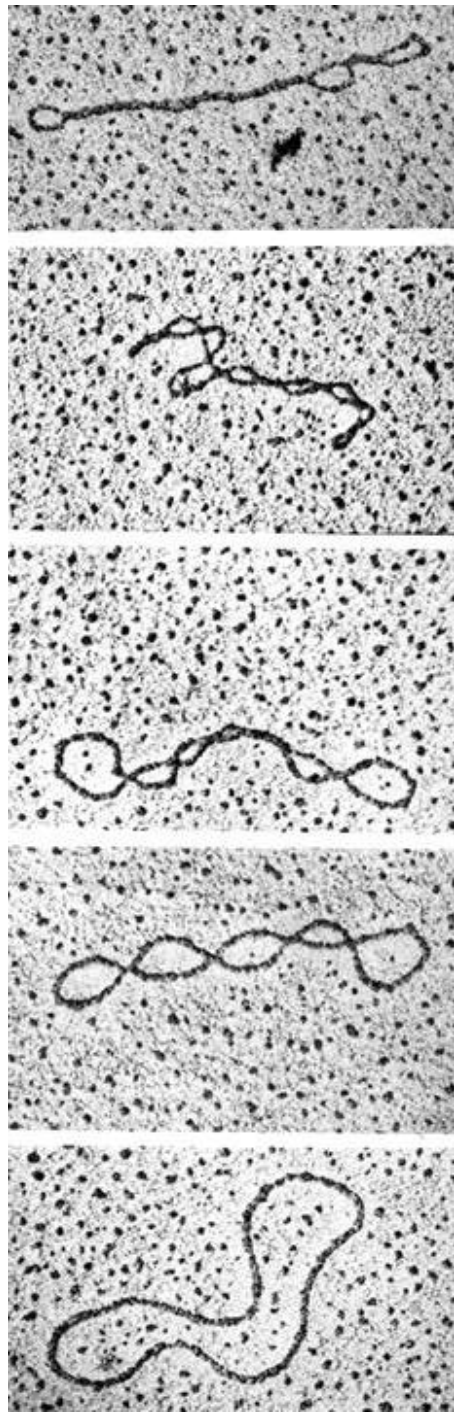
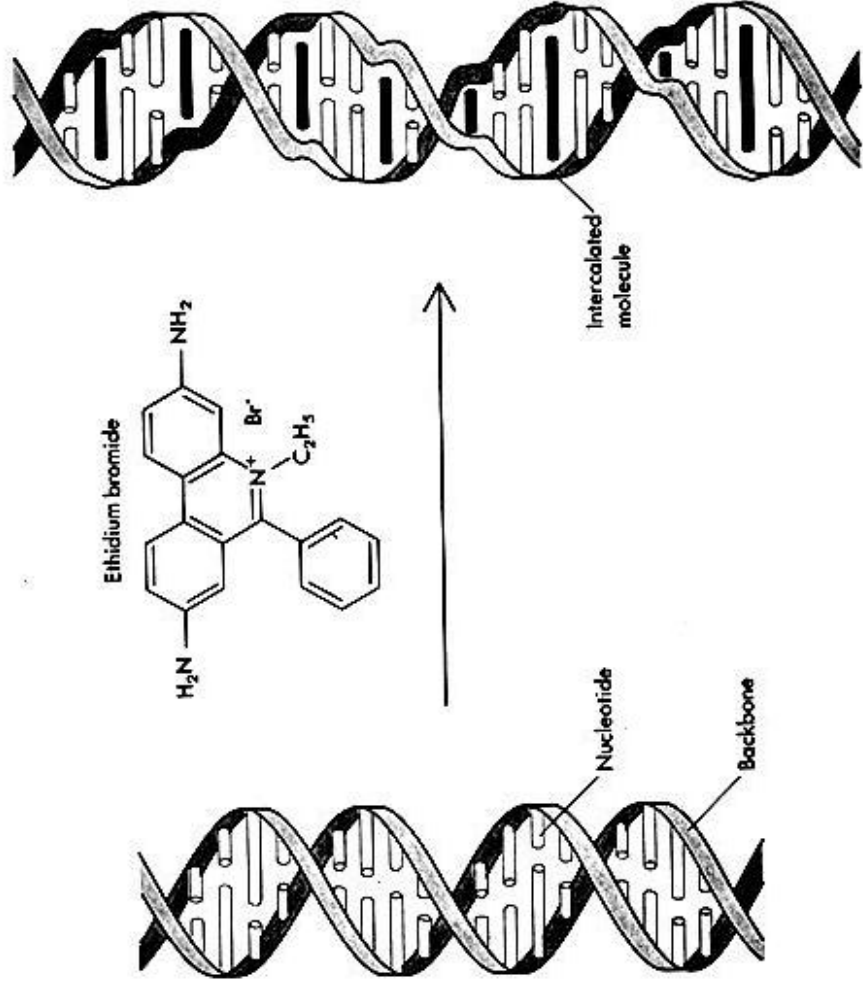
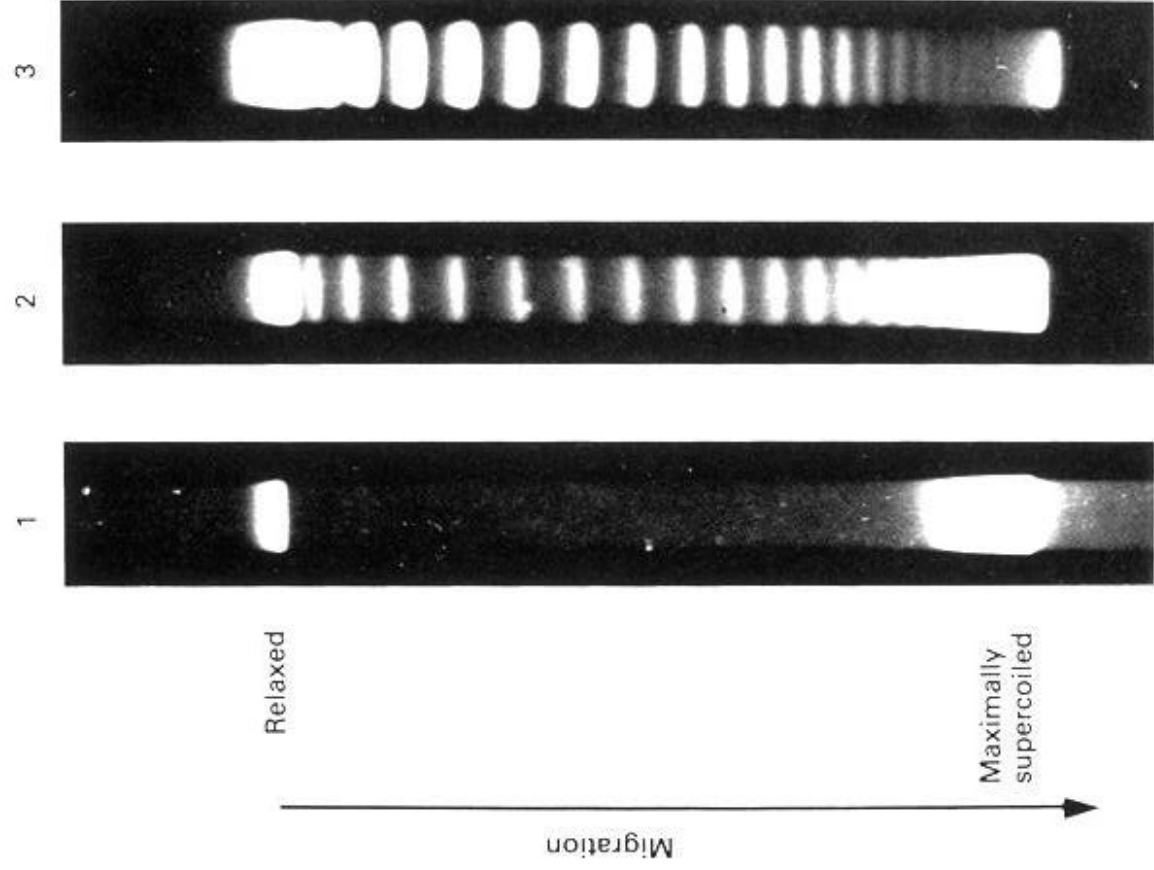
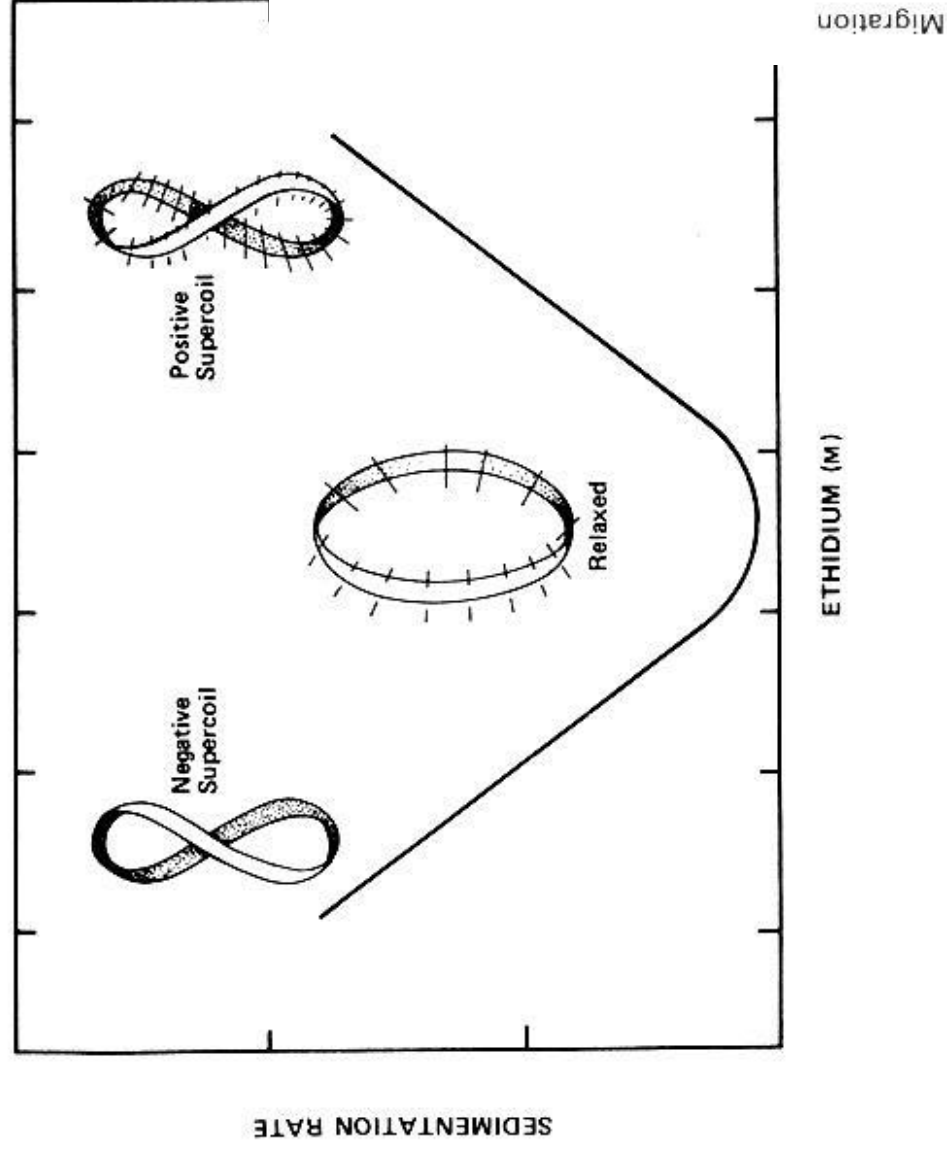


