

b

1 Introduction générale

L'existence d'organismes biologiques développés tel que l'être humain dépend en grande partie de la capacité de stockage d'une grande quantité d'information génétique dans chaque cellule. Par exemple, le génome humain est contenu dans quelques 3 milliards de paires de nucléotides, soit une chaîne d'ADN de 2 mètres de long contenue dans un noyau cellulaire de seulement quelques micromètres cubes. De plus, il importe que l'information génétique soit rapidement et facilement disponible pour des opérations biologiques de bases telles que la transcription ou la réplication. La manière dont l'information est stockée, c'est-à-dire dont la chaîne d'ADN est organisée dans chaque noyau cellulaire, est donc primordiale. La figure 1 montre le premier niveau de compaction de l'ADN, qui est celui du nucléosome.

Le nucléosome [Schiessel, 24] est constitué de l'association d'une chaîne d'ADN



FIG. 1 – (A) Le nucléosome : premier niveau de compactage de l'ADN, (B) Structure interne du nucléosome vue aux rayons X

longue d'environ 200 paires de bases de nucléotides et d'un agrégat octamérique possédant deux exemplaires de quatre types de protéines : les histones H2A, H2B, H3 et H4. La majeure partie de la chaîne d'ADN est enroulée autour de l'octamère d'histones sur une longueur de 147 paires de bases. Cette partie d'ADN est enroulée selon une super-hélice de 1,7 tour autour de l'octamère, l'ADN présentant un site favorable d'interaction avec les histones tous les 10 paires de bases. L'ensemble [octamère + ADN enroulé] constitue ce qu'on nomme la *particule coeur* du nucléosome. Cette particule coeur a la forme d'un cylindre de rayon $\sim 5,5nm$ et d'hauteur $\sim 6nm$ et porte une charge électrique globale fortement négative ($\sim -150e$). En fait, cette charge globale est surtout due à la chaîne ADN qui possède 2 charges élémentaires négatives par paire de bases, les histones étant quant à elles chargées positivement. Le reste de la chaîne d'ADN, non complexée avec l'octamère protéique, se répartit sur deux brins d'ADN qui totalisent une cinquantaine de paires de bases. Signalons enfin que chaque histone possède une extrémité N-terminale d'au plus 25 acides aminés, tournée vers l'extérieur de la particule coeur [Mangenot, 17]. La majorité des résidus présents dans cette "queue" sont chargés négativement et peuvent interagir facilement avec les contre-ions positifs du solvant.

Intervient ensuite la notion de *positionnement* du nucléosome. Selon la partie de

la chaîne qui est complexée avec les histones, la particule coeur peut être “en bout de chaîne” (et dans ce cas le nucléosome ne possède qu’un seul brin d’une cinquantaine de paires de bases), “au milieu de la chaîne” (et dans ce cas, le nucléosome possède deux brins d’environ 25 paires de bases) ou dans une position intermédiaire. L’intérêt de l’étude de la position du nucléosome vient du fait que *in vivo*, la partie de l’ADN qui est complexée n’est pas disponible pour les opérations biologiques que nous évoquons plus haut. En fait, dans les noyaux cellulaires, on trouve des protéines complexes dont le rôle est de déplacer les octamères d’histones le long des chaînes d’ADN. L’action de ces protéines permet au noyau de rendre accessible les parties de l’ADN précédemment masquées. La configuration des milliards de complexes histones-ADN dans un noyau cellulaire à un moment donné fait que seule une partie du code génétique global pourra s’exprimer dans une cellule donnée. C’est pourquoi l’étude de la formation des complexes ADN-histones permettrait entre autre de comprendre en partie les mécanismes d’expressions cellulaires.

Les mécanismes qui entrent en jeu dans ces déplacements d’histones ne sont pas encore très bien compris. Expérimentalement, on étudie par exemple l’effet de différents inducteurs biologiques sur des nucléosomes dont la position est connue initialement pour voir de quelle façon ils se déplacent. Ces expériences nécessitent une méthode de reconnaissance de la position des nucléosomes. La méthode utilisée est l’électrophorèse sur gel. En étudiant la migration sous champ électrique de nucléosome artificiellement positionnés, les biologistes se sont aperçus qu’un nucléosome positionné “en bout de chaîne” migrerait plus vite qu’un nucléosome centré en milieu de chaîne. L’électrophorèse sépare donc des nucléosomes différemment positionnés. Mais si cette observation est à la base des méthodes de caractérisation utilisées par les biologistes, à notre connaissance, aucune justification théorique des mécanismes physiques en jeu n’a été apportée jusqu’à présent.

Nous nous proposons donc de construire un modèle simple qui nous permette de prédire la valeur de la mobilité électrophorétique en solution d’un nucléosome de position fixée. Nous commencerons par présenter en section **2** les bases théoriques de l’électrophorèse en solution. La construction de notre modèle et les différentes discussions qu’il souleva se feront dans les sections **3** à **7**. Nous verrons rapidement en section **8** comment nos résultats pourront s’étendre à l’électrophorèse sur gel, qui est la méthode la plus couramment utilisée en laboratoire.

2 Une théorie de l’électrophorèse en solution

2.1 Introduction

Nous considérons au départ une particule chargée suspendue dans un solvant et soumise à un champ électrique [André, 1]. Cette particule est soumise à deux types de forces : d’une part la force électrostatique qui tire la particule dans le solvant et d’autre part la force de frottement hydrodynamique induite par ce même solvant qui, elle, a tendance à freiner la particule. Nous nous attendons à ce que la particule atteigne rapidement une

vitesse de régime stationnaire dont l'amplitude est proportionnelle au champ électrique appliqué. C'est pourquoi la grandeur centrale en électrophorèse est la mobilité μ de la particule, définie par :

$$\mathbf{v} = \mu \mathbf{E} \quad [2.1]$$

où $\mathbf{v}$ et $\mathbf{E}$ sont respectivement la vitesse de la particule en régime stationnaire et le champ électrique appliqué. En toute généralité, les objets analysés par électrophorèse ayant une structure interne complexe notamment du point de vue de la répartition des charges ou de la résistance locale au frottement, la mobilité est en fait un tenseur, qu'on représentera sous la forme matricielle $[\mu]$. L'objectif de l'électrophorèse est de tirer de la mesure expérimentale de la mobilité des informations sur la particule, comme par exemple sa charge globale, la répartition locale de la charge, la taille ou encore la forme de la particule.

La physique de l'électrophorèse est donc basée sur deux ingrédients principaux : l'électrostatique et l'hydrodynamique. Disons tout de suite que les écoulements hydrodynamiques en jeu étant des écoulements à faible vitesse, nous n'aurons pas de problème de turbulence. La particularité de la théorie est due à la composition du solvant. En effet, le solvant contient des ions et des contre-ions qui vont interagir avec la surface chargée de la particule. Cette interaction induit l'existence d'une région de fluide chargée entourant la particule. Le champ électrostatique agit alors sur la particule *et* la région de fluide qui l'entoure. Les effets électrostatiques et hydrodynamiques sont donc étroitement couplés, ce qui rend le problème complexe...

2.2 Hydrodynamique

2.2.1 Equation de Navier-Stokes pour le fluide

L'équation de Navier-Stokes pour un fluide Newtonien incompressible s'écrit :

$$\rho(\partial_t \mathbf{v} + \mathbf{v} \cdot \text{rot} \mathbf{v}) = \mathbf{F}_v - \text{grad} p + \eta \Delta \mathbf{v} \quad [2.2]$$

où $\mathbf{F}_v$ représente la densité volumique de forces extérieures. Cette équation, faisant intervenir des dérivées temporelles et spatiales, comportant un terme d'inertie $\mathbf{v} \cdot \text{rot} \mathbf{v}$ non linéaire, n'est pas simple. Mais elle peut être heureusement simplifiée dans le cadre expérimental dans lequel les électrophorèses ont lieu ordinairement.

Si on se donne une vitesse caractéristique V du fluide et une longueur caractéristique L sur laquelle la vitesse varie de façon notable, on peut construire le nombre de Reynolds du fluide $Re = \frac{\rho L V}{\eta}$ qui mesure le poids relatif du terme inertiel $\rho \mathbf{v} \cdot \text{rot} \mathbf{v}$ par rapport à la dissipation visqueuse $\eta \Delta \mathbf{v}$. Or, nous avons dans notre cas pour l'eau : $\rho \simeq 10^3 \text{ kg/m}^3$, $\eta \simeq 10^{-2} \text{ kgm}^{-1}\text{s}^{-1}$; la longueur et la vitesse caractéristiques du fluide sont les mêmes que celles de l'objet entouré par le fluide, qui sont toujours du même ordre de grandeur dans les expériences usuelles. Dans le cas du nucléosome, on verra qu'on peut prendre $L \simeq 10 - 100 \mu\text{m}$ et $V \simeq 1 \text{ mm/s}$. On aura donc au maximum $Re \sim 10^{-2} \ll 1$: nous

serons donc toujours dans un régime visqueux où le terme convectif peut être négligé. Enfin, l'expérience montre que les variations temporelles sont suffisamment lentes pour pouvoir être négligées.

Le champ de vitesse local du fluide est donc gouverné par l'équation de Navier-Stokes linéarisée et l'équation d'incompressibilité du fluide :

$\mathbf{F}_v - \mathbf{grad}p + \eta\Delta\mathbf{v}$	$= \mathbf{0}$	[2.3]
$div\mathbf{v}$	$= 0$	[2.4]

2.2.2 Tenseur des contraintes de Cauchy

Un volume de fluide délimité par une surface S est soumis à deux types de forces extérieures : des forces volumiques (champ de gravité, champ électrique si le fluide est chargé) et des forces de surface exercées par le reste du fluide ou par une interface avec une paroi solide ou avec un autre liquide. Nous nous intéressons ici à ces forces de surface. Une force $\mathbf{f}$ exercée sur une facette unitaire de normale $\mathbf{n}$ est linéaire en $\mathbf{n}$ et s'écrit donc $\mathbf{f} = [\sigma]\mathbf{n}$, où $[\sigma]$ est le tenseur des contraintes de Cauchy. Ce tenseur exprime la densité de force par unité de surface sur une facette d'orientation fixée. Pour un fluide newtonien incompressible, ce tenseur s'écrit $[\sigma] = -p(\mathbf{r})[Id] + \eta(\mathbf{grad}(\mathbf{v}) + {}^*\mathbf{grad}(\mathbf{v}))$. Ce tenseur prend en compte les forces de pression et la partie symétrique du gradient du champ de vitesse qui correspond à un cisaillement tangentiel, sa partie antisymétrique correspondant à une rotation du fluide qui ne contribue pas à la contrainte hydrodynamique.

