

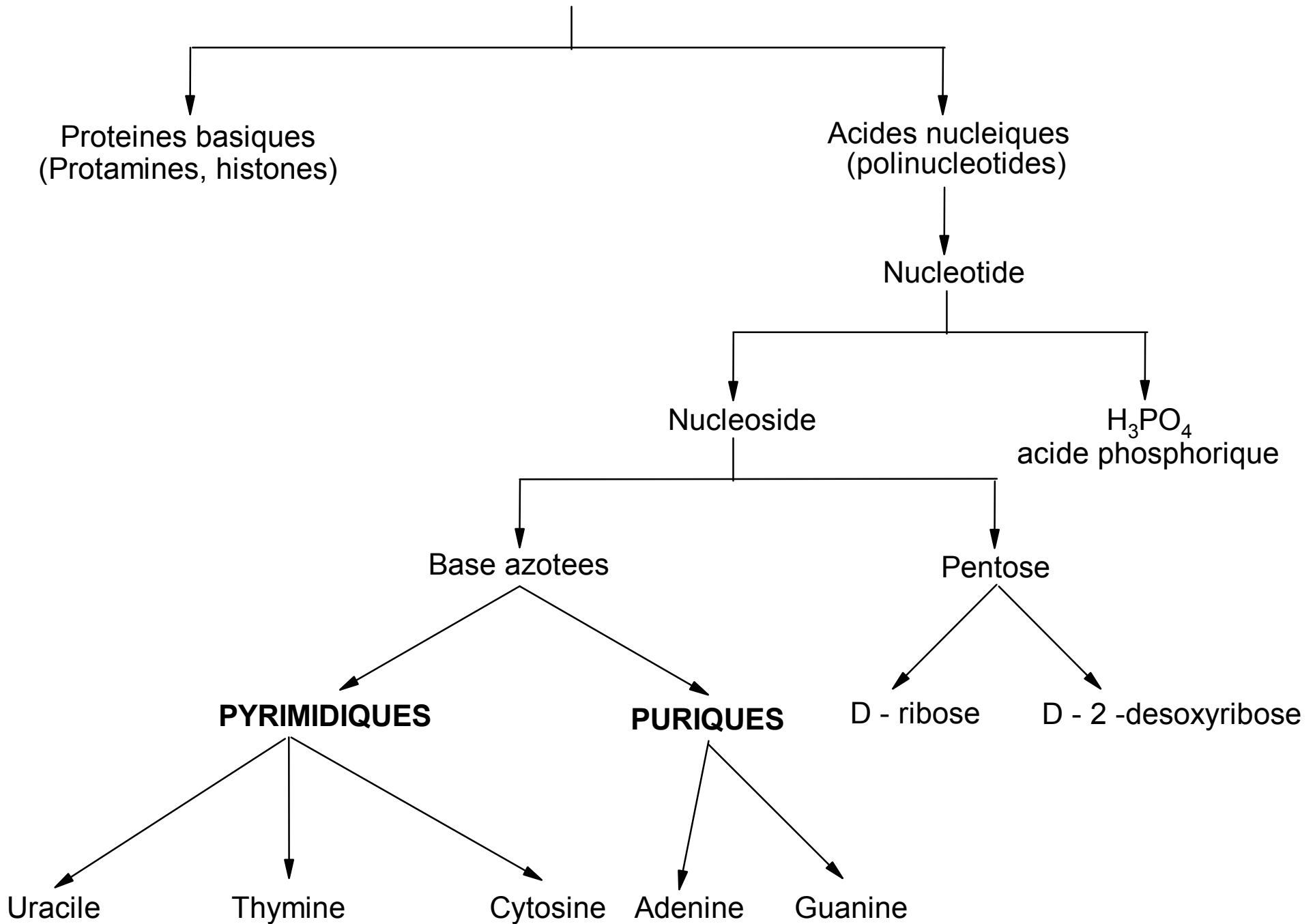
Conf. Dr. Adriana Kaycsa: kaycsa.adriana@umft.ro et adrianakaycsa@yahoo.com

Toutes les questions seront envoyées à Conf. Dr. Adriana Kaycsa aux les deux adresses de email fournis (**IMPORTANT** – les questions seront envoyées simultanément aux les deux adresses de email fournis et pas seulement a une !!!)

Nucleotides

Structure

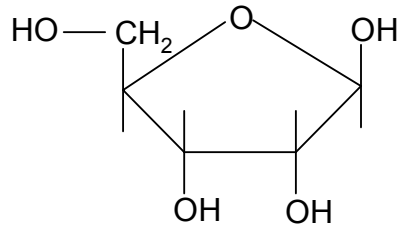
NUCLEOPROTEINES



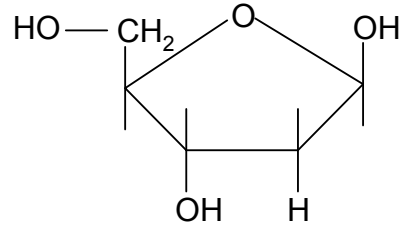
Structure d'acides nucleiques

- **Les acides nucléiques** sont des molécules polymériques, formés par la condensation des mononucléotides.
- **Un mononucléotide** (nucléotide) est formé d'une base azotée, un pentose et l'acide phosphorique.
- **Un nucléoside** est formé d'une base azotée et un pentose
- **Les bases azotées** sont de deux types :
 - pyrimidiques : uracile (U), thymine (T) et cytosine (C)
 - puriques : adénine (A) et guanine (G) (rarement isoguanine)
- Les formes tautomères prédominantes dans les acides nucléiques sont céto- et respectivement, amine
- Pendant le métabolisme des nucléotides, d'autres bases azotées sont formées, comme intermédiaires où produit final : hypoxanthine, xanthine, acide urique :
- **Les pentoses** (forme furanosique) des acides nucléiques sont :
 - ribose, dans l'ARN
 - désoxyribose dans l'ADN

PENTOSES



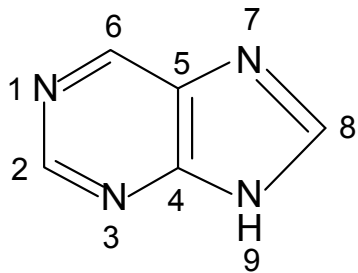
D - ribose



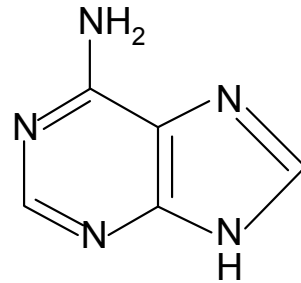
D - 2 - desoxyribose

Ces sont des anomères β , avec une structure furanosique.

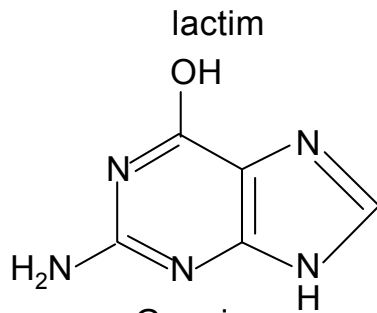
BASES PURIQUES



Purine

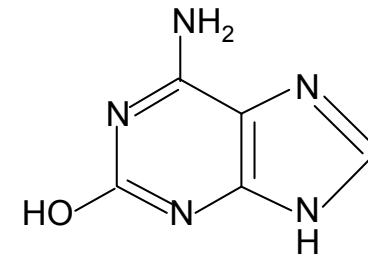
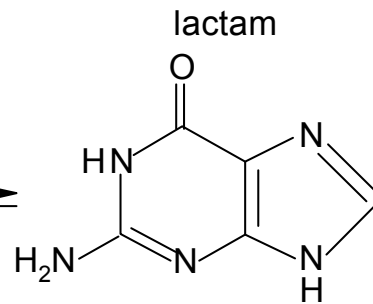
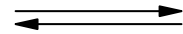


Adenine
(6 - aminopurine)



Guanine

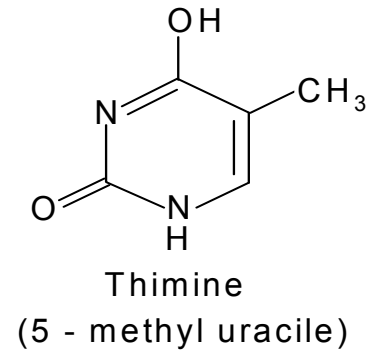
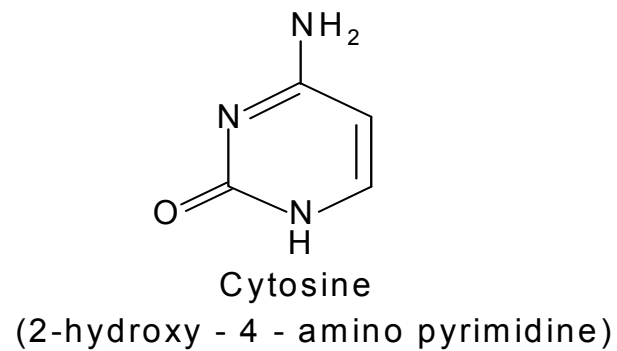
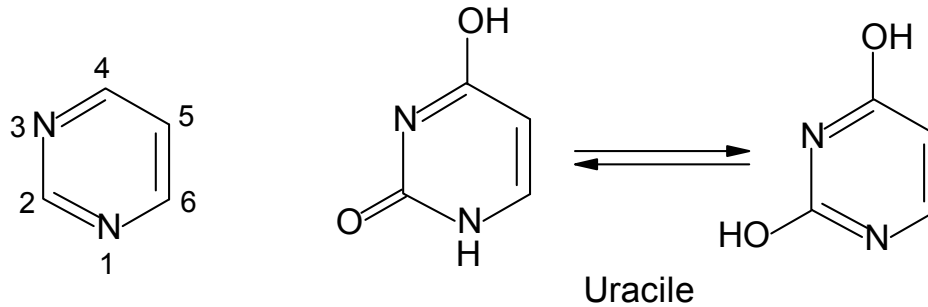
(2 amino - 6 - hydroxy - purine)



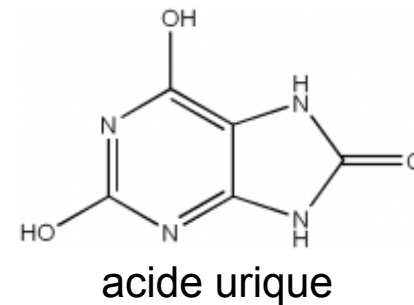
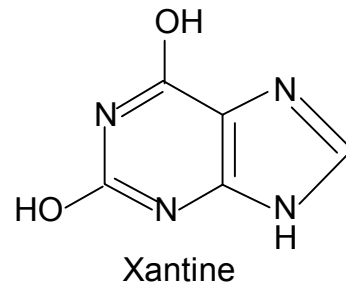
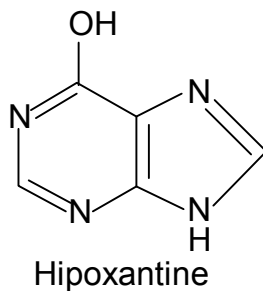
Izoguanine

(2 - hydroxy - 6 - amino - purine)

BASES PYRIMIDIQUES



Bases azotées formées comme intermédiaires où produit final du métabolisme des purines: **hypoxanthine, xanthine, acide uriques**

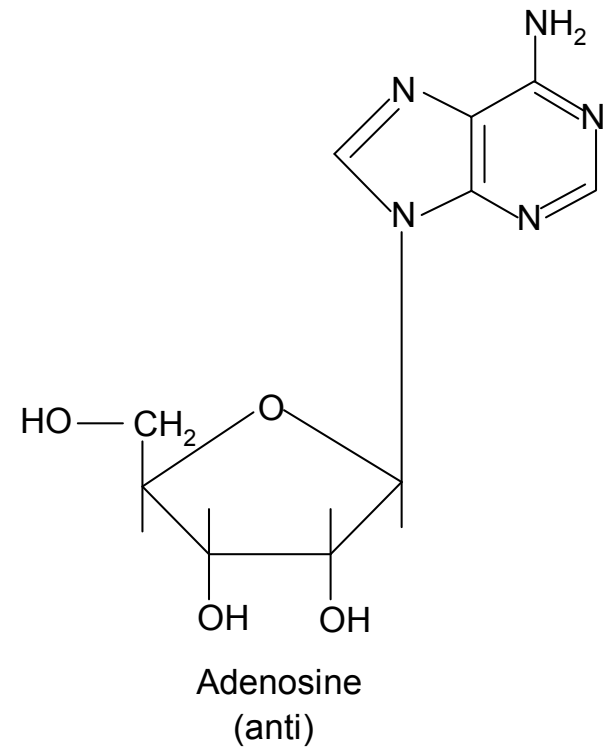
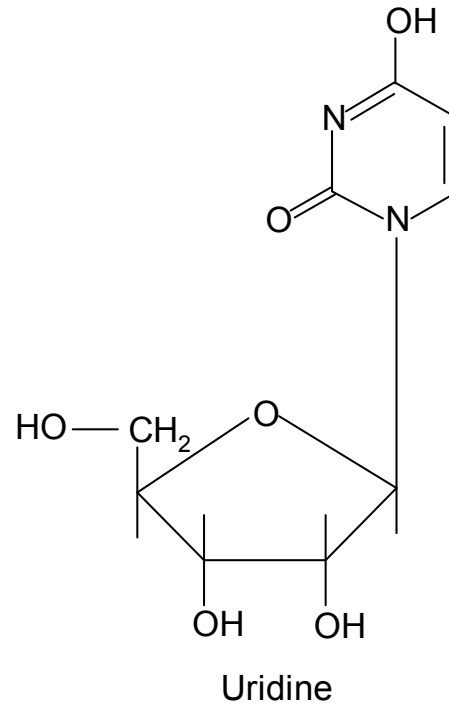
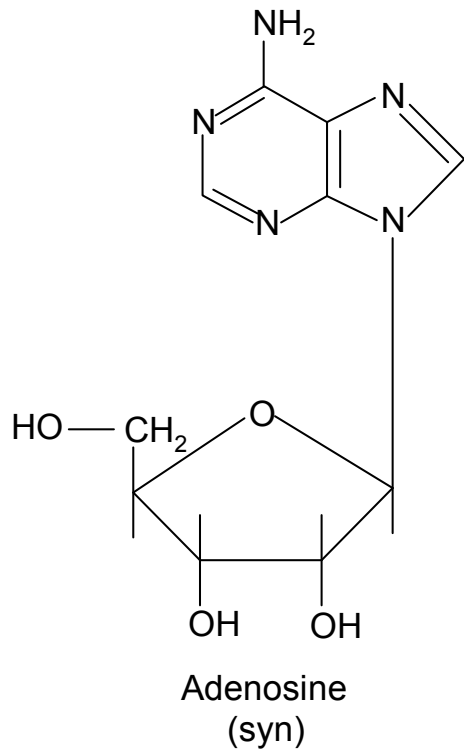


Les nucléosides sont des **N- β -glycosides**, dérivés de purines ou de pyrimidines dans lesquelles le sucre (ribose ou désoxyribose) est lié à un atome d'azote d'un des cycles purique (N9) ou pyrimidique (N1).

Base azotée	Ribonucléoside	Désoxyribonucléoside
ADÉNINE	ADÉNOSINE	d-ADENOSINE
GUANINE	GUANOSINE	d-GUANOSINE
URACILE	URIDINE	-
CYTOSINE	CYTIDINE	d-CYTIDINE
THYMINE	-	THYMIDINE

Les nucléosides

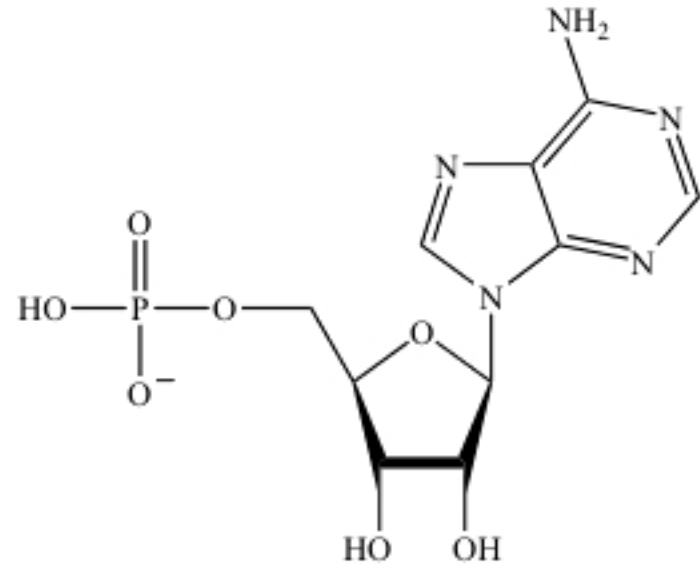
Composés formés d'une base azotée et un pentose



Les nucléotides

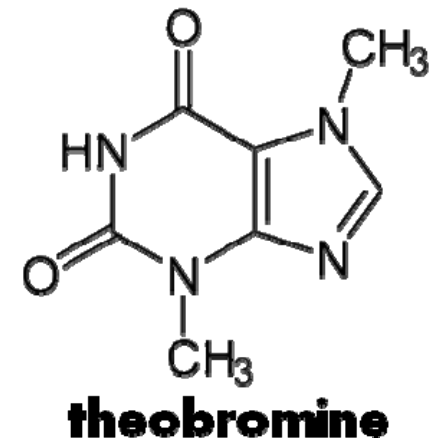
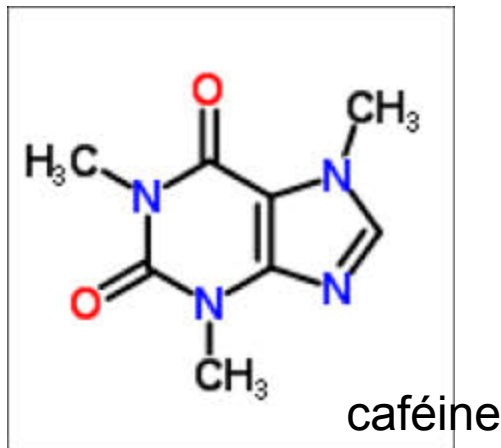
- sont des nucléosides ou l'un des groupements hydroxyles (3' ou 5') du sucre est estérifié par un groupement phosphate.
- La plupart des nucléotides sont du type 5'.
- Au pH du milieu cellulaire, le résidu phosphate est ionisé.
- Les noms des nucléotides sont les suivantes :
 - adénosine monophosphate (AMP ou d-AMP)
 - guanosine monophosphate (GMP ou dGMP)
 - cytidine monophosphate (CMP ou dCMP)
 - uridine monophosphate (UMP)
 - thymidine monophosphate (dTMP)

Les nucléotides sont des **acides polyprotiques**. Les nucléotides portent ainsi une **charge négative** significative au pH physiologique.



