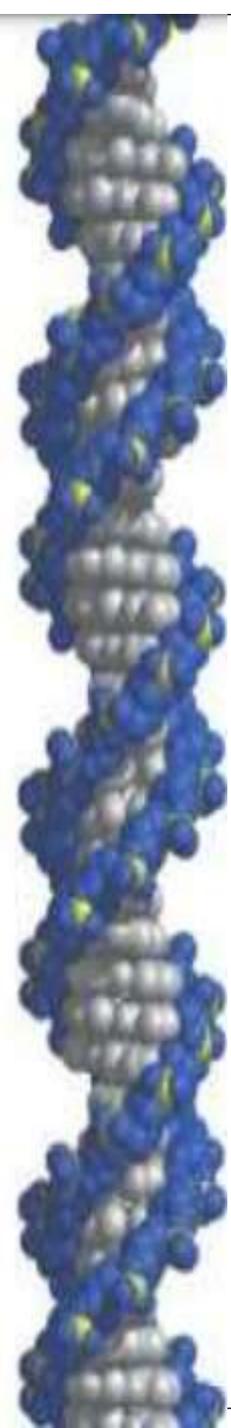


Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche
Université " " Oran
Annexe de Tiaret
Département de médecine

Acides nucléiques

Dr YAZA.M Ep MEZIOU
Spécialiste en biochimie clinique

2023/2024

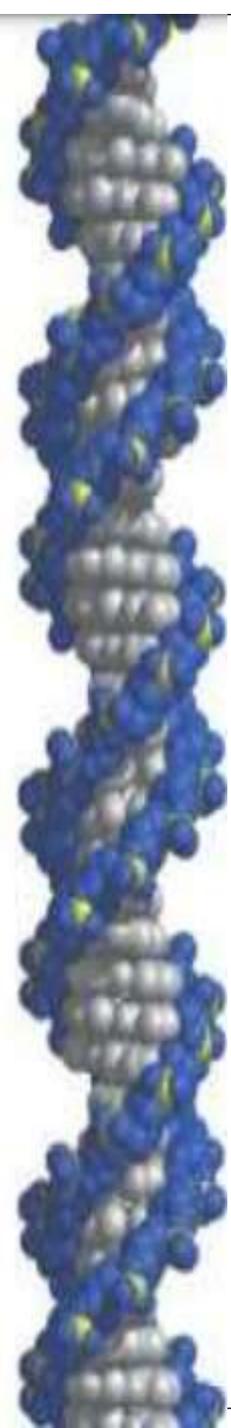


Plan

Introduction: bref historique

- I. Chapitre I: Composition des Acides Nucléiques
- II. Chapitre II. Structure des acides nucléique
- III. Chapitre III. Propriétés physico-chimique
- IV. Chapitre IV. Métabolisme des acides nucléiques

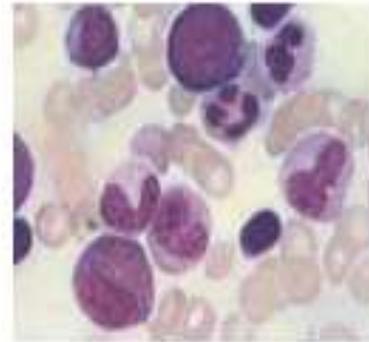
Conclusion



Bref historique

- 1871 : Miescher Mises une substance riche en phosphore qu'il a appelé "nucléine«
- 1882-1940 : Kossel et Levene : détermination de la nature de cette substance et sa composition
- Preuves que l'ADN constitue de matériel génétique
- 1950 : Chargaff : Quantités A+T et C+G rapports A/T et C/G sont constants, égaux et proches de 1.
- 1952 : dimensions modèle hélicoïdale de la molécule d'ADN proposés par Franklin et Wilkins
- 1953 : Watson et Crick construisent le modèle la double hélice d'ADN et proposent un modèle de la réplication de la molécule d'ADN
- 1975 : nouvel âge d'or de la génétique: le génie génétique.
- 2001-2004: Séquençage complet du génome humain par 20 laboratoires à travers le monde (USA, Angleterre, France, Allemagne, Japon)

Miescher 1871

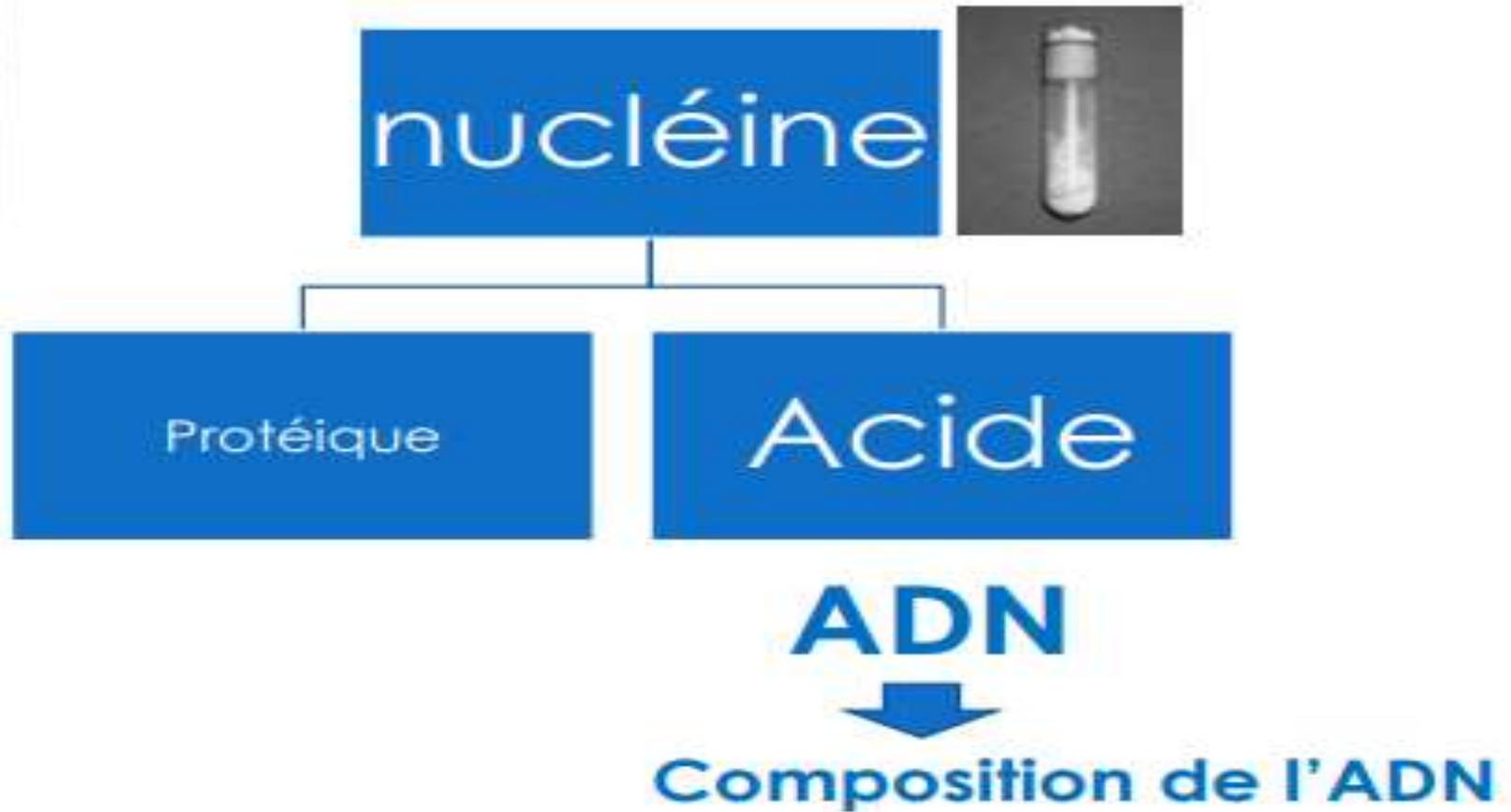


Mise en évidence d'une substance riche en phosphore appelée "**nucléine**", dans les noyaux de leucocytes de pus.

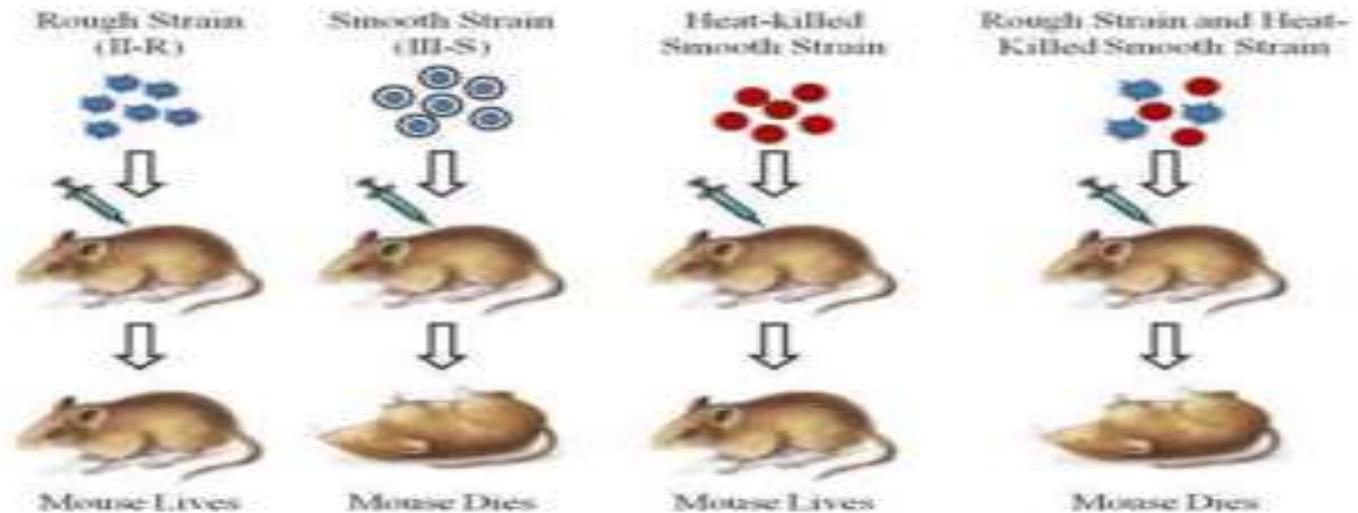


nucléine

Kossel et Levene 1882-1940



Griffith 1928

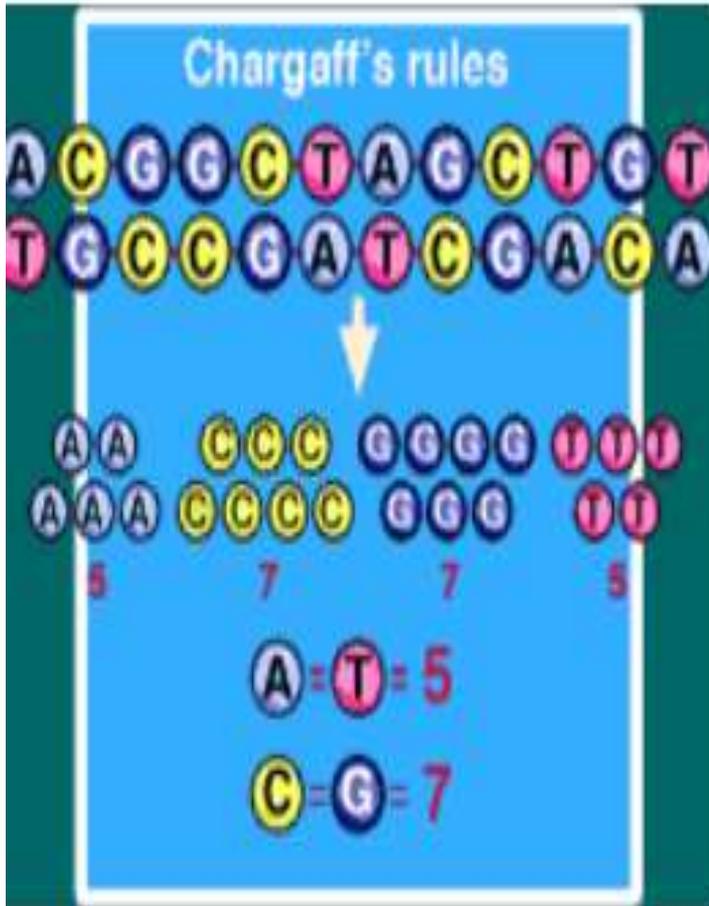


Existence d'une information génétique

se reproduit

détermine les
caractères d'une
cellule

Chargaff 1950



=



=



Purines

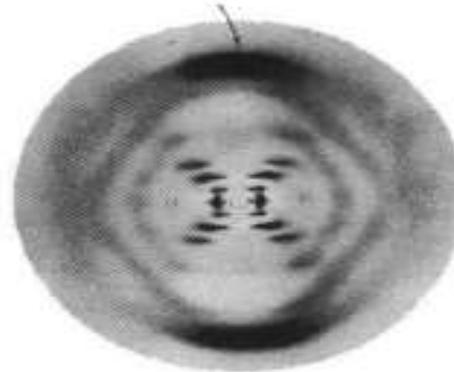
=

Pyrimidines

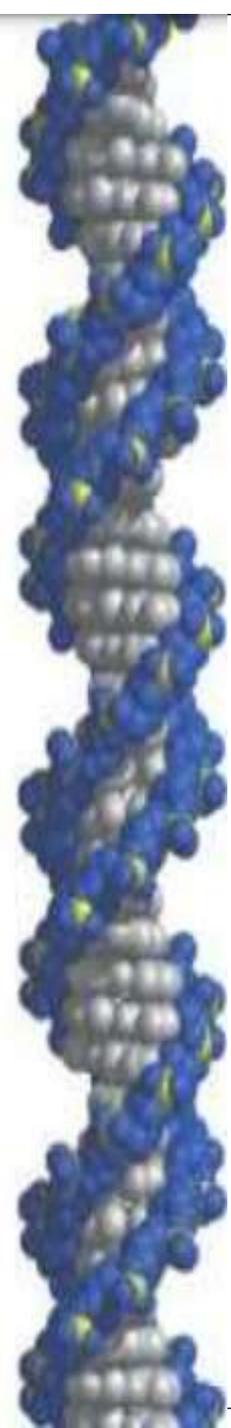
Rosalind Franklin



Clichés de Diffraction au
Rayons X d'ADN cristallisé



Structure hélicoïdale de l'ADN avec les bases azotées à l'intérieur et le squelette sucre-phosphate à l'extérieur.



