

Lauréat du «Prix Otto Naegeli» 2018

Ribosomes des eucaryotes: des machines moléculaires aux propriétés particulières

Prof. Dr Nenad Ban

Institut für Molekularbiologie und Biophysik, Eidgenössische Technische Hochschule (ETH) Zürich

Introduction

Les ribosomes sont des machines cellulaires fascinantes et hautement complexes, qui assurent la biosynthèse des protéines chez tous les organismes vivants. Ils forment une partie élémentaire du flux d'information allant de l'ADN à la protéine en passant par l'ARN. En effet, ils traduisent l'information génétique codée dans l'ADN, en se basant sur un brin d'ARN messenger (ARNm), en séquence d'acides aminés correspondant à la protéine en question. Ce processus s'appelle la «traduction» et il revêt une importance majeure pour toutes les cellules, raison pour laquelle les ribosomes sont au centre de la recherche depuis de nombreuses décennies déjà [1].

Les ribosomes présentent également un grand intérêt pour la recherche biomédicale: d'une part, ils forment le point d'attaque principal de nombreux antibiotiques importants sur le plan clinique; d'autre part, la régulation de la biosynthèse protéique joue un rôle majeur dans de nombreux processus fondamentaux, tels que la croissance cellulaire et la différenciation, ainsi qu'en cas d'infections virales et de nombreuses autres maladies, dont les cancers.

Les ribosomes représentent de véritables colosses à l'échelle moléculaire et ils comptent parmi les premiers complexes qui ont pu être visualisés au moyen de la microscopie électronique de cellules et d'organites, par ex. sous forme de structures granuleuses à la surface membranaire du réticulum endoplasmique (RE) rugueux. Ils sont formés de deux sous-unités, la «grande» sous-unité et la «petite» sous-unité, qui sont historiquement classifiées au moyen de leur coefficient de sédimentation (S) durant la centrifugation (bactéries: 30S pour la petite sous-unité et 50S pour la grande sous-unité, fig. 1). Les deux sous-unités sont constituées de deux types de macromolécules biologiques: elles se composent d'une multitude de protéines, les protéines ribosomiques, ainsi que d'acide ribonucléique ribosomique (ARNr).

Durant la biosynthèse protéique, lors de laquelle des acides aminés isolés couplés à des ARN de transfert

Le Prix Otto Naegeli pour la recherche médicale



Le «Prix Otto Naegeli pour la recherche médicale» fut créé en l'honneur et au souvenir du grand scientifique et enseignant de médecine interne à l'Université de Zurich, le Professeur Otto Naegeli. Le prix est considéré comme un des prix scientifiques les plus prestigieux en Suisse et sur le plan international.

Le «Prix Otto Naegeli» a pour but la promotion de la recherche médicale et biomédicale. Il est décerné tous les deux ans à des chercheurs travaillant en Suisse. La somme du prix s'élève actuellement à CHF 200 000. Un des buts du prix vise à encourager de jeunes chercheurs dans leur parcours.

(ARNt) sont assemblés pour former une chaîne polypeptidique, la grande sous-unité ribosomique catalyse la formation de la liaison peptidique dans le centre peptidyl-transférase (CPT) et sert de plateforme pour la liaison temporaire de protéines d'assistance, les facteurs de traduction, qui commandent la réaction. La chaîne polypeptidique croissante quitte la grande sous-unité ribosomique en empruntant un tunnel en direction de la surface du ribosome et se replie pour acquérir sa structure tridimensionnelle soit dans le cytosol soit dans la lumière du RE, ou alors elle est directement synthétisée dans la membrane cellulaire. La petite sous-unité ribosomique est responsable du décodage de l'ARNm: dans son centre de décodage (CD), elle recrute pour chaque codon d'ARNm un ARNt avec l'anticodon correspondant à partir d'un pool cellulaire, qui, lui, est chargé des acides aminés codés.

La traduction s'articule en trois phases: l'initiation, l'élongation et la terminaison. L'initiation de la traduction est la phase la plus fortement régulée de la biosynthèse protéique. Lors de cette phase, la petite sous-unité ribosomique se lie à l'ARNm et, de pair avec les facteurs d'initiation spécialisés, reconnaît le codon d'initiation, qui code pour le premier acide aminé de la protéine à fabriquer, en règle générale une méthionine. Lorsque la petite sous-unité est correctement position-

Vous trouverez l'éditorial relatif à cet article à la page 1053 de ce numéro.



