Module : Biochimie
1ère Année Médecine
CHAPITRE VI
ACIDES NUCLEIQUES

Dr. H. BENSAFI-GHERAÏBIA
bensafihanene@yahoo.fr
Faculté de Médecine
Université Badji Mokhtar-Annaba
2019-2020

ADN

Acides désoxyribonucléiques

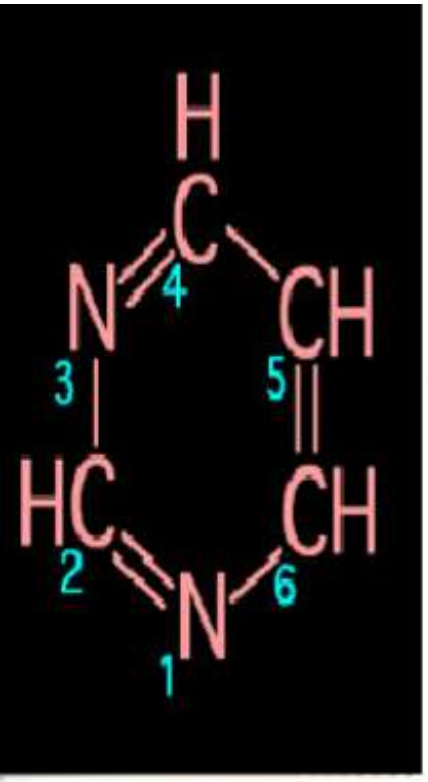
L'ADN est ses constituants

- L'acide désoxyribonucléique (ADN) est le support de l'information génétique.
- Il est composé de 2 types de bases nucléotidiques : purines et pyrimidines, de désoxyribose et de groupements phosphate reliés par des liaisons chimiques spécifiques.
- L'ensemble détermine la structure tridimensionnelle de l'ADN dont dérivent ses propriétés fonctionnelles.

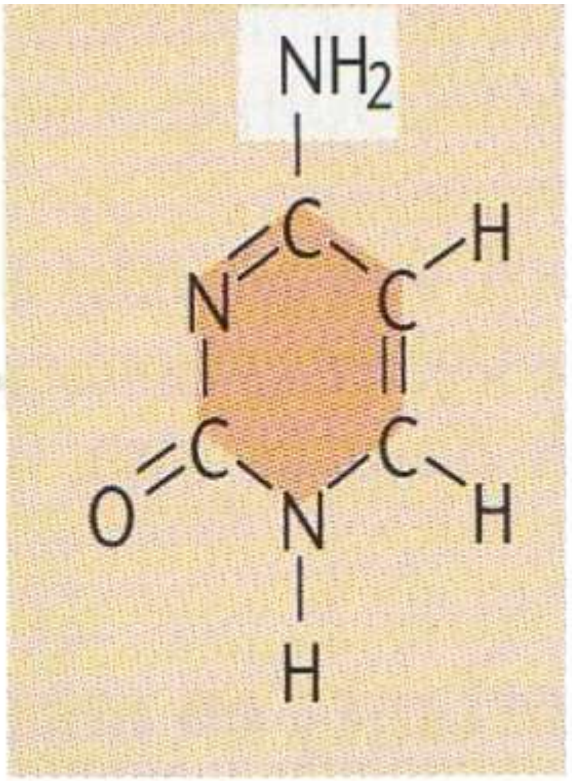
Bases nucléotidiques

- Sont des molécules hétérocycliques dérivant soit d'une purine soit d'une pyrimidine.
- Cinq bases entrent dans la composition des 2 types d'acides nucléiques, l'ADN et l'ARN.
- Les bases puriques sont l'adénine (A) et la guanine (G).
- Les bases pyrimidiques sont la thymine (T) et la cytosine (C) dans l'ADN. Dans l'ARN, l'uracile (U) remplace la thymine.
- Les bases nucléotidiques font partie de l'une des sous-unités de l'ADN: le nucléotide.

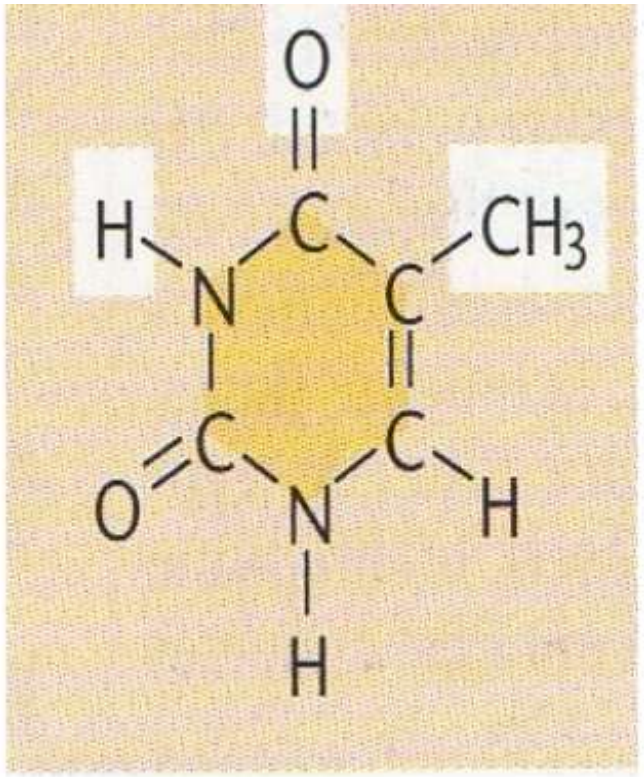
Bases pyrimidiques



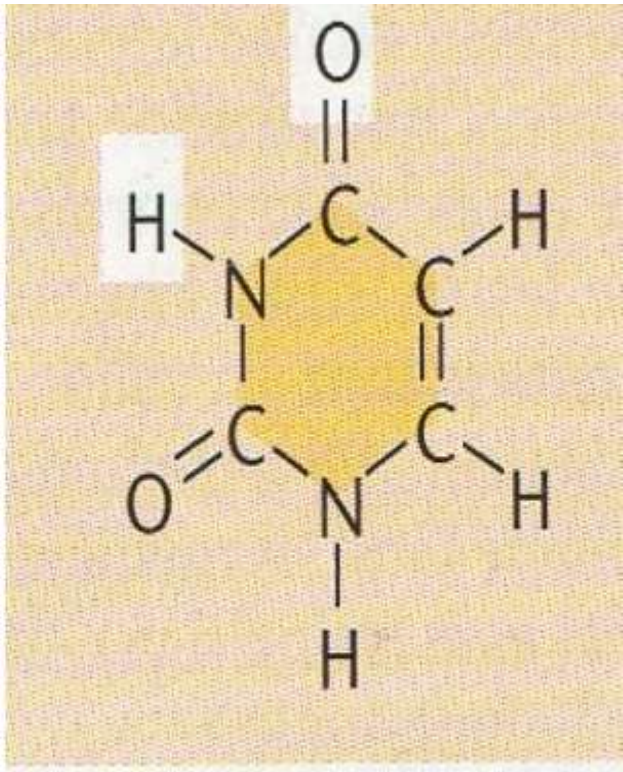
Pyrimidine



Cytosine (C)

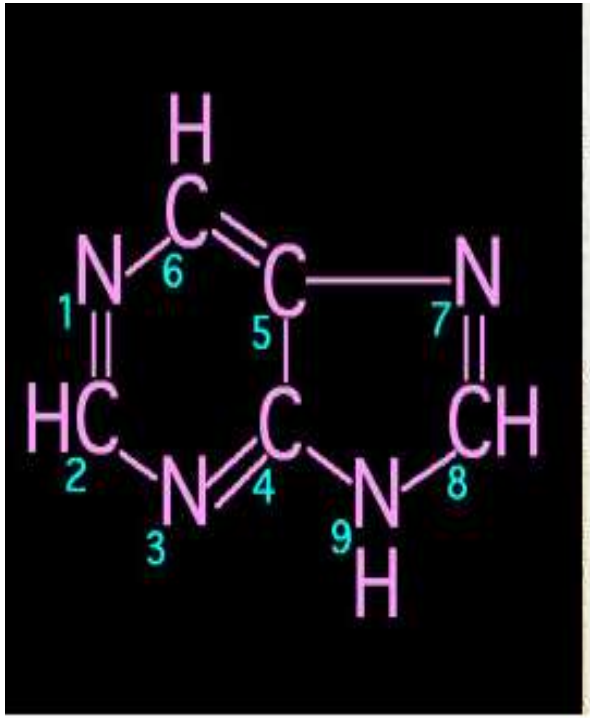


Thymine (T)

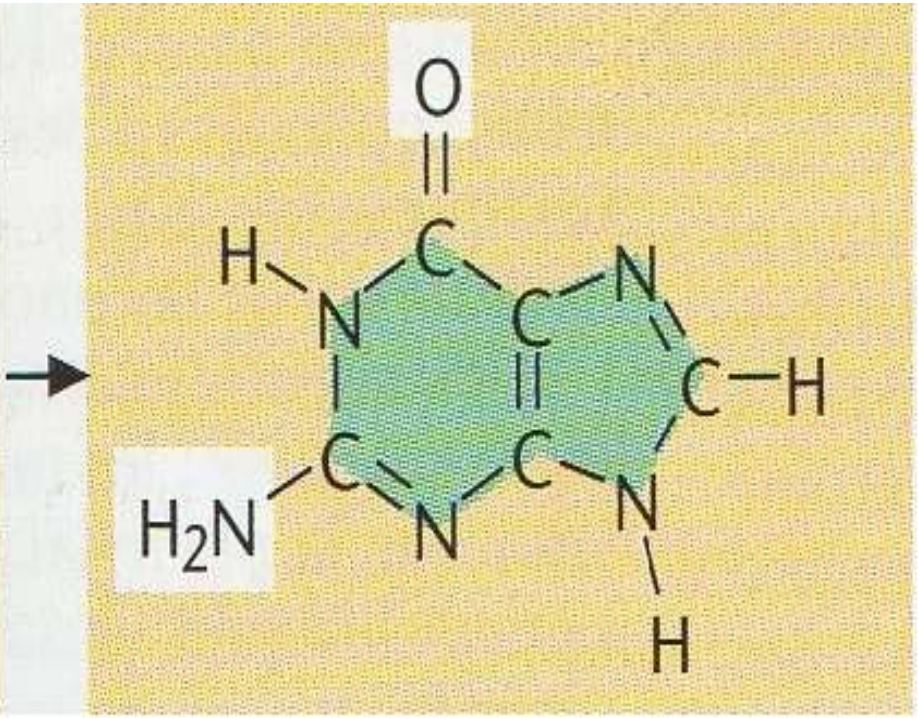


Uracile (U)

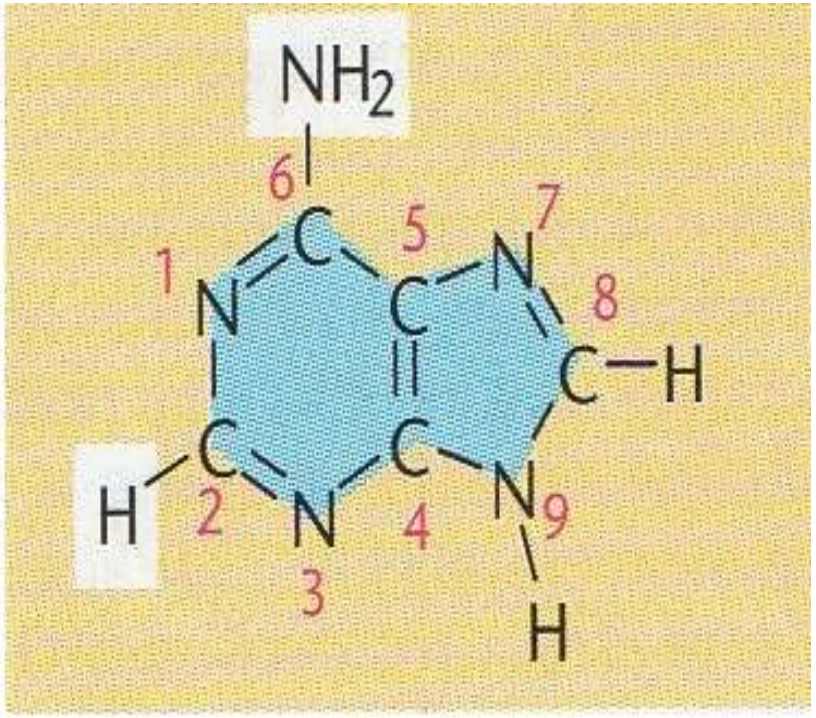
Bases puriques



Purine

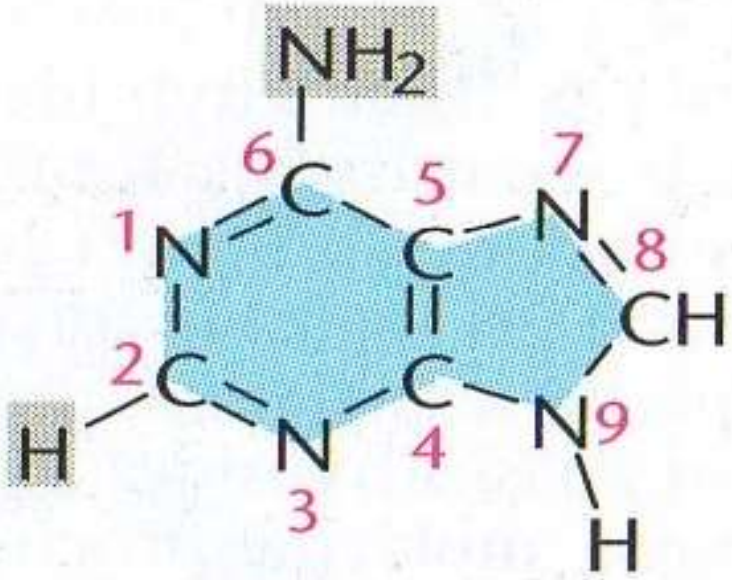


Guanine (G)

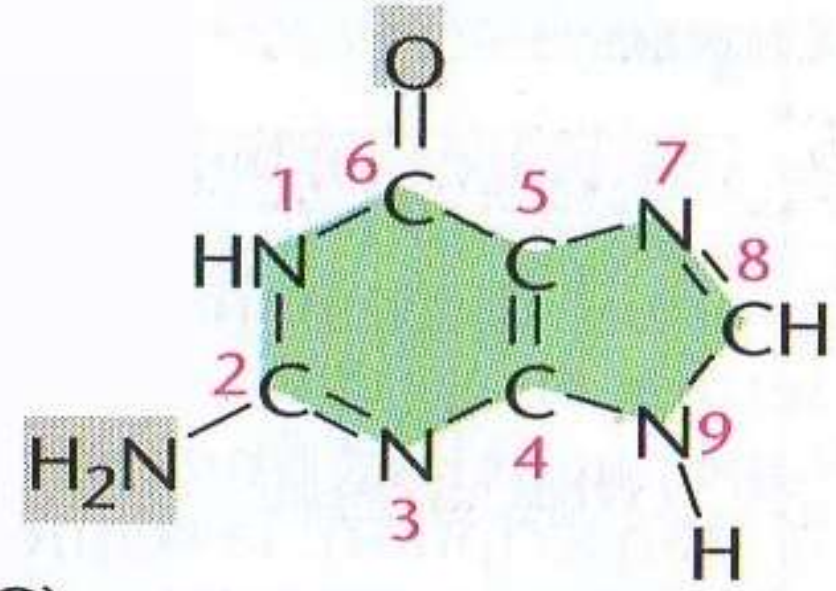


Adénine (A)

Purines

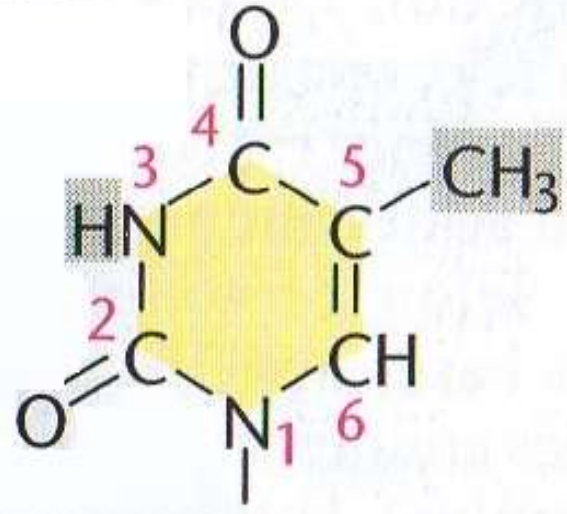


adénine (A)

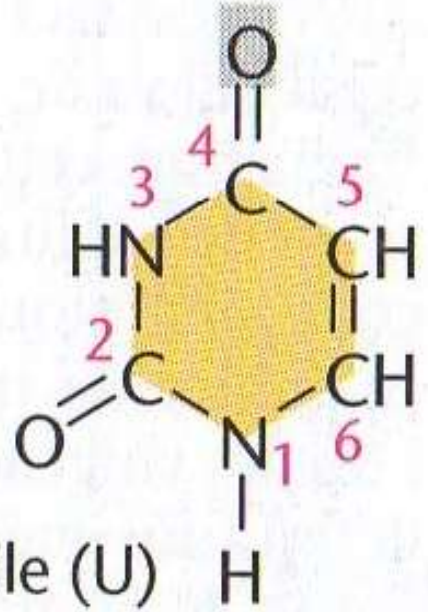


guanine (G)

Pyrimidines



thymine (T)



uracile (U)

cytosine (C)

Propriétés physico-chimiques des bases

- Molécules fortement conjuguées, c'est pourquoi elles absorbent dans l'UV à 260 nm et résistent à l'oxydation.

• Structure plane très stable et ne permet pas la rotation entre les liaisons simples.

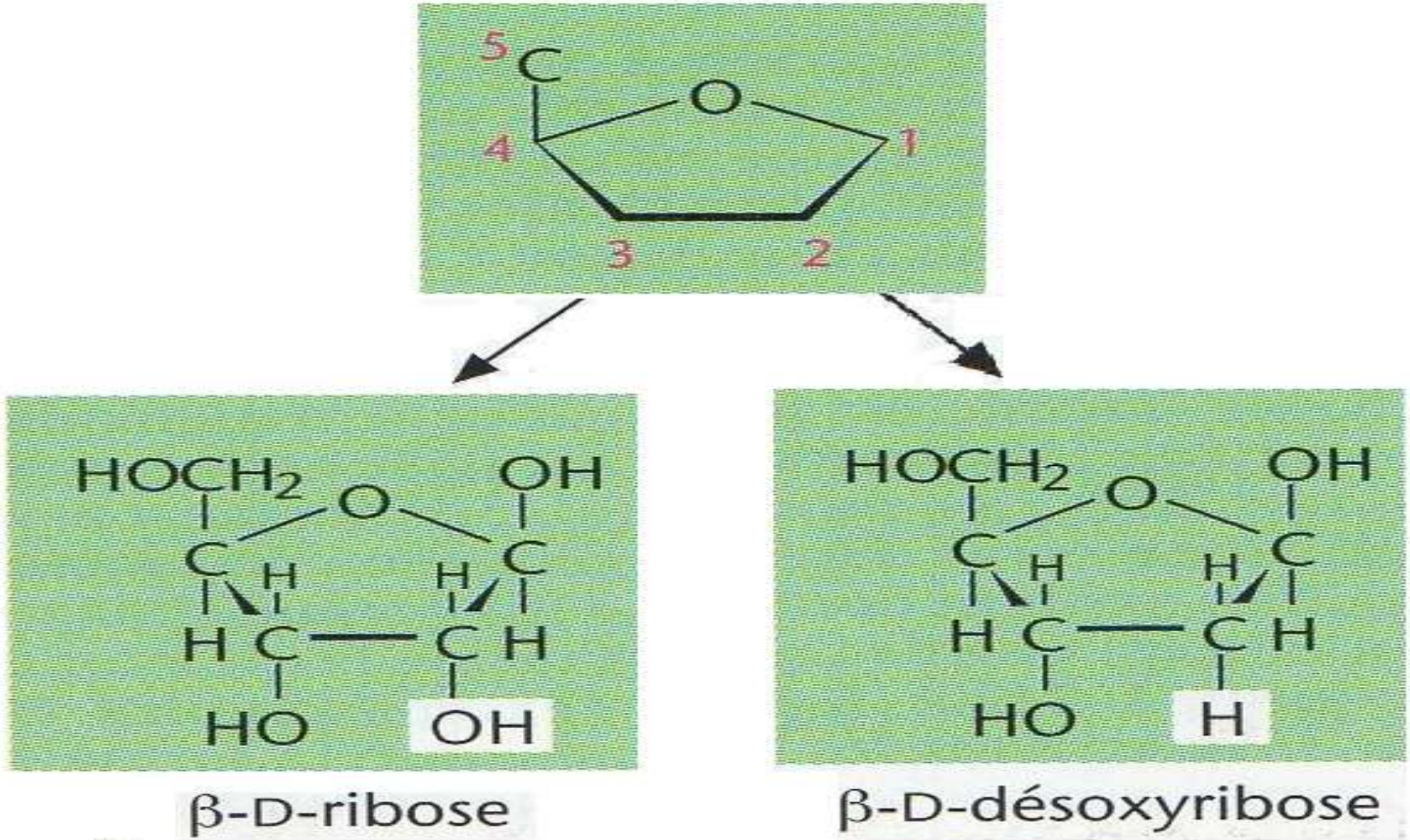
• Sont hydrophobes et relativement insolubles à pH neutre.

