

## MODELE DE JONCTION B-Z DANS UN OLIGONUCLEOTIDE SYNTHETIQUE COMPORTANT UN SITE APURINIQUE

S. Pochet<sup>1</sup>, T. Huynh-Dinh<sup>1</sup>, J.-M. Neumann<sup>2</sup>, S. Tran-Dinh<sup>2</sup>,  
J.A. Taboury<sup>3</sup>, E. Taillandier<sup>3</sup> et J. Igoien<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unité de Chimie Organique, UA-CNRS 487, Institut Pasteur, 28, rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, France.

<sup>2</sup>Service de Biophysique, Centre d'Etudes Nucléaires de Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex, France

<sup>3</sup>Laboratoire de Spectroscopie Biomoléculaire, UER Médecine-Biologie, 74 rue Marcel Cachin, 93012 Bobigny Cedex, France.

**Abstract:** The synthesis of the tridecadeoxynucleotide d(C-G-m<sup>5</sup>C-G-C-G-X-A-C-A-T-G-T), where X is a no-base residue, is described. The NMR, IR and CD studies at various salt concentrations and temperatures of the modified oligomer, show that the B and Z conformations are simultaneously present in the same duplex.

L'étude par diffraction des rayons X d'oligonucléotides comportant des paires de bases d(C-G)<sub>n</sub> a permis en 1979 de caractériser une nouvelle forme de l'hélice, appelée hélice gauche Z<sup>1</sup> par opposition à l'hélice droite B. Dès lors de nombreux oligomères ont été synthétisés et cristallisés afin d'étudier la formation de l'hélice Z<sup>2</sup>. L'introduction récente des spectroscopies RMN (<sup>1</sup>H, <sup>31</sup>P) et IR dans l'étude de courts oligonucléotides autocomplémentaires, a permis de suivre en solution ou sous forme de films plus ou moins hydratés les conformations de tels duplexes, de connaître les conditions d'équilibre entre les diverses formes A, B, Z et S (monobrin), ainsi que le mécanisme d'ouverture d'un double brin<sup>2</sup>.

La forme Z est favorisée par l'alternance de purine-pyrimidine telle que d(G-C)<sub>n</sub><sup>3</sup>, l'introduction de bases modifiées (8-BrG<sup>4</sup>, 7-MeG<sup>5</sup>, 5-MeC<sup>6</sup>, 2-NH<sub>2</sub>A<sup>7</sup>), l'addition d'alcool<sup>8</sup> ou d'ions métalliques (Mg<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ni<sup>2+</sup>...) <sup>9</sup>.

Dans le cas de polymères synthétiques, tels que poly d(G-C) et poly d(m<sup>5</sup>C-G), les structures B et Z ont été détectées simultanément sur la même double hélice au moyen d'anticorps spécifiques à la conformation Z<sup>10</sup>. Dans le cas de courts oligomères, l'échange B ⇌ Z étant très rapide, il est difficile d'imaginer qu'une partie de l'hélice bascule à gauche tandis que l'autre reste dans la conformation droite. Les modèles synthétisés jusqu'à présent <sup>11,12,13</sup> n'ont pas permis de montrer la présence simultanée des formes B et Z sur

côté et A, C de l'autre). Lorsque la température diminue, les signaux des protons en échange chimique se déplacent vers les hauts champs tandis que de nouvelles résonances apparaissent. On observe (Figure 2) un nouveau pic, relié au méthyle de m<sup>5</sup>C dans la forme B, dont le déplacement chimique correspond aux protons méthyles des bases dans les duplexes de forme Z (30% à température ambiante avec 0,1 M NaCl). La forme Z du tridécamère apparaît donc pour une concentration saline beaucoup plus faible que celles observées jusqu'à présent pour de courts fragments d'ADN (>1 M NaCl)<sup>14,18</sup>.

