

L'acide désoxyribonucléique (ADN)

Introduction

L'ADN ou acides désoxyribonucléique est une très grande molécule, elle contient l'ensemble de l'information génétique nécessaire à la structure et au fonctionnement de la cellule et de l'organisme. Elle est formée de deux chaînes dont chacune est constituée d'un enchainement linéaire de nucléotides ; ces derniers sont composés d'acide phosphorique, de pentose et de bases azotés :

- L'acide phosphorique est un triacide dont une fonction acide est dissociée permettant de donner une charge négative à l'ADN, et dont les deux autres peuvent former des liaisons phosphodiester.
- Les pentoses sont des glucides cycliques à 5 atomes de carbone qui sont sous forme de β -D-ribofurane et sous forme « désoxy »
- Les bases sont des structures coplanaires présentant une résonance grâce à leurs doubles liaisons conjuguées ce sont : la guanine, la cytosine, l'adénine et la thymine.

• Structure et caractéristiques des deux chaînes d'ADN

Les molécules d'acide désoxyribonucléiques sont formées de deux chaînes polynucléotidiques enroulées l'une autour de l'autre pour former une double hélice régulière. Les deux chaînes sont :

1-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. Les bases azotées liées par les liaisons hydrogènes sont tournées vers l'intérieur, tandis que les riboses et les acides phosphoriques, hydrophiles sont tournés vers l'extérieur. La structure secondaire du DNA est telle que les deux brins sont enroulés l'un autour de l'autre. Chacun des deux brins est orienté (5'3') dans le sens opposé à celui de l'autre brin (3'5'). On dit qu'ils sont antiparallèles

2-Complémentaires : les bases azotées sont tournées vers l'intérieur de la double hélice de façon à ce que chacune s'hybride avec une base de l'autre brin (A avec T, C avec G). On dit que les bases successives de chacun des brins sont complémentaires. Cette complémentarité s'explique par les raisons suivantes :

Raisons stériques (de place) : en face d'une base purique on trouve une base pyrimidique (une base à deux cycles en face d'une base à un cycle), 2 purines ne peuvent jamais s'associer.

Raisons de liaisons hydrogènes : les bases situées face à face se lient entre elles par des liaisons hydrogènes ; en face d'un groupement NH₂ en 6 d'une base purique se trouve un groupement CO d'une base pyrimidique, et inversement en face d'un groupement NH₂ en 6 d'une base pyrimidique on trouve un groupement CO d'une base purique

3- **Hélicoïdales** : les deux chaînes présentent dans l'espace une configuration hélicoïdale, elles s'enroulent autour d'un axe droit central imaginaire en formant une double hélice droite

Remarque : Comme l'ADN est bicaténaire et que les 2 brins sont liés par liaisons hydrogènes **A=T** et **G≡C**:

A/T=1 et **G/C=1** d'où **A+G/T+C=1**. En revanche le rapport d'asymétrie: **R= A+T / G+C ≠1**. Il est caractéristique de chaque organisme

- **Différentes configurations de l'ADN**

Il existe Plusieurs formes d'ADN : **A-ADN**, **B-ADN**, **Z-ADN**, cette classification est fondée sur des critères physicochimiques, ces types d'ADN diffèrent légèrement par leurs diamètres, leurs tailles et par l'orientation de leurs paires de bases.

Conformation B

C'est celle du modèle décrit par Watson et Crick et que l'on trouve comme la forme principale native dans les conditions physiologiques. C'est une hélice droite de pas (La distance entre deux plans de bases successifs) égal à 3,54 nm (10.4 pb par tour).

- L'inclinaison des bases par rapport à leur axe de rotation perpendiculaire à l'axe principal de l'hélice est de 1°.

- Liaison base-sucre: anti

- le diamètre de l'hélice est de 2.37 nm

- Angle entre 2 plateaux de pb successifs: 36°

Conformation A

Lorsque la teneur en eau d'une solution contenant une molécule d'ADN est diminuée, par exemple lors de la cristallisation, la molécule change de conformation et adopte une conformation notée A et ce changement est réversible. La conformation A se caractérise par :

- hélice droite

- hélice plus compacte

- pas de 2,53 nm (11 pb par tour)
- le diamètre de l'hélice est de 26 Å
- les plans des bases sont tournés de 180° par rapport à la conformation B
- Liaison base-sucre: anti
- l'inclinaison des bases par rapport à leur axe de rotation perpendiculaire à l'axe principal de l'hélice est de 20°.

