



## **Anastasia Burmistrova**

*Université de Liège*

*Faculté des Sciences - Chimie*

*Service de Spectrométrie de Masse*

*(LSM)*

Etude de l'interaction d'une double  
hélice d'ADN avec la porphyrine  
TmPyP4 par spectrométrie de masse  
couplée à un laser UV/visible (OPO).

Résumé

Le travail a pour ligne directrice l'étude de l'interaction d'un oligonucléotide de 12 paires de bases 100 % GC avec un ligand chromophore sous l'effet de photons de longueur d'onde variable. Le ligand chromophore employé est la porphyrine TmPyP4. Les porphyrines présentent un enjeu thérapeutique, elles sont notamment connues pour leur utilisation en tant qu'agents photosensibles dans les thérapies PDT (PhotoDynamic Therapy) de traitement de cancer de la peau.

## INSTRUMENTATION

L'instrumentation utilisée tout au long de ce travail consiste en un **spectromètre de masse FTMS à ionisation ESI couplé à un laser OPO** (laser à longueur d'onde variable). La spectrométrie de masse permet de visualiser directement les espèces présentes, contrairement à des techniques de spectroscopie en solution (telles que dichroïsme circulaire, spectroscopie UV-visible, photolyse éclair etc) qui montrent une influence globale de la complexation sur la propriété étudiée. Le mode d'ionisation choisi (ESI) est un mode d'ionisation doux qui a l'avantage de garder intacts les complexes non covalents oligonucléotides – porphyrine lors de la vaporisation. Le laser OPO permet l'irradiation des ions avec des paramètres optimisés (longueur d'onde, puissance, temps d'irradiation) à différents endroits du spectromètre de masse, donnant accès au comportement d'ordre spectroscopique des ions en phase gazeuse.

La spectroscopie d'ions en phase gazeuse n'est pas une nouveauté en ce qui concerne des petites molécules facilement vaporisables. Les techniques habituellement utilisées pour ces molécules (par exemple le jet moléculaire) sont à exclure lorsqu'il s'agit d'étudier des macromolécules à intérêt biologique, tels que l'ADN. En effet, elles sont peu volatiles et instables à haute température, sans parler de perte d'informations structurales lors d'un chauffage éventuel. Ainsi, la méthode employant la spectrométrie de masse en tant qu'outil de vaporisation et de détection et interfacée à un laser permet l'étude des composés plus compliqués, contenant une importante information structurale et/ou comportant des liaisons non covalentes.

## RESULTATS

Des irradiations dans deux domaines de longueurs d'onde ont été effectuées : UV, allant de 230 à 290 nm et visible, allant de 430 à 475 nm. Dans les deux cas, la procédure fut la suivante : isolation d'ion d'une charge précise de l'ADN seul, irradiation de l'ion avec le laser à l'intérieur du spectromètre, suivie de la détection d'éventuels fragments obtenus. La même séquence est ensuite répétée avec l'ion du complexe ADN – porphyrine, sans changer des conditions expérimentales.

### *IRRADIATION UV*

Lors de l'absorption du photon à **260 nm par le duplex**, un photodétachement d'électron a été observé. Ce phénomène peut être expliqué sur base des schémas énergétiques reportés dans la littérature : l'absorption du photon mène à un état excité, qui peut ensuite être délocalisé sur au moins deux paires de bases dans le duplex d'ADN. Cette délocalisation, même sur des très courtes distances affecte le transfert d'énergie et la réactivité de l'état excité. Le photodétachement d'électron semble être privilégié à d'autres types de désexcitation : désexcitation radiative (indétectable à notre niveau) et conversion d'énergie électronique en énergie interne de vibration, suivie de fragmentation du double brin d'ADN. Toutefois, il est difficile de prédire avec certitude le comportement des niveaux énergétiques au vue de la complexité de la molécule.

Le caractère mono -, multi - ou multiple photonique\* de l'interaction des ions avec les photons peut être déterminé en étudiant la dépendance de rendement de photodétachement de la puissance du faisceau. Ainsi, dans le cas du duplex seul, à 260 nm, la courbe de dépendance obtenue est d'allure linéaire, indiquant un processus monophotonique.

Un photodétachement d'électron a également lieu lors de l'irradiation du **complexe à 260 nm**, sans différences notables de comportement avec le duplex seul. Il est à remarquer que la porphyrine pourrait également absorber à cette longueur d'onde et donner éventuellement lieu à un processus multi - photonique, mais dont l'intensité serait beaucoup plus faible que celle de l'absorption par le duplex.

Le **taux de photodétachement d'électron en fonction de la longueur d'onde** a également été étudié. Les courbes obtenues (permettant d'approcher le profil d'absorption en phase gazeuse) pour le duplex seul, ainsi que pour le complexe sont identiques. Elles sont représentées à la figure 1.

### *IRRADIATION VISIBLE*

L'irradiation par les photons à **440 nm du duplex** seul n'induit aucun effet visible par spectrométrie de masse : pas de fragmentation, ni changement de charge.

