

## Quand le fil de l'ARN messager s'entortille et bloque sa traduction...

Stefano Marzi, Pascale Romby, Bruno P. Klaholz

> La traduction de l'information des gènes qui est inscrite dans l'ARN messager (ARNm) est catalysée par le ribosome. Cette machinerie moléculaire, universelle et essentielle, est le siège de la biosynthèse des protéines dans tous les organismes vivants. La traduction est aussi une des étapes clés de la régulation de l'expression des gènes. Bien que des défauts de régulation à ce niveau puissent entraîner des pathologies humaines, cet aspect demeure encore peu étudié d'un point de vue médical car les mécanismes moléculaires impliqués restent peu connus [1-3]. Dans les bactéries, le contrôle traductionnel exerce une fonction clé dans tous les processus adaptatifs qui requièrent une réponse rapide, c'est-à-dire l'adaptation de la croissance bactérienne en réponse au stress ou aux conditions de l'environnement [4]. Les bactéries pathogènes représentent à l'heure actuelle un problème de santé publique, avec notamment l'apparition de résistances multiples aux antibiotiques. Le ribosome bactérien, en particulier, et les ARN ribosomiques (ARNr), sont la cible de plus de la moitié des antibiotiques [5]. Ainsi, mieux comprendre à l'échelle moléculaire le fonctionnement du ribosome et son contrôle devrait à plus long terme favoriser le développement de nouvelles stratégies à visée thérapeutique.

La machinerie du ribosome traverse des phases d'initiation, d'élongation et de terminaison. L'initiation, étape limitante de la traduction, est un processus à plusieurs étapes qui conduit

au positionnement précis de l'ARNm pour établir les premières interactions de décodage avec l'ARNt initiateur aminoacylé au niveau du site peptidyl (P) du ribosome, en présence des facteurs d'initiation [6-8]. Dans ce complexe, l'ARNm se trouve localisé dans un sillon au niveau du « cou » de la petite sous-unité ribosomique. Chez les bactéries, la première étape de la formation du complexe d'initiation passe par un complexe de pré-initiation au niveau de la petite sous-unité 30S dans laquelle l'interaction ARNm-ARNt n'a pas encore eu lieu (Figure 1). C'est souvent à cette étape que la régulation a lieu et l'ARNm en est un acteur essentiel. En général, la reconnaissance ARNm-ribosome requiert la présence de signaux spécifiques (séquence Shine et Dalgarno en amont du codon d'initiation) placés dans une région en simple brin de l'ARNm. Cependant, la plupart des régions 5' non codantes des ARNm présentent des structures secondaires complexes qui peuvent influencer sur la cinétique d'assemblage du complexe de pré-initiation. Ces structures peuvent répondre directement à un signal extérieur comme la température, et indirectement par la reconnaissance spécifique de facteurs comme des métabolites, des ARN non-codants (ARNnc) ou des protéines régulatrices (Figure 1). Chez les bactéries, deux mécanismes sont actuellement connus (Figure 1) [9] : (1) la compétition pour le site d'initiation de l'ARNm auquel se lie exclusivement le ribosome ou, alternativement, un

S. Marzi : IGBMC (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire), Département de Biologie et Génomique Structurales ; Inserm, CNRS, Université Louis Pasteur de Strasbourg ; F-67404 Illkirch, France. Architecture et Réactivité de l'ARN, Université Louis Pasteur de Strasbourg, CNRS, IBMC, 15, rue René Descartes, 67084 Strasbourg, France.

P. Romby : Architecture et Réactivité de l'ARN, Université Louis Pasteur de Strasbourg, CNRS, IBMC, 15, rue René Descartes, 67084 Strasbourg, France.

B.P. Klaholz : IGBMC (Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire), Département de Biologie et Génomique Structurales ; Inserm, CNRS, Université Louis Pasteur de Strasbourg ; F-67404 Illkirch, France.

[klaholz@igbmc.u-strasbg.fr](mailto:klaholz@igbmc.u-strasbg.fr)

facteur de régulation (protéine, ARNnc, métabolites) qui masque les signaux de reconnaissance du ribosome ; et (2) le piégeage du ribosome par un ARNm replié, qui, dans certains cas, est stabilisé par une protéine régulatrice. Ce dernier mécanisme offre l'avantage qu'il ne nécessite pas la formation d'un complexe très stable entre l'ARNm et le répresseur. Par ailleurs, le blocage du complexe de pré-initiation peut être levé avant que la dégradation de l'ARNm réprimé ne s'opère. Alors que le mécanisme de compétition a été défini au niveau moléculaire pour plusieurs exemples [4], aucune donnée n'existait jusqu'à présent sur le mécanisme par lequel la structure de l'ARNm piégerait le ribosome.

