

**PHOTODEGRADATION DES ACIDES NUCLEIQUES PAR LE
N,N'-2,7-DIMETHYLDIAZAPYRENIUM (MDAP²⁺), ET LE
2,2'-[METHYLENE-DI-(1,4-PHENYLENEMETHYLENE-DIYL)]-
BIS-(7-N-METHYL)-2,7-DIAZAPYRENIUM (BIS-DAP⁴⁺).**

BERE P. Augustin¹ (1), SIMPORE K. Jacques², HELENE Claude³, MONTENAY-
GARESTIER Thérèse³, et LEHN Jean Marie⁴.

Résumé

Le MDAP²⁺ et le bis-DAP⁴⁺, molécules dérivées du noyau pyrène, sont des composés aromatiques ayant des caractéristiques spectrales dignes d'intérêt. Ces molécules interagissent très fortement avec les acides nucléiques en simple et en double brin. Ils possèdent de plus, la propriété de dérouler l'ADN surenroulé en s'intercalant dans la double hélice.

Lorsque les acides nucléiques sont irradiés ($\lambda > 300$ nm) en présence de ces deux composés, on observe à la fois une coupure du squelette phosphodiester et une oxydation des bases nucléiques. La guanine est de loin la base la plus touchée. Un des mécanismes possibles de l'oxydation des bases par le MDAP²⁺ et le bis-DAP⁴⁺ est le transfert d'un électron des bases vers le noyau diazapyrène pour générer un radical cation MDAP⁺. Ce radical cation peut réagir soit directement sur les bases, soit avec l'oxygène moléculaire pour générer l'anion superoxyde O₂⁻. L'évolution de cet anion superoxyde conduit à la production dans le milieu réactionnel du radical hydroxyle OH. Ce radical en arrachant un atome d'hydrogène sur le carbone C₂' du sucre conduit à une coupure du squelette phosphodiester des acides nucléiques. Ces molécules

¹ (1) Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire, Unité de Formation et de Recherche en Sciences de la Vie et de la Terre, (UFR-SVT), Université de Ouagadougou, 03 BP 7021 Ouagadougou 03, Burkina Faso

(2) Laboratoire de Biologie, Centre Médical saint Camille, 01 B.P. 364 Ouagadougou 01, Burkina Faso

(3) Laboratoire de Biophysique Moléculaire, Muséum National d'Histoire Naturelle, 43 rue Cuvier, 75232 Paris Cedex 05, France

(4) Laboratoire de Chimie des Interactions Moléculaires, Collège de France, 11 Place Marcelin - Berthelot, 7505 Paris, France.

constituent donc des agents puissants pour la dégradation des acides nucléiques et peuvent être utilisées pour la destruction des virus dans les préparations des plasmas sanguins de transfusion.

Mots-clés : *oligonucléotides, diazapyrène, intercalant, photocoupages, antiviraux*

Abstract

MDAP²⁺ and bis-DAP⁴⁺ interact strongly with nucleic acid in single and double strand. The molecules are intercalating agents that unwind super coiled DNA like acridine dyes.

When nucleic acids are irradiated with light ($\lambda > 300$ nm) in the presence of MDAP²⁺ and bis-DAP⁴⁺ breaks of the phosphodiester skeleton and bases oxidation occur. Guanine base is the most oxidized. One of the most possible mechanisms of the oxidation of bases is a transfer of an electron from bases to the pyren ring generating the radical cation MDAP²⁺. This radical cation reacts directly with bases, or with molecular oxygen O₂ to generate superoxyde anion O₂⁻. Next evolution of this radical anion produces the hydroxyl radical OH. This last one react with the C₂' hydrogen of the sugar to break the phosphodiester skeleton.

MDAP²⁺ and bis-DAP⁴⁺ are then very strong agents that degrade nucleic acids and can then be used to destroy viruses in the blood plasma preparation. They also can be used to stop tumour cells proliferation.