Wilkins , Watson et Crick 1953

Analyse des clichés de R. Franklin



Découverte de la structure physique de l'ADN : la double hélice d'ADN



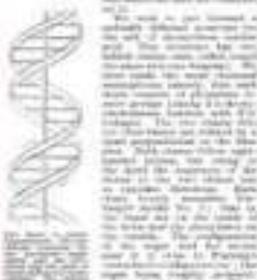
MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

A Structure for Desoxyribonucleic Acid

Watson and Crick have proposed a model for the structure of desoxyribonucleic acid, which is the basic structural unit of chromosomes.

The model is based on the X-ray diffraction data of Wilkins and Crick. They found that the structure is a double helix, with the phosphate groups forming the backbone and the nitrogenous bases forming the rungs of the ladder. The model is consistent with the data of Wilkins and Crick, and it provides a simple and elegant explanation for the observed facts.

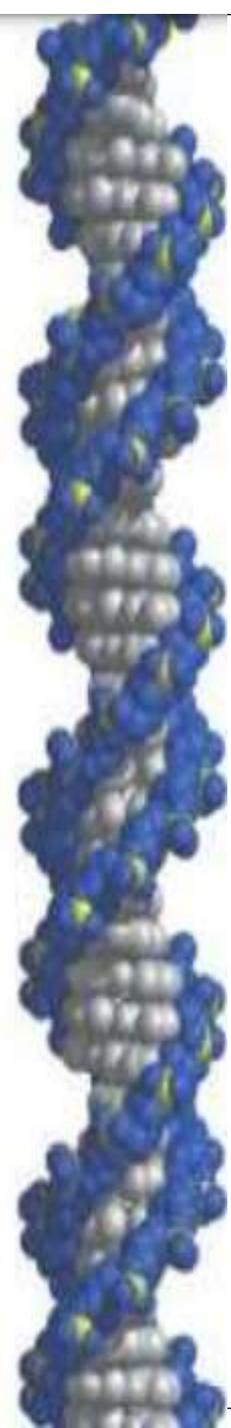
The model is based on the X-ray diffraction data of Wilkins and Crick. They found that the structure is a double helix, with the phosphate groups forming the backbone and the nitrogenous bases forming the rungs of the ladder. The model is consistent with the data of Wilkins and Crick, and it provides a simple and elegant explanation for the observed facts.



Publication de la structure de la double hélice dans la revue « Nature », 1953



Prix Nobel pour Watson et Crick, 1962



Acides nucléiques

Acides
désoxyribonucléiques
(ADN ou DNA)

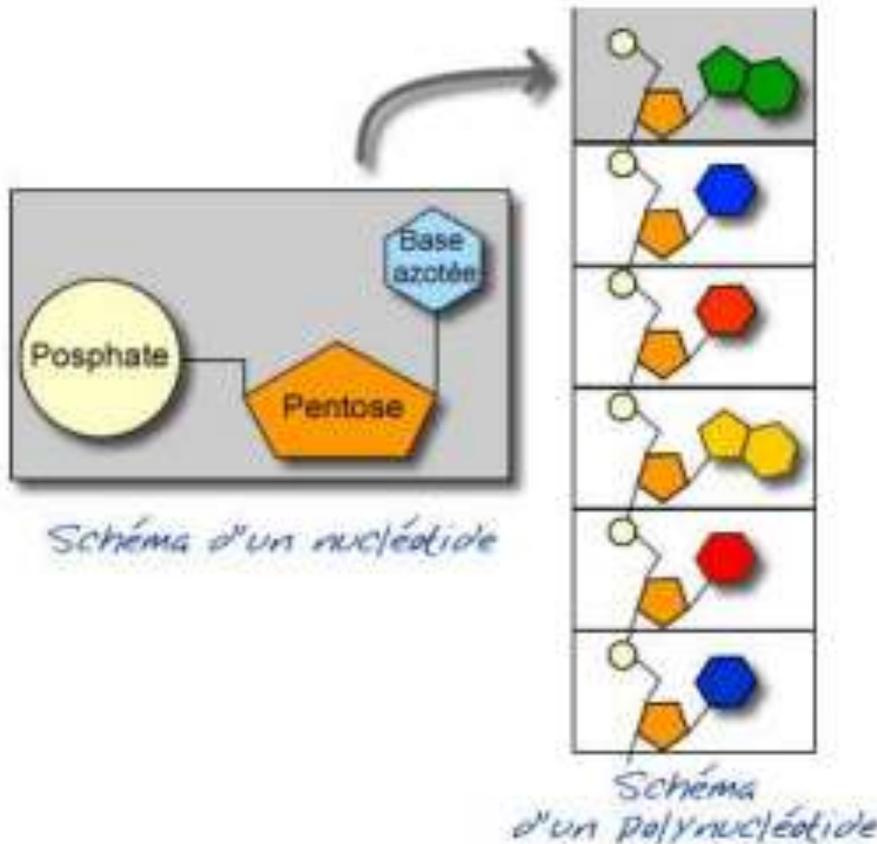
Acides ribonucléiques
(ARN ou RNA)

Information génétique
(développement, fonctionnement)

Reproduction (réplication)

Détermination et transmission des
caractères

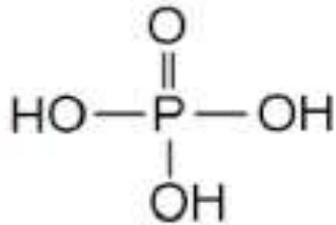
I. Composition des Acides Nucléiques



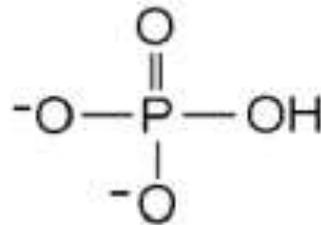
1. Phosphates
2. Sucres
3. Bases Azotées
4. Nucléoside
5. Nucléotide
6. Nomenclature

I. Composition des Acides Nucléiques

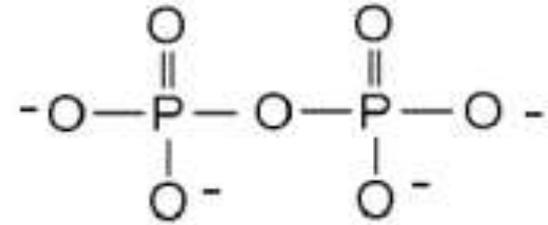
1. Phosphates



Acide phosphorique

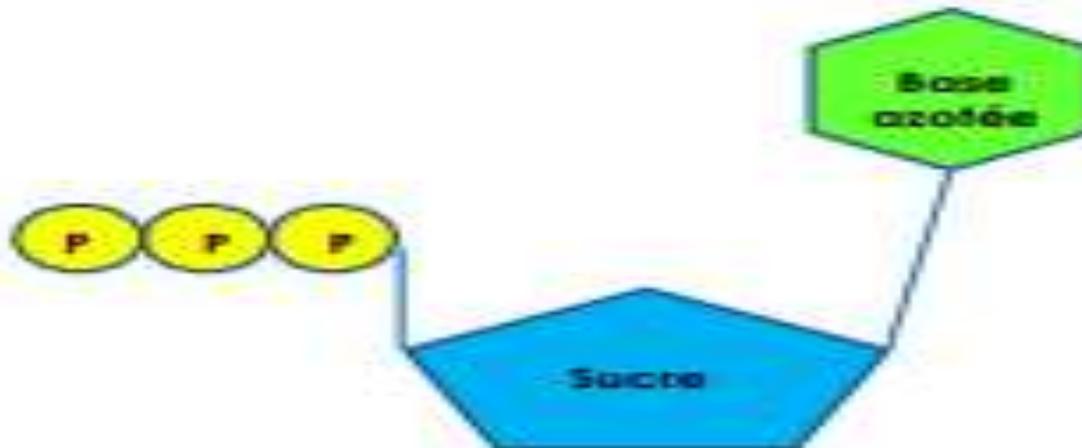


Phosphate



pyrophosphate

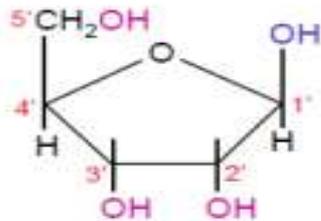
Forme majoritaire à pH physiologique 7,4



I. Composition des Acides Nucléiques

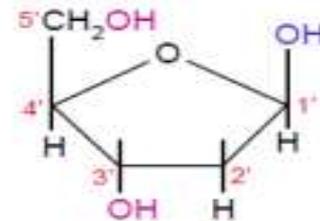
2. Sucres

Le sucre est un pentose (5C)



β -D-Ribose

Dans l'ARN



β -D-2' désoxyribose

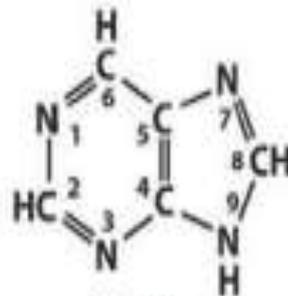
Dans l'ADN

I. Composition des Acides Nucléiques

3. Bases azotés

Bases puriques

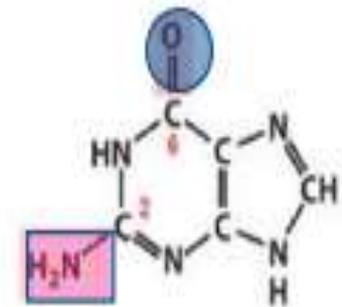
Dérivent de la purine
(deux cycles)



Purine



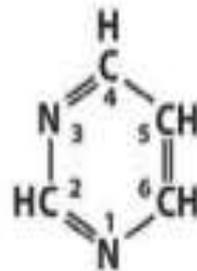
Adénine



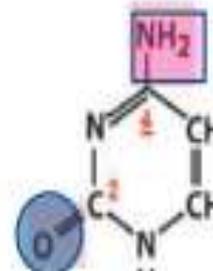
Guanine

Bases Pyrimidiques

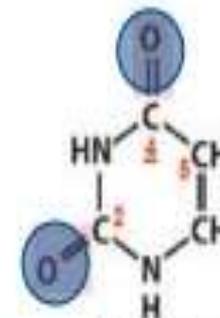
Dérivent de la pyrimidine
(un cycle)



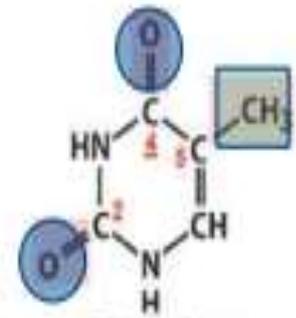
Pyrimidine



Cytosine



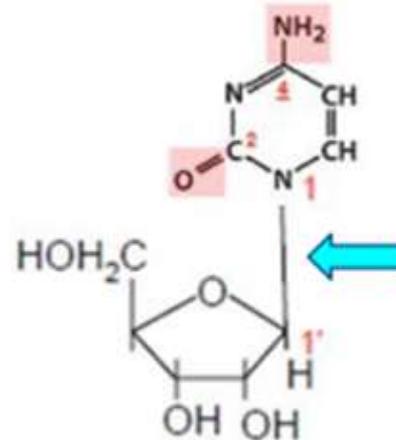
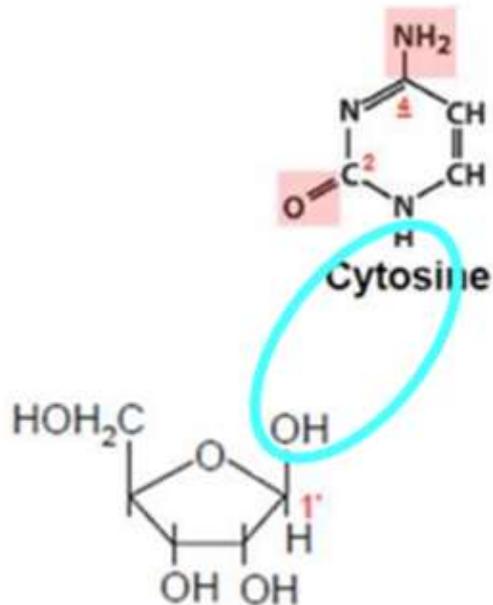
Uracile



Thymine
(5-méthyl-uracile)

I. Composition des Acides Nucléiques

4. Nucléoside

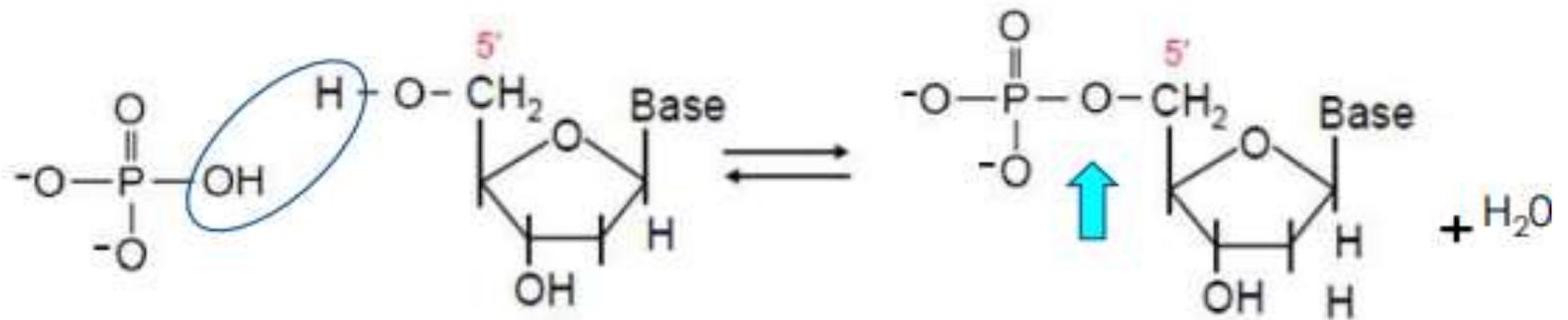


Liaison N-β osidique
entre carbone $1'$ du
pentose et l'azote **N9**
des purines ou **N1**
des pyrimidines

base azotée + sucre = Nucléoside

I. Composition des Acides Nucléiques

4. Nucléotide



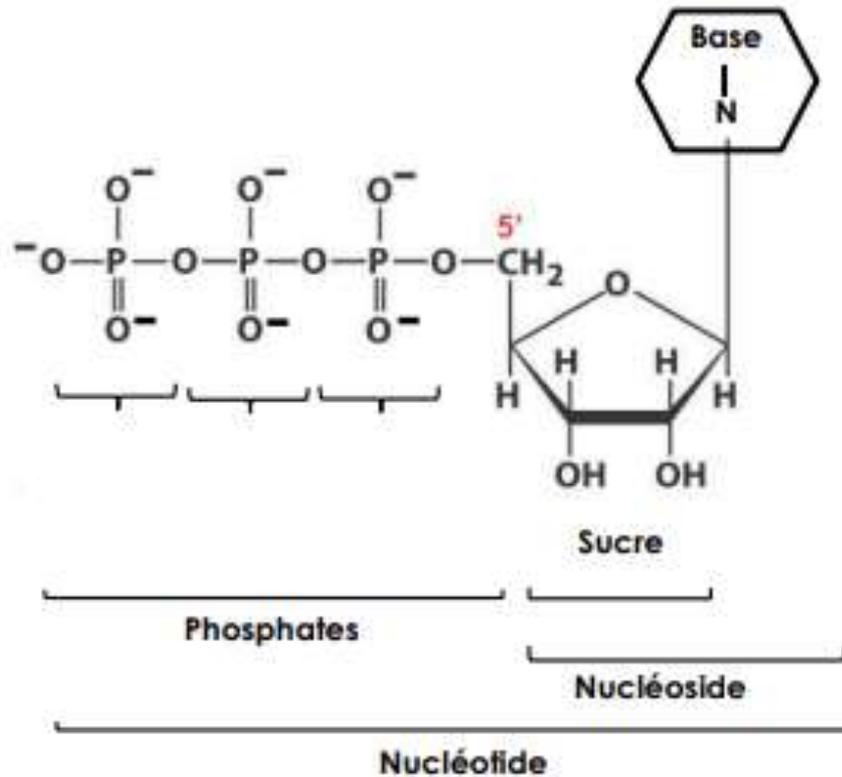
base azotée – sucre – Phosphate = Nucléotide monophosphate

↑
Liaison ester

Cette liaison s'effectue par estérification (condensation alcool-acide) du carbone 5' du pentose par un groupement phosphate.

