

Dépliement mécanique de macromolécules :
Revue critique de recherche théorique récente sur transitions
conformationnelles causées par l'action d'une force externe

par

Mohamed Fall

Une revue critique présentée présentée pour répondre
à l'une des exigences de la
maîtrise ès sciences (MSc) en Sciences chimiques

Faculté des études supérieures
Université Laurentienne
Sudbury (Ontario) Canada

© Mohamad Fall, 2026

**CRITICAL REVIEW ESSAY DEFENCE COMMITTEE/COMITÉ DE SOUTENANCE
DE LA REVUE CRITIQUE**

Laurentian University/Université Laurentienne
Faculty of Graduate Studies/Faculté des études supérieures

Title of Essay Titre de l'essai	Dépliement mécanique de macromolécules : Revue critique de recherche théorique récente sur transitions conformationnelles causées par l'action d'une force externe	
Name of Candidate Nom du candidat	Fall, Mohamed	
Degree Diplôme	Master of	
Program Programme	Chemical Sciences	Date of Defence Date de la soutenance 8 avril 2026

APPROVED/APPROUVÉ

Critical Review Essay Examiners/Examineurs de la revue critique:

Prof. Gustavo Arteca
(Supervisor/Directeur(trice) de l'essai)

Prof. Jeffrey Sheppard
(Committee member/Membre du comité)

Approved for the Faculty of Graduate Studies
Approuvé pour la Faculté des études supérieures
Dr. Scott Fairgrieve
Dean of Graduate Studies and International
Doyen des Études supérieures et de la stratégie internationale
Laurentian University / Université Laurentienne

ACCESSIBILITY CLAUSE AND PERMISSION TO USE

I, **Mohamed Fall**, hereby grant to Laurentian University and/or its agents the non-exclusive license to archive and make accessible my essay, dissertation, or project report in whole or in part in all forms of media, now or for the duration of my copyright ownership. I retain all other ownership rights to the copyright of the essay, dissertation or project report. I also reserve the right to use in future works (such as articles or books) all or part of this essay, dissertation, or project report. I further agree that permission for copying of this essay in any manner, in whole or in part, for scholarly purposes may be granted by the professor or professors who supervised my essay work or, in their absence, by the Head of the Department in which my essay work was done. It is understood that any copying or publication or use of this essay or parts thereof for financial gain shall not be allowed without my written permission. It is also understood that this copy is being made available in this form by the authority of the copyright owner solely for the purpose of private study and research and may not be copied or reproduced except as permitted by the copyright laws without written authority from the copyright owner.

Sommaire de la revue

Les biopolymères subissent des transformations conformationnelles de dépliement sous l'influence des conditions externes, p.ex., les changements de température, la composition chimique du milieu environnant ou l'application de forces mécaniques, ce qu'on appelle la « mécano-chimie ». Ces processus de dépliement peuvent conduire à des résultats très différents selon les circonstances. Dans cette revue, on présente une exploration des approches expérimentales et théoriques employées dans l'étude de la mécano-chimie des protéines. En effet, les types de transitions conformationnelles sont déterminées par le jeu entre les interactions (quantiques) électrostatiques et la stabilité des liaisons internes en réponse aux contraintes appliquées. Si bien les mécanismes de ces transitions dépendent de la nature de la chaîne moléculaire, l'influence de la location et les valeurs des charges locales, ainsi que la réorganisation des interactions à courte et longue distance, sont principes communs pour tous les biopolymères. De ce fait, l'étude de dépliement des petites protéines permet d'identifier des principes fondamentaux qui peuvent s'appliquer à d'autres systèmes de transition conformationnelle, même lorsque les mécanismes sous-jacents sont distincts, comme dans le cas des acides nucléiques soumis à des forces mécaniques.

Ici, nous discutons comment les simulations de dynamique moléculaire (MD) mettent en évidence l'influence des charges locales et des conditions

environnementales sur la résistance aux déformations mécano-chimiques. L'observation, par exemple, de cycles d'étirement de polypeptides en hélice, conduit à définir d'avantage si les transitions se font de façon séquentielle ou de manière coopérative.

Car les expériences et simulations de MD suggèrent des liens entre la distribution des charges électriques et la résistance mécanique, une question se pose : ces principes dérivés des études de protéines, sont-ils applicables aux processus de dépliement des acides nucléiques soumis à des forces mécaniques ?

L'analogie avec les acides nucléiques est particulièrement pertinente, car ces derniers présentent également une organisation hiérarchique de liaisons, incluant des interactions électrostatiques, des liaisons hydrogène et des empilements de bases, qui conditionnent leur stabilité face aux contraintes mécaniques. Comme pour les protéines, la distribution locale des charges et la coopération entre interactions faibles jouent un rôle central dans la réponse mécanique des acides nucléiques. Donc, l'analyse des protéines offre un cadre conceptuel transférable pour expliquer le comportement des acides nucléiques, tout en soulignant les particularités structurelles des acides nucléiques.

Dans ce projet, nous faisons une revue critique des résultats expérimentaux et théoriques du dépliement des biopolymères et nous mettons en lumière les aspects de cette recherche qui demeurent incomplets.

REMERCIEMENTS

Arrivé à la fin de cette thèse, je ressens une émotion difficile à décrire. Ces pages représentent bien plus qu'un travail académique : elles sont le reflet de plusieurs années de persévérance, de doutes, de découvertes et surtout de rencontres inoubliables.

Aujourd'hui, je voudrais prendre le temps de remercier du fond du cœur toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à ce long chemin, car sans elles, rien de tout cela n'aurait eu de sens.

Je souhaite tout d'abord exprimer ma profonde reconnaissance à mon superviseur, le Professeur Gustavo Arteca.

Monsieur Arteca, vous avez été bien plus qu'un directeur de recherche. Vous avez été un guide, un mentor, et parfois même un repère dans les moments de confusion. Votre patience, votre gentillesse et votre grande humilité m'ont toujours impressionné. Pendant plus de quatre années, vous avez partagé avec moi non seulement vos immenses connaissances scientifiques, mais aussi votre manière humaine de voir la recherche : avec curiosité, rigueur, mais aussi respect et bienveillance.

Je vous suis infiniment reconnaissant pour votre confiance, vos encouragements et vos conseils toujours justes. Merci d'avoir cru en moi, même

quand moi je doutais. Vous avez marqué mon parcours d'une empreinte indélébile et votre nom sera gravé dans ma mémoire jusqu'à ce que la vieillesse me rattrape.

Je voudrais aussi adresser mes remerciements les plus sincères à ma famille, ce pilier sans lequel je ne serais jamais arrivé jusqu'ici.

À ma mère, tout particulièrement : il n'existe pas de mots assez forts pour exprimer ce que je ressens pour toi. Ton amour, ton courage et ta foi en moi ont été ma lumière dans les moments les plus sombres. Tu as été là à chaque étape, discrètement mais toujours présente, toujours à prier, à encourager, à me rappeler pourquoi je devais continuer. Sans toi, ce rêve n'aurait jamais pu devenir réalité. Tu es et resteras ma plus grande source de force et d'inspiration.

À ma famille dans son ensemble, merci pour votre compréhension, vos sacrifices, votre patience face à mes absences, et pour avoir accepté que je consacre tant d'heures à ce projet parfois abstrait, mais si important pour moi. Je tiens aussi à remercier mes deux frères de cœur, Issa Ndao et Kalidou Thiaw. Vous avez été mes soutiens les plus proches, mes critiques les plus honnêtes et mes sources d'énergie dans les moments où j'avais envie d'abandonner. Vous avez su trouver les mots justes quand il fallait, me rappeler pourquoi j'avais commencé, et surtout me faire rire quand tout semblait trop sérieux.

Merci pour vos critiques, vos conseils, mais surtout pour votre amitié, cette amitié vraie qui ne se mesure pas en mots mais en présence.

Et puis, à toutes celles et ceux dont le nom n'apparaît pas ici mais qui ont joué un rôle dans cette aventure : amis, collègues, enseignants, techniciens, ou même ces inconnus croisés au détour d'une discussion inspirante, je ne vous oublie pas. Vos gestes, vos sourires, vos mots d'encouragement ont eu un impact plus grand que vous ne pouvez l'imaginer. Vous faites partie de cette histoire.

Enfin, je veux remercier la vie elle-même avec ses hauts, ses bas, ses imprévus, car c'est à travers ses épreuves que j'ai appris la patience, la résilience et la gratitude d'Allah. Ce travail n'est pas seulement le fruit de mon effort, mais celui d'un ensemble de cœurs, de mains et d'âmes qui m'ont accompagné sans relâche.

À tous, du plus profond de mon être : *merci*.

Merci pour votre amour, votre temps, vos paroles, votre foi en moi.

Cette thèse porte mon nom, mais elle est le résultat de toutes vos forces réunies.

Liste des figures

<i>Figure 1.1.3:</i> Schémas de la représentation tridimensionnelle de l'actine G montrant ses quatre sous-domaines structuraux	8
<i>Figure 1.2.1:</i> Graphique de comparaison des structures locales entre l'ADN et l'ARN, les deux types d'acides nucléiques	14
<i>Figure 1.2.2.1:</i> Schémas de la représentation d'un fragment d'ADN à double hélice avec le petit sillon et le grand sillon	17
<i>Figure 1.2.2.2:</i> Graphique des représentations de l'ADN A, B et Z	19
<i>Figure 1.3:</i> Illustration schématique des transitions conformationnelles successives d'une chaîne polypeptidique soumise à une force d'étirement.	24
<i>Figure 1.4.1:</i> Illustration du dépliage mécanique d'un polymère à l'aide d'un microscope à force atomique	27
<i>Figure 1.4.2:</i> Représentation schématique des techniques expérimentales de manipulation de mononucléosomes par pinces optiques et magnétiques	32
<i>Figure 3.2.1.a:</i> Illustration schématique de la représentation d'un poly-électrolyte de $A_4 R_q A_5 R_q A_4$ avec deux descripteurs de formes moléculaires	53
<i>Figure 3.2.1.b:</i> Illustration schématique de l'implémentation de la dynamique moléculaire douce pilotée (SSMD) à la molécule pentadécane avec l'application de force extérieure à deux endroits.	54
<i>Figure 3.2.1.c:</i> Schéma pour l'application de la SSMD à l'hélice- α A_{10}	55

<i>Figure 3.2.1.d</i> : Évolution de l'énergie potentielle au cours d'une trajectoire de dynamique moléculaire dirigée (SMD) du A ₁₀ .	57
<i>Figure 3.2.1.e</i> : L'altération de la distance bout à bout, r_{ee} , pour le squelette des A ₁₅ de carbonés- α a carbone- α est observée dans deux trajectoires de MD	58
<i>Figure 3.2.1.f</i> : La corrélation des longueurs des deux moitiés D ₁ et D ₂ de la hétéro-hélice A ₄ R _q A ₅ R _q A ₄ .	60
<i>Figure 3.2.2.a</i> : Évolution de la complexité d'enchevêtrement dans vingt trajectoires SSMD de décavaline (V ₁₀), avec le paramètre \bar{N}	63
<i>Figure 3.2.2.b</i> : Dynamique de la complexité d'enchevêtrement à partir de vingt trajectoires d'icosavaline (V ₂₀)	64
<i>Figure 3.3.a</i> : Évolution de \bar{N} pour une trajectoire représentative unique de toutes les séquences importantes de 10 résidus	69
<i>Figure 3.3.b</i> : Dynamique de la complexité d'entrelacement à partir de vingt trajectoires de décaméthionine (M ₁₀)	70
<i>Figure 3.3.c</i> : Variation de la complexité de l'intrication (mesurée en termes de nombre moyen de croisements \bar{N}) pour vingt trajectoires SSMD indépendantes de 10A (alanine)	71
<i>Figure 3.3.d</i> : Principales transitions de forme moléculaire observées au cours d'une trajectoire représentative SSMD pour la séquence 20A (composée uniquement d'alanines)	75
<i>Figure 3.3.e</i> : Principales transitions de forme moléculaire observées au cours d'une trajectoire SSMD représentative pour 20D (acide aspartique)	76

<i>Figure 4.1.1.a:</i> Dynamique des enchevêtrements relatifs de la chaîne au cours d'un ensemble de 20 trajectoires de dynamique moléculaire (MD) simulant le dépliement in vacuo du lysozyme neutre	85
<i>Figure 4.1.1.b:</i> Comparaison entre le lysozyme neutre et le cytochrome c ₀ neutre dans des conditions favorisant le dépliement « centrifuge »	86
<i>Figure 4.1.1.c:</i> Conformation d'une chaîne de polyéthylène (C ₆₀ H ₁₂₂) dans une boucle trèfle transitoire	90
<i>Figure 4.1.1.d:</i> Sélection d'instantanés extraits d'une trajectoire de dynamique moléculaire sous étirement avec changements qualitatifs de la forme et al position d'un nœud	91
<i>Figure 4.1.1.e:</i> Évolution du ratio de taille $\rho = R/R_g$ le long de la trajectoire correspondant aux instantanés présentés dans la <i>Figure 4.1.1.d</i>	92
<i>Figure 4.1.1.f:</i> Évolution du nombre de croisements \bar{N} le long d'une trajectoire présentant des phénomènes de quasi-dénoeudage, de déplacement et de resserrement du nœud	93
<i>Figure 4.1.2.1:</i> Structures moyennes issues des simulations de dynamique moléculaire (MD) montrant une augmentation de la formation de défauts avec le degré de superenroulement	101
<i>Figure 4.1.2.2:</i> Cette image présente des observations de microscopie à force atomique (AFM) sur de l'ADN circulaire naturellement superenroulé	102
<i>Figure 4.1.2.3:</i> Rayon de giration (R_g) et enroulement (<i>Writhe</i>) selon le degré de superenroulement	103

Liste des abréviations

- Alanine (A) ou (Ala)
- Å (Ångström)
- Arginine (R) ou (Arg)
- Arginine neutre (R, non protonée)
- Arginine chargée (R_q protonée)
- carbone central (C α)
- femtosecondes (fs)
- Microscopie à force atomique (AFM)
- Dynamique moléculaire (MD), « *Molecular dynamics* »
- nanoseconde (ns)
- picoseconde (ps)
- picoNewtons (pN)
- Dynamique moléculaire dirigée (SMD), « *Soft molecular dynamics* »
- Dynamique moléculaire dirigée doucement (SSMD), « *Soft-steered molecular dynamics* »
- ϕ (phi), angle d'abscisse de Ramachandran
- ψ (psi), angle d'ordonnée de Ramachandran
- Acide désoxyribonucléique de brin simple ou monocaténaire (ssDNA), « *single stranded DNA* »
- Acide désoxyribonucléique de brin double ou bicaténaire (dsDNA), « *double stranded DNA* »
- Acide désoxyribonucléique circulaire (cDNA), « *circular DNA* »
- Chaîne élastique vermiforme (WLC), « *wormlike chain* »
- Chaîne élastique vermiforme tordue (TWLC), « *twistable wormlike chain* »

TABLE DES MATIÈRES

Chapitre 0. Sommaire de l’histoire du sujet et des objectifs de cette revue critique.....	xvii
--	------

Chapitre 1. Introduction générale

1.1.1. Structure et conformations naturelles des protéines et polypeptides.....	1
1.1.2. Feuilletts β (parallèles et anti-parallèles)	3
1.1.3. Boucles β	5
1.1.4. Domaines de protéines.....	9
1.2. Aperçu sur les acides nucléiques et leur stabilité.....	11
1.2.1. Organisation locale.....	11
1.2.2. Organisation conformationnelle à grande échelle.....	15
1.2.2.1. Conformations de l’ADN : topographie, stabilité et interactions fonctionnelles.....	15
1.2.2.2. Diversité structurale des acides nucléiques : formes A, Z et structures secondaires.....	18
1.3. Transitions de dépliement et dépliement.....	20
1.4. Techniques expérimentales de déformations par forces externes.....	25
1.4.1. Microscopie à force atomique (AFM).....	25
1.4.2. Pinces optiques.....	29
1.4.3. Pinces magnétiques.....	31

Chapitre 2. Simulations de déformation des protéines

2.1. Méthodes de simulation pour étudier les déformations moléculaires....	33
2.2. Aperçu des techniques théoriques utilisées : dynamique moléculaire et autres méthodes de simulation computationnelle pour l'étirement des protéines.....	39

Chapitre 3. Dynamique moléculaire pilotée doucement

3.1. Présentation de la dynamique moléculaire pilotée doucement (soft-steered molecular dynamics, SSMD)	43
3.2. Cas d'études et exemples de simulations.....	50
3.2.1. Simulations sur transitions en peptides.....	50
3.2.2. Simulations sur transitions en protéines à domaines multiples.....	61
3.3. Facteurs influençant la déformation : nature de l'acide aminé, implications pour la structure et fonctions des protéines.....	66
3.4. Critique des limitations des techniques.....	77

Chapitre 4. Types de déformations observées dans les acides nucléiques

4.1. Résultats expérimentales et théoriques : différents types de déformation.....	80
4.1.1. ADN linéaire : monocaténaire et bicaténaire.....	80
4.1.2. ADN circulaire.....	96

4.2.	Facteurs influençant la déformation des acides nucléiques.....	107
4.2.1.	Composition en bases et stabilité interne.....	107
4.2.2.	Effets du milieu ionique et pH.....	110
4.2.3.	Température et transitions thermiques.....	111
4.2.4.	Contraintes mécaniques : traction et torsion.....	112
4.2.5.	Topologie moléculaire et circularité.....	114
4.2.6.	Interactions hydrophobes et hydratation.....	115
4.3.	Aspects de recherche que demeurent incomplets.....	116

Chapitre 5. Conclusion et directions futures

5.1.	Implication de la dynamique moléculaire pour la compréhension des mécanismes de dépliage de biopolymères.....	119
5.2.	Perspectives des travaux futurs et expériences proposées dans ce domaine.....	124
	Références.....	128

Préface

Depuis les premières découvertes sur la structure des macromolécules biologiques, les scientifiques se sont toujours posés des questions à la manière dont ces structures changent, évoluent ou se déplient en fonction de leur environnement. Parmi ces phénomènes, les transitions conformationnelles provoquées par des forces externes se démarquent comme un domaine fascinant et en constante évolution. De ce fait, si les premières études se sont principalement concentrées sur les effets de la température ou du pH, ce n'est qu'à partir des années 1980, avec l'émergence de techniques comme la microscopie à force atomique (AFM), que l'on peut véritablement commencer à explorer l'impact direct des forces mécaniques sur les biomolécules [Binning et Quate, 1986].

Cette mesure au croisement de la physique, de la chimie et de la biologie, a permis de mieux comprendre comment des protéines et des acides nucléiques réagissent lorsqu'ils sont tirés, comprimés ou étirés. Ces perturbations ne sont pas une curiosité laboratoire puisqu'il s'agit là des mécanismes réels du vivant même, comme par exemple, la défense contre le stress cellulaire, la modulation du repliement des protéines, ou encore la formation des chromosomes au moment de la division de la cellule.

Aujourd'hui, grâce aux simulations numériques de plus en plus avancées, il est possible de modéliser ces transitions à l'échelle atomique et de prédire le

comportement de structures complexes dans des conditions extrêmes. Ce champ de recherche soulève encore de nombreuses questions, par exemple :

- (i) Quels sont les déterminants moléculaires de la résistance mécanique ?
- (ii) Est-il possible de transposer les propres principes qu'ont les protéines vers les acides nucléiques ?

Ce travail s'inscrit dans cet esprit, en proposant une réflexion critique sur les méthodes existantes et les connaissances actuelles, tout en ouvrant la voie à de nouvelles pistes de recherche.

Chapitre 0.

Au cours des vingt dernières années, l'étude des transitions conformationnelles des biopolymères sous l'effet de forces externes est un domaine interdisciplinaire qui a connu une révolution remarquable. Initialement basée sur les mécanismes de repliement actif de protéines et d'acide nucléiques, le travail s'est ensuite complexifié et s'est fait au plus près avec le développement de nouvelles technologies permettant d'accélérer le processus de repliement et de dépliement puis l'analyse des réponses mécaniques de toutes les molécules. L'application de techniques telles que la microscopie de force atomique (AFM) ou du type de pinces optiques a fait comprendre qu'incontestablement, ces structures biologiques peuvent séquencer leur pliage, se dérouler et se retrancher dans le respect des contraintes en vigueur. Leur approche a introduit une nouvelle dimension, basée sur les simulations computationnelles pour comprendre la stabilité et la flexibilité des macromolécules.

L'objectif de cette revue critique est d'examiner les mécanismes de dépliement induits mécaniquement dans les biopolymères, en mettant particulièrement l'accent sur les protéines et les acides nucléiques. À travers l'analyse des données expérimentales et des simulations théoriques, cette revue a pour but d'identifier les paramètres déterminants de la stabilité mécanique, les types de déformations observées, ainsi que les limites des approches actuelles.

(Il faut préciser que, dans ce travail, nous discutons la littérature associée aux changements conformationnels induits par l'action de forces d'étirement ou de torsion appliquées *en un ou deux points* d'une chaîne polymère. Il y a d'autres types de transitions conformationnelles causées par des forces externes agissant *globalement* sur la chaîne, ou au moins *sur plus de deux points*. C'est le cas, par exemple, des changements de configurations polymériques causés par le confinement extrême dû au transport ou la translocation d'une chaîne dans un nanopore ou un canal microfluidique [*p.ex.*, Han *et al.*, 1999 ; Viovy, 2000 ; Deamer & Branton, 2002 ; Stein *et al.*, 2006 ; Wong & Muthukumar, 2008]. Ces phénomènes, généralement induits par la pression exercée sur un polymère fondu (« *polymer melt* », en anglais) ou par un champ électrique intense lors de l'électrophorèse sur gel d'un polyélectrolyte, ne sont *pas* abordés dans ce travail.)

Un autre objectif majeur est de questionner dans quelle mesure les modèles développés depuis ces dernières années pour les protéines peuvent être transposés aux acides nucléiques, et aussi d'évaluer la pertinence des méthodes computationnelles dans la prédiction de ces phénomènes.

Le Chapitre 1 place les prérequis à la maîtrise des transitions conformationnelles aux biopolymères. Premièrement, il présente les structures secondaires et tertiaires typiques des protéines, notamment les feuillets- β parallèles et antiparallèles, les boucles β et les domaines protéiques. Ainsi, nous

discutons succinctement l'organisation locale des acides nucléiques (comme les appariements de bases) et leur structure à grande échelle (hélices, superenroulements, etc.). Enfin, ce travail contient un résumé des transitions de dépliements observées sous une pression mécanique, et examine aussi les techniques expérimentales permettant d'étudier ces déformations, jetant ainsi les fondations du reste de la revue.

Le chapitre 2 porte sur les méthodes numériques permettant de simuler les déformations moléculaires en faisant une particularisation sur les protéines. Il présente un ensemble de méthodes de simulation dans lesquelles l'on poursuit l'examen de comment les biomolécules exercent leurs fonctions, en particulier dans de nombreuses dynamiques moléculaires classiques et dans d'autres approches computationnelles. Au cours de ce chapitre nous ne montrons pas seulement la possibilité de ces instruments d'espacer ou de réaliser la chaîne principale du biopolymère dans les réponses structurelles causées les forces externes, mais nous évoquons également où se trouvent les mesures de prédiction applicables à la question de l'échelle de temps et des conditions de simulations.

Le Chapitre 3 concerne la dynamique moléculaire pilotée (en anglais, « *steered molecular dynamics* », SMD), un processus particulièrement qui permet de simuler l'application relaxée de forces mécaniques sur des molécules. Ce chapitre aborde des critères fondamentaux qui expliquent la réponse mécanique,

entre autres la nature de l'acide aminé et l'architecture des structures. Ce dernier dénonce notamment les limites de la méthode, en particulier en ce qui concerne la mesure représentative des vitesses de traction requises par les simulations par rapport aux conditions expérimentales réelles.

Le chapitre 4 rentre dans le vif du sujet. Il parle exclusivement que d'acides nucléiques et plus particulièrement même de divers types de déformations qu'eux subissent dans certaines catégories en réponse à forces mécaniques. Il définit les comportements de l'ADN linéaire simplifié et double brin comme ceux de l'ADN circulaire en s'appuyant à la fois sur des résultats de travaux expérimentaux et des simulations théoriques. Il analyse et explique à la fois les facteurs influençant leur stabilité mécanique, comme la topologie, les séquences riches en guanine-cytosine (GC) ou les interactions électrostatiques. Cela fait que le chapitre met en relief la frontière courante de ces champs de recherche, notamment la compréhension fine des mécanismes à l'échelle atomique et leur dépendance aux conditions environnementales.

Enfin, le chapitre 5 propose une synthèse des enseignements tirés des chapitres précédents, ce qui permet d'exposer les besoins des études futures. Il va dans le sens qui touche à la valeur des simulations de dynamique moléculaire lorsqu'il traite la découverte de mécanismes de dépliement des biopolymères, et aborde les points encore controversés dans la littérature, comme la transférabilité

des modèles entre protéines et acides nucléiques. Il offre également des pistes pour les recherches futures en touchant le développement de technique expérimentales et théoriques, avec l'objectif de raffiner les modèles existants et de mieux connecter les résultats obtenus à l'échelle moléculaire aux fonctions biologiques globales.

Chapitre 1 : Introduction générale

1.1.1. Structure et conformations naturelles des protéines et polypeptides

Les protéines sont des macromolécules impliquées dans les fonctions biologiques, composées de 20 types d'acides aminés L- α formant des hétéropolymères. Ces acides aminés sont reliés par des liaisons covalentes, qui déterminent les caractéristiques structurelles et fonctionnelles des protéines. La structure et la fonction des protéines dépendent fortement des propriétés chimiques et topologiques de la chaîne polypeptidique, qui est déterminée par la séquence et la conformation tridimensionnelle de la protéine [Brändén & Tooze, 1999 ; Petsko & Ringe, 2003 ; Nelson & Cox, 2008 ; Alberts *et al.*, 2008]. Il est à noter que, bien que la sélénocystéine soit un acide aminé rare, elle est généralement exclue des vingt acides aminés naturels [Arteca et Li, 2004 ; Li et Arteca, 2005].

La structure des protéines est hiérarchique : elle est constituée de quatre niveaux, appelés primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire [Brändén & Tooze, 1999 ; Petsko & Ringe, 2003]. La structure primaire est la séquence linéaire d'acides aminés, la secondaire est composée d'hélice- α , de β -feuilletts et de

boucles β , la tertiaire est formée par les interactions à longue portée dans la chaîne polypeptidique, et la quaternaire concerne l'agrégation de nombreuses sous-unités. Chaque acide aminé possède un carbone central ($C\alpha$) lié à un atome d'hydrogène, un groupe aminé ($-NH_2$), un groupe carboxylique ($-COOH$) et une chaîne latérale qui diffère de l'un à l'autre. Ces chaînes latérales sont essentielles, car elles sont responsables des caractéristiques spécifiques de chaque acide aminé. Elles divisent les acides aminés en trois catégories : polaires chargés, polaires non chargés et non polaires. Les acides aminés sont liés par des réactions de condensation formant la liaison peptidique (C-N), colonne vertébrale de la protéine. La conformation de chaque résidu dépend des angles de Ramachandran (φ et ψ), qui représentent la rotation autour des liaisons $C\alpha-C$ et $N-C\alpha$ [Ramachandran *et al.*, 1963 ; Brändén & Tooze, 1999].

1.1.2. Feuillet- β (parallèles et anti-parallèles)

Les unités les plus importantes sont l'hélice- α et les feuillet- β , qui sont responsables de la configuration native tridimensionnelle et stabilisée de la protéine. L'hélice- α a été décrite pour la première fois par Linus Pauling et ses collègues comme généralement composée de 3,6 résidus par tour et est étroitement enroulée dans une structure droite, avec 5,4 Å dans une hélice géométrique le long de l'axe de l'hélice. Les liaisons hydrogènes entre le groupe carbonyle (CO) d'un acide aminé et le groupe NH en aval (également décrites par le symbole $n+4$) stabilisent l'hélice. Cette règle $n+4$, essentielle pour maintenir la cohésion de la structure, n'existe pas aux extrémités de l'hélice où les liaisons hydrogène ne sont pas formées. Dans une protéine typique, un hélice- α contient environ 10 résidus [Pauling, Corey, & Branson, 1951 ; Nelson & Cox, 2008].

Le deuxième constituant principal de la structure secondaire est les feuillet- β . Ils sont composés de brins- β , qui sont des brins presque entièrement étendus, alignés avec les brins voisins à travers les chaînes pour permettre des liaisons hydrogènes entre les groupes CO et NH des chaînes voisines [Pauling & Corey, 1951 ; Brändén & Tooze, 1999 ; Nelson & Cox, 2008]. Ces brins forment une structure pliée où les atomes de carbone α se trouvent alternativement au-dessus et au-dessous du plan des feuillet, et les chaînes latérales pointent également dans les deux directions. Les feuillet- β peuvent être parallèles,

lorsque les brins voisins croissent dans la même direction, ou antiparallèles, lorsqu'ils croissent dans des directions opposées. La configuration de ces résidus contient un ensemble spécial d'angles connus sous le nom d'angles de Ramachandran : pour l'hélice- α , les angles φ et ψ sont de l'ordre de -60° et -50° , et pour les brins- β de l'ordre de -120° et 115° pour les configurations parallèles, et de -140° et 135° pour les configurations antiparallèles [Ramachandran *et al.*, 1963 ; Creighton, 1993].

1.1.3. Les boucles β

La structure tertiaire fait référence à l'arrangement tridimensionnel d'une chaîne polypeptidique unique qui est maintenue par un certain nombre d'interactions, notamment les liaisons hydrophobes, les liaisons hydrogènes, les liaisons ioniques et les liaisons disulfures [Brändén & Tooze, 1999 ; Nelson & Cox, 2008 ; Alberts *et al.*, 2008]. Les interactions hydrophobes sont une caractéristique majeure de la structure de la protéine qui lui permet de se replier sur elle-même, créant ainsi une structure compacte (globulaire). Les liaisons hydrogènes, bien qu'elles soutiennent la structure secondaire de la protéine sous la forme de l'hélice- α et du feuillet- β , sont nécessaires à la structure tertiaire en reliant les éléments de la structure secondaire les uns aux autres.

Des liaisons ioniques sont formées entre des résidus de charge opposée, tandis que des liaisons disulfures -S-S covalentes formées entre deux thiols oxydés -SH de la chaîne latérale de la cystéine relient les atomes de soufre en un pont qui stabilise également la structure. L'arrangement tridimensionnel d'une protéine est sa conformation la plus stable (ou dite « native »), et elle est en grande partie nécessaire à la fonction biologique de la protéine. Cependant, la protéine reste assez dynamique et flexible, ce qui lui permet de s'adapter et de répondre aux forces extérieures, ou des restrictions conformationnelles transitoires comme le passage d'une protéine à travers d'un canal de transport.

En prolongement de cette structure tridimensionnelle, la protéine peut alors être classé en domaines qui sont des organisations fonctionnelles et structurelles différenciées au sein la chaîne polypeptidique. Un domaine est une portion de la protéine pouvant se replier de manière relativement autonome dans une structure robuste et pourra bien évidemment exercer une fonction spécifique en dehors de son motif protéique résultant. Par exemple, certains types de domaines peuvent assurer la connexion à l'ADN tandis qu'en autres territoires peuvent assurer le fonctionnement enzymatique ou l'union membranaire. Toutes ces domaines font partie de la modularité des protéines, laquelle leurs donne l'amplitude d'une forme complète de multiples fonctions à travers une même molécule.

Dans ces domaines, on peut constater des sous-domaines, des sous-sections (parfois appelés « subsect » dans certains textes [Creighton, 1993 ; Richardson, 1981 ; Murzin *et al.*, 1995]) qui sont des segments plus raccourcis, souvent attribués par des arguments de structure ou de fonction spécifiques.

Les sous-domaines ne peuvent dans de nombreux cas se replier de façon indépendante, mais fournissent un apport crucial en ce qui concerne la stabilité du domaine ou des interactions spécifiques, comme sa reconnaissance moléculaire ou son réglage fin de la conformation. Par exemple, le domaine de liaison peut comprendre une sous-section hydrophobe stabilisant l'interaction avec un ligand [Chothia, 1976 ; Ptitsyn & Finkelstein, 1980 ; Creighton, 1993 ; Brändén & Tooze, 1999]. Toutefois, la compréhension de ce système

hiérarchique du repliement général vers les microstructures internes, est importante afin de saisir comment les protéines accomplissent leurs fonctions complexes tout en maintenant une certaine flexibilité structurale.