Key-words : *oligonucleotides, diazapyren, intercalating agents, photo-degradation, anti-viruses.*

I - INTRODUCTION

Certaines molécules organiques libres ou complexées à des cations métalliques ont la propriété d'induire une dégradation irréversible du squelette phosphodiester des acides nucléiques. D'autres molécules par contre alkylent les bases nucléiques et les rendent labiles en milieu alcalin (Knorre G.D. *et al*, 1985). En fin, certaines molécules sous l'effet d'une radiation lumineuse se fixent de façon covalente sur les acides nucléiques. Parmi celles-ci, les furocoumarines, les porphyrines et des molécules portant un groupement azido ont été utilisées pour sensibiliser la dégradation des acides nucléiques (Le Doan T. *et al*, 1986, 1987 ; Praseuth D. *et al*, 1987 ; Hama M. M. *et al*, 1983 ; Hélène C. *et al*, 1988).

Le complexe orthophénanthroline-cuivre, en présence d'un réducteur, hydrolyse la chaîne phosphodiester des acides nucléiques (Boutorin A. *et al*, 1984 ; Chu B. C. et Orgel L. E., 1985 ; Boidot-Forget M. *et al*, 1986). La dégradation est plus efficace sur le double brin que sur le simple brin (Sigman D. *et al*, 1979). Cette réaction a été utilisée pour faire l'étude de la structure secondaire des promoteurs de l'opéron lactose (Sigman D. *et al*, 1985 ; Chen C. *et al*, 1986). Lorsque l'on lie un oligonucléotide à un agent chimiquement activable, l'ensemble se comporte comme une nucléase artificielle pour la cible complémentaire de l'oligonucléotide (Boidot-Forget M. *et al*, 1986 ; Chen C. *et al*, 1986 ; François J. C. *et al*, 1987 ; Dreyer *et al*, 1985).

Le complexe EDTA-Fer possède également en milieu neutre, une activité nucléasique. Lorsque l'EDTA est lié de façon covalente à un oligonucléotide, il induit des coupures sur la séquence complémentaire cible en présence d'un réducteur qui déclenche la réaction (Boidot-Forget M. *et al*, 1986 ; Dreyer G. B. *et al*, 1985).

Les porphyrines ferriques dégradent aussi le squelette phosphodiester des acides nucléiques. Couplées à des oligonucléotides, elles induisent

des pontages sur les cibles complémentaires. Le traitement de ces pontages en milieu basique conduit à une coupure de la chaîne complémentaire (Praseuth D. *et al*, 1987 ; Le Doan T. *et al*, 1987 (a et b) ; Hélène C., 1987).

La proflavine et les porphyrines non métallées sont aussi capables de former des liaisons covalentes avec les bases nucléiques sous irradiation lumineuse. Il en est de même des dérivés azido comme l'azidophénacyl ou l'azidoproflavine.

Dans ces différents types de réactions, le signal qui initie la réaction est, soit de nature chimique (l'addition d'un réducteur dans le cas des complexes orthophénanthroline-cuivre, EDTA-Fer ou pophyrine-Fer), soit une excitation lumineuse dans le cas de la proflavine et des porphyrines.

Dans cette étude, nous montrons que le MDAP²⁺ et le bis-DAP⁴⁺ induisent des photo-coupures directes sur les acides nucléiques. Les coupures ont un rendement très important au niveau des guanines et un peu plus faible au niveau des autres bases. Le traitement de l'acide nucléique cible en milieu alcalin met en évidence une augmentation du pourcentage des coupures au niveau de toutes les bases par rapport au milieu neutre. En plus des coupures directes, le MDAP²⁺ et la bis-DAP⁴⁺ induisent aussi des photo-dommages sur toutes les bases nucléiques. Lorsque l'on irradie l'ADN surenroulé du plasmide pBR 322 en présence du MDAP²⁺, on observe sur un gel d'agarose, l'apparition des formes linéaires correspondant à des coupures simultanées sur les deux brins de la double hélice. Couplé à un oligothymidylate (dT₈-MDAP²⁺), le complexe se comporte comme une endonucléase sur une cible comportant une séquence dA₈ complémentaire (Blacker A. J. *et al* 1986 ; Béré 1988, Slama-Schwok A., 1989 ; Béré A. *et al*, 1996).

