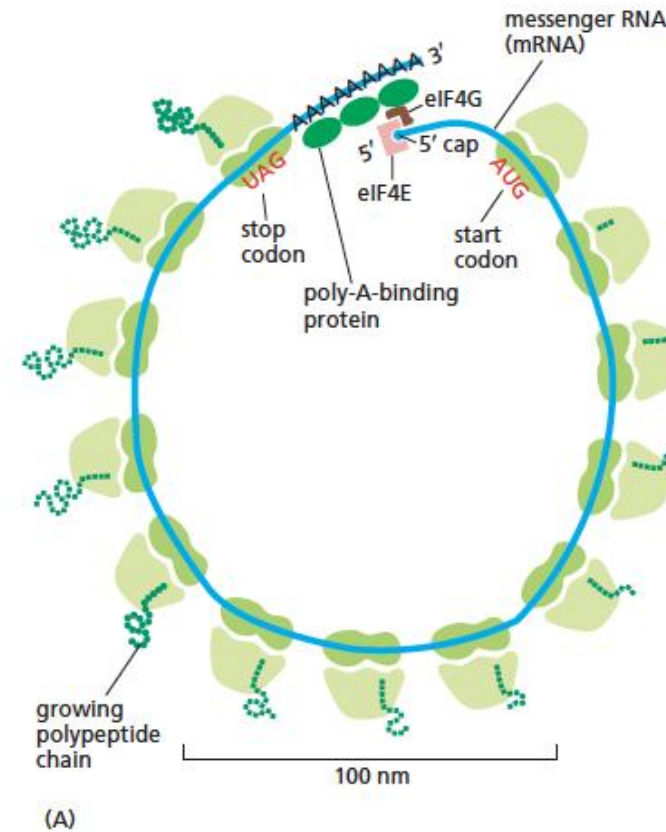
## C. LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION

### Bilan de la traduction

- **Vitesse** de la traduction : 5-10 AA/seconde
- **Efficacité** :  
Plusieurs ribosomes peuvent traduire simultanément l'ARNm
- **Coût énergétique** :
  - Initiation :
    - ✓ Balayage du 3'UTR | ATP
    - ✓ Libération des eIF (eEF2) | GTP
    - ✓ Assemblage du ribosome (eEF5) | GTP
  - Elongation :
    - ✓ Charge de l'ARNt | ATP / AA
    - ✓ Catalyse de la liaison peptidique  
(fixation de Amino-acylARNt dans A) | GTP / liaison pep
    - ✓ Translocation du ribosome | GTP / liaison pep
  - Terminaison :
    - ✓ Clivage de la liaison peptide-ARNt (eRF) | GTP

**La traduction est l'une des voies anaboliques les plus coûteuses en énergie**

**→ Nécessité d'une régulation**



## C. LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION

### Bilan de la traduction

Soit une protéine de 50 kDa...

- 1) Combien de temps faut-il pour synthétiser cette protéine ?
- 2) Quel est le coût énergétique associé à sa traduction (en GTP) ?
- 3) Quel est le nombre d'erreur lors de traduction ?
- 4) Combien de ribosomes peuvent traduire simultanément l'ARNm ?

#### Données

Taux d'erreur :  $T = 10^{-4}$

Vitesse :  $v = 5-10 \text{ AA/s}$

Coût énergétique :

- Initiation : 3 GTP
- Elongation : 1 GTP / AA  
2 GTP / liaison
- Terminaison : 1 GTP

Masse d'un AA = 110 Da (en moy)

Distance entre 2 nt = 6 Å

Diamètre d'un ribosome :  $D = 30 \text{ nm}$

## C. LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION

### Bilan de la traduction

Soit une protéine de 50 kDa...

- 1) Combien de temps faut-il pour synthétiser cette protéine ?
- 2) Quel est le coût énergétique associé à sa traduction (en GTP) ?
- 3) Quel est le nombre d'erreur lors de traduction ?
- 4) Combien de ribosomes peuvent traduire simultanément l'ARNm ?

Nombre d'AA dans la protéine :

$$N_{AA} = 50\,000 / 110 = 455 \text{ AA}$$

Temps de traduction :

$$T = N_{AA} / v = 455 / 7,5 = 60 \text{ secondes}$$

Coût énergétique :

$$C = 3 + 1 \times 455 + 2(455-1) + 1$$

$$C = 1367 \text{ GTP}$$

Nombre d'erreurs :

$$E = T \times N_{AA} = 0,05$$

→ Sur 100 protéines, 5 protéines contiennent 1 erreur

### Données

Taux d'erreur :  $T = 10^{-4}$

Vitesse :  $v = 5-10 \text{ AA/s}$

Coût énergétique :

- Initiation : 3 GTP
- Elongation : 1 GTP / AA  
2 GTP / liaison
- Terminaison : 1 GTP

Masse d'un AA = 110 Da (en moy)

Distance entre 2 nt = 6 Å

Diamètre d'un ribosome :  $D = 30 \text{ nm}$

## C. LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION

### Bilan de la traduction

Soit une protéine de 50 kDa...

#### 1) Combien de ribosomes peuvent traduire simultanément l'ARNm ?

$$N_{AA} = 455 \text{ AA}$$

Nombre de nt codant (dont codon STOP) :

$$N_{nt} = 456 \times 3 = 1368$$

Longueur de la séquence codante de l'ARNm :

$$L = (1368 - 1) \times 6 = 8202 \text{ \AA} = 820 \text{ nm}$$

Nombre de ribosomes en simultané :

$$N_{ribo} = 820 / 30 = 27$$

→ Au max., 27 ribosomes peuvent lire simultanément l'ARNm

#### Données

Taux d'erreur :  $T = 10^{-4}$

Vitesse :  $v = 5-10 \text{ AA/s}$

Coût énergétique :

- Initiation : 3 GTP
- Elongation : 1 GTP / AA  
2 GTP / liaison
- Terminaison : 1 GTP

Masse d'un AA = 110 Da (en moy)

