

E. Ribosome : synthèse protéique et maturation des protéines

I. Introduction

La traduction est un processus cellulaire commun à l'ensemble des règnes du vivant, qui correspond au processus de fabrication des protéines à partir du code génétique. Dans les cellules procaryotes ou eucaryotes, l'information génétique est portée par l'acide désoxyribonucléique ou ADN. Cette macromolécule double-brin contient l'ensemble de l'information génétique, aussi appelé génome, d'un être vivant. L'ADN est composé de 4 bases nucléiques : l'adénine (A), la cytosine (C), la guanine (G) et la thymine (T). Les molécules d'ADN sont stables dans le temps, ce qui assure la pérennité du code génétique, mais elles ne peuvent être directement transformées en protéines. Une enzyme appelée ARN polymérase va réaliser une copie d'une partie de l'ADN. Cette étape nommée transcription aboutit à la formation de l'ARN messager (ARNm). Cette copie de l'ADN, qui se dégrade rapidement dans le temps, est une macromolécule simple brin, elle-même composée de 4 sortes de bases nucléiques : l'uracile (U), la cytosine (C), la guanine (G) et l'adénine (A). Après des étapes de maturation qui ont lieu pour les eucaryotes dans le noyau cellulaire, l'ARN messager est exporté dans le cytoplasme pour y être traduit en protéine. On appelle le processus de production des protéines traduction car il correspond au passage de l'alphabet de l'ARN messager (les bases nucléiques A,U,G,C), à l'alphabet des protéines composées d'acides aminés (il en existe 22 sortes différentes). La macromolécule responsable de la traduction est le ribosome. Le ribosome lit l'ARN messager codon par codon, un codon, groupe de trois bases nucléiques, correspondant à un acide aminé de la chaîne protéique. Il assemble au fur et à mesure la chaîne protéique et la relâche lorsqu'elle est complète. Le ribosome est capable de traduire l'ensemble des ARN messagers présents dans la cellule et constitue donc l'usine de fabrication de l'ensemble des protéines nécessaires au bon fonctionnement cellulaire. Nous détaillerons dans cette partie les acteurs et les principales étapes de la traduction eucaryote.

Le processus de traduction est réalisé par l'action conjointe et coordonnée de plusieurs acteurs qui sont :

- Le ribosome qui valide le décodage et synthétise la protéine ;
- L'ARNm qui porte la séquence codant la protéine ;
- Les ARN de transfert (ARNt) qui permettent de décoder chaque codon ;
- Les facteurs protéiques qui vont permettre la réalisation des différentes étapes de la traduction.

II. L'acteur principal de la traduction : le ribosome

Le ribosome est une particule cellulaire ribonucléoprotéique constituée de l'association de molécules d'ARN appelées ARNr (ARN ribosomiques) avec des protéines ribosomales. Son rôle est d'assurer la synthèse protéique. Chez les eucaryotes le ribosome 80S mature est organisé en deux sous-unités : la grande sous-unité ribosomale 60S et la petite sous-unité ribosomale 40S (S pour unité de Svedberg, qui correspond à la vitesse de sédimentation des particules).

- La sous-unité ribosomale 40S se compose de 33 protéines et de l'ARNr 18S. Elle est impliquée dans la fidélité de la traduction en permettant via l'interaction du codon de l'ARNm avec l'anticodon de l'ARNt de décoder l'information génétique portée par les ARNm.
- La grande sous-unité 60S est, elle, constituée de 49 protéines et des ARNr 5S, 28S et 5,8S. Elle contient le centre de peptidyl-transférase qui catalyse la formation de liaisons peptidiques entre les acides aminés incorporés lors de l'étape de l'élongation.

