

BIOSYNTHÈSE DES PROTÉINES

TRADUCTION GÉNÉTIQUE

F. CHAPEVILLE
A-L. HAENNI

Hermann
Paris



Collection
Méthodes

Table

AVANT-PROPOS	1
--------------------	---

I. INTRODUCTION

1. Structure des protéines	3
2. Structure des acides nucléiques	10
3. Mécanismes de transfert de l'information génétique	15
3.1. Réplication de l'ADN	15
3.2. Réplication de l'ARN viral	17
3.3. Transcription	18
3.3.1. Propriétés de l'ARN messager	19
3.3.2. Messagers monocistroniques et polycistroniques	20
3.3.3. Synthèse des ARN <i>in vitro</i> . ARN polymérase	20
3.3.4. Initiation, élongation et terminaison des chaînes polynucléotidiques	22
3.3.4.1. Facteur sigma et initiation	22
3.3.4.2. Élongation	24
3.3.4.3. Facteur rô et terminaison	24
3.4. Traduction	24
BIBLIOGRAPHIE	26

II. CODE GÉNÉTIQUE

1. Colinéarité entre gènes et protéines	27
2. Propriétés générales du code génétique	29
2.1. Le code génétique est à trois lettres	29
2.2. Non chevauchement du code	34
2.3. Dégénérescence du code	35
2.4. Flexibilité dans la lecture des codons	36
2.5. Universalité du code	37
2.6. Ambiguïté du code	38
2.7. Hypothèse de l'adapteur	39

2.8. Preuve de l'adapteur	39
3. Polarité de la traduction	41
3.1. Direction de la formation de la chaîne polypeptidique.....	41
3.2. Polarité de la lecture de l'ARN messager	43
BIBLIOGRAPHIE	46

III. AMINOACYL-tARN SYNTHÉTASES

1. Réactions catalysées par les aminoacyl-tARN synthétases	48
2. Mesure de l'activité enzymatique.....	50
2.1. Échange ATP-pyrophosphate.....	50
2.2. Formation de l'hydroxamate d'acide aminé.....	51
2.3. Estérification du tARN par l'acide aminé.....	51
3. Distribution des aminoacyl-tARN synthétases	51
4. Purification des aminoacyl-tARN synthétases.....	52
5. Structure des aminoacyl-tARN synthétases	53
5.1. Méthionyl-tARN synthétase.....	54
5.2. Leucyl-tARN synthétase.....	55
6. Propriétés catalytiques des aminoacyl-tARN synthétases	56
6.1. Réaction d'activation	56
6.1.1. Ions métalliques	57
6.1.2. Spécificité	57
6.1.3. Analogues structuraux des acides aminés	57
6.1.4. Importance des groupements -NH ₂ et -COOH	58
6.1.5. Spécificité pour l'ATP	58
6.1.6. Formation de l'acide aminé-AMP	59
6.1.7. Complexe aminoacyl-AMP·Enzyme	60
6.1.8. Influence du tARN sur l'activation	61
6.2. Estérification du tARN	61
6.2.1. Systèmes homologues.....	62
6.2.1.1. Estérification <i>in vivo</i> et <i>in vitro</i>	62
6.2.1.2. Réversibilité de l'estérification	63
6.2.1.3. Complexes Enzyme·tARN	63
6.2.1.4. Estérification et les ions Mg ⁺⁺	64
6.2.2. Systèmes hétérologues	65
6.2.2.1. Spécificité.....	65
6.2.2.2. Estérification du tARN ^{Val} par la phénylalaninyl-tARN synthétase	66

6.3. Les étapes des réactions au cours de l'estérification des tARN...	66
6.3.1. Exemple de la leucyl-tARN synthétase	66
6.3.2. Mécanisme concerté : activation-estérification	68
7. Génétique des aminoacyl-tARN synthétases	69
BIBLIOGRAPHIE	73

IV. ARN DE TRANSFERT

1. Isolement et purification	76
2. Méthodes de fractionnement	77
2.1. Méthodes physiques	77
2.2. Méthodes chimiques	77
2.3. Méthodes mixtes	78
3. tARN Isoaccepteurs	78
3.1. Différences structurales entre les isoaccepteurs	79
4. Structure primaire du tARN	80
4.1. Composition en bases	80
4.2. Nucléotides terminaux	80
4.3. Analyse simple de quelques nucléotides 3' terminaux	81
4.4. Séquence des nucléotides	81
4.5. Fragmentation spécifique du tARN en oligonucléotides	82
4.6. Analyse des oligonucléotides	83
5. Structure secondaire des tARN	85
6. Structure tertiaire des tARN	92
7. Étude des sites fonctionnels des tARN	95
7.1. Méthodes physiques	96
7.2. Méthodes chimiques	97
7.3. Méthodes génétiques	99
7.4. Méthodes enzymatiques	99
7.5. Sites connus	101
8. Biosynthèse des tARN	102
8.1. Précurseur 5S du tARN	103
8.2. Synthèse des tARN <i>in vitro</i>	104
8.3. Synthèse du gène du tARN de l'alanine	105
8.4. Génération des nucléotides inhabituels - Maturation des tARN	106
8.5. Réparation de l'extrémité 3' des tARN	107
BIBLIOGRAPHIE	115

