

# Chapitre 01 : Structure des acides nucléiques

Découverts en 1868 par le biologiste suisse Friedrich Miescher dans les noyaux cellulaires, d'où leur nom (du latin nucleus, noyau), mais également présents dans le cytoplasme, les acides nucléiques sont des molécules d'origine naturelle qui jouent un rôle fondamental dans la vie et la reproduction des cellules animales, végétales et microbiennes.

## 1. Définition

Les acides nucléiques sont des molécules de l'information génétique. On les trouve essentiellement dans le noyau des cellules. Il existe 2 types d'acides nucléiques fondamentaux :

- Acide désoxyribonucléique (ADN contient du désoxyribose) localisé essentiellement dans le noyau, les mitochondries et les chloroplastes.
- Acide ribonucléique (ARN contient du ribose) localisé dans le noyau, les ribosomes, le cytoplasme.

## 2. Structure

Les acides nucléiques sont de très longues molécules formées par la répétition de sous unités appelées nucléotides.

Les nucléotides sont les briques élémentaires de la transmission de l'information génétique. Ils jouent également un rôle fondamental dans le métabolisme sous forme di- et tri-phosphorylée.

Un nucléotide est composé de 3 parties : une base azotée, un sucre et un groupement phosphate.

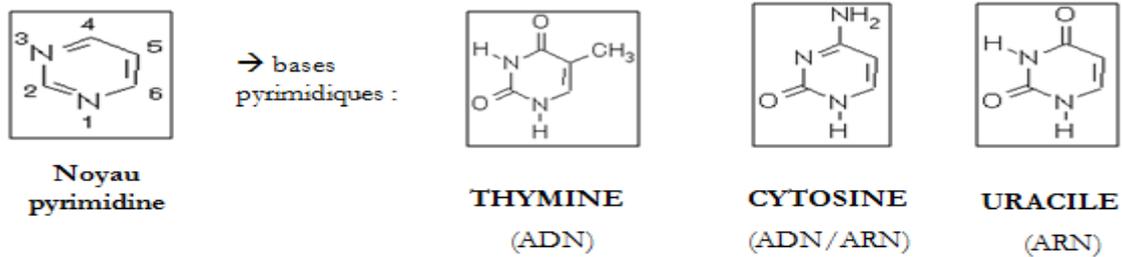
### 2.1. Les bases azotées

• Les bases azotées des acides nucléiques appartiennent à deux classes de molécules selon le noyau aromatique qui en constitue le squelette.

#### a. Bases pyrimidiques:

Sont au nombre de 3, la cytosine, l'uracile et la thymine.

- Les pyrimidines ont un noyau aromatique hexagonal de 4 carbones et 2 azotes.
- La cytosine est constituée d'un noyau pyrimidine dont le carbone 4 est substitué par une fonction amine et le carbone 2 par une fonction cétone.
- L'uracile est constituée d'un noyau pyrimidine dont les carbones 2 et 4 portent des fonctions cétone.
- La thymine est aussi constituée d'un noyau pyrimidine dont les carbones 2 et 4 portent des fonctions cétone, mais dont le carbone 5 est substitué par un méthyle.



**Figure 1.** Les différentes bases pyrimidiques

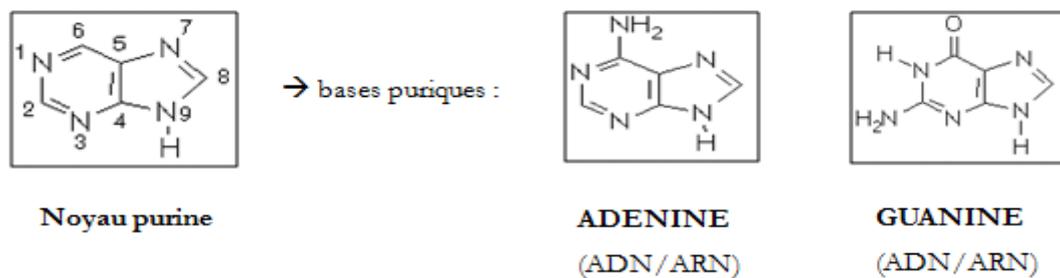
b. Bases puriques:

sont au nombre de 2: l'adénine et la guanine.