Le ribosome comprend, à l'interface de ces deux sous-unités, trois sites nommés A (site aminoacyl), P (peptidyl site) et E (exit site), dans lesquels se succèdent les ARNt. Le ribosome présente également deux sites catalytiques très importants : le centre de décodage (DC), où a lieu le décodage de l'ARNm, et le centre peptidyl-transférase (PTC) où est synthétisée la liaison peptidique qui relie un nouvel acide aminé au peptide naissant en cours d'élongation. Le cœur du ribosome est très conservé entre les espèces des trois règnes du vivant. Cependant, le ribosome eucaryote est plus complexe que le ribosome procaryote et présente des extensions des ARNr (environ 2650 nucléotides supplémentaires), des protéines ribosomiques supplémentaires ainsi que des extensions à certaines protéines (environ 2450 acides aminés supplémentaires).

Les ribosomes sont le siège de la synthèse des protéines. C'est à leur niveau que les acides aminés sont assemblés, selon une séquence déterminée par celle des codons (succession de 03 bases au niveau d'ARNm) il s'agit de l'étape de la lecture du code génétique sur les ARNm. Les ribosomes réalisent donc la traduction de l'information portée par l'ARNm en une protéine.

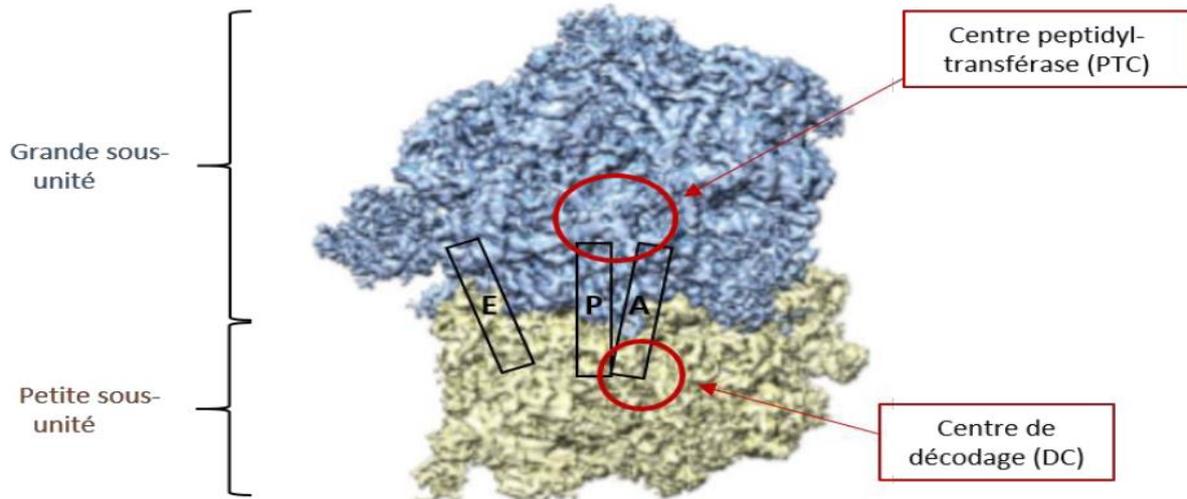


Figure III. 20. Structure générale du ribosome eucaryote 80S [33].

Le ribosome complet 80S est composé d'une petite sous-unité 40S (en beige) et d'une grande sous-unité 60S (en bleu). Il comprend, à l'interface de ces deux sous-unités, trois sites nommés A (aminoacyl site), P (peptidyl site) et E (exit site), dans lesquels se succèdent les ARNt. Le ribosome présente également deux sites catalytiques : le centre de décodage (DC), où a lieu le décodage de l'ARNm, et le centre peptidyl-transférase (PTC) où est synthétisée la liaison peptidique qui relie un nouvel acide aminé au peptide naissant en cours d'élongation.

III. L'ARN messenger (ARNm)

L'ARN messenger mature qui sera traduit par le ribosome possède plusieurs éléments caractéristiques. C'est une molécule orientée qui se lit de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3'.

