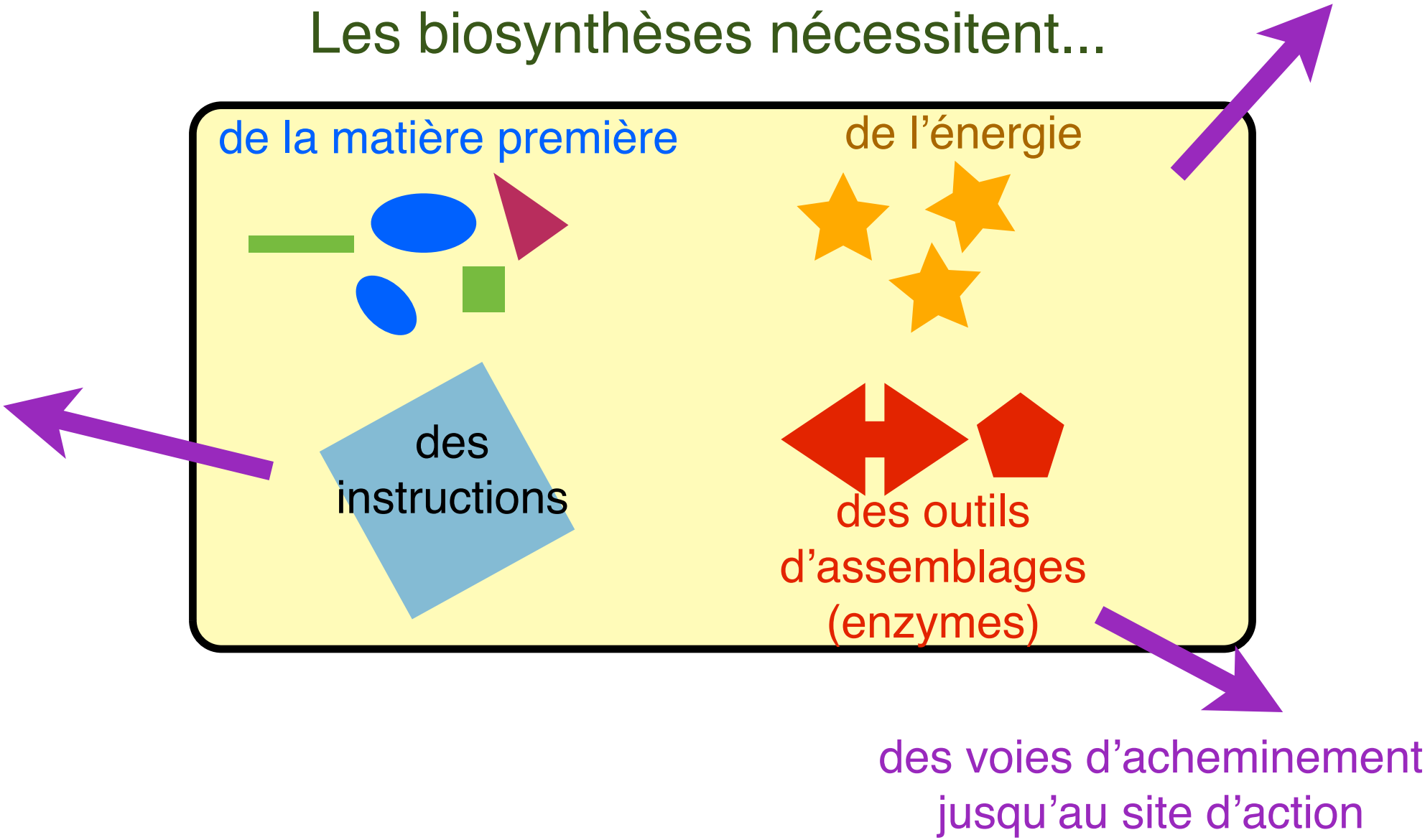
Chapitre 2
Les biosynthèses au sein de la cellule

Biosynthèses - introduction

Les biosynthèses nécessitent...



1. Un exemple de biosynthèse : la synthèse des protéines

Un code à 3 lettres

Hypothèse intuitive

4 bases azotées pour 20 acides aminés

intuition d'un code à 3 lettres

Expérience de Crick

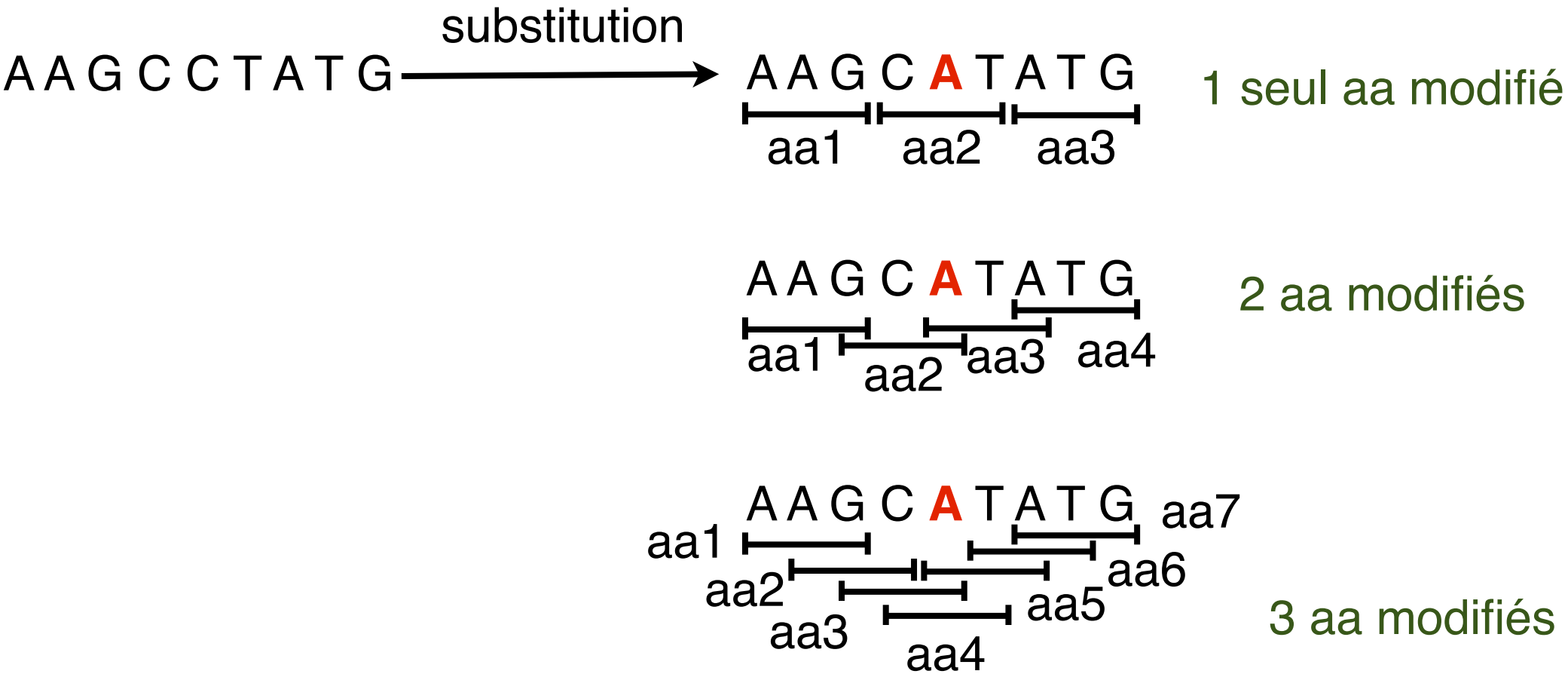
Étude sur le bactériophage T4, provoquant la lyse d'*E. coli K*.

- utilisation de proflavine, un agent mutagène induisant des délétions ou insertions courtes
- analyse de mutations +1, +2, +3... ou -1, -2, -3... et observation des conséquences sur la virulence

Seules les mutations multiples de 3 n'altèrent pas la virulence du virus

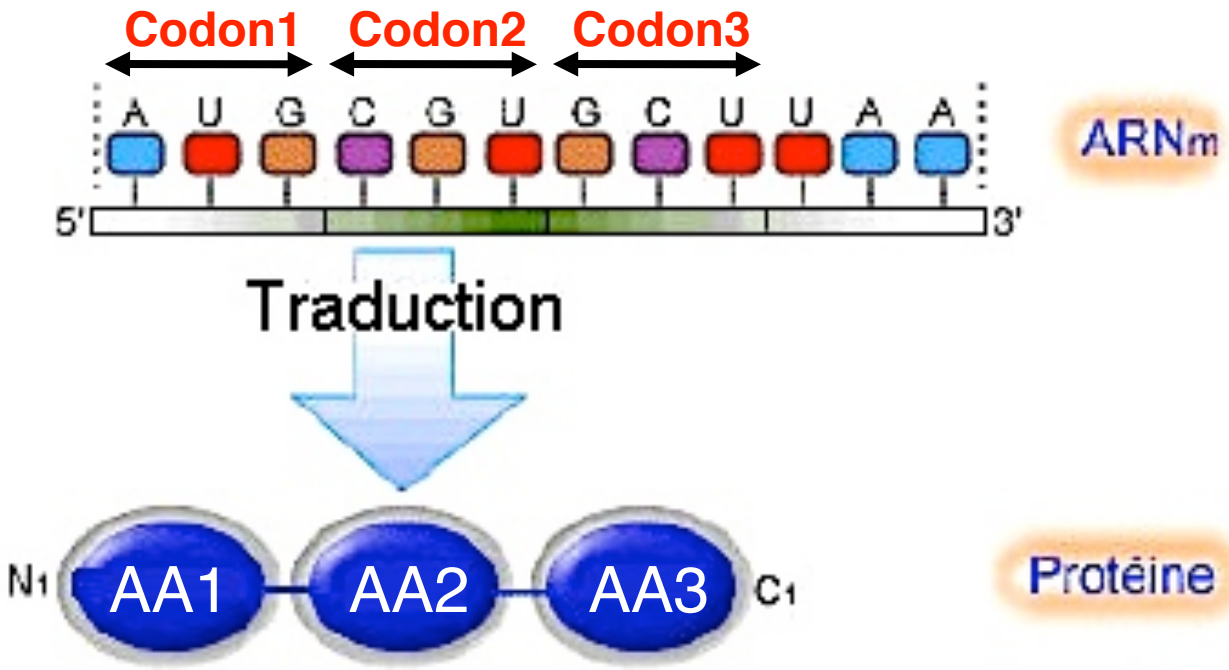
Une lecture sans chevauchement

3 hypothèses



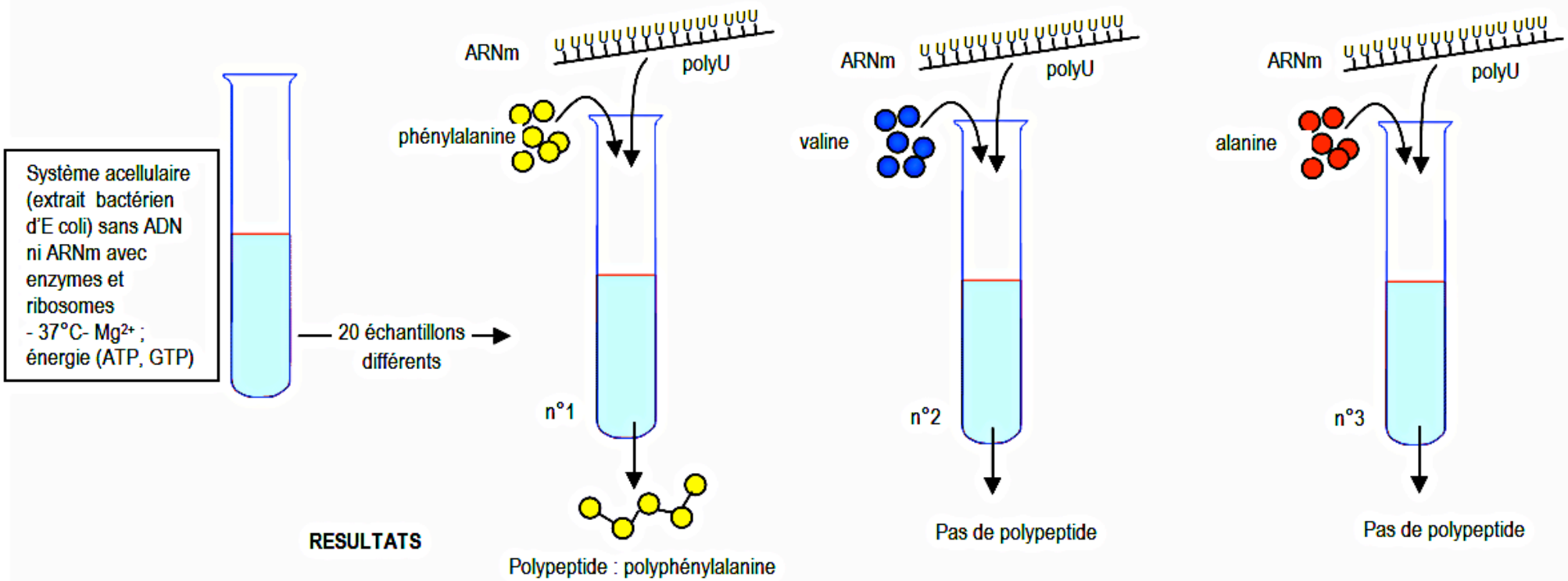
Codon et phase de lecture

origine



- 1 acide aminé est codé par 3 nucléotides successifs = 1 codon
- Lecture non chevauchante
- Point de départ fixe : 1 unique cadre de lecture

Expérience initiale de Nirenberg et Matthaei (1961)

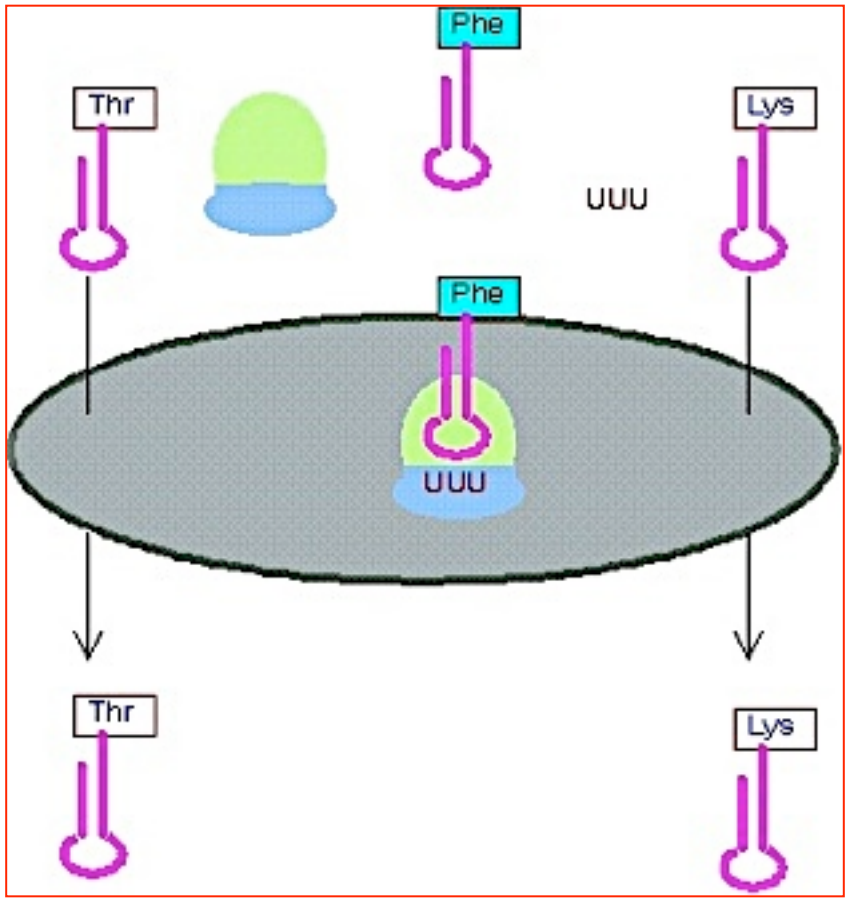


Autres expériences : avec

ARNm	polypeptide obtenu
polyA	polymère de lysine
polyC	polymère de proline

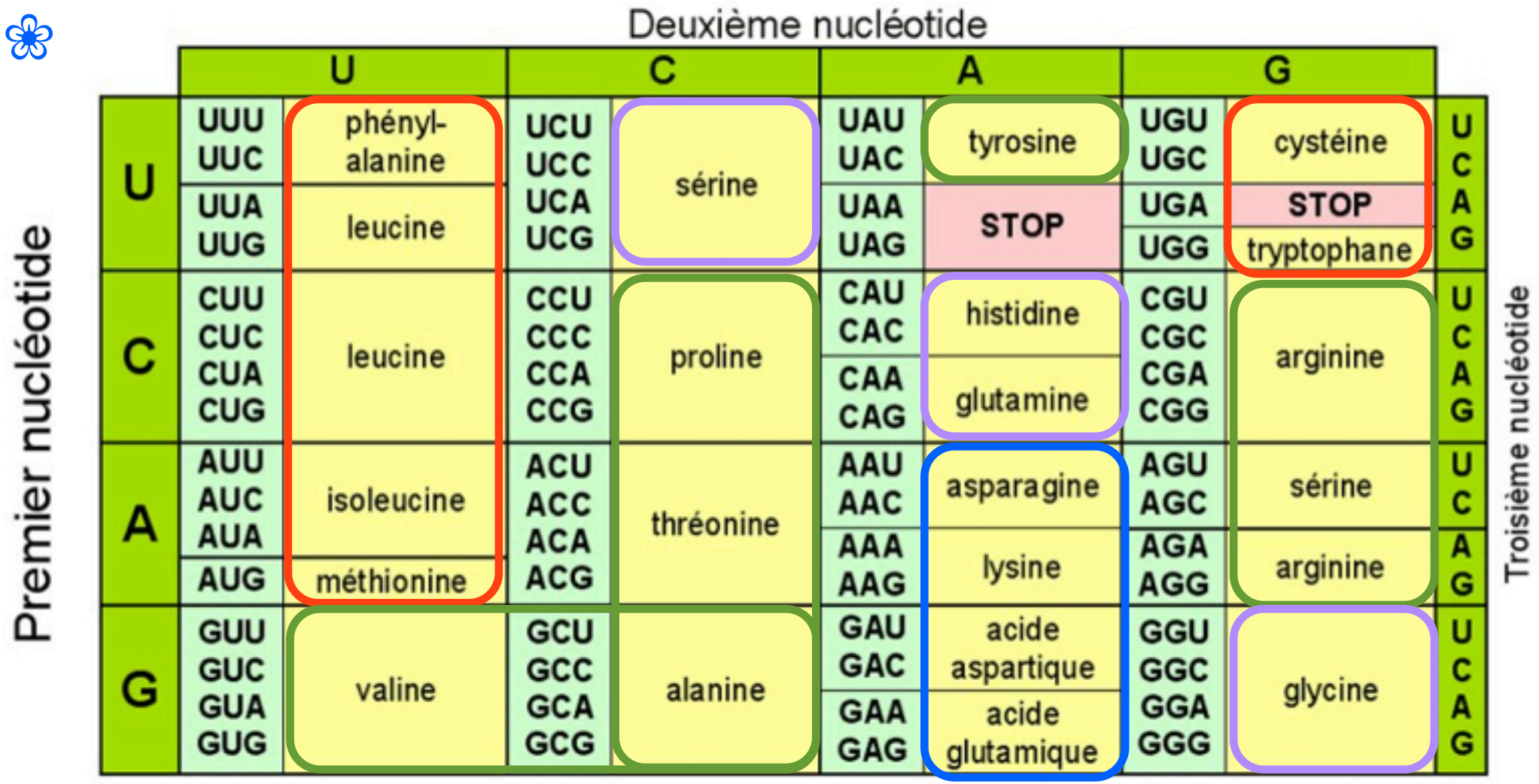
Détermination du code (1964)

