

Chap. 6- LES RIBOSOMES ET LA BIOSYNTHESE DES PROTEINES

Objectifs du cours

- 1) Connaître les principaux constituants et la biogénèse des ribosomes.
- 2) Connaître les différentes étapes de la biosynthèse des protéines.

I- Les Ribosomes

- ☐ Les ribosomes sont de petits organites cellulaires qui jouent un rôle essentiel dans la synthèse des protéines. Ce sont des complexes de **protéines et d'ARN ribosomique** (ARNr), et ils assurent l'assemblage des acides aminés en chaînes polypeptidiques en suivant les instructions portées par l'ARN messenger (ARNm).
- ☐ Constitués de deux sous-unités (grande et petite).
- ☐ **Rôle** : Lieu de la traduction de l'ARNm en protéines.
- ☐ **Localisation** : Libres dans le cytoplasme (pour les protéines cytosoliques). Fixés au réticulum endoplasmique (RE) (pour les protéines destinées à la membrane ou à l'exportation).

Distribution des ribosomes à l'échelle cellulaire et tissulaire

- **Echelle cellulaire:** Les ribosomes existent sous deux formes principales



• Ribosomes libres



- Flottent librement dans le cytoplasme.



- Produisent des protéines destinées à l'usage interne de la cellule (enzymes cytoplasmiques, protéines du cytosquelette, etc.).



• Ribosomes liés au RER



• Ribosomes liés au RER



- Synthétisent des protéines destinées à l'exportation (sécrétion), à l'incorporation dans les membranes cellulaires ou à certains organites (lysosomes, appareil de Golgi, etc.)

❑ On trouve aussi des ribosomes dans les **mitochondries** (mitoribosomes) et certains **plastes** (plastoribosome), dont la structure est celle des **ribosomes procaryotes**. Ceci s'explique par la théorie de l'**endosymbiose**.

Mise en évidence des ribosomes

- 2. Au microscope électronique (MET)

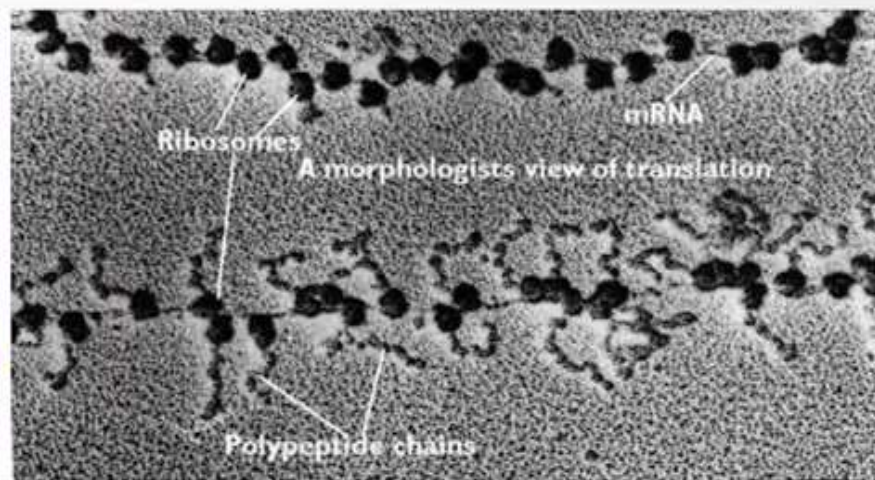
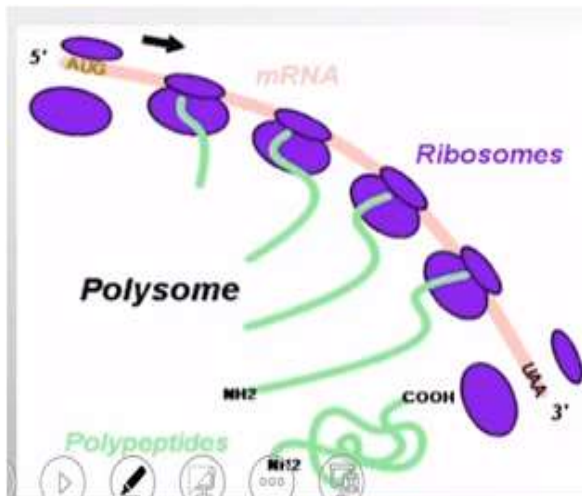


- Ribosomes libres → Petites granules dans le cytoplasme.



- Ribosomes liés au RER → Petites granules sur les membranes du réticulum.

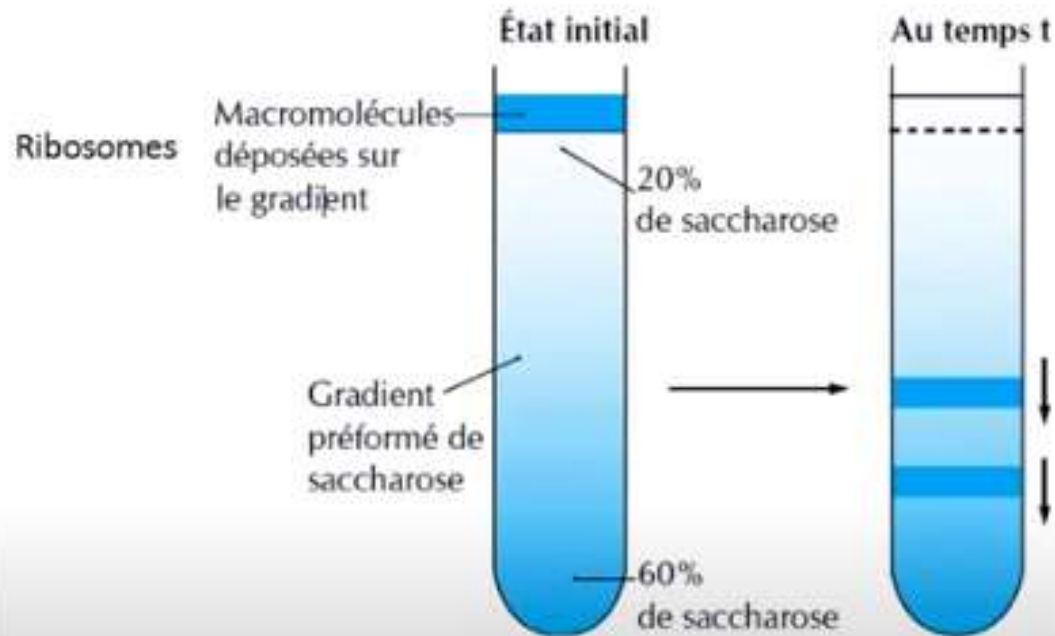
- On observe leur disposition en **polysomes** (plusieurs ribosomes associés à un même ARN messenger)



2. Isolement des ribosomes

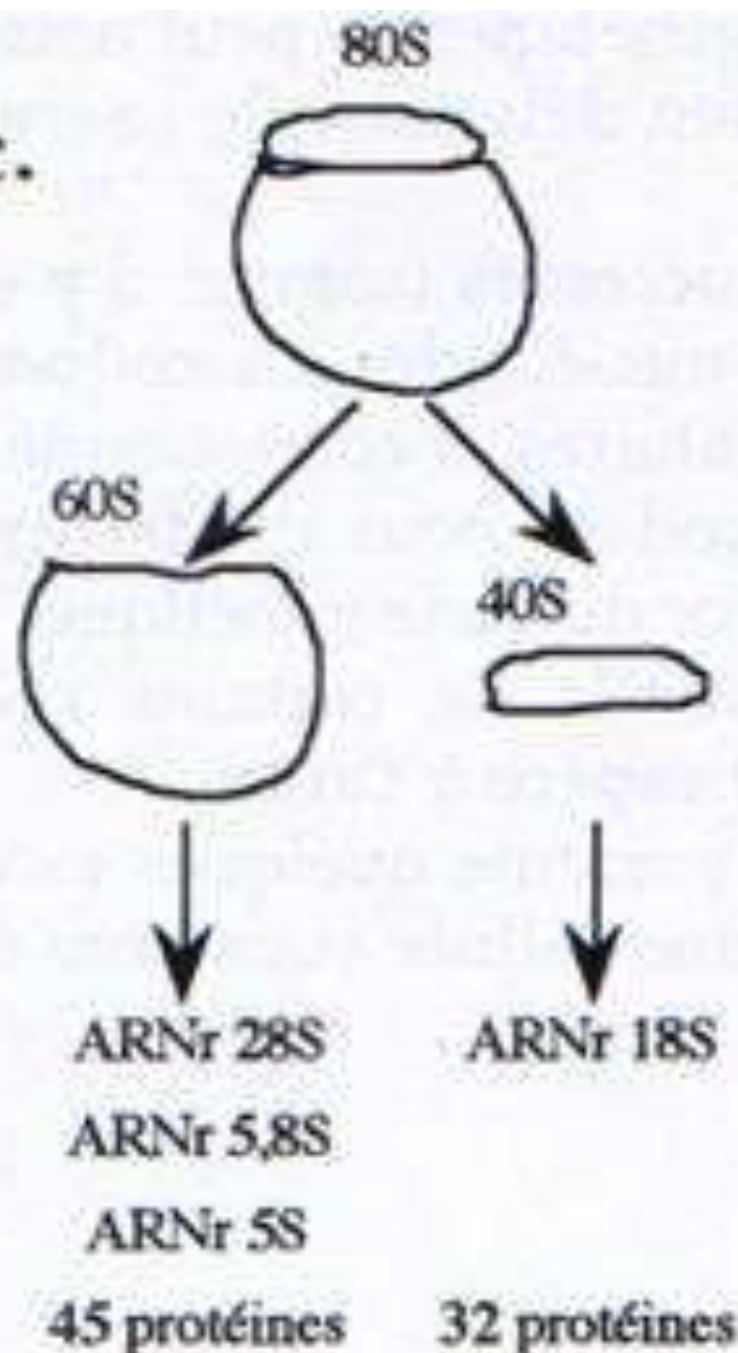
Etape1: Ultracentrifugation différentielle (100000 g), on obtient le culot qui contient les ribosomes

Etape2: Ultracentrifugation sur gradient de concentration de saccharose (20-60%),



