

LES RIBOSOMES

I- GENERALITES

- En 1955, George E. Palade, décrivait pour la première fois, l'observation de petites particules granulaires visibles par microscopie au sein de cellules de rats, les microsomes. Une série importante d'études suivit cette première observation.
- Au cours des années 1960 ces particules ont été bâties **ribosomes**,
- **Les ribosomes** sont des particules de taille voisine de 20 nm, et qui retiennent beaucoup le colorant. Apparaissant très sombres en microscopie électronique, on les trouve en abondance dans le cytoplasme de toutes les cellules.
- Ce sont des édifices supramoléculaires dans lesquels les ARN ont une configuration tridimensionnelle très précise et où les protéines contractent à la fois des liens étroits non covalents avec eux, mais aussi entre elles (structure de type quaternaire).
- Les ribosomes sont des édifices compacts, peu hydratés et donc relativement denses ($d = 1,6$).

II -DEFINITION ET CARACTERES

- Les ribosomes sont des particules **ribonucléoprotéiques constituées d'un type d'ARN appelé ARN ribosomique et de protéines**.
- Chaque ribosome est constitué par **deux sous-unités de taille inégale et de forme différente**.
- Ce sont des particules compactes **dépourvues de membranes, libres dans le cytosol ou attachées à la face externe des membranes du RE**.
- **Les ribosomes libres** flottent librement dans le cytosol. Ils fabriquent les protéines solubles dont l'activité se déroulera dans le cytosol ou dans certains organites, comme celles qui sont importées dans les mitochondries.
- **Les ribosomes liés à la membrane du réticulum endoplasmique rugueux**. Ils font la synthèse des protéines destinées aux membranes cellulaires, et aux lysosomes ou devant sortir de la cellule.
- Les ribosomes peuvent alterner entre ces deux fonctions, s'attachant aux membranes du RE ou se détachant selon le type de protéines qu'ils produisent à un moment donné.
- **Le nombre de ribosome varie en fonction du type cellulaire**, augmente dans les cellules élaboratrices de protéines, ex: 109 au niveau de l'hépatocyte.
- **Présents dans toutes les cellules excepté les spermatozoïdes et les hématies**.
- **Les ribosomes sédimentent toujours de la même façon dans des conditions standards après ultracentrifugation**. Ainsi, chacune des sous-unités est caractérisée par son coefficient de sédimentation qui est exprimé en unités Svedberg (S).
- **Le coefficient de sédimentation des ribosomes des eucaryotes est de l'ordre de 80S pour le ribosome entier (60S pour la grande sous unité et 40S pour la petite)**.
- Les unités Svedberg ne sont pas additives, l'addition des deux sous unités ne donne pas la valeur du ribosome.

Le ribosome possède :

-un site de liaison pour l'ARN messager.

-un site P (qui intervient dans la liaison du peptidyl-ARNt).

- un site A (site de liaison de l' aminoacyl-ARNt) qui intervient dans le décodage.
- un site E (site de sortie de l'ARNt).
- un site GTPasique.
- un site de sortie de la protéine néosynthétisée.

- Plusieurs ribosomes lisent en même temps une molécule d'ARNm et forment **des polysomes** qui sont soit libres dans le cytosol soit attachés aux membranes du RE.

III- COMPOSITION BIOCHIMIQUE

Les ribosomes sont constitués de ribonucléoprotéines.

1- ARN ribosomaux

- Les ribosomes contiennent environ 60% d'ARNr.
- Dans les cellules eucaryotes, la grande sous-unité 60S renferme trois chaînes d'ARNr 5S; 28S et 5,8S. La petite sous-unité 40S renferme une seule chaîne d'ARNr 18S.
- Les ARN du ribosome jouent un rôle essentiel dans le décodage du code génétique ; la formation de la liaison peptidique et dans la structure du ribosome.