Distance entre 2 nt = 6 Å

Diamètre d'un ribosome :  $D = 30 \text{ nm}$

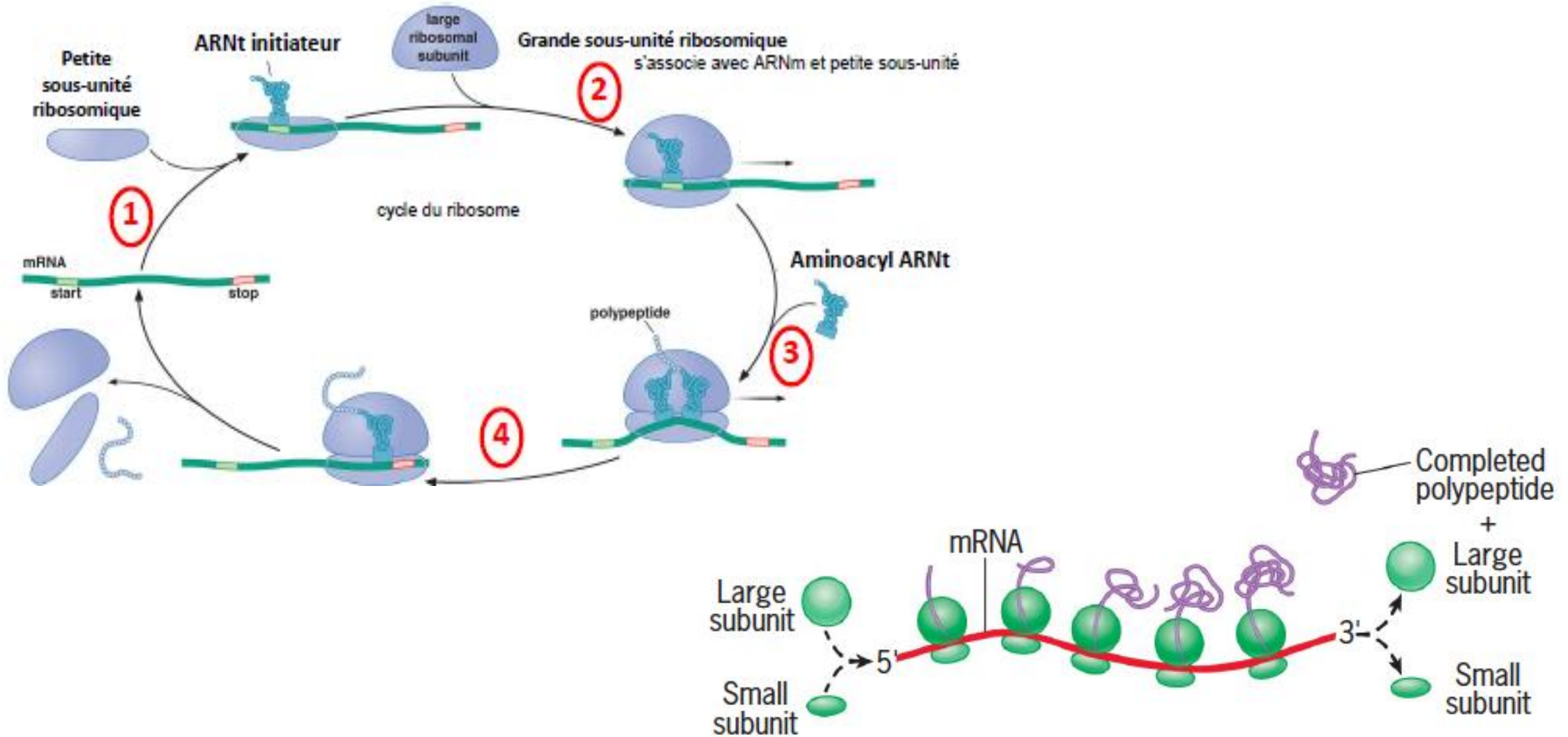
# BILAN



- La traduction permet de convertir un message codé en nt en un message codé en AA.
- La traduction fait intervenir de **nombreux acteurs** :
  - Le ribosome
  - L'ARNm à traduire
  - Les ARNt porteurs des différents AA
  - Des facteurs protéiques d'initiation (eIF), d'élongation (eEF) et de terminaison (eRF).
- La traduction se déroule en **3 étapes** :
  - **Initiation**
    - ✓ Assemblage du complexe de traduction (ribosome + ARNm + Met-ARNt initiateur + eIF)
    - ✓ Reconnaissance du codon START et de l'anticodon du Met-ARNt initiateur
  - **Elongation** = cycle en 3 phases, contrôlé par **proofreading** pour limiter les erreurs.
    - ✓ Fixation de l'AA-ARNt au ribosome
    - ✓ Formation de la liaison peptidique, catalysée par les **ribozymes** du ribosome
    - ✓ Translocation du ribosome
  - **Terminaison**
    - ✓ Reconnaissance du codon STOP par le facteur de terminaison (eRF)
    - ✓ Hydrolyse de la liaison peptide-ARNt et libération du peptide
- C'est un processus rapide et **extrêmement coûteux en énergie (ATP/GTP)**, d'où la nécessité son étroite régulation.

# C. LES ÉTAPES DE LA TRADUCTION

## BILAN





I. La transcription, synthèse d'une copie partielle et mobile d'ADN

- A. Rappels des caractéristiques des acides nucléiques et mise en évidence expérimentale de leur synthèse
- B. Synthèse par l'ARN polymérase
- C. Initiation et terminaison de la transcription
- D. Maturation des ARN (m uniquement traités)
- E. Bilan de la transcription

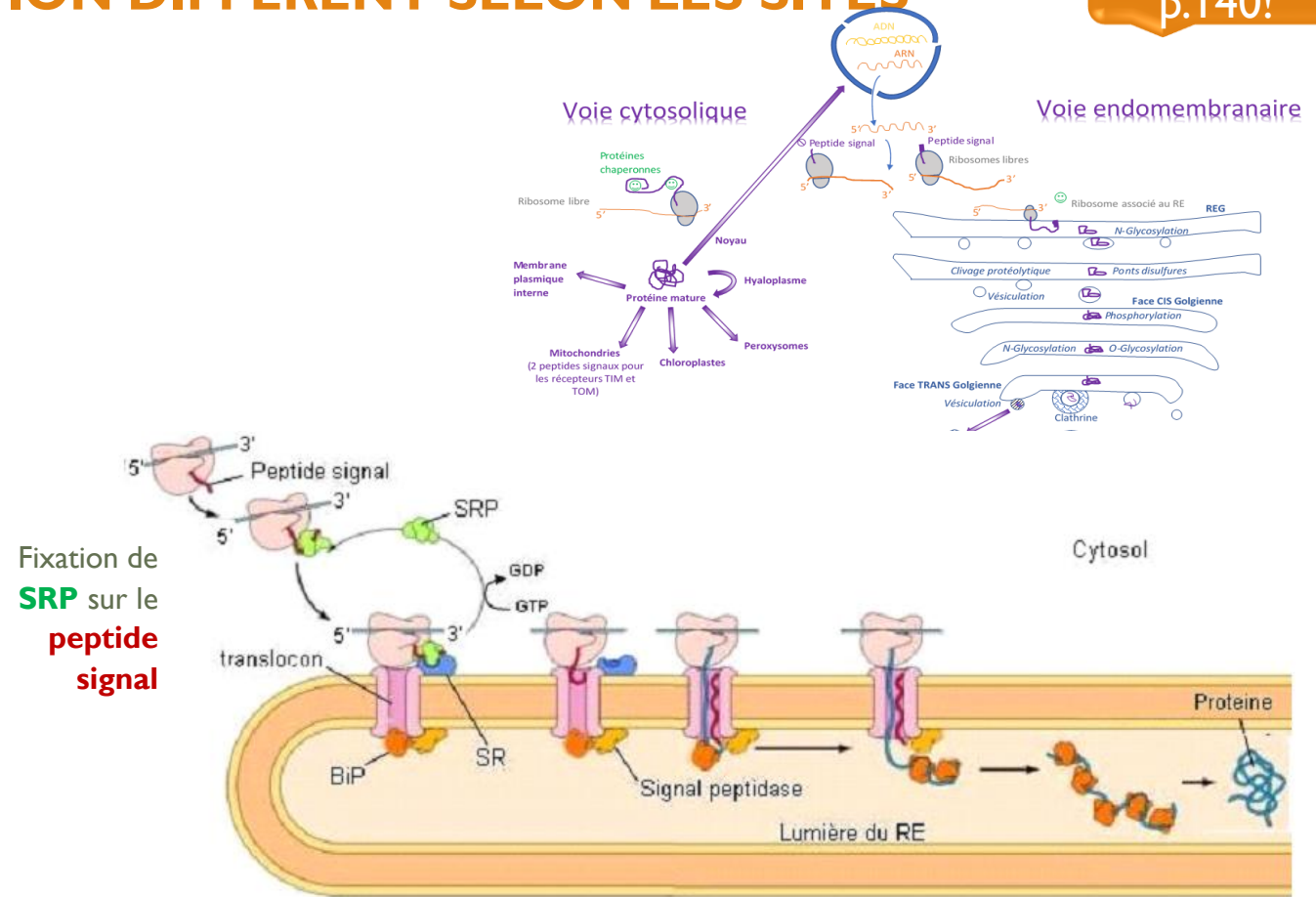
II. La traduction: synthèse de protéines par lecture d'ARNm