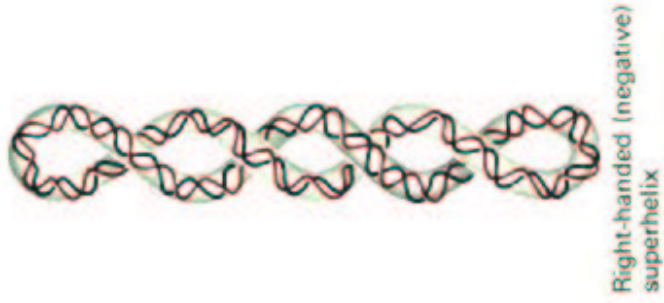
Degré de sous-enroulement

Les intercalants de l'ADN changent le pas hélical. Si le plasmide n'a pas de coupure simple brin, il s'en-tortille.



Les topoisomères peuvent être séparés par électrophorèse





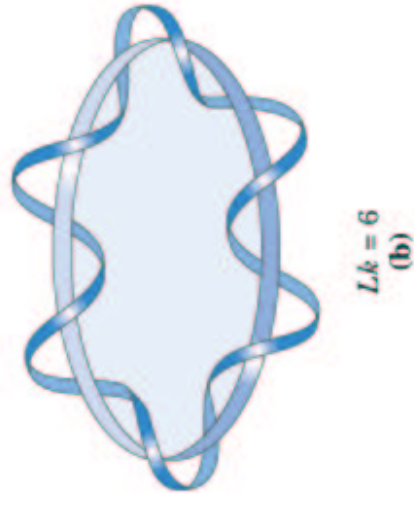
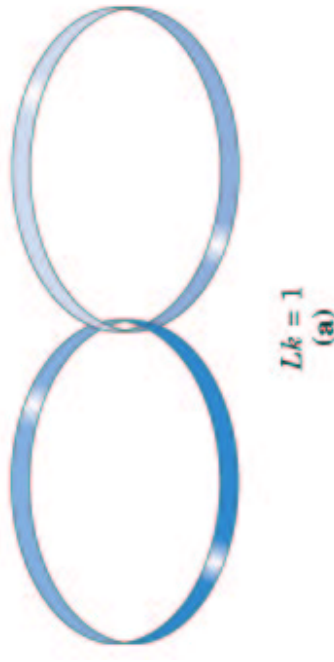
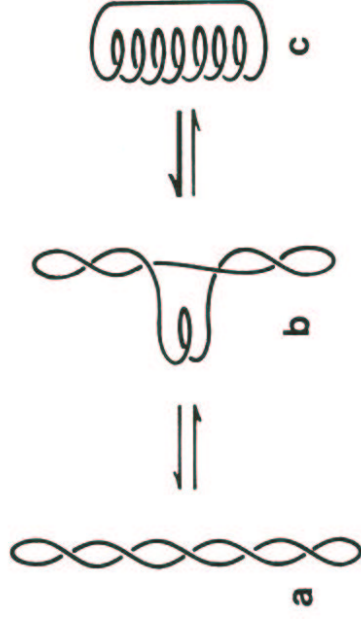
Le surenroulement se répartit en torsion et en vrillage