Bien évidemment, lorsqu'on intègre l'expression de $[\sigma]\mathbf{n}$ sur la surface qui délimite un certain volume de fluide, on retombe sur le membre de droite de l'équation de Navier-Stokes.

2.2.3 Friction hydrodynamique

Un objet mésoscopique en mouvement dans un fluide à une vitesse $\mathbf{v}_{obj}$ subit du fait des collisions avec les particules microscopiques du fluide une force de frottement fluide $\mathbf{F}_{obj}$ qui est au premier ordre linéaire en $\mathbf{v}_{obj}$. On introduit le coefficient de friction ξ qui relie cette force de frottement fluide à la vitesse *via* $\mathbf{F}_{obj} = \xi\mathbf{v}_{obj}$. La forme de l'objet et son orientation par rapport à son mouvement dans le fluide intervenant dans la valeur de la force, ξ est en toute généralité un tenseur qu'on notera également sous forme matricielle.

2.3 Electrostatique

2.3.1 Le tenseur $\mathbf{Q}$

Si on applique un champ électrique $\mathbf{E}_0$ constant à une particule, la force résultante dépend de la répartition des charges de cette particule. Dans le cas le plus simple, quand une particule est assimilable à un point de charge q , cette force s'écrit simplement $\mathbf{F} = q\mathbf{E}_0$. Dans le cas plus complexe d'un objet polyionique où les charges sont réparties

en plusieurs centres, il faut pour chacun de ces centres évaluer en plus l'influence des autres centres, (ie) il faut déterminer le champ électrique local. Globalement, la force est toujours linéaire en $\mathbf{E}$, mais suivant la géométrie de la répartition des charges, la force électrique $\mathbf{F}$ et le champ $\mathbf{E}$ ne sont pas nécessairement colinéaire et en toute généralité, on a $\mathbf{F} = Q\mathbf{E}$, où Q est un tenseur, qu'on peut exprimer sous forme matricielle [Allison, 2,8].

2.3.2 Electrostatique en solution

Nous nous limitons ici au cas d'une particule chargée placée dans une solution aqueuse saline en l'absence de champ électrique (c'est donc une situation où le fluide est à l'équilibre) pour introduire les notions importantes en jeu. On note $n_\alpha(\mathbf{r})$ la densité de l'ion d'indice α et z_α sa valence. On introduit alors une première longueur caractéristique appelé longueur de Bjerrum : $l_B = \frac{e^2}{4\pi\epsilon k_B T}$, longueur à laquelle la force électrostatique entre deux ions monovalents a la même intensité que les forces thermiques. Si on suppose qu'on a $n_\alpha l_B^3 \ll 1$, les écarts des densités ioniques par rapport à leurs densités moyennes n_α^{moy} sont assez faibles pour négliger les corrélations électrostatiques. Les charges sont ainsi distribuées selon une loi de Boltzmann :

$$n_\alpha(\mathbf{r}) = n_\alpha^{moy} e^{-z_\alpha e\psi(\mathbf{r})/k_B T} \quad [2.6]$$

où ψ est le potentiel électrique, qui est régi par l'équation de Poisson. On a donc :

$$\Delta\psi = -\frac{\rho_{elec}}{\epsilon} = -\sum_{\alpha} \frac{z_\alpha e n_\alpha^{moy}}{\epsilon} e^{-z_\alpha e\psi/k_B T} \quad [2.7]$$

Les solutions précises de cette équation dépendent de la géométrie des objets en solution. Si on se restreint à des potentiels faibles ($e\psi \ll k_B T$), elle se linéarise très bien et on obtient (en tenant compte du fait que $\sum_{\alpha} z_\alpha e n_\alpha^{moy} = 0$ car le fluide est globalement neutre) :

$$\Delta\psi = \left(\sum_{\alpha} \frac{z_\alpha^2 e^2 n_\alpha^{moy}}{\epsilon k_B T} \right) \psi = \kappa^2 \psi \quad [2.8]$$

L'expression du potentiel est complètement déterminée en tenant compte des conditions aux bords du fluide : à l'infini et à l'interface du fluide avec la particule. La solution pour ψ sera de type exponentielle décroissante à mesure qu'on s'éloigne des charges sources, cette décroissance ayant lieu sur une longueur typique

$$\kappa^{-1} = \left(\frac{\epsilon k_B T}{\sum_{\alpha} z_\alpha^2 e^2 n_\alpha^{moy}} \right)^{\frac{1}{2}} \quad [2.9]$$

Cette longueur κ^{-1} , appelée longueur de Debye, est la deuxième longueur caractéristique centrale dans les phénomènes électrocinétiques. L'équation [2.8] implique que le fluide

sera chargé dans une zone épaisse de quelques κ^{-1} autour de la particule, et neutre au delà. Il y a un *effet d'écrantage* : deux particules chargées en solution distantes de plus de quelques κ^{-1} sont électriquement invisibles l'une pour l'autre.

La situation n'est plus la même lorsqu'on applique un champ électrique : le champ agit sur les particules chargées et les domaines du fluide près des parois de ces particules, générant des couplages électro-hydrodynamiques.

2.4 Couplage électro-hydrodynamique

Reprenons le problème à zéro : un objet chargé, de forme et de taille non spécifié à faible nombre de Reynolds, est suspendu dans une solution aqueuse saline. On applique un champ extérieur $\mathbf{E}_0$. Ce champ agit sur l'objet et sur la couche de fluide chargée de Debye qui entoure l'objet, et génère ainsi l'écoulement de cette couche le long de l'objet. Cet écoulement se transmet au reste du fluide, ce qui détermine le mouvement de l'objet. La distribution spatiale n_α des différents ions en solutions résulte de l'action du potentiel électrique ψ , de l'agitation thermique, de la convection électrique des régions chargées du fluide. Les inconnues du problèmes sont donc le potentiel $\psi(\mathbf{r}, t)$, les champs $n_\alpha(\mathbf{r}, t)$, $p(\mathbf{r}, t)$ et $\mathbf{v}(\mathbf{r}, t)$.

On travaille dans le référentiel lié à l'objet. La mobilité μ de l'objet est un des paramètres du problème qui interviendra dans les conditions aux limites. Il nous faut tout d'abord déterminer les équations constitutives du problème.

La présence du champ électrique place le système hors de l'équilibre. Les concentrations des ions sont néanmoins conservées et on a $\frac{Dn_\alpha}{Dt} = \partial_t n_\alpha + \text{div}(\mathbf{j}_\alpha) = 0$ [2.10] avec $\mathbf{j}_\alpha = n_\alpha \mathbf{v}_\alpha$ le courant d'ion de l'espèce α . Le courant j_α résulte de plusieurs contributions. D'un côté, l'agitation thermique tend à homogénéiser les différentes concentrations, de l'autre, la conduction due au champ électrique local et la convection due au mouvement macroscopique du fluide tendent à tirer et transporter ces ions.

La diffusion des ions est donnée par la loi de Fick :

$$\mathbf{j}_{\alpha/diff} = -D_\alpha \mathbf{grad} n_\alpha \quad [2.11]$$

où D_α est la constante de diffusion des ions de l'espèce α .

Le courant conductif résulte de la force électrique appliquée sur chaque ion : $\mathbf{f}_\alpha = z_\alpha e \mathbf{E} = -z_\alpha e \mathbf{grad} \psi$. Cette force met l'ion en mouvement à la vitesse $\mathbf{f}_\alpha / \xi_\alpha$, où ξ_α est le coefficient de frottement de cet ion. On a donc :

$$\mathbf{j}_{\alpha/cond} = -\frac{n_\alpha z_\alpha e}{\xi_\alpha} \mathbf{grad} \psi \quad [2.12]$$

En outre, le coefficient de frottement, qu'il n'est pas facile d'évaluer directement, peut s'exprimer en fonction du coefficient de diffusion via la "relation d'Einstein", : $\xi_\alpha = \frac{k_B T}{D_\alpha}$.

Enfin, le courant convectif correspond au transport des ions par le mouvement global

du fluide en l'absence de l'effet des autres ions, soit :

$$\mathbf{j}_{\alpha/conv} = n_{\alpha} \mathbf{v} \quad [2.13]$$

Le courant total s'écrit donc finalement :

$$\mathbf{j}_{\alpha} = D_{\alpha} \mathbf{grad} n_{\alpha} + \frac{D_{\alpha} z_{\alpha} e}{k_B T} n_{\alpha} \mathbf{grad} \psi + n_{\alpha} \mathbf{v} \quad [2.14]$$

La conservation du flux de champ électrique est gouvernée par l'équation de Poisson :

$$\Delta \psi = -\frac{\rho_{elec}}{\epsilon} \quad [2.15]$$

La conservation de la quantité de mouvement est régie par l'équation de Navier-Stokes qui met en relation les forces électriques et l'écoulement $\mathbf{v}$:

$$\rho \partial_t \mathbf{v} = -\mathbf{grad} p + \eta \Delta \mathbf{v} + \rho_{elec} \mathbf{E} \quad [2.16]$$

Enfin, l'imcompressibilité de la masse s'exprime encore par $div \mathbf{v} = 0$.