- Les purines ont un double noyau aromatique comportant à gauche un cycle hexagonal de 4 carbones et 2 azotes et à droite un cycle pentagonal de 3 carbones (dont 2 communs avec le précédent) et 2 azotes.

- L'adénine est constituée d'un noyau purine dont le carbone 6 est substitué par une fonction amine. Elle est la seule des bases nucléiques dont la formule ne contient pas d'atome d'oxygène.

- La guanine est constituée d'un noyau purine dont le carbone 2 est substitué par une fonction amine et le carbone 6 par une fonction cétone.



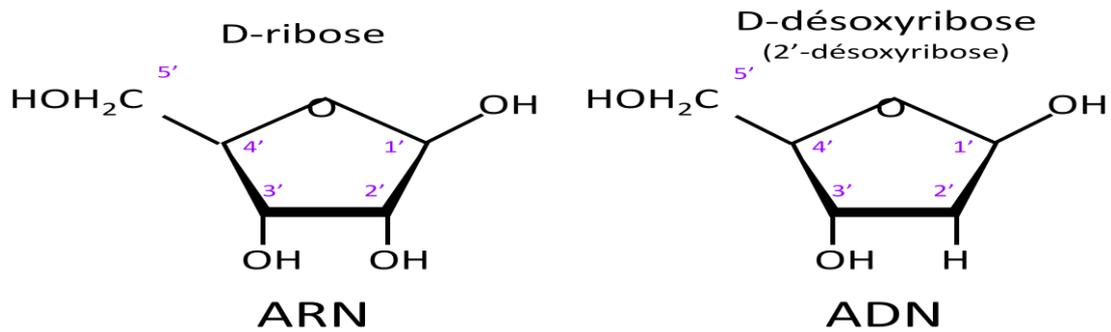
**Figure 2.** Les différentes bases puriques

**2.2. L'ose: on trouve deux types d'oses**

**a. Le ribose** est un aldopentose (un pentose du type aldose), c'est un ose constitué d'une chaîne de cinq éléments carbone ainsi que d'une fonction aldéhyde. Il doit son nom à l'institut dans lequel il a été découvert (le Rockefeller Institute of Biochemistry) à l'époque ("rib"-ose). Il est propre à l'ARN.

**b. Le désoxyribose**, composant des acides désoxyribonucléiques (ADN) est dérivé du ribose par une réduction de la fonction alcool secondaire du carbone n° 2.

Désoxy signifie que l'ose est dépourvu d'un atome d'oxygène présent sur le carbone 2 du ribose. Le désoxyribose confère à cet acide nucléique une plus grande stabilité propre à sa fonction de conservation de l'information génétique.



