

Chapitre II.

Structures des Acides Nucléiques

I. L'Acide DésoxyriboNucléique (ADN)

1. Structure primaire

Le brin d'ADN est un polymère de désoxyribonucléotides monophosphates reliés entre eux par des **3', 5'- liaisons phosphodiester** (relient le carbone 3' du désoxyribose d'un nucléotide au carbone 5' du désoxyribose du nucléotide suivant).

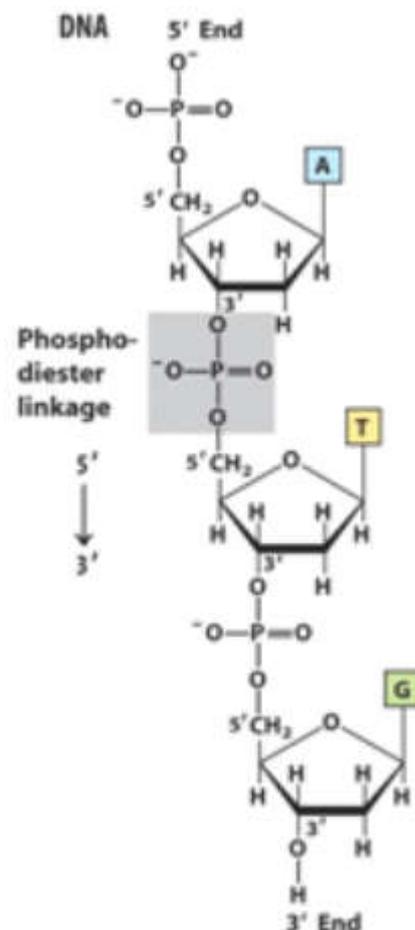


Figure 1 : Structure primaire d'ADN

- L'alternance pentose-Phosphate constitue le **squelette de l'ADN** sur lequel sont accrochées les bases azotées
- Le brin d'ADN possède **une polarité** : il a une **extrémité 5'-phosphate** et une **extrémité 3'**

OH

NB : Lors de la réplication, la liaison phosphodiester est catalysée dans le sens 5' - 3' par les ADN polymérases qui nécessitent une matrice ADN (modèle) et une amorce (voir cours de biologie moléculaire).

- Formation de la **liaison phosphodiester** :

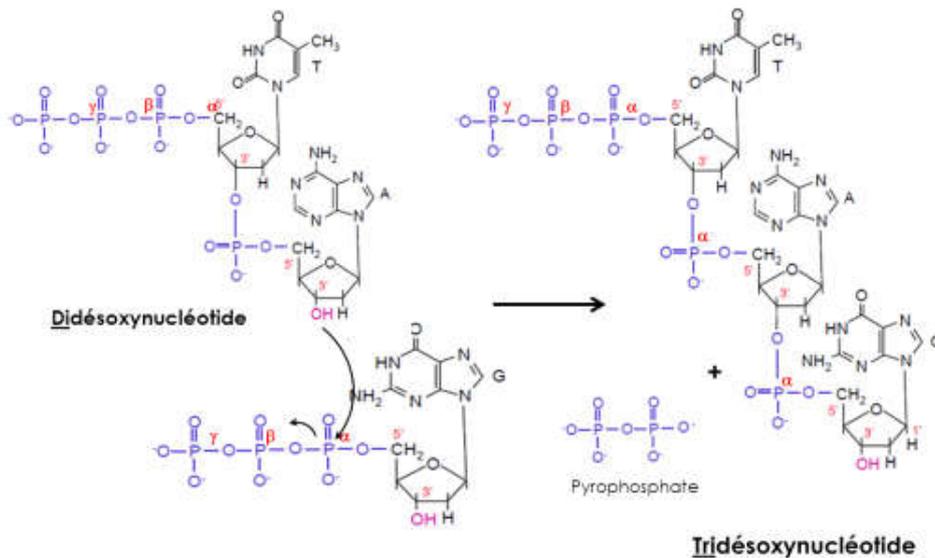


Figure3 : Squelette d'ADN

- Il y a différentes manières d'écrire le brin d'ADN :

