

6. VUE CAVALIÈRE DE L'ICOSAÈDRE inclus dans le cube, tirée du *Libellus de quinque corporibus regularibus* (Petit livre à propos des cinq corps réguliers) de Piero della Francesca. Le dessin est autographe, le texte d'un copiste inconnu. Piero explique minutieusement comment chacune des six faces du cube contient une arête de l'icosaèdre placée en situation médiane. Cette construction n'est pas dans le livre xv des *Éléments* d'Euclide (écrit en réalité bien après Euclide), et il est probable que Piero souhaite en souligner l'originalité : elle montre en particulier que six des arêtes de l'icosaèdre, bien choisies, sont orthogonales deux à deux. Piero della Francesca est le premier à fournir une visualisation de polyèdres en trois dimensions.

$$x = (\sqrt[4]{160\,000\,M/C} - 20) \text{ deniers.}$$

Cette généralisation n'est toutefois pas donnée par Piero. Au contraire, la formule est faussement présentée comme la résolution de l'équation générale $ax^4 + bx^3 + cx^2 + dx = e$ (avec des coefficients quelconques), et le problème financier apparaît comme un simple exemple de sa validité. Il n'en reste pas moins qu'il a réussi à résoudre une équation particulière du quatrième degré, ainsi que d'autres du troisième et du cinquième degré qui peuvent être obtenues à partir du même problème si l'on applique la durée de trois et de cinq années. Certaines de ces formules ne se trouvent que dans les ouvrages de Piero et peuvent donc lui être attribuées. La découverte peu après, par d'autres mathématiciens, de la formule de résolution des équations du troisième degré vient sans doute de cette habileté dans la manipulation des coefficients, dont Piero a accéléré la mise en place, et de l'encouragement fourni par de tels succès partiels.



La notation algébrique utilisée par Piero est aussi originale ; on la retrouve, avec quelques variantes, chez plusieurs autres mathématiciens de l'époque, mais elle a rapidement disparu, ne laissant derrière elle qu'une trace de l'intérêt intense pour l'algèbre. Tout cela confirme la participation active de Piero au débat algébrique de la seconde moitié du XV^e siècle.

Piero della Francesca, peintre mathématicien, a été l'un des premiers techniciens qui surent devenir des scientifiques. Ce phénomène, conjointement avec l'intérêt des scientifiques pour les techniques, a été décisif dans la «révolution scientifique» de la Renaissance.

Enrico GAMBA est professeur d'histoire des mathématiques à l'Université catholique de Brescia. Vico MONTEBELLI est professeur de mathématiques appliquées.

Davis M. DALY, *Piero della Francesca's Mathematical Treatises*, Longo, Ravenna, 1977.

G.C. ARGAN et R. WITTKOWER, *Perspective et histoire au Quattrocento*, Éditions de la Passion, Paris 1990.

J.-P. LE GOFF, *Aux confins de l'art et de la science : le De prospectiva pingendi de Piero della Francesca*, in : D. Bessot, Y. Hellegouarch et J.-P. Le Goff (éditeurs), *Destin de l'art, desseins de la science*, Actes du colloque ADERHEM de Caen (octobre 1986) diffusion IREM de Basse-Normandie, Caen 1991.

P. COLMAR, *La perspective en jeu*, Éditions Gallimard, Paris, 1992.

D. BESSOT et J.-P. LE GOFF, *Mais où est donc passée la troisième dimension ?*, in *Histoires de problèmes, histoire des mathématiques*, Éditions Ellipses, Paris, 1993.

Piero della FRANCESCA, *Libellus de quinque corporibus regularibus*, Edizione nazionale, Giunti, Florence, 1995.

Les mathématiciens, Bibliothèque Pour la Science, 1996.

Thomas BANCHOFF, *La quatrième dimension*, collection Univers des sciences, Pour la Science, 1996.

L'ADN, ressort moléculaire

J.-F. ALLEMAND • A. BENSIMON • D. BENSIMON • F. CARON • D. CHATENAY
PH. CLUZEL • V. CROUETTE • CH. HELLER • R. LAVERY • A. LEBRUN
T. STRICK • J.-L. VIOVY

Les physiciens et les biologistes explorent les propriétés élastiques de l'ADN. Ils parviennent à manipuler des molécules d'ADN isolées et découvrent ainsi de nouvelles formes de la molécule.

Les biologistes savent depuis longtemps que l'hérédité est contenue dans la cellule, essentiellement sous la forme d'une longue molécule : l'ADN. L'information génétique est enregistrée dans cette molécule par un codage chimique, fondé sur quatre sous-unités, ou nucléotides ; chaque nucléotide est composé d'un groupe sucre, d'un groupe phosphate et d'une des quatre bases : l'adénine (A), la thymine (T), la guanine (G) et la cytosine (C). L'ADN existe normalement sous la forme d'une double hélice qui permet aux bases des deux brins de s'apparier en paires A-T et G-C. Ainsi les deux brins de la molécule portent des copies complémentaires du même message génétique.

Il était alors tentant de comparer cette longue molécule (ou polymère) à une bande magnétique sur laquelle était inscrit le programme de la vie. Dans cette analogie, les chromosomes sont, en quelque sorte, des bobines permettant d'enrouler proprement une molécule d'ADN de dix centimètres de long (pour l'espèce humaine) dans un volume de l'ordre d'un micromètre (ou millionième de mètre) au cube. Cependant, depuis quelques années, cette description semble simpliste : si l'information génétique reste fondamentale, les propriétés mécaniques (dynamiques et statiques) du support de cette information (la molécule d'ADN) se révèlent d'une importance cruciale pour le fonctionnement des cellules.

C'est une surprise, car la monotonie de la structure chimique, avec la répétition de quatre types de sous-unités seulement, n'encourageait pas des explorations chimiques approfondies.

Contrairement aux protéines, dont les chaînes latérales des 20 sortes d'acides aminés permettent de savants repliements et des propriétés catalytiques remarquables, l'ADN semble «cacher» ses bases au centre d'une structure hélicoïdale monotone.