$$L_k = T_k + W_k \quad L_k \text{ invariant topologique}$$

L_k nombre d'enlacements

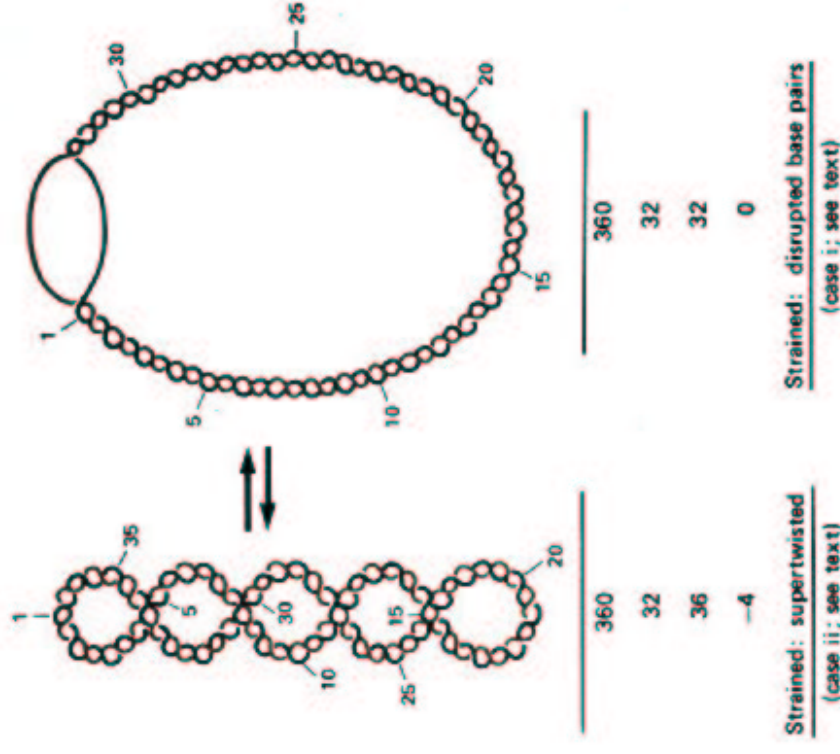
T_k indice de torsion

W_k indice de vrillage



Relachement du sous-enroulement

Ouverture d'une bulle de dénaturation :
fusion locale de la double hélice



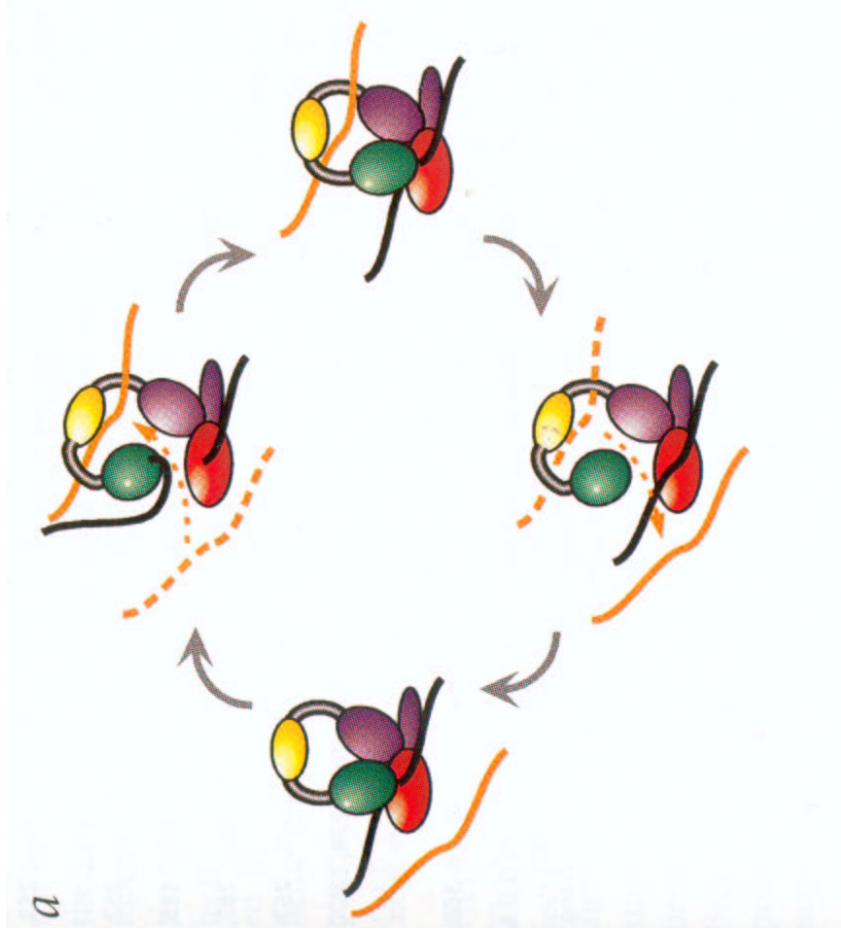
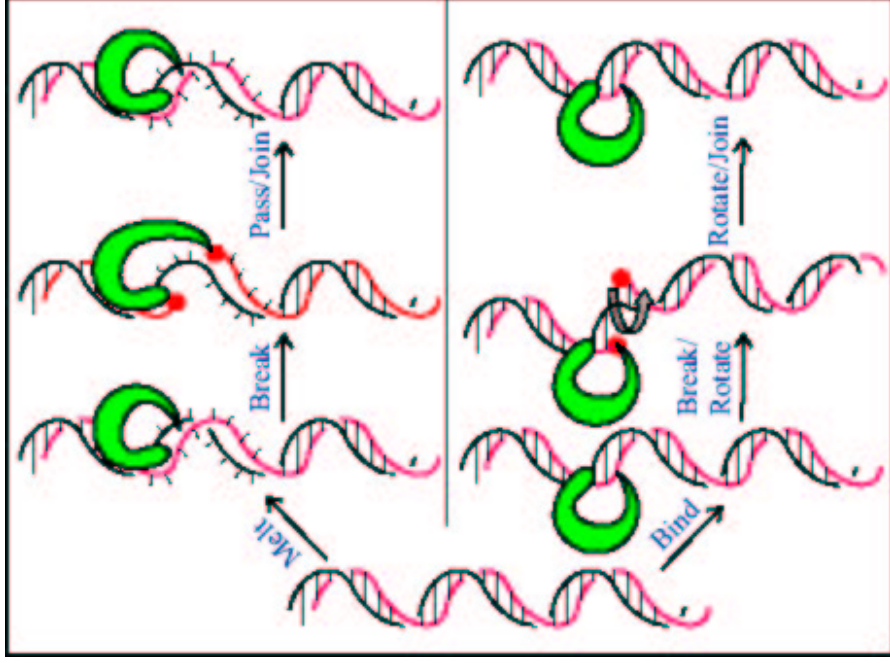
Relaxation enzymatique par les topoisomérases : ces enzymes modifient la topologie de l'ADN

- Topo I : coupent un des brins de l'ADN, ne consomment pas d'ATP
- Topo II : coupent les deux brins de l'ADN, consomment de l'ATP
- Gyrase : sous-enroulent l'ADN, consomment de l'ATP
- Reverse Gyrase : sur-enroulent l'ADN, consomment de l'ATP