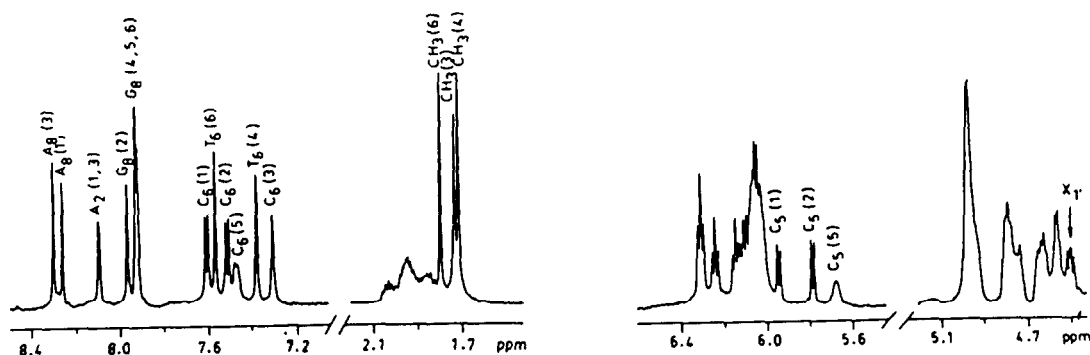


Figure 1

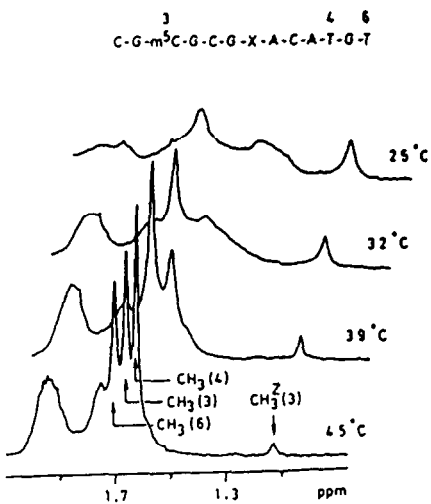


Figure 2

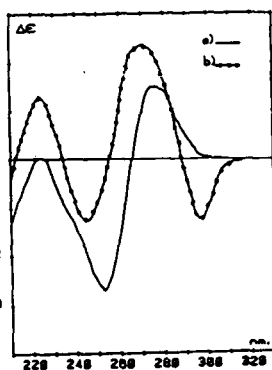


Figure 3

- a) 0,1 M NaCl
- b) 4 M NaCl

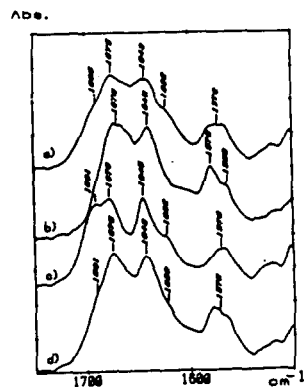


Figure 4

- a) 1 b) d(C-G-m<sup>5</sup>C-G)
- c) d(A-C)<sub>n</sub> d) b + c

L'étude par dichroïsme circulaire<sup>19</sup> indique pour une concentration de 0,1 M NaCl la prédominance de la forme B<sup>20</sup>. A 4 M NaCl, on obtient un mélange des formes B et Z que l'on peut attribuer aux parties b et a respectivement (Figure 3).

L'étude par infrarouge en phase condensée<sup>21</sup> confirme les résultats obtenus en solution. Quelque soit l'humidité relative (32% à 100%) avec Na<sup>+</sup>, les spectres expérimentaux sont identiques à ceux recalculés par addition du spectre de la forme Z de l'hexamère d(C-G-m<sup>5</sup>C-G-C-G) et du spectre de la forme B du polymère d(A-C)<sub>n</sub>. d(G-T)<sub>n</sub>. Nous donnons à titre



d'exemple (Figure 4), la région spectrale 1800-1550  $\text{cm}^{-1}$  des vibrations dans le plan des doubles liaisons des bases, région très sensibles aux changements d'empilement des bases lors de la transition  $B \rightleftharpoons Z$ . En effet, les bandes principales du massif pour le  $d(\text{G-C})_n$  se déplacent de 1681  $\text{cm}^{-1}$ , 1649  $\text{cm}^{-1}$  (forme B), à 1666  $\text{cm}^{-1}$ , 1634  $\text{cm}^{-1}$  (forme Z) et pour le  $d(\text{A-C})_n$ - $d(\text{G-T})_n$  de 1678  $\text{cm}^{-1}$ , 1645  $\text{cm}^{-1}$  (forme B) à 1656  $\text{cm}^{-1}$ , 1632  $\text{cm}^{-1}$  (forme Z)<sup>22</sup>. Par contre les spectres recalculés en utilisant les formes A ou Z du polymère  $d(\text{A-C})_n$ - $d(\text{G-T})_n$  ne permettent pas de reproduire le spectre observé avec les bandes à 1675  $\text{cm}^{-1}$  et 1643  $\text{cm}^{-1}$ .

Cette étude montre donc, parmi d'autres types de jonctions possibles, que les conformations B et Z peuvent être simplement reliées par un seul site apurinique. Les implications biologiques d'une telle structure sont extrêmement importantes et d'autres travaux sont en cours pour confirmer ce résultat.

L'interprétation complète des spectres de RMN, CD et IR sera publiée ultérieurement.