Méthode des filtres moléculaires



Seul l'assemblage avec l'acide aminé correspondant au codon est retenu par le filtre

Le code génétique



hydrophobes

plutôt hydrophobes

hydrophiles

plutôt hydrophiles

Propriétés du code génétique

- **Universel**

  Existence de variants (Paramécie, mitochondries)

- **Non ambigu**

  1 codon pour 1 seul AA

- **Dégénéré = redondant**

- 1 AA pour plusieurs codons
- variation de la 3ème base = base oscillante

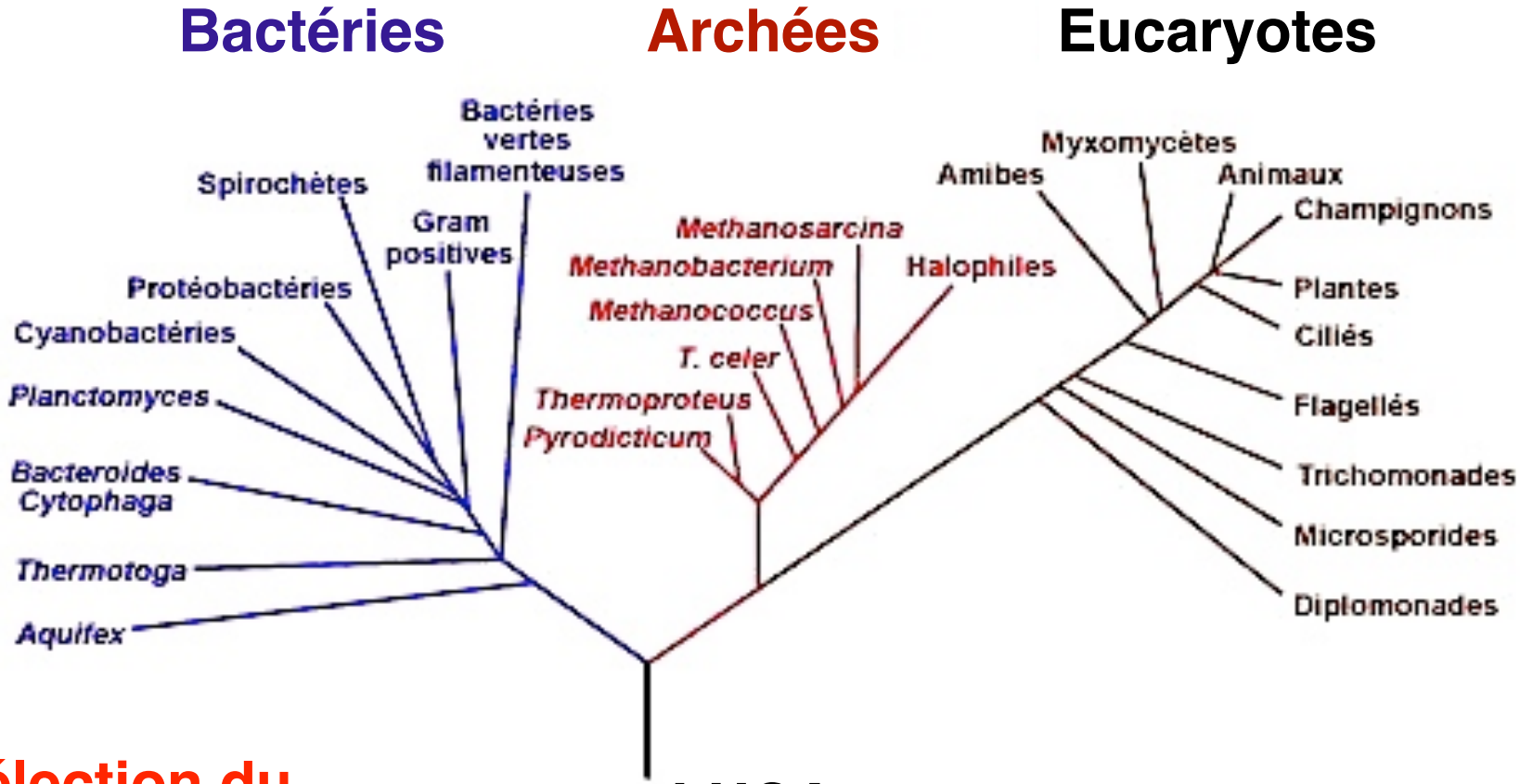
- **Non aléatoire**

Comportement de l'aa vis à vis de l'eau
souvent proche en modifiant 1 unique nt

- **codons particuliers**

START : AUG
STOP UAG, UGA, UAA

Un code ancestral

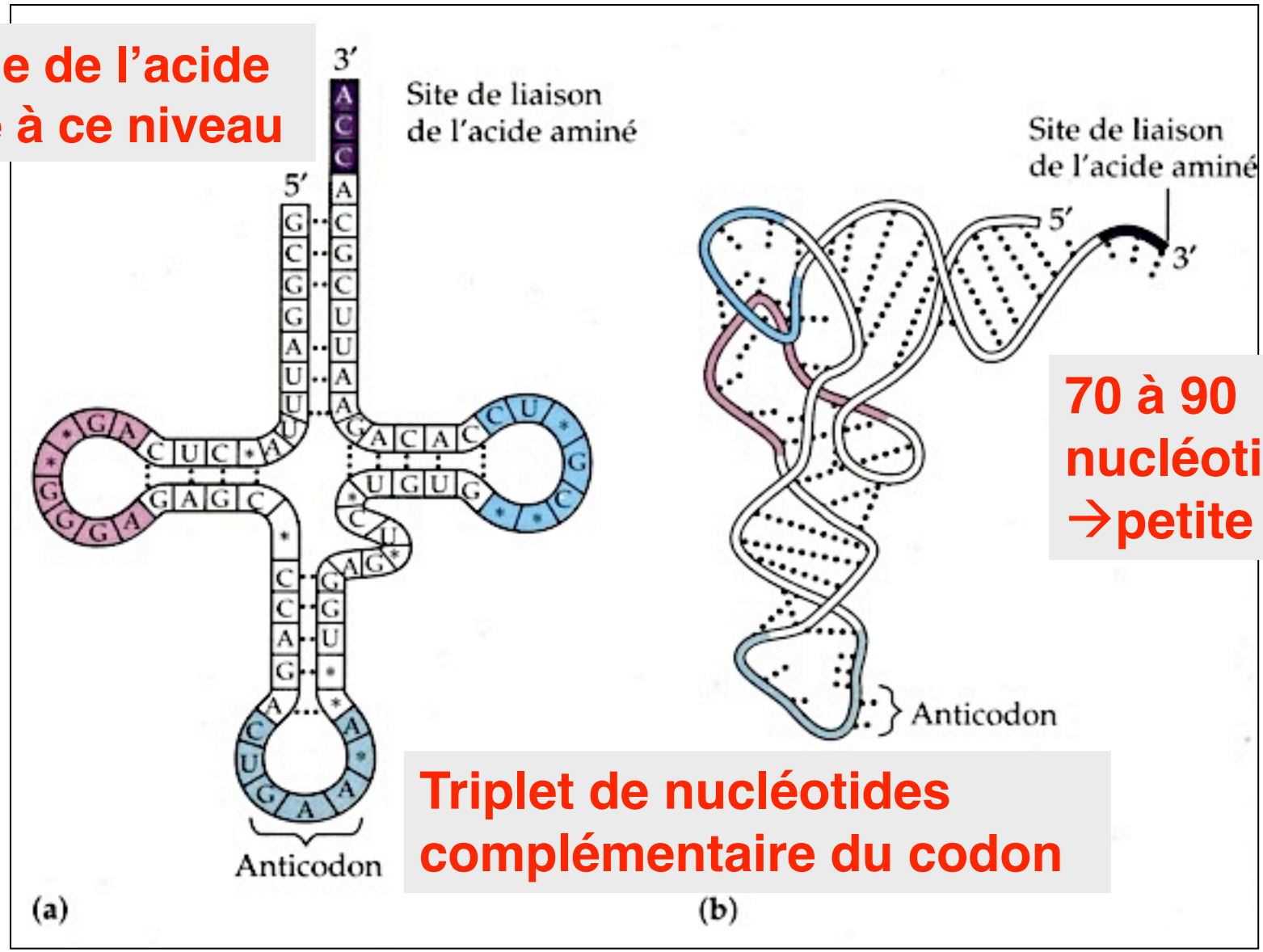


Sélection du code génétique il y a plus de 3 milliards d'années

Last Universal Common Ancestra

Structure des ARNt

Charge de l'acide aminé à ce niveau

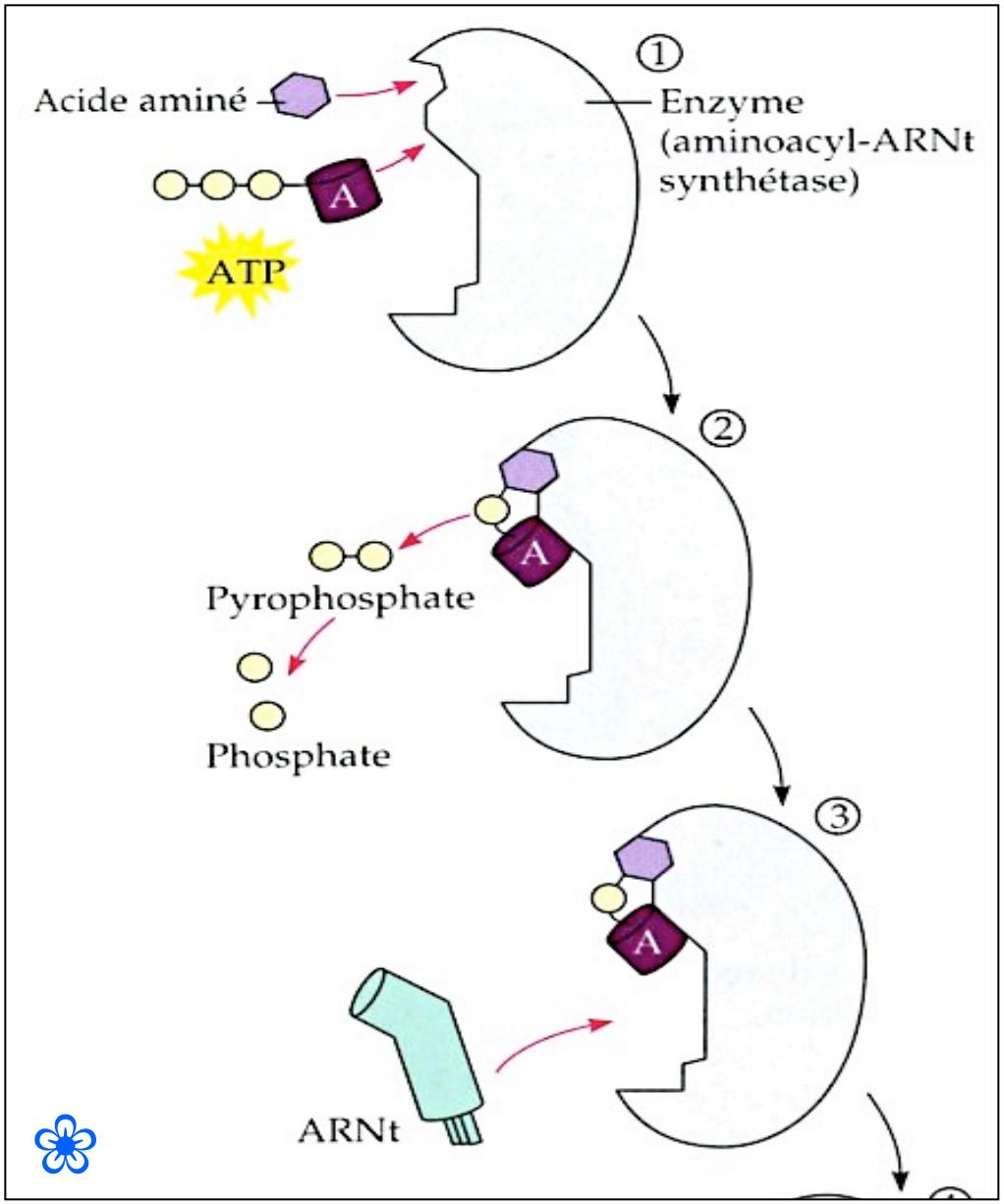


70 à 90 nucléotides →petite taille

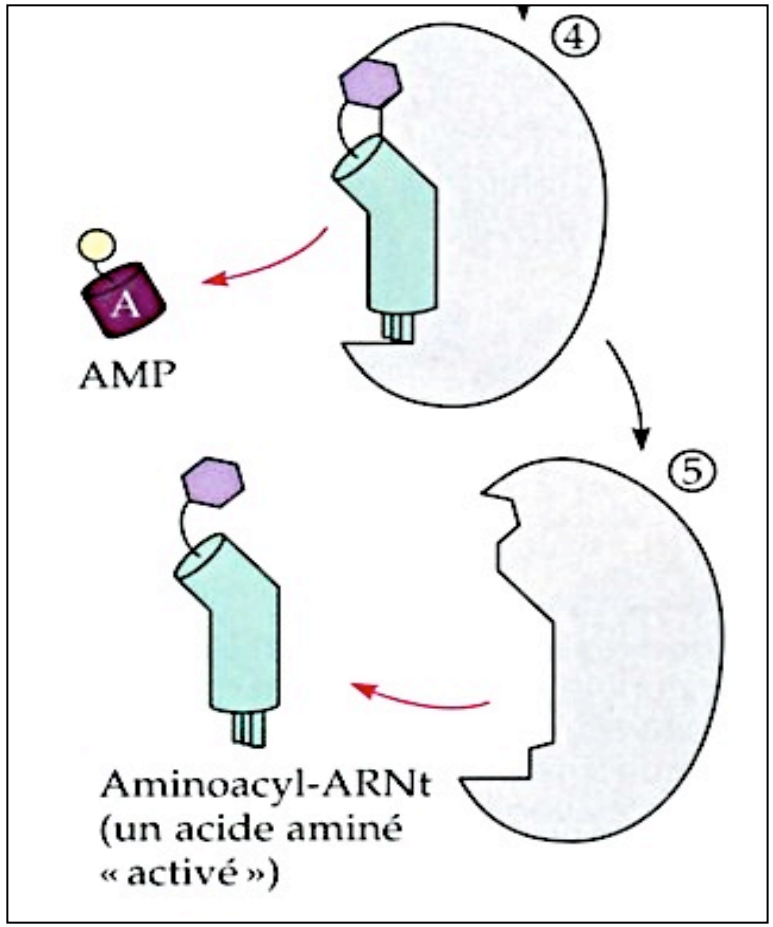
Triplet de nucléotides complémentaire du codon

a. Structure bidimensionnelle en " feuille de trèfle ".
b.Structure tridimensionnelle en L.
(CAMPBELL N., " Biologie ", ERPI Ed., 1995).

Fixation de l'acide aminé à l'ARNt



La liaison entre acide aminé et ARNt contient une énergie potentielle.



(CAMPBELL N., " Biologie ", ERPI Ed., 1995).