Topo 1a

Prokaryote

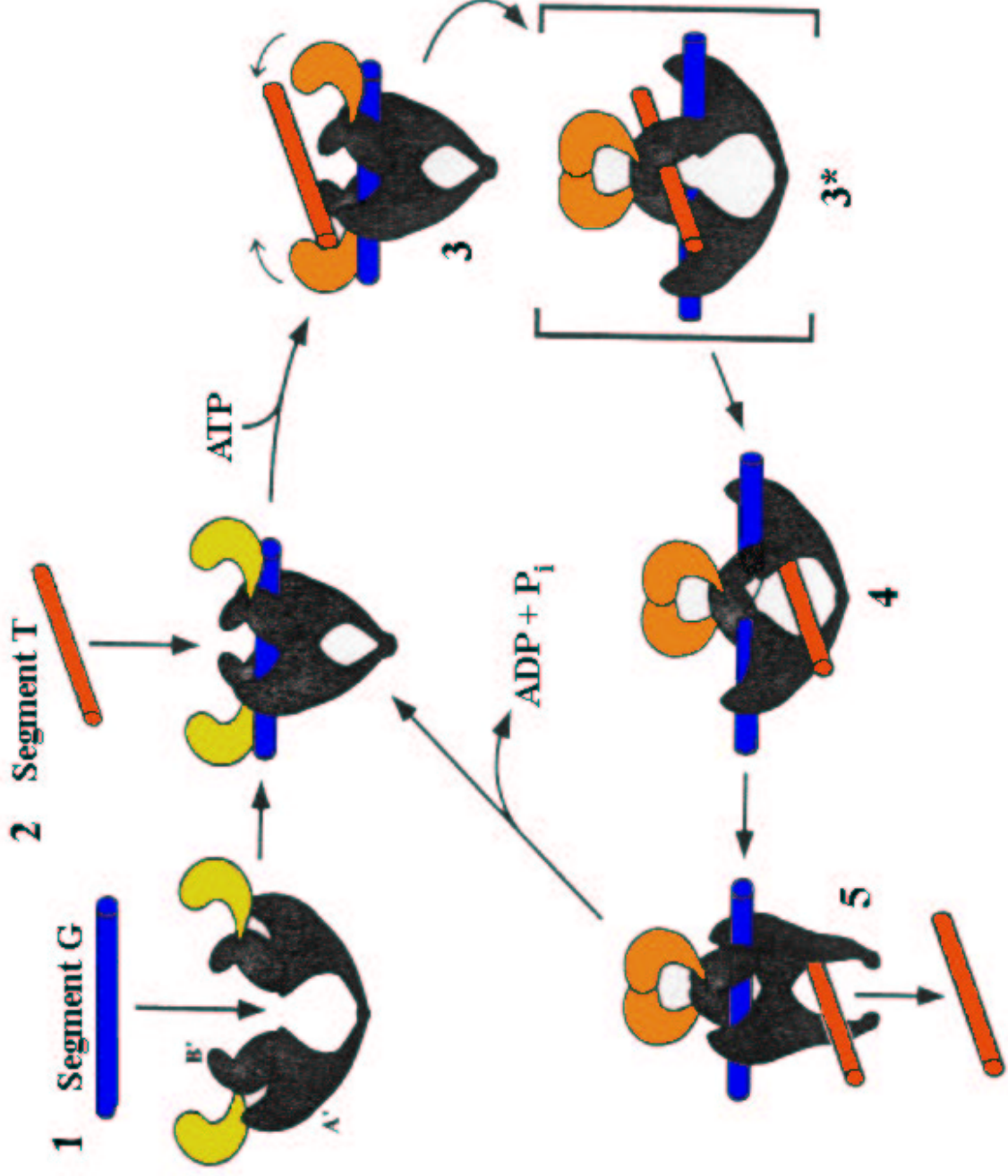
- Agit sur une bulle de dénaturation
- Relaxe le sous-enroulement ($\sigma < 0$)