2- Les protéines ribosomales

- Chez les eucaryotes, la petite sous-unité S (Short) qui reconnaissent l'ARNm renferme environ 33 protéines, la grande sous-unité L (Long) quant à elle renferme environ 49 protéines.
- Les protéines ribosomales L et S assurent de nombreuses fonctions qui permettent aux ribosomes de traduire les informations transportées par l'ARNm.
- Les protéines sont situées à la surface cytosolique du ribosome plutôt qu'à l'interface qui sépare les deux sous unités.
- Les protéines ribosomales établissent des interactions avec les molécules d'ARNr. Elles émettent des extensions qui se glissent entre les différents éléments constituant les ARNr.
- Ces interactions maintiennent les ARNr dans une conformation qu'ils ne pourraient avoir tout seul.
- La finesse du réglage permet à l'ARNr de fonctionner avec plus d'efficacité, de précision et de rapidité.

IV-Fonction des ribosomes : la protéogenèse

- La protéogenèse est l'ensemble des réactions biochimiques qui, utilisant comme matériaux les acides aminés, aboutit à la formation de protéines.
- Les informations que contient l'ADN sont transcrites sous la forme d'une molécule d'ARNm.
- L'ARNm est porteur des informations nécessaires à la mise en place des acides aminés en position correcte dans l'enchaînement polypeptidique.
- Le rôle du ribosome est de transformer le message contenu dans l'ARNm sous la forme d'une séquence de codons (succession de trois bases consécutives ou triplet de nucléotides) en une structure polypeptidique caractéristique d'une protéine.
- La traduction se fait grâce à une machinerie capable de lire la molécule d'ARNm et d'associer les acides aminés les uns aux autres.
- Cette machinerie nécessite la présence de molécules d'ARNt qui transportent, sous la forme d' aminoacyl-ARNt, les acides aminés vers la molécule d'ARNm, aux codons auxquels les ARNt s'associent via leur anticodon.

- Cette rencontre entre acides aminés, ARNt et ARNm a lieu au sein du ribosome. Les protéines sont synthétisées de l'extrémité aminoterminal à l'extrémité carboxyterminale.
- La synthèse protéique par le ribosome se décompose en trois phases: **initiation, élongation et terminaison. Elle nécessite l'intervention de facteurs protéiques et un apport d'énergie (provenant de l'hydrolyse des molécules de GTP).**

1-Initiation

1/ Formation du complexe d'initiation

- L'initiation de la synthèse des protéines nécessite la présence de:
 - ✓ La PSU 40S
 - ✓ L'ARNt initiateur qui apporte l'acide aminé terminal sous la forme lié à l'ARNt (metARNt).
 - ✓ L'ARNm.
 - ✓ La présence de facteurs d'initiation.
 - La phase d'initiation se termine par l'association de la GSU avec la PSU, formant ainsi un complexe d'initiation complet.
 - Chez les eucaryotes, l'extrémité 5' est porteuse d'une coiffe CBP (Cap Binding Protein = Protéine de liaison de la coiffe) de molécules de **méthylguanosine**. La PSU reconnaît la coiffe, puis se déplace le long de la molécule d'ARNm jusqu'à la séquence 5'-CCACCAUGC-3' qui contient AUG. La traduction du message transporté par l'ARNm débute au niveau du codon d'initiation AUG.

-1^{er} stade de l'initiation

- eIF2 se lie à GTP.
- Un ARNt initiateur porteur d'une molécule de Met-ARNt^{met} est reconnu par eIF2.

-2^{ème} stade de l'initiation

- Il nécessite la présence de la PSU 40S qui est associée à eIF3. Ce facteur d'anti-association est localisé sur la face de la PSU qui entre en contact avec la GSU, bloquant ainsi physiquement la fixation de la PSU sur la GSU.
- Un complexe regroupant eIF2- Met-ARNt^{met} -GTP se forme. Ensuite, ce complexe se lie à l'ARNm pour former un complexe de pré-initiation et la formation de ce complexe de pré-initiation dépend de la présence de CBP, de eIF4a et de eIF4b qui permettent de fixer l'ARNm sur la PSU.
- La PSU se déplace le long de la molécule d'ARNm, d'environ une centaine de nucléotides, afin de trouver le premier codon de départ de la lecture AUG.
- Le complexe de pré-initiation est formé: il contient eIF2-Met-ARNt^{met} -GTP-ARNm et plusieurs facteurs protéiques.