Dans le cadre d'une collaboration étroite entre chercheurs de l'IGBMC et de l'IBMC, associant des études fonctionnelles et structurales, il a été possible de visualiser directement, par microscopie électronique et reconstruction tridimension-

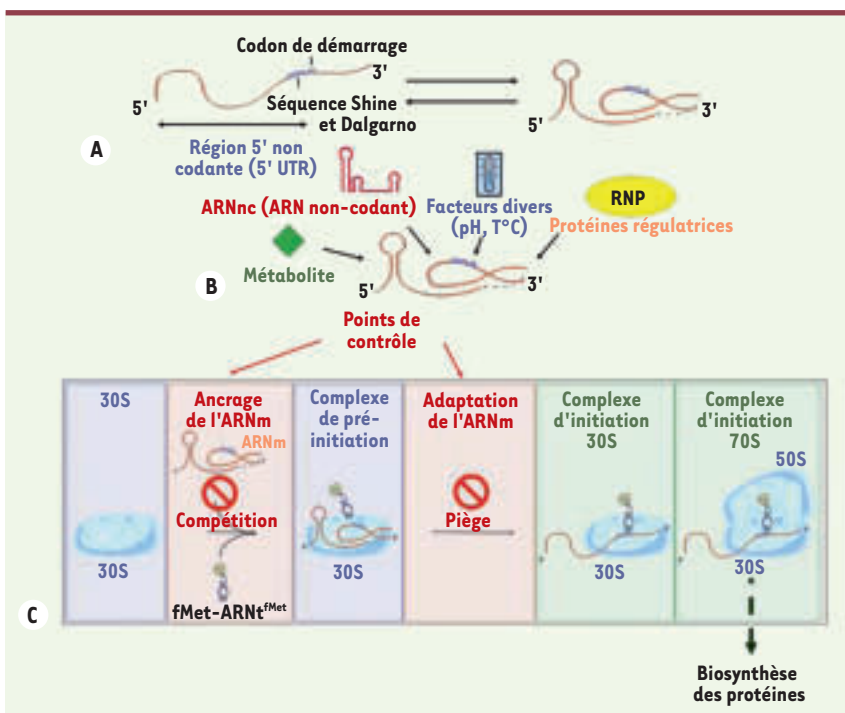


nelle, comment la structure de l'ARNm est capable de bloquer le ribosome de façon transitoire (Figure 2A). Chez les entérobactéries, de nombreuses protéines qui reconnaissent l'ARN, comme les protéines ribosomiques, régulent négativement la traduction de leur ARNm en se fixant à des structures particulières, souvent localisées près du site de démarrage de la traduction et qui miment leur substrat naturel [4]. Dans des conditions favorables de croissance, les ribosomes représentent environ 50 % de la masse cellulaire, et une grande

partie de l'énergie est donc utilisée par la machinerie de traduction. Par mesure d'économie, la synthèse des constituants du ribosome et leur assemblage sont finement coordonnés en fonction du taux de la croissance bactérienne. Alors que la synthèse des ARNr est régulée au niveau transcriptionnel, la synthèse des protéines ribosomiques (dont les gènes sont organisés en opérons) est contrôlée et coordonnée au niveau post-transcriptionnel [10]. Si la synthèse de l'ARNr diminue (en cas de carence en nutriments), la protéine régulatrice

libre qui exerce souvent un rôle clé dans l'assemblage du ribosome, réprime la synthèse de son opéron au niveau traductionnel, en reconnaissant une région de l'ARNm qui mime son site de fixation au niveau de l'ARNr. Ainsi, le taux des protéines ribosomiques est constamment ajusté à celui de l'ARNr libre pour adapter rapidement la croissance bactérienne à ses environnements multiples. La protéine ribosomique S15 d'*Escherichia coli*, qui est requise pour l'assemblage du domaine central de la petite sous-unité du ribosome, empêche le démarrage de la traduction de son propre ARNm en bloquant le ribosome sous la forme d'un complexe de démarrage improductif (mécanisme de piégeage). La structure de ce complexe a révélé que la protéine S15 stabilise un repliement particulier de l'ARNm, appelé « pseudo-nœud », à l'entrée du ribosome qui empêche l'ARNm de se loger dans le sillon de la petite sous-unité ribosomique 30S (Figure 2A). La formation du complexe d'initiation de la traduction est alors bloquée et, par conséquent, la synthèse de la protéine ne peut plus commencer. Une fois que l'ARNm se déplie (par exemple, lorsque la protéine régulatrice S15 se dissocie de l'ARNm en présence d'ARNr libre), le complexe d'initiation peut alors se former et le premier événement de décodage entre l'ARNm et l'ARNt initiateur a lieu à l'intérieur du ribosome (Figure 2B).

