

5 - la traduction

5-1. Introduction

5-2. L'appareil de traduction et son fonctionnement

- Les ribosomes**
- Les ARNt**
- Les ARNt Synthétases**

5-3. Les étapes de la synthèse protéiques

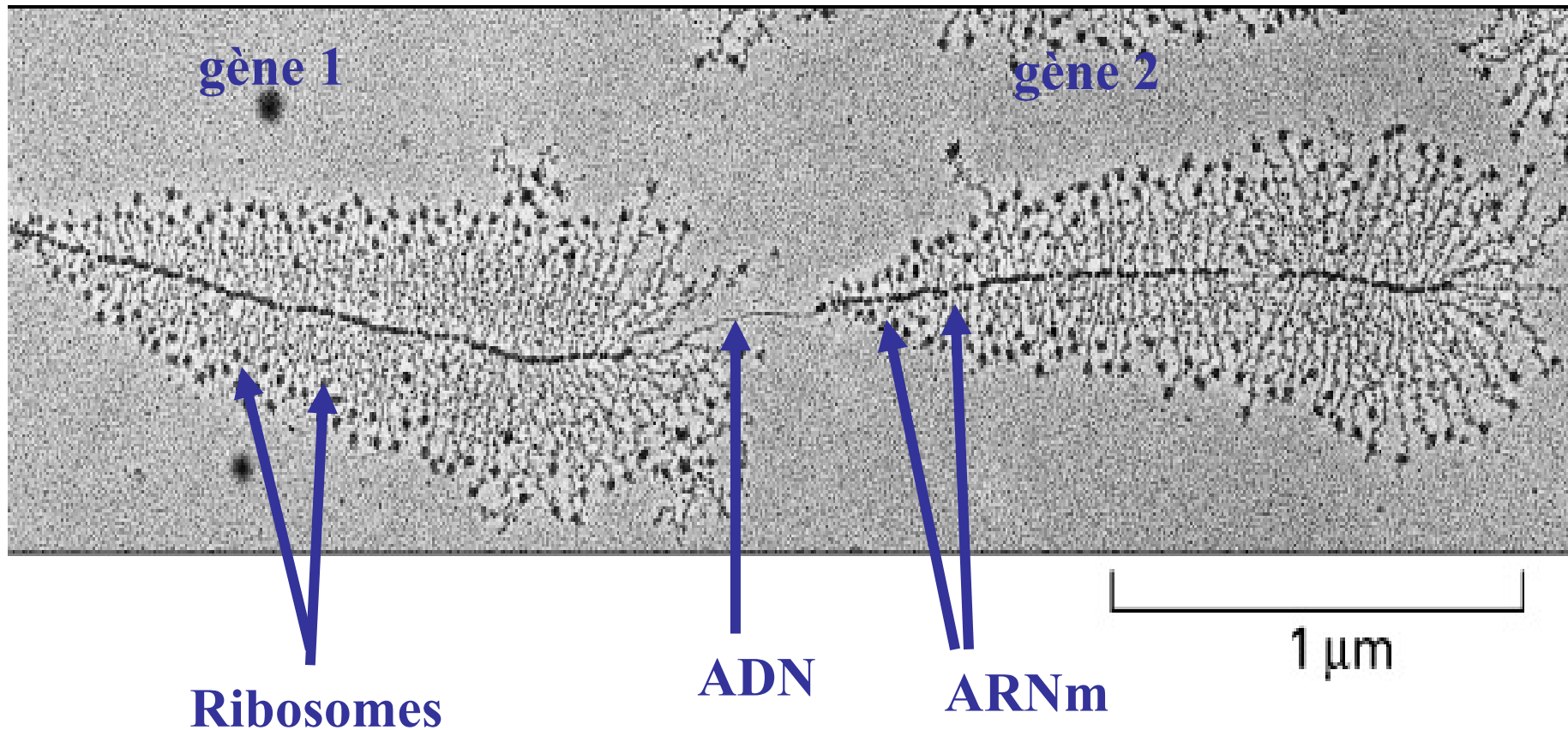
- Initiation**
- Élongation**
- Terminaison**

5-4. Les antibiotiques inhibiteurs de la traduction

La Traduction

- **Faible Taux de synthèse (18 acides aminés par seconde)**
- **Chez les bactéries la Traduction et la transcription sont couplées. Dès que l'extrémité 5' de l'ARNm est synthétisée la traduction commence.**

Couplage Transcription / traduction chez *E. coli*

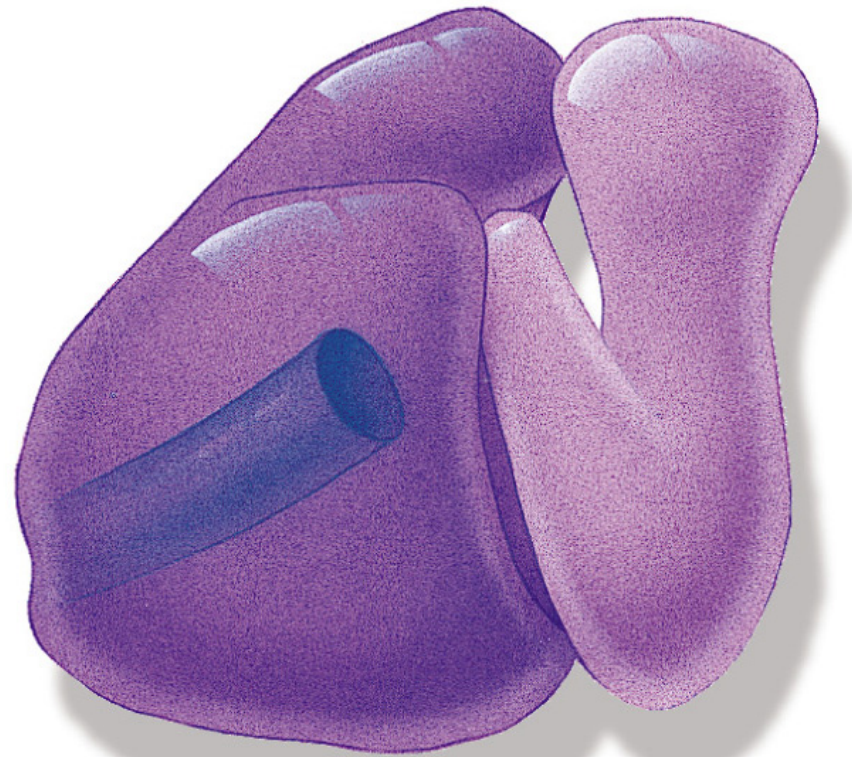


La Traduction

- Chez les eucaryotes la situation est différente.
- La dépense énergétique: 1 ATP et 3 GTPs sont hydrolysés / acide aminé incorporé.

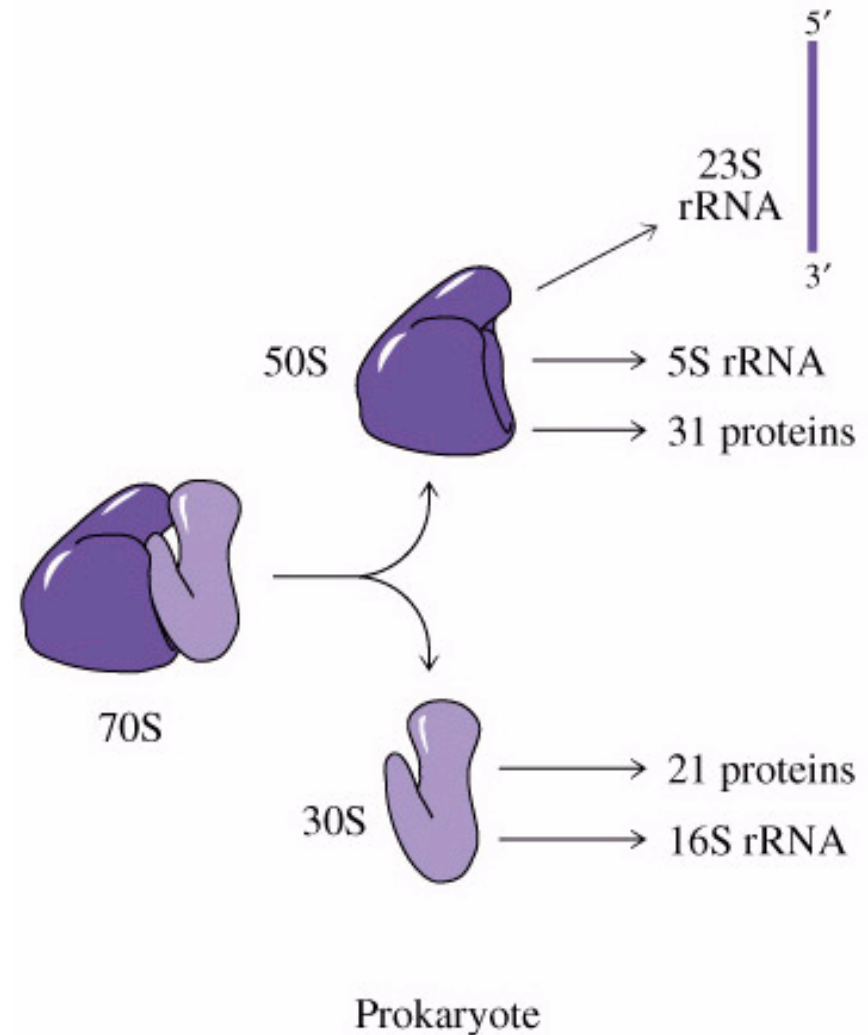
Les Ribosomes

- La machine de production des protéines.
- Le ribosome entier :
70S chez les Procaryotes et
80S chez les Eucaryotes
- Constitué de 2 sous unités
(Bactéries: 30S et 50S,
Eucaryotes: 40S et 60S)
- Chez les bactéries, 20000
ribosomes par cellule, 20%
de la masse de la cellule.
- La masse des ribosomes est
constituée d'environ 2/3
d'ARN