Nenad Ban

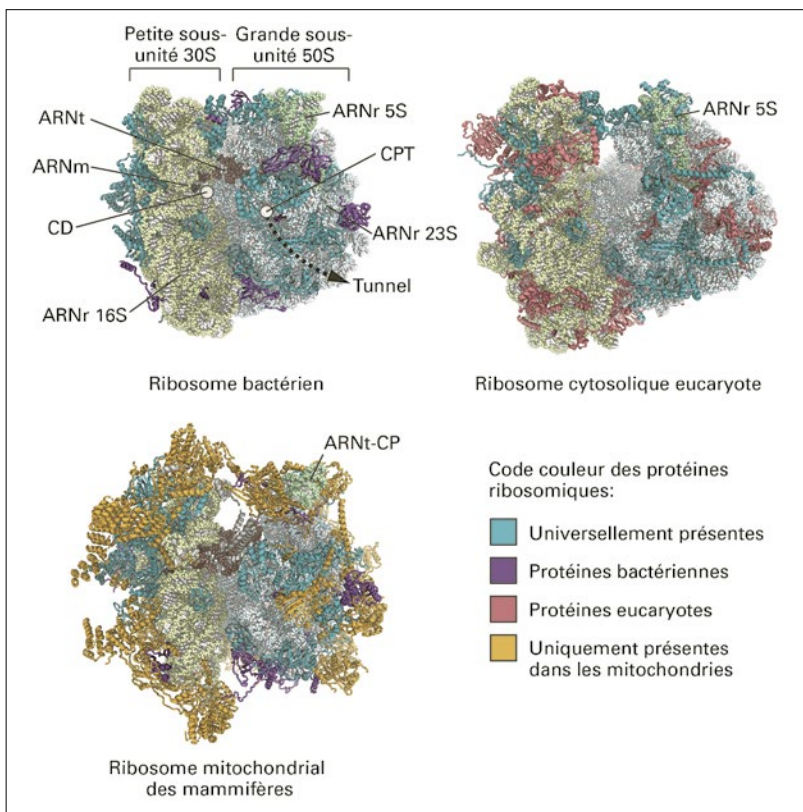


Figure 1: Structure des ribosomes bactériens, eucaryotes cytosoliques et mitochondriaux. Les différences structurales reflètent les différents mécanismes spécifiques jouant un rôle durant la traduction chez les bactéries, les eucaryotes et les organites mitochondriaux.

née sur l'ARNm, la grande sous-unité ribosomique s'y associe, et le ribosome assemblé passe en phase d'élongation de la traduction. Durant cette phase, la chaîne polypeptidique d'acides aminés est allongée par des acides aminés supplémentaires pendant que le ribosome parcourt l'ARNm et le décode codon par codon. Lorsque le ribosome arrive à un codon stop, qui est reconnu au moyen de facteurs de terminaison, la biosynthèse peptidique est interrompue. Dans le cadre de cette terminaison, la protéine nouvellement synthétisée émerge en empruntant un tunnel de sortie, le ribosome est scindé en deux sous-unités et le cycle peut recommencer du début.

Bien que les réactions chimiques à l'origine de la biosynthèse protéique soient identiques dans tous les domaines de la vie, il existe des différences structurales et fonctionnelles majeures entre les ribosomes bactériens et les ribosomes cytosoliques des eucaryotes, qui ont une structure bien plus complexe, comme par ex. ceux des levures ou de l'être humain. Il en va de même pour les ribosomes dans les mitochondries, les organites cellulaires eucaryotes, dans lesquelles l'ATP, la «monnaie énergétique» des cellules, est produit (fig. 1).

Pour l'initiation de la traduction au niveau des ribosomes eucaryotes dans le cytosol, un grand nombre de

facteurs d'initiation sont requis. Ces facteurs se rencontrent uniquement chez les eucaryotes et autorisent une régulation nettement plus vaste que chez les bactéries. L'initiation de la traduction chez les eucaryotes est parfois aussi contrôlée par des éléments structuraux dans les ARNm cellulaires et viraux. D'une part, ces éléments permettent à la cellule, dans des cas spécifiques, de débiter la traduction sans les facteurs d'initiation usuels et d'autre part, les virus peuvent de cette manière faire un usage détourné des ribosomes de l'hôte pour la biosynthèse des protéines virales.