En nous fondant sur la comparaison de plusieurs structures tridimensionnelles de complexes ribosome/ARNm, et sur des analyses de séquences du site du ribosome de différentes espèces, nous proposons que différents types de structures d'ARNm interagissent dans une région précise du ribosome, localisée à la surface de la petite sous-unité (Figure 2A). Il s'agirait d'un site dédié pour la liaison d'ARNm régulateurs et structurés que l'on retrouve aussi bien dans les bactéries, dans certains virus pathogènes (qui contiennent un signal d'entrée interne des ribosomes, IRES, pour détourner le ribosome humain à leur profit) et chez l'homme.



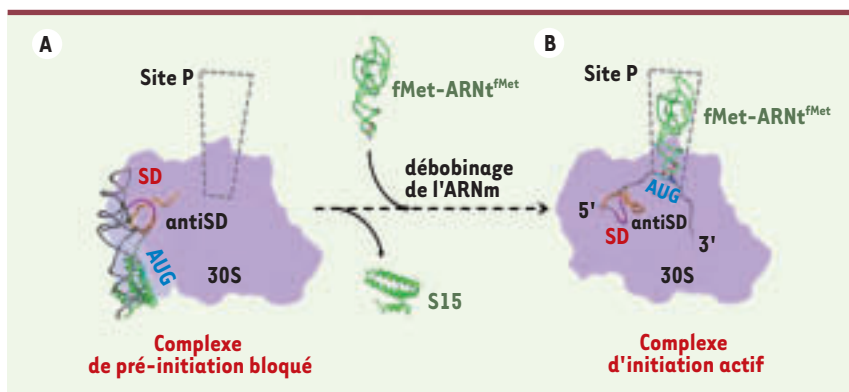
**Figure 1. La structure de l'ARNm module l'efficacité de la traduction.** La plupart des ARNm bactériens possèdent des motifs structuraux (A) qui sont sensibles à de nombreux facteurs environnementaux comme la température, ou qui interagissent spécifiquement avec un facteur agissant en *trans* (B) et qui répondent à un signal donné (métabolites, ARN non codant, protéine). Un changement de structure de l'ARNm peut conduire soit à une activation de la traduction (en rendant accessible le site de fixation du ribosome), soit à une inhibition (en masquant les signaux de reconnaissance par le ribosome dans la région d'initiation de l'ARNm qui contient fréquemment la séquence Shine et Dalgarno spécifique des bactéries). C. L'initiation de la traduction implique plusieurs étapes successives dont la formation d'un complexe de pré-initiation où l'interaction ARNm-ARNt initiateur n'a pas encore eu lieu (en encadré). La plupart des régulateurs agissent à cette étape, soit en empêchant le ribosome d'accéder à son site (compétition), soit en le piégeant dans un complexe de pré-initiation inactif (piège). S'il y a adaptation de l'ARNm, le complexe d'initiation 30S peut se former, pour ensuite s'assembler avec la sous-unité ribosomique 50S et former le complexe d'initiation 70S du ribosome prêt à commencer la synthèse des protéines.



En tout état de cause, nous sommes encore loin d'avoir découvert l'ensemble des réseaux de régulation dépendant de la structure des ARNm aussi bien chez les bactéries que chez les eucaryotes. Cependant, cette étude qui vient d'être publiée dans le journal *Cell* [11], révèle un mécanisme à caractère général (ribosome en *stand-by*) qui contrôle la traduction de l'information contenue dans un certain gène, et cela en fonction des besoins cellulaires.