Le système complet d'équations différentielles couplées s'écrit donc :

$\partial_t n_{\alpha} = div(D_{\alpha} \mathbf{grad} n_{\alpha} + \frac{D_{\alpha} z_{\alpha} e}{k_B T} n_{\alpha} \mathbf{grad} \psi + n_{\alpha} \mathbf{v}) \quad [2.17]$
$\Delta \psi = -\frac{e}{\epsilon} \sum_{\alpha} z_{\alpha} n_{\alpha} \quad [2.18]$
$\rho \partial_t \mathbf{v} = -\sum_{\alpha} z_{\alpha} e n_{\alpha} \mathbf{grad} \psi - \mathbf{grad} p + \eta \Delta \mathbf{v} \quad [2.19]$
$div \mathbf{v} = 0 \quad [2.20]$

Les conditions aux limites sont :

- à l'infini : $n_{\alpha} \rightarrow n_{\alpha}^{moy}$, $\mathbf{grad} \psi \rightarrow -\mathbf{E}_0$, et comme on est dans le référentiel de la particule $\mathbf{v} \rightarrow -[\mu] \mathbf{E}_0$
- en chaque point de la paroi de l'objet (normale $\mathbf{n}$) : $\mathbf{j}_{\alpha} = 0$, $\frac{d\psi}{dn}|_S = -\sigma_e/\epsilon$ (σ_e étant la charge surfacique de l'objet au point considéré) et $\mathbf{v}|_S = \mathbf{0}$.

A ce niveau, on peut résoudre le système d'équation, la mobilité $[\mu]$ de l'objet étant un paramètre du problème. Pour obtenir l'expression de la mobilité, on fait intervenir dans une dernière équation le tenseur des contraintes de Cauchy $[\sigma]$. La nullité des forces électrodynamiques exercées sur l'objet, s'écrit en effet :

$$\int_S dS [\sigma] |_S \mathbf{n} = \mathbf{0} \quad [2.21]$$

Cette dernière équation permet de déterminer complètement et de façon unique l'expression de la mobilité de l'objet. Les différentes notions présentées dans cette section nous serviront dans la suite.

3 Modèle

Nous avons choisi de travailler avec des nucléosomes dont les chaînes ADN ont une longueur fixée à 197 paires de bases, de façon à ce que les deux brins d'ADN totalisent exactement 50 paires de bases. On travaille à température ambiante et la solution aqueuse choisie contient 110 mmol/L de KCl. Cette concentration ionique correspond à une concentration typique des expériences menées en solution. Ces choix nous permettent déjà de faire deux déductions sur la nature générale du problème :

(i) On peut premièrement calculer une valeur numérique de la longueur de Debye, qui caractérise la couche de fluide chargée entourant chaque nucléosome. On trouve $\kappa^{-1} \simeq 12 \text{ \AA}$. Cette longueur est en gros 5 fois plus faible que la taille d'un nucléosome et assure donc qu'il n'y a pas de couplage hydrodynamique entre deux nucléosomes. Chaque nucléosome en solution peut donc être considéré comme isolé.

(ii) D'après les données expérimentales, dans une solution saline d'une telle concentration, la longueur de persistance de l'ADN, qui correspond à une longueur caractéristique sur laquelle on peut considérer qu'une chaîne d'ADN est rigide, vaut $l_p \simeq 500 \text{ \AA}$. Comme la longueur maximale d'un brin correspond à 50 paires de bases, soit $50 \times 3.4 = 170 \text{ \AA}$, les deux brins d'ADN de notre nucléosome peuvent être assimilés à des cylindres rigides.

Idéalement, on pourrait déterminer la mobilité d'un nucléosome dont la position serait fixée en résolvant les équations présentées en 2.4. Dans la pratique, nous travaillerons sur un modèle simplifié. Un modèle complet demanderait en effet de connaître au moins la valeur du potentiel électrique en tout point de la surface du nucléosome, valeur difficile à déterminer au vu de la structure du nucléosome. En outre, la résolution du système d'équations [2.17 $\rightarrow$ 2.20] serait purement numérique, et ne permettrait pas de visualiser directement les paramètres physiques prépondérants dans notre problème.

3.1 Paramétrisation de la configuration du nucléosome

On se place dans le référentiel du laboratoire et on fixe un repère orthonormé $(O, \mathbf{e}_x, \mathbf{e}_y, \mathbf{e}_z)$. On modélise le nucléosome de la manière suivante : la particule cœur du nucléosome est assimilée à une particule sphérique de rayon R_c la charge totale de la particule cœur est placée au centre de cette particule sphérique ; les deux brins d'ADN sont assimilés à des cylindres rigides, portant une charge linéique correspondant à 2 charges négatives par paire de bases. La structure du nucléosome fait que les deux brins "se décollent" des histones l'un au-dessus de l'autre, dans des directions propres, mais pratiquement coplanaires. On considèrera dans notre modèle que les deux brins sont toujours sur un même plan. D'autre part, afin de simplifier notre tâche, nous considérons que le plan contenant les deux brins est astreint au plan horizontal $(\mathbf{e}_x, \mathbf{e}_y)$. La configuration spatiale du nucléosome est donc complètement déterminée par la donnée de trois paramètres (voir figure) :

- L'angle d'ouverture entre les deux brins : θ . Pour une chaîne d'ADN effectuant exactement 1,7 tours autour de l'octamère d'histones, on trouve géométriquement $\theta = 0,4 \pi$.

- L'angle φ_1 entre le vecteur $\mathbf{e}_x$ dirigeant le champ électrique et le brin 1, la numérotation des brins étant choisie de manière à ce que l'angle entre $\mathbf{e}_x$ et le brin 2 soit alors $\varphi_2 = \varphi_1 - \theta$.
- Le nombre M_1 de paires de bases du brin 1, le brin 2 en possède alors $M_2 = 50 - M_1$.

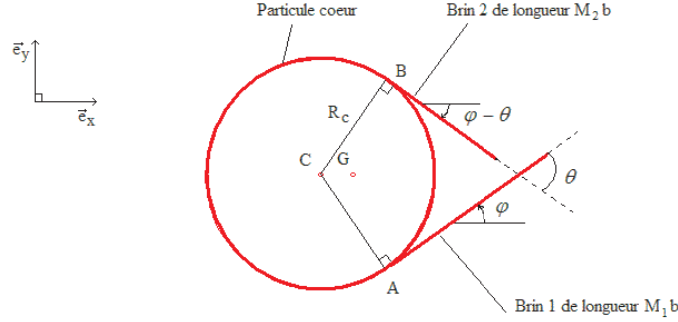


FIG. 2 – Définition des paramètres décrivant la configuration du nucléosome

Evidemment, le but ultime est de déterminer la mobilité d'un nucléosome ayant une position fixée. Pour une position fixée telle que l'un des brins ait n paires de bases, ces paramètres peuvent *a priori* être quelconque à l'intérieur de l'éventail de possibilités $M_1 \in (n, 50 - n)$ et $\varphi_1 \in [0, 2\pi]$. Nous allons commencer par calculer la mobilité d'un nucléosome pour lequel l'état à l'intérieur de cet éventail est fixé. Nous verrons plus loin comment apporter un traitement statistique en construisant la fonction densité de probabilité adaptée aux états de cet éventail, l'agitation thermique permettant à un nucléosome de passer d'un état à l'autre.

Revenons aux caractéristiques de la particule coeur. Nous avons choisie de lui donner dans le modèle une forme sphérique aux propriétés simples. On prend $R_c = 50\text{\AA}$. D'autre part, si la charge propre de la particule coeur est $Ze = -147e$, certains travaux [Mangenot, 17] montrent que les queues d'histones chargées négativement se complexent avec des contre-ions positifs du solvant. Ces complexations changent les propriétés électrostatique de la particule coeur, et à la concentration saline choisie, on a une charge effective $Z_{eff}e = -104e$. Ces complexations influent également sur les autres propriétés électriques de la particule, comme son potentiel de surface.

On trouvera en annexe une liste récapitulative des différents paramètres utilisés.

3.2 Bilan de force

Nous proposons ici une méthode qui permet de déterminer l'expression de la mobilité $[\mu] = [\mu](M_1, \varphi_1)$ du nucléosome en fonction des mobilités propres de la particule coeur et des brins d'ADN. Cette méthode est basée sur un bilan de force effectué au

niveau des points d'ancrage A et B des brins d'ADN à la particule coeur. On rappelle que deux types de forces entrent en jeu : les forces électriques et les forces de frottement hydrodynamique. Dans la réalité [Schiessel, 24], l'angle φ_1 varie constamment du fait de l'agitation thermique, et l'énergie du premier pont de complexation entre l'octamère et l'ADN étant de l'ordre de quelques $k_B T$, il se fait et se brise très facilement, ce qui rend la longueur totale des brins ou la position des points A et B fluctuantes. Le mouvement du nucléosome est donc composé d'un mouvement moyen de régime stationnaire accompagné de petites fluctuations rapides. Notre première approximation consiste à négliger ces fluctuations et donc à supposer un régime stationnaire dans lequel la somme des forces appliquée à chaque partie est nulle. Le régime stationnaire s'écrit alors pour chaque partie [Viovy, 30]¹ (Les trois parties du nucléosome étant solidaires, leurs vitesses sont toutes égales à la vitesse $\mathbf{v}$ du nucléosome):

$$m_i \partial_t \mathbf{v} = \mathbf{F}_{ext \rightarrow i} - \xi_i \mathbf{v} + Q_i \mathbf{E} = \mathbf{F}_{ext \rightarrow i} - \xi_i (\mathbf{v} - \mu_i \mathbf{E}) = \mathbf{0} \quad [3.1]$$

où on note ξ_i le coefficient de frottement hydrodynamique de la partie considérée, Q_i le tenseur de charge de la partie i et $\mu_i = \xi_i^{-1} Q_i$ sa mobilité électrophorétique². La particule coeur répondant à une symétrie sphérique, les coefficients sont simplement des scalaires. Par contre, dans le cas des brins d'ADN à symétrie cylindrique, l'orientation du cylindre intervient et ces coefficients ont une forme matricielle.