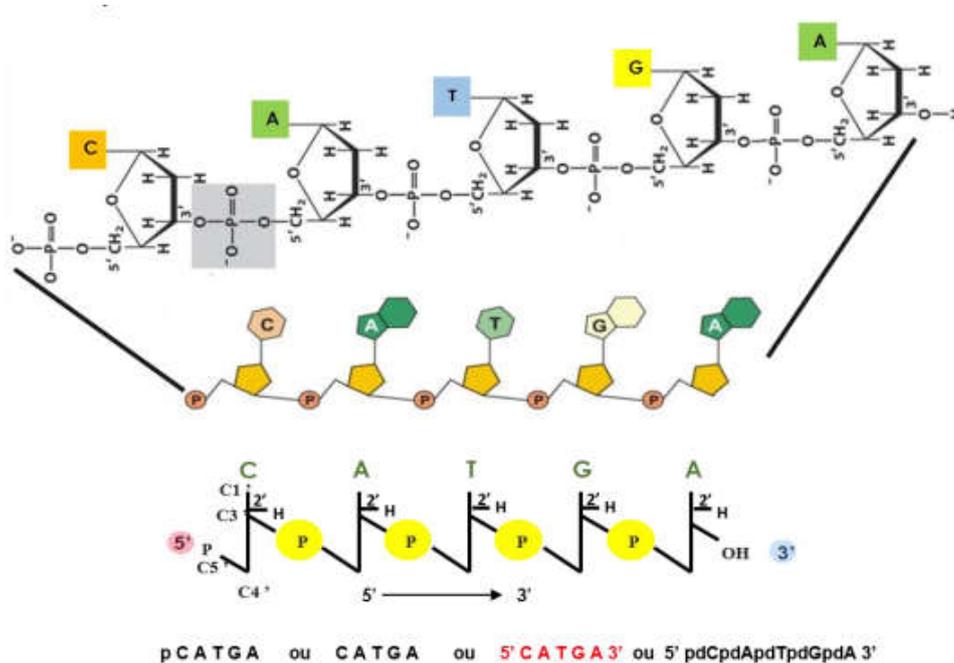


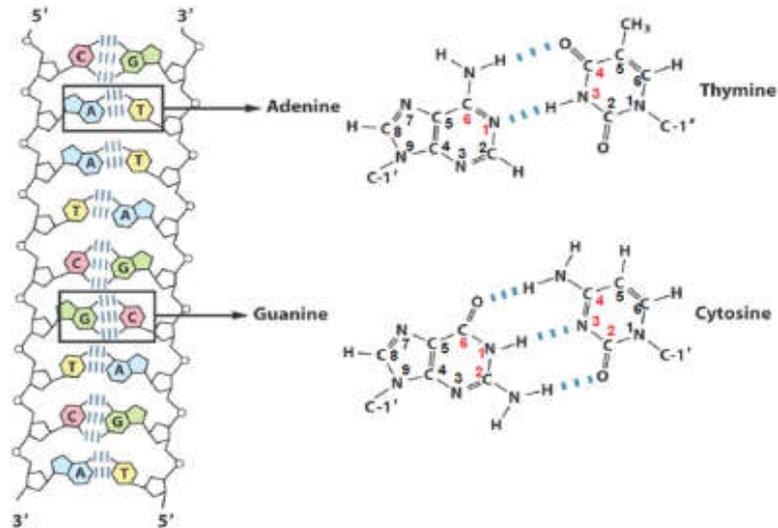
Figure4 : Différentes manières d'écrire le brin d'ADN

2. Structure secondaire de l'ADN : la double hélice

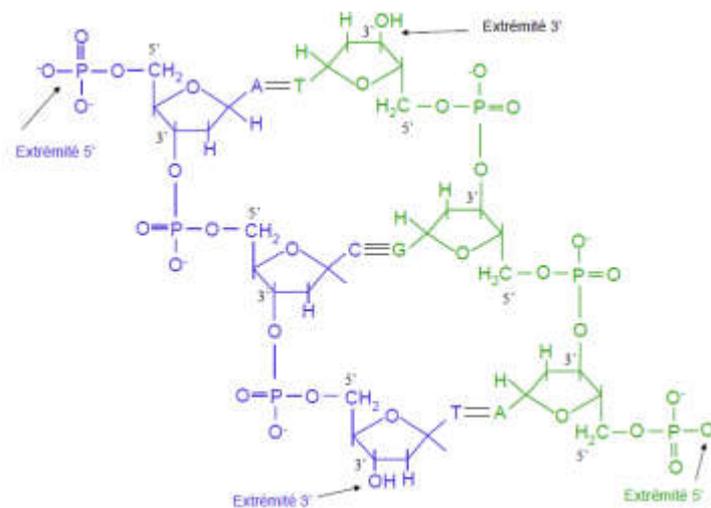
Les données de Chargaff et les résultats des travaux de Rosalind Franklin et Maurice Wilkins de diffraction aux rayons X de cristaux de molécules d'ADN analysés en 1953 par Watson et Crick, ont permis de déterminer les caractéristiques de la molécule d'ADN : Dans toutes les espèces, les pourcentages des bases A et T et des bases C et G sont égaux. Il y a donc autant de bases puriques que de bases pyrimidiques : **A=T et C=G** alors que le **rapport A+T / C+G varie selon les espèces**

Organisme	A	T	G	C	Rapport A+T / C+G
E. coli	26,0	23,9	24,9	25,2	1,00
Levure	31,3	32,9	18,7	17,1	1,79
Rat	28,6	28,4	21,4	21,5	1,33
Homme	30,3	30,3	19,9	19,8	1,52

