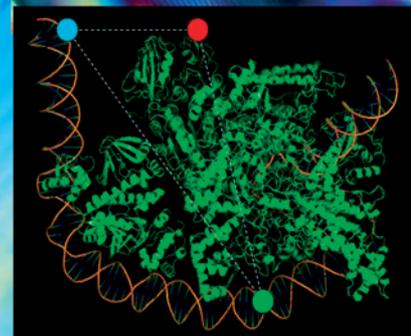
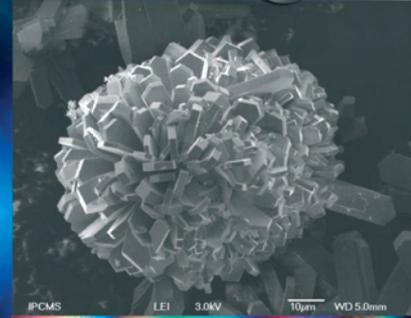
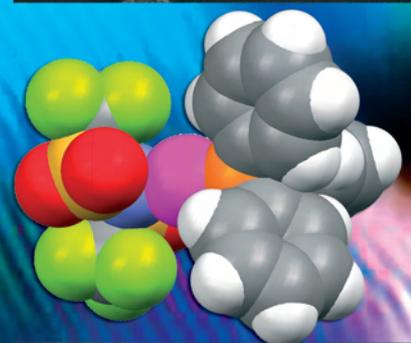
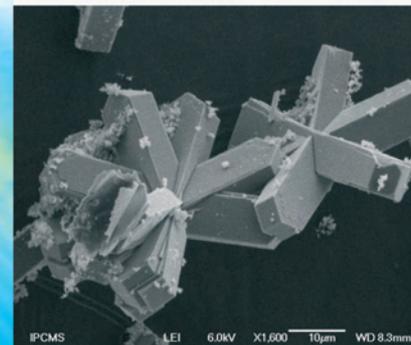
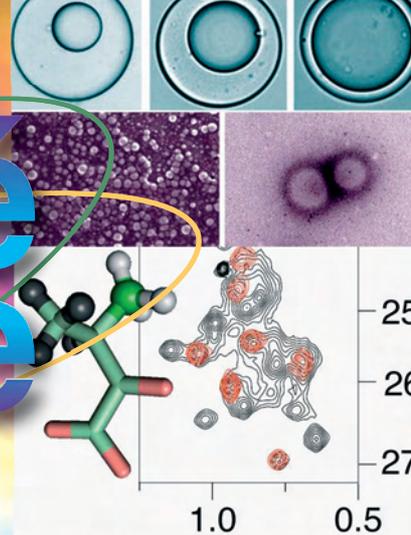


L'actualité chimique

Mensuel - Décembre 2010 - N° 347

Plongez au cœur
des travaux
des jeunes talents
du CNRS



Société Chimique de France





INSTITUT DE CHIMIE DE LYON

Fruit d'un partenariat scientifique la Fédération de Recherche Institut de Chimie de Lyon (ICL) est destinée à fédérer les compétences et des moyens en Chimie sur Lyon.

L'ICL regroupe 620 permanents : 360 chercheurs et enseignants-chercheurs et 260 ITA, auxquels sont associés 70 chercheurs post-doctorants et 360 doctorants. Ces personnels sont répartis sur les 18 unités de recherche de l'ICL.

L'Institut de Chimie de Lyon est structuré en départements qui sont des entités thématiques d'animation, regroupant différentes unités de l'ICL. Leur rôle est de proposer des animations scientifiques (séminaires, Journées scientifiques, conférences) et de développer des réseaux thématiques (régionaux, nationaux ou internationaux).

/// LES LABORATOIRES ///

ICBMS - LC ENS LYON - IRCELYON - C2P2 - SCA - LSA - Centre Européen de RMN à Hauts Champs - LPCML - LMI - LGPC - LAGEP - IMP - MATEIS - IBCP - LMOPS - PMA (Polymères et Matériaux Avancés) - LHP - Qualité des eaux et Prévention des Pollutions (Cemagref).

Directeur: Philippe Sautet

Institut de Chimie de Lyon
Université Claude Bernard
Lyon1, bât. Chevreul
43 bd du 11 novembre 1918
69622 Villeurbanne cedex

adm: 04 72 43 29 95
secrétariat: 04 72 72 83 93

www.iclyon.fr

/// LES DÉPARTEMENTS ///

Chimie et Biochimie Moléculaires ouvre avec une expertise forte en synthèse moléculaire et supramoléculaire, l'interface vers le vivant et la santé.

Catalyse et Environnement représente une des forces les plus importantes en ce domaine en France (procédés propres, chimie verte, traitement de l'air et de l'eau).

Sciences Analytiques ISA: l'ISA (Institut de Sciences Analytiques) et le « Centre de RMN à haut champ » ambitionnent de former un pôle unique en Europe sur la chimie analytique et la caractérisation. L'ISA est placée à l'interface de la chimie avec l'environnement et la santé.

Matériaux Inorganiques décrit le continuum des synthons inorganiques vers les matériaux multifonctionnels (magnétisme, optique, énergie, porosité).

Matériaux Polymères développe la chimie macromoléculaire pour des applications vers les matériaux à propriétés avancées, notamment pour le diagnostic médical.

Génie Chimique et des Procédés met en place le continuum qui s'étend de la catalyse moléculaire vers le génie catalytique et le contrôle des procédés.

/// LA PLATEFORME ICL ///

Un effet structurant majeur de l'Institut de Chimie est la plateforme technique mutualisée. Cette plateforme recouvre un large spectre d'équipements lourds de caractérisation physico-chimique et certains éléments spécifiques de synthèse. Elle est délocalisée, avec une implantation des équipements dans les divers laboratoires de l'Institut, qui offrent un local, un environnement logistique et technique, mais aussi une interaction scientifique directe avec les chercheurs des unités.

La plateforme globale de l'ICL s'organise autour de 5 pôles, avec un fort pôle Analytique généraliste, et quatre pôles thématiques (Environnement, Procédés, Matériaux, et Santé), comprenant 9 plateformes techniques et 4 plateaux techniques.



Master of Science in "Advanced Spectroscopy in Chemistry"

International experience

Study in at least two European countries!
Teaching language: English
Students from all over the world
Joint or multiple degree diploma

Quality & Expertise

Erasmus Mundus label
A first step to a career in R & D
Master thesis as a cross-border cooperation
Internship during the 4th semester
Euromaster label

University Lille 1

Erasmus Mundus scholarships

Scholarships of up to 24 000 € / year for Non-European students
Scholarships of up to 10 000 € / year for European students
Online application process: www.master-asc.org
Two years programme starting in September 2011

The ASC network

University Bergen, University Krakow
University Bologna, University Leipzig
University Helsinki, University Madrid



Erasmus Mundus

Deadline for application: 14th of January 2011

www.master-asc.org



RÉDACTION

Rédacteur en chef : Paul Rigny

Rédactrice en chef adjointe :

Séverine Bléneau-Serdel

Secrétaire de rédaction : Roselyne Messal

Chef de rubrique, Collection « L'Actualité Chimique - Livres » : Minh-Thu Dinh-Audouin

Secrétariat : Martine Maman

Webmestre : Jérémie Meyer de Ville

<http://www.etage-13.com>

Comité des rubriques :

Recherche et développement : Paul Rigny, Industrie : Gilbert Schorsch, Enseignement et formation : Michel Boyer et Katia Fajerberg, TP : Xavier Bataille et Nicolas Cheymol, Histoire de la chimie : Marika Blondel-Mégrelis, Comment ça marche ? : Véronique Nardello-Rataj, Chimie des aliments et du goût : Hervé This, À propos de : Bernard Sillion, En bref : Séverine Bléneau-Serdel, Roselyne Messal, Actualités de la SCF et Agenda : Roselyne Messal, Livres et médias : Yves Dubosc

Comité de rédaction :

P. Arpino, H. Belhadj-Tahar, J. Belloni, E. Bordes-Richard, J. Buendia, N. Capron-Joubert, C. Cartier dit Moulin, C. Cordella, J.-C. Daniel, R.-E. Eastes, E. Florentin, J.-P. Foulon, J. Fournier, F. Lafuma, J.-F. Lambert, V. Lucas, M.-T. Ménager, N. Moreau, A. Ouali, J.-M. Paris, P. Pichat, A. Picot, M. Poite, M. Quarton, F. Rocquet, E. Soulié, H. Toulhoat, M. Verdaguer, P. Vermeulin, D. von Euv

Partenariat : CNRS, Fondation Internationale de la Maison de la Chimie

Publication analysée ou indexée par :

Chemical Abstracts, base de données PASCAL

ÉDITION : Société Chimique de France

250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris

Rédaction : 28 rue Saint-Dominique, 75007 Paris

Tél. : 01 40 46 71 64 - Fax : 01 40 46 71 63

redaction@lactualitechimique.org

<http://www.lactualitechimique.org>

Directeur de la publication : Olivier Homolle,

président de la Société Chimique de France

Imprimerie : SPEI, BP 26, 54425 Pulnoy

Maquette articles : e-Press, Casablanca

Technopark, Route de Nouaceur, Casablanca

(Maroc)

Maquette hors articles : Mag Design

<http://www.magdesign.info>

ISSN version papier 0151 9093

ISSN version électronique 2105 2409

PUBLICITÉ

EDIF, Le Clemenceau, 102 avenue Georges

Clemenceau, 94700 Maisons-Alfort

Tél. : 01 43 53 64 00 - Fax : 01 43 53 48 00

edition@edif.fr, <http://www.edif.fr>

Index des annonceurs : p. 1

© SCF 2010 - Tous droits réservés

Dépôt légal : décembre 2010

Toute représentation ou reproduction, intégrale ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur, ou des ayants droits, ou ayant cause, est illicite (loi du 11 mars 1957, alinéa 1er de l'article 40). Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code pénal. La loi du 11 mars 1957 n'autorise, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, que les copies et les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective d'une part, et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration.

TARIFS 2010 - L'ACTUALITÉ CHIMIQUE

(11 numéros par an)

Abonnement papier + électronique

Particuliers : France 95 € - Étranger 100 €

Institutions : France 195 € - Étranger 205 €

Lycées : France 110 € - Étranger 130 €

Abonnement électronique seul (France/Étranger)

Particuliers : 55 € - Institutions : 155 € - Lycées : 70 €

Membres de la SCF (hors membres associés) :

abonnement inclus dans la cotisation

Abonnement : SCF, Nadine Colliot

250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris

Tél. : 01 40 46 71 66 - Fax : 01 40 46 71 61

adhesion@societechimiquefrance.fr

Prix de vente au numéro : 20 € (port inclus)



Éditorial

Sociétés savantes : la convivialité pour quoi faire ?, par **P. Rigny**

Chroniques

Communication de la chimie

L'alphabet de la chimie (2/2), par **R.-E. Eastes**

Polémiques

Brain drain ou brain gain ?, par **J.-C. Bernier**

Recherche et développement

Jeunes chercheurs médaillés de bronze du CNRS

Le marquage isotopique spécifique : un outil pour repousser les frontières de la RMN biomoléculaire, par **P. Gans** et

J. Boisbouvier (médaillé 2008)

La catalyse à l'or : un outil synthétique en devenir, par **F. Gagosz** (médaillé 2008)

Des virus comme système modèle de cristaux liquides, par **E. Grelet** (médaillé 2009)

Conception sur mesure de solides microporeux et mésoporeux pour la catalyse : de la molécule au réacteur, par **G. Laugel**, **S. Walspurger** et **B. Louis** (médaillé 2009)

Transfert d'énergie de Förster sur molécules uniques : applications en biologie, par **E. Margeat** (médaillé 2009)

Matériaux pour la nanofabrication photoinduite, par **A. Dirani**, **H. Ridaoui**, **F. Wiedler**, **R. Bachelot** et **O. Soppera** (médaillé 2009)

Les agents fluorés pour la théragnostique : vers une détection de plus en plus précoce des pathologies et un traitement localisé, par **N. Tsapis** (médaillé 2009)

Industrie

Les marchés de l'hydrogène industriel français : situation en 2008 et perspectives, par **A. Le Duigou** et **M. Miguet**

En bref

Livres et médias

Agenda

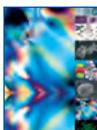
Actualités de la SCF

2011 : Année internationale de la chimie

Index 2010

site*

*L'index est disponible uniquement en format pdf, téléchargeable librement sur le site de L'Actualité Chimique (lien dans le sommaire en ligne du numéro de décembre).