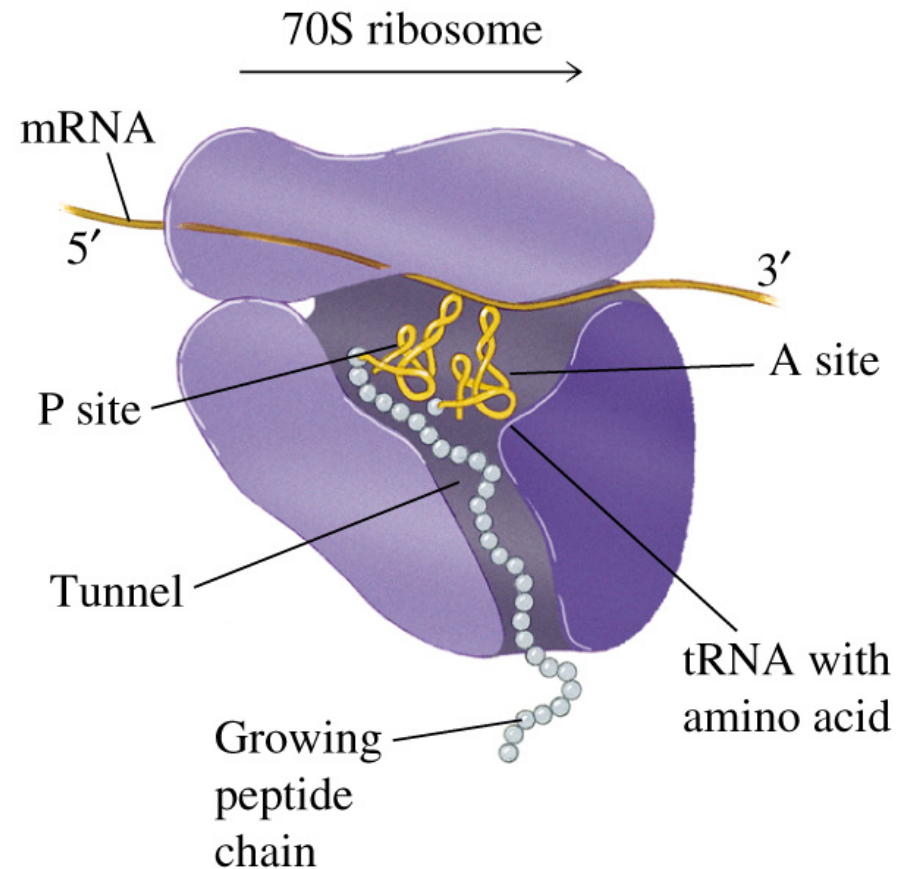
Structure des Ribosomes Procaryotes

- Chez *E. coli* le ribosome a 25 nm de diamètre, une masse de 2520 kD et constitué de 2 sous unités inégales qui se dissocient à une $[Mg^{2+}] < 1mM$
- La sous unité 30S: 930 kD contenant 21 protéines (S1...S21) et l'ARNr 16S
- La Sous unité 50S: 1590 kD contenant 31 protéines (L1 ...L31) et 2 ARNr: ARNr 23S et ARNr 5S



Structure des Ribosomes Procaryotes

- La structure Cristalline du ribosome a été déterminée
- ARNm est associé à la sous unité 30S
- Il a été localisé 2 sites de liaison à l'ARNt (sites P et A) au niveau de la cavité formée par l'association des 2 sous unités.
- Un “tunnel” est formé à travers la sous unité **50S** permettant le passage de la chaîne peptidique en formation

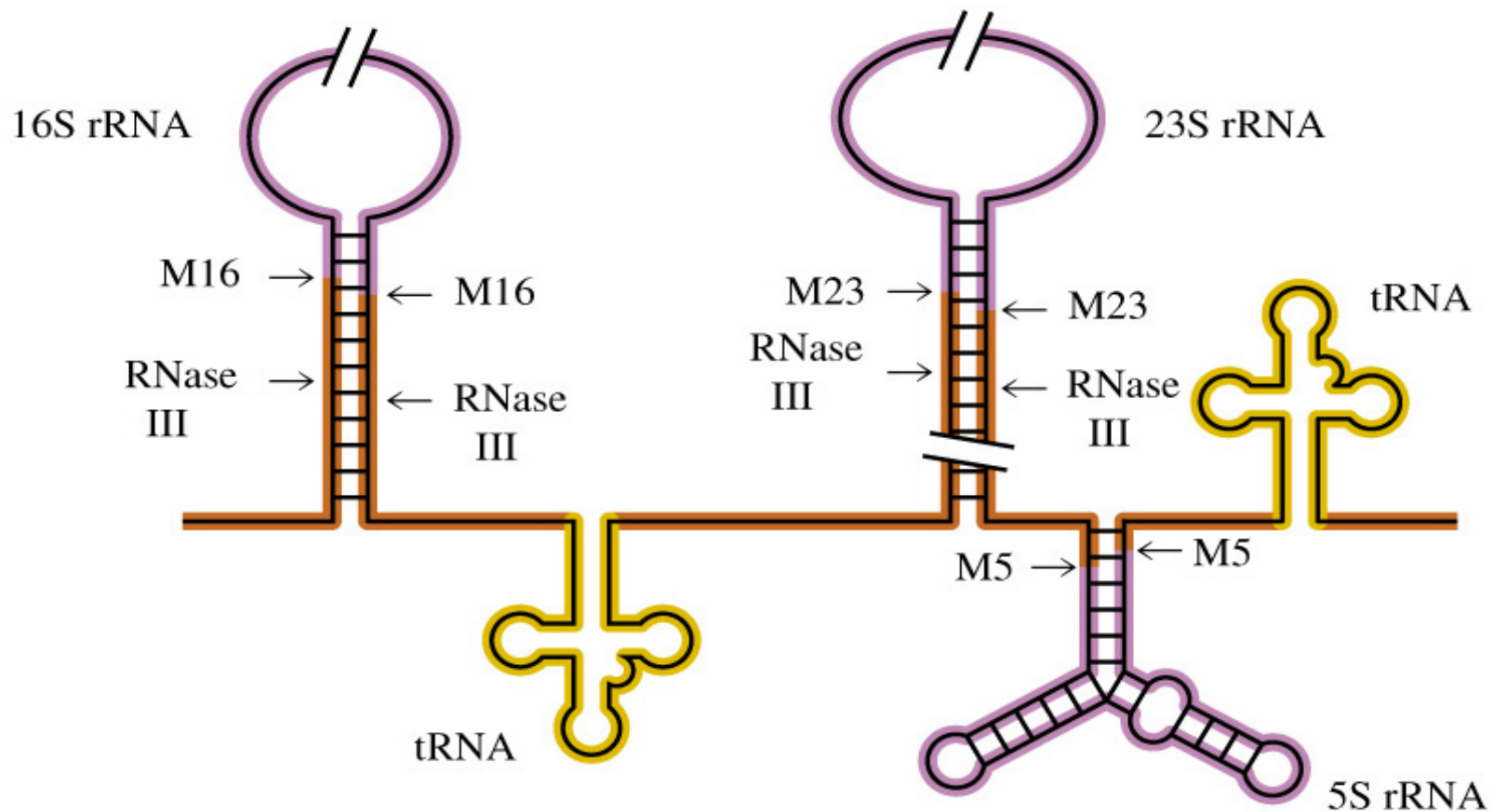


Structure Comparée des Ribosomes

	Taille (S)	Sous - unités (S)	ARNr (S)	Nombre de Protéines
Bactéries	70	50	23 + 5	31 (L1, L2 ..)
		30	16	21 (S1,S2...)
Eucaryotes	80	60	28 + 5,8 + 5	40
		40	18	30
Mitochondries	55	35	21 + 3	-
		25	12	

La Maturation des ARNr

- Un seul transcrit est synthétisé et donne naissance à plusieurs ARNr par action d'endonucléases



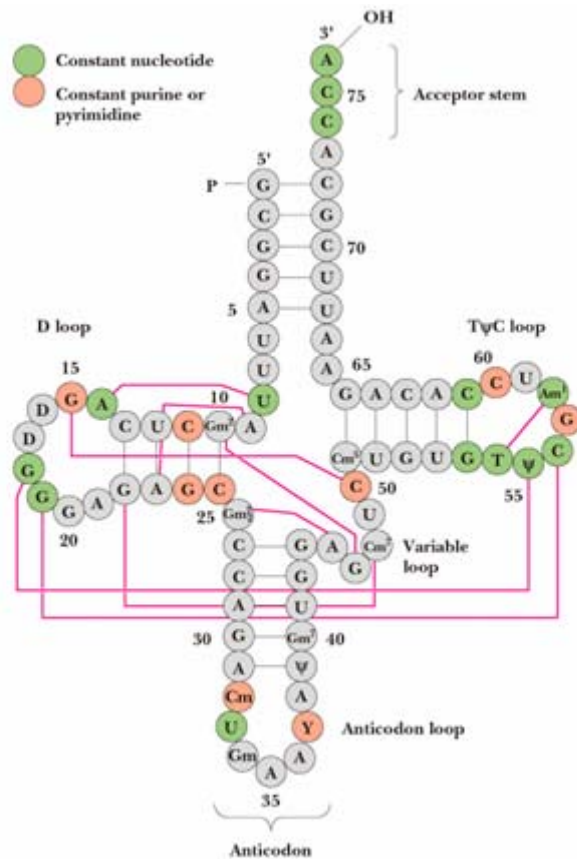
Présence de bases modifiées

- Ribothymidine (T)
- Dihydrouridine (D)
- Pseudouridine (ψ)
- 4 –Thiouridine (S^4U)
- 3-methylcytidine (m^3C)
- 5-methylcytidine (m^5C)
- Inosine (I)
- Wyosine (Y)
- Etc...