**Figure 3.** Les deux types d'oses des acides nucléiques

### 2.3. Le groupement phosphaté (acide phosphorique H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>):

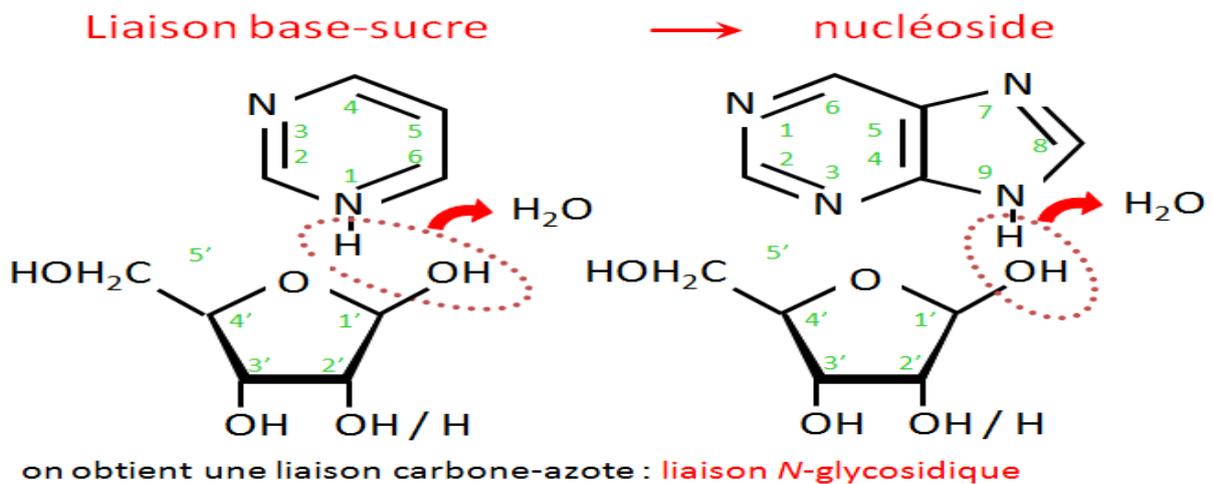
C'est un tri-acide, deux des trois fonctions acides seront estérifiées dans l'ADN et dans l'ARN.

## 3. Association des trois composants d'un acide nucléique :

### 3.1. Liaison ose - base:

Les sucres (ribose ou désoxyribose) se lient aux bases azotées par des liaisons impliquant un des azotes de la base (azote n° 1 des pyrimidines ou azote n° 9 des purines) et le carbone n° 1 de l'ose (carbone réducteur ou fonction semi-acétalique) par l'élimination d'une molécule d'eau (figure 4). Ce sont des liaisons N-osidiques. Cet assemblage ose + base est appelé "nucléoside".

Dans un nucléoside, on numérote les atomes de la base par des chiffres: 1, 2, 3, etc... et pour les distinguer, les carbones du sucre sont numérotés 1', 2, 3, 4, 5'.



**Figure 4.** Liaison ose - base

### 3.2. La liaison nucléoside - H3P04:

se fait par une estérification de la fonction alcool primaire (carbone n°5') du sucre et une des trois fonctions acides du phosphate (figure 5). Cette liaison se fait par l'élimination d'une molécule d'eau entre le OH de l'acide et le H d'une fonction alcool en 5 du sucre. L'ester obtenu est un nucléotide. Un nucléotide est donc formé d'une base azotée, liée par une liaison osidique avec un sucre, lui-même lié par une liaison ester avec un phosphate.

