

Energie de dénaturation de l'ADN (Examen 2001)

Le but de cet exercice est de mesurer l'énergie de dénaturation d'une molécule d'ADN double brin surenroulable, et d'estimer la rigidité de torsion de cette molécule. L'expérience de micromanipulation que nous décrivons ici ne permet pas de mesurer directement le couple appliqué à une molécule d'ADN, cependant il est possible de mesurer celui-ci de façon indirecte, c'est ce que nous vous demandons de faire.

- 1) Quel est l'ordre de grandeur de l'énergie de dénaturation d'une paire de base de l'ADN ?
- 2) Quel est l'ordre de grandeur du couple applicable à une molécule ?

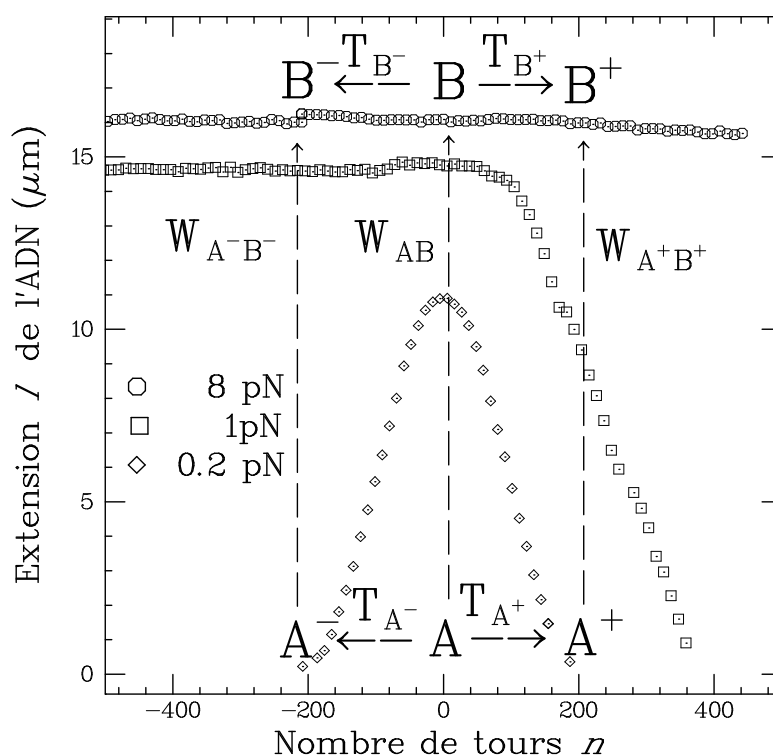


Figure 1 : Mesures d'extension d'une molécule d'ADN, soumise à une force de traction constante, en fonction du nombre de tours appliqués à celle-ci. Les mesures ont été faites avec de l'ADN de phage λ , d'extension maximale $16 \mu\text{m}$. Le zéro de rotation correspond à la forme B de l'ADN (non contrainte en torsion). La réduction de cette extension correspond à l'apparition de structures d'ADN sur/sous-enroulées (plectonèmes). La dissymétrie de la courbe réalisée à 1 pN est due à l'apparition d'une « bulle de dénaturation » lorsque l'ADN est

sousenroulé, alors qu'à cette force, il se forme toujours des plectonèmes en surenroulant la molécule.

On se propose de comparer les états B^+ et B^- où la molécule est étirée avec une force F et tordue respectivement de $+n$ tours et $-n$ tours. On prend comme état de départ A où $F = 0$ et $n = 0$. Dans l'état B , on suppose que F est assez grand pour empêcher la formation de sur/sousenroulements. La molécule est dénaturée en B^- , alors que la molécule ne change pas de structure pour une torsion positive (on se place sous le seuil de la phase ADN-P). On retiendra que la molécule a la même extension en B^+ en B^- et en B . On appellera T_{A^+} , l'énergie de torsion nécessaire pour passer de l'état A à l'état A^+ à force nulle, et W_{A+B^+} le travail fourni pour étirer la molécule de l'état A^+ à B^+ . De même on définira W_{AB} le travail fourni pour étirer la molécule de l'état A à B , et T_{B^+} , l'énergie de torsion pour passer de l'état B vers l'état B^+ (cf figure 1). Les énergies T_{A^+} et T_{A^-} sont difficiles à calculer et encore plus à mesurer, nous nous proposons de les éliminer par symétrie.

- 1- Estimer l'énergie de torsion T_{B^+} . On rappelle l'expression du couple qui s'exerce sur une molécule d'ADN contrainte en torsion :

$$\Gamma = C\theta/L_0$$

Où C est la constante élastique de torsion et L_0 est la longueur cristallographique de la molécule.

- 2- Estimer également T_{B^-} . Tracer qualitativement le couple à appliquer à la molécule en fonction du nombre de tours $\Gamma(n)$ (avec $n < 0$): on supposera d'une part une contribution élastique de torsion jusqu'à ce qu'un certain nombre critique de tours n_c aient été appliqués à la molécule, et une contribution qui correspond à l'apparition de la bulle de dénaturation, d'énergie de formation totale E_d . En déduire l'expression de T_{B^-} .
- 3- Pourquoi est-il difficile de calculer T_{A^+} et T_{A^-} ? néanmoins que peut-on dire de ces deux quantités ?
- 4- Ecrire de façon intégrale l'expression de W_{AB} sans la calculer explicitement. De quelle courbe de force aurait-on besoin pour faire ce calcul ?
- 5- En utilisant les deux chemins possibles pour passer de A à B^+ , écrire une relation entre W_{AB} , T_{A^+} , W_{A+B^+} et T_{B^+} . Pour déterminer W_{A+B^+} on utilise la courbe de force expérimentale, comme celle ci-dessous. On introduira $\Delta W_{AB^+} = W_{A+B^+} - W_{AB}$. Faire de même du côté $n < 0$.