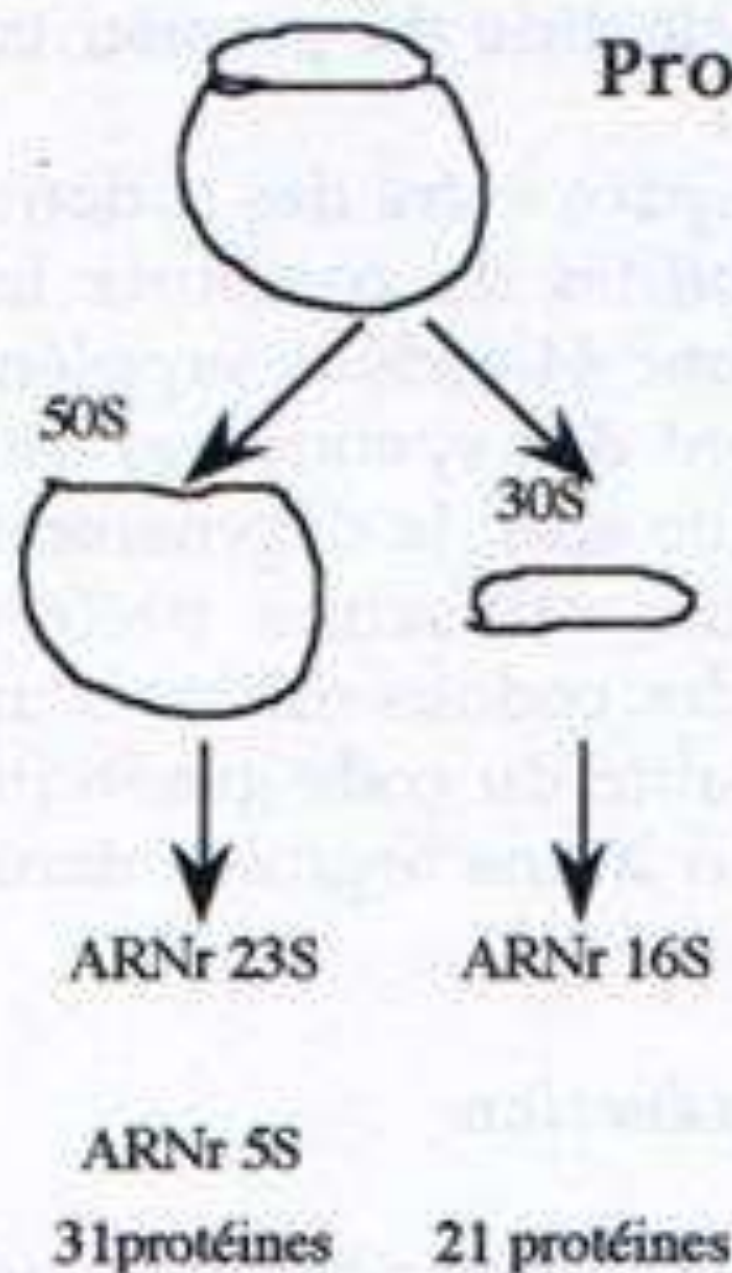
Les ribosomes sont ensuite caractérisés selon leur vitesse de sédimentation dans le gradient de concentration par leur coefficient de sédimentation exprimé en unité **Svedberg** (S).

Euc.



70S

Proc.



commentaire global sur la structure moléculaire et fonctionnelle des ribosomes chez les procaryotes et les eucaryotes

1. Structure moléculaire: es ribosomes sont des nucléoprotéines, formés d'ARN ribosomiques (ARNr) et de protéines ribosomiques.

a) Ils forment un complexe dynamique :Les ARNr servent de charpente, stabilisent la structure et ont un rôle catalytique (c'est-à-dire que l'ARNr est **une ribozyme**, notamment le **23S chez les procaryotes** et le **28S chez les eucaryotes**).

b) Les protéines assurent la stabilisation, la flexibilité et la régulation des interactions entre les sous-unités et les ARNm.

c) Fait marquant : la fonction catalytique (formation de la liaison peptidique) est assurée par l'ARNr (pas par les protéines),

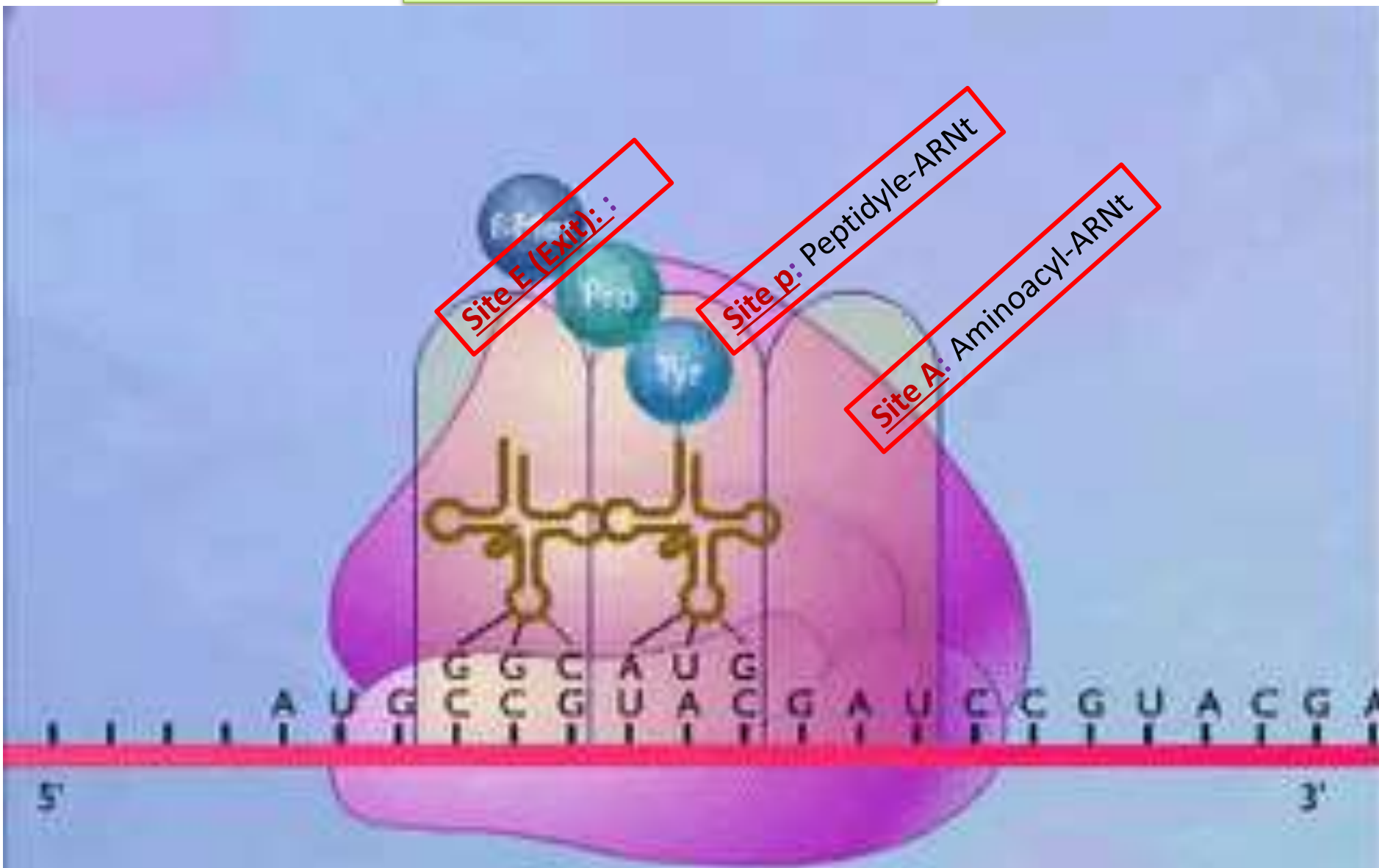
2. Au plan Fonctionnelle : “Usine à protéines”: Les ribosomes sont des machines de traduction :

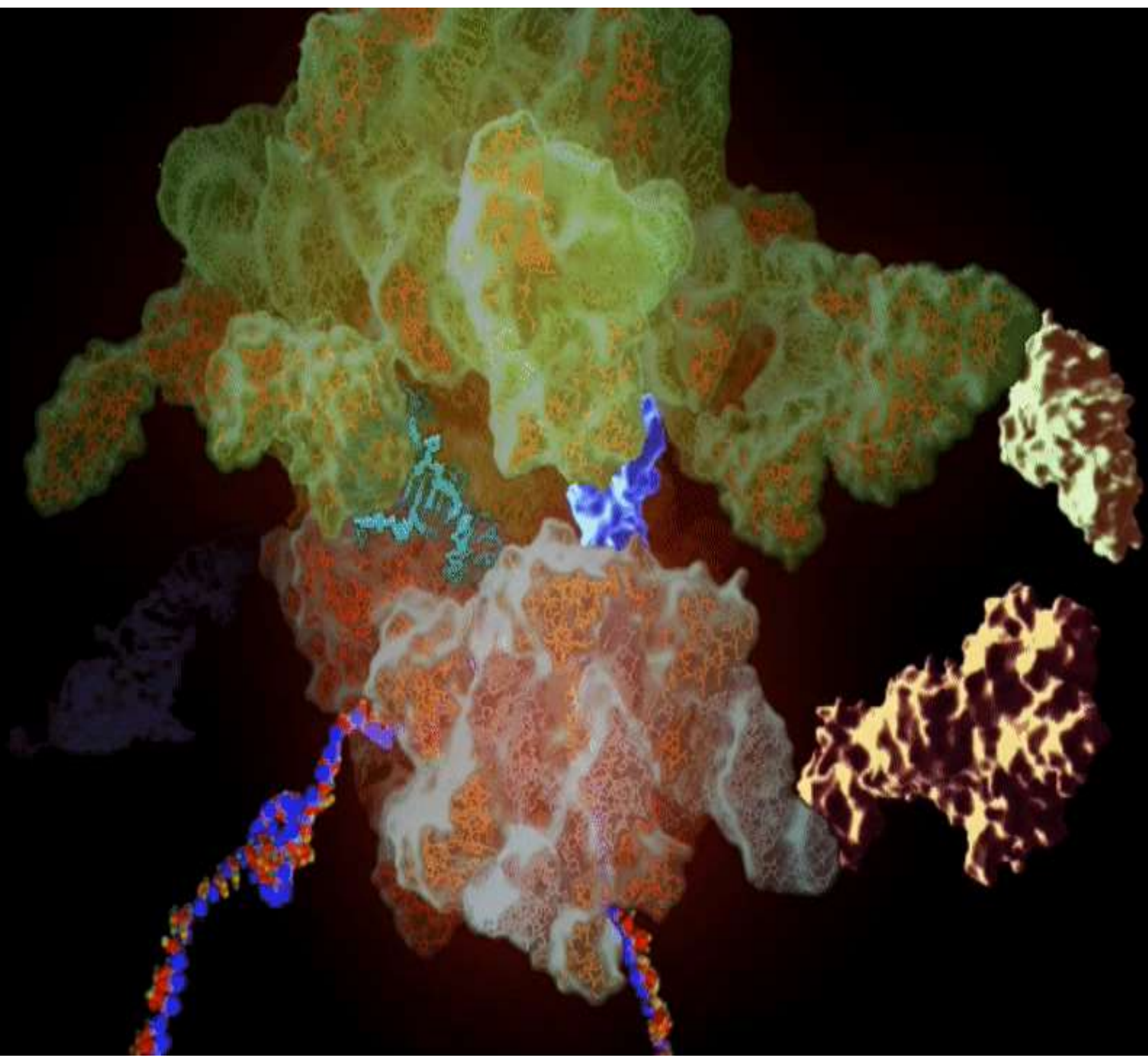
a) Ils lisent les codons de l'ARNm et appellent les ARNt correspondants, porteurs des acides aminés.