Cette étude met aussi en évidence un intermédiaire réactionnel de l'initiation de la traduction, visualisé pour la première fois en 3D, qui représente une étape clé de la reconnaissance ARNm-ribosome. Les aspects dynamiques de la liaison de l'ARNm régulateur au ribosome et du « débobinage » de l'ARNm pourront ainsi être étudiés à l'avenir... ♦

### Twisting of mRNA reversibly blocks its translation by the ribosome



**Figure 2.** La structure repliée de l'ARNm peut piéger le ribosome dans un complexe de pré-initiation inactif. La fixation des ARNm structurés au niveau du ribosome implique une reconnaissance initiale (ancrage) suivi d'une accommodation du site de fixation de l'ARNm pour initier la traduction. **A.** La protéine ribosomique S15 stabilise une structure de l'ARNm en pseudo-nœud et empêche l'étape d'accommodation, piégeant le ribosome dans un complexe de pré-initiation inactif. L'étude de ce complexe de pré-initiation inactif par cryo-microscopie électronique et reconstruction 3D de particules isolées révèle que l'ARNm se trouve stabilisé dans un site bien défini à la surface de la petite sous-unité 30S [11]. Des analyses de séquences des ARN et protéines constituant ce site suggèrent que ce site est conservé à travers l'évolution. Il pourrait donc être utilisé par tout type de structure d'ARNm lors de la reconnaissance initiale par le ribosome. **B.** En l'absence de la protéine ribosomique S15, l'ARNm se déplie pour induire l'interaction avec l'ARNt initiateur dans le site P. Le mécanisme de « débobinage » de l'ARNm n'est pas encore bien compris et pourrait impliquer plusieurs composants de la machinerie du ribosome.

## RÉFÉRENCES

- Gebauer F, Hentze MW. Molecular mechanisms of translational control. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2004 ; 5 : 827-35.
- Holcik M, Sonenberg N. Translational control in stress and apoptosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2005 ; 6 : 318-27.
- Mamane Y, Petroulakis E, LeBacquer O, Sonenberg N. mTOR, translation initiation and cancer. *Oncogene* 2006 ; 25 : 6416-22.
- Romby P, Springer M. Translational control in bacteria. In: Mathews MB, Sonenberg N, Hershey JWB, eds. *Translational control in biology and medicine, Cold Spring Harbor Monograph Series 48*. New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2007.
- Poehlsgaard J, Douthwaite S. The bacterial ribosome as a target for antibiotics. *Nat Rev Microbiol* 2005 ; 3 : 870-81.
- Noller HF. Structure of the bacterial ribosome and some implications for translational regulation. In: Mathews MB, Sonenberg N, Hershey JWB, eds. *Translational control in biology and medicine, Cold Spring Harbor Monograph Series 48*. New York : Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2007.
- Gillet R, Felden B. Lost in translation : le déblocage des ribosomes bactériens par le mécanisme de *trans*-traduction. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 633-9.
- Myasnikov AG, Marzi S, Simonetti A, et al. Conformational transition of initiation factor 2 from the GTP- to GDP-bound state visualized on the ribosome. *Nat Struct Mol Biol* 2005 ; 12 : 1145-9.
- Schlx PJ, Worhunsky DJ. Translational repression mechanisms in prokaryotes. *Mol Microbiol* 2003 ; 48 : 1157-69.
- Dennis PP, Ehrenberg M, Bremer H. Control of rRNA synthesis in *Escherichia coli*: a systems biology approach. *Microbiol Mol Biol Rev* 2004 ; 68 : 639-68.
- Marzi S, Myasnikov AG, Serganov A, Ehresmann C, Romby P, Yusupov M, Klaholz BP. Structured mRNAs regulate translation initiation by binding to the platform of the ribosome. *Cell* 2007 ; 130 : 1019-31.

## TIRÉS À PART

B.P. Klaholz



Tarifs d'abonnement M/S - 2007

Abonnez-vous

à Médecine/Sciences

> Depuis 20 ans, grâce à *m/s*, vous vivez en direct les progrès des sciences biologiques et médicales

Bulletin d'abonnement page 790 dans ce numéro de *m/s*



*Médecine/Sciences* est une revue internationale mensuelle francophone d'information dans tous les domaines de la biologie et de la médecine. Elle traite des principales découvertes, des sujets d'actualité, qu'il s'agisse de nouvelles technologies, de progrès thérapeutiques, ou de l'apparition de pathologies nouvelles dans le monde.

En écrivant dans *m/s*, les auteurs voient leurs articles référencés dans PubMed, mais ont, de surcroît, le plaisir de faire partager aux lecteurs, dans leur langue, leur intérêt et parfois leur enthousiasme, pour tel ou tel sujet, en y apportant leur touche d'humour et de culture, surtout dans la partie Forum, où la plus grande liberté d'expression est autorisée.