Ecrivons maintenant de manière explicite le régime stationnaire pour les trois parties. On a :

$$\mathbf{F}_{c \rightarrow 1} = [\xi_1]([\mu] - [\mu_1]) \mathbf{E} \quad [3.2]$$

$$\mathbf{F}_{c \rightarrow 2} = [\xi_2]([\mu] - [\mu_2]) \mathbf{E} \quad [3.3]$$

$$\mathbf{F}_{1 \rightarrow c} + \mathbf{F}_{2 \rightarrow c} = \xi_c([\mu] - \mu_c [Id]) \mathbf{E} \quad [3.4]$$

D'où finalement

$$[\mu] = ([\xi_1] + [\xi_2] + \xi_c [Id])^{-1} ([\xi_1][\mu_1] + [\xi_2][\mu_2] + \xi_c \mu_c [Id]) \quad [3.5]$$

On a donc exprimé la mobilité globale du nucléosome en fonction des mobilités et coefficients de frottement de ses trois sous-parties. Ces paramètres, qui expriment les propriétés des trois parties mentionnées à *l'intérieur* du nucléosome, doivent donc être déterminés. C'est ici que nous effectuons la deuxième approximation de ce paragraphe : les valeurs des paramètres ξ_i et Q_i dans la situation "partie i dans le nucléosome" sont confondues avec leur valeur dans la situation "partie i isolée", situation dans laquelle ils sont plus faciles à déterminer. On peut facilement se convaincre de la pertinence d'une telle approximation : la présence des contre-ions en solution fait que les perturbations électriques et hydrodynamiques ne se propagent que sur quelques κ^{-1} , longueur très petite devant la taille de chacune des trois parties. Chacune des trois parties du nucléosome ne peut donc beaucoup influencer le mouvement des deux autres parties.

Si le prix de cette deuxième approximation paraît élevée, ce qu'elle rapporte est

1. i désignant le brin 1, le brin 2 ou encore la particule coeur

2. En l'absence de force extérieure autre que le champ électrique sur la partie considérée, le régime stationnaire s'écrit en effet $\mathbf{0} = -\xi_i \mathbf{v} + Q_i \mathbf{E}$, soit $\mathbf{v} = (\xi_i^{-1} Q_i) \mathbf{E}$

d'autant plus précieux. En effet, le problème se décompose maintenant en trois sous-problèmes plus simples : pour trouver l'expression de $[\mu](M_1, \varphi_1)$, il nous suffit de trouver les expressions des mobilités et coefficients de frottements des différentes parties du nucléosome prises *indépendamment* les unes des autres.

4 Cas de la particule coeur

4.1 Coefficient de frottement

On a le résultat classique de Stokes pour une sphère:

$$\xi_c = 6\pi\eta R_c$$

4.2 Mobilité

Il se trouve que lorsqu'on a affaire à particule sphérique, les équations de Poisson-Boltzmann se résolvent bien analytiquement dans les deux cas extrêmes $\kappa R_c \gg 1$ où on a $\mu_c = \frac{Ze}{6\pi\eta R_c}$ et $\kappa R_c \ll 1$ où on a $\mu_c = \frac{\epsilon\zeta}{\eta}$ avec ζ la valeur du potentiel électrique à la surface de la sphère [André, 1]. Il se trouve que dans notre cas, nous avons $\kappa R_c \simeq 4$. Cette valeur n'est malheureusement pas assez élevée pour qu'on puisse se placer dans le deuxième cas. L'article [Mangenot, 17] étudie l'effet de la complexation des queues d'histones avec les contre-ions du solvant sur les propriétés électriques des particules coeurs. Les auteurs dressent une liste de différentes valeurs de paramètres liés à la particule coeur dans différentes conditions expérimentales. Nous utiliserons la valeur fournie correspondant aux conditions que nous avons choisies :

$$\mu_c = 2.02 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 / \text{Vs}$$

5 Cas d'un brin d'ADN

5.1 Généralités

Un brin d'ADN étant de forme cylindrique, les valeurs des paramètres auxquels nous nous intéressons dépendent de l'orientation de ce brin. On note φ l'angle entre le vecteur $\mathbf{e}_x$ et un vecteur directeur du brin. φ est donc défini à π près.

Dans les deux cas simples où le brin se présente parallèlement ou perpendiculairement au champ, par symétrie autour de l'axe des x , la vitesse du brin est nécessairement colinéaire au champ $\mathbf{E}$. On note $\mu_{\parallel}$ et $\mu_{\perp}$ les mobilités obtenues dans ces cas là. Ce sont des scalaires qui dépendent *a priori* de la longueur du brin. De par le principe de superposition, l'expression de la mobilité pour n'importe quel angle dans la base $(\mathbf{e}_{\parallel}, \mathbf{e}_{\perp})$ est simplement :

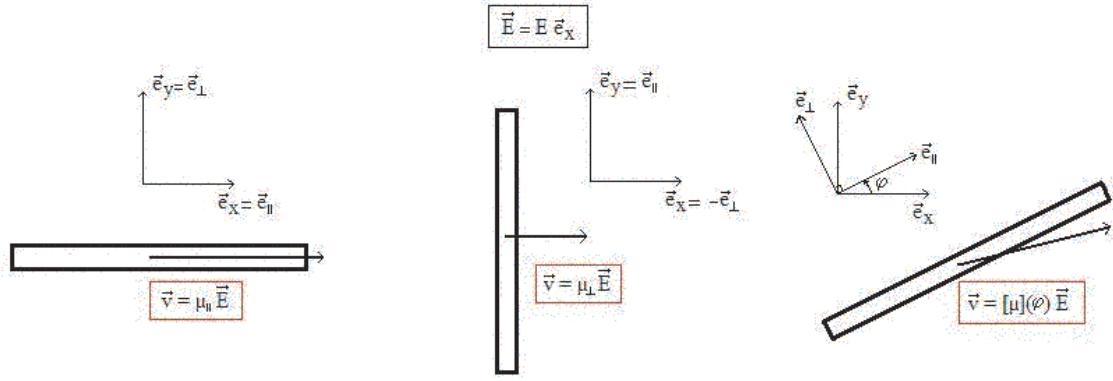


FIG. 3 – Les différents types de réponse en vitesse : $\mathbf{v}$ colinéaire à $\mathbf{E}$ seulement dans les cas où le brin présente une symétrie d'axe $\mathbf{e}_x$

$$[\mu]_{(\mathbf{e}_{\parallel}, \mathbf{e}_{\perp})} = \begin{pmatrix} \mu_{\parallel} & 0 \\ 0 & \mu_{\perp} \end{pmatrix}$$

On note P la matrice de passage de la base $(\mathbf{e}_{\parallel}, \mathbf{e}_{\perp})$ vers la base $(\mathbf{e}_x, \mathbf{e}_y)$ (c'est une matrice de rotation). La matrice-mobilité dans la base $(\mathbf{e}_x, \mathbf{e}_y)$ s'écrit alors $[\mu] = P[\mu]_{(\mathbf{e}_{\parallel}, \mathbf{e}_{\perp})} P^{-1}$. Tous calculs faits, on obtient :

$$[\mu] = \begin{pmatrix} \mu_{\parallel} \cos^2(\varphi) + \mu_{\perp} \sin^2(\varphi) & (\mu_{\parallel} - \mu_{\perp}) \sin(\varphi) \cos(\varphi) \\ (\mu_{\parallel} - \mu_{\perp}) \sin(\varphi) \cos(\varphi) & \mu_{\parallel} \sin^2(\varphi) + \mu_{\perp} \cos^2(\varphi) \end{pmatrix}$$

L'ensemble du raisonnement précédent s'applique également au coefficient de frottement des brins. On a donc :

$$[\xi] = \begin{pmatrix} \xi_{\parallel} \cos^2(\varphi) + \xi_{\perp} \sin^2(\varphi) & (\xi_{\parallel} - \xi_{\perp}) \sin(\varphi) \cos(\varphi) \\ (\xi_{\parallel} - \xi_{\perp}) \sin(\varphi) \cos(\varphi) & \xi_{\parallel} \sin^2(\varphi) + \xi_{\perp} \cos^2(\varphi) \end{pmatrix}$$

Il ne nous reste donc plus qu'à déterminer les valeurs des quatre coefficients $\mu_{\parallel}$, $\mu_{\perp}$, $\xi_{\parallel}$ et $\xi_{\perp}$.

Toute l'approche que nous avons suivie depuis le début de ce rapport, en particulier la notion de tenseurs de mobilité et de frottement, est nécessaire à l'approche spécifique du travail de S. Allison que nous présentons dans le paragraphe suivant. En effet, la plupart des travaux centré sur la mobilité de chaînes d'ADN n'envisage que le cas de chaîne longues (de l'ordre de plusieurs dizaines ou centaines milliers de paires de bases). Ces

chaines étant de loin plus longues que la longueur de persistance l_p , elles sont repliées sur elles mêmes et présentent un aspect globulaire, ce qui supprime l'effet de l'orientation qui existe dans les chaines courtes et rigides.

5.2 Modèle d'Allison

Les résultats présentés dans ce paragraphe proviennent de l'article [Allison, 8] dans lequel les auteurs développent une théorie visant à déterminer les mobilités $\mu_{\parallel}$ et $\mu_{\perp}$ d'un brin d'ADN. Les résultats qu'ils obtiennent sont en accord avec les résultats expérimentaux, qui montrent que la mobilité d'un brin "court" et rigide d'ADN dépend de sa longueur. Les auteurs cherchent avant tout à déterminer la forme de cette dépendance. La première constatation que l'on peut faire, c'est que par symétrie, les matrices $[Q_{brin}]$, $[\xi_{brin}]$ et $[\mu_{brin}]$ sont diagonales dans la base $(\mathbf{e}_x, \mathbf{e}_y)$. Comme $[\mu_{brin}] = [\xi_{brin}]^{-1}[Q_{brin}]$, on en déduit $\mu_j = Q_j/\xi_j$, avec $j = \parallel$ ou $\perp$.