Couverture :

Illustrations des travaux des médaillés de bronze publiés dans ce numéro (gracieusement fournies par les auteurs).

Composition graphique : Mag Design (www.magdesign.info).

Index des annonceurs

| | | | |
|-----------------------------|-------------------------|----------------------------------|-------------------------|
| Bayer | 4 ^e de couv. | EDIF | p. 40 |
| Bruker | p. 11 | Institut de Chimie de Lyon | 2 ^e de couv. |
| École européenne de Chimie, | | Institut Lavoisier de Versailles | p. 19 |
| Polymères et Matériaux | p. 29 | Lafarge | p. 23 |
| EDP Sciences | p. 51 | Université de Lille | 2 ^e de couv. |



Régie publicitaire : EDIF, Le Clemenceau, 102 avenue Georges Clemenceau, 94700 Maisons-Alfort
Tél. : 01 43 53 64 00 - Fax : 01 43 53 48 00 - edition@edif.fr - <http://www.edif.fr>



Sociétés savantes : la convivialité pour quoi faire ?

Le phénomène est irritant : les sociétés savantes voient s'éroder le nombre de leurs adhérents. La Société Chimique de France, durement confrontée à ce problème, s'attriste de se voir impuissante. Le phénomène, ancien déjà, a été analysé à de nombreuses reprises. Qu'on se rappelle ainsi le remarquable rapport* rédigé par Guy Ourisson à la suite d'un audit ; marqué de lucidité et d'esprit constructif, il n'a pourtant pas réussi à renverser la tendance des évolutions. Peut-être n'avait-il pas été suffisamment diffusé pour ne pas apparaître comme le fruit des réflexions individuelles d'une grande personnalité.

L'approche de notre président Olivier Homolle est collective dès le départ, et un séminaire a réuni les 16 et 17 novembre derniers une quarantaine de collègues très impliqués dans la vie de la société (responsables de divisions scientifiques ou sections régionales, membres du Conseil d'administration, ainsi que deux représentants des clubs des jeunes) pour des séances de « remue méninges » autour de quatre thèmes :

- l'attractivité de la SCF : comment attirer des adhérents ?
- l'attractivité vis-à-vis des jeunes ;
- le fonctionnement interne : comment le modifier pour l'améliorer ?
- la politique scientifique de la SCF.

Un compte rendu officiel des sessions de ce séminaire et des propositions qu'elles mettent en avant sera publié, cela va de soi, mais les premières observations sont déjà pleines d'enseignement. L'ambiance était au beau fixe, très participative et très franche ; aucun doute : les collègues étaient heureux d'être réunis – démonstration par l'expérience que les occasions de rencontre sont souhaitées. Bien qu'orientés sur des thèmes différents, les groupes de travail ont mis le doigt sur des conclusions apparentées : c'est la richesse et la fluidité des rapports humains entre les membres que l'on vient chercher en adhérant à la SCF – **c'est-à-dire la convivialité** – et c'est cela que l'on ne trouve pas autant qu'attendu. La déception suivie de la désaffection en découle souvent : il ne faut peut-être pas chercher de causes plus sophistiquées au malaise des adhésions. Quelques illustrations :

- Parmi ces « responsables » de la SCF que nous étions, beaucoup ont avoué ne connaître ses structures (divisions, sections, groupes thématiques) que de façon superficielle – grave indicateur de manques de contacts entre nouveaux et anciens « responsables ».

- La « structure SCF » (solidairement) n'« accueille » pas les nouveaux membres : pas de remise d'un « dossier » des principales informations, des principaux rendez-vous, du pourquoi de l'adhésion, mais

simplement une carte d'adhésion de style peu valorisant, au demeurant, à l'heure des identités plastiques tous azimuts.

- La « structure SCF » n'est pas meilleure avec les collègues déjà membres. Heureusement, il y a *L'Actualité Chimique* – mais l'abonnement n'est pas obligatoire – car rien, sans elle et sans *SCF-Info en ligne*, ne vient indiquer ce qui bouge dans le monde de la chimie, ni comment chacun peut se mobiliser pour la communauté.

- La chimie s'honore de sa double nature, d'être à la fois une science et une industrie. Mise en avant dans les discours, cette réalité n'est que bien partiellement intégrée aux activités de la SCF, malgré la récente création de la division de chimie industrielle.

La direction dans laquelle il faudrait aller pour convoquer cette convivialité demandée explicitement ou implicitement par tout membre ou membre potentiel a été bien circonscrite par les débats du séminaire : d'abord un accompagnement rapproché des plus jeunes par les plus anciens ! Clairement, cela appelle une activité directe au niveau local. Ce sera peut-être là une des recommandations du séminaire : donner plus de moyens aux sections régionales pour qu'elles puissent mieux accueillir leurs membres, car c'est à leur échelle, par excellence, qu'on peut construire et animer une communauté – citons à ce propos le besoin de rencontres entre industriels et académiques pour remédier au manque générique d'intercompréhension entre eux qui est une version du mal français en ce qui concerne la recherche.

L'échelon local, cependant, n'est pas le seul. Rien ne fonctionnera si le fonctionnement général, incluant les divisions disciplinaires et le siège, n'est pas harmonieux. Comprendre les efforts nécessaires sur le terrain, apporter les réponses au bon moment est un travail considérable. Impérativement, il faut qu'un « coordonnateur-animateur » – et disponible – s'y consacre pour l'ensemble de la SCF.

En voulant redynamiser une entreprise, personne ne mettrait l'établissement d'une convivialité au tout premier plan ; on parlerait, en contrepoint, de « gestion intelligente des ressources humaines au service de la mission de l'entreprise ». Mais une société savante n'est pas une entreprise commerciale : on peut défendre que sa mission, justement, c'est de **créer la convivialité** entre ses membres, **pour construire une communauté forte**. C'est peut-être là l'enseignement principal du séminaire.

Paul Rigny

Rédacteur en chef

*Bulletin de la SFC, juin 1990.

Communication de la chimie

L'alphabet de la chimie (2/2)

Dans notre dernière chronique*, nous dissertions sur la classification périodique, proposant que l'élément chimique soit dissocié du corps pur simple et qu'il soit considéré davantage comme une catégorie, une classe d'objets, que comme un objet concret. Nous concluons en suggérant que ce positionnement permettait de résoudre plusieurs difficultés conceptuelles, notamment sur les plans pédagogique et communicationnel. Nous nous proposons ce mois-ci de le vérifier. Comment enseigner la structure de la matière à un enfant, ou la remémorer à un adulte qui aurait tout oublié de ses leçons de chimie ? La démarche habituelle peut être qualifiée de « réductionniste » (le « tout » est compris comme la réunion d'entités élémentaires) : héritée des travaux des physiciens du XX^e siècle, elle consiste à partir de la description de la structure de l'atome, lequel est capable de se lier à ses congénères de diverses manières pour constituer les molécules, elles-mêmes constitutives de la matière visible et palpable, du moins lorsqu'elles s'y trouvent en quantité suffisante. Cette approche pédagogique *bottom-up* est peu remise en question, tant elle semble naturelle. Elle l'est pourtant si peu qu'on commence seulement, en ce début de XXI^e siècle, à l'adopter en synthèse, dans le domaine des nanotechnologies, en concevant des objets moléculaires par l'assemblage contrôlé d'atomes. En effet, s'il y a bien une manière d'appréhender la matière qui n'est pas commune au quotidien, c'est celle qui passe par la (re)connaissance de ses entités microscopiques. Dès le plus jeune âge, c'est une matière macroscopique qu'il est donné à l'enfant de rencontrer ; il s'y blottit lorsqu'elle est chaude et rassurante, apprend à s'en méfier lorsqu'il s'y heurte ou s'y brûle, l'ingère et l'excrète, comprend que la quantité de celle qui le constitue s'accroît... Le rapport le plus intuitif à la matière se fait par le biais de la *substance*, et pas de l'*atome* ou de la *molécule*.

De même à ses tous premiers âges, au début de l'apprentissage du langage, l'enfant commence-t-il par percevoir des mélodies continues, des sons enchaînés qu'il n'apprend que peu à peu à décomposer en phonèmes, ce qui lui permettra plus tard d'entrer dans la lecture et l'écriture. Son approche du langage est elle aussi globale et « macroscopique » : il l'appréhende en y étant simplement exposé, et il ne viendrait à l'idée de personne d'apprendre à parler à son enfant en lui inculquant d'abord les lettres de l'alphabet.

Atomes ? Lettres ? Creusons un peu

la comparaison pour voir où elle nous mène... L'atome pourrait-il être à la matière ce que la lettre est au langage ? Dans ce cas, si l'atome est une lettre pour la matière, alors l'alphabet de cette dernière ne compte pas 26 éléments, mais un peu plus d'une centaine.

Éléments ? La lettre de l'alphabet nommée « A » n'est pas un objet mais une catégorie, un concept qui englobe tout un ensemble d'objets tels que ceux qui sont représentés dans la *figure* (ci-dessous). Tous partagent un minimum de caractéristiques communes, dont le nombre de segments et d'intersections, qui les font reconnaître comme faisant partie de la famille des « A », mais aussi les règles qui régissent leur usage et leurs possibilités d'interaction avec les autres représentants des lettres de l'alphabet. Par extension, on nomme également ces représentants des lettres : une étape que ne franchit pas le chimiste, qui distingue, comme nous l'avons vu dans notre dernière chronique (et du moins en français), l'atome et l'élément qu'il représente.

Ainsi en va-t-il également des « éléments chimiques », qui englobent tout un ensemble d'objets qui partagent un minimum de caractéristiques communes, telles que le numéro atomique et les règles qui régissent leurs interactions avec les autres atomes. Cette comparaison fait par suite de la classification périodique « l'alphabet de la chimie », et des molécules, les mots avec lesquels s'écrit son langage (universel). Les règles dites *de l'octet* ou *des 18 électrons* en constituent les règles orthographiques qui, comme toutes les règles, souffrent leurs petites exceptions, alors que des associations particulières d'atomes conduisent à des « fonctions chimiques » aux propriétés inédites, tout comme le « A », le « I » et le « M » s'associent pour former la terminaison du mot « faim ».

Les interactions supramoléculaires permettent alors de constituer les phrases avec lesquelles s'écrit le vivant, où se répètent des propositions et expressions courantes. Les liaisons hydrogène et les interactions de van der Waals en constituent la syntaxe, et les règles de la réactivité chimique les règles de grammaire : de même que le participe passé ne s'accorde pas n'importe comment avec le verbe avoir, les molécules impliquées dans une réaction électrocyclique ne

s'associent pas dans n'importe quelle configuration. Et voilà Woodward et Hoffmann élevés au rang de grammairiens, à leur plus grande surprise...

Dès lors, si les alchimistes tentaient vainement de transformer les « P » en « A », ce dont seuls sont capables les physiciens nucléaires qui ont accès aux plaques d'imprimerie (ou plutôt, de nos jours, aux logiciels de définition des polices de caractères), que devient le rôle des chimistes en général ?

Il est indubitablement double : en premier lieu, ce sont les chimistes qui observent la matière pour ce qu'elle est et en font émerger les régularités, les comportements ; ils décryptent son langage et ses extraordinaires arrangements. Ils décrivent, définissent et classent. À ces différents égards, ils endossent la noble tâche des académiciens lorsqu'ils bâtissent les dictionnaires.

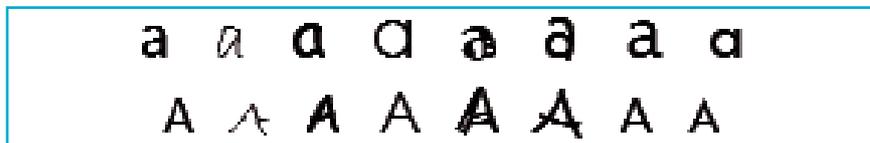
Mais cette compréhension leur donne surtout le pouvoir de créer du neuf, d'assembler les lettres de manières inédites, de manipuler les règles pour inventer de nouvelles phrases, ouvrir de nouveaux espoirs. Comme le poète crée les vers qui soignent l'âme, le chimiste synthétise les molécules qui guérissent le corps. Comme l'écrivain réinvente le monde, le chimiste en fabrique de nouveaux qui changent le cours de notre existence.