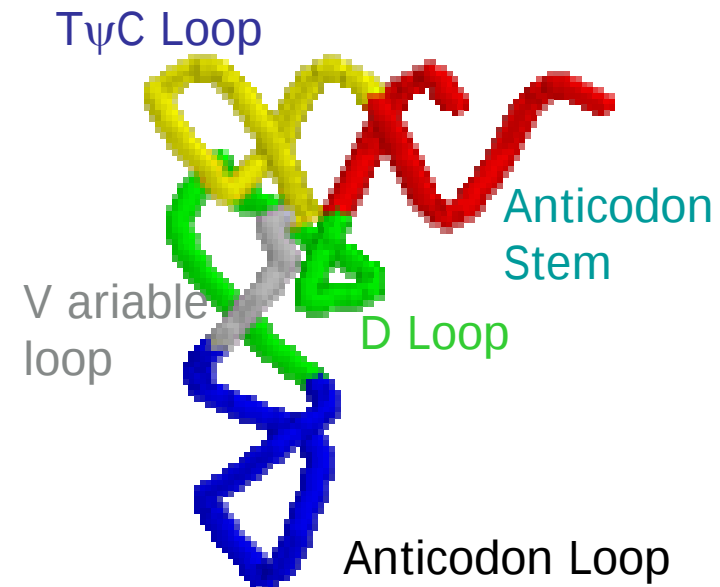
Structures des ARN de Transfert

En feuille de trèfle

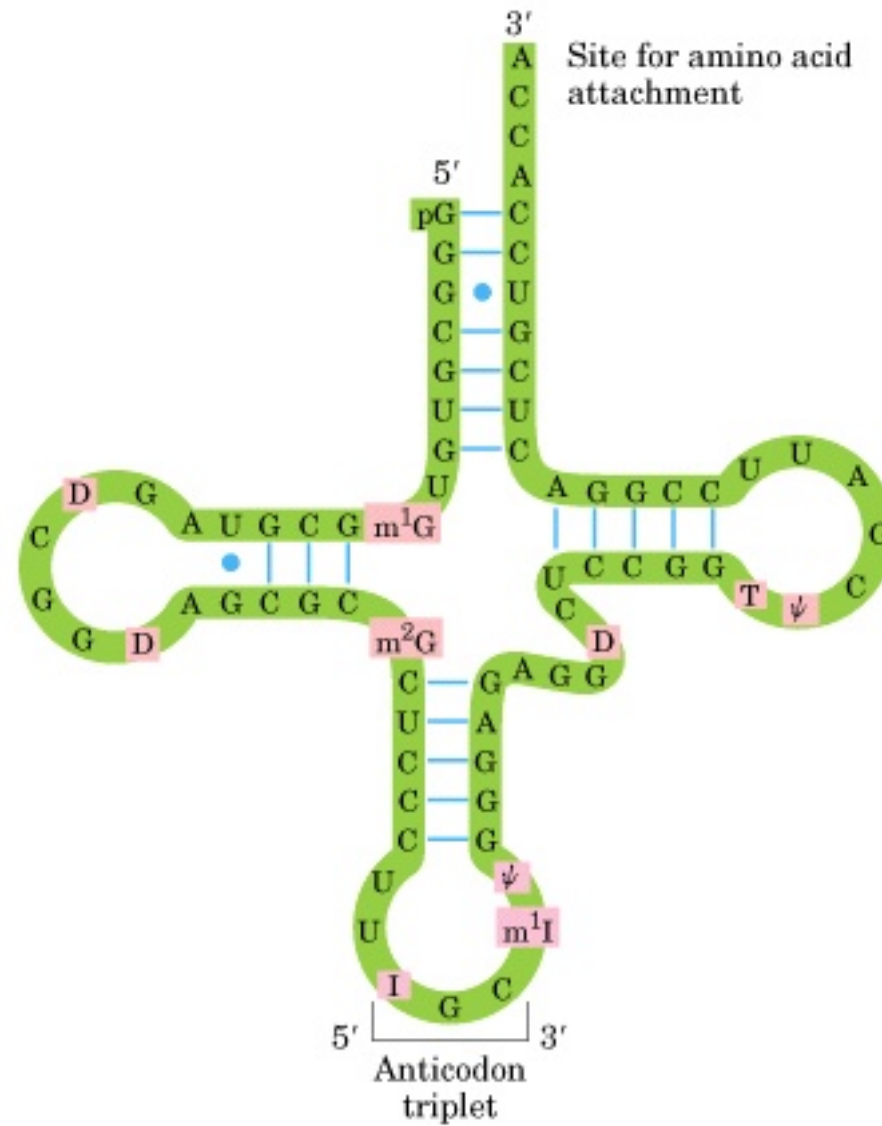
Structure Secondaire des ARNt



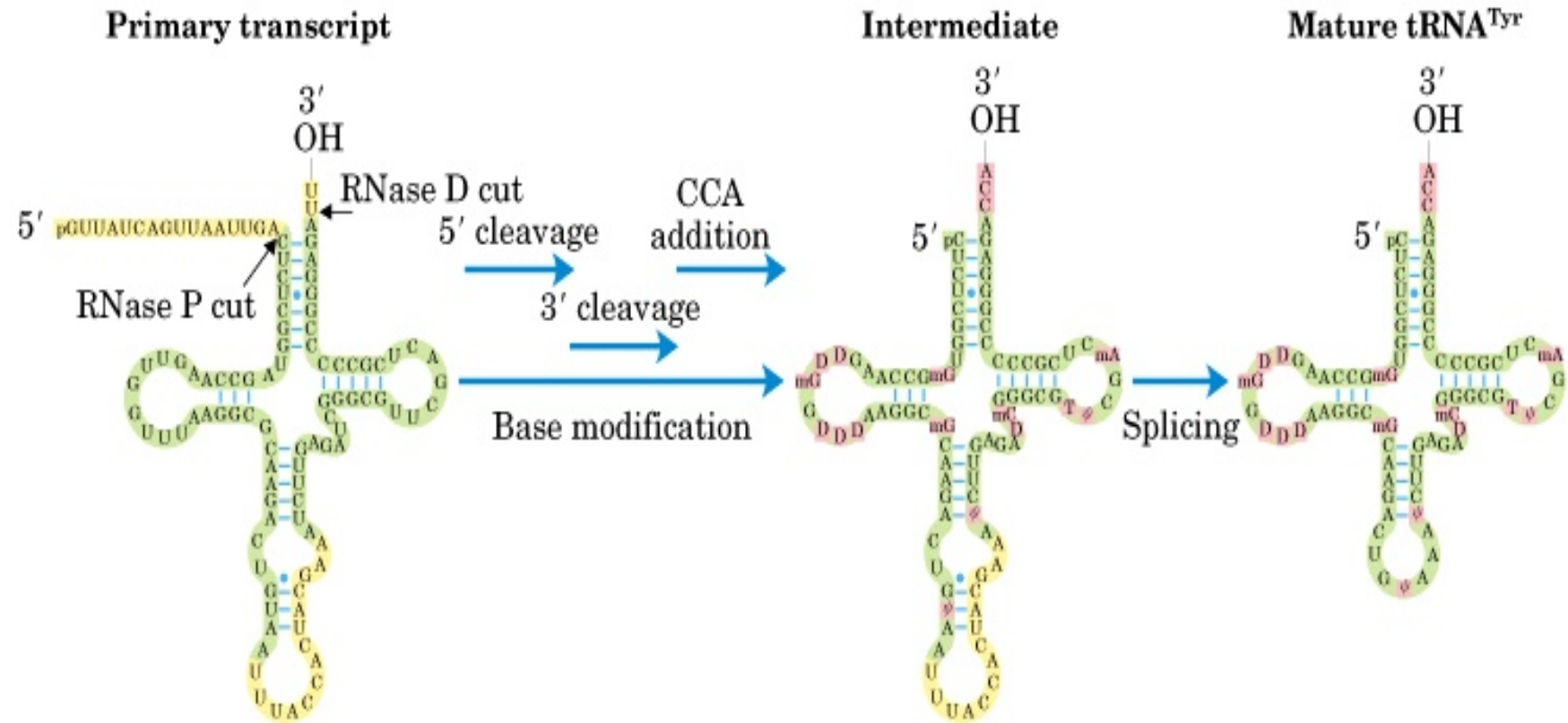
Structure Tertiaire des ARNt



ARN^t_{Ala}
 (lorsqu'il est attaché à l'alanine: Ala-ARN^t_{Ala})