• Ces bases ont un caractère basique dû à la présence des amines (surtout extra cyclique), cependant elles ne se trouvent pas à l'état protoné au pH physiologique.

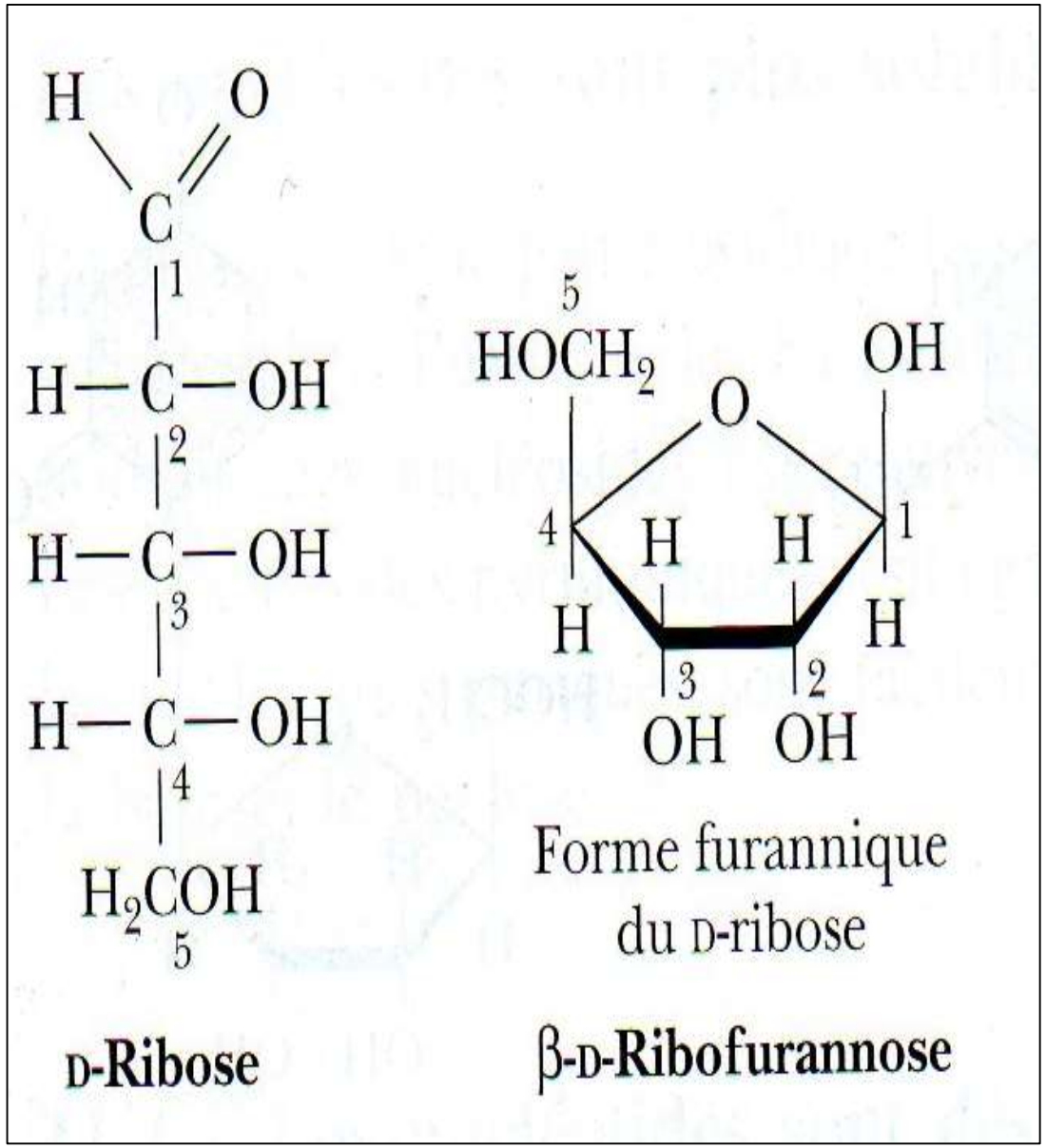
Les pentoses

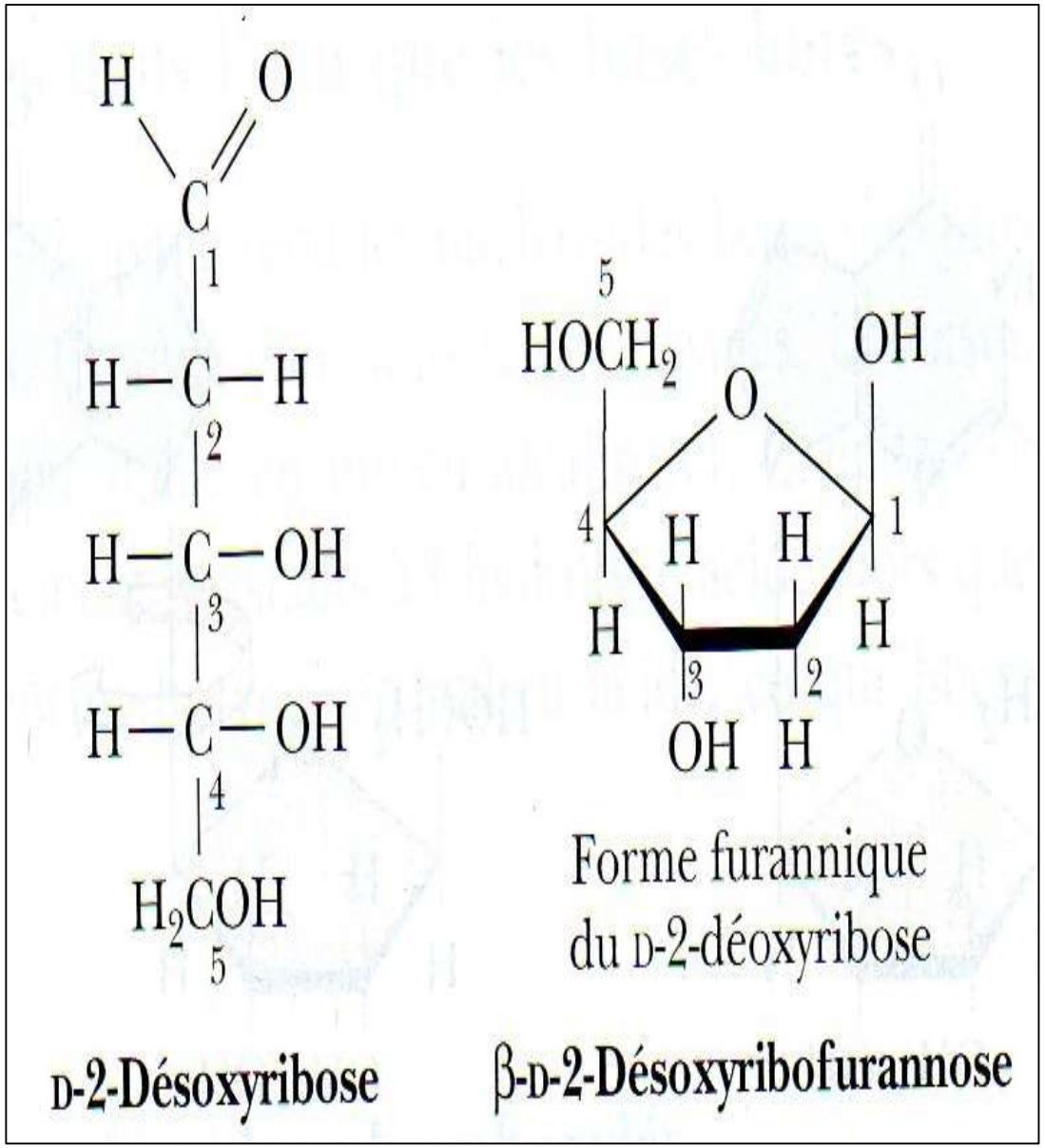
- Sont des oses à 5 atomes de carbone.
- L'ARN contient le D-ribose.
- L'ADN contient le 2-désoxy-D-ribose.
- Dans les 2 cas, le pentose est de forme furannique.
- La présence ou l'absence d'un groupe hydroxyle en position 2' a de grande conséquences sur la structure secondaire de l'ARN et de l'ADN et lors de l'hydrolyse chimique ou enzymatique.

Pentoses

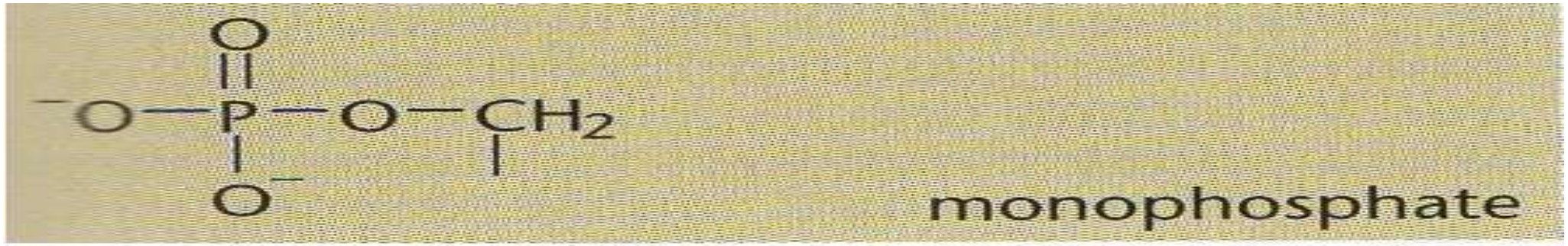

5
C
O
4
1
3
2
HOCH2
O
OH
C
H
C
H
H
C
C
H
HO
OH
β-D-ribose
HOCH2
O
OH
C
H
C
H
H
C
C
H
HO
H
β-D-désoxyribose

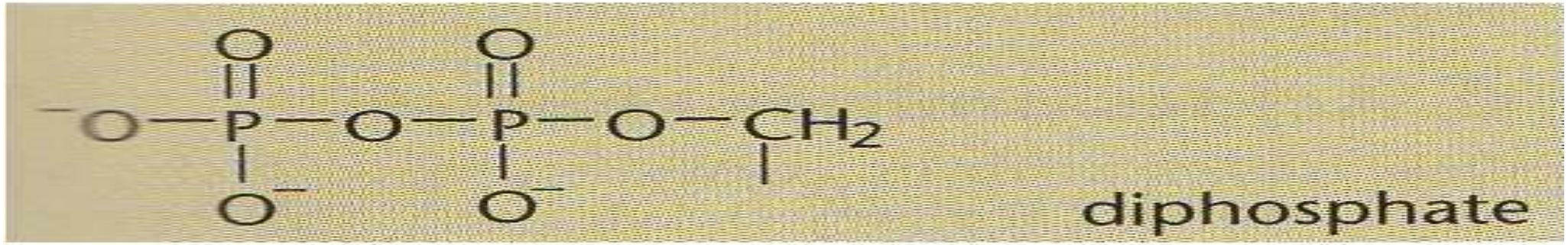
Pentoses

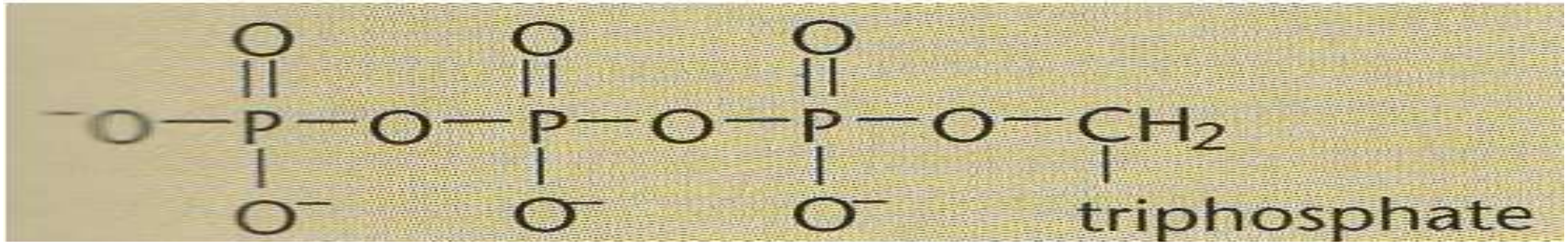

H
O
C
1
H—C—OH
2
H—C—OH
3
H—C—OH
4
H2COH
5
D-Ribose
5
HOCH2
O
OH
4
H
H
1
H
H
3
2
OH
OH
Forme furannique
du D-ribose
β-D-Ribofurannose


H
O
C
1
H—C—H
2
H—C—OH
3
H—C—OH
4
H2COH
5
D-2-Désoxyribose
5
HOCH2
O
OH
4
H
H
1
H
H
3
2
OH
H
Forme furannique
du D-2-déoxyribose
β-D-2-Désoxyribofurannose

Groupements phosphate







Deux différences entre l'ARN et l'ADN:

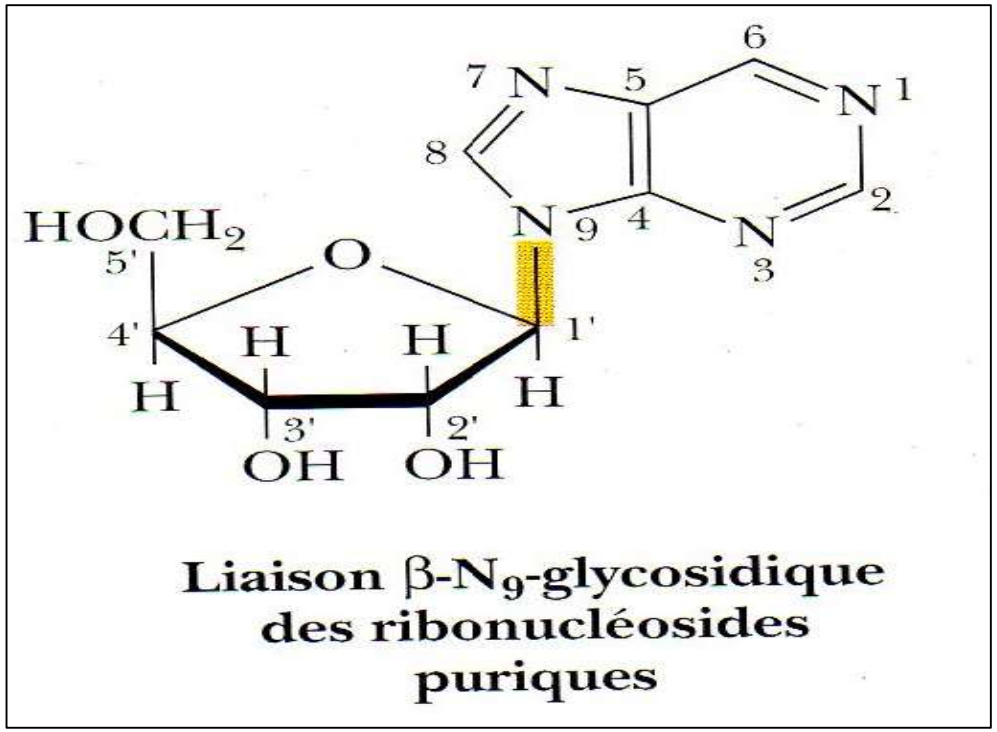
- Le sucre de l'ARN est le ribose (contrairement au désoxyribose, ce sucre comporte un radical hydroxyle sur l'atome de carbone en position 2).

- L'uracile (U) remplace la thymine (T) (l'uracile ne possède pas de radical méthyle en position C5.

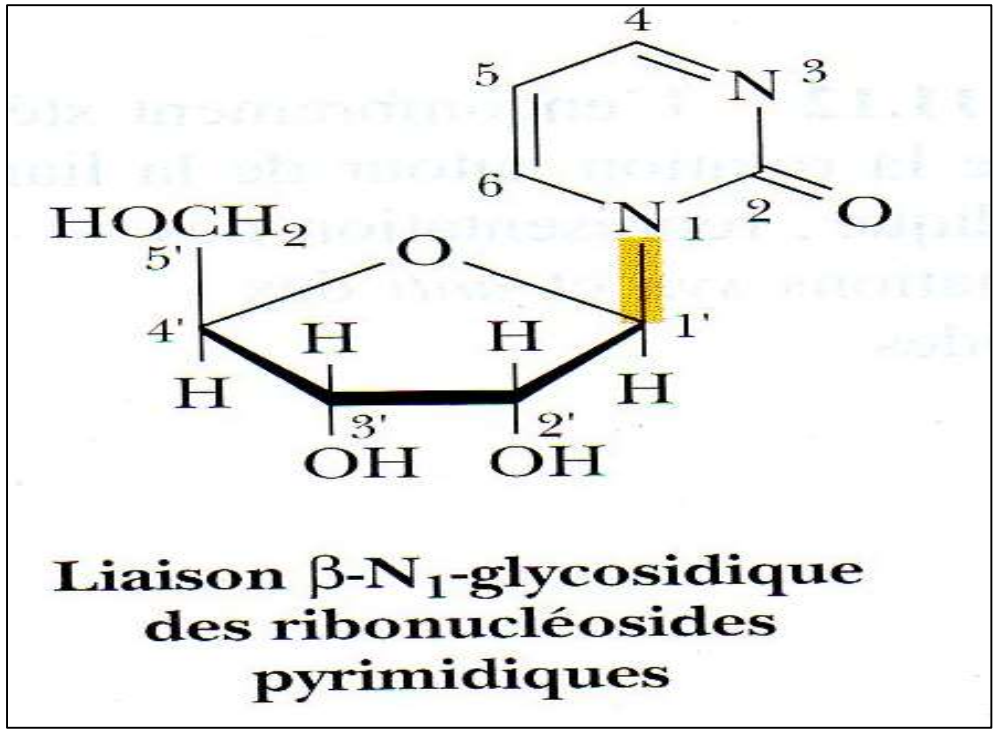
Les nucléosides

- Sont composés d'une base azotée liée à un pentose par une liaison osidique.
- L'atome d'azote en position 9 d'une purine ou en position 1 d'une pyrimidine se lie au carbone en position 1 du sucre (liaison **N-glucosidique**).