#### REFERENCES

- 1 A.H.-J. Wang, G.J. Quigley, F.S. Kolpach, J.L. Crawford, J.H. Van Boom, G.A. Van der Marel et A. Rich, *Nature*, 1979, 282, 680.
- 2a D.J. Patel, S.A. Kozlowski, S. Ituka et K. Itakura, *Biochemistry*, 1984, 23, 3207 et 3218.
- 2b J. Feigon, A.H.-J. Wang, G.A. Van der Marel, J.H. Van Boom et A. Rich, *Nucleic Acids Res.*, 1984, 12, 2.
- 2c G.V. Fazakerley, G.A. Van der Marel, J.H. Van Boom et W. Guschlbauer, *Nucleic Acids Res.*, 1984, 12, 8269.
- 3 T.J. Thamann, R.C. Lord, A.H.T. Wang et A. Rich, *Nucleic Acids Res.*, 1981, 9, 5443.
- 4 A. Möller, A. Nordheim, S.A. Kozlowski, D.J. Patel et A. Rich, *Biochemistry*, 1984, 23, 54.
- 5 A. Möller, A. Nordheim, S.A. Nichols et A. Rich, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981, 78, 4777.
- 6 M. Behe et G. Felsenfeld, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1981, 78, 1619.
- 7 B.L. Gaffney, L.A. Marky et R.A. Jones, *Tetrahedron*, 1984, 40, 3.
- 8 S. Brahm, J. Vergne et J.G. Brahm, *J. Mol. Biol.*, 1982, 162, 473.
- 9a F. Pohl et T.M. Jovin, *J. Mol. Biol.*, 1972, 67, 375.
- 9b J.J. Butzow, Y.A. Shin et G.L. Eichborn, *Biochemistry*, 1984, 23, 4837.
- 9c J.A. Taboury, P. Bourtarpe, J. Liquier et E. Taillandier, *Nucleic Acids Res.*, 1984, 12, 4247.
- 10 A. Nordheim, M.L. Pardue, E.M. Lafer, A. Möller, B.D. Stollar et A. Rich, *Nature*, 1981, 294, 417.
- 11 D.J. Patel, A. Pardi et K. Itakura, *Science*, 1982, 216, 581.
- 12 F. Quadrifoglio, G. Manzini, M. Vasser, K. Dinkelspiet et R. Créa, *Nucleic Acids Res.*, 1981, 9, 2195.
- 13 T.A. Millican, G.A. Mock, M.A. Chauncey, T.P. Patel, M.A.W. Eaton, J. Gunning, S.D. Cutbush, S. Neidle et J. Mann, *Nucleic Acids Res.*, 1984, 12, 7435.
- 14 J.A. Cavaillès, J.-M. Neumann, J. Taboury, B. Langlois d'Estaintot, T. Huynh-Dinh, J. Igolen et S. Tran-Dinh, *J. Biomol. Str. and Dyns.*, 1984, 1, 1347.
- 15 S. Tran-Dinh, J.-M. Neumann, T. Huynh-Dinh, B. Genissel, J. Igolen et G. Simonnot, *Eur. J. Biochem.*, 1982, 124, 415.
- 16 Le composé 2 est obtenu après détoluoylation du cyano-1 di-o-p-toluoyl-3,5 désoxy-2-D ribose: A. Kolb, C. Gouyette, T. Huynh-Dinh et J. Igolen, *Tetrahedron*, 1975, 31, 2914.
- 17 L'oligomère est solubilisé dans  $\text{D}_2\text{O}$  (0,1 M NaCl, 5 mM phosphate, pH 7-8)
- 18 S. Tran-Dinh, J. Taboury, J.-M. Neumann, T. Huynh-Dinh, B. Genissel, B. Langlois d'Estaintot et J. Igolen, *Biochemistry*, 1984, 23, 1362.
- 19 Les spectres de DC sont enregistrés à 10°C sur un autodichrographe Mark V.
- 20 J.A. Taboury, S. Adam, E. Taillandier, J.-M. Neumann, S. Tran-Dinh, T. Huynh-Dinh, B. Langlois d'Estaintot, M. Conti et J. Igolen, *Nucleic Acids Res.* 12, 6291.
- 21 Les spectres IR sont enregistrés à 35°C sur un spectromètre Perkin-Elmer 180.
- 22a T.M. Jovin, L.P. McIntosh, D.J. Arndt-Jovin, D.A. Zarling, M.R. Nicoud, J.M. Van de Sande, K.K. Jorgenson et F. Eckstein, *J. Biomol. Str. and Dyns.*, 1983, 1, 21.
- 22b E. Taillandier, J.A. Taboury, S. Adam et J. Liquier, *Biochemistry*, 1984, 23, 5703.