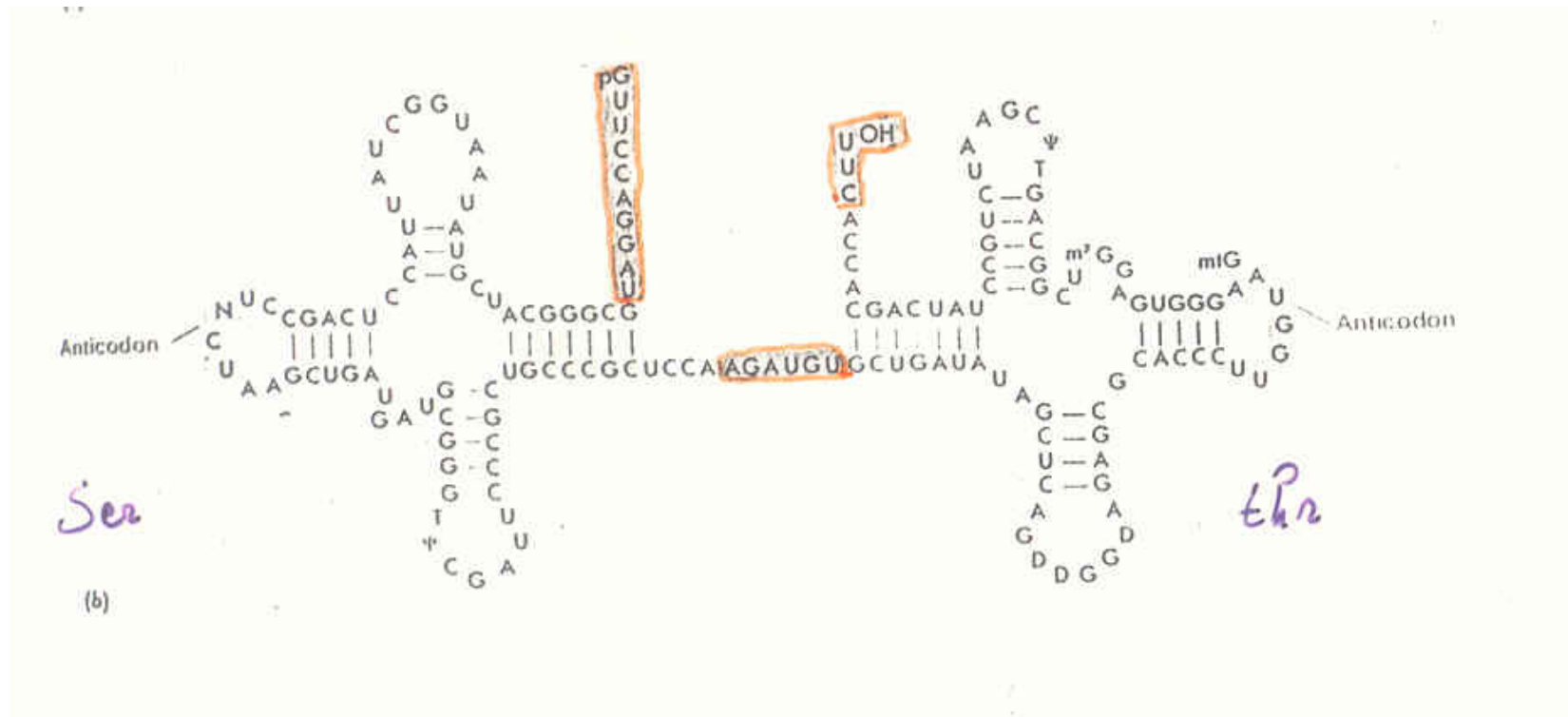
La maturation des ARNt



Dans certains cas:

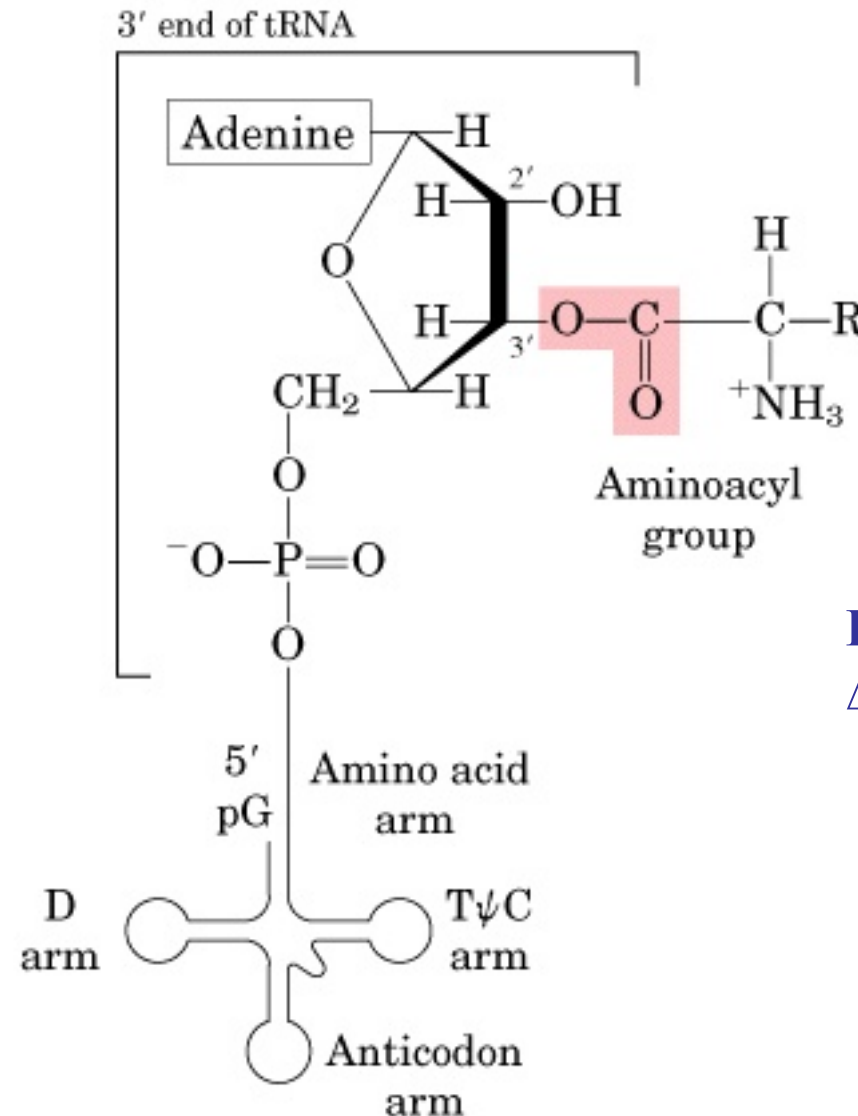
Un seul précurseur génère 2 ARNt après coupure et élimination de bases:

Exp: ARNt-Serine et ARNt-Thréonine issus de la maturation d'un seul pré-ARNt



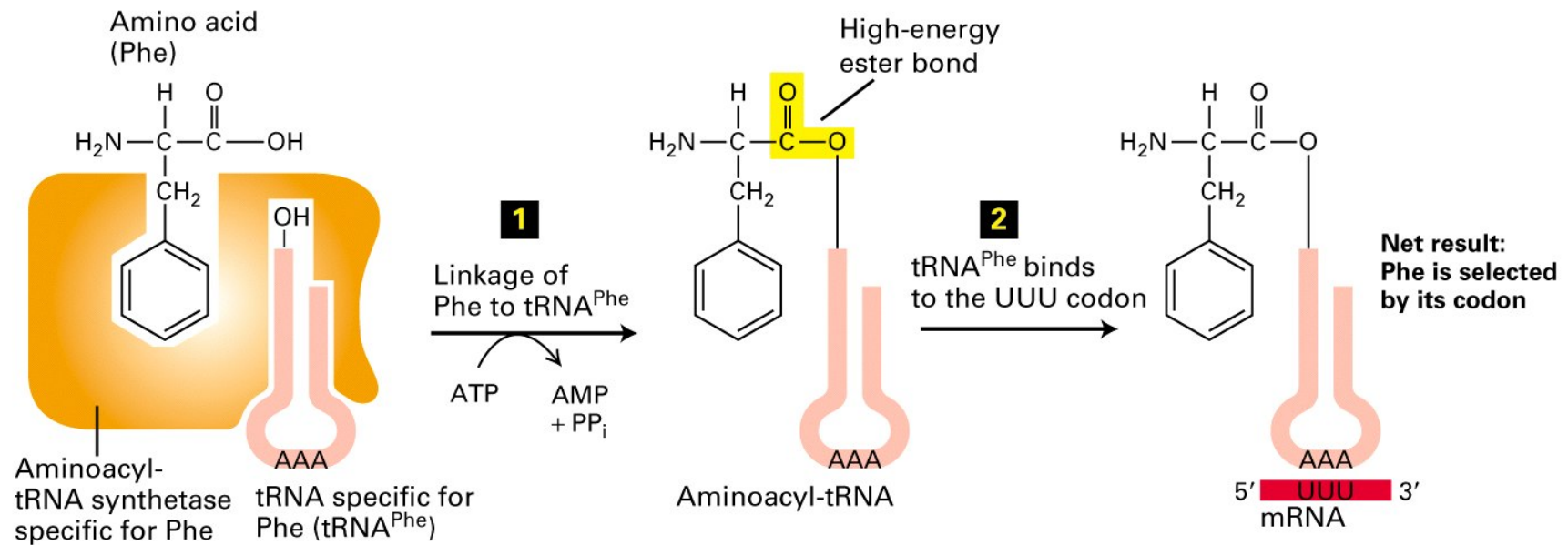
Les ARNt Synthétases Chargent les ARNt avec les Acides Aminés adéquats

Ces enzymes sont considérées comme étant les réels responsables de lecture du code génétique et assurent donc la fidélité de la traduction.