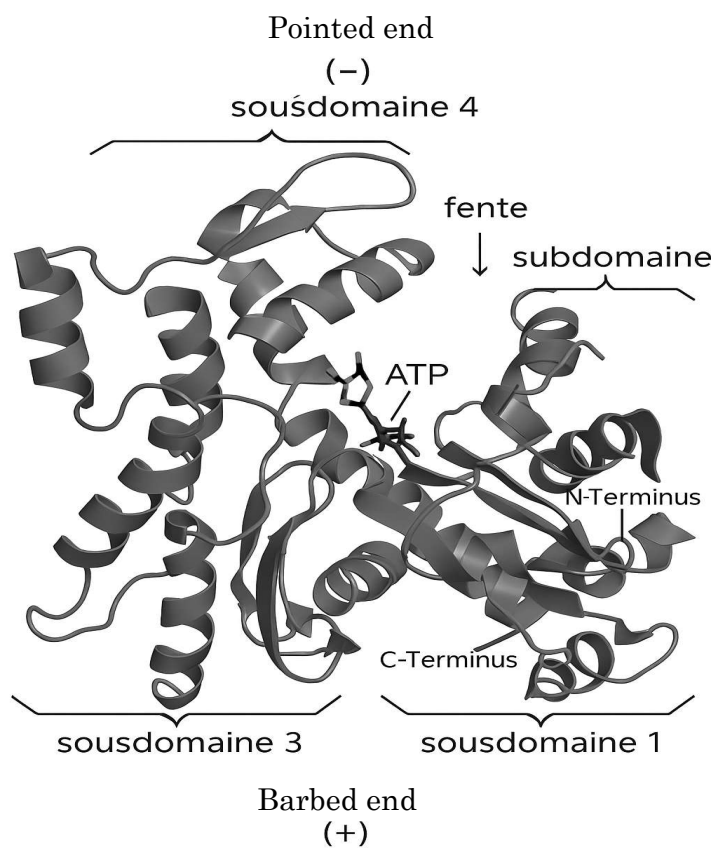


Figure 1.1.3: Graphique montre la représentation tridimensionnelle de l'actine G montrant ses quatre sous-domaines structuraux (subdomains 1 à 4), les extrémités N- et C-terminales, le site de liaison à l'ATP, ainsi que la fente séparant les domaines [Graceffa & Dominguez, 2003]. Les extrémités dites « barbelée » (*barbed*) et « pointue » (*pointed*) indiquent l'orientation fonctionnelle de la molécule d'actine au sein du filament. [Illustration générée par l'auteur à des fins pédagogiques.]

1.1.4. Domaines des protéines

De l'expérience au cours de la structure quaternaire des protéines s'est développée au fil des avancées dans les études cristallographiques, de résonance magnétique nucléaire (RMN) et en cryo-microscopie électronique [Blundell & Johnson, 1976 ; Brändén & Tooze, 1999 ; Cavanagh *et al.*, 2007].

En 1968, le modèle éprouvé dans les travaux de Perutz et Kendrew sur la myoglobine et l'hémoglobine laisse à l'évidence les possibilités de réassemblage simultané de plusieurs chaînes polypeptidiques pour construire un fonctionnel protéique complexe [Perutz & Kendrew, 1960]. Contre les structures primaires, secondaires ou tertiaires pour lesquelles se situe une seule chaîne, celle-ci ressort de l'interaction avec une certaine famille de sous-unités de la protéine souvent identiques ou homologues.

Ces associations sont intermédiaires ou permanentes, symétriques ou asymétriques, et sont essentielles généralement aux pratiques qui servent au régulateur allostérique, à la coopérativité fonctionnelle ou à la signalisation cellulaire [Goodsell & Olson, 2000]. Par exemple, l'activité enzymatique de nombreuses protéines ne devient pleinement efficace qu'une fois d'être assemblées en oligomères ou en complexes multi-protéiques [Creighton, 1993; Alberts *et al.*, 2008].

La structure quaternaire est le niveau le plus élevé de l'organisation des protéines. Elle fait référence à l'association de deux ou plusieurs chaînes polypeptidiques en une seule unité fonctionnelle. Les interactions inter-chaînes observées à ce niveau d'organisation sont très similaires à celles de la structure tertiaire (interactions hydrophobes, liaisons hydrogènes et ponts disulfures) ainsi que les interactions ioniques (ponts salins) entre acides aminés de charges opposées et les forces de van der Waals résultant des interactions entre atomes proches [Alberts *et al.*, 2002]. C'est au niveau de la structure quaternaire que se forment des complexes protéiques plus grands et fonctionnellement plus diversifiés, comme l'hémoglobine, une protéine composée de quatre sous-unités, et le collagène, une hélice triplet composée de chaînes polypeptidiques [Ouellette et Rawn, 2018]. Cette organisation multi-niveau des protéines, du secondaire au quaternaire, joue un rôle fondamental dans la stabilisation et la fonction de la protéine, vis-à-vis, plus tard dans cette revue, à la réponse des mécano-chimie des biopolymères.

1.2. Aperçu sur les acides nucléiques et leur stabilité

1.2.1. Organisation locale

Les acides nucléiques ont été découverts pour la première fois à la fin du XIXe siècle par Friedrich Miescher, mais leur rôle central dans l'hérédité n'a été pleinement démontré qu'au milieu du XXe siècle, notamment avec la découverte de la double hélice de l'ADN par Watson et Crick en 1953 [Watson & Crick, 1953]. Ces biomolécules assurent deux fonctions fondamentales : le stockage de l'information génétique dans l'ADN et sa transmission et expression via l'ARN. Les travailleurs suivants, y compris Chargaff, Franklin et Avery et leurs collaborateurs ont ouvert la toile sur la vie chimique, la structure en chaîne et la fonction codante de ces polymères [Avery *et al.*, 1944 ; Franklin & Gosling, 1953]. L'observation des acides nucléiques nous concerne aussi à présent, pour englober les propres propriétés mécaniques des biomolécules qui occupent des postes clés pour la biophysique et la biologie moléculaire.

Les acides nucléiques sont des biomolécules essentielles présentes dans tous les organismes vivants. Ils sont classés en deux catégories principales : l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'acide ribonucléique (ARN). La structure moléculaire de ces acides nucléiques est complexe et joue un rôle crucial dans le stockage et l'expression de l'information génétique. Chaque brin (ou chaîne)

d'acide nucléique, soit d'ADN ou d'ARN, est constitué d'une longue chaîne polymérique composée de nucléotides. Chaque nucléotide est composé de trois unités : un groupe phosphate, un sucre cinq carbonés (désoxyribose dans l'ADN et ribose dans l'ARN) et une base azotée. Les nucléotides sont connectés les uns aux autres par des liaisons phosphodiester C-O-PO₂-O-C, des liaisons spécifiques reliant un phosphate au sucre du nucléotide adjacent. Cette organisation crée une structure de brin qui suit une orientation chimique bien définie : le phosphate se fixe au carbone 3 du sucre d'un nucléotide et au carbone 5 du sucre du nucléotide suivant, imposant ainsi une orientation intrinsèque 5'-3' aux brins d'acides nucléiques [Sinden, 1994 ; Ussery, 2002 ; Ghosh & Bansal, 2003].

Les bases azotées sont l'une des caractéristiques des éléments constitutifs des acides nucléiques. Il existe cinq types de bases azotées : l'adénine (A), la guanine (G), la cytosine (C), la thymine (T) et l'uracile (U). Les bases azotées sont regroupées en deux catégories : les purines (A et G), avec deux cycles aromatiques, et les pyrimidines (C, T et U), avec un seul cycle aromatique. Les bases de l'ADN sont l'adénine, la guanine, la cytosine et la thymine, tandis que l'ARN contient l'uracile au lieu de la thymine. L'appariement des bases est une caractéristique essentielle de la structure des acides nucléiques. Dans l'ADN, les bases sont appariées par des liaisons hydrogènes spécifiques et comprennent trois paires classiques de Watson-Crick : A-T (2 liaisons hydrogènes), G-C (3 liaisons hydrogènes), et A-U (2 liaisons hydrogènes). Ces appariements sont

stables uniquement lorsque les deux nucléotides sont orientés de manière antiparallèle.

Une autre paire, moins fréquente, est G-U (2 liaisons hydrogènes), également antiparallèle. Dans l'ARN, l'adénine s'apparie à l'uracile par deux liaisons hydrogènes. En outre, l'ARN peut former des paires inhabituelles telles que la paire guanine-uracile (G-U) qui est stabilisée par deux liaisons hydrogènes et que l'on trouve principalement dans les structures secondaires et tertiaires de l'ARN. Les deux brins d'ADN sont disposés en une double hélice antiparallèle, chaque brin étant orienté dans une direction (5'-3' et 3'-5'), l'extrémité 5' étant placée à l'extérieur de l'hélice. Cette disposition antiparallèle de l'hélice d'ADN est essentielle à la formation de liaisons hydrogènes entre les bases, et l'appariement complémentaire est nécessaire à la stabilisation de la double hélice [Ussery, 2002 ; Ghosh & Bansal, 2003].

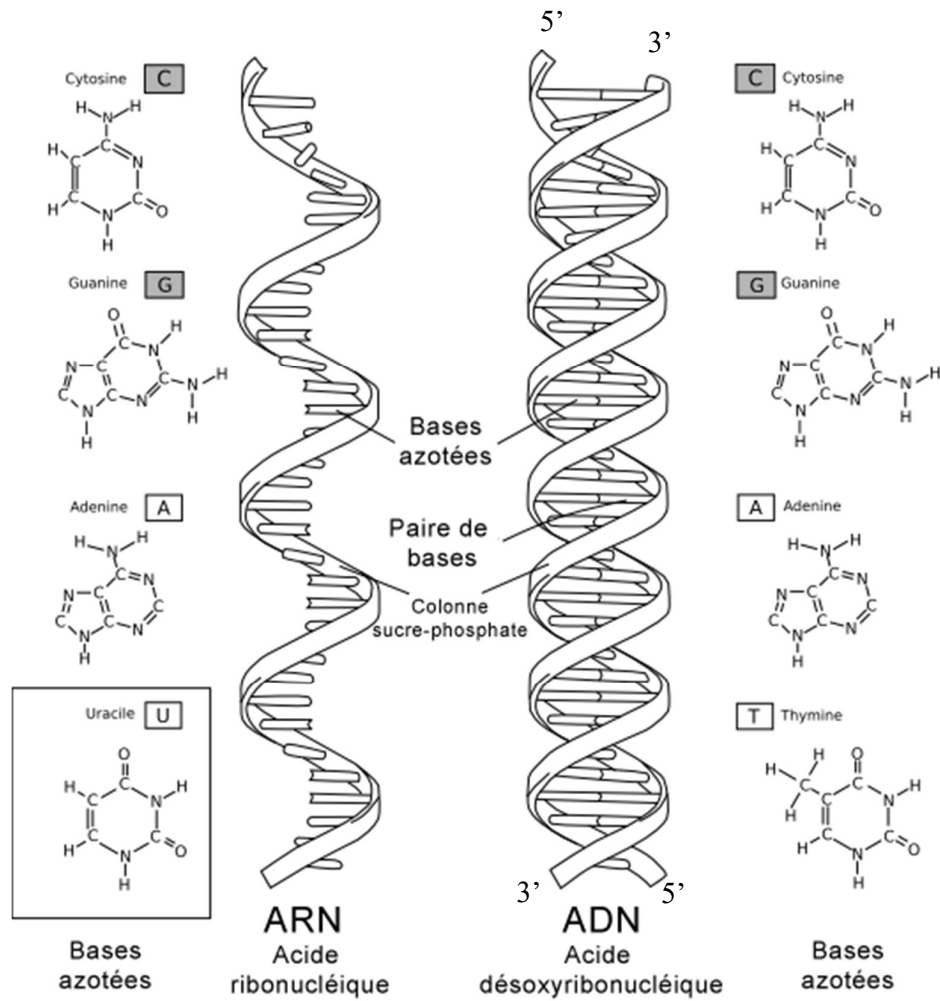


Figure 1.2.1: Ce graphique représente la comparaison des structures locales entre l'ADN et l'ARN, les deux types d'acides nucléiques. Les bases azotées intervenant dans leur composition respective sont représentées de part et d'autre [Sinden, 1994 ; Ghosh & Bansal, 2003]. À plus grande échelle, les acides nucléiques peuvent apparaître en conformations différentes (voir section suivante).

1.2.2. Organisation conformationnelle à grande échelle

1.2.2.1. Conformations de l'ADN : topographie, stabilité et interactions fonctionnelles

La structure tridimensionnelle des acides nucléiques, en particulier de l'ADN et de l'ARN, joue un rôle central dans leurs fonctions biologiques. La topographie locale spatiale des paires de bases, la réalité globale de l'hélice et les interactions avec les protéines ou d'autres macromolécules affectent directement des processus essentiels de la cellule : la transcription, la réplication et la régulation génétique.

La double hélice de l'ADN bien que très représentative, n'est pas rigide : le fait que la double hélice de l'ADN adopte certaines formes tout à fait dépend des conditions physico-chimiques de son environnement (hydratation, ions, pH, force mécanique), et ces variations ont un impact direct sur l'accessibilité et la dynamique de l'information génétique.

Les enchaînements successifs de paires de bases dans l'ADN s'organisent en une double hélice assez robuste, où chaque segment de cette structure est constitué de deux paires de bases adjacentes. Ce segment sert d'unité fondamentale de la double hélice. L'ADN se présente dans une conformation de type B (conformation la plus fréquente considérée dans les conditions

physiologiques), avec environ 10 paires par tour d'hélice correspondant à une distance de 3.4nm et un diamètre d'hélice d'environ 20Å. Cette conformation est caractérisée par le fait que les planes des couples de bases parallèles sont presque perpendiculaires à l'axe central de la double hélice, inscrit dans l'espace, ce qui confère une stabilité structurelle. L'ADN se présente dans la configuration de double hélice avec l'apparition de deux espaces. Les deux espaces situés entre les brins de la double-hélice sont désignés sous le nom de sillon mineur et sillon majeur, cette appellation est donnée en raison de la différence de largeur entre ces deux régions. Cette différence dans les dimensions des deux sillons est un facteur décisif dans l'interaction de l'ADN avec une protéine et d'autres molécules modulatrices, influençant ainsi les phases de processus de transcription, de réplication et de réparation de l'ADN [Sinden, 1994 ; Ghosh & Bansal, 2003].

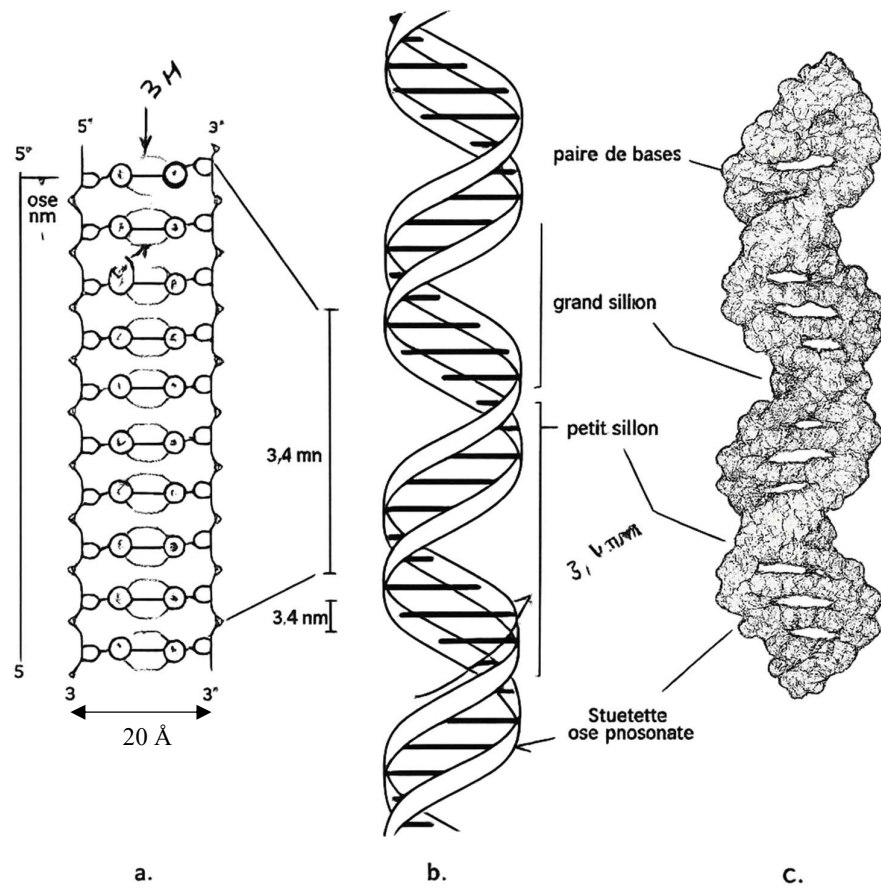


Figure 1.2.2.1 : Cette figure montre la représentation d'un fragment d'ADN à double hélice avec le petit sillon et le grand sillon ; à gauche (a et b), avec les plateaux de bases et à droite (c) les atomes sont représentés avec leurs rayons de van der Waals. [Petit & Julien, 2007]

1.2.2.2. Diversité structurale des acides nucléiques : formes A, Z et structures secondaires

L'ADN peut même prendre d'autres conformations secondaires. La conformation A, moins rigide et la plus déshydratée, apparaît dans les conditions moins humides ou dans des duplex ARN-ADN hybrides. En revanche, la conformation Z est une hélice gauche, laquelle est adoptée par certaines séquences fortement assorties d'GC sous tension torsionnelle. La conformation Z est impliquée dans les décisions épigénétiques ou les états de transition structurelle [Ussery, 2002 ; Ghosh & Bansal, 2003 ; Ray *et al.*, 2013].

Autant le fait que, même si l'ARN n'est toujours pas simple brin, elle peut créer des régions double brin localisées qui acceptent la conformation A, moins longue et plus large que la forme B de l'ADN (lorsqu'on compare le même nombre de nucléotides). Des conformations non-classiques telles que les structures en épingle de cheveux, en triplex, de zebra-type ARN ou les ARN circulaires, se révèle dans des aspects fonctionnels, et, notamment, dans les ARN régulateurs ou catalytiques. Ces couplages délivrent un effet global à la reconnaissance moléculaire, à la stabilité thermodynamique et à la réactivité chimique des acides nucléiques [Ussery, 2002 ; Ghosh & Bansal, 2003].

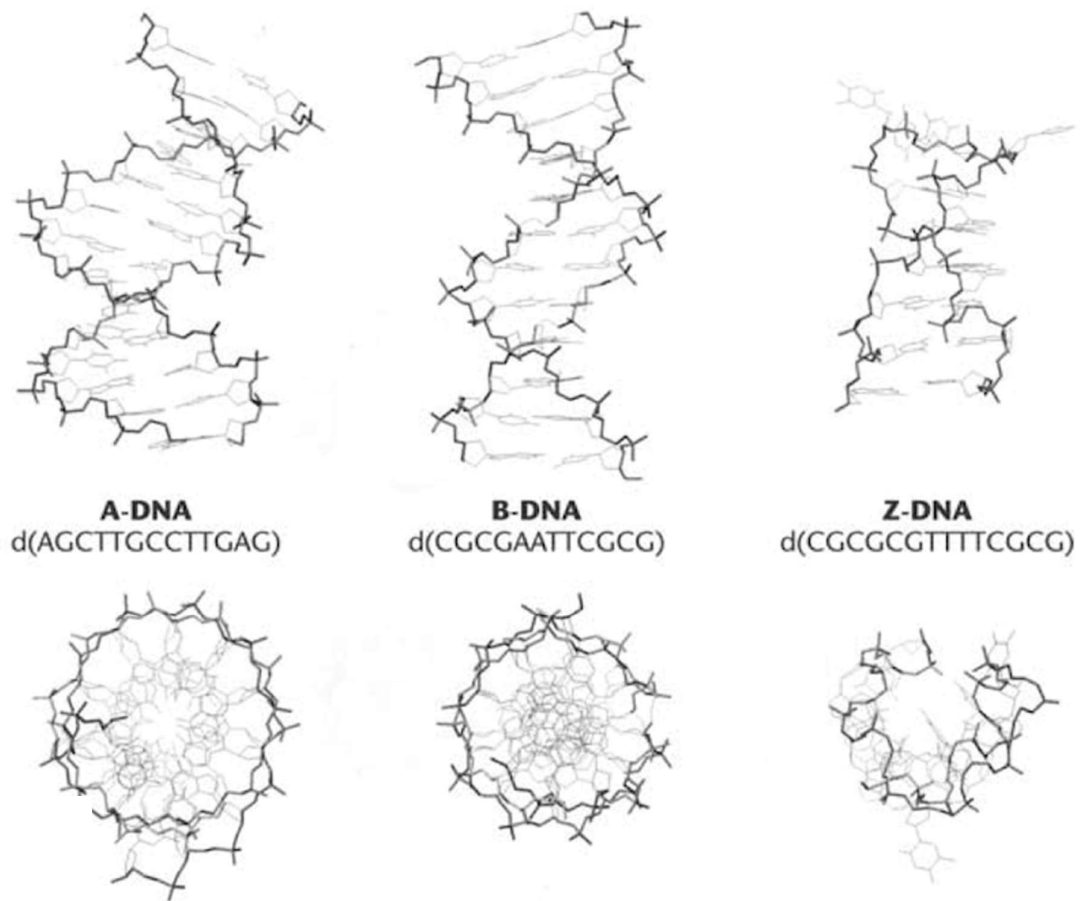


Figure 1.2.2.2 : Ce graphique montre les représentations ADN A, B et Z, vus du côté de l'hélice (en haut) et de l'axe de l'hélice (en bas). Les structures ont été dessinées à partir des structures cristallines, à l'aide du programme Cn3D, disponible sur la page d'accueil du NCBI. [Ussery 2002] (Illustration générée par l'auteur à des fins pédagogiques.)

1.3. Transitions de pliage et dépliement

Les macromolécules biophysiques, comme les protéines et les acides nucléiques, présentent des structures tridimensionnelles complexes stabilisées par un équilibre d'interactions non covalentes. Sous l'effet d'une force mécanique externe, comme celles appliquées par des pinces optiques, des AFM (microscopies à force atomique), ou simulées par dynamique moléculaire pilotée, ces structures peuvent subir des transitions de conformation vers des structures qui sont partiellement ou totalement dépliées.

Dans les systèmes moléculaires, les degrés de liberté désignent le nombre de façons dont une molécule peut se déplacer, vibrer et tourner. L'étirement mécanique et le déroulement coulombien sont deux façons différentes de dépliage polymérique, chacune caractérisée par des chemins spéciaux qui combinent ces degrés de liberté de façon distincte [Alberts *et al.*, 2002].

En effet, le dépliement mécanique consiste à perturber l'organisation structurale native par application d'une contrainte, permettant d'observer les étapes intermédiaires et la hiérarchie de stabilité des éléments structuraux. L'étirement mécanique est un type de transformation conformationnelle causée par l'étirement ou la compression d'au moins une liaison moléculaire, ce qui peut entraîner des modifications de la géométrie de la molécule. L'étirement peut activer d'autres degrés de liberté, comme les mouvements de flexion et de torsion

(ou “rotation interne”), qui lui sont couplés [Marenduzzo *et al.*, 2003 ; Arteca, 2003, 2004, 2005, 2007 ; Arteca & Li, 2004 ; Li & Arteca, 2005].

Le déroulement coulombien est un type de changement conformationnel causé par les interactions coulombiennes entre les atomes chargés d’une protéine (par répulsion ou attraction.) Cela conduit à l’activation d’autres degrés de liberté, en particulier aux changements des angles diédriques de Ramachandran [Arteca & Li, 2004].

Avec l’application d’une force externe, l’une des premières transitions observées dans les hélices- α est leur conversion en structures 3_{10} -hélicoïdales, un motif plus étroit et allongé qui apparaît temporairement sous contrainte [Schwaiger *et al.*, 2011]. L’hélice- 3_{10} est soutenue par des liaisons hydrogènes $i \rightarrow i+3$, contrairement à l’hélice- α où elles sont du type $i \rightarrow i+4$. Elle est traditionnellement comprise comme une transition géométrique qui lie la structure hélicoïdale native et un état déplié. Il est considéré comme un intermédiaire métastable. Il importe beaucoup dans les modèles de réponse mécanique des protéines, et sa présence est bien décrite dans des simulations de dynamique moléculaire, en particulier dans des peptides étirés de façon uniaxiale [Armen *et al.*, 2003].

À mesure que la force imposée aux structures secondaires augmente, elles peuvent s’effondrer totalement, donnant lieu à une conformation étirée

quasi-linéaire, parfois décrite comme une "baguette rigide" (rod-like conformation). Cet arrangement est considéré comme un état de haute énergie, dans lequel les résidus sont alignés selon l'axe de la traction, avec peu ou pas d'interactions intramoléculaires restantes. Ces états sont essentiels pour déterminer la dépense de rupture des liaisons sous-jacentes, à voir la stabilité mécanique propre de segments protéiques ou d'acides nucléiques.

En parallèle, on observe parfois des transitions vers des conformations bidimensionnelles (2D), où les chaînes adoptent temporairement des formes en feuillets, rubans, ou spirales aplaties avant de se dérouler complètement. Ces états intermédiaires peuvent être stabilisés par des interactions transitoires entre résidus éloignés dans la séquence mais rapprochés spatialement par la déformation. De telles transitions sont d'un grand intérêt dans la compréhension des processus de désassemblage mécanique et pour le design de biopolymères synthétiques [Yang *et al.*, 2025].

Ces structures bidimensionnelles intermédiaires sont souvent observées dans les simulations de peptides ou protéines soumises à des forces d'étirement constantes ou progressives. Par exemple, des feuillets- β transitoires peuvent émerger lors du dépliement de domaines riches en hélices- α , soulignant une réorganisation locale du squelette peptidique sous tension. Ces réarrangements sont guidés par la plasticité conformationnelle de la chaîne et la redistribution des liaisons hydrogène intramoléculaires. Dans certains cas, ces structures 2D

agissent comme des "tampons énergétiques", ralentissant le dépliement complet et prolongeant la stabilité mécanique de la macromolécule [Auer & Kashchiev, 2010].

Néanmoins, ces transitions conformationnelles ne suivent pas toujours un mécanisme unique ou linéaire : (i) elles peuvent être coopératives, lorsqu'un segment entier ou plusieurs domaines se déplient presque complètement en une seule étape, allant tout au long sur un seuil, ou (ii) séquentielles, lorsque la déformation progresse résidu par résidu ou domaine par domaine, allant à vitesse ascendante.

Le mode de dépliement va plus loin que la connectivité de la séquence (ce qu'on appelle, informellement la « topologie » de la macromolécule). Il faut noter aussi la distribution des interactions stabilisante et les conditions expérimentales s'étendent telles que la vitesse d'étirement, température, milieu, etc. Cet influx multiforme soulève l'importance de modélisations précises et de descriptions énergétiques fines dans les études théoriques modernes.

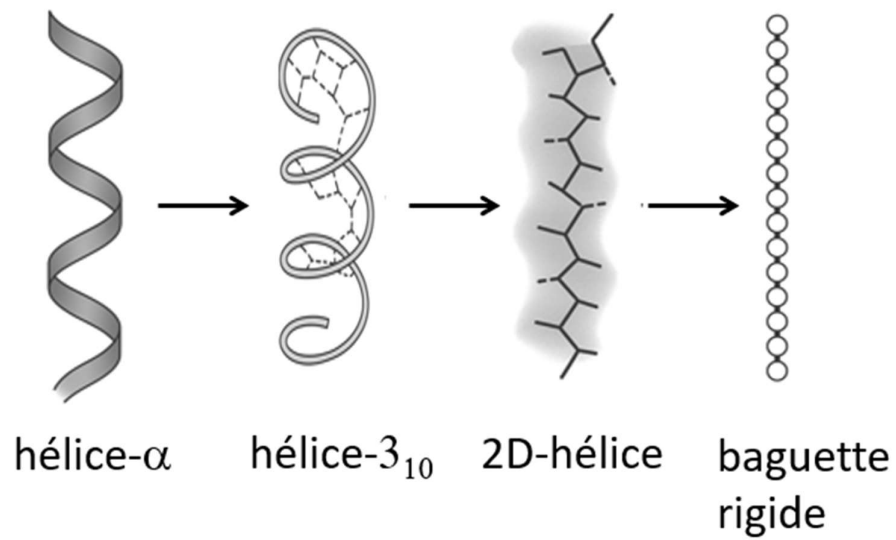


Figure 1.3 : Illustration schématique des transitions conformationnelles successives d'une chaîne polypeptidique soumise à une force d'étirement. De gauche à droite : hélice- α (structure native), hélice 3₁₀ (état intermédiaire tendu), conformation bidimensionnelle transitoire (en ruban ou feuillets partiellement stabilisés), et baguette rigide (état complètement étiré). Ces transitions reflètent les étapes typiques du dépliement mécanique observées dans les polypeptides sous force externe [Arteca, 2003 ; Arteca & Fall, 2023].

1.4. Techniques expérimentales de déformations par forces externes

1.4.1. Microscopie à force atomique (AFM)

Le dépliage mécanique des biopolymères désigne le processus consistant à appliquer une force mécanique pour étirer la chaîne d'un biopolymère jusqu'à ce qu'elle se déplie (c'est-à-dire, elle commence à perdre sa structure tertiaire). Ce processus a été étudié à l'aide de techniques de manipulation d'une seule molécule à la fois, telles que la microscopie à force atomique (AFM) [Binning *et al.* 1986 ; Rief *et al.* 1997, 1998, 1999, Oberhauser *et al.* 1998 ; Carrión-Vázquez *et al.*, 1999 ; Fisher *et al.*, 2000 ; Ptak *et al.*, 2001 ; Li *et al.*, 2002 ; Fernandez *et al.*, 2004], les pinces optiques [Ashkin *et al.*, 1987 ; Kellermayer *et al.*, 1997 ; Mehta *et al.*, 1999] ou magnétiques [Wirtz, 1995 ; Strick *et al.*, 1996 ; Baush *et al.*, 1999 ; Sacconi *et al.*, 2001], et des surfaces de microfibres de verre [Cluzel *et al.*, 1996].

Les propriétés mécaniques des polypeptides, telles que leur force de résistance au dépliage, le nombre d'intermédiaires et la voie de dépliage, peuvent fournir des informations précieuses sur les interactions qui soutiennent leur structure et leur fonction. Par exemple, la force interne qui s'oppose au dépliage engendré par une force externe est liée à la force des interactions non covalentes qui stabilisent la structure de la protéine, tandis que le nombre d'intermédiaires

et la voie de dépliage peuvent révéler des informations sur le mécanisme de pliage. En outre, les études de dépliage mécanique peuvent aider à élucider l'effet des mutations ou des modifications sur la stabilité et la fonction des biopolymères. Dans l'ensemble, la dénaturation mécanique des biopolymères constitue un outil puissant pour comprendre les principes fondamentaux de la structure et de leur fonction.

La technique d'AFM est utilisée pour étirer les molécules de protéines entre la pointe du levier microscopique et un substrat plat recouvert d'or. Un positionneur piézoélectrique mesure avec précision la distance entre les deux surfaces, ce qui se rapporte à l'extension de la protéine (voir Fig. 1.4.1). La couche de protéines peut être soit adsorbée au substrat, soit liée à celui-ci par des liaisons covalentes (typiquement, une liaison entre le sulfure d'un groupe fonctionnel de thiol à une facette de la surface d'or).

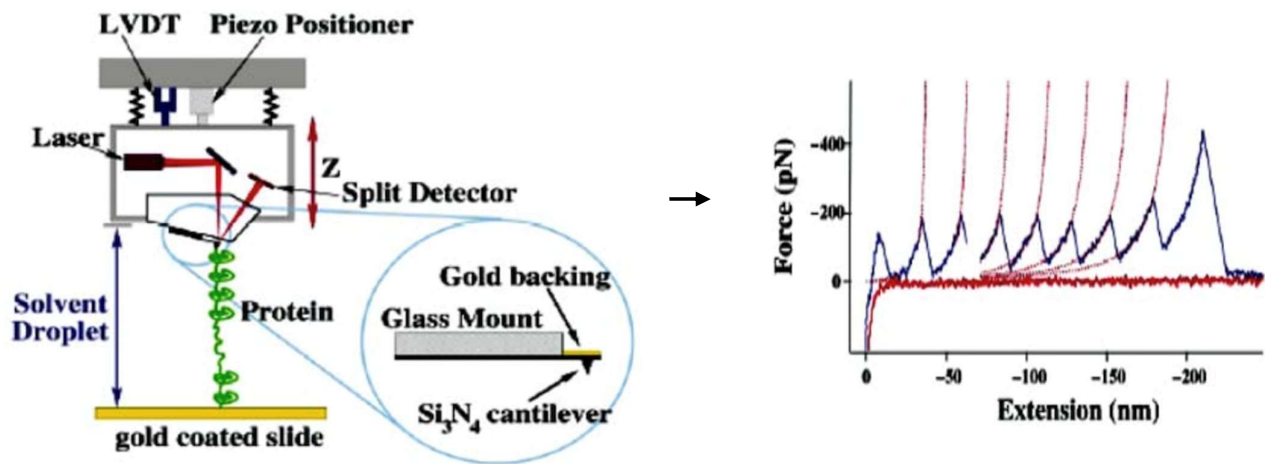


Figure 1.4.1 : Cette figure illustre le dépliement mécanique d'un polymère à l'aide d'un microscope à force atomique [Ellis *et al.*, 2006]. (Pour voir une explication plus détaillée, regardez dans la page suivante.)

La pointe du microscope à force atomique peut également être fixée à une ou plusieurs molécules par adsorption lorsqu'elle est rapprochée et retirée avec le substrat. Lorsque la pointe et le substrat commencent à se séparer, les molécules attachées s'étirent, ce qui génère une force de rappel qui fait plier le levier de l'appareil AFM [Ellis *et al.*, 2006]. Le faisceau laser réfléchi par la pointe du levier mesure la quantité de flexion, ce qui peut être traduite en force appliquée avec une précision de piconewtons (pN) [Meyer et Amer, 1988, Alexander *et al.*, 1989]. Le résultat peut être représenté par une courbe force-extension qui affiche des pics consécutifs, tel qu'indiquée dans le diagramme de la Figure 1.4.1.

