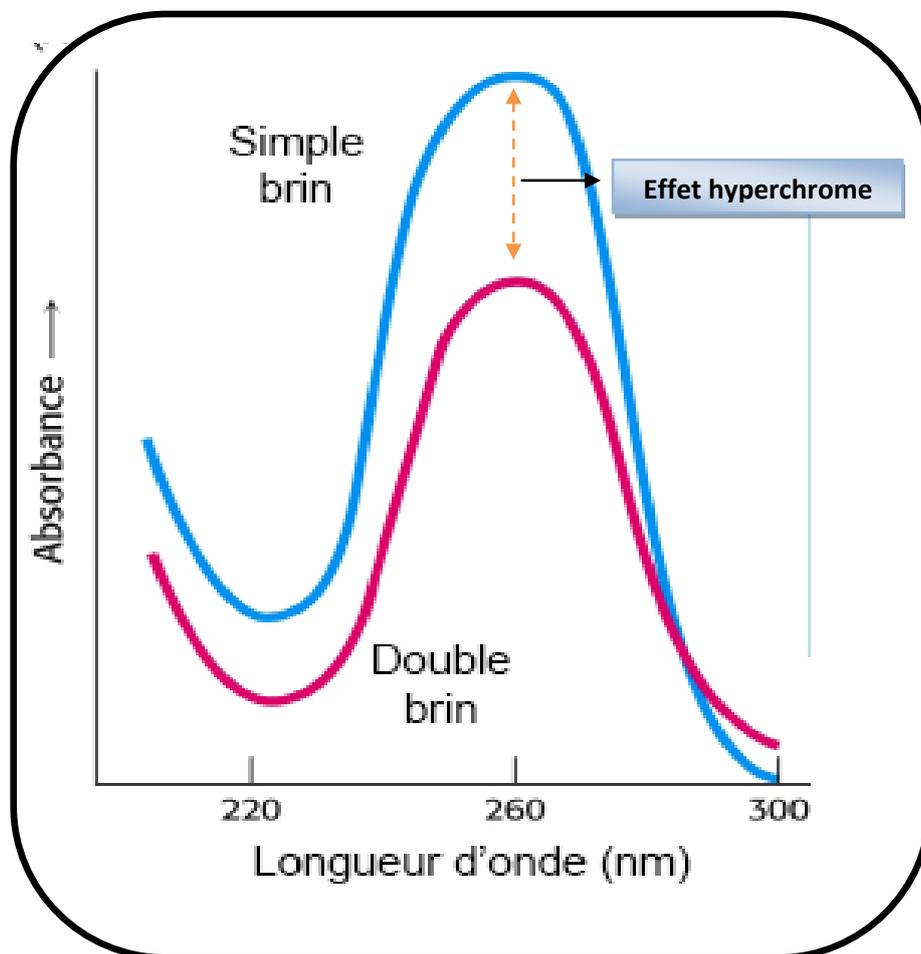


## Absorption de la lumière UV

Du fait de la présence des bases puriques et pyrimidiques et grâce à leurs nature aromatique conjuguée, les acides nucléiques absorbent les rayons UV (ultra violet) ; ils présentent un maximum d'absorption à la longueur d'onde de 260 nm (absorption maximale d'un rayon par les bases azotées).

À 260 nm l'ADN monocaténaire absorbe plus que l'ADN bicaténaire c'est l'**effet hyperchrome** (Figure 4).