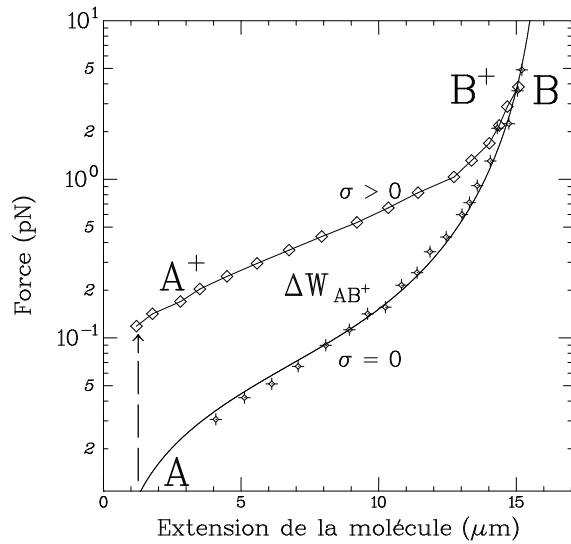


Figure 2 : Courbes de force extension d'une molécule d'ADN sans torsion ($\sigma = 0$) et d'une molécule soumise à une contrainte de torsion positive ($\sigma > 0$).

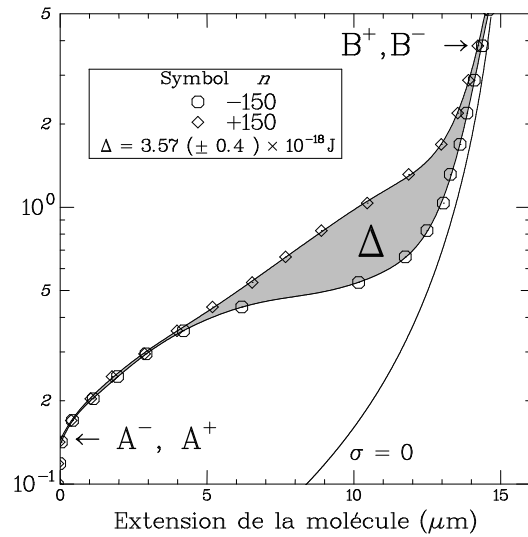
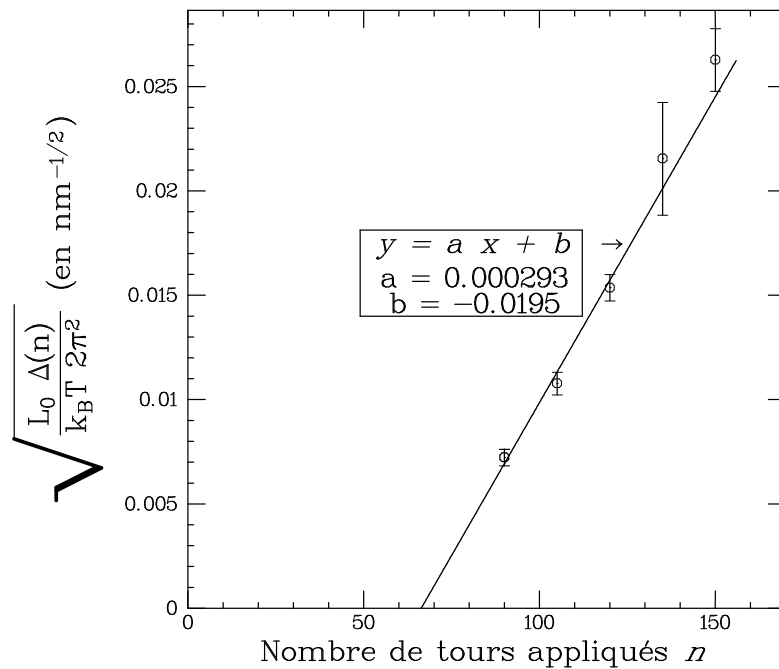


Figure 3 : Courbes de force extension d'une molécule d'ADN avec torsion positive ($\sigma > 0$) et négative ($\sigma < 0$).

- 6- En comparant maintenant le cas $n > 0$ et $n < 0$ écrire la relation qui relie $\Delta(n)$ à n et n_c , E_d , L_0 , où $\Delta(n) = \Delta W_{AB+}(n) - \Delta W_{AB-}(n)$.



On exprimera d'abord l'énergie de dénaturation en fonction de n et de n_c . On pourra s'aider en traçant le graphe $\Gamma = f(n)$ (pour $n < 0$) et en représentant Δ et l'énergie de dénaturation sur le graphe.

- 7- La figure 4 nous donne les valeurs expérimentales suivantes de

$$(l_0 \Delta / K_B T 2 \pi^2)^{1/2} = f(n)$$

En déduire les valeurs numériques de la constante C élastique de l'ADN et de Γ_c , le couple critique (associé à n_c).

Etablir la relation entre ϵ_d , l'énergie de dénaturation par paire de bases, et Γ_c . On admettra que l'ADN possède en moyenne 10.5 paires de bases par tour. En déduire la valeur de ϵ_d .