Cette conformation est trouvée *in vivo* dans :

- l'ADN de certaines spores bactériennes, formées en réponse à la dessiccation du milieu
- les hybrides ADN-ARN qui se forment transitoirement à l'amorce de la réplication, et pendant la transcription.

Conformation Z

Cette conformation est présente dans des régions courtes de l'ADN dans une conformation générale de type B (native). Ces régions spécifiques sont en général des segments de séquence alternée Pur/Pyr (G-C-G-C).

La conformation Z se caractérise par:

- hélice gauche
- Liaison base-sucre: anti pour purine et syn pour pyrimidine
- pas de 4,5 nm (12 pb par tour) : la molécule est plus étirée dans cette conformation
- le diamètre de l'hélice est de 18 Å
- l'inclinaison des bases par rapport à leur axe de rotation perpendiculaire à l'axe principal de l'hélice est de 9°.

Cette conformation est trouvée *in vivo* pour des segments de la molécule d'ADN, avec des enchaînements alternés Pur/Pyr dont les bases sont souvent méthylées. Celle-ci aurait un rôle dans l'expression des gènes

Les propriétés physicochimiques de l'ADN

La structure de la double hélice donne une nature fibreuse à la molécule d'ADN dont les propriétés sont exploitées dans de nombreuses expériences de biologie moléculaire :

- **la densité**

La densité des molécules d'ADN est telle qu'on peut les séparer par ultracentrifugation dans des gradients de densité (chlorure de césium)

- **La charge**

La charge des molécules d'ADN à pH physiologique est négative, elle est proportionnelle à leur longueur, et uniquement du au groupement phosphate. Cette propriété est utilisée pour les séparer par électrophorèse.

- **La solubilité**

Les alcools, et en particulier l'éthanol, précipitent les molécules d'ADN sous forme d'agglomérat en longues fibres. Il précipite aussi en présence d'une forte concentration saline. Par contre en milieu aqueux l'ADN devient un sel d'acide

- **L'absorption UV**

Les nucléotides absorbent dans les UV et cette absorption dépend de l'angle d'incidence des rayons UV : l'absorption est maximale lorsque les rayons d'incidence sont perpendiculaires, et minimale lorsque les rayons d'incidence sont parallèles, l'empilement des bases freinant l'accessibilité.

L'ADN absorbe moins que ne le fait des nucléotides libres en même quantité, on qualifie ce phénomène d'**hypochrome**.

Le chauffage des solutions d'ADN produit une augmentation d'absorbance à 260 nm. Ce phénomène correspond à la dénaturation de l'ADN bicaténaire en 2 brins d'ADN monocaténaire, d'où le doublement de densité optique.

On peut caractériser la température de fusion de l'ADN notée **T_m** qui correspond à la température à la moitié du phénomène (Figure 1)

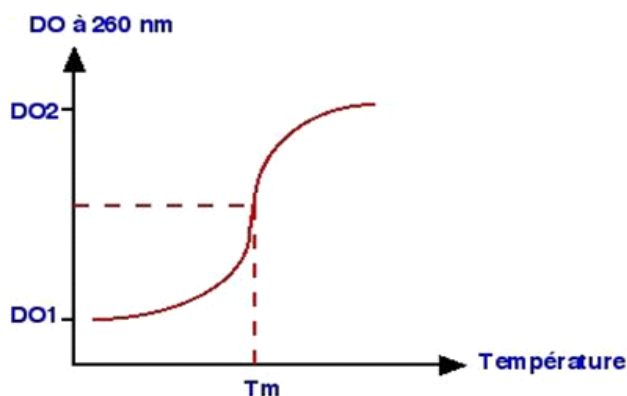


Figure 1 : Absorption de l'ADN à 260 nm en fonction de température

- **Dénaturation thermique**

La dénaturation thermique correspond au fait que les deux brins de l'hélice se dissocient par l'action de la chaleur.

La **température de fusion** ou **T_m** est la température à laquelle la molécule d'ADN est à moitié désappariée. Elle dépend de la longueur de la molécule d'ADN, en effet les petites molécules sont moins stables et ont donc une température de fusion plus faible. Elle dépend également de la richesse en paires de bases C-G.