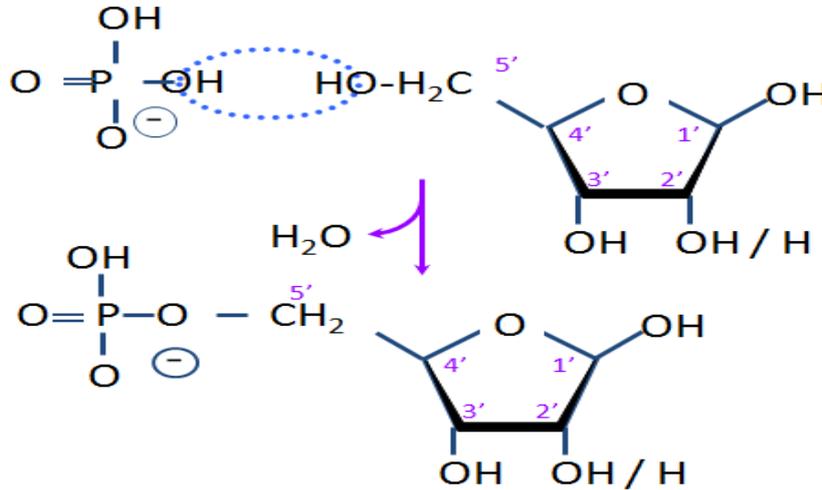


Figure 5. Liaison acide phosphorique-sucre

### 3.3. Association des nucléotides dans un acide nucléique:

Dans un acide nucléique, les nucléotides sont assemblés entre eux par des liaisons esters. Une molécule d'eau est éliminée entre le OH de l'acide phosphorique et le H de la fonction alcool en 3' de l'ose (figure 6). Ainsi, l'acide phosphorique engage deux fonctions acides dans la liaison dites phosphodiester, une fonction ester servent à former le nucléotide, la deuxième liaison à relier deux nucléotides entre eux. La troisième fonction acide du H3PO4 reste libre est confère donc des propriétés acides aux acides nucléiques.

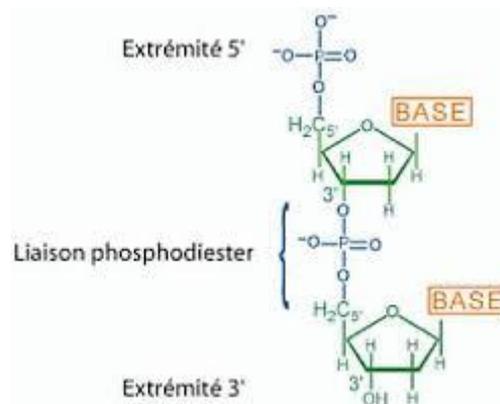


Figure 6. Liaison phosphodiester entre deux nucléotides

#### **4. Structure et caractéristique de l'ADN:**

ADN, ou acide désoxyribonucléique comme il est connu sur son nom formel, est un composant de chaque cellule vivante sur terre. Il se trouve dans le noyau de la cellule dans la plupart des types de cellules. Chaque molécule d'ADN est faite de deux polymères ou chaînes qui sont extrêmement longues. Ces deux chaînes sont capables de s'attacher ensemble par un raccordement où les atomes d'hydrogènes se relient l'un à l'autre. La façon dont les atomes d'hydrogènes se combinent est comme une double hélice et donne à la molécule entière sa forme.

##### **4.1. Les constituants de l'ADN:**

Trois constituants sont propres à l'ADN et vont le différencier de l'ARN.

- l'ose entrant dans la constitution de l'ADN est du désoxyribose;
- les bases constituant les nucléotides d'ADN sont A, G, C et T;
- la molécule d'ADN est habituellement formée de deux chaînes (brins) de nucléotides.

##### **4.2. Caractéristiques des deux chaînes d'ADN:**

###### **a. complémentarité:**

En 1950 Erwin Chargaff a découvert que dans une molécule d'ADN donnée, la proportion d'adénine (A) est égale à celle de la thymine (T).  $A = T$ . La relation entre l'adénine et la thymine est égal à l'unité ( $A/T = 1$ ). La proportion de guanine (G) est égale à celle de la cytosine (C).  $G=C$ . La relation entre la guanine et la cytosine est égal à l'unité ( $G/C = 1$ ). La proportion des bases puriques ( $A + G$ ) est égale à celle des bases pyrimidiques ( $T+C$ ).  $(A+G) = (T+C) = 50\%$ . La relation entre ( $A +G$ ) et ( $T + C$ ) est égal à l'unité  $(A+G)/(T+C)=1$ .

Toutefois, le ratio de ( $A + T$ ) et ( $G+C$ ) était caractéristique de chaque organisme et peut prendre par conséquence des valeurs différentes selon l'espèce étudiée.

Ce résultat indique que les acides nucléiques ne sont pas la répétition monotone d'un tétranucléotide. Il y avait une variabilité dans la composition des bases azotées.

###### **b. Antiparallèles:**

Les molécules d'acide désoxyribonucléiques sont formées de deux chaînes dont les nucléotides sont hybridés deux à deux sur toute la longueur. Elles sont antiparallèles, c'est à dire que l'extrémité 5' de l'une est du côté de l'extrémité 3' de l'autre. Pour que tous les nucléotides puissent s'hybrider; il faut que l'ordre dans lequel ils sont liés ensemble soit complémentaire de la chaîne opposée.

