La Traduction

Dr Alexandre JANIN Service de Biochimie et Biologie Moléculaire – Hospices Civils de Lyon

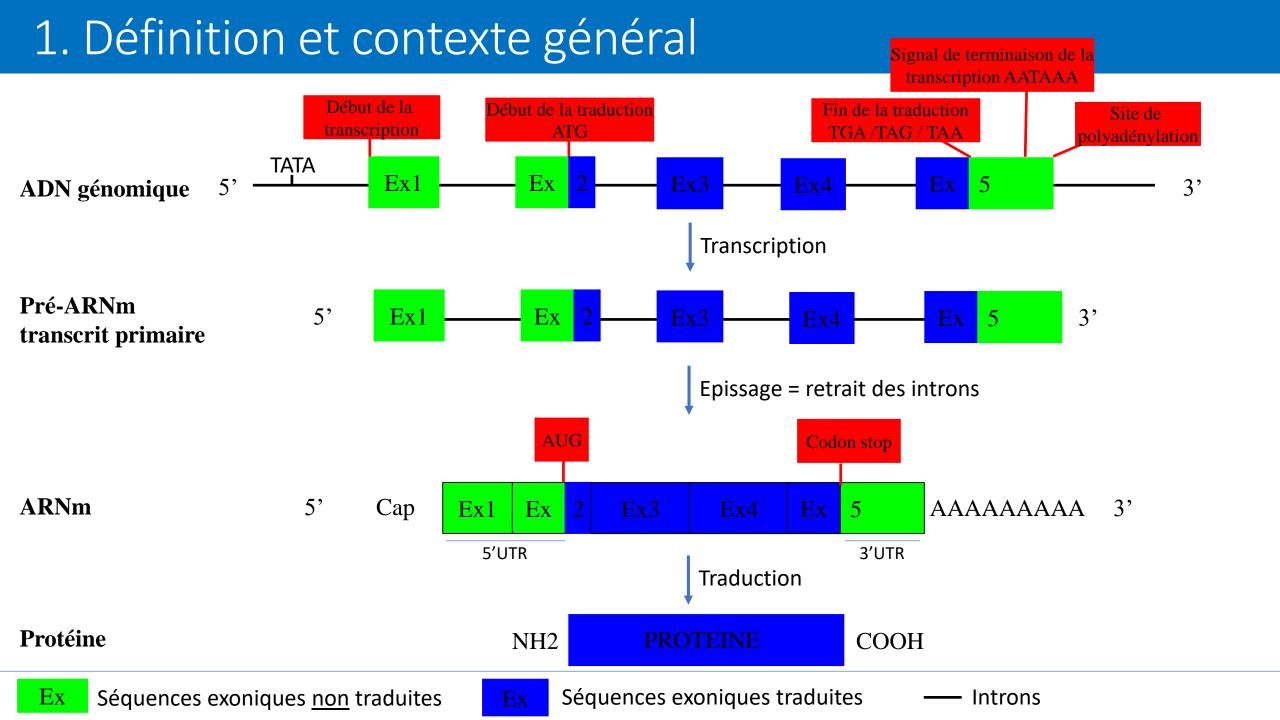
> ISPB – Faculté de Pharmacie de Lyon Université Claude Bernard Lyon 1





Plan

- 1. Définition et contexte général
- 2. Le code génétique
- 3. Les éléments nécessaires à la traduction
- 4. Mécanismes de la synthèse protéique
 - 4.1. Initiation
 - 4.2. Elongation
 - 4.3. Terminaison
- 5. Particularités de la traduction
 - 5.1. Notion de « polyribosomes »
 - 5.2. Couplage transcription/Traduction
 - 5.3. ARNm mono et polycistroniques
 - 5.4. Régulation de la traduction
- 6. Molécules inhibitrices de la traduction
- 7. Régulation post-traductionnelle



- 2.1. Généralités
- 2.2. Caractéristiques du code génétique

2.1. Généralités

- 4 bases (A,U,G,C) et 20 acides aminés (aa)
- Code à 3 lettres: 4³= 64 codons
- Codon
 - Codon sens
 - Codon non sens
- Anticodon
- Mécanisme de lecture
 - Pas de ponctuation
 - Code non chevauchant
 - Un seul cadre de lecture

2.2. Caractéristiques du code génétique

1 UNIVERSEL

- Codon d'initiation ou « start » : AUG
 - Methionine chez Eucaryotes
 - N-formyl méthionine chez Procaryotes
 - NB : AUG en position interne
- Codons de terminaison ou « stop » ou « non sens » (en phase de lecture avec le codon start)
 - UAA: ocre
 - UAG: ambre
 - UGA : opale

5' 3'

CUC AGC GUU ACC AU

—Leu — Ser — Val — Thr —



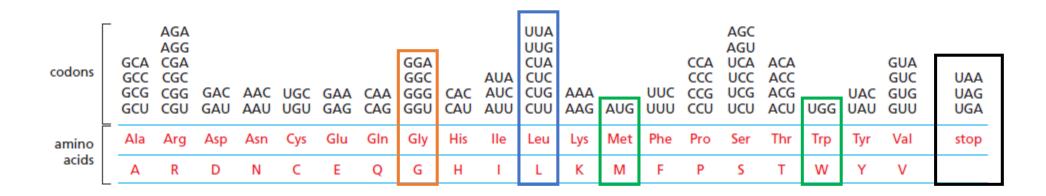
NB : code génétique légèrement différent pour l'ADNmt