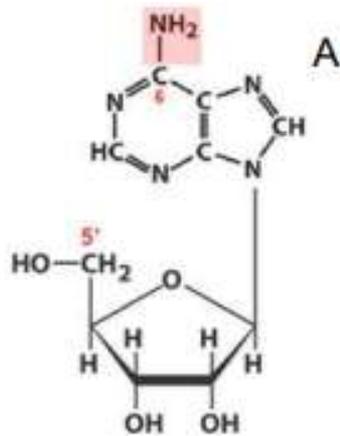
I. Composition des Acides Nucléiques

4. Nucléotide



I. Composition des Acides Nucléiques

5. Nomenclature

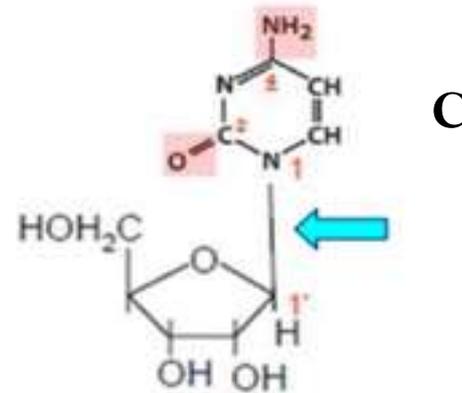


Adénosine

"osine" pour les nucléosides puriques

Adénosine

Guanosine



"idine" pour les nucléosides pyrimidiques

Cytidine

Uridine

I. Composition des Acides Nucléiques

5. Nomenclature

Nomenclature: on ajoute **osine** au nom des purines et **idine** à celui des pyrimidines

bases

adénine
guanine

ribonucléosides

adénosine
guanosine

désoxyribonucléosides

désoxyadénosine
désoxyguanosine

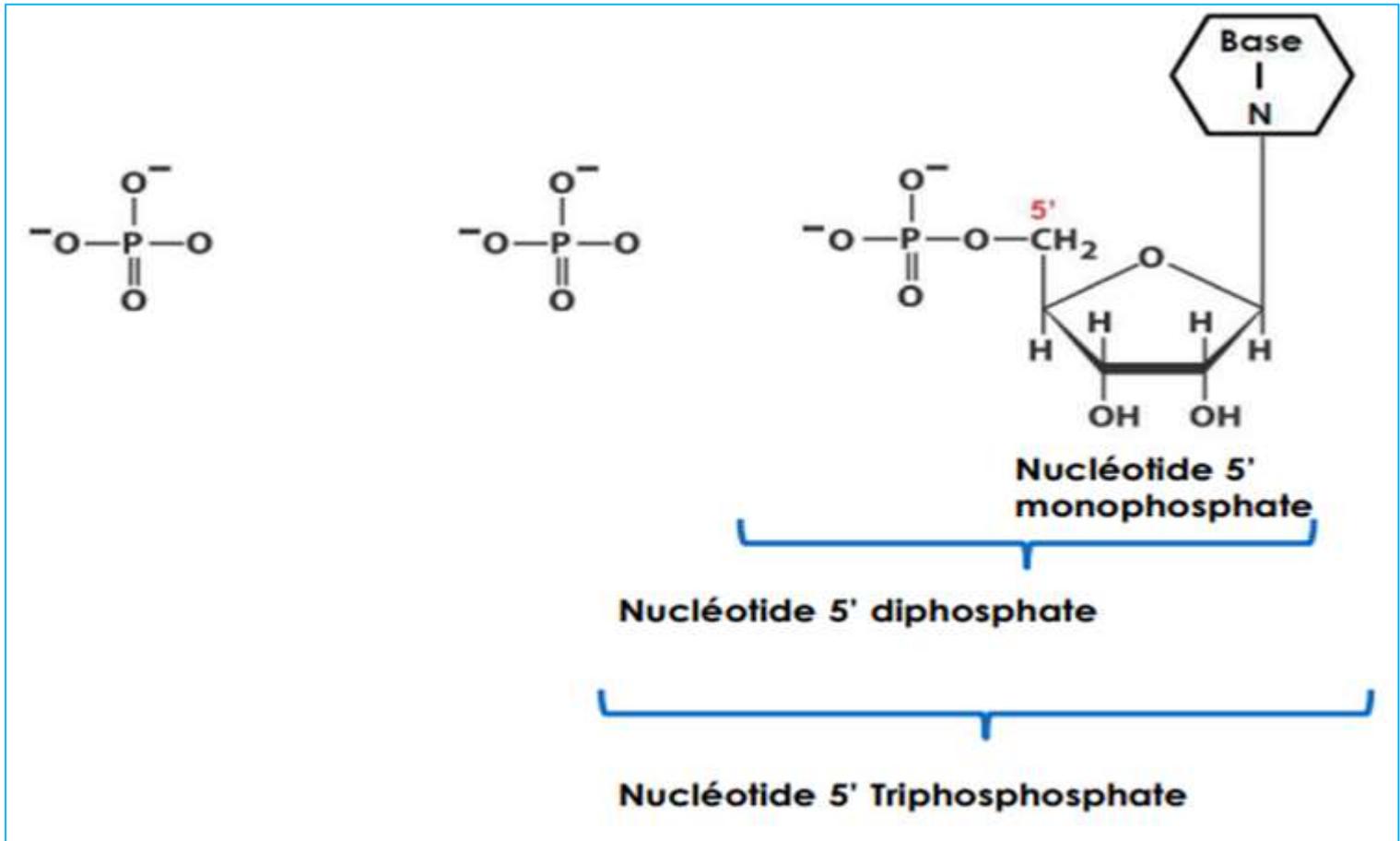
cytosine
thymine
uracile

cytidine
thymidine
uridine

désoxycytidine
désoxythymidine
désoxyuridine

I. Composition des Acides Nucléiques

5. Nomenclature



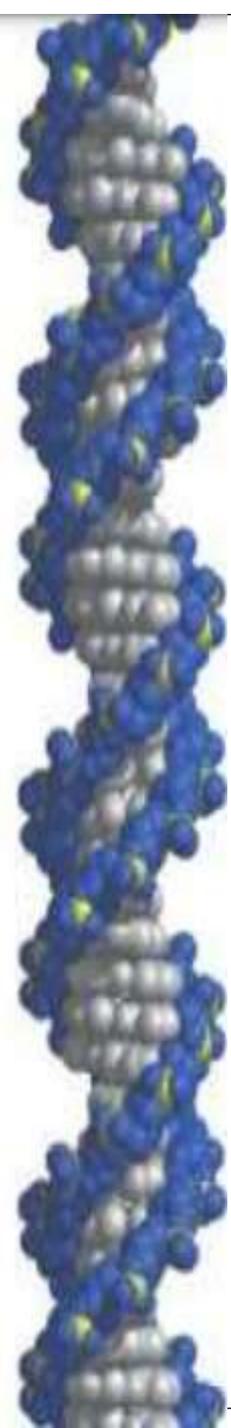
I. Composition des Acides Nucléiques

ARN

Base azotée	Ribonucleosides	Ribonucléotides 5' monophosphate	Ribonucléotides 5' diphosphate	Ribonucléotides 5' triphosphate
Adénine (A)	Adénosine	Adénosine monophosphate (AMP)	Adénosine diphosphate (ADP)	Adénosine triphosphate (ATP)
Guanine (G)	Guanosine	Guanosine monophosphate (GMP)	Guanosine diphosphate (GDP)	Guanosine triphosphate (GTP)
Uracile (U)	Uridine	Uridine monophosphate (UMP)	Uridine diphosphate (UDP)	Uridine triphosphate (UTP)
Cytosine (C)	Cytidine	Cytidine monophosphate (CMP)	Cytidine diphosphate (CDP)	Cytidine triphosphate (CTP)

I. Composition des Acides Nucléiques

ADN

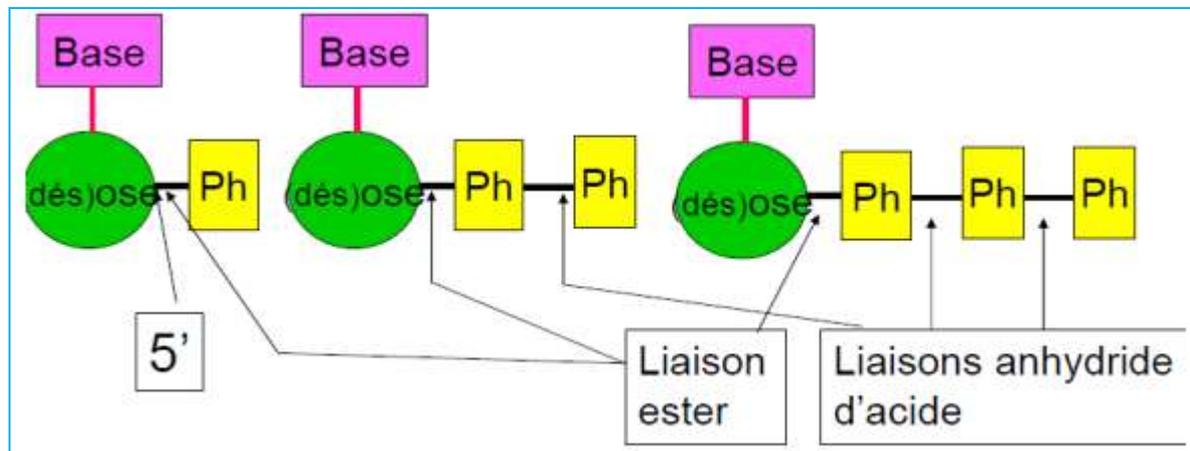


		ADN		
Base azotée	Déoxyribonucleosides	Désoxibonucléotides 5' monophosphate	Désoxyonucléotides 5' diphosphate	Désoxyribonucléotides 5' triphosphate
Adénine (A)	DéoxyAdénosine	Déoxyadénosine monophosphate (dAMP)	Déoxyadénosine diphosphate (dADP)	Déoxyadénosine triphosphate (dATP)
Guanine (G)	DéoxyGuanosine	Déoxyguanosine monophosphate (dGMP)	Déoxyguanosine diphosphate (dGDP)	Déoxyguanosine triphosphate (dGTP)
Thymine (T)	Déoxythymidine	Déoxythymidine monophosphate (dTMP)	Déoxythymidine diphosphate (dTDP)	Déoxythymidinetriphosphate (dTTP)
Cytosine (C)	Déoxy Cytidine	Déoxycytidine monophosphate (dCMP)	Déoxycytidine diphosphate (dCDP)	Déoxycytidine triphosphate (dCTP)

I. Composition des Acides Nucléiques

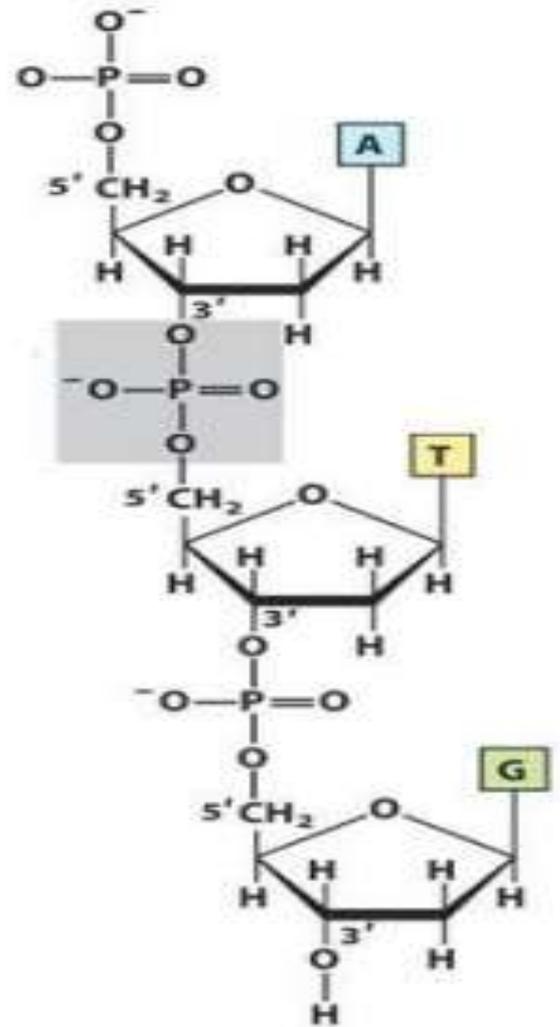
- **Remarque:**

Pour les nucléosides di- et triphosphates, il existe une liaison **anhydride** d'acide riche en énergie entre les groupements phosphates.