Liaison ester
 $\Delta G'^{\circ} = -29 \text{ kJ/mol}$

Exemple: ARNt-Phénylalanine

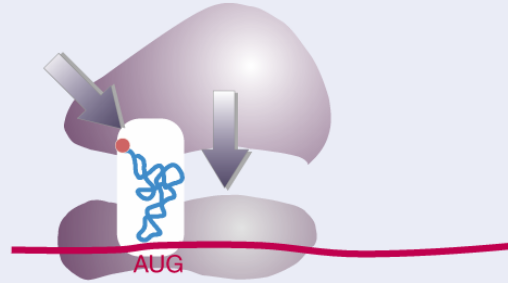


Mécanisme de Synthèse des Protéines

- 3 phases: initiation, élongation, terminaison
- Initiation: Association de l'ARNm et de l'aminoacyl-tRNA initiateur à la petite sous unité ribosomale, suivi par la fixation de la grande sous unité
- Élongation: synthèse du peptide avec la fixation des ARNt au site accepteur (A) et du peptidyl au site (P).
- Terminaison a lieu au niveau des " codons stop "

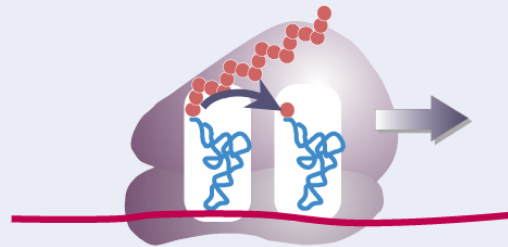
Initiation

30S subunit on mRNA binding site is joined by 50S subunit and aminoacyl-tRNA binds



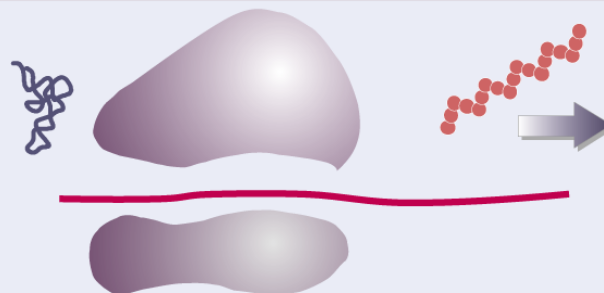
Elongation

Ribosome moves along mRNA and length of protein chain extends by transfer from peptidyl-tRNA to aminoacyl-tRNA



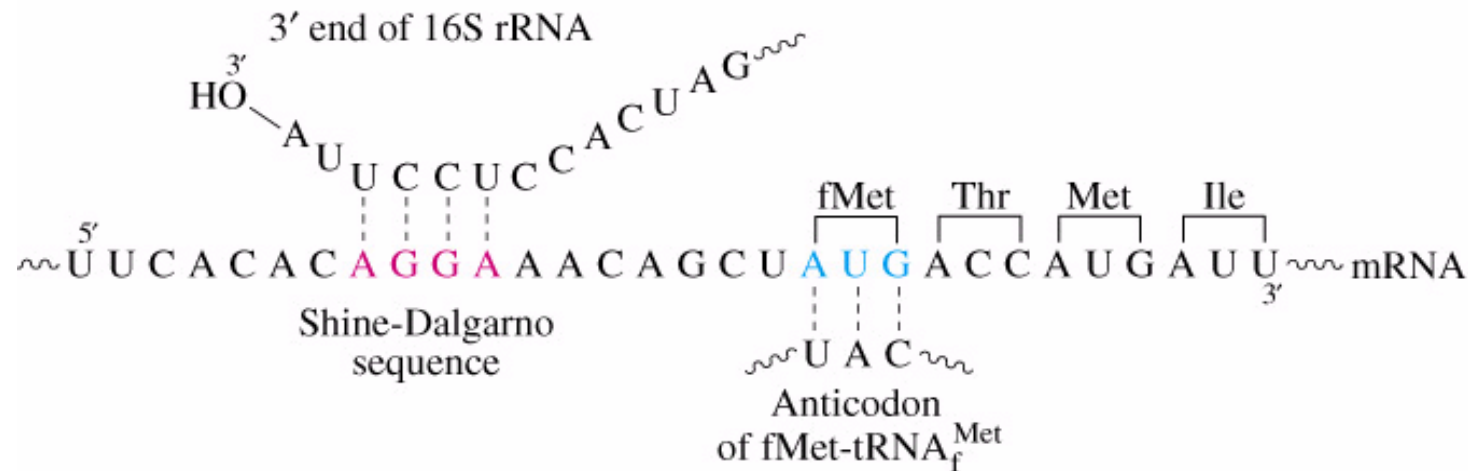
Termination

Polypeptide chain is released from tRNA, and ribosome dissociates from mRNA



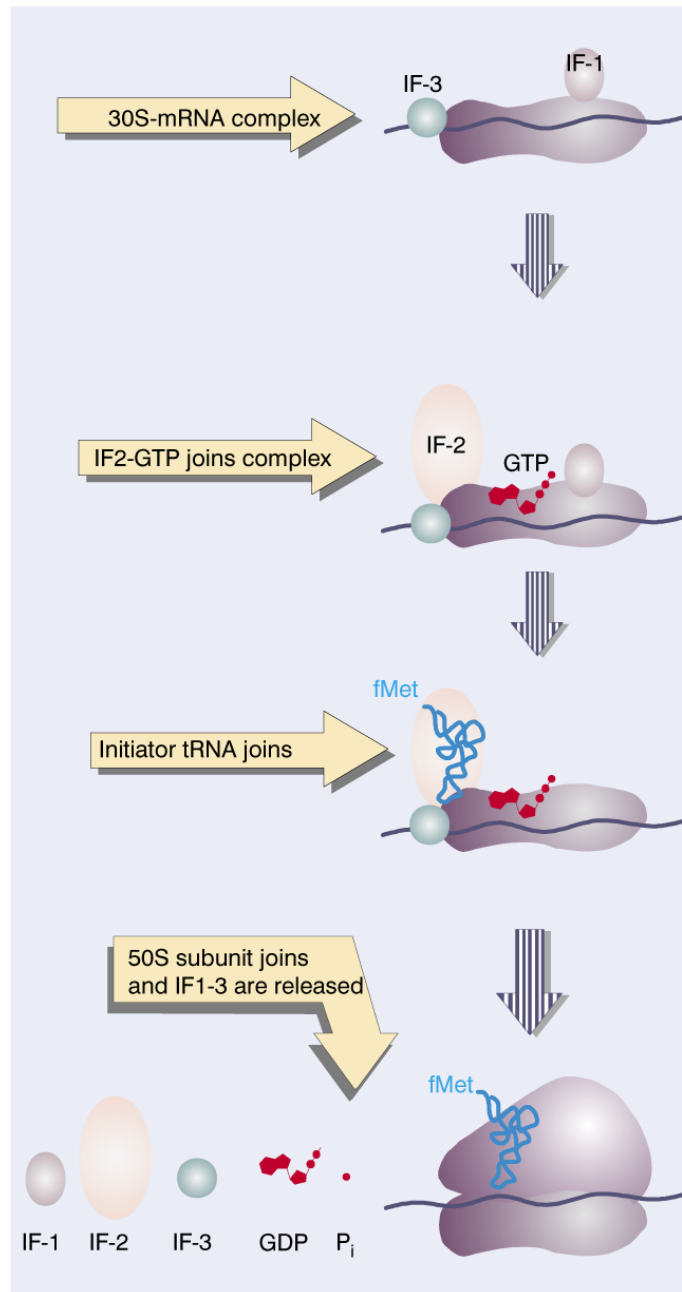
Initiation de la traduction chez les Procaryotes

Identification du Codon Initiateur chez les Procaryotes



- La sous unité 30S se fixe au niveau d'une séquence spécifique sur l'ARNm (Séquence Shine-Dalgarno) située juste avant le codon initiateur. L'ARNr 16S est impliqué dans la reconnaissance de la séquence SD.
- Fixation de l'ARNt initiateur (N-formylméthionyl-tRNA) au codon initiateur (Premier AUG)

Figure 6.12 IF-2 is needed to bind fmet-tRNA_f to the 30S-mRNA complex. After 50S binding, all IF factors are released and GTP is cleaved.