A son extrémité 5' on trouve un élément nommé la coiffe. La coiffe joue un rôle de protection de l'ARNm contre des exo nucléases mais également un rôle essentiel de recrutement du ribosome lors de la première phase de la traduction : l'initiation. On trouve à la suite de la coiffe une région non codante (5'UTR pour untranslated region) qui ne sera donc pas traduite par le ribosome. Elle joue un rôle dans l'initiation de la traduction. Cette séquence se termine par un codon initiateur, presque exclusivement AUG chez les eucaryotes, qui indique l'endroit où la traduction doit s'initier. A la suite de ces éléments on trouve une région codante de taille variable qui se termine par un codon particulier appelé codon stop. Il existe trois codons stop (UAA, UAG et UGA), mais ils donnent tous l'indication au ribosome d'interrompre le processus de traduction, de relâcher la protéine achevée et de se détacher de l'ARN messenger. Enfin en aval du codon stop on trouve une seconde région non codante appelée 3'UTR puis un élément appelé queue polyA ou queue polyadénylée composée uniquement de bases adénines (environ 250 chez les mammifères, qui joue un rôle lors de l'export de l'ARNm dans le cytoplasme ainsi qu'un rôle pour assurer sa stabilité dans le temps.

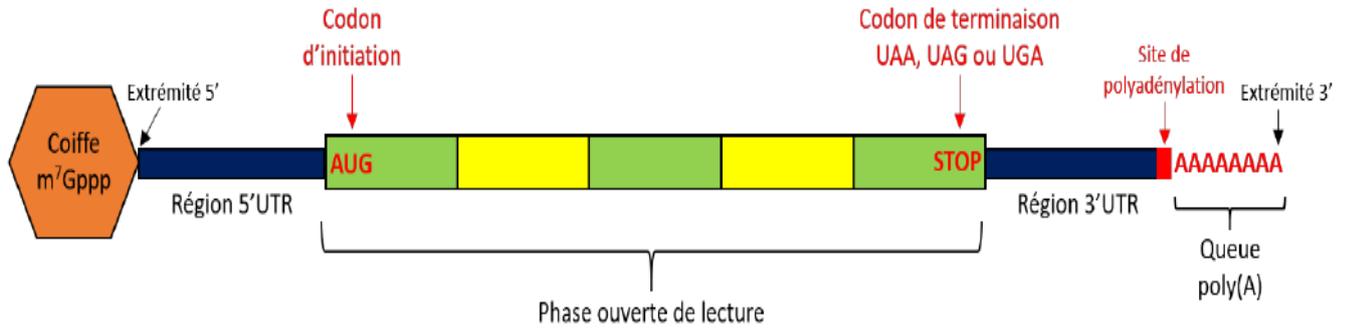


Figure III. 21. Structure et éléments caractéristiques d'un ARN messager [33].

IV. Les ARN de transfert (ARNt)

Les ARNt sont de petites molécules d'ARN de 75 à 100 nucléotides. Ils servent d'adaptateurs entre l'ARNm et les acides aminés puisque ces molécules portent chacune un acide aminé. L'ARN de transfert est très structuré, sa structure secondaire forme une structure en L. La tige-boucle de l'anticodon va former la liaison codon-anticodon avec l'ARN messager lors de son passage dans les sites A, P et E du ribosome. Un anti-codon est un triplé de trois nucléotides complémentaires des nucléotides qui forment le codon de l'ARNm. A l'autre extrémité de l'ARNt, la tige-boucle acceptrice est liée à un acide aminé qui sera assemblé au reste de la chaîne protéique pendant la traduction.

