

# Possibilités d'applications de la Mole à la biophysique, biochimie et biologie

par P. Dhamelincourt

(C.N.R.S. Université des Sciences et Techniques de Lille, U.E.R. de Chimie, Laboratoire de spectrochimie infrarouge et Raman, 59650 Villeneuve-d'Ascq)

Lorsqu'il s'agit d'échantillons biologiques, l'analyste se trouve confronté à un problème bien plus complexe que pour la majorité de ceux qu'il rencontre lors de l'analyse d'échantillons minéraux ou organiques.

Dans les années passées, les microscopes et microsondes électroniques, la microsonde ionique, ont constitué et constituent toujours les techniques de base pour l'obtention des informations sur la morphologie et la composition élémentaire des échantillons biologiques. Mais, jusqu'ici, il n'existait réellement aucune méthode de microanalyse *in situ* d'échantillons biologiques permettant l'identification à l'échelle de la cellule ou du tissu des espèces organiques ou minérales. Par exemple, les techniques cytochimiques ne permettent généralement que de révéler des fonctions chimiques communes à plusieurs types de molécules ou encore des éléments qui sont partie intégrante de combinaisons chimiques identifiables par ailleurs (1).

La microsonde Mole, de par sa capacité à analyser la matière à l'échelle microscopique sans préparation spéciale de l'échantillon, s'est révélée être un outil intéressant dans le domaine biologique. En effet, la spectroscopie Raman apporte des informations uniques sur la nature et la structure des édifices moléculaires présents dans l'échantillon (2).

Ainsi, en collaboration avec divers laboratoires ont été menées à bien plusieurs études intéressantes notamment :

- identification sur coupe histologique de composés puriques et sels minéraux en collaboration avec le Laboratoire d'histophysiologie fondamentale et appliquée de l'Université Pierre-et-Marie Curie.
- étude spectroscopique *in vivo* de cellules végétales bioluminescentes en collaboration avec l'Institut de Biochimie d'Orsay (3).
- étude *in situ* d'hydrocarbures synthétisés par l'algue verte *Alga Botryococcus Braunii* en collaboration avec le Laboratoire de chimie biorganique et organique physique de l'Université Pierre-et-Marie Curie (4).
- étude de la métabolisation de pesticides sur coupes histologiques de muscle cardiaque de rat en collaboration avec un grand laboratoire industriel.

Nous ne discuterons pas ici de ces études car certaines font l'objet d'exposés mais nous chercherons plutôt à cerner les limites de la microanalyse par effet Raman appliquée à l'étude d'échantillons biologiques.

Une des limites la plus gênante est sans conteste le phénomène de fluorescence qui peut gêner ou même masquer totalement l'effet Raman.

Quelques essais réalisés, tant au laboratoire de Lille avec la microsonde Mole qu'avec le spectromètre Raman pour microéchantillons au N.B.S. (U.S.A.) (5), ont montré que l'utilisation de coupes

au cryostat permettaient généralement d'éviter ou d'atténuer le phénomène de fluorescence. Malheureusement, ces coupes sont souvent d'un emploi délicat et ne permettent pas un repérage topologique facile de la zone à analyser.

Une autre limite importante est bien sûr la sensibilité de l'instrument et la complexité du matériel biologique. Jusqu'ici notre expérience s'est essentiellement limitée à la caractérisation de substances localisées à concentration élevée (2), (4).

Mais il faut comprendre que pour des substances biologiques distribuées de façon homogène dans les cellules ou tissus qui constituent alors une matrice organique complexe, le problème sera bien plus ardu. Les spectres Raman obtenus, lorsqu'il sera possible de les obtenir (fond continu réduit), seront la superposition des spectres de tous les composants majeurs et mineurs qui sont présents. L'information désirée sera présente dans les spectres enregistrés mais il sera extrêmement difficile de l'extraire.

Paradoxalement, nous sommes devant une situation dans laquelle nous disposerons de beaucoup d'informations mais où nous sommes pour l'instant dans l'incapacité de les traiter correctement. Nous pensons néanmoins que dans des circonstances favorables, les substances biologiques présentant un spectre Raman d'intensité moyenne pourront être détectées au niveau de quelques pourcents.

En conclusion, la microsonde Raman est un outil complémentaire d'autres techniques de microanalyse mais unique en ce sens qu'il est capable de fournir des informations entièrement nouvelles sur la composition moléculaire et la structure à l'échelle microscopique de substances d'intérêt biologique.

Cependant en l'état actuel de la technique, tout est loin d'être possible dans le domaine biologique et un choix judicieux des problèmes à traiter reste la règle impérative du succès.

## Bibliographie

- (1) Application de la microsonde Mole à l'identification sur coupe histologique de composés puriques et de sels minéraux, C. Ballan Dufrançais, R. Martoja et M. Truchet, Journées Mole.
- (2) Interest of laser Raman microprobe (Mole) for the identification of purinic concretions in histological sections, C. Ballan Dufrançais, M. Truchet et P. Dhamelincourt, *Biol. Cellulaire* 1979, **36**, 51.
- (3) Études spectroscopiques *in vivo* de cellules végétales bioluminescentes : *Pyrocystes Lunula*, B. Arrio, A. Dupaix, C. Fresneau, B. Lecuyer et P. Volfin, Journées Mole.
- (4) The hydrocarbons of the green *Alga Botryococcus Braunii*, Hydrocarbon pattern and sites of accumulation, C. Largeau, E. Casadevall, C. Berkaloff et P. Dhamelincourt, *Phytochemistry* (à paraître).