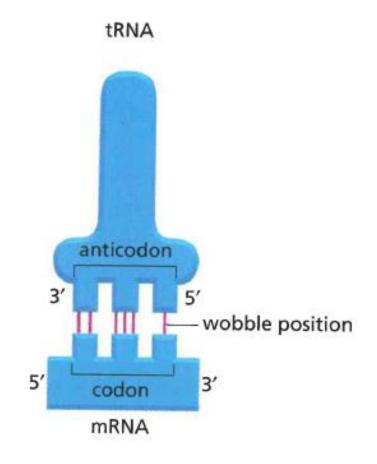
2.2. Caractéristiques du code génétique

2 DEGENERE

64 codons – 3 codons « stop » = **61 codons « sens » pour 20 acides aminés**



Notion de « Wobble base » : base « fluctuante »

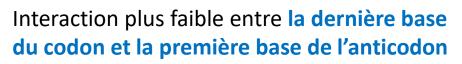


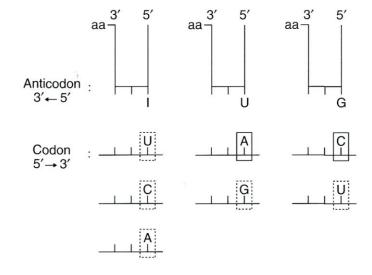
100				
ba	ct	9	rı	a
Na	C	_		9

wobble codon base	possible anticodon bases
U	A, G, or I
С	G or I
Α	Uorl
G	CorU

eucaryotes

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

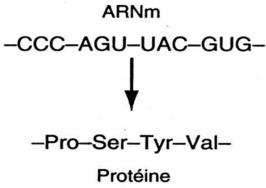




Intérêts de la dégénérescence du code génétique

- **Economie** cellulaire
- Augmentation de la vitesse de la synthèse peptidique
- Système de protection contre les variations





Type de variation

Décalage du cadre de lecture (insertion d'un nucléotide *)

Non-sens -CCC-AGU-UAG-GUG-▼ -Pro-Ser-Stop

Faux-sens -CCC-GGU-UAC-GUG▼ -Pro-Gly-Tyr-Val-

Silencieuse -CCC-AGU-UAÜ-GUG--Pro-Ser-Tyr-Val-

Effet

La séquence protéique est modifiée à partir du point de mutation

La protéine est tronquée

La protéine contient un acide aminé anormal Ex: p53 /Cancer

La séquence de la protéine n'est pas modifiée

Mais tous les codons n'ont pas la même fréquence d'utilisation ...!

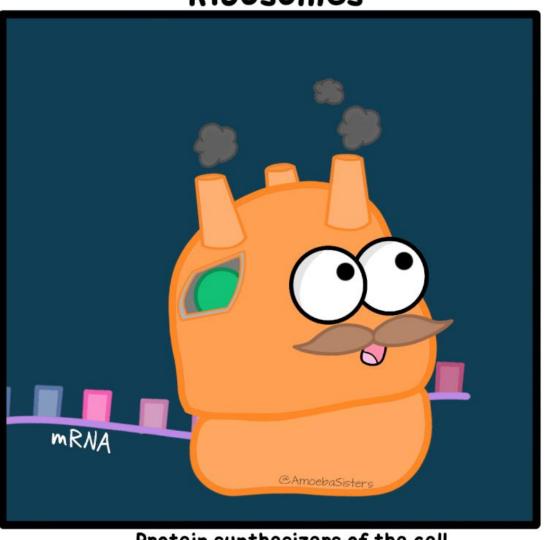
Ex: Serine chez l'Homme

Triplet	Amino acid	Fraction	Frequency/ Thousand	Number
TCT	S	0.18	14.6	291040
TCC	S	0.22	17.4	346943
TCA	S	0.15	11.7	233110
TCG	S	0.06	4.5	89429

Ex : **Phénylalanine** chez l'Homme

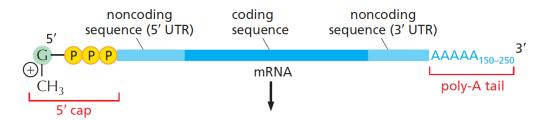
Triplet	Amino acid	Fraction	Frequency/ Thousand	Number
TTT	F	0.45	16.9	336562
TTC	F	0.55	20.4	406571
TTA	L	0.07	7.2	143715
TTG	L	0.13	12.6	249879