- A. Rappels sur le code génétique
- B. Les acteurs de la traduction
- C. Les étapes de la traduction
- D. Les modalités de la traduction diffèrent selon les sites d'adressage des protéines**
- E. Des modifications des protéines cou ou post-traductionnelles

## D. LES MODALITES DE LA TRADUCTION DIFFERENT SELON LES SITES D'ADRESSAGE DES PROTEINES

### I. Les protéines adressées au réseau endomembranaire et au milieu extracellulaire : une traduction liée au REG

- **Voie endomembranaire (associée au REG):**
  - Protéines intrinsèques
  - Protéines du milieu extracellulaire
  - Protéines lysosomales
- Étapes de la voie endomembranaire
  1. Fixation du ribosome à ARNm cytosolique puis début de traduction
  2. **Peptide signal** reconnu par une **protéine SRP** (*signal recognition particle*)
  3. Migration du **ribosome** vers REG
  4. **SRP** interagit avec **SRPR**
  5. Clivage du **peptide signal** (pas dans composition de protéine finale)
  6. Maturations diverses (REG + Golgi)



Fixation de **SRP** sur le **peptide signal**

Fixation de SRP sur son récepteur (**SR**)

→ ancrage du **ribosome** au REG

Prise en charge de la séquence signal par le **translocon**

→ libération de SRP et poursuite de traduction

Clivage du **peptide signal** et libération de la protéine

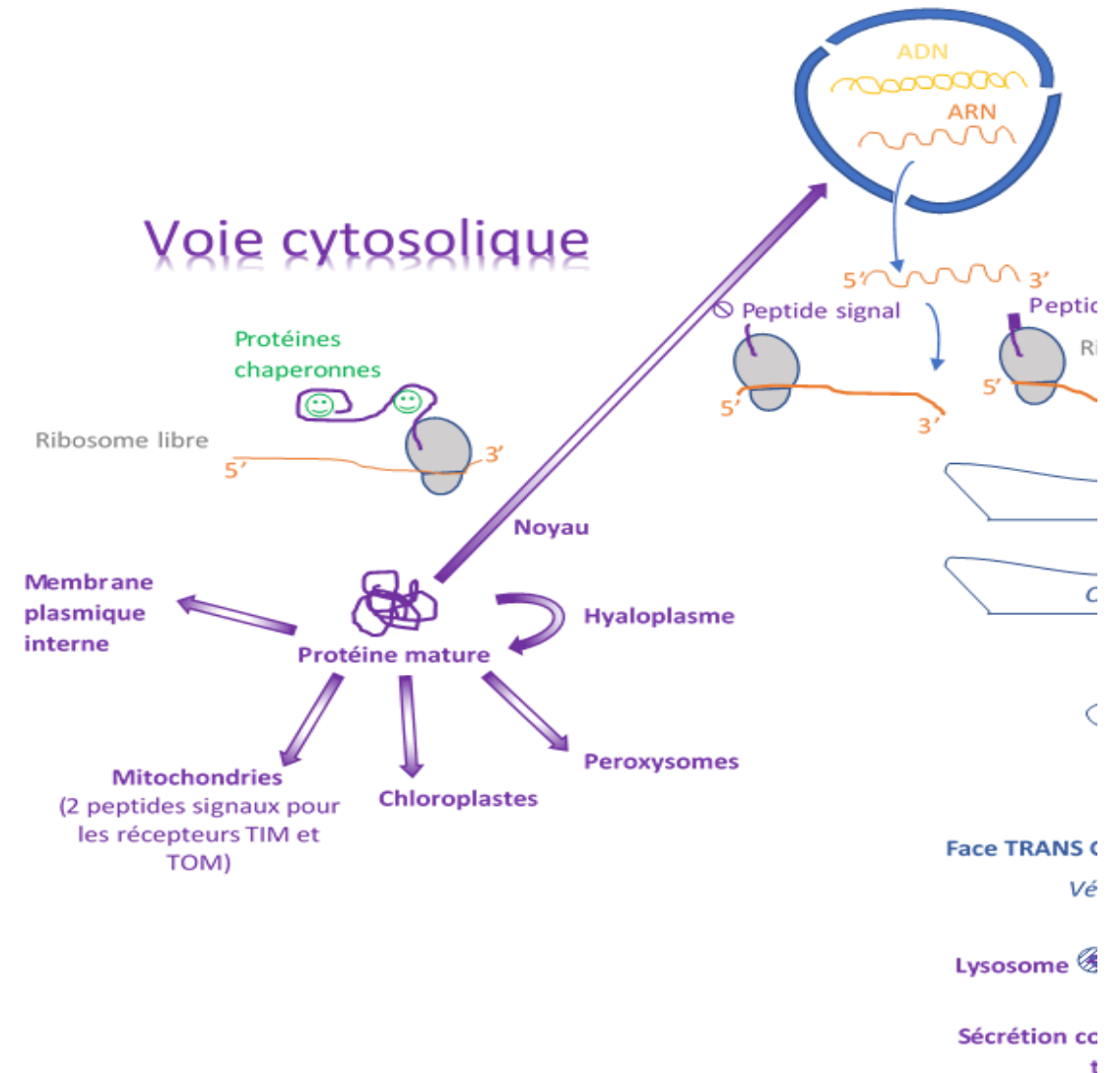
Repliement protéique assisté par des **chaperonnes**

*Translocation co-translationnelle dans le RE d'une protéine soluble (Alberts)*

## D. LES MODALITES DE LA TRADUCTION DIFFERENT SELON LES SITES D'ADRESSAGE DES PROTEINES

### 2. Les protéines des organites semi-autonomes : une origine mixte

- **Voie cytosolique** (ribosomes libres dans le cytosol):
  - Protéines cytosoliques (cytosquelette, enzymes de la glycolyse ...)
  - Protéines des peroxysomes
  - Protéines des mitochondries et des chloroplastes: organites semi-autonomes
    - ✓ Certaines de ces protéines sont traduites dans le cytosol, puis adressées dans les OSA : elles traversent les membranes des OSA postérieurement à leur traduction, on parle d'adressage post-traductionnel.
    - ✓ D'autres sont produites directement dans les OSA à partir du génome de ceux-ci : la transcription et la traduction ont lieu dans l'OSA
    - ✓ Ex: RubisCO (cf cycle de Calvin) = complexe protéique grandes sous-unités génome chloroplastique + petite sous-unité génome nucléaire