II. Structure de l'ADN

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



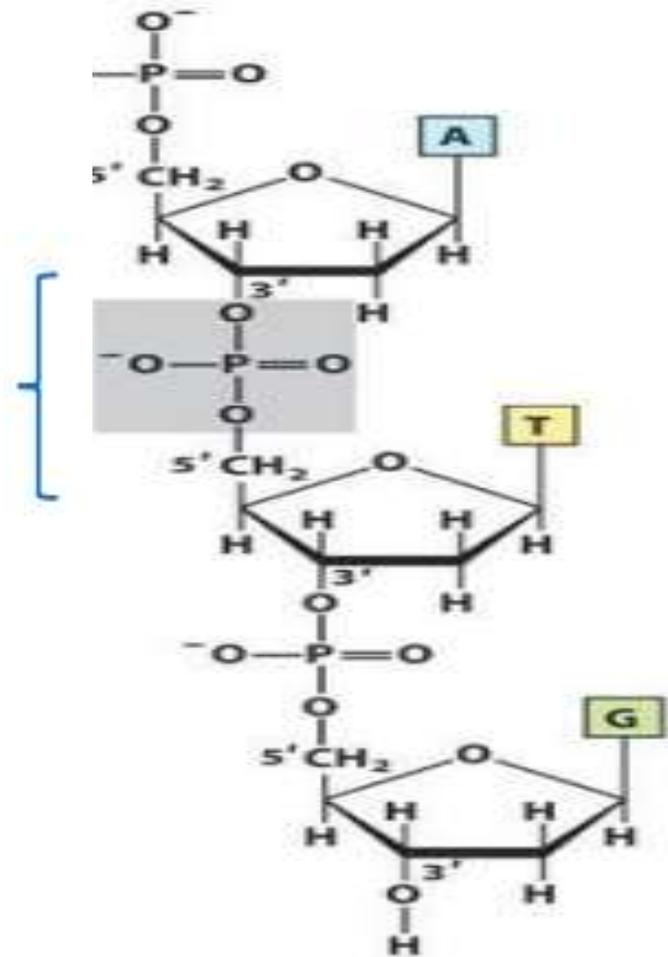
II. Structure de l'ADN

1. Structure primaire

Extrémité 5' Phosphate

Liaison phosphodiester

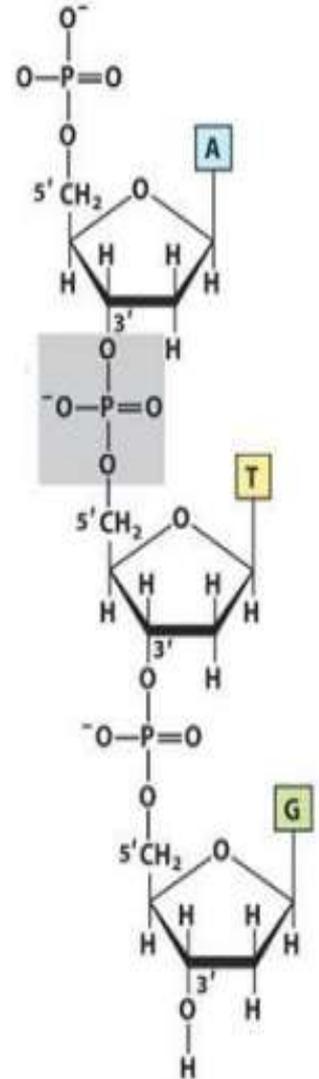
Extrémité 3' OH



II. Structure de l'ADN

1. Structure primaire

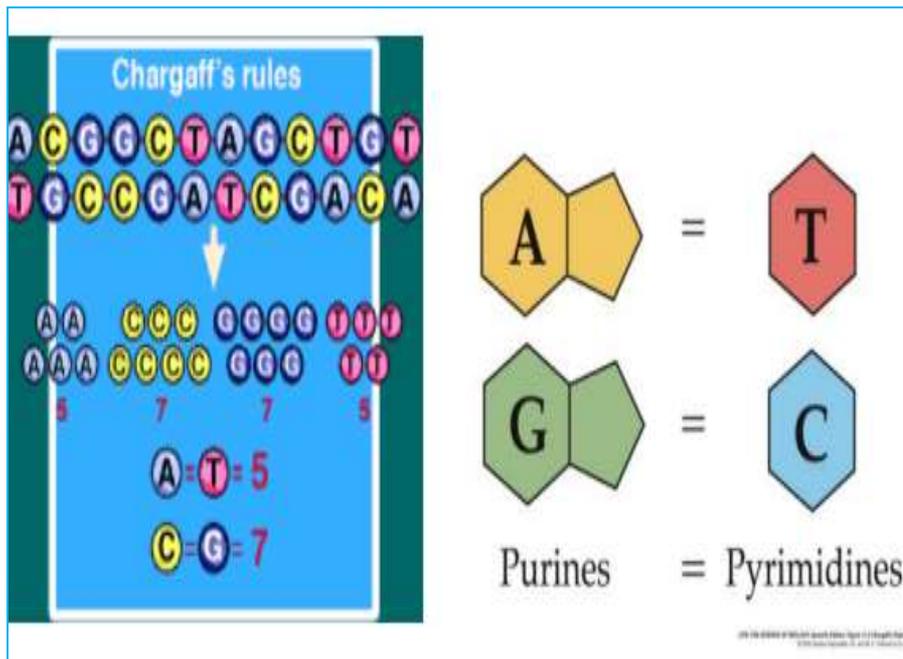
- Le brin d'ADN est un polymère de **désoxyribonucléotides monophosphates** reliés entre eux par des **liaisons 3',5'- phosphodiester**
- L'alternance pentose-Phosphate constitue le **squelette** de l'ADN sur lequel sont accrochées les bases azotées
- Le brin d'ADN possède une **polarité**: il a une **extrémité 5'- phosphate** et une **extrémité 3'- OH**.



II. Structure de l'ADN

Chargaff 1950:

- $A=T$, $C=G$
- $A+T/C+G$ varie selon espèce

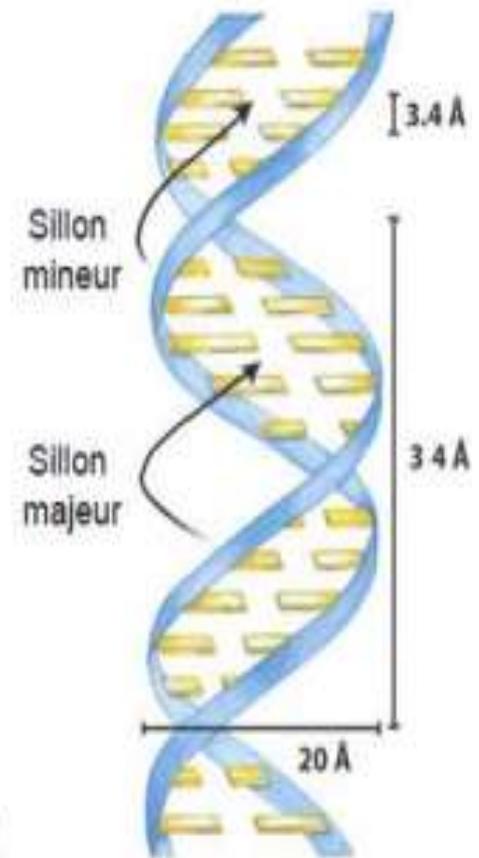


Pourcentage Organisme	A	T	G	C	rapport A+T/G+C
E. coli	26,0	23,9	24,9	25,2	1,00
Levure	31,3	32,9	18,7	17,1	1,79
Rat	28,6	28,4	21,4	21,5	1,33
Homme	30,3	30,3	19,9	19,8	1,52

II. Structure de l'ADN

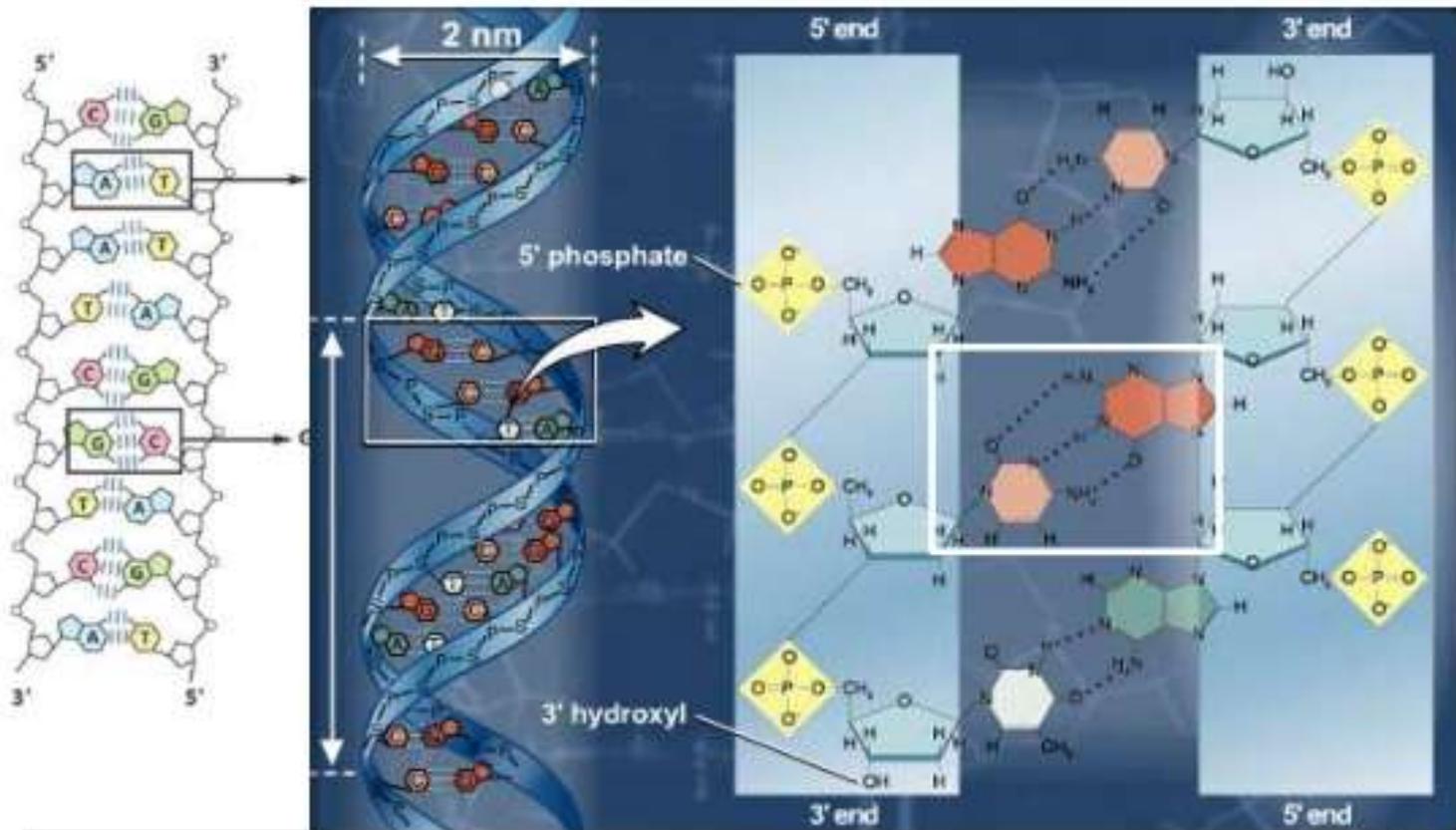
2. Structure secondaire

- La molécule d'ADN est constituée de **deux chaînes d'ADN (ou brins d'ADN)**
- Conformation **hélicoïdale** appelée double hélice d'ADN.
- les deux chaînes sont **antiparallèles**
- L'hélice tourne à **droite**
- **Deux sillons inégaux** : le grand sillon (sillon majeur) et le petit sillon ou sillon mineure)



II. Structure de l'ADN

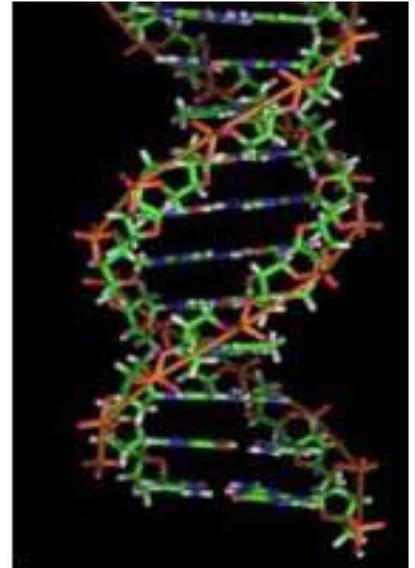
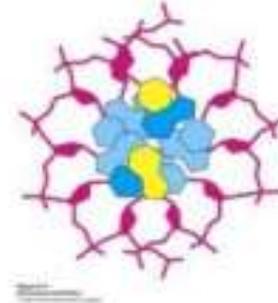
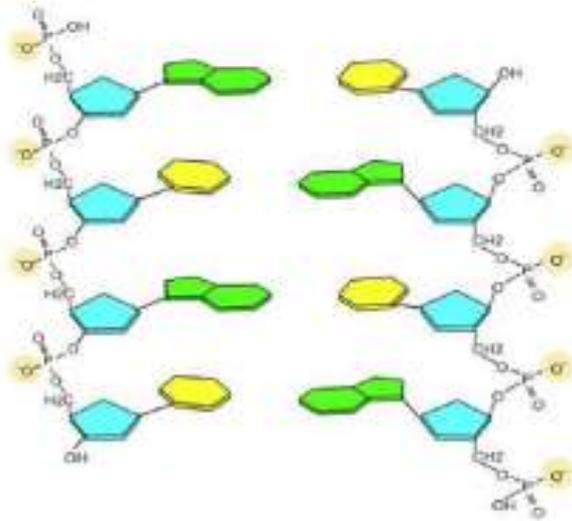
2. Structure secondaire



- Les deux chaînes sont stabilisées par des liaisons hydrogènes entre les bases
- Il existe une complémentarité des bases : A-T et C-G