Les ribosomes mitochondriaux (mitoribosomes) sont spécialisés dans la biosynthèse de protéines membranaires. Ils synthétisent la chaîne de transport d'électrons au niveau de la membrane mitochondriale interne, ainsi que le complexe protéique qui génère l'ATP par chimiosmose. Dans les mitoribosomes, le recrutement de l'ARNm et le positionnement du codon d'initiation se déroulent d'une manière fondamentalement différente par rapport à l'initiation de la traduction chez les bactéries et à celle de la traduction cytosolique chez les eucaryotes.

Les recherches intensives qui ont été conduites depuis des années par mon groupe de travail ont largement contribué à l'acquisition d'une meilleure compréhension des ribosomes dans tous les domaines de la vie. Les machines moléculaires complexes se comportent de manière similaire aux machines mécaniques de précision, dont la forme des différents composants et avant tout leur agencement spatial sont déterminants pour la fonction: la structure est étroitement liée à la fonction. Précisément pour les complexes qui sont constitués d'autant de composants, l'information structurale est indispensable à leur compréhension. Toutefois, ce sont justement la taille et la complexité de ces machines qui ont pendant longtemps rendu les analyses structurales des ribosomes aussi compliquées. Mon groupe utilise une combinaison de méthodes de biologie structurale des plus modernes pour étudier la machinerie de la biosynthèse protéique à ses différents stades fonctionnels. Dans les lignes qui suivent, je souhaite résumer quelques-unes de nos principales découvertes dans le domaine de la recherche sur les ribosomes.

Ribosomes des eucaryotes

Au cours de la dernière décennie, des progrès décisifs ont été accomplis, ayant contribué à une meilleure compréhension de la machinerie de la synthèse protéique cytosolique des eucaryotes. Ainsi, nous sommes parvenus à mettre à nu les structures cristallines atomiques complètes des deux sous-unités ribosomiques (chez les

eucaryotes, 40S et 60S) [2–4] (fig. 1). L'équipe de Marat Yusupov a, quant à elle, publié la structure cristalline de l'ensemble du ribosome 80S de la levure [5]. Ces structures cristallines ont pour la première fois permis de localiser les plus de 80 protéines ribosomiques des eucaryotes et d'élucider leurs repliements individuels ainsi que l'architecture de l'ARNr. Ceci a apporté un regard totalement nouveau sur ces complexes en permettant de transposer des observations et données biochimiques et médicales existantes à la structure et d'expliquer leur base moléculaire. Ainsi, nous avons pu cartographier des mutations de protéines ribosomiques qui surviennent dans le cadre de maladies héréditaires. Dans l'anémie de Blackfan-Diamond par exemple, des mutations de différentes protéines surviennent de manière éparpillée à la surface des ribosomes, ce qui indique une altération générale de la biosynthèse protéique. Au niveau de la petite sous-unité ribosomique, certaines de ces mutations sont localisées dans des endroits du ribosome où l'ARNr est traité, ce qui suggère que ces altérations perturbent déjà la maturation des ribosomes. Dans un autre cas, l'ancrage de la protéine RACK1 dans la petite sous-unité ribosomique est perturbé. RACK1 est impliqué dans différentes cascades de signalisation et chez l'être humain, cette protéine contrôle la traduction par recrutement d'une enzyme pour la phosphorylation du facteur d'élongation eIF6.

Les résultats de ces études structurales nous ont ouvert la voie, à nous et à d'autres groupes de travail, pour la réalisation d'études structurales et d'analyses basées sur la structure plus poussées (voir également article de revue de Hinnebusch [6], Hashem et Frank [7]). En effet, grâce aux structures haute résolution, il a été possible d'interpréter des complexes fonctionnels contenant des facteurs supplémentaires à une plus faible résolution. Ce faisant, nous nous sommes principalement concentrés sur l'initiation de la traduction, qui est la phase la plus régulée de la traduction. L'initiation de la traduction eucaryote est un processus complexe dans lequel interviennent au minimum 25 protéines accessoires différentes qui chacune à leur tour, s'agglomèrent pour former huit facteurs d'initiation eucaryotes (eIF) [6]. Parmi ces eIF, le facteur d'initiation eucaryote 3 (eIF3) est le plus grand et le plus complexe: chez les levures, il est composé de six sous-unités, qui sont également présentes chez tous les autres eucaryotes. Chez les eucaryotes supérieurs, d'autres protéines peuvent encore s'y ajouter; dans l'ensemble, le facteur d'initiation eIF3 peut être constitué de jusqu'à 13 sous-unités. Le facteur eIF3 joue un rôle central dans l'initiation de la traduction dans le sens où il recrute d'autres facteurs d'initiation, qu'il coordonne leur assemblage en un grand complexe d'initiation de pair

avec l'ARNm et qu'il est impliqué dans l'identification du codon d'initiation correct («scanning»).