Toutefois, comme la revue s'adresse à un lectorat très varié de scientifiques confirmés, d'enseignants, d'étudiants et de médecins, elle implique de la part des auteurs de développer leurs sujets, en allant jusqu'au bout des connaissances scientifiques, quelle qu'en soit la difficulté. Cette recommandation est particulièrement dédiée aux Synthèses, qui ont pour ambition de faire le point sur un sujet donné, mais aussi d'adopter un style aussi clair et accessible que possible, quel que soit le niveau technique ou théorique de leur propos, afin d'être intelligible par les non spécialistes.

La rédaction de la revue demande à tout auteur, sollicité ou proposant spontanément un manuscrit, de se conformer à quelques règles qui ne pourront qu'en faciliter l'évaluation et, une fois celui-ci accepté, d'en hâter la publication :

- écarter autant que faire se peut tous les mots anglais et éviter les anglicismes, tant sur le plan du vocabulaire que de la syntaxe ;
- toujours définir les acronymes ;
- rassembler en tableaux, glossaires, les précisions techniques, méthodologiques, les termes peu répandus et les compléments d'information qui surchargeraient le texte ;
- respecter la longueur du manuscrit et le nombre de références.

## Les rubriques de *m/s*

Pour le format et la présentation des articles, *médecine/sciences* propose trois formules.

1. La partie **Revue** présente des **Synthèses** qui font le point sur un sujet par un auteur spécialiste du domaine. Les synthèses véhiculent une pensée, un esprit critique, un message, au-delà du catalogue des faits collectés sur un sujet. Elles doivent permettre une vraie discussion des résultats scientifiques.

Cette partie comporte également des **Dossiers techniques** (exposé d'une technique ou d'un ensemble de techniques susceptible(s) de favoriser le développement de recherches en sciences biomédicales).

2. La partie **Forum** propose des **Faits et Chiffres** dans le domaine de l'épidémiologie, de la démographie, de l'économie de la santé..., et des articles de réflexion, c'est-à-dire, des **Perspectives** et des **Chroniques** sur des sujets faisant l'objet de débats dans la communauté scientifique, ainsi que des revues sur **l'Histoire biomédicale, les Sciences sociales et la santé, la Santé et l'environnement**, entre autres.

3. La partie **Magazine** est le reflet de l'actualité scientifique, faisant état, dans des textes courts, de résultats originaux importants récemment publiés. Elle est

constituée soit de **Nouvelles**, spontanées ou sollicitées, soit de **Brèves**, courtes notes de lecture. Tous les articles de *m/s* sont signés par leurs auteurs

## Normes générales de présentation des articles

**Textes et tableaux** adressés en fichiers Word, PC ou Macintosh (enregistrements en .doc, format PDF exclus) - illustrations en fichiers séparés. Tableaux et illustrations appelés dans le texte.

**Illustrations** : schémas en format Illustrator ou PowerPoint, photos en format jpeg ou tif. Lorsque nécessaire, l'échelle de l'image doit apparaître dans l'illustration et sa valeur être indiquée dans la légende. Légendes complètes et détaillées des figures et tableaux.

Illustrations numérotées en chiffres arabes (ex : figure 1) et tableaux en chiffres romains (ex : tableau II).

**Important** : les auteurs sont priés de mentionner tout conflit d'intérêt potentiel concernant l'article soumis à publication dans *m/s*, en particulier de nature financière. Cette information sera gardée confidentielle par la rédaction de *m/s* jusqu'à la publication de l'article.

## Les Synthèses

Elles ne peuvent excéder 18 000 caractères (espaces compris, références exclues), 30 références et 3 à 4 illustrations (figures et tableaux), avec un titre en français et en anglais.

Elles doivent être accompagnées d'un texte d'environ 700 caractères destiné à offrir un aperçu rapide du sujet et à susciter l'intérêt du lecteur (chapô) ; celui-ci figurera en caractères gras en tête de l'article. Un résumé en anglais d'environ 1 000 caractères doit être fourni, nécessaire à l'indexation de l'article dans PubMed.

Un encadré « Prise de distance » de 1 000 à 1 500 caractères pourra souligner les implications conceptuelles ou méthodologiques posées par les résultats et les stratégies futures pour les résoudre.

## Présentation des références

Appelées dans le texte par leurs numéros entre crochets ([1], [2], [3-5]) et classées par ordre d'apparition dans l'article.