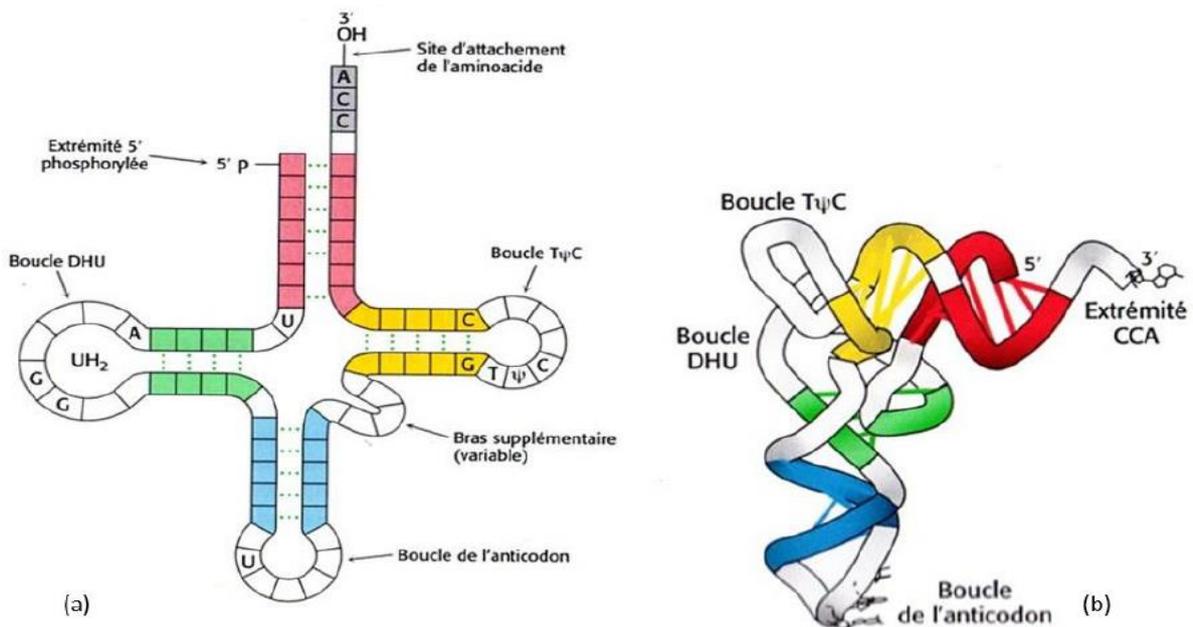


Figure III. 22. Structures secondaire et tertiaire des ARNs de transfert [33].

(a) Structure secondaire d'un ARNt, en forme de trèfle à quatre feuilles : la tige acceptrice, en rose, sur laquelle l'acide aminé est attaché par estérification, la boucle de l'anticodon, la boucle DHU, la boucle TψC et le bras supplémentaire variable. (b) La structure tertiaire en forme de L est obtenue par repliement de la tige DHU (en vert) sur la tige TψC (en jaune).

V. La synthèse protéique

À partir de l'information génétique stockée dans l'ADN (Acide Désoxyribo Nucléique), les protéines sont synthétisées par l'intermédiaire principalement de deux mécanismes biologiques nommés respectivement transcription et traduction.

V.1. Transcription

La première étape de la synthèse des protéines est la transcription d'un gène de l'ADN en une molécule d'acide ribonucléique messenger (ARNm). L'étape se déroule à l'intérieur du noyau d'une cellule eucaryote et dans le cytoplasme des procaryotes. Cette différence a des conséquences importantes sur le traitement de l'ARN synthétisé.

La construction de l'ARNm est catalysée par un complexe enzymatique : l'ARN polymérase :

- Ouverture de la molécule d'ADN au niveau d'un gène par rupture des liaisons hydrogènes ;
- Le brin transcrit servant de matrice, mise en place des nucléotides d'ARN face à des nucléotides d'ADN par complémentarité des bases ;
- Liaison entre les nucléotides pour former le brin d'ARN ;
- Détachement de l'ARNm du brin d'ADN transcrit. L'autre brin de l'ADN est dit le brin non transcrit.