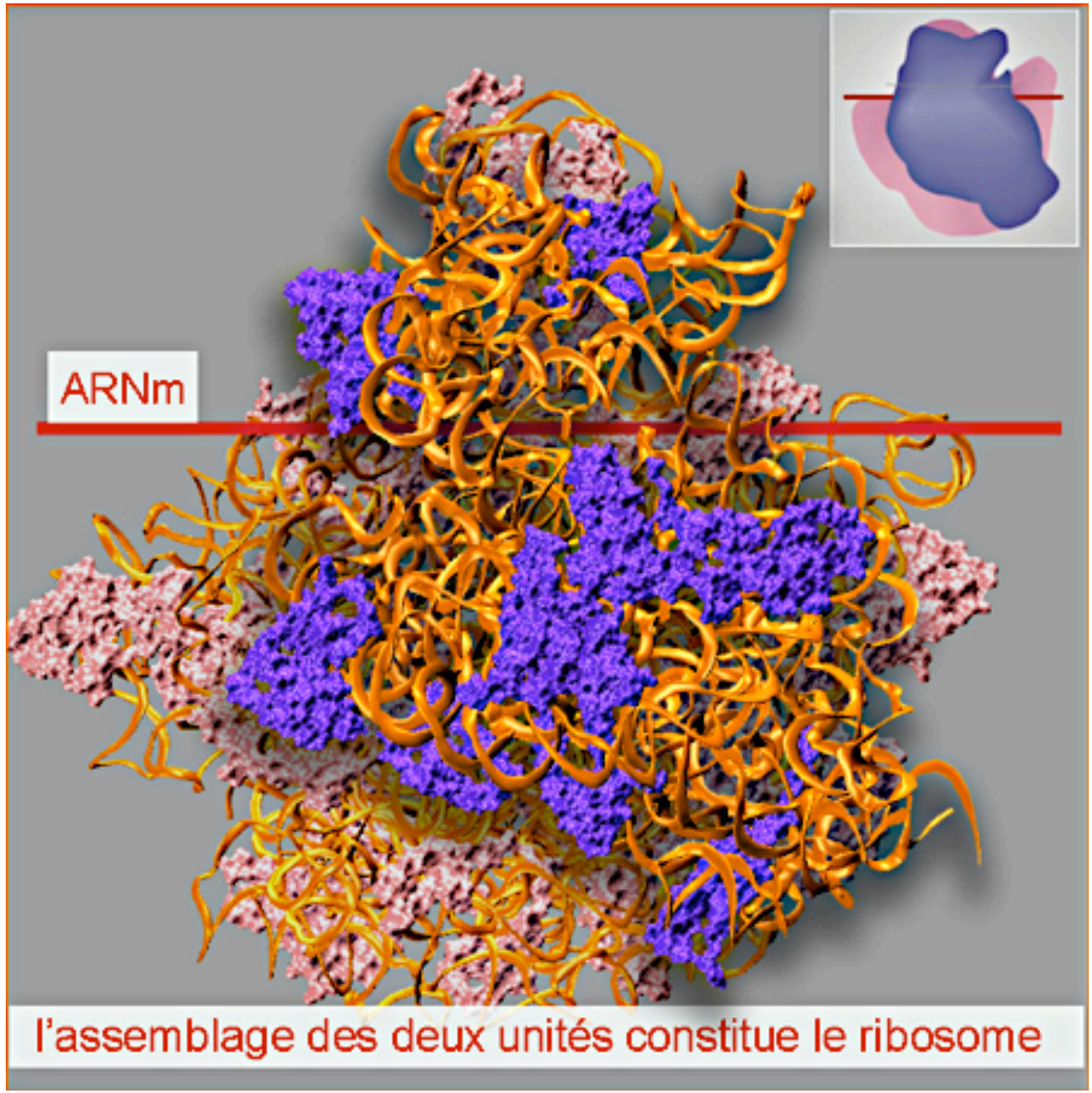
Constitution des ribosomes

	Elément	ARNr	protéines	taille globale
Procaryote	petite sous-unité 30S	**16 S**	**21**	**70 S**
	grande sous-unité 50S	**23 S + 5 S**	**31**	
Eucaryote	petite sous-unité 40S	**18 S**	**33**	**80 S**
	grande sous-unité 60S	**28 S + 5,8 S**	**49**	

Présents en grand nombre : plusieurs millions dans la cellule eucaryote

Modèle moléculaire du ribosome humain

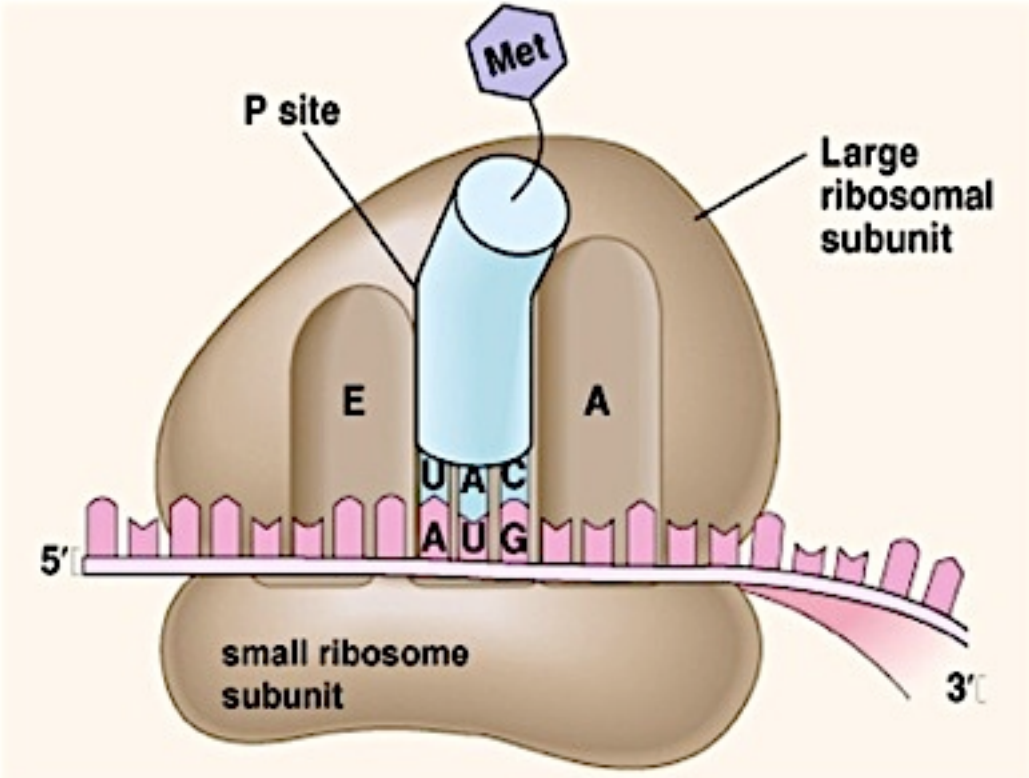
Ce complexe macromoléculaire est composé de quatre molécules d'ARN (rubans oranges) et de 82 protéines (en bleu pour la petite sous-unité et rose pour la grande sous-unité).

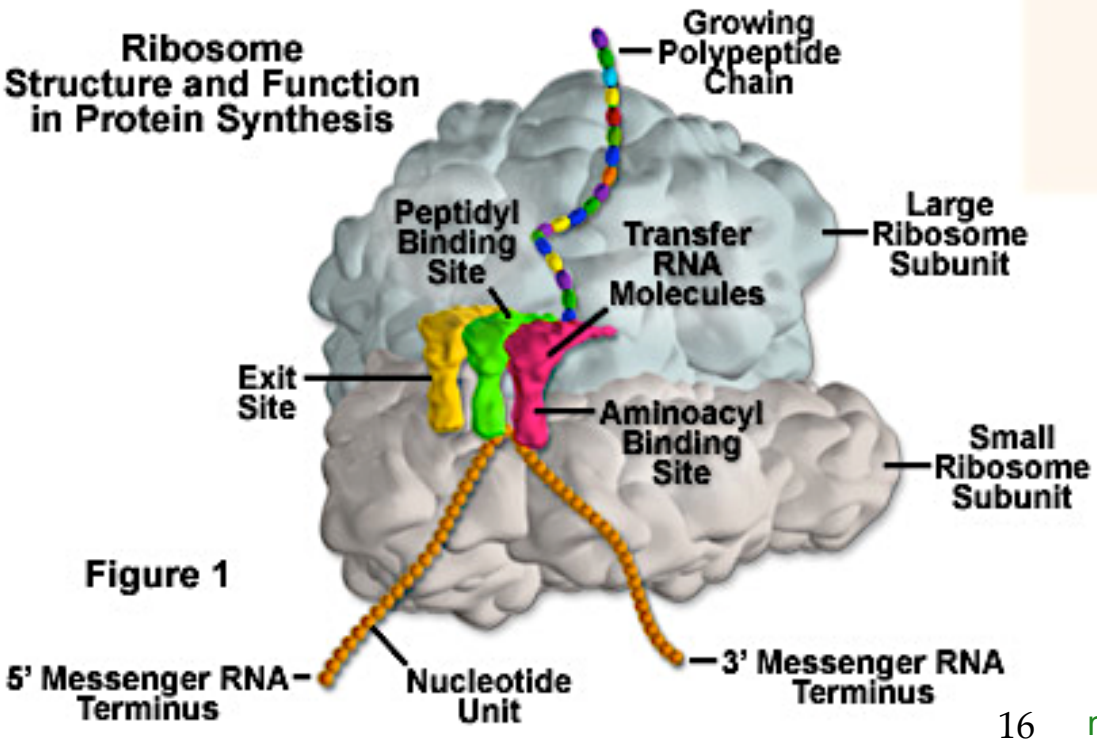


http://www.ulysse.u-bordeaux.fr/atelier/ikramer/biocell_diffusion/gbb.cel.fa.106.b3/content/access.htm#D8

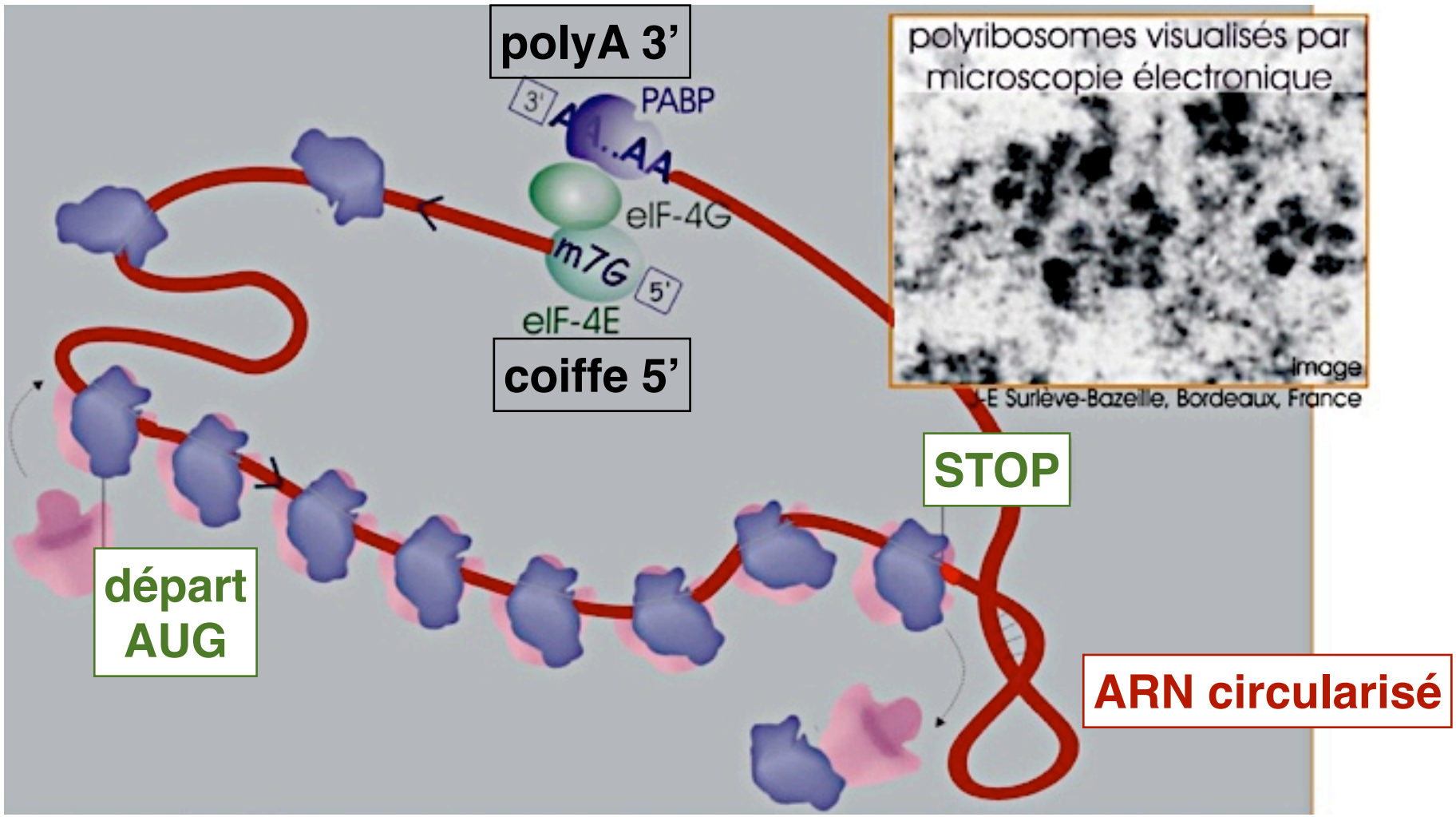
Le ribosome, espace réactif

- Liaisons faibles (complémentarité structurale)
- ARNm dans un sillon externe
- 2 sites de liaison ARNt et un site de libération de l'ARNt





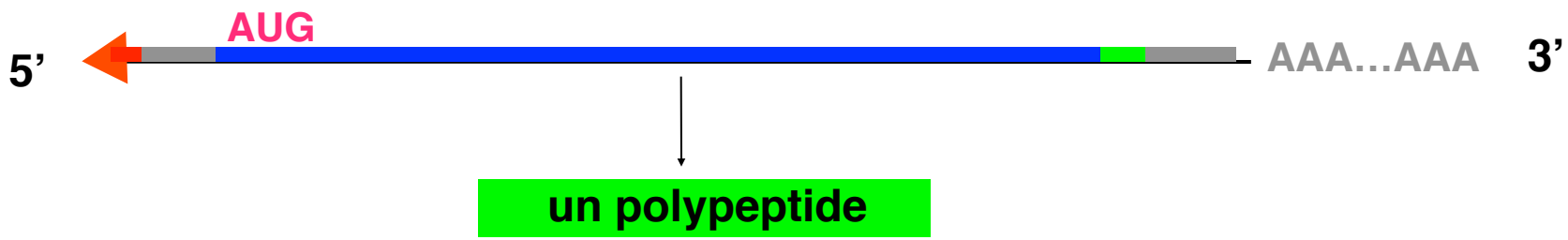
Les polysomes



Plusieurs ribosomes sont associés à un même ARNm et chacun d'eux synthétise une chaîne polypeptidique.

http://www.ulysse.u-bordeaux.fr/atelier/ikramer/biocell_diffusion/gbb.cel.fa.106.b3/content/access.htm#D8

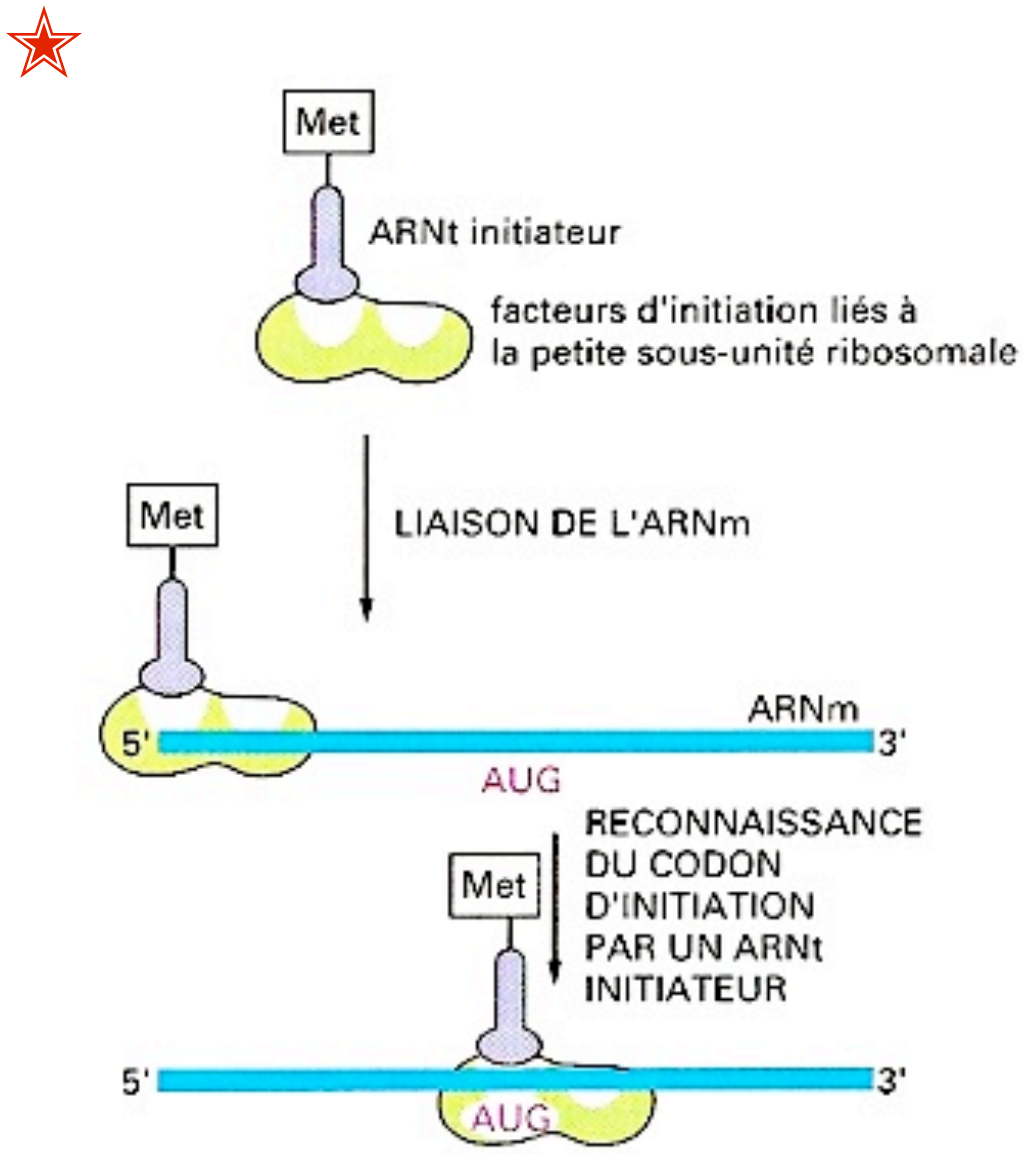
Rappel : organisation d'un ARNm eucaryote

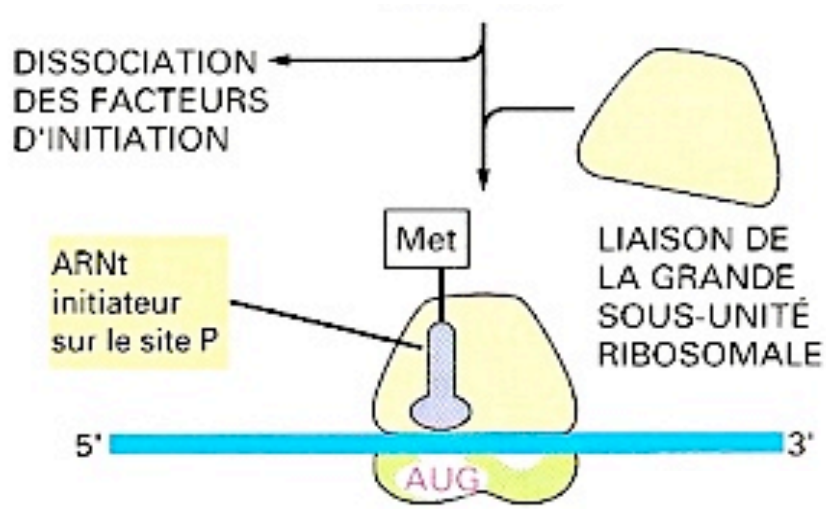


- site de liaison du ribosome
- séquence non codante
- séquence codante
- codon stop

Dans le cytosol, ARNm pseudo-circulaire chez les eucaryotes : des facteurs protéiques associent coiffe et queue poly-A.