Nucléoside = base + pentose

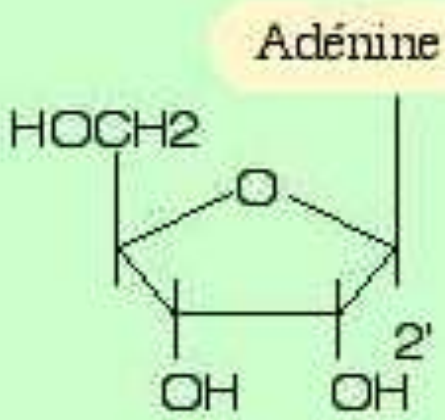


Liaison β-N_9-glycosidique des ribonucléosides puriques

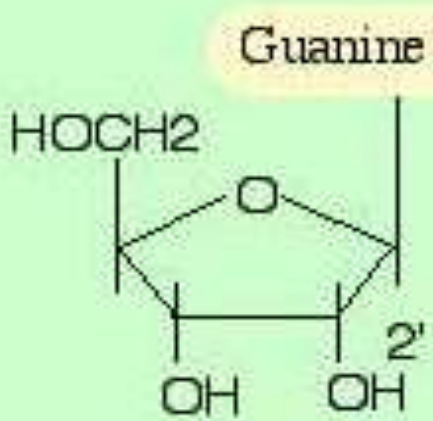


Liaison β-N_1-glycosidique des ribonucléosides pyrimidiques

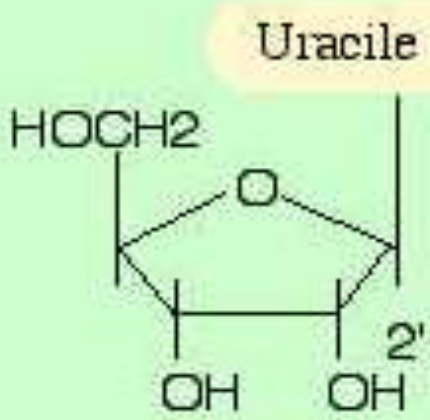
Les nucléosides



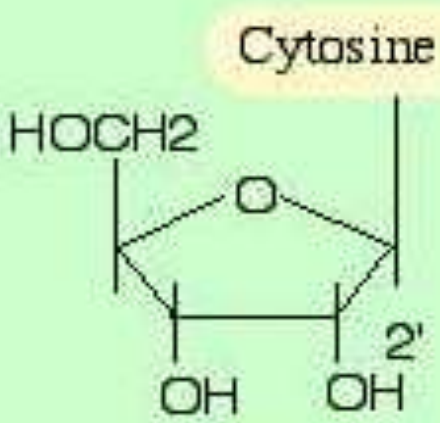
Adénosine



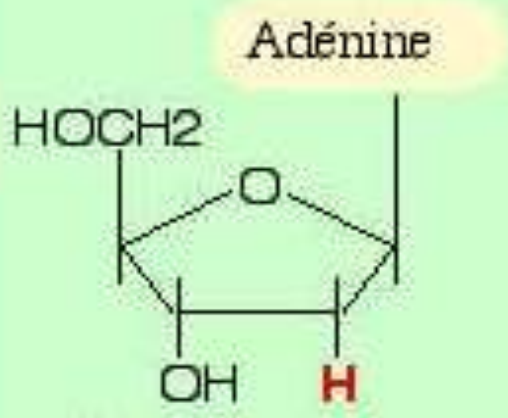
Guanosine



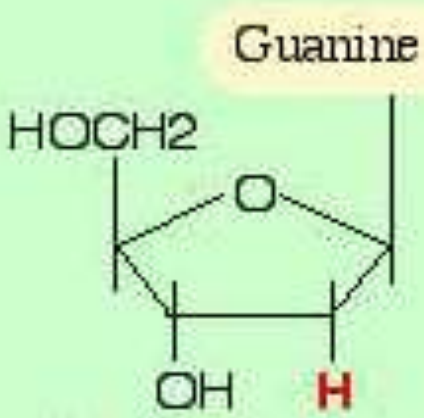
Uridine



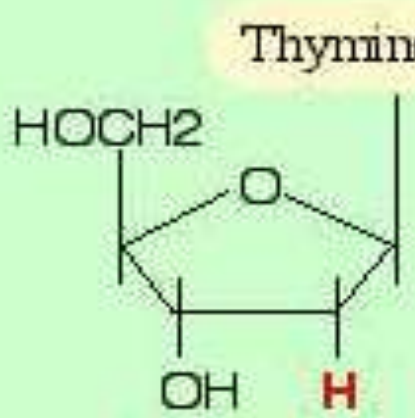
Cytidine



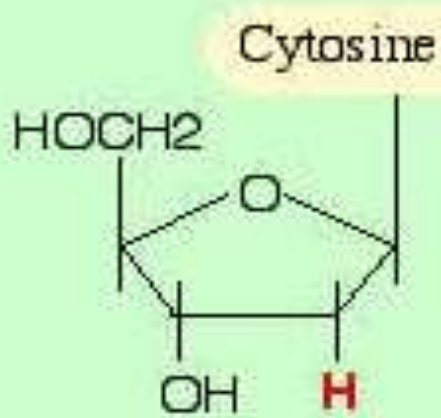
Désoxyadénosine



Désoxyguanosine



Désoxythymidine



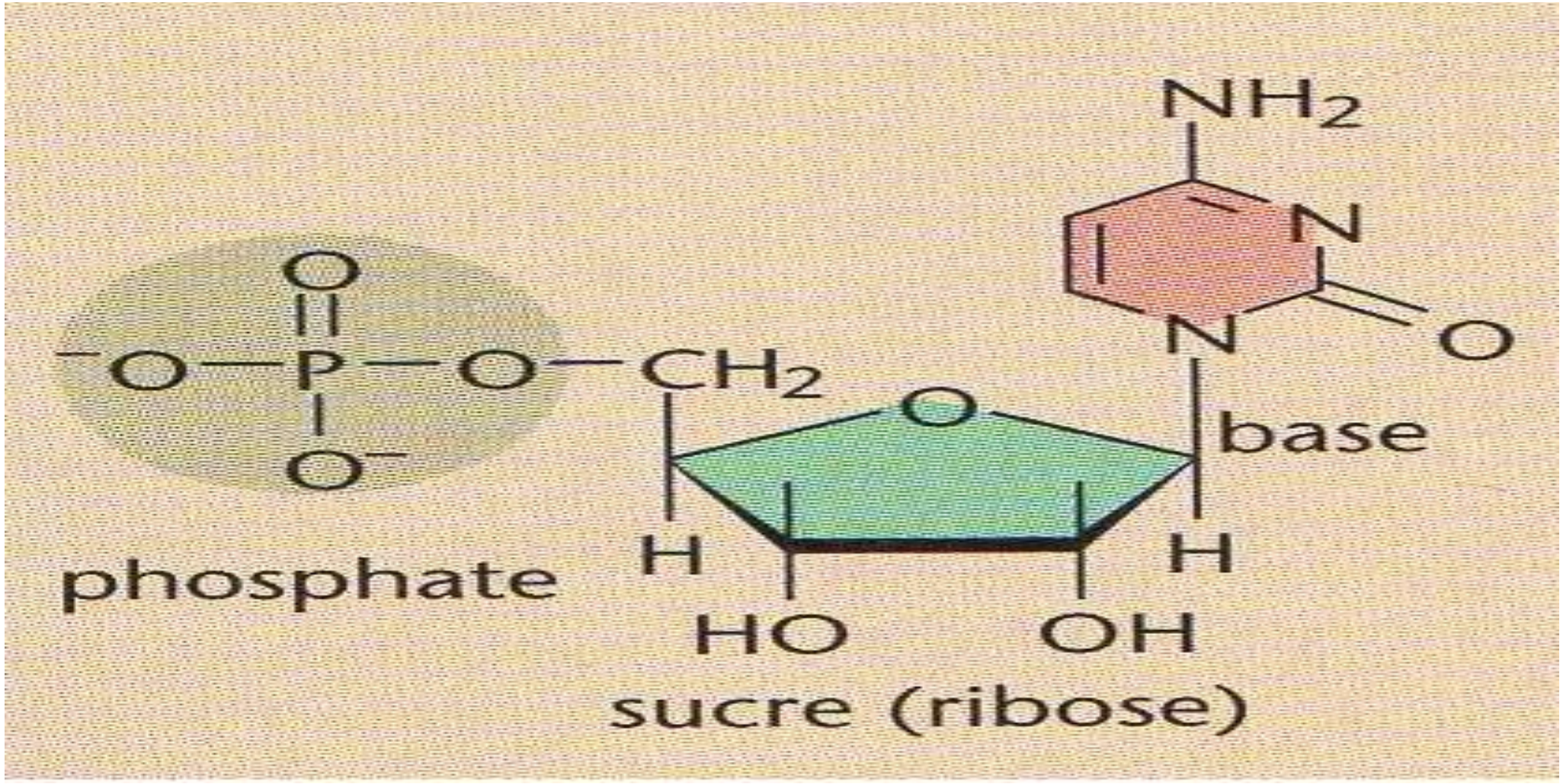
Désoxycytidine

Les nucléotides

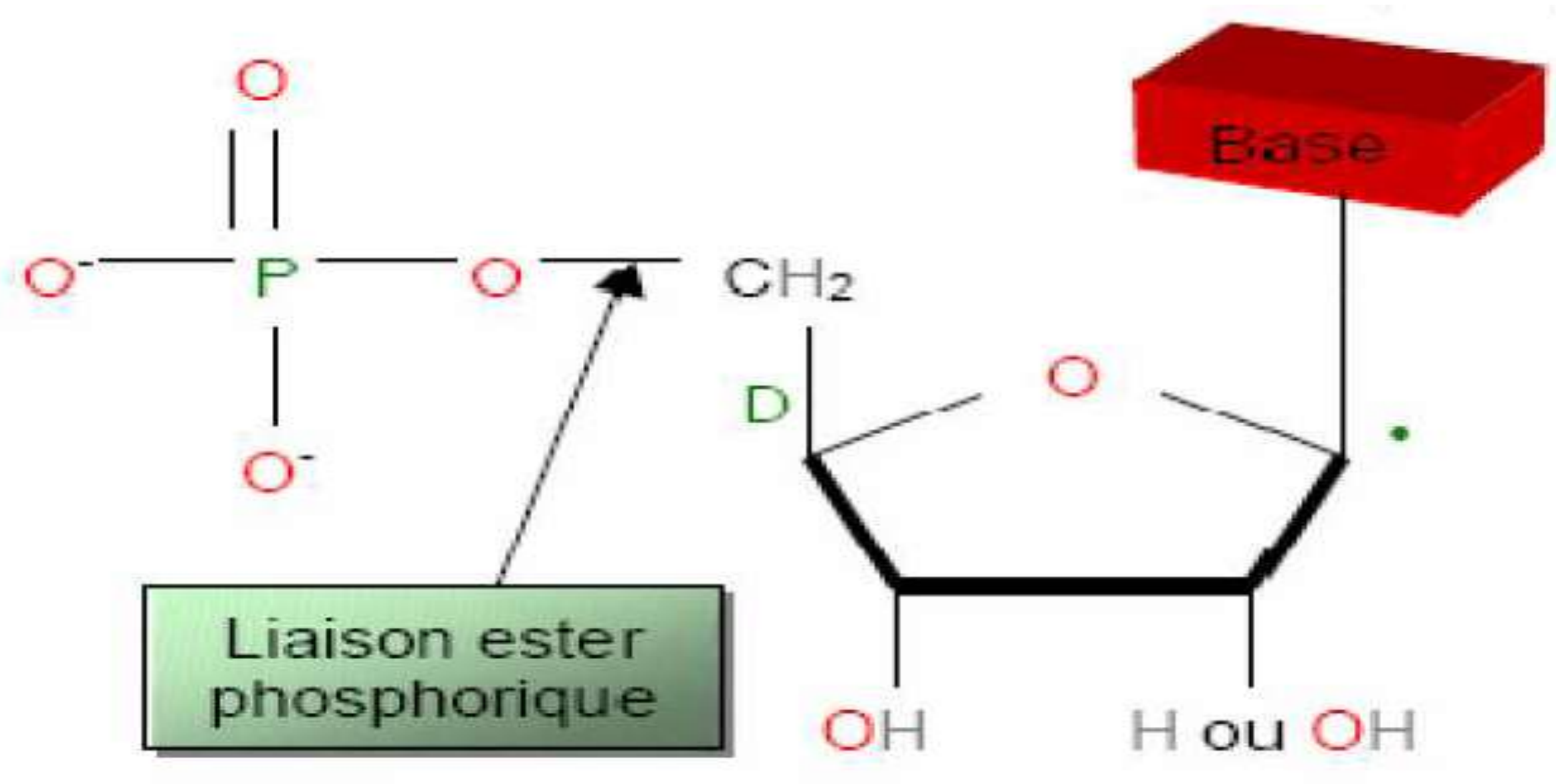
- Sont des nucléosides phosphorylés
- Le désoxyribose peut être phosphorylé sur le C3' et C5'.
- Le ribose peut être phosphorylé sur le C3', C2' et C5'.
- Chaque nucléotide est composée de l'une des 4 bases, d'un sucre (désoxyribose) et d'un groupement phosphate.

Nucléotide = base + pentose + phosphate

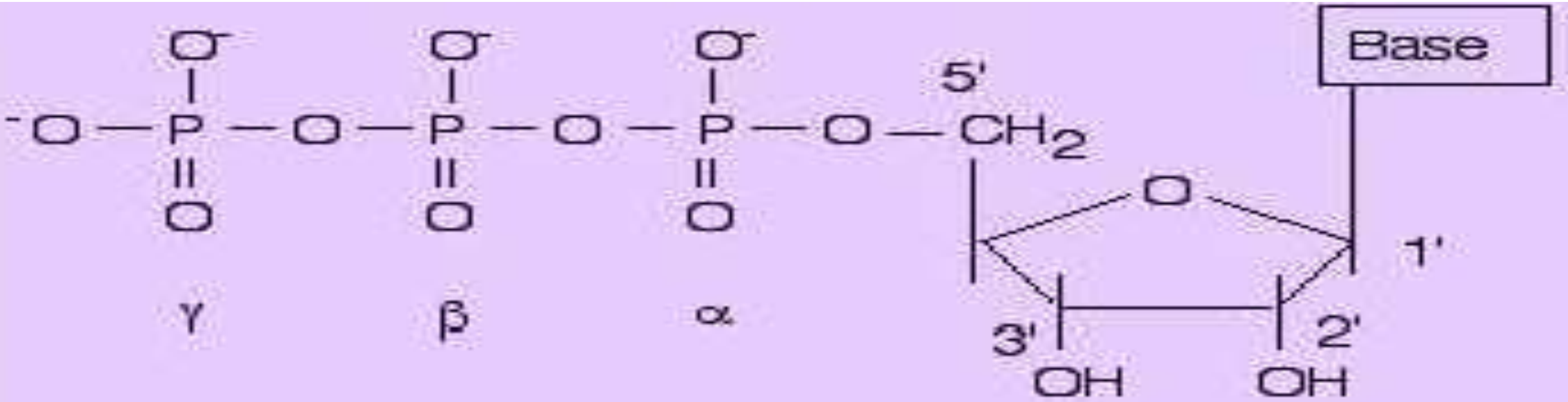
Nucléotide = base + pentose + phosphate



Nucléotide: Nucléoside + Ac. phosphorique (s)



