

LES ACIDES NUCLÉIQUES : STRUCTURE ET PROPRIÉTÉS

1. Structure et propriétés des nucléotides	2
1.1. L'acide phosphorique	2
1.2. Les pentoses	2
1.3. Les bases azotées	2
1.3.1. Puriques G.A.	2
1.3.2. Pyrimidiques T.U.C.	2
1.3.3. Propriétés des bases azotées.....	3
1.4. Nucléoside	4
1.5. Nucléotide.....	4
2. Structure de l'Acide DésoxyriboNucléique (A.D.N.).....	5
2.1. Structure primaire d'un brin d'ADN : ADN monocaténaire.....	5
2.2. Structure hélicoïdale d'un double brin d'ADN : ADN bicaténaire.....	5
2.2.1. Résultats expérimentaux de Watson et Crick (1953).....	5
2.2.2. Deux brins complémentaires anti-parallèles.....	5
2.2.3. Enroulés en double hélice	5
2.3. Caractéristiques structurales.....	6
2.3.1. ADN eucaryote, linéaire, localisé dans le noyau	6
2.3.2. ADN procaryote, circulaire, localisé dans le cytoplasme	7
3. Structure des acides ribonucléiques (A.R.N.).....	8
3.1. Structure primaire.....	8
3.2. Structures secondaires	8
3.3. Classification des ARN	8
3.3.1. ARN messenger	8
3.3.2. ARN ribosomiques.....	8
3.3.3. ARN de transfert.....	9
4. Propriétés physico-chimiques des acides nucléiques.....	10
4.1. Hydrolyses	10
4.1.1. Chimique.....	10
4.1.2. Enzymatique	10
Exemple de coupure par la ribonucléase pancréatique.....	11
Exemple de coupure par la ribonucléase T1	11
Exemple de coupure par la ribonucléase U2.....	11
Exemple de coupure par la phosphodiesterase de venin de serpent	11
4.2. Viscosité	11
4.3. Absorption à 260 nm	11
4.4. Dénaturation d'un ADN bicaténaire.....	11
4.5. Renaturation d'un ADN bicaténaire.....	12

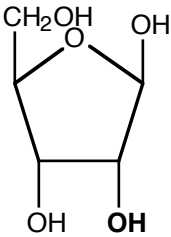
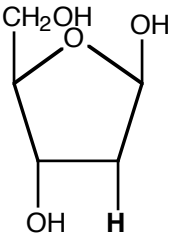
1. Structure et propriétés des nucléotides

1.1. L'acide phosphorique



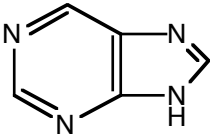
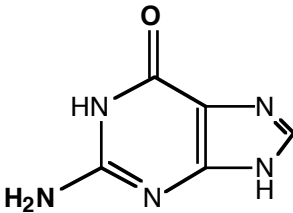
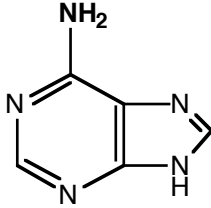
1.2. Les pentoses

Pentose= ose cyclique à 5 carbones (C5)

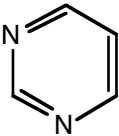
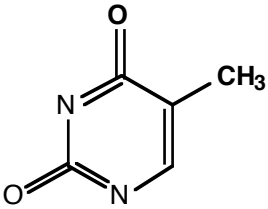
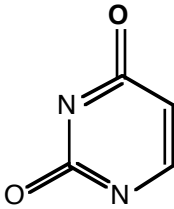
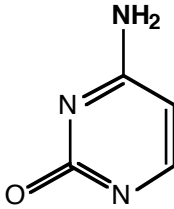
ARN	ADN
β-D-ribose	β-2-désoxy-D-ribose
	

1.3. Les bases azotées

1.3.1. Puriques G.A.

Purine	Guanine (G)	Adénine (A)
		

1.3.2. Pyrimidiques T.U.C.

Pyrimidine	Thymine (T)	Uracile (U)	Cytosine (C)
			

1.3.3. Propriétés des bases azotées

a. Propriétés optiques

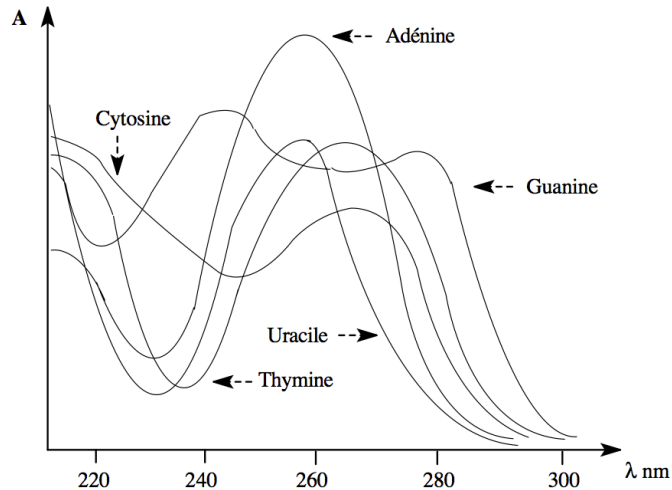


Figure 1 : spectre d'absorption des bases azotées

Les bases azotées possèdent un cycle aromatique où les électrons se délocalisent.

Ainsi les bases azotées absorbent dans l'ultra-violet.

Le pic d'absorption maximale se situe autour de 260 nm.