b) La petite sous-unité assure la lecture de l'ARNm et la précision de l'appariement codon-anticodon.

c) La grande sous-unité catalyse la formation des liaisons peptidiques

Synthèse des protéines



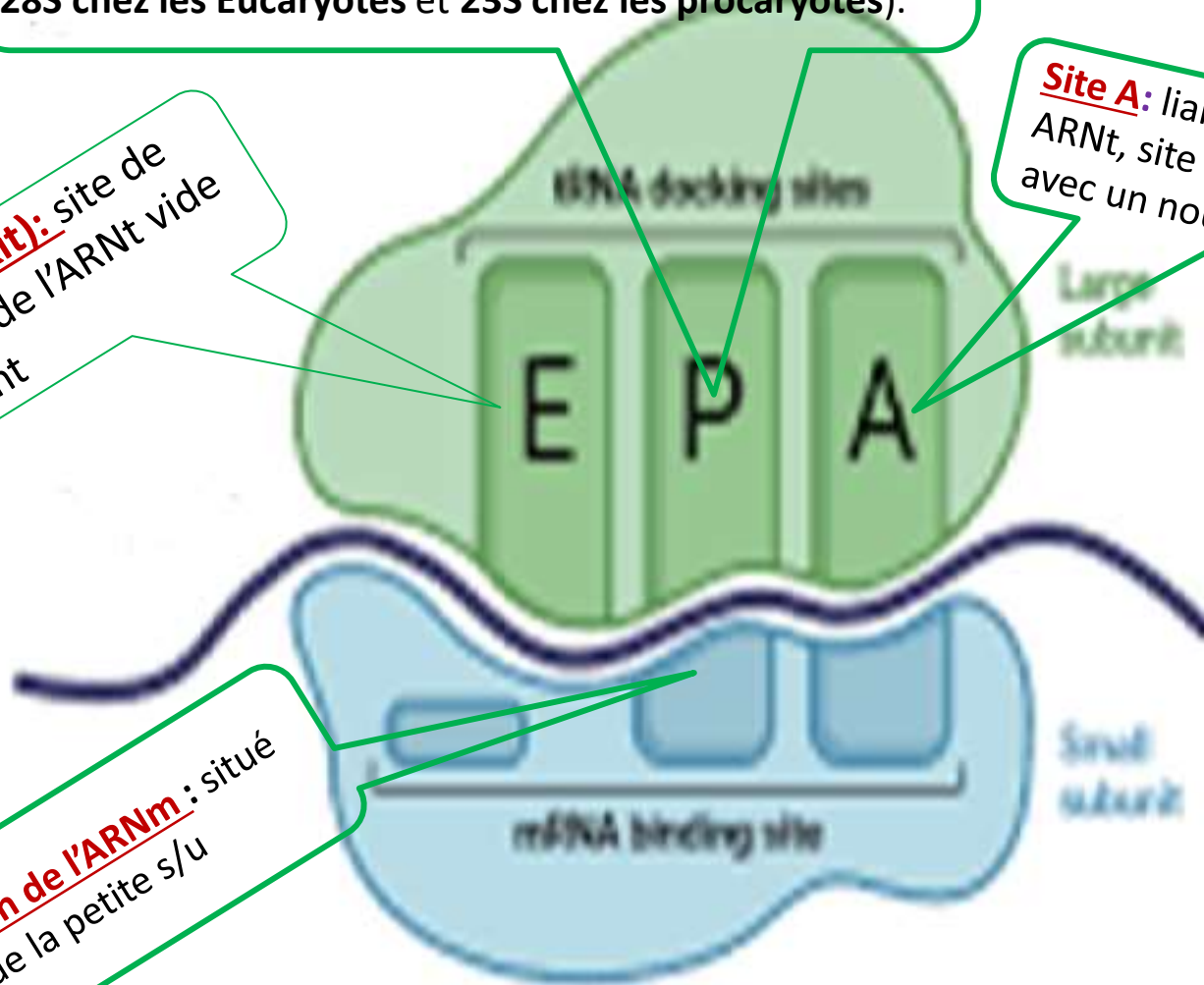


Site P : liaison Peptidyle-ARNt portant le polypeptide en croissance, site catalytique de la formation de liaison peptidique entre 2 AA (peptidyl transférase = 28S chez les Eucaryotes et 23S chez les procaryotes).

Site A : liaison Aminoacyl-ARNt, site fixe l'ARNt entrant avec un nouveau AA

Site E (Exit) : site de liaison de l'ARNt vide sortant

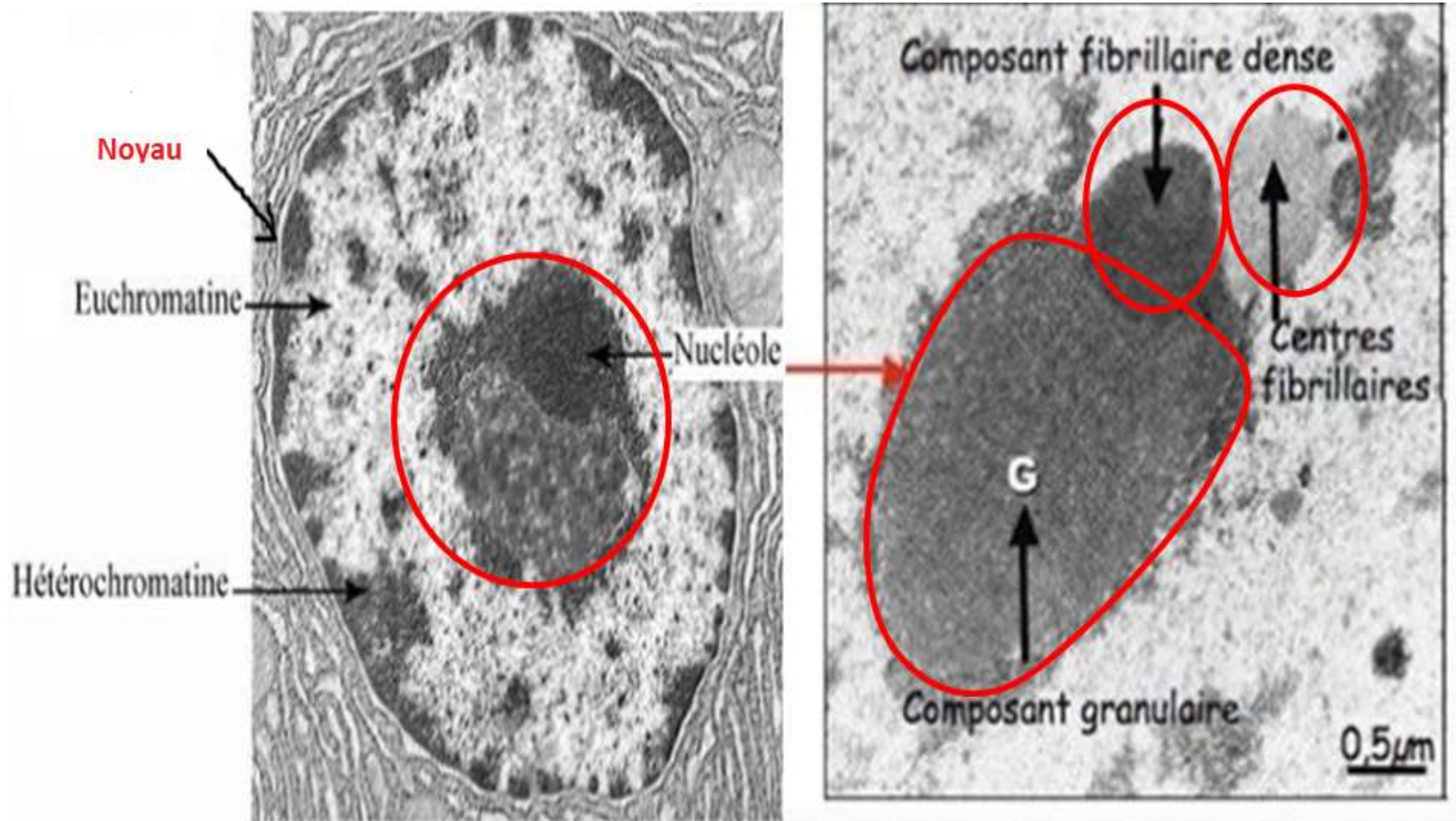
Site de liaison de l'ARNm : situé sur l'ARNr de la petite s/u