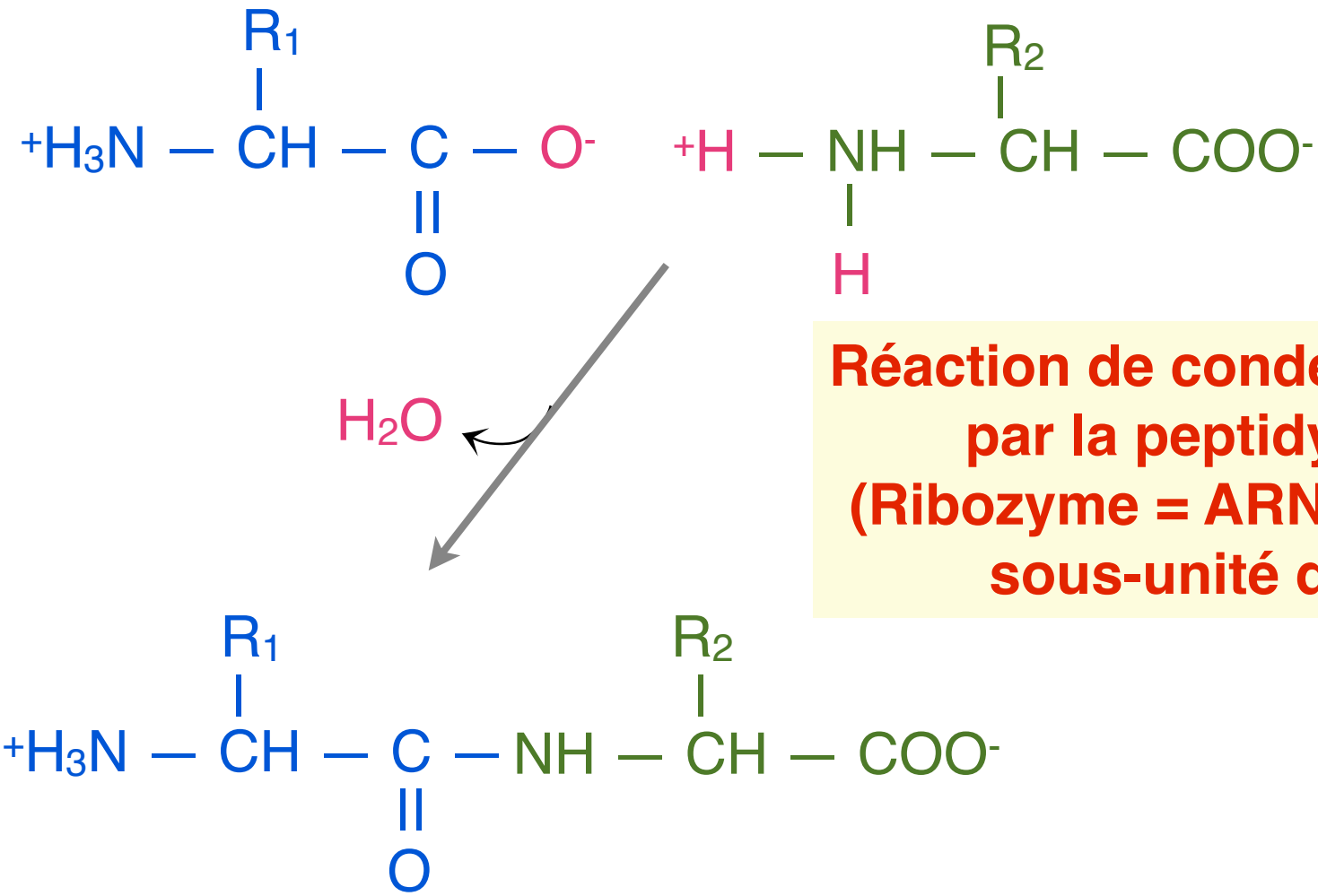
Initiation de la traduction





La traduction : une polymérisation

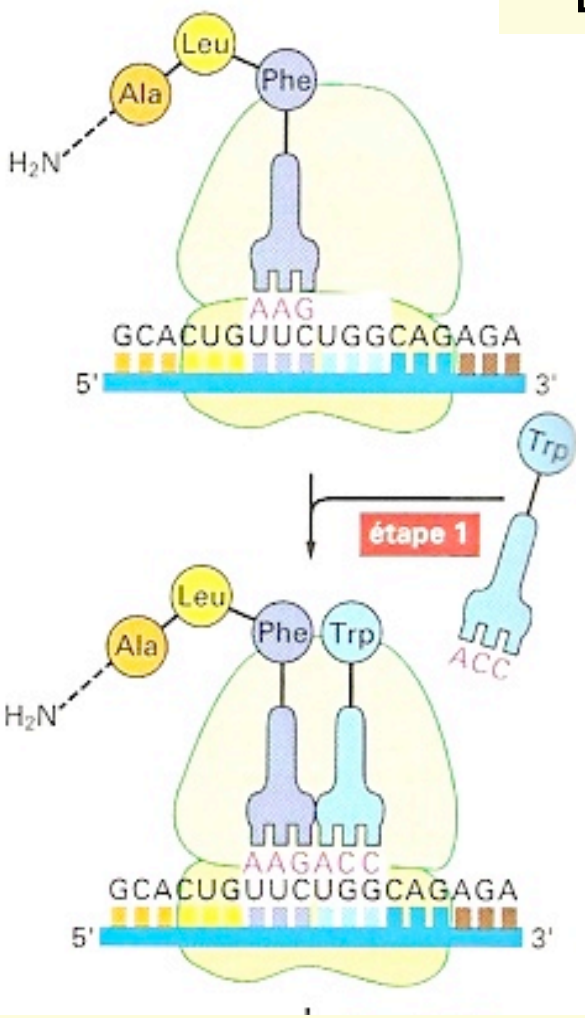
Rappel : formation d'une liaison peptidique

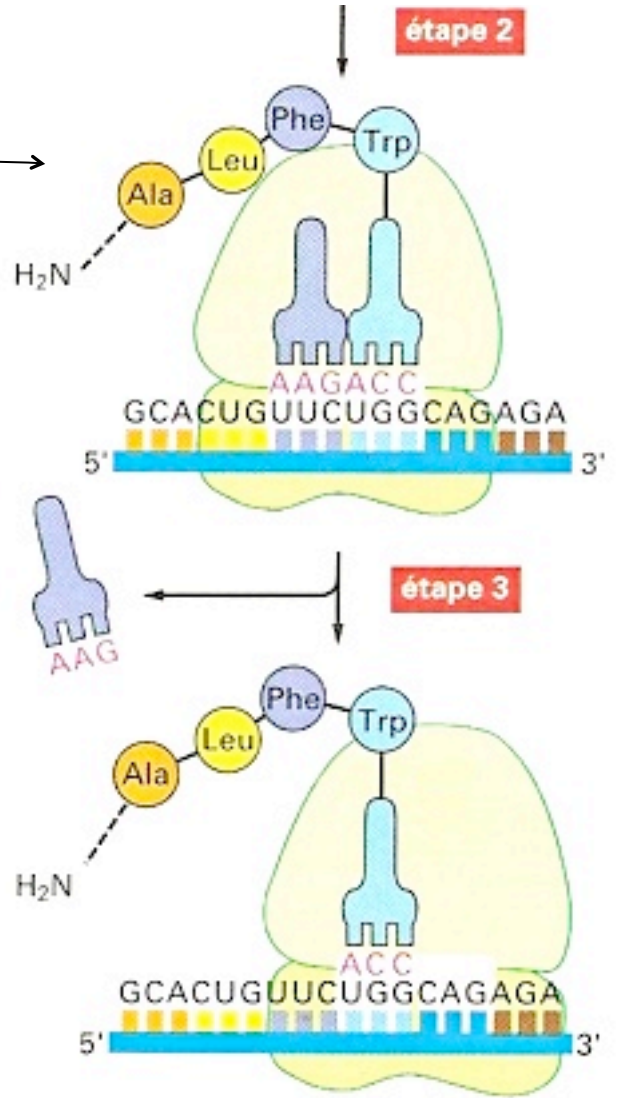


Réaction de condensation catalysée par la peptidyl-transférase (Ribozyme = ARN 28S de la grande sous-unité du ribosome)

L'élongation : polymérisation ordonnée d'acides aminés

Liaison peptidique formée grâce à l'ARN 28S

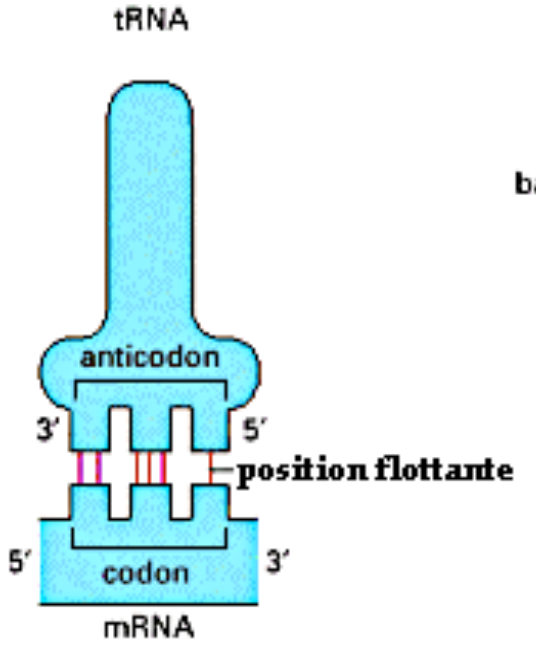




Un facteur d'élongation contrôle la bonne association moyennant un GTP

L'avancée du ribosome nécessite un GTP et un facteur d'élongation

Le flottement de la 3ème base : le wobble



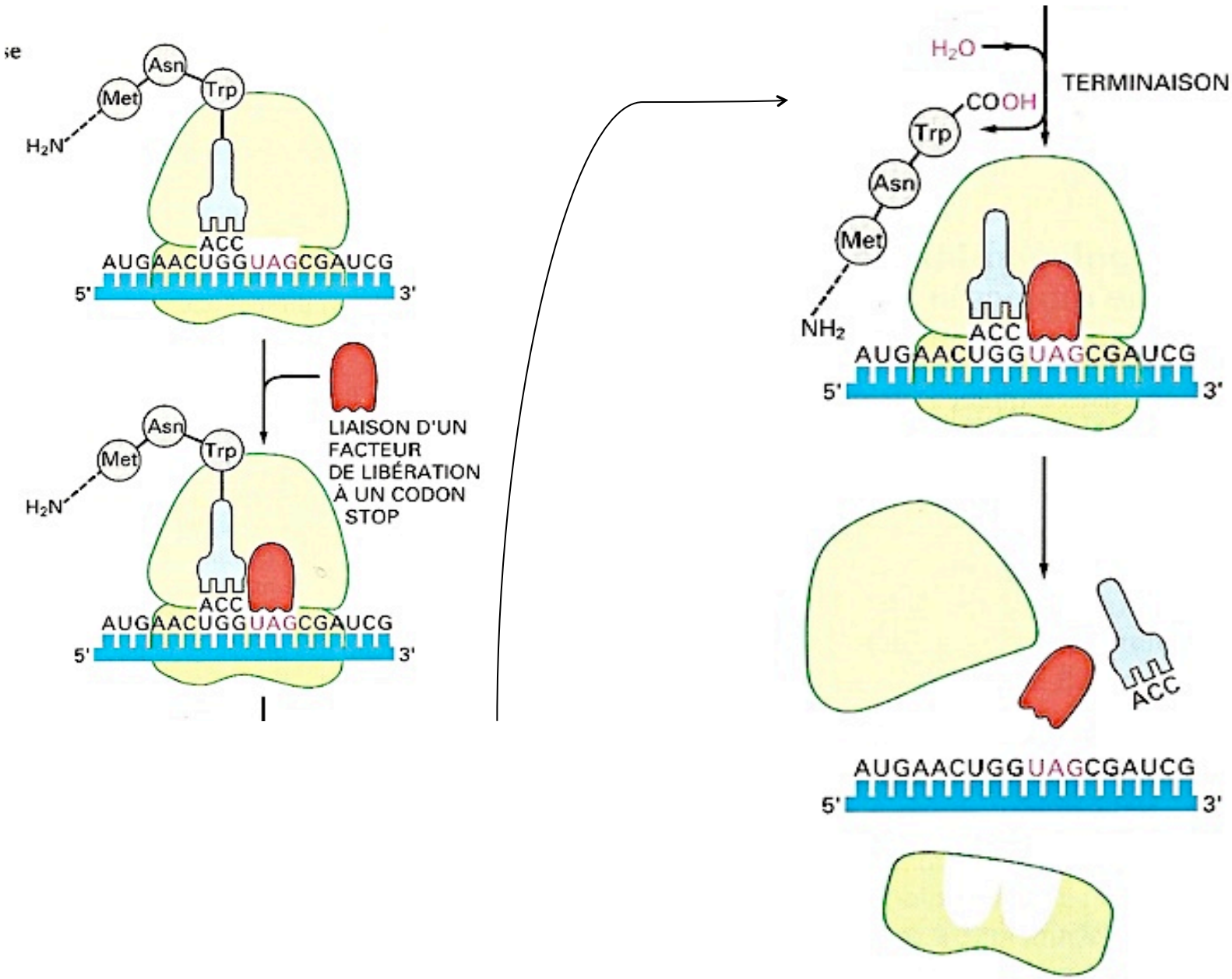
bacteria		eucaryotes	
wobble codon base	possible anticodon bases	wobble codon base	possible anticodon bases
U	A, G, or I	U	G or I
C	G or I	C	G or I
A	U or I	A	U
G	C or U	G	C

I : inosine, équivalent désaminé de la guanosine

Les codons UUU et UUC de Phe sont tous les deux reconnus par l'ARNt dont l'anticodon est GAA.

La traduction a lieu avec 30 à 40 sortes d'ARNt dans le cytosol eucaryote, 22 dans les mitochondries.

La terminaison

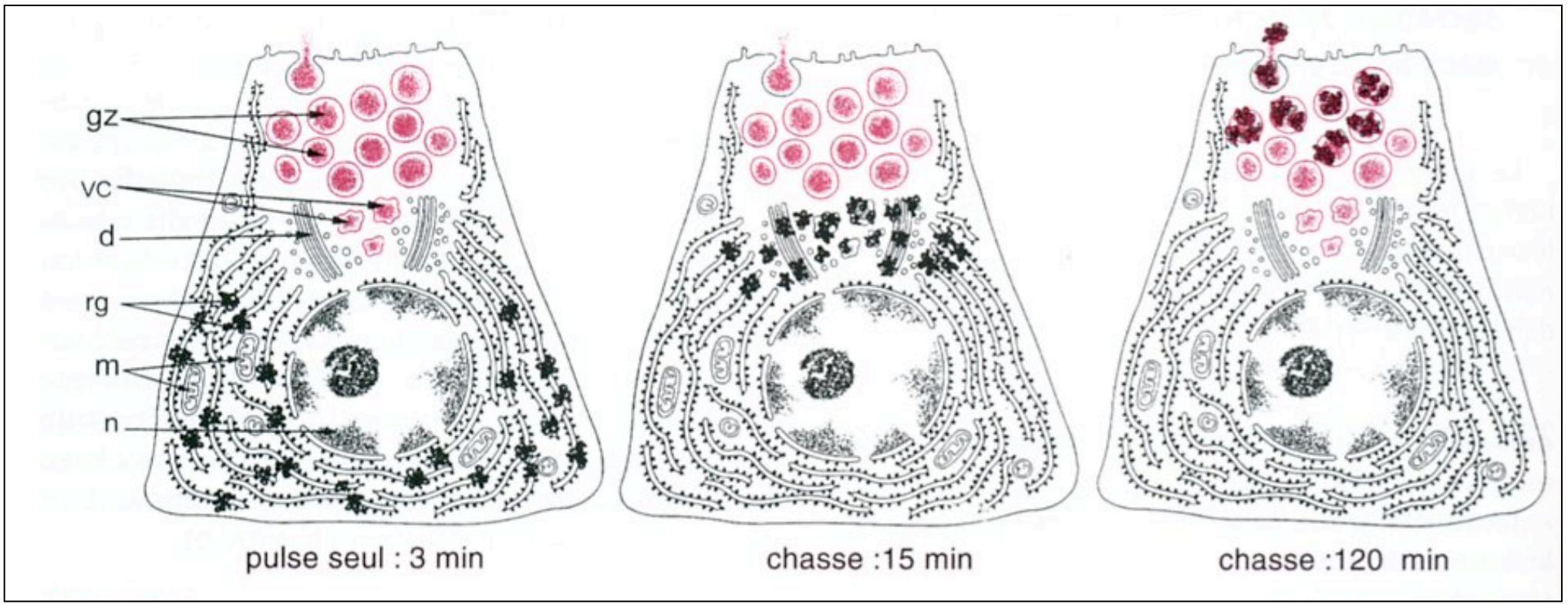


Expérience de Palade

Pulse = marquage des cellules pendant quelques minutes avec de la leucine tritiée

Chasse = temps passé dans un milieu froid (= non radioactif) : les cellules sont autoradiographiées à différents temps de chasse pour localiser la radioactivité.