Torsions et entortillements

Tout d'abord, on a observé que la séquence des bases engendrait des modulations de la structure hélicoïdale de l'ADN et de ses propriétés mécaniques : la séquence des bases induit des changements du pas de la double hélice, des courbures locales de la molécule et des variations des distances et des angles de liaisons entre les paires de bases. Un exemple est donné par l'étude du mode d'action de l'enzyme nommée désoxyribonucléase I. Cette protéine coupe les brins d'ADN ; on a longtemps cru qu'elle agissait en des points aléatoires de la séquence, mais une étude fine a révélé que l'enzyme agit en coupant l'ADN en des sites préférentiels où la molécule d'ADN est plus flexible.

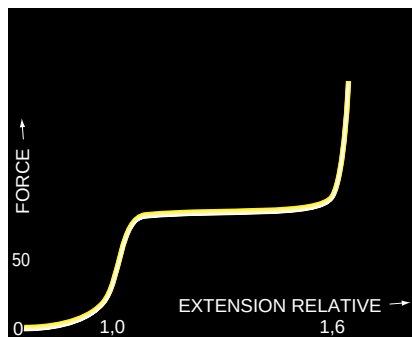
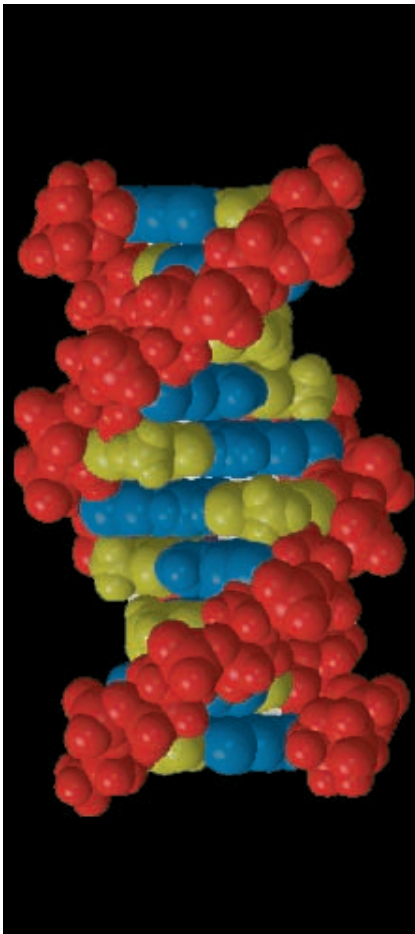
Plus récemment, l'étude des phénomènes de recombinaison dans le micro-organisme *Escherichia coli* a montré qu'une autre enzyme, nommée Rec A, assure la formation de triples brins d'ADN stables : dans ces structures, un troisième brin identique à l'un des deux brins de la double hélice, vient se loger parallèlement au brin de même séquence, dans le grand sillon de la double hélice initiale. Sontanément, une triple hélice ne se forme pas quand on mélange une double hélice d'ADN avec l'un des deux brins, et le nouveau mode d'appariement

résulte d'un étirement de la double hélice, à la suite de son interaction avec l'enzyme Rec A. Autrement dit, l'extensibilité de l'ADN pourrait jouer un rôle dans les mécanismes cellulaires de reconnaissance par la séquence.

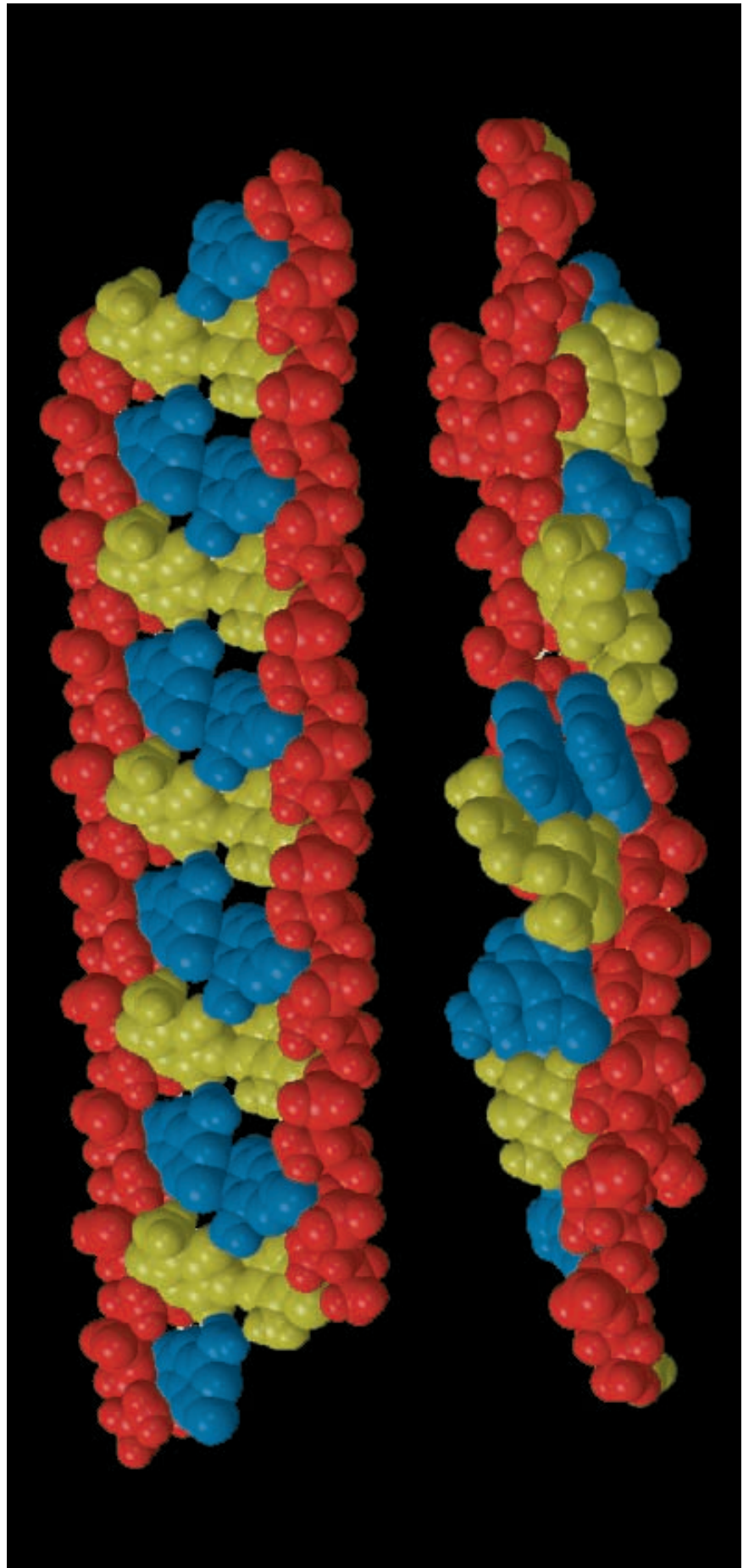
Depuis une dizaine d'années, on comprend que l'ADN peut également être surenroulé ou sous-enroulé : la double hélice peut être comme un cordon de téléphone qui a été tourné sur lui-même, soit dans le sens de l'enroulement de base, soit dans le sens contraire. On a compris que les propriétés de torsion et de superhélicité sont de deux types : locales ou à longue distance. Dans les effets locaux, la superhélicité négative (sous-enroulement) peut induire ou faciliter la séparation des deux brins d'une double hélice (cette séparation joue un rôle dans le démarrage de la transcription et de la réplication). La superhélicité peut aussi déclencher des changements de structure, la double hélice adoptant une forme de croix ou s'enroulant dans le sens inverse du sens habituel.