Pour une protéine avec plusieurs domaines, ces graphiques résultants en dents de scie nous permettent d'explorer la nature séquentielle ou coopérative du mécanisme de dépliage des domaines protéiques [Rief *et al.*, 1997]

1.4.2. Pincés optiques

Les pincés optiques constituent une technique puissante pour la manipulation de molécules individuelles [Ashkin *et al.*, 1986, 1987]. Cette méthode utilise la pression de radiation laser pour capturer et manipuler à l'aide de faisceaux lasers focalisés des objets microscopiques comme des billes diélectriques auxquelles se lient des molécules biologiques. En déplaçant la position du piège ou de l'ancrage, on peut appliquer une force bien contrôlée (piconewtonienne) à la molécule et suivre son allongement avec une précision de l'ordre du nanomètre. Cette technique a servi pour l'étude de la mécanique de l'ADN [Smith *et al.*, 1996 ; Bustamante *et al.*, 1997, 2000]. Ces auteurs ont démontré qu'en appliquant une force de ~ 65 pN, l'ADN subit une transition réversible vers une forme étirée appelée S-DNA. Ces expériences montrent également la possibilité de caractériser les transitions entre états B, S et dénaturés, avec une résolution temporelle suffisante pour détecter les sauts discrets de conformation.

Dans le cas des protéines, les pincés optiques ont permis d'observer le dépliage de domaines individuels (par exemple, dans titine, une protéine associée au fonctionnement des muscles) en détectant des sauts d'extension discrets correspondant à la rupture des interactions non covalentes [Kellermayer *et al.*, 1997].

Contrairement à l'AFM, les pinces optiques permettent une mesure plus fine à forces faibles (<10 pN), ce qui est particulièrement utile pour détecter des conformations intermédiaires ou des états partiellement dépliés, souvent invisibles lors d'autres techniques [Neuman & Nagy, 2008].

1.4.3. Pinces magnétiques

Les pinces magnétiques sont une nouvelle approche pour manipuler des molécules uniques, où la force est exercée par un champ magnétique agissant sur une bille magnétisée attachée à une extrémité de la molécule. Contrairement aux pinces optiques, elles ne nécessitent pas de laser à faisceau focalisé, ce qui limite la photodégradation de la molécule et permet des expériences plus longues et plus stables [Moorthy *et al.*, 2023].

Introduites pour la biophysique moléculaire par Strick *et al.* (1996), les pinces magnétiques sont particulièrement adaptées à l'étude des acides nucléiques, car elles combinent des options pour introduire pas seulement des forces translationnelles, mais aussi des torsions (ou torques). Cela a permis d'observer en temps réel les effets du superenroulement, de la dénaturation ou de la compaction induite par des protéines [Strick *et al.* 1996, 1998]. Par exemple, elles ont été utilisées pour étudier l'action des topoisomérases [Strick *et al.* 2000], des hélicases [Lionnet *et al.*, 2006], ou encore la transcription par l'ARN polymérase [Revyakin *et al.*, 2004].

La précision des mesures de force est plus faible qu'avec les pinces optiques, mais les pinces magnétiques permettent de maintenir une force constante ("force-clamp mode") ou une extension constante ("position-clamp mode"), ce qui est utile pour étudier la cinétique à long terme [Strick *et al.*, 1996].

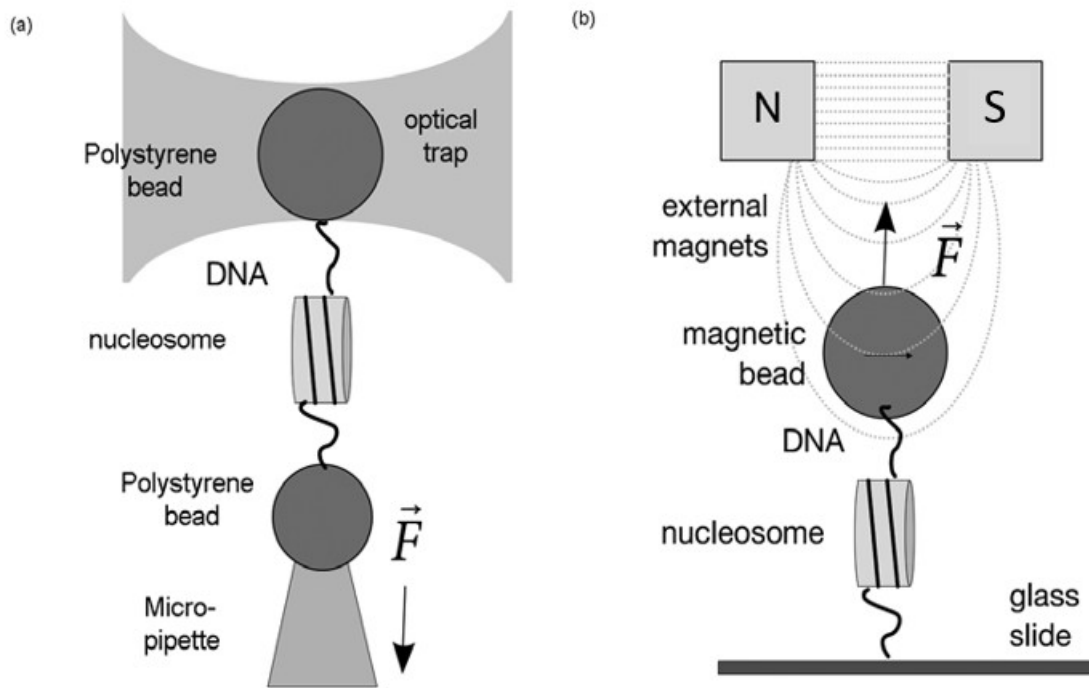


Figure 1.4.2: Représentation schématique des techniques expérimentales de manipulation de mononucléosomes par pinces optiques et magnétiques [Chien & Noort, 2009]. Dans le cas des pinces optiques (a), un mononucléosome est fixé entre deux billes de polystyrène : l'une est maintenue dans un faisceau laser focalisé (piège optique) tandis que l'autre est immobilisée à l'aide d'une micropipette. En déplaçant cette dernière, on applique une force mécanique permettant d'étirer la molécule. Cette configuration fonctionne comme un système de maintien en position (position clamp) en l'absence de rétroaction. Pour les pinces magnétiques (b), le mononucléosome est ancré à une lame de verre d'un côté, et de l'autre à une bille magnétisée soumise à un champ généré par des aimants externes. Le champ magnétique attire la bille vers le haut, et l'intensité de la force appliquée peut être modulée en ajustant la hauteur des aimants. Ces deux techniques permettent une mesure précise des forces impliquées dans le dépliement mécanique des structures nucléosomiques.

Chapitre 2. Simulations de déformation des protéines : algorithmes pour l'analyse théorique de l'étirement magnétique

2.1. Méthodes de simulation pour étudier les déformations moléculaires

L'étude des déformations moléculaires induites par des forces mécaniques repose sur un ensemble de méthodes de simulation numérique permettant de modéliser, à l'échelle atomique ou mésoscopiques, le comportement structurel des biopolymères soumis à des contraintes extérieures. Parmi ces approches, les différentes implémentations des méthodes de dynamique moléculaire (MD) demeurent les plus utilisés. Elle permet, par l'intégration des équations de mouvement de Newton de suivre l'évolution temporelle d'un système atomique de façon semiclassique. Dans cette approximation, les noyaux sont considérés particules classiques, mais la force interne effective agissant sur eux se calcule à partir d'un champ de force effectif. Ce champ de force est construit en modélisant l'hypersurface d'énergie potentielle obtenue de la mécanique quantique dans le contexte de l'approximation de Born-Oppenheimer [Szabo & Ostlund, 1989 ; Mezey, 1987].

Parmi les modèles de champs de forces communs, nous pouvons citer ceux implémentés dans les logiciels AMBER [Cornell *et al.*, 1995], CHARMM [Brooks *et al.*, 1983], ENCAD [Levitt *et al.*, 1995], NAMD [Nelson *et al.*, 1996] ou GROMOS [van Gunsteren & Berendsen, 1987 ; Scott *et al.*, 1999]. Pour les biomolécules, ces modèles d'énergie potentielle sont efficaces pour étudier les premières étapes de dépliement, les transitions conformationnelles locales et les réponses dynamiques aux forces appliquées.

Dans un contexte de déformation mécanique, on utilise souvent des protocoles de dynamique moléculaire « pilotée » (en anglais, « *steered molecular dynamics* », SMD), où une force externe contrôlée est appliquée sur un atome, ou un groupe d'atomes, pour simuler un étirement, une compression ou une torsion. Cette approche permet de reproduire les expériences de type AFM ou pinces optiques, et de prédire les profils force-déplacement et les ruptures structurales à l'échelle atomique.

La méthode de dynamique moléculaire, dans sa forme newtonienne, consiste à intégrer les équations du mouvement d'un groupe d'atomes en interaction pour suivre leur évolution temporelle. Les noyaux sont considérés comme des particules classiques, et leurs coordonnées peuvent être déterminées à l'aide de la mécanique classique, plus précisément de la loi de Newton, avec la

condition que les forces sur les noyaux sont dérivées à partir d'une fonction d'énergie potentielle d'origine quantique :

$$\vec{F}_i = m_i \vec{a}_i \quad , i = 1, 2, \dots, N - \text{atomes dans la molécule} \quad (2.1)$$

où m_i est la masse du i -ème noyau, $\vec{a}_i = d^2 \vec{r}_i / dt^2$ son vecteur d'accélération, et \vec{F}_i le vecteur de force agissant sur lui, dû aux interactions avec les autres noyaux dans le champ de force, chaque avec un vecteur position \vec{r} . De plus, la force sur un atome est dérivée du gradient d'une fonction d'énergie potentielle U dans le champ de force aux positions données ce qui nous mène à l'équation suivante :

$$\mathbf{F}_i = - \nabla_i U \quad , \quad (2.2)$$

$$-\nabla_i = m_i \frac{d^2 \vec{r}_i}{dt^2} \quad (2.3)$$

où U est l'énergie potentielle totale du système moléculaire entière et ∇ est le gradient (ou opérateur nabla), définit comme un vecteur-opérateur de dérivées spatiales. L'algorithme computationnel transforme l'équation différentielle spatio-temporelle (1.2) à une séquence de positions temporelles, c'est-à-dire, une trajectoire $\{\mathbf{r}_i(t), i=1, \dots, N\text{-noyaux}\}$.

Strictement, nous aurions juste besoin d'une seule énergie potentielle U dérivée de la mécanique quantique. En pratique, cependant, c'est plus simple d'écrire U comme une somme de contributions semiclassiques (ce que nous

appelons « le champ de force »), dont les paramètres sont déterminés de façon semi-empirique avec une palette de résultats expérimentaux et théoriques :

$$U = U_{\text{bond-stretching}} + U_{\text{bond-bending}} + U_{\text{dihedral-torsion}} + U_{\text{electrostatic}} + U_{\text{van der Waals}} \quad (2.4)$$

où $U_{\text{bond-stretching}}$ est la contribution à l'énergie totale due aux oscillations (typiquement, harmoniques) des liaisons, $U_{\text{bond-bending}}$ la contribution associée aux fléchissements, $U_{\text{dihedral-torsion}}$ la contribution des rotations internes (ou « torsions diédriques ») de la molécule. De plus, le terme $U_{\text{electrostatic}}$ fait allusion aux interactions coulombiens entre charges effectives localisées sur les atomes (p.ex., modélisées comme charges de Mulliken [Szabo & Ostlund, 1989]), et enfin le terme $U_{\text{van der Waals}}$ correspond aux « interactions de van der Waals », lesquelles correspondent aux interactions coulombiennes de moments supérieurs aux charges (typiquement, de type dipôle-dipôle ou dipôle induit-dipôle induit). Les deux, $U_{\text{electrostatic}}$ et $U_{\text{van der Waals}}$ correspondent aux interactions entre les atomes non liés au sein du système.

L'algorithme de dynamique moléculaire à température constante suit une procédure simple. Tout d'abord, une configuration initiale appropriée du système est sélectionnée, généralement une structure à énergie minimisée pour éliminer tout biais de force initiale. Cette structure est dénotée par l'ensemble de vecteurs position ($\{\mathbf{r}_j(0), j=1 \dots, \text{nombre de noyaux}\}$). Ensuite, on attribue à chaque atome une vitesse aléatoire, basée sur la distribution de Maxwell-Boltzmann pour la

température souhaitée, par exemple 300K. Ceci est dénoté par l'ensemble de vecteurs vitesses $\{\mathbf{v}_j(0), j=1\dots, \text{nombre de noyaux}\}$). Avec cette structure et vitesses de partie (c'est-à-dire, à temps $t = 0$), on peut déterminer une deuxième structure correspondant au temps $t = \Delta t$, où Δt est le temps qui nous permet approximer la vitesse initiale sur le noyau j comme $\mathbf{v}_j(0) \approx [\mathbf{r}_j(\Delta t) - \mathbf{r}_j(0)]/\Delta t$.

Avec cette nouvelle configuration $\{\mathbf{r}_j(\Delta t)\}$, on peut construire un premier gradient, et donc la composante F_{jk} de la force \mathbf{F}_j qui agit sur le noyau j , comme :

$$F_{jk} = - [U(\{r_{jk}(\Delta t)\}) - U(\{r_{jk}(0)\})]/[r_{jk}(\Delta t) - r_{jk}(0)], k = 1, 2, 3, \quad (2.5)$$

où la notation compacte pour les coordonnées cartésiennes est $r_{j1} \equiv x_j$, $r_{j2} \equiv y_j$, et $r_{j3} \equiv z_j$.

En suivant la récurrence générée par la discrétisation de l'équation de Newton [Allen & Tildesley, 1989], les forces agissant sur tous les atomes sont calculées en étapes de Δt , en calculant les positions, les vitesses, et les forces pour chaque atome. (Voir Allen & Tildesley (1989) pour les choix possibles de valeurs de Δt par rapport aux périodes de vibrations moléculaires.)

En procédant de la sorte, on obtient une trajectoire unique de MD, qui représente typiquement les réponses d'un système hors équilibre.

Évidemment, aucune trajectoire de longueur finie ne peut décrire bien un état d'équilibre pour un système non-périodique. C'est-à-dire, les trajectoires de

dynamique moléculaire génèrent des informations au niveau microscopique, mais la description d'un état d'équilibre nécessite de la statistique associée aux ensembles de trajectoires générées à partir de conditions aléatoires initiales de vitesses. En ce sens, la dynamique moléculaire est également une méthode statistique. Comme la méthode de Monte Carlo [Metropolis *et al.*, 1953], c'est une approche visant à obtenir un ensemble de configurations distribuées selon une certaine fonction de distribution statistique, ou ensemble statistique. Selon la physique statistique, les quantités physiques sont représentées par des moyennes sur des configurations distribuées correspondant à un certain ensemble compatible avec les contraintes souhaitées (par exemple, que le nombre de particules et le nombre d'atomes soient égaux ou inférieurs). Une seule trajectoire obtenue par dynamique moléculaire ne fournit qu'un sous-ensemble de ces configurations liées au choix des vitesses initiales. Une estimation fiable de toute observable doit donc être obtenue en faisant la moyenne des configurations obtenues dans un ensemble de trajectoires MD indépendantes, générées à partir de différents ensembles de vitesses initiales cohérentes avec une température de bain externe T . C'est la procédure que nous suivons dans cette revue critique, adaptée aux besoins du dépliage mécanique comme discuté dans la section suivante.

2.2. Aperçu des techniques théoriques utilisées : dynamique moléculaire et autres méthodes de simulation computationnelle pour l'étirement des protéines

L'étude de la déformation mécanique de certaines macromolécules biologiques, et en particulier des protéines, utilise une combinaison de méthodes de manipulation basées sur des techniques expérimentales et des approches théoriques basés sur les simulations computationnelles. Tandis que les expériences telles que les pinces optiques, les pinces magnétiques ou la microscopie à force atomique (AFM) permettent de mesurer les forces de rupture et les cinétiques de dépliement, elles offrent une résolution limitée concernant les détails structuraux à l'échelle atomique. Par exemple, les données expérimentales souvent suggèrent la présence d'un intermédiaire métastable, ceci qui peut être consistant avec un dépliement qui peut être ou bien séquentiel ou coopératif. Cependant, car ces observations ne permettent pas d'obtenir une image atomique complète des états de transition moléculaires, la décision entre un mécanisme ou l'autre n'est pas possible sans l'aide des simulations computationnelles.

Pour surmonter la limitation temporelle associée aux simulations semiclassiques de dynamique moléculaire, qui s'échelonnent typiquement à des échelles de temps de l'ordre de la nanoseconde à la microseconde, des approches

de simulation accélérée ont été développées afin de capturer les transitions conformationnelles rares, comme le dépliage mécanique de protéines. Parmi ces méthodes, la dynamique moléculaire pilotée ou dirigée (« Steered Molecular Dynamics » ou SMD, en anglais) s'est imposée comme un outil incontournable [Lu & Schulten, 1999 ; Isralewitz *et al.*, 2001]. Elle consiste à appliquer une force externe à un ou plusieurs noyaux sélectionnés de la molécule, simulant ainsi les conditions d'expériences de manipulation mécanique à molécule unique, telles que celles réalisées avec un microscope à force atomique (AFM) ou des pinces optiques.

L'objectif principal de la SMD est d'accélérer artificiellement les transitions mécaniques en forçant la molécule à explorer des états de haute énergie qui seraient inaccessibles dans des temps raisonnables par des dynamiques naturelles. Cette méthode permet d'acquérir des images de manière détaillée des chemins de réaction, ainsi que des états de transition et des barrières énergétiques en rapport avec des processus de dépliage de domaines protéiques, de décrochage de ligands, ou d'extension de complexes macromoléculaires.

Deux variantes principales de la méthode SMD sont couramment utilisées [Célerse *et al.*, 2019, et références données dedans]:

(a) *La SMD à vitesse constante* (SMD-CV, Constant Velocity) : une extrémité d'un biopolymère est fixé dans l'espace, tandis que l'autre est attachée à une

« perle virtuelle » soumise à une force élastique harmonique. Cette perle est déplacée à vitesse constante le long d'une direction définie, et le vecteur de la force $\mathbf{F}(t)$ exercée sur la molécule au temps t est donnée par la loi de Hooke modifiée :

$$\mathbf{F}(t) = k (\mathbf{v}t - \mathbf{x}), \quad (2.5)$$

où k est la constante de raideur du ressort (ou « constante de force »), \mathbf{v} est le vecteur de vitesse de traction, t le temps, et \mathbf{x} le vecteur position instantané du noyau tiré. Cette configuration est l'analogie numérique des expériences AFM en mode d'extension contrôlée [Ellis *et al.*, 2006]. Toutefois, en pratique, les vitesses de traction utilisées en simulation (typiquement $\|\mathbf{v}\| = 0,5 - 1,0 \text{ \AA/ps}$ pour la norme du vecteur) sont plusieurs ordres de grandeur plus rapides que celles accessibles expérimentalement (10^{-8} à 10^{-6} \AA/ps) [Carrión-Vázquez *et al.*, 1999 ; Isralewitz *et al.*, 2001], ce qui peut biaiser la réponse mécanique mais reste informatif sur le mécanisme général [Célerse *et al.*, 2019].

(b) *La SMD à force constante* (SMD-CF, Constant Force) : une force constante est appliquée à une extrémité de la molécule, et on observe la réponse dynamique du biopolymère [Célerse *et al.*, 2019]. Cette approche permet une meilleure comparaison avec les expériences de traction à charge constante et est particulièrement utile pour sonder la stabilité mécanique intrinsèque de certains motifs structuraux.

Bien que les simulations SMD soient artificiellement accélérées, elles apportent des informations atomiques sur les mécanismes d'étirement, les séquences de rupture des liaisons hydrogènes, les réarrangements secondaires et tertiaires, ainsi que les impacts de mutations ou de modifications post-traductionnelles sur la résistance mécanique. La SMD aide aussi à quantifier les profils énergétiques des différents états de dépliage, permettant ainsi d'interpréter les données expérimentales par des modèles de mécanique moléculaire de plus en plus réalistes.

Un des points forts de la SMD est sa souplesse : elle est associative à des conditions environnementales de température, force ionique, pH, sur des systèmes allant de petites protéines à des systèmes plus grands tels que les acides nucléiques, et est aussi synthétisable avec d'autres méthodes bien établies, comme le « Weighted Histogram Analysis Method » (WHAM), en intégrant le « Principal Component Analysis » (PCA) et les « Potentials Mean Force » (PMF) [Kumar *et al.*, 1992].

Chapitre 3. Dynamique moléculaire pilotée doucement

3.1. Présentation de la dynamique moléculaire pilotée doucement (soft-steered molecular dynamics, SSMD)

La dynamique moléculaire pilotée (Steered Molecular Dynamics, SMD) est une méthode numérique puissante permettant de sonder les réponses mécaniques des biomolécules (en particulier, biomolécules) soumises à des forces externes, et elle est particulièrement adaptée à l'étude des processus de dépliement. Cependant, une version alternative de cette méthode, appelée dynamique moléculaire *pilotée doucement* (Soft-Steered Molecular Dynamics, SSMD), a été introduite par Arteca [2003, 2004] et développée dans le contexte de chaînes linéaires présentant des topologies complexes [Arteca et Li 2004 ; Li et Arteca 2005 ; Arteca 2007].

Contrairement aux protocoles classiques de dynamique moléculaire dirigée décrits dans le Chapitre 2 (lesquels étirent les molécules de manière continue dans une direction constante ou avec une force constante), le protocole de dynamique moléculaire dirigée douce (SSMD) introduit des perturbations périodiques en allongeant ou en contractant les liaisons terminales. Dans les méthodes SMD traditionnelles, des perturbations périodiques étaient introduites en allongeant ou en contractant les liaisons terminales de façon continue le long

d'une direction fixe [Lu & Schulten, 1999]. Cependant, ces perturbations pouvaient entraîner des changements brusques dans la structure moléculaire, ce qui rendait difficile la simulation précise de la dynamique des molécules complexes. La méthode SSMD résout ce problème en introduisant une perturbation dans les liaisons terminales avec une fréquence de l'ordre de $10^4 \Delta t$, où Δt est l'étape d'intégration de la MD (typiquement, 1 fs) ; ceci entraîne un étirement ou une compression graduelle et douce de la molécule [Arteca et Li 2004 ; Li et Arteca 2005 ; Arteca 2007].

Dans le cas où on fait un double étirement, le protocole SSMD imite l'image physique d'une biomolécule greffée à ses deux extrémités courtes par des liaisons chimiques à une paire de billes métalliques. La distance entre les extrémités change en tant que résultat indirect de l'étirement ou de la compression de deux liaisons seulement (les « liaisons cibles ») aux extrémités de la molécule, p.ex., les liaisons métalliques. La caractéristique principale de cette méthode est que les perturbations d'étirement ou de compression sont des épisodes instantanés mais périodiques, et que la molécule est toujours doublement greffée entre deux perturbations consécutives.

La méthode SSMD est basée sur l'observation que la réponse élastique d'une biopolymère est non-linéaire. C'est-à-dire, on observe expérimentalement que la force appliquée ne déforme pas nécessairement la molécule immédiatement, sinon que la molécule peut résister à la force, en

préservant sa forme native de façon transitoire [Rief *et al.*, 1997 ; Kellermayer *et al.*, 1997 ; Evans & Ritchie, 1997]. En utilisant une perturbation de moindre fréquences de force, ΔF , l'étirement ou la compression des liaisons terminales est plus uniformément réparti dans la molécule, ce qui entraîne une réponse plus naturelle et graduelle à la force externe [Izrailev *et al.*, 1997 ; Isralewitz *et al.*, 2001]. Le protocole SSMD permet donc à la molécule de dissiper internement (si possible) l'effet de la contrainte externe, contrairement aux protocoles SMD traditionnels, où la molécule est forcée de façon non-physique (p.ex., de façon très rapide) à éviter des relaxations ou dissipations. Cette caractéristique rend le protocole SSMD idéal pour l'étude de chaînes simples aux topologies non-triviales car elle nous permet de reconnaître microscopiquement le mécanisme de résistance (ou affaiblissement) par rapport à la force mécanique [Best *et al.*, 2008].

La dynamique moléculaire pilotée doucement (SSMD) est un protocole qui implique trois étapes clés : l'étape de pré-étirement, l'étape de perturbation et l'étape de rééquilibrage (ou dissipation). Ces étapes sont cruciales pour garantir la précision et la stabilité de la simulation.

i. **Étape de pré-étirement** : Dans l'étape de pré-étirement, pendant une période de typiquement 5 ou 10 ps, on laisse la molécule greffée évoluer en utilisant la dynamique moléculaire standard sans étirement [Arteca 2003 ; Arteca 2004]. Cette étape permet à la molécule de s'équilibrer et d'adopter une

conformation stable avant l'application de la perturbation. Les vitesses dynamiques initiales sont choisies à partir d'une distribution de Maxwell-Boltzmann à une température T_0 . Le couplage entre la molécule et le bain simulé à T_0 est réalisé en utilisant l'algorithme de thermostat de Berendsen avec une constante de relaxation τ [Berendsen *et al.* 1984]. Cet algorithme change la norme des vecteurs vitesses en imitant une dissipation (refroidissement/réchauffement) selon la loi de refroidissement de Newton :

$$\frac{dT}{dt} = \frac{T - T_0}{\tau} \quad (3.1)$$

Dans une simulation typique, un pas d'intégration $\Delta t = 1\text{fs}$ est choisi pour l'équation de mouvement, une constante de relaxation de $\tau = 100\text{fs}$ pour le bain, et la force extérieure est exécutée chaque $\Delta_F = 10^4 \Delta_t = 10\text{ps}$.

En effet, le thermostat de Berendsen est un algorithme couramment utilisé dans les simulations de dynamique moléculaire pour maintenir une température constante à travers de changement d'échelle des vitesses (c'est-à-dire, en multipliant la norme du vecteur vitesse par un scalaire) [Berendsen *et al.*, 1984 ; Allen & Tildesley, 1989]. Formellement, ce thermostat fonctionne en couplant le système à un bain thermique externe virtuel, avec un taux d'échange de chaleur déterminé par une constante de temps de relaxation τ . Dans cet algorithme, la température du système n'est pas strictement contrôlée mais est autorisée à fluctuer autour de la température souhaitée.

Cependant, bien que le thermostat de Berendsen soit efficace pour maintenir une température approximativement constante, il a été critiqué pour ne pas échantillonner correctement l'ensemble canonique à l'équilibre et réduire artificiellement les fluctuations [Bussi *et al.*, 2007 ; Brawn *et al.*, 2018]. Il est donc important de tenir compte des limites et des biais potentiels du thermostat de Berendsen lors de la conception et de l'analyse des simulations de dynamique moléculaire. Mais néanmoins, en pratique, ceci ne change pas grand-chose dans les résultats lors de l'analyse du dépliement car il faudrait simplement s'assurer que T ne diverge pas dans la simulation hors équilibre.

ii. **Étape de perturbation** : Dans cette étape, exécutée chaque Δ_F -étapes d'intégration, une perturbation *instantanée* d'étirement ou de compression est appliquée à certaines liaisons choisies (une ou deux) de la molécule. L'amplitude et la fréquence de la perturbation sont contrôlées par le chercheur et peuvent être ajustées pour simuler différents types de forces externes. Dans les simulations typiques de SSMD, on étire les longueurs de liaison d'environ 0,2 ou 0,3 Å par rapport aux valeurs d'équilibre [Arteca, 2004 ; Arteca, 2005 ; Arteca, 2007 ; Arteca & Fall 2023].

iii. **Étape de rééquilibrage** : Dans l'étape de rééquilibrage, laquelle a lieu entre deux étapes de perturbation consécutives Δ_F , on laisse la molécule se détendre après la perturbation. Cette étape est importante pour s'assurer que la molécule a la chance de dissiper la perturbation et retrouver (si possible) une

conformation stable et que tout changement induit par la perturbation soit réversible. Pour une molécule à petite chaîne, une valeur $\Delta_F = 10\text{ps}$ peut être suffisante pour rééquilibrer l'énergie potentielle à température ambiante, si la molécule n'est pas assez déformée ou trop terminée au point où la dissipation n'est pas déjà faisable. Le résultat réel dépendra bien sûr de la structure et composition du polymère, ainsi que de la température et de la nature de la force appliquée [Arteca, 2003].

Les étapes (ii) et (iii) sont réalisées de manière récursive, et l'ensemble de la procédure se poursuit comme une série de tirages ou de poussées périodiques pour la longueur souhaitée de la trajectoire. En suivant cette procédure, un allongement de la chaîne peut se développer au fil du temps, conduisant à des distances plus grandes entre les ancrés.

L'étape de rééquilibrage est critique pour permettre que les chaînes polymériques aient une chance de s'ajuster et explorer l'espace conformationnel accessible à température T . Dans cette étape, les deux atomes d'ancrage sont gelés comme une contrainte dynamique, c'est-à-dire que leurs coordonnées cartésiennes sont maintenues constantes tandis que le reste des atomes suivent la dynamique moléculaire traditionnelle pendant une étape de durée Δ_F . La seule condition est que, pendant la période Δ_F , les deux ancrés sont laissées *en dehors* des équations du mouvement, c'est-à-dire qu'elles ont une vitesse nulle pendant cette période. Néanmoins, les deux ancrés interviennent toujours indirectement

dans la dynamique par leur contribution à l'énergie potentielle des liaisons, des flexions, des torsions et des interactions non liées. En d'autres termes, les ancrés jouent encore un rôle dans la détermination des forces agissant sur les autres régions de la molécule.

3.2. Cas d'études et exemples de simulations

3.2.1. Simulations sur transitions en peptides

L'étude des transitions conformationnelles des peptides par dynamique moléculaire (MD) est essentielle pour comprendre les mécanismes fondamentaux du repliement, du dépliement et des réponses mécaniques de tous les biopolymères.

Les peptides, du fait de leur taille modeste et de leur diversité structurale, constituent des systèmes modèles idéaux pour tester des approches computationnelles avancées et explorer des événements dynamiques rares, souvent inaccessibles expérimentalement [Karplus & McCammon, 2002 ; Dill & MacCallum, 2012].

Dans une simulation classique de dynamique moléculaire, on suit l'évolution temporelle d'un peptide à l'échelle atomique en intégrant les équations du mouvement de Newton sur la base d'un champ de force donné [Karplus & Petsko, 1990 ; Frenkel & Smit, 2001]. Cette approche permet d'observer des fluctuations thermiques, des transitions conformationnelles spontanées (lorsqu'elles sont accessibles sur l'échelle de temps simulée), ou d'introduire des contraintes mécaniques ou environnementales pour forcer certains événements.

Toutefois, la principale limite reste le temps de simulation : les transitions entre états métastables se produisent, le plus souvent, sur des échelles de temps bien plus grandes que celles couvertes par les simulations classiques [Lindorff-Larsen *et al.*, 2011].

Pour surmonter cette barrière, un certain nombre de stratégies différentes ont été utilisées. La dynamique moléculaire pilotée (SMD) est un moyen pratique d'appliquer une force pour induire mécaniquement le dépliement de certains peptides et de cartographier leur résistance au dépliement mécanique de certains de leurs composants structuraux secondaires, *p.ex.*, les hélices- α et les feuilles- β [Izrailev *et al.*, 1997 ; Isralewitz, *et al.*, 2001]. Ces simulations imitent qualitativement des expériences de type AFM et permettent le calcul des forces nécessaires à la rupture de certaines liaisons intramoléculaires [Best *et al.*, 2008]. De plus, les méthodes de biais telles que l'analyse de la surface d'énergie libre à travers le potentiel moyen de force (PMF) permettent de reconstruire les profils énergétiques associés aux transitions de structure [Kumar *et al.*, 1992 ; Souaille & Roux, 2001].

Dans ce contexte, différents types de peptides sont souvent étudiés : hélices- α , feuillet- β , boucles, ou séquences minimalistes servant de modèles réduits [Daggett & Fersht, 2003]. Ces simulations sont souvent menées dans des conditions contrôlées (température, solvant explicite ou implicite, pH) pour évaluer leur stabilité, leur flexibilité, ou leur réponse à une contrainte mécanique.

Les descripteurs de forme moléculaire tels que la longueur de la chaîne, la déformation angulaire et l'anisotropie [Arteca, 1996] sont souvent utilisés dans les simulations de dynamique moléculaire pour surveiller le début du dépliage dû à la charge totale, à l'emplacement de la charge et à l'application d'une force externe (*cf.* Figures 3.2.1.a et Figure 3.2.1.b). Dans la dynamique moléculaire, le comportement d'un système d'atomes est simulé dans le temps, et les changements de la forme moléculaire peuvent être surveillés et analysés pour mieux comprendre la mécanique sous-jacente du système. La longueur de la chaîne est un facteur clé pour déterminer la flexibilité et la résilience d'une molécule, et peut être utilisée pour prédire le début du dépliage sous charge.