- Fixation de la grosse sous-unité

- Un autre facteur d'initiation eIF5 interagit avec le complexe de pré-initiation avec hydrolyse de GTP; eIF2-GDP et eIF3 sont libérés de la PSU.
- Le complexe de pré-initiation s'associe à la GSU et forme le ribosome qui contient l'ARNm et l'ARNt initiateur correctement disposés.
- Le complexe d'initiation ainsi formé est prêt à fonctionner.

2- Elongation

- La phase d'élongation est caractérisée par l'allongement de la molécule protéique synthétisée faisant intervenir des facteurs d'élongation (EF= Elongation Factors). Elle comporte trois étapes successives:
- ✓ **Fixation d'un aminoacyl-ARNt.**
- ✓ **Formation d'une liaison peptidique.**
- ✓ **Translocation ribosomale.**

a- Fixation du complexe aminoacyl-ARNt-EF1-GTP

- Un 2ème aminoacyl-ARNt-EF1-GTP pénètre dans le site A quel que soit l'acide aminé transporté. Pour être fixé à l'ARNm, il faut que cet aminoacyl soit associé à un facteur d'élongation EF1 uni au GTP et que l'anticodon de l'ARNt de ce complexe soit complémentaire du codon de l'ARNm situé dans le site A.
- Si l'anticodon et le codon sont complémentaires, GTP est hydrolysée et le complexe libère EF1-GDP qui est immédiatement phosphorylé en EF1-GTP.

b-Formation d'une liaison peptidique

- Le Met-ARNt est lié au site P. L'acide aminé suivant, dont la nature est spécifiée par le codon suivant situé dans le site A, vient se fixer sur ce site.
- La sélection de l' aminoacyl-ARNt dépend des facteurs d'élongation: EF1, qui forme un complexe avec GTP et l' aminoacyl-ARNt. Un nouveau complexe se place dans le site A (aa-ARNt-EF1-GTP).
- Une peptidyl transférase hydrolyse Met-ARNt. Le résultat de cette hydrolyse est le transfert de la méthionine sur l'acide aminé aa₁ de l' aminoacyl-ARNt situé dans le site A. Cette réaction ne nécessite pas l'utilisation d'une énergie externe fournie par l'ATP ou GTP: l'énergie de la liaison ester méthionyl-ARNt est suffisante pour former une liaison peptidique entre la méthionine et aa₁.
- La molécule d'ARNt au site A reste encore attachée par une extrémité à son codon complémentaire de l'ARNm et l'autre extrémité au dipeptide méthionine-aa₁. GTP est hydrolysée et le complexe libère EF1-GDP qui est immédiatement phosphorylé en EF1-GTP.

c-Translocation

- L'ARNm et le dipeptidyl-ARNt (ARNt-méthionine-aa₁) doivent être déplacés afin que l'ARNm puisse placer le codon suivant dans le site A et que le site A soit libre pour recevoir un autre aminoacyl-ARNt.
- Le ribosome subit une translocation de trois nucléotides vers l'extrémité 3' de l'ARNm. Cette étape nécessite l'hydrolyse du GTP catalysée par le facteur d'élongation EF-2.
- Le peptidyl-ARNt néoformé passe ainsi du site A au site P.
- L'arrivée d'un nouvel aminoacyl-ARNt sur le site A entraîne l'expulsion de l'ARNt, permettant alors un nouveau cycle.

d- Succession des cycles d'élongation

- Le site A est prêt à recevoir un complexe aminoacyl-ARNt-EF1-GTP à condition que l'anticodon de l' aminoacyl-ARNt soit complémentaire du 3ème codon. Après fixation du 3ème ARNt sur le site A, le dipeptide de l'ARNt fixé sur le site P se déplace et se combine au 3ème acide aminé. L'ARNt du site A est éjecté.
- Le ribosome se déplace d'un codon afin d'emmener le tripeptide au site P.
- Le site A devenu libre est disponible pour recevoir un 4ème aminoacyl-ARNt.
- La succession de cycles semblables aboutira à la synthèse de la protéine.