Mais lorsqu'il s'agit d'apprentissage, c'est bien par le récit que l'enfant entre dans la lecture ; c'est par le sens de l'histoire qu'on lui lit qu'il se découvre l'envie de lire lui-même, puis d'écrire. Son entrée dans le monde littéraire est macroscopique. Il nous semble fondamental qu'il en soit de même pour la chimie. Aussi, plutôt que de partir de l'atome pour « reconstruire » la matière, osons partir de la substance, introduire le concept de « pureté » par lequel il sera possible de descendre aux molécules, les *mots* de la matière. Dès cet instant, l'enfant n'aura qu'une envie : comprendre comment ces mots sont écrits, jouer avec leurs lettres, répéter ceux qu'il connaît, en inventer de nouveaux. Et peut-être, devenir chimiste.

Richard-Emmanuel Eastes,

le 25 novembre 2010

*Retrouvez l'intégralité de ces chroniques sur le blog *Parlez-vous chimie ?* (www.parlezvouschimie.org).



Différentes représentations de la lettre « A ».

Brain drain ou brain gain ?

Tous les quatre ou cinq ans, à l'occasion d'un rapport ou d'une déclaration médiatisée, le thème de la fuite des cerveaux revient périodiquement. Une étude de l'Institut Montaigne d'octobre 2010 relance le débat. Son auteur, Ioanna Kohler (French-American Foundation, New York), donne le ton dans son intitulé : « Gone for good » (parti pour de bon).

Quels en sont les principaux chiffres et principales conclusions ?

- La France, avec 1,3 % de chercheurs expatriés aux États-Unis, est relativement loin du Royaume-Uni (3 %) et même de l'Italie (2,5 %). Mais la part des chercheurs parmi les émigrants français est passée en trente ans de 8 à 27 %.

- Si on peut se féliciter de la mobilité des jeunes Français qui s'expatrient aux « States », soit dans le cadre de la préparation d'un PhD, soit pour un stage post-doctoral (qui s'est généralisé), on peut regretter qu'une partie y reste, la facilité d'y décrocher un job leur paraissant plus facile que dans l'hexagone.

- Plus grave d'après l'auteur : l'aspect qualitatif, puisqu'il montre que ce sont les économistes, les biologistes et les mathématiciens qui sont les plus concernés, et que les diplômés de Normale Sup et de l'X lognont de plus en plus vers les établissements nord-américains.

Quels en sont les motifs ?

- La lenteur administrative dans les procédures de recrutement en France, élément rétrograde pour le retour (vrai pour la fonction publique, moins pour le privé).

- Le manque d'informations des jeunes chercheurs expatriés ou étrangers sur les possibilités qui leur sont maintenant offertes.

- Un manque de valorisation du PhD (doctorat) par rapport au diplôme d'ingénieur pour la carrière dans notre pays.

Et pourtant, et pourtant...

Les mesures et dispositifs mis en place dès octobre 2008 par la ministre Valérie Pécresse répondent largement à ces questions et produisent déjà leurs effets :

- Revalorisation de la carrière des jeunes chercheurs avec une augmentation de 12 à 25 % des salaires d'embauche des maîtres de conférences et prise en compte du doctorat en tant qu'expérience professionnelle ;

- Chaires communes université-organisme de recherche, avec décharge d'enseignement et prime pour la recherche (PES) ;

- Le programme « retour post-doc » de l'ANR, qui a permis en 2009 de doter

25 chercheurs sur 97 concurrents de sommes comprises entre 200 et 700 k€ sur trois ans pour les aider à leur retour (56 % des États-Unis) à démarrer un programme et une équipe de recherche. C'est près de 140 candidats qui ont soumis leur dossier en 2010.

Par ailleurs, les bureaux CNRS et Inserm avec les services scientifiques de l'Ambassade de France à Washington font valoir que le site mis en place depuis 2006⁽¹⁾ et la lettre électronique hebdomadaire « Fil de Marianne » touchent plus de 1 800 compatriotes. Ils informent régulièrement la communauté des jeunes Français des offres d'emploi, des modalités des concours et des mesures incitatives, qui s'ajoutent aux rencontres entre scientifiques expatriés, cafés des sciences, organisés par l'Ambassade.

Comme on le voit, le paysage est moins peint de couleurs catastrophiques qu'il pouvait y paraître et les dispositions effectives depuis 2009 prendront usage avec le temps. Elles s'ajoutent à la LRU qui devrait permettre aux universités d'utiliser l'autonomie de la gestion de la masse salariale pour sortir de la grille des salaires et proposer des rémunérations plus compétitives à des chercheurs d'excellence. Il est vrai qu'il y a encore du chemin à faire, si on en juge par la grogne des « vieux » maîtres de conférences devant les avantages consentis à leurs jeunes confrères, les remous provoqués par la prime d'excellence scientifique et la timidité toute prudente des présidents d'universités à proposer ces sur-salaires qui rompent avec les tabous de la fonction publique (aisément transgressés dans d'autres Ministères)

Et quid des autres pays ?

Le Royaume-Uni est habitué à ce « brain strain » atlantique vers et depuis les États-Unis ou le Canada, qui correspond à une longue tradition anglo-saxonne d'échange et de mobilité entre nations de même langue. Il est vrai aussi qu'avec le « high education act » de 2006 et les décisions drastiques du budget britannique de 2010, le doctorant, et même l'étudiant anglais, est déjà surendetté avant la fin de ses études !

La Chine, qui s'est éveillée, a fait la constatation qu'en trente ans, sur plus d'un million d'étudiants partis à l'étranger, seuls 26 % étaient rentrés au pays, et a donc resserré les boulons. En 2007, les ministères concernés ont publié un règlement qui oblige les étudiants chinois boursiers à rentrer au pays à la fin de leur cursus et à consacrer au moins deux ans

à servir la patrie ; sinon ils doivent rembourser leur scolarité et sont susceptibles d'une amende, le contrat signé instituant les parents comme caution. Avec la croissance économique, c'est environ 100 000 étudiants par an qui partent hors des frontières, la France en accueille en ce moment environ 25 000 dont un rapport récent du Ministère nous apprendait qu'ils n'étaient pas parmi les meilleurs, attirés par le faible coût des études et fuyant les difficultés du Gao Kao, concours d'entrée à l'université. Cependant, le retour des « haigui »⁽²⁾ après la traversée des mers vers l'Amérique ou l'Europe est fortement encouragé par des parcs industriels dédiés, des emplois spécifiques, des dotations financières... qui attirent les meilleurs talents.

Pour les pays du Maghreb, la situation est bien plus critique. L'exemple de l'Algérie, où plus de 3 000 chercheurs permanents ont quitté le pays en cinq ans, montre que le statut de l'enseignement supérieur et de la recherche ne répond pas aux attentes des jeunes Algériens diplômés qui fuient vers l'Europe. La situation de l'emploi, les difficultés professionnelles et sociales font qu'entre 1994 et 2006, près de 72 000 d'entre eux ont émigré vers la France ; sait-on par exemple que plus de 1 100 médecins algériens y exercent ? Le phénomène n'est pas seulement méditerranéen mais est commun à toute l'Afrique, où la fuite des cadres oblige les nations de ce continent à engager des spécialistes étrangers avec une dépense de plusieurs milliards de dollars dont elles se passeraient bien.

Quel avenir nous menace en France ? Passer de la 5^e place en recherche à la 21^{ème} avec la montée des pays en émergence 20 à 25 fois plus peuplés que nous ? Mobilité de nos post-docs vers la Chine ou l'Inde plutôt que vers les États-Unis ? Une culture des chercheurs de retour au pays basée de plus en plus sur la performance individuelle et le montage de projets personnels au détriment de l'esprit d'équipe et de dévouement au service d'un institut ?

Les nouvelles dispositions et la mise en marche des universités ou PRES « autonomes » prendront une ou deux décennies avant qu'on en fasse les bilans ; espérons que la recherche et la chimie françaises s'en trouveront dopées.

Jean-Claude Bernier,
le 24 novembre 2010

(1) www.france-science.org

(2) Tortues de mer, mais aussi mot employé familièrement en Chine pour désigner ceux qui retournent au pays.

Le marquage isotopique spécifique

Un outil pour repousser les frontières de la RMN biomoléculaire

Pierre Gans et Jérôme Boisbouvier

Résumé

La résonance magnétique nucléaire est une méthode de choix pour étudier, à la résolution atomique, les caractéristiques structurales et dynamiques des biomacromolécules en solution. Cependant les techniques RMN standard se caractérisent par une faible sensibilité et sont limitées à des objets biologiques de taille modeste. Le développement de nouvelles techniques de marquage isotopique spécifique a permis ces dernières années de repousser les limites de la RMN biomoléculaire. Des protocoles permettant d'incorporer des groupes méthyles $^{13}\text{CH}_3$ de façon sélective ont été mis au point pour les acides aminés isoleucine, alanine, méthionine, leucine et valine au sein des protéines perdeutérées. Ce marquage augmente considérablement la qualité des données RMN. Ainsi, le gain en sensibilité apporté constitue une base simple et efficace pour la caractérisation structurale et dynamique des interactions moléculaires au sein des édifices supramoléculaires complexes pouvant atteindre 1 MDa. Par ailleurs, ce gain de sensibilité permet la détection d'interactions très faibles dans les protéines telles que des nOe entre protons séparés par plus de 10 Å ou des couplages scalaires de quelques dixièmes, voire centièmes de hertz.

Mots-clés

Résonance magnétique nucléaire, RMN, structure de biomolécules, marquage isotopique.

Abstract

Specific isotopic labelling: a tool to extend the limits of biomolecular NMR

Nuclear magnetic resonance spectroscopy is a method of choice to study the structural and dynamic properties of biomacromolecules in solution at atomic resolution. However, standard NMR techniques are characterized by low sensitivity and are limited to biological objects of modest size. The development of new specific isotope labeling techniques has allowed the limits of biomolecular NMR to be extended in recent years. Protocols have been developed to selectively incorporate $^{13}\text{CH}_3$ labeled methyl groups in isoleucine, alanine, methionine, leucine and valine amino acids within otherwise perdeuterated proteins. These labeling schemes significantly improve the quality of NMR data and this gain in sensitivity and resolution allows the characterization of the structure and dynamics of molecular interactions within supramolecular complexes of up to 1 MDa. Moreover, the improvement in sensitivity allows detection of very weak interactions in proteins such as nOe between protons separated by more than 10 Å or scalar couplings of a few tenths or hundredths of a hertz.

Keywords

Nuclear magnetic resonance, NMR, biomolecular structure, isotopic labelling.

Le marquage isotopique des protéines

Depuis les années 1980, date de la résolution des premières structures tridimensionnelles de protéines par résonance magnétique nucléaire, la structure tridimensionnelle des protéines a largement bénéficié de l'amélioration technique des spectromètres : augmentation du champ magnétique statique et introduction de sondes de détection cryogéniques. Toutefois, l'avancée qui a principalement permis le passage d'une structure d'une taille de quelques kDa à celle de plus de 50 kDa a été l'introduction successive de différentes techniques de marquage isotopique dans les protéines. En effet, la base de la détermination structurale est la collecte d'informations de distances proton-proton (ou nOe, « nuclear overhauser effect ») servant de contraintes expérimentales pour des algorithmes de modélisation moléculaire. Toutefois, le prérequis de cette méthode est la détermination de la fréquence de résonance pour la quasi-totalité des protons de la protéine. Dans le cas de protéines de petite taille, cela est possible pour des échantillons obtenus sans marquage particulier. Cela a permis d'obtenir les structures de protéines jusqu'à une dizaine de kDa dans des cas favorables [1-2].

Cette stratégie ne suffit toutefois plus pour des objets de plus grande taille à cause de la superposition des résonances et il faut augmenter la résolution en dispersant les signaux

selon une nouvelle fréquence, ce qui est fait grâce à l'introduction d'hétéroatomes comme l'azote-15 et le carbone-13. Cette technique a permis dans un premier temps un bond dans la taille des protéines accessibles à la RMN en permettant de résoudre la structure de protéines jusqu'à 20 kDa [3]. L'augmentation de la taille des protéines étudiées induit par contre un phénomène très défavorable pour la RMN. Du fait de l'accroissement du temps de corrélation de la protéine, les échanges d'aimantation par effet dipolaire d'un proton donné vers ses voisins deviennent très efficaces. L'augmentation de la taille des biomacromolécules s'accompagne ainsi d'un élargissement des raies des signaux RMN et d'un phénomène de diffusion de spins qui limite l'extraction de contraintes de distances précises. Le remplacement partiel uniforme des protons de la protéine par des deutérons avec lesquels ces échanges d'aimantation ne peuvent pas se produire permet de pallier ces phénomènes de fuite d'aimantation et de recouvrer la sensibilité des expériences. Il a été ainsi possible d'obtenir la structure tridimensionnelle de complexes protéiques de plus de 40 kDa comme celui entre l'enzyme I et HPr [4].