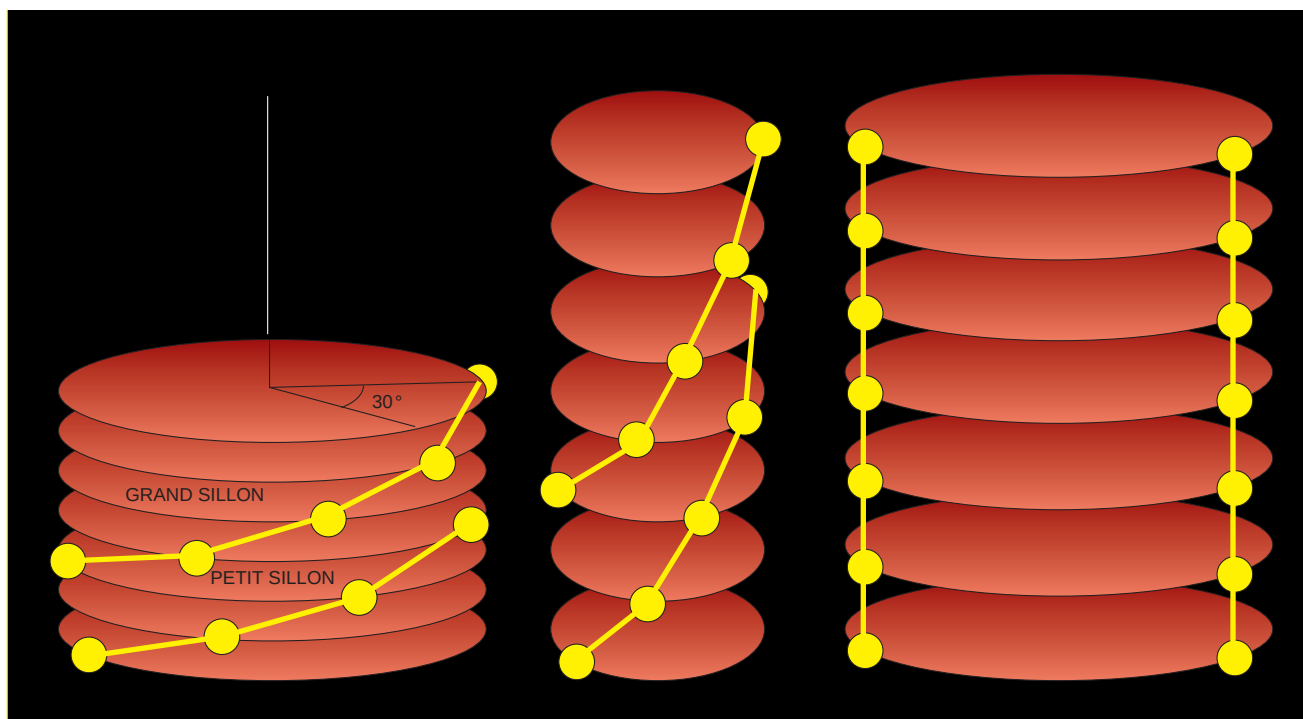
D'une manière plus subtile, un changement de torsion de la molécule provoque des entortillements de l'axe de la double hélice en des structures dites «plectonémiques» ou «solénoïdales», à la façon d'un cordon de téléphone (voir la figure 3). Ces repliements qui rapprochent des séquences éloignées permettent ainsi l'interaction de gènes distants sur l'ADN. Ils créent aussi des courbures locales qui favorisent l'action de certaines enzymes.

Les effets à longue distance sont faciles à imaginer : une contrainte de torsion locale peut se propager ou se diluer par relaxation le long d'une



1. L'ADN est une molécule en forme de double hélice dont les physiciens explorent l'élasticité. Quand ils tirent sur les extrémités d'un ADN sous la forme B, ou forme normale (*ci-dessus*), ils observent des comportements différents (*ci-contre*) selon les extrémités des brins sur lesquelles ils tirent. Le brusque allongement observé, quand la force de traction augmente progressivement (*courbe ci-dessus*), correspond à une modification de structure de l'ADN : les modélisations par ordinateur révèlent que la forme normale, ou forme B, se transforme en une structure allongée (*à droite*), dont le diamètre est inférieur à celui de la molécule initiale. Sur les modèles moléculaires, les brins composés des groupes phosphate et des groupes sucre sont en rouge, et les bases sont en bleu et en jaune.