###### **c. Doubles hélices:**

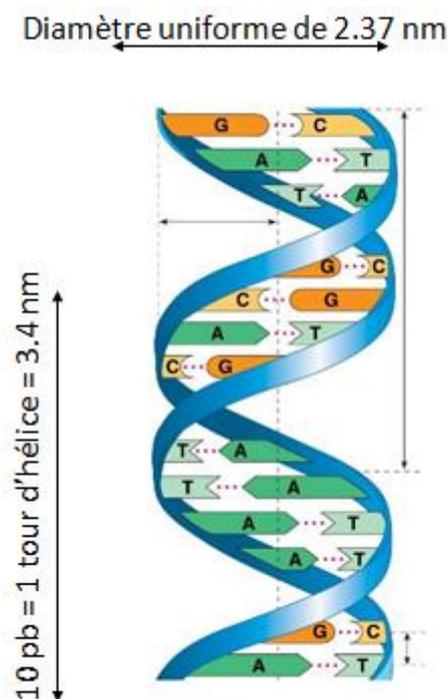
Watson et Crick (1953) ont été les premiers chercheurs à proposer une structure pour les acides nucléiques et leurs travaux de recherche ont été récompensés par le Prix Nobel en 1962, partagé avec M. H. F. Wilkins. Ils décrivaient pour la première fois dans une étude la structure

tridimensionnelle de l'ADN, molécule en forme de double hélice renfermant le patrimoine génétique de toute forme de vie.

Deux chaînes polynucléotidiques sont enroulées en hélice autour d'un axe commun. Ces chaînes sont en direction opposée. Les squelettes sucre phosphate sont en dehors, et les bases à l'intérieur. Les bases sont perpendiculaires à l'axe de l'hélice et les bases adjacentes sont séparées par 3,4 angströms (Å). La structure hélicoïdale se répète tous les 34 Å, soit toutes les 10 bases, soit un tour d'hélice (un pas). Le diamètre de l'hélice est de 20 Å. Entre G et C, on a 3 liaisons hydrogènes, contre 2 seulement entre A et T. Les liaisons hydrogène, relativement fragiles, peuvent être détruites par chauffage ou par un pH élevé, dans ces conditions les structures secondaires disparaissent pour l'ADN, le résultat est la séparation complète des deux brins qui le composent : il y a dénaturation de la molécule.

En raison de la stricte complémentarité des bases, la dénaturation est réversible, les deux brins peuvent, dans des conditions appropriées de température et de force ionique, rétablir des liaisons hydrogènes entre leurs bases et reprendre la configuration en double hélice d'origine.

La détermination de cette structure a permis par la suite de comprendre l'ensemble des mécanismes moléculaires de l'expression génétique : réplication de l'ADN, transcription des ARN, code génétique, etc.



**Figure 7.** La molécule d'acide désoxyribonucléique (ADN).

## 5. Nomenclature des unités nucléotidiques

Les bases azotées sont conventionnellement désignées par une initiale: l'adénine par A et la, la guanine par G, etc....

Chaque base peut entrer dans la structure de deux nucléosides, selon que le sucre est un ribose ou un désoxyribose.

Chaque nucléoside peut être lié à un, deux ou trois phosphates. On les désigne par des sigles conventionnels: GMP pour guanosine monophosphate, CDP pour cytidine diphosphate, ATP pour adénosine triphosphate, etc..

On désigne par nucléotides les nucléosides monophosphate: AMP ou acide adénylique, dTMP ou acide désoxythymidylique, etc...

Les nucléosides polyphosphates sont des diphosphates: ADP ou GDP... ou encore des triphosphates, les plus riches en énergie: ATP ou GTP, etc...