Notre groupe a fortement contribué à l'acquisition d'une meilleure compréhension de l'initiation de la traduction eucaryote, dans la mesure où nous avons réussi à déterminer comment les différents facteurs d'initiation, dont eIF3, se lient à la petite sous-unité 40S du ribosome eucaryote et peuvent ainsi assurer leur fonction. Nos recherches ont montré que les composants de eIF3 entourent complètement la sous-unité 40S pour ainsi coordonner la liaison de facteurs d'initiation supplémentaires aux deux extrémités du canal de l'ARNm [8, 9]. Cette coordination spatio-temporelle forme la base des mécanismes de régulation de la traduction durant la croissance cellulaire et la différenciation.

Nous avons également étudié la manière dont l'ARN génomique simple brin du virus de l'hépatite C (VHC), qui code pour l'ensemble des protéines virales, se lie au ribosome afin d'initier la traduction sans les facteurs de traduction usuels [10]. En effet, l'ARN viral structuré se lie à l'ARNr via des contacts spécifiques afin de positionner très précisément le codon d'initiation de l'ARNm dans le site «P» du ribosome, où l'ARNt initiateur est acheminé pour l'initiation de la traduction. D'une part, nos résultats livrent un aperçu fondamental quant à la manière dont l'ARNm structuré peut commander l'initiation de la traduction. D'autre part, notre structure peut être utilisée comme point de départ pour développer des substances antivirales et ainsi combattre le VHC.

Ribosomes mitochondriaux chez les mammifères

Les mitochondries sont des organites cellulaires d'origine bactérienne. Il y a des millénaires, elles ont été intégrées dans les cellules proto-eucaryotes sous forme d'endosymbiotes et, au fil de l'évolution, se sont spécialisées dans la respiration cellulaire sous forme d'organites. Les mitochondries possèdent toujours leur propre génome dans lequel sont principalement codées les protéines membranaires de la chaîne respiratoire. Celles-ci sont intégrées dans la membrane cellulaire et peuvent y accomplir leur fonction spécifique pour la conversion énergétique et la production d'ATP durant le métabolisme aérobie dans les cellules eucaryotes [11]. Pour produire ces protéines de la chaîne respiratoire et les incorporer directement dans la membrane cellulaire, les mitochondries ont besoin d'une machinerie de traduction spécialisée, les ribosomes mitochondriaux ou mitoribosomes.

Bien que ces mitoribosomes soient étroitement apparentés aux ribosomes bactériens en raison de l'origine en-

dosymbiotique des mitochondries, les mitoribosomes des mammifères ont subi un changement structurel radical au cours de l'évolution [12, 13]. L'ARNr a connu une réduction drastique, tandis que de nombreuses nouvelles protéines ribosomiques ont été recrutées. Le rapport massique entre ARNr et protéines s'en est trouvé inversé par rapport aux ribosomes bactériens ou aux ribosomes cytosoliques eucaryotes: l'ARNr ne représente plus qu'un tiers de la masse ribosomique, tandis que les protéines représentent désormais les deux tiers de la masse ribosomique [12, 14].

Notre équipe et l'équipe de Venki Ramakrishnan ont récemment décrit les structures atomiques du mitoribosome complet des mammifères dans un état actif [15–17] (fig. 1). Ces structures font partie des premières structures qui ont pu être représentées au moyen d'une nouvelle technique de microscopie électronique à une résolution ayant permis de «construire» la structure atomique de protéines et segments d'ARNr auparavant inconnus. Pour cela, les données mesurées, qui correspondent à une enveloppe (plus ou moins précisément définie en fonction de la résolution) autour des atomes des protéines ou de l'ARNr, sont interprétées par ordinateur et les constituants qui sont les acides aminés et les nucléotides sont connectés entre eux de manière chimiquement pertinente au moyen de l'enveloppe. Les structures déterminées par ce biais ont pour la première fois dévoilé la position de toutes les protéines ribosomiques et leur repliement, ainsi que la différence de l'ARNr mitoribosomique réduit. En outre, nous avons découvert que les mitoribosomes de mammifères contiennent non pas un ARNr 5S très préservé au fil de l'évolution, comme c'est habituellement le cas dans la grande sous-unité des ribosomes cytosoliques et bactériens, mais un ARNr (ARNr-CP) qui assure la fonction de structuration essentielle de l'ARNr 5S [15].