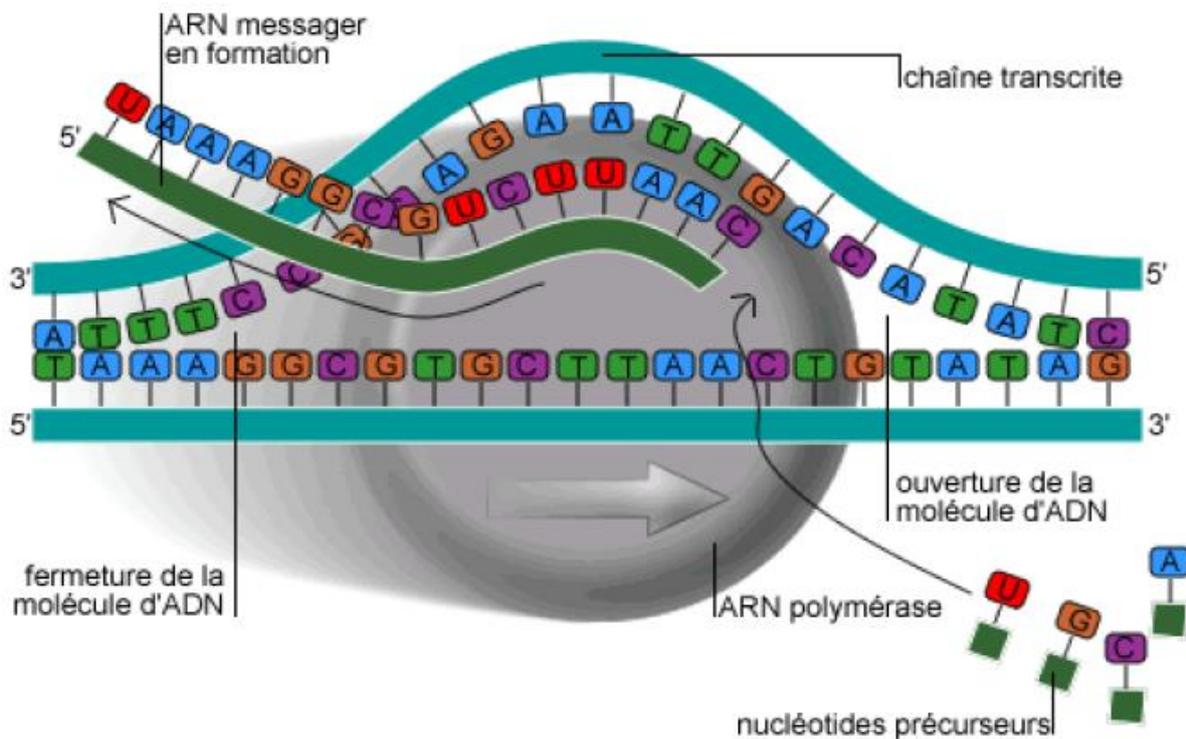


Figure III. 23. Transcription de l'ADN en ARNm [34].

V.2. Modification post-transcriptionnelle de l'ARN pré-messager

Les principales modifications post-transcriptionnelles de l'ARN pré-messager sont l'ajout d'une coiffe de 7-méthylguanosine triphosphate à l'extrémité 5' et d'une queue poly(A) (50 à 250 nucléotides d'adénine) à l'extrémité 3', puis l'épissage, consistant en l'élimination des introns (segments du gène qui ne codent pas un polypeptide) séparant les exons (qui, eux, sont codants).