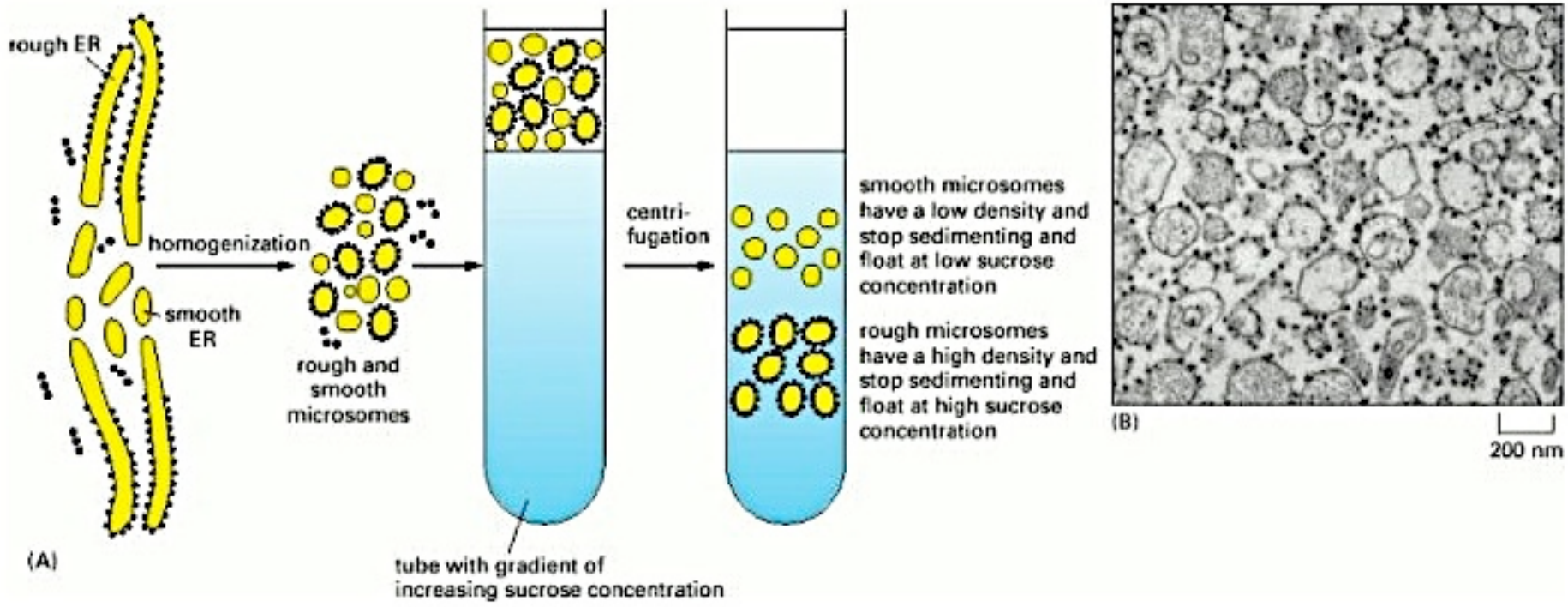
Pôle apical : côté lumière, espace de sécrétion



Pôle basal : côté capillaires

Mise en évidence d'un signal de sécrétion

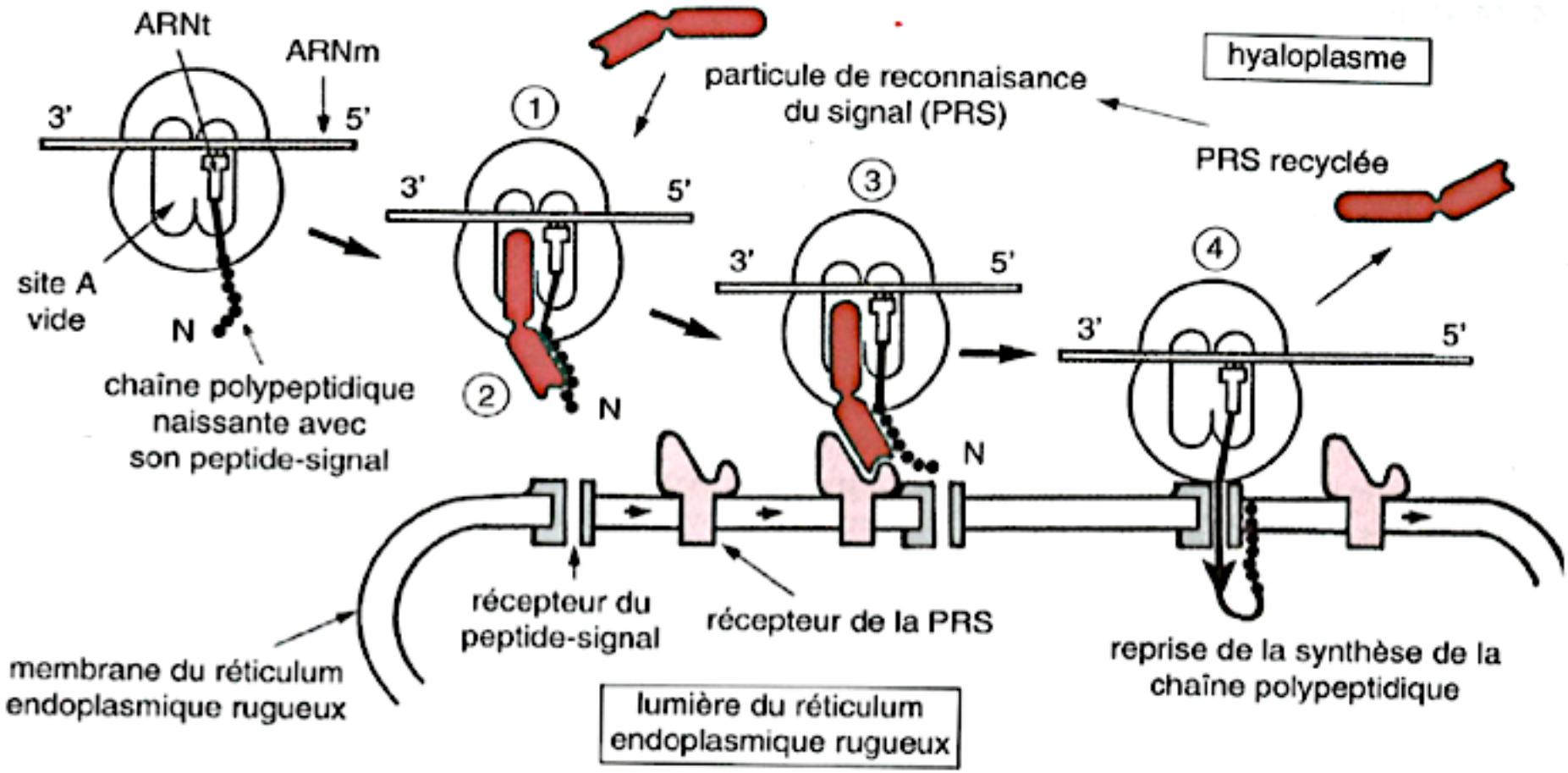
Obtention de microsomes



Expériences de traduction in vitro d'une protéine sécrétée : **Hypothèse du signal**

- Sans microsomes => protéine plus longue
- Avec microsomes => protéine de longueur normale
- + protéases – microsomes => protéine dégradée
- + protéases + microsomes => protéine intacte
- protéine dépourvue de signal + microsomes + protéases => protéine dégradée

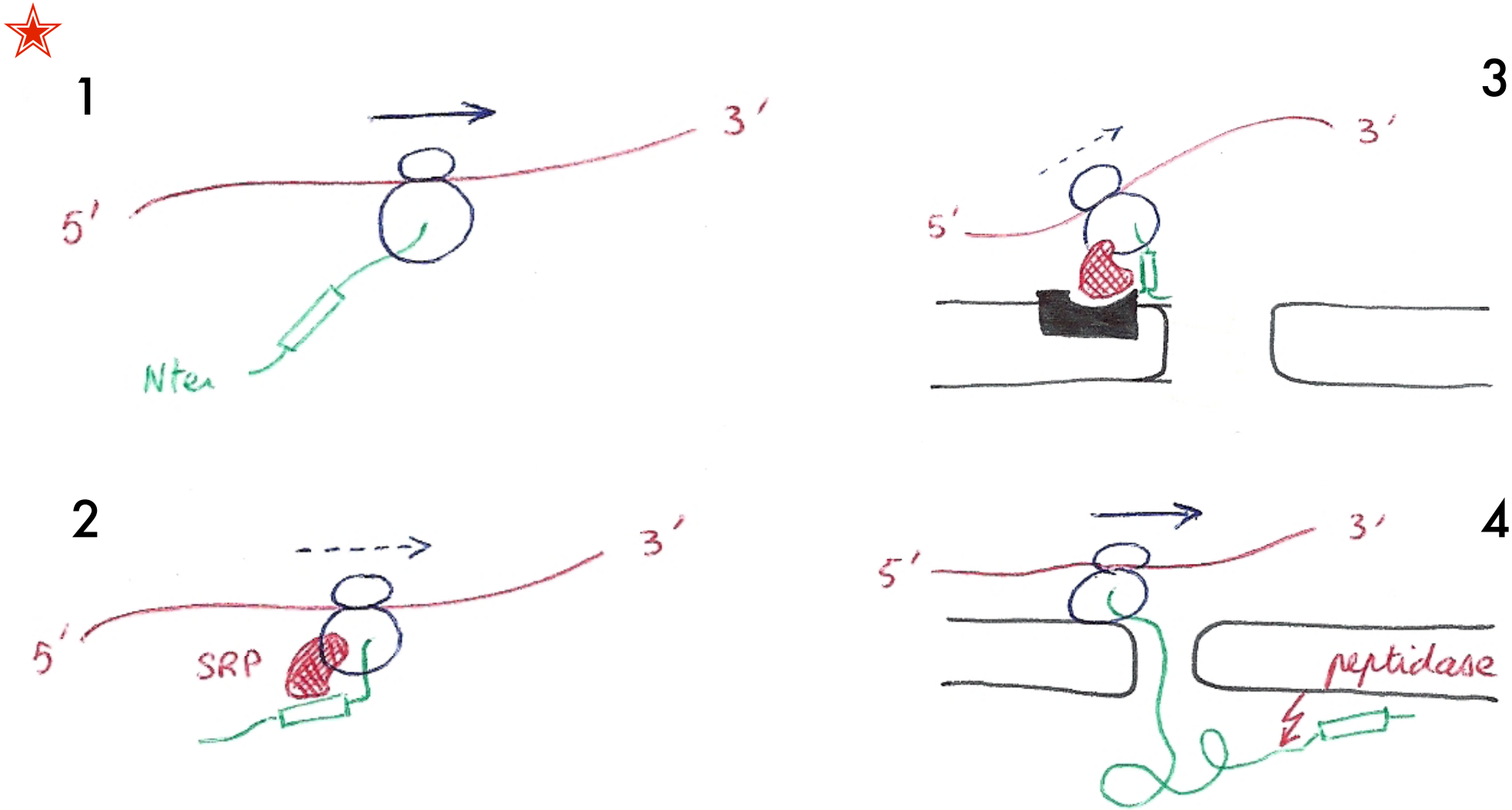
Translocation des protéines membranaires et sécrétées vers le REG



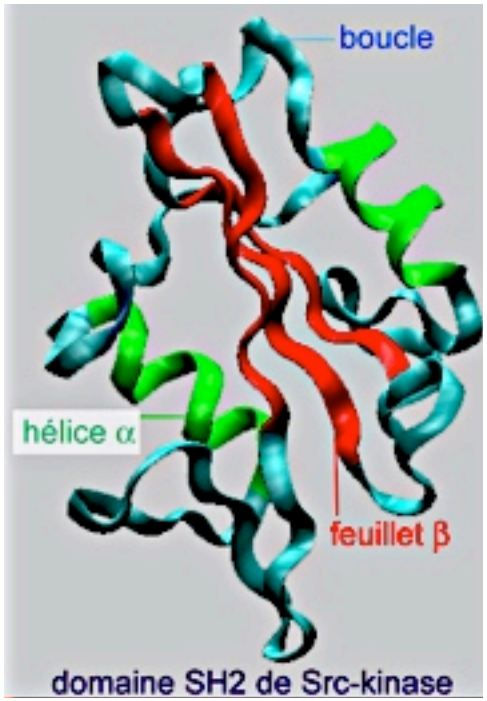
SRP = ribonucléoparticule : 6 protéines + 1 ARN

http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p247/RE1.pdf

Translocation des protéines membranaires et sécrétées vers le REG



Maturation structurale des protéines

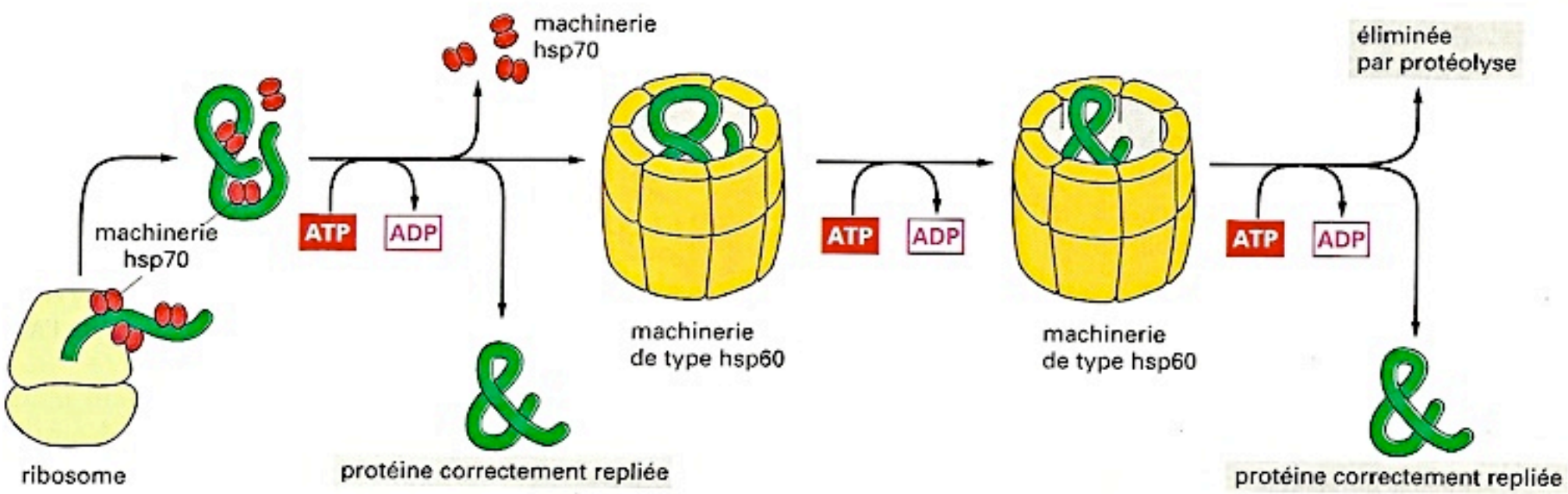


Les protéines sont des chaînes d'acides aminés formant

- des boucles,
- des hélices **α**
- et/ou des brins β

http://www.ulysse.u-bordeaux.fr/atelier/ikramer/biocell_diffusion/gbb.cel.fa.106.b3/content/access.htm#D8

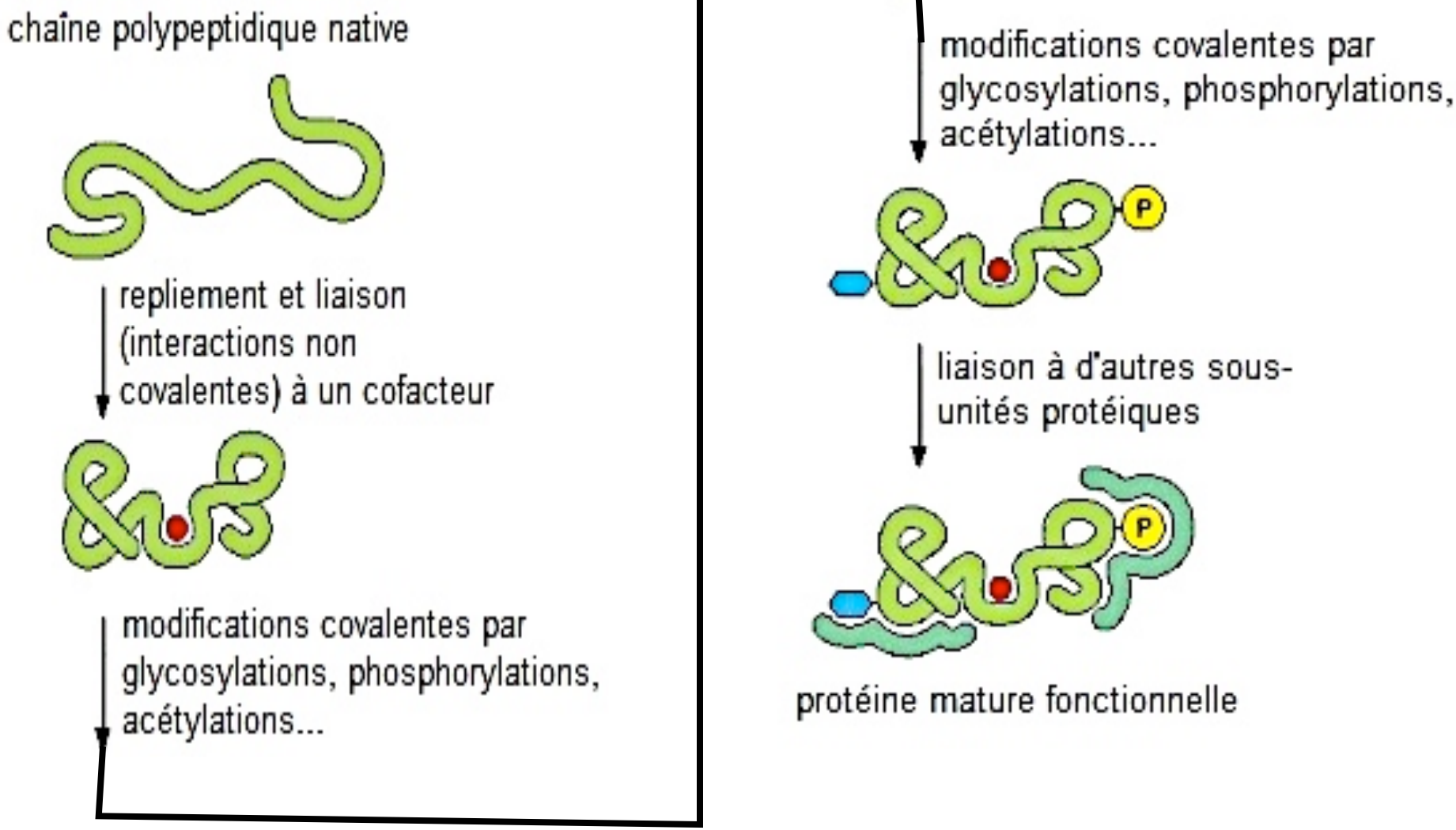
Les molécules chaperonnes



Les protéines Hsp70 agissent précocement, en reconnaissant de petites régions à la surface de protéines.

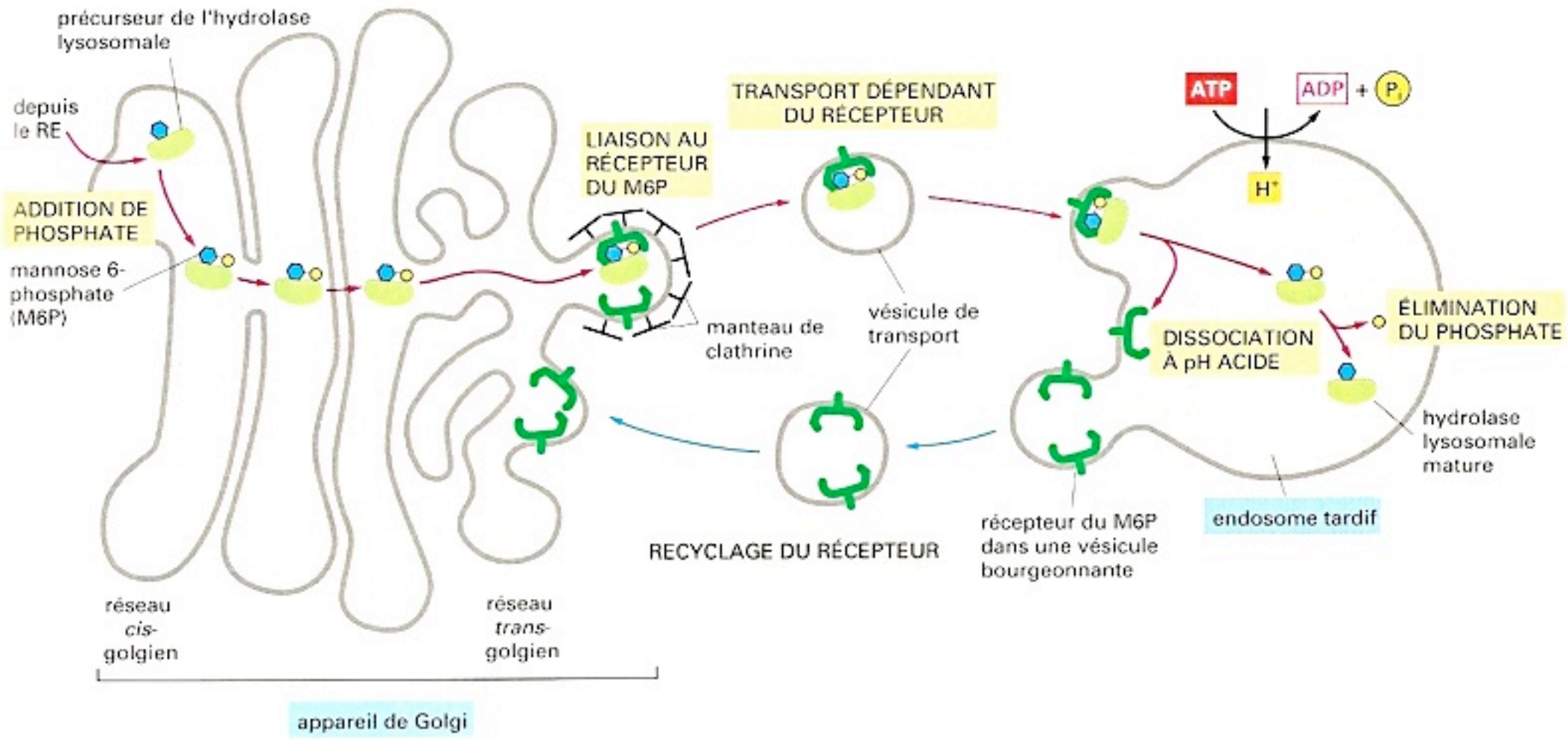
Les protéines Hsp60 agissent ensuite sur les protéines non repliées correctement (donc instables) avec hydrolyse d'ATP pour catalyser l'adoption de leur conformation finale.

