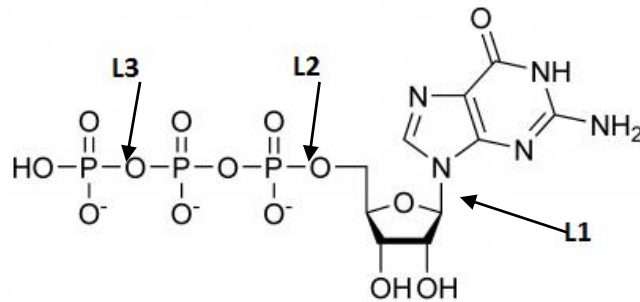


Série 01. Structure et propriétés des acides nucléiques (ADN et ARN) (I)

Exercice 1. Structure d'un nucléotide D

Soit le nucléotide suivant :



Nucléotide D

- 1) La base azotée constitutive de ce nucléotide est-elle de nature purique et pyrimidique ? Nommer cette base.
- 2) Quels sont les groupements de la base capables d'établir des liaisons hydrogène ? effectuer un schéma illustrant cet aspect.
- 3) Nommer le pentose constitutif de ce nucléotide.
- 4) Nommer les liaisons L1, L2 et L3.
- 5) Est-il possible de synthétiser un poly-nucléotide polyD artificiel à l'aide d'une polymérase ? justifier la réponse.

Exercice 2. Etude d'un di-nucléotide A

- 1) Ecrire la réaction de condensation entre deux molécules de désoxyATP (dATP). Nommer la liaison formée entre les deux molécules de dATP.
- 2) Calculer la masse molaire moléculaire du di-nucléotide obtenu.
- 3) Quel est l'atome de phosphate de dATP qui doit être marquée au ³²P, si l'on souhaite obtenir le di-nucléotide marqué radio-activement au niveau de la liaison formée entre les deux molécules de dATP ?

Données : formules brutes et masses molaires moléculaires des molécules constitutives du dATP :

Adénine : C₅H₅N₅ (M=135 g/mol), phosphate : H₃PO₄ (M=98 g/mol), désoxyribose : C₅H₁₀O₄(M=134 g/mol).

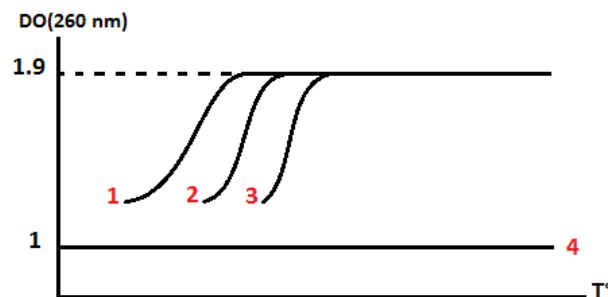
Série 02. Structure et propriétés des acides nucléiques (ADN et ARN) (II)

Exercice 1. Règle de Chargaff et température de fusion

La composition, en bases, d'ADN d'origines différentes a été mesurée.

ADN	A%	C%	G%	T%
A	21	28	29	22
B	23	24	28	35
C	18	31	32	19
D	33	17	18	32

- Calculer les rapports A/T et G/C pour chacun de ces ADN.
Quelle remarque vous suggère les résultats obtenus ?
Que peut-on en conclure quant à la structure des différents ADN ?
- Calculer le rapport (A+T)/ (G+C) de chacun des ADN ci-dessous.
Ce rapport est-il utilisable pour caractériser une espèce d'ADN parmi d'autres ?
- Dans les mêmes conditions expérimentales, on prépare, pour chacun de ces ADN une solution dont la densité optique est de 1. Une dénaturation de ces différents ADN est réalisée par chauffage progressif et, en même temps la densité optique de chaque solution est mesurée, Les résultats obtenus sont consignés dans les courbes ci-dessous.

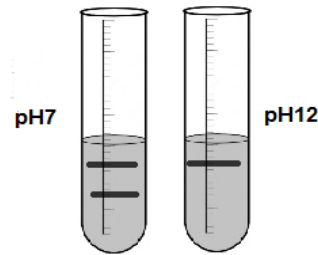


- A quels ADN correspondent les courbes 1, 2, 3 et 4. Justifiez votre réponse.