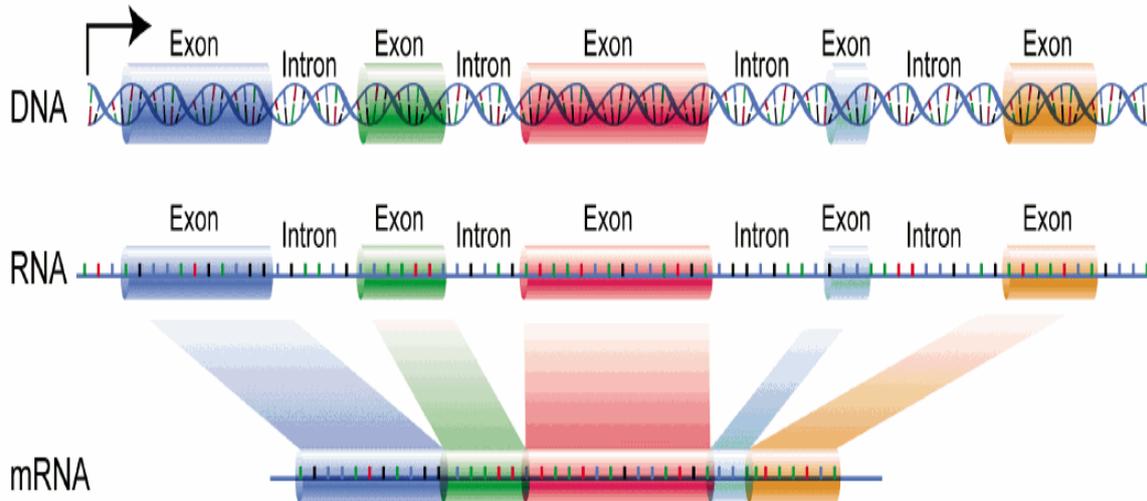


Figure III. 24. L'ADN est transcrit en ARN qui, chez les eucaryotes, est épissé en ARN messenger [35].

V.3. Traduction

La traduction est un processus d'amplification où une molécule d'ARNm est à l'origine de la synthèse de plusieurs protéines. Il est important de noter que l'ARNm est traduit simultanément par plusieurs ribosomes à la suite les uns des autres, on parle alors de polysomes. Chaque ribosome accomplit un cycle de traduction qui se décompose en 4 étapes :

- L'initiation durant laquelle les sous-unités ribosomiques s'assemblent sur l'ARNm et se positionnent sur le codon d'initiation.
- L'élongation qui correspond à la lecture de l'ARNm et à la synthèse de la protéine.
- La terminaison, étape à laquelle la protéine est relâchée.
- La dissociation et le recyclage des sous-unités ribosomiques.

V.3.1. Initiation

La biosynthèse de la chaîne polypeptidique commence généralement au niveau d'un codon AUG, encodant la méthionine. Chez les procaryotes, c'est un résidu de N-formylméthionine qui est incorporé en position initiale, tandis que, chez les eucaryotes, c'est un résidu de méthionine, qui peut être clivé par la suite. Comme le codon d'initiation AUG code pour la méthionine, donc, la synthèse de toute chaîne polypeptidique débute toujours par la méthionine qui est ainsi

le première acide aminé incorpore. L'ARNt portant la méthionine se rattache au codon d'initiation AUG qui se trouve à la suite de ce site de fixation. La grosse sous unité peut alors de fixer elle aussi et rendre le ribosome actif.

V.3.2. Elongation

Un nouvel ARNt, correspondant au codon suivant de l'ARNm se fixe dans le site A du ribosome grâce à un facteur d'élongation et la consommation d'une molécule de GTP (Fig.6). Une enzyme, peptidyl transférase, permet ensuite la formation d'une liaison peptidique entre les acides aminés des deux sites. Le peptide est alors rattaché à l'ARNt du site A. L'ARNt du site P, qui ne possède plus d'acide aminé, se détache et libère la place. Une phase de translocation fait passer l'ARNt restant du site A au site P. Ce déplacement entraîne aussi l'ARNm toujours apparié à l'ARNt. On observe donc un déplacement d'un codon au niveau du ribosome. Une molécule de GTP est encore nécessaire pour permettre la translocation. Un nouvel ARNt peut alors s'accrocher, le cycle se poursuit jusqu'à l'apparition d'un codon STOP.

V.3.3. Terminaison

La phase d'élongation prend fin quand le ribosome rencontre un des trois codons stop (UAA, UAG ou UGA) au niveau du site A. La présence de ce codon déclenche le recrutement des facteurs de terminaison eRF1 et eRF3. Le facteur eRF1 reconnaît le codon stop et simule par sa structure la présence d'un ARNt au site A. Ce facteur stimule l'activité de eRF3 et catalyse la terminaison de la traduction. La chaîne peptidique de la protéine est relâchée et les deux sous-unités du ribosome se dissocient de l'ARNm pour être réutilisées lors d'un nouveau cycle de traduction.