II. Structure de l'ADN

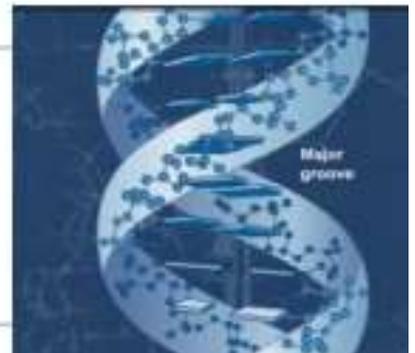
2. Structure secondaire

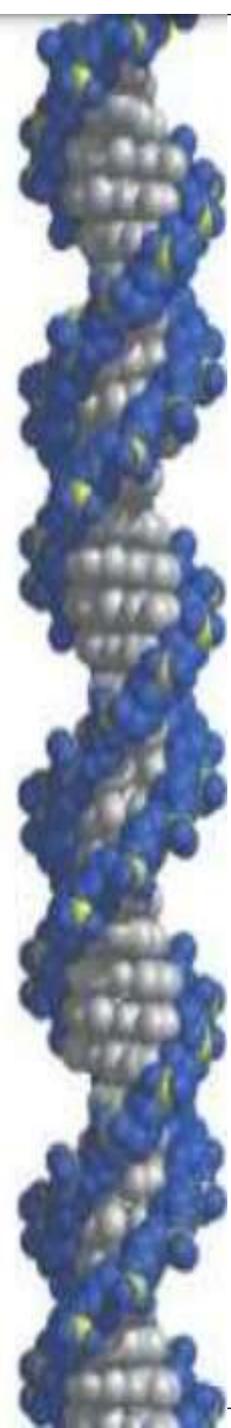


Dans la double hélice les bases azotées complémentaires sont

- à l'intérieur de l'hélice
- situées sur le même plan
- perpendiculaires à l'axe de l'hélice

Le plan des oses est perpendiculaire à celui des bases

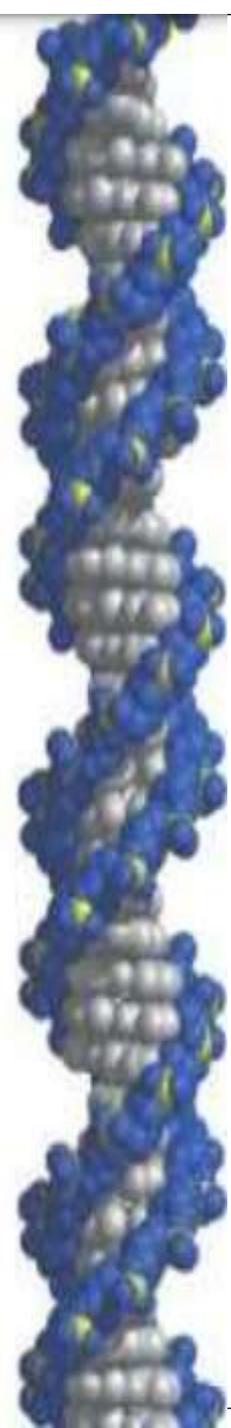




II. Structure de l'ADN

Variant structuraux de la molécule d'ADN (Formes A, B, Z)

ADN forme A (forme déshydratée)	ADN forme B (forme hydratée)	ADN forme Z (zig-zag)
Hélice droite	Hélice droite	Hélice gauche
grand sillon : grand petit sillon : écrasé, inaccessible	grand sillon : grand petit sillon : petit	les 2 sillons sont équivalents
paires de bases inclinaées de 19° par rapport au plan perpendiculaire à l'axe de l'hélice	paires de bases perpendiculaires au plan de l'axe de l'hélice	paires de bases perpendiculaires au plan de l'axe de l'hélice
présence relativement fréquente	présence très fréquente	rare
Pas de l'hélice 2.8 nm	Pas de l'hélice 3.4 nm	Pas de l'hélice 4.5 nm
11 pb par pas	10 pb par pas	12 pb par pas

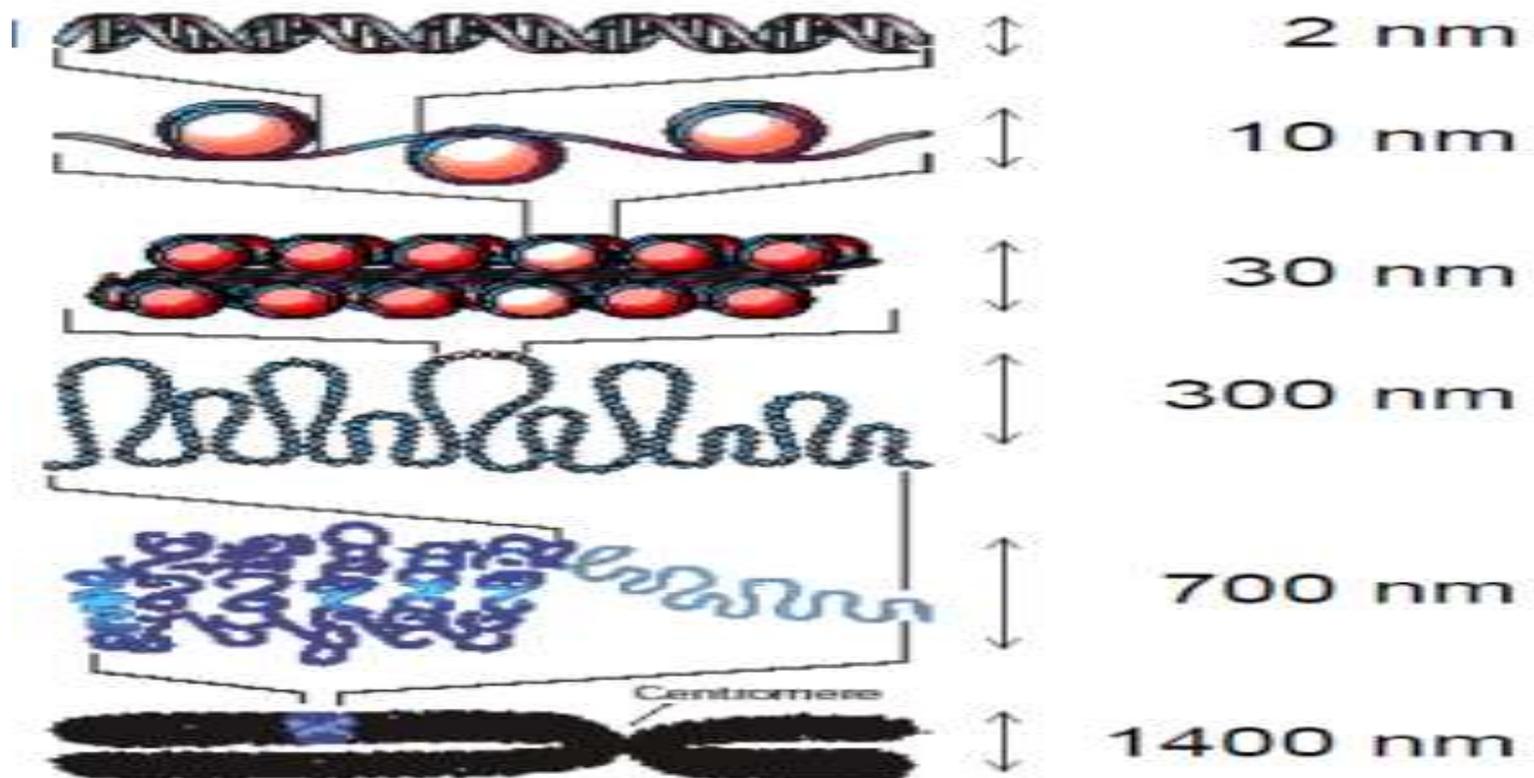


II. Structure de l'ADN

- Chez l'homme, un noyau de $10\ \mu\text{m}$ contient près d'1m d'ADN
- ➔ Il faut donc un système efficace de compaction.

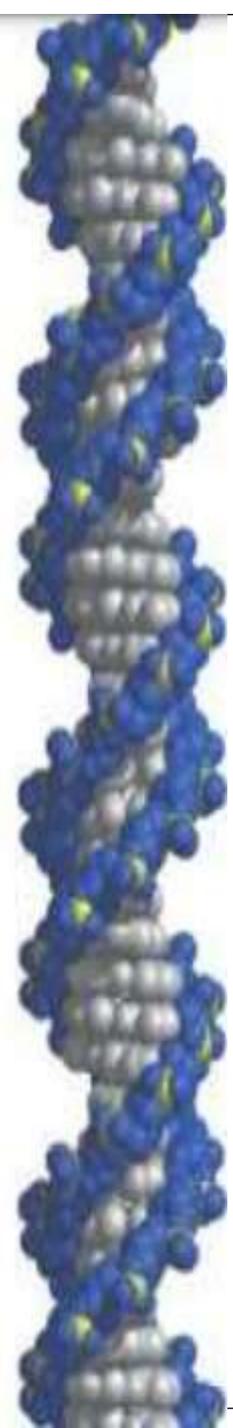
II. Structure de l'ADN

- Les différents degrés de compaction de l'ADN nucléaire humain :



III. Propriétés physico-chimique

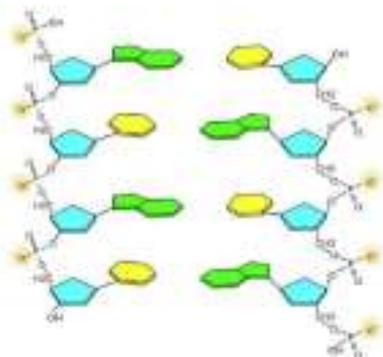
- 3.1. Solubilité
- 3.2. Poids Moléculaire
- 3.3. Absorption dans la lumière ultraviolette
- 3.4. Dénaturation/Renaturation
- 3.5. Effet hyperchrome de l'ADN
- 3.6. Densité
- 3.7. Hydrolyse des Acides nucléiques



III. Propriétés physico-chimique

1. Solubilité:

- Sont chargés négativement en raison des groupements phosphate
- solubles dans l'eau sous forme de sels de sodium
- viscosité élevée dans l'eau.
- précipitent dans l'éthanol en présence de sel de sodium (neutralise charges -)



Na⁺

Ethanol



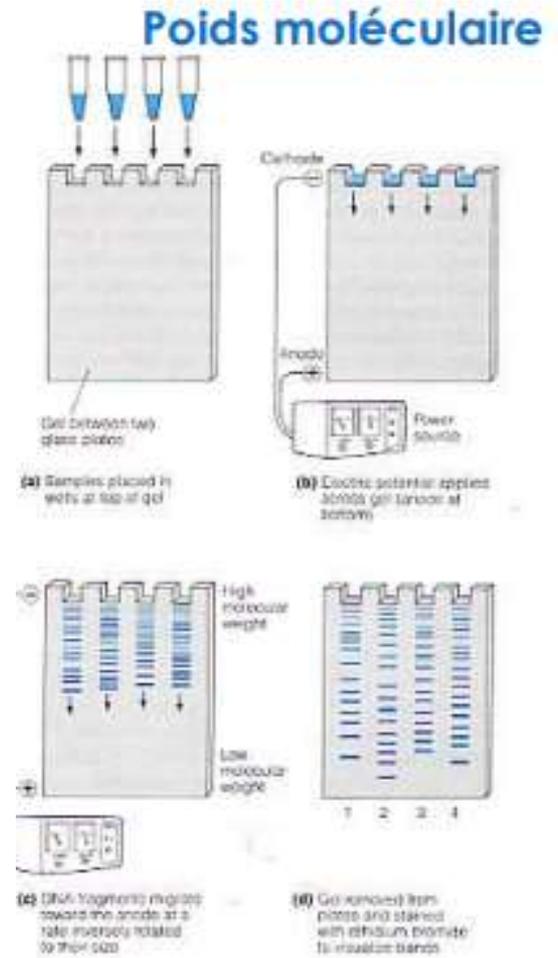
Pelote d'ADN
(Ou méduse)



III. Propriétés physico-chimique

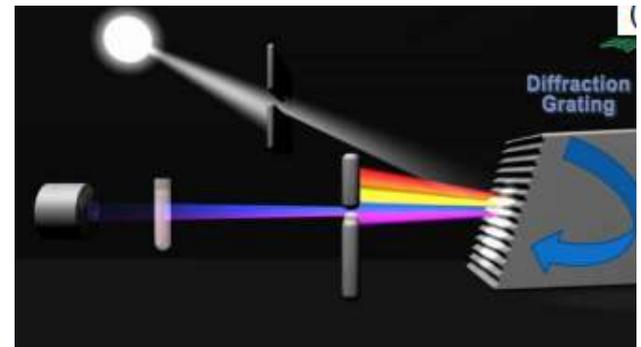
2. Poids moléculaire:

- La taille de l'ADN peut être déterminée par électrophorèse sur gel d'agarose ou gel de polyacrylamide.



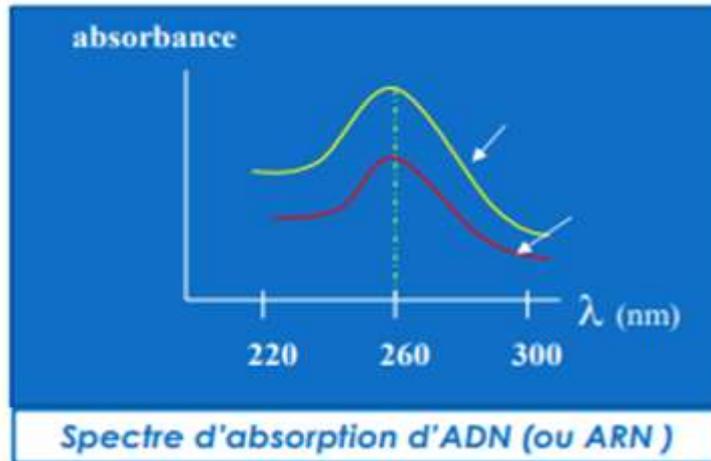
III. Propriétés physico-chimique

3. Absorption dans l'ultraviolet



Détecteur

Prisme mobile permettant la diffraction de la lumière



L'ADN et l'ARN Absorbent dans les **UV** avec un maximum à **260 nm**.