Le brin d'ADN étant alors considéré comme un cylindre rigide les coefficients de frottements parallèle et perpendiculaire peuvent être théoriquement reliés à la longueur Mb du brin *via* :

$$\xi_j = A_j \pi \eta M b / (\ln p + \gamma_j) \quad [5.1]$$

où $A_{\parallel} = 2$, $A_{\perp} = 4$, $p = Mb/2r$, r étant le rayon du brin, et $\gamma_j = a_j + b_j/p + c_j/p^2$. Ces coefficients a_j , b_j et c_j dépendent des conditions expérimentales (température et composition du solvant). Pour déterminer leurs valeurs numériques, on fixe un brin d'ADN d'une longueur donnée dans un repère et on calcule la force de frottement hydrodynamique globale exercée par ce brin d'ADN sur un fluide de même composition que notre solvant qui s'écoule soit parallèlement, soit perpendiculairement au brin (on utilise des équations hydrodynamiques du type de celles présentées section 2 avec les conditions aux limites adéquates). On effectue ce calcul pour des brins de différentes longueurs, et il ne reste plus qu'à ajuster les coefficients a_j , b_j , c_j pour que l'expression [5.1] corresponde à ces résultats.

La relation [5.1] obtenue est valable pour tout objet de forme cylindrique, pourvu que ce cylindre soit assez allongé, ce qui correspond pour le brin d'ADN à une longueur minimum d'environ 10 ou 15 paires de bases.

Vient ensuite la question de la détermination de la forme de la dépendance en longueur de Q_j . Expérimentalement [Stellwagen, 27], les valeurs des mobilités μ_j atteignent un plateau pour des ADN ayant une longueur supérieure à une centaine de paires de bases, mais encore rigides. Au vu de la dépendance en $\ln p/p$ de ξ_j , on peut proposer une définition fonctionnelle simple pour Q_j qui rende compte de cet effet :

$$-2Mb/Q_j = d_j \ln p + e_j \quad [5.2]$$

Encore une fois, on effectue un calcul à part. On fixe un ADN de longueur donnée dans un fluide au repos et on lui on applique un champ électrique soit parallèle soit perpendiculaire. On résoud les équations de Poisson-Boltzmann pour déterminer la valeur

numérique de la force électrique globale. On effectue ce calcul pour différentes longueurs de brin et on ajuste les valeurs de d_j et e_j pour qu'ils correspondent à ces résultats.

Dans les conditions opératoires choisies (solution de KCl 110 *mmol/L* à température ambiante), les expressions des mobilités et coefficients de frottement parallèle et perpendiculaires obtenus par cette méthode, et qui sont en accord avec les résultats expérimentaux, sont [Allison, 8]:

$\xi_{\parallel} = \frac{2\pi\eta Mb}{\ln p - 0.238 + 0.948/p + 0.058/p^2}$	$\xi_{\perp} = \frac{4\pi\eta Mb}{\ln p + 0.750 + 0.106/p + 0.626/p^2}$
$\mu_{\parallel} = \frac{-e}{\pi\eta b} \frac{\ln p - 0.238 + 0.948/p + 0.058/p^2}{1.519 \ln p + 2.541}$	$\mu_{\perp} = \frac{-e}{2\pi\eta b} \frac{\ln p + 0.750 + 0.106/p + 0.626/p^2}{2.857 \ln p + 1.695}$

6 Mobilité du nucléosome

Au point où nous en sommes, nous sommes capables de calculer les quatres coefficients de la matrice $[\mu](M_1, \varphi_1)$ du nucléosome, pour chaque couple de valeur de M_1 et φ_1 donné. Mais en réalité, μ ne nous interesse que parce qu'elle prédit indirectement la vitesse du nucléosome sous l'effet d'un champ $\mathbf{E} = E\mathbf{e}_x$ donné. Or, vu la façon dont nous avons paramétré le problème, $\mathbf{v} = [\mu]\mathbf{E} = \mu_{xx}E\mathbf{e}_x + \mu_{yx}E\mathbf{e}_y$, les valeurs de $\mu_{xx}(M_1, \varphi_1)$ et de $\mu_{yx}(M_1, \varphi_1)$ sont donc les seules qui nous intéressent. Comme nous le disions auparavant, d'une part un nucléosome donné peut tourner sur lui même en solution et d'autre part, à la fin d'une expérience d'électrophorèse les tâches que l'on observe résultent du déplacement d'une énorme quantité de nucléosomes. La mobilité mesurée expérimentalement est donc une mobilité qui résulte d'une moyenne statistique sur l'ensemble $(n, 50 - n) * [0..2\pi]$ dans lequel varient les paramètres M_1 et φ_1 d'un groupe de nucléosomes de position donnée.

6.1 La fonction densité de probabilité ou comment le nucléosome tend à s'orienter sous l'effet du champ $\mathbf{E}$

La chaine ADN est chargée à raison de deux charges négatives par monomère, la particule coeur possède une charge à nu Ze : il en résulte un moment dipolaire global $\mathbf{P}$ important. L'orientation du nucléosome est donc contrôlée d'une part par le champ $\mathbf{E}$ et d'autre part par l'agitation thermique du milieu.

La polarisation du nucléosome est en toute rigueur la somme d'une polarisation permanente et d'une polarisation induite. On peut négliger dans un calcul au premier ordre la polarisation induite. L'expression générale du moment dipolaire est " $\mathbf{P} = \sum_k q_k \mathbf{r}_k$ ". Le nucléosome n'étant pas globalement neutre, l'expression de $\mathbf{P}$ dépendra de l'origine choisie. L'origine est prise au centre de masse du nucléosome, parce que le nucléosome passe d'un niveau d'énergie ϵ à un autre en tournant autour de ce point.

L'effet de l'agitation thermique ne dépendant pas de l'orientation du nucléosome, la probabilité $p(M_1, \varphi_1)d\varphi_1$ que le nucléosome soit dans une configuration (M_1, φ_1) où

l'angle φ est déterminé à $d\varphi$ près est donc :

$$p(M_1, \varphi_1) d\varphi_1 = \frac{e^{-\epsilon/k_B T} d\varphi_1}{\int_0^{2\pi} e^{-\epsilon(M_1, \varphi_1)/k_B T} d\varphi_1 + \int_0^{2\pi} e^{-\epsilon(50-M_1, \varphi_1)/k_B T} d\varphi_1} \quad [6.1]$$

avec $\epsilon = -\mathbf{P}(M_1, \varphi_1) \cdot \mathbf{E}$ l'énergie associée au moment dipolaire du nucléosome. Les deux termes du dénominateur dans l'expression de la fonction de probabilité [6.1] correspondent aux deux valeurs possibles de la longueur du brin 1 pour un nucléosome dont la position est fixée de façon à ce que l'un des brins ait n paires de bases ($M_1 = n$ ou $50 - n$).

Si on mène les calculs à terme (voir annexe), on obtient :

$$\epsilon = eE(2 - A) \left[[M_1^2 b/2 + M_2^2 b/2 \cos(\theta) + M_2 R_c \sin(\theta)] \cos(\varphi) + [M_1 R_c - M_2 R_c \cos(\theta) + M_2^2 b/2 \sin(\theta)] \sin(\varphi) \right] \quad [6.2]$$

où A est une constante qui fait intervenir les masses et les charges à nu de la particule coeur et d'une paire de bases de nucléotides.

La moyenne statistique d'une valeur $X(M_1, \varphi_1)$ d'un nucléosome dont l'un des brins possède n paires de bases s'écrit alors

$$\langle X(n) \rangle = \int_0^{2\pi} p(n, \varphi_1) X(n, \varphi_1) d\varphi_1 + \int_0^{2\pi} p(50 - n, \varphi_1) X(50 - n, \varphi_1) d\varphi_1 \quad [6.3]$$

. Les graphes ci-dessous représentent la fonction densité de probabilité en fonction de l'angle φ_1 pour différentes valeurs de E . A champ nul, toutes les configurations sont équiprobables : l'orientation n'est gouvernée que par les fluctuations thermiques. Pour avoir une orientation très sélective, il faut que le champ $\mathbf{E}$ soit très élevé : de l'ordre de 50000 V/cm , ce qui est très au-dessus de la valeur des champs utilisés en électrophorèse. Dans la suite, la valeur du champ électrique utilisée par défaut sera $E = 500 \text{ V/cm}$.

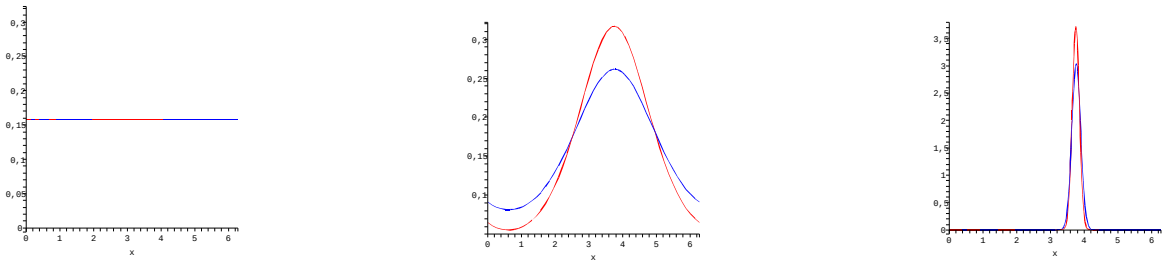


FIG. 4 – $p(M_1, \varphi_1)$ pour $E = 0, 500, 50000 \text{ V/cm}$ et $M_1 = 25$ (bleu) ou 50 (rouge).

On pourra noter que pour un nucléosome en bout de chaîne, l'effet de sélection d'angles préférentiels est plus marqué que pour un nucléosome en milieu de chaîne.