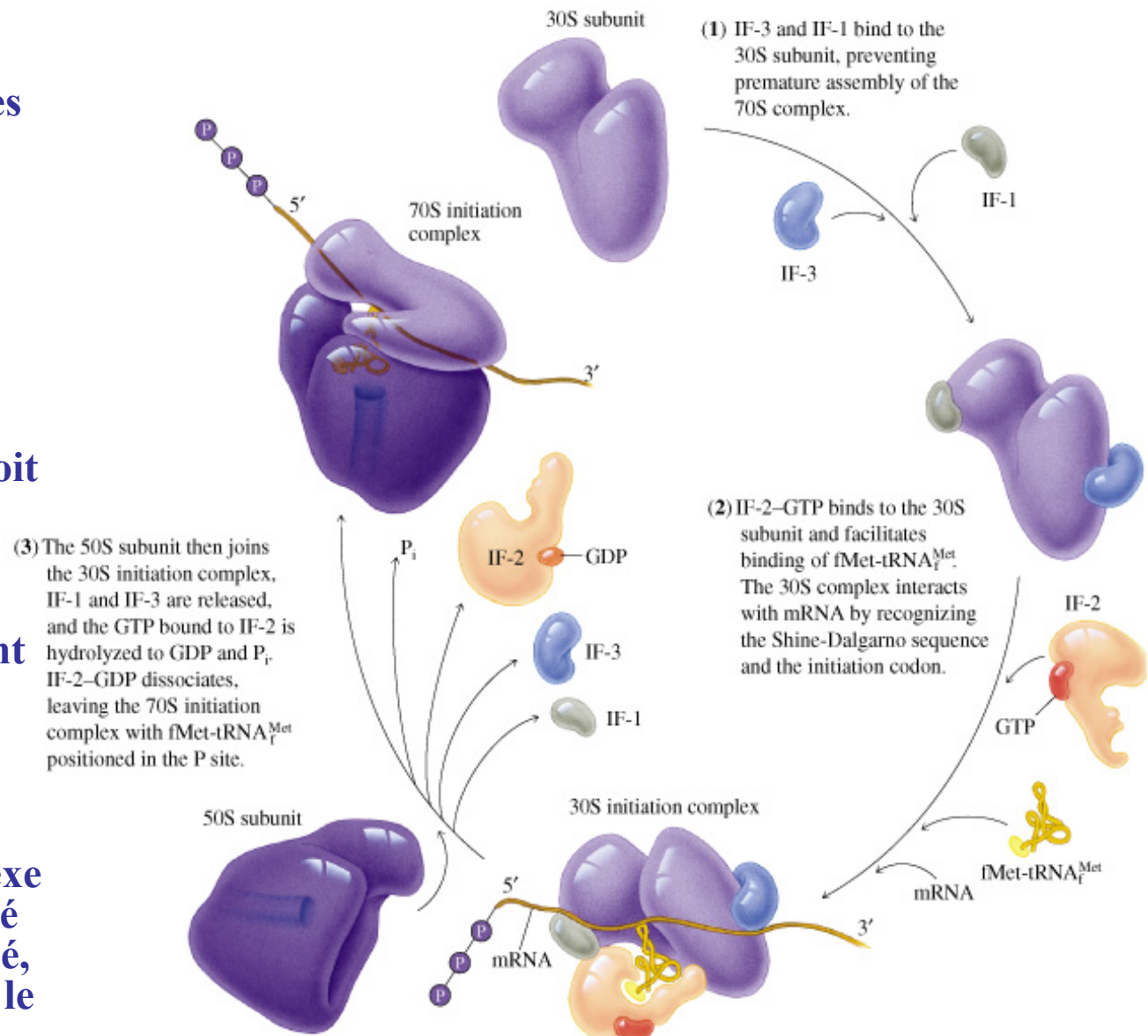


Les facteurs de traduction IF sont nécessaires à la fixation de l'ARNt-fmet au complexe 30S-ARNm.

Ils sont libérés après la fixation de la sous unité 50S et le GTP est clivé (GDP + P_i)

Initiation de la Traduction chez les Procaryotes

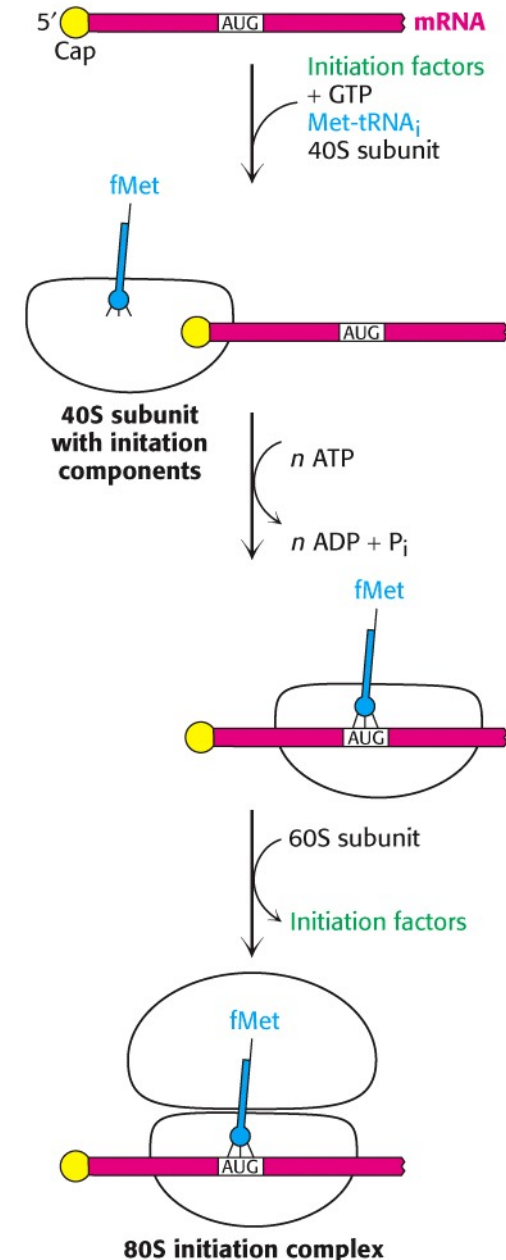
- Formation du complexe d'Initiation impliquant les facteurs d'Initiation
- IF-3 maintient les sous unités ribosomales séparées
- IF-2 identifie et fixe l'ARNt initiateur. IF-2 doit fixer le GTP pour fixer l'ARNt.
- IF-1, IF-2, et IF-3 se fixent à la sous-unité 30S pour former le complexe d'initiation
- Après fixation du complexe d'initiation à la sous-unité 50S, le GTP est hydrolysé, l'ARNt initiateur occupe le site-P et les IFs se dissocient



Initiation de la traduction chez les Eucaryotes

Initiation de la traduction chez les Eucaryotes

- Pas de séquence S-D.
- Une protéine de liaison CBP (CAP binding protein) se fixe à la Coiffe à l'extrémité 5' de l'ARNm
- Un complexe d'initiation est formé avec CBP, les facteurs d'initiation et la sous-unité 40S.
- Le complexe analyse l'ARNm à la recherche du premier AUG le plus proche de l'extrémité 5' de l'ARNm
- eIF-2 analogue de IF-2, transfère l'ARNt au site - P. Il y a hydrolyse du GTP