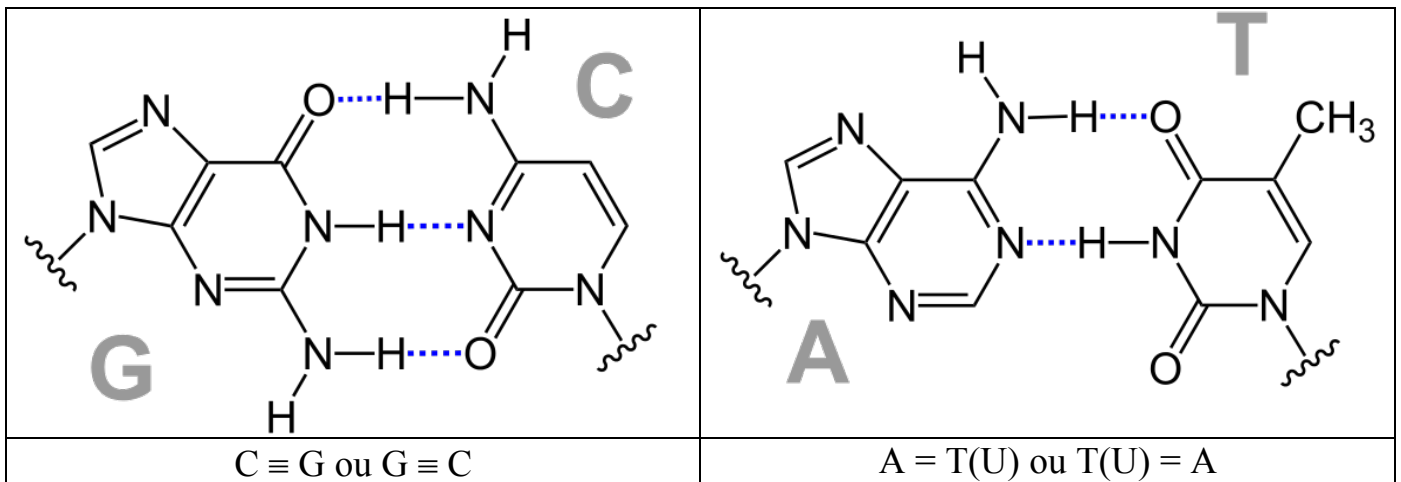
Les protéines absorbent, elles, à 280 nm (du fait de la présence d'acides aminés aromatiques : tyrosine, phénylalanine, tryptophane).

b. Complémentarité entre bases puriques et pyrimidiques

Des liaisons hydrogène se créent entre les groupements NH_2 , NH et $\text{C}=\text{O}$.

Leur présence explique la structure secondaire des acides nucléiques.

Les bases azotées sont tête bêche dans les brins d'acides nucléiques (voir plus loin).



1.4. Nucléoside

Nucléoside = ribose (ou désoxyribose) + base azotée (purique ou pyrimidique).

Base azotée	Ribonucléoside	Désoxyribonucléoside
Guanine	Guanosine	Déoxyguanosine
Adénine	Adénosine	Déoxyadénosine
Thymine	Thymidine	Déoxythymidine
Uracile	Uridine	Déoxyuridine
Cytosine	Cytidine	Déoxycytidine

1.5. Nucléotide

Nucléotide = ester (alcool + acide) phosphorique de nucléoside

On distingue les désoxyribonucléotides constitutifs de l'A.D.N. et les ribonucléotides constitutifs de l'A.R.N.