Ribosomes



Protein synthesizers of the cell

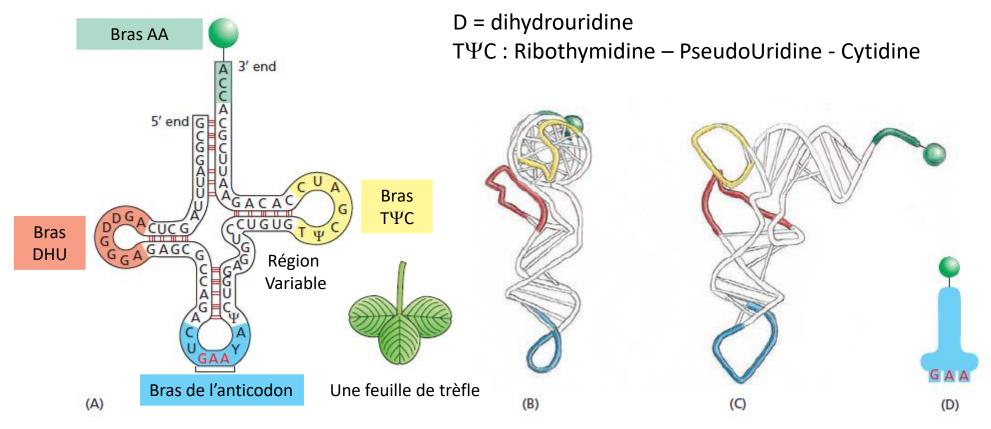
1 L'ARN messager



2 Les acides aminés

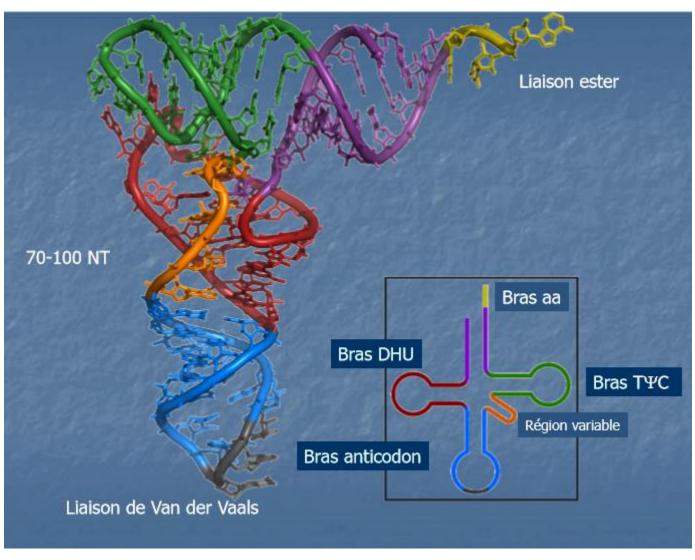
AMINO ACID	SIDE CHAIN			AMINO ACID		SIDE CHAIN		
Aspartic acid	Asp	D	negatively charged		Alanine	Ala	Α	nonpolar
Glutamic acid	Glu	Ε	negatively charged		Glycine	Gly	G	nonpolar
Arginine	Arg	R	positively charged		Valine	Val	V	nonpolar
Lysine	Lys	K	positively charged		Leucine	Leu	L	nonpolar
Histidine	His	Н	positively charged		Isoleucine	lle	1	nonpolar
Asparagine	Asn	N	uncharged polar		Proline	Pro	Р	nonpolar
Glutamine	Gln	Q	uncharged polar		Phenylalanine	Phe	F	nonpolar
Serine	Ser	S	uncharged polar		Methionine	Met	M	nonpolar
Threonine	Thr	Т	uncharged polar		Tryptophan	Trp	W	nonpolar
Tyrosine	Tyr	Υ	uncharged polar		Cysteine	Cys	C	nonpolar
POLAR AMINO ACIDS				NONPOL	AR AN	IINO	ACIDS —	

3 Les ARN de transfert



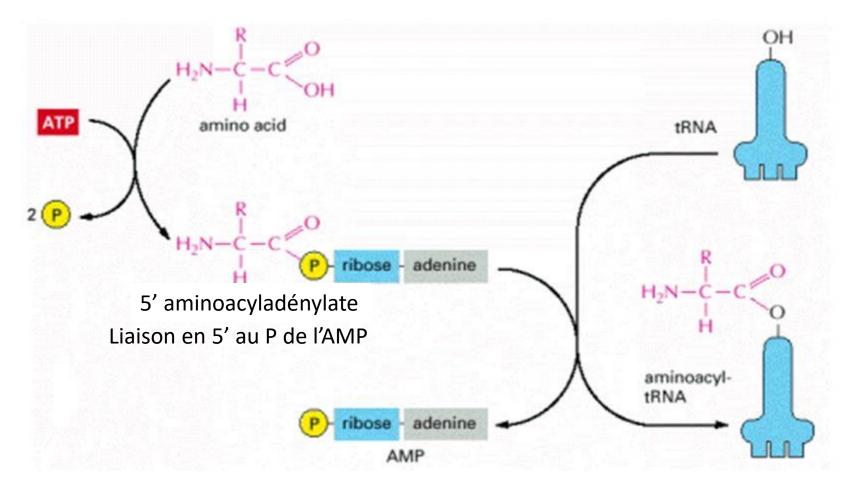


3 Les ARN de transfert



<u>1ère étape</u>: formation d'un 5' amino acyl adénylate

Activation par l'amicoacyl-ARNt-synthétase → il existe 20 aminoacyl-ARNt synthétase



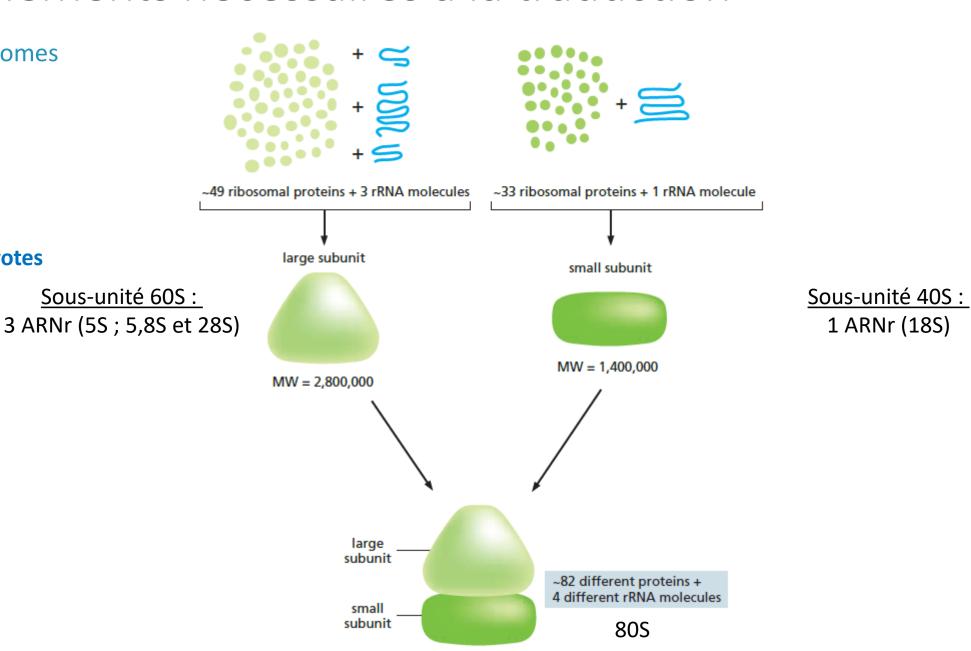
Réaction d'estérification au niveau du A en 3' de l'ARNt