Le **complexe sous irradiation à 440 nm** montre une importante fragmentation, le processus d'absorption est multi - ou multiple photonique. L'observation de la fragmentation de la double hélice d'ADN montre l'existence d'un transfert d'énergie de la porphyrine excitée (état électronique ou vibrationnel) vers un état excité de l'ADN (électronique ou vibrationnel). Il est également possible que la réactivité chimique de la porphyrine soit la cause de la fragmentation. Les fragments obtenus sont ceux observés habituellement dans un processus d'activation collisionnelle (CID), mais également des fragments habituels pour une fragmentation de radical d'ADN. Les premiers laissent

supposer qu'une désexcitation par conversion d'énergie reçue de la porphyrine en énergie interne d'ADN a lieu. Les deuxièmes sont indice de formation de radicaux d'ADN suite à l'excitation de la porphyrine.

Une courbe de taux de fragmentation en fonction de la longueur d'onde de l'irradiation pour le complexe a été établie, elle est présentée à la figure 2.

\* Comportement multi – photonique : absorption d'un photon après l'autre, menant à un niveau excité final en passant par plusieurs états excités virtuels. Comportement multiple photonique : absorption d'un seul photon, menant à un niveau excité moins haut en énergie, se désexcitant vers le niveau fondamental de départ. Le processus se produit multiples fois pour que la molécule emmagasine suffisamment d'énergie interne pour se dissocier.

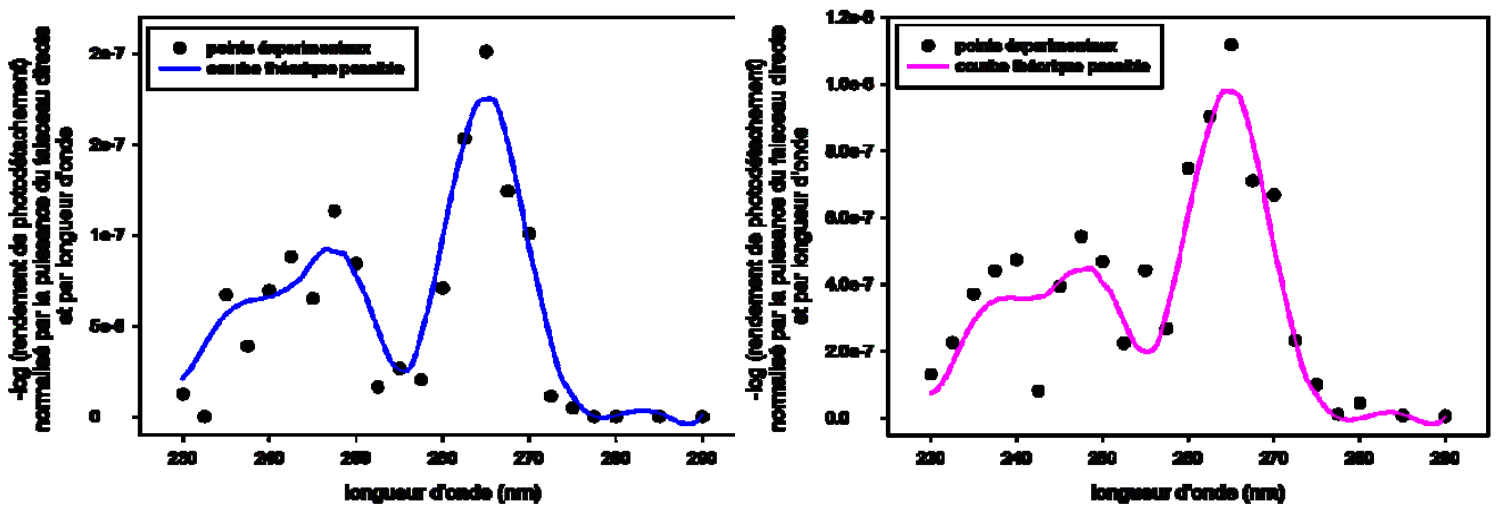


Figure 2 : Courbes de taux de photodétachement d'électron en fonction de la longueur d'onde. La courbe en bleue est celle du duplex seul, la courbe en rouge est celle du complexe.

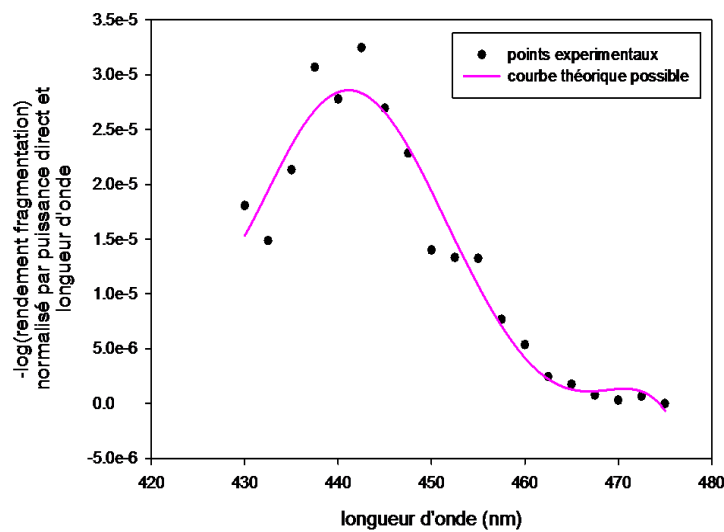


Figure 3 : Courbe de taux de fragmentation en fonction de la longueur d'onde du complexe.