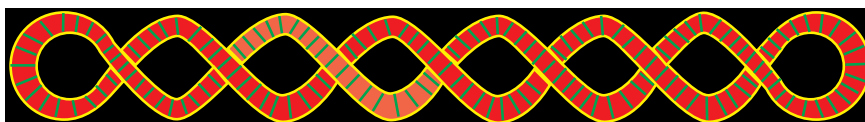
2. L'ÉTIREMENT DE L'ADN (en jaune) peut, selon les cas, conduire à deux types de structures : soit le diamètre de la molécule est réduit, soit la molécule se déroule. Le type de déformation effectivement

observé dépend des extrémités de la molécule sur lesquelles les forces de traction sont exercées. Sur cette figure, on a représenté par des sphères jaunes les points d'attache des bases.

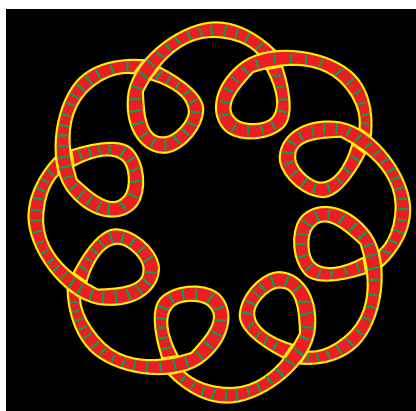
double hélice. Un exemple très révélateur a été la découverte des vagues de superhélicité positives et négatives engendrées par le déplacement de l'enzyme nommée ARN polymérase (voir la figure 5) : cette dernière, qui synthétise l'ARN à partir de l'ADN, forme un gros complexe de forte inertie avec la chaîne naissante d'ARN sur laquelle des structures nommées ribosomes commencent à se fixer afin de fabriquer les protéines codées par les gènes. Cette inertie peut même être renforcée par un attachement à des membranes,

comme dans le cas de la synthèse de protéines qui sont excrétées par les cellules ou qui vont se loger dans les membranes. Lorsque le complexe formé autour de l'ARN polymérase se déplace le long de la molécule d'ADN, afin de transcrire l'ADN en ARN, il conserve son orientation, en raison de sa liaison à la membrane, de sorte que c'est la double hélice qui tourne autour de son axe. Toutefois, la double hélice ayant également une forte inertie, le déplacement de l'ARN polymérase augmente la torsion (suren-

roulement) en avant du complexe de transcription et la diminue (déroulement) en arrière. Ces modifications devraient ralentir considérablement la progression de l'ARN polymérase, qui aurait à dérouler une hélice excessivement tordue. Cependant des enzymes cellulaires nommées topo-isomérases relaxent ces tensions de surenroulement ou de déroulement en coupant un des brins et en laissant les deux brins tourner l'un autour de l'autre jusqu'à ce que la torsion soit nulle. Ces actions enzymatiques ont un délai d'action, de sorte que la propagation et l'interaction de ces contraintes locales peut favoriser ou inhiber l'expression des gènes voisins.



3. LA DOUBLE HÉLICE d'ADN est généralement sous-enroulée d'environ cinq pour cent, ce qui la conduit à présenter des entortillements analogues à ceux des cordons de téléphone. Ces structures qui se nomment pleconèmes sont, selon les conditions, linéaires (en haut) ou solénoïdales (en bas). Ces entortillements engendrent des zones de forte courbure et des zones de courbures réduites (respectivement les extrémités et la partie centrale de la structure ci-dessus), que diverses enzymes peuvent modifier. Les biologistes découvrent aujourd'hui que ces parties de courbure différente de la courbure moyenne résultent de la séquence particulière de l'ADN, c'est-à-dire de la nature des sous-unités dont l'enchaînement constitue l'ADN.



Les deux élasticités de l'ADN

Dans cet article, nous examinerons l'importance des techniques de physique dans l'étude des propriétés d'élasticité de l'ADN. Nous envisagerons successivement les propriétés d'extensibilité et de superhélicité.

Pour étudier l'élasticité d'une molécule telle que l'ADN, il faut pouvoir l'attraper par les deux bouts. C'est possible avec l'ADN, car les biologistes maîtrisent l'utilisation des enzymes qui coupent, qui réparent, qui acco-

lent d'autres molécules sur un brin d'ADN. Les biologistes disposent également de «scotch» moléculaire spécifique : la biotine présente ainsi une grande affinité pour l'avidine (une protéine), et la dioxygénine vient s'accrocher à son anticorps : l'anti-dioxygénine. Or on sait accrocher une molécule de biotine à une extrémité de l'ADN, et une dioxygénine à l'autre extrémité. L'ADN ainsi préparé se lie spontanément à une bille couverte d'avidine, d'un côté, tandis qu'il se lie à une surface couverte d'anti-dioxygénine de l'autre côté. Toutes les expériences que nous allons considérer utilisent de telles fixations.

On s'attend à détecter deux régimes d'élasticité de l'ADN : un régime élastique à hautes forces, où la molécule est complètement étirée et où la force appliquée à la molécule conduit à des déformations élastiques, réversibles : dans ce régime, l'ADN réagit comme un ressort d'acier.