Les nucléotides **absorbent la lumière ultraviolette** (les doubles liaisons conjuguées des purines et des pyrimidines).
L'effet mutagène de la lumière ultraviolette vient de son absorption par des nucléotides de l'ADN et des changements chimiques qui en résultent.

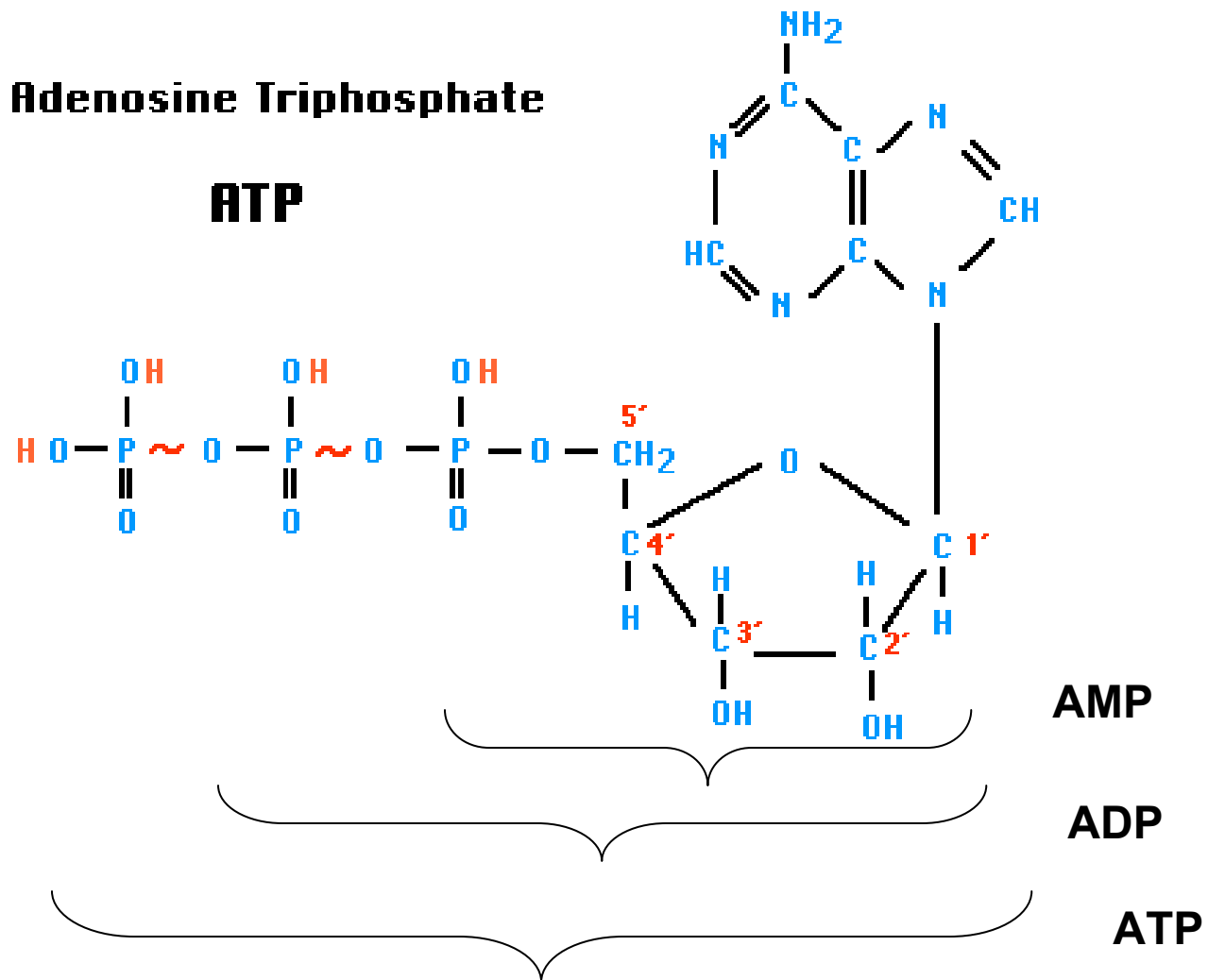
- Dans les polynucléotides, des modifications génèrent d'autres structures de nucléotides. Ce sont, par exemple :
 - la 5'-méthylcytosine,
 - la 5-hydroxyméthylcytosine
 - mono- et di-N-méthyladénine et – guanine
- Ces bases servent à la reconnaissance par des oligonucléotides et à réguler la demi-vie des ARN.
- Les bases hétérocycles méthylées des plantes comportent les dérivées de la xanthine comme :
 - la caféine du café
 - la théophylline du thé
 - la théobromine du cacao.



Le nucléosides triphosphates sont macroergiques –
ont deux liaisons macroergiques.
(ATP, GTP, CTP, UTP, TTP)

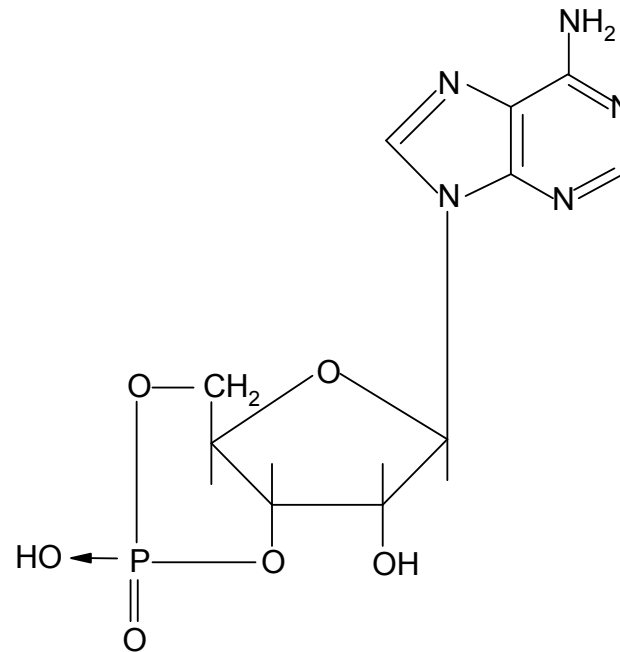
Adenosine Triphosphate

ATP



Les nucléotides cycliques : AMP_c et GMP_c

- sont formés par la double estérification d'un résidu phosphate a deux groupement hydroxyle de la ribose (C3' et C5').
- Leur fonction est de transducteurs intracellulaires de l'information (messagers seconds).



AMP_c

Acide adenosine 3', 5' - phosphorique cyclique

Les fonctions physiologiques des nucléotides :

- les NTP participent (précurseurs) à la synthèse de l'ADN et de l'ARN
- l'ATP est le transducteur biologique essentiel de l'énergie libre.
- Les NTP sont des composées macroergiques, donneurs d'énergie :
 - ATP – donneur universel
 - GTP – dans la synthèse des protéines
 - UTP – dans le métabolisme des glucides (acide glucuronique, glucosamine et galactosamine, mucopolysaccharides, glycogène)
 - CTP – dans le métabolisme des phospholipides
- ils font partie de nombreuses coenzymes sous forme liée à des vitamines ou a leurs dérivés (NAD, NADP, FAD, CoA, etc)
- sont donneurs de groupement phosphate (ATP)
- sont régulateurs allostériques des certaines enzymes clés du métabolisme (ATP, ADP, AMP, CTP)
- font l'activation des diverses molécules : S-adenosyl-methionine, phosphoadenosyl-phosphosulfate (PAPS)
- L'AMPc et le GTPc servent de seconds messagers des événements soumis à la régulation hormonale
- Le GTP et le GDP jouent des rôles clés dans la chaîne ou cascade d'événements caractéristiques des voies de transduction des signaux
- Des analogues synthétiques des purines et des pyrimidines contenant des atomes d'halogènes, des groupements thiols, ou des atomes supplémentaires d'azote sont utilisés en médecine pour la chimiothérapie des cancers, dans le traitement du SIDA ou comme supprimeur de la réponse immunitaire lors des transplantations d'organes.

ACIDE DÉSOXYRIBONUCLÉIQUE OU ADN

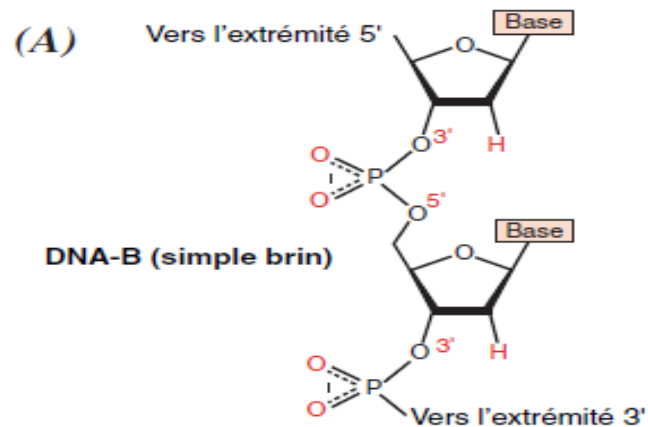
Structure

Structure primaire: nombre, type et séquence des nucléotides

- Une chaîne (ou brin) d'ADN : est un polymère linéaire de désoxyribonucléotides unis par des liaisons phosphodiester 3'-5';
- les bases y sont l'adénine (A), la guanine (G), la cytosine (C) et la thymine (T)
- Le pentose est le désoxyribose

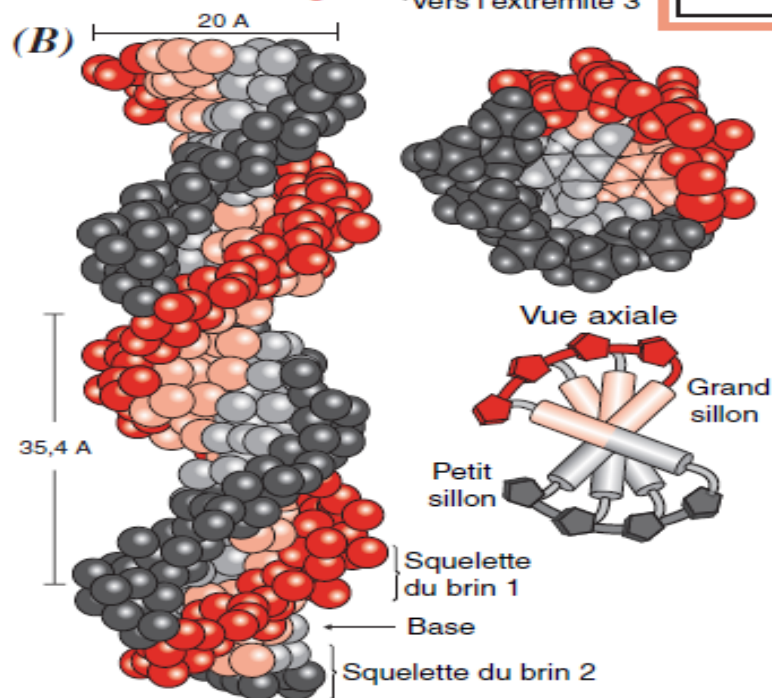
Structure secondaire

- Est formé de deux brins antiparallèles tordues en double hélice droite
- Dans le ADN d'une cellule donnée, A et T sont en quantités équimoléculaires, qu'il en est de même pour G et C et le rapport entre les purines et les pyrimidines est égal à 1
- Les deux chaînes antiparallèles s'enroulent l'une autour de l'autre avec, à l'intérieur, un appariement spécifique au moyen de liaisons hydrogène des bases puriques et pyrimidiques $A=T$ et $G\equiv C$ qui sont presque perpendiculaires à l'axe de l'hélice, et, à l'extérieur, la formation d'un squelette ose-phosphate.



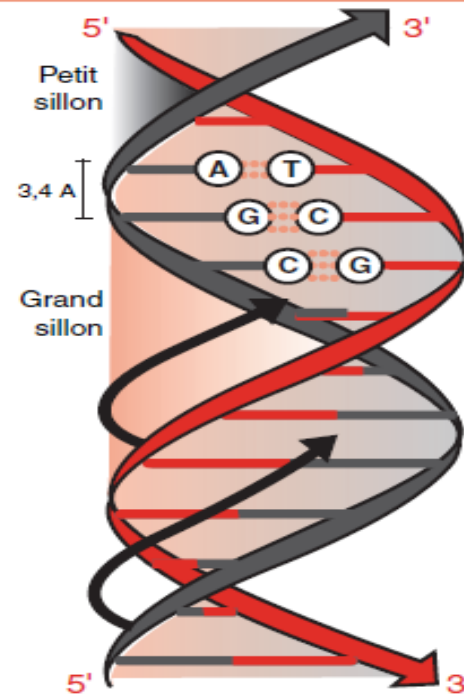
Composition en bases
du DNA de diverses espèces

Espèces	A : T	G : C
Homme	1,00	1,00
Saumon	1,02	1,02
Blé	1,00	0,97
Levure	1,03	1,02
<i>E. coli</i>	1,09	0,99



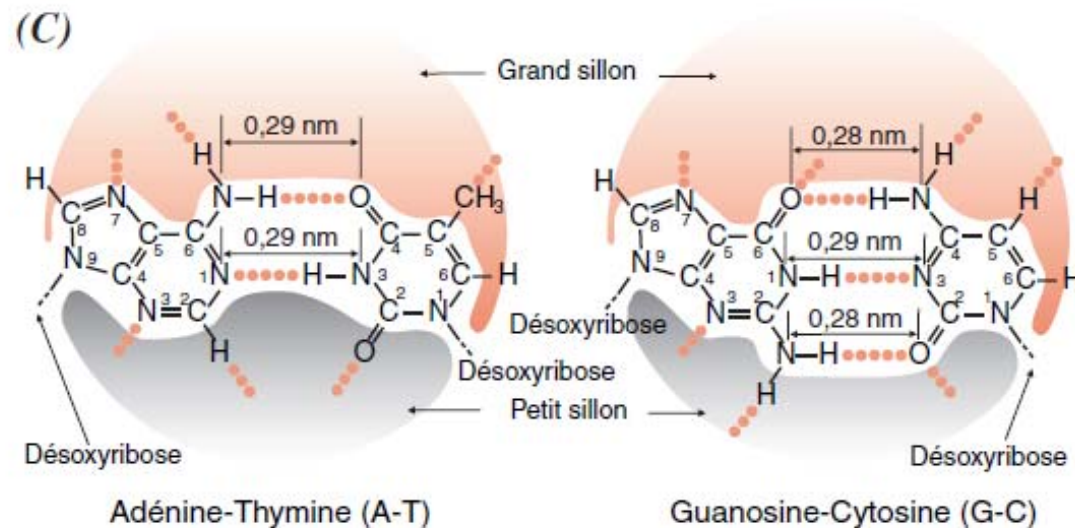
Modèle moléculaire

DNA-B (double brin)



Représentation schématique

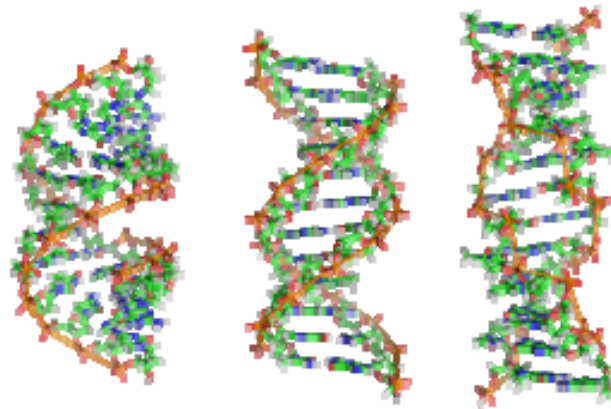
Une chaîne polynucléotique est représentée en rouge, l'autre en gris. Les bases puriques ou pyrimidiques sont en couleurs plus claires que celles du squelette ose-phosphate. La structure se répète tout le long de l'axe de l'hélice à intervalle de 35,4 Å, ce qui correspond à 10,5 nucléotides environ sur chaque chaîne.