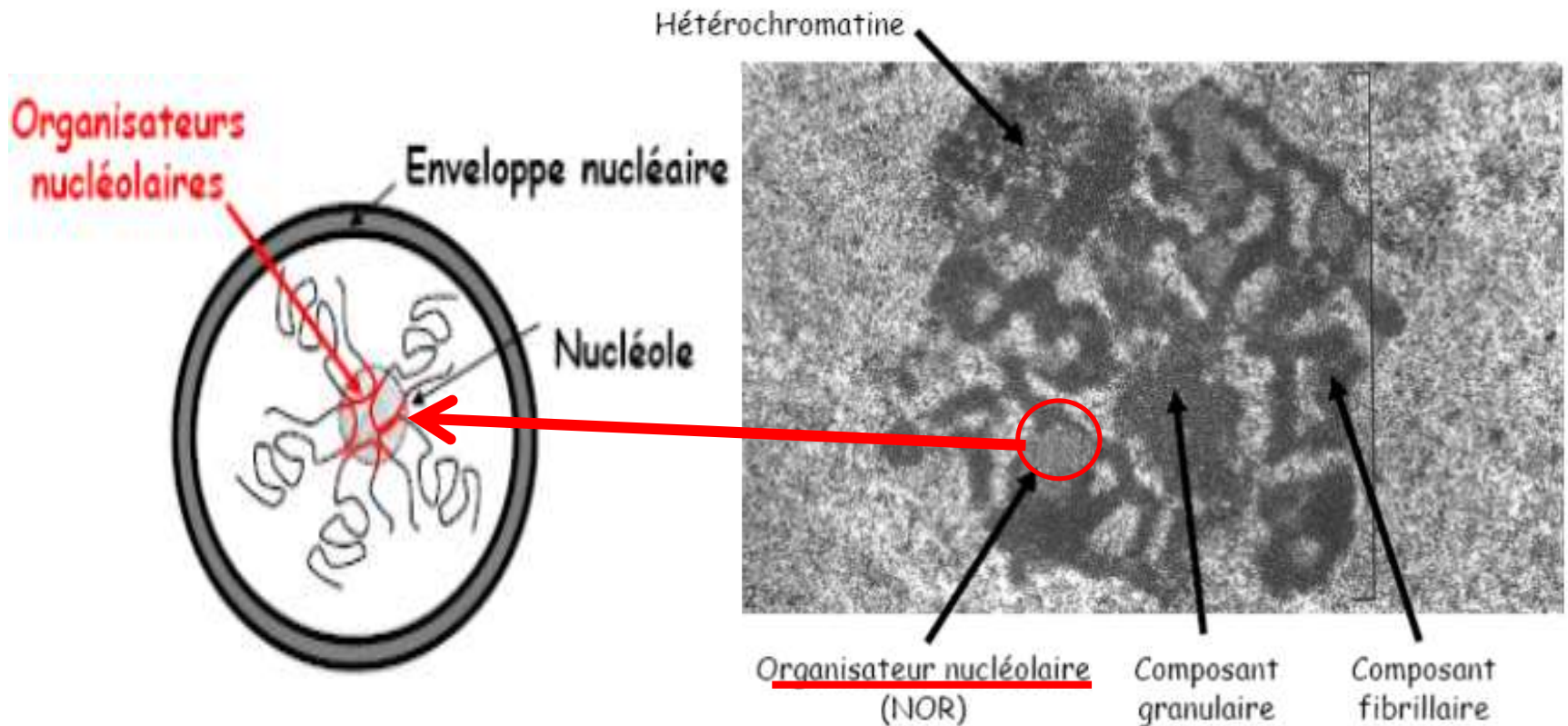
Biogenèse des ribosomes

La biogenèse des ribosomes a lieu dans le nucléole

Structure du nucléole au ME



2. Nucleolus Organizer Region (NOR) / ou "Nucleolar Organizer Region"



Le **NOR** fait référence à une **région spécifique du génome** qui est impliquée dans l'organisation et la formation des nucléoles, dans le noyau des cellules eucaryotes.

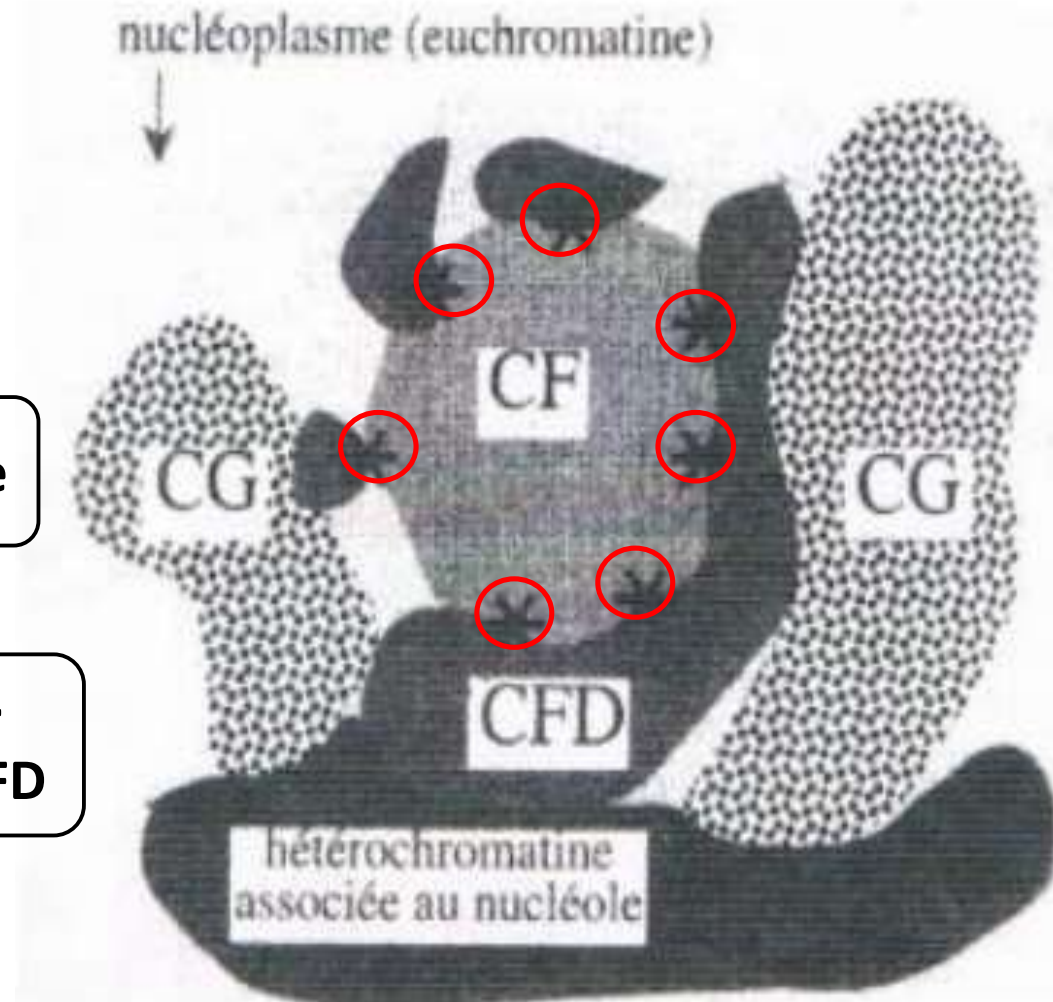
Il est généralement associé à **un ou plusieurs chromosomes**. Cette région du chromosome contient des gènes qui codent pour les ARNr (ARN ribosomiques).

CF: centre fibrillaire

CG: centre granulaire

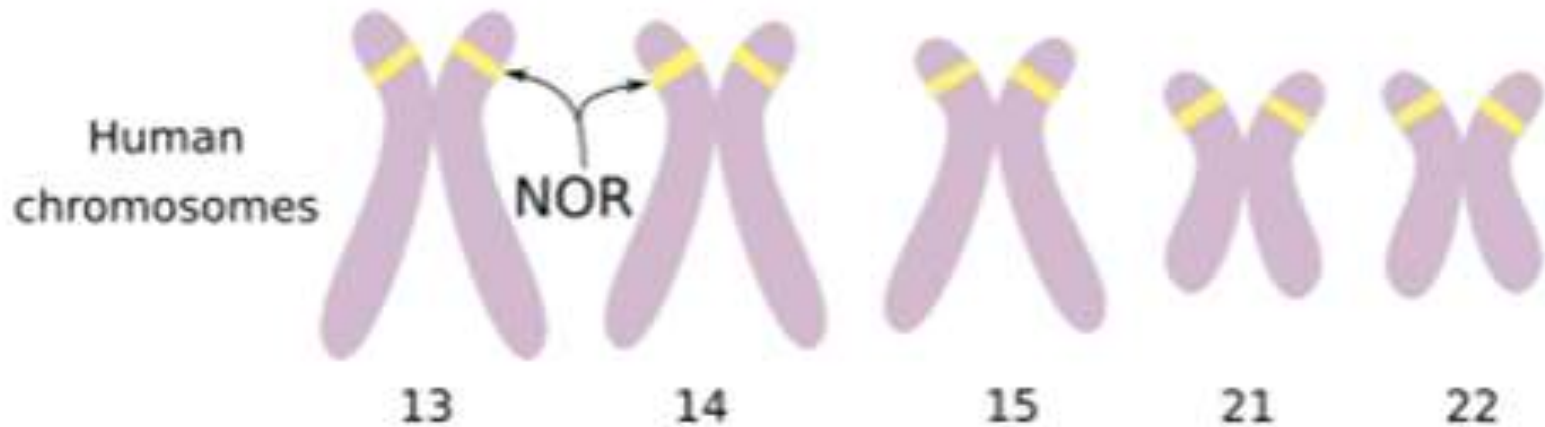
CFD: composant fibrillaire dense

***: site de transcription des ARNr
nucléolaire à la frontière CF et CFD**



Ultrastructure du nucléole

- ❑ C'est une région chromosomique qui contient les gènes qui codent pour les ARN ribosomiques. Chez l'homme, les **200 gènes** de l'ARNr sont situés sur **les bras courts** des chromosomes **acrocentriques 13, 14, 15, 21 et 22**.



- ❑ Pour répondre aux besoins protéiques des \O s. La biogenèse des ribosomes est en parallèle au taux de croissance \O laire.
- ❑ Il existe une activité coordonnée des trois ARN polymérases, (**Pol I, II et III**) , qui a lieu dans le **nucléole** et le **nucléoplasme** des cellules.