3-Terminaison

- La transcription s'achève lorsqu'un codon stop de fin de lecture (UAA, UAG, UGA) apparaît sur le site de reconnaissance A: aucun ARNt ne possède un anticodon complémentaire de ces 3 codons.
- Un facteur de liaison: RF (Releasing Factor = facteur de libération) se lie au ribosome sous la forme d'un complexe RF- GTP. La liaison ester peptide ARNt est alors clivée par la peptidyl-transférase qui agit comme une hydrolase.
- Le peptide est libéré de l'ARNt: cette réaction dépense l'énergie fournie par l'énergie libérée par GTP. Les deux sous-unités se séparent, l'ARNt et RF-GDP sont libérés dans le cytosol.

IV-Biogenèse des ribosomes

- La biogenèse des ribosomes implique de nombreuses étapes qui débutent dans le nucléole.
- Les ARNr 5,8S; 18S et 28S sont synthétisés dans le nucléole à partir d'un grand ARN précurseur.
- L'ARNr 5S est transcrit de l'ADN nucléaire.
- Les protéines ribosomiques sont traduites dans le cytoplasme et sont importées dans le nucléole où elles vont s'assembler avec les ARNr naissants.
- Les facteurs d'assemblage ainsi que les protéines ribosomiques s'assemblent aux ARNr pour former les complexes ribonucléoprotéiques qui donneront les sous-unités 40S et 60S.
- Au cours de leur assemblage, les précurseurs des sous-unités ribosomiques transitent dans le nucléoplasme, puis sont exportés à travers les pores nucléaires dans le cytoplasme, où ils subissent leurs dernières étapes de maturation.

V- Les antibiotiques et synthèse protéique

Les antibiotiques sont des composés chimiques naturels ou de synthèse qui inhibent la croissance, ou même tuent les bactéries. Leurs modes d'action sont très divers; certains ont pour cible les membranes bactériennes, d'autres empêchent la synthèse de la paroi cellulaire, d'autres encore inhibent la réplication de l'ADN ou sa transcription. Un grand nombre agit aussi spécifiquement sur **le processus de traduction** bactérienne, au niveau de différentes étapes. Parmi les plus connus, on peut citer :

- la **tétracycline**, qui bloque la liaison de l'aminoacyl-ARNt au site A ;
- la **streptomycine**, qui entraîne des erreurs de lecture de l'ARNm ;
- le **chloramphénicol**, qui inhibe la réaction de la peptidyl-transférase
- l'**érythromycine**, qui bloque la translocation du ribosome.

L'utilisation médicale des antibiotiques comme substances antibactériennes exploite entre autres les différences structurales, et donc fonctionnelles, qui existent entre les ribosomes des Procaryotes, et ceux des Eucaryotes; en effet, ces substances, qui sont actives contre les ribosomes des premiers, restent sans effet sur les ribosomes hyaloplasmiques et la traduction chez les Eucaryotes.

VI-Pathologie

Anémie de blackfan-diamand :

Elle représente la première maladie ribosomique reconnue. Due à une mutation de la protéine S19. Elle se manifeste sur le plan clinique par une erythroblastopénie, un retard de croissance et des malformations diverses.