Le squelette ose-phosphate délimite **des sillons** de deux types caractérisés par leur largeur : **le grand sillon**, et **le petit sillon**.

Chaque sillon est bordé par les bases dont certains atomes sont potentiellement donneurs ou accepteurs de liaisons hydrogène.

Ces derniers sont accessibles de l'extérieur et assurent la **reconnaissance spécifique du DNA par les protéines** ; les dimensions du grand sillon le rendent plus accessible que le petit sillon à des interactions avec les protéines.



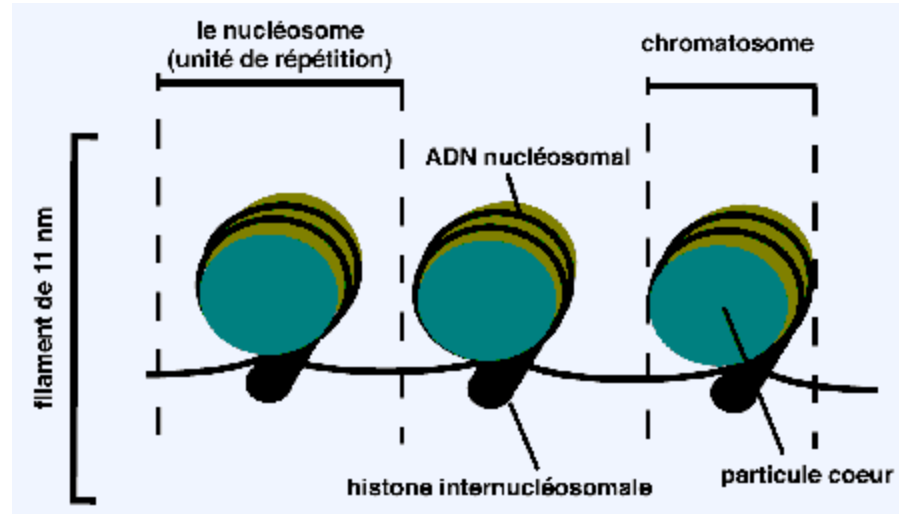
ADN-A ADN-B ADN-Z.

FORMES TRIDIMENSIONNELLES ALTERNATIVES D'ADN

- **ADN-B** - est la **forme essentielle** d'ADN dans les conditions physiologiques.
- **ADN-A**, qui apparaît lorsque l'humidité est inférieure à 75%. Tout comme le ADN-B, le ADN-A est une double hélice droite de brins antiparallèles unis par des appariements de base; cependant cette hélice est plus large et plus courte que l'hélice B.
- **ADN-Z** où l'hélice est gauche et le squelette ose-phosphate en zigzag. Le rôle biologique du ADN-Z n'est pas encore connu. Il contient des oligonucléotides courts de type dCGCGCG.

Structure supérieure: arrangement du ADN dans la cellule (noyau)

- Dans les cellules eucaryotes, le matériel génétique est organisé en une structure complexe constituée d'ADN et de protéines et il est localisé dans un compartiment spécialisé, le noyau. Cette structure a été baptisée **chromatine**.
- Environ deux mètres d'ADN dans chaque cellule doivent être contenus dans un noyau de quelques μm de diamètre. En plus de cet énorme degré de compaction, l'ADN doit être **rapidement accessible**, afin de permettre son interaction avec les machineries protéiques régulant les fonctions de la chromatine:
 - la réplication
 - la réparation et
 - la recombinaison.
- Ainsi **l'organisation dynamique** de la structure chromatinienne influence, potentiellement, toutes les fonctions du génome.



L'unité fondamentale de la chromatine est appelée le **nucléosome** qui est composé d'ADN et d'histones. Il constitue le premier niveau de compaction de l'ADN dans le noyau.

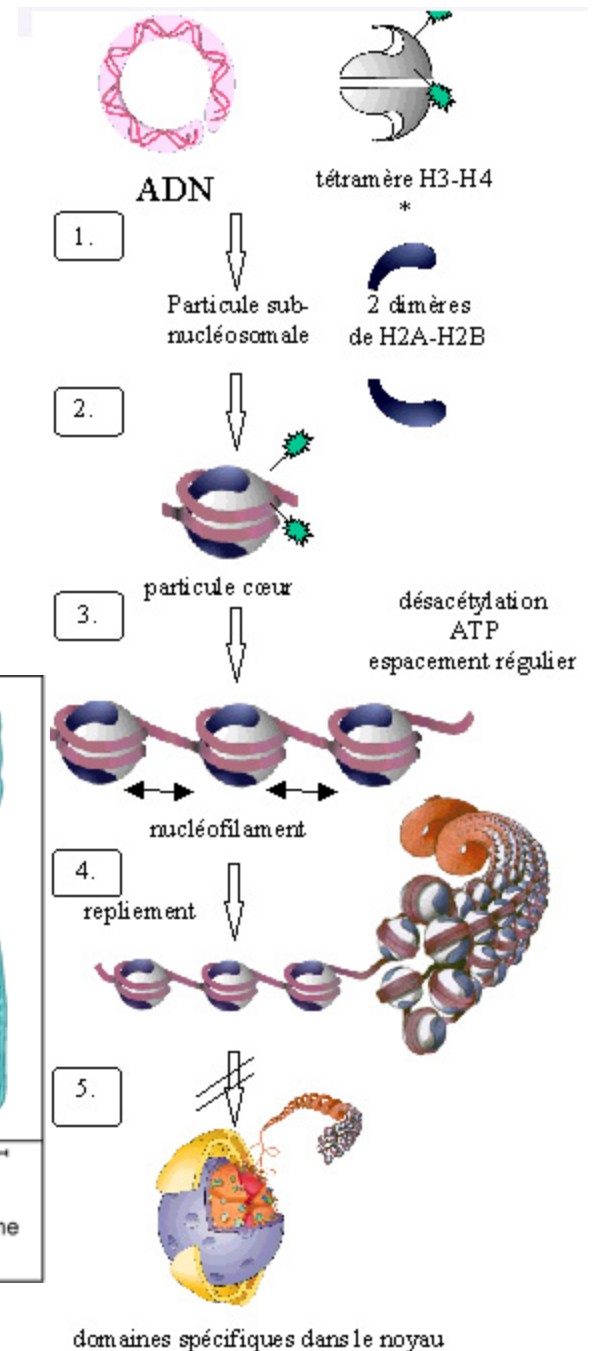
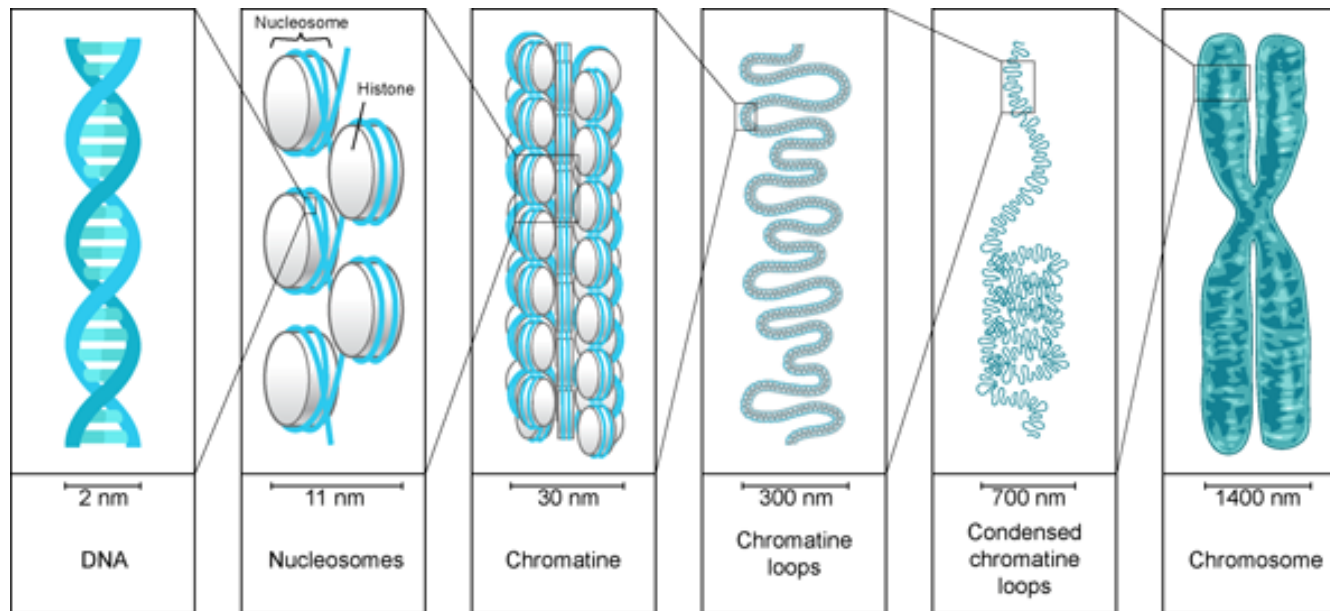
Le nucléosome est l'unité fondamentale de la chromatine. Il est composé de: une particule cœur et une région de liaison (ou région internucléosomale) qui relie les particules coeurs adjacentes.

La particule cœur est composée **d'ADN enroulées** selon environ 1,7 tour autour **d'un octamère protéique** comprenant des histones.

La longueur de la région d'ADN internucléosomale varie selon l'espèce et le type cellulaire. C'est au niveau de cette région que les **histones internucléosomales** également variables, sont incorporées.

- Les histones peuvent être **modifiés chimiquement** par des processus:
 - **Acétylation** - induit l'activation ou l'inactivation de la transcription des gènes. L'acétylation est associée à l'assemblage des chromosomes lors de la réplication.
 - **Phosphorylations** - sont associés à la condensation des chromosomes au cours du cycle cellulaire.
 - **ADP-ribosylation** - impliqué dans la régulation de la fonction d'ADN.
 - **Méthylation** - est en corrélation avec l'activation (induction) et l'inactivation (répression) des processus de transcription.
- En plus des histones, ont été identifiées dans le noyau des centaines de protéines différentes, dénommé des **protéines non histoniques** : des enzymes impliquées dans le processus de réplication d'ADN (par exemple des topoisomérases) ou la transcription de l'ADN (par exemple. complexe d'ARN polymérase).
- **Le rôle de ces protéines** est de:
 - **contrôle de l'expression** du gène pendant le développement et la différenciation des cellules
 - **assurer la liaison avec des hormones ou d'autres molécules régulatrices.**

- Cette structure est ensuite **régulièrement répétée** pour former le **nucléofilament** qui peut, lui-même, adopter des niveaux d'organisation plus compacts, le niveau de condensation le plus élevé étant atteint au sein du **chromosome** métaphasique.



- **Le génome humain** représente tous les chromosomes dans le noyau de l'homme – ils sont 46.
 - La **séquence nucléotidique** de la molécule d'ADN contient **l'information génétique**.
 - L'encodage se fait par les 4 nucléotides ATGC, qui sont regroupés sous la forme de **triplets appelés "codons"**.
 - Les quatre nucléotides peut former $4^3 = 64$ **triplets**, un très grand nombre pour coder les **21 acides aminés** dans les protéines.
 - L'excès de codons provoque un **surplus d'information** pour la biosynthèse des protéines, un phénomène appelé «**dégénérescence**» du code :
 - ⇒ **un acide aminé peut être codé par plusieurs codons**
 - ⇒ il existe des codons **"non sens"** qui ne spécifie pas un acide aminé, mais montre l'arrêt (ou déclenchement) de la synthèse des protéines.
 - **Le code génétique est universel**, c'est-à-dire indépendamment de l'espèce, les acides aminés sont codés par les mêmes triplets de nucléotides.
 - La corrélation entre la séquence de nucléotides d'un gène et la séquence d'acides aminés d'une protéine constitue le code génétique.
- Sur cette base, il a été constaté, paradoxalement, que pour les quelque **100.000 types de protéines humaines** ne serait que de **1,1% du génome humain**, ce qui signifie que le reste de la séquence d'ADN ne se trouve pas dans la séquence des protéines.

Le code génétique

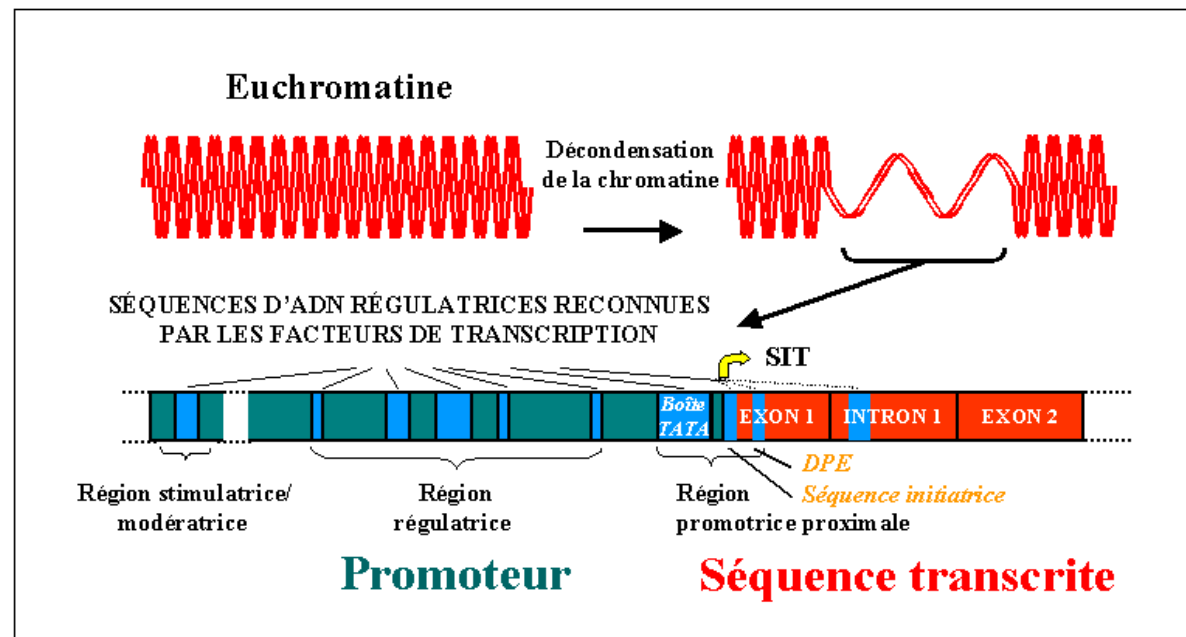
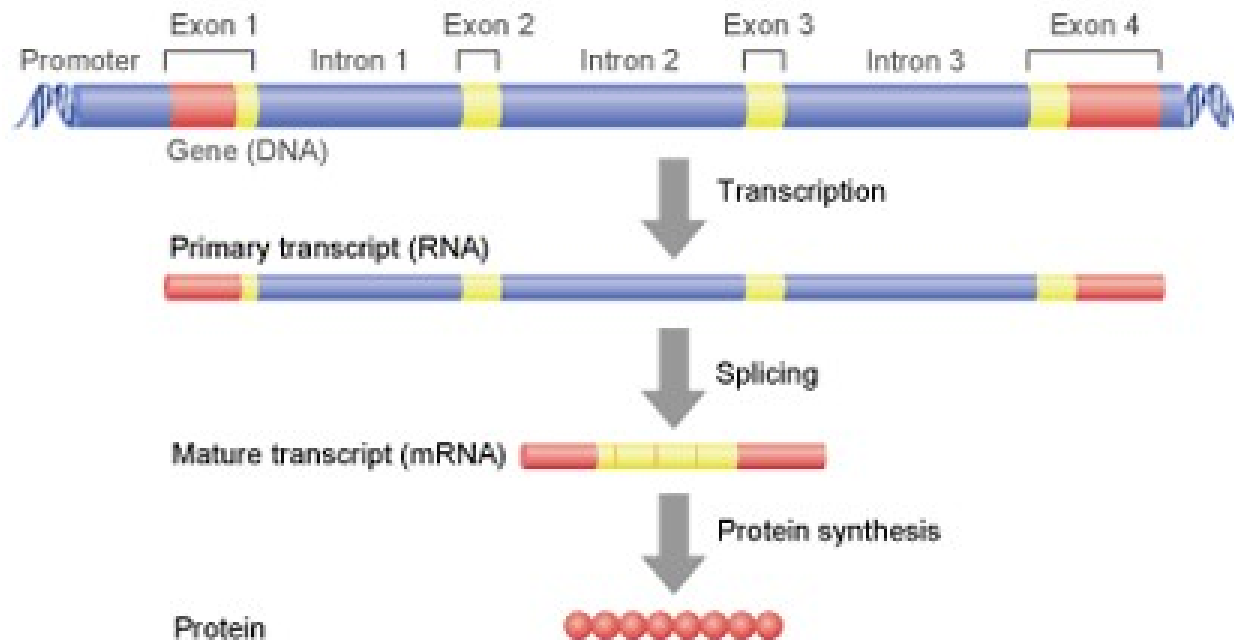
		2 ^e nucléotide					
		T	C	A	G		
1 ^{er} nucléotide	T	TTT	TCT	TAT	TGT	T	3 ^e nucléotide
		TTC	TCC	TAC	TGC	C	
		TTA	TCA	TAA	TGA	A	
		TTG	TCG	TAG	TGG	G	
	C	CTT	CCT	CAT	CGT	T	
		CTC	CCC	CAC	CGC	C	
		CTA	CCA	CAA	CGA	A	
		CTG	CCG	CAG	CGG	G	
	A	ATT	ACT	AAT	AGT	T	
		ATC	ACC	AAC	AGC	C	
		ATA	ACA	AAA	AGA	A	
		ATG	ACG	AAG	AGG	G	
	G	GTT	GCT	GAT	GGT	T	
		GTC	GCC	GAC	GGC	C	
		GTA	GCA	GAA	GGA	A	
		GTG	GCG	GAG	GGG	G	

- Ce soi-disant excès d'information est donné par:
 - séquences non codantes (**introns**) de constitution des gènes. Ils représentent environ 24% du génome.
 - gènes qui synthétisent les autres types d'ARN qui ne codent pas pour des protéines, mais veillent à la régulation de l'expression des gènes dans le développement et l'adaptation à l'environnement.
 - familles de séquences répétitives.
- 1% de l'ADN total de la cellule est de **l'ADN mitochondrial**. Il a une forme circulaire et se trouve en 2-10 copies dans chaque mitochondrie.
- Cet ADN code l'ARN ribosomal, l'ARN de transport et l'ARN messenger pour **13 protéines mitochondriales impliquées dans la respiration cellulaire**.
- Les protéines mitochondriales restantes, au nombre de 54, sont codées par des gènes dans le noyau.
- L'ADN mitochondrial est transmis par la mère.