Topo 1b Eukaryote

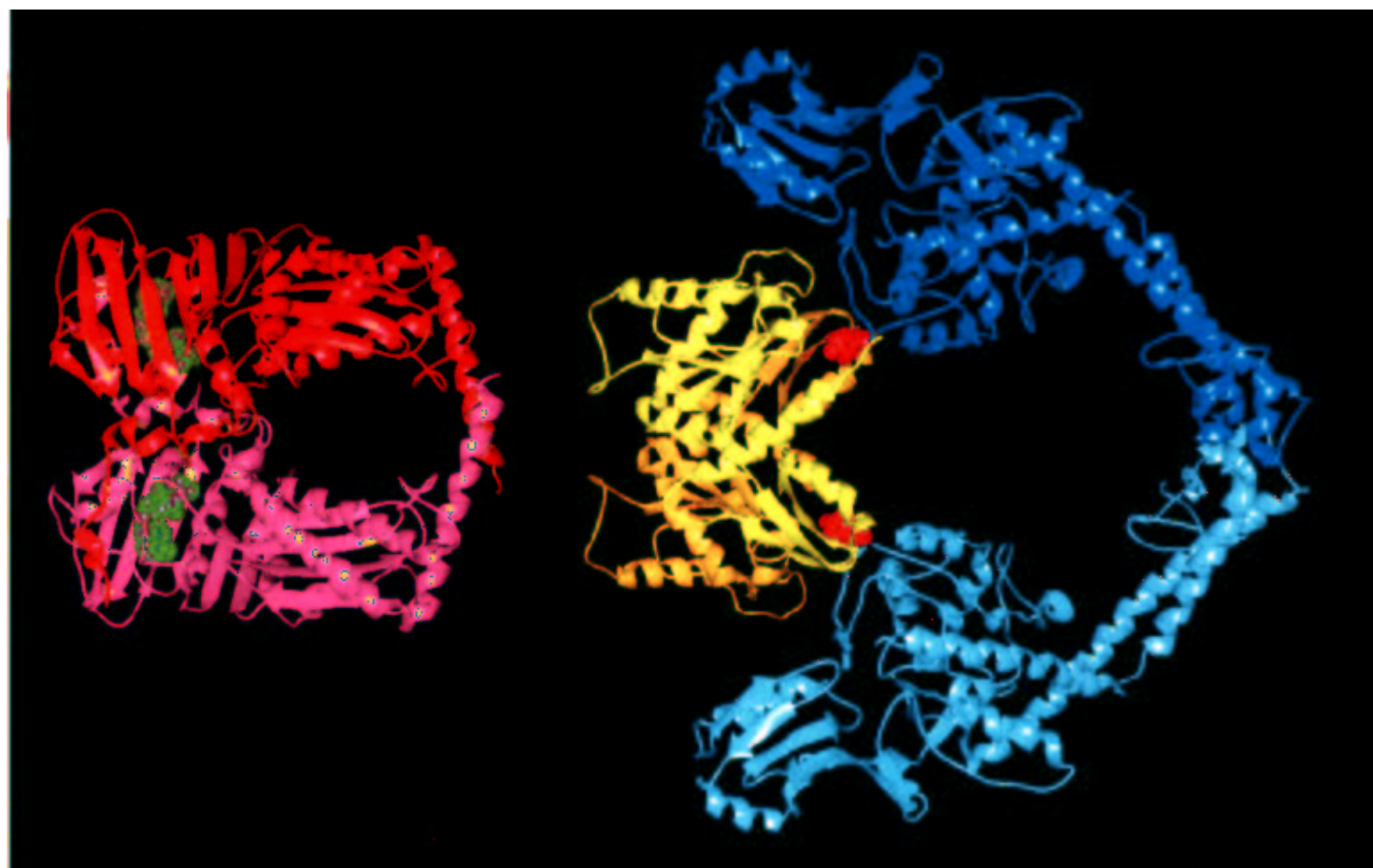
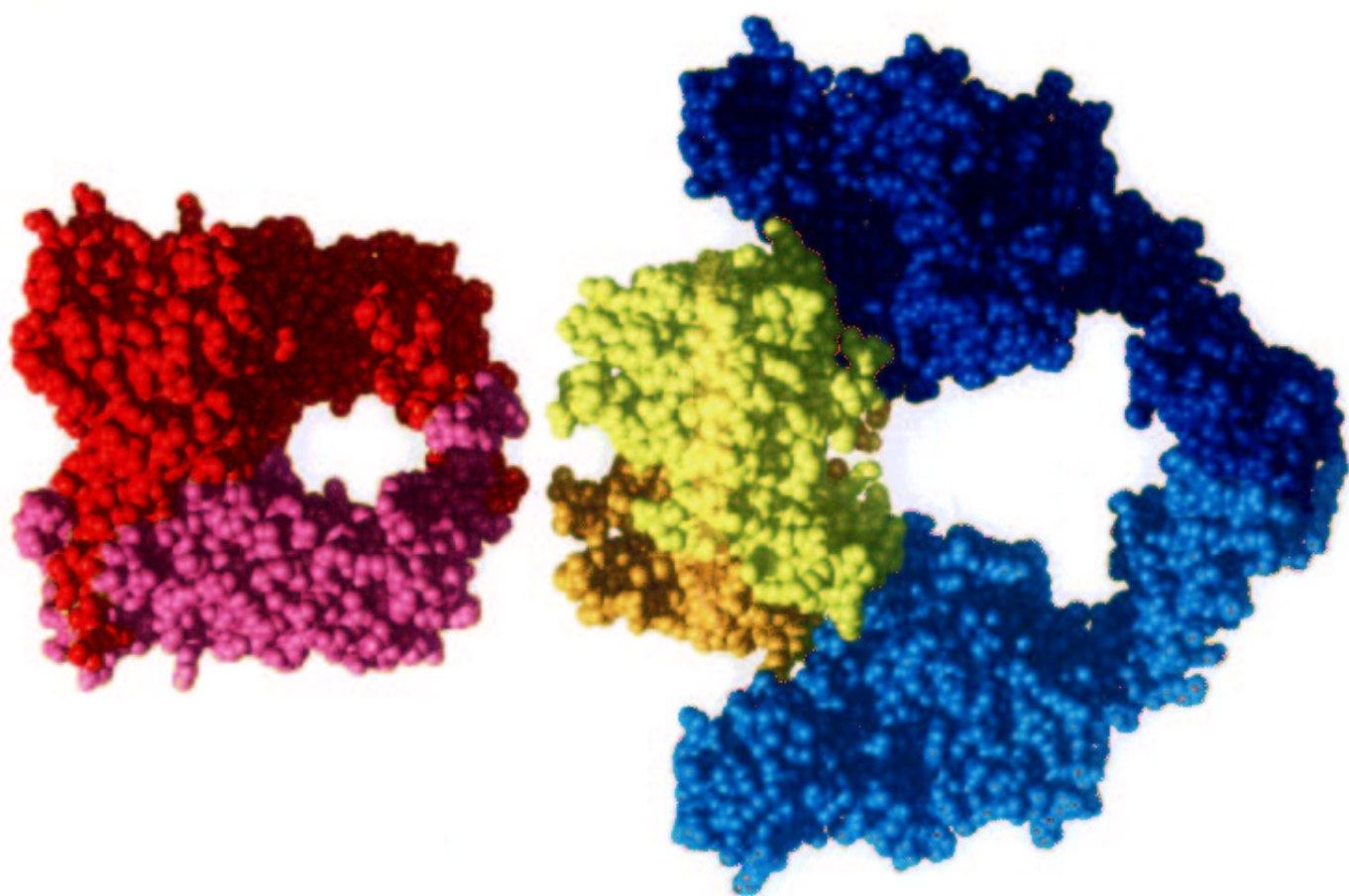
- Relaxe le sous-enroulement ($\sigma < 0$) et le sur-enroulement ($\sigma > 0$)

Schéma d'action de la Topoisomérase II

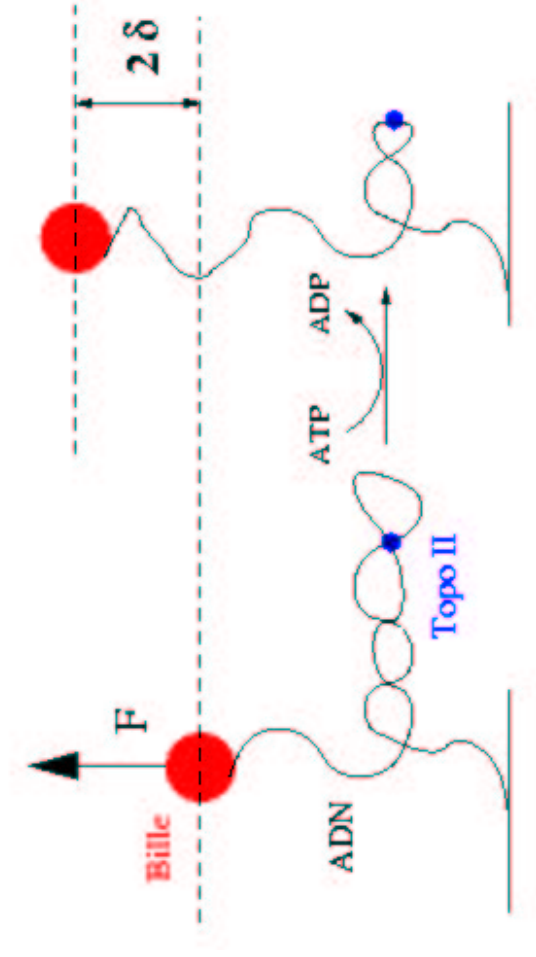


Elle relâche le sur-enroulement de l'ADN et décatène les molécules.