Toutefois, si l'on veut étudier des objets de plus grande taille (de l'ordre d'une centaine de kDa ou plus) comme des complexes du protéasome, cette méthode n'est plus assez efficace. En effet, le surcroît d'efficacité des interactions

dipolaires entre protons – qui conduit à une relaxation encore plus rapide du signal – ne peut plus être compensé par une nouvelle dilution de ces protons par des deutérons, car on atteindrait la limite où il n’y aura plus assez de protons par site pour donner un signal observable. Cet état de fait a conduit à proposer ces dernières années une nouvelle stratégie de marquage pour ce type d’objet qui peut se résumer ainsi : pour une densité donnée de protons dans une protéine, il vaut mieux que quelques sites soient entièrement protonés dans un contexte entièrement deutéré (perdeutération) plutôt que tous les sites soient faiblement et uniformément protonés. L’inconvénient de ce marquage est que l’on ne peut plus observer qu’un nombre restreint de sites, de plus difficilement identifiables. Par ailleurs, on ne peut alors mesurer que les distances entre des sites occupés, ce qui réduit grandement le nombre de contraintes utiles pour la détermination de structures pouvant être obtenues pour un type d’échantillon. Par contre, les avantages de cette méthode sont que les intensités des signaux observés sont maximales puisque les sites sont occupés à 100 % par les protons, et que les spectres sont grandement simplifiés car un seul type de site est observable et la relaxation des signaux est lente puisque les fuites par échange d’aimantation sont faibles, les sites spécifiquement protonés étant bien isolés les uns des autres. De fait, l’introduction de ce type de marquage a permis d’aller vers l’obtention de structures de protéines de plus grande taille comme celle de la malate synthase G (MSG) de 82 kDa [5] ou même de complexes de 200 kDa [6].

Intérêt de la protonation spécifique des groupements méthyles dans des protéines perdeutérées

Cette stratégie de marquage spécifique pourrait s’appliquer à tous les sites où se trouvent des protons non échangeables avec le solvant, dès lors qu’il est possible d’obtenir des acides aminés ou des précurseurs protonés spécifiquement en une position de la molécule. Elle a été particulièrement développée ces dernières années pour les groupements méthyles des acides aminés des protéines car ils bénéficient en effet de trois propriétés très favorables pour la RMN :

- L’aimantation transférée entre deux groupes méthyles est multipliée par neuf, du fait de la multiplicité des méthyles, par rapport à l’intensité du signal qui serait transféré entre deux protons séparés par la même distance. D’une part, l’aimantation du méthyle est trois fois ce qu’elle serait pour un seul proton ; d’autre part, l’aimantation d’un premier méthyle peut être transférée vers chacun des trois protons du second méthyle.
- Du fait de la rotation rapide du groupement méthyle suivant la liaison carbone-carbone, les vitesses de relaxation transversale et longitudinale sont beaucoup plus favorables que celles d’un proton du squelette ou d’une chaîne latérale. Cela conduit à un rapport signal sur bruit favorable permettant l’acquisition de spectres RMN 2D en quelques secondes [7].
- Enfin, dans une protéine globulaire, alors que les groupes polaires restent plutôt en surface, les acides aminés hydrophobes (dont les leucines, valines et isoleucines) se rassemblent pour former un ou plusieurs cœurs hydrophobes au centre de la structure tertiaire. Les groupes méthyles seront donc concentrés dans des zones intérieures et la mesure de leurs proximités permettra l’obtention de nombreuses contraintes de distance indispensables pour le calcul du repliement global de la protéine.

Obtention des méthyles spécifiquement protonés pour un type d’acide aminé dans une protéine perdeutérée

Il est donc nécessaire que la protéine soit entièrement deutérée à l’exception d’un type de méthyle qui restera protoné. Par voie de synthèse chimique, les six acides aminés (Ala, Val, Leu, Ile, Thr et Met) peuvent être obtenus marqués $^{13}\text{CH}_3$ spécifiquement sur les méthyles, et dans le cas des leucines et valines, sur un seul des méthyles de façon stéréospécifique, mais le coût de tels acides aminés limite l’application en RMN biomoléculaire. Il serait possible d’obtenir une protéine spécifiquement marquée sur un méthyle d’un acide aminé particulier en la surproduisant en milieu perdeutééré dans une souche d’*E. coli* auxotrophe pour cet acide aminé particulier et en fournissant l’acide aminé spécifiquement marqué sur le groupe méthyle [8]. Toutefois, la croissance de ces souches auxotrophes⁽¹⁾ est généralement trop faible pour surexprimer en milieu deutéré la protéine désirée en quantité suffisante. De plus, il est nécessaire de fournir tous les autres acides aminés sous forme deutérée, ce qui augmente considérablement les coûts.

Une autre voie pourrait être la synthèse des protéines *in vitro* [9] (ou méthode « cell-free ») en apportant les acides aminés correctement enrichis. Grâce à cette méthode, il a été possible de synthétiser des protéines où les carbones des chaînes latérales ne portent qu’un seul proton – méthode SAIL [10] –, ce qui permet de grandement simplifier et d’améliorer les spectres. En apportant les acides aminés deutérés et spécifiquement marqués $^{13}\text{CH}_3$ sur un méthyle donné, on pourrait donc obtenir le type d’échantillon souhaité. Ce type d’approche reste toutefois extrêmement onéreux et difficile à mettre en œuvre.

De ce fait, les différents groupes (dont le nôtre) qui ont développé de tels marquages spécifiques se sont plutôt tournés vers une approche où la protéine est produite *in vivo* par *E. coli* dans un milieu de culture minimum perdeutééré et où sont fournis les acides aminés ou leurs précurseurs spécifiquement protonés. Cette méthode est d’un coût beaucoup plus raisonnable, mais nécessite la maîtrise des voies métaboliques par lesquelles *E. coli* assimile l’acide aminé ou le synthétise à partir d’un précurseur. En effet, il faut autant que possible fournir un intermédiaire proche dans la voie de biosynthèse de l’acide aminé pour pouvoir diluer au maximum, sinon rétroinhiber, le flux provenant du métabolisme, et d’autre part que les réactions enzymatiques dans cette voie soient irréversibles, de façon à ce que le marquage ne se retrouve pas dans les autres acides aminés. Il est possible de pallier ce type de problème comme nous le verrons dans le cas du marquage de l’alanine, mais cela peut présenter un surcoût important et se montrer d’une optimisation délicate [11-12]. Certains de ces précurseurs sont disponibles commercialement, mais en règle générale, préalablement à la culture dans *E. coli*, il faut synthétiser le composé avec le marquage isotopique désiré. Nous allons maintenant détailler quelques exemples de modes de marquage développés récemment.

Marquage spécifique des isoleucines en position $\delta 1$

Dans le cas de l’isoleucine, il est simple d’obtenir une protonation spécifique sur le méthyle terminal ($\delta 1$) de la chaîne latérale [13]. L’isoleucine est produite par une voie de biosynthèse qui met en jeu le 2-oxobutanoate produit par déamination de la thréonine (voir *figure 1*). Celui-ci, après une

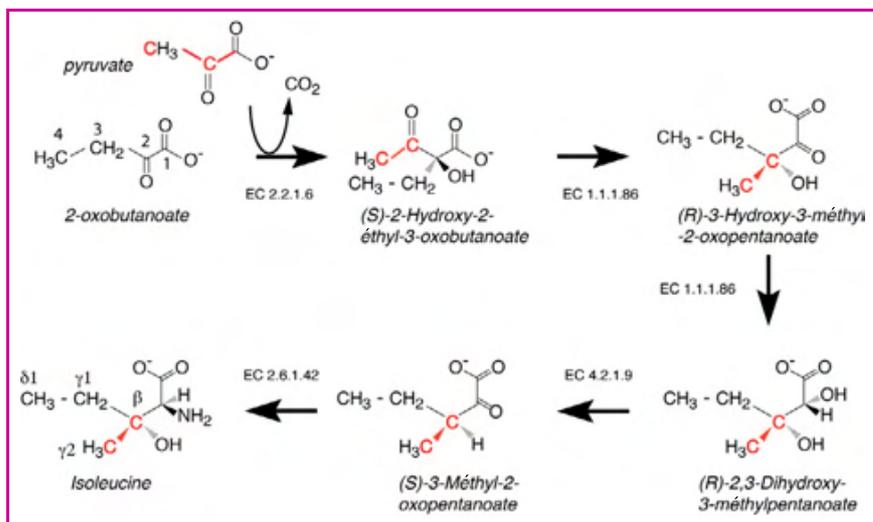


Figure 1 - Voie de biosynthèse de l'isoleucine.

Les positions et la stéréochimie dans chaque intermédiaire des carbones issus du pyruvate sont indiquées en rouge. Chaque intermédiaire dans la voie de biosynthèse a été nommé suivant KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*). Les enzymes catalysant les différentes réactions sont désignées par leur numéro EC (*Enzyme Commission number*). EC 2.2.1.6 : acétolactate synthase ; EC 1.1.1.86 : acétohydroxyacide isoméroréductase ; EC 4.2.1.9 : dihydroxyacide déshydratase ; EC 2.6.1.42 : glutamate amino transférase, spécifique des acides aminés à chaînes latérales (branched-chain-amino-acid transaminase). Des informations complémentaires sur la voie de biosynthèse de l'isoleucine peuvent être trouvées sur www.genome.jp/kegg.

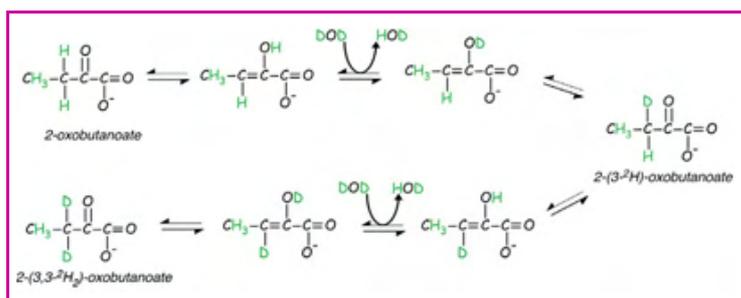


Figure 2 - Réaction d'échange proton-deuteron en position 3 du 2-oxobutanoate.

La réaction se fait dans D₂O, pD : 10,5 pendant 72 heures à 40 °C [13].

condensation irréversible avec une molécule de pyruvate, est transformé en (S)-2-acéto-2-hydroxybutanoate, puis en (S)-3-méthyl-2-oxopentanoate, et enfin en isoleucine par transamination, les carbones 3 et 4 du 2-oxobutanoate se retrouvant respectivement en position γ 1 et δ 1 de l'isoleucine.

À partir du 4-¹³C 2-oxobutanoate disponible commercialement, on obtient aisément le 4-¹³C-3-²H₂-2-oxobutanoate par échange dans l'eau lourde à pH basique (figure 2). Ce composé est ajouté dans le milieu de culture deutéré, où il constitue l'unique source de protons, une heure avant induction de l'expression de la protéine par *E. coli* ; cela permet d'obtenir le marquage souhaité de l'isoleucine dans la protéine d'intérêt avec des taux de deutération de la protéine et d'incorporation du groupement ¹³C¹H₃ sur les sites δ 1 des isoleucines supérieurs à 98 % [13].