Pour que la renaturation soit parfaite il faut obtenir le chemin inverse de la courbe de dénaturation et donc un refroidissement lent. Lorsque le refroidissement est trop rapide, la

réassociation est irréversible. La renaturation est seulement possible pour des petites molécules d'ADN. Les possibilités de **renaturation** sont utilisées pour faire de l'hybridation moléculaire. L'augmentation des forces ioniques du milieu réactionnel (NaCl) permet une renaturation plus facile, les cations neutralisant les forces répulsives de l'ADN.

Il est possible de mesurer directement la température de fusion d'un ADN double brin en mesurant l'augmentation de l'absorbance de la solution à 260 nm en fonction de la température. Toutefois, on se contente la plupart du temps d'une estimation à partir de la composition de l'oligonucléotide. Si celui-ci a une longueur égale ou inférieure à 20 nucléotides on compte 2°C par couple A:T et 4°C par couple G:C :

$$T_m = 2 \times (A + T) + 4 \times (G + C)$$

A partir de $N = 20$, on corrige d'un multiplicateur proportionnel à la longueur au-delà de ce chiffre $1 + [(N-20)/20]$:

$$T_m = 2 \times (A + T) + 4 \times (G + C) \times (1 + [(N-20)/20])$$

- **Les topoisomères**

On appelle topoisomères deux molécules d'ADN ayant exactement la même séquence de bases et qui diffèrent uniquement par le nombre d'enlacements (c'est-à-dire le nombre de tours que fait l'un des brins autour de l'autre brin).

- **Les différents états des topoisomères**

Il existe trois états :

- **L'état relâché** : la contrainte sur l'hélice d'ADN est minimale ; c'est la configuration la plus stable de la double hélice
- **Le surenroulement positif** : le nombre d'enlacement est augmenté, par conséquent la tension produite conduit à la formation d'un super tour gauche.
- **Le surenroulement négatif** : le nombre d'enlacement est diminué et par conséquent la tension produite conduit à la formation d'un super tour droit (un désenroulement) (Figure 2)

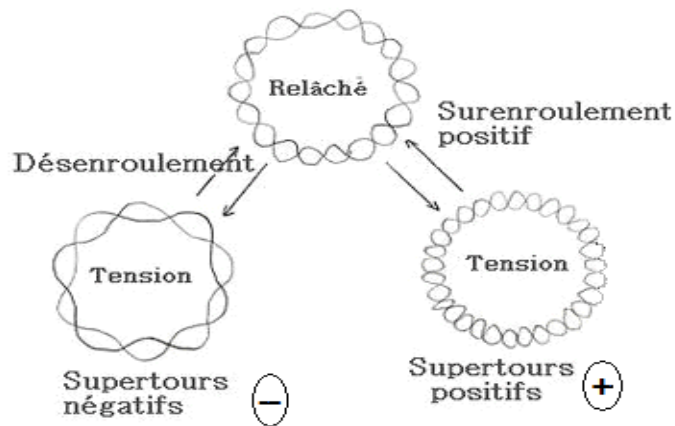


Figure 2 : Les topoisomères de l'ADN

Le superenroulement de l'ADN a des conséquences importantes :

- Rendre la molécule d'ADN plus compact et diminuer ainsi le volume occupé dans la cellule.
- Le degré d'enroulement de la double hélice d'ADN influence sur les interactions de l'ADN avec d'autres molécules (exemple les enzymes)

- **Les topoisomérases**

Les topoisomérases sont des enzymes qui modifient le nombre d'enlacements. Elles sont donc capables d'augmenter ou de diminuer le nombre de super tours dans les molécules d'ADN. On distingue deux grands types de topoisomérases (Fig.11):

- **Les topoisomérases I :** sont capables de couper transitoirement et de ressouder un seul brin d'ADN double brin.
- **Les topoisomérases II :** coupent d'une manière transitoire les deux brins de l'ADN, puis les ressouder. Cette enzyme permet de désenrouler l'ADN (Figure 14).

Les topoisomérases des deux types ont été mises en évidence chez les procaryotes et les eucaryotes leurs importance est capitale dans la réplication et la transcription de l'ADN. Ces enzymes sont également la cible d'agents médicamenteux, soit par exemple les antibactériens de la classe des quinolones qui inhibent les gyrases bactériennes ou les anticancéreux qui agit sur les topoisomérases.