Dans le contexte des polypeptides, la "longueur" de la chaîne est le nombre d'acides aminés. Par exemple dans ce cas d'étude particulière, nous voulons dire la "taille géométrique" ou "extension". La déformation angulaire fait référence aux changements d'angles entre les atomes en réponse à une force, et peut être utilisée pour suivre la déformation et la rupture éventuelle des liaisons moléculaires. L'anisotropie est une mesure de la dépendance directionnelle, et peut être utilisée pour comprendre comment les forces externes affectent différemment les différentes parties d'une molécule [Arteca, 1996]. En utilisant les descripteurs de forme moléculaire dans les simulations de MD, nous pouvons mieux comprendre comment les forces mécaniques affectent la structure et le comportement des molécules au cours du temps dans une trajectoire.

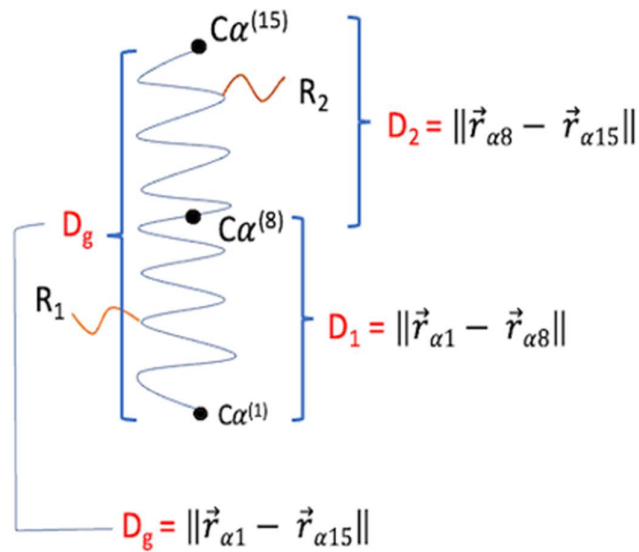


Figure 3.2.1.a : Cette figure illustre la représentation d'un poly-électrolyte $A_4R_qA_5R_qA_4$, où A indique une alanine et R_q indique une arginine protonée (avec charge positive $q=1$). Comme descripteurs élémentaires de la structure, on utilise la distance D_1 entre le C_α du premier acide aminé du terminus N et le C_α du milieu de l'hélice, et la distance D_2 entre le C_α du milieu et le C_α du dernier acide aminé du terminus C. L'effet de la force externe agit sur le dernier carbone alpha, C_{15} , c'est-à-dire, la force affecte de debout la deuxième moitié. (La dynamique différente de ces deux descripteurs pendant l'action d'une force externe est discutée plus tard chez la Figure 3.2.1.f.)



Figure 3.2.1.b : Ce schéma illustre l'implémentation de la dynamique moléculaire douce pilotée (SSMD) à la molécule pentadécane en appliquant la force extérieure à deux endroits. La longueur initiale de deux liaisons spécifiques dans la molécule, C_1-C_2 et $C_{17}-C_{18}$, est fixée à $1,534\text{\AA}$. Pendant la phase de poussée, ces liaisons sont comprimées à une longueur de $1,2\text{\AA}$, et les atomes de carbones terminaux C_1 et C_{19} sont fixés en place. Dans la phase de traction, la liaison $C_{17}-C_{18}$ est étiré à une longueur de $1,8\text{\AA}$ au début de chaque traction. [La figure a été reproduite à partir de Arteca (2003) avec la permission de l'auteur.]

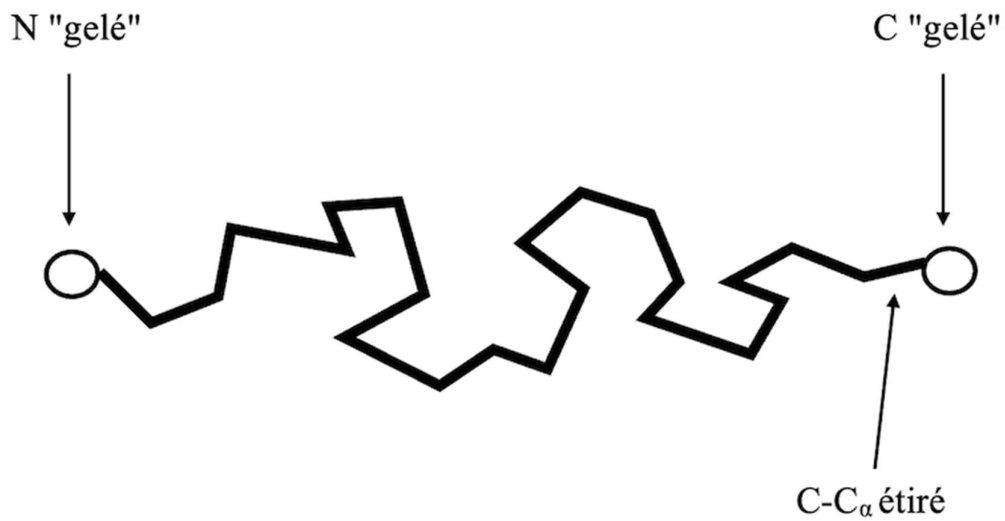


Figure 3.2.1.c: Schéma pour l'application de la SSMD à l'hélice- α $(Ala)_{10}$ ou, " A_{10} ". Ici, les deux liaisons cibles, sont la N- C_{α} à l'extrémité N-terminale et la C_{α} -C à l'extrémité C-terminale, lesquelles subissent l'étirement. Les atomes N et C de l'extrémité du squelette sont temporairement gelés après chaque étirement pendant une période dynamique Δ_F avant l'événement d'étirement suivant. La figure montre seulement le squelette de la molécule, sans les chaînes latérales. [Elle a été reproduite à partir de Arteca (2003) avec la permission de l'auteur.]

La Figure 3.2.1.c. montre la conformation initiale d'un peptide (ici, un décapeptide d'alanine) ainsi que les atomes et liaisons clés impliquées dans la régulation du stress mécanique. Pour appliquer une force de traction, on cible deux liaisons spécifiques : la première liaison N-C α et la dernière liaison C α -C de la chaîne principale (indiquées par des flèches). Ces deux liaisons sont étirées périodiquement depuis leur longueur d'équilibre jusqu'à une longueur de 1,8 Å, créant ainsi une contrainte mécanique dans la molécule. Durant chaque cycle d'étirement, d'une durée de 5 ps, les atomes d'ancrage restent fixes dans l'espace. Ensuite, une phase de rééquilibration est menée à 300 K pendant laquelle la molécule est connectée à un bain thermique simulé avec une constante de couplage $\tau = 100 \text{ fs} = 0,1 \text{ ps}$.

Sous l'effet de cette dynamique pilotée, l'énergie potentielle de la molécule (E_{pot}) montre des pics brutaux à chaque traction, qui s'atténuent après quelques ps. Bien que l'énergie ne varie que légèrement, la molécule subit des changements conformationnels significatifs, comme en témoigne le snapshot B : la chaîne adopte une conformation presque plane en forme de spirale bidimensionnelle (2D). À partir de 250 ps (snapshot C), des changements structurels plus importants apparaissent (*cf.* Figure 3.2.1.d et ainsi Figure 1.3).

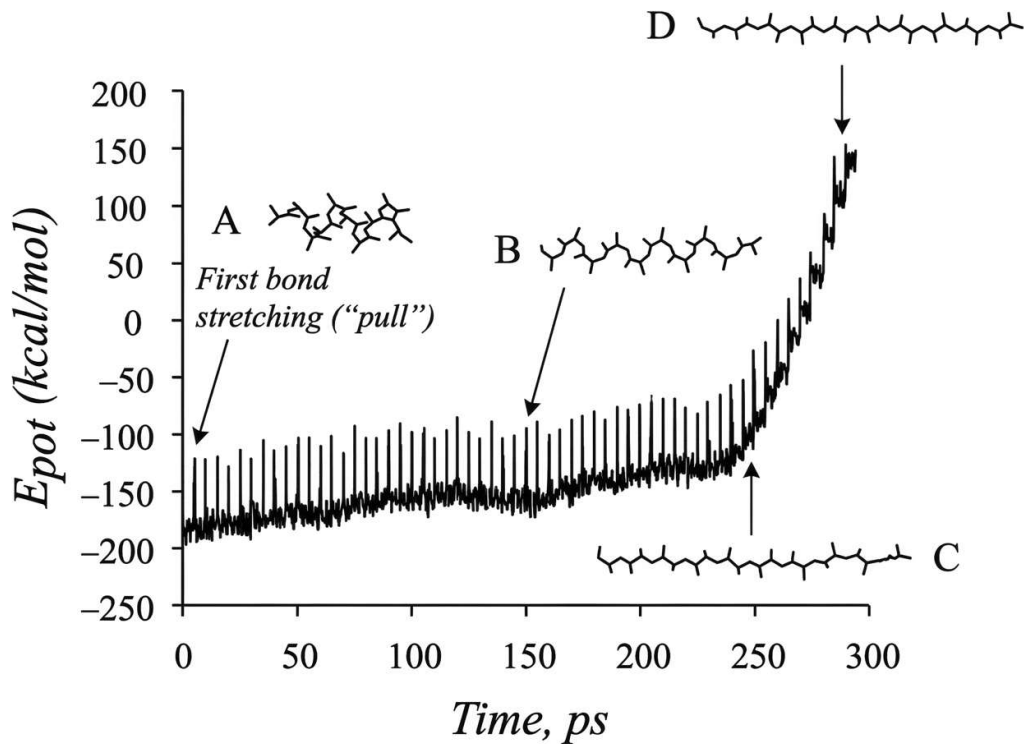


Figure 3.2.1.d: Évolution de l'énergie potentielle au cours d'une trajectoire de dynamique moléculaire dirigée (SMD) du $(\text{ala})_{10}$. Le snapshot A représente l'hélice- α initiale. Les maximas d'énergie correspondent aux événements de traction, mais ces perturbations sont rapidement dissipées pour $t < 250$ ps. Le snapshot B correspond à une structure presque plane, appelée hélice 2D. La structure allongée observée dans le snapshot C marque le début d'une augmentation rapide de l'énergie potentielle à $t \approx 250$ ps. Pour $t > 250$ ps, l'énergie introduite par la traction ne peut plus être dissipée, et les liaisons sont alors étirées au-delà de leur longueur d'équilibre (*cf.* snapshot D) [Source de l'image : [Arteca & Li 2004], utilisée avec permission.]

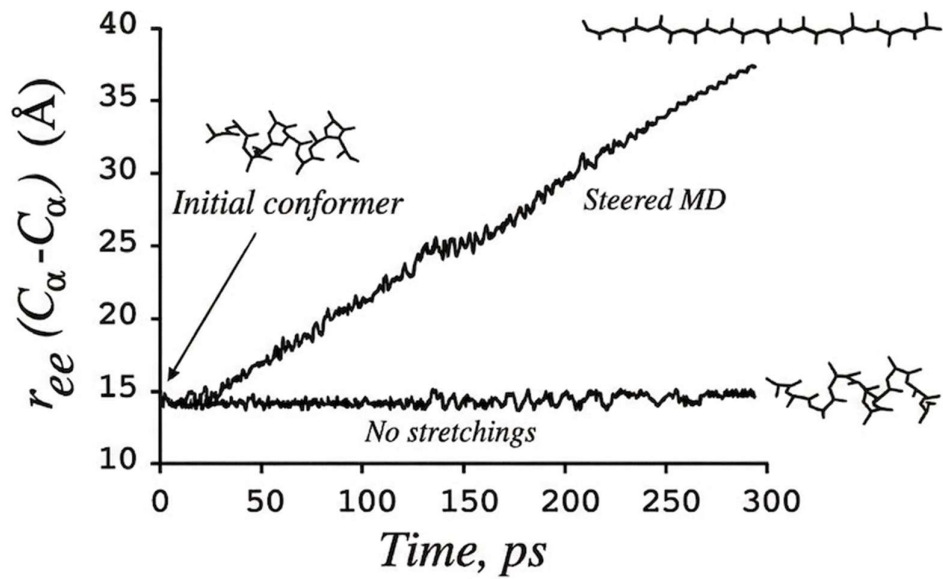


Figure 3.2.1.e: L'altération de la distance bout à bout (« *end-to-end* », en anglais), r_{ee} , pour le squelette des A₁₅ de C_α à C_α est observée dans deux trajectoires de MD: la trajectoire SSMD (« *soft-steered MD* ») entraîne une augmentation de r_{ee} due à l'étirement, tandis que la trajectoire dénotée comme « *free MD* » (soumis à l'ancrage mais sans étirement) montre une r_{ee} presque constante. [Source de l'image : [Arteca 2003], utilisée avec permission.]

La Figure 3.2.1.e nous montre que la distance de bout-à-bout r_{ee} (« *end-to-end* », en anglais) d'une hélice de 15 alanines (A_{15}) monte de façon linéaire pendant l'étirement, en confirmant que la transition hélice- α →hélice- 3_{10} →2D-hélice est *collective* (ou *coopérative*) pour une *homo-hélice* A_{15} (voir Fig. 1.3).

Par contre, la Figure 3.2.1.f illustre l'étirement d'une *hétéro-hélice* à 15 acides aminés avec la composition $A_4R_qA_5R_qA_4$, où R_q indique une arginine protonée avec charge $q=1$ (Arteca & Fall, 2023). Cette structure est caractérisée par les distances D_1 et D_2 expliquées dans la Fig. 3.2.1a. Pour cette hétéro-hélice, on voit que l'hélice- α de la *deuxième* moitié résiste initialement la force appliquée ($D_2 \approx \text{constante}$), tandis que l'hélice de la *première* moitié (avec longueur D_1) devient étirée vers une hélice- 3_{10} . En continuant l'application de la force externe, la deuxième hélice subit une transition hélice- α →hélice- 3_{10} →2D-hélice, sans affecter la première hélice. Une fois que la deuxième hélice est complètement étirée, la première hélice subit sa propre transition hélice- 3_{10} →2D-hélice.

Étant donné que la deuxième moitié est exposée d'avance à la force appliquée, c'est clair qu'une arginine protonée change le mécanisme d'étirement de *coopérative* pour l'homo-hélice A_{15} vers une transition *séquentielle* pour l'hétéro-hélice $A_4R_qA_5R_qA_4$ [Arteca & Fall, 2023]. Ce simple exemple illustre l'interrelation entre composition et les transitions structurelles déclenchés pour une force mécanique externe [Arteca & Li, 2004 ; Li & Arteca, 2005].

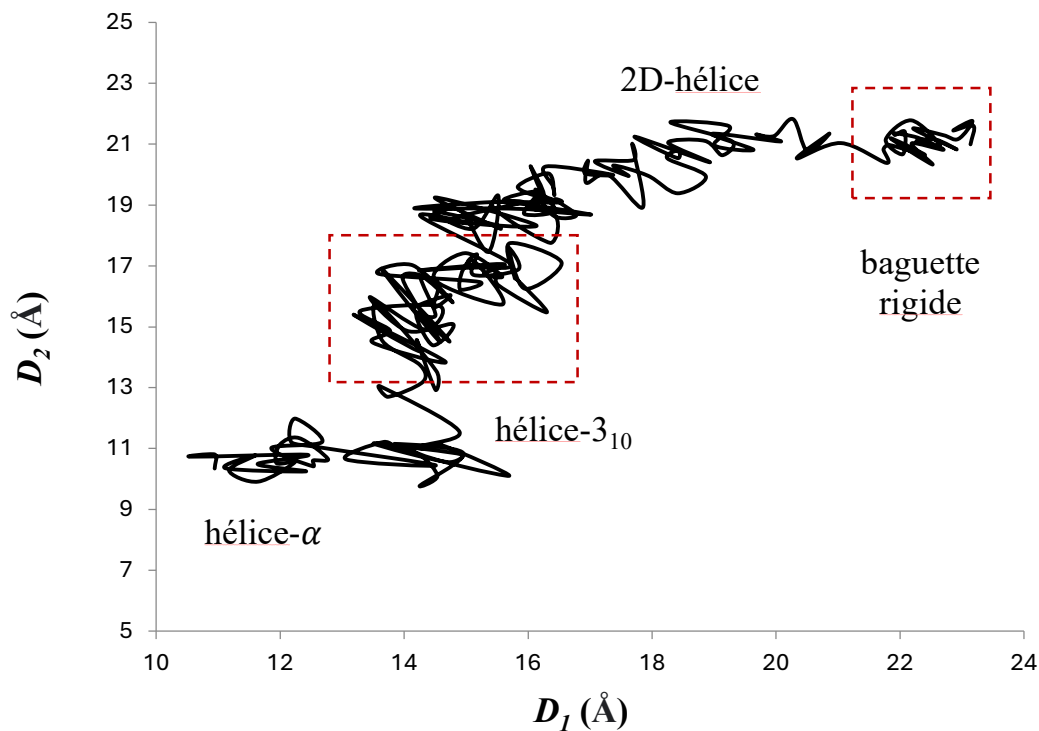


Figure 3.2.1.f: La corrélation des longueurs des deux moitiés D_1 et D_2 de la protéine $(Ala)_{15}$: $A_1R_qA_3R_qA_4$ est observée dans cette figure. Nous constatons un mécanisme séquentiel c'est-à-dire lorsqu'une moitié se déforme l'autre résiste. Comme le diagramme le montre, au début de la simulation, la distance D_1 se déforme pendant que la distance D_2 (celle proche de la force externe) persiste. On passe alors d'une hélice- α à une hélice- 3_{10} puis d'hélice- 3_{10} à une hélice 2D et de 2D à une hélice complètement dépliée (baguette rigide). Notons qu'ici les deux résidus d'arginines sont tous les deux chargés. [Arteca & Fall, 2023]

3.2.2. Simulations sur transitions en protéines à domaines multiples

Lorsqu'une chaîne peptidique est soumise à une contrainte mécanique, une réponse structurale, se produisant variablement, est observée en fonction de sa longueur, de sa séquence en acides aminés, et de sa topologie. On peut suivre en temps réel, grâce à des simulations de dynamique moléculaire dirigée doucement (SSMD), le changement de conformation d'un peptide au cours de son dépliage. La comparaison de séquences courtes, comme les décapeptides, avec des séquences plus longues (protéines à domaines multiples), met en évidence, au-delà des différences de temps de transition, la manière dont les chaînes temporaires d'allongement intermédiaires stables (états 3_{10} , repliement partiel) se résistent. Ces phénomènes témoignent de la richesse des chemins conformationnels accessibles aux peptides, et fournissent des informations cruciales sur leurs mécanismes d'adaptation aux forces mécaniques pour des protéines plus longues.

Dans le cadre de simulations de SSMD, la complexité topologique d'un peptide soumis à une force externe, mesurée par le paramètre \bar{N} (nombre moyen de croisements projetés, ou « *overcrossings* » en anglais), un descripteur utile de la forme d'un biopolymère, permet de suivre en temps réel l'évolution de certains aspects géométriques et quasi-topologiques de la structure d'une chaîne

peptidique [Arteca, 1993 ; Arteca, 1999 ; Arteca *et al.*, 1999]. Brièvement, le descripteur \bar{N} est obtenu comme il suit: 1) on détermine le nombre de croisements apparents de liaisons observés lorsque la chaîne est projetée à un plan tangent à la sphère minimale que, centrée au centroïde de la chaîne, l'enferme complètement; 2) on fait une moyenne sur toutes les directions possibles de projections sur la surface de clotûre. La dernière étape peut être faite par une double intégration sur la sphère [Arteca, 1999] ou de façon numérique sur un grand nombre de projections aléatoires [Arteca, 1993, 1995]. En général, une chaîne aura des grandes valeurs ($\bar{N} \gg 1$) pour les configurations compactifiées par attractions internes, tandis que $\bar{N} \rightarrow 0$ pour les configurations gonflées, dominées par les repulsions.

Comme exemple illustratif, la Figure 3.2.2.a nous montre l'évolution de \bar{N} dans vingt trajectoires simulées d'un décavaline (V_{10}), révélant une diversité de comportements de repliement et de dépliement.

Au début de la simulation ($t < 20$ ps), on observe une diminution rapide de \bar{N} , ce qui indique une perte de structure hélicoïdale typique de l'hélice- α initiale [Arteca & Li, 2004]. Entre 20 et 50ps, cette diminution est suivie d'un rehaussement transitoire de \bar{N} , ce qui témoigne d'un phénomène remarquable : un repliement natif partiel et transient vers la conformation d'origine. Ce phénomène de « *refolding* » temporaire joue un rôle important dans la résistance

du peptide à la contrainte mécanique. Ce comportement nous indique que la réponse est associée à une dissipation partielle de l'énergie appliquée.

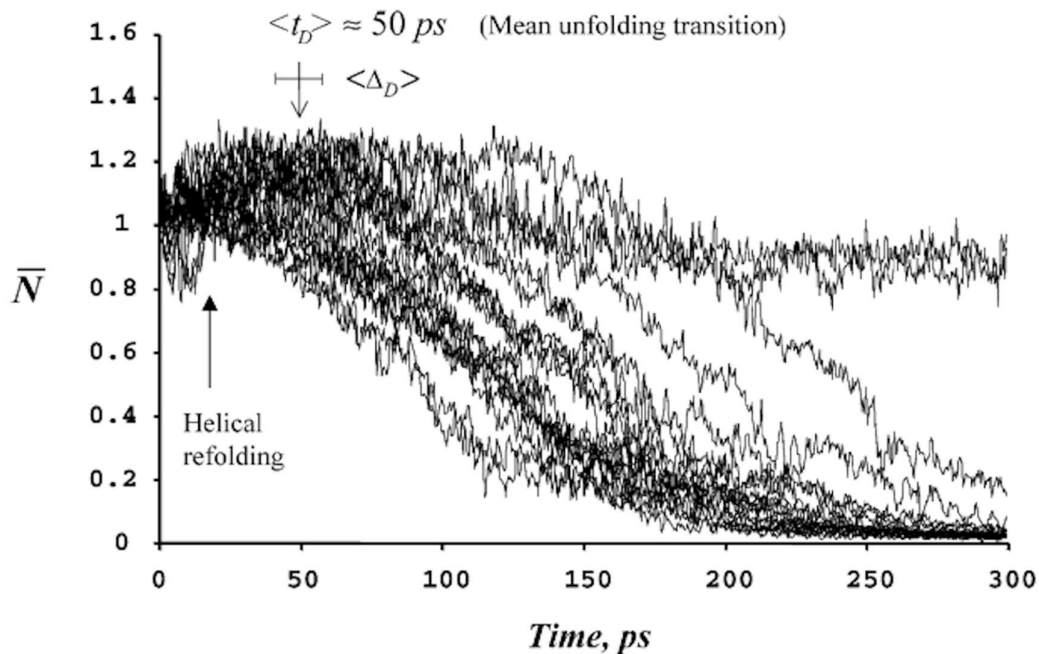


Figure 3.2.2.a : Évolution de la complexité d’enchèvement dans vingt trajectoires SSMD de décavaline (V_{10}), montrant la plus grande diversité de comportements dynamiques et structuraux capturés par le descripteur de forme moléculaire \bar{N} , le nombre moyenne de « croisements projetés », ou « *overcrossings* ». On remarque que \bar{N} diminue à partir de sa valeur initiale d’environ $\bar{N} \approx 1,2$ durant les 20 premières picosecondes (ps), mais retrouve ensuite sa valeur initiale entre 20ps et 50ps. Ce comportement est une indication claire d’un repliement transitoire vers la conformation α -hélicoïdale initiale. Les valeurs moyennes $\langle t_D \rangle$ et $\langle \Delta_D \rangle$ fournissent les moyennes d’ensemble pour le début de la transition de dépliement. [Arteca & Li, 2004]

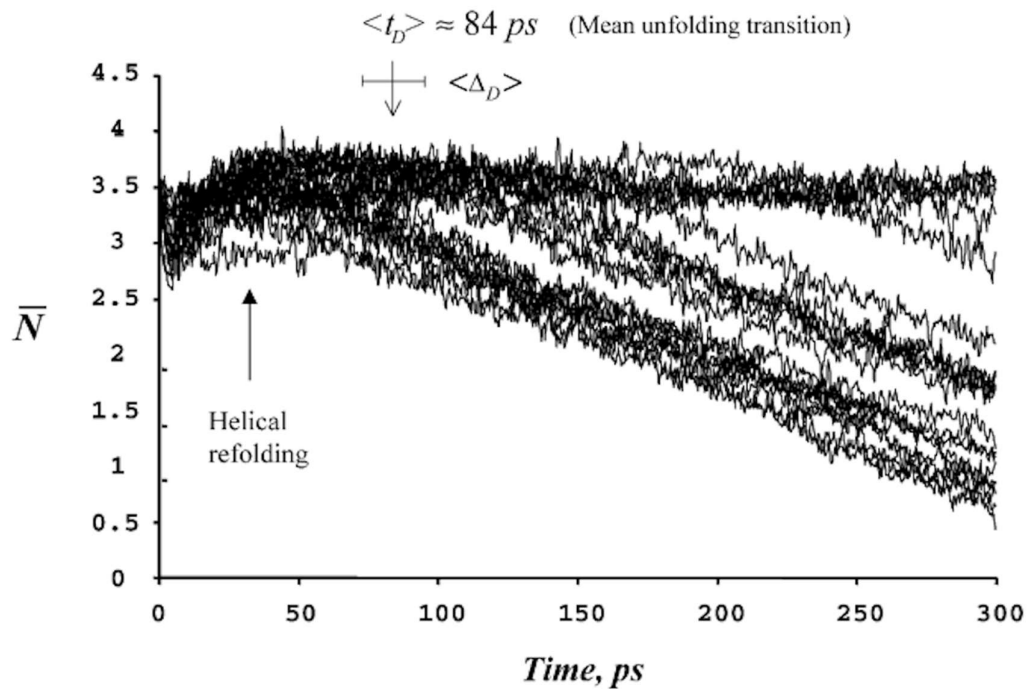


Figure 3.2.2.b : Dynamique de la complexité d’entchevêtrement à partir de vingt trajectoires d’icosavaline (V_{20}). La séquence des transitions de dépliement ressemble à celle observée pour V_{10} (voir Fig. 3.2.2.a), mais décalée dans le temps. Le temps moyen de retard du dépliement augmente ainsi, passant de $\langle t_D \rangle \approx 50 \text{ ps}$ pour V_{10} à $\langle t_D \rangle \approx 84 \text{ ps}$ pour V_{20} . Là encore, on observe un repliement vers l’hélice- α "native" après les 20 premières picosecondes. [Arteca & Li 2004]

En comparant des séquences courtes (V_{10}) avec des séquences plus longues (V_{20}), la dynamique globale du processus de dépliement reste la même en termes de dispersité des trajectoires et de capacité initiale au repliement. Cependant, les transitions structurelles vers la spirale 3_{10} (un état intermédiaire entre l'hélice- α et l'état étiré en 2D) sont plus lentes dans V_{20} (*cf.* Figure 3.2.2.b). Le temps de transition moyen est $\langle t_D \rangle \approx 84\text{ps}$ tandis que V_{10} est de 50ps . Cela souligne que des séquences plus longues peuvent retarder le dépliement mécanique, ajoutant ainsi plus de flexibilité structurelle et des voies alternatives (p.ex, par formation des hélices 3_{10}).

L'analyse fine de la pente $d\bar{N}/dt$ pendant la transition vers les hélices $3_{10} \rightarrow 2D$ révèle une valeur très similaire pour V_{10} et V_{20} ($d\bar{N}/dt \sim 0.01 \text{ ps}^{-1}$), suggérant que la cinétique locale de transformation reste stable, mais que l'initiation de cette transformation est retardée dans les chaînes plus longues. Cela indique que la résistance mécanique dépend autant de la capacité à retarder l'initiation du dépliement que de la stabilité intrinsèque des structures intermédiaires (comme les hélices 3_{10}).

3.3. Facteurs influençant la déformation : nature de l'acide aminé, implications pour la structure et fonctions des protéines

Dans cette étude de Arteca & Li en 2004, vingt trajectoires indépendantes de dynamique moléculaire pilotée doucement en force constante (SSMD) ont été générées pour chaque séquence d'homopolymère α -hélicoïdal constituée de 10 acides aminés.

Ces simulations couvrent un intervalle de 300ps et ont eu pour but d'observer la dynamique de dépliement mécanique de ces hélices sous tension. Les séquences étudiées dans cet article incluent à la fois des résidus polaires, non-polaires, et chargés, à l'exception du tryptophane (trop encombrant) et de la proline (disruptive pour l'hélice) : $G_{10} = (\text{gly})_{10}$; $A_{10} = (\text{ala})_{10}$; $V_{10} = (\text{val})_{10}$; $L_{10} = (\text{leu})_{10}$; $I_{10} = (\text{ile})_{10}$; $S_{10} = (\text{ser})_{10}$; $T_{10} = (\text{thr})_{10}$; $C_{10} = (\text{cys})_{10}$; $M_{10} = (\text{met})_{10}$; $N_{10} = (\text{asn})_{10}$; $Q_{10} = (\text{gln})_{10}$; $F_{10} = (\text{phe})_{10}$; $Y_{10} = (\text{tyr})_{10}$; $K_{10} = (\text{lys})_{10}$; $R_{10} = (\text{arg})_{10}$; $H_{10} = (\text{His})_{10}$; $D_{10} = (\text{asp})_{10}$; $E_{10} = (\text{glu})_{10}$.

L'évolution du nombre moyen de croisements projetés (\bar{N}), mesurant la complexité d'enchevêtrement de la chaîne, est utilisée pour identifier et classifier les différents types de comportements de dépliement observés.

Pour commencer la présentation des résultats, la *Figure 3.3* montre l'évolution de \bar{N} en sélectionnant une trajectoire représentative unique pour chacune des 18 séquences d'homopolymères pertinentes composées de 10 acides

aminés. Deux types distincts de comportements d'étirement sont visibles dans la Figure 3.3.a :

(a) *Transition de Type I* : Étirement progressif des hélices stables

Les transitions de type I sont marquées par une suite de résidus non chargés, qu'ils soient polaires ou apolaires. Elles suivent une succession d'étapes discrètes: hélice- α \rightarrow hélice- 3_{10} \rightarrow 2D hélice \rightarrow chaîne allongée de type tige.

Ces types de transitions progressent graduellement et sont soumises à une période latente (souvent de 20 à 50ps) selon le type de séquence. Par exemple, la transition pour (Ala)₁₀ commence autour de 35 ps ; (Val)₁₀ retardent la transition jusqu'à 50 ps ; (Met)₁₀ présente une transition précoce entraînée à 20 ps (*cf.* Figs. 3.2.2.a, 3.3.b et 3.3.c).

Ce type de transition est souvent accompagnée d'une variation riche du nombre de croisements projetés \bar{N} , qui reflète des étapes structurées dans le dépliement. Les chaînes subissent d'abord une extension avec conservation partielle de l'enchevêtrement, suivie par des transitions successives vers des structures plus étendues. Le nombre de liaisons croisées fluctue, indiquant un état non-équilibré, ceci qui est consistant avec une trajectoire sur l'action constante d'une force externe.

(b) *Transition de Type II* : Effondrement des hélices chargées

Les transitions de Type II sont observées dans le cas d'hélices composées uniquement de résidus chargé, p. ex., l'aspartate ou le glutamate. Ici, le dépliement est presque instantané dans les 5 premières picosecondes. L'hélice s'effondre instantanément et très rapidement (comme sous l'effet d'une force) en raison de l'énorme répulsion électrostatique (coulombienne) entre les charges.