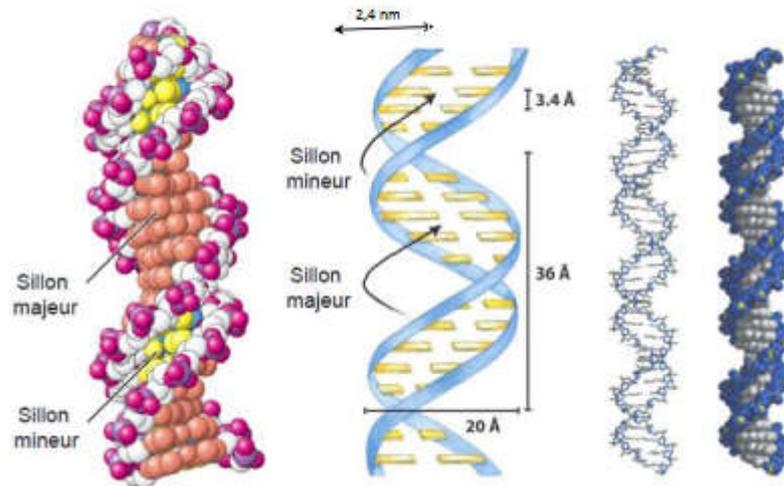
- La molécule d'ADN est constituée de deux chaînes d'ADN (ou brins d'ADN) qui s'enroulent autour d'un axe formant une conformation hélicoïdale appelée **double hélice d'ADN**.
- Les deux brins d'ADN sont stabilisés par des liaisons hydrogène entre les bases complémentaires (on dit aussi qu'il y a appariement entre les bases). Les deux chaînes de l'ADN sont dites **complémentaires**.
 - **L'adénine et la thymine : 2 liaisons hydrogène**
 - **La guanine et la cytosine : 3 liaisons hydrogène**



- Les deux chaînes sont **antiparallèles** car l'extrémité 3' d'un brin se trouve en face de l'extrémité 5' de l'autre



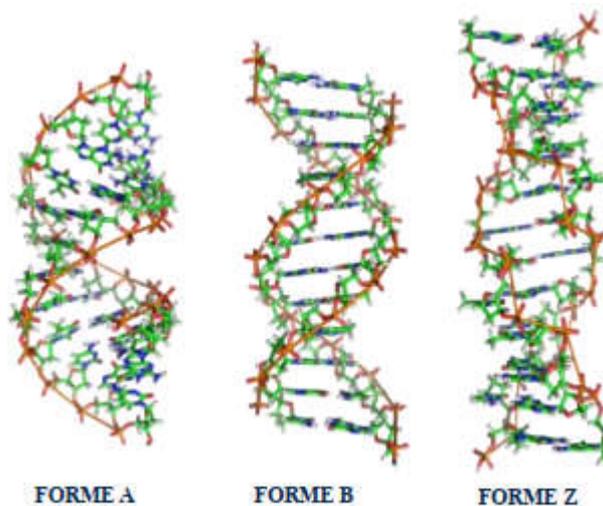
- Les bases complémentaires (A-T) et (G-C) sont situés sur le même plan et sont à l'intérieur de l'hélice.



- Les plans des bases sont perpendiculaires à l'axe de l'hélice
- Les plans des oses étant presque perpendiculaires au plan des bases
- Les enchaînements pentoses-phosphates forment les **squelettes hélicoïdaux** parallèles extérieurs : la double hélice tourne autour d'un axe et présente deux sillons inégaux : **le grand sillon et le petit sillon**
- Le **diamètre** de l'hélice est de **20 Å°** (2,4 nm)
- Un **tour d'hélice** mesure **34 Å°** (3,4 nm)
- La distance entre deux nucléotides est de **3.4 Å°**. Il y a donc **10 nucléotides par tour d'hélice**.

3. Variants conformationnels

Différents variants conformationnels de l'ADN ont été retrouvés in vivo (formes B et Z) ou in vitro (forme A) :



Variants conformationnels	Hélice A	Hélice B Modèle de Watson et Crick. Plus stable physiologiquement	Hélice Z
Enroulement de l'hélice	Droit	Droit	Gauche
Diamètre	≈ 2,6 nm	≈ 2,0 nm	≈ 1,8 nm
Nucléotides par tour	11	10	12
Pas de l'hélice	2,8	3,4 nm	4,5

En Avril 2018, un article publié dans la revue *Nature Chemistry* démontre la présence *in vivo* d'une nouvelle structure de l'ADN : la **i-motif structure** (i = intercalated) retrouvée au niveau du noyau. Il s'agit d'une forme transitoire de l'ADN qui se forme dans les régions du génome qui sont **riches en cytosines**. Elle jouerait un rôle dans la régulation de l'expression de certains gènes. Elle se forme en fin de G1 lorsque la cellule est en pleine croissance et que l'ADN est activement transcrit. Cette structure particulière est retrouvée sur les promoteurs de certains gènes fondamentaux (proto-oncogènes) et sur certaines régions centromériques et télomériques.