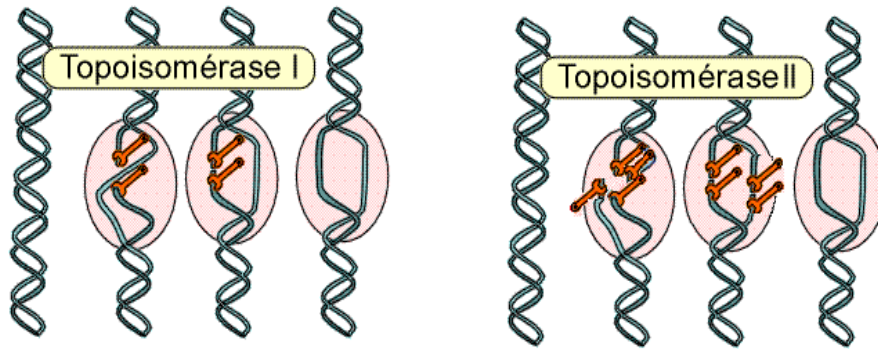


Figure 3 : Les topoisomérases

- **L'ADN des différents êtres vivants**

L'ADN des différents êtres vivants possède le même type de structure c'est-à-dire deux brins (sauf chez certains virus), constituant d'une succession de milliers de bases ce qu'il diffère d'une espèce à l'autre c'est :

- Le nombre de molécules d'ADN (virus et bactérie une molécule, cellule animale et végétale plusieurs molécules)
- La longueur de la molécule (quelques milliers de nucléotides à plusieurs milliards réparties sur les chromosomes)
- La forme de la molécule (linéaire ou circulaire)
- La localisation de la molécule (séparée ou non du cytoplasme par une membrane nucléaire)
- La séquence des bases

1-Les virus : possèdent l'ADN le plus court, il existe des virus à ADN et des virus à ARN, l'ADN des virus est de quelques milliers à plusieurs milliers de bases.

2-Les procaryotes : leur ADN est dans le cytoplasme, de forme circulaire (chromosome unique), 1000 fois plus long que l'ADN viral, on trouve souvent des plasmides qui sont de petits morceaux d'ADN circulaires à côté du chromosome et indépendants de l'ADN principal.

3-Les eucaryotes : possèdent un ADN dans le noyau, chaque chromosome contient une très grande molécule d'ADN, le nombre total de nucléotides dans une cellule est presque 1000 fois plus grand que chez les bactéries. On trouve chez les eucaryotes l'ADN hors noyau : dans la mitochondrie et le chloroplaste.

4- L'ADN des organites

À côté des chromosomes nucléaires qui représentent l'essentiel du génome d'un organisme eucaryote, certains organites comme les mitochondries et les chloroplastes, possèdent des chromosomes circulaires, d'une taille moyenne de 104 à 105 paires de bases, souvent en de nombreuses copies identiques. Pour ces raisons, il arrive que selon les organismes, le nombre de génomes d'organites par cellule s'avère très élevé jusqu'à plusieurs centaines parfois. En général, les génomes d'organites possèdent de l'ordre de 50 à 100 gènes dont certains avec des introns. Ces gènes sont spécifiques des fonctions assurées par l'organite lui même.

LES ARN (ACIDES RIBONUCLEIQUES)

Introduction

Pour former un acide ribonucléique les nucléotides (GMP, AMP, UMP, CMP), sont condensés les uns avec les autres avec des liaisons phosphodiester entre le carbone 3' d'un premier nucléotide et le carbone 5' du nucléotide suivant. Le premier nucléotide de la chaîne porte, par une liaison ester sur le carbone 5' de son ribose un phosphate dont les deux autres fonctions acides ne sont pas estérifiées ; c'est l'extrémité 5' phosphate terminale de l'acide nucléique, qu'on désigne par convention comme le début de la séquence ou du fragment d'acide nucléique. Le dernier nucléotide de la chaîne porte une fonction alcool sur le carbone 3' de son ribose. Cette fonction alcool n'est pas estérifiée ; c'est l'extrémité 3'OH terminale de l'acide nucléique, qu'on désigne par convention comme la fin de la séquence ou du fragment d'acide nucléique.

- **Caractéristiques générales**

1-La première caractéristique principale dans la structure de l'ARN est la fonction hydroxyle en 2' du ribose qui permet à l'ARN de faire une liaison phosphodiester intramoléculaire en milieu basique avant de faire la liaison 3'-5'. De ce fait les ARN ont une demi-vie très courte.