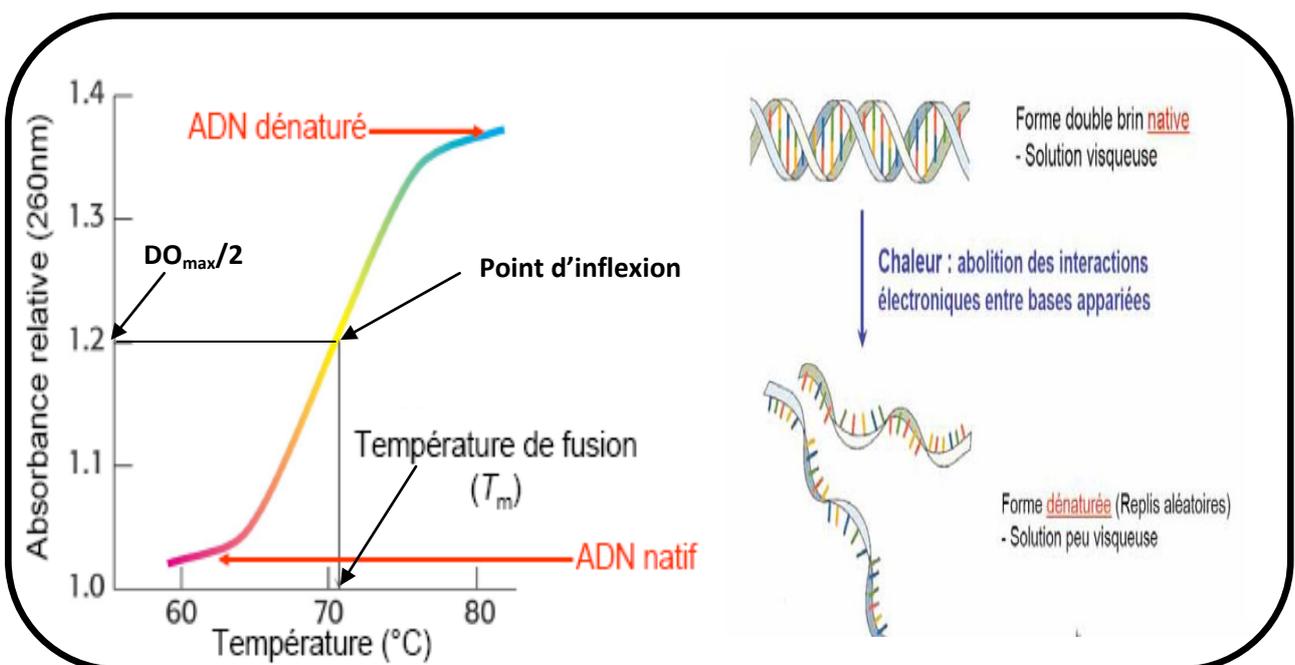


**Figure.4 : Effet hyperchrome.**

## Dénaturation thermique (température de fusion)

La dénaturation d'une molécule est la perte de sa structure tridimensionnelle sans altération de la structure primaire. Il s'agit pour une molécule d'ADN double brin de la rupture des liaisons hydrogènes entre les bases : on obtient l'ADN monocaténaire.

La température de fusion ou de **T<sub>m</sub> (melting temperature / m pour melting temperature en anglais=fusion)** qui représente le point d'inflexion ou le point de transition qui correspond à la température moyenne pour la quelle la moitié des brins d'ADN sont dissociés (moitié de cet ADN est dénaturé). On peut également la nommée température de demi dénaturation (Figure 5).



**Figure.5: Courbe de dénaturation thermique (Température de fusion).**

Pour calculer la  $T_m$  d'un oligonucléotide inférieur à 30 nucléotides on utilise la relation :

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

Pour calculer la  $T_m$  d'un oligonucléotide supérieur à 30 nucléotides on utilise la relation :

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

Pour des ADN suffisamment longs >200 nucléotides utilise la relation :

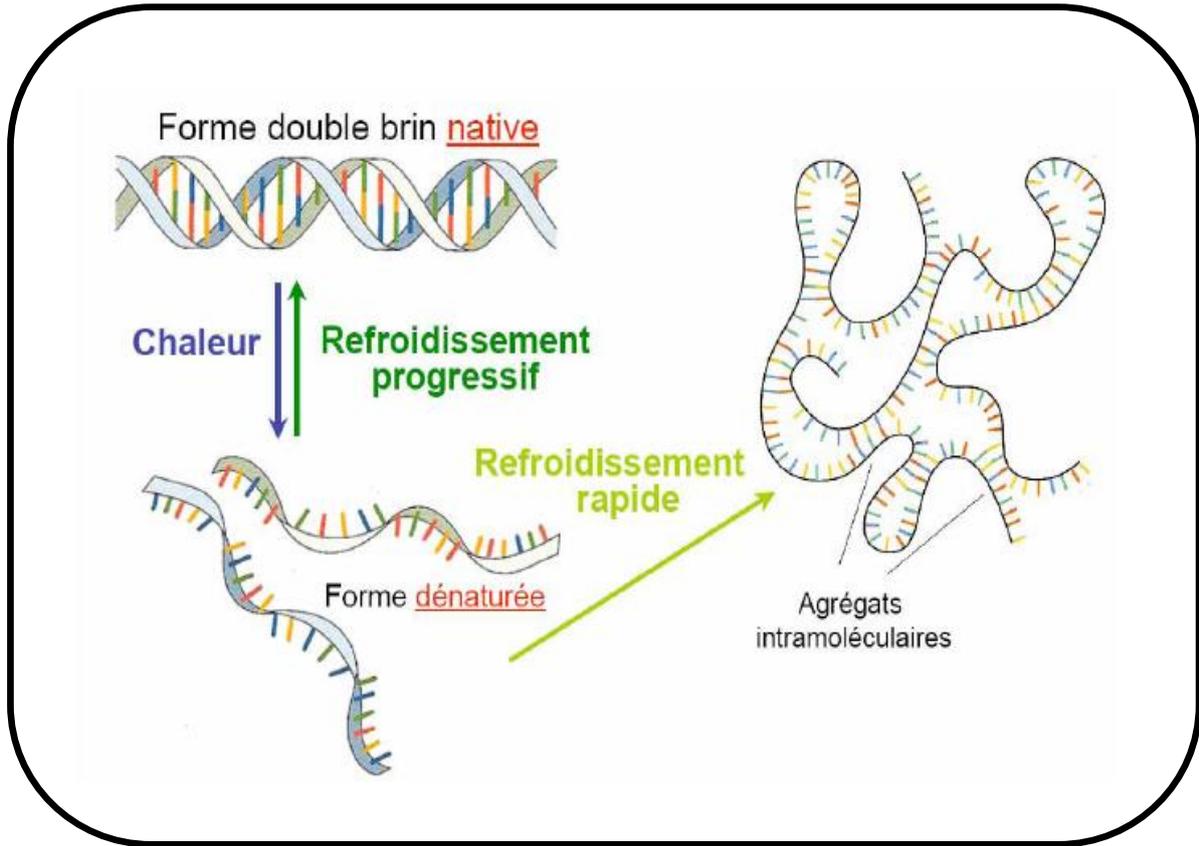
$$T_m \text{ en } ^\circ\text{C} = 69,3 + 0,41 (\%G+C)$$