La structure du **gène** chez les eucaryotes :

- Représente la séquence d'ADN du gène chromosomique **codant pour la synthèse d'une molécule d'ARN fonctionnel**.
- Le gène eucaryote possède une structure complexe hétérogène, comprenant:
 - des **régions codantes, appelées exons**, en alternance avec
 - des régions **non codantes appelées introns**.
- Les exons du gène sont des régions de séquences de nucléotides servant de matrice pour la synthèse (par transcription) d'un fragment d'ARN messenger primaire.
- Les introns sont des extraits de gène impliqués dans la transcription comme les exons, mais l'ARNm synthétisés à partir d'introns est toujours excisées lors de l'assemblée de l'ARN messenger mature. Les introns ne seront donc pas participants à la traduction du message, ils sont des régions non traduites.
- Chaque gène commence avec **une portion non codant, nommée promoteur**.

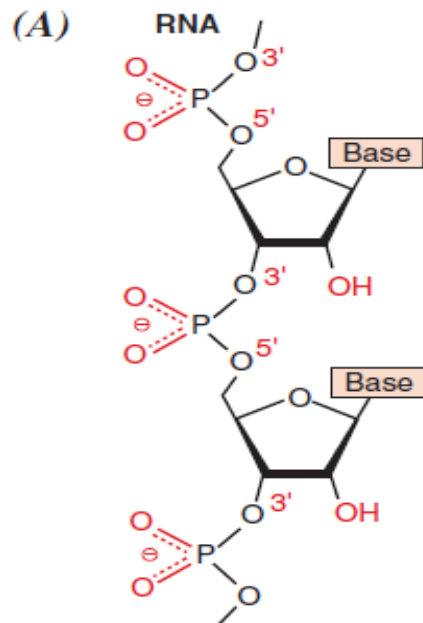
Structure of a Gene



ACIDES RIBONUCLÉIQUES OU ARN

Structure

- Une chaîne (ou brin) de ARN est un polymère linéaire de **ribonucléotides unis par des liaisons phosphodiester 3'-5'**.
- Les bases y sont **l'adénine (A), la guanine (G), la cytosine (C) et l'uracile (U)** (pas la thymine).
- L'ose est **le ribose** et pas le désoxyribose
- Contrairement à l'ADN, une molécule d'ARN procaryote ou eucaryote est habituellement sous la **forme de simple brin**, dont des segments, éventuellement étendus, peuvent présenter des appariements de bases G-C et A-U.
- **Chez certains Virus, le ARN constitue le matériel génétique** ; il y assure sa réplication en dirigeant lui-même une ARN polymérase (reverse transcriptase).
- Dans toutes les cellules procaryotes ou eucaryotes actuelles, les ARN constituent **le transcriptome** ; ils y sont synthétisés par des ARN polymérases, enzymes qui transcrivent les instructions données par une matrice de ADN ; les ARN sont donc la copie d'une région d'ADN avec la correspondance des bases A = U, T = A, G \equiv C et C \equiv G.



(B)

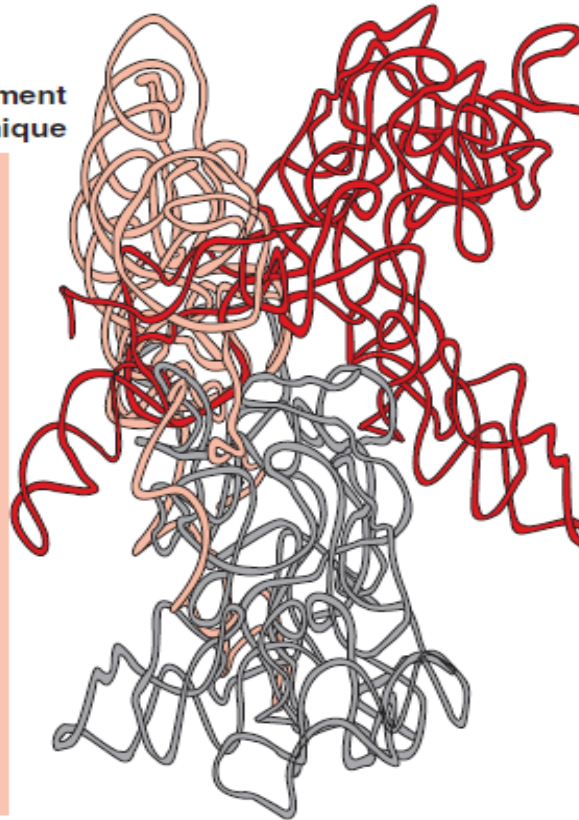
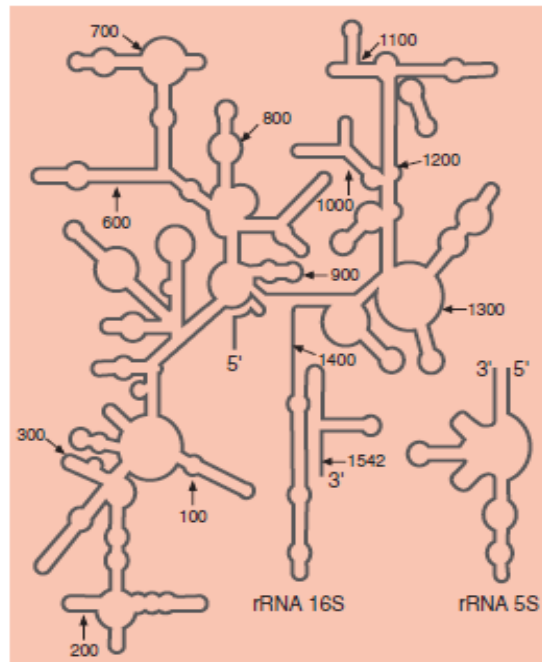
5' — GCGGCGA.....CAUUUU — 3' mRNA

3' — CGCCGCT.....GTAAAA — 5' Brin matriciel de DNA

5' — GCGGCGA.....CATTTT — 3' Brin codant de DNA

Complémentarité entre le mRNA et le DNA

(C) Schéma de repliement du RNA ribosomique



- Les cellules contiennent trois types d'ARN :
 - les ARN messagers (ARNm),
 - le ARN ribosomique (ARNr) et
 - les ARN de transfert (ARNt).

Les ARNm constituent les matrices à partir desquelles sont traduites les protéines ;

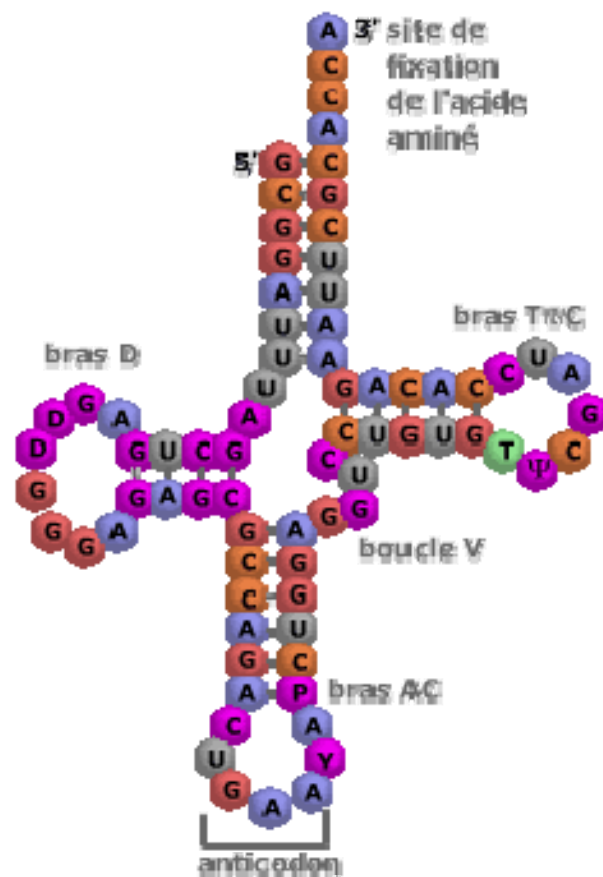
- chez *E. Coli*, un ARN peut être produit par un gène ou un groupe de gènes, tandis que **chez les Eucaryotes, à chaque ARNm correspond le plus souvent un gène distinct.**
- Étant donné que les protéines sont construites à partir de 21 aminoacides mais qu'il n'y a que 4 bases, un groupe de 3 bases, appelé **codon**, est nécessaire pour coder pour un aminoacide.
- Les ARNm se présentent donc comme une **succession de codons** mais ils contiennent aussi des **signaux de départ et des signaux stop** pour la synthèse des protéines.

Les ARNr sont les constituants essentiels des **ribosomes** où ils ont un **rôle structural et une fonction catalytique** lors de la synthèse des protéines.

- Chez *E. Coli*, il y a trois types de ARNr dénommés, en raison de leur coefficient de sédimentation, 23S, 16S et 5S.
- Chez les Eucaryotes, les ARNr ont des masses plus importantes et leurs coefficients de sédimentation sont de 28S, 18S 5,8S et 5S.
- **Les ARNr présentent une structure secondaire et une structure tertiaire** où apparaissent de nombreuses régions courtes en duplex résultant d'appariements de bases.

Les ARNt transfèrent des aminoacides activés vers les ribosomes où les liaisons peptidiques sont formées, grâce auxquelles sont élaborées les protéines.

- Ils jouent le rôle de **molécules adaptatrices** entre le ARNm et le site de synthèse des protéines (le ribosome).
- Il y a **au moins un type de ARNt pour chacun des 21 aminoacides** et le transfert s'effectue selon une séquence imposée par le ARNm.
- Les **ARNt sont des petits acides ribonucléiques** constitués de 73 à 93 ribonucléotides seulement.
- Leur extrémité 5' est phosphorylée, habituellement pG, tandis que leur **extrémité 3'** présente un groupe OH libre et la sequence CCA ou **ils lient l'acide aminé**.
- Ils contiennent de **10 à 15% nucléosides rares** : dihydrouridine, N1-méthylguanosine, N2- diméthylguanosine, inosine, pseudo-uridine, entre beaucoup d'autres ; ces nucléosides sont caractérisés par la présence de bases inhabituelles, souvent méthylées, qui apparaissent après la synthèse de la chaîne polynucleotidique à la suite de l'action de divers enzymes.
- Les ARNt diffèrent par leurs séquences nucléotidiques.



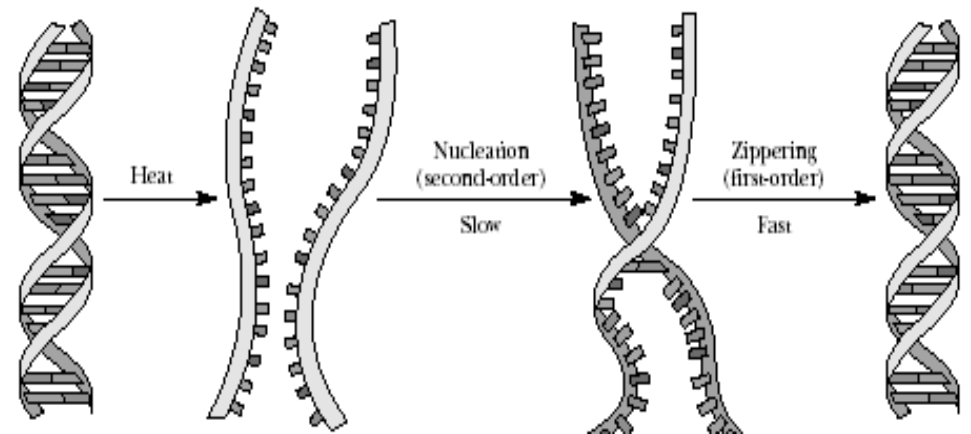
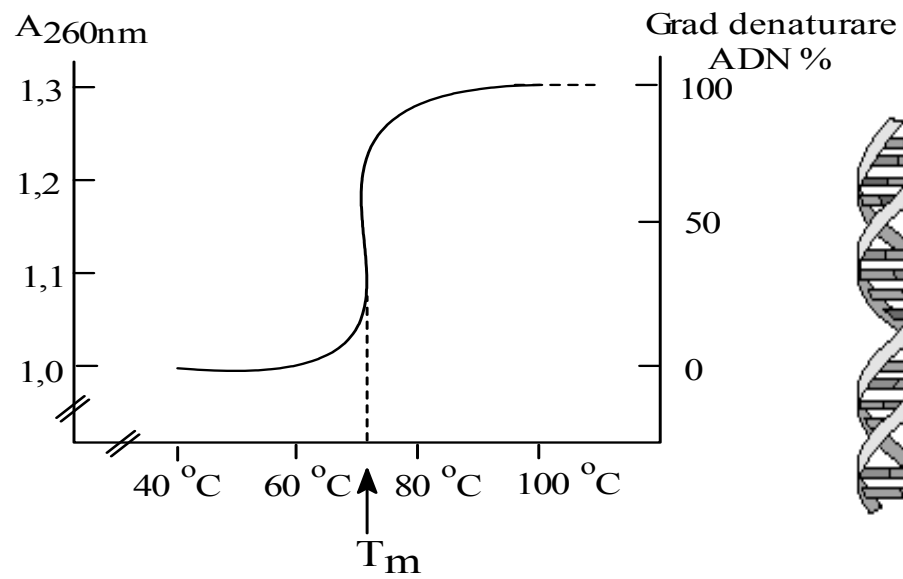
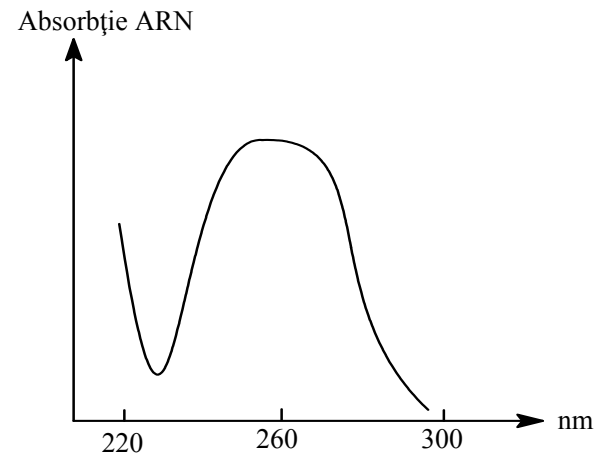
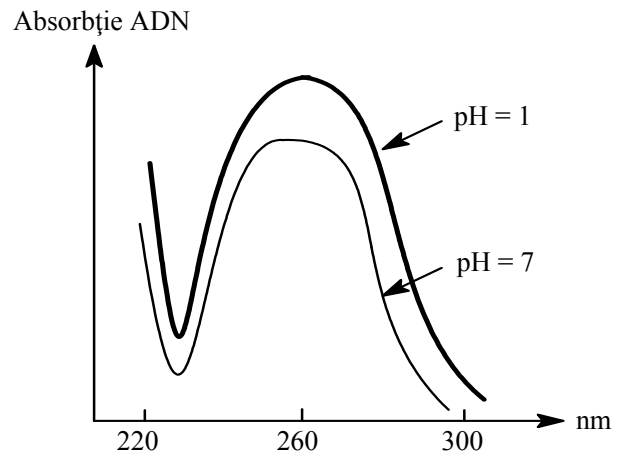
- Tous les ARNt sont susceptibles d'adopter **une structure secondaire, dite en feuille de trèfle**, caractérisée par quatre zones d'appariement entre bases complémentaires et trois boucles :
 - la boucle 1 (de ribothymine-pseudouracile-cytosine), - **lieu de liaison au ribosome**
 - la boucle 3 (contenant plusieurs résidus dihydro-uracile) – **lieu de liaison à l'enzyme aminoacide-RNA transférase**
 - la **boucle 2 de l'anticodon** qui porte un site spécifique essentiel constitué par une **séquence de trois bases, appelée anticodon** ; ce dernier reconnaît une séquence complémentaire de trois bases, appelée codon, sur le ARNm.
- Tous les ARNt contiennent, à l'extrémité 3' de leur chaîne dite bras accepteur, un site d'attachement pour un aminoacide constitué par la même séquence trinuécléotidique terminale *pCpCpA* en simple brin.