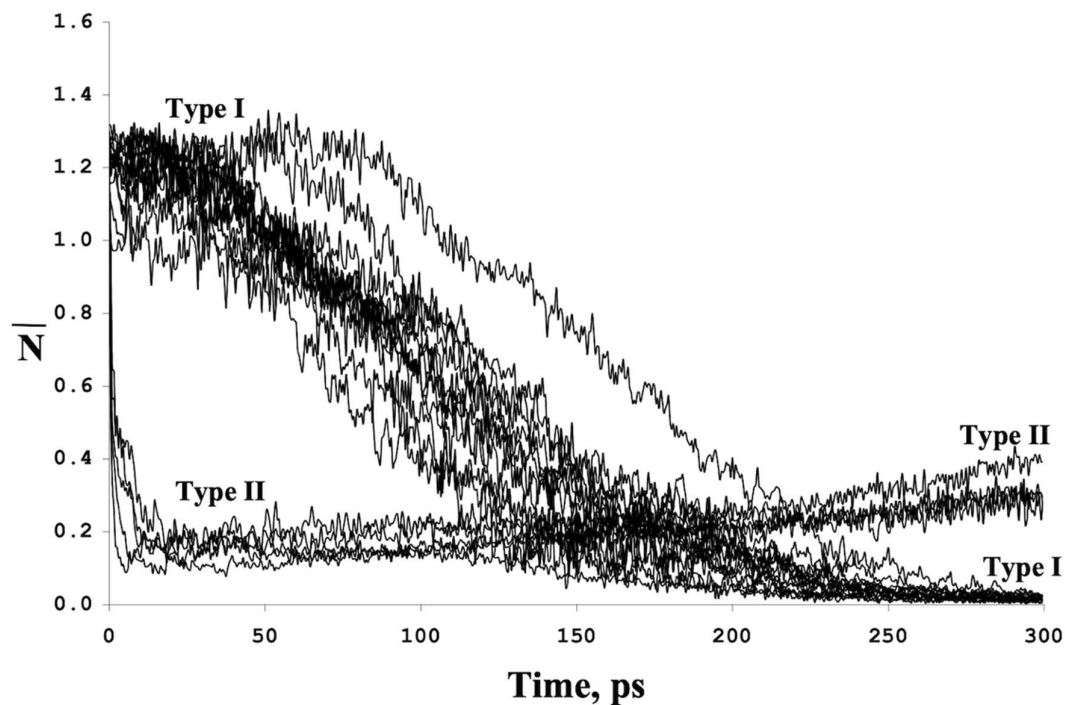


Figure 3.3.a : Évolution du descripteur de forme \bar{N} pour une trajectoire représentative unique de toutes les séquences importantes de 10 résidus. Deux types distincts de comportement d'étirement sont observés : (a) *Type I* : avec un comportement d'étirement régulier, suivant une séquence de transitions allant de l'hélice- α à la hélice- 3_{10} , puis à une hélice 2D, et enfin à une chaîne en forme de tige linéaire. (b) *Type II* : avec une chute rapide du nombre moyen de croisements. Le comportement de type I est observé pour les résidus non chargés, qu'ils soient polaires ou non polaires, tandis que la désintégration rapide de type II des hélices se produit avec des résidus chargés. [Arteca & Li 2004]

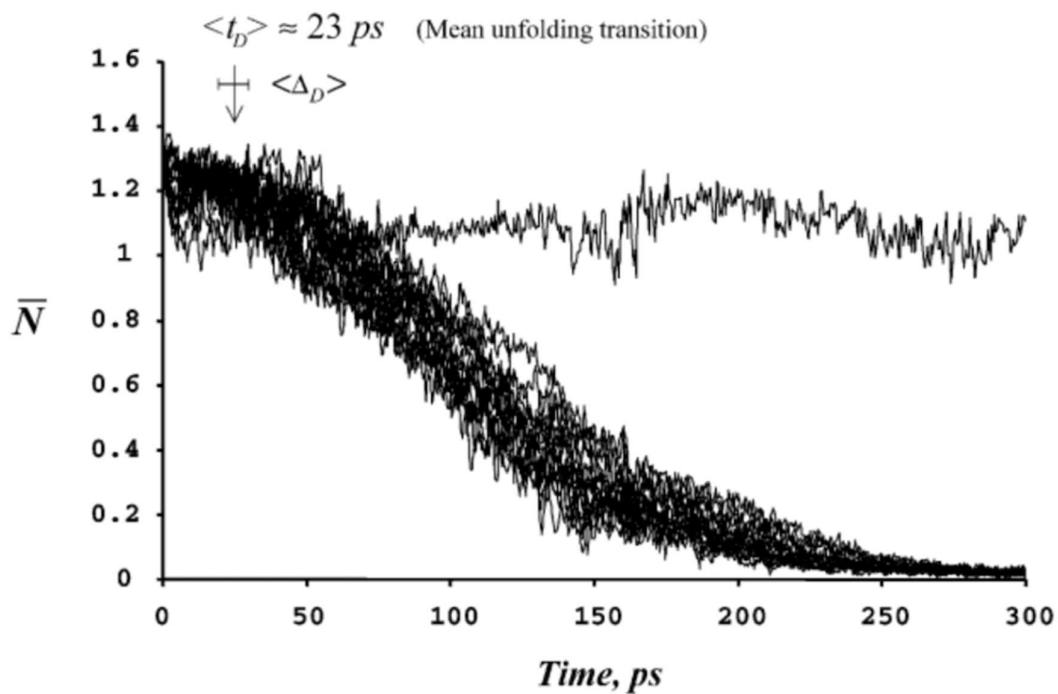


Figure 3.3.b : Dynamique de la complexité d’enchêvements à partir de vingt trajectoires de décaméthionine (M_{10}), montrant la distribution la plus resserrée des valeurs de \bar{N} . La seule trajectoire ne menant pas à un étirement conserve une valeur de \bar{N} inférieure à celle de l’hélice initiale ($\bar{N} \approx 1,3$) ; ce comportement est représentatif d’une hélice déformée, frustrée sur le plan conformationnel, qui ne parvient pas à se déplier avant 300 ps. Le comportement moyen, toutefois, indique un dépliement plus précoce ($\langle t_D \rangle \approx 23$ ps) comparé à celui observé dans la figure 3.2.2.a.[Arteca & Li 2004]

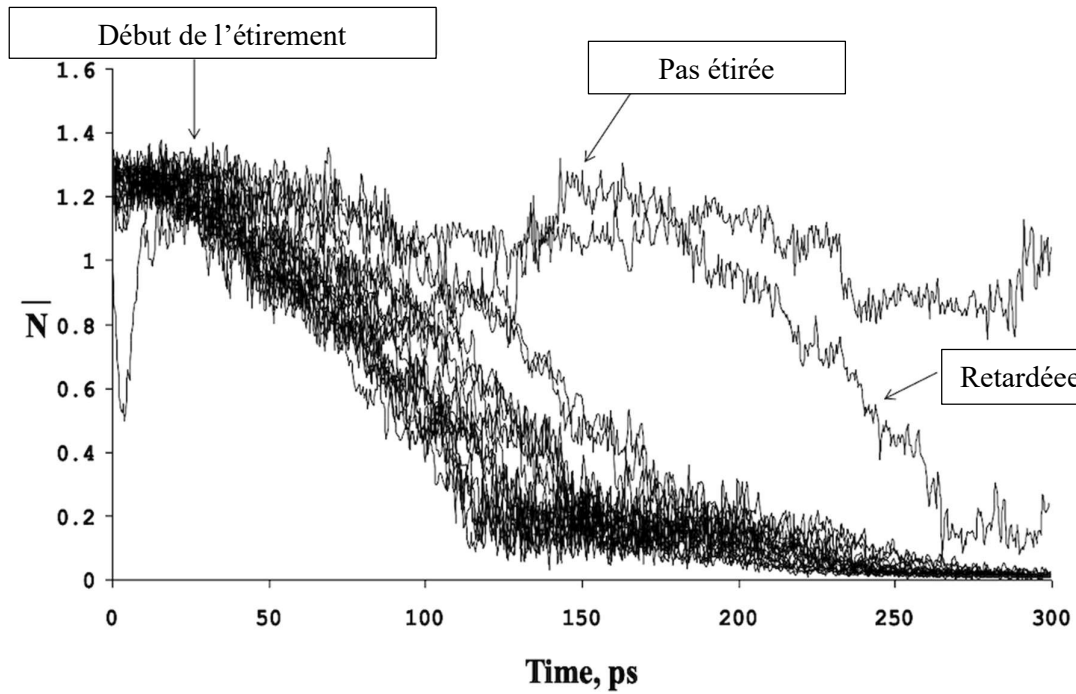


Figure 3.3.c : Variation de la complexité de l'intrication (mesurée en termes de nombre moyen de croisements projetés \bar{N}) pour vingt trajectoires SSMD indépendantes de A_{10} (déca-alanine). La plupart des trajectoires retardent la transition d'étirement jusqu'à environ 35,0 ps, à l'exception d'une trajectoire qui présente un retard très long et d'une autre qui ne parvient pas à s'étirer. Le changement de pente à $t \approx 120$ ps indique la formation de conformations hélicoïdales 2D. [Arteca & Li 2004]

Les simulations de dynamique moléculaire des hélices- α composées de 20 résidus montrent qualitativement les mêmes comportements de dépliement que ceux observés pour 10 résidus. La figure 3.3.a illustre cette similarité en montrant l'évolution du nombre moyen de croisements \bar{N} pour la trajectoire représentative de chaque homopolymère de 20 acides aminés qui ont été analysés dans la section 3.2.1. Sous l'effet de la contrainte, deux comportements distincts peuvent être identifiés : Type I, qui est un dépliement progressif et structuré ; et Type II, qui est une fusion rapide de l'hélice.

Comme observé pour les hélices de 10 résidus, le comportement de Type I est observé avec des acides aminés non chargés, tant polaires que non polaires. D'autre part, le Type II, qui se caractérise par une perte rapide de la structure hélicoïdale, est typique des séquences composées d'acides aminés chargés. Il est également à noter que des chaînes plus longues mettent plus de temps à se déplier complètement, ce qui indique une plus grande inertie structurale plus importante face à la contrainte appliquée.

L'étude du mécanisme de dépliement du comportement de type I dans les hélices de 20 résidus a montré qu'une séquence de transitions analogues à celles des hélices plus courtes existe : d'une hélice- α à une hélice-3₁₀, puis à une hélice 2D. Cependant, elle n'atteint pas une conformation entièrement étirée en raison des limites de temps des simulations réalisées dans les expériences ($t \leq 300$ ps). La Figure 3.3.d présente une série de configurations issues d'une simulation sur

la séquence A₂₀, confirmant cette progression structurale. On note qu'après le début du dépliage, la courbe du descripteur de forme devient presque linéaire, reflétant une perte progressive de la structure hélicoïdale initiale.

Le comportement de type II est illustré par la séquence D₂₀, dont les transitions structurales sont présentées en Figure 3.3.e. L'hélice s'effondre rapidement à une forme quasi-linéaire, et ce dénouement est marqué dès les premières 5 ps. De la chaîne que l'hélice a formée, une fermeture est amorcée, mais dans le cadre de l'échelle retenue, aucune conformation cyclique stable n'est observée, et ceci est certainement dû à la plus grande longueur de la chaîne.

Pour comparer avec les hélices de 10 résidus, la variation de la complexité topologique (\bar{N}) a été étudiée pour les séquences A₂₀, V₂₀, I₂₀, et N₂₀ dans les études de Arteca & Li (2004) et Li & Arteca (2005). Il apparaît que les séquences V₂₀ et I₂₀ montrent une plus grande dispersion dans les courbes pour le descripteur de forme, ce qui peut indiquer une attente plus longue avant le début du dépliage. En revanche, la séquence N₂₀ montre une faible dispersion de N, ce qui est associé à un temps moyen de latence ($\langle t_D \rangle$) plus court. La séquence A₂₀ se situe au milieu de ces deux extrêmes.

Ces résultats suggèrent que la stabilité d'une hélice- α homopolypeptidique confrontée à l'application d'une force externe (au moins, sous la forme d'une perturbation ponctuelle) dépend fortement de sa composition. Toutefois, indépendamment des délais, des différences ont été observées ; le mécanisme

global de dépliement semble constant pour les hélices- α avec $n=10$ et $n=20$ résidus. En effet, statistiquement, on trouve que le nombre moyen de croisement projetés (\bar{N}) diminue au même rythme pour la transition hélicoïdale $\alpha \rightarrow 3_{10}$ indépendamment de n (Li & Arteca, 2005):

$$\frac{d\bar{N}}{dt} = -0.009 \pm 0.001 \text{ ps}^{-1} \quad \text{pour } n = 10, t > \langle t_D \rangle, \quad (3.2)$$

et

$$\frac{d\bar{N}}{dt} = -0.011 \pm 0.001 \text{ ps}^{-1} \quad \text{pour } n = 20, t > \langle t_D \rangle. \quad (3.3)$$

Étant donné que \bar{N} dépend linéairement du nombre de résidus n pour les conformations régulières (hélice- α , hélice- 3_{10} , et 2D-hélice) (Arteca, 1995), on peut en conclure que les configurations intermédiaires doivent être similaires, indépendamment de la longueur de la chaîne. En somme, les données indiquent la présence d'un mécanisme dominant pour le dépliement des homopolypeptides par étirement, lequel est *conservé* pour $n \in [10, 20]$ lorsque $t > \langle t_D \rangle$.

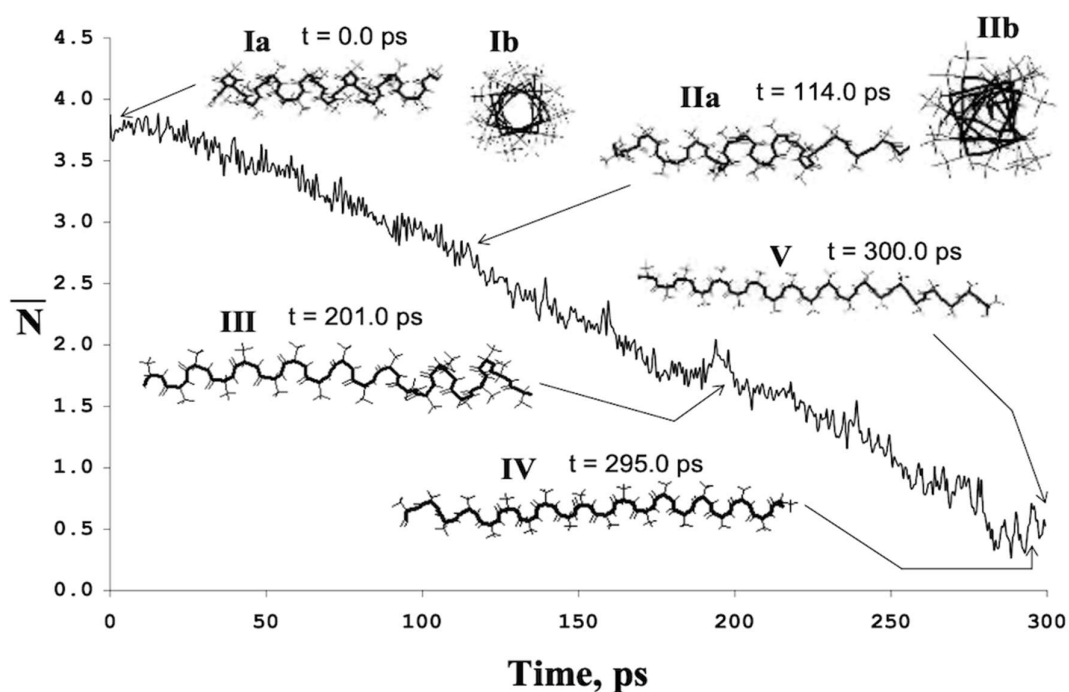


Figure 3.3.d : Transitions principales de forme moléculaire observées au cours d'une trajectoire représentative SSMD pour la séquence A₂₀ (composée uniquement d'alanines). Le descripteur de forme utilisé est le nombre moyen de croisements projetés (\bar{N}). Le mécanisme d'étirement de cette chaîne de vingt acides aminés suit un schéma typique de type I : la structure évolue progressivement d'une hélice- α vers 3_{10} , après 3D/2D, puis atteint une hélice 2D. Ces quatre états structuraux distincts sont illustrés par les instantanés I à IV. (Les vues Ib et IIb correspondent simplement aux instantanés Ia et IIa observés selon l'axe hélicoïdal. Les instantanés IV et V montrent les oscillations périodiques caractéristiques de l'hélice 2D.) La chaîne homopolymérique ne parvient pas à atteindre une conformation complètement linéaire de type bâtonnet en raison de la limite temporelle de la simulation fixée à $t \leq 300$ ps. [Arteca & Li 2004]

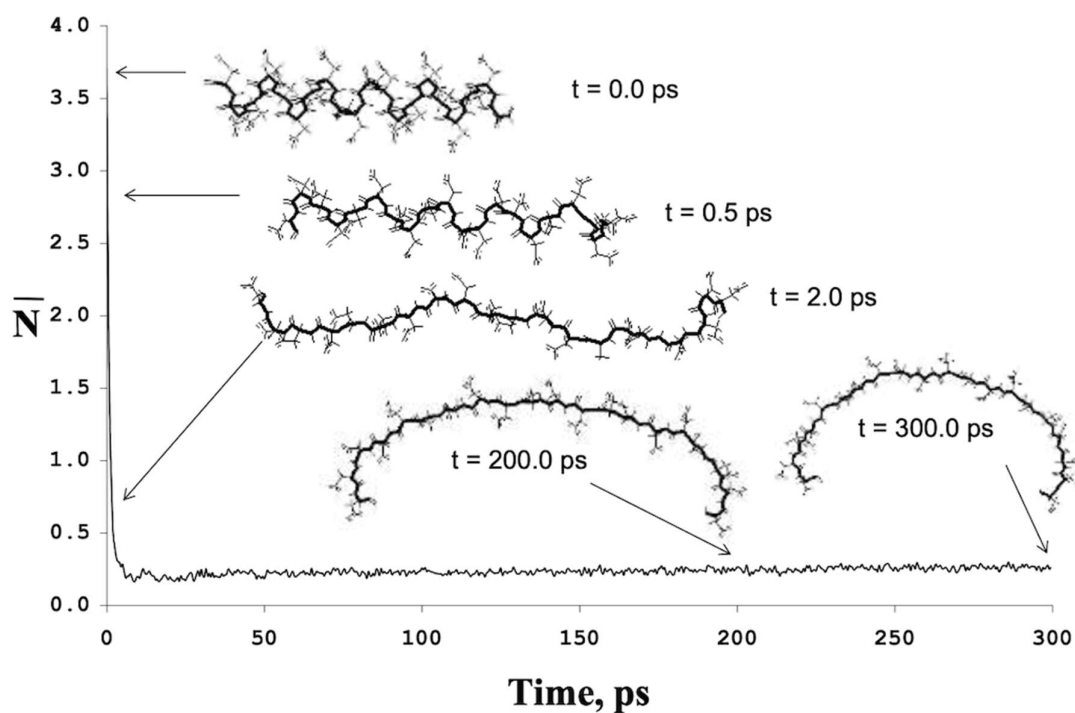


Figure 3.3.e : Transitions principales de forme moléculaire observées au cours d'une trajectoire SSMD représentative pour D₂₀ (acide aspartique), décrites avec le nombre moyen de croisements projetés (\bar{N}). En raison de la charge électrique portée par le résidu d'acide aminé, la structure hélicoïdale se désorganise très rapidement, adoptant une conformation quasi linéaire dès les premières 5 ps. Lorsqu'une force d'étirement est appliquée, la chaîne tend ensuite à se replier progressivement vers une forme qualitativement circulaire. Toutefois, pour une chaîne de $n=20$ résidus, ce repliement demande plus de temps. [Arteca & Li 2004]

3.4. Critique des limitations des techniques

L'analyse des simulations de dynamique moléculaire appliquées aux homopolypeptides met en évidence non seulement des comportements de dépliement caractéristiques, mais également plusieurs limitations inhérentes aux approches utilisées. Ces contraintes méthodologiques doivent être discutées de manière critique afin d'évaluer la portée réelle des résultats et d'envisager des pistes d'amélioration.

En effet, l'une des premières contraintes constatées réside dans la durée limitée des simulations [Lindorff-Larsen *et al.*, 2011 ; Piana, *et al.*, 2012]. Dans les systèmes mentionnés dans ce revue, le temps a été limitée à $t \leq 300\text{ps}$; ce plafond ne permet pas toujours d'atteindre un état de dépliement complet. Par exemple, pour les hélices de 20 résidus, la séquence de transition hélice- $\alpha \rightarrow$ hélice-3₁₀ \rightarrow 2D-hélice est amorcée, mais la structure ne réussit pas à tendre vers une conformation totalement linéaire ou en bâtonnet. Cette contrainte temporelle rend difficile l'exploration de transitions lentes ou d'événements plus tardifs, en particulier pour les chaînes de longueur accrue, où les réarrangements structuraux exigent naturellement des échelles de temps plus larges [Daggett & Fersht, 2003].

Un autre point critique concerne la dépendance des résultats au type de résidus au sein des séquences. Les simulations révèlent que les homopolypeptides de résidus neutres, tels que l'alanine, adoptent un mécanisme de dépliement

progressif et séquentiel (Type I), tandis que des séquences enrichies en résidus chargés, comme l'aspartate, connaissent une *rupture collective rapide* de l'hélice initiale (Type II). Ces observations témoignent de l'influence prépondérante des interactions électrostatiques et de la chimie latérale [Duan & Kollman, 1998 ; Garcia & Sanbonmatsu, 2001 ; Arteca, 2004 ; Arteca, 2007]. Cependant, la forte dépendance au type de résidu complique la transposition des conclusions à des séquences naturelles plus complexes, dans lesquelles la combinaison des charges et la diversité des groupements latéraux confèrent une organisation à la fois plus variable et plus accumulative [Shoemaker *et al.*, 2000].

Une limitation méthodologique essentielle réside aussi dans l'incapacité de garantir que les parcours simulés parviennent à un point d'équilibre thermodynamique. Les simulations indiquent que des conformations intermédiaires, par exemple les hélices 3D/2D, apparaissent de façon récurrente au fil des trajectoires, laissant croire à une certaine stabilité. Cette stabilité pourrait cependant être un artefact induit par les durées fixes et les conditions initiales dans lesquelles les simulations sont ancrées. Plus particulièrement, dans les cas où l'hélice se compacte en une structure presque circulaire (comme pour les séquences chargées), le temps disponible n'est pas suffisant pour confirmer que la famille de conformations générées soit à l'équilibre thermodynamique, selon le principe ergodique [Hawkins, 2021].

En parallèle, les simulations sont opérées sous des conditions qui, par définition, se révèlent idéalisées : utilisation d'un solvant implicite, température

et pression rigoureusement maintenues, et omissions des contraintes biologiques telles que l'existence de membranes et les interactions simultanées avec d'autres biomolécules [Swanson *et al.*, 2005]. Ces choix méthodologiques compliquent pourtant le transfert des résultats obtenus avec expériences et simulations d'une seule molécule vers leur comportement dans des milieux cellulaires naturels. En outre, les mécanismes discutés ci-haut, catégorisés sous Types I et II, doivent être compris comme un des comportements possibles dans des contextes simples, et non des mécanismes d'application universelle.

Malgré ces contraintes, les résultats cités dans ce chapitre conservent une valeur heuristique importante. Ils montrent que, quelle que soit la longueur de la chaîne, le mécanisme de dépliement peut suivre une séquence de transitions conservée, suggérant l'existence d'un schéma commun de dépliement. Toutefois, une interprétation rigoureuse exige de garder à l'esprit les limites techniques décrites ci-dessus.

Chapitre 4. Types de déformations observées dans les acides nucléiques

4.1. Résultats expérimentales et théoriques : différents types de déformation

4.1.1. ADN linéaire : monocaténaire et bicaténaire

L'étude des déformations de l'ADN linéaire, qu'il soit monocaténaire (ssDNA) ou bicaténaire (dsDNA), représente une étape fondamentale pour comprendre les mécanismes de réponse mécanique des biopolymères soumis à des forces externes [Bustamante *et al.*, 2000 ; Williams & Rouzina, 2002 ; Allemand *et al.*, 2003 ; Mou *et al.*, 2025]. Ces systèmes constituent en effet des modèles privilégiés, car leur topologie relativement simple permet d'explorer à la fois les transitions locales (rupture de paires de bases, formation de boucles, ouverture de bulles de dénaturation) et les transitions globales (étirement complet, séparation des brins, alignement en structure quasi-linéaire) [Marin-Gonzalez *et al.*, 2017 ; Zhang *et al.*, 2018 ; Marin-Gonzalez *et al.*, 2017 ; Afanasyev & Onufriev, 2022 ; Mou *et al.*, 2024 ; Mou *et al.*, 2025].

Un parallèle peut être établi avec les protéines, dont les études de dynamique moléculaire ont largement mis en évidence les mécanismes de dépliement sous force mécanique. Ces études montrent que les transitions conformationnelles dans les protéines adoptent une hiérarchie bien définie :

rupture de liaisons hydrogène, transformation hélice- α \rightarrow hélice- 3_{10} \rightarrow 2D-hélice, puis passage vers des conformations totalement dépliées (voir Fig. 1.3).

L'ADN linéaire, de façon parallèle, exhibe une hiérarchie propre : une molécule bicaténaire en traction traverse successivement un domaine élastique entropique, un état de sur-étirement (ssDNA ou dénaturation partielle), puis une séparation des brins complète. Pour l'ADN monocaténaire exprime d'abord la formation de boucles ou motifs secondaires, suivie de la transition vers une configuration quasi-linéaire [Williams & Rouzina, 2002]. Cette analogie suggère qu'il est possible de transposer certains principes observés dans les protéines vers les acides nucléiques. Dans les deux cas, le mécanisme de réponse mécanique repose sur des phénomènes communs.

Tout d'abord, l'intégrité locale des liaisons (liaisons hydrogène intramoléculaires dans les hélices protéiques, paires de bases et empilements aromatiques dans l'ADN) joue un rôle prépondérant. Ensuite, l'existence de structures intermédiaires métastables, qui retardent ou modulent le déploiement complet (hélices- 3_{10} pour les peptides, boucles ou bulles de dénaturation pour l'ADN). Un troisième facteur commun est le contexte : la composition, qu'il s'agisse d'acides aminés ou de bases, ainsi que le pH, la force ionique en solution, ou la température, modifient à la fois la stabilité statique et les voies cinétiques.

Les expériences sur les polypeptides α -hélicoïdaux illustrent ces principes. La substitution de résidus acides ou basiques induit un effondrement presque instantané (mécanisme de type II), l'ajout de résidus polaires ou hydrophobes

déclenchant au contraire un déploiement progressif (mécanisme de type I). On observe un comportement équivalent dans l'ADN : les hélices riches en paires adénine-thymine (AT), moins stable, s'ouvrent à l'entrée sobre des caractéristiques locales thermiques, tandis que les paires guanine-cytosine (GC), plus robustes, résistent à la dénaturation [Saran *et al.*, 2020]. Cette concordance entre la nature du nucléotide ou de l'acide aminé et la stabilité mécanique renforce l'idée que des règles générales gouvernent le comportement des biopolymères sous contrainte [Dohnalová *et al.*, 2024].

Néanmoins, certaines différences importantes existent. Contrairement aux protéines, dont la fonction dépend fortement de la structure tertiaire et quaternaire, l'ADN conserve sa fonction biologique essentielle (stockage et transmission de l'information génétique) même après déformation mécanique, du moment que les séquences de bases restent intactes. La réponse mécanique de l'ADN est donc davantage liée à des processus biologiques comme la réplication, la transcription ou la recombinaison, qui nécessitent précisément ces transitions structurales (ouverture locale, séparation des brins). Les protéines, au contraire, perdent généralement leur fonction lors d'un dépliement complet.

Ainsi, l'étude des déformations de l'ADN linéaire, comme celle des protéines, montre que les biopolymères obéissent à des lois mécaniques communes, mais qu'ils les exploitent différemment selon leurs rôles biologiques. Les protéines utilisent des structures secondaires comme modules mécaniques dont la rupture conduit souvent à une perte fonctionnelle, tandis que l'ADN utilise

ses transitions locales (ouverture de bulles, sur-étirement) comme une condition nécessaire pour réaliser ses fonctions biologiques fondamentales [Basu *et al.*, 2021 (et références dedans); Yu J., 2023].

Les changements de température (Privalov, 1990; Alonso & Daggett, 1998), l'application de forces mécaniques (Kellermayer *et al.*, 1997; Rief *et al.*, 1997; Isralewitz, *et al.*, 2001), ou encore modulation des interactions hydrophobes et des forces électrostatiques (Williams *et al.* 1997; Arteca *et al.* 1999 ; Arteca *et al.* 2001b ; Arteca & Tapia 2004) provoquent des changements structurels majeurs dans les protéines, souvent assimilables aux transitions de repliement et dépliement observées expérimentalement. Ces recherches montrent que les biomolécules ne se déplient pas de façon aléatoire en direction d'une bobine aléatoire, mais plutôt en gardant une proportion importante de structure secondaire (Mayor *et al.*, 2000) ce qui implique une certaine plasticité structurale.

De manière similaire, l'ADN linéaire, qu'il soit monocaténaire (ssDNA) ou bicaténaire (dsDNA), montre des analogies dans son comportement sous contraintes mécaniques ou environnementales [Bustamante *et al.*, 2000].

Comme dans le cas du lysozyme soumis à un dépliement centrifuge (faire tourner la protéine sur elle-même "spinning" en conditions de vide, ce qui génère des forces centrifuges capables de déstabiliser sa structure, montré dans la Fig. 4.1.1.a), dans lequel la perte de compacité se rompt de façon brutale à travers une transition entre états compacts et étirés [Arteca & Tapia, 2004], le dsDNA se

libère de ses liaisons hydrogène de manière coopérative et “saut” vers un état quasi-linéaire. Néanmoins, ce processus conserve des régions locales de paires de bases stables [Řezáč *et al.*, 2010 ; Marín-González *et al.*, 2017 ; Mou *et al.*, 2024].

Contrairement, le ssDNA s’approche davantage du comportement de cytochrome-C' (voir la Fig. 4.1.1.b) [Zhang *et al.*, 2001], qui résiste à la forme dépliée et préfère parcourir un espace dense de conformation partiellement étendue [Arteca *et al.*, 1999, Arteca *et al.*, 2001a ; Arteca *et al.* 2001b ; Arteca *et al.*, 2001c]. En l’absence de l’inter-bridging pair qui stabilise, le ssDNA se désorganise dans un état composé de divers enchevêtrements, épingles à cheveux, boucles, ou structures partiellement fondues et sa déformation sous contrainte est plus lente, témoignage d’une plus grande plasticité conformationnelle [Bustamante *et al.*, 2000].

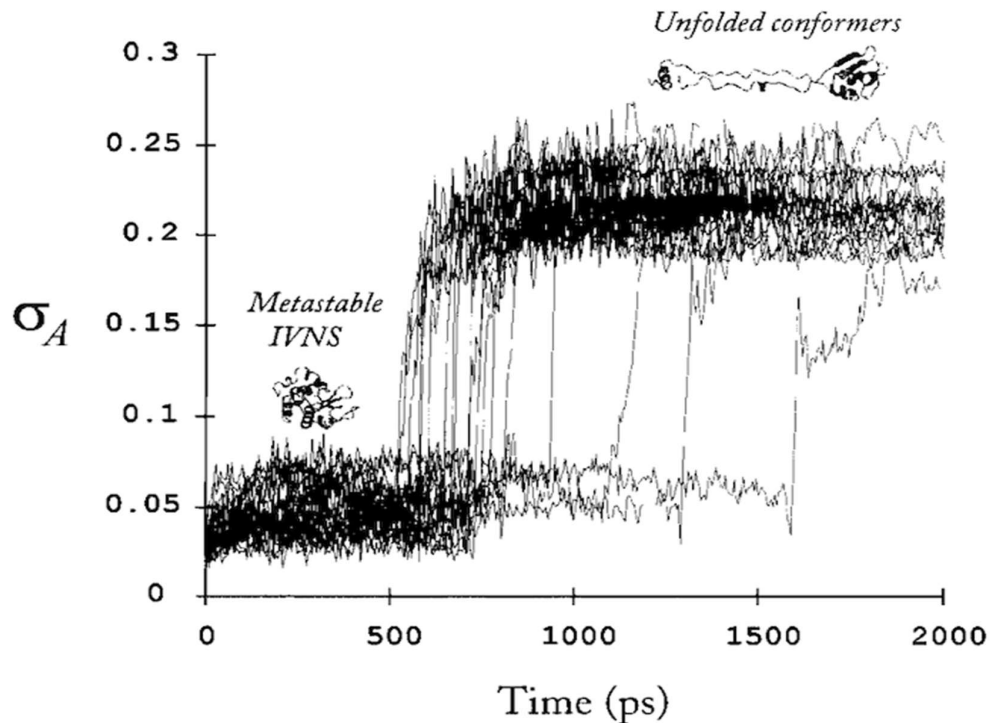


Figure 4.1.1.a : Dynamique des enchevêtrements relatifs de la chaîne au cours d'un ensemble de 20 trajectoires de dynamique moléculaire (MD) simulant le dépliement *in vacuo* du lysozyme neutre à $T = 293$ K, mesurée par l'écart quadratique moyen (*rms*) des distributions de croisements projetés (« *overcrossings* », en anglais). Les simulations ont été réalisées avec un fort couplage au bain thermique (constante de relaxation $t = 0,005$ ps). Les instantanés représentés montrent, d'une part, la forme métastable de l'état natif avant le dépliement (structure native *in vacuo*, IVNS), et d'autre part, la formation de conformations allongées après la transition. Le dépliement résulte ici de forces centrifuges générées par la rotation moléculaire dans le vide. [Tapia, Reimann & Arteca, 2001]

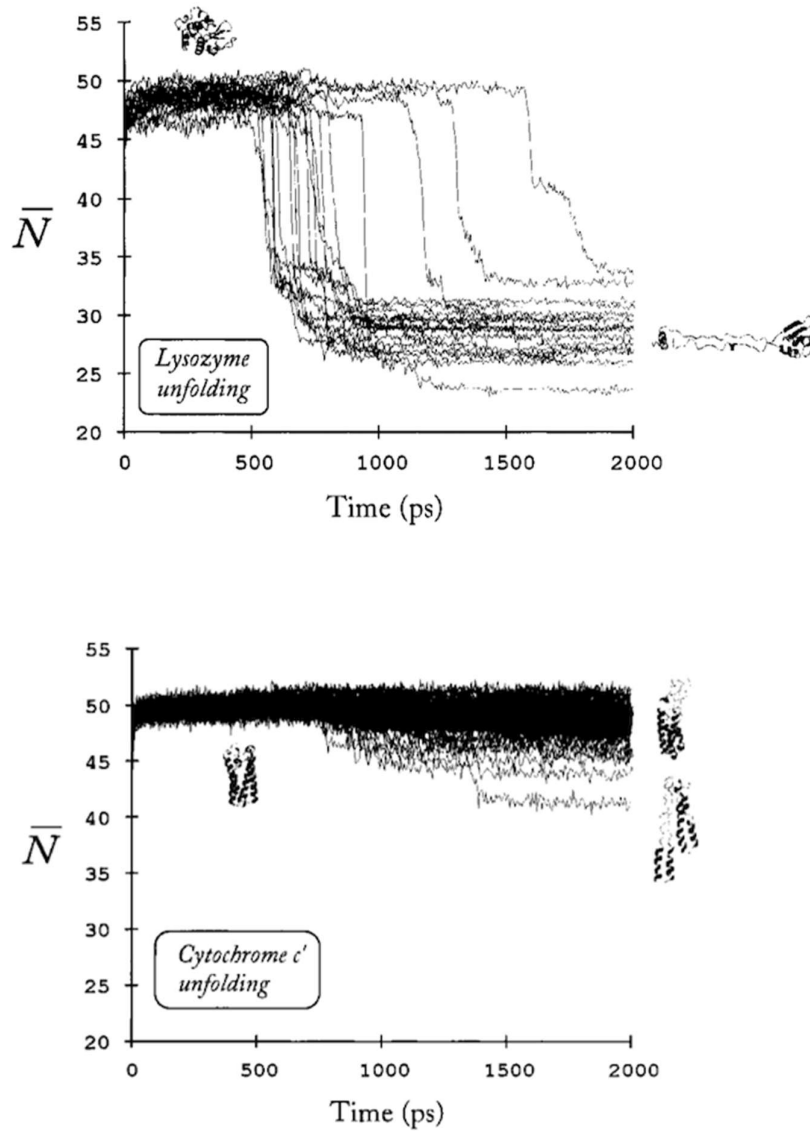


Figure 4.1.1.b : Comparaison entre le lysozyme neutre (en haut) et le cytochrome-c neutre (en bas) dans des conditions favorisant le dépliement « centrifuge ». Toutes les simulations ont été réalisées avec un fort couplage au bain thermique ($t = 0,005$ ps). Pour le lysozyme, l'ensemble des trajectoires conduit à un dépliement en conformations allongées en moins de 600 ps. En revanche, pour le cytochrome-C', la majorité des trajectoires conservent le repliement natif, néanmoins il y'a un dépliement partiel par perte de cohésion du faisceau mais ces déformations affectent peu la structure secondaire. [Tapia, Reimann & Arteca, 2001]

Ces résultats soulignent que, tout comme pour les protéines, la nature et la topologie de l'ADN déterminent fortement le type de déformation accessible. Les structures stabilisées par des interactions coopératives fortes (comme les ponts disulfures dans les protéines ou les paires de bases Watson-Crick dans le dsDNA) cèdent de manière abrupte lorsqu'elles sont soumises à des perturbations mécaniques, tandis que les systèmes dépourvus de telles interactions (ssDNA ou protéines sans liaisons covalentes de stabilisation) subissent des transitions progressives et polymorphes [Bustamante *et al.*, 2000]. En somme, l'ADN linéaire, qu'il soit mono- ou bicaténaire, illustre parfaitement les principes dégagés par Arteca *et al.* (2001) : les transitions de dépliement ne sont pas universelles mais dépendent de la hiérarchie des interactions stabilisatrices, de la nature des forces appliquées et de l'échelle de temps accessible en simulation.