3. Les ARN polymérase

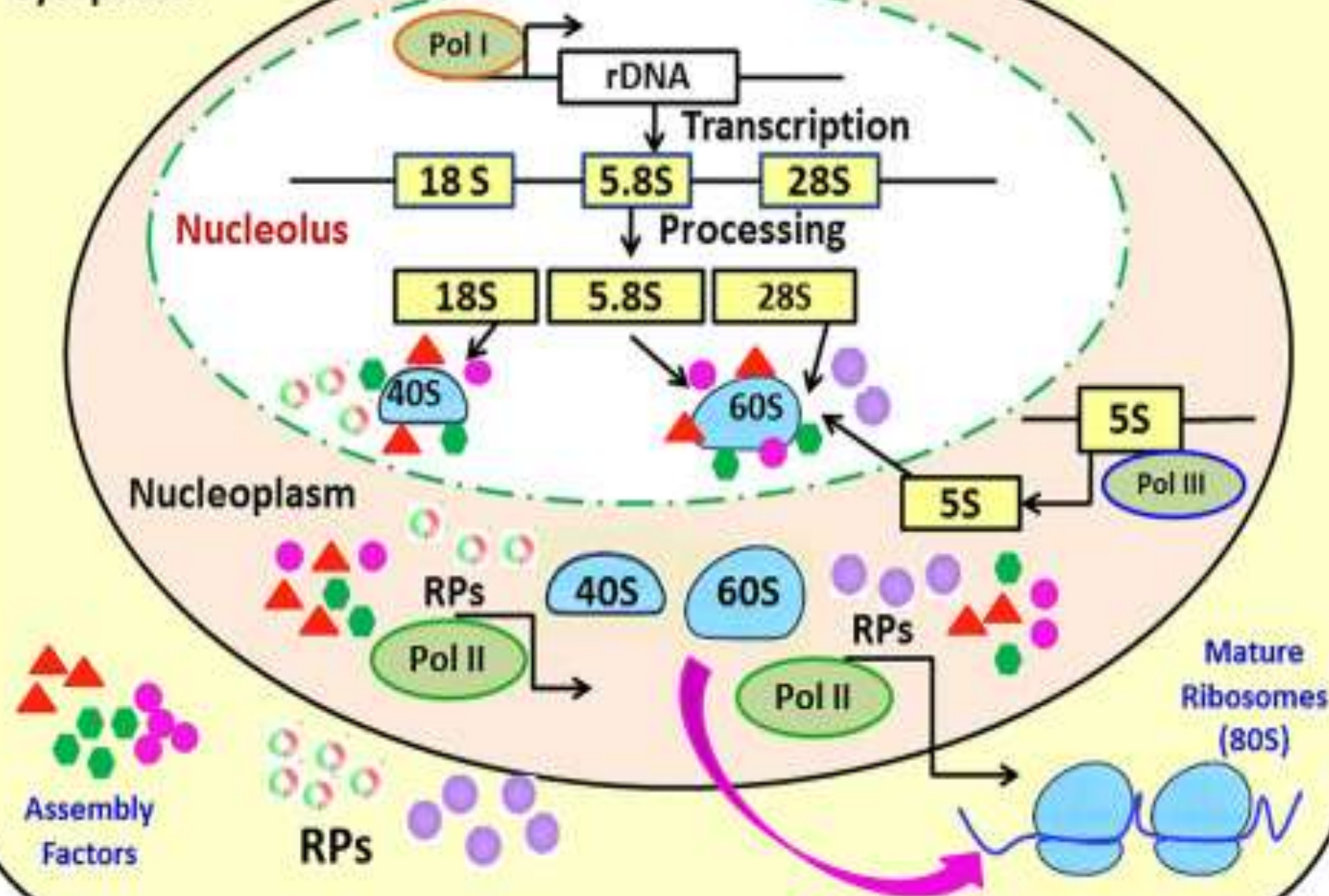
1) L'ARN Pol I : Il est spécifiquement consacré à la transcription d'un seul grand précurseur ARNr 35-47S, ce dernier est clivé en trois ARN ribosomiques matures : l'ARN **18S**, l'ARN **5,8S** et l'ARN **28S**.

2) L'ARN Pol II : transcrits les gènes des protéines ribosomales présents dans tout le génome qui sont traduites dans le **cytoplasme**, mais leur assemblage avec le reste du ribosome se fait au niveau du nucléole.

3) L'ARN Pol III: transcrit par à partir de plusieurs gènes du noyau **L'ARNr 5S**

☐ L'assemblage des **2 sous unités** a lieu, comme chez les procaryotes, dans le cytoplasme lors de la synthèse protéique.

Cytoplasm



TRANSCRIPTION Pol II

Gènes des protéines ribosomiques

ARNm

ARNm

Protéines ribosomiques

Protéines ribosomiques

TRANSCRIPTION Pol I

ADNr 5' ETS ITS1 ITS2 3' ETS
18S 5,8S 28S

ARNr 47S

Fibrillarine

Nucléoline

45S

41S

21S

32S

hPop1

Nop52, B23

PM-Scl 100

18S

5,8S

28S

40S

60S

5S

40S

60S

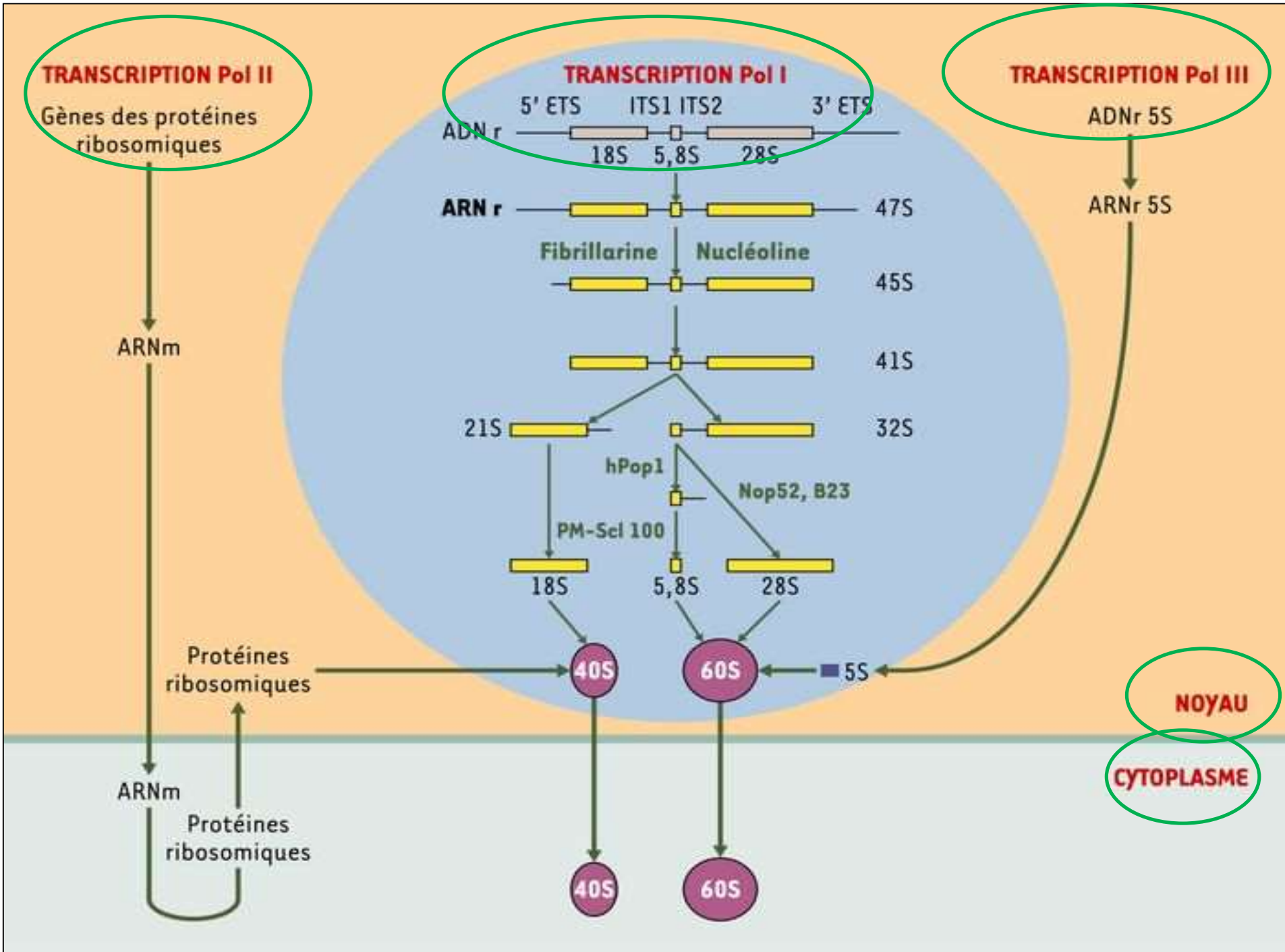
TRANSCRIPTION Pol III

ADNr 5S

ARNr 5S

NOYAU

CYTOPLASME



Résumé : Biogénèse des ribosomes

La biogénèse des ribosomes a lieu dans le nucléole, nucléoplasme et se poursuit dans le cytoplasme.

dans le **nucléole** : synthèse
ARN **18S**, **5,8S** et **28S**

dans le **nucléoplasme** :
synthèse d'ARN **5S**

dans le **cytoplasme** :
synthèse des **protéines**
ribosomales

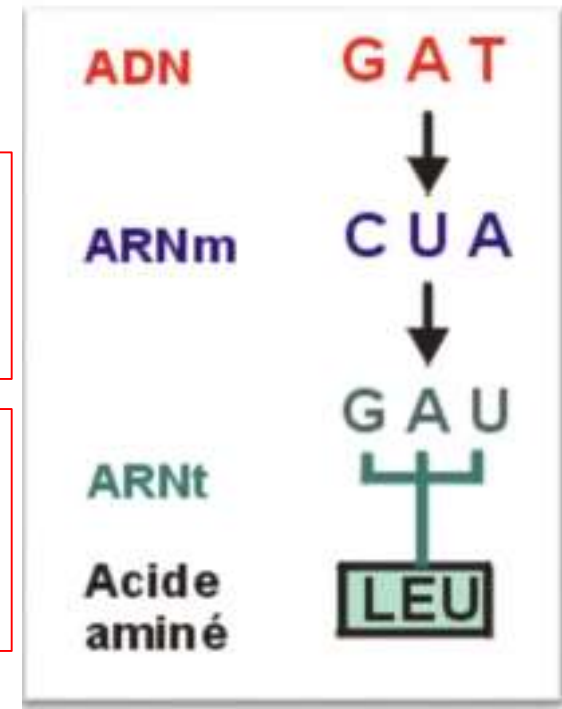
dans le **nucléole** ils sont
associés pour former les
sous-unités du ribosome

transfert
séparément du
noyau au
cytoplasme

dans le cytoplasme, les sous-unités sont regroupées en ribosomes et commencent leur activité de synthèse en traduisant les messages qui arrivent du noyau sous forme d'ARN messager

Synthèse protéique

- ❑ L'assemblage des acides aminés est contrôlé par un code génétique porté par les séquences des nucléotides de l'ADN.
- ❑ l'information correspondant à un acide aminé est portée par un groupe de **03 nucléotides (triplet)** sur l'ARNm. Le processus de la synthèse des protéines est divisé en deux étapes principales



1^{ère} étape : transcription d'une séquence nucléotidique de l'ADN en une séquence complémentaire de nucléotide d'ARNm.