- D'autres **espèces, de petite taille**, stables d'ARN se trouvent sous forme de particules ribonucléiques dans le noyau, le cytoplasme, les mitochondries, et ont **un rôle dans la maturation de l'ARN, le transport, le contrôle de la traduction, et dans la reconnaissance des protéines exportées**.
- Parmi ceux-ci, à l'heure actuelle ont été identifiés espèces d'ARN nucléaires de faible masse (ARNsn) ARN antisens, ARN d'interférence et microARN.
- L'ARN peut avoir une **fonction catalytique**. Dans certains cas, de l'ARN, comme composant de **ribonucleoprotéines représente le centre catalytique** d'un enzyme (ex. telomerase), mais la réaction catalytique peut avoir lieu in vitro, par l'action de l'ARN même en l'absence de la partie protéique.
- Les enzymes dont le centre catalytique est l'ARN sont appelées **ribozymes**.

Propriétés des acides nucléiques

- Ils ont la **masse moléculaire élevée**, variant dans une large plage: de 2×10^4 à 5×10^5 pour l'ARN, et 3×10^4 à 10^9 pour l'ADN.
- ADN peut être circulaire ou linéaire et forme un ou plusieurs chromosomes. La taille des chromosomes est dépendante de l'espèce, par exemple la levure est constituée de $2,2 \times 10^6$ paires de bases d'azote tandis que l'ADN humain est composé de 240×10^6 paires de bases de l'azote.
- Ils sont **moins solubles dans l'eau froide**, mais la **solubilité augmente avec la température**. Ils sont très **solubles dans les solutions alcalines** et **insolubles dans l'éthanol et d'autres solvants organiques**.
- Tous les acides nucléiques, nucléosides et de nucléotides **absorbent intensément le rayonnement ultraviolet**, propriété causée par les bases azotées. L'absorption maximale se produit au $\lambda = 260$ nm, et est **proportionnelle à la concentration de l'acide nucléique**.

- Par **dénaturation de l'ADN** (pH fortement acide ou alcalin ou de chauffage) la structure secondaire est désorganisée en rompant des liaisons d'hydrogène.
La température à laquelle la moitié de l'ADN est dénaturé, est dite **température de fusion** de l'ADN, T_m .
- La dénaturation de l'ADN produit une augmentation de l'absorption de lumière à $\lambda = 260 \text{ nm}$, un phénomène appelé effet HyperChrome.
- T_m est supérieure si le contenu en cytosine et guanine est plus élevé (trois liaisons hydrogène).
- **La dénaturation est réversible**, de sorte que la diminution de la température forme de nouveau les liaisons de l'hydrogène et récupère la structure en double brin.
- Les acides nucléiques ont **un caractère acide** en raison de la présence d'un grand nombre de **résidus d'acide phosphorique** et forment de **sels avec des métaux alcalins ou des groupes amino et guanidino de protéines à qui sont liés**.

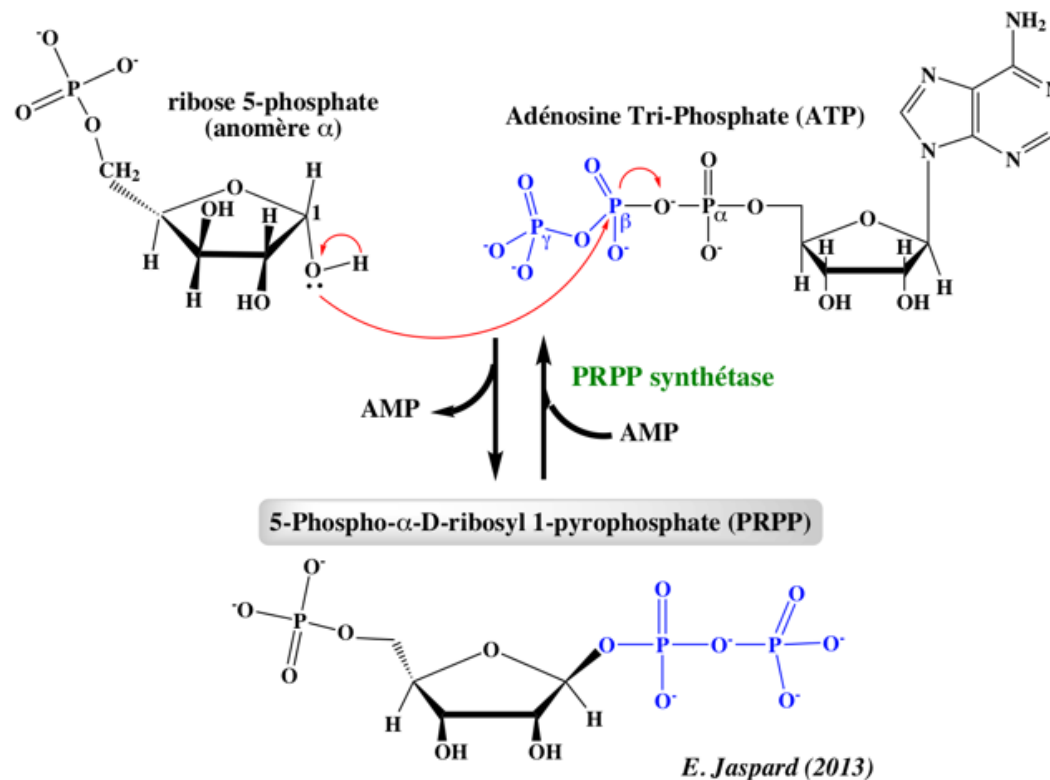


Métabolisme des acides nucléiques

La synthèse des nucléotides

- Le métabolisme des nucléotides a lieu dans la plupart des cellules nucléées.
- Les nucléotides d'origine alimentaire qui passent la paroi intestinale ne sont pas intégrés dans les acides nucléiques des tissus
- Les nucléotides injectés sont incorporés.
- **L'intensité du métabolisme dépend des besoins physiologiques de nucléotides** ; la synthèse des nucléotides augmente au cours de la croissance et la régénération des tissus.
- Dans le cas de tous les deux types de nucléotides (puriques et pyrimidiques) la **biosynthèse a un précurseur commun, phosphoribosyl-pyrophosphate (PRPP)** qui est dérivé de ribose 5-phosphate, un produit de la voie des pentoses-phosphates. Cette précurseur macroergique (PRPP) contient deux des trois composants d'un nucléotide (le reste du pentose et le phosphate). La base d'azote, purine ou pyrimidine, obtenus par des réactions spécifiques, sera attachée à ce composé.
- Les nucléotides sont synthétisés selon deux types de voies :
 - - **les voies de novo et**
 - - **les voies de récupération (sauvetage)**

- Dans les voies **de novo**, les bases puriques ou pyrimidiques sont assemblées à partir de précurseurs simples : **Gly, Asp et la Gln, CO_3H^- , NH_4^+** et enfin des **dérivés activés du tétrahydrofolate**.
- Dans les ribonucléotides pyrimidiques, l'unité ose-phosphate est apportée par un donneur activé, le 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate (PRPP).
- En revanche, les ribonucléotides puriques sont assemblés directement sur le PRPP.



SYNTHÈSE *DE NOVO* DES RIBONUCLÉOTIDES PYRIMIDIQUES

- Dans la synthèse *de novo* des ribonucléotides pyrimidiques, le cycle pyrimidique est synthétisé en premier, puis il est fixé au PRPP

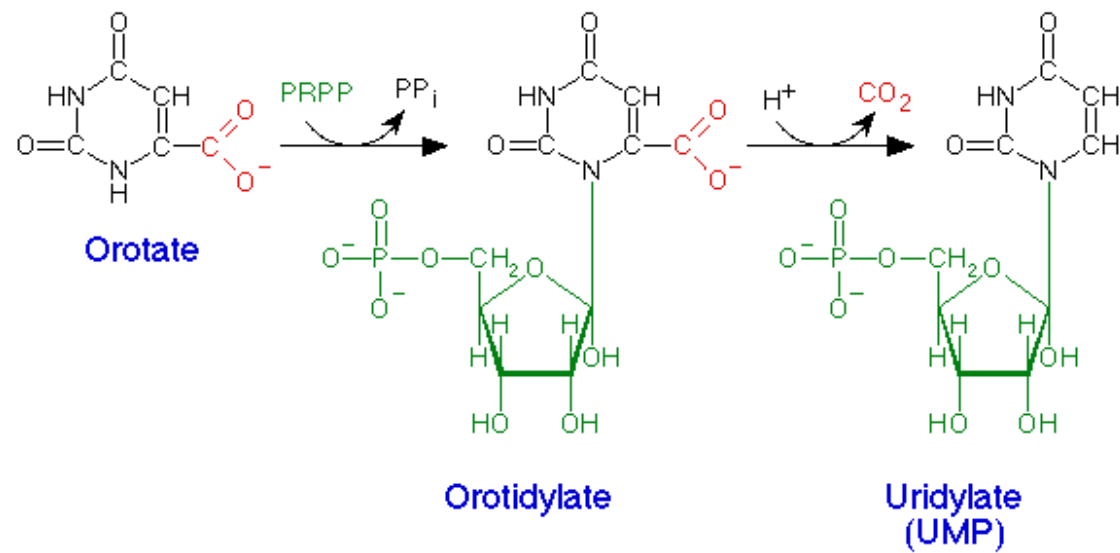
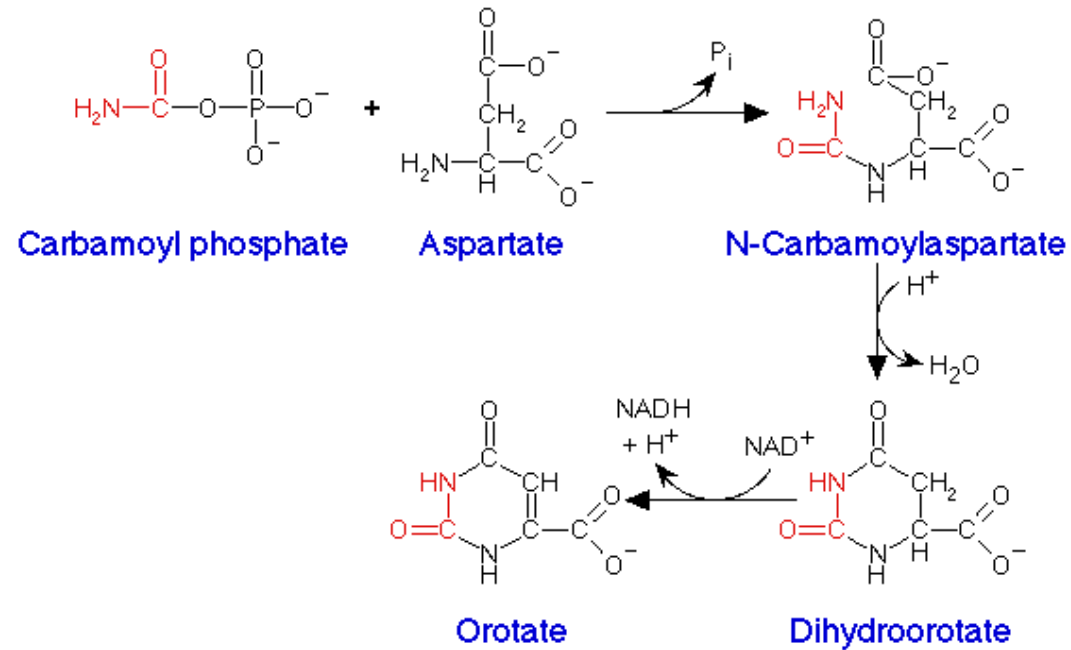
Etapas:

1. Synthèse de carbamyl-phosphate:

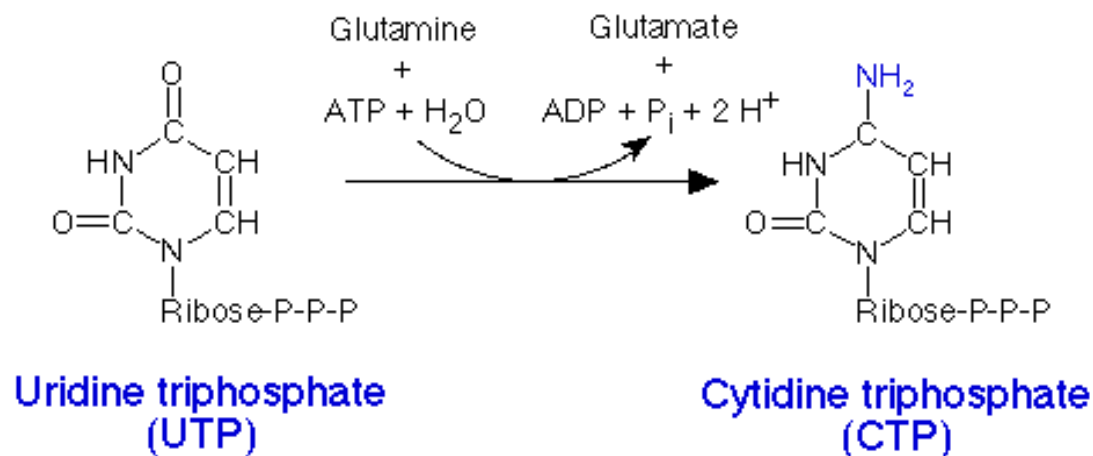
enzyme: **carbamyl-phosphate synthétase II** (cytosol)



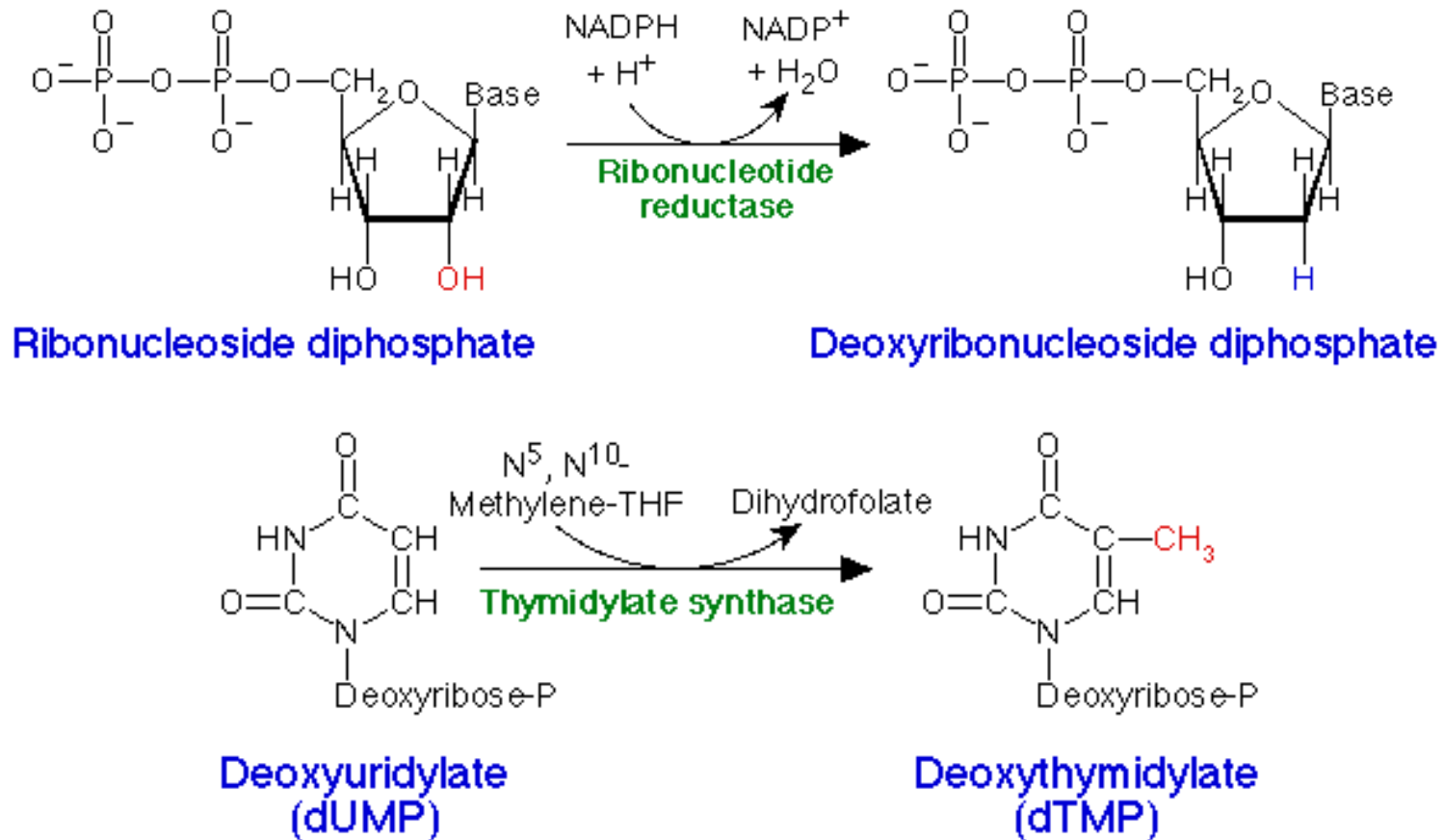
2. Synthèse de l'acide orotique: plusieurs étapes, catalysées des **enzymes multifonctionnelles**
3. Couplage de l'acide orotique à la PRPP \Rightarrow orotidine monophosphate (OMP)
4. Decarboxylation de l'OMP \Rightarrow uridine monophosphate (UMP)