Il existe plusieurs facteurs qui influencent la valeur de la  $T_m$

- **Longueur du fragment**
- **Composition en bases azotées**
- **Présence de mésappariement**
- **Force ionique**
- **pH**
- **Agents dénaturants**

### **Renaturation (phénomène d'hystérésis)**

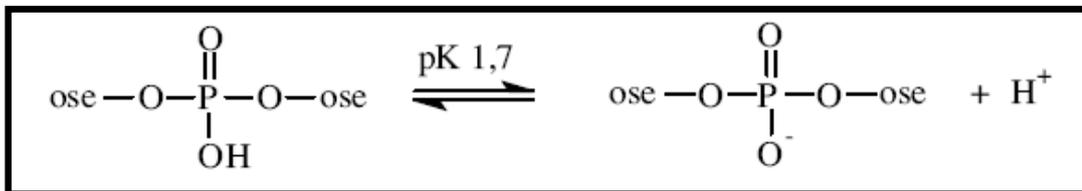
La dénaturation de l'ADN par la chaleur est un phénomène réversible et la renaturation de la même molécule est influencé par la vitesse de refroidissement (Figure 6).



**Figure.6 : Dénaturation et renaturation thermique de l'ADN.**

### Ionisation des acides nucléiques

Au pH physiologique (6,5 à 7), chacun des groupes phosphodiester (participant aux ponts phosphodiester) possède une seule fonction acide qui a un pK entre 1,5 à 2, c'est-à-dire il possède un seul groupement qui peut être ionisé selon la réaction :



L'acide nucléique portera donc, un nombre de charges négatives (contribution des phosphates) égale au nombre de nucléotides. Les bases purique et pyrimidique liées

aux oses (ribose et désoxyribose), ne portent aucune charge au pH physiologique (6,5 à 7).

### Hydrolyse des acides nucléiques

La dégradation d'un polynucléotide peut être due à des agents chimiques ou enzymatiques ; elle concerne l'enchaînement phosphodiester ainsi que les unités nucléotidiques (composants et liaison) (Tableau 1).

**Tableau.1 : Hydrolyse chimique des acides nucléiques.**

Type d'hydrolyse chimique	Produits d'hydrolyse	
	ARN	ADN
Alcaline	Nucléosides monophosphate.	-----
Acide : *pH 1+chaleur	Pentoses+phosphates+bases.	
*pH 4		
	Base purique+acides nucléiques apuriques (dégradation des liaisons N-osidique avec les bases puriques uniquement).	

L'hydrolyse de la liaison phosphodiester des acides nucléiques est catalysée par des phosphodiesterases spécifiques appelées nucléases. si l'attaque est faite à l'extrémité on parle d'exonucléases ; si l'attaque est faite à l'intérieur de la chaîne on parle d'endonucléases. Les différentes espèces bactériennes produisent des endodésoxyribonucléases de très haute spécificité désignées sous le nom **d'enzyme de restriction**. Les séquences reconnues par ces enzymes comportant 4 à 10 nucléotides et sont le plus souvent **palindromiques**.