A.D.N. : Acide DésoxyriboNucléique

A.R.N. : Acide RiboNucléique

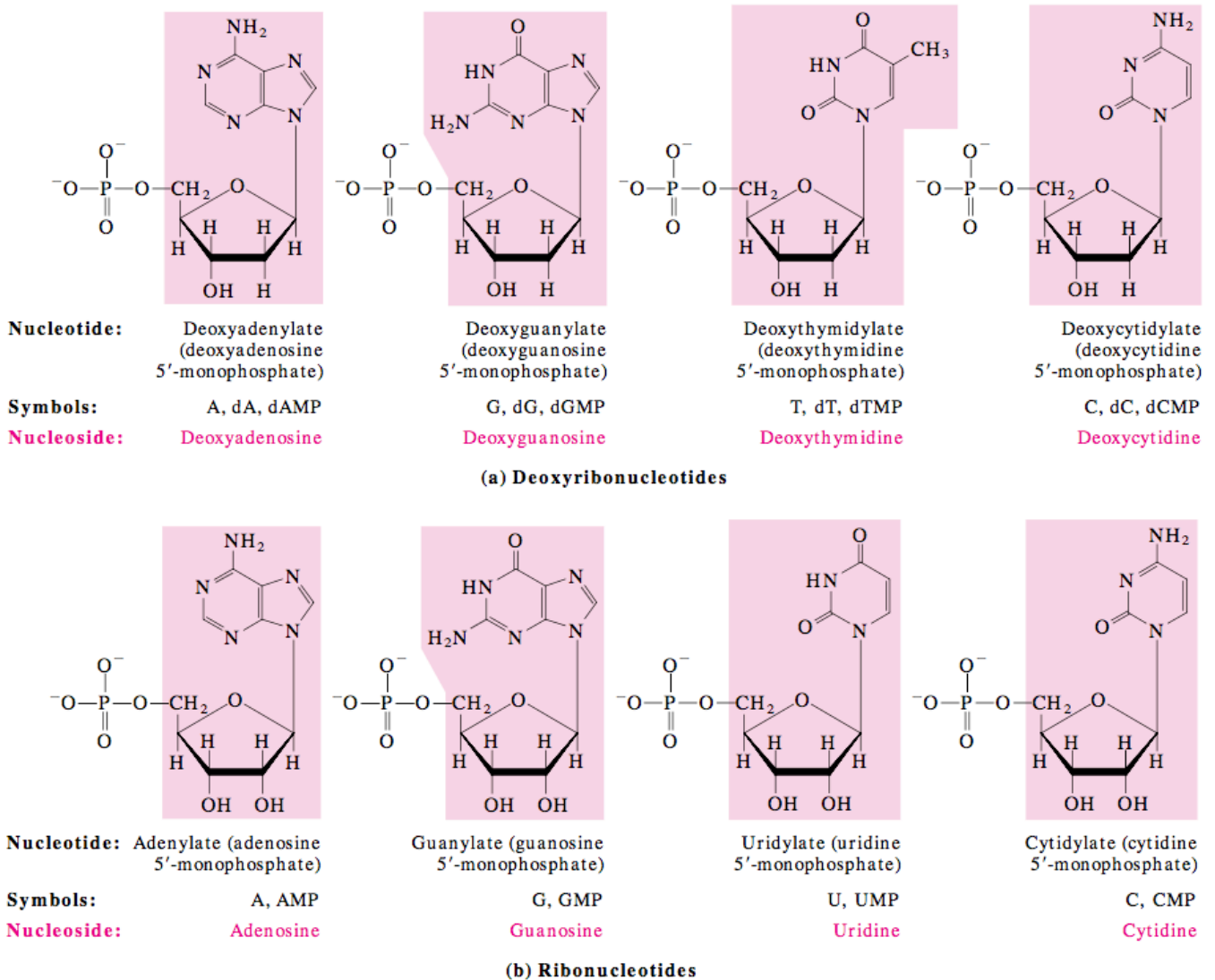


Figure 2 : structure et terminologie des (désoxy)nucléosides et (désoxy)ribonucléotides

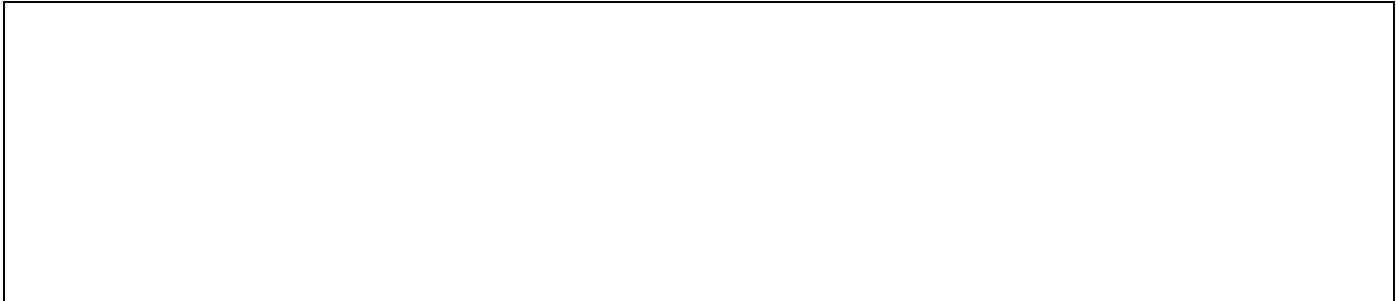
Dans le nucléotide, le nucléoside peut être mono-, di-, ou tri-phosphorylé.

- Adénosine MonoPhosphate : A.M.P.
- Adénosine DiPhosphate : A.D.P.
- Adénosine TriPhosphate : A.T.P.

La phosphorylation s'effectue sur le groupement hydroxyle du carbone en 5'.

On parle alors de groupement 5'-phosphate.

Il en découle une orientation des polynucléotides.



2. Structure de l'Acide DésoxyriboNucléique (A.D.N.)

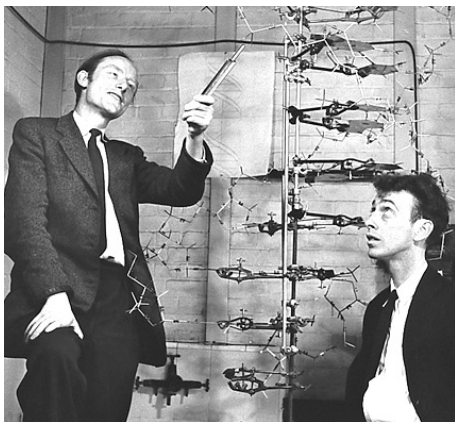
2.1. Structure primaire d'un brin d'ADN : ADN monocaténaire

Un brin d'ADN est constitué de l'enchaînement de nucléotides reliés entre eux par une liaison phosphodiester.

Conséquence : orientation du brin : extrémités 5'P et 3'OH

2.2. Structure hélicoïdale d'un double brin d'ADN : ADN bicaténaire

2.2.1. Résultats expérimentaux de Watson et Crick (1953)



L'analyse des bases montrent qu'il y a autant de A que de T et autant de G que de C.

$$A/T = 1 \text{ et } G/C = 1$$

La somme des purines est égale à la somme des pyrimidines

$$A + G = T + C$$

Le rapport $\frac{G+C}{A+T+C+G}$ varie d'une espèce à l'autre : % GC

L'étude par diffraction des rayons X a montré que l'ADN a une structure hélicoïdale.

Les chaînes d'ADN sont maintenues ensemble par des liaisons hydrogène.

2.2.2. Deux brins complémentaires anti-parallèles

Adénine complémentaire de la thymine : mise en jeu de 2 liaisons H A=T

Guanine complémentaire de la cytosine : mise en jeu de 3 liaisons H C≡G

Si % GC élevé, les deux brins sont plus difficiles à dissocier.

Les bases sont complémentaires mais orientées en sens inverse (brins anti-parallèles ou tête bêche).

2.2.3. Enroulés en double hélice

La double hélice mesure 20 Å (2 nm) de large.

Le pas de l'hélice est de 34 Å (3,4 nm).

Les bases sont au centre de l'hélice tournée vers l'axe de l'hélice.

Les bases sont parallèles entre elles et perpendiculaires à l'axe de l'hélice.

La distance entre 2 bases est de 3,4 Å (0,34 nm).

Un tour d'hélice contient donc 10 paires de bases (pb).