- L'UMP est le précurseur des autres ribonucléotides pyrimidiques.
- 1. Il peut être **phosphorylé en UDP puis en UTP** et ce dernier donne le **cytidine triphosphate (CTP)** par remplacement de l'un de ses groupes carbonyle par un groupe amine apporté par la **glutamine**.
- $\text{UMP} + 2\text{ATP} \longrightarrow \text{UTP}$



- Pour la synthèse du thimidilate, la ribose de l'**uridine diphosphate** est réduit et après ça, le résidu d'uracile est méthylé avec un **méthylène tetrahydrofolate** :



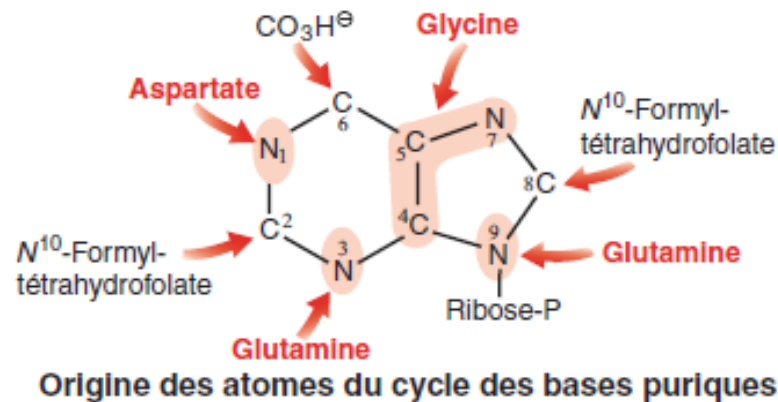
- L'enzyme **thymidylate synthétase** catalyse le transfert d'un groupe méthylène, puis elle le réduit à un groupe méthyle.
- C'est une réaction unique, parce que **FolH4**, qui porte le groupement monocarbonyl, **est oxydé en FolH2**.
- Par la suite FolH2 est réduit à FolH4 sous l'action de l'enzyme **FolH2 réductase**.
- **La FolH2 réductase** est inhibée par: **méthotrexate, triméthoprim, priméthamine – médicaments utilisés comme anticancéreux, antimicrobien.**

Régulation de la synthèse

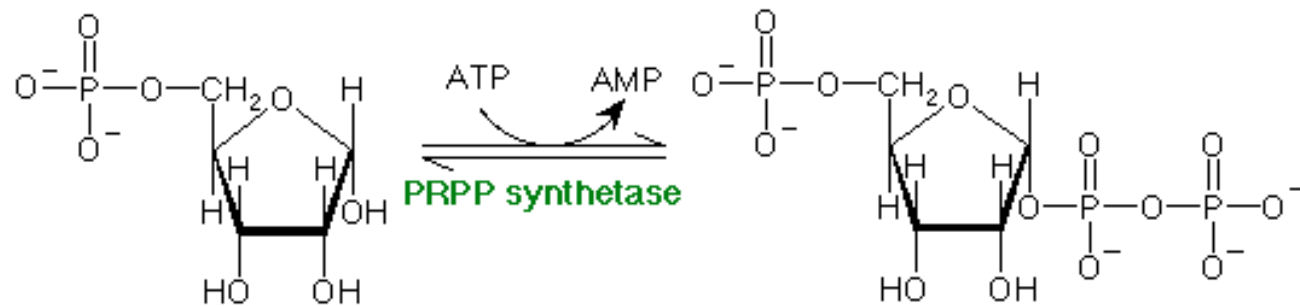
- La biosynthèse des ribonucléotides pyrimidiques, est régulée par **rétroinhibition**.
- L'ATCase (**l'aspartate transcarbamylase**), l'un des enzymes clé de la régulation, est **inhibée par le CTP**, produit final de la voie de biosynthèse des ribonucléotides pyrimidiques, et **stimulée par l'ATP**, produit final de la voie de biosynthèse des ribonucléotides puriques.
- La **carbamylphosphate synthetase II** est **activée par le phosphoribosyl pyrophosphate**.

SYNTHÈSE *DE NOVO* DES RIBONUCLÉOTIDES PURIQUES

- Dans la synthèse *de novo* des ribonucléotides puriques, **le cycle purique est élaboré élément après élément sur le PRPP**.

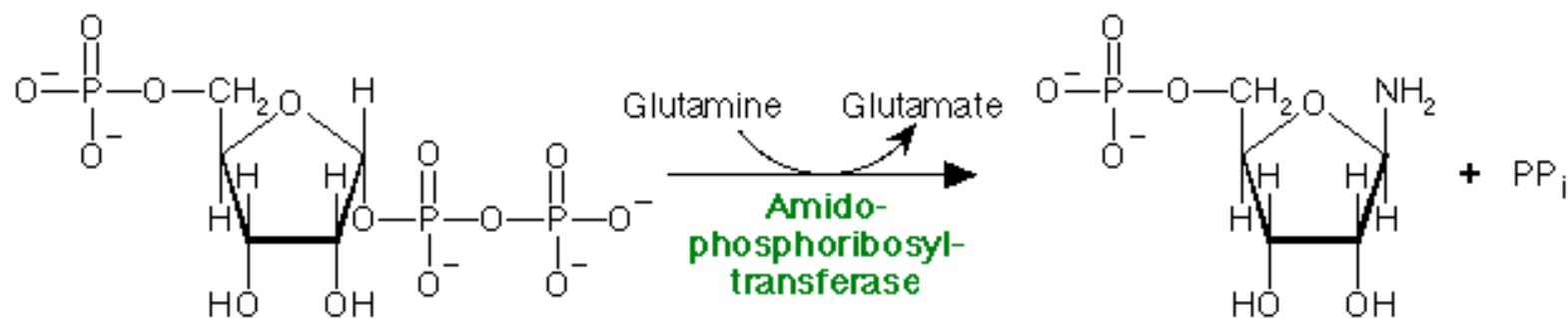


- l'ammoniac résultant de l'hydrolyse de la glutamine se fixe sur le PRPP pour former la **5-phosphorybosyl-1-amine**. Cette réaction, qui engage la voie de biosynthèse, est catalysée par la **glutamine phosphorybosyl amidotransférase**, **enzyme allostérique** qui est contrôlée par **rétroinhibition** (la voie de biosynthèse des ribonucléotides puriques).
- Puis le cycle purique s'édifie progressivement sur cette structure au cours d'étapes suivantes; chez les Eucaryotes, les enzymes sont organisés dans des **complexes multienzymatiques**.



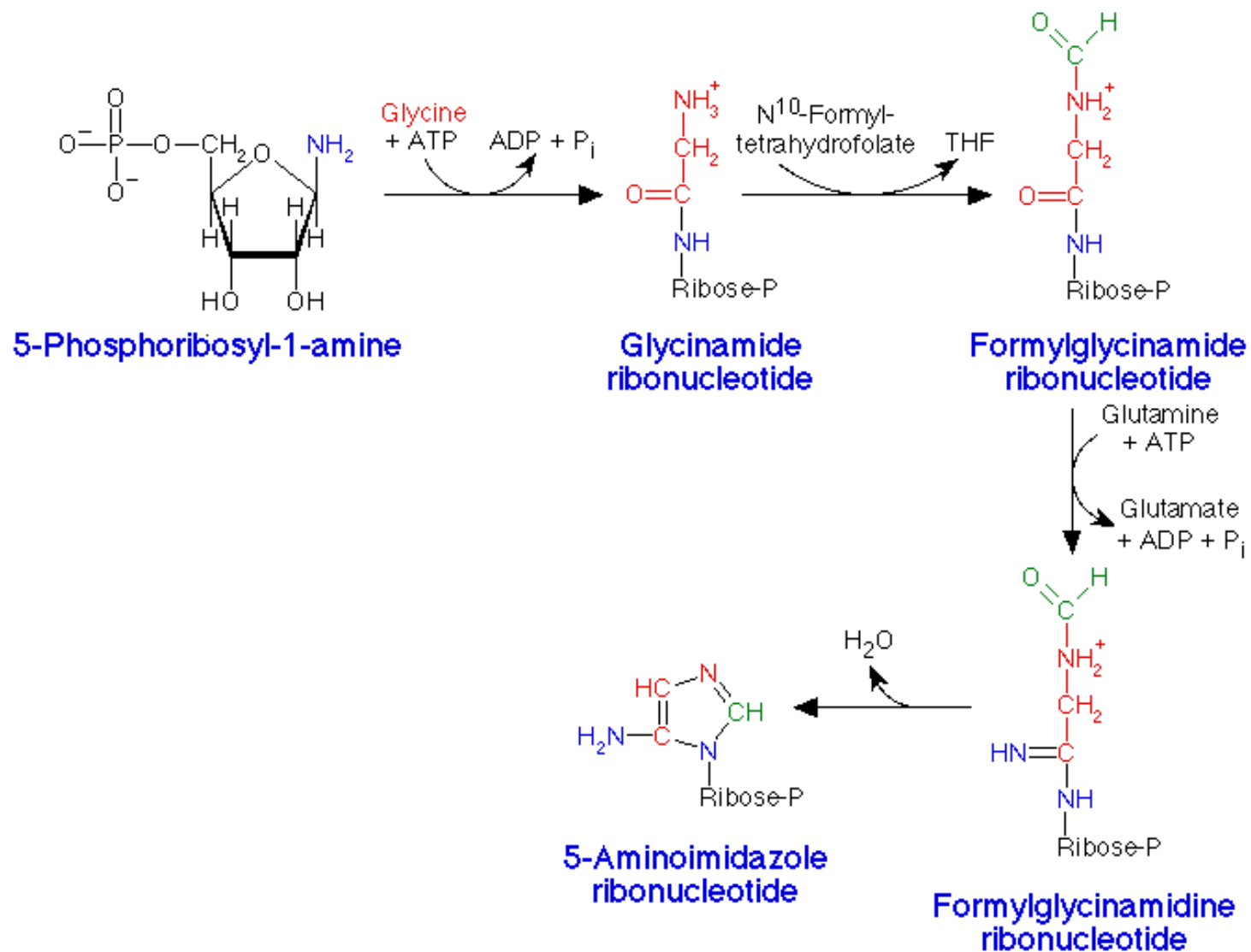
Ribose 5-phosphate

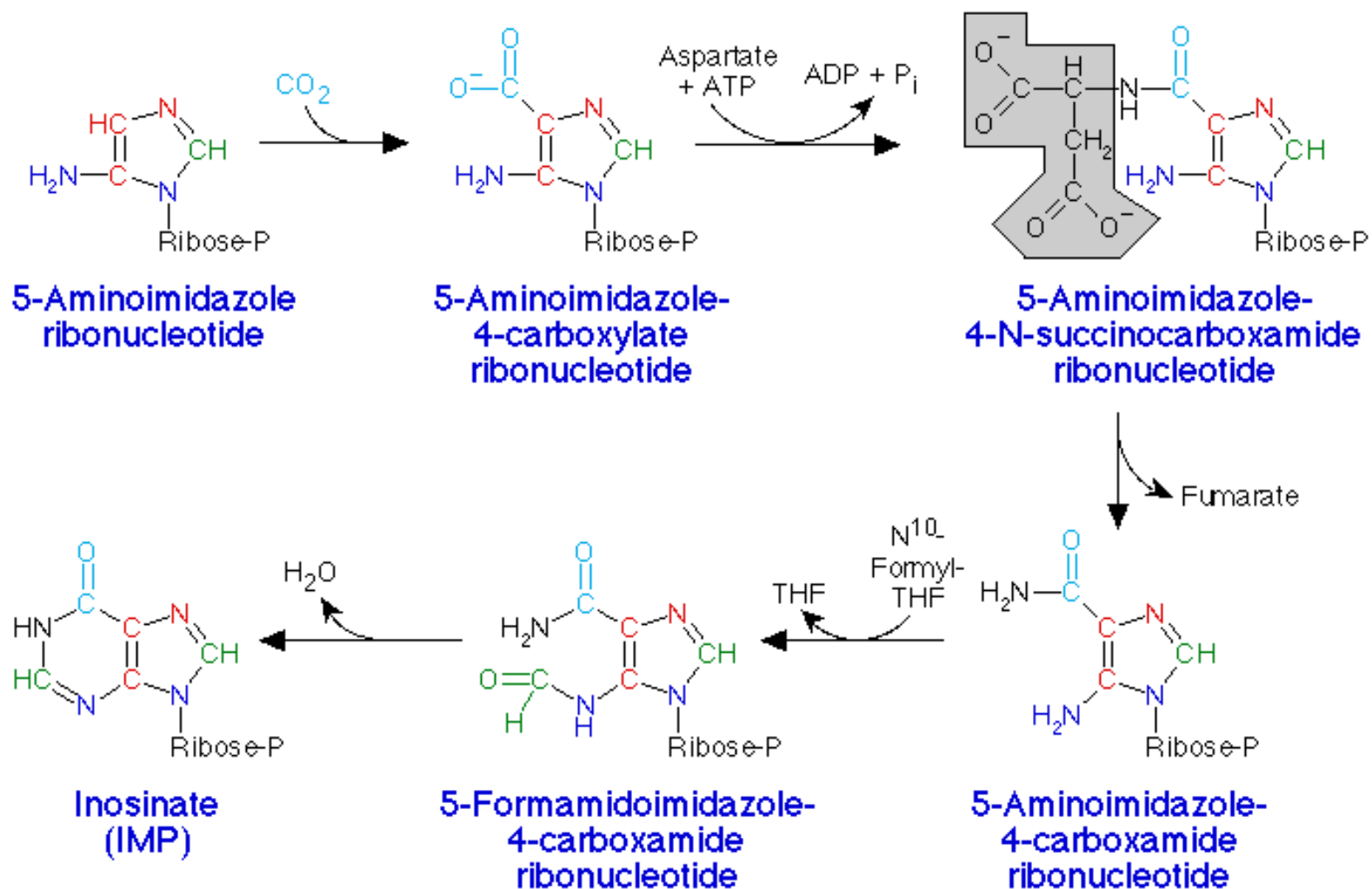
5-Phosphoribosyl-1-pyrophosphate
(PRPP)



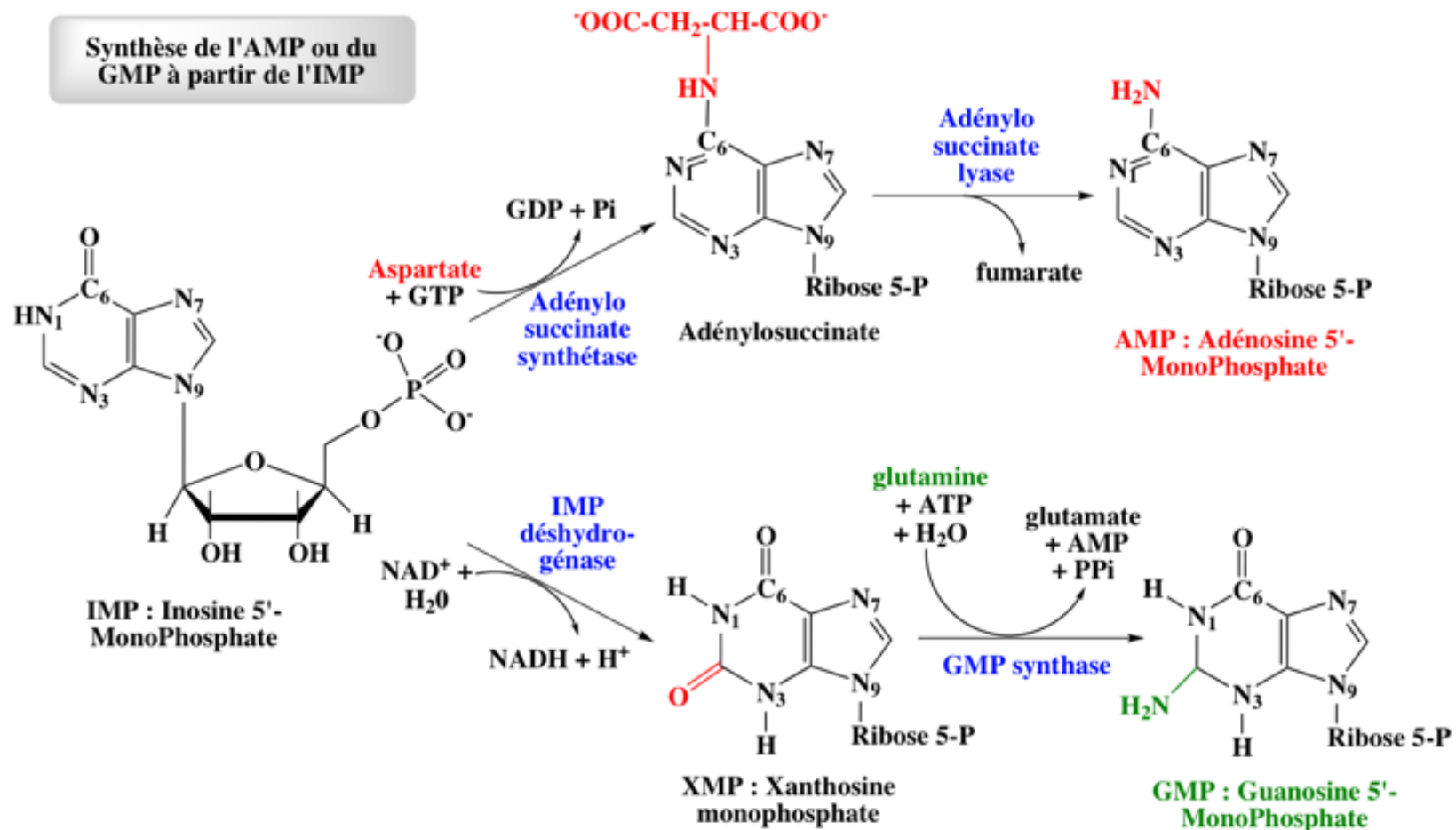
5-Phosphoribosyl-1-pyrophosphate
(PRPP)

5-Phosphoribosyl-1-amine





- L'inosinate (IMP) qui résulte de la voie précédemment décrite conduit ensuite aux nucléotides adényliques (AMP, ATP) ou guanyliques (GMP, GTP) Les voies qui partent de l'inosinate sont des sites de rétroinhibition.