II. Les Acides RiboNucléiques (ARN)

Ces molécules sont toutes des copies complémentaires d'un des deux brins de l'ADN et sont synthétisées lors de la **transcription**.

Les ARN participent à toutes les étapes de l'expression des gènes et de la biosynthèse des protéines. Ils servent d'intermédiaire pour la circulation de l'information génétique de l'ADN aux protéines, interviennent dans la structure des ribosomes et dans la régulation de l'expression des gènes.

1. Classification des ARN

Toutes les cellules, à l'exception des virus, contiennent trois types essentiels d'ARN : **les ARN ribosomiques (ARNr), les ARN de transfert (ARNt) et les ARN messagers (ARNm)** qui interviennent lors de **la traduction**.

Les ARN peuvent être classés en deux groupes selon leurs fonctions :

- Les **ARN codants** qui sont traduits en polypeptides par les ribosomes : les ARN messagers (ARNm) qui sont des intermédiaires porteurs de l'information pour la synthèse protéique (2-3% des ARN totaux).

- Les **ARN non codants** qui ne seront pas traduits en polypeptides :

o ARN intervenants dans la traduction : ARN de transfert (ARNt) et ARN ribosomiques (ARNr).

o Chez les **eucaryotes** il existe des petits ARN nucléaires : **snRNA (small nuclear RNA)** qui se lie à des protéines spécifiques et interviennent dans la maturation des ARNm (élimination des introns). **L'ARN télomérase** est également impliquée dans la réplication de l'ADN à l'extrémité du chromosome. **L'ARN antisens** et le petit **ARN d'interférence (ARNsi pour short interfering)** sont impliqués dans la régulation des gènes.

NB : Par souci de temps et de complexité, ces 3 derniers types d'ARN ne seront pas traités durant ce cours.

Les différentes structures que peut prendre la molécule d'ARN produisent différents types d'ARN.

2. Structure primaire

L'ARN est un polymère de ribonucléotides. Sa structure primaire est voisine de celle de l'ADN.

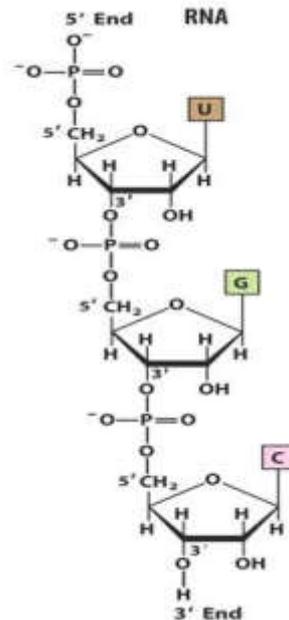
Cependant, il existe trois différences essentielles :

- Le sucre est le **ribose** et non le désoxyribose

- L'**uracile** remplace la thymine

- L'ARN existe sous forme d'une seule chaîne polynucléotidique (**simple brin**)

(Sauf dans quelques rares virus où l'ARN peut se trouver sous forme double brin)



D'autres différences existent entre l'ADN et l'ARN :

- Les ARN Sont moins stables que les ADN
- **Les ARN quittent le noyau pour le cytoplasme alors que l'ADN reste dans le noyau**
- L'ARN Contient de nombreuses **bases modifiées** comme par exemple la Pseudouridine, Dihydrouridine, etc...

3. Structure secondaire

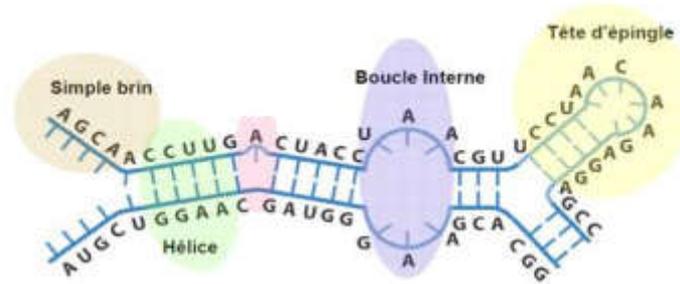
La plupart des ARN naturels sont présents sous forme monocaténaire (simple brin) dans la cellule, contrairement à l'ADN qui est sous forme d'un double brin apparié. Les brins d'ARN se replient le plus souvent sur eux-mêmes, formant une **structure intramoléculaire** qui peut être très stable et très compacte.

La base de cette structure est la formation de deux types d'appariements internes :

- Les appariements conventionnels de type **Watson et Crick** (A-U ; G-C)
- Les appariements non conventionnels de type **Wobble** (G-U)

La description des appariements internes entre les bases d'un ARN s'appelle la structure secondaire.