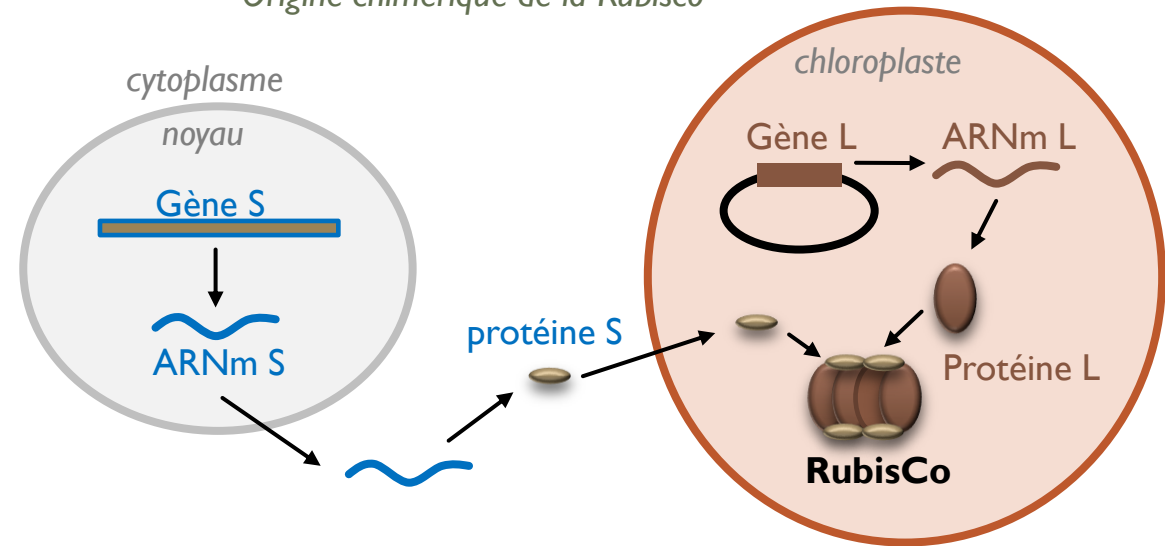
## 2. Un génome nucléaire / extranucléaire morcelé et diploïde chez les eucaryotes

### Génome extranucléaire

#### Un génome chimérique

- Une part importante des protéines des mitochondries et des chloroplastes **provient du noyau**.
- Ces protéines sont encodées dans le noyau, synthétisées dans le cytoplasme puis importées dans l'organite
  - Mitochondrie : 90% des protéines encodées dans le noyau
  - Chloroplaste : protéines chimériques – ex Rubisco
- Explication : Une partie des gènes initialement dans la mitochondrie et le chloroplaste ont été **transférés au noyau au cours de l'évolution**
  - → Génome eucaryote chimérique
  - → Organite semi-autonome

Origine chimérique de la Rubisco



Origine et composition des sous-unités du cytochrome *bcl* des mitochondries chez *S. cerevisiae*

	LOCALISATION DU GÈNE	ORIGINE ÉVOLUTIVE DU GÈNE
Cytochrome <i>b</i>	codé dans la mitochondrie	} présents chez les procaryotes
Cytochrome <i>c1</i>	codé dans le noyau <sup>1</sup>	
Protéine Fer-Soufre	codée dans le noyau <sup>1</sup>	
Sous-unités non-catalytiques	au moins 7 sous-unités toutes codées dans le noyau	aucun homologue chez les procaryotes

**Organite semi-autonome** : n.m. organite qui possède son propre matériel génétique et capable de répllication autonome, mais **nécessitant l'assistance du noyau pour fonctionner pleinement**



I. La transcription, synthèse d'une copie partielle et mobile d'ADN

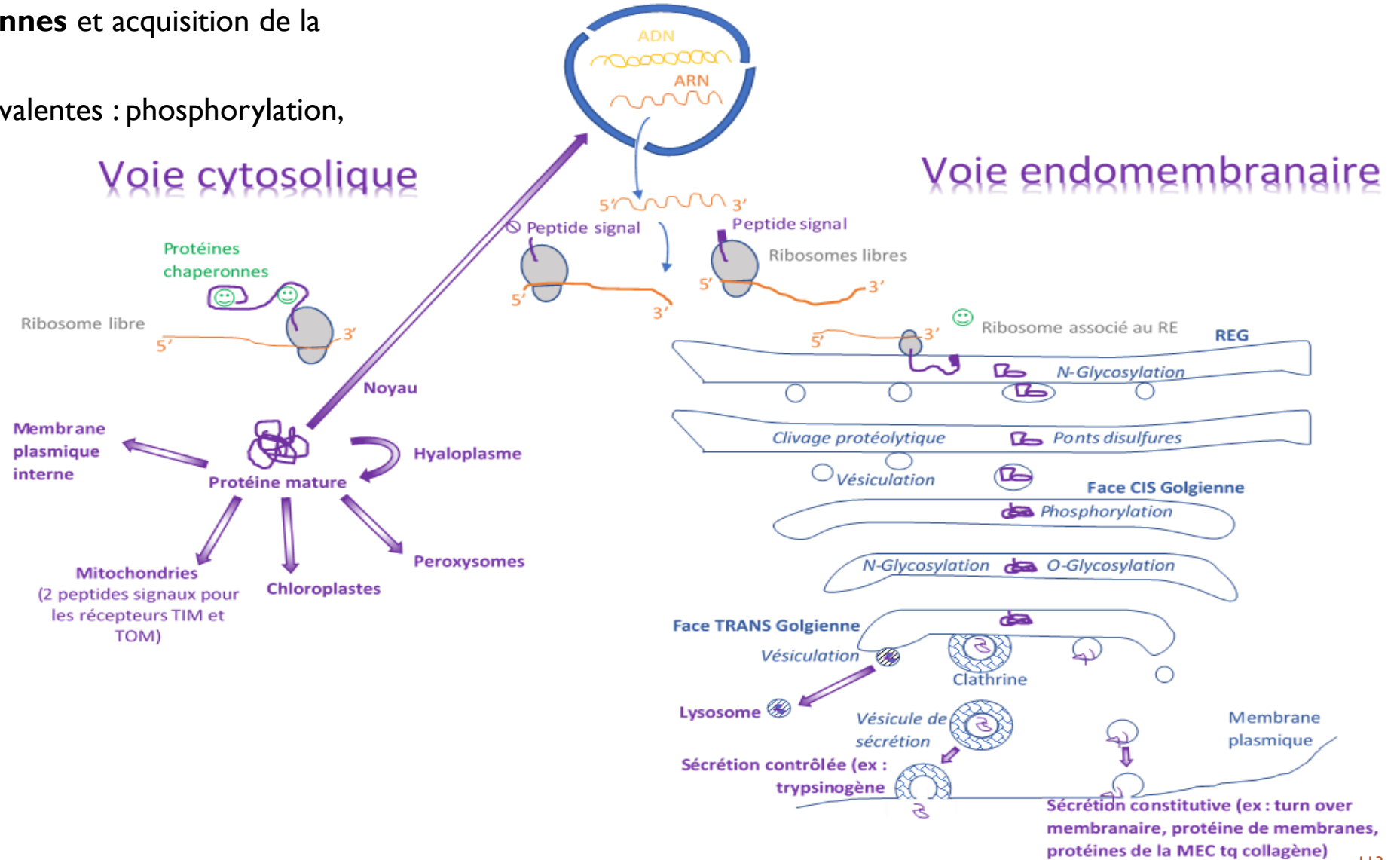
- A. Rappels des caractéristiques des acides nucléiques et mise en évidence expérimentale de leur synthèse
- B. Synthèse par l'ARN polymérase
- C. Initiation et terminaison de la transcription
- D. Maturation des ARN (m uniquement traités)
- E. Bilan de la transcription

II. La traduction: synthèse de protéines par lecture d'ARNm

- A. Rappels sur le code génétique
- B. Les acteurs de la traduction
- C. Les étapes de la traduction
- D. Les modalités de la traduction diffèrent selon les sites d'adressage des protéines
- E. **Des modifications des protéines co ou post-traductionnelles**

## E. DES MODIFICATIONS DES PROTEINES CO OU POST-TRADUCTIONNELLES

- **Protéines chaperonnes** et acquisition de la conformation
- Des modifications covalentes : phosphorylation, glycosylation, clivage