- **La plus intense synthèse de nucléotides puriques se produit dans le foie, un organe qui fournit les nucléotides ou les bases azotées nécessaires aux tissus incapable de biosynthèse.** Par exemple, le cerveau a une faible activité de biosynthèse des purines et dépend en partie de l'apport exogène. Les érythrocytes et des leucocytes polynucléaires ne peuvent pas synthétiser les purines et elles dépendront entièrement sur le plasma pour leurs fournir les nucléotides.
- **La synthèse d'une purine est effectuée à un haute consume d'énergie (ATP).**

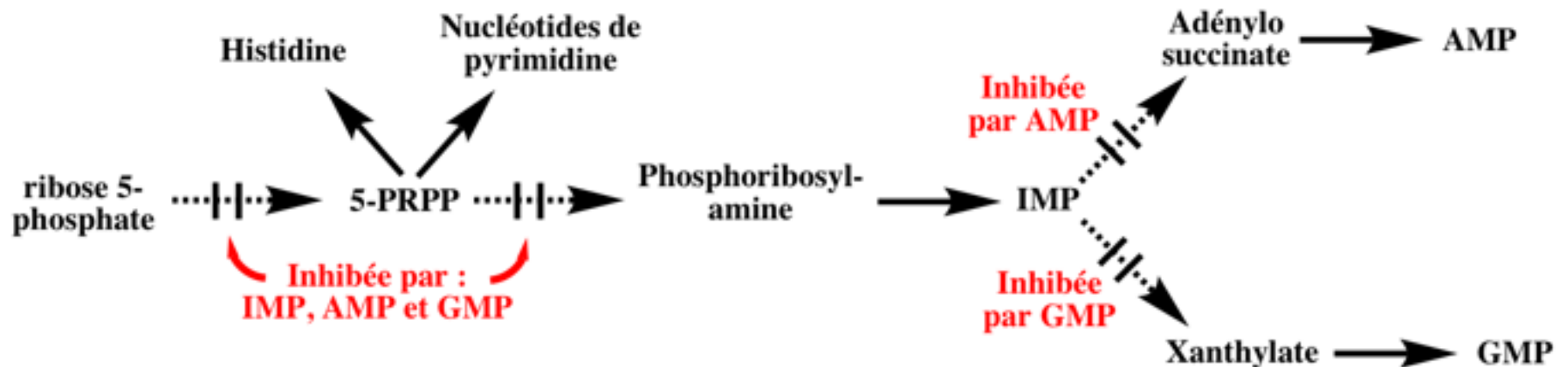
Réglage de la synthèse des purines

- Est réalisé par la **concentration des réactifs et des produits de réaction.**

Le réglage du substrat est réalisé par la disponibilité des précurseurs: **ribose-5-phosphate, l'acide folique, de la glutamine et de l'aspartate, du formyle FolH₄.**

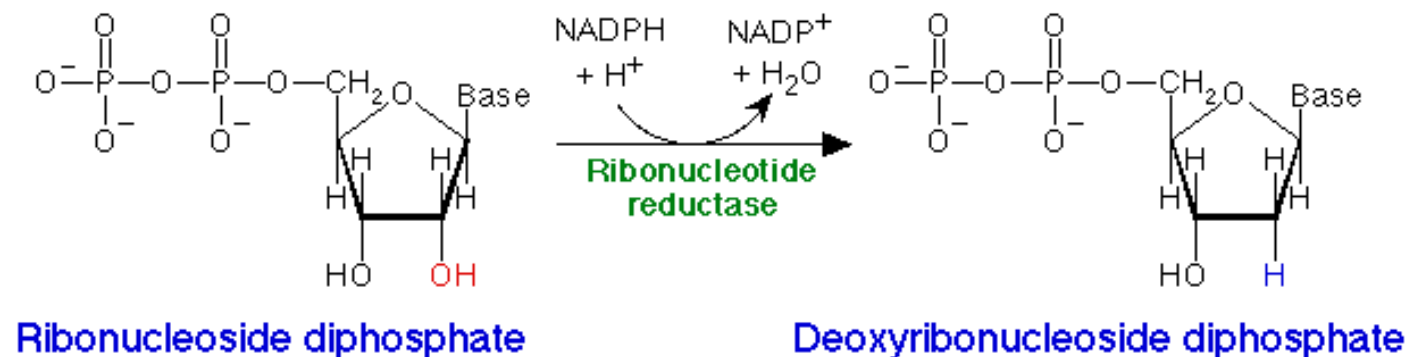
Le réglage enzymatique se fait aux enzymes **phosphoribosyl pyrophosphate synthétase** et **phosphoribosyl pyrophosphate amidotransférase** par le contrôle **de feed-back** de produits fabriqués par les processus de biosynthèse: **AMP, ATP, GMP et GTP**.

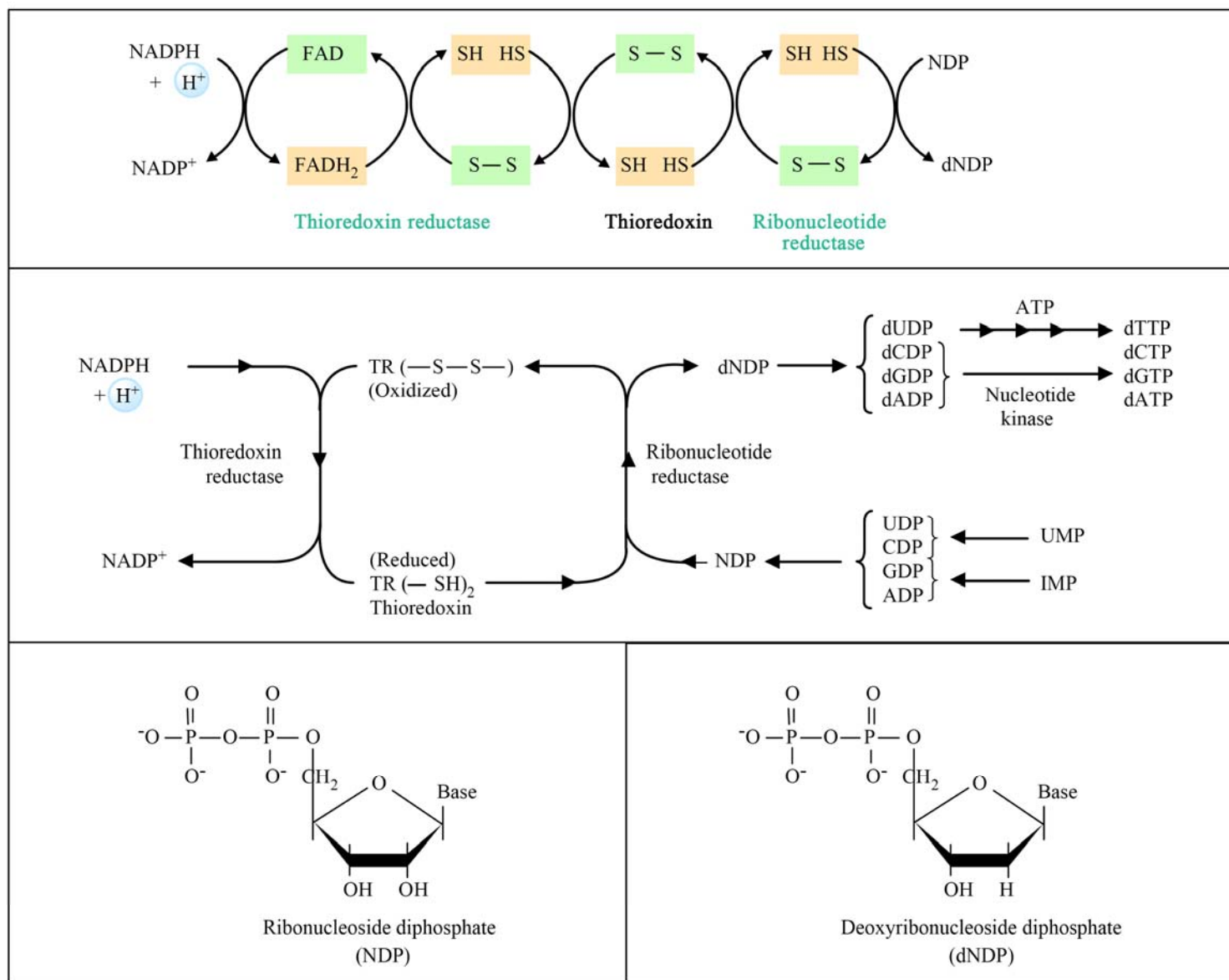
- Parce que la transformation $\text{IMP} \rightarrow \text{AMP}$ nécessite GTP et la conversion $\text{IMP} \rightarrow \text{GMP}$ nécessite ATP, **deux types de nucléotides ajustent la concentration l'un a l'autre**.
- **NAD⁺ et FAD inhibe** également la synthèse au niveau de PRPP-synthétase.



LA SYNTHÈSE DES DÉSOXYRIBONUCLÉOTIDES

- Les désoxyribonucléotides, précurseurs d'ADN, se forment par **réduction des ribonucléosides diphosphate** correspondants.
- Le groupe hydroxyle en C-2' du ribose est remplacé par un atome d'hydrogène et le NADPH est le réducteur ultime.
- La réaction est catalysée par une **ribonucléotide réductase** active sur les quatre ribonucléotides (NDP).
- L'enzyme utilise comme donneur direct de hydrogène une protéine nommée **thiorédoxine** qui contient des résidus thiol réductrices.
- L'enzyme est active seulement dans le moment de la synthèse de l'ADN.

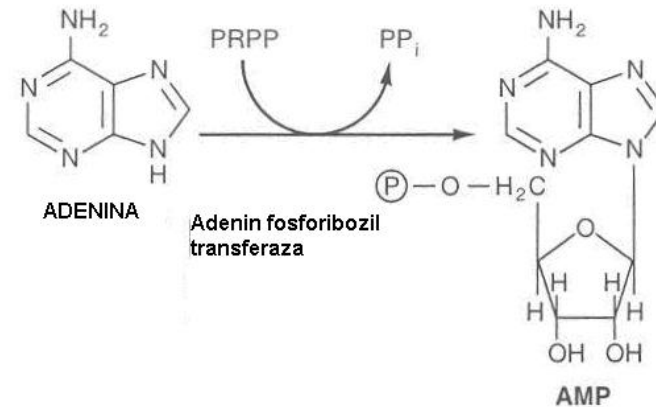




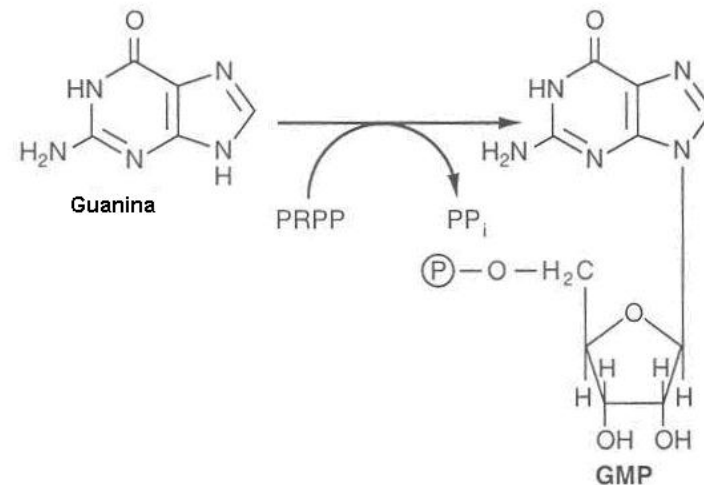
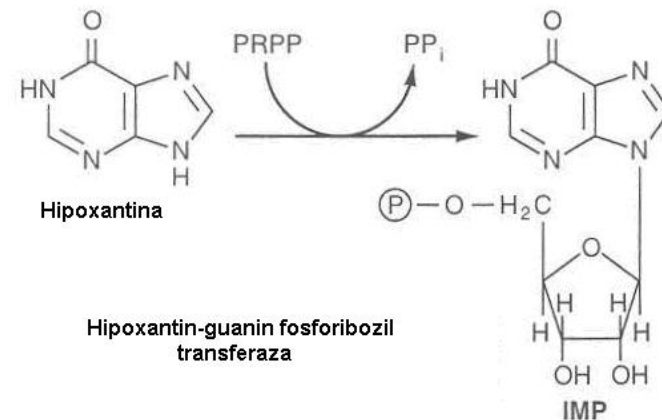
Les voies de sauvetage des nucléotides

- La synthèse de novo est coûteuse en énergie - 10 molécules d'ATP sont nécessaires pour la synthèse d'une molécule d'AMP.
- Au cours des **voies de sauvetage**, les nucléotides sont synthétisés à partir des intermédiaires (les bases et les nucléosides) du catabolisme (dégradation) des nucléotides.
- Ceci est important dans certaines conditions, car tous les tissus ne peuvent pas réaliser la synthèse *de novo* des nucléotides.
- **Les bases puriques libres** sont réutilisées par une réaction de phosphoribosylation en les transformant en nucléosides monophosphates.

- Pour l'adénine, l'enzyme spécifique est **adenylphosphoribosyl transférase** :



- L'enzyme **hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transférase** (HGPRT) est régulée par des hautes concentrations d'AMP et GMP par feed-back négatif.



- En cas des **nucléotides pyrimidiques** les réactions de sauvetage **utilisent uniquement les nucléosides** (uridine, cytidine, thymidine et la d-cytidine) qui sont transformés par phosphorylation (phosphoryle transférase ATP dépendant) en nucléosides monophosphate.
- L'enzyme **orotate phosphoribosyl transférase** convertit l'acide orotique libre en orotidine monophosphate (OMP).



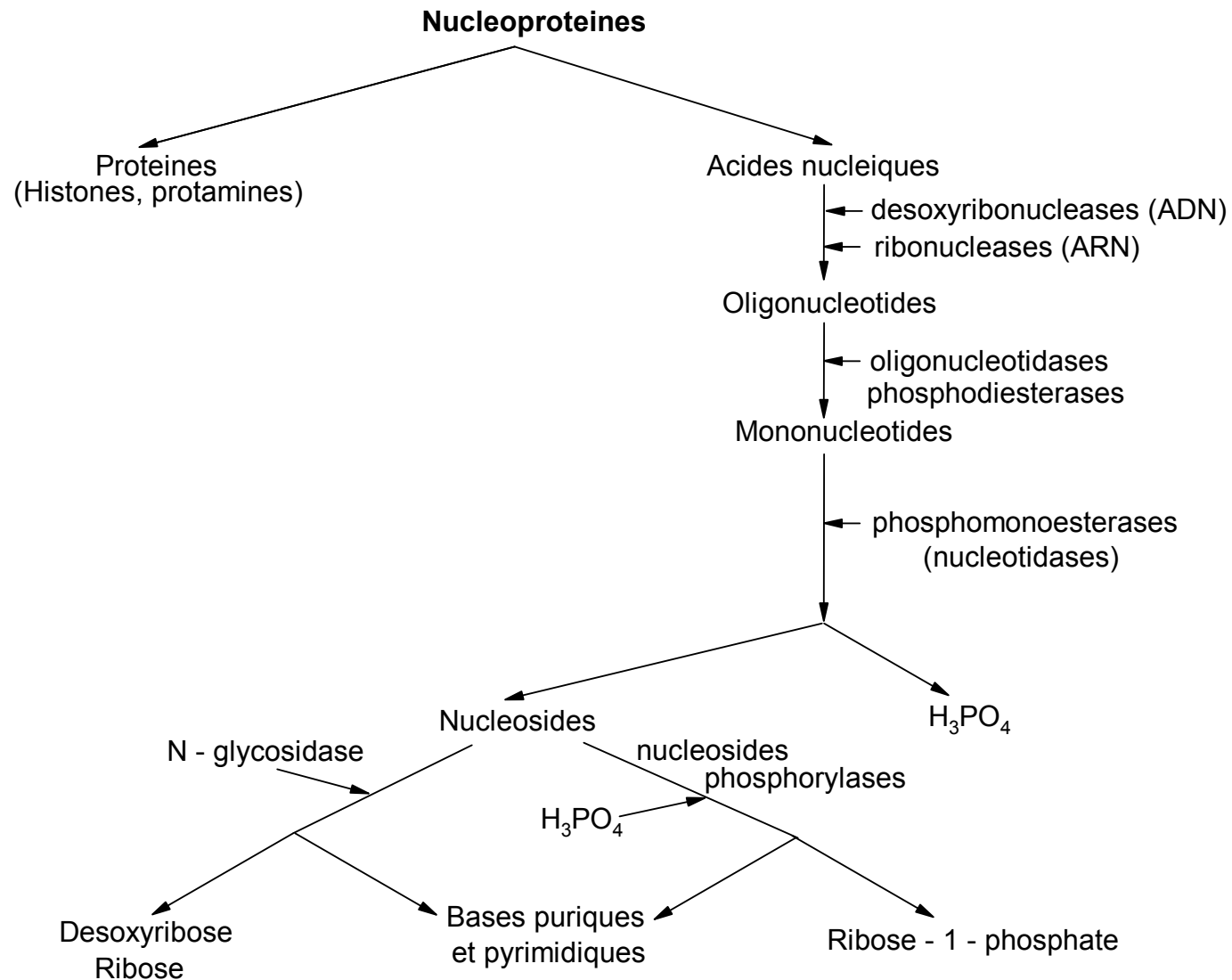
- La désoxy-uridine est également un substrat de l'uridine phosphorylase :