II - MATERIEL ET METHODES

II. 1 - Les oligonucléotides

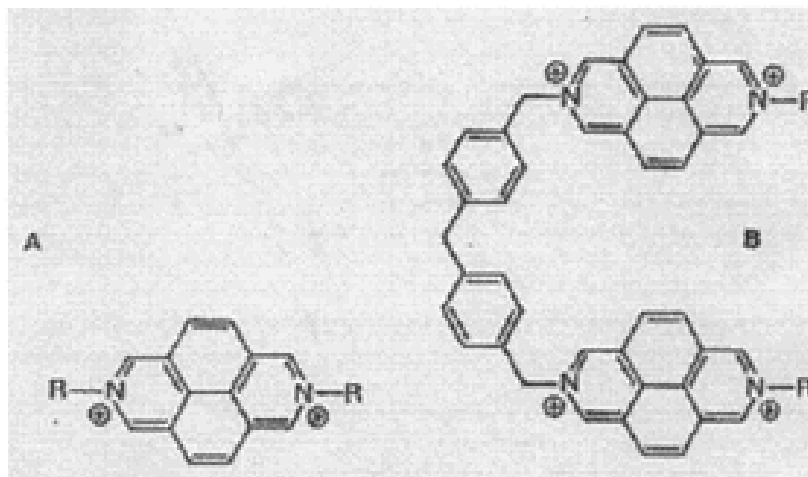
Les deux oligonucléotides complémentaires possédant 27 nucléotides de long ont été synthétisés sur un synthétiseur automatique Pharmacia - LKB, puis purifiés par chromatographie en phase réverse suivi d'une électrophorèse sur gel dénaturant de polyacrylamide (Asseline *et al.*, 1984, 1986). Les oligonucléotides contenant la séquence dA₈ et dT₈ sont appelés respectivement, 27 mère-A₈ et 27 mère-T₈. Les séquences des deux oligonucléotides sont représentées ci-dessous. Le marquage à l'extrémité 5' est réalisé par la polynucléotide kinase du phage T₄ (Amershan) en présence d'ATP-γ-³²P.

5'-T₁G₂A₃G₄T₅G₆A₇G₈T₉A₁₀A₁₁A₁₂A₁₃A₁₄A₁₅A₁₆A₁₇T₁₈G₁₉A₂₀G₂₁T₂₂G₂₃C₂₄C₂₅A₂₆A₂₇-OH

3'-OH-A₂₇C₂₆T₂₅C₂₄A₂₃C₂₂T₂₁C₂₀A₁₉T₁₈T₁₇T₁₆T₁₅T₁₄T₁₃T₁₂T₁₁A₁₀C₉T₈C₇A₆C₅G₄G₃T₂T₁-5'

Les séquences du 27 mère-A₈ et du 27 mère-T₈

SCHEMA 1 : Formules chimiques du N,N'-diméthyl-2,7-diazapyrénium, MDAP²⁺, (A) et du 2,2'-[méthylène-di-(1,4-phénylène-méthylène-diyl)], bis-(7-N-méthyl)-2,7-diazapyrénium : bis-DAP⁴⁺, (B).



II.2 - Les réactions de coupures

Pour une concentration donnée en 27 mères (simple ou double brin), des quantités croissantes de MDAP²⁺ et du bis-DAP⁴⁺ libres sont ajoutées dans le tampon cacodylate 10 mM, pH 7,0 avec ou sans NaCl. Les différentes solutions sont ensuite irradiées avec une lampe HBO de 200 watts. Un filtre constitué d'une cuve en verre remplie d'eau est utilisée pour absorber les radiations de longueur d'onde inférieure à 300 nm. Les échantillons sont ensuite précipités à l'éthanol, repris dans de l'eau puis fractionnés en deux parties. Le premier aliquote est lyophilisé puis repris dans le colorant de charge de Maxam-Gilbert (80% de formamide déionisée contenant 0,1% de xylèncyanol et 0,1% de bleu de bromophénol). Il est chauffé à 90°C pendant une minute puis chargé sur un gel de polyacrylamide 25% dans 7M urée. La deuxième fraction est traitée avec 100 µl de

pipéridine 1 M pendant 10 minutes à 90°C. Elle est lyophilisée à son tour, rincée deux fois avec de l'eau puis finalement repris dans le colorant de charge.