V. RIBOSOMES

1. Structure des ribosomes	119
1.1. Propriétés physiques	119
1.2. Composition chimique	121
1.2.1. ARN ribosomal	123
1.2.2. Protéines ribosomales	127
2. Reconstitution des ribosomes	129
2.1. Reconstitution des particules 30S	130
2.2. Reconstitution des particules 50S	132
3. Analyse de la fonction des constituants ribosomiques	134
3.1. ARN	134
3.2. Protéines	135
4. Biosynthèse des ribosomes	136
4.1. Gènes de structure et biosynthèse du rARN	137
4.1.1. Gènes de structure des rARN	137
4.1.2. Évolution des gènes du rARN	138
4.1.3. Biosynthèse du rARN dans les systèmes bactériens	139
4.1.4. Biosynthèse du rARN chez les organismes eucaryotes	141
4.1.5. Régulation de la biosynthèse du rARN	142
4.2. Biosynthèse des protéines ribosomales	143
5. Assemblage des constituants ribosomiaux <i>in vivo</i>	144
6. Inactivation des ribosomes par la colicine E ₃	146
BIBLIOGRAPHIE	147

VI. INITIATION DES CHAINES POLYPEPTIDIQUES

1. fMét-tARN _f comme initiateur des chaînes polypeptidiques	150
1.1. Spécificité des codons correspondants aux tARN _f et tARN _m	153
1.2. Mise en évidence de codons initiateurs dans les messagers physiologiques	154
2. Facteurs protéiques d'initiation	157
2.1. Trois facteurs d'initiation : IF-1; IF-2; IF-3	158
2.1.1. Facteur IF-1	159
2.1.2. Facteur IF-2	160
2.1.3. Facteur IF-3	161
2.1.4. Complexe IF-2 · IF-3	162
3. Sous-unités ribosomales et fMét-tARN dans l'initiation	162
3.1. Rôle respectif des particules ribosomales 30S et 50S	162
3.2. Rôle de la partie polynucléotidique du fMét-tARN _f	165

3.3. Rôle du groupement formyle	165
3.4. Acétylphénylalanyl-tARN comme initiateur	166
3.5. Position du fMét-tARN _f sur le complexe d'initiation 70S	167
4. Initiation des chaînes polypeptidiques dans les systèmes eucaryotes ...	171
4.1. Mitochondries et chloroplastes	172
4.2. Systèmes cytoplasmiques	173
4.3. Facteurs d'initiation	175
5. Conclusions	177
BIBLIOGRAPHIE	177

VII. ÉLONGATION DES CHAINES POLYPEPTIDIQUES

1. Formation de la liaison peptidique	180
1.1. Rôle de la partie polynucléotidique du peptidyl-tARN	182
1.2. Rôle de la partie polynucléotidique de l'aminoacyl-tARN	183
2. Facteurs d'élongation	184
2.1. Le facteur EF-Ts	185
2.2. Le facteur EF-Tu	185
2.3. Le facteur EF-G	186
3. Détermination de la position du peptidyl-tARN sur le ribosome au cours de l'élongation	186
4. Rôle des facteurs EF-T dans la fixation de l'aminoacyl-tARN sur les ribosomes	187
5. Rôle du GTP dans la fixation de l'aminoacyl-tARN	189
6. Rôle du facteur EF-G dans l'élongation	190
7. Y a-t-il plus de deux sites sur le ribosome?	195
8. Élongation des chaînes peptidiques chez les organismes eucaryotes ...	196
BIBLIOGRAPHIE	198

VIII. TERMINAISON DES CHAINES POLYPEPTIDIQUES

1. Codons « non sens »	199
1.1. Suppression et son mécanisme	200
1.2. Mutants « non-sens » et leurs supprimeurs	201
1.3. Identification des codons ambre et ocre	202
1.4. Suppression du codon UGA	205
2. Mécanisme de la suppression	206
3. Autres types de suppression	207

4. Élimination du signal d'arrêt entre deux gènes	208
5. Données biochimiques sur le rôle du signal d'arrêt du codon ocre ...	209
6. Mécanisme de reconnaissance du signal d'arrêt	211
6.1. Recherche d'un tARN spécifique	211
6.2. Mise en évidence de facteurs protéiques de terminaison	211
6.3. Site ribosomal de la terminaison	214
6.4. Ambiguïté de la reconnaissance des codons de terminaison par les facteurs RF-1 et RF-2	215
7. Terminaison des chaînes polypeptidiques chez les organismes eucaryotes	215
8. Échange des sous-unités ribosomales au cours de la traduction	216
BIBLIOGRAPHIE	218