1) La transcription : l'ARNm est synthétisé dans le noyau, avec l'ADN comme matrice. Seule un brin d'ADN est transcrit (**brin matriciel**).

L'enzyme qui catalyse cette réaction de transcription est appelée **ARN polymérase**. L'ARN polymérase reconnaît et se fixe sur une région particulière de l'ADN, située en amont d'une région codante d'un gène : **le site promoteur**.

Etapes de transcription

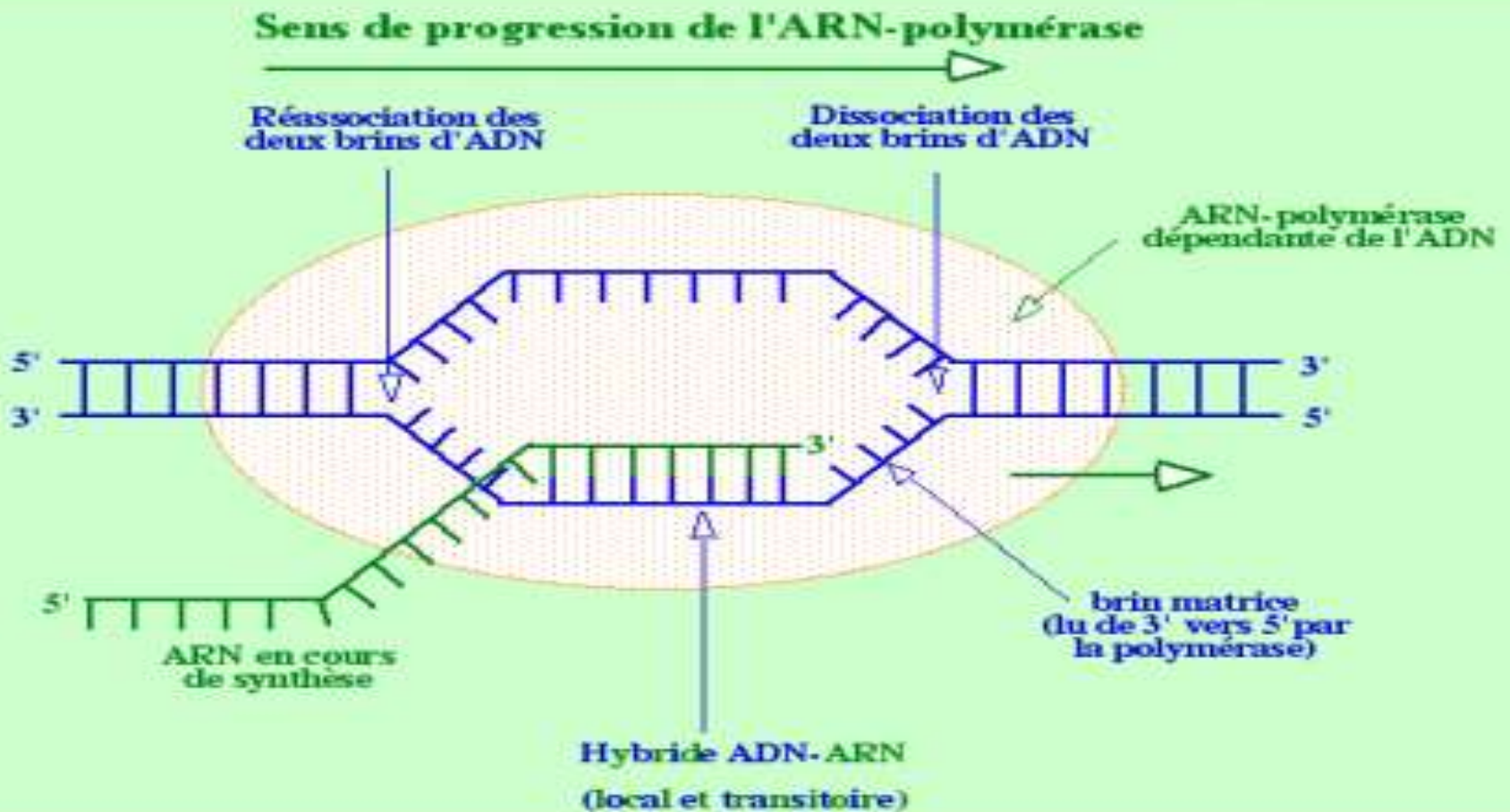
a) Initiation : chaque gène est reconnu par sa borne. Celle qui permet le départ de la transcription est appelée **promoteur**. Quel que soit le gène, cette zone contient une séquence de nucléotides, succession de **Thymine et Adénine**, appelée **TATA box** (boîte TATA).

Cette séquence sera reconnue par l'**ARN polymérase (II)**, enzyme responsable de la transcription, à condition qu'un **facteur de transcription** se soit fixé auparavant au **promoteur**. Une fois en place, l'ARN polymérase ne sera active que sous l'influence d'autres facteurs de transcription.

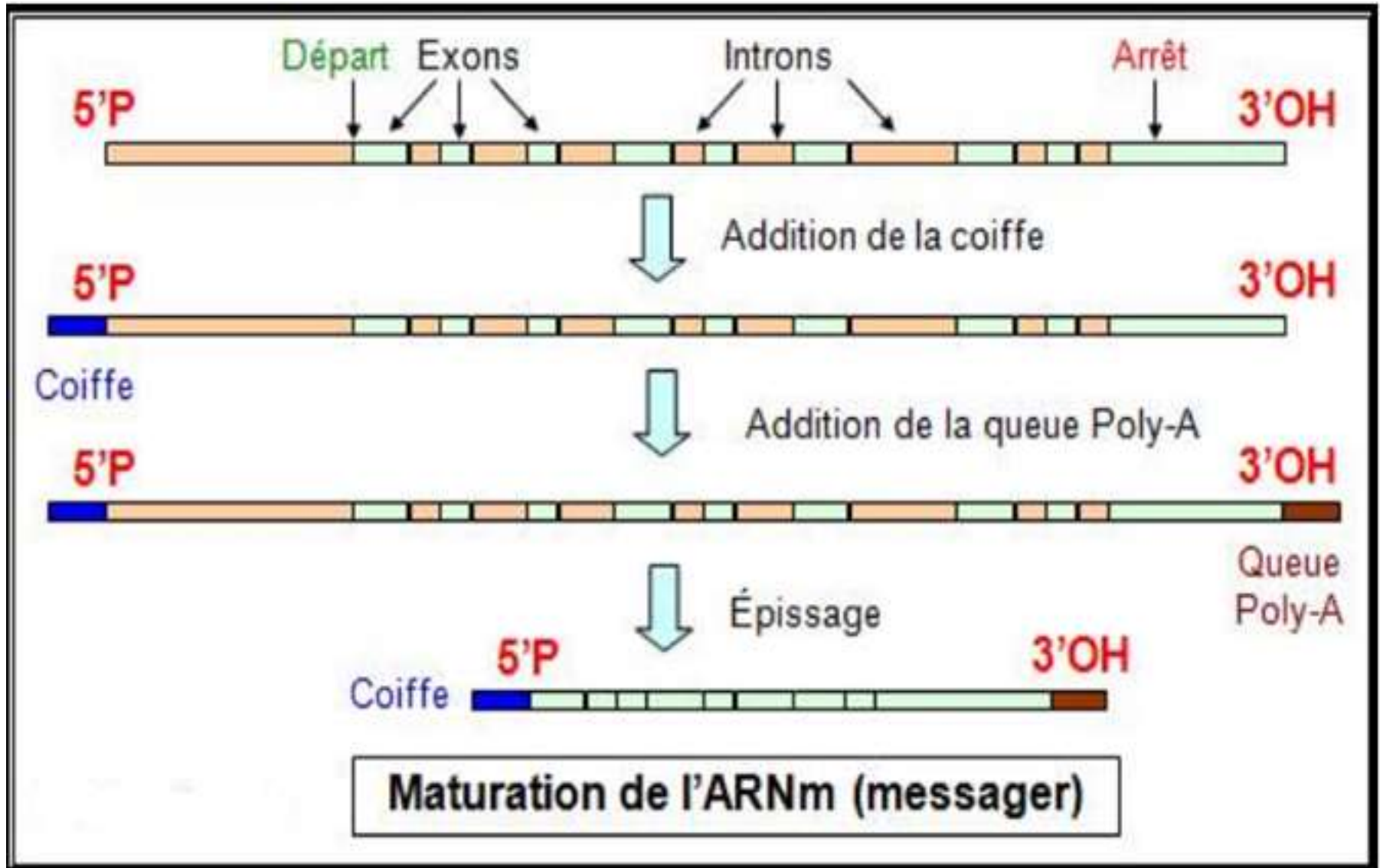
Remarque: les Facteurs de transcription sont:

- ❖ **Facteurs de transcription généraux** : Ces protéines se lient aux régions promotrices des gènes et recrutent l'ARN polymérase pour initier la transcription. Les exemples incluent TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIE, TFIIF et TFIIH chez les eucaryotes.
- ❖ **Facteurs de transcription spécifiques** : Ces protéines se lient à des séquences d'ADN spécifiques dans les promoteurs des gènes et régulent positivement ou négativement leur transcription.
- ❖ **Facteurs de remodelage de la chromatine** : complexes protéiques modifient la structure de la chromatine.

b) Élongation : L'enzyme sépare alors les deux brins d'ADN sur une dizaine de nucléotides et permet l'appariement des nucléotides du futur ARNm. Seul un des deux brins d'ADN servira **de matrice** (la synthèse d'ARNm se fait dans le **sens 5' -> 3'**). Au fur et à mesure, l'enzyme avance et poursuit la transcription. La molécule d'ARN formée est détachée du brin codant d'ADN qui se réassocie au brin non codant.