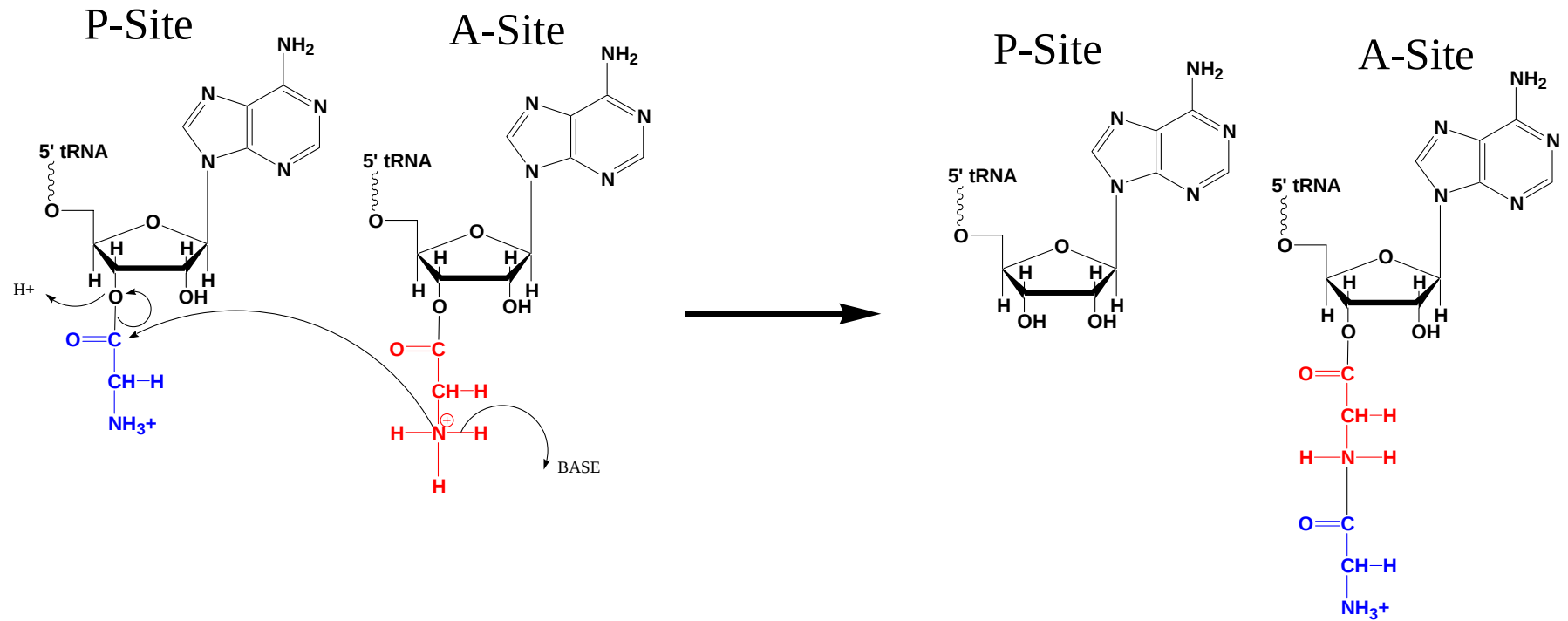


Élongation de la Chaîne

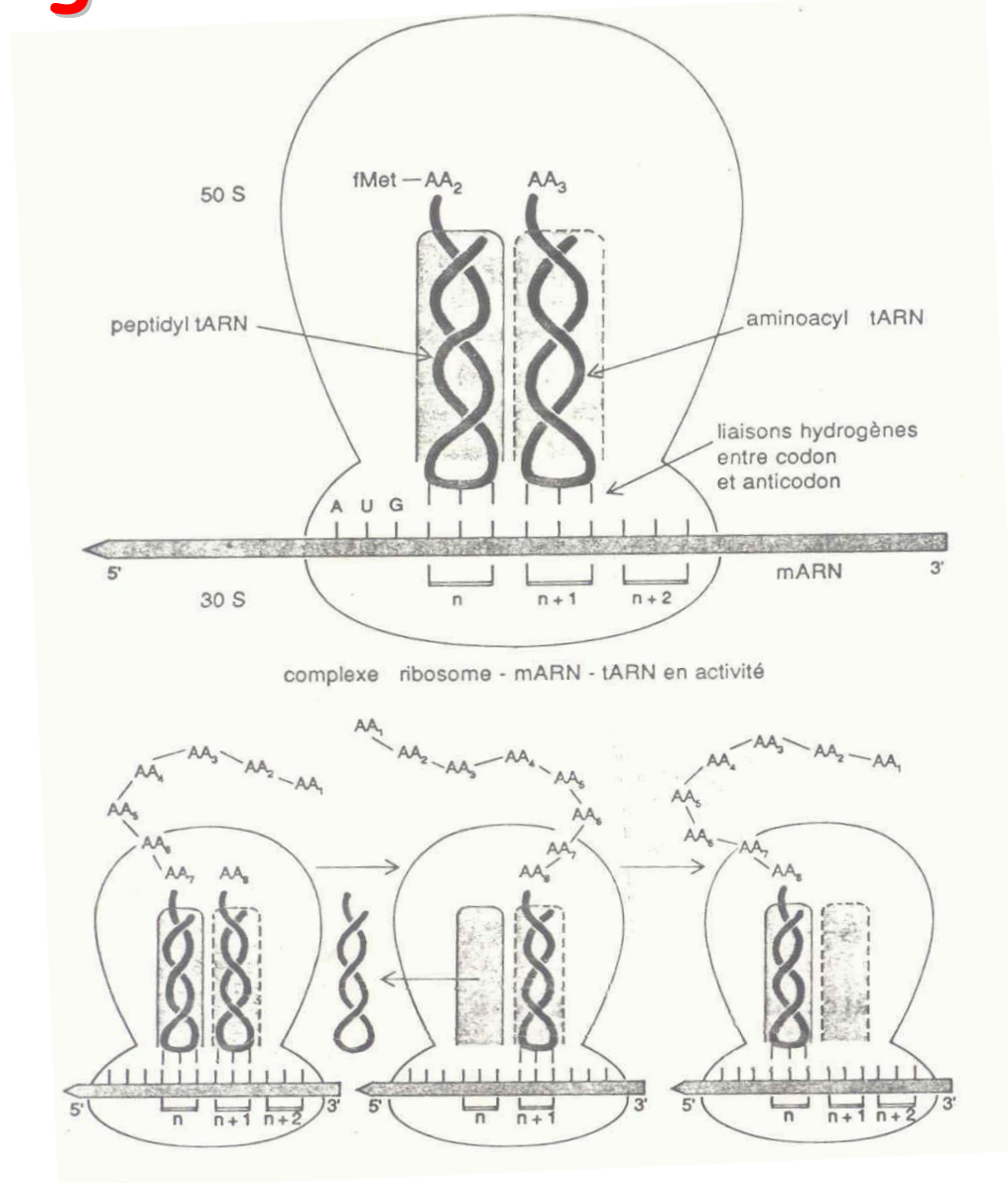
Processus en 3 étapes:

- 1) **Positionnement correct aminoacyl-ARNt au site accepteur**
- 2) **Formation de liaison peptidique entre le peptidyl-ARNt au site P avec aminoacyl-ARNt au site A.**
- 3) **Déplacement de l'ARNm d'un codon par rapport au ribosome.**

Formation de liaison peptidique

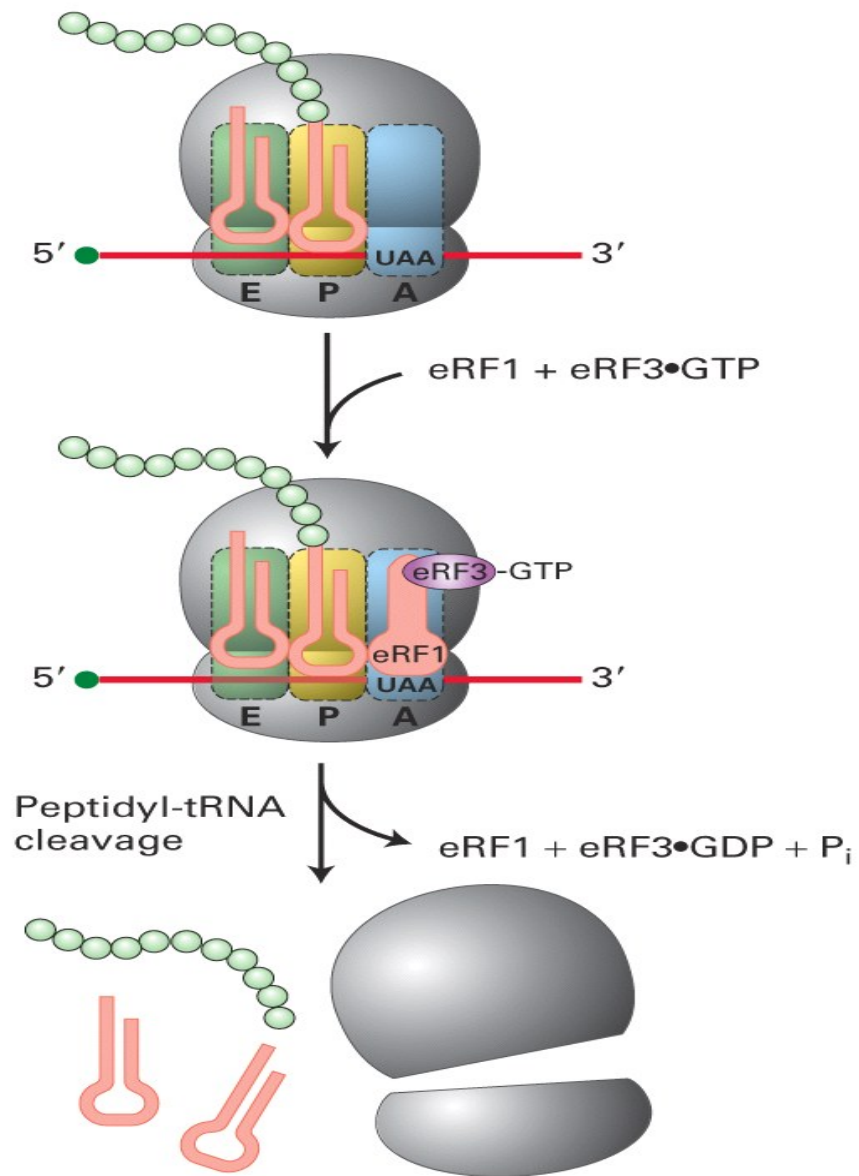


Élongation de la Traduction

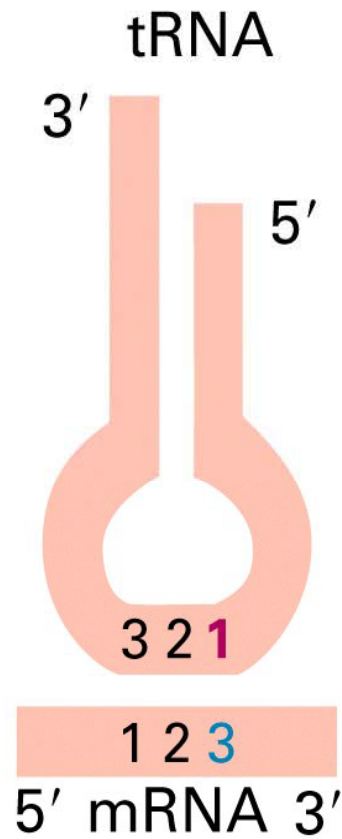


Terminaison de la Traduction

- Protéines appelées « Facteurs de Terminaison - RF'' reconnaissent le codon stop (UGA, UAG, ou UAA) au site A
- Chez *E. coli* RF-1 reconnaît UAA et UAG, RF-2 reconnaît UAA et UGA.
- RF-3 fixe le GTP et stimule les activités de RF-1 et RF –2.
- La fixation des facteurs de terminaison au codon nonsense au site A transforme la peptidyl transférase en une hydrolase, qui coupe la chaîne peptidique de l'ARNt auquel elle est fixée.
- Hydrolyse de GTP est nécessaire pour la dissociation des facteurs RFs, des sous-unités ribosomales et du nouveau peptide