Marquage stéréospécifique de la leucine et de la valine

La protonation des deux méthyles de la valine et de la leucine peut être obtenue à partir du 2-oxo-3-méthylbutanoate (ou α -cétoisovalérate) protoné spécifiquement sur les deux méthyles de la même manière que pour l'isoleucine. Comme pour le 2-oxobutanoate, ce composé spécifiquement protoné

s'obtient aisément directement dans l'eau lourde par échange proton-deuteron en milieu basique [14]. Mais ce marquage ne présente que peu d'intérêt pratique pour l'application de la spectroscopie RMN à l'étude des protéines de grande taille. En effet, la proximité des deux méthyles dans le même résidu conduit à des transferts d'aimantation entre ces deux groupes, ce qui induit une diminution beaucoup plus rapide du signal et interdit pratiquement les transferts d'aimantation vers des méthyles éloignés. Pour résoudre ce problème, un 2-oxo-3-méthylbutanoate, le 2-oxo-3-(²H₃)méthyl-3-(²H)-4-(¹³C)-butanoate où statistiquement un méthyle sur deux est deutéré, a été développé [15] et est disponible commercialement.

Toutefois, l'utilisation de ce composé, s'il permet effectivement d'obtenir des signaux exploitables dans des protéines de grande taille, présente un certain nombre d'inconvénients pour les applications RMN. Certes, il est possible d'accéder à des contraintes de distances, mais celles-ci étant obtenues entre deux sites occupés par moitié, le signal est le

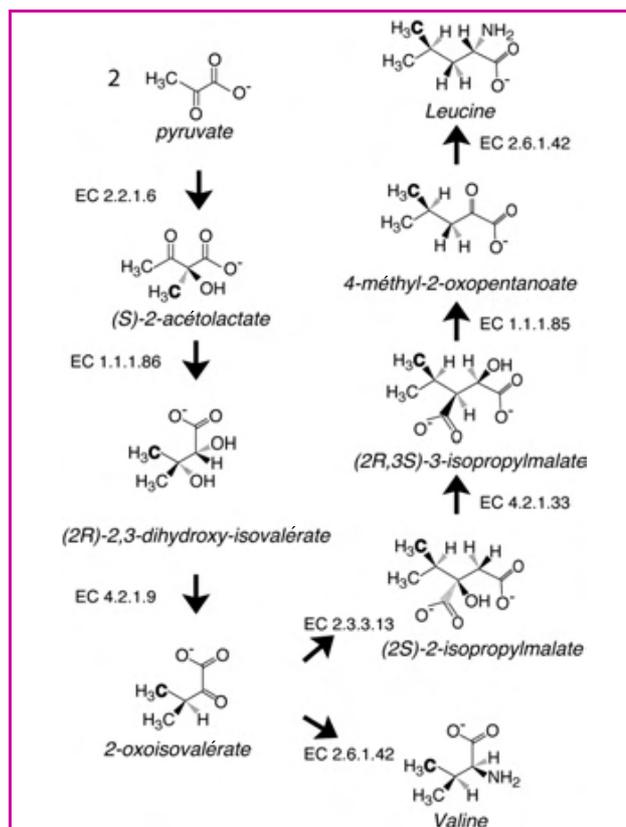


Figure 3 - Voie de biosynthèse de la valine et de la leucine.

La position et la stéréochimie dans chaque intermédiaire du carbone issu du méthyle situé en 2 dans l'acétolactate (ou 2-hydroxy-2-méthyl-3-oxobutanoate) sont indiquées en gras. Chaque intermédiaire dans la voie de biosynthèse a été nommé suivant KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*). Les enzymes catalysant les différentes réactions sont désignées par leur numéro EC (*Enzyme Commission number*). EC 2.2.1.6 : acétolactate synthase ; EC 1.1.1.86 : céto-acido réductoisomérase ; EC 4.2.1.9 : dihydroxy-acido déshydratase ; EC 2.6.1.42 : aminotransférase d'acide aminé à chaîne ramifiée ; EC 2.3.3.13 : 2-isopropylmalate synthase ; EC 4.2.1.33 : 3-isopropylmalate déshydratase ; EC 1.1.1.85 : 3-isopropylmalate déshydrogénase. Des informations complémentaires sur la voie de biosynthèse des leucines et valines peuvent être trouvées sur www.genome.jp/kegg.

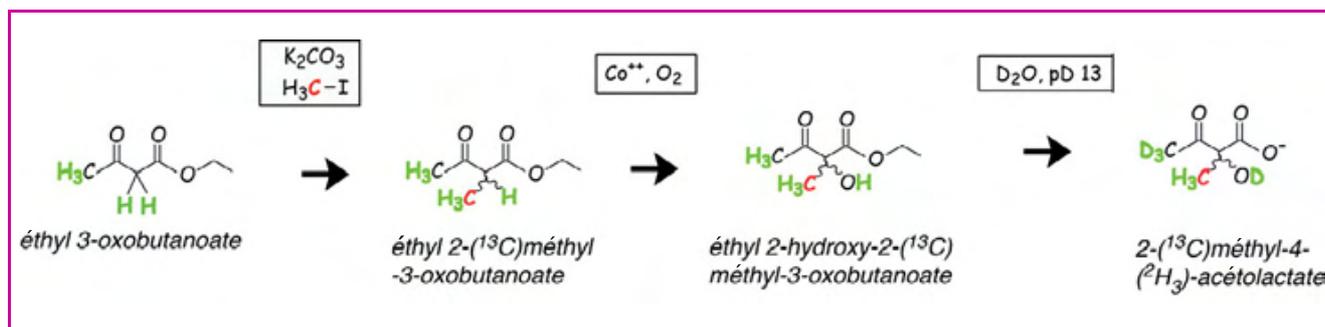


Figure 4 - Protocole de synthèse chimique du 2-(^{13}C)méthyl-4-($^2\text{H}_3$)-acétolactate.

Le noyau ^{13}C est indiqué en rouge. La réaction de méthylation se fait à 40 °C dans l'éthanol sous argon pendant 90 h. L'oxydation est effectuée dans un mélange acétonitrile-isopropanol pendant 28 h à 60 °C. La deutération du 4-méthyle se fait en moins de 30 min dans NaOD pD : 13 en même temps que la déprotection du groupe carboxylate.

quart de ce qu'il serait si les deux sites étaient entièrement occupés. D'autre part, des signaux sont obtenus pour chacun des deux méthyles, ce qui conduit à de nombreuses superpositions dans les spectres pour les protéines de grande taille. Nous avons donc cherché à développer un mode simple de marquage stéréospécifique des leucines et des valines. L'examen des voies de biosynthèse montre que la stéréochimie du radical isopropyl est établie dès l'étape de conversion de l'acétolactate en (R)-3,4-dihydroxy-3-méthylbutanoate (figure 3, p. 7).

Cette conversion se fait de façon stéréosélective en transférant le groupe méthyle en 2 en position proR du groupement isopropyle du 2-cétoisovalérate (voir figure 3) [16-17]. Il est donc possible d'obtenir la stéréosélectivité désirée de

la leucine et de la valine à partir d'un acétolactate différemment marqué sur les deux méthyles. Par contre, l'acétolactate étant synthétisé par une condensation de deux pyruvates dans l'étape de l'acétolactate synthase, les deux méthyles de ce composé ne peuvent pas être marqués *in vivo* de façon différente. Nous nous sommes donc tournés vers la synthèse chimique de cet intermédiaire et l'acétolactate a été synthétisé suivant les méthodes rapportées dans les références [18-20] par une suite de réactions décrite dans la figure 4.

La première étape part du 3-oxobutanoate (ou acétoacétate) dont la fonction carboxylique est protégée par un méthyle ou un éthyle. Celui-ci est traité en milieu basique par de l'iodure de méthyle marqué ^{13}C ($^{13}\text{CH}_3\text{-I}$), ce qui permet d'obtenir le 2-(^{13}C)méthyl 3-oxobutanoate avec un bon rendement (90 %). Ce composé est ensuite oxydé à l'air en présence de catalyseur métallique pour donner le 2-hydroxy-2-(^{13}C)méthyl-3-oxobutanoate. La fonction carboxylique est déprotégée en même temps qu'est deutérée la position 4 de l'acétolactate par un échange proton/deuteron dans l'eau lourde en milieu basique. L'ajout du composé obtenu dans un milieu de culture deutéré de *E. coli* permet d'obtenir des protéines uniquement protonées sur la position proS des valines et des leucines comme le montre la comparaison des spectres de la malate synthase G [21] (figure 5). Il est à noter que la synthèse de l'acétolactate marqué n'est pas stéréosélective et que seul le stéréoisomère 2-(S) est incorporé *in vivo*, le stéréoisomère 2-(R) n'étant pas métabolisé. Cela permet une simplification importante du spectre, une seule moitié des méthyles des leucines et valines étant encore observable. D'autre part, les sites étant maintenant pleinement protonés, les intensités des signaux permettant de quantifier les distances méthyles-méthyles sont multipliées par un facteur 4, ce qui permet de mesurer des contraintes jusqu'à des distances proches de 12 Å dans des protéines de taille allant jusqu'à 20 kDa [22] comme l'illustre la figure 6.

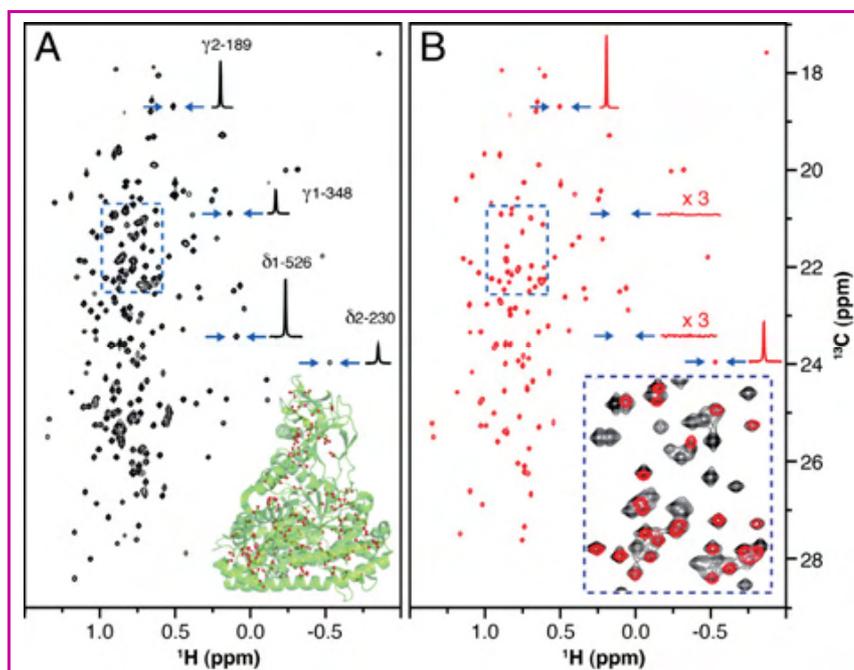


Figure 5 - Comparaison des spectres méthyl-TROSY (« transverse relaxation optimized spectroscopy ») enregistrés sur des échantillons de malate synthase G (82 kDa) spécifiquement marquée sur les leucines et les valines, et préparée **A** : avec du 2-oxo-3-($^2\text{H}_3$)méthyl-3-(^2H)-4-(^{13}C)-isovalérate donnant de l'U-[^2H], U-[^{13}C], Leu/Val-[$^{12}\text{C}_2\text{H}_3$, $^{13}\text{C}_1\text{H}_3$] MSG ; **B** : avec du 2-(^{13}C)méthyl-4-($^2\text{H}_3$)-acétolactate donnant de l'U-[^2H], U-[^{13}C], Leu/Val-[$^{13}\text{C}_1\text{H}_3$]^{proS} MSG.

Les corrélations des méthyles $\delta 1$ des leucines et $\gamma 1$ des valines ne sont plus détectables dans le spectre B alors que l'intensité de celles des méthyles $\delta 2$ des leucines et $\gamma 2$ des valines est multipliée par un facteur proche de 2. L'insert de la figure A montre la position dans la structure 3D de MSG des groupes méthyles des leucines et valines (sphères rouges).