II. 3 - La migration

La migration électrophorétique s'effectue à une puissance constante de 40 watts pendant trois heures dans le tampon 1 TBE (Tris 90 mM, Borate 90 mM, EDTA 1 mM). Les gels sont ensuite autoradiographiés à -70°C sur des films Fuji (X-Ray) pendant une nuit.

Le pourcentage de coupure est estimé par un comptage de la radioactivité des gels et par densitométrie des films avec un densitomètre laser LKB-2222-020.

III - RESULTATS ET DISCUSSION

III.1 - Le profil de dégradation du 27 mère-A₈ par le MDAP²⁺ et le bis-DAP⁴⁺

Les figures I et II représentent les profils de dégradation du 27 mère-A₈ par le MDAP²⁺ en milieu neutre, dans le tampon cacodylate 10 mM à pH 7,0 et à 20°C, et après un traitement en milieu basique (figure II). Lorsque la concentration du MDAP²⁺ augmente, du puits 8 vers le puits 1 (figure I), l'intensité des coupures augmente au niveau de toutes les bases nucléiques.

Une analyse quantitative des densitogrammes de même que le comptage de la radioactivité des différentes bandes des gels montrent que :

- ◆ Les guanines subissent une dégradation dont le pourcentage en milieu neutre de l'ordre de 9 %, augmente lorsque les échantillons sont traités en milieu basique pour révéler les photodommages subis par les bases au cours de l'irradiation.

♦ Les adénines ont un pourcentage de dégradation en milieu neutre plus faible que celui des guanines et de l'ordre de 3%. Par contre, les adénines situées entre deux guanines (A_3 , A_7 et A_{20}) sont plus touchées que les adénines contiguës (séquence A_8) du fait de la grande affinité du $MDAP^{2+}$ pour les guanines (Béré 1988, Béré *et al* 1996).

♦ Les thymines sont également moins touchées que les adénines: 0,7% de coupures en milieu neutre, mais après un traitement par la pipéridine 1 M à 90°C pendant 10 nm, le pourcentage de coupures remonte à 3% environ.

♦ Les cytosines sont les moins touchées aussi bien en milieu neutre qu'après un traitement en milieu basique.

♦ Le profil de dégradation du 27 mère- A_8 par le bis-DAP⁴⁺ est le même que celui observé en présence du $MDAP^{2+}$. Cependant, aux mêmes concentrations en colorant, le bis-DAP⁴⁺ est plus efficace que le $MDAP^{2+}$ et les coupures sont toujours plus importantes sur les guanines que sur les autres bases.

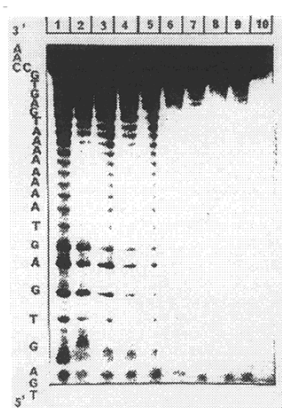


FIGURE I: Autoradiogramme d'un gel « neutre » du 28 mère- A_8 ($1,35. 10^{-7}$ M en phosphate) irradié pendant 30 minutes en fonction de la concentration en $MDAP^{2+}$ dans le tampon cacodylate 10 mM à pH 7,0 et à 20°C. Les différents puits contiennent respectivement les concentrations suivantes en $MDAP^{2+}$: 1 : $2,77. 10^{-6}$ M ; 2 : $2,04. 10^{-6}$ M ; 3 : $1,36. 10^{-6}$ M ; 4 : $6,79. 10^{-7}$ M ; 5 : $1,37. 10^{-7}$ M ; 6 : $1,37. 10^{-8}$ M ; 7 : $6,86. 10^{-9}$ M ; 8 : $2,77. 10^{-6}$ M = témoin non irradié ; 9 : témoin sans $MDAP^{2+}$ et irradié ; 10 : témoin sans $MDAP^{2+}$ et non irradié.