- ❖ Puis L'ARNm mature (court) quitte le noyau par les pores nucléaires en direction du hyaloplasme pour y subir la traduction.



2^{eme} étape: Traduction

- ❑ Après transcription de l'ARNm, ce dernier est traduit en une chaîne polypeptidique au niveau des ribosomes qui vont attacher bout à bout par des liaisons peptidiques (**CO-NH**), des acides aminés activés par leur ARNt, l'ensemble forme un **AminoAcyl-ARNt**.
- ❑ **polarité de la synthèse protéique**: Les ribosomes se déplacent dans le sens 5' vers 3' sur l'ARNm, et synthétisent le polypeptide correspondant de l'extrémité NH₂ terminale vers l'extrémité COOH terminale.
- ❑ **le code génétique** : La séquence de l'ARNm est décodée par groupe de trois nucléotides (**codon**) qui correspondent à un AA particulier ou aux signaux d'initiation(AUG) et de terminaison (UAA; UAG; UGA).
- ❑ Sur une même molécule d'ADN, certains gènes utilisent un brin comme matrice, d'autres utilisent l'autre brin comme matrice. il n'y a pas un brin "fixe" pour tous les gènes.

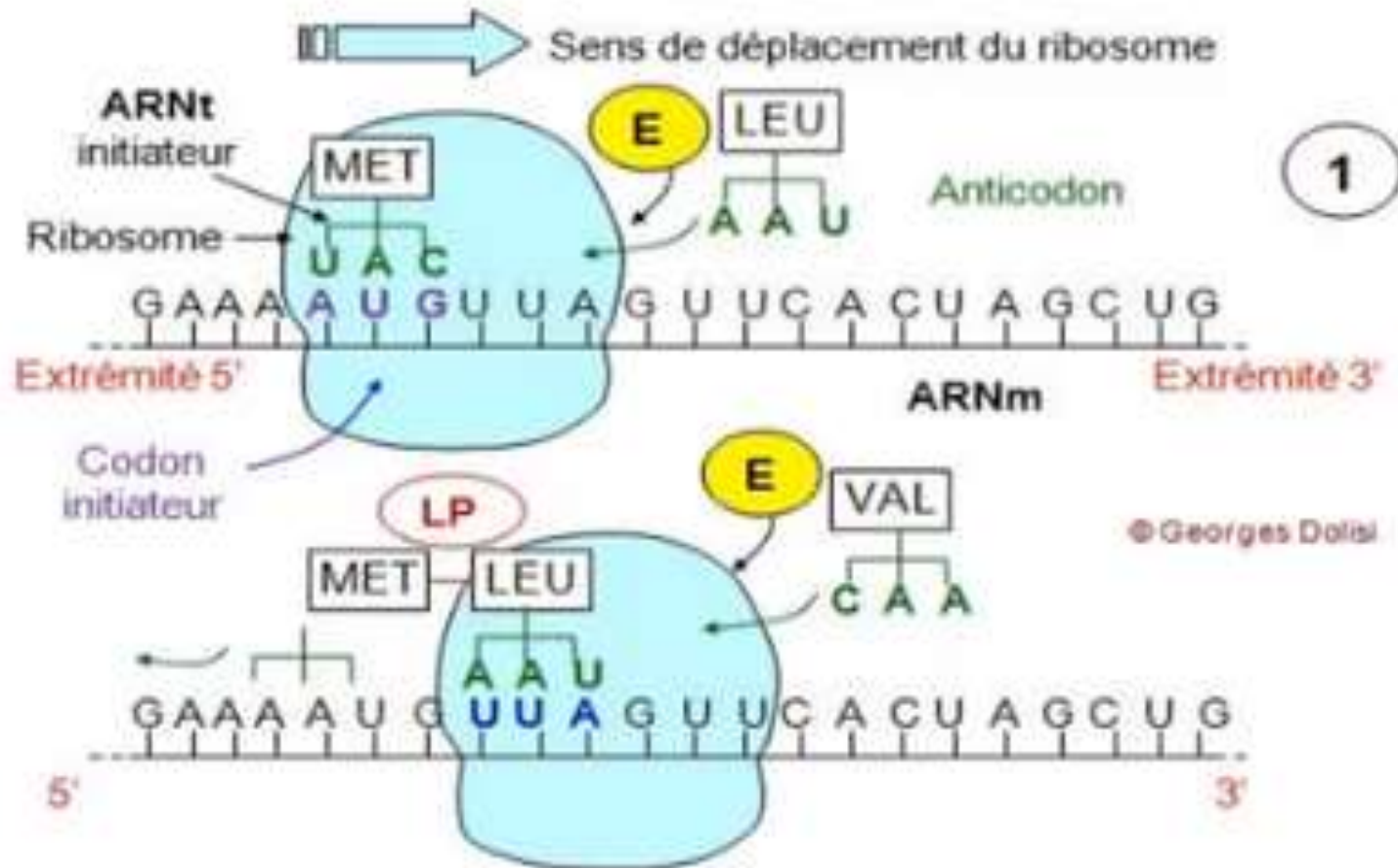
Traduction ou synthèse des protéines

a) Activation des acides aminés par les ARNt : l'ARNt qui par ses anticodons (triplet de nucléotides), détermine l'acide aminé qui s'associera à la chaîne polypeptidique en élongation. Pour cela, l'ARNt fixe un acide aminé grâce à une enzyme appelée **Amino-Acyl-ARNt-Synthétase** qui est spécifique à l'AA.

b) L'initiation : C'est d'abord la petite sous unité ribosomique qui va s'associer à la première séquence AUG (codon d'initiation) portée par l'ARNm.

- ❖ **Chez les Eucaryotes**: la petite sous unité reconnaît d'abord l'extrémité 5' de l'ARNm qui porte la **coiffe de Méthyle guanosine**, puis elle balaie l'ARNm jusqu'à ce qu'elle rencontre une séquence de nucléotides qui renferme le codon d'initiation **AUG**.
- ❖ **Chez les procaryotes**: Elle reconnaît ce codon grâce à une séquence spécifique, présente sur l'ARNm bactérien appelée séquence de **Shine Dalgarno** qui est localisée 5 à 10 nucléotides avant le codon d'initiation.

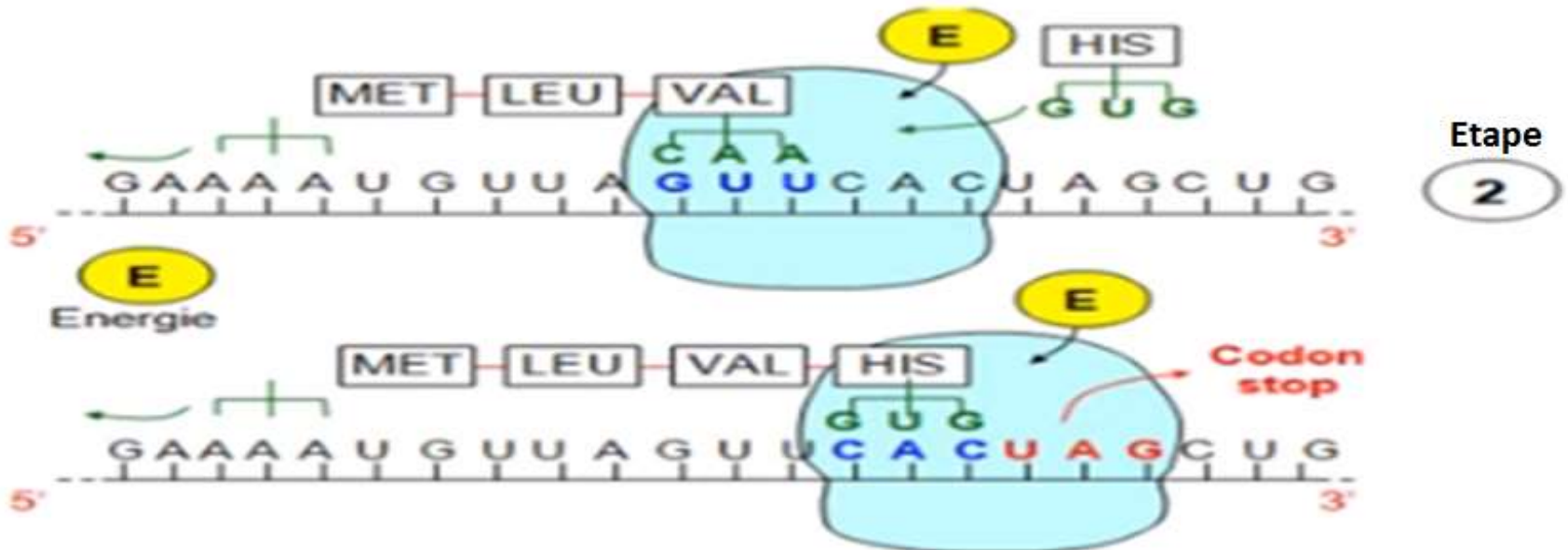
Initiation



- ❖ La grosse sous-unité peut alors se fixer elle aussi et rendre le ribosome actif.
- ❖ Il y a également une consommation de **GTP**. L'ARNt se place dans le **site P** du ribosome.

c) Élongation : 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 l'hydrolyse d'une molécule de **GTP**.