6.2 Résultats

Pour des raisons évidentes de symétrie entre les configurations (n, φ) et $(50 - n, -\varphi + \theta)$ (voir annexe), on doit avoir pour tout n : $\langle \mu_{yx}(n) \rangle = 0$. La figure 7 montre les valeurs relatives de la mobilité μ_{xx} en fonction de la position du nucléosome. On observe le même effet que celui observé par les biologistes lors d'électrophorèse sur gel, à savoir qu'un nucléosome positionné en bout de chaîne est plus rapide qu'un nucléosome positionné en milieu de chaîne. Lorsque le nucléosome est en bout de chaîne ($M_1 = 0$ ou 50), on trouve une mobilité :

$$\mu_0 = -3.92 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{Vs}.$$

La mobilité pour un nucléosome en milieu de chaîne est environ 10% plus faible,

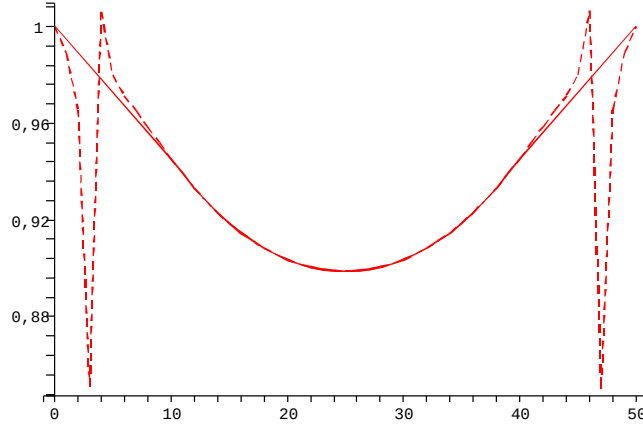


FIG. 5 – $\langle \mu_{xx}(n) \rangle / \langle \mu_{xx}(0) \rangle$. En pointillés : les résultats bruts obtenus en utilisant sans ménagement les résultats d'Allison. En trait plein : un lissage plus réaliste qui tient compte du fait que les résultats d'Allison ne sont valables que pour des brins d'ADN d'une certaine longueur minimale.

mais toujours plus forte que la mobilité de la particule coeur ($\mu_c = 2.02 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{Vs}$). L'effet de la particule coeur est donc plutôt celui d'un frein tandis que les brins d'ADN ont un effet moteur.

La figure 6 permet d'imaginer ce que donnerait visuellement une véritable électrophorèse. Dans cette expérience virtuelle, on a au départ une même quantité de nucléosomes en bout de chaîne et de nucléosomes en milieu de chaîne tous en $x = 0$. On fait agir le champ électrique pendant deux minutes. L'axe des abscisses représente la distance parcourue, celui des ordonnées la concentration relative locale en nucléosomes. Les tâches sont modélisées par des gaussiennes de centre $\langle x \rangle = \langle \mu_{xx}(n) \rangle Et$ et de largeur à mi-hauteur $\Delta x = \Delta \mu_{xx}(n) Et = \sqrt{\langle \mu_{xx}^2 \rangle - \langle \mu_{xx} \rangle^2} Et$; Pour le nucléosome en bout de chaîne, cette largeur correspond à 2% de la distance parcourue, alors que pour le

nucléosome en milieu de chaîne elle ne représente que 0.5%.

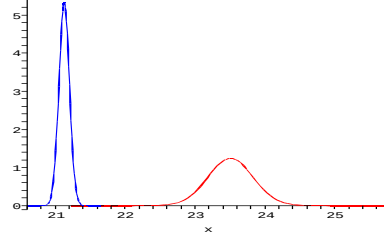


FIG. 6 – Aspect des tâches figurant les concentrations relatives de nucleosomes positionnés en bout de chaîne (en rouge) et en milieu de chaîne (en bleu) au bout deux minutes. L'axe des abscisse représente la distance parcourue en cm.

7 Discussion de l'influence des différents paramètres

7.1 Influence de la diffusion

Quand nous avons construit notre modèle en section 3 en nous plaçant en régime stationnaire, nous avons laissé de côté toutes les perturbations qui engendrent le caractère diffusif dans la propagation du nucléosome. On dispose de la valeur expérimentale [Mangenot, 17] : $D_x = 4.371 \cdot 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$.

La figure 7 présente l'influence relative de la diffusion lors de notre expérience d'électrophorèse virtuelle. Si on compare cette figure à la figure 6, on se rend compte que cette influence est négligeable devant les effets d'angles.

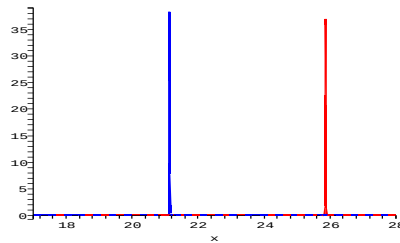


FIG. 7 – Electrophorèse virtuelle au bout de 2 min en considérant que la diffusion est le seul facteur qui tend à étendre les tâches.

7.2 Ecart dus aux variations de θ

Regardons maintenant l'influence de l'angle θ d'ouverture entre les deux brins. Au final, ce qui importe c'est de pouvoir séparer dans les expériences les nucléosomes selon

leurs positions. Une valeur intéressante sur laquelle travailler est donc le rapport $\langle \mu_{xx}(25) \rangle / \langle \mu_{xx}(50) \rangle$, qui mesure l'écart relatif entre un nucléosome en milieu de chaîne et un nucléosome en bout de chaîne. La figure 10 nous montre que l'importance que ce paramètre possède est négligeable : ce rapport ne varie pratiquement pas autour de la valeur de référence voisine de 90%.

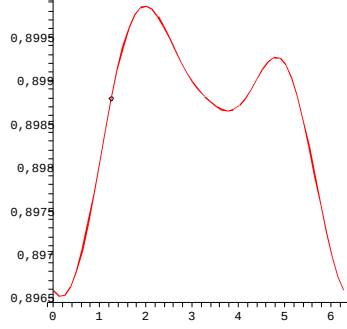


FIG. 8 – *Ecart relatif $\langle \mu_{xx}(25) \rangle / \langle \mu_{xx}(50) \rangle$ en fonction de θ . Le point noir indique la référence $\theta = 0.4\pi$*

7.3 Importance de la particule coeur

Tout d'abord, regardons l'effet d'une variation de μ_c . La figure 9 – A montre que si on annule ce paramètre, le rapport $\langle \mu_{xx}(25) \rangle / \langle \mu_{xx}(50) \rangle$ est plus grand d'environ 1% par rapport à la référence et que si on double ce paramètre, ce rapport baisse d'environ 1% également. Donc quand la mobilité de la particule coeur augmente, les différences entre le nucléosome terminal et le nucléosome médian s'amenuisent. Cette constatation tend à prouver que la particule coeur a un effet de freinage global sur le nucléosome. On peut en obtenir la preuve finale en supprimant virtuellement dans notre modèle la particule coeur en posant $\mu_c = \xi_c = 0$. La figure 9 – B montre le résultat d'une telle opération : on obtient un résultat similaire à celui présenté figure 6, mais on aurait dans ce cas $\langle \mu_{xx}(50) \rangle = -4.40 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{Vs}$ au lieu de $-3.92 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{Vs}$, et un écart relatif entre $\langle \mu_{xx}(25) \rangle$ et $\langle \mu_{xx}(50) \rangle$ de 13.3% au lieu de 10%. Ces résultats démontrent d'une part que l'effet de la particule coeur est de faire freiner le nucléosome puisque celui-ci va plus vite sans elle, et ils montrent aussi que l'effet de différenciation dû à la particule coeur selon la position du nucléosome est dû principalement au paramètre ξ_c .

7.4 Importance des brins d'ADN

La figure 10 nous montre l'évolution des mobilités parallèle et perpendiculaire d'un brin d'ADN avec sa longueur. On observe deux types d'effets : pour un brin parallèle au champ électrique et au mouvement du fluide, la mobilité augmente avec la longueur du



FIG. 9 – (A) *Ecart relatif $\langle \mu_{xx}(25) \rangle / \langle \mu_{xx}(50) \rangle$ en fonction de la mobilité de la particule coeur. Les mobilités sont exprimés en unités de la valeur de référence $\mu_c = 2.02 \cdot 10^{-4} \text{cm}^2/\text{Vs}$. Le point noir indique la valeur de référence.* (B) *$\langle \mu_{xx}(n) \rangle$ pour un “pseudo-nucléosome” constitué seulement des deux brins d’ADN, (ie) un nucléosome sans particule coeur.*

brin, (ie) l’effet moteur des forces électriques gagne sur l’effet de freinage hydrodynamique. Pour un brin perpendiculaire, c’est l’inverse qui se produit. Si on réfléchit au rôle des brins dans le nucléosome, on se rend compte de l’importance des angles préférentiels d’un nucléosome de position donnée. En fait si un nucléosome en position moyenne va moins vite qu’un nucléosome en position terminale, ce sera à la fois à cause du fait que *deux brins de même longueur frottent plus qu’un de longueur double* (voir la forme logarithmique concave croissante des coefficients de frottements des brins en [5.2]) et à cause d’un effet d’angle d’ouverture qui fait que *l’effet moteur de deux brins de même longueur est environ la même que celle d’un brin de longueur double*.

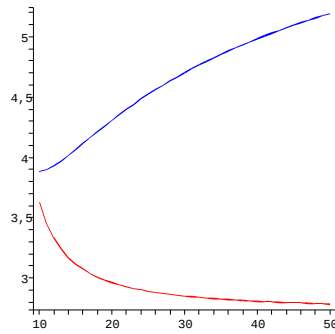


FIG. 10 – *Evolution de $\mu_{\parallel}$ (en bleu) et $\mu_{\perp}$ (en rouge) avec le nombre de paires de bases du brin. Les mobilités sont données en 10^{-10}kg/s .*

8 Conclusion et perspectives

Le résultat central de notre travail est que dans notre modélisation, un nucléosome en position terminale va plus vite qu’un autre en position médiane. Ce résultat pour

un modèle d'électrophorèse en solution s'accorde avec les résultats expérimentaux des électrophorèses sur gel, du type de celui présenté figure 11 [Pennings, 22]. Comment doit-on finalement interpréter nos résultats? La particule coeur du nucléosome aura toujours un effet quasiment neutre vis-à-vis de la position du nucléosome. Les brins d'ADN ont à la fois un effet de freinage et un effet moteur. Cependant, l'effet de freinage est plus important quand on a deux brins courts plutôt qu'un seul long.