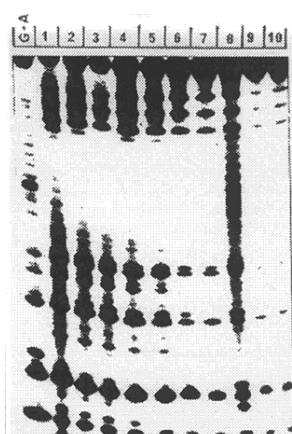


FIGURE II : Autoradiogramme d'un gel de séquence du 28 mère-A₈ ($2,74 \cdot 10^{-7}$ M en phosphate) irradié pendant 30 minutes en fonction de la concentration en MDAP²⁺ dans le tampon cacodylate 10 mM à pH 7,0 et à 20°C, puis traité 10 minutes par la pipéridine. Les différents puits contiennent respectivement les concentrations suivantes en MDAP²⁺ : 1 : $2,77 \cdot 10^{-5}$ M ; 2 : $2,08 \cdot 10^{-5}$ M ; 3 : $1,39 \cdot 10^{-5}$ M ; 4 : $8,68 \cdot 10^{-6}$ M ; 5 : $5,56 \cdot 10^{-6}$ M ; 6 : $3,13 \cdot 10^{-6}$ M ; 7 : $1,40 \cdot 10^{-6}$ M ; 8 : $2,78 \cdot 10^{-5}$ M = témoin avec MDAP²⁺ non irradié ; 9 : témoin sans MDAP²⁺ et irradié ; 10 : témoin sans MDAP²⁺ et non irradié.

III.2 - Les produits de dégradation

Les produits de la dégradation du 27 mère-A₈ par le MDAP²⁺ et le bis-DAP⁴⁺ en milieu neutre migrent sur un gel dénaturant au même niveau que les produits de dégradation de la réaction chimique (G+A) de Maxam-Gilbert. On peut donc conclure que ces produits ont leurs extrémités sous forme 5' phosphate (Maxam A.M. et Gilbert W., 1980).

Par contre, les échantillons traités en milieu basique (pipéridine 1 M, 10 minutes à 90°C) présentent un dédoublement des bandes des produits de dégradation. Les bandes les plus intenses migrent comme les produits de la réaction de Maxam-Gilbert. Il apparaît cependant, une deuxième bande moins intense qui migre plus lentement que la bande principale. Sur la figure II, ces bandes sont nettement visibles au niveau de l'adénine 3, de la guanine 4, de la thymine 5, de la guanine 6, de l'adénine 7, de la guanine 8 et même au niveau de la thymine 9. Il apparaît donc en milieu basique des produits secondaires qui peuvent être, soit des produits d'ouverture du cycle purique, soit des produits déphosphorylés à leur extrémité 3'. Dans le cas du complexe orthophénantroline-cuivre, Sigman (1985) a montré que la

coupure du squelette phosphodiester des acides nucléiques initiée par un radical hydroxyle conduit à :

- ◆ Soit à un oligonucléotide 3'-phosphate ;
- ◆ Soit à un oligonucléotide ayant un phosphoglycolate qui migre différemment du précédent.

Nous pensons que le même mécanisme se produit dans les réactions de coupures des acides nucléiques par le MDAP²⁺ et le bis-DAP⁴⁺ et donnent par conséquent les mêmes produits.

III.3 - L'efficacité des coupures

La figure III représente les pourcentages de coupures du 27 mère-A₈ et du 27 mère-T₈ sensibilisées par le MDAP²⁺. En milieu neutre, on obtient jusqu'à 50% de coupure sur chaque oligonucléotide. La légère augmentation des coupures ($\approx 60\%$) sur le 27 mère-T₈ est due essentiellement à la présence des deux guanines du côté 5' de l'oligonucléotide. L'efficacité des coupures étant toujours plus grande au niveau des guanines, chaque fois qu'une coupure se produit à leur niveau, on perd la radioactivité de telle sorte que l'on ne voit plus les coupures produites au niveau des autres sites.