- **Dans le foie, la synthèse de novo des nucléotides est prédominante.** Le foie exporte des bases azotées libres, des **nucléosides et nucléotides** pour d'autres tissus (par exemple tissus nerveux, érythrocytes), où la synthèse de novo est pauvre, **mais les réactions de sauvetage sont possibles.**

-

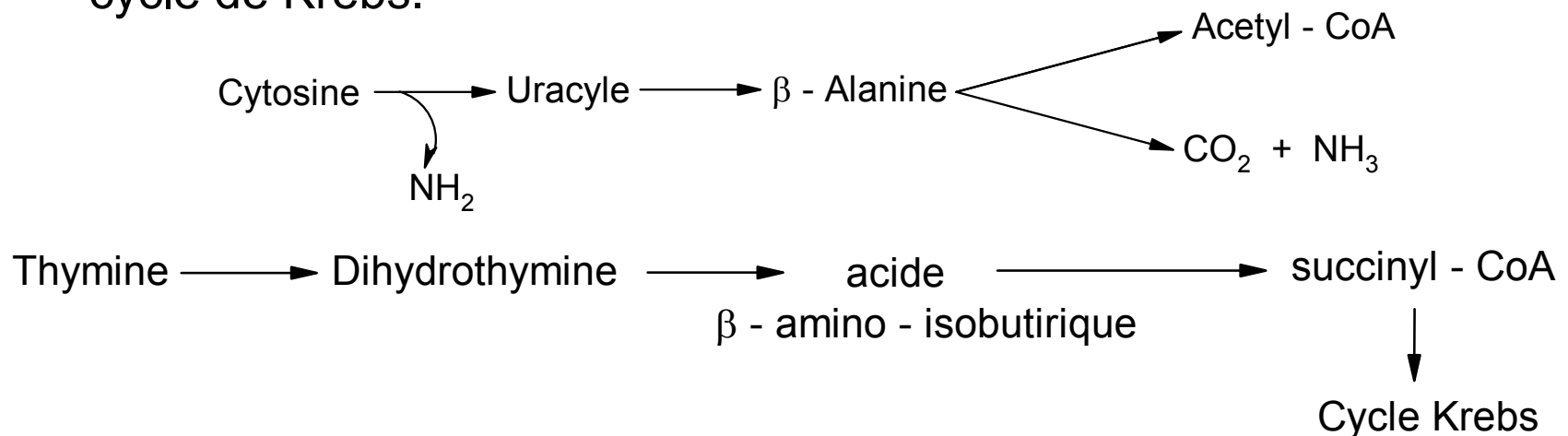
Catabolisme des acides nucléiques



- Les enzymes qui catalysent l'hydrolyse des acides nucléiques (**nucléases**) existent dans toutes les cellules ayant le rôle de détruire les acides nucléiques étrangères ou les acides ribonucléiques (ARNm, ARNt, ARNr) qui ont fini leur mission.
- Au niveau de l'organisme, les plus grandes quantités se trouvent dans le pancréas, la rate, le foie.
- Les nucléotides sont hydrolysés par des **nucléotidases** chez des nucléosides.
- Les nucléosides et les base puriques et pyrimidiques peuvent être soit catabolisés totalement jusqu'à des composants simples, soit récupérés dans les réactions salvatrices.
- **Le catabolisme des purines diffère de celui des pyrimidines :**
- **les purines** sont dégradées en substances potentiellement toxiques : le métabolisme des purines (synthèse des purines et dégradation des nucléotides de purine) participe à **l'élimination de l'azote** sous **forme d'acide urique** (uricogénèse).
- **les pyrimidines** sont dégradées en molécules facilement métabolisées : **β -alanine et β -aminoisobutyrate, NH_3 et CO_2 .**

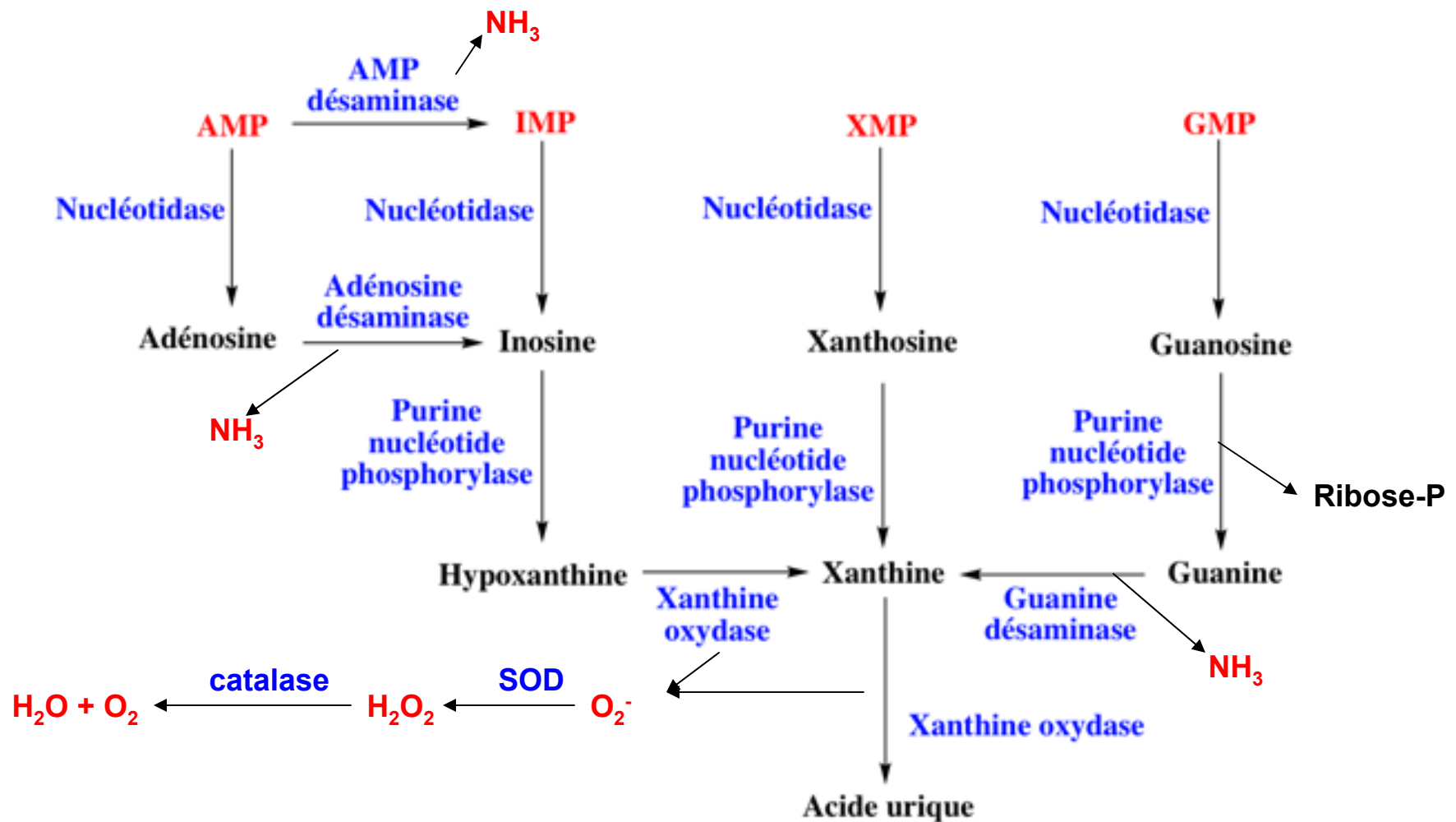
Catabolisme des bases pyrimidiques

- Le catabolisme des nucléotides de pyrimidine aboutit finalement à la **β -alanine** (catabolisme de CMP et UMP) ou au **β -amino-isobutyrate** (catabolisme de dTMP) et à NH_3 et CO_2 .
- La β -alanine et le β -amino-isobutyrate sont des donneurs de groupement $-\text{NH}_2$ dans les **réactions de transamination** de l' α -cétooglutarate en glutamate.
- Une réaction subséquente convertit les produits en **malonyl-CoA** (qui peut être redirigé vers la synthèse des acides gras) ou en **méthylmalonyl-CoA** qui est converti en **succinyl-CoA** qui rejoint le cycle de Krebs.

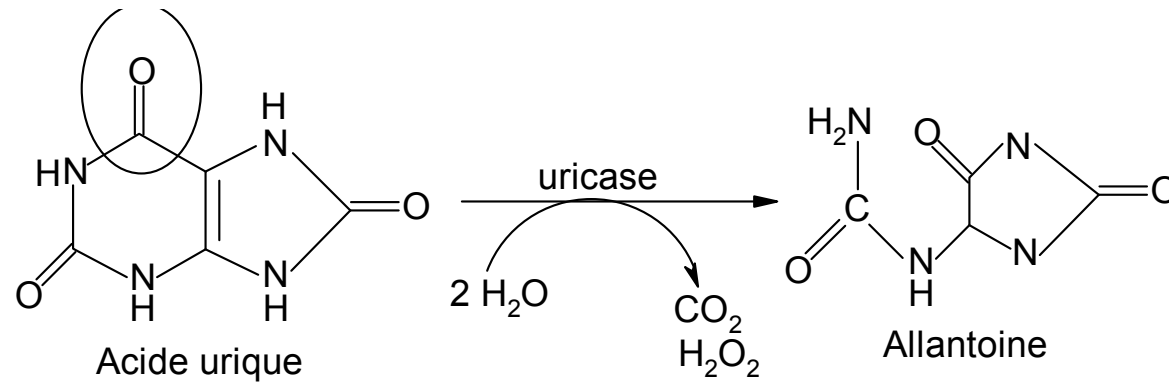


Catabolisme des bases puriques

- Le catabolisme des nucléotides de purine aboutit à la formation **d'acide urique (+ NH₃)**, insoluble et excrété dans l'urine sous forme de cristaux d'urate de sodium.



- Chez l'homme et chez certains singes supérieurs, l'acide urique formé est éliminé par les reins.
- Chez des autres mammifères l'intervention d'une oxydase spécifique, **l'uricase**, transforme l'acide urique en allantoïne.



- Les animaux dont le métabolisme purique conduit à l'acide urique, sont nommé **uricotéliques** (homme et singes anthropoïdes) ;
- presque tous les mammifères sont producteurs d'allantoïne et de ce fait, nommé allantoïnotéliques.

- L'acide urique se forme majoritaire dans le foie, étant éliminé par les reins, 0,5 g/jour.
- La concentration plasmatique normale est de 2,5 – 8 mg %.
- L'acide urique a une solubilité réduite et quand la concentration augmente (hyperuricémie) il se dépose au niveau des articulations sous la forme des urates. **Cette pathologie est caractéristique dans la goutte.**
- La cause de la goutte c'est un déficit de l'enzyme P-ribosyl-PP transférase (enzyme de sauvetage) qui empêche la récupération des bases puriques qui sont toutes catabolisées à l'acide urique, dont la concentration plasmatique augmente. Le traitement est fait avec **l'allopurinol**, un analogue purique qui **inhibe par compétition l'enzyme xanthine oxydase.**
-
- **Le syndrome Lesch – Nyhan**, maladie congénitale avec un déficit total de **l'enzyme P-ribosyl-PP transférase**, est une maladie fatale dans la première année de vie.

Substances chimiothérapeutiques qui interfèrent avec le métabolisme des nucléotides

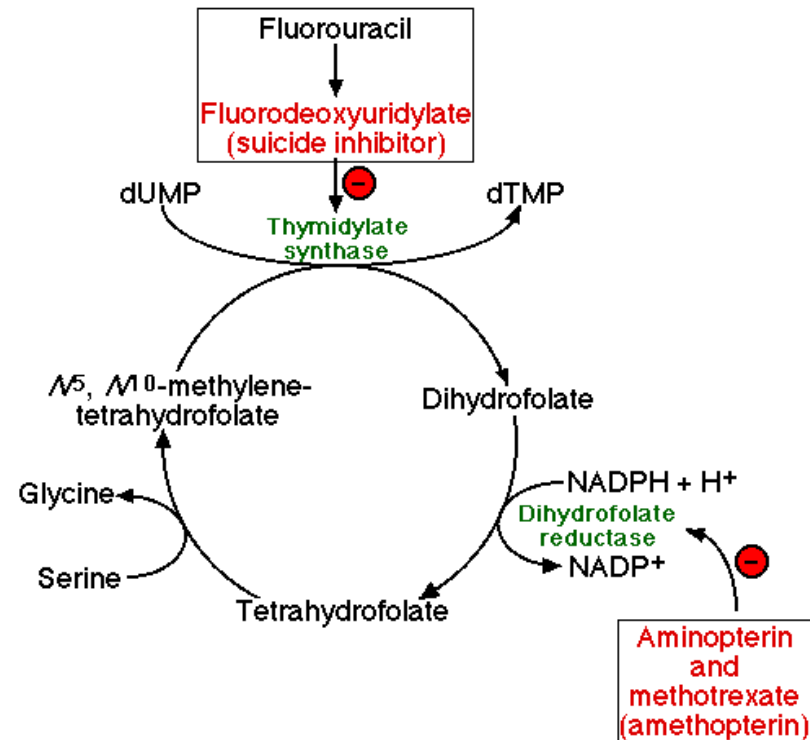
- Elles sont des **inhibiteurs d'enzymes clés**, impliquées dans le métabolisme des nucléotides.
- Après leurs structure ou le rôle fonctionnel elles sont divisées en:
 - antimétabolites,
 - antifolates,
 - antagonistes de glutamine,
 - virustatique.

A. Antimétabolites

- Sont des **substances structurellement analogues au purines ou de pyrimidines**, de sorte qu'elles **inhibent compétitivement les enzymes** impliquées dans le métabolisme normal des nucléotides.
- Exemples : **6-mercaptopurine**, le **5-fluorouracile**, le cytosine arabinoside (**cytarabine** - a arabinose au lieu du ribose), la **6-thioguanine**. Elles **inhibent soit la synthèse du nucléotide spécifique, ou sont incorporés dans l'ADN ou l'ARN comme des nucléotides faux, en bloquant l'activité des acides nucléiques**.
- Pour cette raison, ils sont utilisés comme **cytostatiques** dans le traitement du cancer.
- **Allopurinol** (un analogue structural d'hypoxanthine) est un inhibiteur compétitif de l'enzyme **xanthine oxydase**, bloquant la conversion de l'hypoxanthine en xanthine et en acide urique, un phénomène associé à xantinurie.
- Dans le même temps, l'allopurinol est substrat alternatif de l'orotate phosphoribosyl transferase, en bloquant de la conversion de l'acide orotique en uracile. Il est utilisé pour traiter la **goutte et certains types de cancer**.

B. Antifolates

- Sont des agents chimiothérapeutiques, ayant la **structure analogique à l'acide folique** qui bloquent la régénération du FolH2 en FolH4 ou folate, **inhibant compétitivement l'enzyme FolH2 réductase**.
- **Cet effet arrête la synthèse de novo des nucléotides, produisant le blocage de la division cellulaire.**
- L'agent le plus connu est le **methotrexate**, qui est actuellement utilisé comme agent antitumoral dans le traitement du cancer.
- Le méthotrexate est toxique pour les cellules normales ; le traitement de la leucémie par le méthotrexate est associé à l'utilisation de N5-formyl-FolH4 (**Leucovarine**).



C. Antagonistes de glutamine

- La glutamine est un élément essentiel dans la synthèse de nucléotides:
 - est la source d'atomes d'azote du noyau purique.
 - intervient dans la transformation $\text{IMP} \Rightarrow \text{GMP}$
 - intervient dans la transformation $\text{UTP} \Rightarrow \text{CTP}$
 - participe à la synthèse de la carbamyl-phosphate
- \Rightarrow **les analogues structurels de la glutamine comme 6-diazo-5-oxo-L-norleucine ou azasérine peuvent bloquer ces réactions essentielles dans la synthèse des nucléotides.**
- Les composés ont un **effet cytotoxique forte.**

D. Agents antiviraux

- Sont des analogues structuraux de purines ou de pyrimidines, où:
 - des atomes de carbone sont remplacés par d'atomes de halogènes (iodoxuridine, trifluoruridine),
 - le component glucidique est modifiés (vidarabine est un adeninarabinose, aciclovir est aciclovirguanosine, azidothymidine est 3'-azido-3'-deoxythymidine).
- Aciclovir est un agent antiviral pour virus d'herpes (HSV),
- Azidothymidine - AZT pour le virus d'immunodéficience humain (HIV).
- Toutes les substances inhibent compétitivement des kinases virales, ils sont transformés dans des nucléotides aberrants, bloquant l'activité des ADN polymérases virales.