Dans d'autres études aussi, la compréhension des déformations dans les brins linéaires d'ADN peut être abordée en combinant des expériences de manipulation directe et des simulations par dynamique moléculaire pilotée doucement (*soft-steered molecular dynamics*, SSMD). Les expériences utilisant des pinces optiques ou la microscopie à force atomique permettent d'appliquer des forces précises sur les extrémités des brins et d'observer leur réponse conformère [Klotz *et al.*, 2018].

L'expérience illustrée dans la Fig. 4.1.1.c [Arteca, 2004] est inspirée de ce type d'approche et a été réalisée sur un polymère modèle de polyéthylène linéaire

greffé de 60 carbones ($C_{60}H_{122}$), représentant un analogue simplifié de l'ADN (voir la Fig. 4.1.1.c). Une extrémité de la chaîne était fixée, tandis que l'autre était soumise à des perturbations périodiques appliquées sur la dernière liaison C–C, afin de reproduire l'effet d'une force mécanique externe. L'expérience vise à comprendre comment une boucle nouée transitoire (« local tangle or transient knot ») dans une chaîne de polyéthylène réagit à des forces externes appliquées périodiquement. Les polymères linéaires peuvent former des nœuds transitoires, dont la localisation et la rigidité dépendent de la température, de la rigidité locale de la chaîne et de contraintes mécaniques. L'étude utilise la méthodologie SSMD pour explorer les transitions conformères de chaînes greffées avec des « défauts topologiques » transients ou temporaires [Arai *et al.*, 1999 ; Bao *et al.*, 2005 ; Klotz *et al.*, 2018].

Cependant catégories de résultats sont observées :

(a) *Résultats de l'étirement* :

Au cours de la phase d'étirement, la chaîne subit une extension globale, tandis que la boucle initialement nouée conserve sa forme mais devient progressivement plus rigide. Les fluctuations internes de la boucle diminuent, indiquant un resserrement progressif. Trois transitions principales ont été identifiées :

Transition I ($t < 200$ ps) : formation d'une boucle centrale rigide, les segments libres restant flexibles. Si bien les fluctuations internes sont importantes, les extrémités sont peu affectées (*cf.* Figure 4.1.1.d).

Transition II ($t \sim 750$ ps) : la boucle nouée se resserre significativement et éventuellement atteint sa compacité maximale, ce qui correspond à l'état de stress le plus élevé dans la chaîne. Ceci est illustré par la Figure 4.1.1.e, en montrant le quotient des tailles R (le rayon maximal du nœud mesuré de son centroïde) et R_g (le rayon de gyration ou « de gravité », c'est-à-dire, la racine carrée de la moyenne des distances carrées des noyaux constituant du nœud mesuré dès centroïde). Le plus compacte le nœud, le plus rapport $\rho=R/R_g$ diminue.

Transition III ($t > 1000$ ps) : la boucle nouée se déplace le long de la chaîne sans modification de sa taille, montrant que le nœud peut se relocaliser tout en restant compact (*cf.* Figures 4.1.1.d et 4.1.1.f). Ce type de comportement dynamique a été observé expérimentalement en nœuds de ADN produits avec des pinces optiques [Arai *et al.*, 1999 ; Bao *et al.*, 2005].

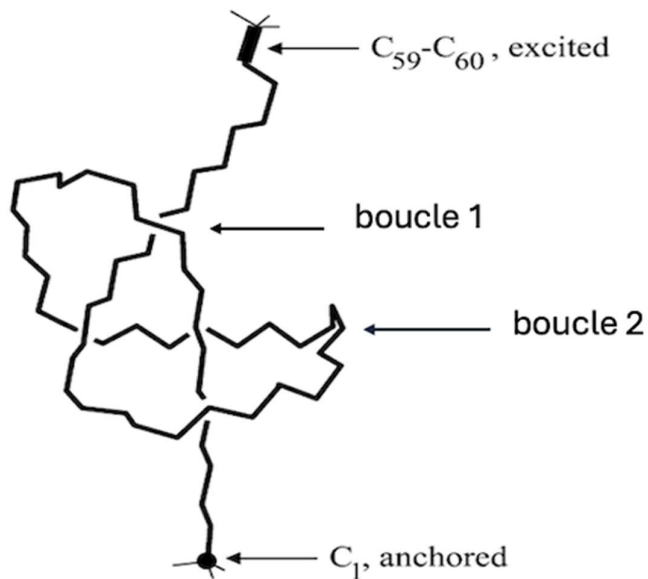


Figure 4.1.1.c : Conformation d'une chaîne de polyéthylène ($C_{60}H_{122}$) dans une boucle trèfle transitoire. Seuls les atomes d'hydrogène terminaux sont indiqués. Il s'agit de l'une des deux structures initialement nouées utilisées pour étudier les transitions d'étirement. Les simulations de dynamique moléculaire dirigée sont réalisées en étirant ou en comprimant la dernière liaison C-C. Après la perturbation vibrationnelle, la chaîne est laissée se détendre pendant 5 ps tout en maintenant les atomes de carbone terminaux (C_1 et C_{60}) ancrés. Les variations de longueur de la liaison étaient modestes (de 1,54 Å à 1,8 Å pour l'étirement et à 1,3 Å pour la compression), ce qui permettait de générer des mouvements globaux et locaux tout en maintenant la chaîne proche de l'équilibre. [Figure adaptée de Arteca (2004).]

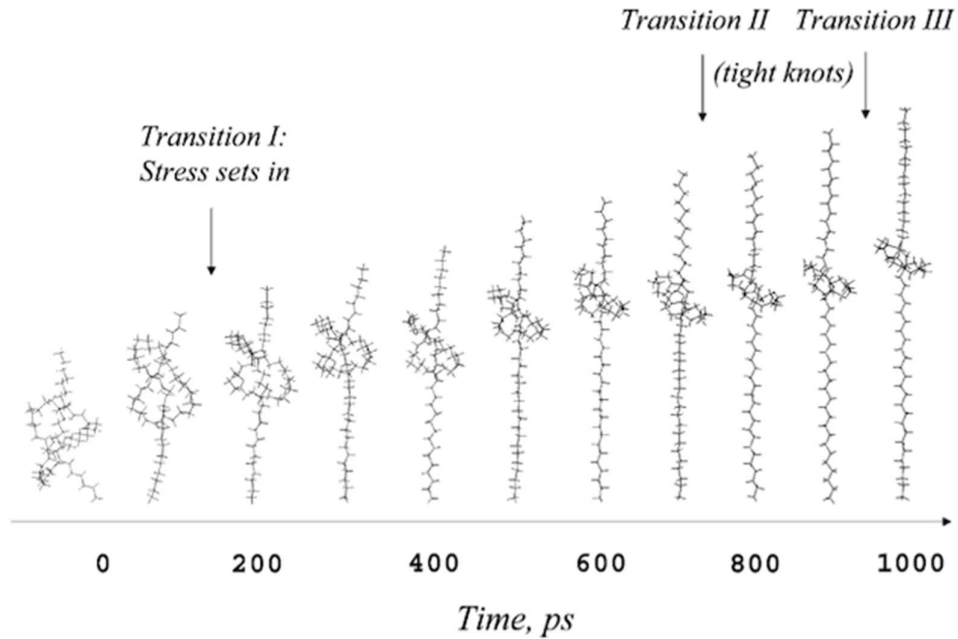


Figure 4.1.1.d : Sélection d’instantanés extraits d’une trajectoire de dynamique moléculaire sous étirement. Les transitions configurationnelles sont indiquées en fonction des changements qualitatifs de la forme et de la position du nœud. La Transition I montre que la contrainte externe redresse la chaîne et forme une boucle centrale rigide. Pour $t > 200$ ps, les segments supérieurs et inférieurs (« *tethers* ») tournent spontanément autour de leurs axes locaux tout en conservant des conformations quasiment « *all-trans* ». Pendant cette phase, le nœud se positionne au centre et se resserre progressivement, le resserrement maximal étant indiqué par la Transition II. La Transition III correspond au déplacement du nœud le long de la chaîne, rendu possible par un couplage aux rotations internes, alors que sa taille maximale reste constante. [Arteca, 2004]

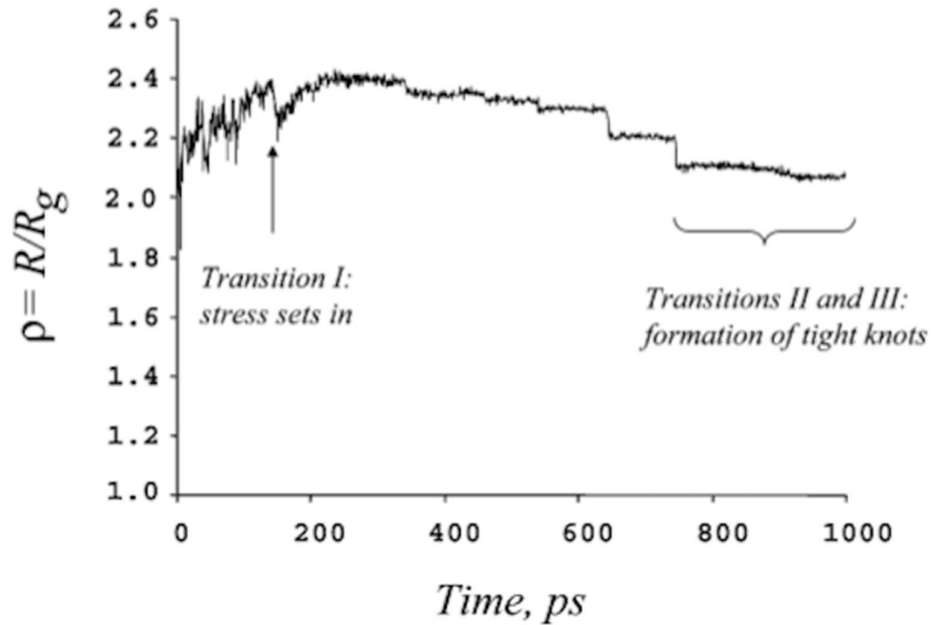


Figure 4.1.1.e : Évolution du ratio de taille $\rho = R/R_g$ le long de la trajectoire correspondant aux instantanés présentés dans la *Figure 4.1.1.d*. La transition I, correspondant à la formation de la boucle nouée rigide, se manifeste par de fortes oscillations de ρ . Des chutes soudaines de ρ pour $t > 600$ ps indiquent l'effondrement progressif de la boucle nouée, jusqu'à atteindre une valeur minimale après la transition II. La transition III, durant laquelle le nœud se déplace le long de la chaîne, se produit à valeur de ρ constante, indiquant que la taille et la forme de la boucle restent presque constantes. [Arteca, 2004]

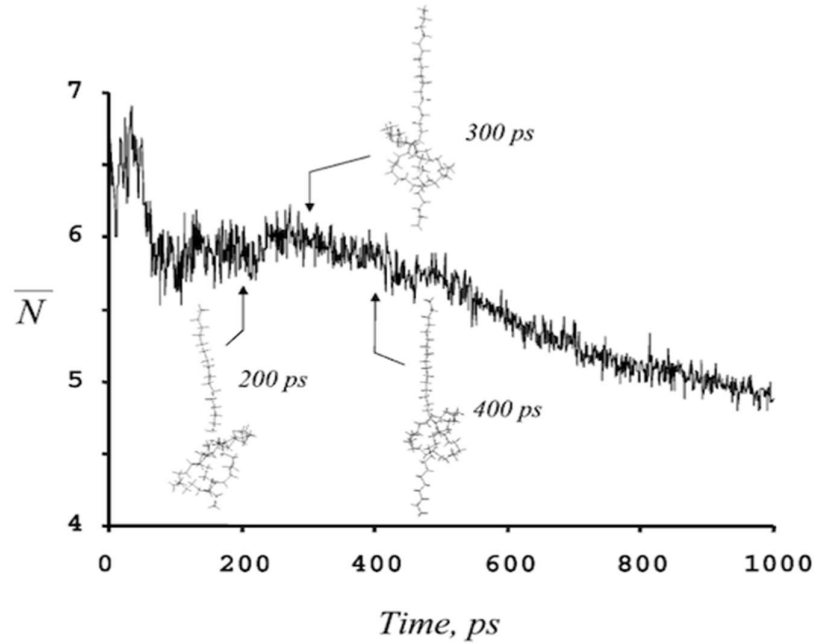


Figure 4.1.1.f: Évolution du nombre de croisements projetés \bar{N} le long d'une trajectoire présentant des phénomènes de quasi-dénœudage (en anglais, « *unknoting* »), de déplacement et de resserrement du nœud. Le quasi-dénœudage se manifeste par une diminution de \bar{N} à $t \approx 70$ ps. Sous l'effet d'une force externe, le nœud finit par se déplacer le long de la chaîne, entraînant une augmentation de \bar{N} . Enfin, \bar{N} diminue à nouveau lorsque la contrainte externe provoque le resserrement de la boucle nouée. Toutes ces transitions se produisent alors que la distance de bout-en-bout h_{ee} (« *end-to-end* », en anglais) et le rayon de giration R_g augmentent linéairement, sans présenter de caractéristiques visibles distinctes.

Les résultats discutés ci-haut illustrent la capacité des simulations de dynamique moléculaire pilotée à décrire finement les transitions structurales d'une chaîne polymérique nouée soumise à une contrainte mécanique. Pour ces approches, l'un des principaux avantages est la description à la fois dans le temps et dans l'espace. En effet, les transitions successives I, II et III sont suffisamment identifiées pour établir le passage de l'activation locale, qui consiste au resserrement du nœud, au relâchement de la contrainte. De plus, la cohérence entre les observables dynamiques ($\rho = R/R_g$, nombre moyen de croisements projetés \bar{N}) et la description qualitative des instantanés confirme la robustesse du protocole employé. Les chaînes reçoivent des perturbations d'étirement de liaison C-C de 1.3 à 1.5Å (ou de $C_\alpha-C_\alpha$ jusqu'à 1.8Å) et sont maintenues en équilibre, ce qui est un exploit, car cela constitue un autre atout méthodologique, puisqu'il permet de suivre des phénomènes réalistes sans altérer la stabilité interne du polymère.

Ces résultats contribuent donc à une meilleure compréhension des mécanismes de resserrement et de migration des nœuds dans les macromolécules, phénomènes cruciaux pour la mécanique des polymères et des acides nucléiques.

Cependant, certaines limites doivent être soulignées. Tout d'abord, les échelles de temps considérées (≤ 1 ns) restent très limitées et ne permettent pas d'étudier les phénomènes dénouement et relaxation dans des échelles plus longues, qui caractérisent les systèmes polymériques dans la réalité. De plus, la

taille du système ($C_{60}H_{122}$) utilisée en Arteca (2004) est encore un peu modeste, ce qui empêche de faire des généralisations concernant des polymères plus longs ou d'autres conditions thermodynamiques. Contrainte sur les mouvements globaux, la fixation des atomes de bout (C_1 et C_{60}) dénote une restriction artificielle qui peut biaiser la dynamique globale. C'est un point essentiel souligné par les auteurs eux-mêmes, aucune preuve n'indique que le nœud de polyéthylène puisse rester piégé dans une conformation effondrée stable pendant un temps significatif. Au contraire, le nœud semble se détendre, se regonfler, et se déplacer de manière continue et réversible sous l'effet des compressions périodiques, sans demeurer ancré ou localisé mécaniquement pour des périodes significatifs de temps [Tsironis *et al.* 2003 ; Mingaleev *et al.* 2002]. Il faut aussi noter que la nature transitoire de la boucle nouée et l'amplitude très réduite des perturbations appliquées peuvent amener à confondre des fluctuations thermiques qui sont intrinsèques au système et des transitions structurelles qui sont significatives [Vologodskii, 2005].

4.1.2. ADN circulaire (cDNA)

Le cDNA est une configuration topologique dans laquelle les deux brins de la double hélice sont reliés pour former une molécule fermée (boucle) dépourvue d'extrémités libres. Cette géométrie confère à la molécule des propriétés mécaniques et dynamiques distinctes de celles de l'ADN linéaire discuté dans la section précédente. En effet, en l'absence d'extrémités libres susceptibles de tourner ou de se relâcher, les contraintes torsionnelles ou de surenroulements générés par des forces mécaniques ou des processus biologiques restent confinées à l'intérieur de la boucle [Bustamante *et al.*, 2016]. Ce confinement topologique est à l'origine d'un éventail de comportements particuliers, parmi lesquels le superenroulement (en anglais, « *supercoiling* »), la formation de plectonèmes (c'est-à-dire, des domaines où le superenroulement produit des boucles hélicoïdales entrelacés) [Benham, 1979 ; Vologoskii & Cozzarelli, 1994 ; Skoruppa & Carlon, 2022], la variation du « *twist* » (T_w) et de l'ondulation ou « *writhe* » (W_r), et la possible apparition de zones de dénaturation locale sous contrainte [Fuller, 1971, 1978 ; Marko, 1997, 2007 ; Nomidis *et al.*, 2017 ; Skoruppa *et al.*, 2018 ; Nomidis *et al.*, 2019a].

Le cDNA n'est pas rare dans la nature : on la retrouve notamment dans les plasmides bactériens, l'ADN mitochondrial ou chloroplastique, ainsi que dans certains virus à ADN [Benham, 1979 ; Alberts, 2002, 2008]. En raison de la

nature cyclique de ces molécules, elles sont incapables de se libérer des contraintes mécaniques par rotation, surtout pendant la réplication, la transcription, ou lors du couplage de protéines. Ces activités nucléaires vont engendrer des enroulements internes sur la molécule d'ADN et par la suite des altérations de l'ADN sur le plan géométrique, témoignage des torsions d'ADN [Strick *et al.*, 1998]. Cela s'avère, d'un point de vue biophysique, extrêmement intéressant afin d'étudier l'impact d'une force externe appliquée sur une macromolécule topologiquement contrainte.

Dans le cadre du dépliement mécanique des macromolécules, le cDNA apparaît comme un parfait terrain d'étude. Sa topologie fermée implique la conservation du nombre de liens topologiques (« *linking number* », L_k) [Bates & Maxwell, 2005], en fonction de deux propriétés géométriques (c'est-à-dire, non-topologiques), selon le résultat du théorème de Călugăreanu-White-Fuller [Călugăreanu, 1961 ; White, 1969 ; Fuller, 1971 ; Fuller, 1978 ; Denis & Hannay, 2005] :

$$L_k = T_w + W_r, \quad (4.1)$$

où T_w représente la torsion de la double hélice et W_r la courbure réelle de l'axe de la molécule [Bates & Maxwell, 2005]. Lorsque la tension (force longitudinale) ou un couple de torsion est appliqué, la molécule peut réagir par un étirement élastique, formant des plectonèmes pour soulager la torsion, ou par des

changements structurels locaux, tels que des « bulles » de dénaturation et des courbures [Lankas *et al.*, 2006]. Ces changements de conformation sont particulièrement pertinents en ce qui concerne la mécanique des polymères biologiques et l'impact du stress appliqué de l'extérieur.

Les travaux récents combinent simulations de dynamique moléculaire (MD), modélisation topologique et expériences de manipulation moléculaire pour quantifier ces effets. Par exemple, des études exploitent des techniques de MD pilotée (SMD) lorsque des contraintes dédiées sont appliquées, ou des simulations de surenroulement-relaxation pour observer la réponse de molécules circulaires [Fosado *et al.*, 2017].

Un nombre d'études récentes visent à élucider la réponse mécanique et topologique de l'ADN superenroulé soumis simultanément à une tension longitudinale et à un couple torsionnel, conditions analogues à celles rencontrées lors de la transcription ou de la réplication [Nomidis *et al.*, 2017 ; Skoruppa *et al.*, 2018 ; Nomidis *et al.*, 2019a,b ; Nomidis *et al.*, 2022]. Pour cela, les auteurs ont couplé une approche mésoscopique intégrant de la dynamique moléculaire (MD) et une approche statistique continue inspirée du modèle de la chaîne élastique vermiforme tordue (en anglais, « *twistable wormlike chain* », TWLC). Ce modèle est basé sur la théorie des polymères semi-flexibles et caractérise l'énergie totale de la molécule comme une somme des contributions de courbure, de torsion et d'étirement. En intégrant les résultats du modèle continu avec les trajectoires obtenues à partir de la dynamique moléculaire, les auteurs ont pu

mesurer la formation de plectonèmes, redistribution du couple torsionnel entre les segments, et changements locaux de torsion et d'ondulation (*writhing*).

Les résultats obtenus indiquent que lorsque le cDNA subit une augmentation graduelle de torsion à tension constante, il passe de façon remarquable d'un état homogène de torsion (où la torsion est uniforme ou répartie le long de la molécule) à un état plectonémique localisé, où l'excès de torsion est absorbé par la formation d'une boucle hélicoïdale compacte [Pyne *et al.*, 2021], un effet illustré chez la Fig. 4.1.2.1. Les simulations révèlent que la nucléation du plectonème se produit de manière coopérative : une fois initiée, la structure se propage rapidement, entraînant une chute abrupte de la torsion interne et une augmentation du « *writhe* » (ondulation, enroulement). De plus, la transition est réversible : lorsque la tension externe est relâchée, l'ondulation se détend, le plectonème se défait, dissolvant l'ADN à plat. Ces auteurs relèvent de l'ADN superenroulé le plus de plasticité mécanique, à ces transitions dynamiques qui oscillent entre plusieurs états de plectonèmes et un état déplié [Forth *et al.*, 2008 ; Skoruppa *et al.*, 2018 ; Nomidis *et al.*, 2019a ; Skoruppa & Carlon, 2022].

Une analyse plus détaillée concernant l'équilibre énergétique indique que le coût de l'enthalpie à former le plectonème est contrebalancé par un gain en entropie dû à la délocalisation de la torsion résiduelle. La redistribution de la force entre la torsion et l'enroulement dénote la flexibilité topologique du système et fait loi : $L_k = T_w + W_r$ dans un contexte non-linéaire.

Les simulations de MD révèlent aussi des dénaturations au sein des zones locales (boucles de plectonèmes), en suggérant ainsi que la torsion extrême peut fragiliser les liaisons hydrogène des bases et induire des transitions conformationnelles locales vers des états partiellement fondus. Ces effets sont illustrés dans les Figures. 4.1.2.1, 4.1.2.2, et 4.1.2.3 [Pyne *et al.*, 2021].

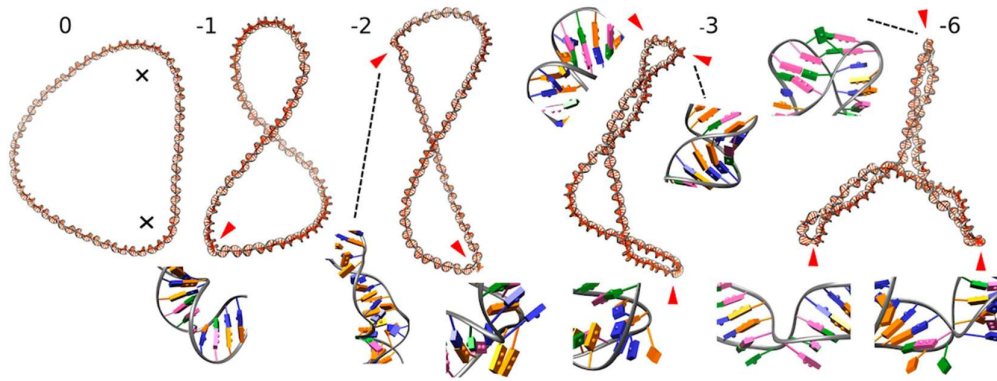


Figure 4.1.2.1 : Structures moyennes issues des simulations de dynamique moléculaire (MD) montrant une augmentation de la formation de défauts avec le degré de superenroulement. Les valeurs indiquées au-dessus de chaque structure correspondent au nombre de supertours imposés (ΔL_k). [Pyne *et al.*, 2021]

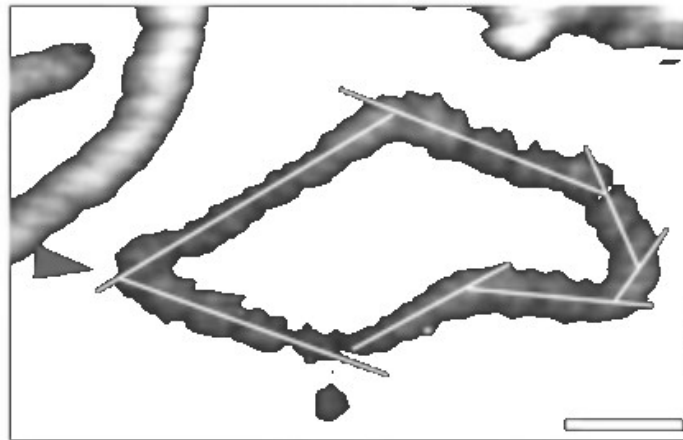


Figure 4.1.2.2 : Cette image présente des observations de microscopie à force atomique (AFM) sur le cDNA naturellement superenroulé (en anglais, « *supercoiled* »). (Les lignes blanches tracent le contour de la molécule d'ADN sur les images topographiques obtenues à haute résolution (barre d'échelle : 10 nm, échelle de hauteur : 2,5 nm). Ces mesures permettent de déterminer directement les angles de courbure locaux le long de la molécule. L'objectif est de comparer les angles observés expérimentalement à ceux obtenus dans les simulations MD, afin de valider la cohérence entre les données expérimentales et la modélisation. (Illustration générée à fait pédagogique.)

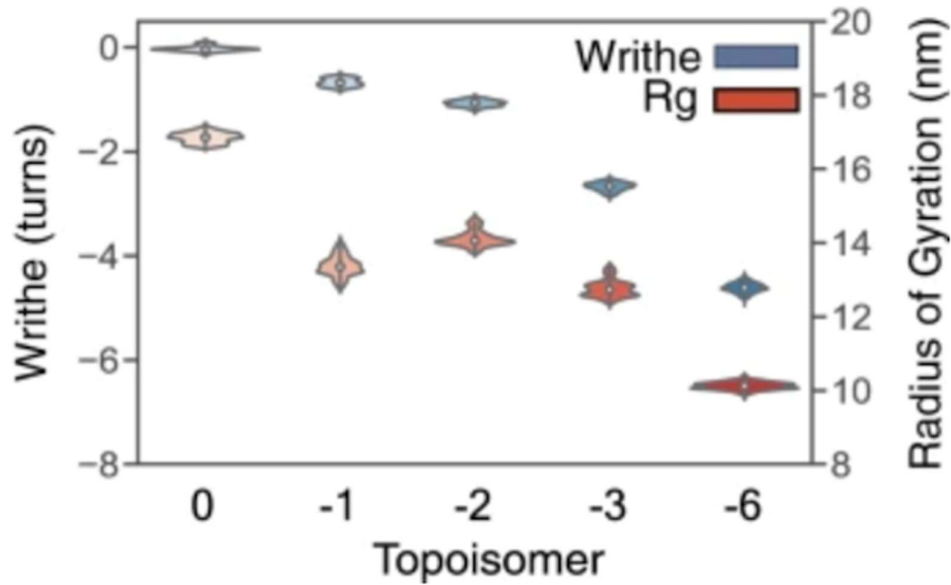


Figure 4.1.2.3 : Rayon de giration (R_g) et enroulement (W_r , *writhe*) selon le degré de superenroulement. (Ce graphique présente deux grandeurs globales extraites des simulations MD : le rayon de giration (R_g), qui mesure la compacité globale de la molécule et le *writhe* (W_r), qui quantifie l'enroulement spatial du double brin autour de lui-même. Les résultats montrent que lorsque le superenroulement augmente (ΔL_k plus négatif) : R_g diminue, indiquant que la molécule devient plus compacte et W_r augmente, traduisant une plus grande torsion géométrique (formation de plectonèmes). Les zones grises indiquent l'écart-type (variabilité statistique) calculé sur plusieurs instantanés de la simulation. Ensemble, ces paramètres confirment que la tension topologique se traduit par une compaction mécanique progressive et par la formation de défauts structuraux localisés). [Pyne *et al.*, 2021]

Le travail de Pyne *et al.* (2021) apporte une contribution majeure à la compréhension de la mécanique du cDNA superenroulé soumis à des forces externes. Une force significative de ce travail est la capacité à combiner des simulations avec des modèles analytiques (*p.ex.*, *MD mésoscopique*) avec un modèle statique continu de type *twistable wormlike chain (TWLC)* pour corrélérer les observables mécaniques (couple, force, extension) à la géométrie globale de la molécule. Ainsi, les auteurs rapportent avec succès la description cohérente de la nucléation, de la propagation et de la relaxation des plectonèmes, tout en conservant la topologie circulaire fermée du système, en accord avec les résultats expérimentaux obtenus à partir des pinces magnétiques à ADN [Strick *et al.*, 1996 ; Forth *et al.*, 2008].

En effet, l'un des principaux atouts de ce travail est l'approche multi-échelle intégrée. En effet, la combinaison des deux modèles qui est capable de relier les observables microscopiques, tirées des trajectoires MD comme le rayon de giration, le *writhe* et le *twist*, à la déformation macroscopique et à la description de la molécule. Ce couplage est en fait, une avancée par rapport à des modèles purement analytiques classiques [Marko & Siggia, 1997 ; Moroz & Nelson, 1998], souvent incapables de reproduire les fluctuations locales et les transitions de l'ordre conformationnel. De plus, le maintien du *Linking number* (L_k) et de la topologie fermée dans les simulations, permet de laisser une modélisation de l'ADN circulaire. Ce point précise l'excellence de l'étude, car elle reproduit les transitions topologiques, des observations faites dans des expériences de pinces

magnétiques et d'AFM [Strick *et al.*, 1996; Ellis *et al.*, 2006 ; Forth *et al.*, 2008; Lyubchenko *et al.* 2016]

Les résultats présentés montrent que, sous l'effet d'une torsion croissante, l'ADN subit une transition nette entre un état homogène torsionné et un état plectonémique compact, où la torsion se convertit en enroulement spatial (augmentation de l'ondulation ou « *writhe* »). Le superenroulement se transforme de façon coopérative et réversible dans cet exercice, mettant à disposition une autre partie de l'énergie mécanique stockée dans la molécule, un mécanisme qui pourrait être directement lié à la régulation structurale du génome [Pyne *et al.*, 2021 ; Skoroppa & Carlon, 2022]. Les simulations révèlent également que la formation des défauts locaux (zones de courbure extrême ou partiellement fondues) devient plus fréquente lorsque le degré de superenroulement négatif augmente, confirmant la corrélation entre contraintes topologiques et instabilités locales dans la double hélice.