Les acides nucléiques sont formés par une polycondensation de nucléotides AMP, CMP, GMP et UMP pour les acides ribonucléiques, dAMP, ICMP, IGMP et dTMP pour les acides désoxyribonucléiques.

## NOMENCLATURE

type de base	base azotée	nucléoside	nucléotide
purine	adénine (ADN/ARN)	adénosine	adénylate
purine	guanine (ADN/ARN)	guanosine	guanylate
pyrimidine	thymine (ADN)	thymidine	thymidylate
pyrimidine	uracile (ARN)	uridine	uridylylate
pyrimidine	cytosine (ADN/ARN)	cytidine	cytidylate

Le préfixe *désoxy-* ou *désoxyribo-* est ajouté aux nucléosides ou nucléotides qui comportent du désoxyribose.

Le préfixe *ribo-* est ajouté aux nucléosides ou nucléotides qui comportent du ribose.

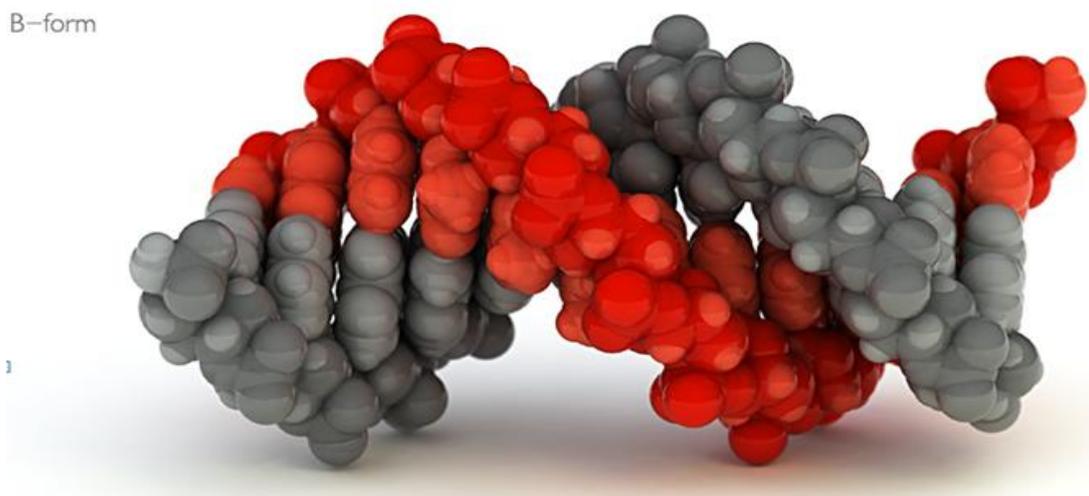
## 6. Formes de l'ADN

Dans l'espace les deux chaînes présentent une configuration hélicoïdale. Elles s'enroulent autour d'un axe imaginaire pour constituer une double hélice à rotation droite (Ex. Forme A et B) ou bien à rotation gauche (Ex. Forme Z). Il existe plusieurs structures hélicoïdale de l'ADN jusqu'à

maintenant présent, six formes ont été décrites (A →E et Z), mais la plupart d'entre elles ont été trouvées dans des conditions expérimentales contrôlées.