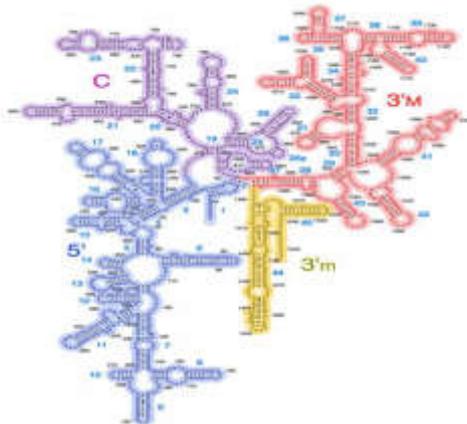
Cet ensemble d'appariements ainsi que la présence de bases modifiées induisent une topologie particulière, composée de régions en hélice (tiges) et de régions non-appariées (boucles). On parle par exemple de structure en "épingle à cheveux" ou "tige-boucle".



Les ARN peuvent former :

- Différentes structures secondaires grâce à des **appariements et repliements internes** :

Exemple : ARNr 16S (E. coli)



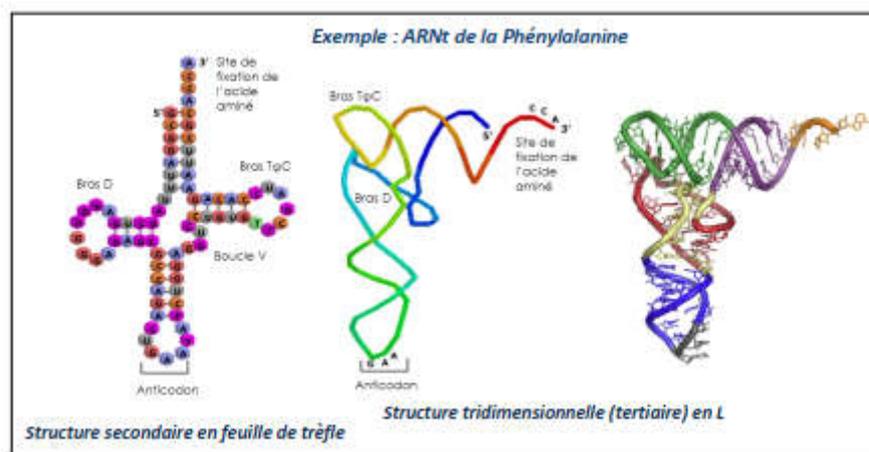
- Des **doubles brins ARN/ARN** : cas des virus à ARN double brin, hybridation transitoire de l'ARNm et de l'ARNt au cours de la **traduction**
- Des **doubles brins ADN/ARN** : exemple : lors de la **transcription** on assiste à une hybridation ADN/ARN transitoire

4. Structure tertiaire

La structure secondaire des ARN peut être complétée par des interactions à distance de différentes régions qui définissent alors une **structure tridimensionnelle** ou structure tertiaire.

Exemple : les ARN de transfert (ARNt)

- Structure secondaire caractéristique en **feuille de trèfle**
- Ils représentent **15%** des ARN totaux
- Servent à "traduire" les codons de l'ARNm en acides aminés : Ils se fixent sur les sites du ribosome où va être lu l'ARNm
- Leurs extrémités 3'OH se terminent toujours par le triplet de nucléotides **CCA**. C'est au niveau de cette extrémité que se fixent les acides aminés au cours de **la traduction**. Chaque acide aminé se fixe sur son ARNt spécifique (mais plusieurs ARNt peuvent transporter le même acide aminé, ils sont appelés **ARNt isoaccepteurs**) et sera transféré à la protéine en formation
- Contiennent une région appelée **boucle de l'anticodon** constituée d'un triplet de nucléotides dont les bases sont complémentaires de l'un des codons de l'ARNm
- Contiennent des **bases modifiées** (ex : l'Inosine qui est un dérivé d'adénine)
- La feuille de trèfle subit d'autres repliements qui créent une **structure tertiaire** compacte en **forme de L** maintenue par des liaisons hydrogène supplémentaires entre les différentes régions de la molécule



5. Structure quaternaire

Certains ARN peuvent s'associer à des protéines spécifiques et former ainsi une structure quaternaire.