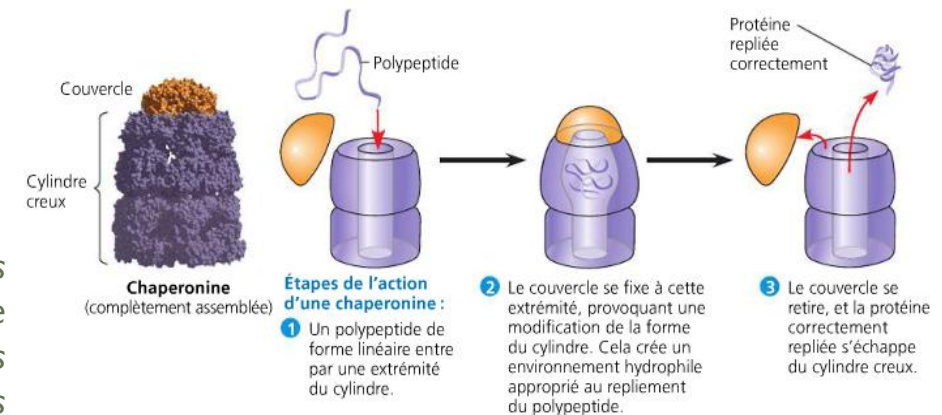
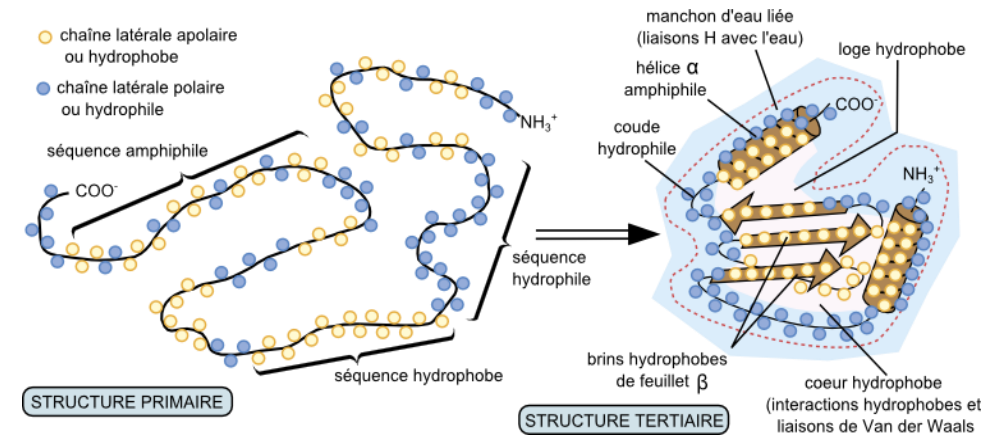
## B. STRUCTURE TERTIAIRE

### 3. Repliement (=folding)

- Toute l'**information** nécessaire pour déterminer la **forme native** d'une protéine se trouve dans sa **séquence**.
- Le repliement est :
  - **séquentiel** et **coopératif**
  - contrôlé par les **interactions hydrophobes** eau/AA ou AA/AA – moteur du repliement
  - La position finale des AA dépend de leur **polarité**
  - Obtention de la forme la **plus stable** (native)
- Rôle des protéines **chaperonnes** pour les grosses protéines
- Rôle de la **disulfure isomérase**

Localisation des AA selon leur polarité  
(cas des protéines globulaires hydrophiles)

AA apolaire > interne	Val, Leu, Ile, Met, Phe, Trp
AA polaire > externe	Asp, Glu, Asn, Gln, Lys, Arg, His,
AA modérément polaire > interne ou externe	Ser, Thr, Cys, Pro, Gly, Ala, Tyr



Les chaperonnes guident le repliement des grosses protéines



## D. DES MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES CONDITIONNENT LA CONFORMATION ET LES PROPRIETES DES PROTEINES

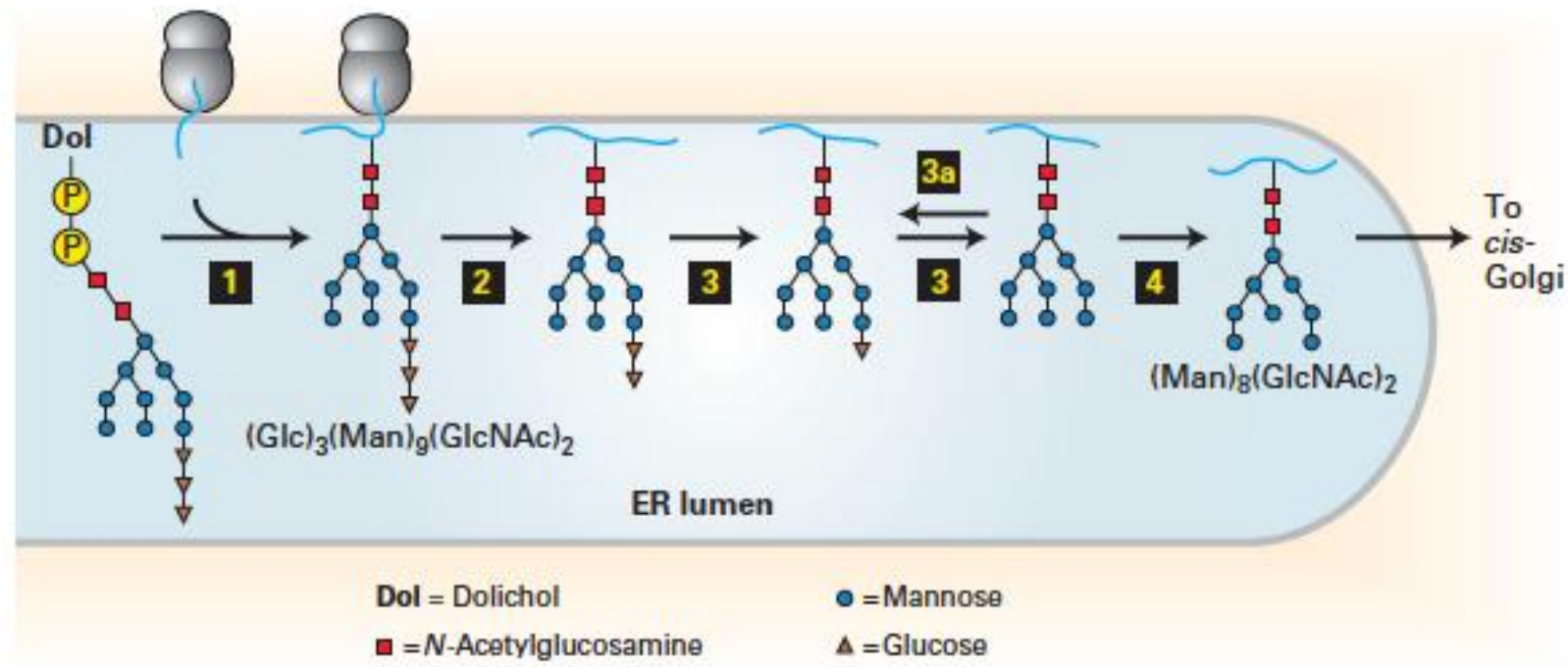
### I. Glycosylation

#### N-Glycosylation dans le REG

#### 1. N-glycosylation **co-traductionnelle**

Transfert oligo-saccharide (sucre) depuis le dolichol (terpénoïde, lipide) vers un **résidu Asn** de la protéine par la glycosyltransférase