III. Propriétés physico-chimique

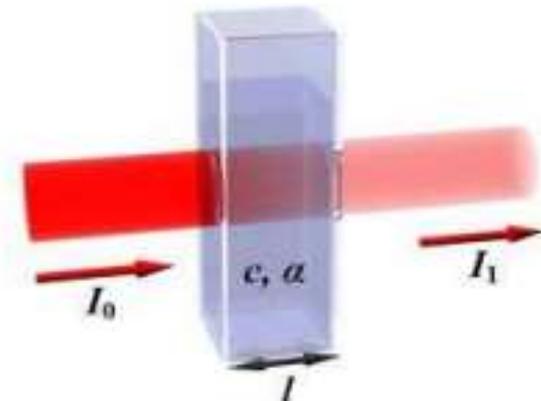
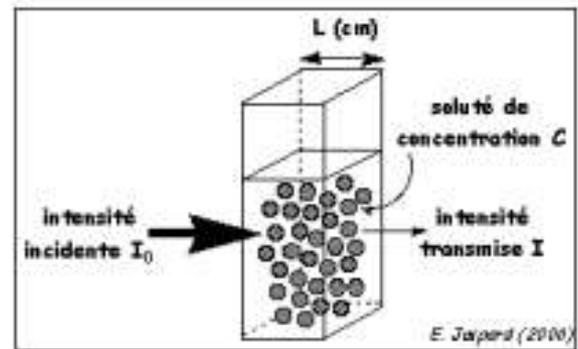
3. Absorption dans l'ultraviolet

- Loi de Beer-Lambert : DO proportionnelle à la concentration

$$DO = \log (I_0/I) = \varepsilon \cdot l \cdot C$$

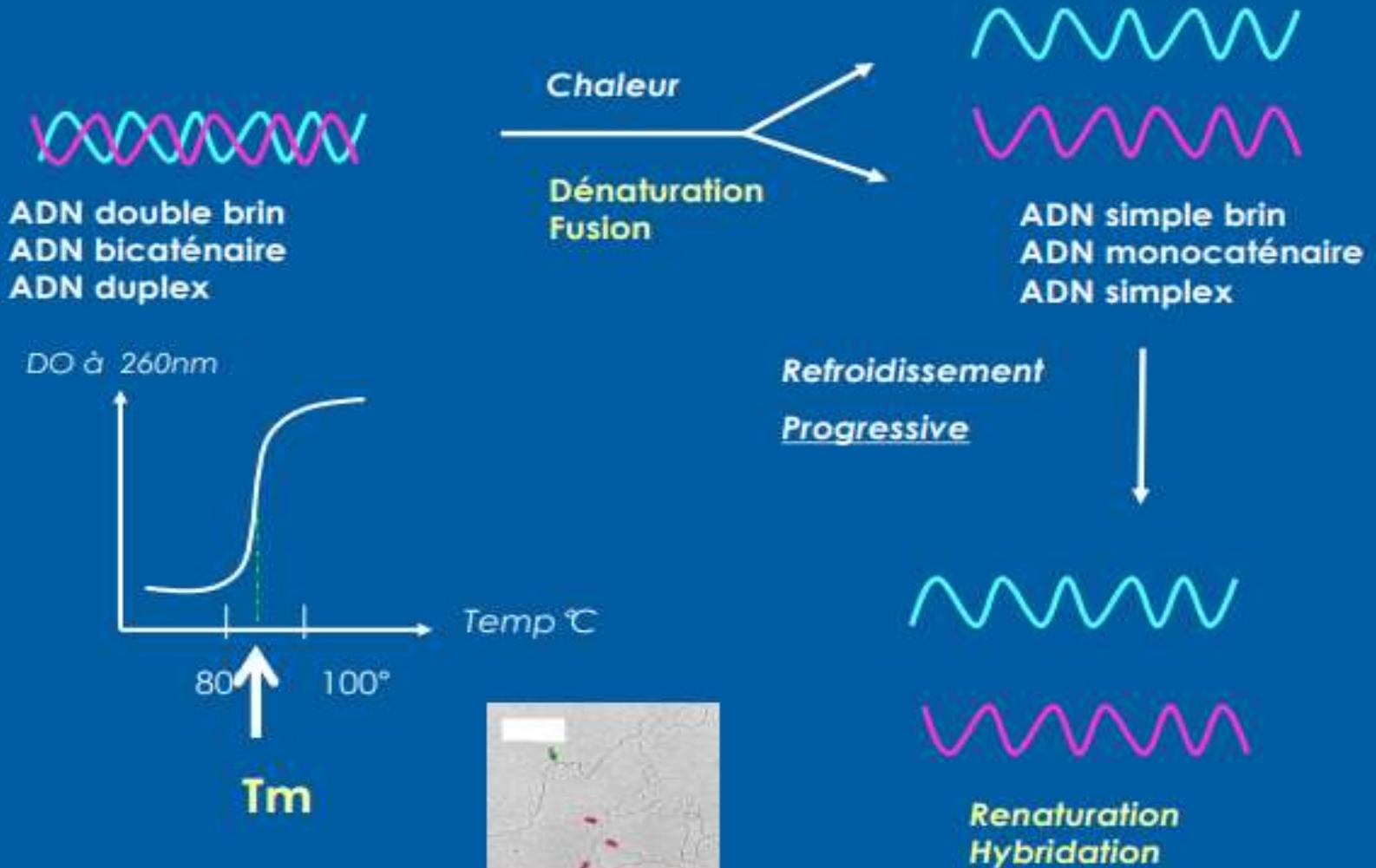
ε = coefficient d'extinction ou d'absorbance (qui dépend de la longueur d'onde)

ε_M en $M^{-1} \cdot cm^{-1}$ si c en en M moles,
→ coefficient d'extinction molaire



III. Propriétés physico-chimique

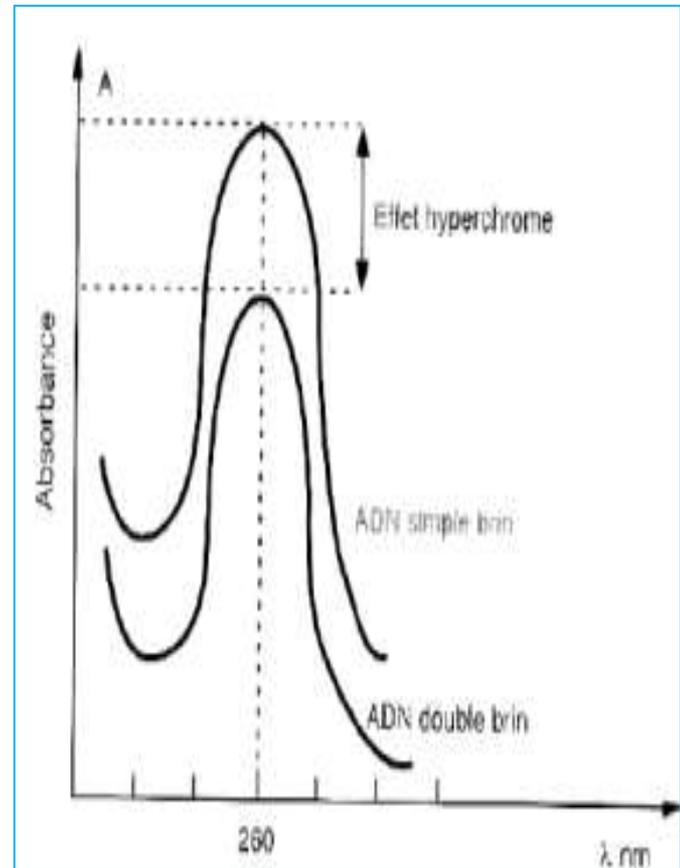
4. Dénaturation/ Renaturation



III. Propriétés physico-chimique

5. Effet hyperchrome

- On appelle température de fusion (T_f) ou melting point (T_m) de l'ADN la température pour laquelle 50 % de l'ADN est monobrin.
- Elle est caractéristique d'un ADN, augmente avec la longueur du fragment, le pourcentage de GC



T_m

III. Propriétés physico-chimique

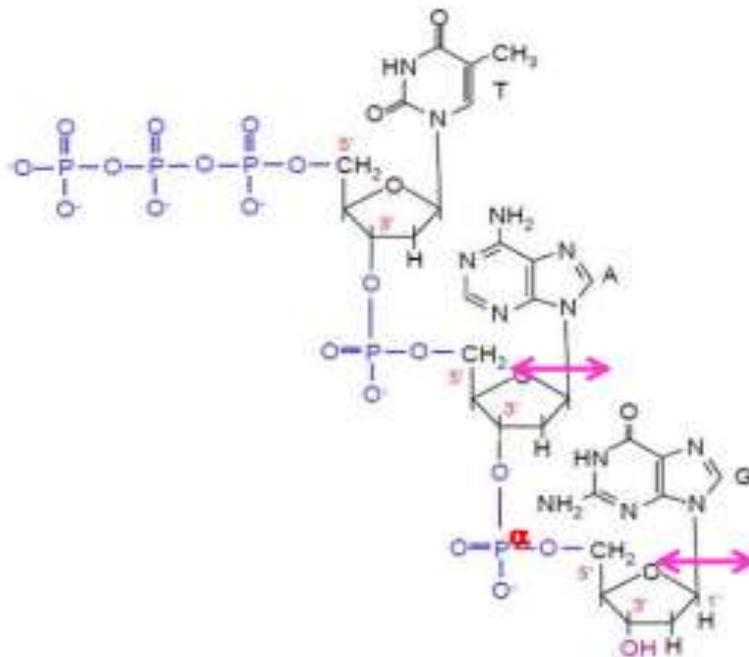
6. Hydrolyse acide

ADN



HCl faible concentration

ADN dépourvu
de purine
ADN apurique

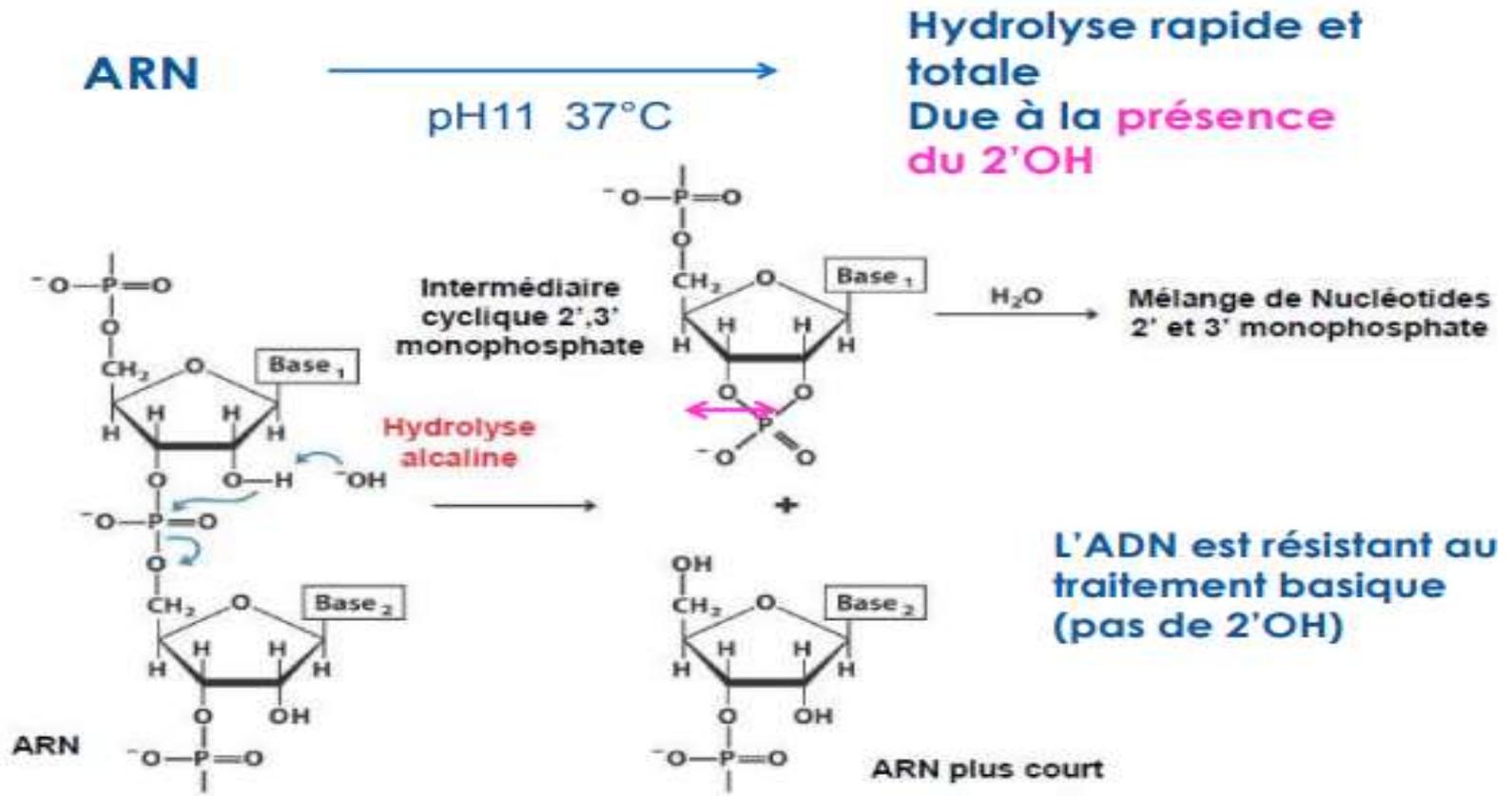


Clivage de la liaison N-osidique
Entre les purines (N9) et le
2'désoxyribose (C1')

A cette conc.
pas d'effet sur
l'ARN

III. Propriétés physico-chimique

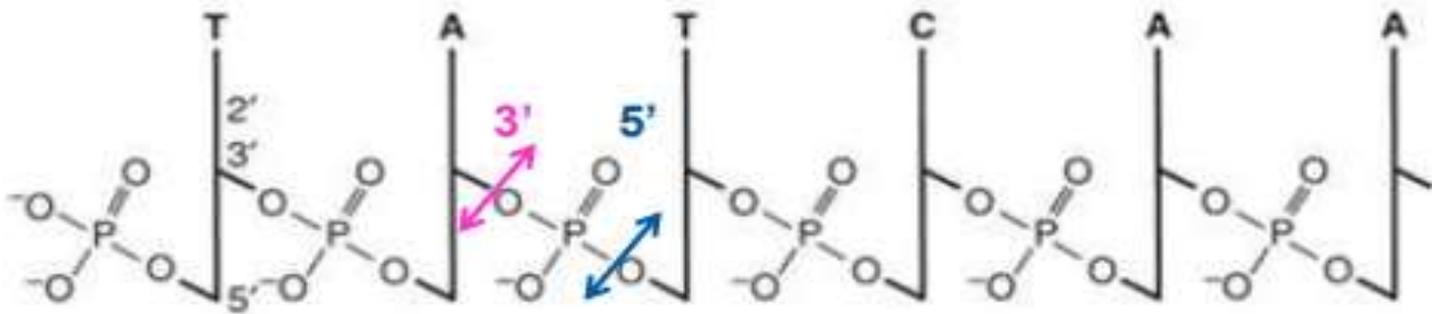
7. Hydrolyse alcaline

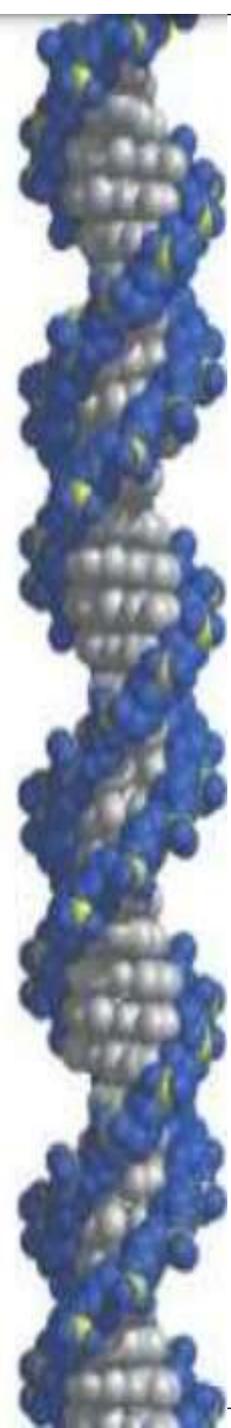


III. Propriétés physico-chimique

8. Hydrolyse enzymatique

Type de coupures





III. Propriétés physico-chimique

8. Hydrolyse enzymatique

Endonucléases

Enzymes	Substrats	Type de coupure	Spécificité coupure	Produits
Endonucléases S1	ARN, ADN sb et db	3'	aléatoire	5'-NMP-oligonucléotide 5'-P, 5'-dNMP+ oligodesoxynucleotide 5'P
Ribonucléase de T1 (RNase T1)	ARN sb	5'	Lorsque qu'une G est du côté 3' de la liaison Phosphodiester	3'-NMP+oligonucléotide 3'P
RNase T2	ARN sb	5'	Lorsque qu'une A est du côté 3' de la liaison Phosphodiester	
RNase pancréatique	ARN sb	5'	Lorsque qu'une Pyrimidine est du côté 3' de la liaison Phosphodiester	3-NMP oligonucléotides 3'P