Reproduit avec permission de [21], © Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Marquage spécifique de l'alanine

L'alanine est statistiquement l'acide aminé le plus abondant dans les protéines avec la leucine, mais contrairement à cette dernière où le méthyle

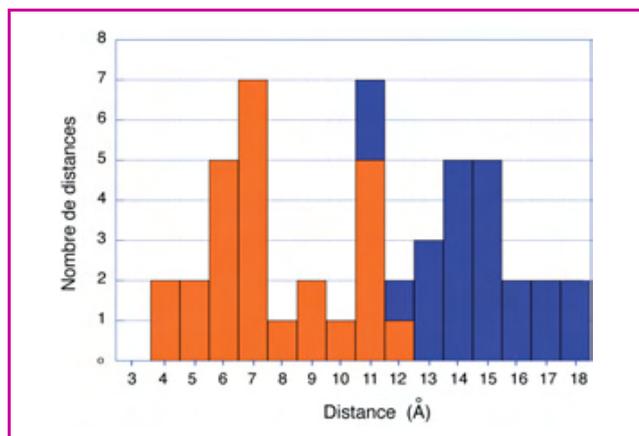


Figure 6 - Distribution des distances interméthyles en fonction des distances proton-proton calculées à partir des structures de l'ubiquitine (1D3Z) et de la γ S-crystalline (2A5M). Les NOEs observés expérimentalement sont indiqués par des barres orange.

est en bout de chaîne latérale, le marquage de l'alanine permet d'introduire une sonde proche du squelette protéique. Par contre, à la différence de l'isoleucine, la valine et la leucine où l'oxoacide donnant l'acide aminé par transamination se trouve en fin de voie métabolique, l'oxoacide se trouve être ici le pyruvate qui occupe une position centrale dans le métabolisme carboné (voir figure 7). De ce fait, le protocole de marquage de l'alanine s'est révélé complexe à mettre au point.

Il n'était donc pas possible d'utiliser du pyruvate protoné comme précurseur sans introduire de multiples sites de protonation dans la protéine. Il a fallu dans ce cas fournir lors de la culture de l'alanine convenablement marquée – c'est-à-dire où le groupement méthyle était à la fois protoné et marqué ^{13}C alors que le reste de la molécule était deutéré et ^{12}C . Partant de la 3- ^{13}C alanine commerciale, en utilisant la tryptophane synthase – une protéine à pyridoxal phosphate qui a la capacité d'échanger les protons alpha sans changer la configuration absolue du carbone alpha de l'alanine [23] –, nous avons obtenu en milieu deutéré le composé de base, la 3- ^{13}C , 2- ^2H alanine qui, une fois introduit dans le milieu de culture permet d'obtenir le marquage désiré dans la protéine (figure 8).

Par contre, la réaction d'amination du pyruvate étant réversible, comme un certain nombre de réactions enzymatiques, l'ajout de 3- ^{13}C , 2- ^2H alanine conduit à la formation de 3- ^{13}C pyruvate protoné par déamination de l'alanine, et donc à l'apparition de protonations indésirables en de nombreux sites. L'ajout de pyruvate entièrement deutéré pour diluer le pyruvate produit par déamination permet de pallier ce phénomène mais au prix d'une diminution importante du marquage final de l'alanine. Nous avons donc apporté pour chaque voie de biosynthèse une quantité d'intermédiaires deutérés (α -cétoglutarate, α -cétoisovalérate, isoleucine, oxaloacétate et glycérol) suffisante pour fortement diluer le flux d'intermédiaires ou rétroinhiber la voie de biosynthèse. Ce protocole permet d'obtenir des taux de marquage de la position C β de l'alanine supérieurs à 95 % sans que les autres sites soient marqués à plus de 3 % [12], et d'observer ainsi tous les signaux des alanines dans des protéines de plus de 80 kDa comme l'illustre la figure 9.

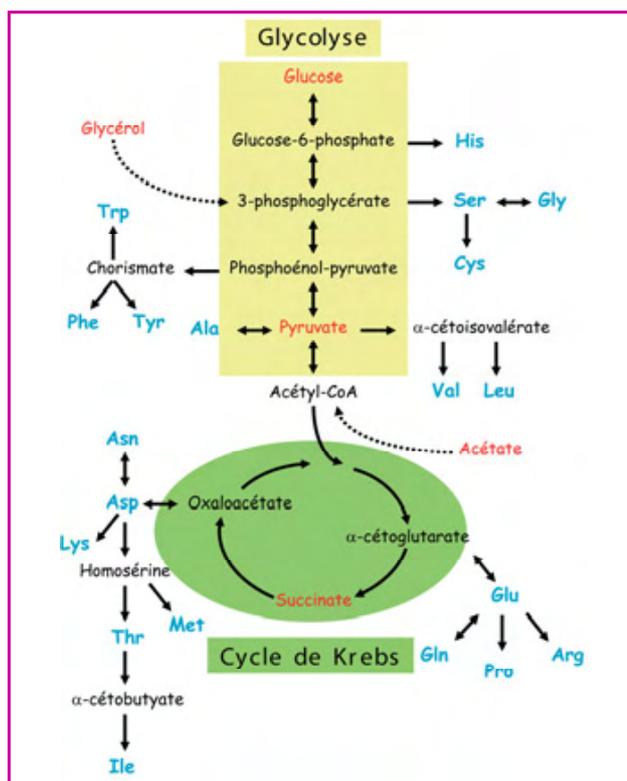


Figure 7 - Schéma simplifié des voies métaboliques conduisant aux vingt différents acides aminés.

En rouge : les composés carbonés utilisés comme source de carbone dans les cultures de bactéries ; en bleu : les acides aminés.

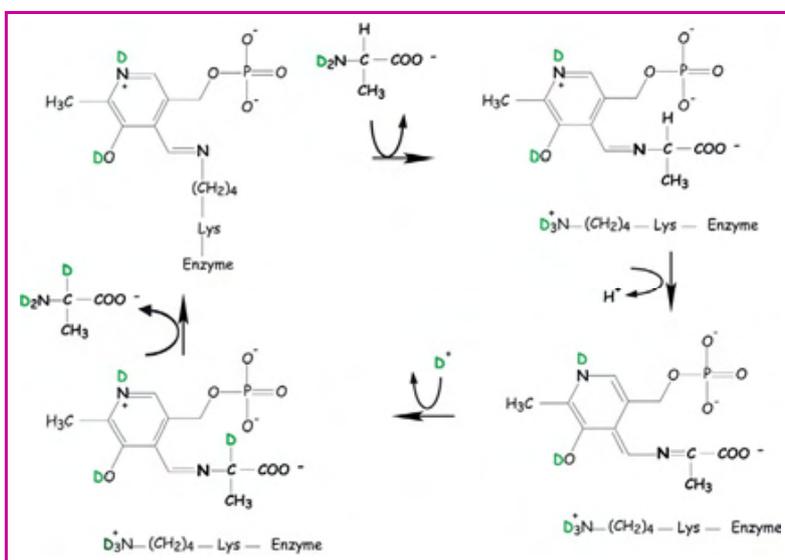


Figure 8 - Mécanisme de deutération de la 3- ^{13}C -alanine par la tryptophane synthase dans l'eau lourde.

Les atomes de l'alanine sont représentés en gras, ceux de deutérium en vert.

Perspectives

Le nombre de types de méthyles différents dans une protéine est très limité et il est clair que les protocoles de marquage que nous venons de présenter constituent l'essentiel des protocoles utilisables *in vivo* pour des applications de résonance magnétique nucléaire des protéines. Pour la méthionine, un protocole de marquage a été également

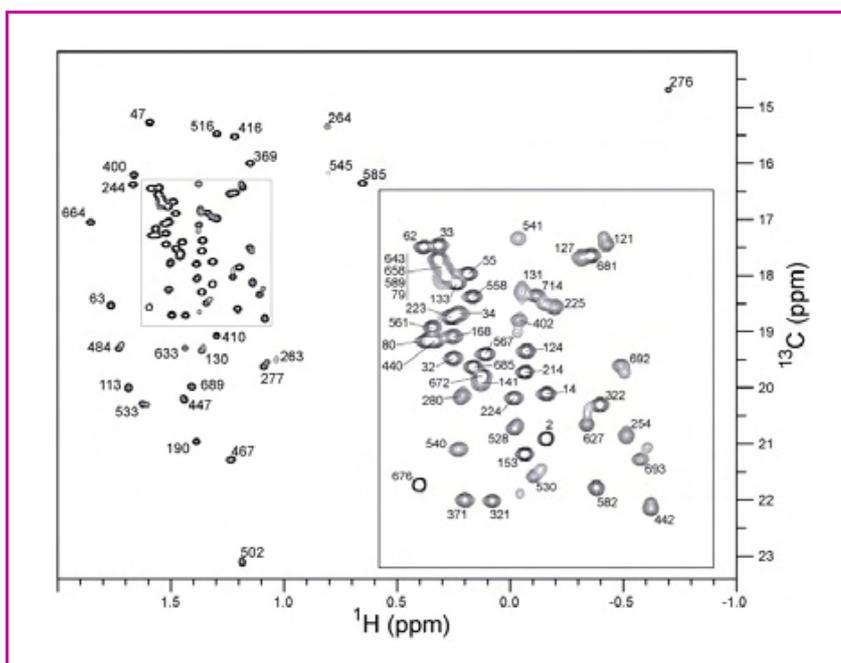


Figure 9 - Spectre 2D ^1H - ^{13}C HMQC (« heteronuclear multiple quantum coherence ») de la malate synthase G (MSG, 82 kDa) perdeutérée et protonée spécifiquement sur les méthyles des alanines ($\text{U-}[^2\text{H}]$, $\text{U-}[^{15}\text{N}]$, $\text{U-}[^{12}\text{C}]$, $\text{U-}[^{13}\text{C}_1\text{H}_3]$ -Ala- β MSG).

L'encart correspond à la partie centrale du spectre. Les méthyles des alanines ont été identifiés à l'aide d'une expérience 3D HCC corrélant les fréquences C_α , C_β et H_β des résidus alanines.

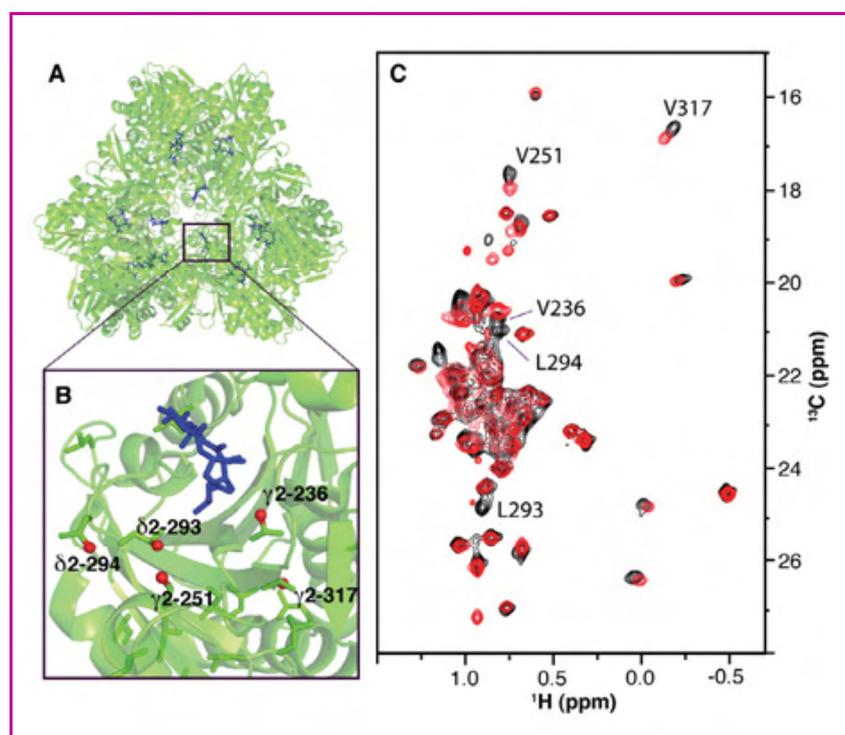


Figure 10 - Interaction entre TET2 (468 kDa), une peptidase impliquée dans la protéolyse chez les archaebactéries et un inhibiteur, l'amastatine.

A : structure quaternaire du dodécamère de TET2 en complexe avec l'amastatine (n° PDB : 1Y0Y). **B** : détail de la structure 3D montrant la position des méthyles proS des leucines et valines situés à moins de 6 Å de l'amastatine (sphères rouges). **C** : superposition des spectres 2D méthyl-TROSY de $\text{U-}[^2\text{H}]$, $\text{U-}[^{12}\text{C}]$, $\text{U-}[^{13}\text{C}_1\text{H}_3]$ proS-Leu/Val TET2 libre (en noir) ou en complexe avec l'amastatine (en rouge).