<u>2^{ème} étape</u>: formation d'un amino-acyl ARNt

Fixation à l'extrémité 3' de l'ARNt Libération d'AMP



Chez les eucaryotes

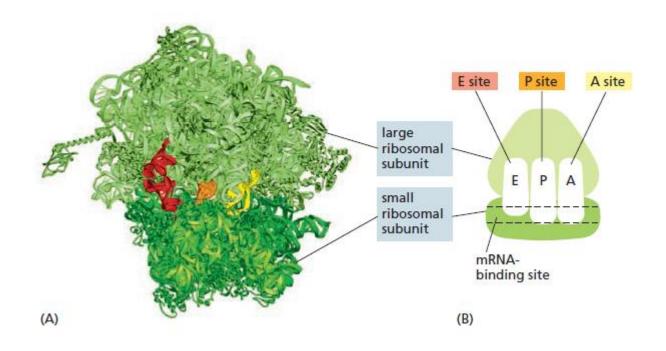




	Procaryotes 70S	Eucaryotes 80S	
	50S	60S	
Grande Sous-unité	2 ARNr (5S et 23S) + 34 protéines	3 ARNr (5S ; 5,8S et 28S) + 49 protéines	
Petite Sous-unité	30S	40S	
	1 ARN r (16S) + 21 protéines	1 ARNr (18S) + 33 protéines	



L'activité peptidyl-transférase est portée par la grande sous-unité du ribosome (ARNr 28S ou ARNr 23S)



Site A = site amino-acyl ARNt

Site P = site peptidyl ARNt

Site E = Exit

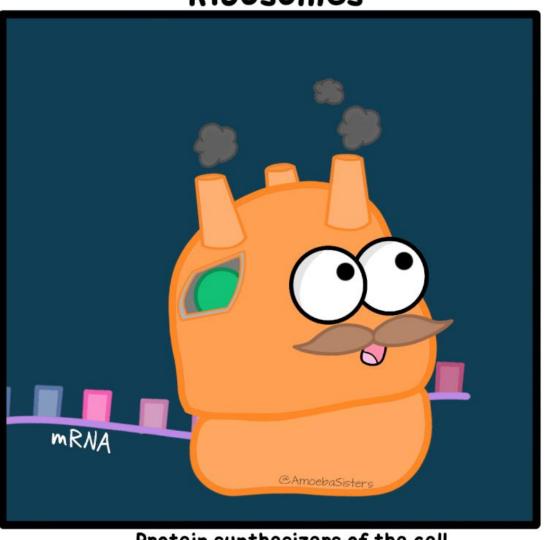
5 Les facteurs d'initiation et d'élongation

- appartiennent à la famille des protéines G
- sous forme active si liés au GTP
- après hydrolyse du GTP en GDP, sous forme inactive

	Procaryotes	Eucaryotes
Facteurs d'initiation	IF1, IF2, IF3	eIF-2
	(Initiation Factor)	eIF-4E
Initient le 1er aaARNt		eIF-4G
		(Eucaryotic Initiation Factor)
Facteurs d'élongation	EF-Tu	EF-1
(EF= Elongation Factor)	EFG	EF-2
Facilitent le mouvement		
d'avancée et la précision de la traduction		

4. Mécanismes de la synthèse protéique

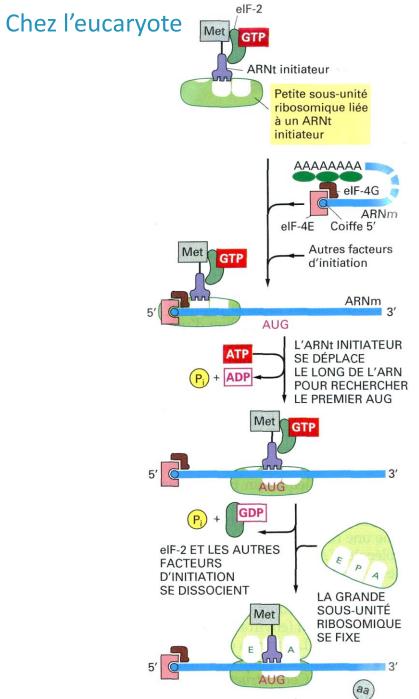
Ribosomes



Protein synthesizers of the cell

4. Mécanismes de la synthèse protéique 4.1. Initiation

- Codon AUG
- Détermine le cadre de lecture
- ARNt initiateur qui porte
 - Met (Eucaryotes)
 - formylMet (Procaryotes)



1ère **étape**: ARNt initiateur couplé à la Met se positionne sur la petite sous-unité 40S avec eIF2

2ème **étape :** Fixation de l'ARNt initiateur couplé à la Met au niveau du site P de la petite sous-unité au niveau de la coiffe grâce aux facteurs elF4

3ème étape : Déplacement à la recherche du codon AUG utilisé comme codon start

→ Déplacement favorisé par certains elF qui portent une activité hélicase

4ème **étape** : Dissociation elF2 et recrutement de la grande sous-unité du ribosome

Quel codon AUG sera utilisé pour initier la traduction ?