Maturation des protéines



ALBERTS B. et coll., " Molecular Biology of the Cell ", 4e edition

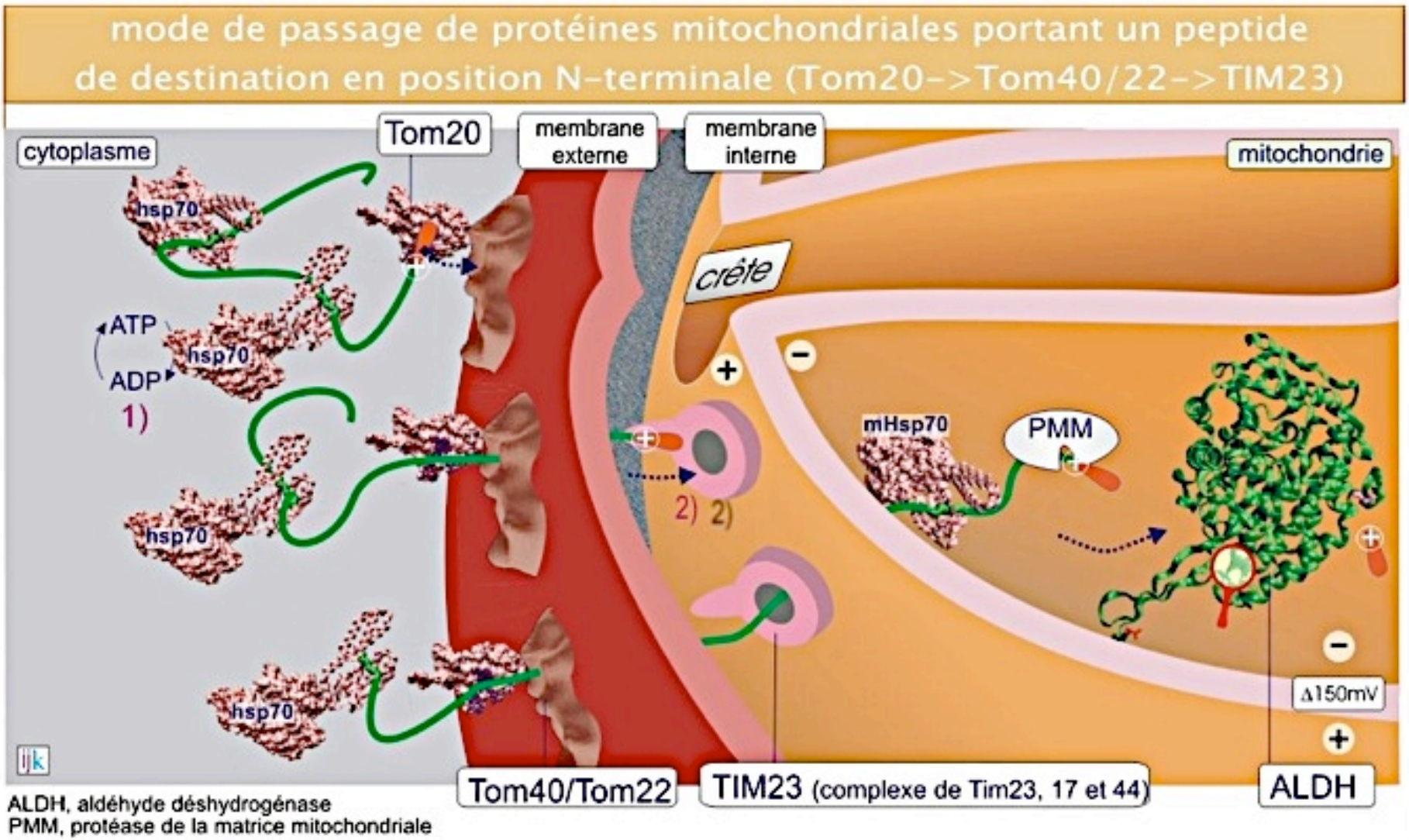
Adressage vers le lysosome



Le mannose 6 phosphate est une information de position «lysosome»

(ALBERTS B. et coll., " Biologie moléculaire de la cellule ", 3e edition)

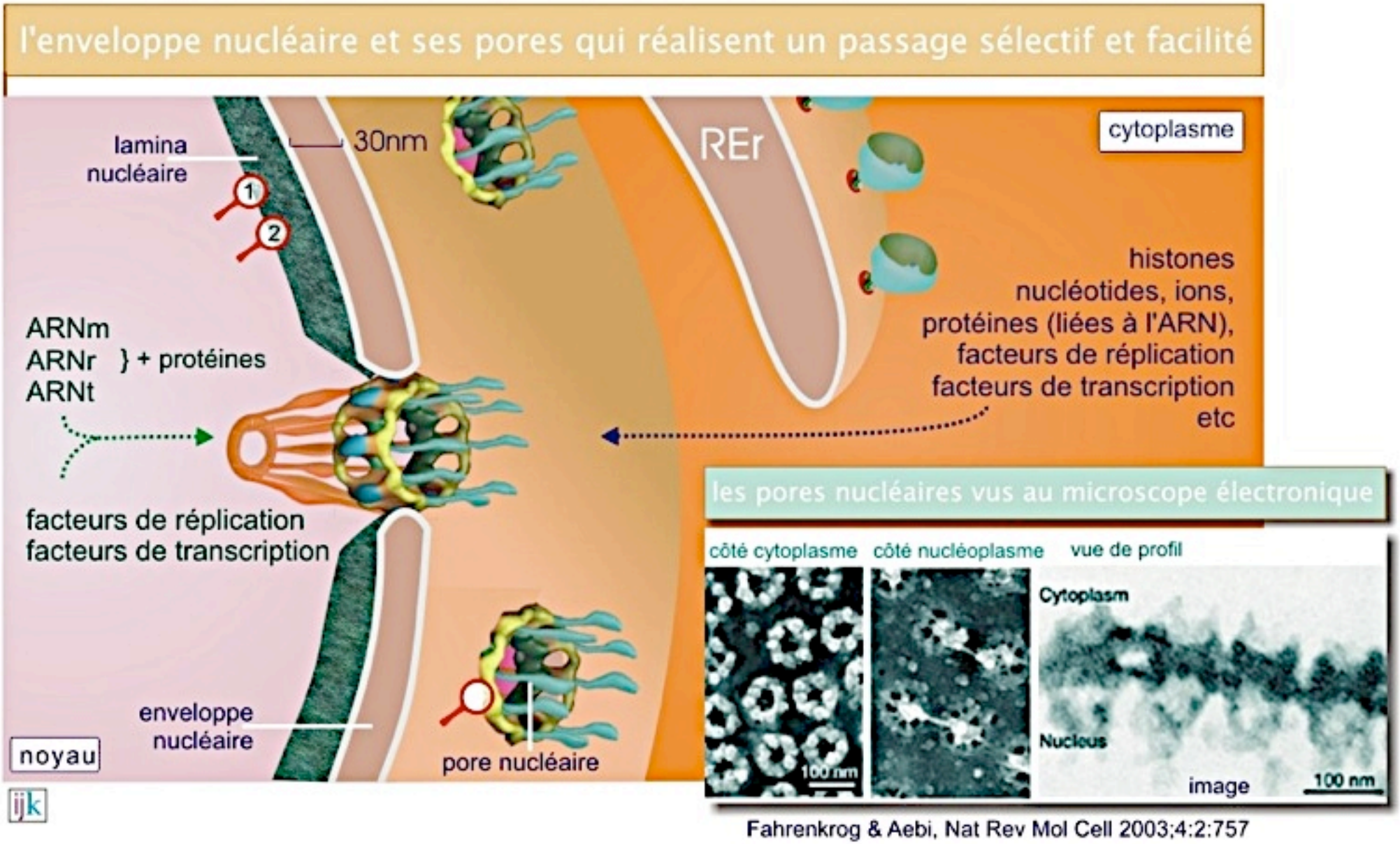
Adressage des protéines mitochondriales à codage nucléaire



TOM = Translocon of the Outer Membrane
TIM = translocon of the Inner Membrane

http://www.ulysse.u-bordeaux.fr/atelier/ikramer/biocell_diffusion

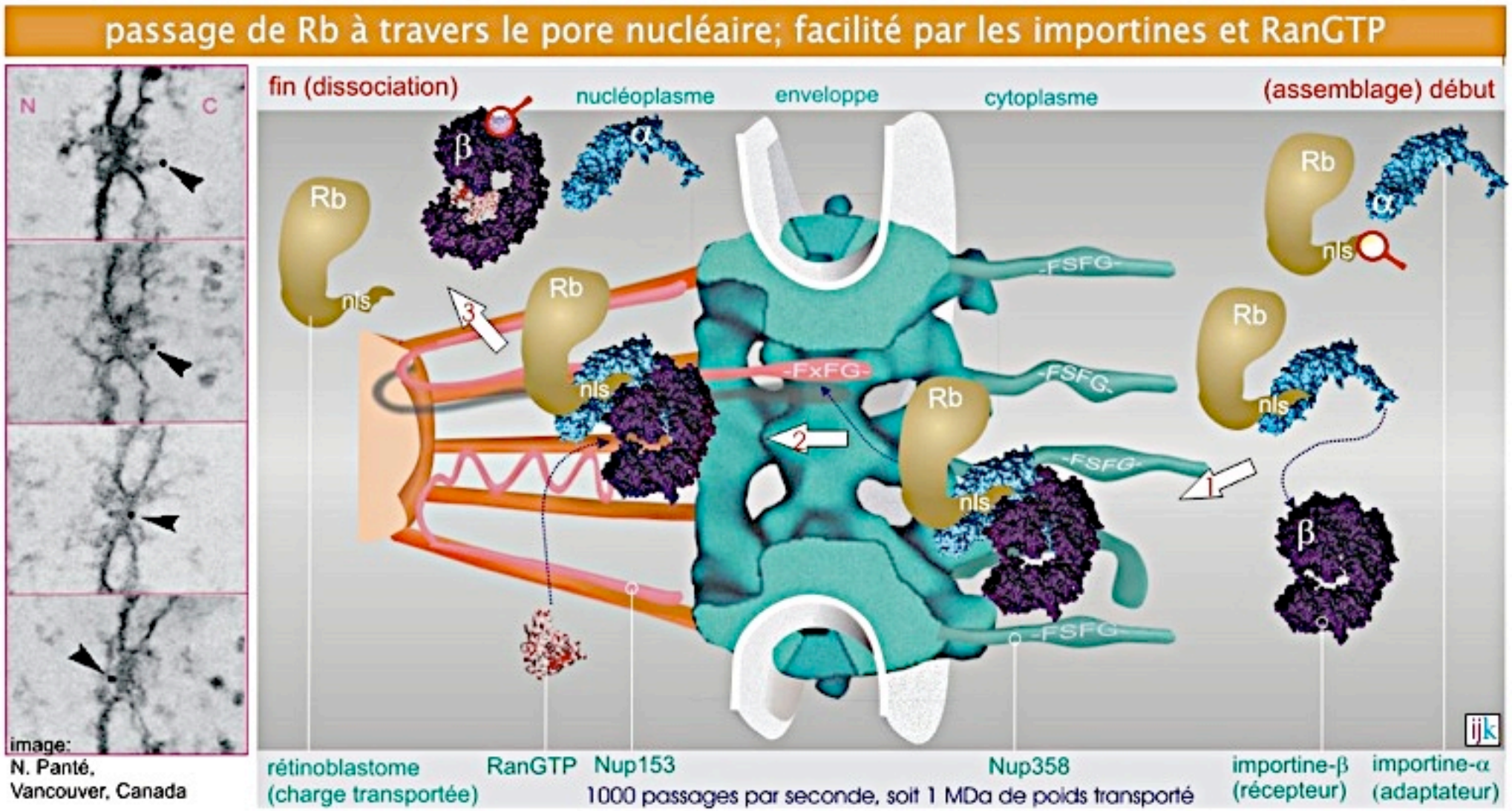
L'entrée dans le noyau : nécessité d'un SLN



Fahrenkrog & Aebi, Nat Rev Mol Cell 2003;4:2:757

http://www.ulysse.u-bordeaux.fr/atelier/ikramer/biocell_diffusion

L'entrée dans le noyau : nécessité d'un SLN

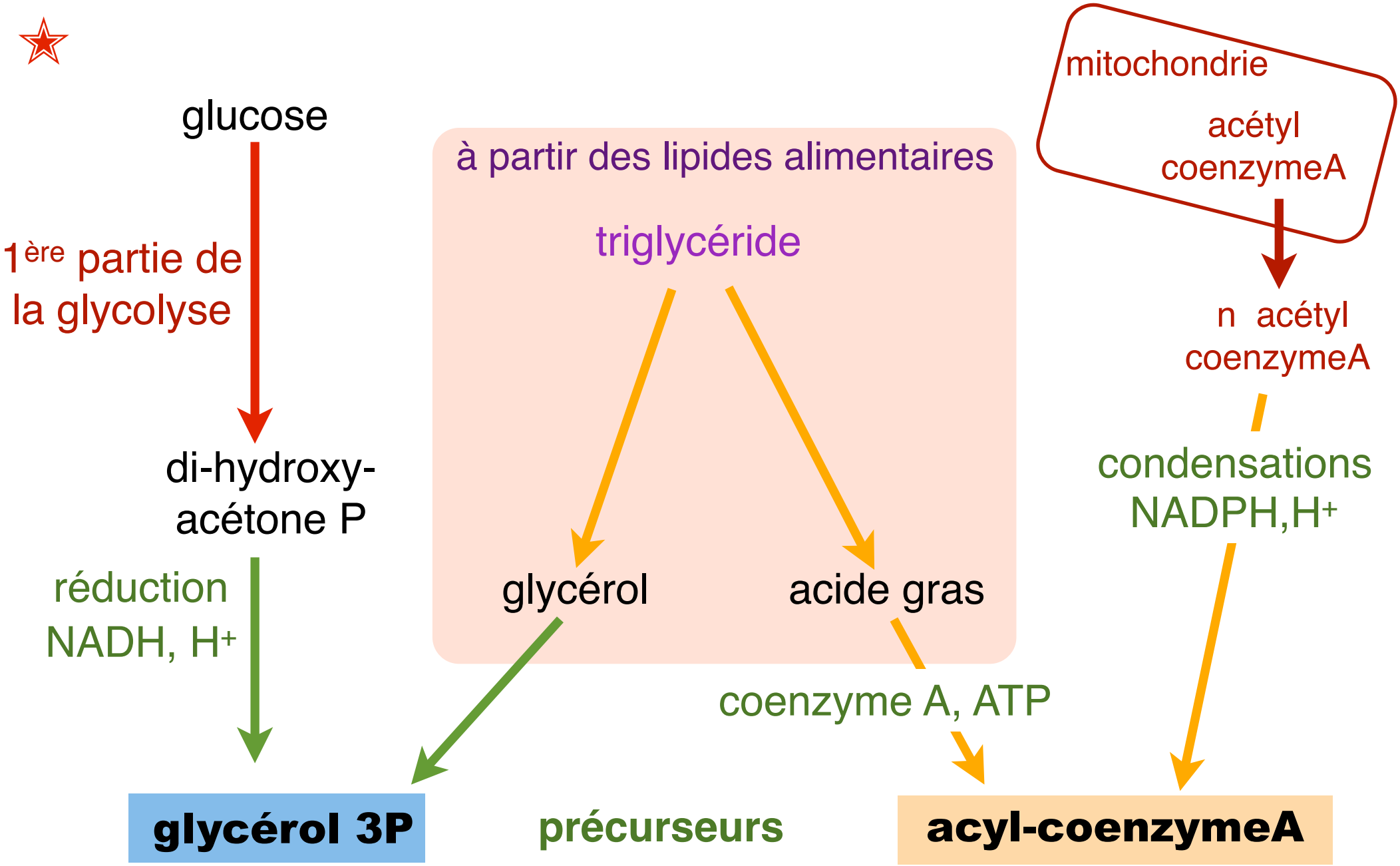


Le signal (SLN ou nls) est associé à un complexe qui permet de passer à travers les pores nucléaires