III. Propriétés physico-chimique

Enzyme de restriction:

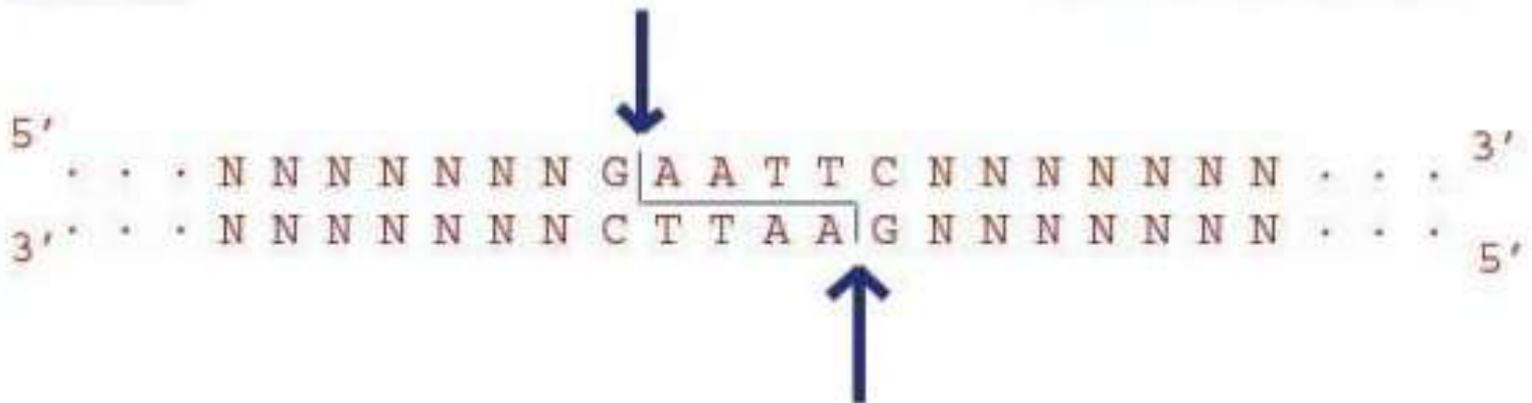
- Endonucléases: reconnaissance d'une séquence spécifique d'une molécule d'ADN et de la couper.
- Mise en évidence chez certaines bactéries.
- Plus de 500 enzymes de restriction

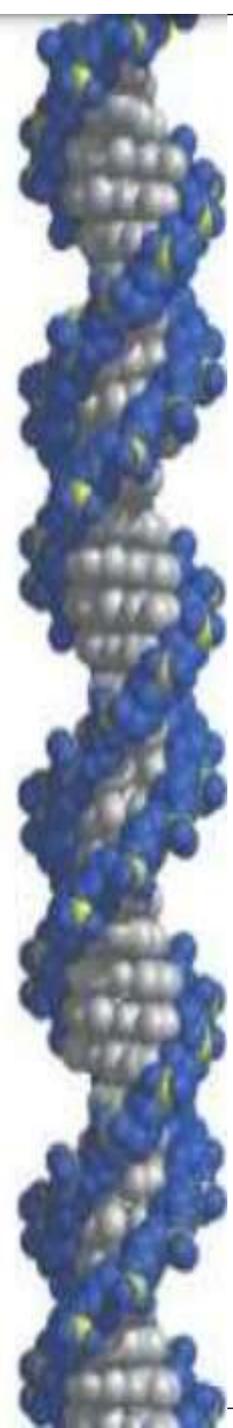
Enzyme de restriction:

Eco RI

Source:

Escherichia coli

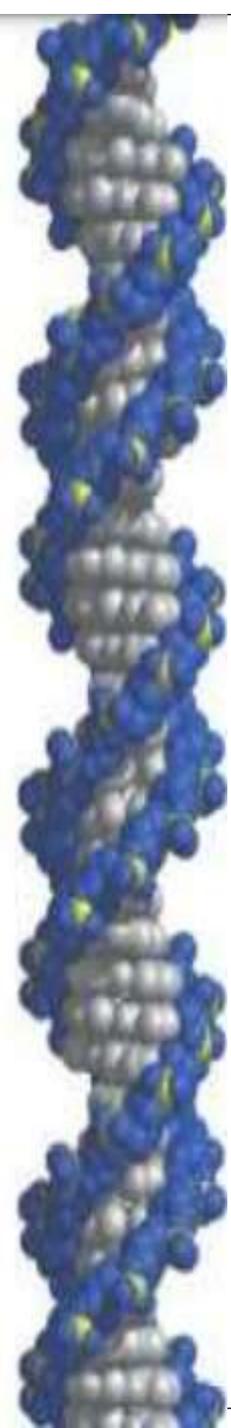




IV. Métabolisme des acides nucléiques:

IV.1. biosynthèse

IV. 2. catabolisme

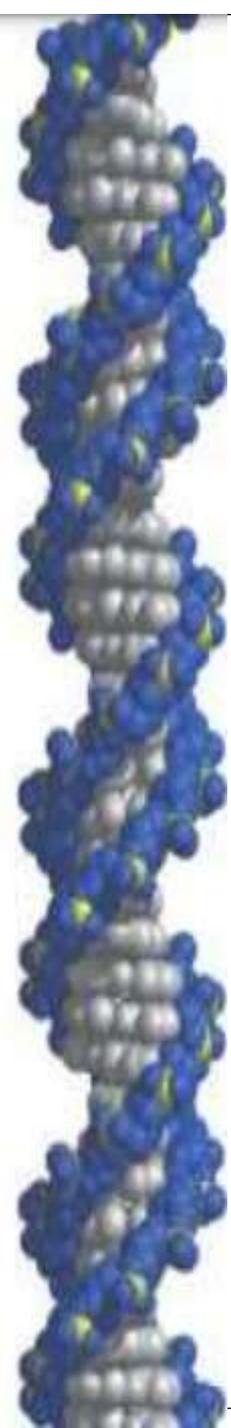


IV. Métabolisme des acides nucléiques

1. BIOSYNTHESE DES NUCLEOTIDES

2 voies :

1. **Synthèse « de novo »** : à partir de précurseurs et par une voie métabolique très consommatrice d'énergie.
2. **Synthèse de récupération** : à partir de bases ou de nucléotides provenant de l'alimentation ou du catabolisme intracellulaire (économie d'énergie).



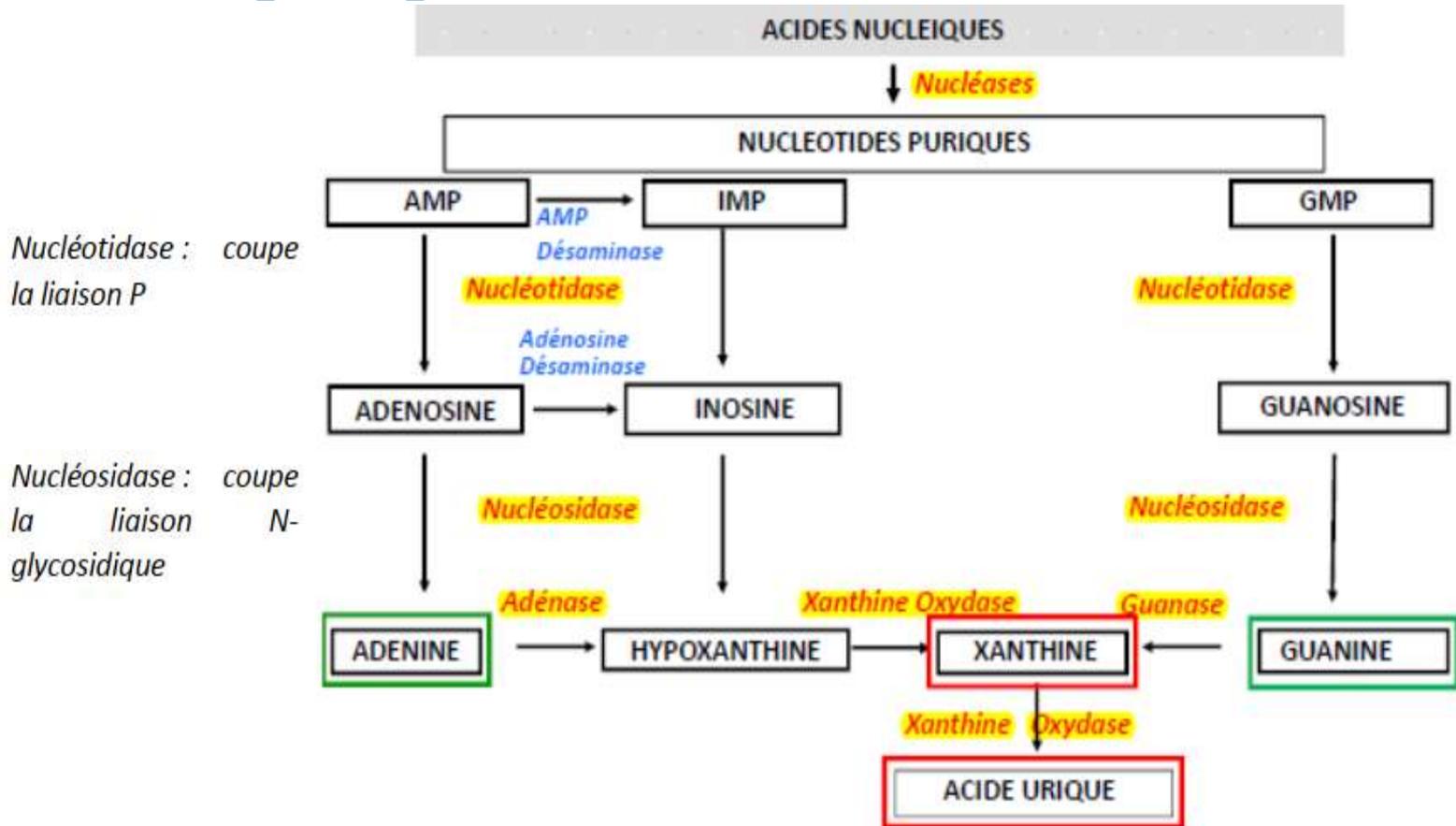
IV. Métabolisme des acides nucléiques

2. CATABOLISME DES ACIDES NUCLEIQUES

- Le catabolisme et le recyclage des acides nucléiques a lieu de manière quasi-exclusive dans **le foie et l'intestin grêle**, qu'ils soient endogènes (renouvellement ou lyse cellulaire) ou provenant de l'alimentation.

IV. Métabolisme des acides nucléiques

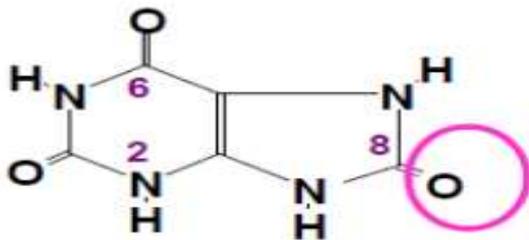
2. CATABOLISME DES ACIDES NUCLEIQUES: à bases puriques



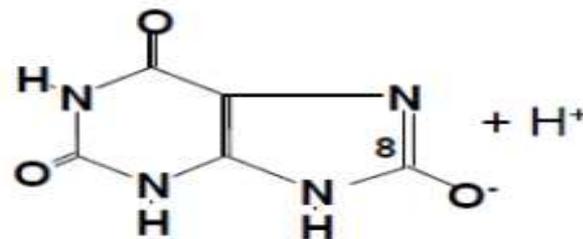
IV. Métabolisme des acides nucléiques

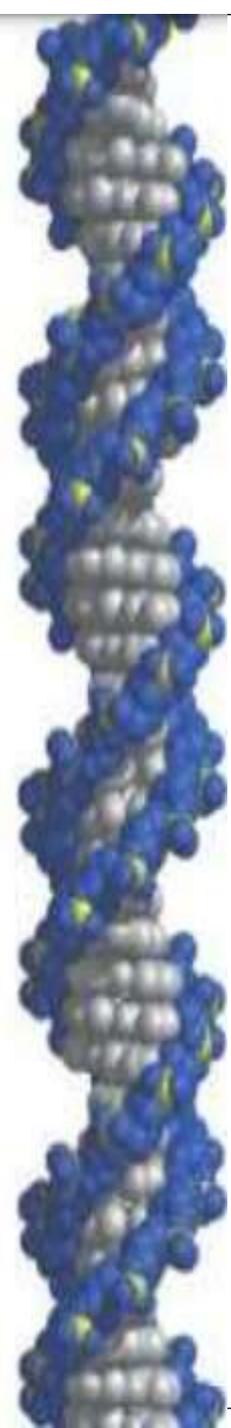
- Chez l'homme, l'**acide urique** est le **produit terminal de la dégradation des bases puriques**.
- Il est **quasiment insoluble dans l'eau**.
- A pH physiologique, il est trouvé majoritairement sous forme **d'urate de sodium** (sel sodique d'acide urique), peu soluble mais plus que l'acide urique.
- Il est éliminé par **voie rénale (majoritaire) et intestinale** (transformation en allantoiné par la flore bactérienne via une uricase)

Acide urique
2,6,8-oxopurine (= 8-oxoxanthine)