L'influence quasi-nulle de l'angle d'ouverture θ sur le résultat final permet de penser qu'on pourra facilement élargir cette étude au cas des tétrasomes, objets biologiques voisins des nucléosomes composés d'un tétramère d'histone et d'une chaîne ADN qui effectue environ 1 tour autour de ce tétramère, d'où un angle d'ouverture voisin de π . On peut prédire pour le tétrasome le même genre de résultats, à savoir que le tétrasome en milieu de chaîne sera plus lent que le tétrasome en bout de chaîne.

Comment enfin peut-on relier notre travail aux résultats des électrophorèses sur gel? Comme on peut le constater en comparant nos résultats d'une théorie de l'électrophorèse de nucléosome en solution aux résultats expérimentaux sur gel de la figure 11, si on a bien dans les deux cas le même genre de comportement, dans le cas du gel, le nucléosome en position médiane est relativement beaucoup plus lent que le nucléosome en bout de chaîne.

Dans le cas d'un objet de dimension petite devant la taille de la maille du réseau

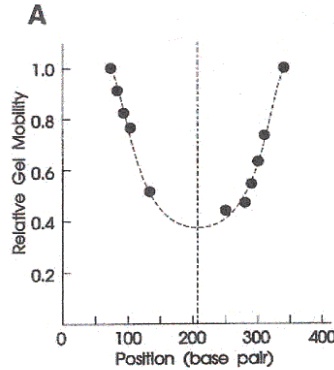


FIG. 11 – *Résultats expérimentaux*: graphe de la mobilité relative du nucléosome en fonction de la position de la particule coeur le long d'une chaîne ADN de 400 paires de bases lors d'une électrophorese dans un gel de polyacrylamide concentré à 5% [Pennings, 22].

constitué par les polymères du gel, les modèles proposés [Violy, 30] donnent la mobilité comme proportionnel à la fraction de volume libre dont ils disposent. La formule empirique de Fergusson relie la mobilité μ dans un gel de concentration c à la mobilité en solution μ_0 :

$$\log \frac{\mu}{\mu_0} = -K_r c$$

où K_r est un coefficient de retard dépendant de la taille et de la forme de l'objet. Ce coefficient de retard, dû aux interactions entre l'objet et le gel, se mesure expérimentalement.

Les travaux présentés dans les articles [Heuer, 13, 14, 15] montrent que pour un poids égal, un ADN rigide formé de plusieurs brins regroupés en étoile a un coefficient de retard plus important qu'un ADN linéaire. On peut ainsi justifier que la différence entre la mobilité d'un nucléosome en bout de chaîne et celle d'un nucléosome en milieu de chaîne soit plus marquée lors d'une électrophorèse sur gel que lors d'une électrophorèse en solution.

9 Remerciements

L'auteur du présent rapport souhaiterait remercier Mr Michel Peyrard pour lui avoir initialement parlé de ce sujet de stage, et spécialement Mr Martin Castelnovo, source d'inspiration et de réflexion qui a fait montre durant ces trois derniers mois d'une attention et d'une patience à son égard particulière. Je ne vous méritais pas!

10 Bibliographie

- [1] P. André, *Electrophorèse d'objets mous complexes : vésicules et polymères*, Thèse de doctorat de l'université ParisXI (1999).
- [2] S. Allison, S. Mazur, Modeling the free Solution Electrophoretic Mobility of Short DNA fragments, *Biopolymers*, Vol 46, 359-373 (1998)
- [3] S. Allison, Z. Li, D. Reed, N. Stellwagen, Modeling the gel electrophoresis of short duplex DNA by Brownian dynamics: Cubic gel lattice with direct interaction, *Electrophoresis*, **23**, 2678-2689 (2002).
- [4] S. Allison, D. Stigter, A commentary on the Screened-Oseen, Counterion-Condensation Formalism of Polyion Electrophoresis, *Biophysical Journal*, Vol 78, 121-124, Jan 2000.
- [5] S. Allison, Boundary element modeling of biomolecular transport, *Biophysical Chemistry*, Vol 93, 197-213 (2001).
- [6] S. Allison, End effects in Electrostatic potentials of Cylinders: Models for DNA fragments, *J. Phys. Chem.*, 98, 12091-12096 (1994).
- [7] S. Allison, Electrophoretic mobility and primary electroviscous effect of dilute "hard" prolate ellipsoids, *J. Colloid and interface Science*, 282, 231-237 (2005).
- [8] S. Allison, C.Chen, D.Stigter, The Length Dependence of Translational Diffusion, Free Solution Electrophoretic Mobility, and Electrophoretic Tether Force of Rigid Rod-Like Model Duplex DNA, *Biophysical Journal*, Vol 81, Nov 2001.
- [9] C. Desruisseaux, D. Long, G. Drouin, G.W Slater, Electrophoresis of Composite Molecular Objects—Relation between Friction, Charge, and Ionic Strength in Free Solution, *Macromolecules* 34, 44-52 (2001).
- [10] C. Desruisseaux, G. Drouin, G.W Slater, Electrophoresis of Composite Molecular Objects—Competition between Sieving and Frictional Effects in Polymer Solutions, *Macromolecules* 34, 5280-5286 (2001).
- [11] Doi, Edwards, *Theory of Polymer dynamic*, Oxford Science Publications (1986).
- [12] J.Happel, H.Brenner, *Low Reynolds Number Hydrodynamic* (1965).
- [13] D. Heuer, S. Saha, L. Archer, Topological Effects on the Electrophoretic Mobility of Rigid Rodlike DNA in Polyacrylamide Gels, *Biopolymers*, Vol 70, 471-481 (2003).
- [14] D. Heuer, S. Saha, A. Kusumo, L. Archer, Influence of branch length asymmetry on the electrophoretic mobility of rigid rod-like DNA, *Electrophoresis*, 25, 1772-1783 (2004).
- [15] D. Heuer, C. Yuan, S. Saha, L. Archer, Effect of topological asymmetry on the electrophoretic mobility of branched DNA structures with and without single-base mismatches, *Electrophoresis*, 26, 64-70 (2005).
- [16] D. Long, A.Dobrynin, M.Rubinstein, A.Adjari, Electrophoresis of polyampholytes, *J. Chem. Phys.*, 108 (3), Jan 1998.
- [17] S. Mangenot, E.Raspaud, C.Tribet, L.Belloni, F.Livolant, Interactions between isolated nucleosome core particles: A tail-bridging effect?, *European Physical Journal E* **7**, 221-231 (2002).
- [18] G. Manning, Counterion Condensation on a Helical Charge Lattice, *Macromolecules*, Vol 34, 4650-4655 (2001).
- [19] R. Meagher, J-I. Won, L. McCormick et al., End-labeled free-solution electrophoresis of DNA, *Electrophoresis*, 26, 331-350 (2005).

- [20] R. Netz, Polyelectrolytes in Electric Fields, *J. Phys. Chem.*, B107, 8208-8217 (2003).
- [21] R.W. O'Brien, L.R. White, *J. Chem. Soc. Faraday Transact. II*, 74, 1607 (1978).
- [22] S. Pennings, Nucleoprotein Gel Electrophoresis for the Analysis of Nucleosomes and their Positioning and Mobility on DNA, *in A companion to Methods in Enzymology* **12**, 20-27 (1997).
- [23] A. Sartori, V. Barbier, J-L. Viovy, Sieving mechanism in polymeric matrices, *Electrophoresis*, 24, 421-440 (2003).
- [24] H. Schiessel, The physics of chromatin, *J. Phys.: Condens. Matter* **15**, R699-R774 (2003).
- [25] X. Schlagberger, R.R. Netz, Orientation of elastic rods in homogeneous Stokes flow, *Europhysics letters*, 70, 129-135 (2005).
- [26] N. Stellwagen, C. Gelfi, P. Righetti, The Free Solution Mobility of DNA, *Biopolymers*, Vol 42, 687-703 (1997).
- [27] E. Stellwagen, Y. Lu, N. Stellwagen, Unified Description of Electrophoresis and Diffusion for DNA and Other Polyions, *Biochemistry*, Vol 42, 11745-11750 (2003).
- [28] E. Stellwagen, N. Stellwagen, Determining the electrophoretic mobility and translational diffusion coefficients of DNA molecules in free solution, *Electrophoresis*, 23, 2794-2803 (2002).
- [29] N. Stellwagen, A. Bossi, C. Gelfi, P. Righetti, Do orientation effects contribute to the molecular weight dependence of the free solution mobility of DNA?, *Electrophoresis*, 22, 4311-4315 (2001).
- [30] J-L. Viovy, Electrophoresis of DNA and other polyelectrolytes: Physical mechanism, *Review of Modern Physics*, Vol 72, No 3, July 2000.

L' image de la structure nucléosome vu aux rayon X de la figure 1 – B provient du site internet www.ccbb.pitt.edu/Professor-Websites/bahar/171.pdf. La figure 11 est extraite de l'article [Pennings, 22], la figure 1 – A de [Schiessel, 24]. Le reste des figures est l'oeuvre de l'auteur de ce rapport.