Pour éviter toute redondance, alléger les textes et souligner la dynamique des connaissances, il est recommandé aux auteurs de rechercher et de mentionner les articles parus précédemment dans *médecine/sciences* sur le sujet.

Tous les noms des auteurs sont mentionnés, suivis des initiales de leurs prénoms, jusqu'au nombre de quatre. Au delà, les trois premiers le sont, suivis de *et al.* (en italique).

## Pour les articles de revues

**Exemple** : Sivori S, Falco M, Della Chiesa M, et al. CpG and double-stranded RNA trigger human NK cells by Toll-like receptors: induction of cytokine release and cytotoxicity against tumors and dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 10116-21.

## Pour les articles d'ouvrages

**Exemple** : Ménard D, Beaulieu JF, Boudreau F, et al. Gastrointestinal tract. In : Unsicker K, Kriegstein K, eds. *Cell signaling and growth factors*. New York: Wiley, 2005: 755-90.

## Pour les ouvrages

**Exemple** : Kupiec JJ, Sonigo P. *Ni Dieu ni gène*. Paris : Seuil, 2004 : 230 p.

## Les Nouvelles

6 000 caractères au maximum (espaces compris, références exclues), 10 références au plus et 1 à 2 figures. Un titre en français et en anglais.

Présentation des références identique à celle des Synthèses (voir plus haut).

## Les Brèves

2 000 caractères au maximum (espaces compris).

**Exemple de référence** : Chneiweiss H, et al. *Med Sci (Paris)* 2002 ; 18 : 1065-75.

**Tous les articles** doivent être accompagnés des **coordonnées** de tous les auteurs : • nom et prénom, • institution, • adresse professionnelle, • téléphone, télécopie et courriel.

## Contacts :

**Rédaction Paris** : [contact@medecinesciences.org](mailto:contact@medecinesciences.org)

**Rédaction Québec** : [medecine.sciences@bellnet.ca](mailto:medecine.sciences@bellnet.ca)

## SOUSSION ÉLECTRONIQUE MÉDECINE/SCIENCES

*Médecine/Sciences* est dotée d'une gestion éditoriale automatisée, via le système informatique Fontisworks (<http://msc.fontismedia.com>). **Tous les manuscrits, Éditoriaux, Synthèses, Brèves, Nouvelles, Forum, doivent être soumis par voie électronique, et nos experts devront également soumettre leur évaluation par voie électronique.**

La marche à suivre est très simple : le nouvel utilisateur accède à la page d'accueil du site de soumission en ligne de *Médecine/Sciences* à l'adresse suivante : <http://msc.fontismedia.com> et clique sur le bouton « accès auteur » (ou « accès expert ») dans la liste de liens figurant sur l'écran qui s'affiche. Si l'utilisateur est un auteur, il sera d'abord invité à créer son compte en s'enregistrant. Il recevra un mail de confirmation contenant son mot de passe. L'enregistrement ne s'effectue qu'une seule fois, lors de la toute première utilisation. À chaque connexion suivante, il suffit de cliquer directement sur « auteur » pour s'identifier, saisir le nom d'utilisateur (mail) et le mot de passe pour entrer dans le système. Une fois dans le système, l'auteur souhaitant soumettre un manuscrit suit le cheminement indiqué pour saisir les différentes informations afférant à la soumission, ainsi que pour télécharger les fichiers de son manuscrit.

*Les experts*, eux, seront d'abord sollicités par mail, et devront, lors d'une première étape, accepter ou refuser l'expertise en entrant dans le système via « l'accès expert », en indiquant l'identifiant (adresse e-mail) et le numéro du manuscrit (msc + N°) qui leur aura été indiqué dans le mail de sollicitation. Puis, comme précédemment, suivre les informations pour télécharger le manuscrit à évaluer, puis, dans un second temps, déposer leur expertise. Tous les documents nécessaires à la soumission en ligne sont accessibles sur la page de garde du site *M/S* de Fontismedia.

Les auteurs qui ne pourraient pas soumettre leur manuscrit via Fontismedia auront la possibilité de le soumettre par e-mail au secrétariat de *Médecine/Sciences* : [secretariat@medecinesciences.org](mailto:secretariat@medecinesciences.org)

**Toute information complémentaire et toute aide pourront être apportées par le secrétariat de *M/S* ([secretariat@medecinesciences.org](mailto:secretariat@medecinesciences.org)) (Tél : 01 55 64 13 93).**