Le second régime est celui des forces faibles : les nombreux chocs des molécules d'eau contre la molécule d'ADN replient cette dernière en une pelote qui fluctue sans cesse ; quand on étire cette pelote, les chocs perpendiculaires à la direction d'étirement sont plus efficaces que ceux qui s'exercent dans la direction d'étirement et tendent à raccourcir la molécule, ce qui conduit à une élasticité du même type que celle qui est responsable des spectaculaires propriétés élastiques du caoutchouc (on décrit également cette force par la notion d'entropie : dans la configuration naturelle, les fluctuations conduisent à un désordre, ou entropie, maxi-

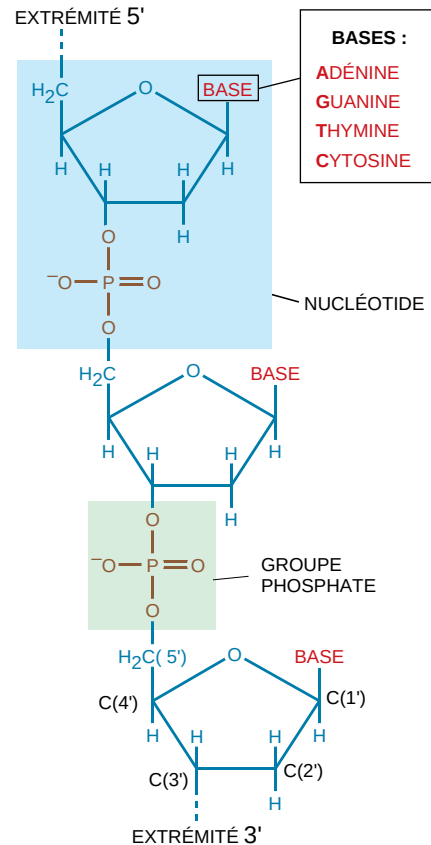
mal ; dans la configuration étirée, l'allongement de la molécule réduit le désordre moléculaire).

Tant que l'extension de la molécule d'ADN est faible, seule l'élasticité entropique joue un rôle, mais dès que cette extension est du même ordre de grandeur que la longueur de la molécule, l'élasticité intrinsèque des liaisons chimiques domine. La transition entre les deux régimes se fait pour une force de dix piconewtons environ (dix millièmes de milliardième de newton).

L'ADN étiré

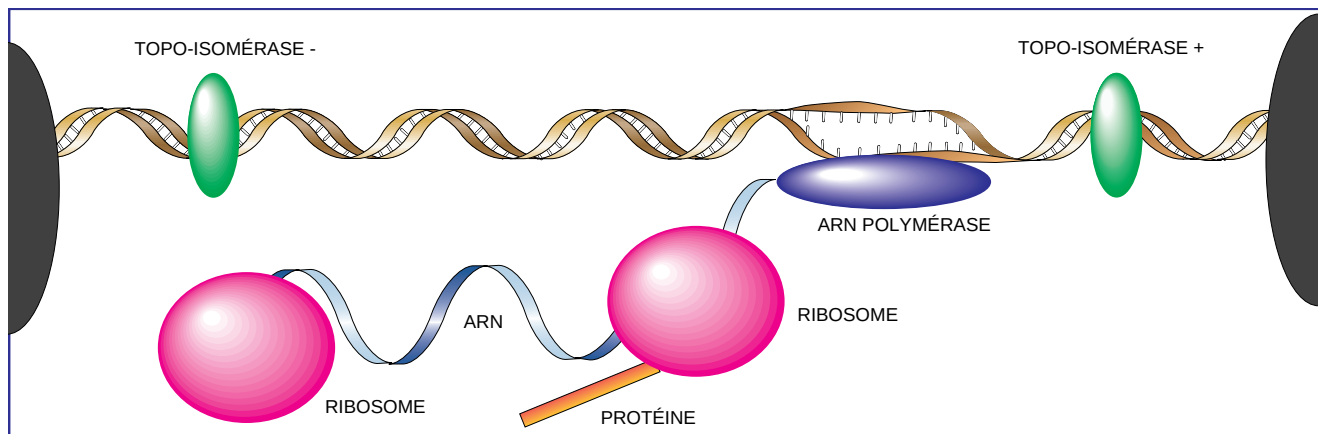
Les premières mesures de ce type ont été effectuées en 1992, par Carlos Bustamante et ses collègues de l'Université de l'Oregon. Ils utilisaient une combinaison de forces hydrodynamiques et magnétiques exercées sur une bille magnétique ; celle-ci était fixée à l'extrémité d'un brin d'ADN qui était attaché par l'autre extrémité à une lamelle de microscope. La bille était ainsi soumise à trois forces : une force hydrodynamique créée par l'écoulement d'un liquide, une force magnétique créée par un aimant, et la force d'élasticité de l'ADN. En variant la force hydrodynamique, les physiciens américains ont observé que la bille prenait diverses positions d'équilibre à partir desquelles ils ont constitué un diagramme où l'extension était portée en fonction de la force.

Ce type d'expériences nécessite des calibrations (pour chaque type de forces) difficiles, notamment en raison des interactions de l'ADN, de la bille



4. CHAQUE BRIN de la molécule d'ADN est un enchaînement de nucléotides. Les nucléotides sont composés d'un sucre nommé désoxyribose (cycles pentagonaux), d'un groupe phosphate (en vert) et d'une base. L'appariement des bases complémentaires A et T, et G et C, permet de lier deux brins ensemble, formant ainsi une double hélice.

et des parois. Néanmoins ces expériences ont une remarquable sensibilité dans le domaine des très faibles forces (inférieures à un piconewton). Les essais de traction sur l'ADN se terminent souvent lorsque la liaison la



5. DIVERSES ENZYMES modifient l'enroulement de l'ADN. Les enzymes ARN polymérases (en bleu) fabriquent un brin d'ARN en ouvrant localement la double hélice et en assemblant des nucléotides à la chaîne d'ARN en croissance. Des complexes d'acides nucléiques et de protéines nommés ribosomes (en rouge) se lient à cet ARN pour

assembler les protéines codées par les gènes. Comme l'ADN est généralement tenu à ses extrémités, et comme l'ARN polymérase a une forte inertie, la chaîne d'ADN est entortillée par la transcription. Des enzymes nommées topo-isomérases, devant et derrière l'ARN polymérase, ouvrent l'ADN et le détortillent.