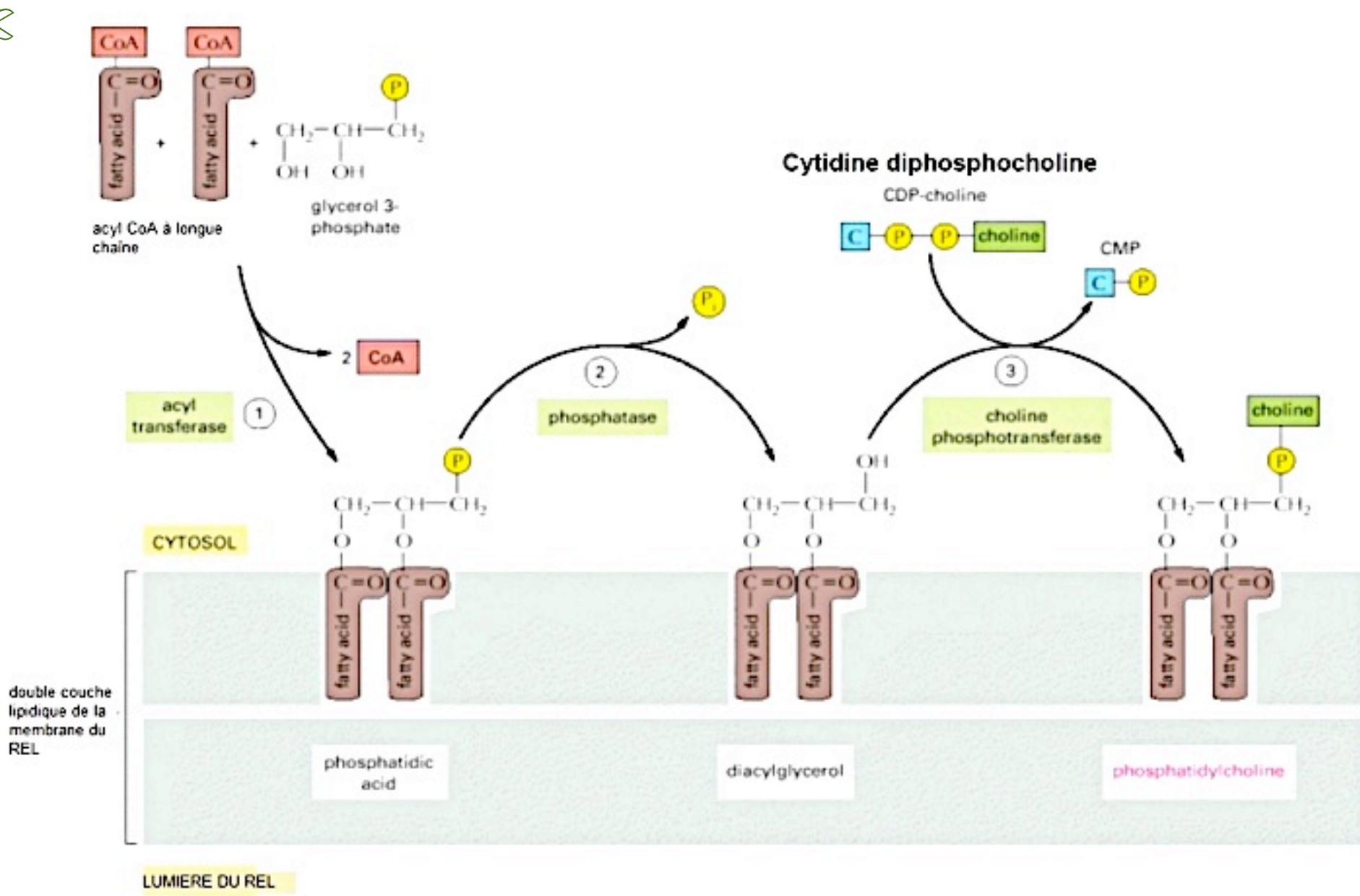
http://www.ulysse.u-bordeaux.fr/atelier/ikramer/biocell_diffusion

2. Des biosynthèses localisées dans les différents compartiments cellulaires

Biosynthèse des précurseurs des phospholipides



Biosynthèse de la phosphatidylcholine



- La phosphatydilcholine = le principal phospholipide des cellules animales
- Toutes les enzymes intervenant dans la synthèse sont dans la membrane du REL, leur site actif tourné vers le cytosol

Synthèse simplifiée

glycérol 3P

+

2 acyl-coenzymeA

2 coenzymes A

acide phosphatidique

groupement Ⓟ

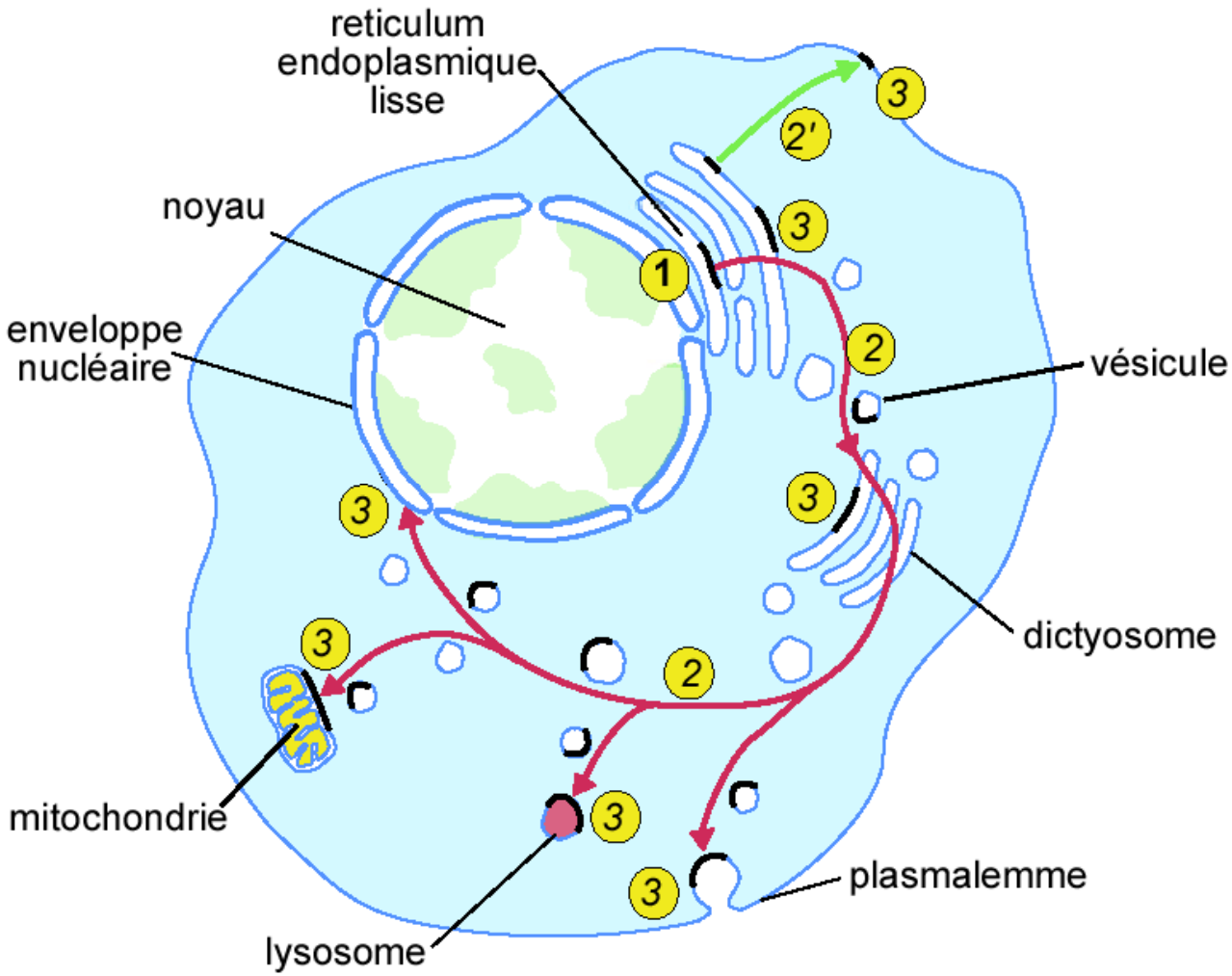
Dans le reticulum lisse

Diacyl glycérol (DAG)

+ C ⓅⓅ choline

Phosphatidyl choline

Distribution des lipides membranes synthétisés



1 SYNTHÈSE et INTÉGRATION des phosphoglycérides dans la membrane des saccules (voir figure 7.2.a)

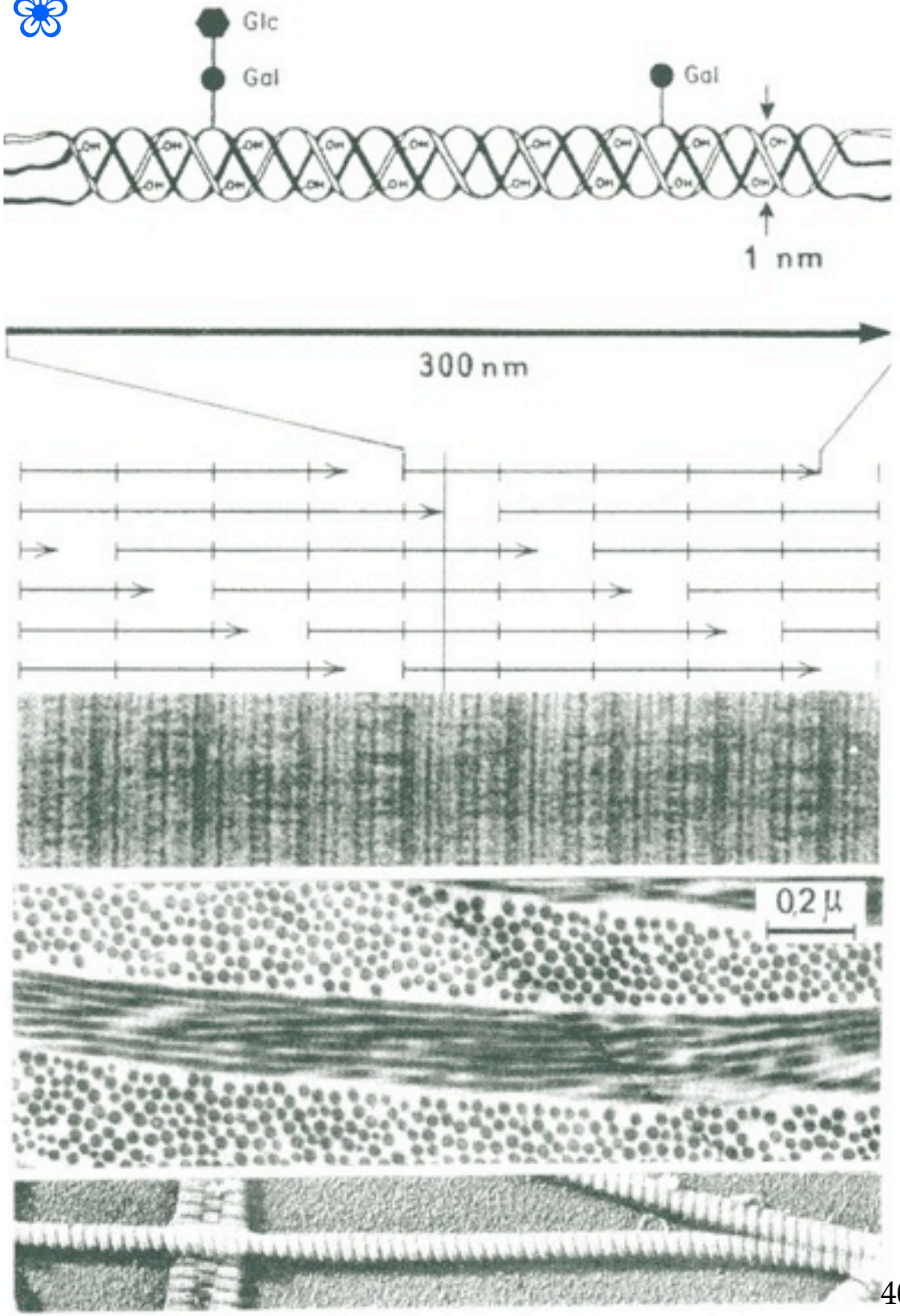
2 TRANSPORT VESICULAIRE

2' TRANSPORT par PROTÉINE d'ECHANGE (voir figure 7.2.c)

3 INTÉGRATION à une MEMBRANE CIBLE

— molécule(s) de phosphoglycéride néosynthétisée(s)

Les fibres de collagène



Organisation moléculaire et structure des fibres de collagène de type I.
Le collagène s'organise en fibres épaisses visibles en ME dans les tissus conjonctifs.
(CALLEN JC., " Biologie cellulaire : des molécules aux organismes " ; Dunod Ed., 1999).

Molécules de (tropo)collagène associées en fibrille

Fibrilles associées en fibres

Le tropocollagène, une protéine particulière

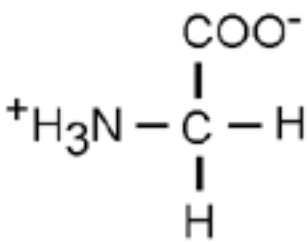
❀

- composition particulière : 1/3 de glycine, 1/4 de proline + lysines.

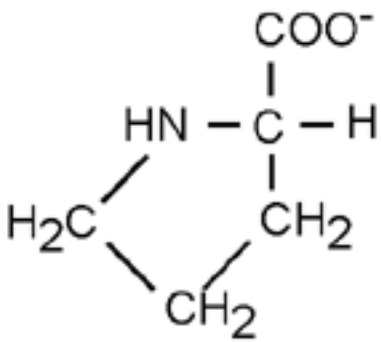
- nombreuses modifications post-traductionnelles : lysine et proline sont fréquemment hydroxylées.

- séquence répétée : une glycine tous les 3 acides aminés, le plus souvent $(Gly - Pro - OHPro)_n$

Glycine
(G, Gly)

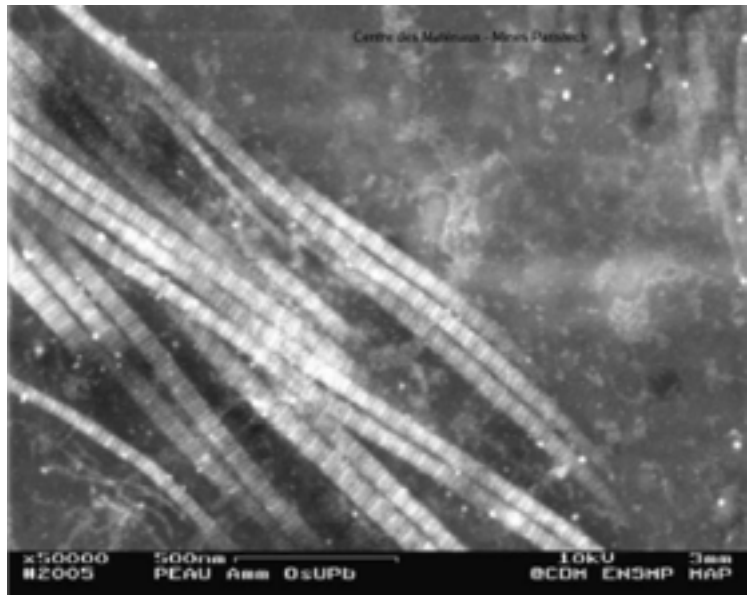


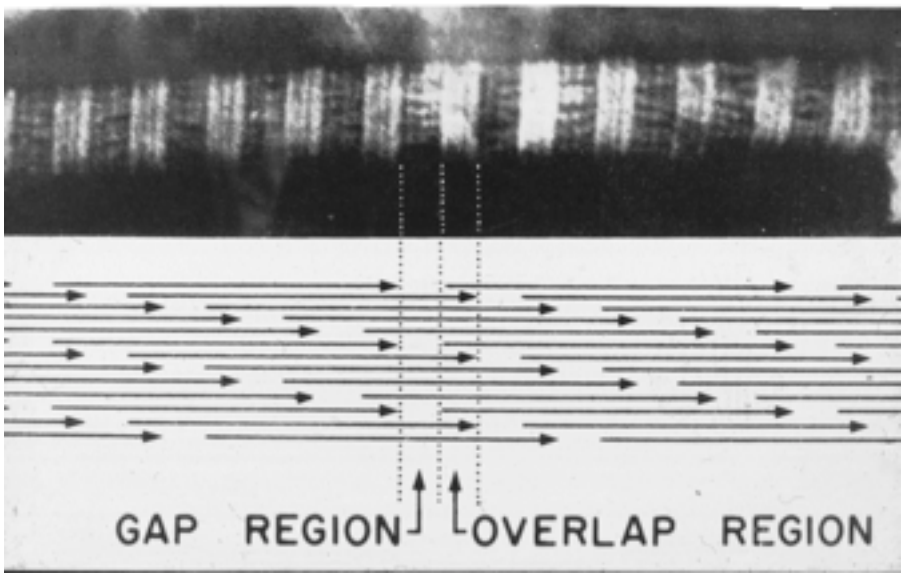
Proline
(P, Pro)

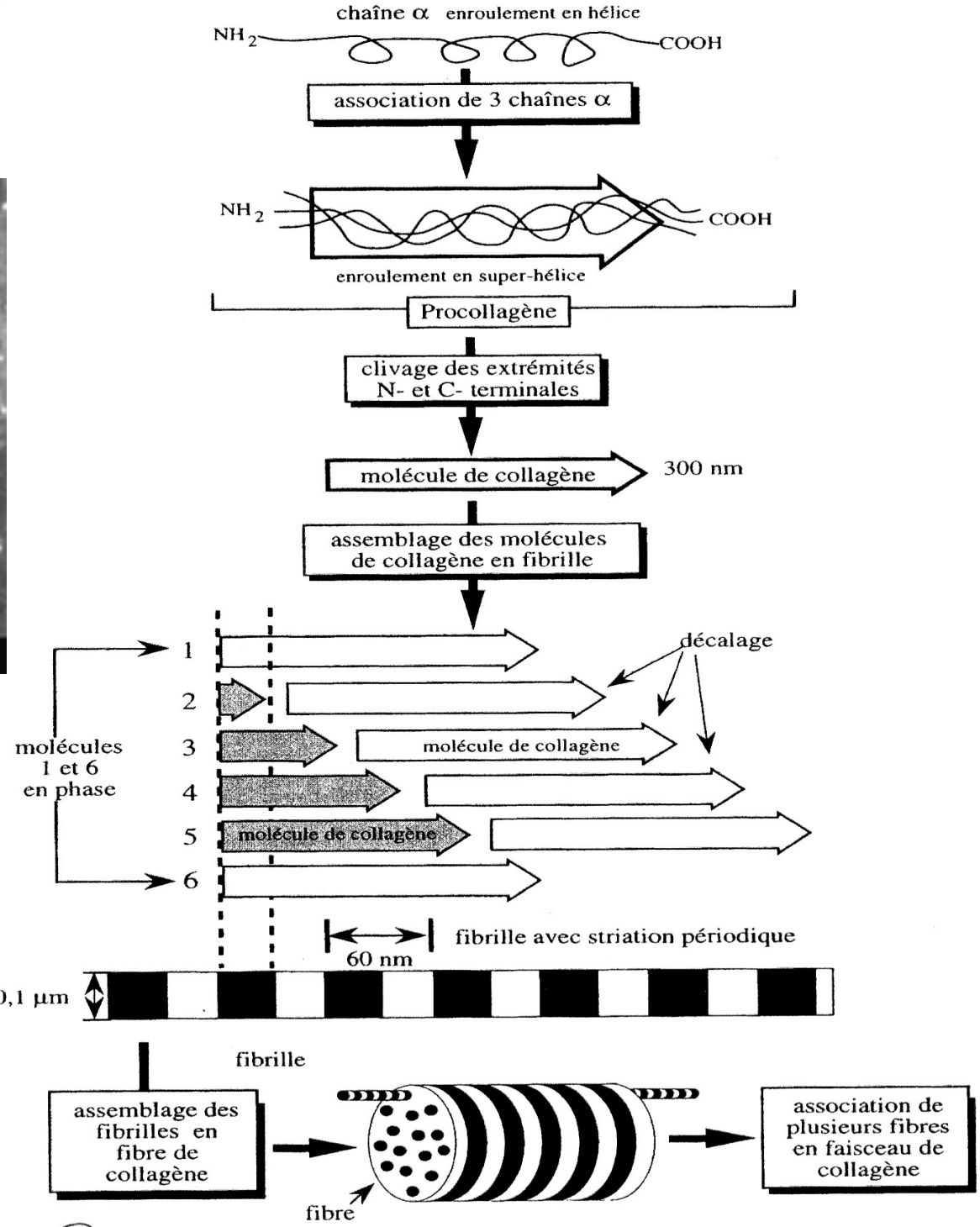


proline => hélice particulière car la liaison peptidique est imbriquée dans le cycle : cela crée un coude.