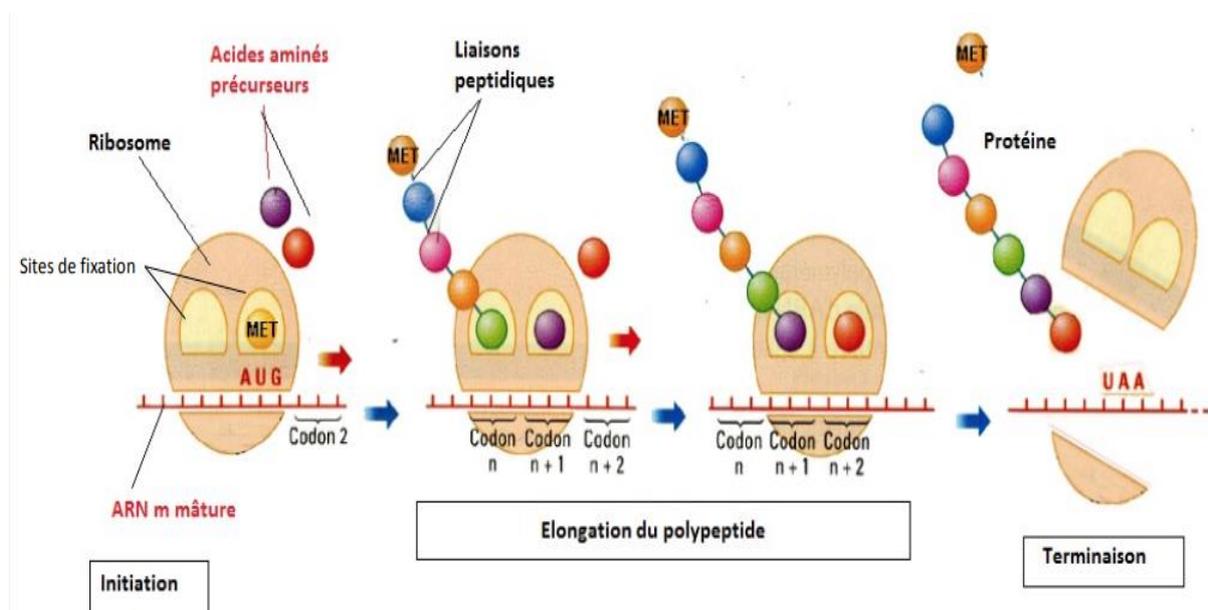


Figure III. 25. Processus de traduction de l'ARNm en protéine [35].

VI. Adressage des protéines synthétisées

VI.1. Traduction sur des ribosomes libres

Elle se fait dans le cytosol (protéines dirigées vers le noyau, mitochondries, plastes et peroxysomes). Les protéines seront ensuite introduites dans les différents organites par translocation post-traductionnelle. En même temps que l'élongation, des chaperons se fixent sur la chaîne naissante pour éviter un repliement prématuré. Les protéines à repliement altéré (protéines mal conformées) sont détruites, de suite.

VI.2. Traduction sur des ribosomes fixés à la membrane du RE

Ces ribosomes peuvent être organisés en microsome, vésicules à plusieurs ribosomes (protéines dirigées vers les membranes plasmiques, lysosomes et vésicules sécrétoires). Dans ce cas, on parle de translocation co-traductionnelle. Ce dernier type d'import ne présente pas de risque de repliement de la protéine avant son insertion, n'a pas besoin de chaperones et exige la fixation des ribosomes sur le RE.