Nomenclature



nucléoside monophosphate

nucléoside diphosphate

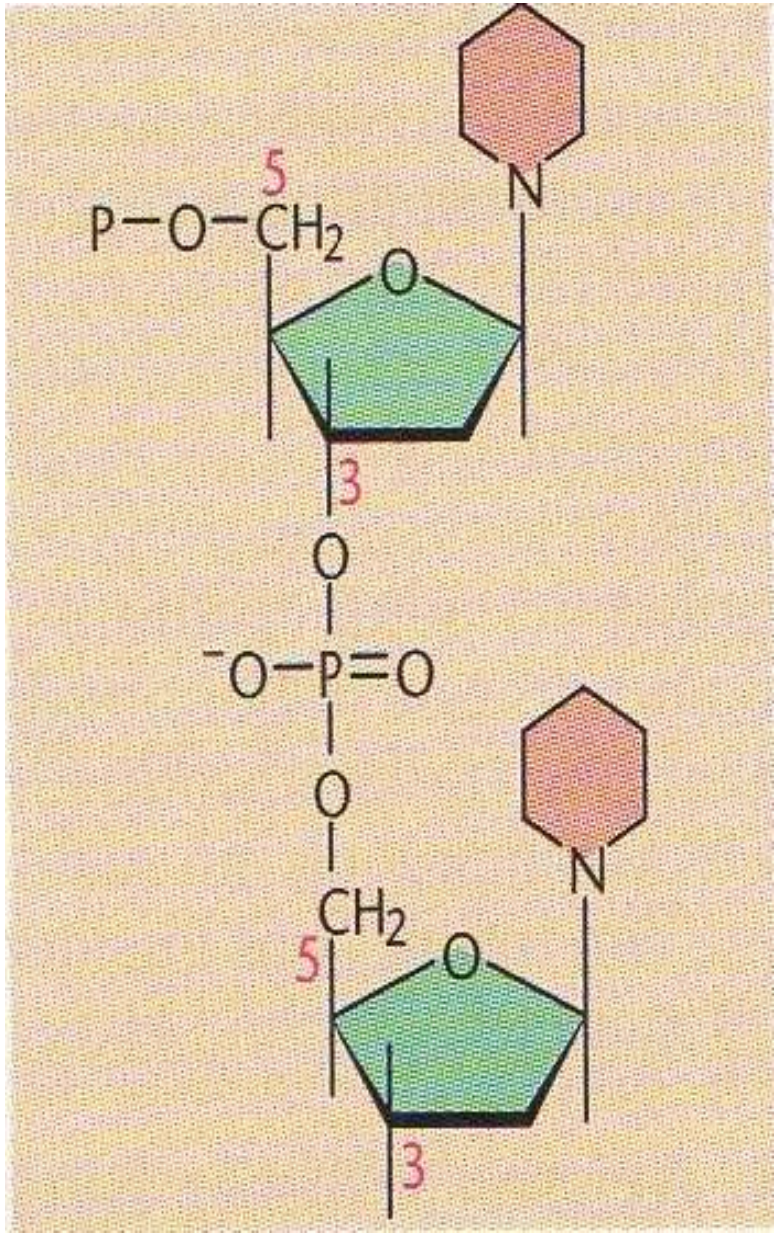
nucléoside triphosphate

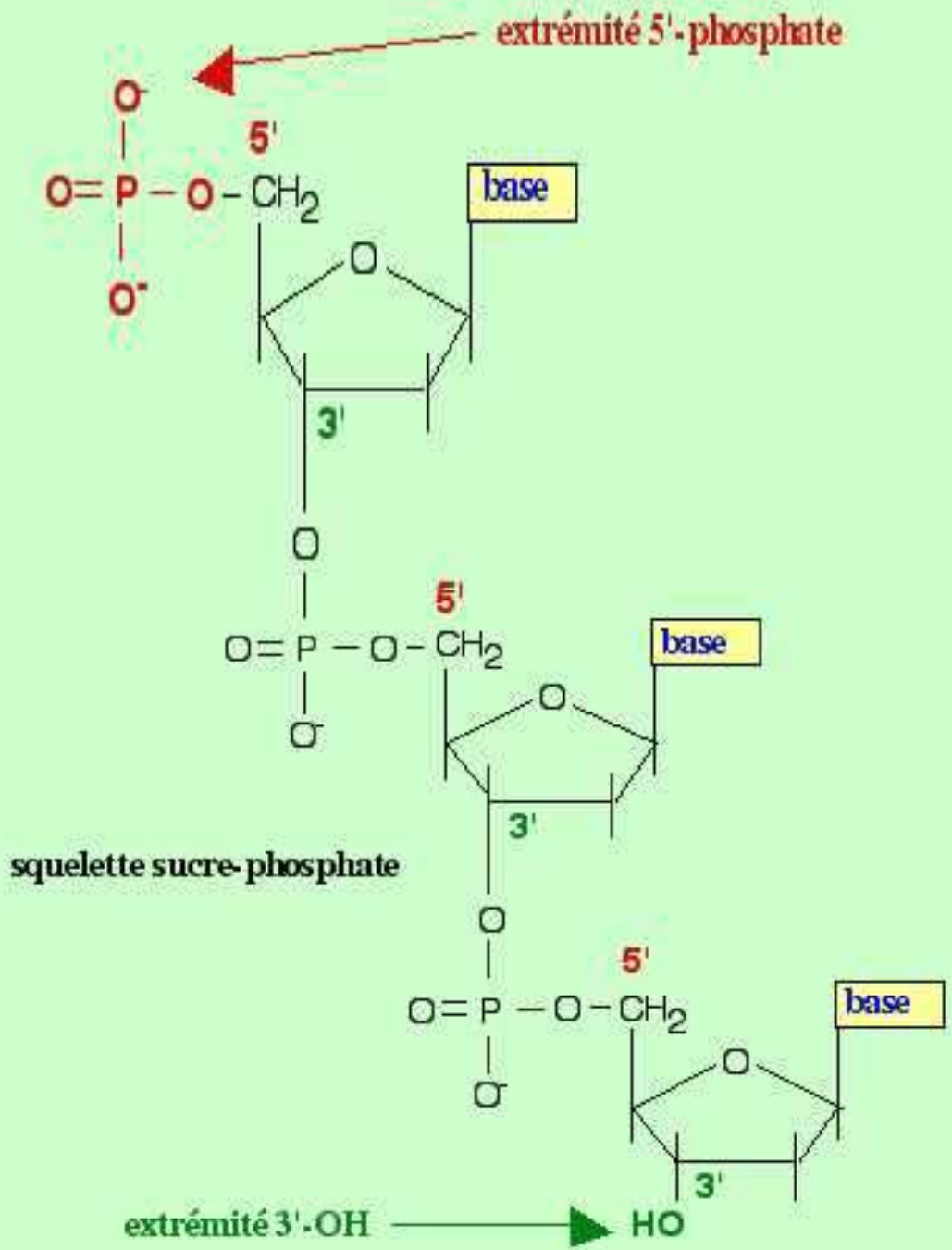
Chaîne nucléotidique

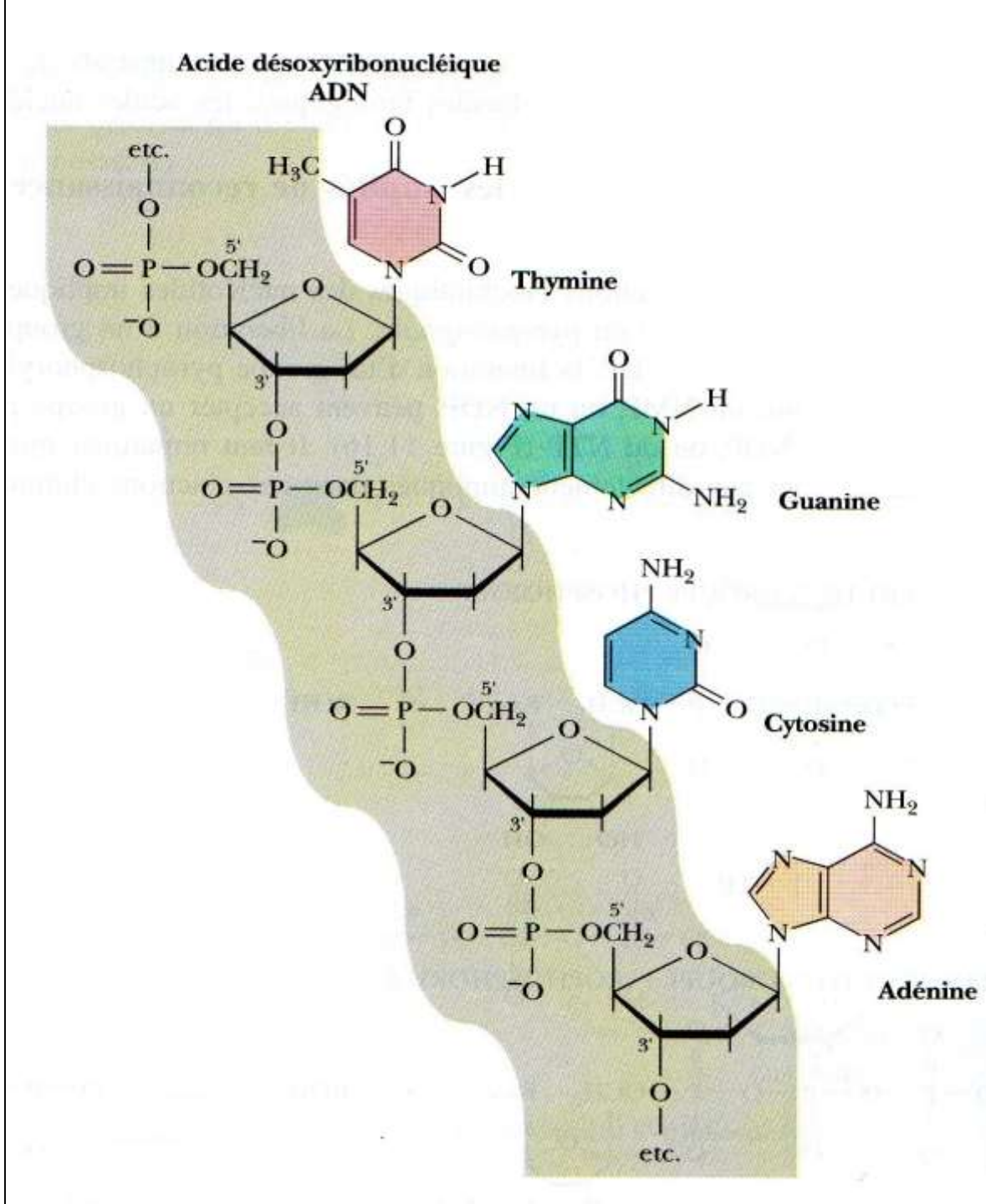
- L'ADN est un polymère d'unités de désoxyribonucléotides.
- La chaîne nucléotidique résulte de la liaison d'un radical hydroxyle du sucre d'un nucléotide au groupement phosphate lié au sucre du nucléotide suivant.
- Les sucres unis les uns aux autres par l'intermédiaire des groupement phosphate, forment la partie invariable de l'ADN.
- La partie variable est la séquence des bases nucléotidiques A,T, C et G.
- La chaîne nucléotidique est polarisée (orientée).

Chaîne nucléotidique

- La liaison des sucres entre eux détermine la polarité.
- Le groupement phosphate porté par le C5' de l'un des sucres se lie au groupement hydroxyle porté par le C3' du sucre suivant par un pont phosphodiester.
- Donc l'une des extrémités de la chaîne possède un radical 5'-phosphate libre (**extrémité 5'**) tandis que l'autre possède un radical 3'-hydroxyle libre (**extrémité 3'**).
- Par convention, la séquence des bases nucléotidiques est écrite dans le sens 5' ⟶ 3'.




extrémité 5'-phosphate
5'
base
3'
squelette sucre-phosphate
extrémité 3'-OH
HO


Acide désoxyribonucléique
ADN
etc.
Thymine
Guanine
Cytosine
Adénine
etc.

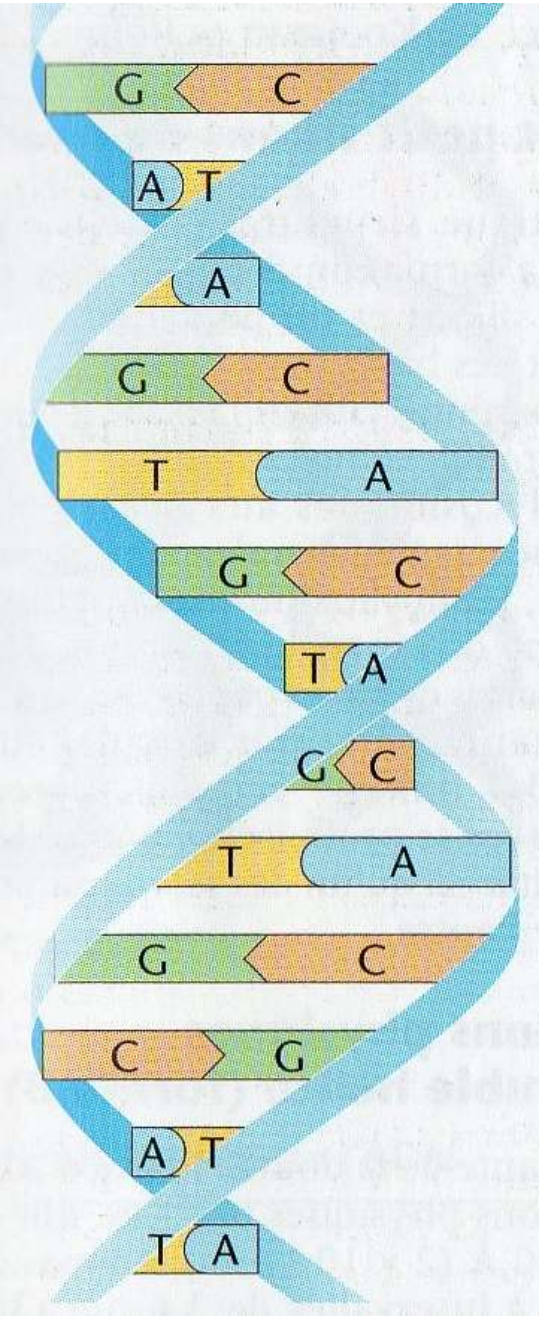
Chaîne nucléotidique

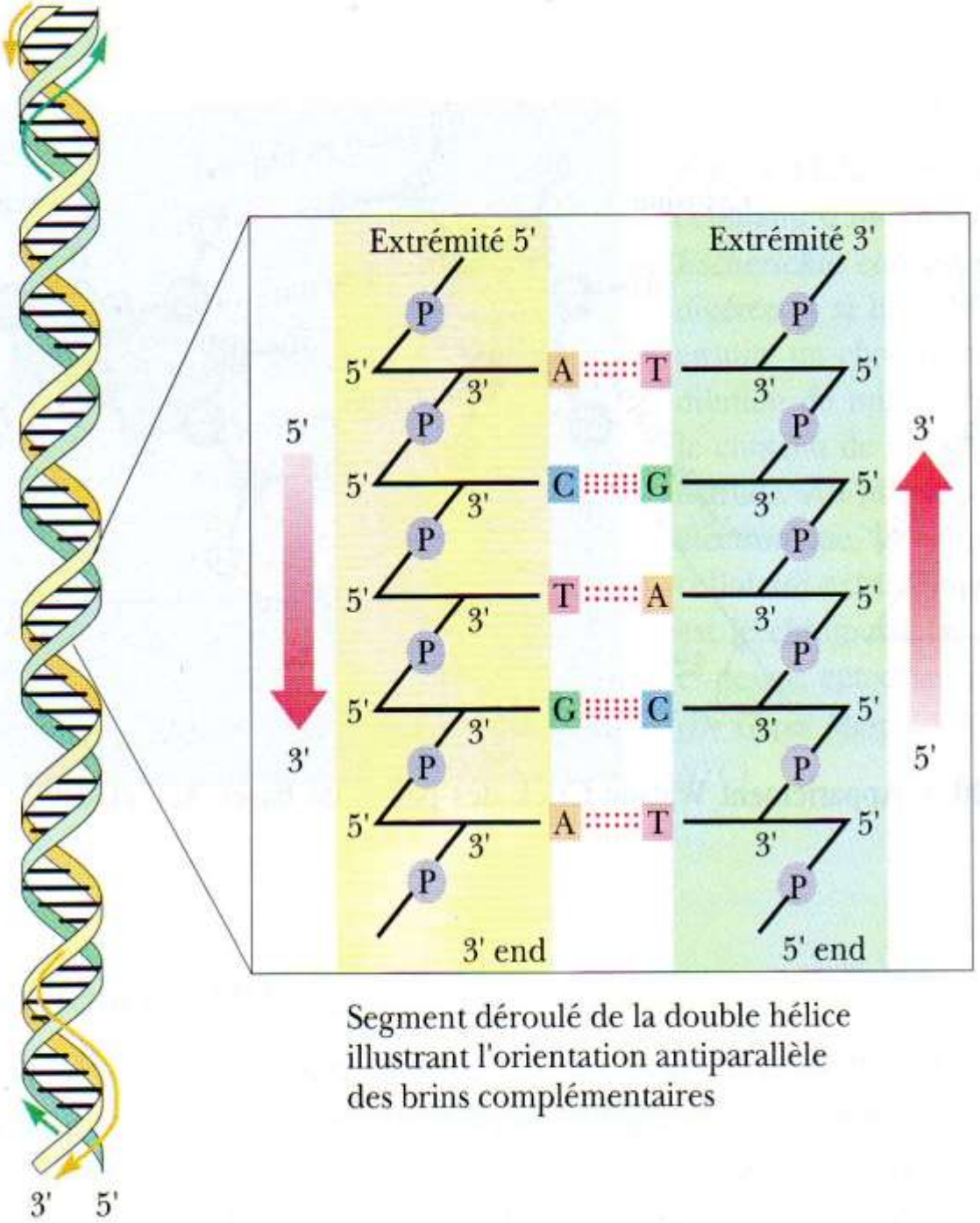
- L'ADN est formé de 2 brins se faisant face dans une double hélice.

- La séquence des bases de l'un des brins de l'ADN (dans le sens 5'3') détermine la séquence **complémentaire** des bases de l'autre brin (dans le sens 3'5') (**les 2 brins sont antiparallèle**).

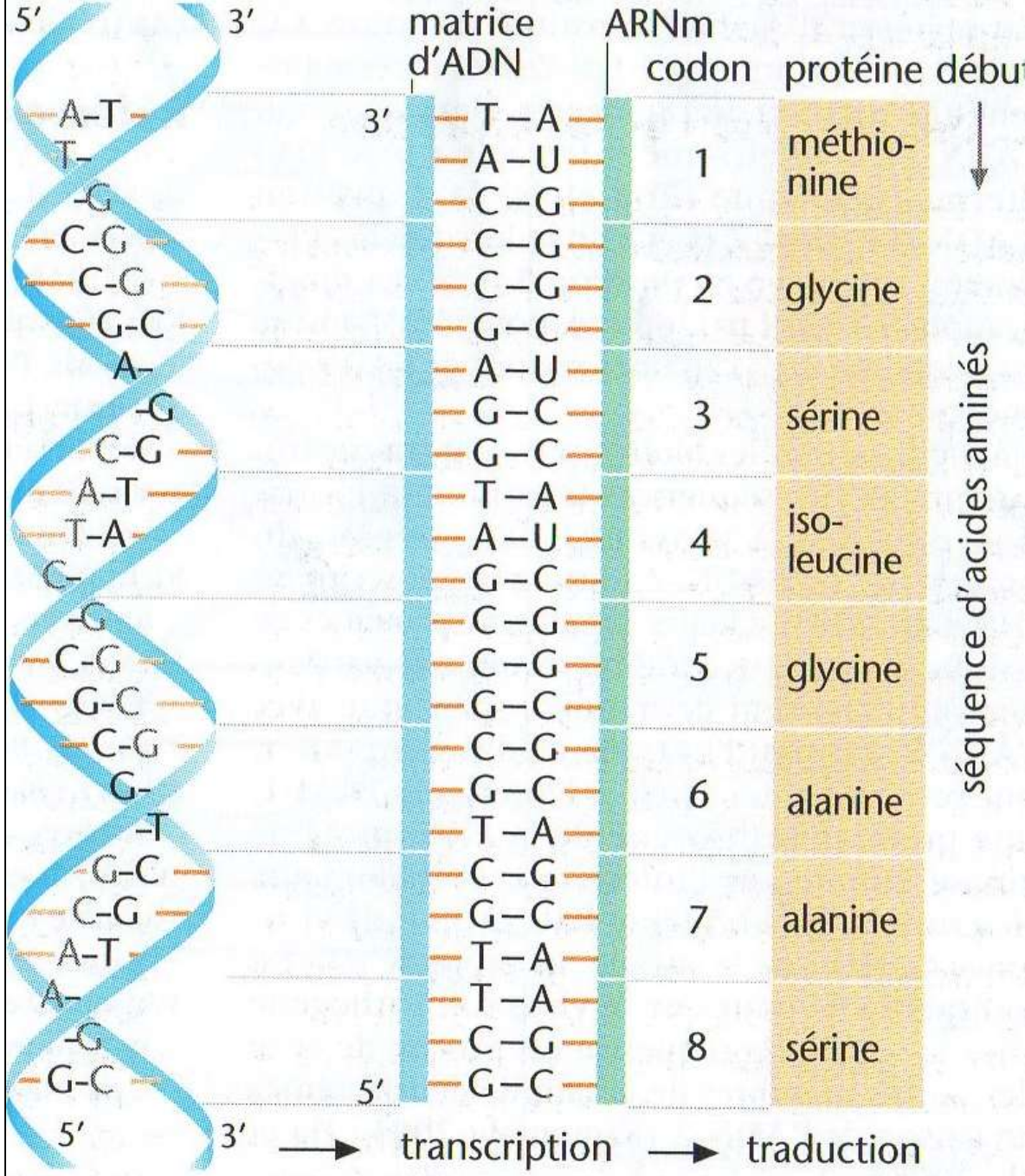
- La spécificité de l'appariement des bases est la caractéristique structurale la plus importante de l'ADN.

- L'information génétique est déterminée par la séquence en paires de bases.