Reproduit avec permission de [21], © Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

décrit qui utilise comme précurseur de l'oxométhionine entièrement deutérée à l'exception du méthyle- ϵ [6, 24]. Il ne nous reste maintenant à mettre au point que des protocoles permettant d'introduire en position proR des leucines et valines, γ_2 des isoleucines et γ des thréonines des groupes $^{13}\text{CH}_3$. Pour les positions proR et γ_2 , cela ne constitue théoriquement qu'une variante du protocole présenté ci-dessus pour les positions proS des valines et leucines. Quant au marquage de la thréonine, pour des raisons de mécanismes réactionnels des enzymes impliquées dans les voies de biosynthèse, il paraît encore difficilement accessible en utilisant seulement des précurseurs marqués et une production *in vivo*. L'utilisation de la thréonine protonée uniquement sur le méthyle γ , obtenue par synthèse chimique, reste quant à elle possible, mais à un coût important étant donné l'existence de deux centres chiraux dans cette molécule et donc un rendement maximum de seulement 25 % en composé utile.

Les protocoles que nous venons de décrire ont déjà permis d'obtenir des résultats prometteurs. La dynamique du fonctionnement de complexes du protéasome d'Archaea a ainsi pu être étudiée [25-26]. Comme l'illustre la figure 10, il a aussi été possible grâce à une cartographie de déplacements chimiques, de déterminer les résidus leucine et valine affectés par la liaison d'un inhibiteur du site actif de la protéine TET2 – un oligomère de 480 kDa [21].

La maîtrise du marquage pour chaque type de méthyle devrait permettre d'accéder à des informations structurales, dynamiques et d'interactions au sein de machines biomoléculaires responsables des principales fonctions d'une cellule vivante. La combinaison de l'utilisation de précurseurs convenablement enrichis isotopiquement et aisément synthétisables avec celle des voies de biosynthèse pourrait également constituer une voie originale de synthèse de composés marqués difficilement accessibles par une autre méthode.

Remerciements

Les auteurs tiennent à associer à ces résultats tous ceux qui ont contribué à ce projet : Olivier Hamelin, Rémy Sounier, Isabel Ayala, Michael Plevin, Carlos Amero, Bruno Franzetti, et le personnel de la plateforme de marquage isotopique du PSB « Partnership for Structural Biology », Grenoble. Nous remercions les « Très Grandes Infrastructures de Recherche (TGIR)-RMN » pour l'accès à la plateforme RMN hauts champs de l'Institut de Biologie Structurale (IBS). Ce travail effectué à l'IBS est soutenu par le CNRS, le CEA et l'Université Joseph Fourier, par le Programme interdisciplinaire du CNRS 2007 « Interface physique, biologie et chimie : soutien à la prise de risque », ainsi que par l'Agence Nationale de la Recherche (ANR PIRIBio2009-Nano-Life@Work).

Note et références

- (1) L'*auxotrophie* est l'incapacité d'un organisme vivant de synthétiser un composé organique nécessaire à son développement. Par exemple, une *E. coli* portant une

mutation bloquant la synthèse d'isoleucine est auxotrophe à l'isoleucine et ne pourra se développer dans un milieu que si de l'isoleucine y est apporté (d'après Wikipédia).

- [1] Wüthrich K., *NMR of Proteins and Nucleic Acids*, Wiley, **1986**.
- [2] Boisbouvier J., Albrand J.P., Blackledge M., Jaquinod M., Schweitz H., Lazdunski M., Marion D., A structural homologue of colipase in black mamba venom revealed by NMR floating disulphide bridge analysis, *J. Mol. Biol.*, **1998**, *283*(1), p. 205.
- [3] Ikura M., Kay L.E., Bax A., A novel approach for sequential assignment of ¹H, ¹³C and ¹⁵N spectra of proteins: heteronuclear triple-resonance three-dimensional NMR spectroscopy. Application to calmodulin, *Biochemistry*, **1990**, *29*(19), p. 4659.
- [4] Garrett D.S., Seok Y.J., Peterkofsky A., Gronenborn A.M., Clore G.M., Solution structure of the 40,000 Mr phosphoryl transfer complex between the N-terminal domain of enzyme I and HPr, *Nat. Struct. Biol.*, **1999**, *6*(2), p. 166.
- [5] Tugarinov V., Kay L.E., Quantitative NMR studies of high molecular weight proteins: application to domain orientation and ligand binding in the 723 residue enzyme malate synthase G., *J. Mol. Biol.*, **2003**, *327*(5), p. 1121.
- [6] Gelis I., Bonvin A.M., Keramisanou D., Koukaki M., Gouridis G., Karamanou S., Economou A., Kalodimos C.G., Structural basis for signal-sequence recognition by the translocase motor SecA as determined by NMR, *Cell*, **2007**, *131*(4), p. 756.
- [7] Amero C., Schanda P., Durá M.A., Ayala I., Marion D., Franzetti B., Brutscher B., Boisbouvier J., Fast two-dimensional NMR spectroscopy of high molecular weight protein assemblies, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*(10), p. 3448.
- [8] Muchmore D.C., McIntosh L.P., Russell C.B., Anderson D.E., Dahlquist F.W., Expression and nitrogen-15 labeling of proteins for proton and nitrogen-15 nuclear magnetic resonance, *Methods Enzymol.*, **1989**, *177*, p. 44.
- [9] Yokoyama S., Protein expression systems for structural genomics and proteomics, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2003**, *7*(1), p. 39.
- [10] Kainosho M., Torizawa T., Iwashita Y., Terauchi T., Mei Ono A., Güntert P., Optimal isotope labelling for NMR protein structure determinations, *Nature*, **2006**, *440*(7080), p. 52.
- [11] Isaacson R.L., Simpson P.J., Liu M., Cota E., Zhang X., Freemont P., Matthews S., A new labeling method for methyl transverse relaxation-optimized spectroscopy NMR spectra of alanine residues, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*(50), p. 15428.
- [12] Ayala I., Sounier R., Usé N., Gans P., Boisbouvier J., An efficient protocol for the complete incorporation of methyl-protonated alanine in perdeuterated protein, *J. Biomol. NMR*, **2009**, *43*(2), p. 111.
- [13] Gardner K.H., Rosen M.K., Kay L.E., Global folds of highly deuterated, methyl-protonated proteins by multidimensional NMR, *Biochemistry*, **1997**, *36*(6), p. 1389.
- [14] Goto N.K., Gardner K.H., Mueller G.A., Willis R.C., Kay L.E., A robust and cost-effective method for the production of Val, Leu, Ile (delta 1) methyl-protonated ¹⁵N-, ¹³C-, ²H-labeled proteins, *J. Biomol. NMR*, **1999**, *13*(4), p. 369.
- [15] Tugarinov V., Kay L.E., Ile, Leu, and Val methyl assignments of the 723-residue malate synthase G using a new labeling strategy and novel NMR methods, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, *125*(45), p. 13868.
- [16] Sylvester S.R., Stevens C.M., Stereospecificity of the reductoisomerase-catalyzed step in the pathway of biosynthesis of valine and leucine, *Biochemistry*, **1979**, *18*(21), p. 4529.
- [17] Crout D.H., Hedgecock C.J., Lipscomb E.L., Armstrong F.B., Stereochemistry of valine biosynthesis. Configuration of the product of rearrangement of alpha-acetolactate, *Eur J. Biochem.*, **1980**, *110*(2), p. 439.
- [18] Lee M., Kim D.H., Syntheses and kinetic evaluation of racemic and optically active 2-benzyl-2-methyl-3,4-epoxybutanoic acids as irreversible inactivators for carboxypeptidase A, *Bioorg. Med. Chem.*, **2002**, *10*(4), p. 913.
- [19] Baucherel X., Levoirier E., Uziel J., Jugé S., Monohydroxylation of cyclic and acyclic beta-keto esters with molecular oxygen catalyzed by cobalt(II) chloride in neutral conditions, *Tetrahedron Letters*, **2000**, *41*(9), p. 1385.
- [20] Crout D.H., Hedgecock C.J., The base-catalysed rearrangement of alpha-acetolactate (2-hydroxy-2-methyl-3-oxobutanoate): a novel carboxylate ion migration in a tertiary ketol rearrangement, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **1979**, p. 1982.
- [21] Gans P., Hamelin O., Sounier R., Ayala I., Durá M.A., Amero C.D., Noirclerc-Savoye M., Franzetti B., Plevin M.J., Boisbouvier J., Stereospecific isotopic labeling of methyl groups for NMR spectroscopic studies of high-molecular-weight proteins, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **2010**, *49*(11), p. 1958.
- [22] Sounier R., Blanchard L., Wu Z., Boisbouvier J., High-accuracy distance measurement between remote methyls in specifically protonated proteins, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*(3), p. 472.
- [23] Nibeilliu M.E., Malthouse J.P., The stereospecificity and catalytic efficiency of the tryptophan synthase-catalysed exchange of the alpha-protons of amino acids, *Biochem. J.*, **2004**, *381*(Pt 3), p. 847.
- [24] Fischer M., Kloiber K., Hausler J., Ledolter K., Konrat R., Schmid W., Synthesis of a ¹³C-methyl-group-labeled methionine precursor as a

useful tool for simplifying protein structural analysis by NMR spectroscopy, *ChemBioChem*, **2007**, *8*, p. 610.

- [25] Sprangers R., Kay L.E., Quantitative dynamics and binding studies of the 20S proteasome by NMR, *Nature*, **2007**, *445*(7128), p. 618.
- [26] Religa T.L., Sprangers R., Kay L.E., Dynamic regulation of archaeal proteasome gate opening as studied by TROSY NMR, *Science*, **2010**, *328*(5974), p. 98.



J. Boisbouvier

Jérôme Boisbouvier est directeur de recherche au CNRS et **Pierre Gans**, ingénieur-chercheur CEA, au Laboratoire de Résonance Magnétique Nucléaire, Institut de Biologie Structurale « Jean-Pierre Ebel », Grenoble*. Pour ses travaux, Jérôme Boisbouvier a reçu la **Médaille de bronze du CNRS en 2008**.



P. Gans

* Laboratoire de Résonance Magnétique Nucléaire, Institut de Biologie Structurale « Jean-Pierre Ebel », UMR 5075 CEA/CNRS/Univ. Joseph Fourier, 41 rue Jules Horowitz, F-38027 Grenoble Cedex 1.
Courriels : jerome.boisbouvier@ibs.fr, pierre.gans@ibs.fr



La RMN à la Portée de Tous



● Haute Résolution, Ultra Compact, Coût Réduit Fourier 300

Le Fourier 300 est un nouveau Spectromètre de RMN Haute Résolution dédié, conçu pour l'analyse chimique de routine, le contrôle qualité, l'enseignement, à un coût abordable.

Découvrez le en ligne:
www.bruker.fr/fourier300

think forward

RMN

La catalyse à l'or

Un outil synthétique en devenir

Fabien Gagosz

Résumé La catalyse à l'or est devenue en quelques années un domaine de recherche particulièrement actif. La raison d'un tel engouement est à mettre au compte de la réactivité singulière des espèces d'or électrophiles, de leur forte acidité de Lewis et de la possibilité de réaliser, de manière sélective et efficace, des transformations difficilement accessibles par d'autres moyens. Cet article traite des différents aspects liés à la réactivité des complexes d'or en catalyse, en mettant l'accent sur le travail réalisé dans notre groupe de recherche. Les possibilités synthétiques, liées à la formation de liaisons carbone-hétéroatome ou carbone-carbone, après activation d'une insaturation (alcyne, allène ou alcène) par une espèce d'or électrophile, sont illustrées par des exemples issus de nos études.

Mots-clés Synthèse organique, catalyse, or, complexes, alcyne, allène, alcène.

Abstract **Gold catalysis: a promising synthetic tool**
Gold catalysis has become a particularly active area of research within only a few years. The reasons for such a recent interest are intimately linked with the singular reactivity of electrophilic gold species, their high Lewis acidity, and the possibility to selectively and efficiently perform a plethora of transformations that would not be as easily achieved by other means. This article is a brief overview of the research we have carried out in this field, summarizing various aspects of the reactivity of gold complexes in catalysis. The synthetic opportunities for the creation of carbon-carbon or carbon-heteroatom bonds, following the activation of an unsaturation (alkyne, allene, alkene) by an electrophilic gold species, are illustrated by a series of examples from our studies.

Keywords Organic synthesis, catalysis, gold, complexes, alkyne, allene, alkene.

L'or, un métal « trop » noble pour la synthèse organique ?