#### 2. Modification de l'oligosaccharide post-traductionnelle



*Modifications post-traductionnelles des protéines : cas d'une N-Glycosylation (Lodish)*

## D. DES MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES CONDITIONNENT LA CONFORMATION ET LES PROPRIETES DES PROTEINES

### I. Glycosylation



**Glycosylation** : n.f. ajout de sucres sur une protéine par liaison covalente

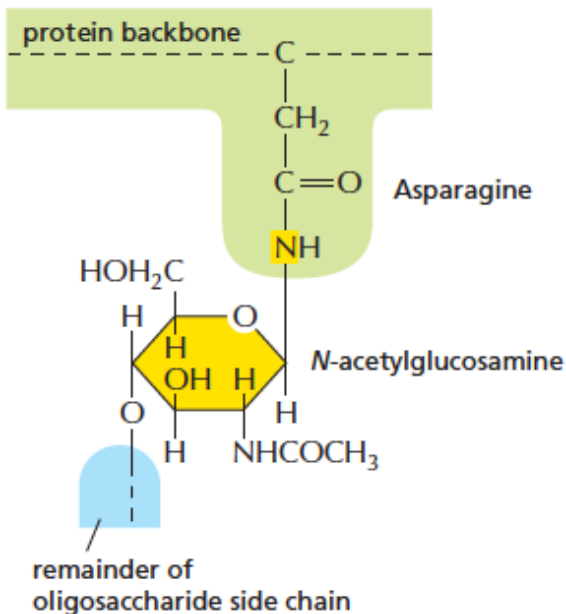
#### Types de glycosylation:

- N-glycosylation → sur Asn
- O-glycosylation → sur Ser, Thr

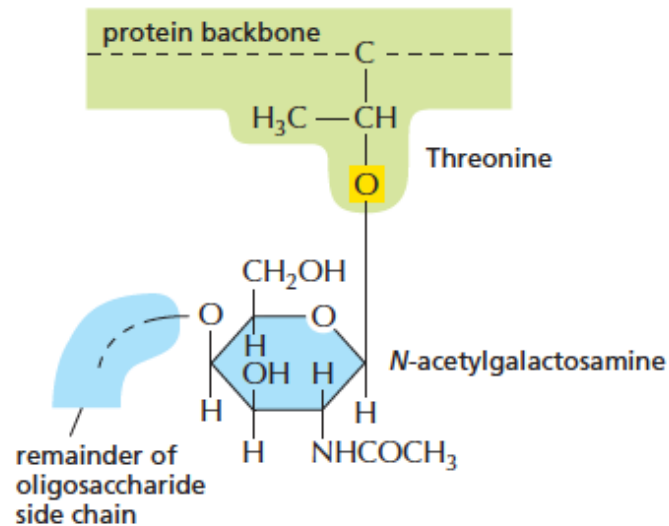
#### Rôle des glycosylations :

- **Structuration** même des protéines
- **Protection** vis à vis du milieu extérieur :
  - ✓ Ex : protéines sécrétées dans l'intestin par la CAP → Protection contre l'action des protéases
- **Reconnaissance**
  - ✓ Ex : groupes sanguins
  - ✓ Ex : ZP3 de la zone pellucide dont les oses sont reconnus par un récepteur du spermatozoïde
- **Solubilisation** des protéines transportées dans le milieu intérieur
- Macromolécules hydrophiles formant un **gel hydraté** (protéoglycanes)

#### N-LINKED GLYCOSYLATION



#### O-LINKED GLYCOSYLATION



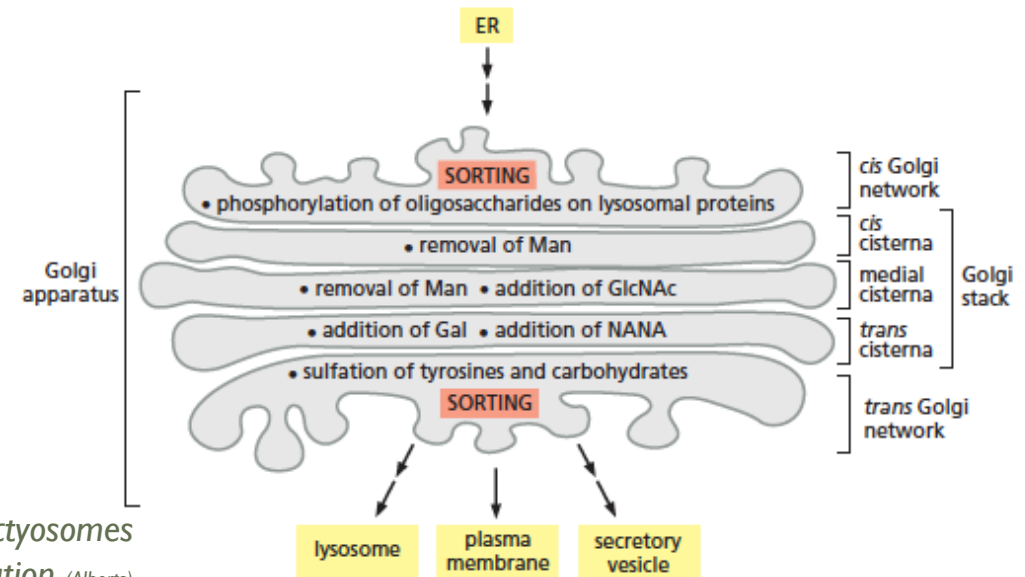
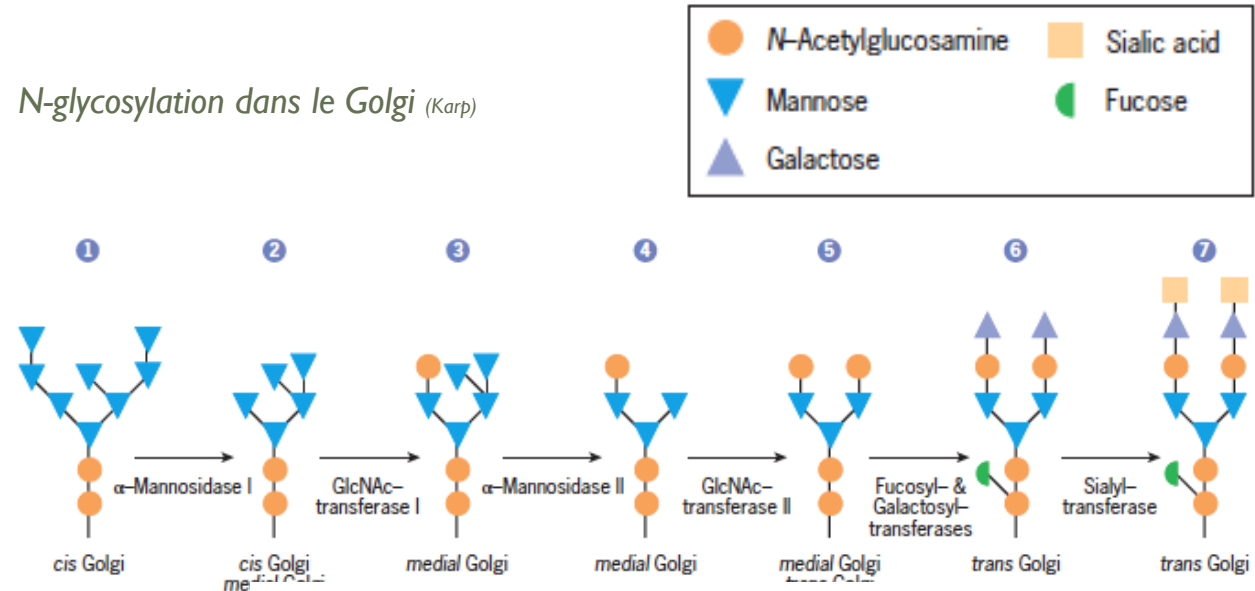
## D. DES MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES CONDITIONNENT LA CONFORMATION ET LES PROPRIETES DES PROTEINES

### I. Glycosylation

#### Glycosylation dans le Golgi

- Modifications de la **N-glycosylation** réalisée dans le RE :
  - → élimination d'oses = déglycosylation
  - greffe de nouveaux oses grâce à l'action d'enzymes membranaires.
- O-glycosylation** (sur Ser et Thr) par des enzymes membranaires ou solubles.
- Golgi = chaîne de montage** ; chaque dictyosome spécialisé dans un nombre d'étapes de déglycosylation et glycosylation.