### 6.1. Forme B

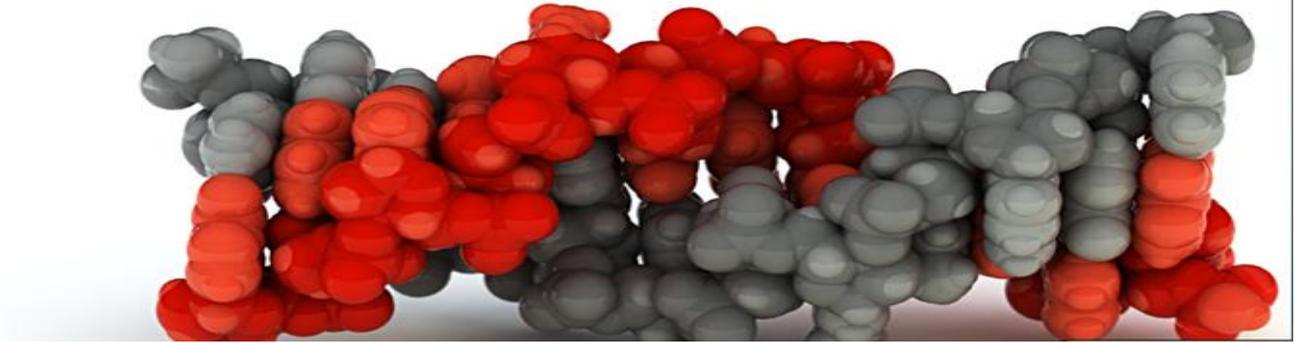
- La forme biologique la plus importante de l'ADN;
- 10 paires de bases par tour de spire;
- Le pas de l'hélice 3,4 nm;
- Le diamètre de l'hélice est de 2,4 nm;
- Les bases puriques et pyrimidiques sont à l'intérieur de l'hélice
- Les groupements phosphates et les désoxyriboses sont à l'extérieur;
- Deux types de sillons appelés :  
sillon majeur (1,2 nm de large) et sillon mineur (0,6 nm de large).



### 6.2. Forme Z

- Double hélice à rotation gauche;
- 12 paires de bases par tour d'hélice;
- Le pas d'hélice est 4,6 nm;
- Diamètre de l'hélice est plus petit 1,8 nm;
- Les bases sont enchaînées avec une alternance de conformation;
- Le Z-ADN a été décelé dans des chromosomes de mammifères;
- Fonction précise mal connue, (régulation structurale de l'expression génétique).

Z-form



## 7. Propriétés physico-chimiques de l'ADN

Les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes qui maintiennent la structure en double hélice sont des forces faibles et des quantités relativement petites d'énergie peuvent séparer les deux brins, un processus appelé dénaturation.

### 7.1. Température de fusion

Une solution d'ADN est chauffée, à une certaine température, les liaisons hydrogène qui assurent la cohésion des 2 brins appariés se rompent. On parle de fusion de l'ADN caractérisée par la température de fusion ( $T_m$  : melting temperature).

La dénaturation et la renaturation des brins d'ADN en solution sont des reconstitutions critiques pour diverses fonctions biologiques normales (réplication; transcription ...etc.).

La température de fusion est influencée par plusieurs facteurs :

- C + G % : la  $T_m$  augmente avec l'augmentation du CG (fig.11).

- Les cations (mono ou divalent) :

Le magnésium  $\longrightarrow$  stabilisation de l'hélice (augmentation de la température de fusion de l'ADN)

Le cuivre  $\longrightarrow$  déstabilisation de l'ADN (diminution de la température de fusion de l'ADN)

- Les polyamines.

- Les protéines.

- Calcul de la  $T_m$

- Oligonucléotide inférieur à 20 nt :

$$(A+T) \times 2 + (G+C) \times 4 = T_m \text{ en } ^\circ\text{C}$$

- Oligonucléotide Supérieur à 20 nt :

$$\{(A+T) \times 2 + (G+C) \times 4\} \times (1 + \{(N-20)/20\}) = T_m \text{ en } ^\circ\text{C}$$

## 7.2. Absorption de la lumière ultraviolette

La propriété d'absorption des purines et pyrimidines dans l'UV à 260nm, et les protéines à 280nm permet de doser les acides nucléiques (C: concentration), et aussi bien d'estimer la contamination par les protéines lors de la purification des acides nucléiques.

$C = A_{260} * DF * 100$  (unité:  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  A: Absorbance, DF: facteur de dilution)

$P$  (pureté) =  $A_{260} / A_{280}$  (Une solution d'ADN est considérée pure si  $1.7 \leq P \leq 2$ )