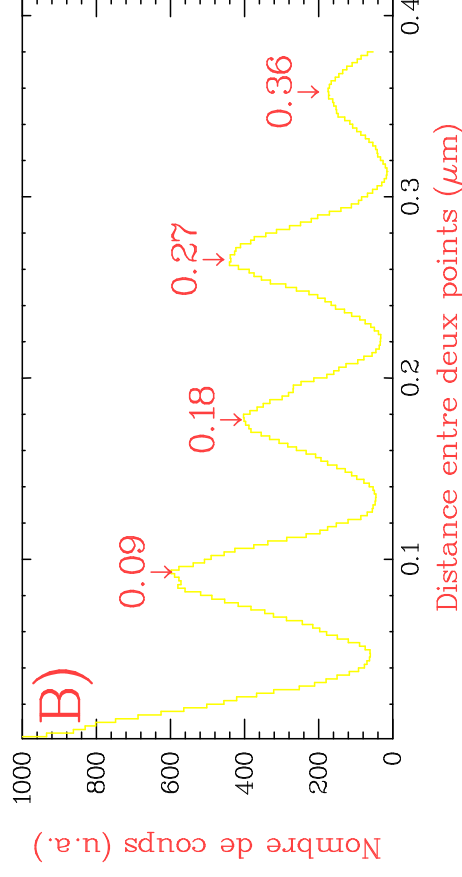
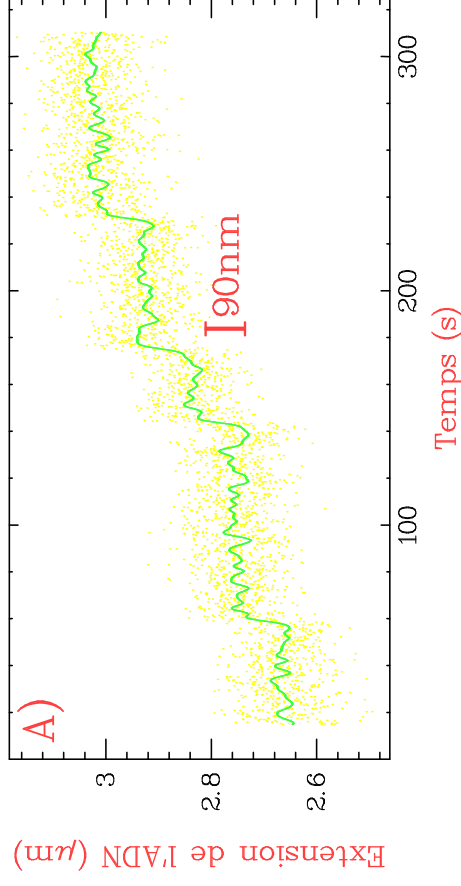
Structure



Action de la topo II sur une molécule d'ADN

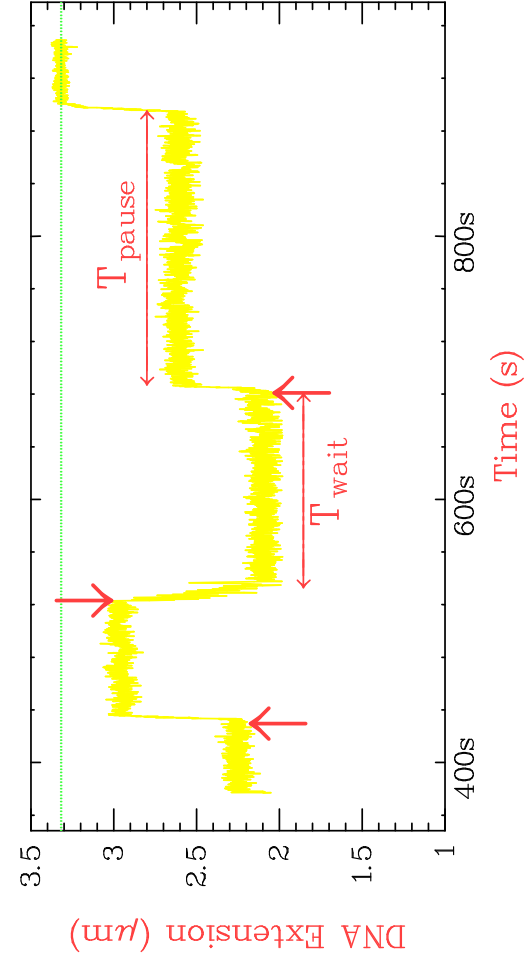


Concentration d'ATP (20 μM).

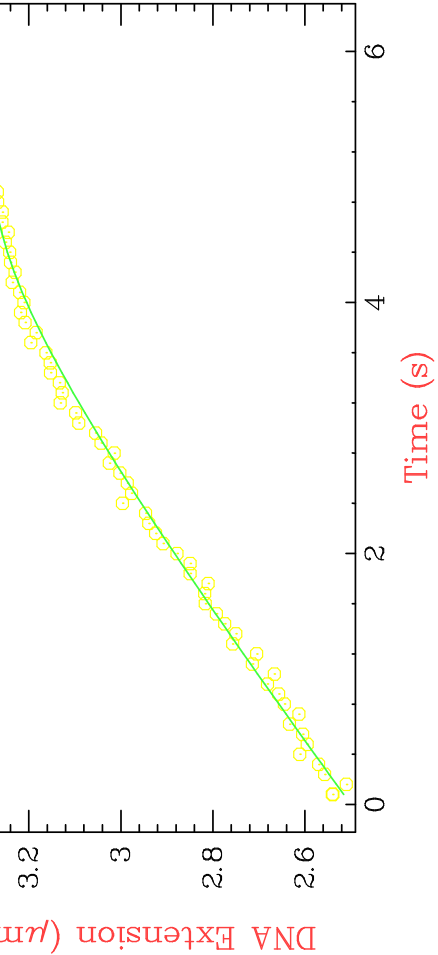
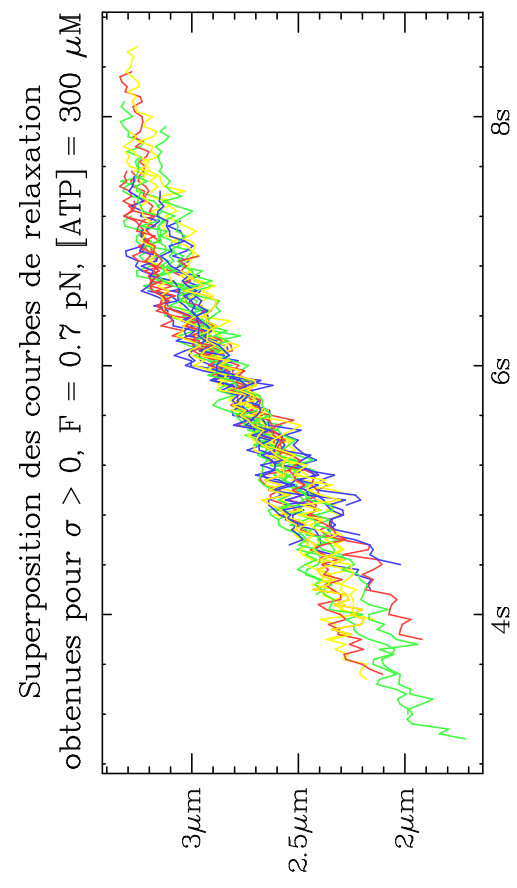


T.R. Strick, V. Croquette, and D. Bensimon. "Single-molecule analysis of dna uncoiling by a type II topoisomerase". *Nature*, 404:901--904, 2000.