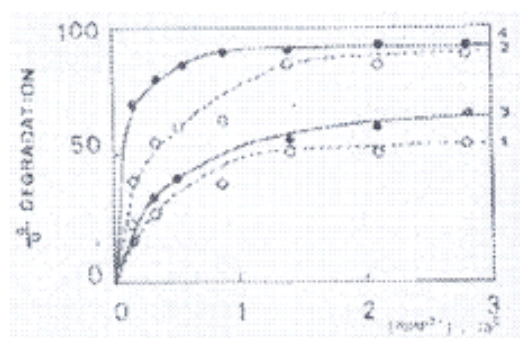
Le traitement des échantillons en milieu basique augmente le pourcentage de dégradation qui atteint pratiquement 90 % sur les deux oligonucléotides. La différence de 40 % observée entre le pourcentage de dégradation en milieu « basique » et en milieu « neutre » représente les dommages photochimiques subis par les bases au cours de l'irradiation. Il y a donc pratiquement autant de coupures directes du squelette phosphodiester qu'il y a d'oxydation des bases.

25 % des coupures sont observées dans les mêmes conditions sur le duplex en milieu neutre. Après un traitement par la pipéridine, ce pourcentage double pour les mêmes raisons que ci-dessus. La figure IV représente les efficacités de coupure du duplex par le MDAP²⁺ et le bis-DAP⁴⁺.

Le profil de la dégradation du 27 mère-T₈ ainsi que du duplex par le bis-DAP⁴⁺ est aussi représentée sur la figure IV. Sur le simple brin, le pourcentage de dégradation en milieu neutre est de 50 % et est voisin de celui observé avec le MDAP²⁺. Sur le duplex, la dégradation est beaucoup plus importante qu'avec le MDAP²⁺, de plus, ce pourcentage est atteint pour de plus faibles concentrations en bis-DAP⁴⁺.

Le traitement des échantillons irradiés par la pipéridine donne pratiquement le même résultat de dégradation du simple brin (90 %) et du duplex (95 %).

FIGURE III : L'efficacité de la dégradation des oligonucléotides par le MDAP²⁺ en milieu neutre et après un traitement des échantillons en milieu basique. La concentration de oligonucléotides est de $2,70 \cdot 10^{-7}$ M en phosphate. Le temps d'irradiation est de 30 minutes dans le tampon cacodylate 10 mM, à pH 7,0 et à 20°C. Les pourcentages de coupures ont été calculés à partir d'un comptage de la radioactivité des 27 mères intactes et des produits de dégradation.



- 1 : 27 mère-A₈ + MDAP²⁺ en milieu neutre
- 2 : 27 mère-A₈ + MDAP²⁺ traité 10 minutes par la pipéridine 1 molaire
- 3 : 27 mère-T₈ + MDAP²⁺ en milieu neutre
- 4 : 27 mère-T₈ + MDAP²⁺ traité 10 minutes par la pipéridine 1 molaire.

FIGURE IV : Efficacité de la dégradation du 27 mère duplex (27 mère-A₈ - 27 mère-T₈) par le MDAP²⁺ et le bis-DAP⁴⁺ en milieu neutre et après un traitement des échantillons en milieu basique. La concentration du duplex est de 2,80. 10⁻⁷ M en phosphate. Le temps d'irradiation est de 30 minutes dans le tampon cacodylate 10 mM, à pH 7,0 et à 20°C. Les pourcentages de coupures ont été calculés à partir d'un comptage de la radioactivité des 27 mères intactes et des produits de dégradation.

- 1 : 27 mère duplex + MDAP²⁺ en milieu neutre
- 2 : 27 mère-duplex + MDAP²⁺ traité 10 minutes par la pipéridine 1 molaire
- 3 : 27 mère duplex + bis-DAP⁴⁺ en milieu neutre
- 4 : 27 mère duplex + bis-DAP⁴⁺ traité 10 minutes par la pipéridine 1 molaire.

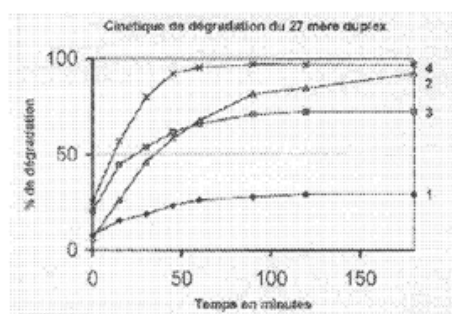
4. La cinétique de dégradation

La figure V représente la cinétique de dégradation du 27 mère duplex par le MDAP²⁺ en milieu neutre et après un traitement des échantillons par la pipéridine. Dans ces conditions, au bout d'une heure d'irradiation, on obtient un plateau qui correspond à 30 % de coupures en milieu neutre et 70 % en milieu basique. Les points correspondant au temps t = 0 représentent en fait, les coupures provoquées par l'absorption de la lumière naturelle pendant la durée

de l'expérience. Ces coupures sont très faibles en milieu neutre, mais deviennent toujours importantes quand l'échantillon est traité par la pipéridine.