Sur le plan critique, cette méthode possède néanmoins quelques limitations intrinsèques. À commencer par le fait que les échelles temporelles abordables par les simulations MD, qui se chiffrent uniquement en nanosecondes à microsecondes, sont bien inférieures des temps caractéristiques des transitions expérimentales qui, elles se chiffrent en millisecondes, voir en plusieurs secondes. Il en résulte que certains processus lents, telles que la migration complète d'un plectonème ou la relaxation de la torsion ne peuvent être directement observés [Sutthibutpong *et al.*, 2016]. À l'inverse, des méthodes

stochastiques comme la dynamique brownienne ou les approches de Monte Carlo [Rybenkov *et al.*, 1997 ; Vologodskii, 2009] permettraient d’allonger le temps de simulation, mais cela se fait au prix d’une dégradation de la résolution structurelle.

De plus, la simplification excessive de la structure de l’ADN dans le modèle mésoscopique, dans lequel l’ADN est traité comme une chaîne élastique homogène, ignore la dépendance de la séquence et les effets de l’environnement ionique, qui affectent la flexibilité locale et la stabilité des défauts structurels [Lankas *et al.*, 2006 ; Mitchell & Harris, 2013]. Une telle perspective détaillée pourrait être atteinte grâce à une simulation atomistique complète avec effets électroniques *ab initio* [*p.ex.*, Parrinello & Karplus, 1981 ; Carloni *et al.*, 2002], bien qu’elle soit significativement plus exigeante en termes de ressources informatiques.

4.2. Facteurs influençant la déformation des acides nucléiques

4.2.1. Composition en bases et stabilité interne

Une des questions les plus importantes de la biophysique moléculaire réside dans la compréhension des mécanismes de déformation des acides nucléiques sous contrainte externe, étant donné que l'ADN devient partiellement compactifié et de-compactifié de façon régulière, et extraordinairement efficace, dans la cellule [Alberts *et al.*, 2002, 2008].

Une chaîne d'ADN, soit brin simple (monocaténaire, ssDNA), double brin (bicaténaire, dsDNA) ou circulaire (cDNA), réagit à des forces mécaniques, à la torsion et aux changements environnementaux à travers des transitions conformationnelles spécifiques. Ces transitions reflètent un équilibre subtil entre les forces intramoléculaires (liaisons hydrogène, interactions d'empilement, forces électrostatiques) et les conditions extrinsèques (température, pH, salinité, confinement géométrique).

Dans ce qui suit, nous faisons la synthèse des principaux éléments, axés sur la déformation de l'ADN sous l'action de force, en mettant en exergue les différences des réponses de ssDNA, dsDNA, et cDNA, étayée par la littérature expérimentale et théorique récente.

La composition en bases nucléiques constitue l'un premier déterminant de la réponse mécanique de l'ADN. En effet, les paires de bases GC (guanine-cytosine) forment trois liaisons hydrogène entre elles, tandis que les paires AT (adénine-thymine) en forment deux. Cette différence privilégie en termes de stabilité thermique et mécanique les régions en GC. Au contraire, les régions en AT sont plus facilement ouvertes, et se dénaturent plus facilement sous l'effet d'une contrainte mécanique ou changement de température [SantaLucia & Hicks, 2004 ; Yakovchuk *et al.*, 2006 ; Dohnalová *et al.*, 2024].

Cela a pu être démontré expérimentalement sur le dsDNA (bicatenaire), où l'on a vu que la sur-extension de la double hélice débute principalement dans les zones AT, où se forment des « bulles de dénaturation » suite à la rupture partielle de liaisons hydrogène [Cluzel *et al.*, 1996 ; Smith *et al.*, 1996].

Pour le ssDNA (monocatenaire, à brin simple), la composition en bases influence la formation de structures secondaires, telles que des épingles à cheveux (« *hairpins* »), des boucles et des croisements. Ces motifs créent une rigidité localisée qui ralentit la transition du biopolymère vers un état allongé. En étirant le chaîne du ssDNA, la rupture des structures secondaires contribue à la réponse non-linéaire du dépliement, laquelle ressemble le comportement des polypeptides α -hélicoïdaux, où la rupture des hélices- 3_{10} se produit juste avant le dépliement complet de la protéine [Arteca, Reimann & Tapia, 2001a ; Arteca, 2003 ; Li & Arteca, 2005]. Ainsi, la séquence primaire module la plasticité conformationnelle

de l'ADN, en déterminant la stabilité des appariements et la capacité de la molécule à absorber ou redistribuer les contraintes externes.

4.2.2. Effets du milieu ionique et du pH

Le squelette phosphate de l'ADN est chargé négativement. Cette charge génère des répulsions électrostatiques qui tendraient à déstabiliser la double hélice si elles n'étaient pas compensées par la présence d'ions positifs dans le milieu. Les cations, qu'ils soient monovalents (Na^+ , K^+) ou divalents (Mg^{2+} , spermidine $^{3+}$), fournissent une neutralisation variable des charges de l'arrière-plan, stabilisant ainsi la structure et réduisant la rigidité du polymère [Rouzina & Bloomfield, 2001]. Un pH extrême ou une faible force ionique favorisent la dénaturation ; en revanche, une force ionique élevée stabilise la double hélice et augmente la longueur de persistance, une mesure de la rigidité du polymère.

Dans les ADN circulaires ou superenroulés, les effets ioniques deviennent particulièrement importants. En effet, les structures topologiquement fermées ne permettent pas la dissipation des charges le long de la liaison, amplifiant ainsi l'impact des interactions électrostatiques internes. Gross *et al.* (2011) ont démontré que la force ionique influence la réponse élastique de l'ADN à la torsion. À faible concentration en sel, la dénaturation locale est plus probable; en revanche, les ions multi-valents stabilisent les pléctonèmes et minimisent les fluctuations d'enroulements (*writhe*).

4.2.3. Température et transitions thermiques

La température joue un rôle déterminant dans la stabilité conformationnelle de l'ADN. Lorsque la température augmente, les liaisons hydrogène et les interactions d'empilement commencent à se dissocier, ce qui entraîne ce que l'on appelle la transition de fusion ou de dénaturation [Peyrard & Bishop, 1989]. Cette transition se fait de manière coopérative : lorsque la rupture d'une paire de bases se produit, cela va de paire avec la déstabilisation de l'ensemble de la structure et cela entraîne la formation de « bulles » locales. Certaines études utilisant la spectroscopie et d'autres se basant sur des simulations ont montré que ces transitions sont, en fait, déterminées par la composition en bases et les conditions ioniques environnantes [Privalov, 1990].

En ce qui concerne le ssDNA, la température affecte la cinétique de repliement, ainsi que la stabilité des conformères générés, de façon compliquée. Par exemple, les cycles thermiques peuvent au même engendrer la formation et la déformation des structures secondaires comme les épinglettes et les boucles [Zhou *et al.*, 2001 ; Dohnalová *et al.*, 2024]. Ces cycles thermiques en conjonction avec des forces mécaniques, limitent les repliements et les dépliements des acides nucléiques, ce qui influence leur comportement dans des environnements biologiques qui sont en constante évolution [Nostheide, 2014 ; Nostheide *et al.*, 2014].

4.2.4. Contraintes mécaniques : traction et torsion

L'application d'une force mécanique externe sur une molécule d'ADN provoque des transitions conformationnelles spécifiques, dont la nature dépend du type de contrainte appliquée. Lorsque la contrainte est appliquée à l'ADN linéaire bicaténaire, la mécanique suit la séquence qui est [Kastenholtz *et al.*, 2006, De Silva & Pérez, 2025]:

- (1) une région élastique entropique, où la molécule se redresse progressivement ;
- (2) une région de sur-étirement ou « *overstretching* » où l'ADN passe d'un état B à un état S partiellement dénaturé ;
- (3) enfin, une séparation complète des brins pour des forces supérieures au environ de 70–80 pN [Smith *et al.*, 1996; Cluzel *et al.*, 1996].

Des expériences de traction à force constante ont également révélé que l'ADN s'enroule sur lui-même lorsqu'il est tiré [Gore *et al.*, 2006], phénomène attribué à la conversion de la torsion en enroulement (« *writhing* »).

Pour le ssDNA, la déformation se traduit par la rupture des structures secondaires internes et l'adoption de la forme étirée quasi-linéaire [Tinland *et al.*, 1997]. Contrairement au dsDNA, le ssDNA est déformé plus plastiquement, ce qui est attribuable à l'absence d'appairage inter-brin.

En ce qui concerne le cDNA, les contraintes de torsion qui se concentrent dans la boucle induisent la formation de plectonèmes et de zones localement dénaturées [Skoruppa *et al.*, 2018 ; Nomidis *et al.*, 2022]. Avec l'aide de simulations de dynamique moléculaire et d'un modèle de chaîne élastique tordue, on observe que le cDNA peut passer de l'état de torsion uniforme à l'état plectonémique localisé de manière coopérative et réversible. Ces transitions, semblables à des transitions de phase mécaniques, montrent la redistribution de la torsion interne de l'ADN en ondulations, ce qui témoigne de la plasticité des superenroulements [Nomidis *et al.*, 2019b].

4.2.5. Topologie moléculaire et circularité

La topologie joue un rôle fondamental dans la mécanique des acides nucléiques. Le cDNA, caractérisé par l'absence d'extrémités libres, obéit à la loi de conservation du nombre de liens topologiques L_k citée avant, selon le théorème de Călugăreanu-White-Fuller : $L_k = T_w + W_r$. [Călugăreanu, 1961 ; White, 1969, Fuller, 1971 ; Bates & Maxwell, 2005]. Cette contrainte impose que toute variation du *twist* soit compensée par une modification du *writhe*, empêchant la relaxation spontanée du surenroulement. Sous tension ou torsion, le cDNA se tord de façon à créer d'avantage des super-hélices (les plectonèmes), afin de réduire son énergie libre. Ces déformations topologiques sont essentielles pour comprendre les processus biologiques tels que la transcription, la réplication et la recombinaison, où des contraintes similaires sont modifiées par l'action d'enzymes topoisomérases [Vologodskii, 2009].

Les études expérimentales de Strick *et al.* (1996) et de Forth *et al.* (2008) ont confirmé que ces transitions se produisent de manière abrupte et réversible, soulignant le caractère dynamique du superenroulement. Ces résultats sont corroborés par les simulations de MD [Skoruppa *et al.*, 2018 ; Nomidis *et al.*, 2022], qui reproduisent avec fidélité les transitions torsion-enroulement et les zones de dénaturation locale observées par microscopie à force atomique [Lyubchenko & Shlyakhtenko, 2016].

4.2.6. Interactions hydrophobes et hydratation

L'hydratation est un facteur clé pour la stabilité de la mécanique de l'ADN. La couche d'eau qui entoure la double hélice stabilise les liaisons hydrogène et contribue à la flexibilité du squelette. Des modifications de l'hydratation peuvent induire des transitions de forme hélicoïdale, notamment les transitions B→A ou B→Z, qui modifient la torsion et la géométrie de la molécule [Rich & Zhang, 2003 ; Kastenholz *et al.*, 2006, De Silva & Pérez, 2025]. Ces transitions, accentuées dans les ADN circulaires ou fortement surenroulés, témoignent de la capacité de la molécule à adapter sa conformation à des contraintes locales extrêmes.

L'ADN Z, par exemple, présente des caractéristiques d'enroulement à gauche et une géométrie alternative, s'assemble de façon préférentielle dans les séquences riches en GC et en conditions de forte salinité [Yi *et al.*, 2022 ; Krall *et al.*, 2023]. Ces changements géométriques, à la fois dans la conformation et dans l'ADN, affectent la réponse mécanique de la molécule ainsi que l'accessibilité biologique en modulant la reconnaissance par les protéines régulatrices.

4.3. Aspects de recherche qui demeurent incomplets

Même avec les progrès remarquables réalisés au cours des dernières décennies, il existe encore certains aspects fondamentaux de la recherche concernant la déformation des acides nucléiques qui sont soit incomplets, soit représentent encore un domaine de controverse.

Expérimentalement, l'utilisation de pinces optiques ou magnétiques, ainsi que la microscopie à force atomique (AFM) a permis de tester, avec un grand degré de précision, la réponse de l'ADN aux tensions et torsions mécanique [Smith *et al.*, 1996 ; Forth *et al.*, 2008 ; Lyubchenko & Shlyakhtenko, 2016]

Cependant, ces techniques sont contraintes à des échelles de temps d'environ une milliseconde, ce qui ne permet pas l'observation des dynamiques de relaxation lentes, de la migration des superenroulements ou de la transmission des défauts structurels qui se produisent sur des échelles de temps de secondes à minutes associées aux processus biologiques [Sutthibutpong *et al.*, 2016]. De plus, les conditions expérimentales utilisées, soit avec milieux salins homogènes, soit avec l'ADN en absence de protéines associées, s'éloignent fortement des environnements cellulaires réels.

Dans la cellule, l'ADN interagit à chaque instant avec des protéines structurelles et enzymatiques (p.ex., les histones, polymérase, topoisomérase)

qui, par la torsion, la compaction et la flexibilité, modifient l'ADN localement [Bates & Maxwell, 2005 ; Dittmore *et al.* 2017]. Ces enzymes agissent en couplant la torsion, la coupure et la reconnexion de brins, processus dont la dynamique n'est pas encore bien connue en détail à l'échelle moléculaire.

La compréhension complète de ces mécanismes nécessite une approche multi-échelle, combinant la dynamique moléculaire (MD) semiclassique, les modèles statistiques continus et la chimie quantique pour les phénomènes électroniques locaux, afin d'évaluer la contribution énergétique de chaque interaction [Sutthibutpong *et al.*, 2016; Nomidis, 2020 ; Nomidis *et al.*, 2021]. En autres mots, l'ADN biologique présente un comportement dynamique et topologique qui n'est pas pleinement décrit par des études effectuées *in vitro* et/ou *in silico*.

Du point de vue théorique, les modèles continus tels que la *wormlike chain* (WLC) et sa version tordue (*twistable TWLC*) ont fourni une description efficace du comportement élastique global de l'ADN sous traction et torsion [Marko & Siggia, 1997 ; Nomidis *et al.*, 2022 ; Andersen *et al.*, 2021 ; Andersen, 2025]. Pourtant, ces approches mésoscopiques, basées sur une description moyenne du polymère, ignorent la dépendance fine à la séquence et les effets locaux d'hydratation, d'empilement des bases, et de fluctuations ioniques. Elles ne parviennent pas non plus à rendre compte de la variabilité conformationnelle au

sein de noyaux particuliers, par exemple des régions riches en A–T, plus flexibles, et en G–C, plus rigides [SantaLucia & Hicks, 2004 ; Yakovchuk *et al.* 2006].

Les simulations de MD, bien qu’elles offrent un cadre atomistique plus détaillé, présentent elles aussi des limitations importantes, en commençant avec leur dépendances du champ de force utilisé [Tucker *et al.*, 2022]. Leur coût computationnel élevé restreint la taille des systèmes et les temps de simulation accessibles, empêchant d’explorer des transitions lentes et coopératives comme la migration des plectonèmes ou la relaxation topologique de l’ADN circulaire [Lankas, *et al.* 2006 ; Mitchell & Harris, 2013]. Comme le soulignent les avancées récentes en informatique parallèle et en modèles hybrides (ou « *coarse grained* », « *multiscale* ») mésoscopiques [Scacchi *et al.*, 2024], atteindre des échelles de temps biologiquement pertinentes (microsecondes à secondes) pour intégrer les phénomènes simulés avec les observations expérimentales reste un défi [Nomidis, 2020 ; Nomidis *et al.*, 2022].

Par ailleurs, les simulations classiques se fondent sur des champs de force paramétrés en conditions idéalisées, qui négligent souvent les effets quantiques, la polarisation électronique et la dynamique explicite des solvants [Tucker *et al.*, 2022]. Ces simplifications conduisent à une sous-estimation des transitions coopératives et des effets de couplage entre torsion, tension et dénaturation partielle [Peyrard & Bishop, 1989 ; Sutthibutpong *et al.*, 2016 ; Fernández Migens *et al.*, 2025].

Chapitre 5. Conclusion et directions futures

5.1. Implication de la dynamique moléculaire pour la compréhension des mécanismes de dépliement de biopolymères

L'étude du dépliement mécanique des biopolymères, qu'il s'agisse de protéines, de peptides ou d'acides nucléiques, repose sur une compréhension fine de la manière dont les forces externes perturbent les équilibres internes de stabilisation.

La dynamique moléculaire s'impose aujourd'hui comme l'un des outils les plus puissants pour examiner ces questions aux échelles atomiques et mésoscopiques. En effet, elle permet de relier les interactions locales, telles que les liaisons hydrogène, l'empilement, les interactions électrostatiques et hydrophobes, aux déformations collectives à grande échelle au niveau du polymère. À travers de l'analyse des trajectoires de simulation, il est possible d'avoir une vision spatio-temporelle continue de la transition entre états compacts et étirés, difficile à obtenir seulement par les approches expérimentales.

La dynamique moléculaire pilotée doucement (SSMD), notamment, a démontré son efficacité pour reproduire le comportement des macromolécules soumises à des forces externes [Arteca, 2003 ; 2004]. Dans le cas des chaînes polymériques simples telles que le polyéthylène greffé, on voit que les transitions

de configuration passant d'un état étiré à un état noué (ou compact) pouvaient être déclenchées par de faibles perturbations appliquées périodiquement sur une liaison terminale. Dans les trajectoires, ces transitions ont été signalées comme des étapes distinctes (I, II et III) et illustrent le resserrement local enclenché par la contrainte mécanique qui provoque la migration d'un nœud le long de la chaîne.

Une telle observation est directement transposable à la compréhension de l'ADN, où les nœuds ou superenroulements peuvent se déplacer de manière réversible sous l'effet d'une force ou d'un couple de torsion. La dynamique moléculaire reproduit ces comportements, montrant ainsi que, même dans un modèle simplifié, les phénomènes de réorganisation topologique sont gouvernés par les mêmes principes de couplage entre tension, torsion et flexibilité interne.

Concernant les acides nucléiques, la dynamique moléculaire permet de comprendre quelles interactions stabilisantes soutiennent la résistance mécanique de l'ADN. Des études sur l'ADN linéaire montrent que les processus de dépliage et de sur-étirement résultent d'un équilibre entre l'énergie de torsion, la force appliquée et le désengagement progressif des paires de bases de Watson-Crick [Smith *et al.*, 1996 ; Cluzel *et al.* 1996]. Les simulations montrent que la double hélice (dsADN) passe d'un état élastique (entropiquement riche) à un état de sur-étirement (entropiquement pauvre) dans lequel une dénaturation partielle au ADN simple brin (ssDNA) se produit sous l'influence d'une tension croissante.

Pour le cDNA, les simulations de MD ont montré la redistribution des composantes du *twist* (vrillage, T_w) et du *writhe* (ondulation, W_r) [Marko & Siggia, 1997 ; Mitchell & Harris, 2013]. Ces résultats illustrent l'importance de la topologie fermée : en l'absence de bouts libres, la torsion imposée se dissipe par la formation de plectonèmes, de boucles surenroulées, toutes capturées par des simulations mésoscopiques où la dynamique moléculaire couplée et un modèle de chaîne élastique tordue sont utilisées [Nomidis *et al.*, 2017 ; Nomidis *et al.*, 2019a,b].

Ainsi l'un des apports majeurs de la MD réside donc dans sa capacité à établir un pont entre les observations expérimentales (forces, extension, torsion) et la dynamique interne de la molécule [Vologoskii & Cozzarelli, 1994 ; Marko, 1997]. Par exemple, les simulations atomistiques révèlent que les transitions expérimentales du surenroulement (*supercoiling*) de l'ADN correspondent à des réarrangements locaux de la double hélice, tels que l'apparition de défauts ou la fusion de segments courts [Baranello *et al.*, 2012 ; Lyubchenko & Shlyakhtenko, 2016 ; Coronel *et al.*, 2018].

En outre, les analyses énergétiques obtenues par MD montrent que la formation d'un plectonème n'est pas seulement un phénomène mécanique, mais qu'elle implique une redistribution de l'énergie enthalpique et entropique au sein du système [Clauvelin *et al.*, 2008 ; Yoshida *et al.*, 2018]. L'augmentation de l'ondulation s'accompagne d'un relâchement de la torsion, ce qui diminue cette

torsion interne au prix d'une légère perte d'ordre local. Cette explication de l'énergie est l'une des clés de la compréhension des mouvements mécaniques de l'ADN. Les transitions de l'ADN de la torsion et les mouvements mécaniques de l'ADN sont également, en partie, responsables de la constitution sous contraintes.

Cependant, si bien les simulations de MD ont engrangé des réussites, la technique présente, au moins jusqu'aujourd'hui, des limitations pour représenter certains phénomènes à temps réel, p.ex., la relaxation des plectonèmes ou la migration d'un nœud sur de longues distances [Sutthibutpong *et al.*, 2016 ; Coronel *et al.*, 2018 ; Zheng *et al.*, 2024, 2025], deux transformations qui ont lieu dans le rang de millisecondes à secondes.

Par ailleurs, les modèles de simulation reposent sur des champs de force empiriques (tels qu'AMBER, CHARMM ou OPLS) dont la précision dépend du paramétrage et du solvant utilisé [Martín-García *et al.*, 2015]. La simplification excessive du problème conduit souvent à sous-estimer les interactions hydrogène, les forces ioniques et la flexibilité de la colonne vertébrale dynamique des sucres-phosphates, qui jouent tous des rôles clés dans la mécanique de l'ADN [Lankas *et al.*, 2006; Mitchell & Harris, 2013]. En outre, comme déjà cité ci-haut, les approches atomistiques sont encore insuffisantes pour inclure la complexité du milieu cellulaire, où la présence de protéines et d'ions multi-valents peut modifier considérablement la stabilité conformationnelle.

En revanche, les approches hybrides, qui associent les simulations de MD et modèles statistiques continus (p.ex., la chaîne élastique vermiforme tordue, TWLC), permettent de répondre à certaines de ces limitations. Ces approches offrent la possibilité de réaliser des simulations à des échelles mésoscopiques tout en conservant la fidélité structurale locale [Andersen *et al.*, 2021 ; Nomidis *et al.*, 2022]. C'est dans cette perspective que les travaux de constituent une avancée décisive, en rapportant directement des observables des simulations (rayon de giration, *writhe*, *twist*) aux éléments topologiques que l'on peut mesurer de façon expérimentale. Ces études montrent que les phénomènes de surenroulement, de formation de plectonèmes et de relaxation torsionnelle peuvent être unifiés et décrits dans une même approche multi-échelle cohérente.

En sommaire, les modélisations constituent des outils indispensables pour relier structure, dynamique, et fonction. Les méthodes théoriques éclairent la manière dont les biopolymères, qu'ils soient naturels ou synthétiques, convertissent l'énergie mécanique en réarrangements structuraux, un processus qui est au cœur des fonctions biologiques comme la réplication, la transcription, et la régulation du génome.

5.2. Perspectives des travaux futures et expériences proposées dans ce domaine

Les travaux présentés dans cette revue nous montrent la MD comme un outil puissant pour comprendre les mécanismes associés au repliement et dépliement des biopolymères. Cependant, malgré les avancées méthodologiques et conceptuelles récentes, un certain nombre de défis majeurs demeurent. Les travaux futurs devront se concentrer non seulement sur un raffinement des modèles de simulation et des protocoles expérimentaux, mais aussi sur leur intégration à différentes échelles, ainsi qu'aux processus de déformation qui se rapprochent de l'environnement biologique réel.

Une première voie intéressante se réfléchit par l'augmentation des dimensions temporelles et spatiales des simulations en dynamique moléculaire. Le dépliement et le surenroulement observés expérimentalement ont lieu sur des échelles temporelles de l'ordre de la milliseconde à la seconde, alors que les simulations semiclassiques de MD couvrent des microsecondes [Sutthibutpong *et al.*, 2016 ; Nomidis *et al.*, 2022]. Une des alternatives computationnelles avec promesse est celle de la dynamique moléculaire accélérée (aMD), où l'intégration des équations de mouvement sont combinées avec un échantillonnage statistique sur les barrières d'énergie [Hamelberg *et al.*, 2004 ; Jones *et al.*, 2022].

Parallèlement, l'adoption de modèles hybrides (« *coarse-grained* » ou « *multiscale* »), combinant une résolution atomistique locale à une description simplifiée des régions éloignées, offrirait un compromis efficace entre précision et faisabilité [Mitchell & Harris, 2013 ; Scacchi *et al.*, 2024].

Une autre piste essentielle concerne le lien entre simulation et expérimentation, qui demeure encore partiellement fragmenté. Les pinces optiques, les pinces magnétiques et la microscopie à force atomique (AFM) permettent de soumettre l'ADN et les protéines à des forces et des couples contrôlés, mais leur interprétation reste encore largement fondée sur des modèles statistiques simplifiés. Le couplage des trajectoires de dynamique moléculaire aux mesures expérimentales est susceptible de confirmer les prédictions sur la nucléation et la propagation des plectonèmes, la dénaturation locale et les transitions B→S sur le sur-étirement [Gross *et al.*, 2011 ; Lyubchenko & Shlyakhtenko, 2016] et la dénaturation locale. Des expériences inédites, qui allient la manipulation mécanique et l'observation directe, tel le couplage de microscopie confocale et des pinces magnétiques à double ancrage, permettraient de visualiser, en temps réel, la torsion des molécules d'ADN superenroulé.

D'un point de vue théorique, les recherches futures devraient viser à développer des modèles multi-échelles qui intègrent la topologie, la mécanique et le séquençage. Les approches basées sur le modèle de chaîne (*TWLC*)

pourraient intégrer des paramètres associés à la composition des bases, aux conditions ioniques et au pH pour tenir compte de la véritable diversité conformationnelle des acides nucléiques [Marko & Siggia, 1997 ; Bates & Maxwell, 2005]. D'autre part, l'intégration des approches hybrides de mécanique quantique/mécanique moléculaire (une technique appelée « QM/MM ») pourrait quantifier la contribution électronique aux forces stabilisatrices, en particulier dans les régions qui subissent des déformations extrêmes [Carloni *et al*, 2002]. Cela permettra une compréhension plus nuancée du couplage entre la structure électronique et la plasticité mécanique dans les biopolymères.

En somme, les orientations futures de la recherche dans ce domaine visent à étudier le dépliement des biopolymères dans un paradigme biologique, à savoir où l'ADN est soumis à une multitude de contraintes telles que le confinement nucléaire, les interactions protéine-ADN et les gradients ioniques. L'intégration de ces paramètres dans les simulations et les expériences permettrait de relier directement la mécanique moléculaire aux processus biologiques essentiels comme la transcription et la réplication. À long terme, une approche unifiée combinant des expériences, la modélisation théorique et les simulations multi-échelles, appuyée par l'intelligence artificielle pour analyser de vastes ensembles de données, pourrait révéler des lois universelles décrivant la réponse mécanique des biopolymères. Ces forces motrices principales, centrés sur l'extension des échelles de simulation, le rapprochement entre théorie et expérience, et la prise

en compte du milieu biologique réel, constituent une étape décisive vers une compréhension prédictive du comportement mécanique des macromolécules et de leur rôle fonctionnel dans la cellule.

Références

- Afanasyev, A. Y. & Onufriev, A. V. (2022). *J. Chem. Theory Comput.* 14: 3911-3920.
“Stretching of long double-stranded DNA and RNA described by the same approach.”
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). Garland Science, New York.
Molecular biology of the cell. [4th ed.]
- Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2008). Garland Science, New York.
Molecular biology of the cell. [5th ed.]
- Alexander, S., Hellemans., L., Marti, O., Schneir, J., Elings, V., Hansma, P.K. (1989). *J. Appl. Phys.*, 65, 164.
“An atomic-resolution atomic-force microscope implemented using an optical lever.”
- Allemand, J.-F., Bensimon, D. & Croquette, V. (2003). *Curr. Op. Struct. Biol.*, 13, 266-274.
“Stretching DNA and RNA to probe their interactions with proteins.”
- Allen, M. P. & Tildesley, D. J. (1989). Oxford Science Publ., Oxford, UK.
Computer Simulation of Liquids.

- Andersen, N. T., Yu, T., & Chen, J. Z. Y. (2021). *Macromolecules*, 55, 210-216.
“Stretching a semiflexible polymer of finite length.”
- Andersen, N. T. (2025). *PhD Dissertation*. University of Waterloo, Canada.
“Statistical mechanics of finite length semiflexible wormlike polymers.”
- Arai, Y., Yasuda, R., Akashi, K., Harada, Y., Miyata, H., Kinoshita Jr, K. & Itoh, H. (1999). *Nature*, 399, 446-448.
“Tying a molecular knot with optical tweezers.”
- Armen, R. S., Alonso, D. O. V., & Daggett, V. (2003). *Protein Science*, 12, 1071–1081.
“The role of α -, 3_{10} -, and π -helix in helix \rightarrow coil transitions.”
- Arteca, G. A. (1993). *Biopolymers*, **33**, 1829-1841.
“Overcrossing spectra of protein backbones: Characterization of 3D molecular shape and global structural homologies.”
- Arteca, G. A. (1995). *Can. J. Chem.*, **73**, 241-248.
“A detailed shape characterization of regular polypeptide conformations.”
- Arteca, G. A. (1996). In Lipkowitz, K. B. & Boyd, D. B. (eds.), *Rev. Comput. Chem.*, 9, 191-253. Wiley, New York.
“Molecular shape descriptors.”
- Arteca, G. A., Velázquez, I., Reimann, C. T., & Tapia, O. (1999). *Phys Rev. E*, 59, 5981-5986.

“Unfolded in vacuo lysozyme folds into native, quasinative, and compact structures.”

- Arteca, G. A. (1999) *J. Chem. Inf. Comp. Sci.*, **39**, 550-557.

“Path integral calculation of the mean number of overcrossings in an entangled polymer network.”

- Arteca, G. A., Reimann, C. T. & Tapia, O. (2001a). *Mass Spectrometr. Rev.*, **20**, 402-422.

“Proteins in vacuo: denaturing and folding mechanisms studied with computer-simulated molecular dynamics.”

- Arteca, G. A., Reimann, C. T. & Tapia, O. (2001b). *Chem. Phys. Lett.*, **350**, 277-285.

“Role of electrostatic and van der Waals interactions on the *in-vacuo* unfolding dynamics of lysozyme ions.”

- Arteca, G. A., Reimann, C. T. & Tapia, O. (2001c). *J. Phys. Chem. B.*, **101**, 4992-4998.

“Transitions in chain entanglement and compactness associated with *in vacuo* unfolding of lysozyme ions.”

- Arteca, G. A. (2003). *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **5**, 407-414.

“Stress-induced shape transitions in polymers using a new approach to steered molecular dynamics.”

- Arteca, G. A. (2004). *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **6**, 3500-3507.

“Molecular shape transitions driven by an external force: The case of polymer chains with transient knotted loops.”

- Arteca, G. A. & Li, Z. (2004). Chem. Phys. Lett., 399, 496-502.

“Effect of proline kinks on the mechanical unfolding of α -helices.”

- Arteca, G. A. & Tapia, O. (2004) Chem. Phys., Lett. 383, 462-468.

“On the nature of the unfolded state: competing mechanisms in the unfolding of anhydrous protein ions.”

- Arteca, G. A. (2005). In: Rawdon E., Millett, K., & Stasiak, A. (eds.) Physical and Numerical Models in Knot Theory, pp. 233-245. (Series on Knots and Everything: Vol. 36, World Scientific, Singapore.)

“Folding complexity in a random-walk copolymer model.”

- Arteca, G. A. (2007). Theor, Chem. Acc., 118, 549-556.

“Externally steered relaxation of tight polyethylene tangles with different initial knot topologies.”

- Arteca, G. A. & Fall, M. (2023). (*Unpublished*).

“Effet de la protonation des acides aminés sur dynamique moléculaire du dépliement des hélices- α par l’action d’une force externe.”

- Ashkin, A., Dziedzic, J. M., Bjorkholm, J. E., & Chu S. (1986). Opt. Lett. 11, 288-290.

“Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles”.