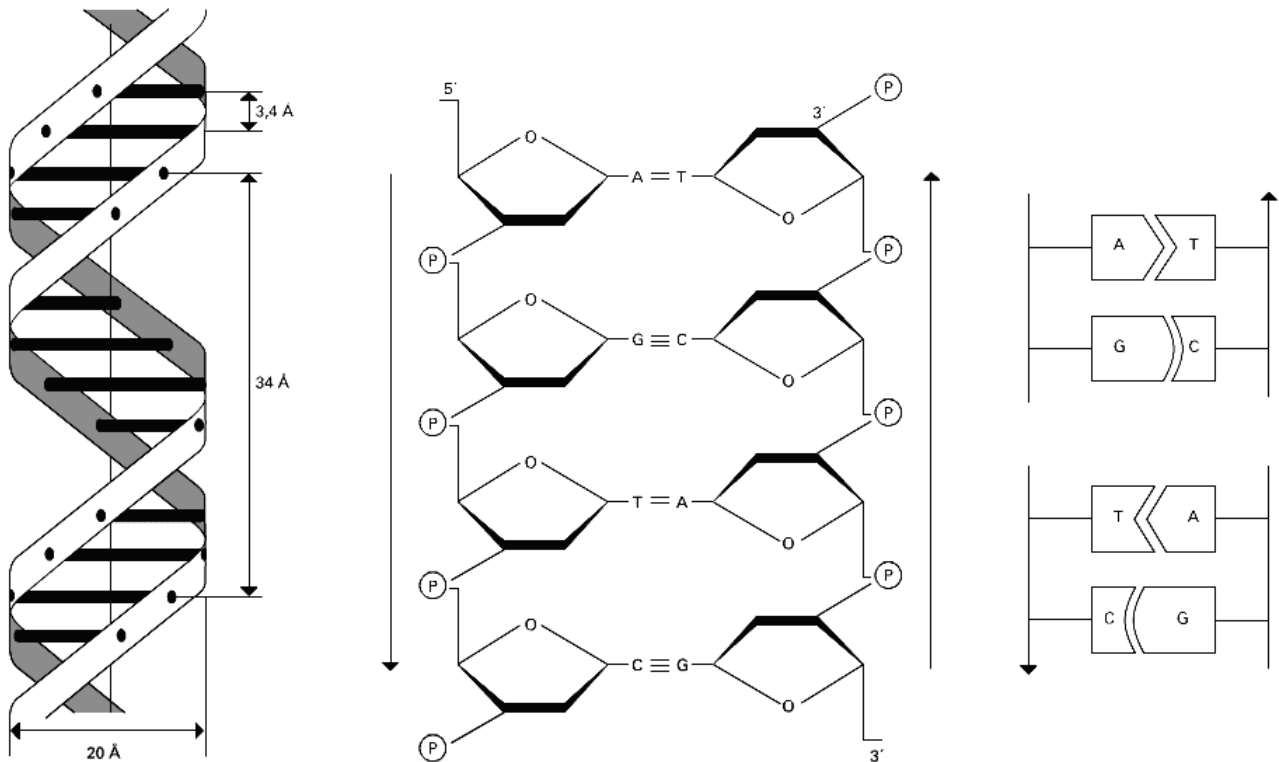


Figure 3 : structure de la double hélice d'ADN

2.3. Caractéristiques structurales

2.3.1. ADN eucaryote, linéaire, localisé dans le noyau

Les molécules d'ADN sont localisées dans le noyau, dans les cellules eucaryotes sous forme linéaire.

Un noyau contient environ 1,9 mètres d'ADN !

La longueur de l'ADN d'un chromosome est d'environ 4 cm. Or, dans le noyau, ce chromosome humain ne mesure que 8 μm de long : l'ADN est donc très fortement compacté. (facteur 10 000).

L'ADN débobiné est sous forme de chromatine (interphase).

L'ADN se compacte en chromosomes (au cours de la mitose).

a. Premier niveau de compaction

L'ADN est enroulé autour de protéines basiques appelées histones.

L'enroulement de tours d'ADN autour d'un octamère d'histones (2 exemplaires de chaque histone : H2A, H2B, H3, H4) constitue un nucléosome.

Grâce à ce type de structure, la compaction de l'ADN atteint un facteur 6.

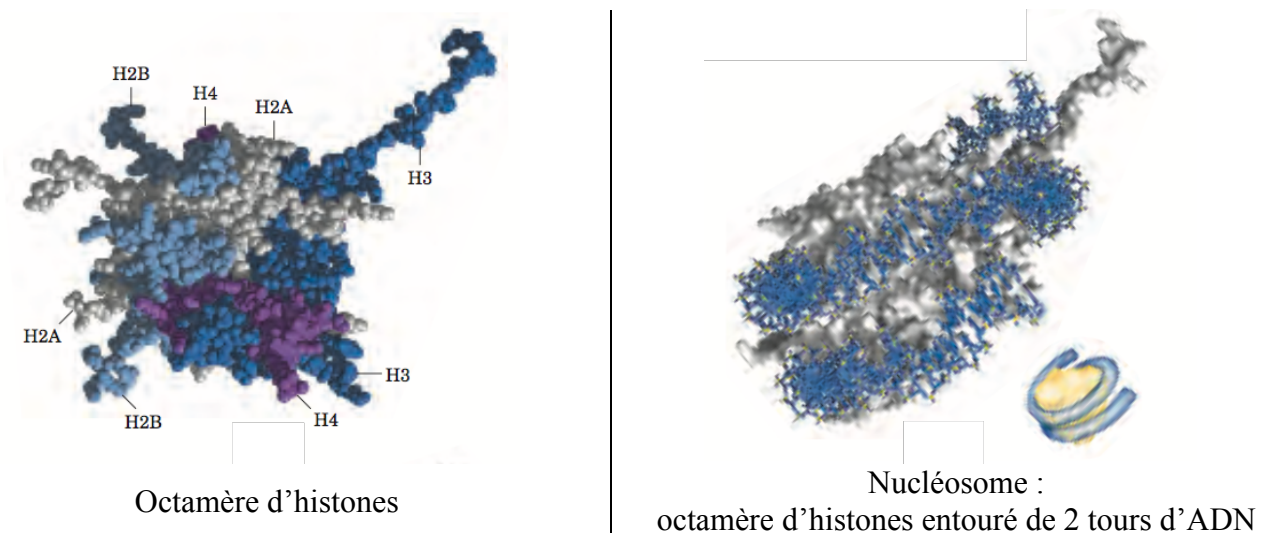


Figure 4 : histones et nucléosome

b. Deuxième niveau

Empilement des nucléosomes en un solénoïde dont le diamètre est de l'ordre de 30 nm. Cette structure est stabilisée par le cinquième type d'histone, l'histone H1. La compaction atteint un facteur 40.