Eucaryotes

90% des cas : 1^{er} AUG en 5' de l'ARNm Séquence de Kozak : 5' G C C G C C [A/G] C C A U G G 3'

Procaryotes

ARNm sans cap en 5' Mais Séquence Shine-Dalgarno : 5' A G G A G G U 3'

Ex : Gène *MYH7*Logiciel TISPredictor

Predictions:

CAGCCCCTGAGACCAGGTCTGGCTCCACAGCTCTGT
CCTGCTCTGTGTCTTTCCCTGCTGCTCTCAGGTCCCC
TGCAGGCCTTGGCCCCTTTCCTCATCTGTAGACACA
CTTGAGTAGCCCAGGCACAGCCATGGGAGATTCGG
AGATGGCAGTCTTTGGGGCTGCCGCCCCCTACCTG
CGCAAGTCAGAAGAAGGAGCGCAGA
CCAGGCCTTTTGACCTCAAGAAGGATGTCTTCGTGC
CTGATGACAAACAGGAGTTTGTCAAGGCCAAGATC
GTGTCTCGAGAGGGTGGCAAAGTCACTGCCGAGAC
CGAGTATGGCAAG

Kozak Similarity Score Color Coding:

Blue: < 0.5

Teal: ≥ 0.5 and < 0.6

Green: ≥ 0.6 and < 0.7

Orange: \geq 0.7 and < 0.8

Red: ≥ 0.8

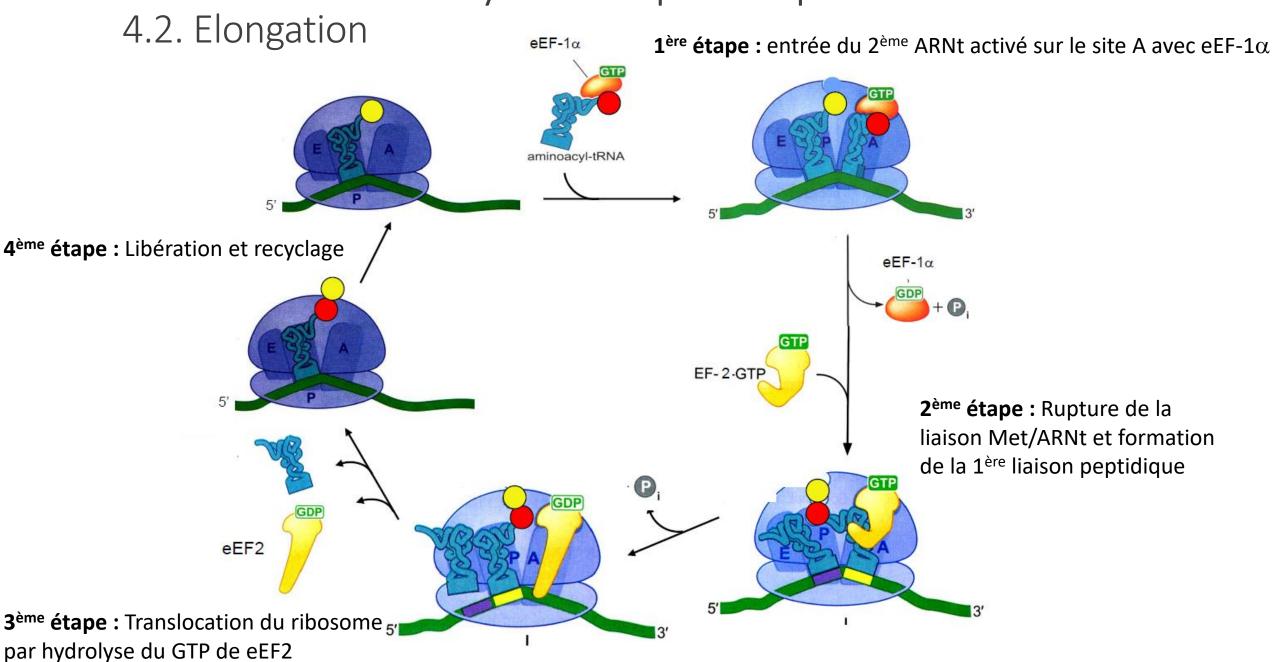
Kozak Similarity Scores:

(From left to right):

Position Position Position 132: 147: 238: **0.7**

0.79 0.75

4. Mécanismes de la synthèse protéique



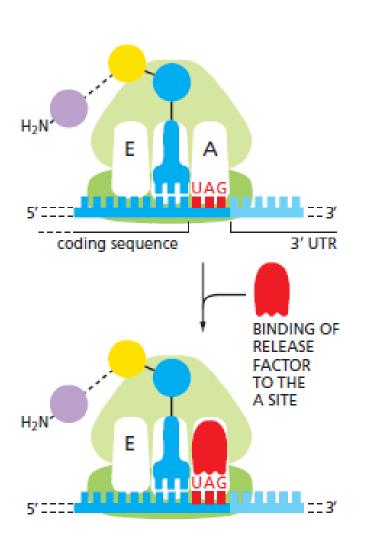
4. Mécanismes de la synthèse protéique

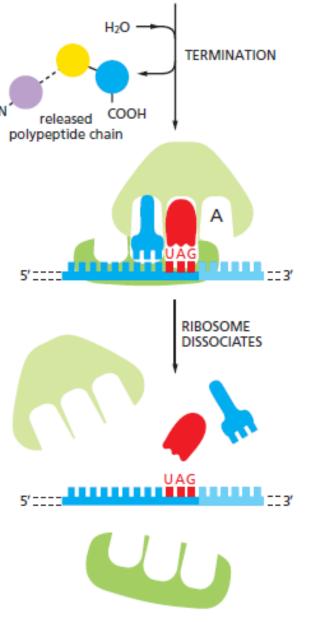
Chez l'eucaryote

Présence d'un codon stop dans le site A :

