

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.

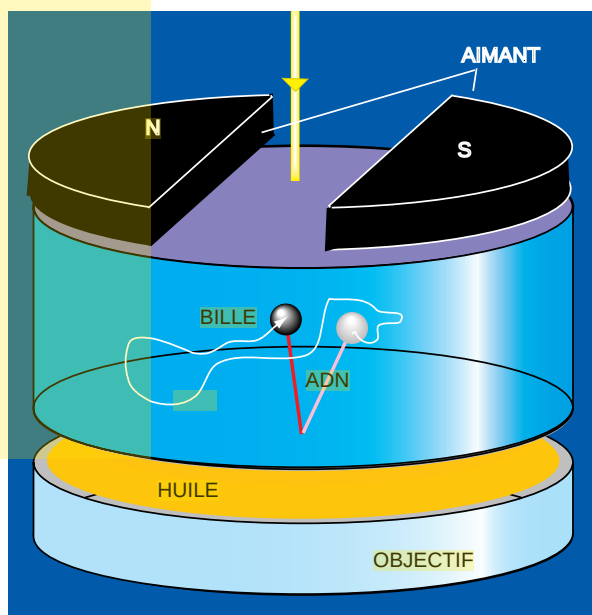
La molécule d'ADN étant ancrée par une de ses extrémités à une surface, l'autre extrémité est tirée par une microbille magnétique (l'ancrage est ici réalisé en plusieurs points, de sorte que l'extrémité ancrée ne puisse pas tourner par rapport à la surface). En présence d'un aimant, la bille est soumise 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

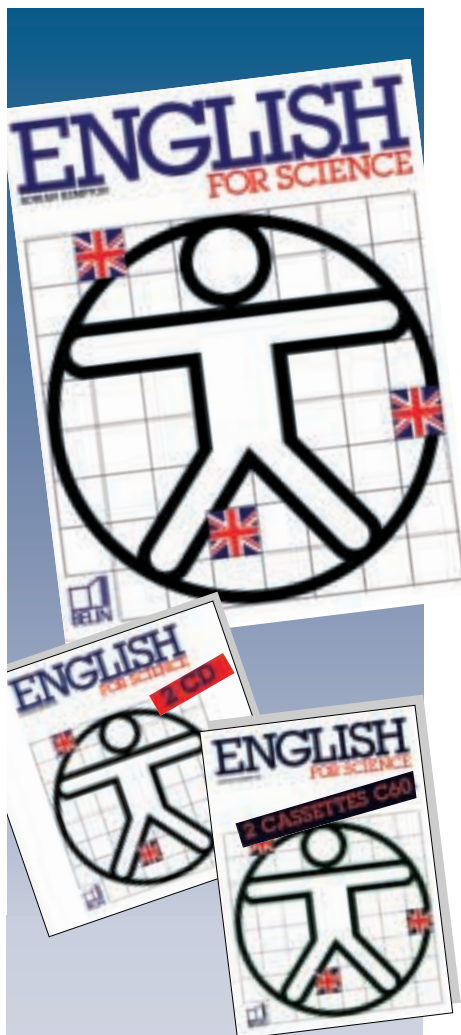
d'étudier l'élasticité de la molécule aussi bien dans son régime entropique que dans son régime élastique. On mesure alors la force appliquée à la bille en observant le mouvement brownien de celle-ci : plus la force de traction sur la molécule d'ADN est grande, plus le mouvement brownien est de faible 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.