Exercice 2. Solubilisation des acides nucléiques.

Centrifugation en gradient de densité.

On soumet un mélange de 2 acides nucléiques. Le DNA de T4 (250 Kpb) et le RNA du phage Q β (132 b) à une centrifugation en gradient de densité de CsCl à pH 7 d'une part, à pH 12 d'autre part. Les résultats obtenus sont représentés sur le schéma suivant :



- Attribuer chaque bande à l'acide nucléique convenable ; justifier la réponse.
- Pourquoi n'y a-t-il qu'une seule bande à pH 12 ?

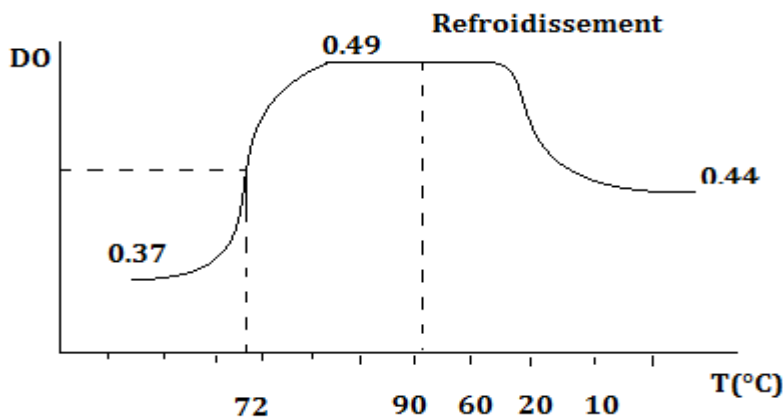
Exercice 3. Dénaturation thermique de l'ADN : Taux d'hyperchromie (H).

Le taux d'hyperchromie est calculé selon la formule suivante :

$$H = \left(1 - \frac{\varepsilon_{\text{natif}}}{\varepsilon_{\text{dénaturé}}}\right) \times 100 = \left(1 - \frac{DO_{\text{natif}}}{DO_{\text{dénaturé}}}\right) \times 100.$$

Un ADN nouvellement isolé est soumis aux expériences suivantes :

- a) L'étude de l'influence de la température sur l'absorbance à 260 nm d'une solution de cet ADN en milieu tampon citrate 0.1M (tampon 0.1 SSC) a donné la courbe suivante :



- Justifier l'effet hyperchrome lié à l'élévation de température et calculer le taux de l'hyperchromie correspondant.
 - Quelle conclusion relative à la structure de l'ADN étudié peut-on tirer de cette expérience ?
 - Définir et déterminer le T_m (point de fusion) de cet ADN ?
 - Justifier l'effet hyperchrome observé lors de refroidissement de l'échantillon. Pourquoi ne retrouve-t-on pas l'absorbance de l'ADN natif après retour à 20°C ?
- b) L'absorbance de la même solution d'ADN est mesurée après incubation d'un échantillon en présence de DNase, la valeur trouvée est $D_{0.62}$.
- Comparer la valeur à celle trouvée à température élevée.
 - Calculer le taux d'hyperchromie correspondant et discuter le résultat obtenu.
- c) L'ADN est soumis à une hydrolyse totale des fonctions condensées :
- Donner la nature des différents composés présents dans l'hydrolysate obtenu.
 - L'absorbance du mélange est mesurée à deux longueurs d'ondes dans des cuves à 1 cm.

$$D_{0.260}=0.619$$

$$D_{0.280}=0.275$$

- Calculer la concentration de chacune des bases hétérocycliques dans l'hydrolysate et en déduire la valeur du taux de G+C dans l'ADN de départ.
- Les coefficients d'extinction molaire ϵ des différentes bases aux deux longueurs d'onde sont donnés ci-dessous :

	A	G	C	T
Λ_{260}	13.4×10^3	7.2×10^3	5.5×10^3	7.4×10^3
Λ_{280}	2.5×10^3	6.2×10^3	1.6×10^3	5.0×10^3

ϵ est exprimé en (mol/l/cm)