11 Annexes

11.1 Annexe à la section 4

La liste suivante récapitule les valeurs des différents paramètres utiles du problème :

- Concentration en sel monovalent dans la solution : $C = 110 \text{ mmol/L}$.
- Viscosité cinématique de l'eau : $\eta = 1.003 \cdot 10^{-2} \text{ kg.m}^{-1}\text{s}^{-1}$.
- Energie thermique élémentaire à température ambiante : $k_B T = 1/40 \text{ eV}$.
- Longueur de Debye : $\kappa^{-1} \sim 12 \text{ Å}$.
- Longueur de Bjerrum : $l_B \sim 7 \text{ nm}$.
- Rayon de la sphère de la particule coeur : $R_c = 50 \text{ Å}$.
- Charge propre de la particule coeur : $Ze = -147e$.

- Charge effective de la particule coeur : $Z_{eff}e = -104e$.
- Masse de la particule coeur : $210000g/mol$.
- Angle d'ouverture entre les deux brins d'ADN : $\theta = 0.4\pi$.
- Longueur d'un monomère d'ADN : $b = 3.4 \text{ \AA}$.
- Rayon d'un brin cylindrique d'ADN : $r = 10 \text{ \AA}$.
- Masse d'un monomère d'ADN : $616g/mol$.

11.2 Annexe à la section 6

La matrice de passage $\mathbf{P}$ est :

$$\mathbf{P} = \begin{pmatrix} \cos(\varphi_i) & -\sin(\varphi_i) \\ \sin(\varphi_i) & \cos(\varphi_i) \end{pmatrix}$$

La matrice-mobilité dans la base $(\mathbf{e}_{\parallel}, \mathbf{e}_{\perp})$ s'écrit alors $[\mu] = P[\mu]_{(\mathbf{e}_{\parallel}, \mathbf{e}_{\perp})}P^{-1}$, soit :

$$[\mu] = \begin{pmatrix} \cos(\varphi_i) & -\sin(\varphi_i) \\ \sin(\varphi_i) & \cos(\varphi_i) \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mu_{\parallel} & 0 \\ 0 & \mu_{\perp} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \cos(\varphi_i) & \sin(\varphi_i) \\ -\sin(\varphi_i) & \cos(\varphi_i) \end{pmatrix} = \dots =$$

$$\begin{pmatrix} \mu_{\parallel}\cos^2(\varphi) + \mu_{\perp}\sin^2(\varphi) & (\mu_{\parallel} - \mu_{\perp})\sin(\varphi)\cos(\varphi) \\ (\mu_{\parallel} - \mu_{\perp})\sin(\varphi)\cos(\varphi) & \mu_{\parallel}\sin^2(\varphi) + \mu_{\perp}\cos^2(\varphi) \end{pmatrix}$$

11.3 Annexe à la section 7

11.3.1 Calcul de l'énergie associée au moment dipolaire

Il nous faut tout d'abord déterminer les coordonnées des différents points dans une configuration (M, φ) donnée. Un peu de trigonometrie nous permet de déterminer les coordonnées des points A et B :

$$\mathbf{CA} = R_c \sin(\varphi) \mathbf{e}_x - R_c \cos(\varphi) \mathbf{e}_y$$

$$\mathbf{CB} = -R_c \sin(\varphi - \theta) \mathbf{e}_x + R_c \cos(\varphi - \theta) \mathbf{e}_y$$

Les coordonnées du centre de gravité G se déterminent ensuite via " $\sum_k m_k \mathbf{GP}_k = 0$ ", soit :

$$m_{NCP} \mathbf{GC} + m_{ADN} M_1 \mathbf{GA} + M_2 \mathbf{GB} +$$

$$\sum_{k=1}^{M_1} \left((-2e)(k - 1/2)b(\cos(\alpha) \mathbf{e}_x + \sin(\alpha) \mathbf{e}_y) \right) +$$

$$\sum_{k=1}^{M_2} \left((-2e)(k - 1/2)b(\cos(\alpha - \theta) \mathbf{e}_x + \sin(\alpha - \theta) \mathbf{e}_y) \right)$$

D'où on tire :

$$\mathbf{CG} = \frac{1}{m_{NCP}/m_{ADN} + M_1 + M_2}$$

$$(M_1 R_c \sin(\varphi) - M_2 R_c \sin(\varphi - \theta) + M_1^2 b/2 \cos(\varphi) + M_2^2 b/2 \cos(\varphi - \theta)) \mathbf{e}_x$$

$$+ (-M_1 R_c \cos(\varphi) + M_2 R_c \cos(\varphi - \theta) + M_1^2 b/2 \sin(\varphi) + M_2^2 b/2 \sin(\varphi - \theta)) \mathbf{e}_y$$

On peut ainsi déterminer l'expression du moment dipolaire $\mathbf{P}$ via " $\mathbf{P} = \sum_k q_k \mathbf{GP}_k''$ ". D'où :

$$\mathbf{P} = -2e M_1 \mathbf{GA} + \sum_{k=1}^{M_1} \left((-2e)(k - 1/2)b(\cos(\alpha) \mathbf{e}_x + \sin(\alpha) \mathbf{e}_y) \right)$$

$$-2eM_2\mathbf{GB} + \sum_{k=1}^{M_2} \left((-2e)(k-1/2)b(\cos(\alpha-\theta)\mathbf{e}_x + \sin(\alpha-\theta)\mathbf{e}_y) \right) - Ze\mathbf{GC},$$

$$\begin{aligned} \text{D'où en posant } A &= \frac{Z+2M_1+2M_2}{m_{NCP}/m_{ADN}+M_1+M_2}, \\ \epsilon &= -\mathbf{P} \cdot \mathbf{E} = -P_x E = eE \left[(1-A/2)(M_1^2 b \cos(\varphi) + M_2^2 b \cos(\varphi-\theta)) + (2-A)(M_1 R_c \sin(\varphi) - M_2 R_c \sin(\varphi-\theta)) \right], \text{ soit encore :} \\ \epsilon &= eE(2-A) \left[[M_1^2 b/2 + M_2^2 b/2 \cos(\theta) + M_2 R_c \sin(\theta)] \cos(\varphi) \right. \\ &\quad \left. + [M_1 R_c - M_2 R_c \cos(\theta) + M_2^2 b/2 \sin(\theta)] \sin(\varphi) \right] \end{aligned}$$

Notons au passage que sur l'avant-dernière expression de ϵ écrite ci-dessus, on voit clairement que ϵ reste inchangée quand on passe de la configuration $(M_1 = n, \varphi_1 = \phi)$ à la configuration $(M_1 = 50 - n, \varphi_1 = -\phi + \theta)$, changement de configuration qui correspond à une symétrie par rapport à l'axe (Cx). Ces états sont donc équiprobables. De plus, en minimisant ϵ , on peut trouver une expression de l'angle ϕ le plus probable, qu'on note ϕ_α :

$$\tan(\phi_\alpha) = \frac{M_2^2 \sin(\theta) - Z R_c / b \sin(\theta/2)}{M_1^2 + M_2^2 \cos(\theta) - Z R_c / b \cos(\theta/2)}$$

On vérifie que dans le cas où $M_1 = M_2$, $\tan(\phi_\alpha) = \tan(\theta/2)$, ce qui correspond bien à l'intuition "symétrique" que l'on a de prime abord.

11.3.2 Calcul de μ_{xx} et de μ_{yx}

De l'équation [4.5] on tire, en effectuant les produits matriciels :

$$\begin{pmatrix} a & b \\ b & a' \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \mu_{xx} \\ \mu_{yx} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \alpha \\ \beta \end{pmatrix}$$

Avec $a = \xi_c + \xi_{\parallel}(M_1)\cos^2(\varphi) + \xi_{\perp}(M_1)\sin^2(\varphi) + \xi_{\parallel}(M_2)\cos^2(\varphi - \theta) + \xi_{\perp}(M_2)\sin^2(\varphi - \theta)$

$a' = \xi_c + \xi_{\parallel}(M_1)\sin^2(\varphi) + \xi_{\perp}(M_1)\cos^2(\varphi) + \xi_{\parallel}(M_2)\sin^2(\varphi - \theta) + \xi_{\perp}(M_2)\cos^2(\varphi - \theta)$

$b = (\xi_{\parallel}(M_1) - \xi_{\perp}(M_1))\sin(\varphi)\cos(\varphi) + (\xi_{\parallel}(M_2) - \xi_{\perp}(M_2))\sin(\varphi - \theta)\cos(\varphi - \theta)$

$\alpha = \xi_c \mu_c + \xi_{\parallel}(M_1)\mu_{\parallel}(M_1)\cos^2(\varphi) + \xi_{\perp}(M_1)\mu_{\perp}(M_1)\sin^2(\varphi) + \xi_{\parallel}(M_2)\mu_{\parallel}(M_2)\cos^2(\varphi - \theta) + \xi_{\perp}(M_2)\mu_{\perp}(M_2)\sin^2(\varphi - \theta)$

$\beta = (\xi_{\parallel}(M_1)\mu_{\parallel}(M_1) - \xi_{\perp}(M_1)\mu_{\perp}(M_1))\sin(\varphi)\cos(\varphi) + (\xi_{\parallel}(M_2)\mu_{\parallel}(M_2) - \xi_{\perp}(M_2)\mu_{\perp}(M_2))\sin(\varphi - \theta)\cos(\varphi - \theta)$

En inversant la matrice, on obtient : $\mu_{xx} = \frac{\alpha a' - \beta b}{a a' - b^2}$ et $\mu_{yx} = \frac{\beta a' - \alpha b}{a a' - b^2}$

Une simple considération de symétrie va alors nous permettre de régler le cas de μ_{yx} . En effet, on peut facilement voir que lorsqu'on passe de la configuration $(M_1 = n, \varphi_1 = \phi)$ à la configuration $(M_1 = 50 - n, \varphi_1 = -\phi + \theta)$, ces deux états étant équiprobables, alors a, a', α restent inchangés et b, β changent de signes. D'où alors $\mu_{yx}(n, \varphi_1) = -\mu_{yx}(50 - n, -\varphi_1 + \theta)$, ceci pour toutes valeurs de n et de φ_1 . Donc au final, $\langle \mu_{yx}(n) \rangle = 0$.