N-glycosylation dans le Golgi (Karp)



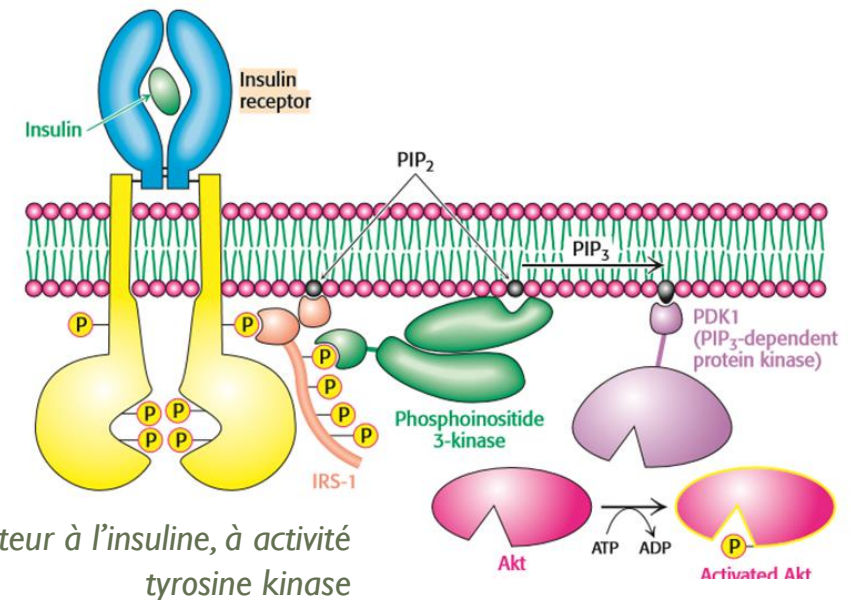
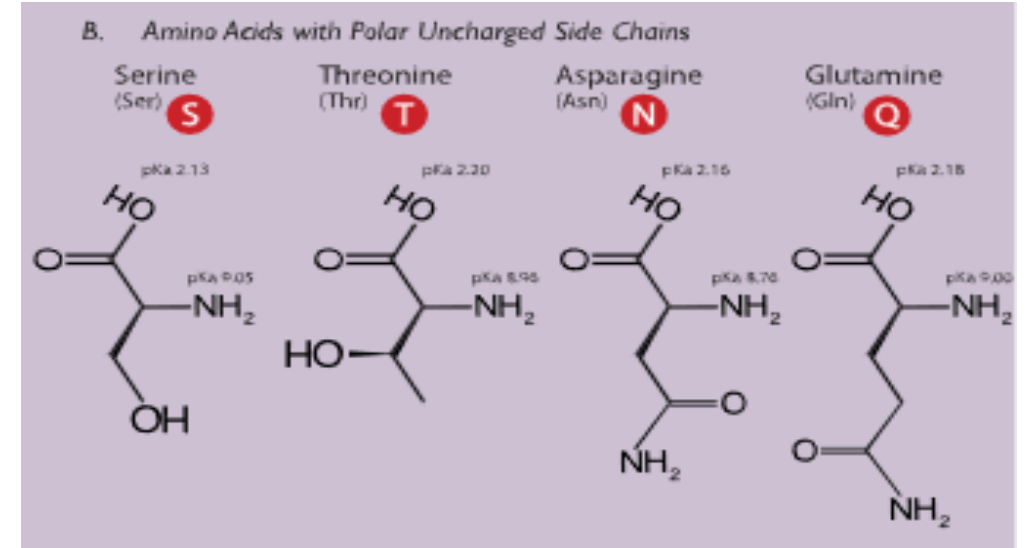
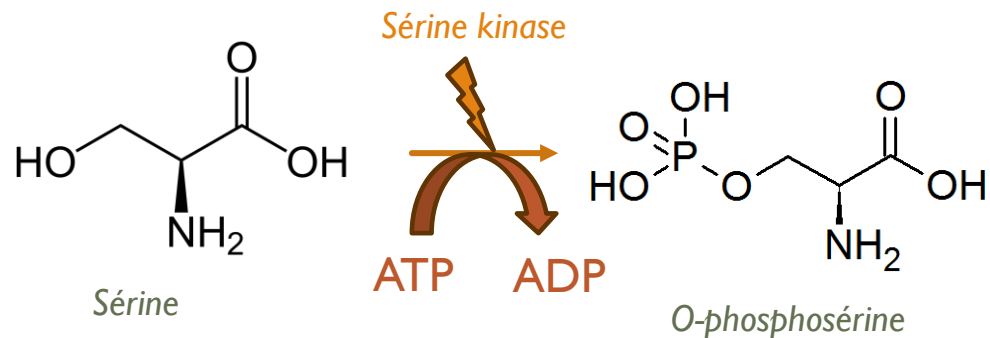
Rôle des différents dictyosomes dans la glycosylation (Alberts)