4.3. Terminaison

- UAA
- UAG
- UGA



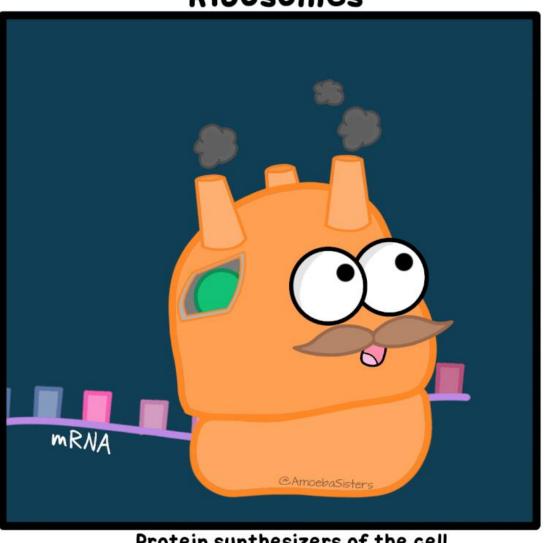


Myopathie de Duchenne

- 10 à 15% des patients: mutations non-sens qui conduisent à la formation d'un codon stop prématuré dans l'ARN messager
- Pas de synthèse de la dystrophine
- Une des stratégies thérapeutiques: molécule permettant la translecture du codon stop pour restaurer la synthèse de dystrophine
- L'ataluren (Translarna™) bénéficie depuis le 31 juillet 2014 d'une Autorisation de mise sur le marché (AMM) conditionnelle européenne, accordée par l'Agence Européenne des médicaments
- …en cours d'évaluation clinique

5. Particularités de la traduction

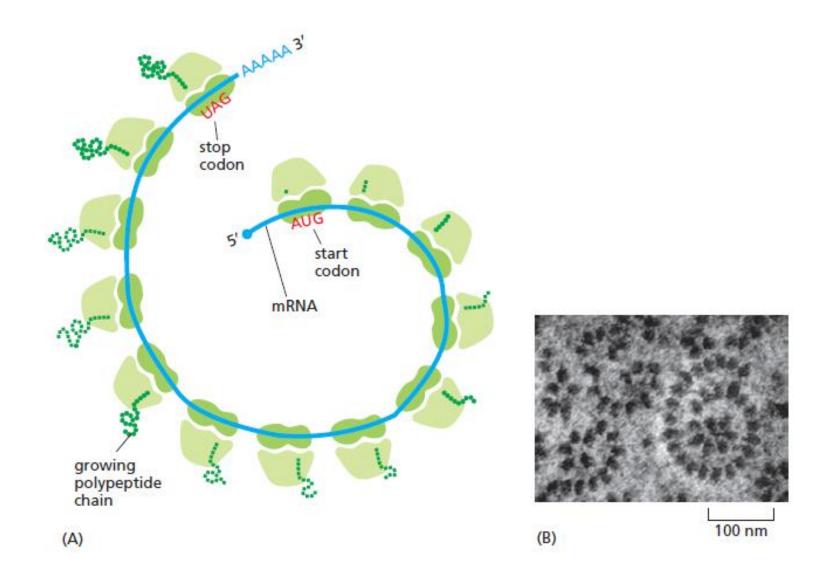
Ribosomes



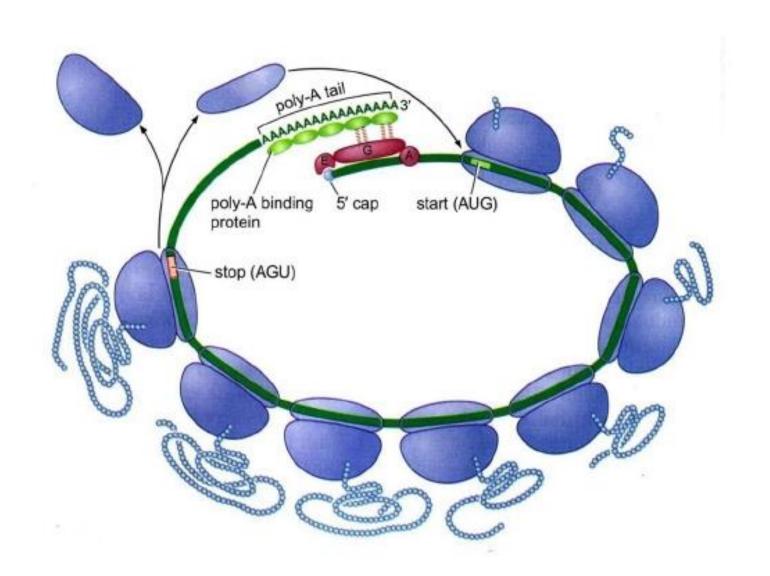
Protein synthesizers of the cell

5. Particularités de la traduction

5.1. Notion de « polyribosomes »

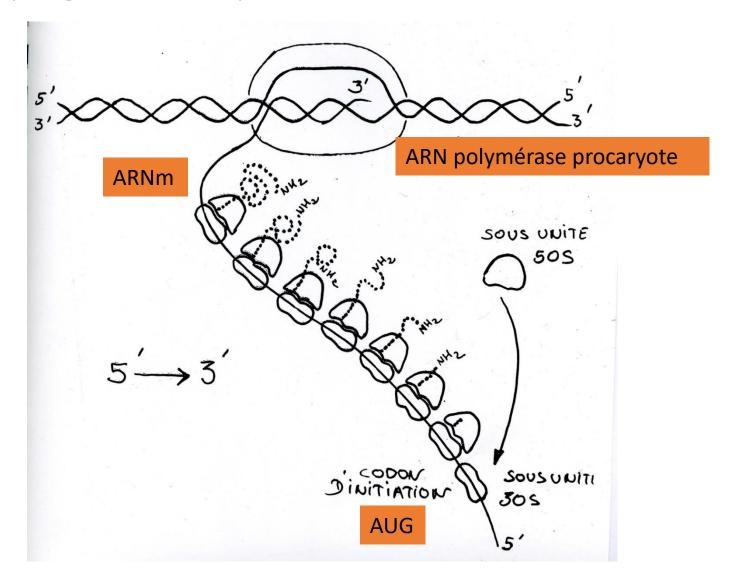


Formation d'une structure pseudo-cyclique par interaction entre les extrémités 5' et 3' de l'ARNm