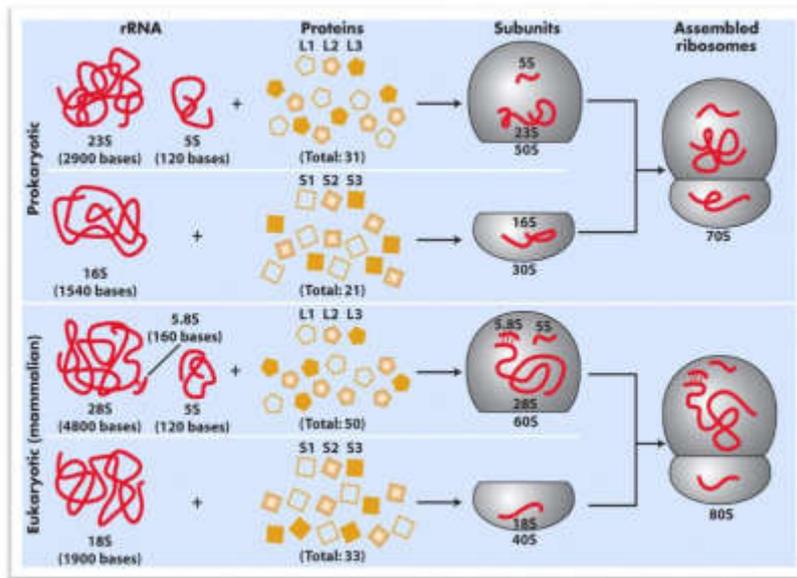
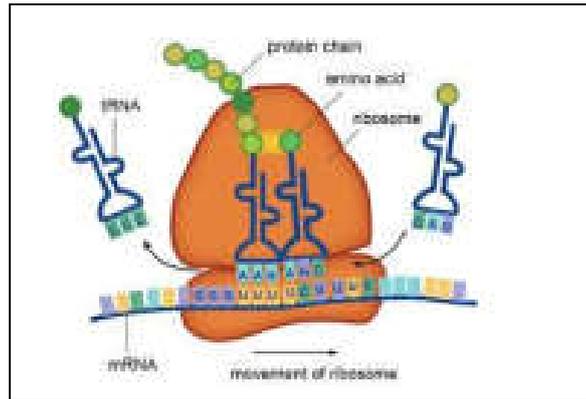
Exemple : les ARN ribosomiaux (ARNr) :

- Ils représentent **80%** des **ARN totaux**
- Ils s'associent à des protéines (65% ARNr et 35% protéines) pour former les **ribosomes**, organites cellulaires indispensables à la synthèse des protéines (traduction)
- Ils sont nommés en fonction de leur vitesse de sédimentation après ultracentrifugation

exprimée par S (S = unité Svedberg = unité de densité)

• Rôles des ARN ribosomiques :

- Rôle structurale (ribosomes)
- Rôle fonctionnel (traduction)



Assemblage des ribosomes chez les procaryotes et les eucaryotes

S : constante de Svedberg = unité de mesure du taux de sédimentation

1- Propriétés physico-chimiques des acides nucléiques

1-1- Propriétés chimiques

1-1-1-Solubilité

Les acides nucléiques sont considérés comme des macromolécules chargés négativement en raison des groupements phosphate ionisés, ce qui les rend solubles dans l'eau sous forme de sels de sodium constituant ainsi des solutions aqueuses avec une viscosité élevée.

Cependant les acides nucléiques se précipitent dans l'éthanol en présence de sel de sodium (neutralise charges -).

2-1-2- Hydrolyse

2-1-2-2- Hydrolyse Alcaline

Le traitement alcalin de l'ARN (pH=11 ; 37°C) provoque une hydrolyse rapide et totale cela est due à la présence du 2'OH libre sur le ribose. Cependant l'ADN est résistant à ce traitement (absence du 2'OH désoxyribose).