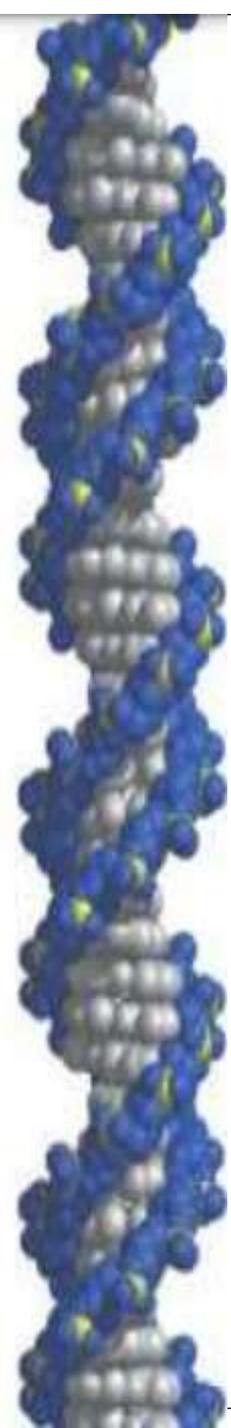
Urate





IV. Métabolisme des acides nucléiques

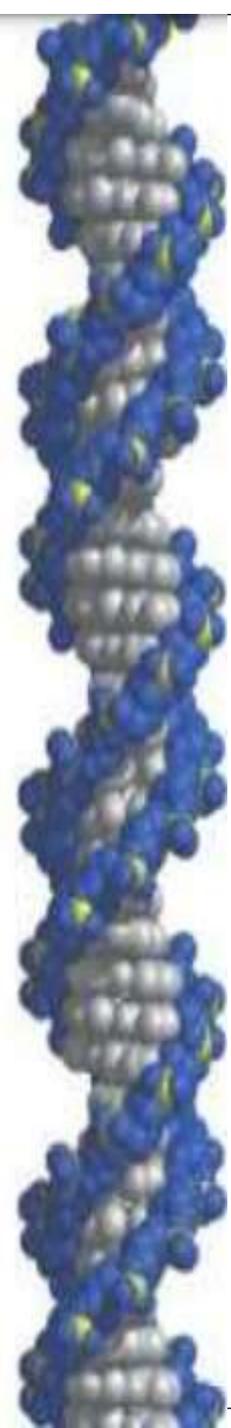
- **L'uricémie est le dosage de l'acide urique** qui doit être présent en concentration faible dans la circulation (se précipite facilement).
- Dans l'hyper-uricémie, les taux sériques dépassent la limite de solubilité et il y a cristallisation de l'urate de sodium :
- Dans les tissus et articulations (mains, pieds) : **crise de goutte**
- Dans les urines si elles sont trop acides : **coliques néphrétiques**



IV. Métabolisme des acides nucléiques

3. Catabolisme des acides nucléiques à base pyrimidique

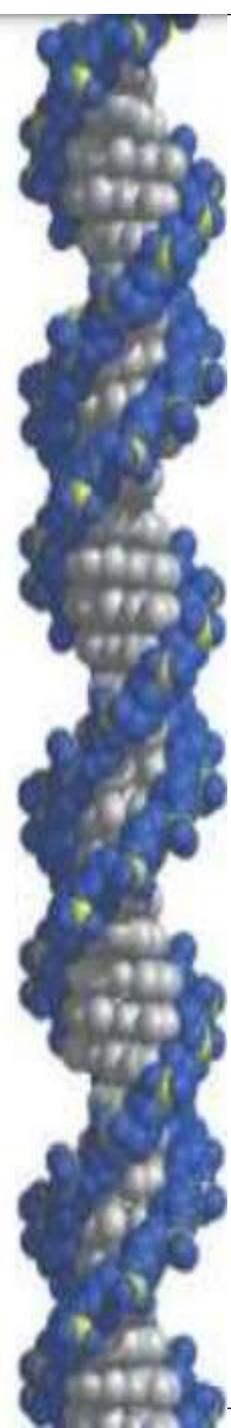
- Les produits du catabolisme des bases pyrimidiques sont très hydrosolubles :
 - CO₂ : expiré
 - NH₃ : élimination urinaire ou utilisation dans la synthèse hépatique de l'urée
 - β-alanine et β-amino-isobutyrate : élimination urinaire ou transformés en acétyl-coA ou succinyl-coA



IV. Métabolisme des acides nucléiques

3. Catabolisme des acides nucléiques à base pyrimidique

➔ La surproduction de bases pyrimidiques ne donne donc pas d'anomalies en clinique contrairement aux bases puriques.



Conclusion

- Le métabolisme des nucléotides puriques et pyrimidiques diffère au niveau de la biosynthèse comme du catabolisme.
- Ces voies sont la cible de nombreuses thérapies anti-virales ou anti-cancéreuses.

Conclusion

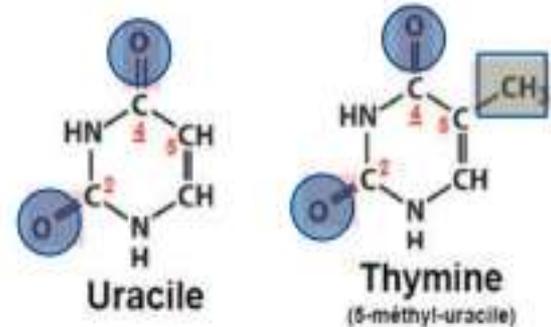
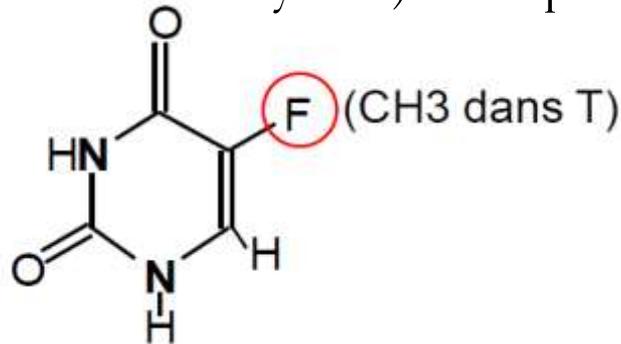
Exemple du 5-FU

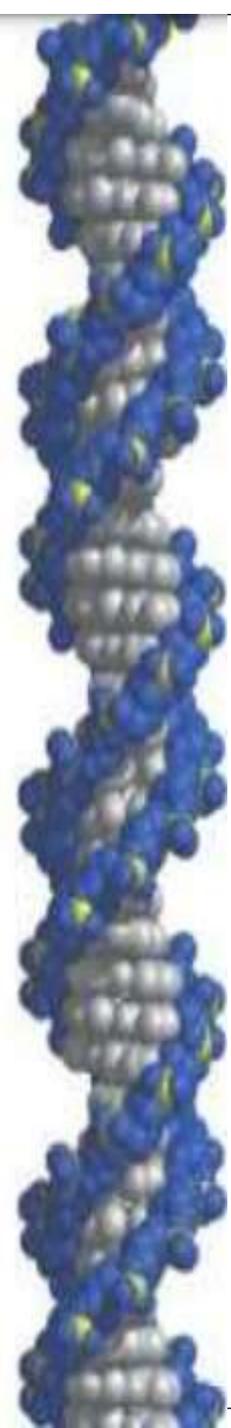
- Le 5-FU est un anti-métabolite de la famille des anti-pyrimidines utilisé en chimiothérapie anti-cancéreuse contre la prolifération des cellules cancéreuses.

- Le 5-FU est métabolisé en :

5-FUMP incorporé dans les différents types d'ARN et donne donc une transcription erronée

5-FdUMP qui se lie à thymidilate synthétase pour bloquer son action (méthylation de l'uracile en thymine) et bloque ainsi la prolifération de la cellule

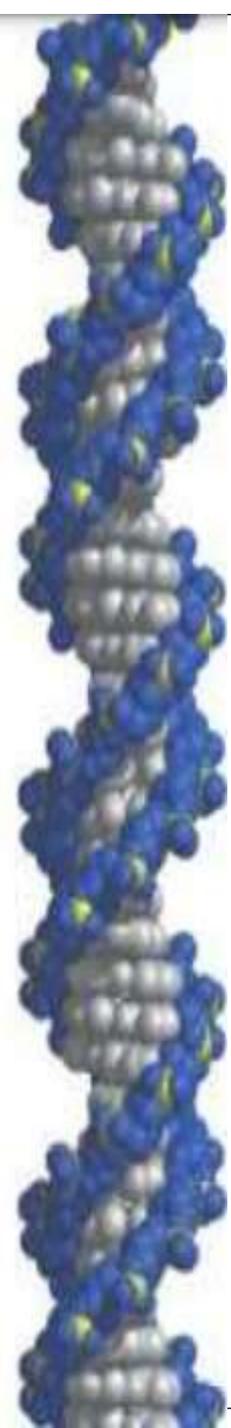




Conclusion

Exemple de l'azidothymidine (AZT) :

- L'AZT est un analogue de la désoxythymidine qui entre en compétition avec les nucléosides naturels au niveau du site actif de la transcriptase inverse virale, bloquant ainsi la réplication virale et donc la prolifération virale.
- Cette molécule est utilisée pour le traitement des infections rétrovirales comme le SIDA.
- L'AZT est constitué d'un groupement azoture (N_3) en $C3'$ de l'ose.



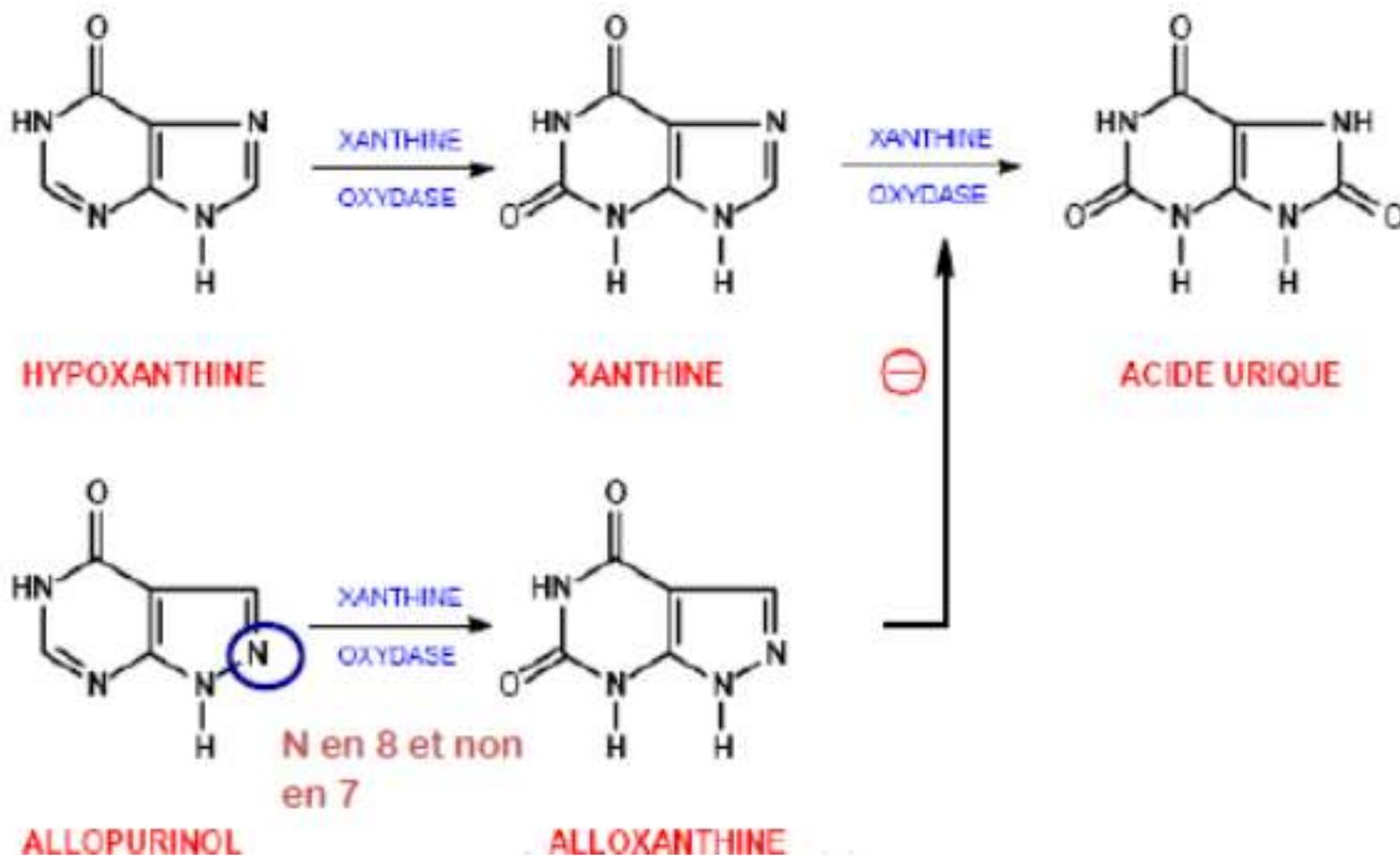
conclusion

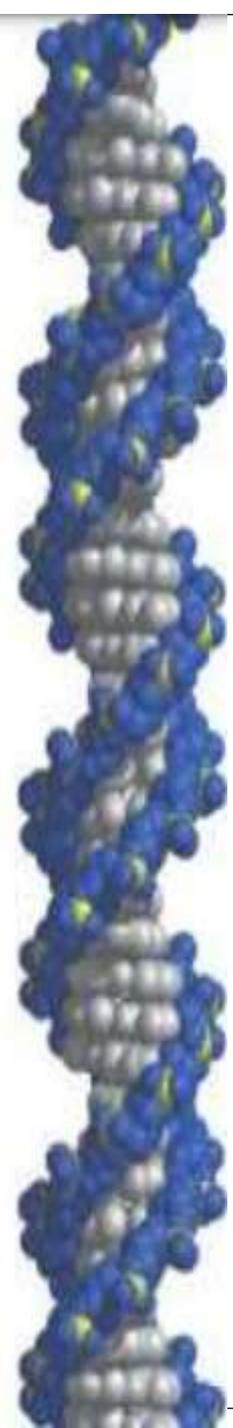
Exemple de l'allopurinol:

- L'hyper-uricémie est traitée par l'allopurinol, analogue structural de l'hypoxanthine inhibant la xanthine oxydase et réduisant la synthèse de novo des bases puriques.

'hypoxanthine et la xanthine sont très solubles et donc facilement éliminés par voie rénale

Conclusion





Merci
pour votre attention