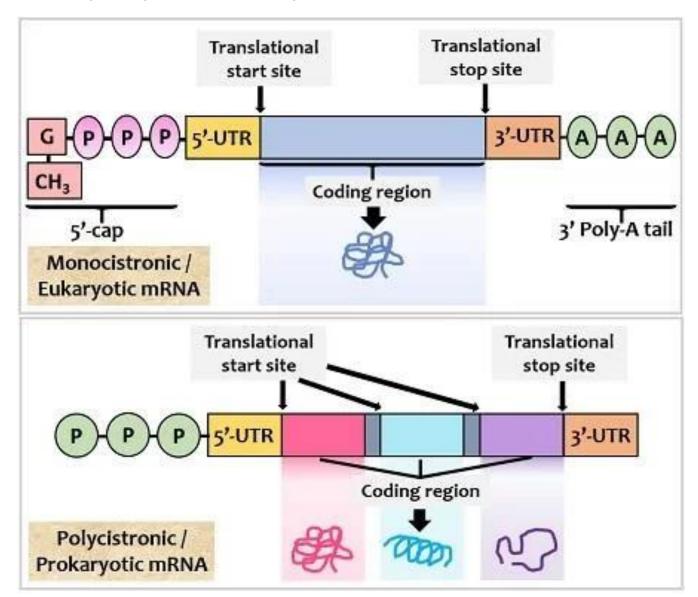
5. Particularités de la traduction

5.2. Couplage Transcription/Traduction



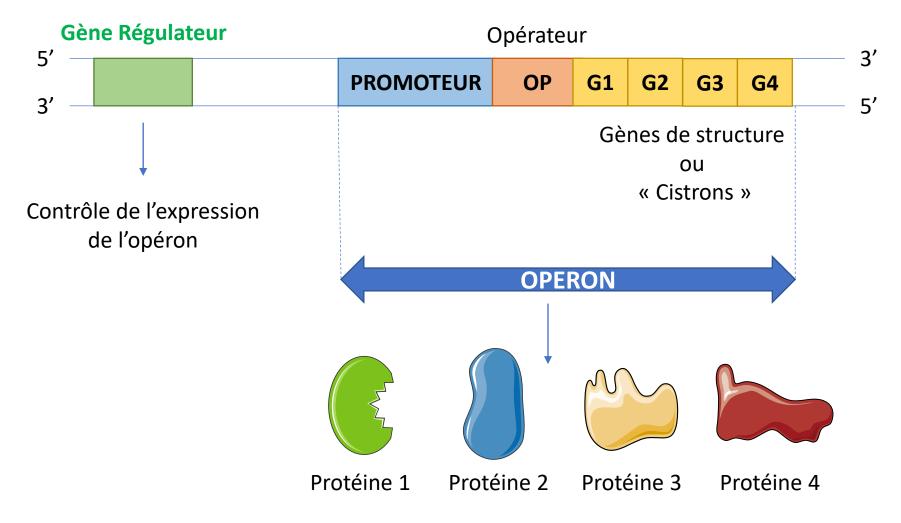
5. Particularités de la traduction

5.3. ARNm mono et polycistroniques



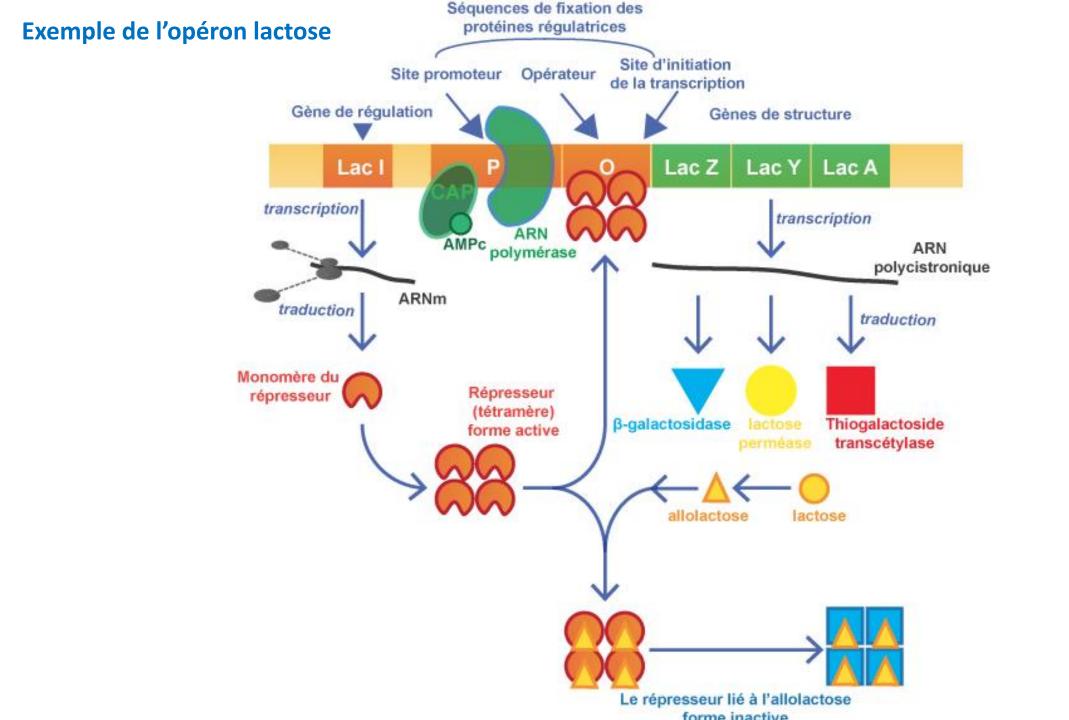
Translational start site :Recrutement de la petite
Sous Unité du ribosome