plus faible cède : c'est généralement la liaison de l'ADN à la surface. Toutefois une technique de «peignage moléculaire», que nous avons récemment mise au point, donne accès à la force de rupture de la molécule. Cette technique utilise des surfaces spécialement traitées, sur lesquelles l'ADN s'ancre spontanément par ses extrémités. Lorsque la solution aqueuse où baigne l'ADN s'évapore, la partie de la molécule en solution est entraînée par le déplacement de l'interface eau-air (ménisque), car l'ADN, hydrophile, se place plutôt dans l'eau que dans l'air. La partie de la molécule qui se trouve derrière cette interface (à l'air) adhère fortement à la surface après s'être alignée perpendiculairement au ménisque, comme les algues sur la plage quand la marée descend. En marquant l'ADN par une sonde fluorescente, on visualise les molécules ainsi étirées. Par cette technique, nous avons ainsi montré qu'une molécule s'allonge plus de deux fois avant de casser, lorsque l'intensité de la force attei-

gnait 500 piconewtons. Nous avons également étudié l'ADN dans son régime élastique à «haute force» jusqu'à la rupture de sa liaison avec la surface. Le principe de ces nouvelles expériences est inspiré des techniques utilisées en microscopie à force atomique, et des mesures réalisées sur les protéines mus-

culaires par T. Yanagida et ses collègues de l'Université d'Osaka : on fixe une des extrémités d'un brin d'ADN à un ressort de rigidité connue et l'autre extrémité à une bille dont on commande la position, afin de définir l'extension du brin.

En pratique, le ressort est une fibre optique dont on mesure la flexion. La constante de rigidité de la fibre est imposée par sa forme (diamètre et longueur). Par une attaque chimique, on peut réduire le diamètre de la fibre jusqu'à dix micromètres (ou millièmes de mètre). Pour déterminer sa flexion, nous envoyons un faisceau laser dans la fibre, dont l'extrémité apparaît comme un point lumineux intense, dont on mesure le déplacement à l'aide d'une photodiode située derrière un microscope. Grâce à l'agrandissement dû au microscope, on obtient aisément une sensibilité dans les mesures de déplacement de l'ordre du nanomètre (milliardième de mètre). On commande l'extension de l'ADN en déplaçant la bille à l'aide d'un micromanipulateur piézo-électrique sur lequel est fixé une pipette qui tient la bille par aspiration.

Le micromanipulateur permet de déplacer la bille sur des distances de 20 micromètres, à 20 nanomètres près. Un micro-ordinateur impose les déplacements de la bille tout en enregistrant la position de la fibre.

Plusieurs précautions sont à prendre pour réaliser des expériences contrôlées et reproductibles. Tout d'abord, les expériences doivent être réalisées dans des cellules thermostatées de petite dimension, afin de limiter la convection du fluide où se déroulent les expériences. Celles-ci ayant lieu en milieu ouvert, il est également utile de placer, à la surface libre du liquide, une mince couche d'une huile visqueuse qui évite toute évaporation. Il faut également isoler le dispositif expérimental des vibrations extérieures.

Les mesures révèlent un résultat inattendu : l'existence d'une transition

de structure de l'ADN, lorsque l'extension est supérieure à la longueur normale de la molécule. Cette transition se traduit par une extension de la molécule, lorsque la force appliquée reste quasi constante et égale à 70 piconewtons ; elle disparaît si l'on réalise la même expérience en présence de bromure d'éthidium, un composé qui, en s'insérant entre deux paires de bases, allonge la double hélice, redresse ses montants et change l'hélicité de l'ADN.

Modélisation de l'étirement

Par ordinateur, on a modélisé l'extension observée et confirmé qu'elle révèle la présence d'une forme étirée, où les bases restent appariées, mais s'inclinent le long de l'axe d'étirement, jusqu'à devenir presque parallèle à lui. Simultanément le grand sillon s'ouvre, ce qui favorise l'accès aux bases. Ce résultat pourrait être important pour comprendre certains phénomènes de reconnaissance d'acides nucléiques, l'allongement dû à la transition étant semblable à celui qu'induit l'enzyme Rec A.

Pour comprendre ce qui se passe quand on étire la double hélice d'ADN, il faut d'abord constater la quasi-invariabilité de la distance qui sépare les points d'attache des bases consécutives sur les brins d'ADN. Il est possible d'allonger l'ADN d'un facteur deux, soit en réduisant son diamètre et en conservant un enroulement quasi constant, soit en réduisant son enroulement (voir la figure 2). Pour atteindre la limite d'extension de l'ADN mesurée par peignage, il faut donc invoquer l'un de ces deux mécanismes, couplés à des étirements relativement faibles, au sein de chaque brin.

Pour mieux comprendre ces changements de conformation liés à l'étirement de l'ADN, nous avons entrepris une étude de modélisation moléculaire et cherché la conformation molé-



6. ON MESURE l'allongement de l'ADN en le couplant à une fibre optique, d'un côté, et à une bille métallique, de l'autre. On aspire

alors la bille à l'aide d'une pipette actionnée par un micromanipulateur à cristal piézo-électrique.

culaire la plus stable en fonction de la longueur de l'ADN, de sa séquence de bases et de la façon de l'étirer. Nous avons simulé l'étirement d'ADN ayant des séquences simples et répétitives (par exemple, *GCGCGCGC...* ou *ATA-TATAT...*). Notons tout d'abord que, selon les extrémités des brins que l'on tire, la molécule peut se déformer différemment. Ainsi, si l'on étire deux extrémités n'appartenant pas au même brin, les paires de bases s'inclinent dans la direction de ces extrémités. Les extrémités des brins sont notées 5' et 3' selon l'orientation des sucres, comme indiqué dans la figure 4. Puisque les deux brins de l'ADN sont antiparallèles, chaque bout de la molécule comporte une extrémité 5' et une extrémité 3'.

Quand on étire l'ADN par les deux extrémités 3', l'hélice s'allonge principalement en se déroulant, et les paires de base se séparent le long de l'axe de la molécule. Pendant l'étirement, les bases restent quasi perpendiculaires à l'axe de la double hélice, et la conformation finale ressemble à une échelle droite, avec les paires de base au centre, et les bords formés par les brins désoxyribose-phosphate. Au-delà d'une extension supérieure à 2,1, les brins ne peuvent plus s'allonger et les liaisons entre les paires de base cèdent.