2-La deuxième caractéristique est le remplacement de la thymine par l'uracile. Les molécules d'ARN sont simple brin et linéaire, et les seuls appariements de paires se font intramoléculaires par des liaisons hydrogènes sous forme de structures en tiges-boucles aux extrémités de l'ARN et des structures en épingles à cheveux à l'intérieur de l'ARN (Figure 1).

3-Les hélices d'ARN formées lors des appariements sont de type A et sont plus courtes et plus trapues que l'hélice de type B de l'ADN. L'effet hypochrome est également présent et dû aux appariements intramoléculaires. La courbe d'absorption UV en fonction de la température est cette fois-ci par palier correspondant aux différentes boucles à épingles à cheveux dénaturées.

- **Différents types d'ARN**

Les cellules contiennent essentiellement cinq types d'ARN :

- _ Les ARN ribosomiques (ou ARNr)
- _ Les ARN messagers (ou ARNm)
- _ Les ARN de transfert (ou ARNt)
- _ Les ARN nucléaires de petite taille (ou snRNA pour small nuclear RNA)
- _ Les ARN cytoplasmique de petite taille (ou scRNA pour small cytoplasmic RNA).

- **Les ARNr (80%)**

Les ARN-ribosomiques rentrent dans la constitution des ribosomes, dans lesquels ils sont associés à des protéines. Leur taille est définie en unité Svedberg (S). L'ARNr constitue environ **60 %** de la masse totale de chaque ribosome. C'est l'ARN cellulaire le plus abondant (plus de **80 %**) ; ce qui représente quelques milliers de ribosomes par cellule.

- **Les ribosomes**

Les ribosomes constituent les particules nécessaires à la synthèse des protéines, ils constituent une véritable usine à protéines dans la cellule. Les ribosomes se trouvent dans le cytosol, et également dans les mitochondries. Ils sont formés de **deux sous-unités (petite SU et grande SU)**. Chaque sous-unité ribosomique consiste en un assemblage d'un grand nombre de protéines ou « **ribonucléoprotéines** » (RNP) et de « **RNA ribosomique** » (rRNA).

En plus du **site de liaison du mRNA**, chaque ribosome possède deux sites de liaison pour le tRNA : le **site P (peptidyle)** retient le tRNA qui porte la chaîne polypeptidique en formation, tandis que le **site A (aminoacyl)** retient le tRNA porteur du prochain acide aminé à ajouter à la chaîne. Le **site E (exit)** correspond au site de sortie ou d'éjection du tRNA qui se trouvait au niveau du site P.

2.2 Les ribosomes des procaryotes

Les ribosomes dits 70S sont formés de deux sous unités :

- Une grande sous unité (50S)
- Une petite sous unité (30S)

Chaque sous unité comporte des protéines dites ribosomales (ou r-protéines) et des ARNr, ainsi :

- La sous unité 50S contient deux ARNr dits 5S et 23S avec au moins 34 protéines désignées par L1, L2...L34 (L pour longht)
- La sous unité 30S ne contient qu'un ARNr dit 16S avec au moins 21 protéines désignées par S1, S2....S21(S pour small) (Figure 2)

2-3 Les ARNr des eucaryotes

Chez les eucaryotes, les ribosomes sont plus gros (80S) avec également une structure à deux sous unités (40 S et 60 S)

- La sous unité 60 S contient trois ARNr différents : 5 S, 5.8 S et 28 S et 45 protéines
- La petite sous unité de 40 S ne contient qu'un seul ARNr de 18 S et 33 protéines

- **2-4 Rôle des ARNr**

Les ARNr jouent un rôle essentiel dans la structure et le maintien de l'intégralité des ribosomes en association avec les protéines, de plus ils facilitent la fixation des autres ARN : ARNm et ARNt.

- **Les ARN de transfert ARNt (15%)**

Les ARNt sont les vecteurs qui vont transporter les acides aminés du cytoplasme vers les ribosomes ou s'effectue la synthèse protéique.

- **Structure des ARNt**

Les chaînes des ARNt sont constituées d'une centaine environ de nucléotides. On présente souvent les ARNt sous forme de trèfle, au niveau des branches :

- Repliement du brin d'ARN monocaténaire,
- Appariements entre bases complémentaires par des liaisons hydrogènes ; et au niveau des boucles :
- Présence de bases atypiques,
- Nucléotides non appariés.