Notion d'opéron bactérien



Un opéron :

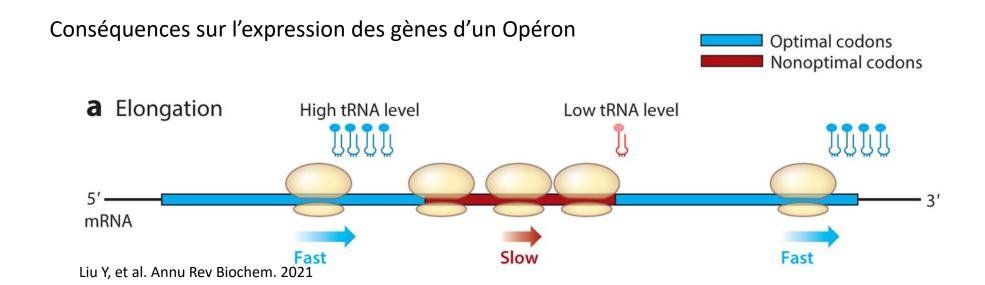
- Jusqu'à 20 gènes co-transcrits et co-régulés
- ARN polycistroniques
- Protéines impliquées dans le même métabolisme



Mais tous les codons n'ont pas la même fréquence d'utilisation ...!

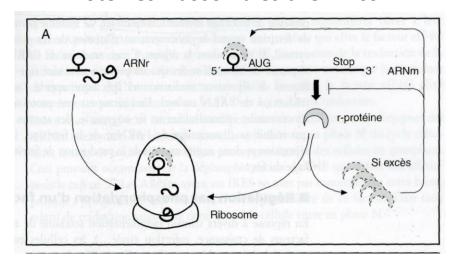
Ex: Proline chez E. coli

Triplet	Amino acid	Fraction	Frequency/ Thousand	Number
CCT	Р	0.18	7.5	27340
ccc	Р	0.13	5.4	19666
CCA	Р	0.20	8.6	31534
CCG	Р	0.49	20.9	76644

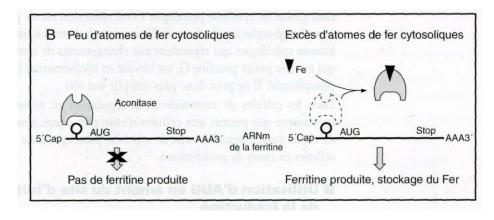


- 5. Particularités de la traduction 5.4. Régulation de la traduction
- Contrôle négatif par liaison de protéines aux régions non traduites de l'ARNm

Protéines ribosomales chez E. coli

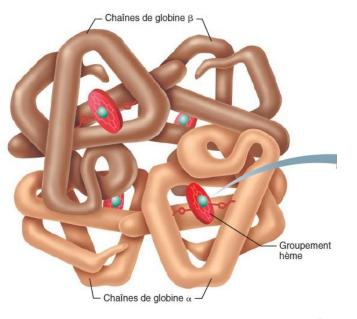


Ferritine chez les Eucaryotes



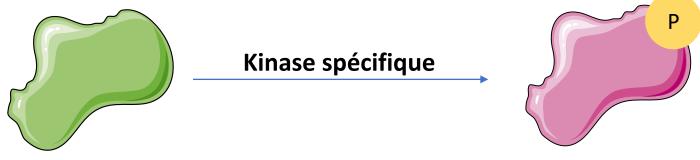
 Régulation de la phosphorylation d'un facteur d'initiation de la traduction (EiF2)

Exemple de la régulation de la synthèse des gènes de globine



Dans les globules rouges des eucaryotes: Hémoglobine = 4 globines + 4 molécules d'hème

La synthèse a lieu chez les précurseurs des GR (erythroblastes)



EiF2 non phosphorylé = actif

EiF2 phosphorylé = inactif

Traduction = Globine synthètisée

Pas de traduction = Globine non synthètisée

6. Molécules inhibitrices de la traduction

Molécules	Cibles	Mécanisme d'action
Puromycine	Bactéries	Analogie de structure avec un aminoacyl ARNt
	Eucaryotes	Liaison site A. Peptidyl puromycine ne peut s'engager dans le site P et induit la dissociation du ribosome
Tétracyclines	Procaryotes	Fixation site A
		Bloque la liaison des aminoacylARNt
Chloramphenicol	Procaryotes Mitochondries Chloroplastes	Bloque l'activité peptidyl-transférase
Cycloheximide	Eucaryotes	Bloque l'activité peptidyl-transférase et la translocation
Streptomycine	Procaryotes	Suivant sa concentration bloque l'initiation ou induit anomalies de lecture du code génétique
Toxine diphtérique	Eucaryotes	Bloque l'élongation par inactivation de EF2
<u>Ricine</u>	Eucaryotes	Se fixe sur sous unité 60S du ribosome→Inactivation

7. Régulation post-traductionnelle

La dégradation protéique par le protéasome