Figure 5 : structure en solénoïde (fibre de 30 nm de diamètre)

c. Troisième niveau

Repliement de la fibre de 30 nm en boucles (loop), ou domaines topologiques fermés, d'une taille de 300 nm environ. La compaction atteint un facteur 1 000.

d. Quatrième niveau

Enroulement des boucles en une hélice de l'ordre de 700 nm de diamètre qui constitue une chromatide.

Le degré de compaction total de l'ADN atteint ainsi plus de 10 000 dans la chromatine condensée.

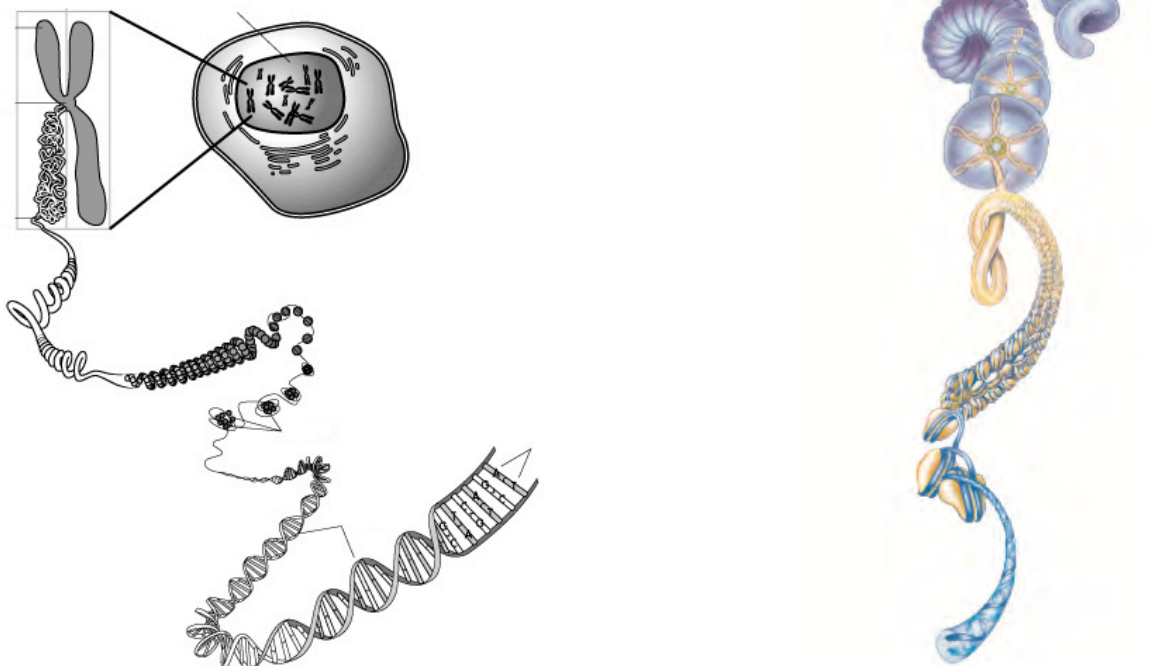


Figure 6 : différents niveaux de compaction de l'ADN

2.3.2. ADN procaryote, circulaire, localisé dans le cytoplasme

Les molécules d'ADN sont localisés dans le cytoplasme des cellules procaryotes sous forme de double brin circulaire à l'état relâché ou superenroulé.

Un plasmide est une molécule d'ADN circulaire double brin extrachromosomique, capable d'auto-réplication, porteur, le plus souvent, de gènes de résistance aux antibiotiques.

3. Structure des acides ribonucléiques (A.R.N.)

3.1. Structure primaire

Un brin d'ARN est constitué de l'enchaînement de ribonucléotides reliés entre eux par une liaison phosphodiester.

La thymine est remplacée par l'uracile qui est complémentaire de l'adénine.

L'ARN est sous forme monocaténaire.

3.2. Structures secondaires

Les brins monocaténaires d'ARN présentent des structures secondaires par complémentarité de bases localement au sein du même brin.