Concentration normale d'ATP



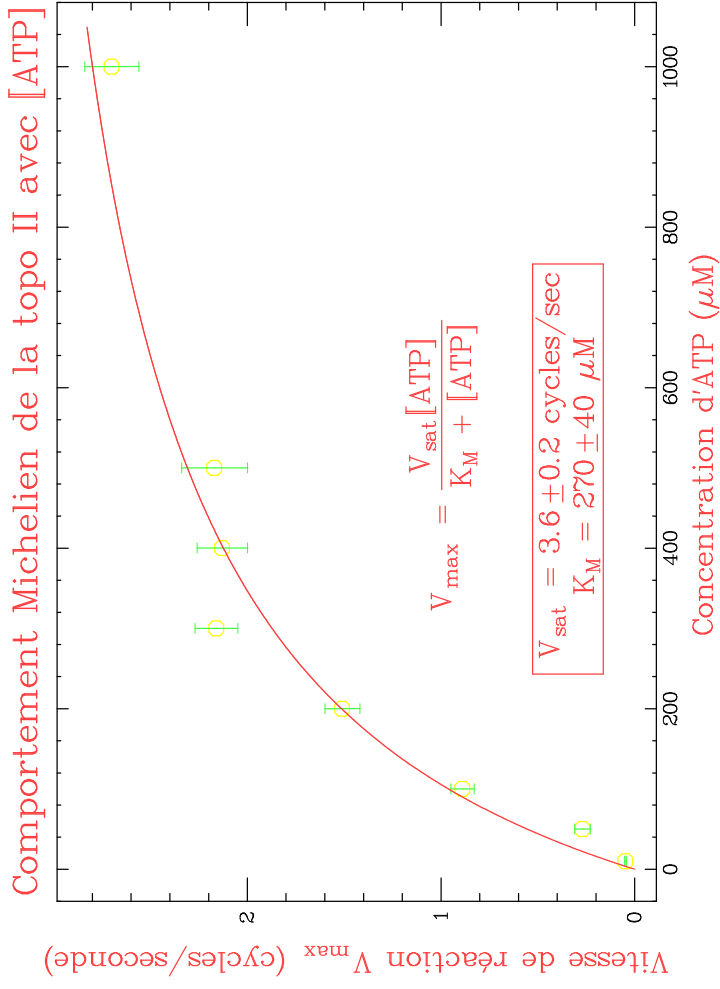
[Topo 2] quelques nM
[ATP] 300 μM



$T_{\text{pause}} \gg T_{\text{action}} \rightarrow$ molécule unique
 $\delta h > 0.5 \mu\text{m} \rightarrow$ La topo II est processive

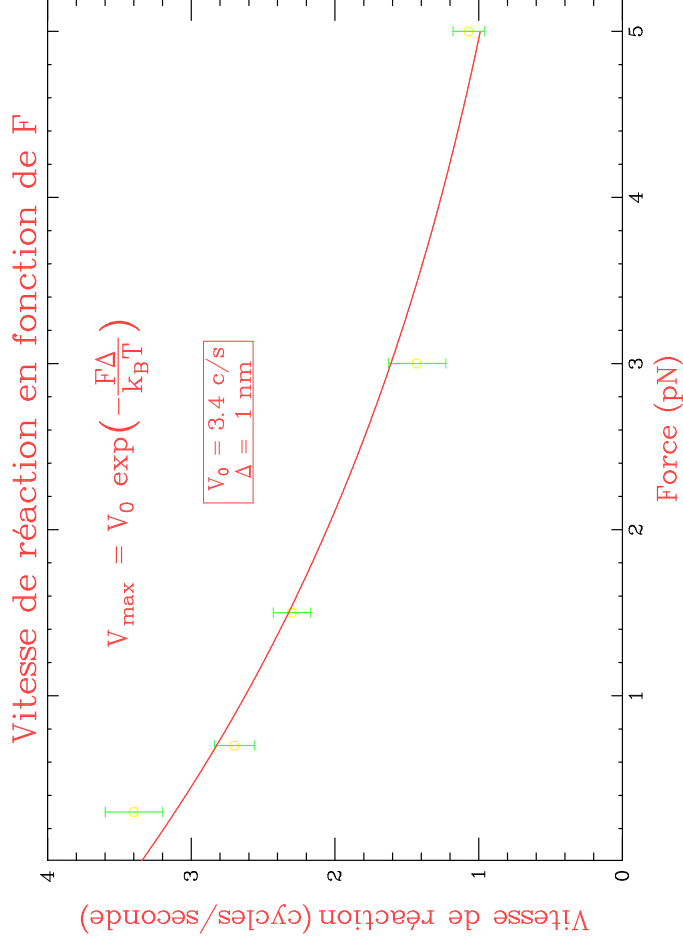
$$\frac{dW_r}{dt} = - \frac{V_{\text{max}} W_r}{k_{1/2} + W_r} \quad \downarrow \quad k_{1/2} \log \left[\frac{l_{\text{max}} - l(t)}{l_{\text{max}} - l(0)} \right] + \frac{l(0) - l(t)}{\delta} = -V_{\text{max}} t$$

La vitesse dépend de [ATP] et de F



→ **même constante de réaction K_M** que dans les expériences en tube à essai.

→ Nous mesurons la vitesse des enzymes actives.

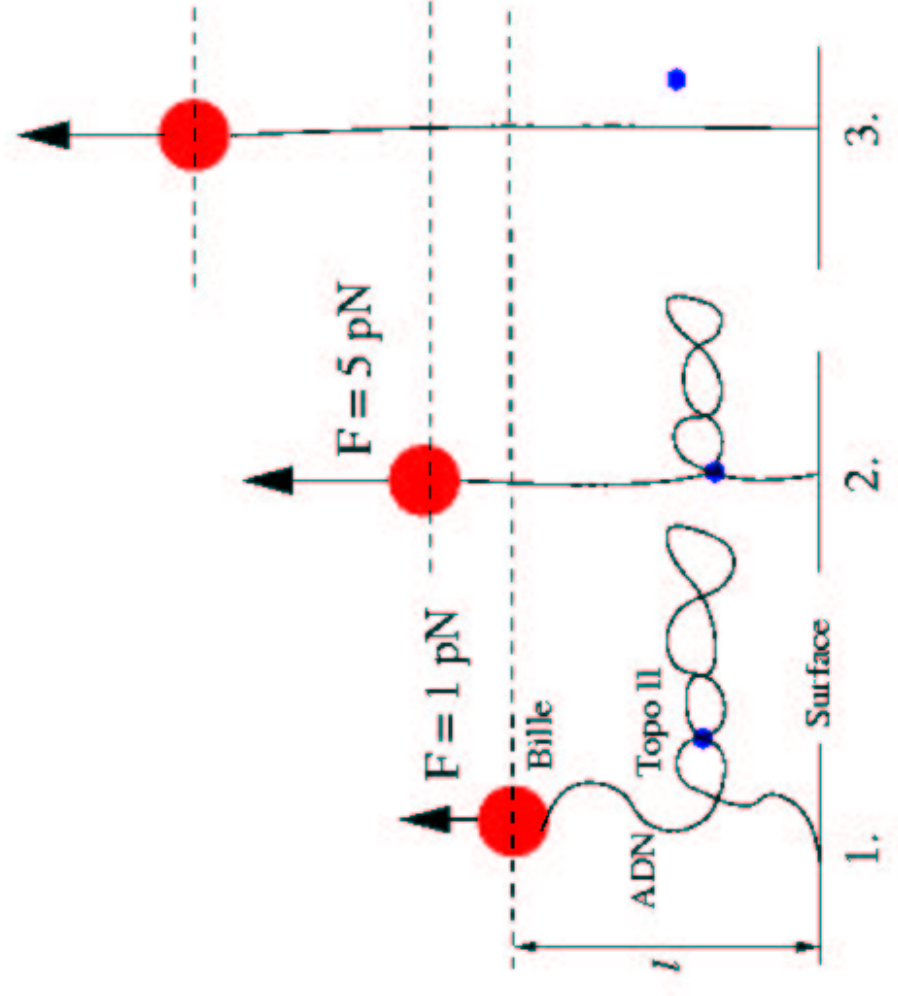
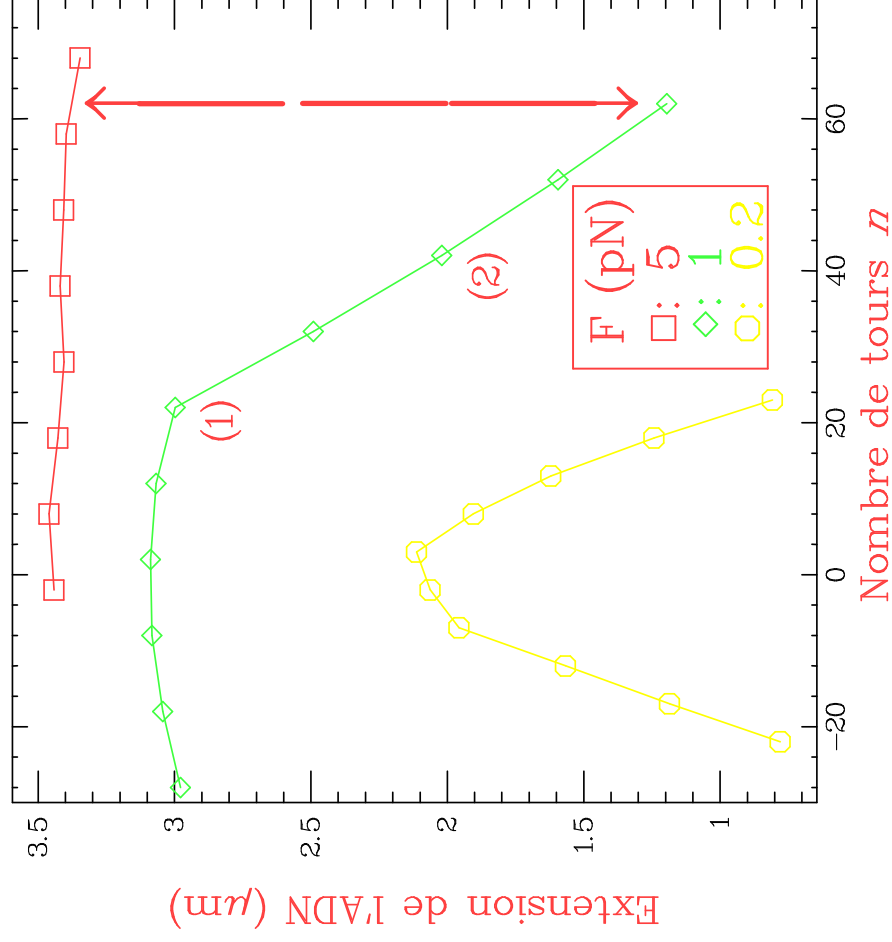