IX. RÉGULATION DE LA TRADUCTION

1. Organismes procaryotes	220
1.1. Exemple de régulation de la traduction d'un ARN de bactériophage	220
1.2. Rôle possible des tARN dans la régulation	221
1.3. Renouvellement de l'extrémité CCA des tARN	222
1.4. Peptidyl-tARN hydrolase	222
1.5. Rôle possible des aminoacyl-tARN synthétases	222
1.6. Rôle des facteurs d'initiation et des ribosomes	223
1.7. AMP cyclique	224
1.8. Transcription et traduction simultanée des ARN viraux	225
2. Organismes eucaryotes	227
2.1. Régulation au niveau de la transcription	227
2.2. Régulation qui précède la traduction	227
2.3. Régulation au niveau de la traduction	228
2.4. Régulation post-traductionnelle	229
BIBLIOGRAPHIE	231

X. INHIBITEURS DE LA BIOSYNTHÈSE DES PROTÉINES

1. Action sur les sous-unités ribosomales	235
1.1. Inhibiteurs de la sous-unité 30S	238
1.1.1. Streptomycine	238
1.1.2. Aminoglycosides apparentés par leur action à la streptomycine	239
1.1.3. Autres aminoglycosides	240

1.1.4. Tétracyclines	242
1.1.5. Colicine E ₃	242
1.2. Inhibiteurs de la sous-unité 50S	243
1.2.1. Chloramphénicol	243
1.2.2. Érythromycine	243
1.2.3. Lincomycine	244
1.2.4. Sparsomycine	244
1.2.5. Tétracyclines	244
1.2.6. Thiostreptones	244
2. Inhibition de l'activation des acides aminés	245
3. Inhibiteurs des facteurs solubles	245
4. Autres inhibiteurs	247
4.1. Streptogramines	247
4.2. Aminoacylaminonucléosides	247
4.3. Pactamycine et bottromycine	248
4.4. Édéines, viomycine et phénomycine	248
5. Inhibiteurs de la biosynthèse des protéines chez les organismes eucaryotes	248
5.1. Cycloheximide et anisomycine	249
5.2. Émétine	249
5.3. Toxine diphtérique	249
BIBLIOGRAPHIE	251

XI. BIOSYNTHÈSE DE PEPTIDES EN ABSENCE DU SYSTÈME RIBOSOMAL

1. Synthèse ne faisant intervenir aucun élément du système traducteur ...	272
1.1. Glutathion	272
1.2. Carnosine et ansérine	273
1.3. Antibiotiques peptidiques	274
1.3.1. Biosynthèse de la gramicidine S	275
1.3.1.1. Racémase de la phénylalanine, ATP dépendante ..	276
1.3.1.2. Formation de l'oligopeptide : D-phénylalananyl-L-prolyl-L-valyl-L-ornithinyl-L-leucine	276
1.3.1.3. Terminaison et cyclisation	278
1.3.2. Biosynthèse des thyrocidines	278
1.3.3. Conclusions	281

1. Synthèse faisant intervenir seulement certains éléments du système	281
1.1. Synthèse des ponts peptidiques entre les chaînes de peptidoglycanes	282
1.2. Biosynthèse des dérivés aminoacyls du phosphatidylglycérol	285
BIBLIOGRAPHIE	286

III. SYNTHÈSE CHIMIQUE DES POLYPEPTIDES

1. Synthèse en phase liquide	288
1.1. Protection temporaire des fonctions amines	288
1.2. Protection temporaire des fonctions carboxyles	289
1.3. Protection temporaire des chaînes latérales des acides aminés	289
1.4. Activation et condensation	290
1.5. Synthèse des peptides complexes	291
2. Synthèse en phase solide	293
2.1. Support solide et ancrage de la chaîne peptidique	294
BIBLIOGRAPHIE	294

XIII. ORIGINE ET ÉVOLUTION DE LA TRADUCTION GÉNÉTIQUE

1. Environnement primitif et synthèse des monomères	296
2. Environnement primitif et synthèse des polymères	299
2.1. Polymérisation des acides aminés	299
2.2. Polymérisation des nucléotides	301
3. Structure du code génétique actuel	302
4. Théories sur l'origine du code	304
4.1. Théorie « stéréochimique »	304
4.2. Théorie du choix arbitraire	305
5. Code primitif	306
5.1. Code primitif et nombre de bases	306
5.2. Évolution du code primitif	307
5.2.1. Modèle de mutation létale (ML)	307
5.2.2. Modèle de la traduction avec erreurs et ambiguïtés (TEA)	308
5.2.3. Modèle de l'extension du vocabulaire	308
5.2.4. Conclusions	309
BIBLIOGRAPHIE	309
INDEX	311