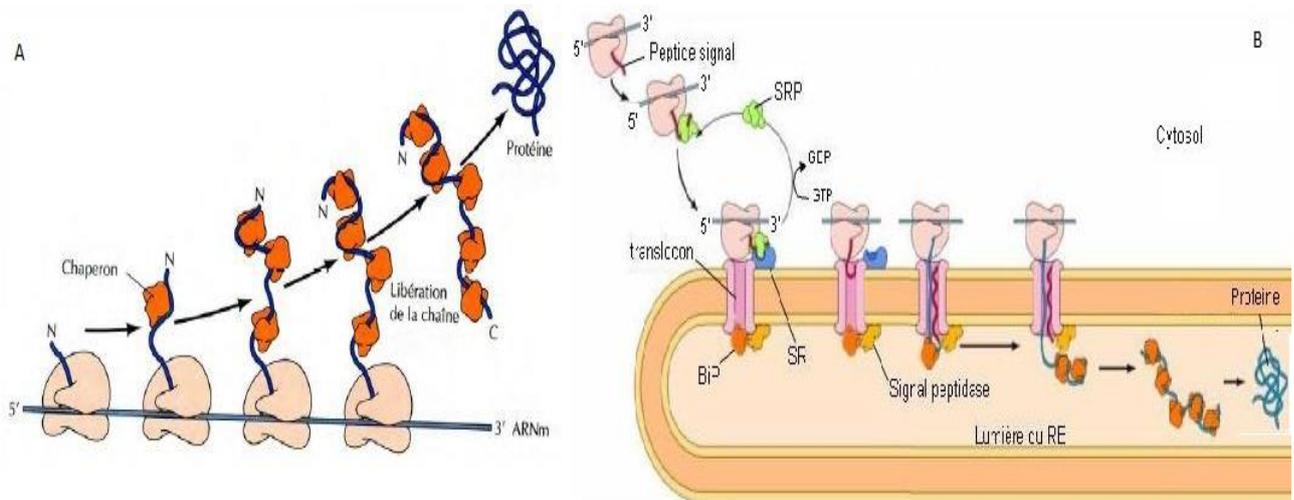


Figure III. 26. Types de traductions. A : Traduction sur des ribosomes libres. B : Traduction sur des ribosomes fixés au RE [36].

VII. Modifications co- et post-traductionnelles

À la suite de cette traduction, le polypeptide néosynthétisé subira un certain nombre de modifications qui interviennent pendant ou après son passage dans la lumière du RER et qui conduiront à la formation d'une protéine fonctionnelle.

- **Clivage de la séquence signal** : C'est un événement catalysé par un complexe de 5 protéines différentes.

- **La N- glycosylation**

Elle commence dans la lumière du RER. Les chaînes polypeptidiques en croissance contenant un résidu asparagine dans la configuration Asn-X-Ser ou Asn-X-Thr (X étant un acide aminé quelconque) subissent une première étape de glycosylation. Un groupe composé de 14 résidus glucidiques pré assemblés à partir d'un précurseur lipidique membranaire, le dolichol phosphate, est transféré à l'asparagine. La réaction est catalysée par la glycosyl transférase.

- **L'addition de chaînes d'acides gras**

- **Myristoylation** : addition de myristate (acide gras saturé en C14) sur une glycine de l'extrémité N terminale par une liaison amide. Phénomène co-translationnel.

- **Glypiation** : addition d'un groupement glycosyl-phosphatidyl-inositol (GPI) pré assemblé dans la membrane, sur un acide aminé en C terminal. Permet l'ancrage de la protéine à la face externe de la membrane plasmique. Phénomène co-translationnel.

- **Palmitoylation** : addition d'acide palmitique (acide gras saturé en C16) sur une cystéine de l'extrémité C terminale par une liaison thioester. Phénomène post-translationnel.

- **Isoprénylation** : addition de chaînes farnésyl (C15) ou géranylgeranyl (C20) sur une cystéine au voisinage de l'extrémité C terminale. Phénomène post-translationnel.

- **Le repliement des protéines**

Il intervient dès l'entrée des chaînes polypeptidiques dans la lumière du RER. Etape importante qui permet l'acquisition de la structure tertiaire des protéines. Le repliement est en grande partie dû à la formation de ponts disulfures (Cys-**S-S**-Cys) pour les protéines qui contiennent des résidus cystéines. Le repliement des protéines est contrôlé par des protéines chaperons telles que BiP ainsi que par la calnexine et la calréticuline qui sont insérées dans la membrane du RER. Ces deux dernières se lient aux chaînes oligosaccharidiques des protéines glycosylées. Si les protéines sont incorrectement ou non repliées elles sont exportées vers le cytosol où elles seront dégradées par les protéasomes. Le RER assure un contrôle de la qualité des protéines avant qu'elles quittent ce compartiment.