→ La décroissance de la vitesse avec la force → processus d'Arrhénius.

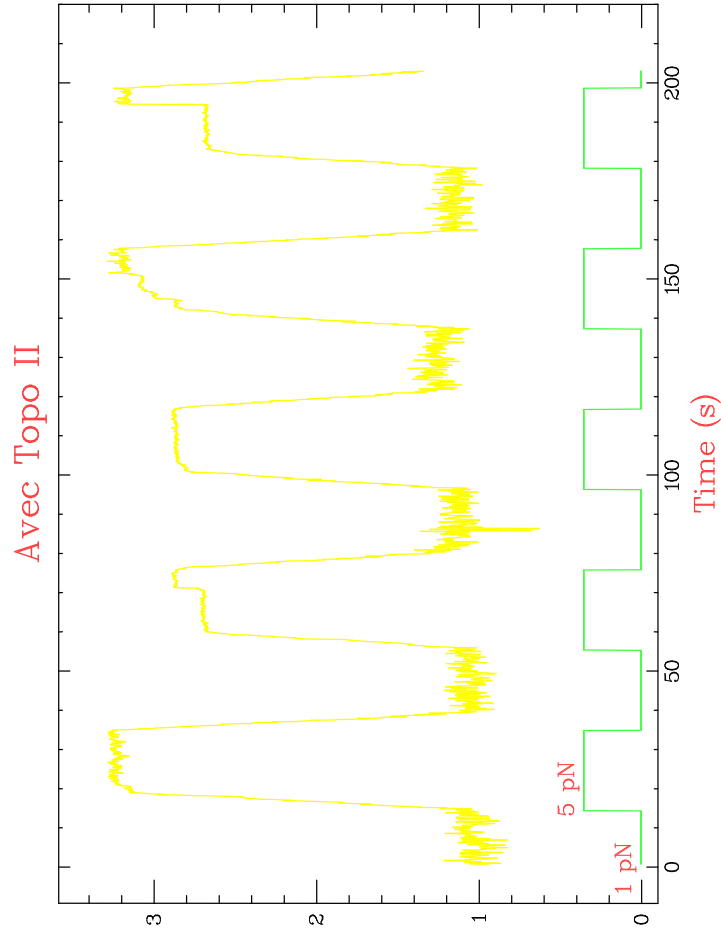
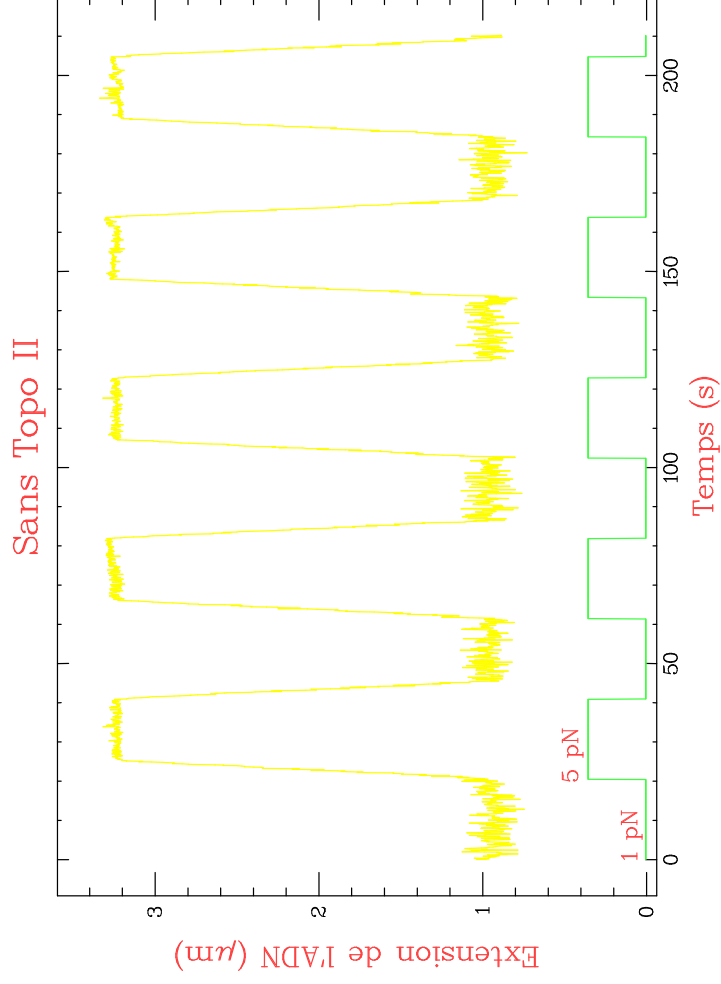
Statistique des pas

la Topo II en l'absence d'ATP

Question : quelle est la nature de l'interaction de la Topo II avec un croisement d'ADN ?



La Topo II se fixe sur un croisement d'ADN



L'accrochage ne permet pas le glissement d'un brin d'ADN. Une Topo II *écran*te d'autres enzymes.

Accrochage et décrochage d'une Topo II