Segment déroulé de la double hélice illustrant l'orientation antiparallèle des brins complémentaires



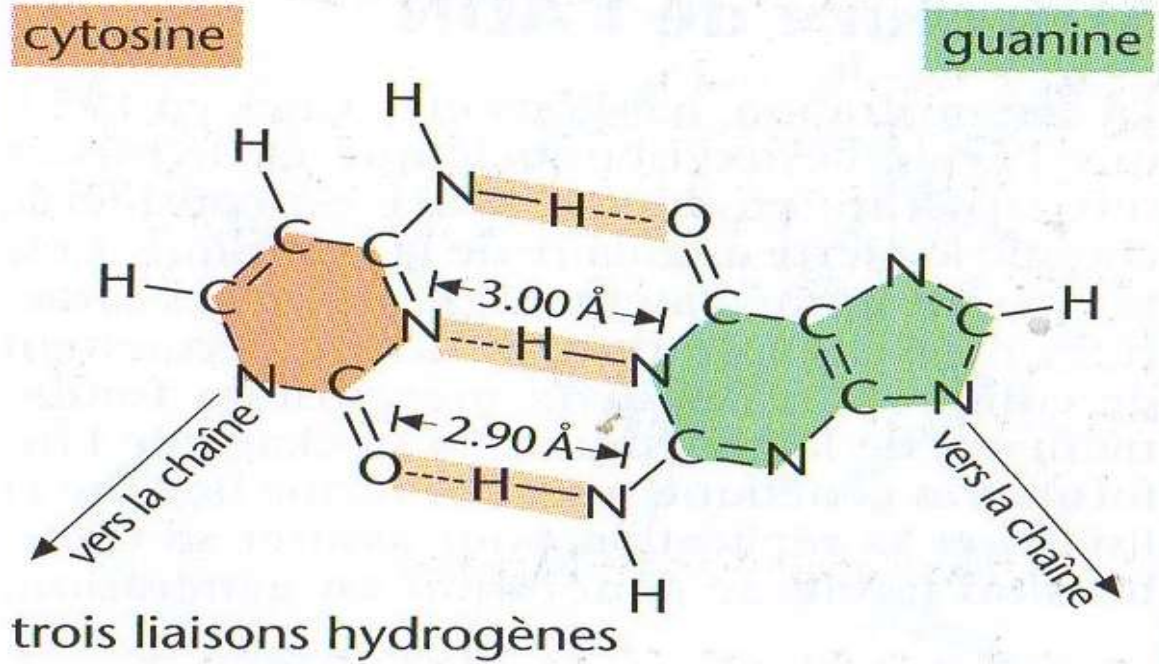
Transmission de l'information génétique

Liaisons hydrogène entre les bases

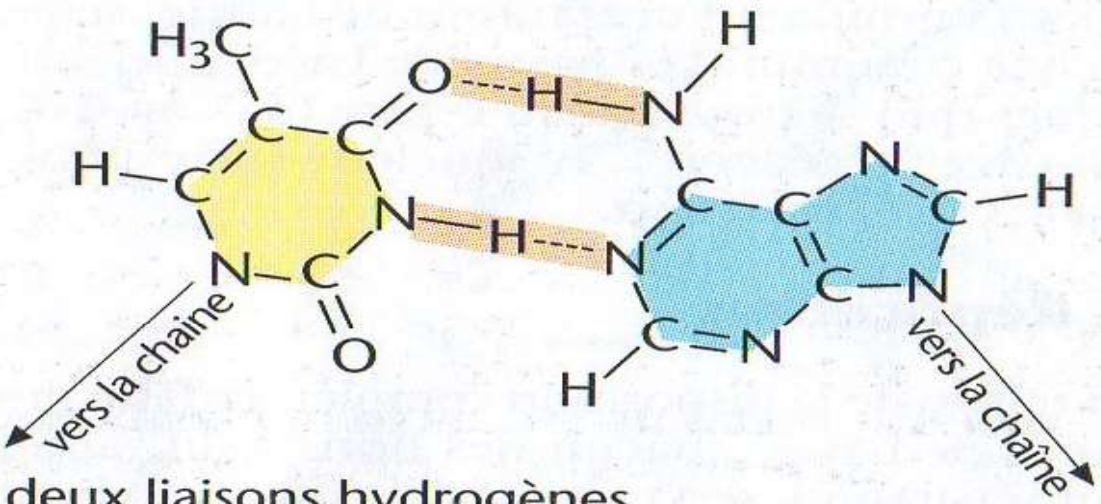
- La structure chimique des bases nucléotidiques conditionne les liaisons spatiales spécifiques de l'ADN.

- Une purine (adénine ou guanine) fait toujours face à une pyrimidine (thymine ou cytosine).

- La cytosine et la guanine sont unies par 3 liaisons hydrogène; La thymine et l'adénine, par 2 liaisons hydrogène, formant des paires de bases complémentaires.

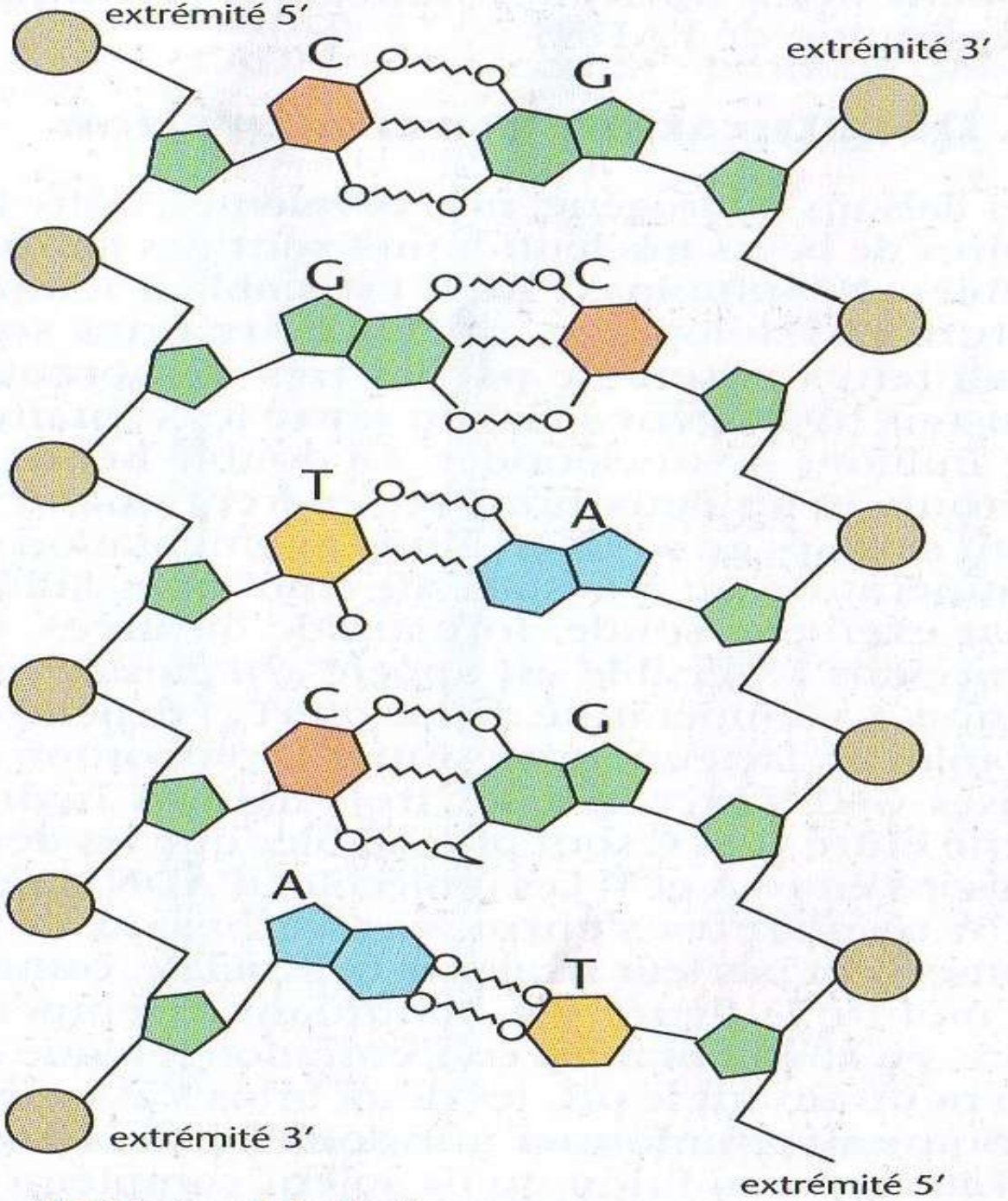


trois liaisons hydrogènes



deux liaisons hydrogènes

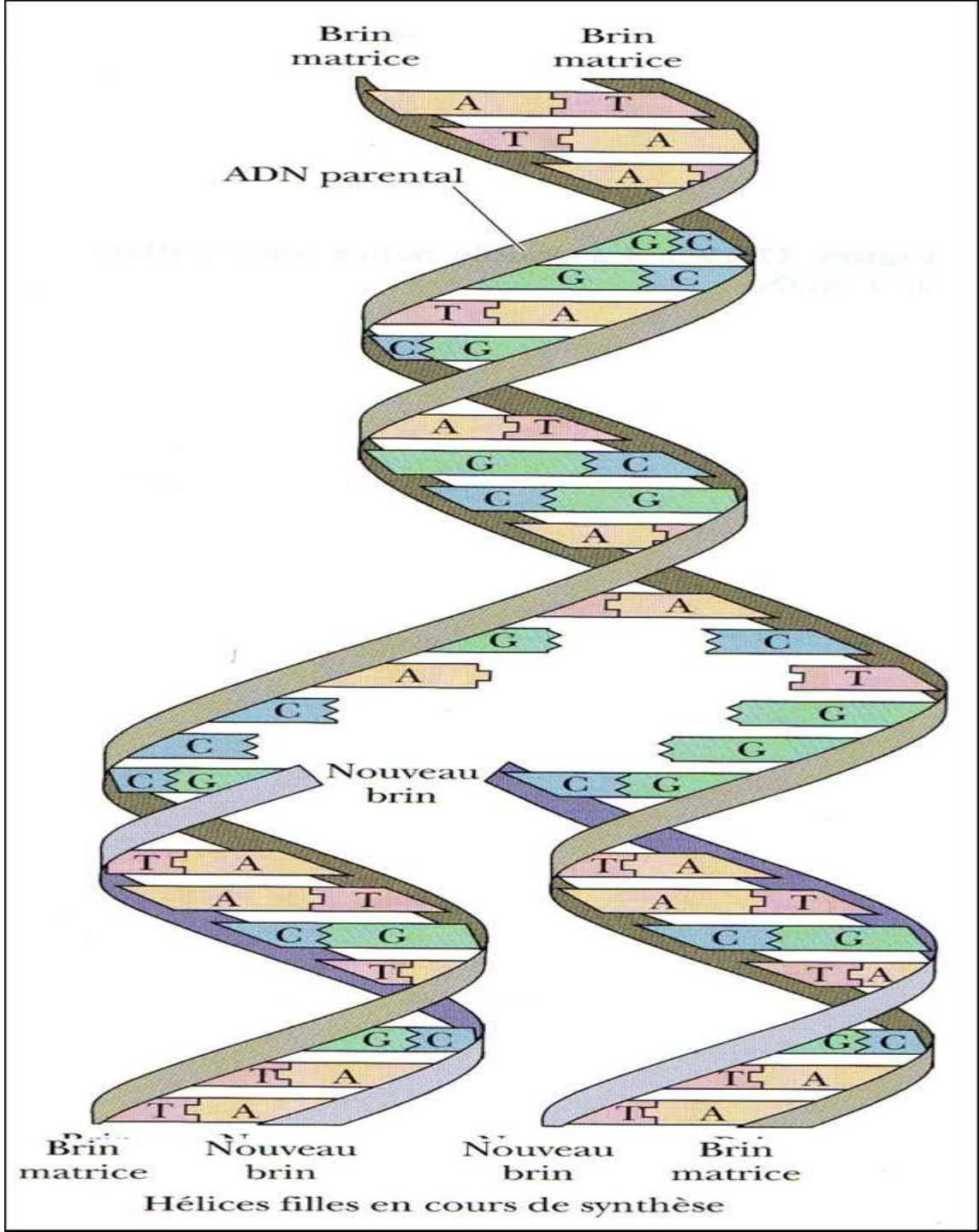
Liaisons hydrogène entre les bases



ADN double brin

Double hélice de l'ADN et réplication

- Les 2 chaînes polynucléotidiques hélicoïdales s'enroulent l'une autour de l'autre selon un axe commun.
- Les paires de bases nucléotidiques (pb) se trouvent au centre (A-T ou G-C); le squelette sucre-phosphate est à l'extérieur.
- En raison de la disposition complémentaire des pb, chacun des brins peut après leur séparation, servir de modèle (matrice) pour la formation (réplication) d'une nouvelle chaîne complémentaire.
- En ouvrant la double hélice, on obtient 2 nouvelles molécules identiques: c'est la réplication de l'ADN.



Coefficient de Chargaff : A+T / C+G

Diffère d'une espèce à l'autre :

- Homme : 1,5.

- Animaux et végétaux >1 :

Boeuf (1,3), rat (1,2), blé (1,2) .

- Bactéries (0,35 – 2,7) :

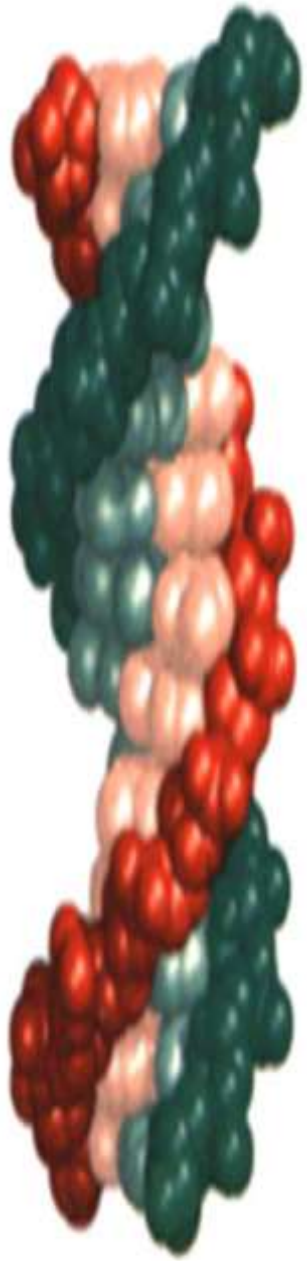
E. coli (1,04) , Saccharomyces cerevisiae (1,7).

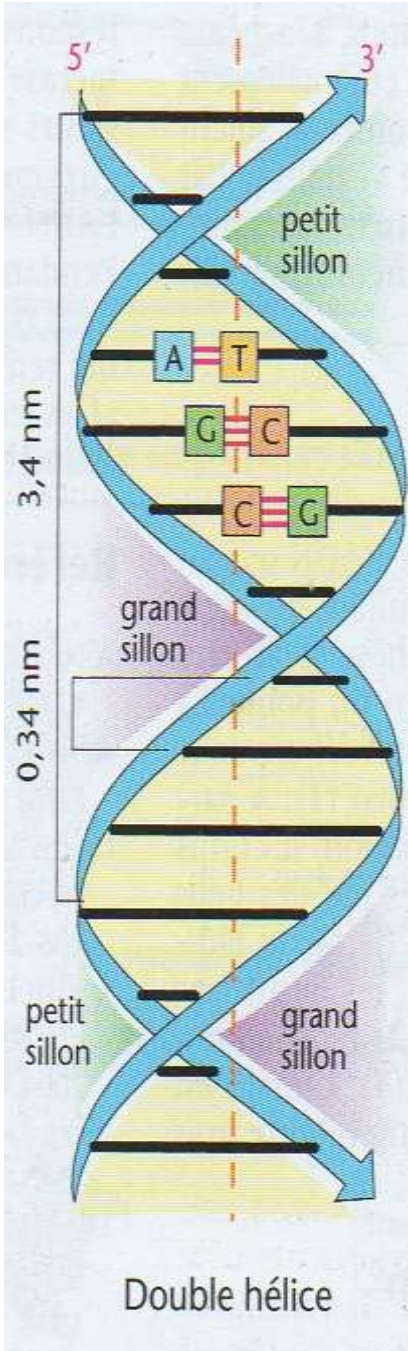
ADN B, ADN A et ADN Z

A côté de la forme B de l'ADN, 2 autres structures de la double hélice ont été mises en évidence la forme A et Z:

- **ADN B:**

-La forme classique originale.
-Déterminée par Watson et Crick en 1953.
-ADN B à enroulement à droite (sens de rotation de l'hélice).
-10 à 10,6 pb/ tour d'hélice.
-Pas de l'hélice se répète à intervalle de 3,6 nm (36A°).
-Inclinaison des pb par rapport à une perpendiculaire à l'axe:-1,2°± 4,1°.
-Les bases situées sur le même brin sont distantes l'une de l'autre de 0,36 nm (3,6A°).
-Diamètre de l'hélice = 20A°.
-Position de l'axe de l'hélice est entre les pb.
-Grand sillon est large est de profondeur intermédiaire.
-L'aspect du petit sillon est étroit et de profondeur intermédiaire.
-La conformation B est plus longue et plus fine.



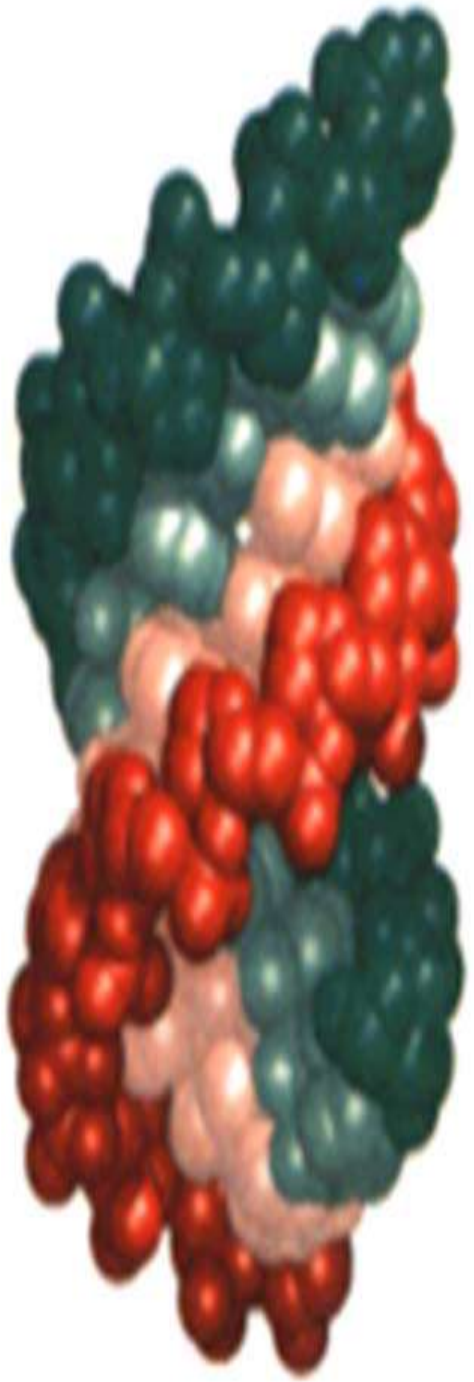


Double hélice

ADN B, ADN A et ADN Z

- ***ADN A:***

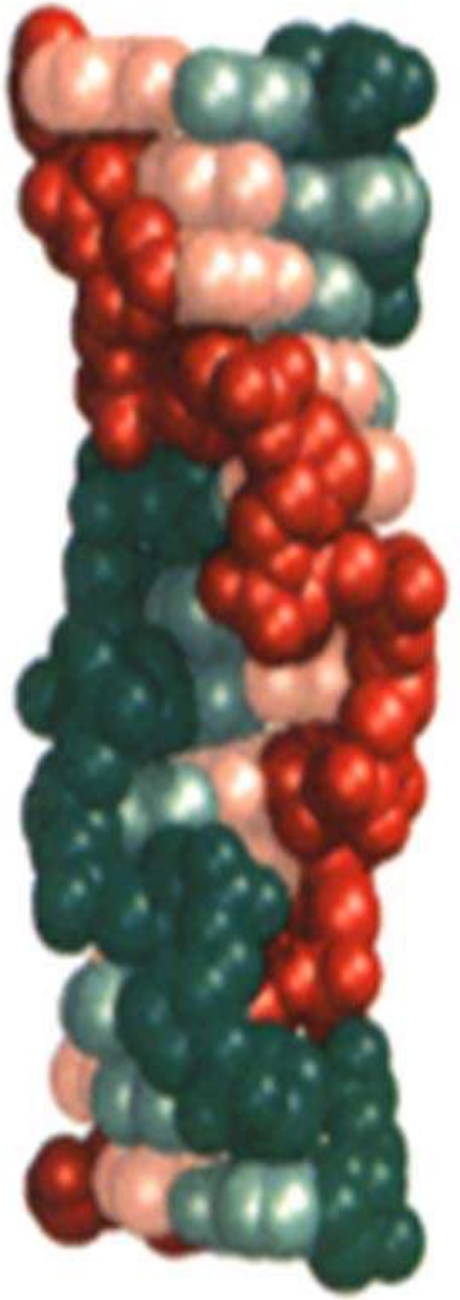
-Dans des conditions d'humidité très faible, la forme B se change en forme A (les hélices ADN/ARN et ARN/ARN sont sous cette forme dans les cellule *in vitro*).
-ADN A est rare.
-Forme A à pas droit.
-Pas de l'hélice= 2,46 nm (distance séparant 2 tours).
-Les pb sont séparées par une distance de 0,23 nm le long de l'axe.
-Diamètre ≈ 2,6 nm.
- Forme compacte avec 11 pb par tour.
-Diffère de la forme B par une rotation de 20°de l'axe perpendiculaire de l'hélice (inclinaison des pb par rapport à une perpendiculaire à l'axe).
-Position de l'axe de l'hélice est dans le grand sillon.
-Il a un grand sillon très profond et un petit sillon plat.
-La conformation A est plus courte et plus ramassée.