LES RIBOSOMES

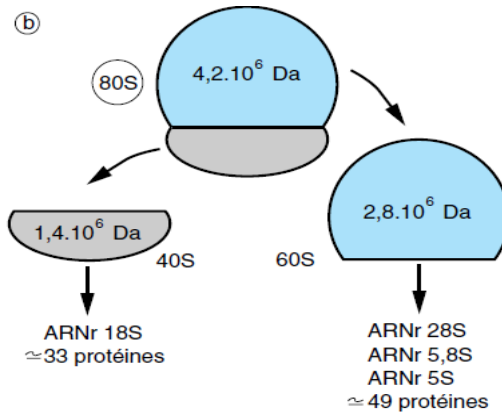


Figure 1. Structure des ribosomes des eucaryotes

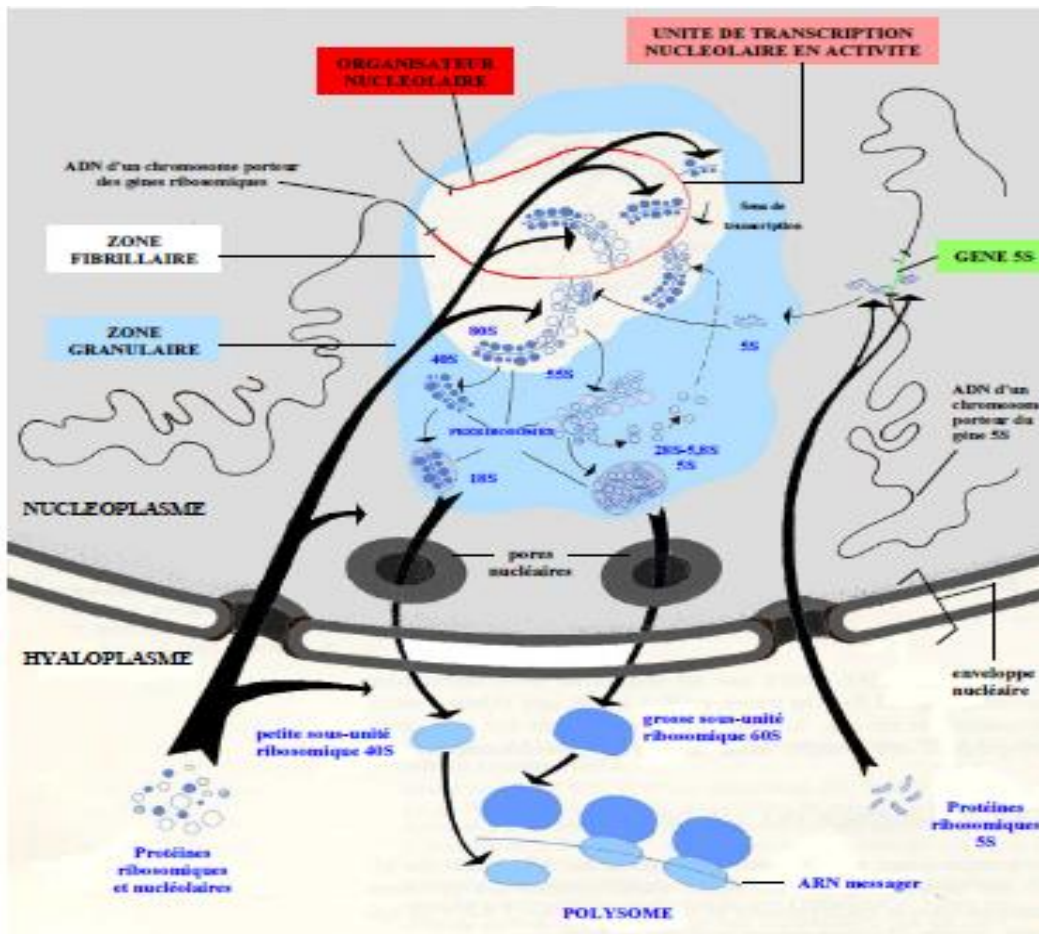
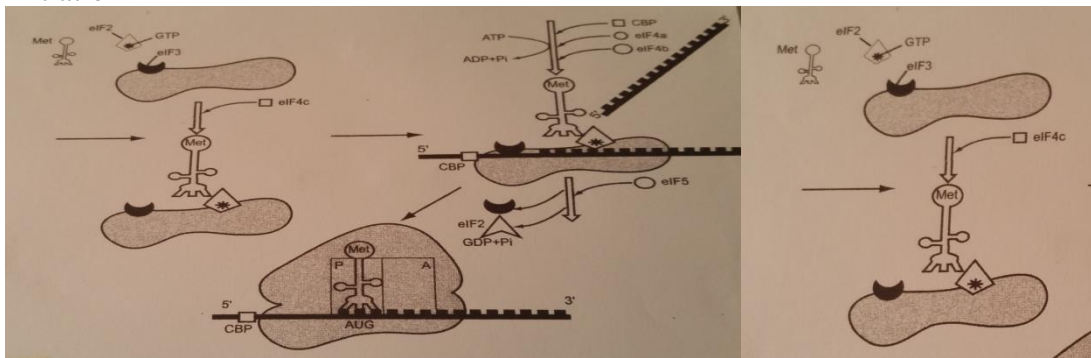
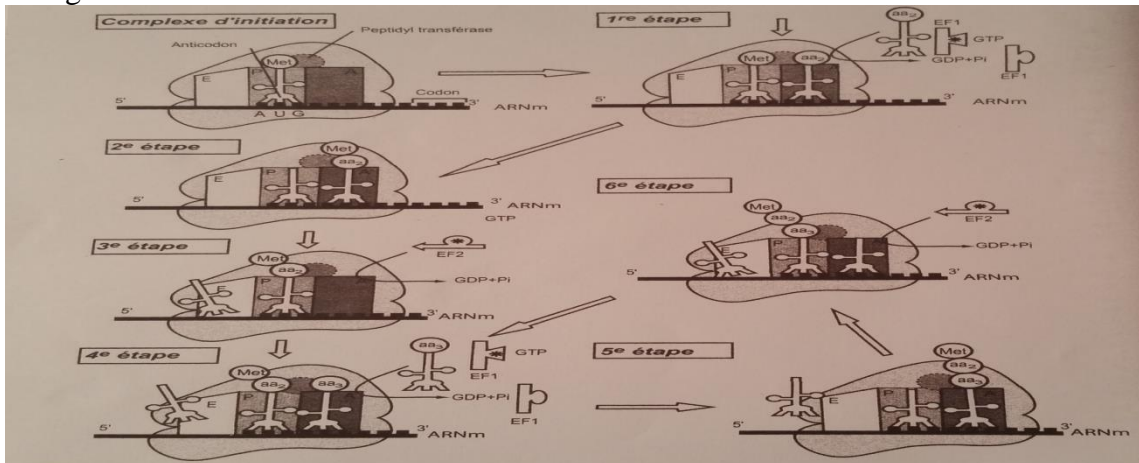