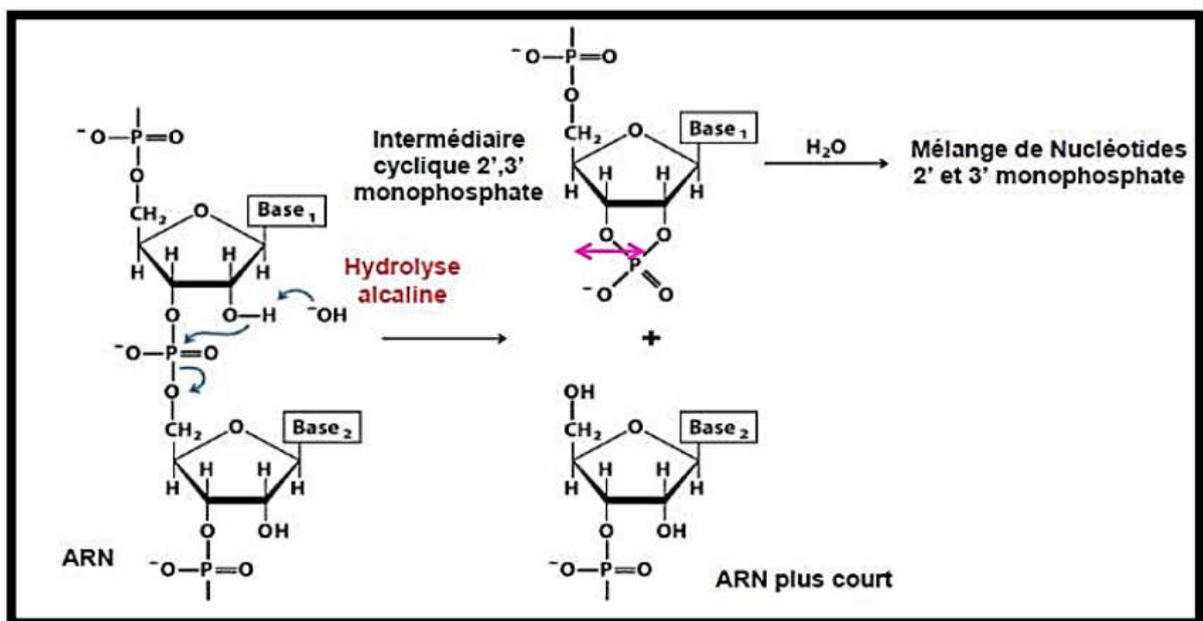


Figure 5: Hydrolyse Alcaline de l'ARN

1-1-2-1- Hydrolyse Acide

Le traitement acide de l'ADN (HCl à faible concentration) provoque le clivage de la liaison N-osidique Entre les purines (N9) et le 2' désoxyribose (C1') ce qui induit la formation d'une molécule ADN dépourvu de purines (ADN apurique). Mais l'ARN est résistant au traitement acide.

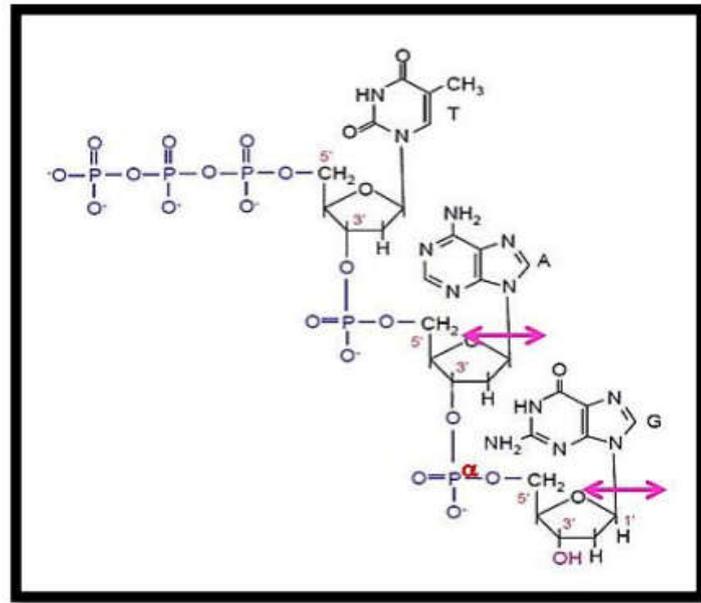


Figure 6 : Hydrolyse Acide de l'ADN

1-2- Propriétés physiques

1-2-1- Température de fusion

Les liaisons hydrogène et les interactions hydrophobes qui maintiennent la structure en double hélice sont des forces faibles. Des quantités relativement petites d'énergie peuvent séparer les deux brins induisant un processus de dénaturation. La dénaturation et la renaturation des brins d'ADN en solution sont des reconstitutions critiques pour diverses fonctions biologiques normales (réplication ; transcription ...etc.). Si 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) qui désigne la température de parvenir la séparation de 50% des deux brins d'ADN (Fig. 7).

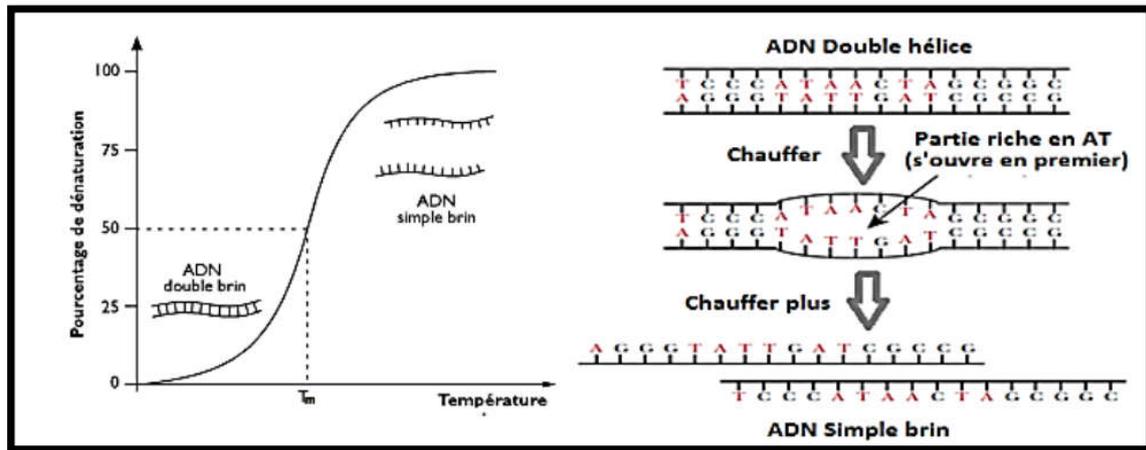


Figure 7 : Séparation des brins d'ADN en fonction de la température.