ADN B, ADN A et ADN Z

- ***ADN Z:***

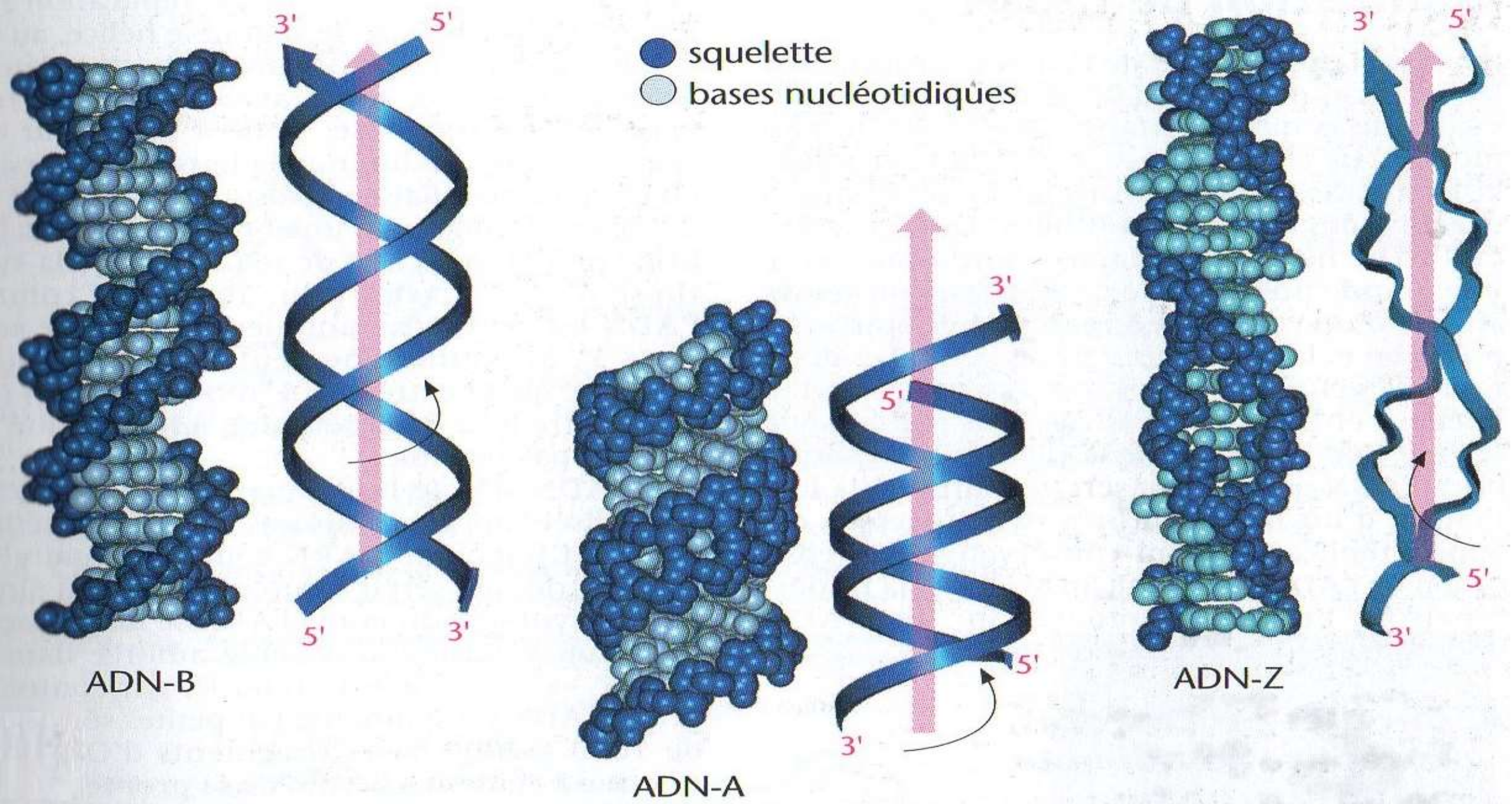
-Hélice à pas gauche.
-Une plus grande distance 0,77 nm entre les pb.
-Une forme en zigzag du squelette sucre phosphate.
-12 bases/ tour d'hélice, diamètre ≈ 1,8 nm.
-Pas par tour d'hélice = 45,6 A°.
-Inclinaison des pb par rapport à une perpendiculaire à l'axe:-9°.
-Position de l'axe de l'hélice est dans le petit sillon.
-Son aspect général est étiré et mince.
-L'ADN Z est relativement instable sur le plan thermodynamique.



ADN B, ADN A et ADN Z

- **ADN Z:**

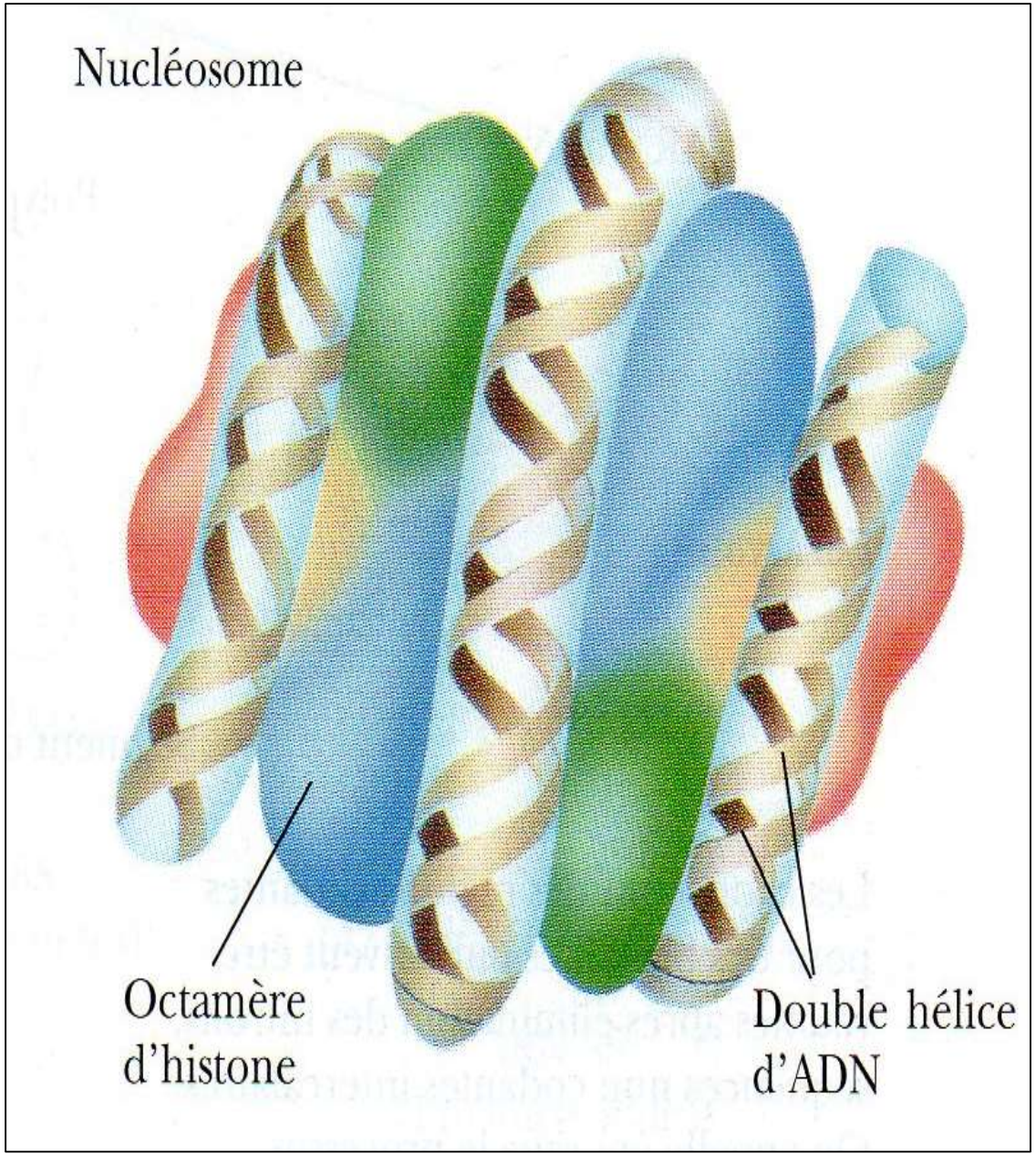
-L'ADN Z résulte de la séquence répétitive pyrimidine-purine d'un oligonucléotide.
-Alexander Rich et ses collègues analysent par diffraction des rayons X des cristaux d'un désoxyribonucléotides synthétique dCpGpCpGpCpG.
-Un segment d'ADN B constitué de paires GC peut être transformé en ADN Z si les bases subissent une rotation de 180°.
-La transition d'ADN B à ADN Z est facilitée lorsque la cytosine est méthylée en position 5' .
-La modification de l'ADN par méthylation de la cytosine est fréquente dans certaines régions de l'ADN des eucaryotes.
-L'ADN Z a des rôles biologiques: on trouve fréquemment des séquences favorisant la formation d'ADN Z à proximité de la région du promoteur où l'ADN Z stimule la transcription.

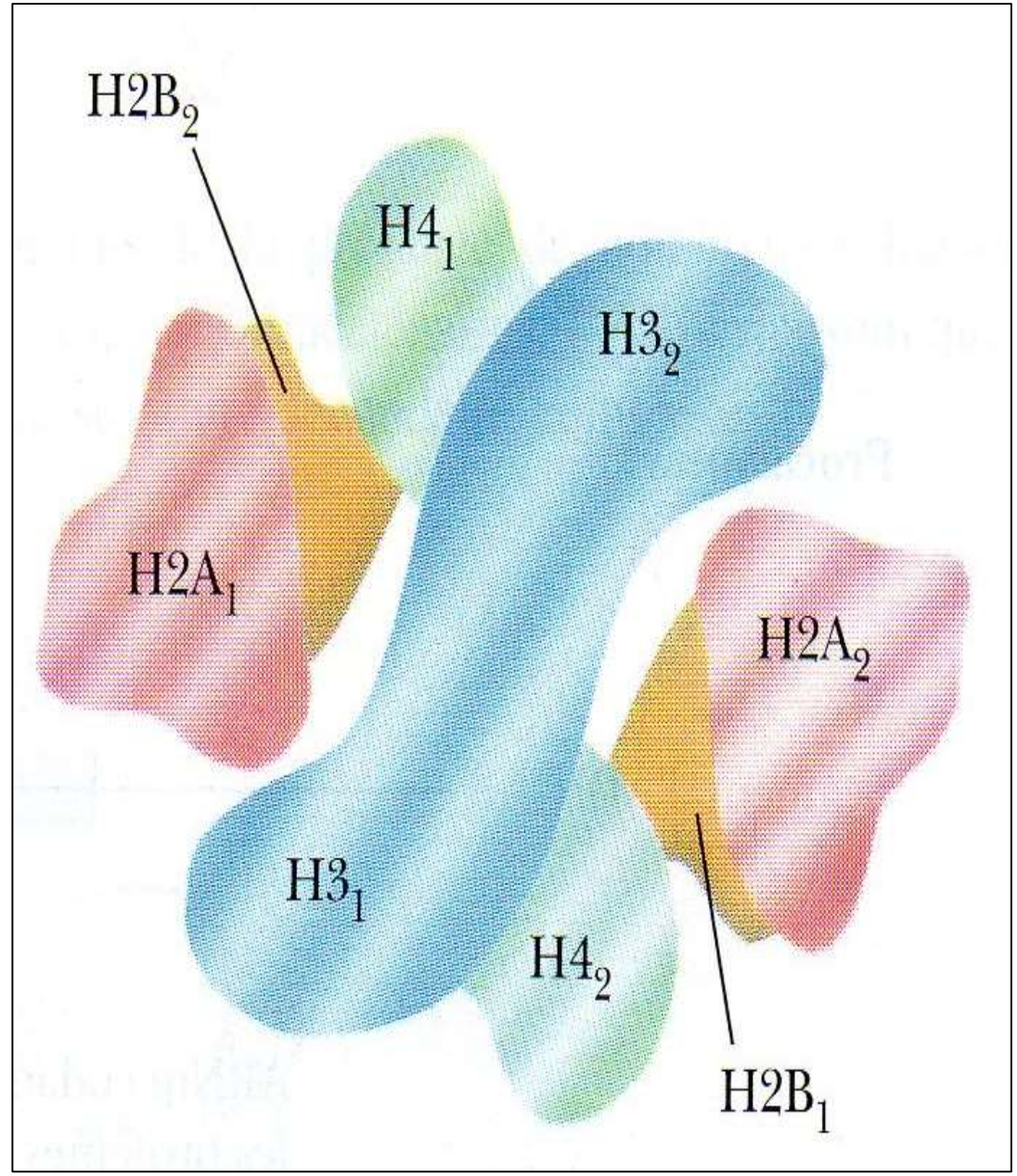


Trois formes de l'ADN

L'ADN dans les chromosomes

- L'ADN se trouve sous des formes différentes dans les procaryotes et les eucaryotes.
- L'unique chromosome des procaryotes est une molécule d'ADN circulaire (peu de protéines sont associées).
- Les molécules d'ADN des chromosomes des eucaryotes sont linéaires et associées à de nombreuses protéines.
- Histones, une classe de protéines riches en arginine et en lysine, sont en interactions ioniques avec les groupes phosphate (anioniques) du squelette de l'ADN, il en résulte les **nucléosomes**.
- **Nucléosomes**: structures dans lesquelles la double hélice de l'ADN s'enroule autour d'un cœur protéique constitué de 4 paires d'histones différentes. Les protéines (de régulation du gène) se fixent sur les bases accessibles du grand sillon.


Nucléosome
Octamère d'histone
Double hélice d'ADN


H2B2
H41
H32
H2A1
H2A2
H31
H42
H2B1

Propriétés physico-chimiques de l'ADN

- Poids moléculaire : macromolécules: PM (plusieurs millions de daltons).

- Caractère acide : poly-anions: présence des acides phosphoriques tournés vers l'extérieur.

- Densité élevée : due à la présence de ***C*** ≡ ***G*** qui rapprochent et compactent les 2 brins (L'ADN est dense).

Donc il existe une relation entre la densité et le % de *G* et *C*:

Densité = 1,66 + 0,001 (*G* +*C*) %

Propriétés physico – chimiques de l'ADN

- Solubilité :

- l'ADN sous forme de sels de Na dilués est soluble mais il présente une viscosité élevée.
- Il est insoluble dans les solvants organiques.

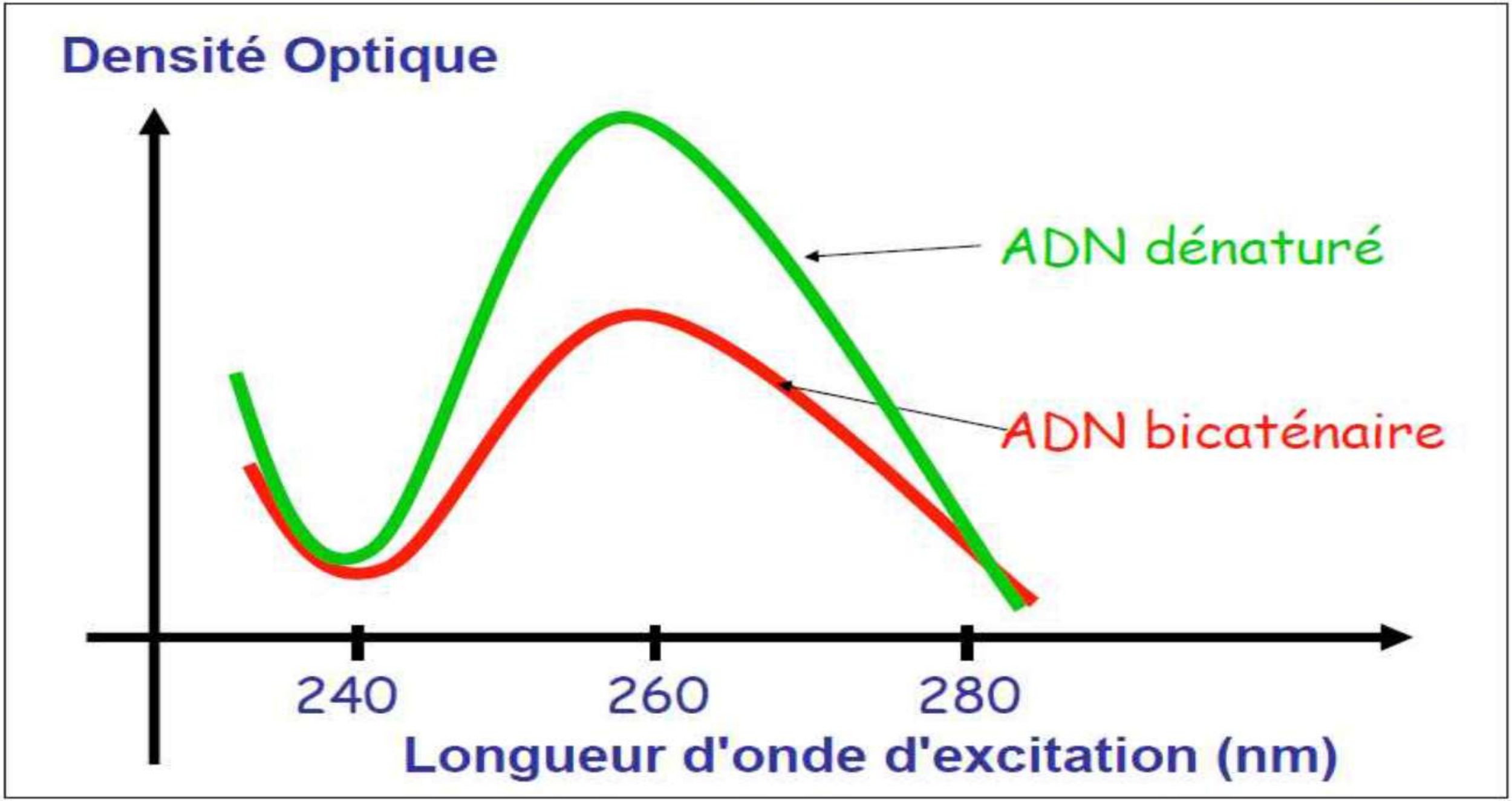
- Spectre d'absorption :

-Absorbe dans l'UV à 260 nm (présence de doubles liaisons conjuguées des noyaux aromatiques)

- Effet hyper-chrome :

Lorsque l'ADN est chauffé l'absorption augmente à 260 nm alors que la viscosité diminue.