Quand on étire l'ADN par les deux extrémités 5', la déformation de la double hélice résulte principalement d'une réduction de diamètre, en raison d'une forte inclinaison des bases. L'ADN ainsi étiré ressemble à une fibre mince, la déformation rapprochant les deux brins désoxyribose-phosphate sur le côté du petit sillon de la molécule et exposant les bases du côté du grand sillon. Elle conduit également à la rupture progressive des liaisons entre les paires de base et, comme dans le cas de l'étirement par les extrémités 3', les paires de bases sont complètement séparées au-delà d'une extension d'un facteur supérieur à 2,1.

Enfin, quand on étire les deux extrémités d'un même brin, ou les deux brins simultanément, la conformation finale ressemble soit à la conformation obtenue par traction sur les deux extrémités 5', soit à la conformation obtenue par traction sur les extrémités 3', selon la séquence des bases. Quelle que soit la façon d'étirer l'ADN, la modélisation confirme que l'extension est principalement associée

au repositionnement relatif des deux brins de la double hélice. Le changement de conformation interne des brins résulte de deux phénomènes : une augmentation de certains angles que font les liaisons entre les atomes de carbone, d'oxygène et de phosphore ; une rotation autour de la liaison entre le sucre et la base (angle glycosidique) qui permet la réorientation des bases par rapport au brin.

Du point de vue énergétique, l'étirement par les extrémités 5' semble plus facile que l'étirement par les extrémités 3', car il conserve mieux l'empilement des paires de bases.

La superhélicité

Nos études de la superhélicité de l'ADN s'inspirent, enfin, de celles de C. Bustamante, mais avec la possibilité d'ajouter une torsion à la molécule. Elles apportent, par ailleurs, des améliorations qui en étendent et simplifient l'analyse, permettant l'accès direct au diagramme force-extension, sans calibrage des forces.

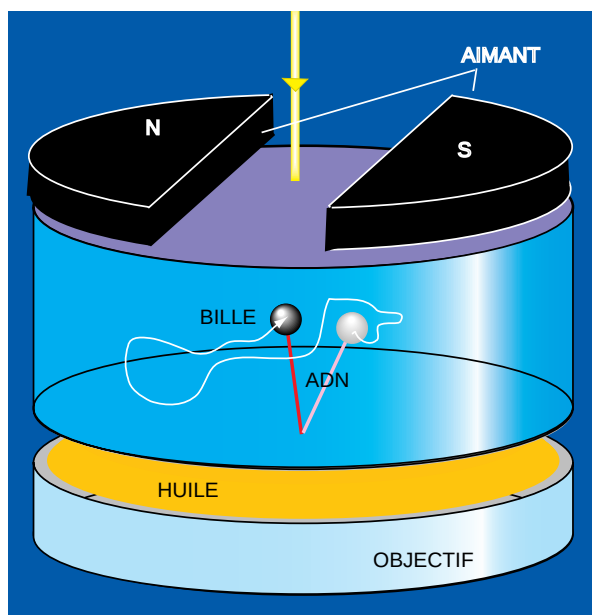
La molécule d'ADN étant ancrée par une de ses extrémités à une surface, l'autre extrémité est tirée par une microbille magnétique (l'ancrage est ici réalisé en plusieurs points, de sorte que l'extrémité ancrée ne puisse pas tourner par rapport à la surface). En présence d'un aimant, la bille est soumise à une force magnétique d'autant plus grande que l'aimant est plus près. Toutefois la microbille se comporte comme une boussole : on peut la faire tourner en faisant tourner l'aimant. À l'aide du système représenté sur la figure 7, on peut alors tirer et enrouler simultanément l'ADN. On peut alors étudier l'élasticité de la molécule après l'avoir enroulée d'un nombre de tours déterminés.

En utilisant des billes de diverses grosseurs et des aimants qui focalisent le champ magnétique sur les billes, on peut exercer des forces comprises entre 0,005 et 100 piconewtons, gamme qui permet

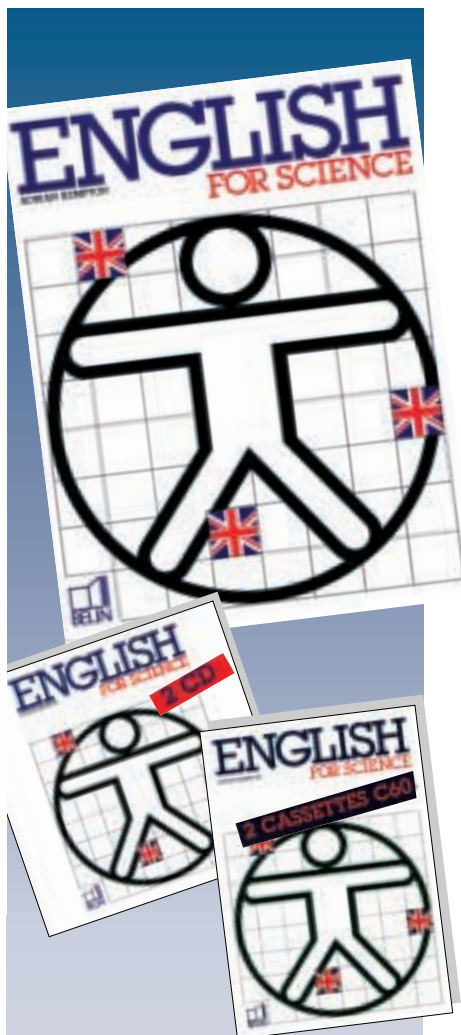
d'étudier l'élasticité de la molécule aussi bien dans son régime entropique que dans son régime élastique. On mesure alors la force appliquée à la bille en observant le mouvement brownien de celle-ci : plus la force de traction sur la molécule d'ADN est grande, plus le mouvement brownien est de faible amplitude. En enregistrant les fluctuations thermiques de la bille grâce à un ordinateur, on réalise une mesure de force sans contact.