Le collagène







9 - schéma de biosynthèse et structure du collagène fibrillaire de type I

Etapes de synthèse du collagène

Etape 1 - excision du peptide signal.

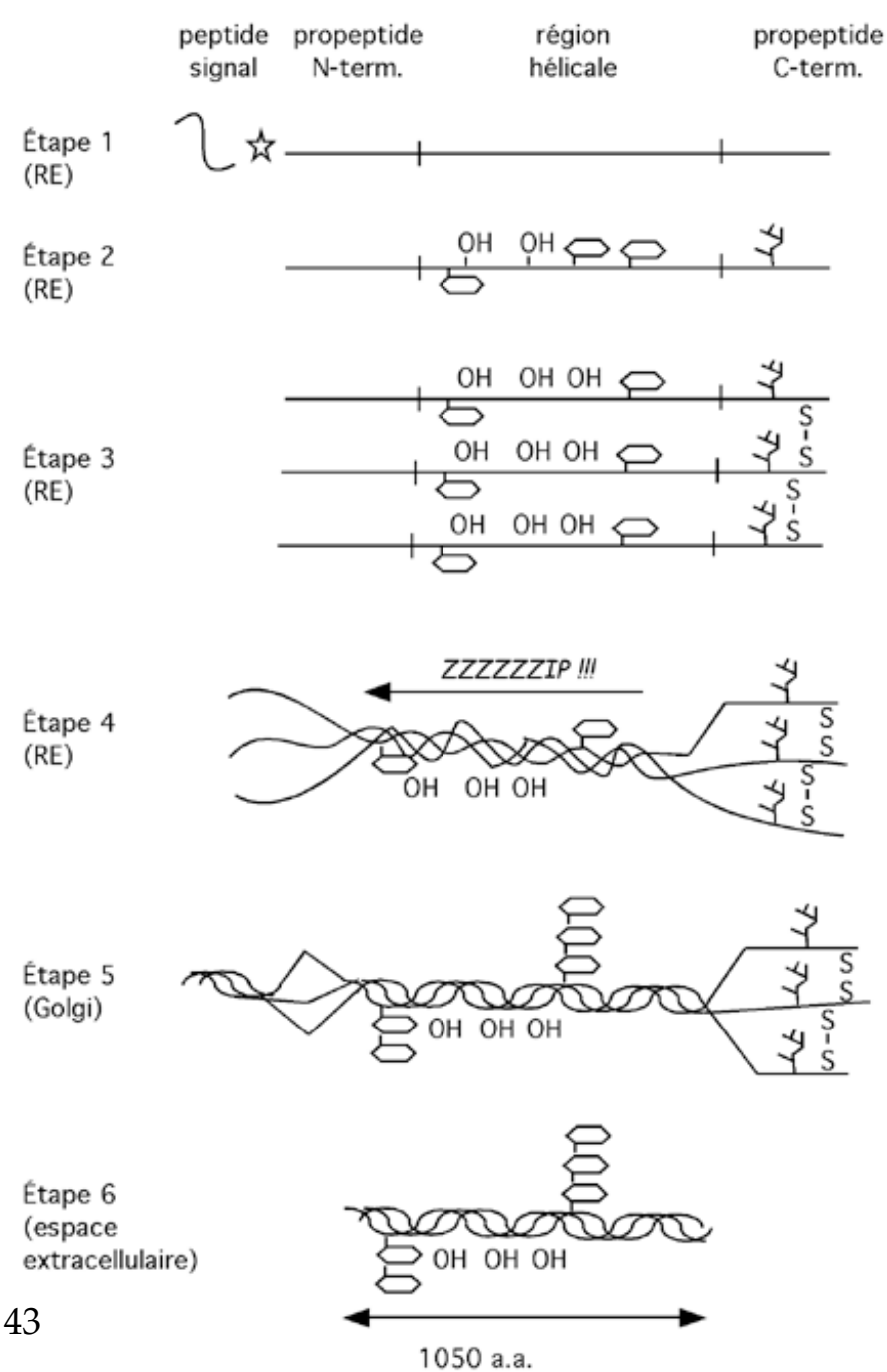
Etape 2 - hydroxylation de plusieurs Pro et Lys, N-glycosylation du propeptide C-terminal, O-glycosylation de certaines hydroxyLYS.

Etape 3 - alignement de trois chaînes grâce à des modifications + formation de ponts S-S entre propeptides C-terminaux.

Etape 4 - dans l'appareil de Golgi, enroulement de la triple hélice « comme une fermeture éclair » en direction N-terminale.

Etape 5 - suite de la maturation, puis exocytose.

Etape 6 - des procollagène-peptidases ont clivé les propeptides terminaux, libérant une triple hélice mature de tropocollagène.



http://biochimiedesproteines.espaceweb.usherbrooke.ca/3f.html

Maturation et acheminement du collagène

REG
Synthèse protéique (ribosomes) → **prochaîne α** de collagène
Hydroxylation proline et lysine (hydroxylases)
Glycosylations (glycosyltransférases)

↓

Appareil de Golgi :
Auto-assemblage des prochaînes en triple hélice
procollagène
Glycosylations (glycosyltransférases)

↓

Vésicules golgiennes :
Transport et exocytose du procollagène

ETAPES INTRA-CELLULAIRES
(fibroblaste)

← **membrane plasmique**

↓

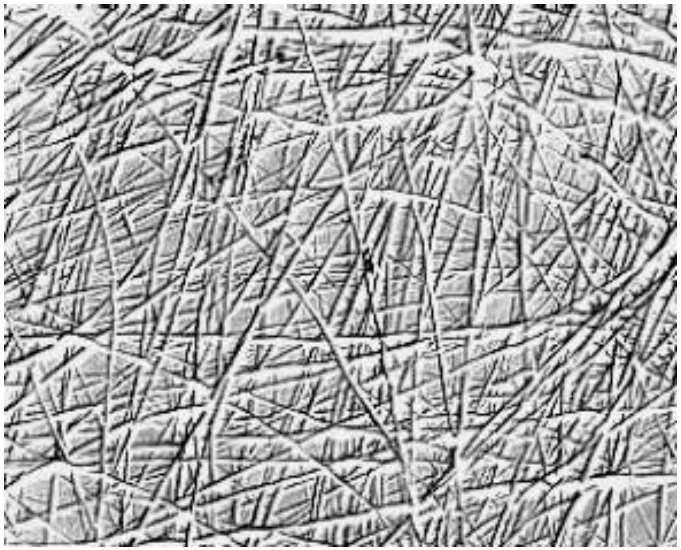
Clivage des extrémités terminales du procollagène = **tropocollagène** (protéases)

↓

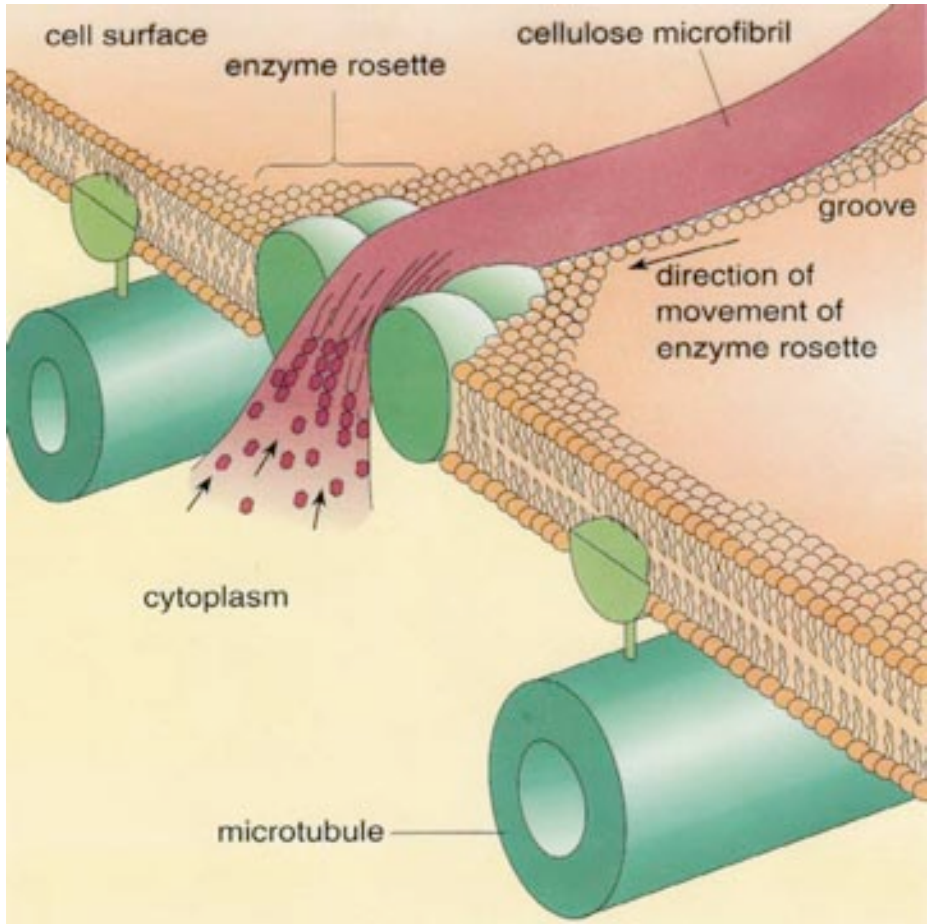
Auto-assemblage du tropocollagène (liaisons covalentes)

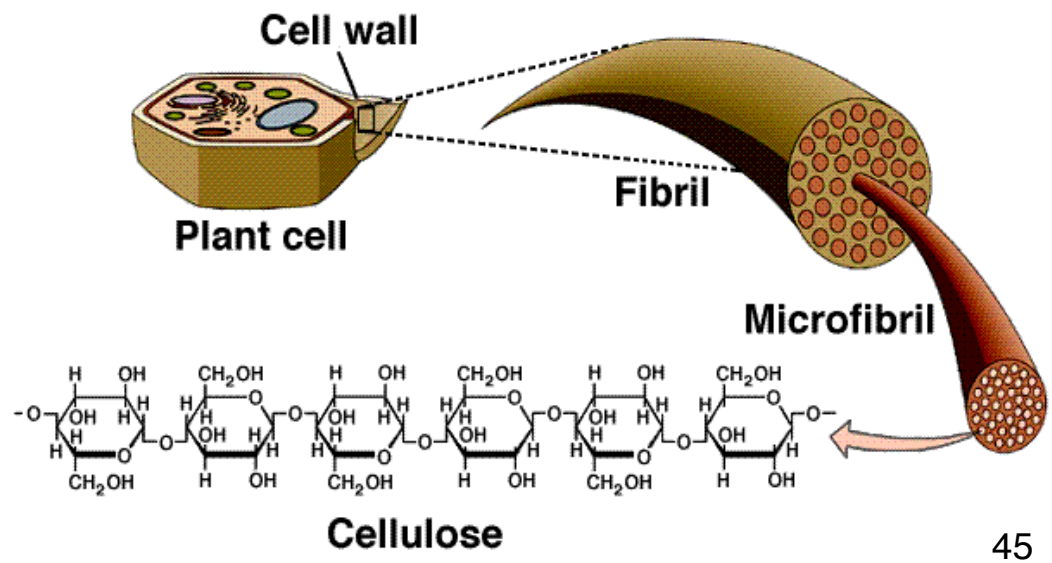
ETAPES EXTRA-CELLULAIRES
(matrice)

Cas de la cellulose de la paroi végétale



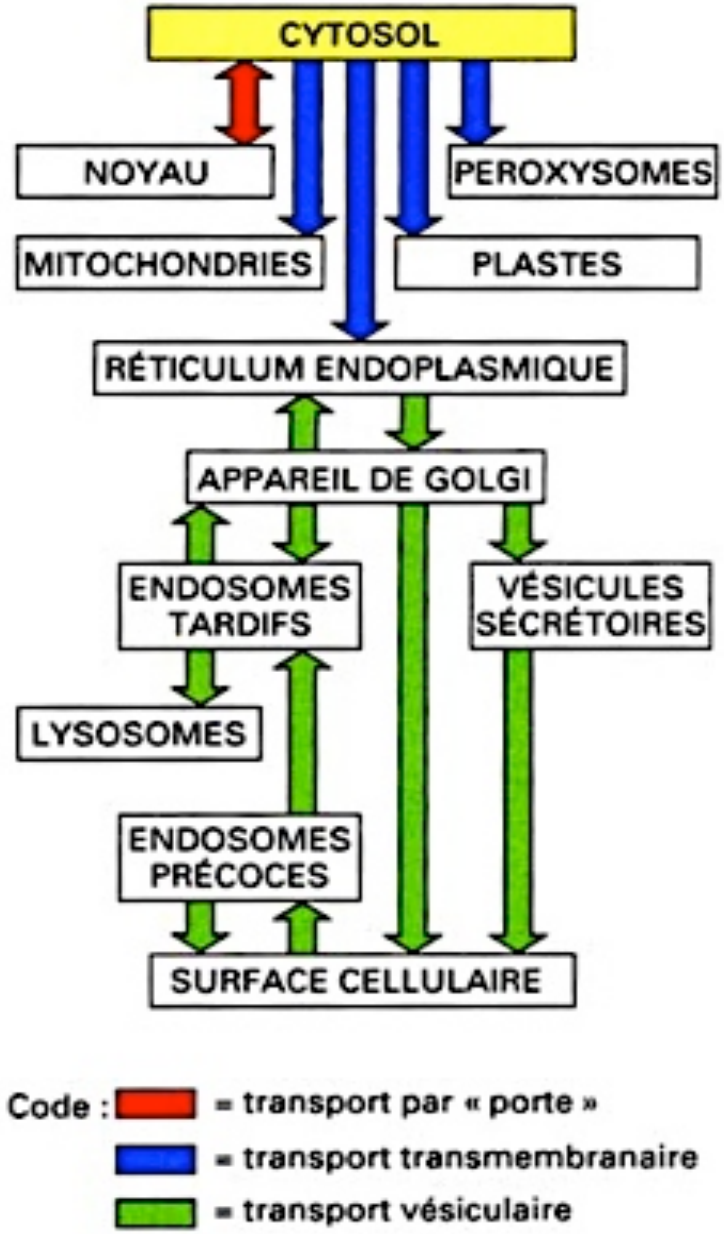
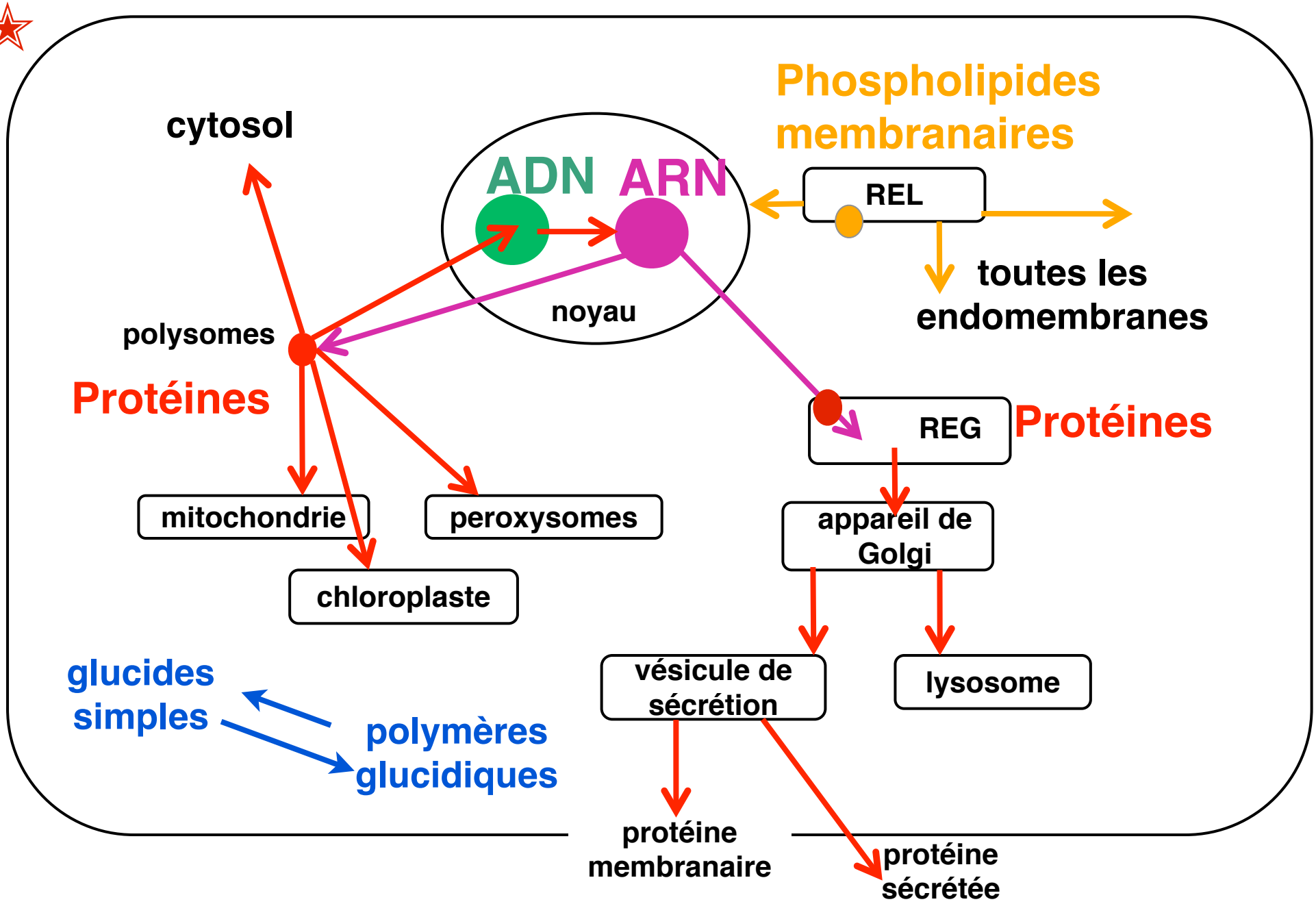
Charpente cellulosique de la paroi (X 30 000).





http://acces.ens-lyon.fr/biotic/morpho/html/paroi.htm

Les transports entre compartiments



Bilan des synthèses et distribution