Par ailleurs, nous avons pu analyser dans la grande sous-unité ribosomique le centre catalytique et le parcours de la chaîne polypeptidique naissante dans le tunnel de sortie. A la fin du tunnel, nous avons découvert une protéine qui est très probablement responsable de l'ancrage permanent des mitoribosomes dans la membrane cellulaire mitochondriale interne [14]. Par ce biais, les mitoribosomes pourraient assurer leur fonction spécialisée de manière optimale et synthétiser les protéines membranaires in situ.

Les connaissances acquises grâce à notre structure ont également de vastes conséquences médicales et fonctionnelles: chez les patients souffrant de maladies causées par des mutations en rapport avec les protéines mitoribosomiques, elles permettent de mieux comprendre la pathologie sous-jacente. Qui plus est, les données structurelles illustrent le mécanisme de la toxicité des

antibiotiques aminoglycosides, qui sont responsables d'une perte d'audition temporaire chez une proportion significative des patients traités et d'une perte d'audition permanente chez 0,2% de tous les patients [18]. Nous avons pour la première fois pu étudier plus en détails la protéine mS29 qui se rencontre spécifiquement dans les mitoribosomes: cette protéine liant une nucléotide guanine joue un rôle régulateur dans l'apoptose (mort cellulaire programmée) et a été mise en relation avec certains cancers [19]. Fait intéressant, la protéine mS29 peut être phosphorylée et les sites de phosphorylation dans la structure sont en contact avec la grande sous-unité ribosomique; la protéine mS29 pourrait donc jouer un rôle régulateur dans la biosynthèse protéique.

Conclusions et perspectives

Au cours des dernières années, la recherche biologique structurale sur les ribosomes a de plus en plus déplacé ses centres d'intérêt: initialement focalisée sur les ribosomes bactériens, elle s'est davantage concentrée sur les ribosomes eucaryotes et mitochondriaux et sur leurs complexes fonctionnels. Etant donné que ces ribosomes et complexes ont une structure nettement plus compliquée que les ribosomes bactériens et qu'il est difficile de les isoler biochimiquement sous une forme pure et stable, cela ne fait que peu de temps qu'ils peuvent être étudiés de manière détaillée au moyen de techniques de biologie structurale. Cela est uniquement devenu possible avec le développement de nouveaux microscopes électroniques et d'une technologie informatique de plus en plus performante pour la détermination de structure. Ce progrès technique offre de nouvelles pistes captivantes pour explorer des processus cellulaires dynamiques jusqu'alors difficilement saisissables intervenant durant la traduction et dans la structure de la machinerie ribosomique.

Remerciements

Je remercie le Fonds national suisse (FNS), le Pôle de recherche national (PRN) Biologie structurale, le PRN RNA & Disease et le «European Research Council» pour leur soutien généreux de longue date. Par ailleurs, je remercie le Dr Marc Leibundgut et le Dr Daniel Boehringer, Institut de biologie moléculaire et de biophysique, The Ban Lab, EPF Zurich, pour leur aide lors de la rédaction de ce texte et de la réalisation des illustrations.

Disclosure statement

NB déclare des subventions du Fonds national suisse et de la «European Research Foundation» durant la conduite de l'étude. En outre, le Prof. Ban détient des brevets (US Patent 7,504,486, US Patent 6,952,650, US Patent 6,947,845, US Patent 6,947,844 et US Patent 6,939,848, pour lesquels des redevances sont payées à Rib-X) concernant l'utilisation de la structure des ribosomes procaryotes pour le développement d'antibiotiques.

Références

La liste complète des références est disponible dans la version en ligne de l'article sur <https://doi.org/10.4414/fms.2018.03429>.

Correspondance:
Prof. Dr Nenad Ban
Institut für Molekular-
biologie und Biophysik
Eidgenössische Technische
Hochschule (ETH) Zürich
Otto-Stern-Weg 5
CH-8093 Zürich
ban[at]mol.bio.ethz.ch