Les sites importants dans les ARNt sont :

- **L'extrémité 3'-OH** : au niveau de cette extrémité on trouve toujours les trois nucléotides 5'CCA3', c'est à cette extrémité qui sera fixé l'acide aminé à transporter.
- **L'anticodon** : c'est un groupe de trois nucléotides situés dans une boucle d'ARNt, joue un rôle important puisque ce triplet va reconnaître le codon correspondant situé sur l'ARNm. Cet appariement codon-anticodon se fait d'une manière complémentaire et antiparallèle
- **L'extrémité 5'** des ARNt comporte un groupement phosphate.

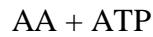
La liaison ARNt ~ Acide aminé

- **Type de liaison**

L'ARNt importe l'AA au ribosome après l'avoir accroché par une liaison covalente (ester), cette liaison s'effectue par élimination d'une molécule d'eau entre la fonction acide de l'AA et une fonction alcool d'un ARNt cette réaction nécessite un apport d'énergie fournit

par l'ATP. L'acide aminé se lie à son tRNA suivant un processus en deux étapes alimenté par l'hydrolyse de l'ATP :

- **Accrochage de l'AA sur l'AMP** : c'est l'étape de l'activation de l'AA, elle aboutit à l'obtention de l'aminocyle ~ AMP



La liaison entre l'AA et l'AMP est une liaison anhydride acide (entre 2 fonctions acides) une de l'AA et l'autre de l'acide phosphorique de l'AMP (extrémité).

- **Transfert de l'AA depuis l'AA ~ AMP sur l'ARNt** : ceci aboutit à la formation de la liaison AA~ ARNt



Il s'agit d'une liaison ester entre l'AA et la fonction alcool du ribose située sur le dernier AMP du ARNt (l'OH peut être de 2'OH ou de 3'OH) (figure 2)

Liaison anhydride riche en énergie

Liaison ester riche en énergie

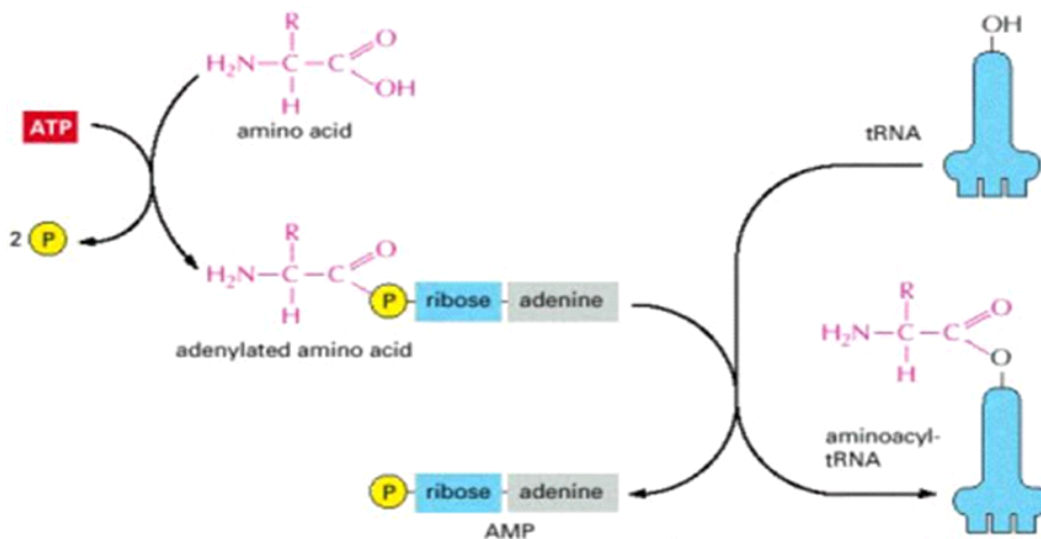


Figure 2 : Les étapes d'accrochage de l'AA sur l'ARNt

- **Enzyme nécessaire**

Pour que cette réaction ait lieu, il faut l'intervention d'une enzyme appelée **aminoacyl-tRNA synthétase**, qui lie spécifiquement chaque acide aminé au tRNA correspondant. Il existe toute une famille de cette enzyme soit une enzyme pour chaque acide

aminé. Le site actif de chaque type d'aminocyl-tRNA synthétase ne peut former qu'une seule combinaison d'acide aminé et de tRNA

Les aminoacyl- synthétases sont très spécifiques et cette étape où l'AA-AMP se forme, il ne faut pas que des erreurs se produisent à ce niveau.