- Ashkin, A. & Dziedzic, J. M. (1987). *Science*, 235, 1517-1520.
“Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria.”
- Auer, S., & Kashchiev, D. (2010). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA (PNAS)*, 107, 10101-10106.
“Phase diagram of α -helical and β -sheet forming peptides.”
- Avery, O. T., MacLeod, C. M., & McCarty, M. (1944). *J. Exp. Med.*, 79, 137–158.
“Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types.”
- Bao, X. R., Heun Jin Lee, H. J., & Quake, S. R. (2005). *Phys. Rev. Lett.*, 91, 265506 [pp. 1-3] [*Erratum*: *Phys. Rev., Lett.* 95, 199901 (2005).]
“Behavior of Complex Knots in Single DNA Molecules.”
- Baranello, L., Levens, D., 1, Gupta, A., & Kouzine, F. (2012). *Biochim. Biophys. Acta*, 1819, 632-638.
“The importance of being supercoiled: how DNA mechanics regulate dynamic processes.”
- Basu, A., Bobrovnikov, D. G., & Ha, T. (2021). *J. Mol. Biol.*, 433, article 166861. [pp. 1-18]
“DNA mechanics and its biological impact.”
- Bates, A. D., & Maxwell, A. (2005). Oxford University Press, Oxford, UK.
DNA Topology. [1st Ed., 1993]

- Baush, A.R., Möller, W., & Sackmann, E., (1999). *Biophys. J.*, 76, 573-579.
“Measurement of local viscoelasticity and forces in living cells by magnetic tweezers.”
- Benham, C. J. (1979). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA (PNAS)*, 76, 3870–3874.
“Torsional stress and local denaturation in supercoiled DNA.”
- Berendsen, H. J. C, Postma, J. P. M., van Gunsteren, W. F., DiNola A., Haak, J. R. (1984). *J. Chem. Phys.*, 81, 3684-3690.
“Molecular dynamics with coupling to an external bath.”
- Best, R. B., Fowler, S. B., & Toca-Herrera, J. L. (2008). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA (PNAS)*, 105, 11507–11512.
“Strength and weakness of a protein folding intermediate revealed by atomic force microscopy.”
- Binning, G., Quate, C.F., & Gerber, G. (1986). *Phys. Rev. Lett.*, 56, 930-933.
“Atomic force microscope.”
- Blundell, T. L., & Johnson, L. N. (1976). Academic Press, New York.
Protein crystallography.
- Brändén, C.-I., & Tooze, J. (1999). Garland Publishing, New York.
Introduction to protein structure.
- Brawn, E., Moosavi, S.M., & Smit, B. (2018). *J. Chem. Theory Comput.* 14, 5262–5272.

“Anomalous effects of velocity rescaling algorithms: The flying ice cube effect revisited.”

- Brooks, B. R., Bruccoleri, R. E. Olafson, B. D., States, D. J., Swaminathan, S., & Karplus, M. (1983). *J. Comp. Chem.*, 4, 187-217.

“CHARMM: A program for macromolecular energy minimization and dynamics calculations.”

- Bryant, Z., Stone, M. D., Gore, J., Smith, S. B., Cozzarelli, N. R., & Bustamante, C. (2003). *Nature*, 424, 338–341.

“Structural transitions and elasticity from torque measurements on DNA.”

- Bussi, G., Donadio, D., & Parrinello, M. (2007). *J. Chem. Phys.*, 126, article 014101. [pp. 1-7]

“Canonical sampling through velocity scaling.”

- Bustamante, C., Smith, S. B., Liphardt, J., & Smith, D. (2000). *Curr. Op. Struct. Biol.*, 10, 279–285.

“Single-molecule studies of DNA mechanics.”

- Bustamante, C., Bryant, Z., & Smith, S. B. (2016). *Nature*, 421, 423–427.

“Tension and twist in DNA.”

- Călugăreanu, G. (1961). *Czechoslovak Math. J.*, 11, 588–625.

“Sur les classes d’isotopie des nœuds tridimensionnels et leurs invariants.”

- Carloni, P., Rothlisberger, U., & Parrinello, M. (2002). *Acc. Chem. Res.*, 35, 455–464.

“The role and perspective of *ab initio* molecular dynamics in the study of biological systems.”

- Carrión-Vázquez, M., Oberhauser, A.F., Fowler, S.B., Marszalek, P.E., Broedel, S. E., Clarke, J. & Fernandez, J. M. (1999). Proc. Natl. Acad. Sci. USA (PNAS) 96, 3694-3699.

“Mechanical and chemical unfolding of a single protein: a comparison.”

- Cavanagh, J., Fairbrother, W. J., Palmer, A. G., Rance, M., & Skelton, N. J. (2007). Academic Press, New York.

Protein NMR spectroscopy: Principles and practice. [2nd ed.]

- Célerse, F., Lagardère L., Derat E., Piquemal J.-P. (2019). J. Chem. Theory Comput., 15, 3694–3709.

“Massively parallel implementation of steered molecular dynamics in tinker-HP: Comparisons of polarizable and non-polarizable simulations of realistic systems.”

- Chien F. T. & Noort J. V. (2009). Curr. Pharm. Biotechnol., 10, 474-485.

“10 Years of tension on chromatin: Results from single molecule force spectroscopy.”

- Chothia, C. (1976). J. Mol. Biol., 105, 1–14.

“The nature of the accessible and buried surfaces in proteins.”

- N. Clauvelin, N., Audoly, B., & Neukirch, S. (2008). Macromolecules, 41, 4479–4483.

“Mechanical response of plectonemic DNA: An analytical solution.”

- Cluzel, P.H., Lebrun, A., Heller, C., Lavery, R., Viovy, J., Chanteny, D, & Caron, F. (1996). *Science* 271, 792-794.

“DNA: An extensible molecule.”

- Coronel, L., Suma, A., & Micheletti, C. (2018). *Nucleic Acids Res.* 46, 7533–7541.

“Dynamics of supercoiled DNA with complex knots: large-scale rearrangements and persistent multi-strand interlocking.”

- Corwell, W. D. Cieplak, P. Bayly, C. I. Gould, I. R., Metz Jr K. M., Ferguson, D. M., Spellmeyer, D. C., Fox, T. Caldwell, J. W. & Kollman, P. A. (1995). *J. Am. Chem. Soc.*, 117, 5179–5197.

“A second-generation force field for the simulation of proteins, nucleic acids and organic molecules”.

- Creighton, T. E. (1993). W. H. Freeman, New York.

Proteins: Structures and molecular properties. [2nd ed.]

- Daggett, V., & Fersht, A. (2003). *Nature Rev. Mol. Cell Biol.*, 4, 497–502.

“The present view of the mechanism of protein folding.”

- Deamer, D. W., & Branton, D. (2002). *Acc. Chem. Res.*, 35, 817–825.

“Characterization of nucleic acids by nanopore analysis.”

- De Silva, N., & Pérez, A. (2025). *Nucleic Acids Res.*, 53, article gkaf601.

[pp. 1-9]

“Predicting rare DNA conformations via dynamical graphical models: a case study of the B→A transition.”

- Dill, K. A., & MacCallum, J. L. (2012). *Science*, 338, 1042–1046.
“The protein-folding problem, 50 years on.”
- Dohnalová, D., Seifert, M., Matoušková, E., Klein, M., Papini, F. S., Lipfert, J., Dulin, D., & Lankaš, F. (2024). *J. Phys. Chem. B*, 128, 664–675.
“Temperature-dependent twist of double-stranded RNA probed by magnetic tweezer experiments and molecular dynamics simulations.”
- Duan, Y., & Kollman, P. A. (1998). *Science*, 282, 740–744.
“Pathways to a protein folding intermediate observed in a 1-microsecond simulation in aqueous solution.”
- Ellis, J. S., Allen, S., Chim, Y. T. A., Roberts C. J., Tendler, S. J. B., & Davies, M. C., (2006). In: Satchi-Fainaro, R., & Duncan, R. (eds) *Polymer Therapeutics II*. Springer, Berlin. (*Adv. Polym. Sci.*, 193, 123–172.)
“Molecular-scale studies on biopolymers using atomic force microscopy.”
- Evans, E., & Ritchie, K. (1997). *Biophys. J.*, 72, 1541–1555.
“Dynamic strength of molecular adhesion bonds.”
- Feig, M. (2007). *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 36, 195–216.
“Implicit solvation models for biomolecular simulations.”
- Fernandez, J.M., & Li, H. (2004). *Science* 303, 1674-1678.

“Force-clamp spectroscopy monitors the folding trajectory of a single protein.”

- Fernández Migens, P., Serrano-Chacón, I., Modesto Orozco, M., & Battistini, F. (2025). *J. Phys. Chem. B*, 129, 11679-11692.

“Success and limitations of current force fields for the description of RNA ligand complexes.”

- Fisher, T. E., Oberhauser, A.F., Carrión-Vázquez, M., Marszalek, P.E., Fernandez, J.M., (1999). *Trends Biochem. Sci.*, 24, 379-384.

“The study of protein mechanics with the atomic force microscope.”

- Forth, S., Deufel, C., Sheinin, M. Y., Daniels, B., Sethna, J. P., & Wang, M. D. (2008). *Phys. Rev. Lett.*, 100, 148301. [pp. 1-4]

“Abrupt buckling transition observed during the plectoneme formation of individual DNA molecules.”

- Fosado, Y. A. G., Michieletto, D., & Marenduzzo, D. (2017). *Phys. Rev. Lett.*, 119, 118002 [pp. 1-4]

“Dynamical scaling and phase coexistence in topologically-constrained DNA melting.”

- Franklin, R. E., & Gosling, R. G. (1953). *Nature*, 171, 740–741.

“Molecular configuration in sodium thymonucleate.”

- Frenkel, D., & Smit, B. (2001). Academic Press, New York.

Understanding molecular simulation: From algorithms to applications.

[2nd ed.]

- Fuller, F. B. (1971). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA (PNAS)*, 68, 815–819.
“The writhing number of a space curve.”
- Fuller, F. B. (1978). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA (PNAS)*, 75, 3557-3561.
“Decomposition of the linking number of a closed ribbon: A problem from molecular biology.”
- Garcia, A. E., & Sanbonmatsu, K. Y. (2001). *Proteins: Struct. Funct. Genetics*, 42, 345–354.
“Exploring the energy landscape of a β -hairpin in explicit water.”
- Ghosh, A., & Bansal, M. (2003). *Acta Crystallogr. D (Biol. Crystallogr.)*, 59, 620-626.
“A glossary of DNA structures from A to Z.”
- Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2000). *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 29, 105–153.
“Structural symmetry and protein function.”
- Gore, J., Bryant, Z., Nöllmann, M., Le, M. U., Cozzarelli N. R., & Bustamante, C. (2006). *Nature*, 442, 836–839.
“DNA overwinds when stretched.”
- Graceffa, P., & Dominguez, R. (2003). *Nature Struct. Biol.*, 10, 749–755.
“Crystal structure of monomeric actin in the ATP state.”

- Gross, P., Laurens, N., Oddershede, L. B., Bockelmann, U., Peterman, E. J. G., & Wuite, G. J. L. (2011). *Nature Physics*, 7, 731–736.
“Quantifying how DNA stretches, melts and changes twist under tension.”
- Hamelberg, D., Mongan, J., & McCammon, J. A. (2004). *J. Chem. Phys.* 120, 11919–11929.
“Accelerated molecular dynamics: A promising and efficient simulation method for biomolecules.”
- Han, J., Turner, S. W., & Craighead H. G. (1999). *Phys. Rev. Lett.*, 83, 1688–1691.
“Entropic trapping and escape of long DNA molecules at submicron size constriction.”
- Hawkins, J. (2021). Springer Verlag, New York.
Ergodic dynamics: From basic theory to applications.
- Isralewitz, B., Gao, M., & Schulten, K. (2001). *Curr. Op. Struct. Biol.*, 11, 224–230.
“Steered molecular dynamics and mechanical functions of proteins.”
- Izrailev, S., Stepaniants, S., Balsera, M., Oono, Y., & Schulten, K. (1997). *Biophys. J.*, 72, 1568–1581.
“Molecular dynamics study of unbinding of the avidin–biotin complex.”
- Jones, D., Allen, J. E., Yang, Y., Drew Bennett, W. F., Gokhale, M., Moshiri, N., & Rosing. T. S. (2022). *J. Chem. Theory Comput.*, 18, 4047–4069

“Accelerators for classical molecular dynamics simulations of biomolecules.”

- Karplus, M., & McCammon, J. A. (2002). *Nature Structural Biology*, 9, 646–652.

“Molecular dynamics simulations of biomolecules.”

- Karplus, M., & Petsko, G. A. (1990). *Nature*, 347, 631–639.

“Molecular dynamics simulations in biology.”

- Kastenholz, M. A., Schwartz, T. U., & Hünenberger, P. H. (2006) *Biophys. J.*, 91, 2976–2990.

“The transition between the B and Z conformations of DNA investigated by targeted molecular dynamics simulations with explicit solvation.”

- Kellermayer, M. S., Smith, S. B., Granzier, H. L., & Bustamante, C. (1997). *Science* 276, 1112-1116.

“Folding-unfolding transitions in single titin molecules characterized with laser tweezers.”

- Klotz, A. R., Soh, B. W., & Doyle, P. S. (2018). *Phys. Rev. Lett.*, 120, 188003 [pp. 1-4]

“Motion of knots in DNA stretched by elongational fields.”

- Krall, J. B., Nichols, P. J., Henen, M. A., Vicens, Q., & Vögeli, B. (2023). *Molecules*, 28, article 843. [pp. 1-26]

“Structure and formation of Z-DNA and Z-RNA.”

- Kumar S., Rosenberg J. M., Bouzida D., Swendsen R. H. & Kollman P. A. (1992). *J. Comput. Chem.* 13, 1011-1021.
“The weighted histogram analysis method for free-energy calculations on biomolecules. I. The method.”
- Lankas, F., Lavery, R., & Wolff, J. C. (2006). *Nucleic Acids Res.*, 34, 2927-2933.
“Kinking occurs during molecular dynamics simulations of short DNA minicircles.”
- Levitt, M., Hirshberg, M., Sharon, R., & Daggett, V. (1995). *Comp. Phys. Comm.* 91, 215-231.
“Potential energy function and parameters for simulations of the molecular dynamics of proteins and nucleic acids in solution.”
- Li, Z. & Arteca, G. A. (2005). *Phys. Chem. Chem. Phys.* 7, 2018-2026.
“Simulated force-induced unfolding of α -helices: dependence of stretching stability on primary sequence.”
- Li, H., Linke, W.A., Oberhauser A.F., Carrión-Vázquez, M., Kerkvliet, J.G., Lu., H., Marszalek, P.E., Fernandez, J.M. (2002). *Nature* 418, 998-1002.
“Reverse engineering of the giant muscle protein titin.”
- Lionnet, T., Allemand, J. F., Revyakin, A., Strick, T. R., Saleh, O. A., Bensimon, D., & Croquette, V. (2006). *Methods in Enzymol.*, 475, 523–543.
“Single-molecule studies using magnetic traps.”

- Lindorff-Larsen, K., Piana, S., Dror, R. O., & Shaw, D. E. (2011). *Science*, 334, 517–520.
“How fast-folding proteins fold.”
- Lu H. & Schulten K. (1999). *Proteins: Struct., Function, and Bioinform.* 35, 453-463.
“Steered molecular dynamics simulations of force-induced protein domain unfolding.”
- Lyubchenko, Y. L., & Shlyakhtenko, L. S. (2016). *Micron*, 96, 57–64.
“Imaging of supercoiled DNA with atomic force microscopy in situ.”
- Marenduzzo, D., Maritan, A., Rosa, A., & Seno, F. (2003). *Phys. Rev. Lett.*, 90, article 088301. [pp. 1-3]
“Stretching of a polymer below the theta point.”
- Marin-Gonzalez, A., Vilhena, J. G., Perez, R., Moreno-Herrero, F. (2017) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA (PNAS)*, 114, 7049-7054.
“Understanding the mechanical response of double-stranded DNA and RNA under constant stretching forces using all-atom molecular dynamics.”
- Marin-Gonzalez, A., Vilhena J. G., Perez, R., & Moreno-Herrero, F. (2021). *Quarterly Rev. Biophys.*, 54, 1–20.
“A molecular view of DNA flexibility.”
- Marko, J. F. (1997). *Phys. Rev. E.*, 55, 1758–1772.
“Supercoiled and braided DNA under tension.”

- Marko, J. F. (2007). *Phys. Rev. E.*, 76, article 021926. [pp. 1-7]
“Torque and dynamics of linking number relaxation in stretched supercoiled DNA.”
- Martín-García, F., Papaleo, E., Gomez-Puertas, P., Boomsma, W., Lindorff-Larsen, K. (2015). *PLoS One*, 10, article e0121114. [pp. 1-16]
“Comparing molecular dynamics force fields in the essential subspace.”
- Mehta, A.D., Rief, M., Spudich, J.A., Smith, D.A., & Simmons, R. M. (1999). *Science* 283, 1689-1695.
“Single-molecule biomechanics with optical methods.”
- Metropolis, N., Rosenbluth, A. W., Rosenbluth, M. N., Teller, A. H., & Teller, E. (1953). *J. Chem. Phys.*, 21, 1087–1092.
“Equation of state calculations by fast computing machines.”
- Meyer, G. & Amer, N.M. (1988). *Appl. Phys. Lett.* 53, 1045-1047.
“Novel optical approach to atomic force microscopy.”
- Mezey, P. G. (1987) Elsevier: Amsterdam.
Potential energy hypersurfaces.
- Mitchell, J. S., & Harris, S. A. (2013). *Phys. Rev. Lett.*, 110, article 148105.
[pp. 1-3]
“Thermodynamics of writhe in DNA minicircles from molecular simulations.”

- Mingaleev, S. F., Gaididei, Y. B., Christiansen, P. L., & Kivshar, Y. S. (2002). *Europhys. Lett.*, 59, article 403. [pp. 1-4]
“Nonlinearity-induced conformational instability and dynamics of biopolymers.”
- Moorthy, A., Sarvestani, A., Massock, W., & de Silva, C. (2023). *AIMS Biophysics*, 10, 317–346.
“Twisting and extension: Application of magnetic tweezers to DNA studies.”
- Mou, X., Liu, K., He, L., & Li, S. (2024). *J. Chem. Phys.*, 161, article 085102. [pp. 1-11]
“Mechanical response of double-stranded DNA: Bend, twist, and overwind.”
- Mou X., Liu, K., Pan, F., He, L., & Li, S. (2025). *AIP Advances* 15, article 125315. [pp. 1-11]
“Force-induced unzipping of double-stranded DNA: An all-atom molecular simulation.”
- Murzin, A. G., Brenner, S. E., Hubbard, T., & Chothia, C. (1995). *J. Mol. Biol.*, 247, 536–540.
“SCOP: A structural classification of proteins database for the investigation of sequences and structures.”
- Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2008). W. H. Freeman, New York.
Lehninger Principles of Biochemistry. [5th ed.]

- Nelson, M. T., Humphrey, W., Gursoy, A., Dalke, A., Kalé, L. V., Skeel, R. D., & Schulten, K. (1996). *Int. J. High-Perform. Comp. Appl.*, 10, 251-268.
“NAMD: A parallel, object-oriented molecular dynamics program.”
- Neuman, K. C., & Nagy, A. (2008). *Nature Methods*, 5, 491–505.
“Single-molecule force spectroscopy: Optical tweezers, magnetic tweezers and atomic force microscopy.”
- Nomidis, S. K., Kriegel, F., Vanderlinden, W., Lipfert, J., & Carlon, E. (2017). *Phys. Rev. Lett.*, 118, article 217801. [pp. 1-3]
“Twist-bend coupling and the torsional response of double-stranded DNA.”
- Nomidis, S. K., Skoruppa, E., Carlon, E., & Marko, J. F. (2019b). *Phys. Rev. E*, 99, article 032414. [pp. 1-6]
“Twist-bend coupling and the statistical mechanics of the twistable wormlike-chain model of DNA: Perturbation theory and beyond.”
- Nomidis, S. K., Caraglio, M., Laleman, M., Phillips, K., Skoruppa, E., & E Carlon, E. (2019b). *Phys. Rev. E*, 100, article 022402. [pp. 1-6]
“Twist-bend coupling, twist waves, and the shape of DNA loops.”
- Nomidis, S. K. (2020). *PhD Dissertation*. KU Leuven, Belgium.
“Theory and simulation of DNA mechanics and hybridization.”
- Nomidis, S. K., Carlon, E., Gruber, S., & Marko, J. F. (2022). *Nucleic Acids Res.*, 50, 4974–4987.

“DNA tension-modulated translocation and loop extrusion by SMC complexes revealed by molecular dynamics simulations.”

- Nostheide, S. (2014). *Ph. Dissertation*, Universität Osnabrück, Germany.
“Kinetics and thermodynamics of unfolding processes in DNA molecules with several conformational states: theory and experiments.”
- Nostheide, S., Holubec, V., Chvosta, P., & Maass, P. (2014). *J. Phys. Condens. Matter.*, 26, article 205102.
“Unfolding kinetics of periodic DNA hairpins.”
- Oberhauser, A. F., Marszalek, P.E., Erickson, H.P. & Fernández, J.M. (1998). *Nature* 393, 181-185.
“The molecular elasticity of tenascin, an extracellular matrix protein.”
- Ouellette, R. J., et Rawn, J. D. (2018). Academic Press, New York.
Organic Chemistry: Structure, Mechanism, and Synthesis.
- Parrinello, M., & Karplus, M. (1981). *Biophys. J.*, 36, 419–449.
“Structure and dynamics of double-helical nucleic acids by molecular dynamics simulation.”
- Pauling, L., Corey, R. B., & Branson, H. R. (1951). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA (PNAS)*, 37, 205–211.
“The structure of proteins: Two hydrogen-bonded helical configurations of the polypeptide chain.”
- Petit, J., M. & Julien, R. (2007). Dunod, Paris.

Mini-manuel de Génétique.

- Petsko, G. A., & Ringe, D. (2003). Oxford University Press, Oxford, UK.
Protein structure and function.
- Perutz, M. F. (1960). Brookhaven Symposia in Biology, 13, 165–183.
“Structure of hemoglobin.”
- Peyrard, M., & Bishop, A. R. (1989). Phys. Rev. Lett., 62, 2755–2758.
“Statistical mechanics of a nonlinear model for DNA denaturation.”
- Piana, S., Lindorff-Larsen, K., & Shaw, D. E. (2012). Proc. Natl. Acad. Sci. USA (PNAS), 109, 17845–17850.
“Protein folding kinetics and thermodynamics from atomistic simulation.”
- Privalov, P. L. (1990). Cri. Rev. Biochem. Mol. Biol., 25, 281–305.
“Cold denaturation of proteins.”
- Ptak, A., Takeda, S., Nakamura, C., Miyake, J., Kageshima, M., Jarvis S.P., & Tokumoto, H. (2001). J. Appl. Phys., 90, 3095-3099.
“Modified atomic force microscope applied to the measurement of elastic modulus for a single peptide molecule.”
- Ptitsyn, O. B., & Finkelstein, A. V. (1980). Biopolymers, 19, 85–114.
“Theory of protein secondary structure and topology.”
- Pyne, A. L. B., Noy, A. Main, K. H. S., Velasco-Berrelleza, V., Piperakis, M. M., Mitchenall, L. A., Cugliandolo, F. M., Beton, J. G., Stevenson, C.

E. M., Hoogenboom, B. W., Bates, A. D., Maxwell, A., & Harris, S. A. (2021). *Nature Comm.*, 12, article 1053. [pp. 1-12]

“Base-pair resolution analysis of the effect of supercoiling on DNA flexibility and major groove recognition by triplex-forming oligonucleotides.”

- Ramachandran, G. N., Ramakrishnan, C., & Sasisekharan, V. (1963). *J. Mol. Biol.*, 7, 95–99.

“Stereochemistry of polypeptide chain configurations.”

- Ray, B. K., Smith, J., Kumar, P., & Chen, L. (2013). *Cancer Research*, 73, 736–746.

“Epigenetic regulation by Z-DNA silencer function controls transcription.”

- Revyakin, A., Ebright, R. H., & Strick, T. R. (2004). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA (PNAS)*, 101, 4776–4780.

“Promoter unwinding and promoter clearance by RNA polymerase: Detection by single-molecule DNA nanomanipulation.”

- Řezáč, J., Hobza, P., & Harris, S. A. (2010). *Biophys. J.*, 98, 101-110.

“Stretched DNA investigated using molecular-dynamics and quantum-mechanical calculations.”

- Rich, A., & Zhang, S. (2003). *Nature Reviews Genetics*, 4, 566–572.

“Z-DNA: the long road to biological function.”

- Richardson, J. S. (1981). *Advances in Protein Chemistry*, 34, 167–339.
“The anatomy and taxonomy of protein structure.”
- Rief, M., Gautel, M., Oesterhelt, F., Fernandez, J. M., & Gaub, H. E. (1997). *Science*, 276, 1109–1112.
“Reversible unfolding of individual titin immunoglobulin domains by AFM.”
- Rief, M., Pascual, J., Saraste, M., & Guab, H.E. (1999). *J. Mol. Biol.*, 286, 553-561.
“Single molecule force spectroscopy of spectrin repeats: low unfolding forces in helix bundles.”
- Rouzina, I., & Bloomfield, V. A. (2001). *Biophys. J.*, 80, 882–893.
“DNA bending by small, mobile multivalent cations.”
- Roe, D. R., Okur, A., Wickstrom, L., Hornak, V., & Simmerling, C. (2007). *J. Phys. Chem. B*, 111, 1846–1857.
“Secondary structure bias in generalized Born solvent models: Comparison of conformational ensembles and free energy of alanine peptides.”
- Sacconi, L., Romano, G., Ballerini, R., Capitano, M., De Pas, M., Giuntini, M., Dunlap, D., Finzi, L., & Pavone, F. S. (2001). *Optics Lett.*, 26, 1359-1361.
“Three-dimensional magneto-optic trap for micro-object manipulation.”

- SantaLucia Jr, J., & Hicks, D. (2004). *Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 33, 415–440.
“The thermodynamics of DNA structural motifs.”
- Saran, R., Wang, Y., & Li, I. (2020). *Sensors*, 20, article 7019. [pp. 1-24]
“Mechanical flexibility of DNA: A quintessential tool for DNA nanotechnology.”
- Scacchi, A., Vuorte, M., & Sammalkorpi, M. (2024). *Adv. in Phys.*, 9, 1-55.
“Multiscale modelling of biopolymers.”
- Schwaiger, C. S., Bjelkmar, P., Hess, B., & Lindahl, E. (2011). *Biophys. J.*, 100, 1446–1454.
“ 3_{10} -Helix conformation facilitates the of a voltage sensor S4 segment toward the down state.”
- Scott, W. R. P., Hünenberger, P. H., Tironi, I. G., Mark, A. E., Billeter, S. A., Fennen, J., Torda, A. E., Huber, T., Krüger, P., & van Gunsteren, W. F. (1999). *J. Phys. Chem. A*, 103, 3596–3607.
“The GROMOS biomolecular simulation program package.”
- Shoemaker, B. A., Portman, J. J., & Wolynes, P. G. (2000). *Proc. Natl. Acad. Sci. (PNAS)*, 97, 8868–8873.
“Speeding molecular recognition by using the folding funnel: The fly-casting mechanism.”
- Sinden, R. R. (1994). Academic Press, New York.

DNA structure and function.

- Skoruppa, E., Nomidis, S. K., Marko, J. F., & E Carlon, E. (2018). *Phys. Rev. Lett.*, 121, article 088101. [pp. 1-3]
“Bend-induced twist waves and the structure of nucleosomal DNA.”
- Skoruppa, E. & Carlon, E. (2022). *Phys. Rev. E*, 106, article 024412. [pp. 1-7]
“Equilibrium fluctuations of DNA plectonemes.”
- Smith S. B., Cui Y., & Bustamante C. (1996). *Science*, 271, 795–799.
“Overstretching B-DNA: The elastic response of individual double-stranded and single-stranded DNA molecules.”
- Souaille, M., & Roux, B. (2001). *Comp. Phys. Commun.*, 135, 40–57.
“Extension to the weighted histogram analysis method: combining umbrella sampling with free energy calculations.”
- Stein, D., van der Heyden, F. H. J., Koopmans, W. J. A., & Dekker, C. (2006). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA (PNAS)*, 103, 15853–15858.
“Pressure-driven transport of confined DNA polymers in fluidic channels.”
- Strick, T. R., Allemand, J. F., Bensimon, A. & Croquette, V. (1996). *Science*, 271, 1835-1837.
“The elasticity of a single supercoiled DNA molecule.”
- Strick, T. R., Allemand, J. F., Bensimon, A., & Croquette, V. (1998). *Biophysical Journal*, 74, 2016–2028.
“Behavior of supercoiled DNA.”

- Sutthibutpong, T., Matek, C., Benham, C., & Schiessel, H. (2016). *Biophys. Reviews*, 8, 75–87.
“Multiscale modeling of supercoiled DNA: A review.”
- Swanson, J. M. J., Mongan, J., & McCammon, J. A. (2005). *J. Phys. Chem. B*, 109, 14769–14772.
“Limitations of atom-centered dielectric functions in implicit solvent models.”
- Szabo, A. & Ostlund, N. S. (1989). McGraw-Hill, New York.
Modern quantum chemistry: Introduction to advanced electronic structure theory.
- Tinland, B., Pluen, A., Sturm, J., & Weill, G. (1997). *Macromolecules*, 30, 5763–5765.
“Persistence length of single-stranded DNA.”
- Tsironis, G. P. Ibañes, M. & Sancho, J. M. (2002). *Europhys. Lett.*, 57, 697-703.
“Transport of localized vibrational energy in biopolymer models with rigidity.”
- Tucker, M. R., Piana, S., Tan, D., LeVine, M. V., & Shaw, D. E. (2022). *J. Phys. Chem. B*, 126, 4442–4457.
“Development of force field parameters for the simulation of single- and double-stranded DNA molecules and DNA–protein complexes.”

- Ussery, D. W. (2002), in: Encyclopedia of Life Sciences (Robinson, S. & Ayres, E., eds.), Macmillan, London, UK, pp. 1-7.
“DNA Structure: A-, B- and Z-DNA Helix Families.”
- van Gunsteren, W. F., & Berendsen, H. J. C. (1987). Biomos BV, Groningen, Netherlands.
GROMOS: Groningen molecular simulation software. University of Groningen, The Netherlands.
- Viovy, J. L. (2000). Rev. Mod. Phys., 72, 813–872.
“Electrophoresis of DNA and other polyelectrolytes: physical mechanisms.”
- Vologodskii, A. V., & Cozzarelli, N. R. (1994). Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct., 7, 609–643.
“Conformational and thermodynamic properties of supercoiled DNA.”
- Vologodskii, A. (2005). Biophys J., 90, 1594–1597.
“Brownian dynamics simulation of knot diffusion along a stretched DNA molecule.”
- Vologodskii, A. (2009). Nucleic Acids Res., 37, 3601–3614.
“Theoretical models of DNA topology simplification by type II DNA topoisomerases.”
- Watson, J. D., & Crick, F. H. C. (1953). Nature, 171, 737–738.
“Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid.”

- White, J. H. (1969). *Am. J. Math.*, 91, 693–728.
“Self-linking and the Gauss integral in higher dimensions.”
- Williams, M.C & Rouzina, I. (2002). *Curr. Op. Struct. Biol.*, 12, 330-336.
“Force spectroscopy of single DNA and RNA molecules.”
- Wirtz, D. (1995). *Phys. Rev. Lett.*, 75, 2436-2439.
“Direct measurement of the transport properties of a single DNA molecule.”
- Wong, C.T.A., & Muthukumar, M. (2008). *Biophys J.*, 11, 3619–3627.
“Scaling theory of polymer translocation into confined regions.”
- Yakovchuk, P., Protozanova, E., & Frank-Kamenetskii, M. D. (2006). *Nucleic Acids Research*, 34, 564–574.
“Base-stacking and base-pairing contributions into thermal stability of the DNA double helix.”
- Yang, T., Mao, J., Xue, T., Wu, S., Li, R., Chen, Y., Sitab, A. A., Cheng, J., & Lin, Y. (2025). *J. Am. Chem. Soc.*, 147, 15534–15544.
“Intermediate states enable keratin-like α -to- β transformations in strain-responsive synthetic polypeptides.”
- Yi, J., Yeou, S., & Lee, N. K. (2022) *J. Am. Chem. Soc.*, 144, 13137–13145.
“DNA bending force facilitates Z-DNA formation under physiological salt conditions.”

- Yoshida, K., Ando, D., Makuta, M., & Murayama, Y. (2018). *J. Phys. Soc. Jpn.*, 87, article 093801. [pp. 1-5]
“Dynamic features of plectoneme formation of twisted DNA at low force.”
- Yu, J. (2023). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA (PNAS)*, 120, article e2306453120. [pp. 1-3.]
“DNA mechanics and its biological impact.”
- Zhang, Y., Zhou, H., & Zhong-Can O.-Y. (2001). *Biophys. J.*, 81, 1133-1143.
“Stretching single-stranded DNA: Interplay of electrostatic, base-pairing, and base-pair stacking interactions.”
- Zhang, C., Fu, H., Yang, Y., Zhou, E., Tan, Z., You, H., & Zhang, X. (2018). *Biophys. J.*, 116, 196-204.
“The mechanical properties of RNA-DNA hybrid duplex stretched by magnetic tweezers.”
- Zheng, F., Suma, A., Maffeo, C., Chen, K., Alawami, M., Sha, J., Aksimentiev, A., Micheletti, C., & Keyser, U. F. (2024). Preprint. ArXiv: 2407.16290 [cond-mat.soft]. [pp. 1-20]
“When knots are plectonemes.”
- Zheng, F., Suma, A., Maffeo, C., Chen, K., Alawami, M., Sha, J., Aksimentiev, A., Micheletti, C., & Keyser, U. F. (2025). *Phys. Rev. X*, 15, article 031041. [pp. 1-12]

“Torsion-driven plectoneme formation during nanopore translocation of DNA polymers.”

- Zhou, H. X., Dill, K. A., & Stigter, D. (2001). *Biochemistry*, 40, 11289–11293.

“Models of macromolecular crowding and confinement: effects on protein folding and binding.”

- Zhou, H. X., Rivas, G., & Minton, A. P. (2008). *Ann. Rev. Biophys.*, 37, 375–397.

“Macromolecular crowding and confinement.”