La figure V représente aussi les cinétiques de coupure du duplex par le bis-DAP⁴⁺. En milieu neutre, la dégradation est pratiquement totale au bout de deux heures d'irradiation. L'efficacité de la dégradation du duplex par le bis-DAP⁴⁺ est plus importante que par le MDAP²⁺. On notera également sur la figure V que l'échantillon non irradié présente des coupures en milieu neutre qui sont considérablement amplifiées en milieu basique. Ce résultat est dû à l'action de la lumière blanche ambiante durant le temps de la préparation des échantillons. Les résultats de la figure V montrent également que les dommages des bases sont plus importants en présence du bis-DAP⁴⁺ qu'en présence du MDAP²⁺.

FIGURE V : Cinétique de dégradation du 27 mère duplex ($8,80 \cdot 10^{-7}$ M en phosphate) par le MDAP²⁺ et le bis DAP⁴⁺ ($8,40 \cdot 10^{-6}$ M) dans le tampon cacodylate 10 mM à pH 7,0 et à 20°C.



- 1 : 27 mère duplex + MDAP²⁺ en milieu neutre
- 2 : 27 mère duplex + MDAP²⁺ traité 10 minutes par la pipéridine 1 molaire
- 3 : 27 mère duplex + bis-DAP⁴⁺ en milieu neutre
- 4 : 27 mère duplex + bis-DAP⁴⁺ traité 10 minutes par la pipéridine 1 molaire.

IV - CONCLUSION

Les nouvelles molécules MDAP²⁺ et bis-DAP⁴⁺ qui se fixent très fortement sur les acides nucléiques en simple comme en double brins sont capables de sensibiliser une dégradation des acides nucléiques lorsque l'on irradie le mélange avec des radiations de longueur d'onde supérieure à 300 nm (Béré A., 1988 ; Béré A. *et al*, 1996 ; Blacker A. J. 1988). Les coupures du squelette phosphodiester des acides nucléiques sont directement observables en milieu neutre. De plus, les photodommages induits au niveau des bases sont révélés par un traitement en milieu alcalin. Le bis-DAP⁴⁺ est plus efficace comme photosensibilisateur que le MDAP²⁺ en raison de sa plus forte affinité pour les bases nucléiques (Béré A. 1988, Béré A. *et al*, 1996).

En milieu neutre, les coupures sont intenses au niveau des guanines, mais d'autres liaisons phosphodiesters sont également coupées, notamment au niveau des adénines de la séquence GAG. Par contre, peu de coupures sont observées au niveau de la séquence A₈. Ce résultat semble indiquer que la fixation du MDAP²⁺ dépend de la séquence des bases. En milieu basique, les dommages produits au niveau des bases sont révélés. La guanine est toujours de loin la base la plus modifiée, probablement par photo-oxydation. Le mécanisme de l'oxydation des bases est le transfert d'un électron des bases vers le noyau diazapyrène pour générer un radical cation MDAP⁺. Ce radical réagit directement avec les bases, soit avec l'oxygène moléculaire pour générer l'anion superoxyde O₂⁻. L'évolution de cet anion superoxyde conduit à la production dans le milieu réactionnel du radical hydroxyle OH[·]. La libération du radical hydroxyle OH[·] permet d'arracher un hydrogène sur le carbone C₂' du sucre et provoquer la coupure de la liaison phosphodiester.