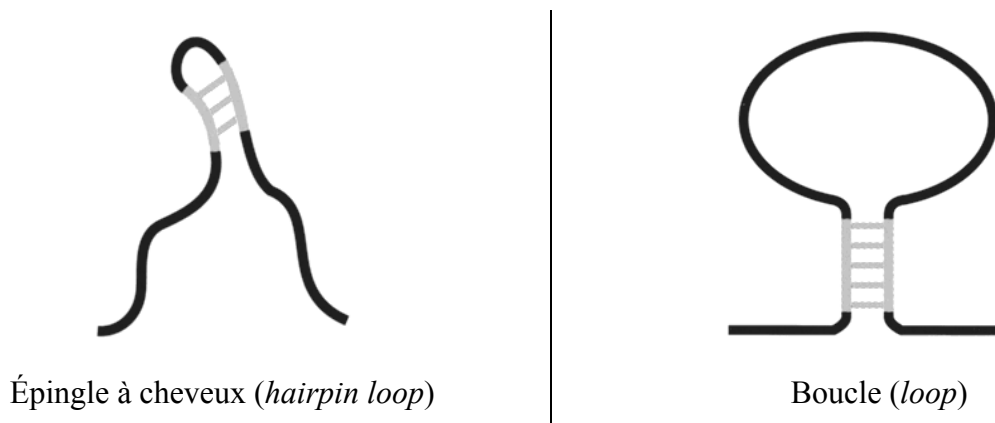


Figure 7 : structures secondaires des ARN

3.3. Classification des ARN

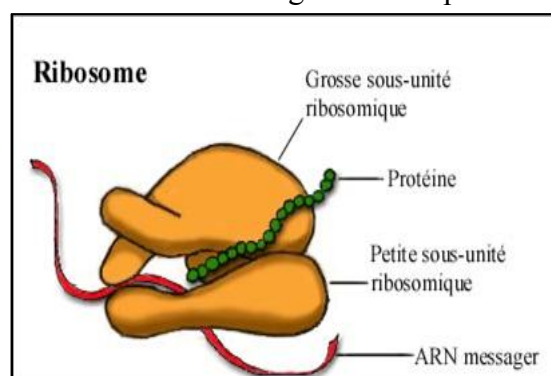
3.3.1. ARN messenger

Les acides ribonucléiques « messagers » (ARN_m) résultent de la transcription de l'ADN par des enzymes spécifiques, les transcriptases (= ARN polymérase ADN-dépendantes), et constituent le code génétique utilisé par les ribosomes pour la synthèse des protéines.

La masse moléculaire des ARN messagers est variable selon la longueur de la protéine qu'ils ont à synthétiser.

3.3.2. ARN ribosomiques

Les ARN ribosomiques (*ribosomal RNA*) sont présents dans les ribosomes, particules du cytoplasme cellulaire au niveau desquelles l'assemblage des acides aminés permet la biosynthèse des protéines.



PROCARYOTES		EUCARYOTES	
RIBOSOMES 70 S		RIBOSOMES 80 S	
Grande sous-unité	Petite sous-unité	Grande sous-unité	Petite sous-unité
50 S	30 S	60 S	40 S
ARN_r 23 S ARN_r 5 S	ARN_r 16 S	ARN_r 28 S ARN_r 5,8 S ARN_r 5 S	ARN_r 18 S
+ 31 protéines	+ 21 protéines	+ 45 protéines	+ 32 protéines

Figure 8 : structure des ribosomes procaryotes et eucaryotes ; diversité des ARN ribosomiques

3.3.3. ARN de transfert

Les acides ribonucléiques de transfert (ARN_t) sont des enchaînements de 80 nucléotides environ ; ils doivent leur nom au fait qu'ils servent à transférer les acides aminés activés au cours de la synthèse des protéines à la chaîne polypeptidique en cours d'élongation.

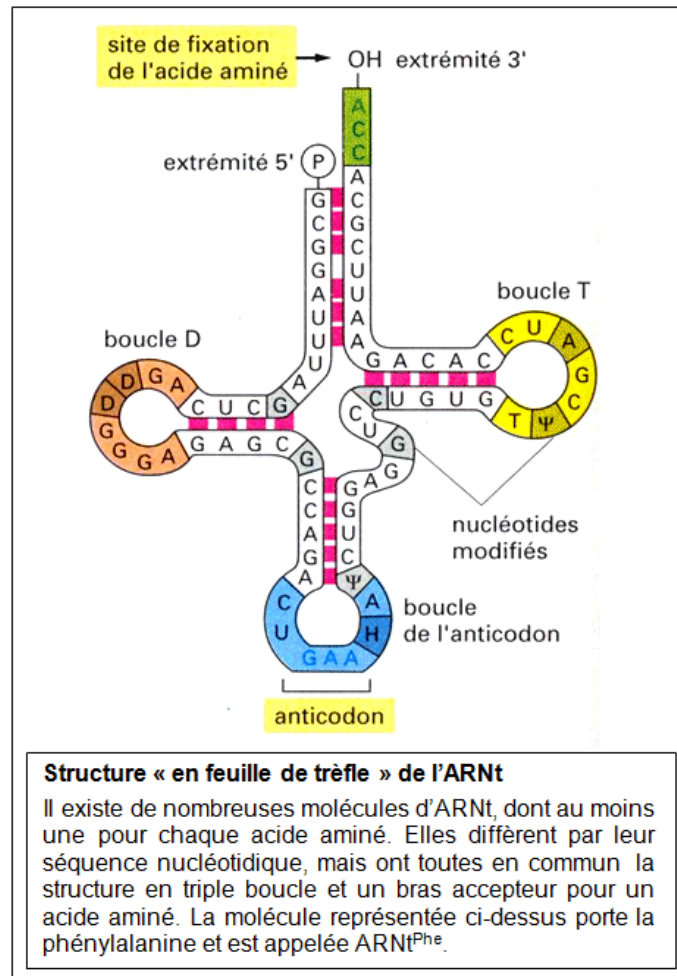
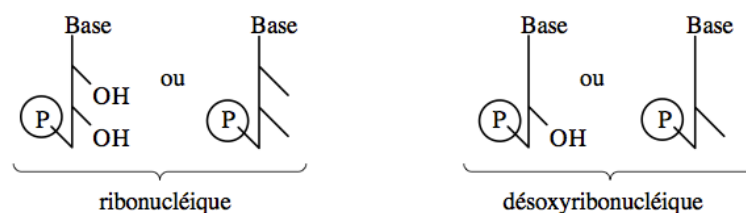


Figure 9 : structure d'un ARN de transfert

<http://www.medicalorama.com/encyclopedia/281>



Exemple d'une polymère de type ADN :

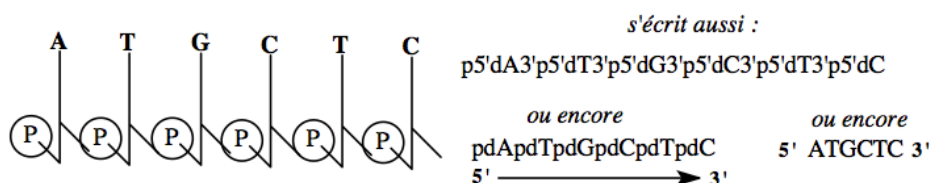


Figure 10 : simplification d'écriture des nucléotides

4. Propriétés physico-chimiques des acides nucléiques

4.1. Hydrolyses

L'hydrolyse correspond à la coupure sous l'action de l'eau des polynucléotides au niveau de la liaison phosphodiester.