Cette technique a plusieurs avantages : comme il suffit d'observer, on peut étudier des échantillons fermés, à l'abri de toute contamination (celle de l'expérimentateur, notamment), et comme la force est inversement proportionnelle au carré des fluctuations, elle permet une très large gamme de mesures. Le seul inconvénient est la durée des mesures : pour estimer précisément les fluctuations, il faut enregistrer le mouvement brownien pendant plusieurs dizaines de minutes.

Ces études révèlent la dépendance de l'élasticité entropique d'une seule molécule d'ADN en fonction de l'enroulement. Comme notre expérience quotidienne avec des cordons de téléphone le montre, une molécule sur-enroulée ou sous-enroulée est plus rigide que la même molécule quand elle est relaxée. Lorsque la force de traction atteint 0,4 piconewton, indépen-



7. ON TORD ET ON ÉTIRE L'ADN dans une cellule où la molécule est fixée à sa base au fond de la cellule et liée, à l'autre extrémité, à une bille magnétique sur laquelle agit un champ magnétique. On détermine l'élasticité de la molécule d'ADN en étudiant le mouvement brownien de la bille.



ENGLISH FOR SCIENCE

Enrichissez et améliorez
votre vocabulaire,
maîtrisez les expressions
et la prononciation
de l'anglais scientifique.

Le livre : 256 pages – 135 F **Code 1647**

Le corrigé : 112 pages – 50 F **Code 1648**

2 cassettes : 250 F **Code 0680**

Le CD : 250 F **Code 0699**



Bon de commande en p. 98

damment du degré d'enroulement de la molécule, l'ADN sous-enroulé s'allonge brusquement. Cette transition reflète sans doute la formation de régions d'ADN dénaturé (ce que nous nommons des bulles) dans la structure double hélice standard, dite forme B, en raison d'une dissociation des paires de bases. En absorbant le déficit d'enroulement, ces bulles permettent la relaxation torsionnelle du reste de la molécule. À des forces supérieures (au-delà de un piconewton), l'extension de la molécule est similaire à celle d'un ADN relaxé.

On observe un comportement qualitativement similaire pour une molécule d'ADN surenroulée, mais à des forces d'intensité supérieure. La molécule d'ADN étant chirale (enroulée comme une vis), on s'attend bien à des différences selon qu'on l'enroule dans le sens de l'hélice (surenroulement) ou dans le sens inverse. De fait, à partir d'une force critique de trois piconewtons, environ, la molécule surenroulée s'allonge brusquement. Comme précédemment, cette transition révèle la présence de zones qui absorbent l'excès de surenroulement, probablement par la formation d'une forme plus enroulée que la forme B naturelle ou par dénaturation partielle de la molécule (formation de bulles).

Ces expériences indiquent qu'une molécule d'ADN enroulée et soumise à des tractions relativement faibles peut modifier localement sa structure afin de réduire ses contraintes de torsion. Elles sont en très bon accord avec une théorie récente due à J. Marko et E. Siggia, de l'Université Cornell. Celle-ci décrit l'ADN comme un fil, caractérisé par des modules de flexion et de torsion, en équilibre thermodynamique avec la solution environnante. Les brusques transitions observées dans nos expériences sont bien décrites par les différences d'énergie entre la forme B de l'ADN et ses autres structures.

Autrement dit, nous disposons d'un système expérimental dont la compréhension théorique nous permettra d'aborder des phénomènes plus complexes, telle l'interaction de l'ADN et de certaines protéines, notamment les enzymes topo-isomérases qui assurent la relaxation des contraintes de torsion dans l'ADN, lors de la transcription de la molécule en ARN et de sa réplication.

L'ensemble des résultats présentés ici montrent le rôle considérable que peuvent jouer les propriétés élastiques de l'ADN. Dans les prochaines années, on s'efforcera de comprendre le rôle physique de la superhélicité dans les phénomènes cellulaires aussi fondamentaux que l'initiation de la transcription ou le démarrage de la réplication, et aussi le rôle de l'extensibilité de la molécule dans les phénomènes de reconnaissances mutuelles entre acides nucléiques, par leurs séquences.

Un des aspects fondamentaux de la mécanique cellulaire réside dans l'interaction des protéines et de l'ADN. Les biologistes disposent aujourd'hui de tous les outils permettant de connaître l'agencement chimique des molécules, mais peu de moyens sont à leur disposition pour aborder la dynamique de ces protéines. Quelques belles expériences ont été réalisées récemment : notamment Hong Yin et ses collègues de l'Université Brandeis ont utilisé des pinces optiques pour mesurer la force que peut développer la polymérase en se déplaçant sur l'ADN. Gageons que l'apport des techniques physiques fines à ce domaine de la biologie jouera un rôle important dans l'avenir.

Aaron BENSIMON est à l'Institut Pasteur. Jean-François ALLEMAND, David BENSIMON, François CARON, Vincent CROQUETTE et Terence STRICK sont à l'École Normale Supérieure de Paris. Didier CHATENAY est à l'Institut Curie, à Paris. Jean-Louis VIOVY est à l'ESPCI et à l'Institut Curie. Christophe HELLER est à l'ESPCI. Richard LAVERY et Anne LEBRUN sont à l'Institut de Biologie Physico-Chimique, à Paris.

D. BENSIMON, A.-J. SIMON, V. CROQUETTE et A. BENSIMON, *Stretching DNA with a receding meniscus : Experiments and models*, in *Phys. Rev. Lett.*, vol. 74, pp. 4754-4757, 1995.

C. BUSTAMANTE, J. F. MARKO, E. D. SIGGIA et S. SMITH, *Entropic elasticity of λ -phage DNA*, in *Science*, vol. 265, pp. 1599-1600, 1994.

Ph. CLUZEL, A. LEBRUN, C. HELLER, R. LAVERY, J.-L. VIOVY, D. CHATENAY et F. CARON, *DNA : An extensible Molecule*, in *Science*, vol. 271, 792-794, 1996.

T. STRICK, J. F. ALLEMAND, D. BENSIMON, A. BENSIMON, V. CROQUETTE, *The Elasticity of a single Supercoiled DNA Molecule*, in *Science*, vol. 271, p. 1835, mars 1996.