L'ADN a un spectre d'absorption UV maximal à 260 nm

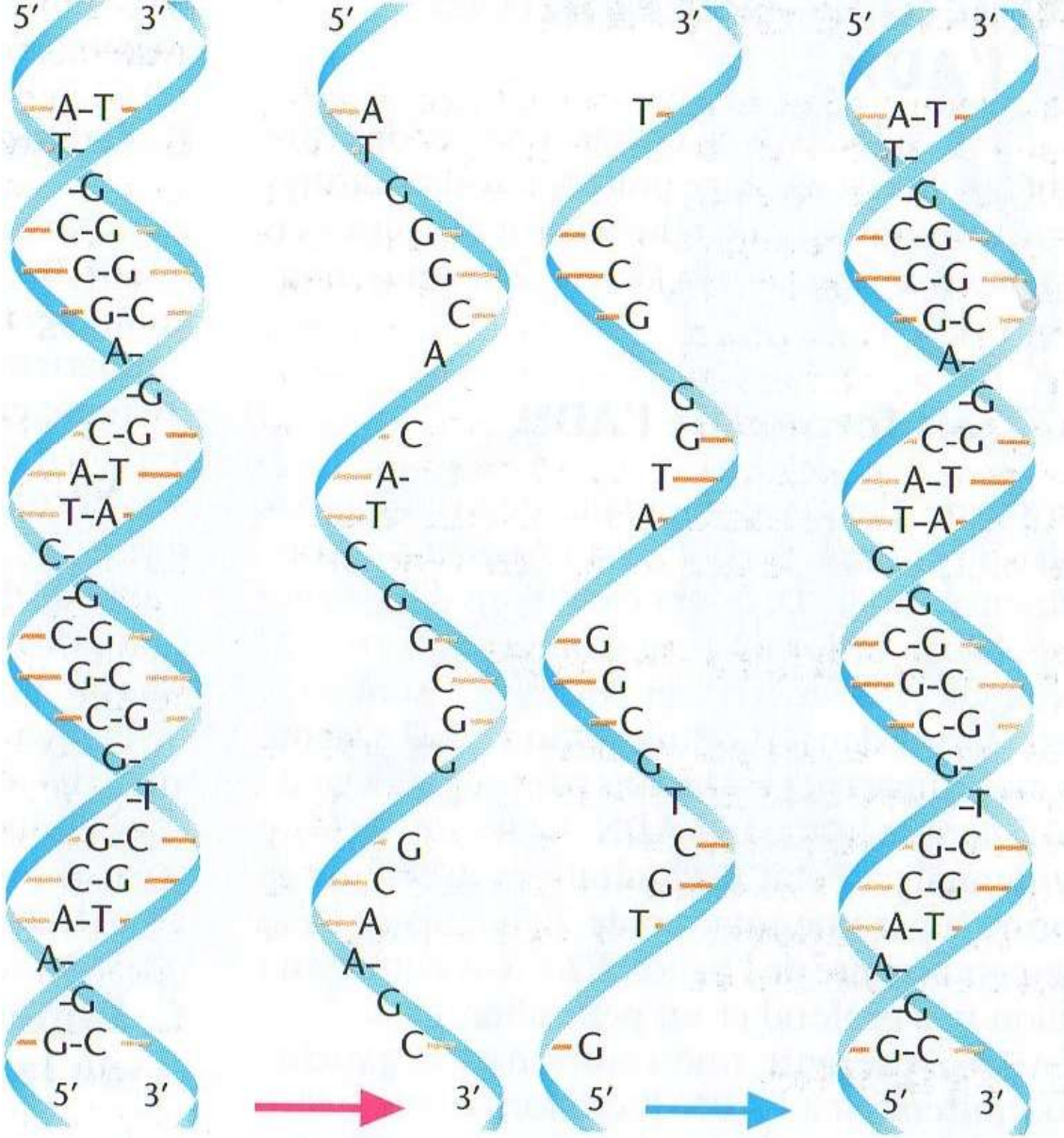


La dénaturation

- Perte de la forme native de l'ADN: séparation des deux brins par suite à l'incubation dans une solution saline ou un chauffage qui rompent les liaisons H.

- Elle est réversible, obtenue par un refroidissement progressif (Renaturation ou hybridation).

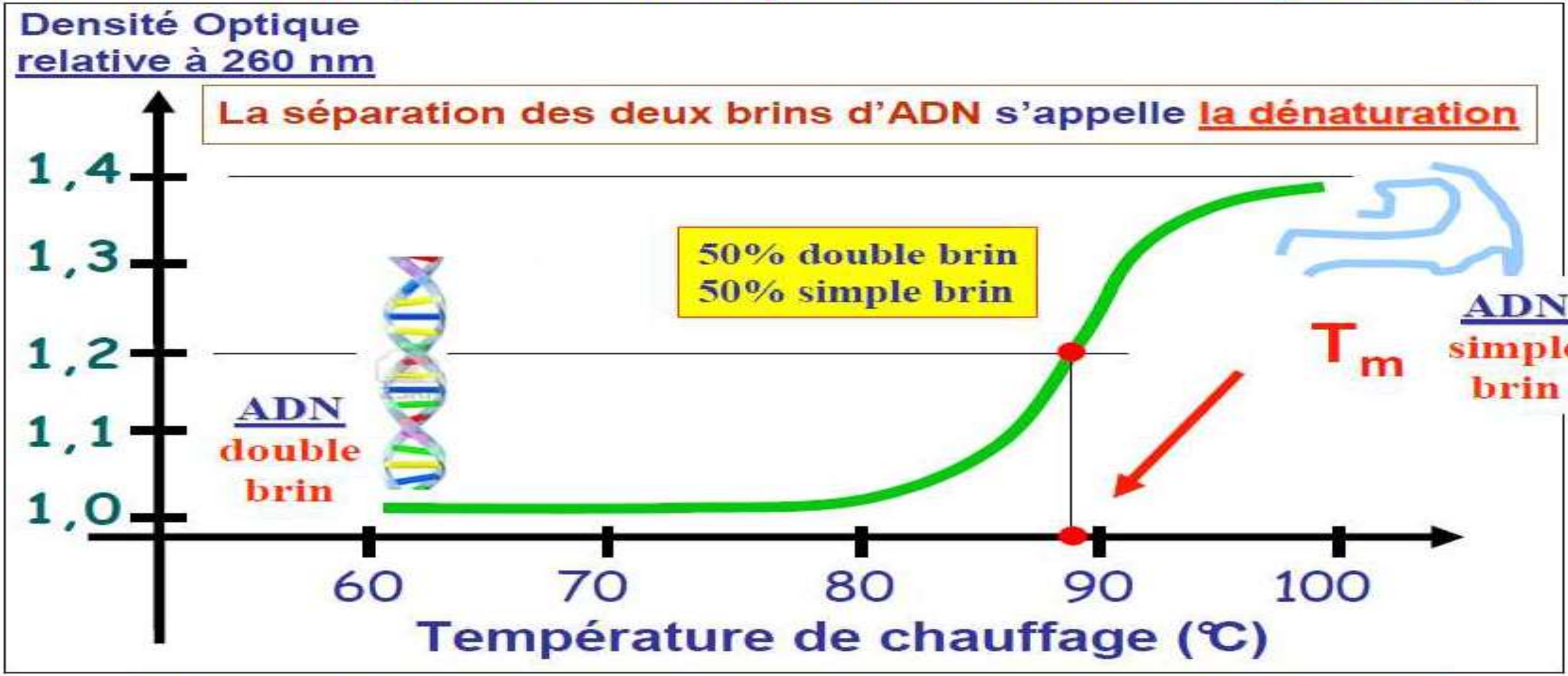
- Le refroidissement brusque dénature irréversiblement l'ADN.



Dénaturation et renaturation

Propriétés physiques de l'ADN

L'ADN a un spectre d'absorption UV maximal à 260 nm

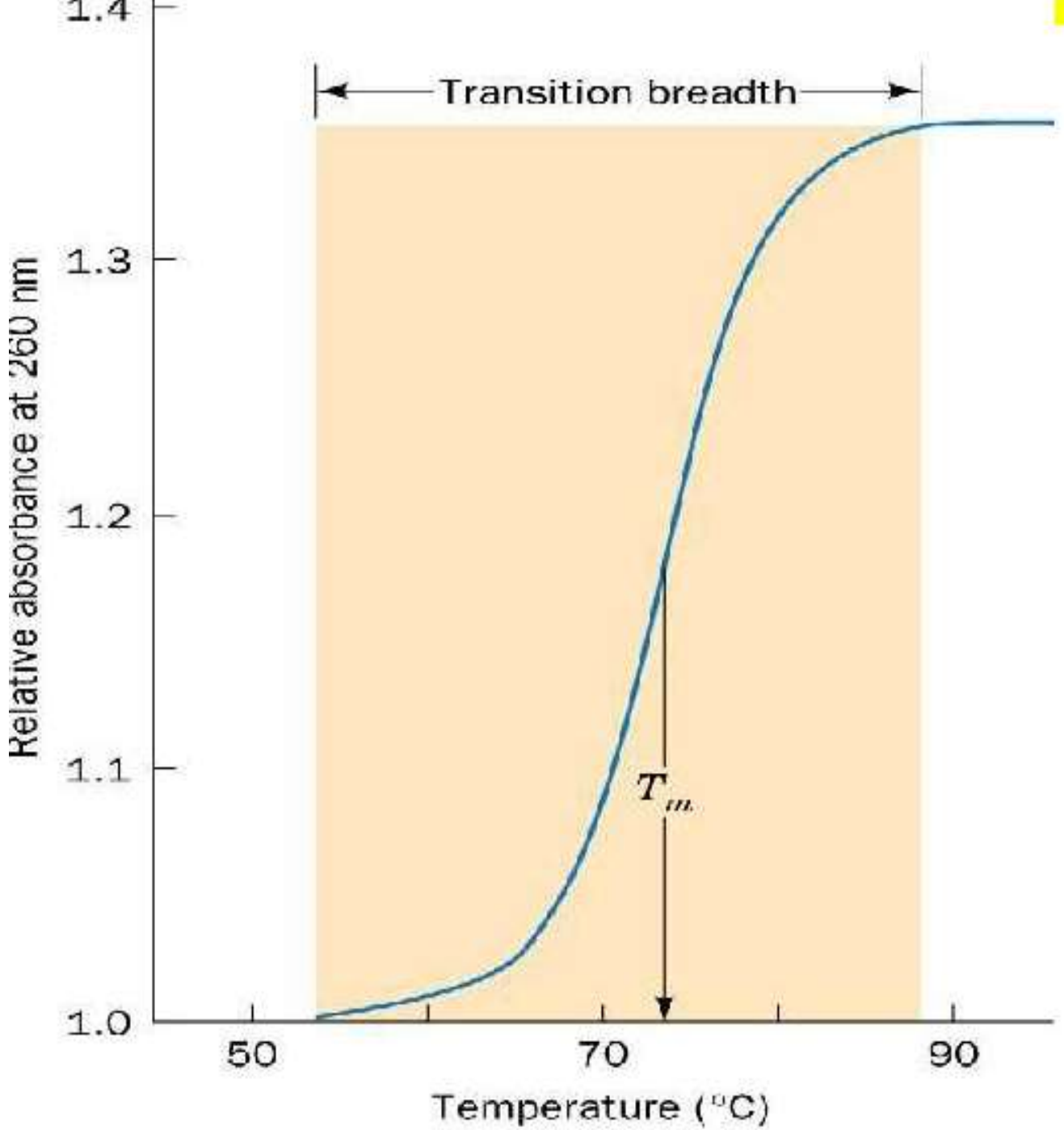


Tm: melting temperature (température de fusion)

Effet hyperchrome

Tm (température moyenne ou Tf = t° de fusion) :
température qui permet l'ouverture de la moitie de la molécule d'ADN.

Tm = 69,3 + 0,41 (G + C) %

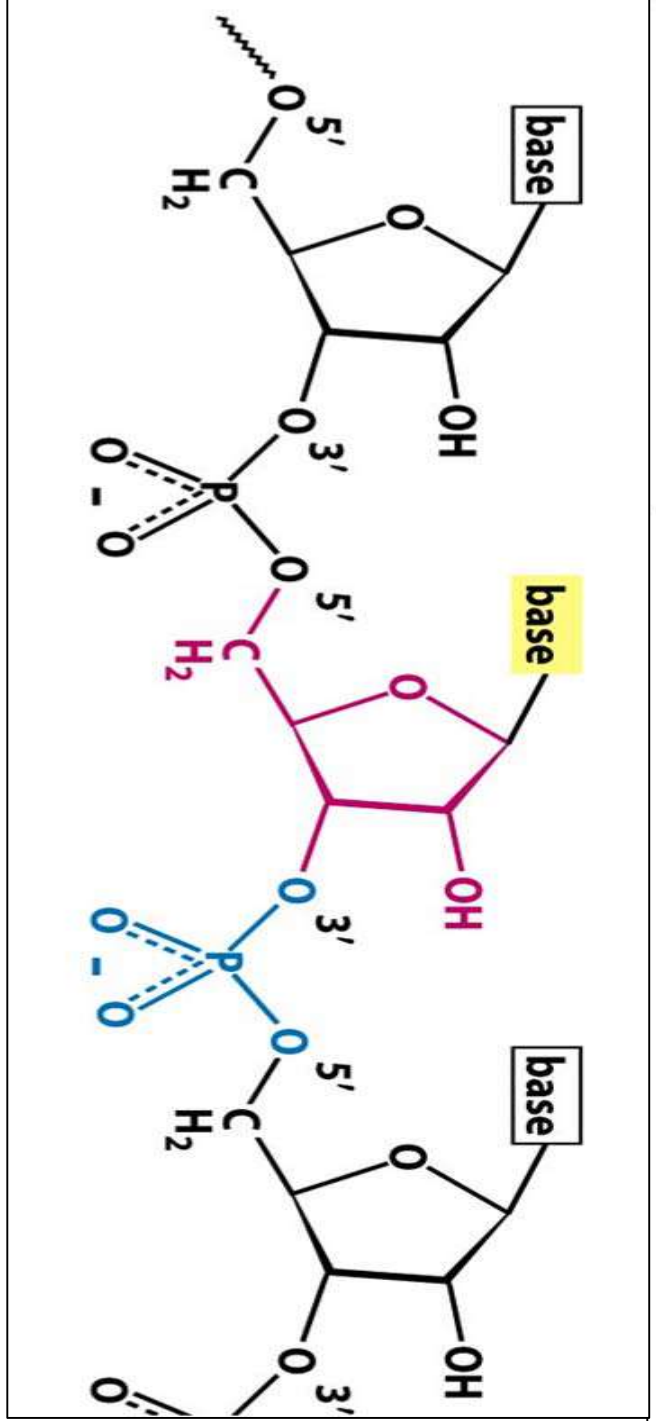


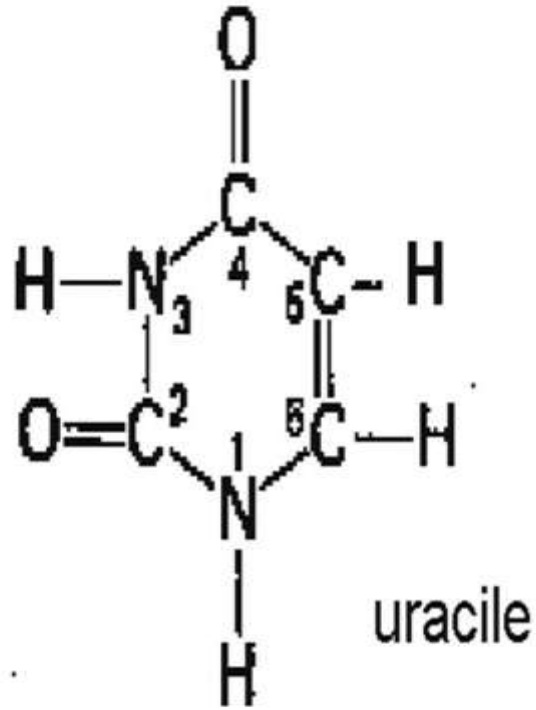
ARN

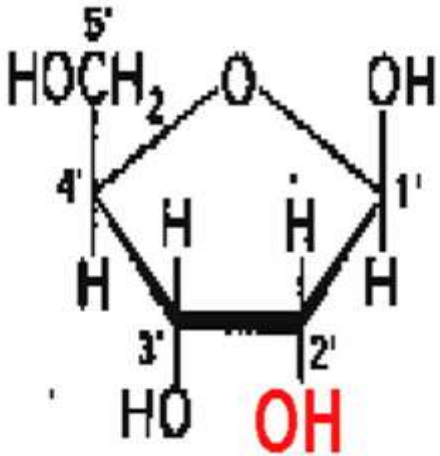
Acides ribonucléiques

L'acide ribonucléique ARN

- Structure: d'un polymère de ribonucléotides liés par des liaisons phosphodiesters.
- Bases = A, G, C, U.
- Sucre = ribose.







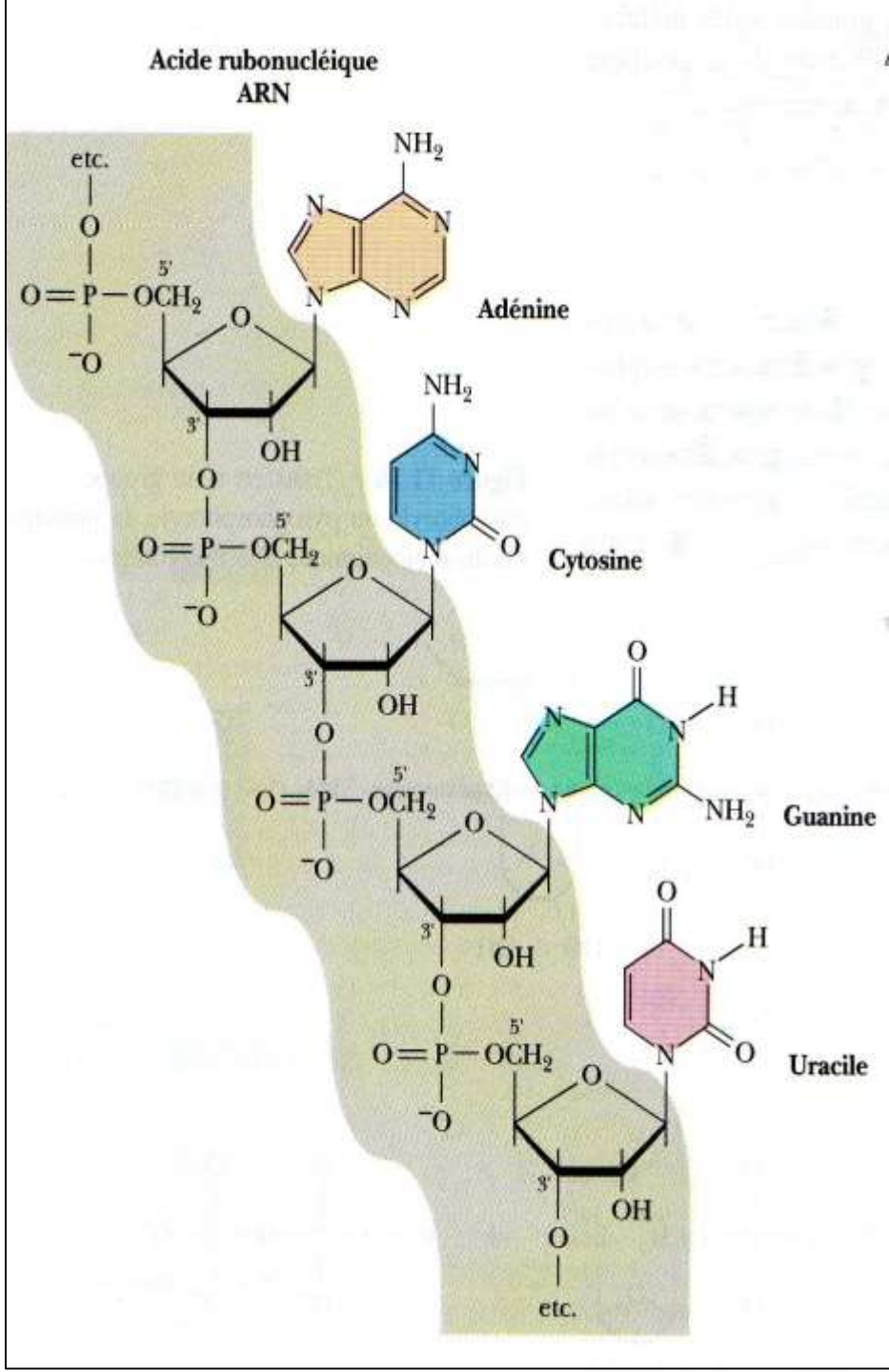
ARNm

- Masse moléculaire: 2,106 daltons.