Cette hydrolyse est une étape nécessaire au séquençage.

4.1.1. Chimiques

Hydrolyses chimiques	ARN	ADN
Alcaline		
NaOH	Obtention de nucléosides monophosphate 2' et 3'	
Acide		
pH 1 à chaud	Pentoses + acide phosphorique + bases azotées	

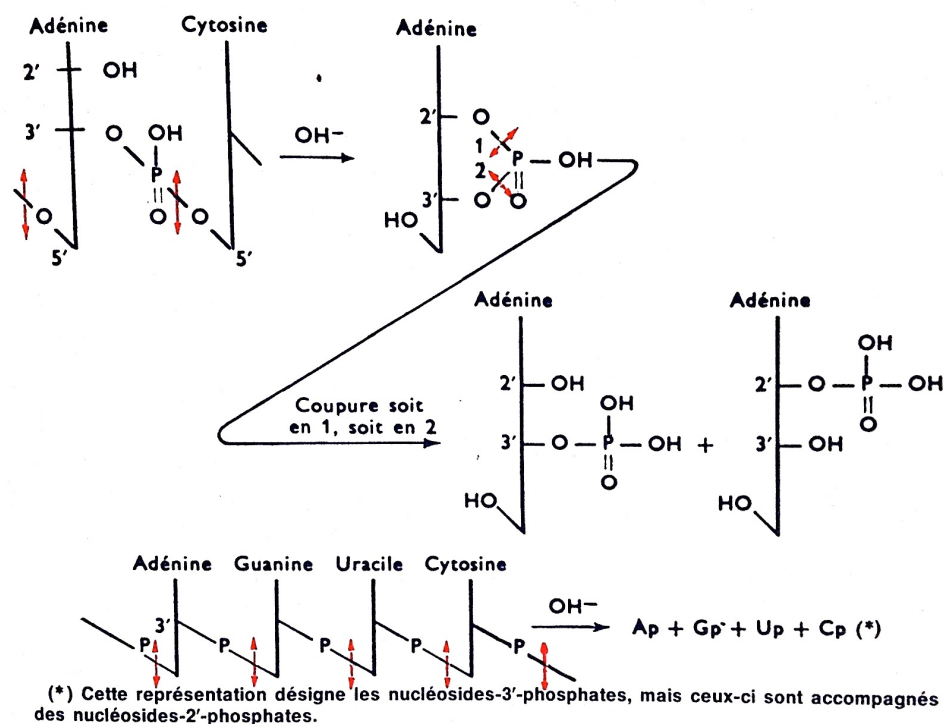


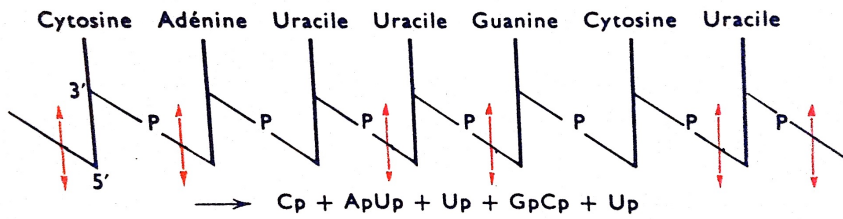
Figure 11 : hydrolyse alcaline de l'ARN

4.1.2. Enzymatiques

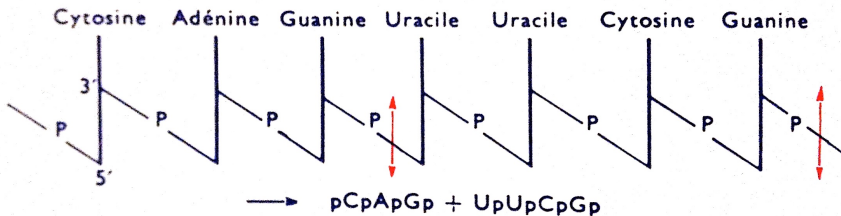
Hydrolases d'acides nucléiques = nucléases = coupure d'une liaison phosphodiester

Endonucléases	Ribonucléases = RNases	RNase pancréatique RNase T1 RNase U2	Plus ou moins spécifique du type de bases
	Déoxyribonucléases = DNases = enzymes de restriction	EcoRI HindII	Spécifique d'une séquence de quelques nucléotides
Exonucléases = phosphodiesterases	Extrémité 3'	Phosphodiesterase de venin de serpent	Non spécifiques
	Extrémité 5'	Phosphodiesterase de rate	

a. Exemple de coupure par la ribonucléase pancréatique



b. Exemple de coupure par la ribonucléase T1

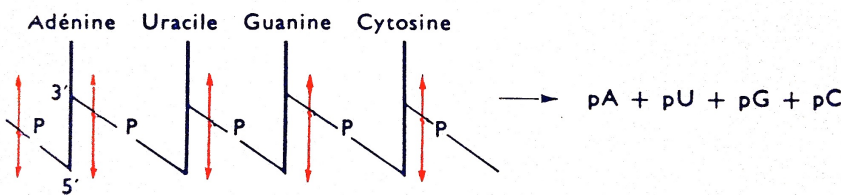


c. Exemple de coupure par la ribonucléase U2

Coupure du côté 3' des nucléotides puriques (G et A)

Utilisée après hydrolyse par la ribonucléase T1 (donc coupure spécifique au niveau des A)

d. Exemple de coupure par la phosphodiesterase de venin de serpent



4.2. Viscosité

La viscosité est due à la longueur importante et la rigidité relative de la double hélice.

Plus la température augmente, plus la viscosité diminue (dénaturation thermique).

L'ARN est moins visqueux que l'ADN car il est monocaténaire.

Conséquence : le nucléoplasme est plus visqueux que le cytosol.

4.3. Absorption à 260 nm

Les acides nucléiques (ADN et ARN) présentent un maximum d'absorption à 260 nm.

Les nucléotides libres absorbent plus qu'un polynucléotide d'ADN.

