

Ionisation des hélices d'ADN par le rayonnement UV : étude spectroscopique résolue en temps

Contexte général

Lorsque l'ADN perd un électron, il subit toute une série de transformations chimiques qui peuvent modifier le code génétique. Pour cette raison, il est important de caractériser les différents facteurs susceptibles de provoquer cet effet. Par exemple, cela se produit par transfert d'électron entre l'ADN et un accepteur d'électron présent dans la cellule [1]. Il est également connu que l'éjection d'un électron peut être déclenchée par absorption d'un seul photon UV, pourvu que son énergie soit suffisamment élevée [2]. Pendant longtemps, on pensait que des photons de longueurs d'onde supérieures à 210 nm (5.95 eV) étaient incapables d'ioniser de double hélices [3]. Il y a peu, le laboratoire d'accueil a mis en évidence l'éjection d'un électron à 267 nm [4], ce qui est proche du rayonnement solaire pouvant atteindre la surface de la terre, en particulier en présence du trou de l'ozone qui filtre de façon inefficace le rayonnement UV.

Objectifs

Dans ce contexte, le travail de thèse aura pour objectif à répondre aux questions suivantes:

- Quel est l'effet de la séquence ? Les expériences mentionnées plus haut étaient effectuées pour des doubles hélices composées uniquement des paires adénine-thymine. Or c'est la guanine qui a le potentiel d'ionisation le plus faible. Alors on s'attend que des séquences riches en guanines soient plus faciles à ioniser.
- Comment varie le rendement quantique d'ionisation à un photon en fonction de la longueur d'onde ? Il s'agira notamment d'explorer l'effet longueurs d'ondes plus élevées, y compris dans le domaine UVA. L'étude des propriétés spectroscopiques et photochimiques des hélices ADN dans le domaine UVA s'effectue actuellement dans le cadre d'un projet ANR PCV (DIMUVA).
- Comment la méthylation d'une double hélice affecte son potentiel d'ionisation ? Il s'agit ici de la méthylation à la position 5 de la cytosine. La méthylation de l'ADN est un processus biologique naturel. Les sites méthylés sont impliqués dans des mutations cancérogènes. Le laboratoire d'accueil a mis en évidence que la méthylation de la cytosine déplace son spectre d'absorption vers des longueurs d'onde plus élevées ^[5].
- Quelles sont les différentes étapes conduisant à la formation des photoproduits ? Le but est de déterminer les intermédiaires de réactions photochimiques et les échelles de temps impliquées.
-

Outils de travail

Les outils principaux de travail seront la spectroscopie d'absorption UV en régime stationnaire et résolue en temps. Les électrons éjectés seront quantifiés à partir de leur spectre d'absorption qui présente une bande caractéristique autour de 720 nm. On utilisera de façon courante la photolyse éclairée nanoseconde. Au cours de la dernière année, ce dispositif expérimental a été équipé par un OPO (oscillateur paramétrique optique) qui permet de faire varier la longueur d'onde d'excitation laser. Par ailleurs, certaines expériences avec excitation par un laser femtoseconde seront effectuées.

Systèmes à étudier

Les études porteront principalement sur de doubles hélices modèles, c'est-à-dire des oligomères (typiquement une vingtaine de paires de bases) dont la séquence peut être choisie à dessein. Quelques expériences seront également effectuées avec des polymères

(typiquement mille paires de bases) ainsi que avec de l'ADN naturel. Tous ces systèmes seront achetés à des sociétés de biotechnologies.

Collaborations

Les rendements quantiques des produits d'oxydation seront déterminés en collaboration avec Thierry Douki (CEA/Grenoble/INAC). Ce type de collaborations entre les deux laboratoires a commencé dans le cadre de l'ANR DMIMUVA. Elle a donné lieu à une publication parue et une deuxième soumise. Un nouveau projet ANR sera soumis en 2010.

L'interprétation des données spectroscopique se fera en collaboration avec Roberto Improta (chercheur CNR, avec l'Université de Naples). R. Improta qui a obtenu un poste de directeur de recherche visiteur par le CNRS et sera présent au LFP à partir du 1/12/2009. Ce séjour permettra de poser les bases d'une étude théorique par des méthodes de chimie quantique des phénomènes associés : Calcul des spectres des radicaux cations de bases, du potentiel d'ionisation... Ensuite un projet de coopération entre les deux laboratoires (projet CNRS/CNRS déposé en septembre 2009), devrait assurer un suivi soutenu de cette collaboration.

REFERENCES

- [1] J. Cadet, M. Berger, T. Douki, J. L. Ravanat, in *Physiology biochemistry and pharmacology*, Vol. 131 (Ed.: E. H. Giessen), Springer, **1997**, pp. 1.
- [2] L. P. Candeias, S. Steenken, *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 699.
- [3] L. P. Candeias, P. O'Neill, G. D. D. Jones, S. Steenken, *Int. J. Radiat. Biol.* **1992**, 61, 15.
- [4] S. Marguet, D. Markovitsi, F. Talbot, *J. Phys. Chem. B* **2006**, 110, 11037.
- [5] A. Sharonov, T. Gustavsson, S. Marguet, D. Markovitsi, *Photochem. Photobiol. Sci.* **2003**, 2, 362.