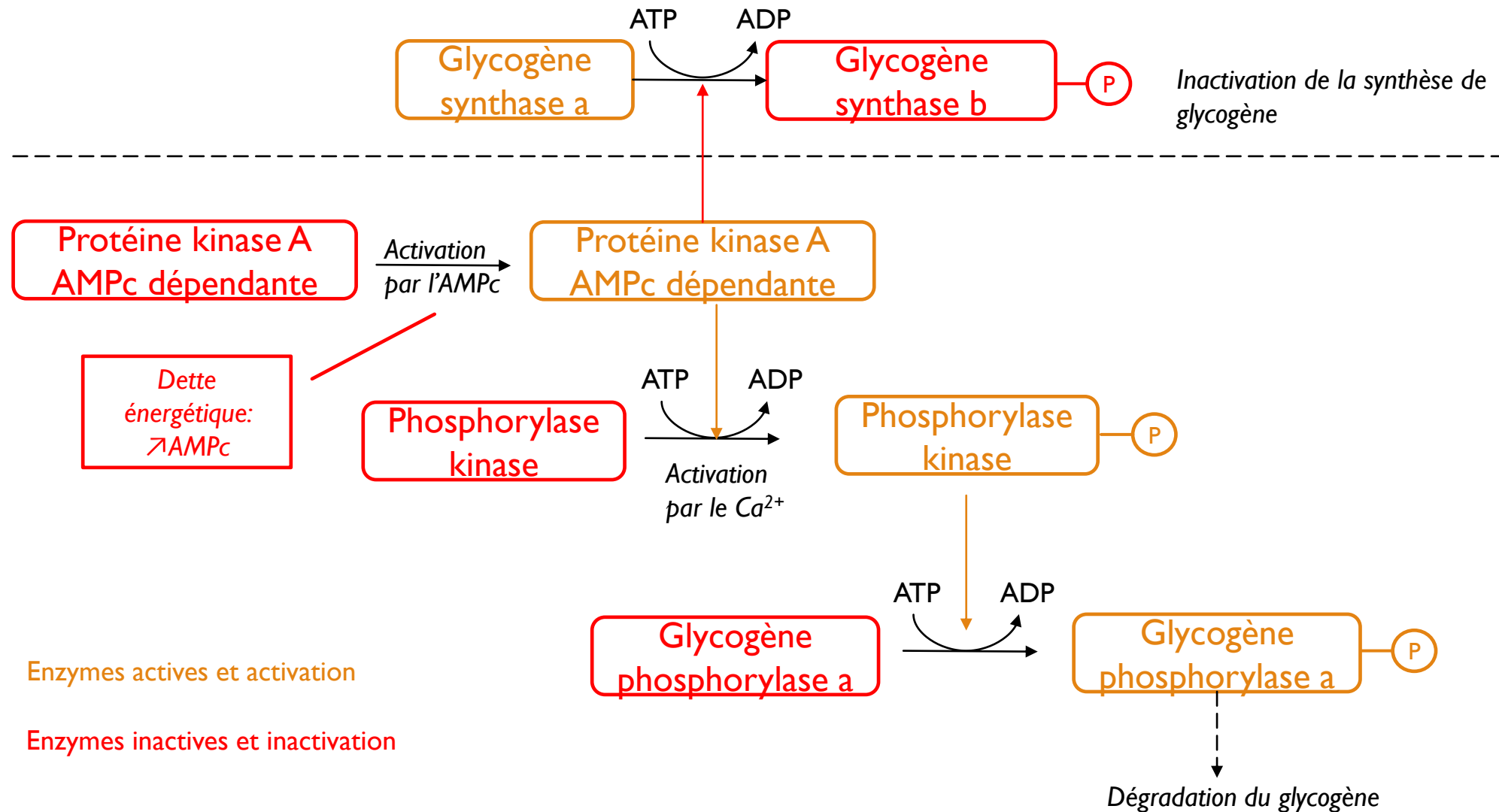


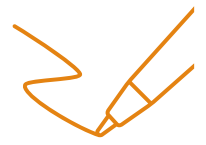
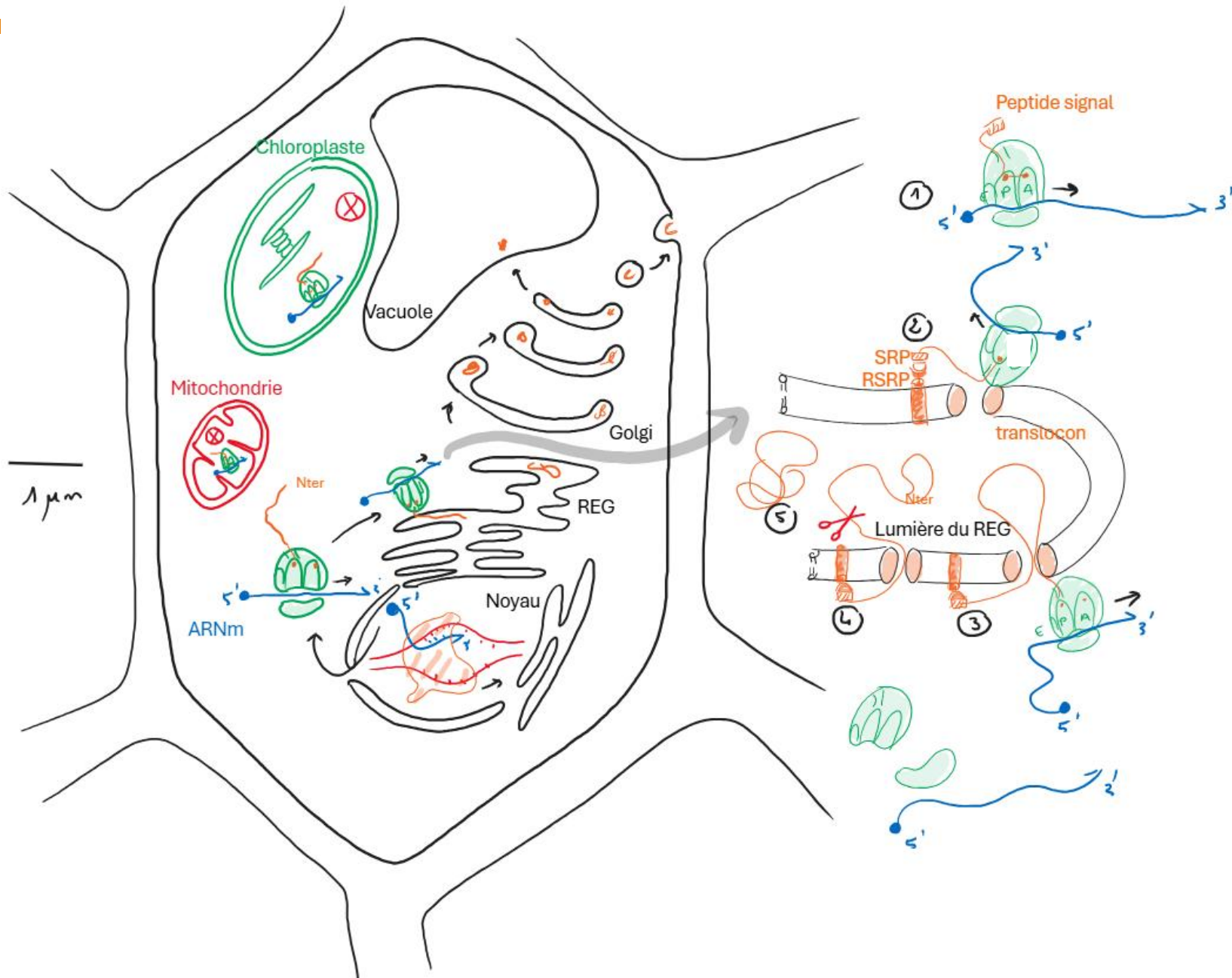
## D. DES MODIFICATIONS POST-TRADUCTIONNELLES CONDITIONNENT LA CONFORMATION ET LES PROPRIETES DES PROTEINES

### 2. Phosphorylation

- Fonctions hydroxyle de Ser, Thr et Tyr réactives et cibles de phosphorylation
- **sérine/thréonine protéine kinase** = protéine kinase qui catalyse la phosphorylation de protéines sur certains de leurs résidus de sérine ou de thréonine
- **La phosphorylation d'une protéine peut l'activer ou au contraire l'inhiber**







- ① Traduction de l'ARNm par un ribosome libre, synthèse d'un peptide signal P.S.
- ② Reconnaissance de P.S. par la protéine S.R.P et fixation de P.S./SRP sur le récepteur RSRP à la surface du REG. Arrimage du ribosome sur le translocon
- ③ Poursuite de la traduction avec ribosome arrimé sur le REG
- ④ Clivage du peptide signal P.S. par une enzyme (signal peptidase) et terminaison de la traduction.
- ⑤ Maturation du polypeptide

# SUJETS D'ORAUX

- Les ARN
- Les rôles des ARN
- Les ARNm
- Les acides nucléiques, des vecteurs d'information
- De l'ADN aux ARN
- Le code génétique
- Les ribosomes
- La synthèse des protéines
- Compartimentation et expression du génome chez les Eucaryotes
- Les organites semi-autonomes