L'aminocyl-tRNA obtenu présente une «**liaison ester**» entre l'acide aminé et la fonction alcool du ribose du dernier nucléotide (A) du côté 3' du tRNA.

Cette liaison ester est riche en énergie. Or, habituellement, une liaison ester ne l'est pas. Dans ce cas particulier, l'énergie qui était contenue dans la liaison anhydride d'acide (AA~AMP) est transférée dans la liaison ester (AA~tRNA).

Ainsi, les différents tRNA apporteront dans leur cargaison non seulement les acides aminés mais également l'énergie nécessaire à l'accrochage des acides aminés les uns aux autres. Ceci a lieu au moment de la synthèse protéique par la formation des liaisons peptidiques. On peut se demander pourquoi un tRNA reconnaît son acide aminé alors que les différents tRNA se terminent tous de la même façon : par « CCA » ?

L'étape où les aminoacyl-tRNA sont formés est très importante et il ne faut pas que des erreurs se produisent à ce niveau. Une valine par exemple est très semblable à une isoleucine. Si par erreur une valine est activée à la place d'une isoleucine, le Val~AMP formé ne sera pas fixé au tRNA de l'Ile. L'isoleucyl-tRNA synthétase est capable de corriger ses propres erreurs. En effet la synthétase est capable d'hydrolyser ce Val~AMP produit par erreur dans un site hydrolytique différent du site de synthèse (**site de correction** ou **editing site**) (figure 5)

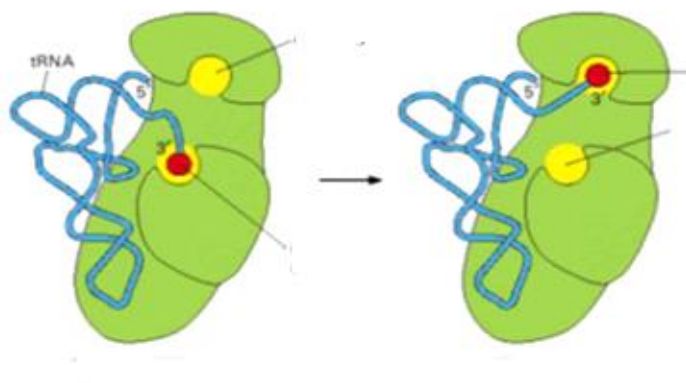


Figure 5 : Structure de l'aminocyl_ tRNA synthétase

- **Les ARN messagers ARNm (2%)**

Les ARNm constituent le support essentiel qui porte l'information génétique de l'ADN au ribosome où s'effectuera la synthèse protéique. Sa durée de vie est très courte, elle suppose à celle d'ARNt qui est très longue. Chez les bactéries la durée de vie de l'ARNm est de quelques minutes environ, chez les eucaryotes les ARNm sont plus stable ; quelques minutes à quelques jours. Ils sont rapidement produits et rapidement dégradés.

Comme les autres ARN, les ARNm sont formés d'une seule chaîne nucléotidique, cette chaîne comporte une succession de triplets nucléotidiques. Chaque triplet nucléotidique constitue un codon spécifique d'un acide aminé donné. Les ARN-messagers correspondent aux séquences complémentaires et antiparallèles du brin matriciel (ou brin anti-codant) de l'ADN qui lui sert, comme son nom l'indique, de matrice, c'est-à-dire de modèle, mais à part que les thymine sont remplacées par les uraciles.

- **Les petits ARN nucléaires (snRNA)**

Les petits ARN nucléaires (ou snRNA) sont présents dans le noyau des cellules et sont impliqués dans certaines étapes de la transcription, c'est-à-dire la copie de l'ADN en ARNm. Ces snRNA sont présents sous forme de particules ribonucléoprotéiques.

- **Les petits ARN cytoplasmiques (scRNA)**

Dans le cytoplasme, on peut retrouver des petits ARN ou scRNA qui existent également sous forme de particules ribonucléoprotéiques. Ils sont impliqués dans la maturation d'ARNm.