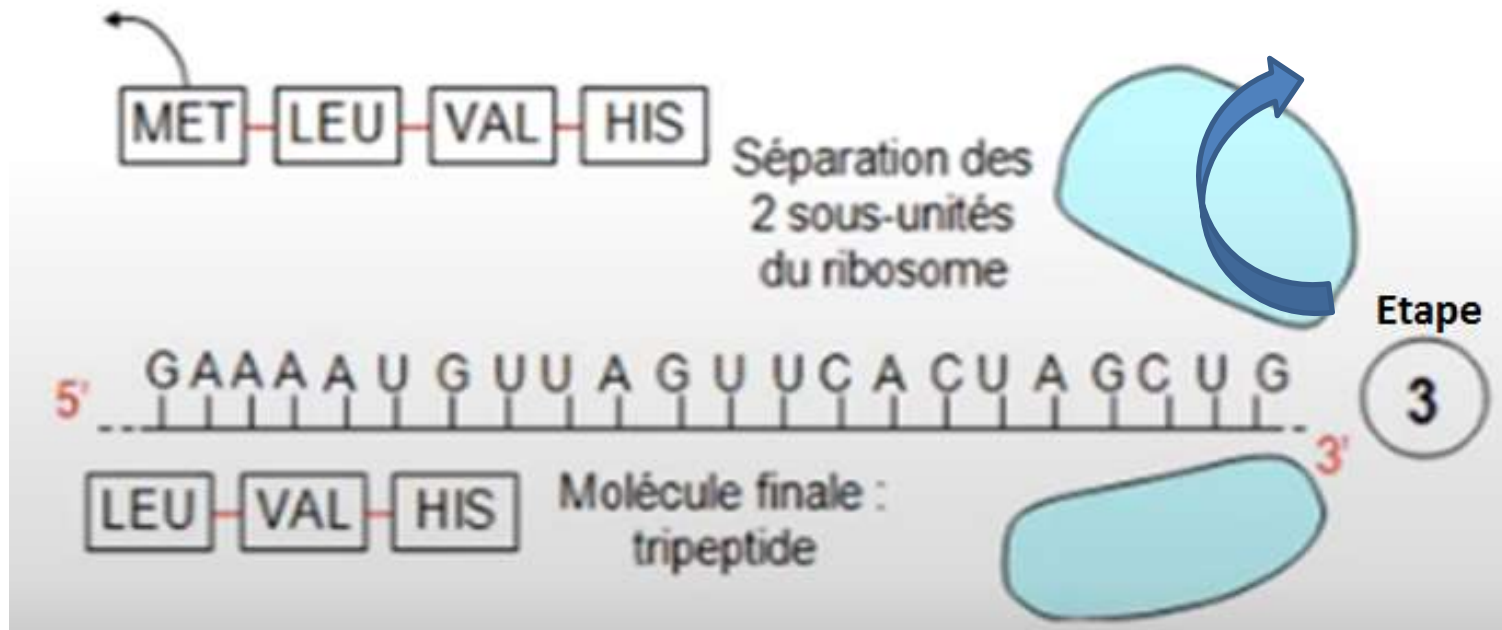
- ❖ Une enzyme, la **peptidyl-transférase**, permet ensuite la formation d'une **liaison peptidique** entre les AA des deux sites. Le peptide est alors rattaché à l'ARNt du **site A**. L'ARNt du site P, qui ne possède plus d'**AA**, se détache et libère la place.



d) Terminaison : Elle se déclenche par l'arrivée au site A du ribosome de l'un des 03 codons stop (**UAA, UAG, UGA**) qui met un terme à l'assemblage des acides aminés au niveau de la chaîne polypeptidique.

- ❖ L'action du facteur de libération se traduit par la coupure de la liaison **polypeptide-ARNt** et la libération de la chaîne polypeptidique de l'ARNt, ainsi la séparation des 2 sous unités ribosomiques.

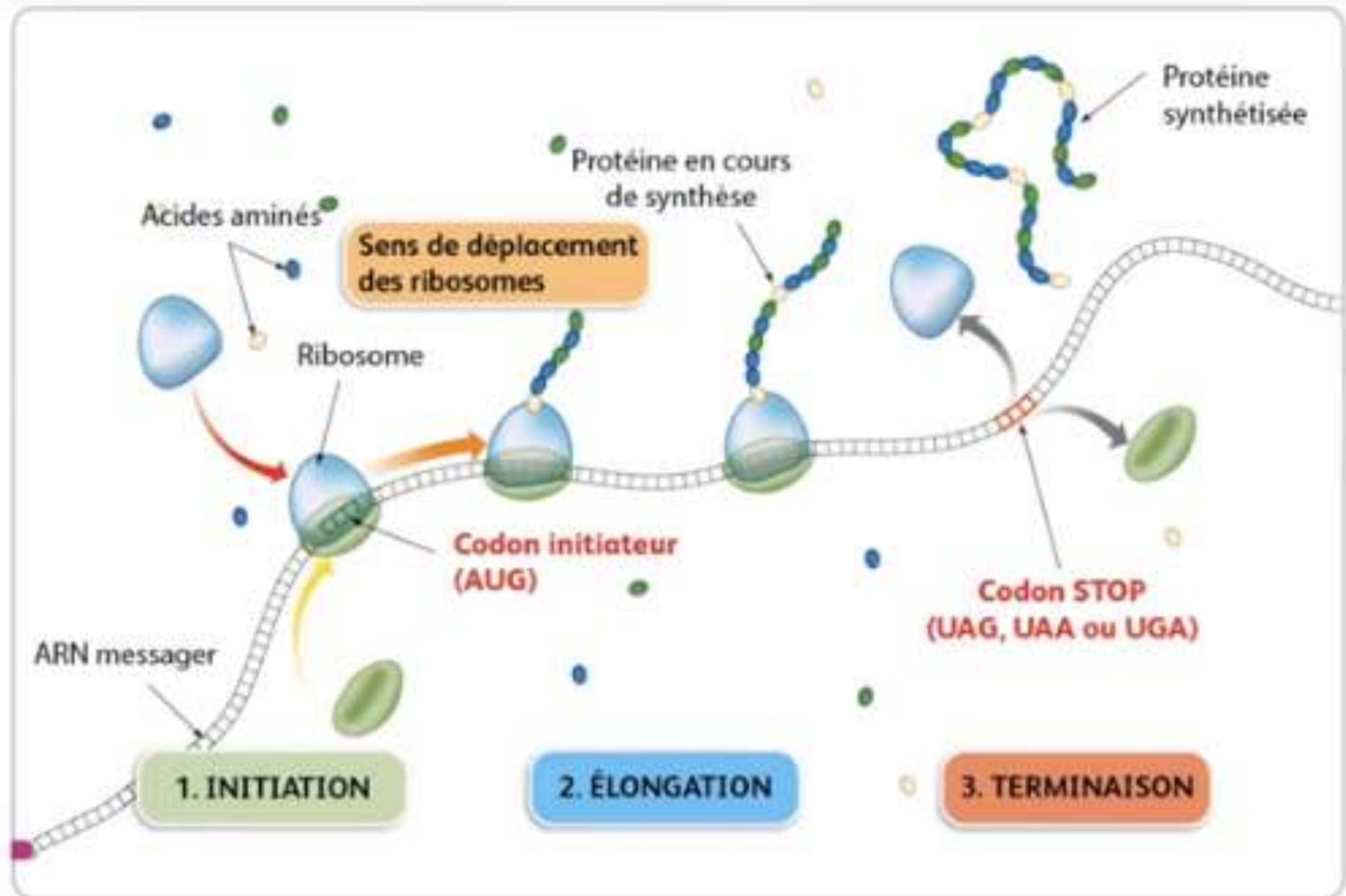
Chez **les procaryotes**, il y a 02 facteurs de libération **RF1** (Realeasing Factor) qui reconnaît **UAA** et **UAG** et **RF2** reconnaît **UGA**. Par contre chez les Eucaryotes, il y'en aurait qu'un seul facteur (**eRF**).



Remarques

- ❑ Le premier nucléotide du premier codon détermine le cadre de lecture ouvert (ORF : Open Reading Frame). C'est-à-dire le cadre de lecture ouvert d'un ARNm est déterminé par l'identification des **codons de démarrage** et **de terminaison**
- ❑ Il y a 64 possibilités de combiner les nucléotides en codons (4^3). Comme il y a 20 acides aminés, il y a donc 44 codons supplémentaires. 3 correspondent à des codons stop ou non-sens, les autres sont des synonymes qui codent pour différents acides aminés.
- ❑ L'usage des codons diffère d'une espèce à l'autre: certaines espèces utilisent préférentiellement certains codons.
- ❑ Il existe quelques exceptions: Par exemple, le **codon AGA** correspond à une **arginine** dans une cellule **eucaryote** et à **un codon stop** dans une **mitochondrie**.
- ❑ Chez les **archées**, la **pyrrolysine** est incorporée dans les protéines lorsqu'un codon **UAG (stop)** est rencontré.
- ❑ **La sélénocystéine**: un acide **alpha-aminé** non standard, encodé sur les ARNm par le codon-stop opale **UGA**, Il s'agit d'un analogue **sélénié** de la **cystéine** qui entre dans la constitution de certaines enzymes de la classe des **oxydoréductases** (glutathion peroxydase).

Résumé: Traduction ou synthèse des protéines



Différentes classes de protéines produites par les ribosomes

1. Protéines cytoplasmiques: les ribosomes libres dans le cytosol. Le cytosquelette (ex. actine, tubuline). Les enzymes métaboliques (ex. glycolyse). La régulation intracellulaire (facteurs de transcription, protéines kinases...)

2. Protéines membranaires : Synthétisées par les ribosomes liés au réticulum endoplasmique rugueux (RER). Destinées aux : Membranes cellulaires (protéines transmembranaires). Les canaux ioniques, récepteurs membranaires.

3. Protéines sécrétées : Synthétisées aussi par les ribosomes liés au RER. Exemples : Enzymes digestives (ex. pepsine, amylase). Hormones peptidiques (ex. insuline). Anticorps produits par les plasmocytes.

4. Protéines des organites : Certaines protéines des mitochondries ou chloroplastes sont synthétisées directement dans ces organites (ribosomes mitochondriaux/chloroplastiques). Mais la majorité sont produites par les ribosomes cytoplasmiques libres, puis importées.

Références

1. Anger, A. M. et al. (2013). Structures of the human and *Drosophila* 80S ribosome. *Nature* 497, 80–85.
2. Arabi A, Wu S, Ridderstrale K, Bierhoff H, Shiue C, Fatyol K, Fahlen S, Hydbring P, Soderberg O, Grummt I, Larsson LG, Wright AP. . 2005. c-Myc associates with ribosomal DNA and activates RNA polymerase I transcription. *Nat Cell Biol*;7:303–310.
3. Birch JL, Zomerdijk JC. 2008, Structure and function of ribosomal RNA gene chromatin. *Biochem Soc Trans.*;36:619–624.
4. Goodfellow, S. J. & Zomerdijk, J. C. (2013). Basic mechanisms in RNA polymerase I transcription of the ribosomal RNA genes. *Subcell. Biochem.* 61, 211–236.
5. McStay, B. (2016). Nucleolar organizer regions: genomic 'dark matter' requiring illumination. *Genes Dev.* 30, 1598–1610.
6. Noller, H. F. (2012). Evolution of protein synthesis from an RNA world. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 4, a003681.