Couplé à un oligothymidilate (dT₈-MDAP²⁺), le complexe se comporte alors comme une endonucléase sur une cible comportant une séquence dA₈ complémentaire (Béré A. 1988, Béré A. *et al* 1996).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ASSELINE U., TOULME F., THUONG N. T., DELARUE M., MONTENAY-GARESTIER T., and HELENE C., *EMBO J.*, (1984), 3, 795-800
- ASSELINE U., BARBIER C., and THUONG N. T., *Phosphorus Sulfur Relat. Elem.*, (1986), 26, 63-73
- BERE AUGUSTIN, Thèse de Doctorat d'Etat, Muséum National d'Histoire Naturelle – Université Pierre et Marie Curie (1988), Paris, France
- BERE A., MONTENAY-GARESTIER T., HELENE C., and LEHN J.M., *Annales de l'université. De Ouagadougou, Série B*, (1996), 4, 289-310
- BERE A., MONTENAY-GARESTIER T., HELENE C., and LEHN J.M., *Annales de l'Université de Ouagadougou, Série B*, (1996), 4, 311-335
- BLACKER A.J., JAZWINSKI J., LEHN J.M., and WILHEM F.X. J. *Chem. Soc. Chem. Commun.*, (1986), 106, 1035-1037.
- BLACKER A.J., Thèse de Doctorat de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg (1988), Strasbourg, France.
- BOIDOT-FORGET M., THUONG N.T., CHASSIGNOL M., et HELENE C., *C. R. Acad. Sci.*, (Paris) (1986), 302, (Série II), 75-80.
- BOUTOURIN A., VLASSOV V.V., KOYAKOV S.A., KUTIAVIN I.V., et Podyminoyin M.A. *Febs Lett.*, (1984), 172, 43-46.
- CHEN C.H.B. and SIGMAN D.S., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, (USA), (1986), 83, 7147-7151.
- CHU B.C. and ORGEL L.E., *Proc. Natl. Acad. Sci.* (USA), (1985), 82, 963-967.
- DREYER G.B. and DERVAN P.B., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, (USA), (1985), 82, 968-972.
- FRANÇOIS J.C., SAISON-BEHMOARAS T., CHASSIGNOL M., THONG N.T., SUN J.S. et HELENE C. *Biochemistry*, (1987), 27, 2272-2276.
- HAMMA M.M. et MEARER C.F., *Biochemistry*, (1983) 15, 3546-3551.

- HELENE C. *Photobiochem. Photobiophys.*, (1987), 26 Supplément II, 3-22.
- HELENE C. et THUONG N.T., *Nucleic Acids and Molecular Biology*, (1988), Vol. 2, pp. 105 - 123, Edition: Eckstein and David M.J., Lilley, Spring-Verlag, Berlin.
- KNORRE G.D., VLASSOV V.V., et ZARYTOVA V.F., *Biochimie* (1985), 67, 785-789.
- LE DOAN T., PERROUALT L., HELENE C., CHASSIGNOL M., THUONG N.T. *Biochemistry*, (1986), 25, 6736-6739.
- LE DOAN T., PERROUALT L., PRASEUTH D., HABHOUD N., DECOUT J. L., THUONG N.T., LHOMME J. and HELENE C., *Nucl. Acids Res.*, (1987) 15, 7749-7760
- LE DOAN T., PERROUALT L., CHASSIGNOL M., THUONG N.T., et HELENE C. *Nucl. Acids Res.*, (1987) 15, 8643-8659.
- Maxam A. M. and Gilbert W. *Methods in Enzymology* (1980), 65, 497-559.
- PRASEUTH D., CHASSIGNOL M., TAKASUGI M., LE DOAN T., THUONG N.T., et HELENE C., *J. Mol. Biol.*, (1987) 196, 936-942.
- SIGMAN D.S., GRAHAM D.R., D'AURORA V., et STERN A.M., *J. Mol. Biol.*, (1979), 254, 12269-12272.
- SIGMAN D.S., SPASSKY A., RIMSKY S., and BUC H., *Biopolymers*, (1985), 24, 183-197.
- SLAMA-SCHWOK A., JAZWINSKI J., BÉRÉ A., MONTENAY-GARESTIER T., ROUGÉE M., HÉLÈNE C. and LEHN J.M., *Biochemistry*, (1989), 28, 3227-3234
- SLAMA-SCHWOK A., ROUGÉE M., IBANEZ V., GEACINTOV N. E., MONTENAY-GARESTIER T., LEHN J. M. and HÉLÈNE C., *Biochemistry*, (1989), 28, 3234-3242