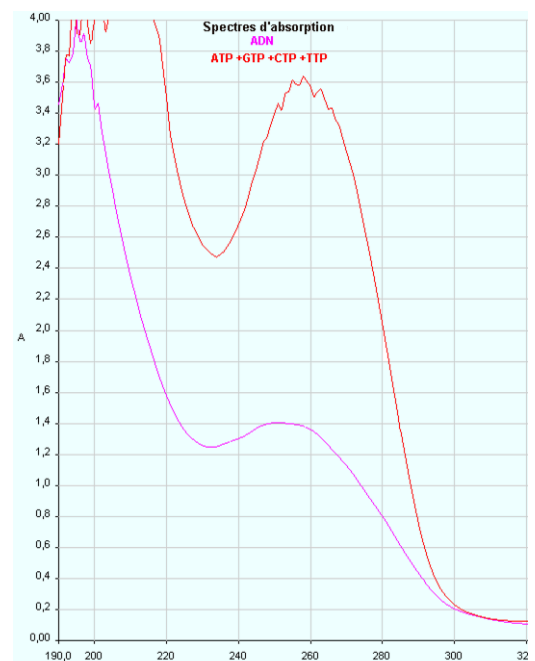
Les polynucléotides monocaténaires (ARN et ADN sb) absorbent plus que les polynucléotides bicaténaires (ADN double brin).

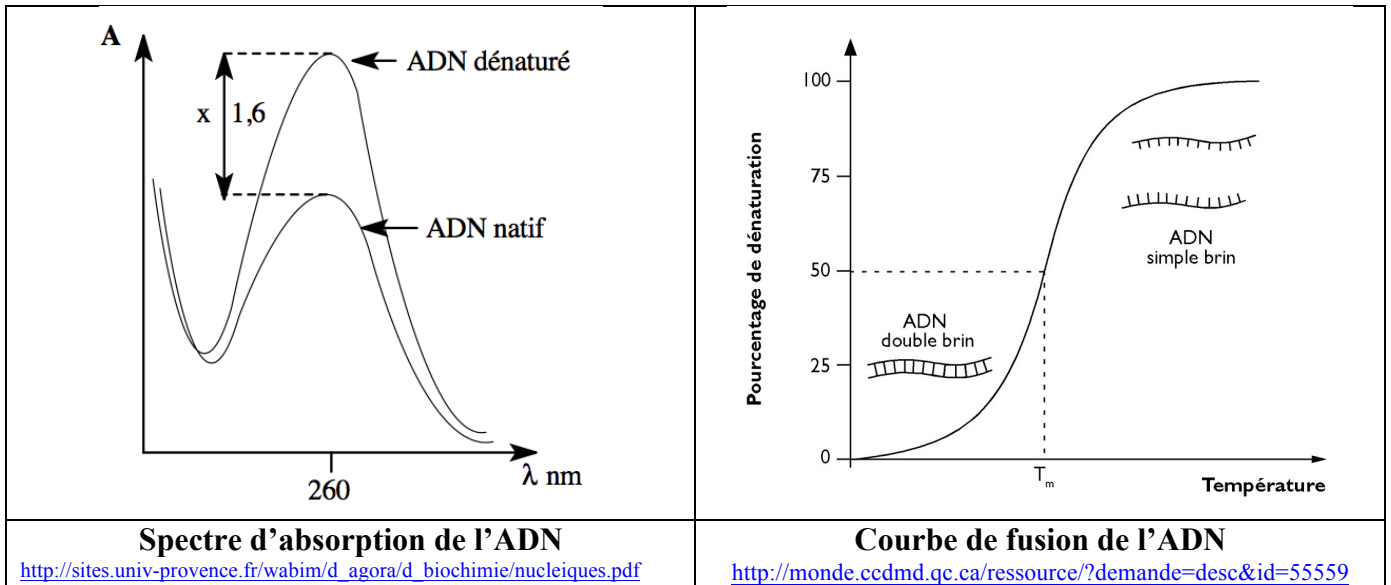
4.4. Dénaturation d'un ADN bicaténaire

Plus la température augmente, plus l'absorbance à 260 nm augmente : effet hyperchrome ou hyperchromicité quand les brins sont séparés par dénaturation thermique.

La courbe $A_{260\text{ nm}} = f(T^{\circ}\text{C})$ est qualifiée de courbe de fusion. L'ADN natif (db) passe à l'état dénaturé (sb) sous l'effet de la dénaturation thermique.

La température de fusion ou T_m (temperature of melting) correspond à la température pour laquelle la moitié de l'ADN est sous forme dénaturée.





La température de fusion peut être estimée par le calcul pour des oligonucléotides de moins de 20 nucléotides :

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

Ex1 : ${}^1\text{ATTTCCGCCAAACT}^{14}$

$$T_m = (4 + 4) \times 2 + (1 + 5) \times 4 = 16 + 24 = 40^\circ\text{C}$$

Ex2 : ${}^1\text{ACCTCCGCCAGACT}^{14}$

$$T_m = (3 + 2) \times 2 + (7 + 2) \times 4 = 10 + 36 = 46^\circ\text{C}$$

Ex3 : ${}^1\text{ATTTCCGCCAAACTATACGC}^{20}$

$$T_m = (6 + 5) \times 2 + (7 + 2) \times 4 = 22 + 36 = 58^\circ\text{C}$$

Elle dépend du %GC, du pH et de la force ionique.

Plus le %GC augmente, plus la température de fusion augmente.

Plus la force ionique augmente (concentration en NaCl supérieure à 1 M), plus la température de fusion diminue.

4.5. Renaturation d'un ADN bicaténaire

L'ADN dénaturé sous forme de simple brin peut être renaturé par refroidissement :

- si le refroidissement est rapide : les 2 brins restent séparés sous forme de simple brin,
- si le refroidissement est lentement : les 2 brins se réappariaient par complémentarité des bases et la double hélice est reconstituée.

La renaturation thermique est à la base du principe de l'hybridation moléculaire (sondes, PCR,...)