Effet Wobble



C	A	G	U	I
G	U	C	A	C
		U	G	A
				U

Première Base de l'Anticodon

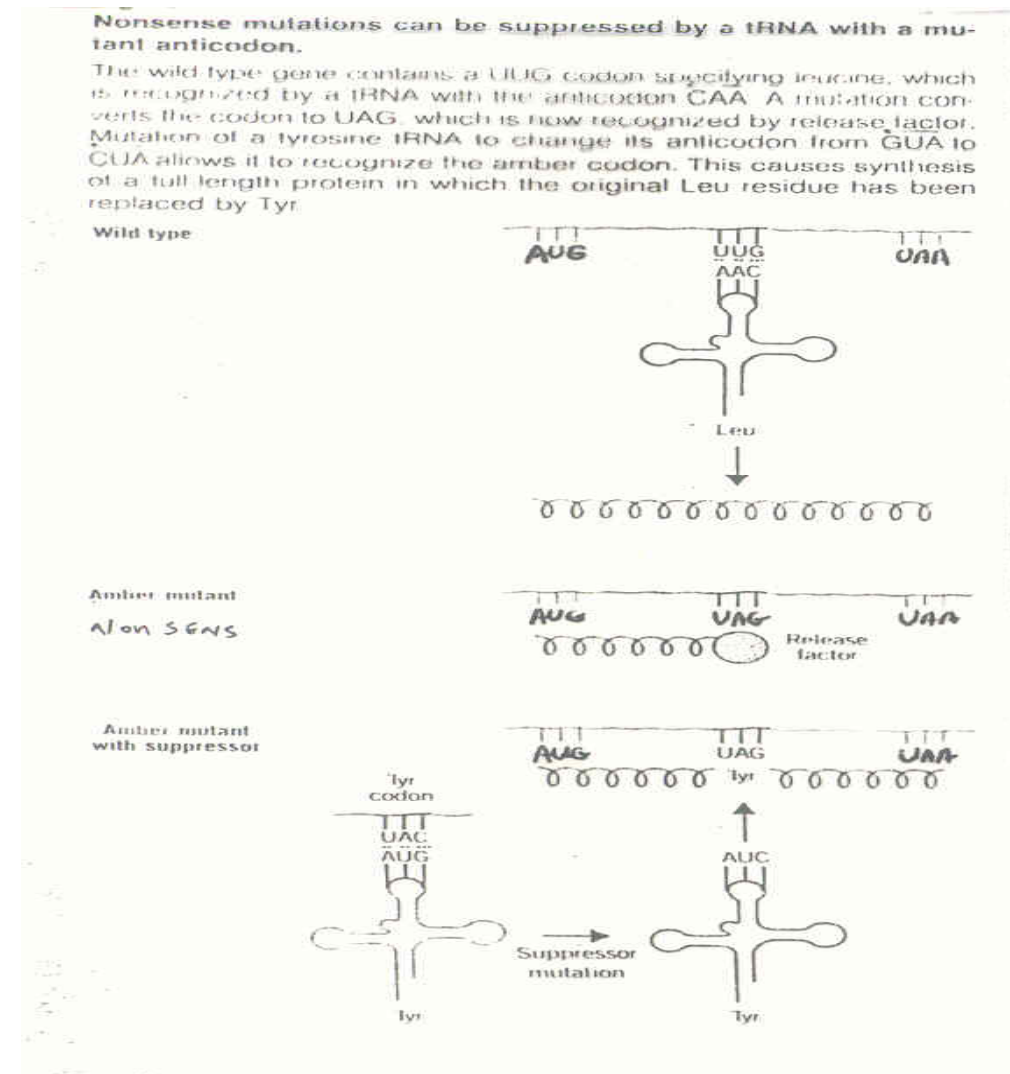
Troisième Base du codon

Antibiotiques inhibiteurs de la traduction:

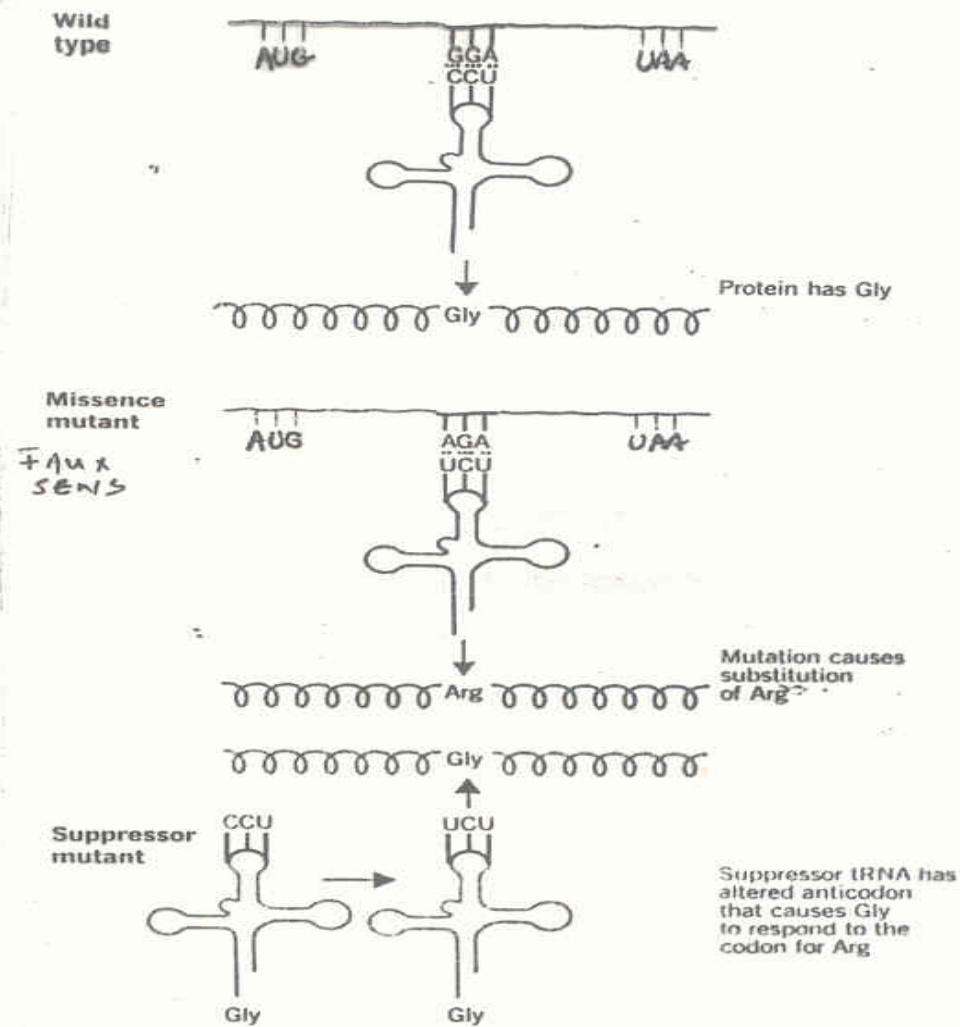
- **STREPTOMYCINE**
- **TETRACYCLINES**
- **PUROMYCINE**
- **CHLORAMPHENICOL**
- **ERYTHROMYCINE**

Les Corrections des erreurs de traduction: Les Suppresseurs

Non Sens



Faux Sens



Missense suppression occurs by mutation in the anticodon of a tRNA so that it responds to the "wrong" codon.

A mutation of a codon from GGA to AGA causes the wild-type Gly to be replaced by Arg in the mutant protein. If the anticodon of a tRNA^{Gly} is mutated from UCC to UCU, it inserts Gly in response to the codon AGA that should represent Arg. Note that both the tRNA^{Arg} and the suppressor tRNA^{Gly} will respond to AGA, so that suppression only happens some of the time.

Les batteries de bactéries suppressives: de précieux outils génétiques

Nonsense Suppressor tRNAs Are Generated by Mutations in the Anticodon

Locus	tRNA	Wild Type		Suppressor	
		Codons Recognized	Anti-codon	Anti-codon ^a	Codons Recognized
<i>supD</i> (<i>su1</i>)	Ser	UCG	$\overleftarrow{\text{CGA}}$	$\overleftarrow{\text{CUA}}$	UAG
<i>SupE</i> (<i>su2</i>)	Gln	CAG	$\overleftarrow{\text{CUG}}$	$\overleftarrow{\text{CUA}}$	UAG
<i>SupF</i> (<i>su3</i>)	Tyr	UAG	$\overleftarrow{\text{GUA}}$	$\overleftarrow{\text{CUA}}$	UAG
<i>SupC</i> (<i>su4</i>)	Tyr	UAG	$\overleftarrow{\text{GUA}}$	$\overleftarrow{\text{UUA}}$	UAG
<i>supG</i> (<i>su5</i>)	Lys	AA ^A _G	$\overleftarrow{\text{UUU}}$	$\overleftarrow{\text{UUA}}$	UAG
<i>supU</i> (<i>su7</i>)	Trp	UGG	$\overleftarrow{\text{CCA}}$	$\overleftarrow{\text{UCA}}$	UG ^A _G

^aBoldface indicates the base in the mutant anticodon that has been changed.

Nomenclature. The loci were originally known as *su1*, *su2*, etc., as indicated in parentheses, with *su*⁺ indicating the suppressor mutant form of the gene, and *su*⁻ indicating the wild-type form. Now the loci have been renamed *sup* and lettered from A to V. All the loci described here are structural genes coding for tRNAs.