Figure 2. Biogenèse des ribosomes

Initiation



Elongation



Terminaison

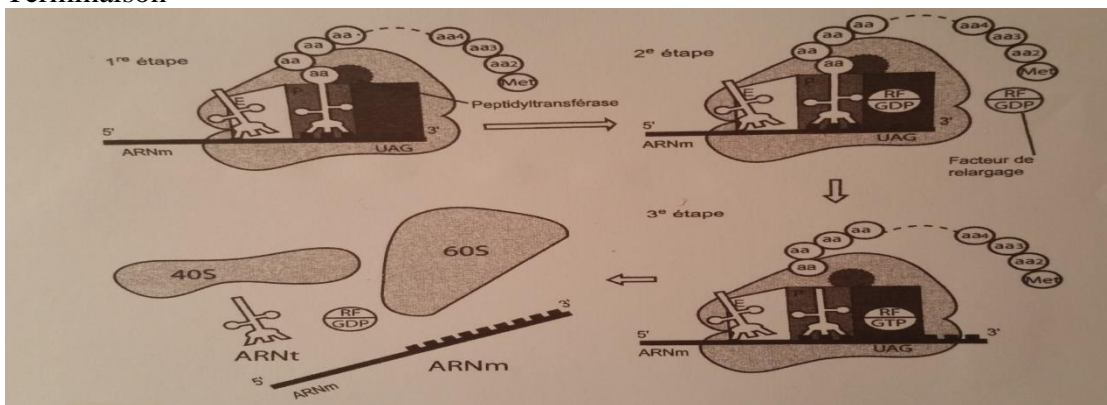


Figure 3. Les étapes de la synthèse protéique chez les eucaryotes