NB :

- Les régions riches en A et T s'ouvrent plus rapidement à celles riches en C et G.
- La T_m augmente avec l'augmentation du pourcentage des C et G

2-3- Absorption de la lumière ultraviolette

Les purines et pyrimidines qui entre dans la composition des acides nucléiques (ADN et l'ARN) Absorbent dans les UV avec un maximum à 260 nm (Fig. 8).

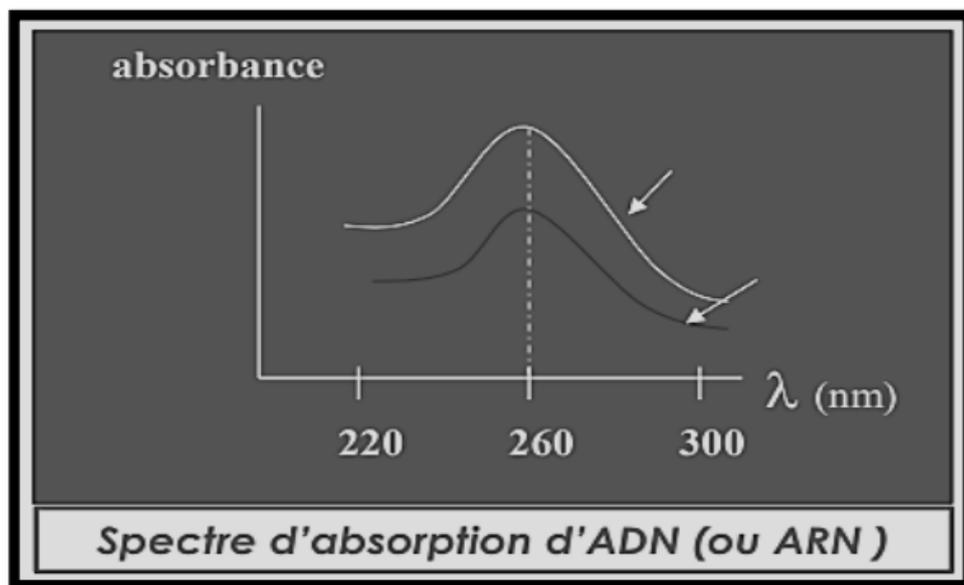


Figure 8 : Spectre d'absorption d'ADN (ou ARN)

Cette propriété d'absorption permet de doser la concentration des acides nucléiques.

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

Cependant, la capacité des protéines à absorber la lumière ultraviolette à 280 nm permet d'estimer la contamination par les protéines lors de la purification des acides nucléiques.

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

2-3-1- Effet hyperchrome

Les bases sont plus accessibles à la lumière UV après dénaturation

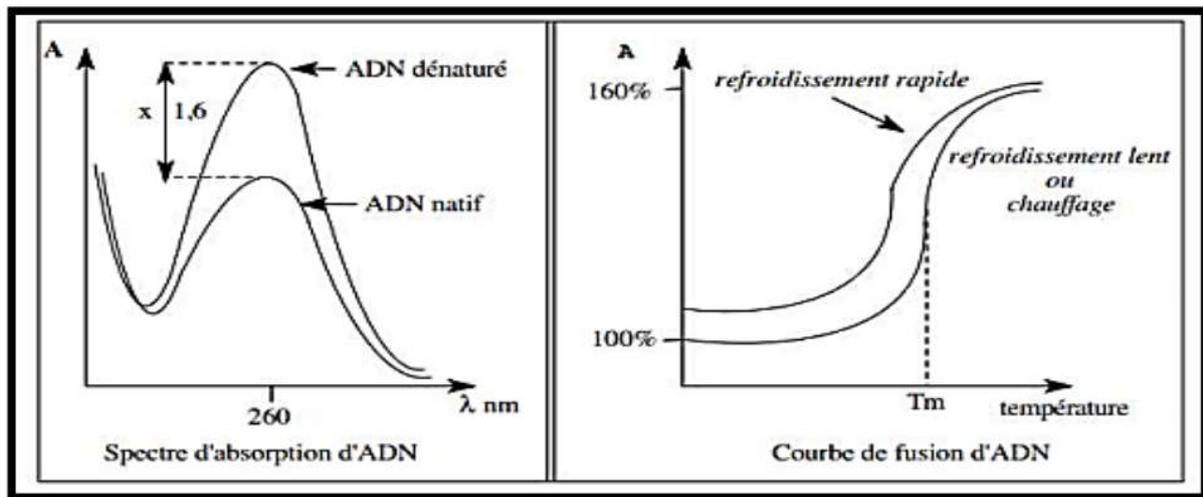


Figure 8 : Spectre d'absorption et courbe de fusion d'ADN