- L'ARNm est synthétisé dans le noyau comme pré ARNm puis il sort dans le cytosol où il subit une maturation (épissage).

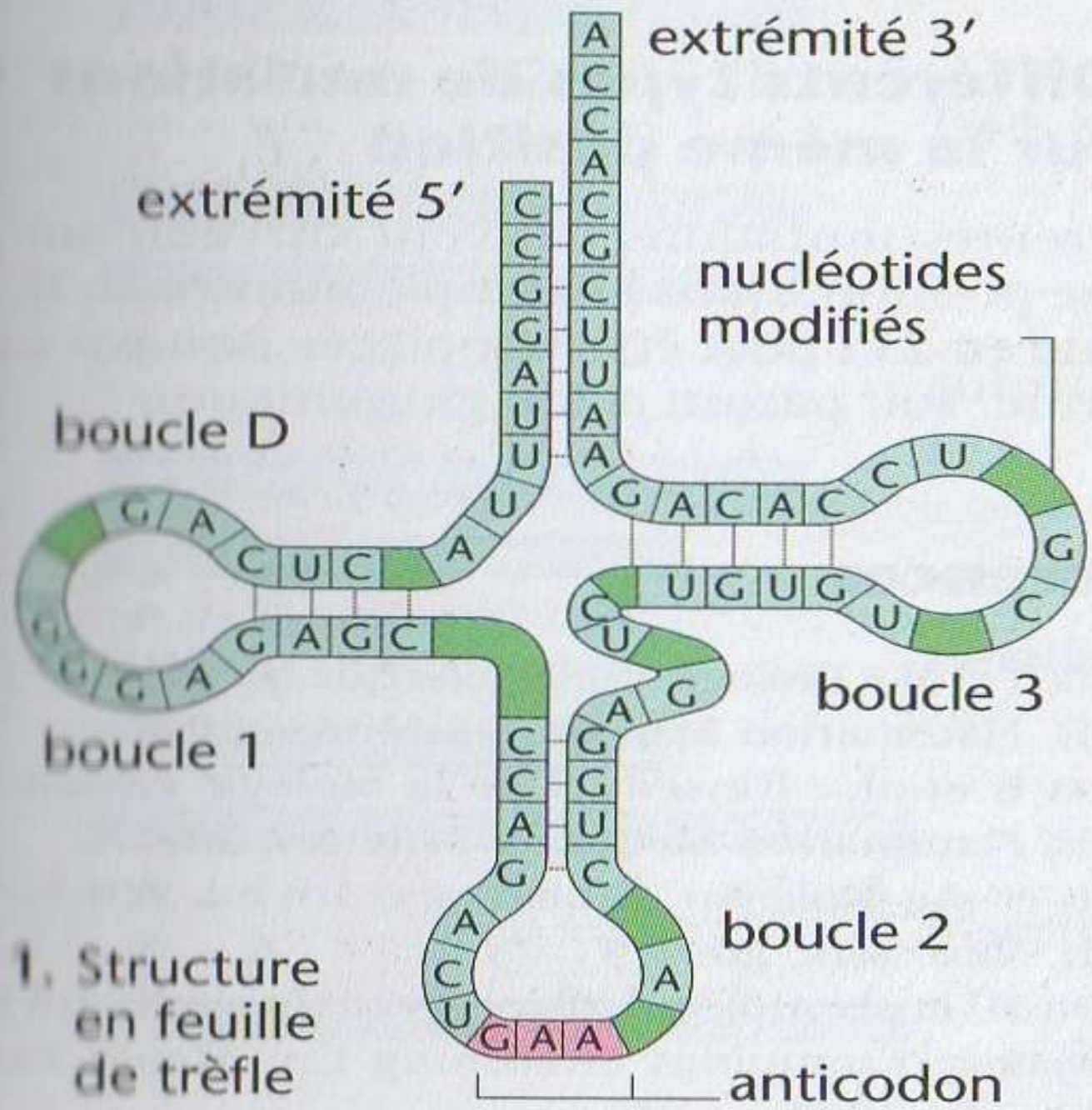
- L'extrémité 5' terminal portera alors une **coiffe** (cap):
7 méthyl guanosine triphosphate
- La coiffe est impliquée dans:
La reconnaissance de l'ARNm par l'ARNr.
Protection de l'ARNm contre l'attaque par des 5'exonucleases.
C'est aussi le signal du début de la traduction.

- L'extrémité 3' présente une « **queue poly A** » qui a une longue chaine de résidus d'Adénine (100-250 Adénine).
- La queue stabilise l'ARNm en empêchant l'attaque par des 3'exonucleases.



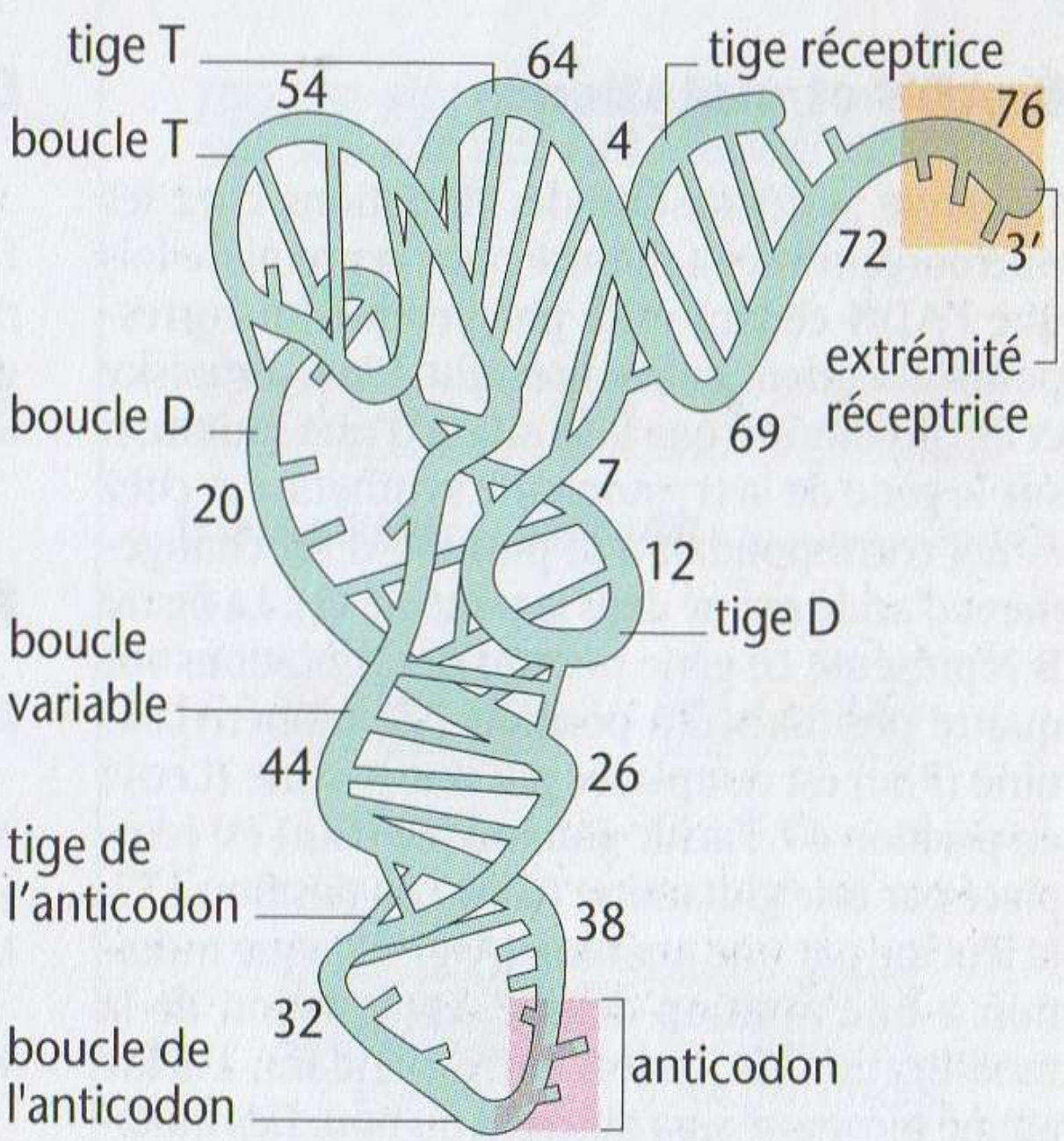
ARNt

- Masse moléculaire : 23,000 à 30,000 daltons.
- Sont des adaptateurs de la traduction (l'ARNm en acides aminé).
- Transfère l'AA sur le ribosome.
- Les ARNt sont les seuls ARN qui peuvent contenir la thymine.
- Les bras de l'ARNt se replient pour former une forme en trèfle ou en un majuscule L maintenue par des liaisons hydrogènes.



1. Structure en feuille de trèfle

Structure de l'ARN de transfert



Structure tridimensionnelle

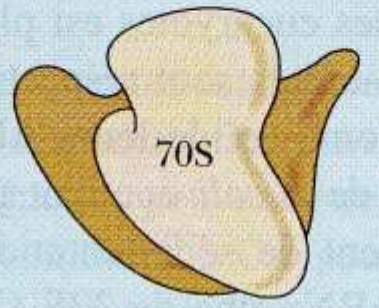
ARNr

- PM environ 4,106.
- Représentent la machinerie de la synthèse protéique (usines moléculaires).
- Auto-assemblage de nombreuses protéines synthétisées dans le cytoplasme et d'un nombre d'ARN synthétisés dans le noyau.
- Les ribosomes sont constitués de 2 sous unités : La petite s/u sert à la fixation de l'ARNm, la grande s/u sert à la fixation de l'ARNt.
- A l'état non fonctionnel (pas de synthèse protéique) les sous unités sont dissociées. Lors de la synthèse protéique elles s'assemblent en polysomes.
- Ce sont les protéines ribosomales qui en se liant aux ARNr permettent cet assemblage

RIBOSOMES DES PROCARYOTES
(*E. coli*)

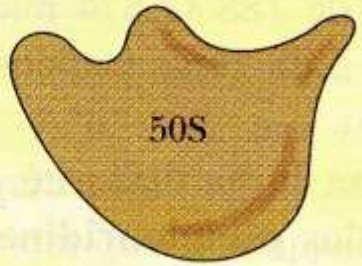
Ribosome

($2{,}52 \times 10^3$ kDa)



Sous-unités

($0{,}93 \times 10^3$ kDa)



($1{,}59 \times 10^3$ kDa)

ARN

ARN 16S
(1542 nucléotides)

ARN 23S
(2904 nucléotides)

ARN 5S
(120 nucléotides)

Protéines

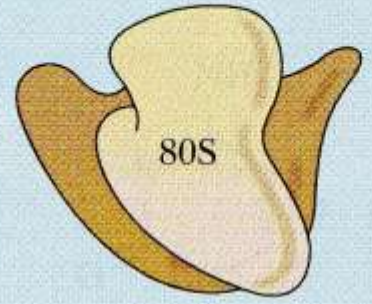
21 protéines

31 protéines

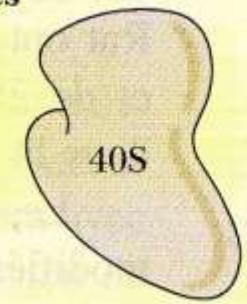
RIBOSOMES DES EUCARYOTES
(Rat)

Ribosome

($4{,}22 \times 10^3$ kDa)



Sous-unités



($1{,}4 \times 10^3$ kDa)

($2{,}82 \times 10^3$ kDa)

ARN

ARN 18S
(1874 nucléotides)

ARN 28S et 5,58S
(4718 + 160 nucléotides)

ARN 5S
(120 nucléotides)

Protéines

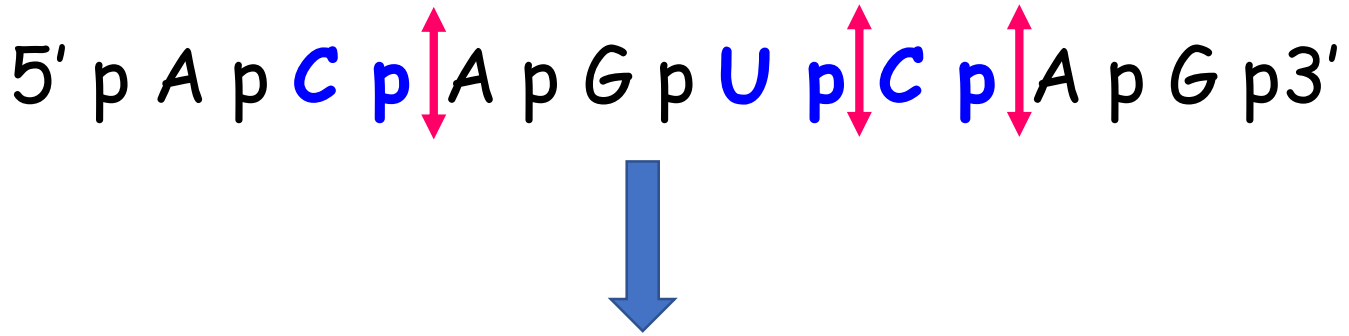
33 protéines

49 protéines

Hydrolyse enzymatique

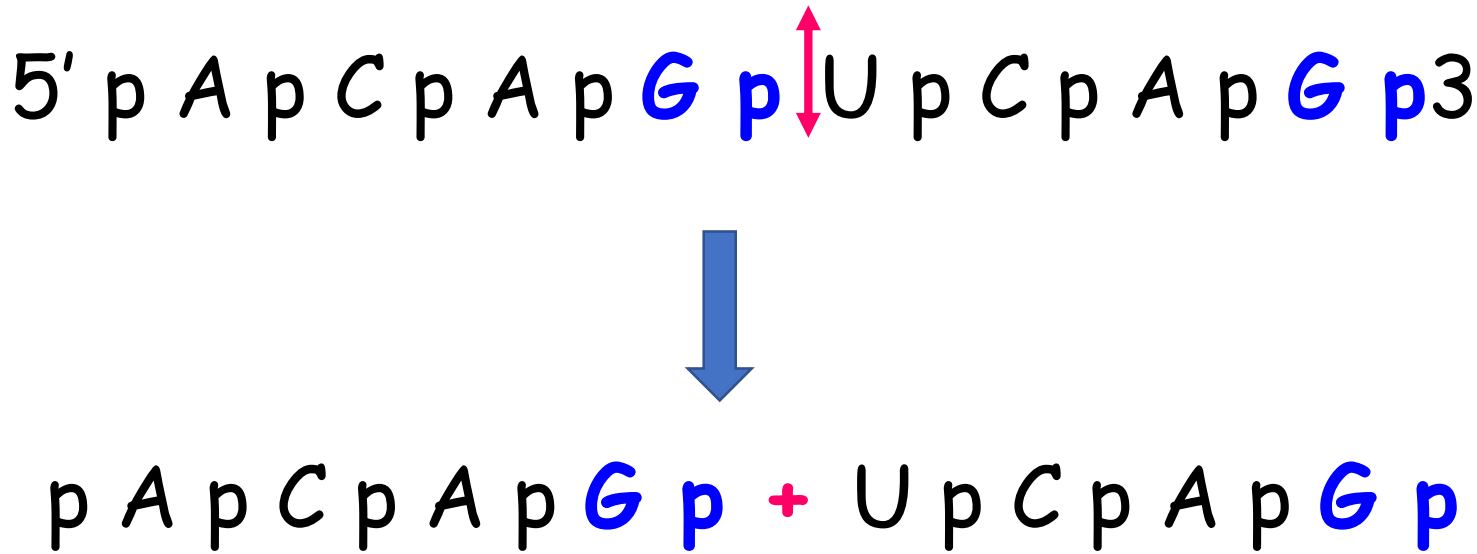
Ribonucléase pancréatique:

Coupe après **3'P** de **C** et **U** ⟶ oligo-nucléotides 3'P



Ribonucléase T1:

Coupe après **3'P de G** ⟶ oligo- nucléotides se terminant Gp3



Ribonucléase T2:

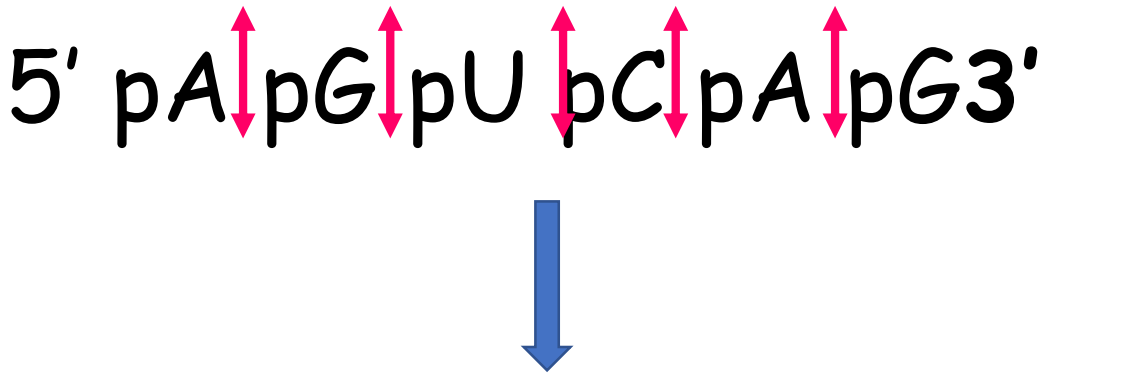
Coupe après **3'P de *A*** ⟶ oligonucléotides se terminant A3'p

p G p C p ***A*** **p** | G p Up Cp ***A*** **p** | G p

pG pC p ***Ap*** + G p Up Cp ***A*** **p** + Gp

Phosphodiestérase de venin de serpent:

- Exonucléase qui agit sur ADN et ARN
- Attaque a l'extrémité 3' non phosphorylé → **nucléosides 5'P**



Phosphodiestérase de rate de bœuf:

- Exonucléase qui agit sur ADN et ARN
- Attaque a l'extrémité 5' non phosphorylée, libérant **nucléosides 3'P**

5'A p G p Up C p Ap Gp3'

Ap + Gp + Up + Cp + Ap + Gp

Actions des désoxyribonucléases (DNAses):

La DNAse pancréatique 1 :
Libère des Oligodésoxyribonucléotides 5'-monophosphate.

La DNAase 2 : fournit des oligodésoxyribonucleotides 3'-monophosphate.

5'mono-phospho-estérase: enlève le phosphate à l'extrémité 5'

3' mono-phospho-estérase: enlève le phosphate à l'extrémité 3'

Hydrolyse chimique:

Hydrolyse acide douce (pH ≈3):

Coupe les liaisons β-N glycosidiques entre ose et base.

Hydrolyse acide à chaud:

Coupe les liaisons esters et glycosidiques libérant base + pentose + acide phosphorique.