L'or est un métal fascinant. Il a joué un rôle important dans la culture et l'histoire de l'humanité et est à la base de nombreuses civilisations. Il reste de nos jours un symbole indéniable de richesse et de pouvoir principalement dû au fait qu'il est considéré par bon nombre de personnes comme un métal rare et cher. Il est cependant intéressant de voir que cette croyance populaire (qui est aussi celle de nombreux chimistes !) est en partie fautive. En l'occurrence, on estime que 160 000 tonnes d'or ont déjà été extraites des nombreuses mines réparties à travers le monde. L'or, dont la production n'a cessé de croître durant les derniers siècles, est sans aucun doute l'un des métaux nobles dont la production est à l'heure actuelle la plus importante⁽¹⁾ (figure 1).

En outre, son prix n'est pas si excessif si on le compare à celui d'autres métaux couramment utilisés en catalyse⁽²⁾ (figure 1). Le rhodium (59 €/g), qui trouve de nombreuses applications en catalyse, est presque deux fois plus cher que l'or (35 €/g). Il est également intéressant de voir que le platine, qui peut être utilisé pour effectuer certaines des transformations pour lesquelles l'or est efficace, reste plus onéreux (41 €/g). Enfin, le ruthénium (5 €/g), qui est à la base des catalyseurs de la très populaire réaction de métathèse, ou encore le palladium (15 €/g), qui est très largement utilisé en synthèse, sont bien moins chers que l'or. Ces prix sont cependant à relativiser, dans le sens où un catalyseur métallique contient la plupart du temps des ligands dont le prix est souvent bien supérieur à celui du métal qu'il décore.

Un second point qui a pu contribuer à la sous-utilisation de l'or en catalyse concerne sa réactivité. L'or a longtemps

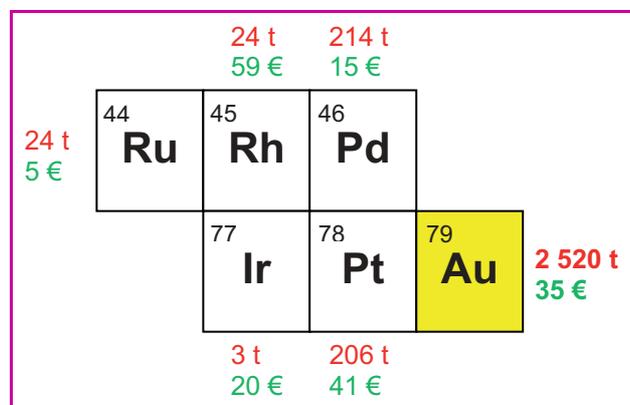


Figure 1 - Production (en tonnes, données 2005⁽¹⁾) (en rouge) et prix (en €/g, données de septembre 2010⁽²⁾) (en vert) de l'or et des métaux voisins dans le tableau périodique.

été considéré comme chimiquement inerte ou catalytiquement inactif par des générations de chimistes, du fait de son haut potentiel d'oxydation qui rend difficilement envisageables des cycles catalytiques mettant en jeu différents degrés d'oxydation de l'or (Au(I) et Au(III)). Son utilisation était donc principalement restreinte à la catalyse hétérogène pour effectuer des transformations relativement « simples » telles que des oxydations ou des hydrochlorations. Ce n'est qu'à partir de la fin du siècle dernier qu'un regain d'intérêt pour l'or est apparu, en particulier dans le domaine de la catalyse homogène. Le nombre exponentiellement croissant d'articles en relation avec l'utilisation d'espèces électrophiles d'or en catalyse homogène a non seulement permis de balayer ces

idées préconçues, mais a également mis en lumière un potentiel synthétique jusqu'alors insoupçonné. Cet intérêt grandissant se reflète aujourd'hui à travers la publication de nombreuses revues qui couvrent divers aspects de la catalyse homogène à l'or [1] et la désignation de ce domaine de recherche comme « hot topic » pour l'année 2007 par l'éditeur Wiley Interscience.

Réactivité générale des espèces électrophiles d'or

La chimie récente développée autour de l'utilisation d'espèces d'or au degré d'oxydation (I) et (III) est basée principalement sur leur acidité de Lewis et leur capacité à activer de manière sélective des systèmes π tels que des alcynes, des allènes ou des alcènes. L'acidité de Lewis des espèces cationiques d'or peut être directement corrélée avec les effets relativistes qui se trouvent être particulièrement important pour cet élément [2]. Dans le cas des éléments lourds, comme l'or, la prise en compte de la relativité implique que les électrons de la couche 6s se retrouvent plus proches du noyau. Cette contraction des orbitales de valence a pour conséquence un abaissement énergétique de l'orbitale moléculaire la plus basse non occupée (LUMO), ce qui se traduit par une forte acidité de Lewis. L'activation sélective d'un système π par de l'or(I) ou (III) permet de réaliser sur cette insaturation l'addition d'une large variété de nucléophiles oxygénés, azotés ou carbonés (figure 2).

Cependant, la réactivité des espèces cationiques d'or ne se limite pas à une simple activité d'acide de Lewis. Contrairement à d'autres métaux qui présentent cette même propriété, les effets relativistes confèrent de manière indirecte à certaines espèces intermédiaires d'or des propriétés nucléophiles qui rendent sa chimie encore plus riche. La contraction des orbitales de valence 6s a pour conséquence une expansion des orbitales 5d. Les électrons de cette couche subissent une attraction plus faible de la part du noyau et ont la possibilité de se délocaliser dans des orbitales vacantes non liantes de plus basse énergie. Ainsi, l'addition d'un nucléophile sur un alcyne activé par une espèce d'or(I) peut mener à la formation d'un intermédiaire de type vinyl-or qui peut alors être piégé par un électrophile de manière intra- ou intermoléculaire. Cette transformation est favorisée par la stabilisation, par le fragment métallique, d'une espèce cationique intermédiaire qui peut posséder une réactivité cationique ou carbénoïde [3].

L'alliance de ces deux propriétés (acidité de Lewis et propension à stabiliser des espèces intermédiaires cationiques) est à la base de la riche chimie développée à l'heure actuelle autour de l'utilisation de complexes d'or cationiques. On peut aisément imaginer le potentiel de tels complexes en synthèse. À titre d'exemple, un alcyne activé par un complexe d'or peut être perçu comme un précurseur de dicarbènes-1,2 et un allène comme le précurseur d'un dipole-1,3 avec une réactivité de type carbène sur le carbone

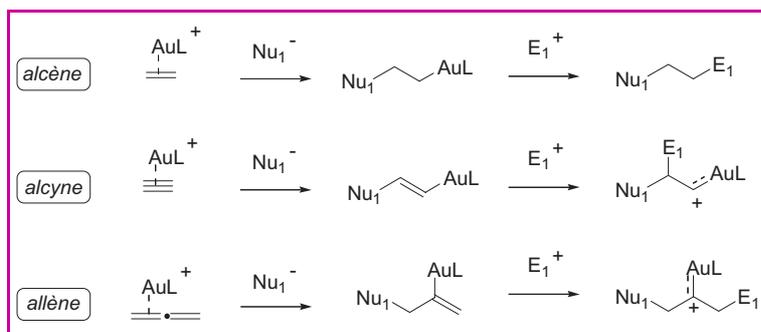


Figure 2 - Activité électrophile des complexes d'or(I).

central. Deux transformations qui illustrent ces modes de réactivités ont été récemment rapportées par les équipes d'Echavarren et de Malacria (figure 3) [4].

Un autre point essentiel concernant la catalyse utilisant des complexes d'or(I) et (III) est la non-toxicité de ces espèces métalliques, ainsi que leur tolérance vis-à-vis de l'oxygène et de l'eau. Les catalyseurs d'or sont en effet aisément manipulables et permettent de réaliser des transformations sans prendre de précaution particulière, ce qui n'est pas le cas avec d'autres systèmes métalliques couramment utilisés en catalyse.

Les outils catalytiques

De nombreux systèmes à base d'or ont été rapportés dans la littérature comme des espèces électrophiles pouvant être utilisées en tant que catalyseurs. Les sels d'or(I), comme le chlorure d'or ($AuCl$), ou d'or(III) comme le trichlorure d'or ($AuCl_3$), ont montré qu'ils pouvaient être de bons systèmes catalytiques (figure 4). Des complexes d'or(III) et de dérivés

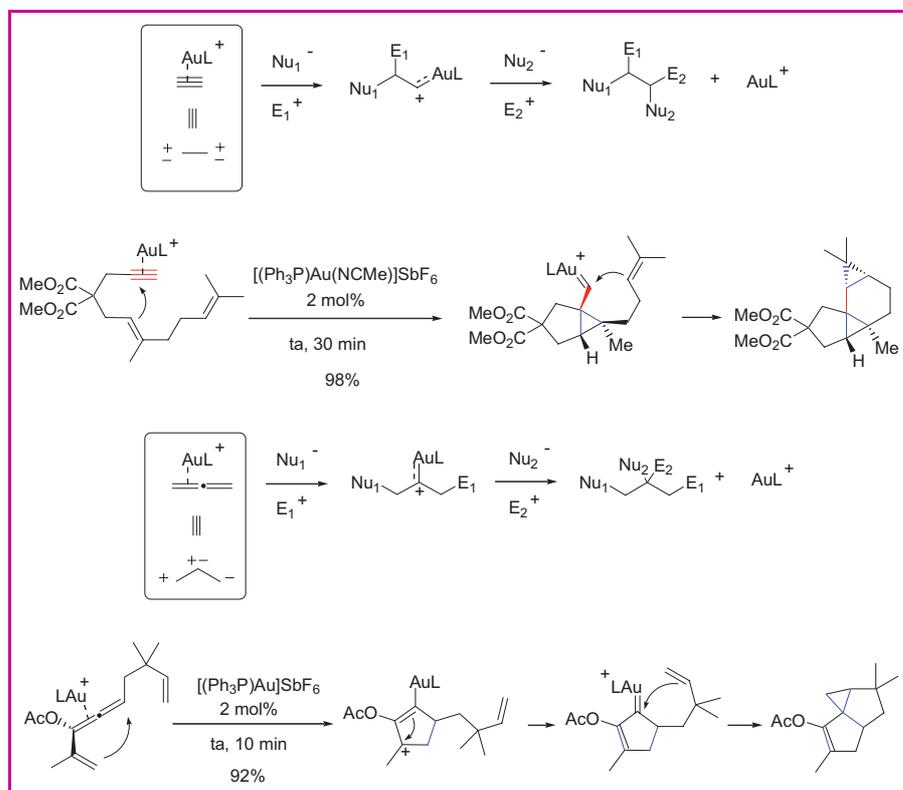


Figure 3 - Exemples de réactivité d'un alcyne ou d'un allène en présence d'un complexe d'or(I).

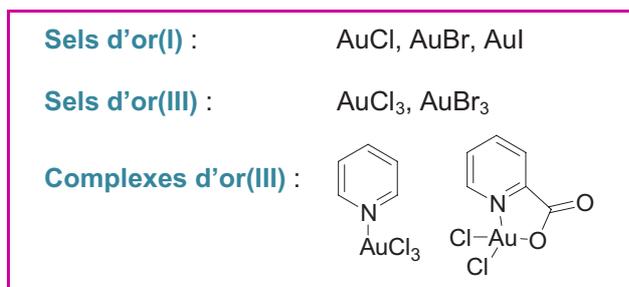


Figure 4 - Sels d'or et complexes d'or(III) servant de catalyseurs.

de pyridine ont également été développés. Ils sont généralement plus stables que le sel d'or correspondant et possèdent une meilleure solubilité dans les solvants organiques (figure 4).

Cependant, les systèmes catalytiques les plus couramment employés consistent en l'utilisation combinée d'un complexe d'or(I) possédant un ligand de type phosphine, phosphite ou carbène hétérocyclique et d'un sel d'argent (figure 5).



Figure 5 - Génération d'une espèce électrophile d'or(I) à partir d'un complexe de chlorure d'or(I).

L = phosphine, phosphite, carbène hétérocyclique ; X = BF₄⁻, OTf, SbF₆⁻...

Les complexes d'or(I) possédant un atome de chlore comme contre-anion sont en effet généralement trop peu réactifs. Le sel d'argent (AgOTf, AgBF₄, AgSbF₆...) sert à la génération d'une espèce cationique plus électrophile qui permettra une activation plus efficace du substrat. De nombreux complexes d'or(I), différenciés par la nature de leur ligand (figure 6), ont ainsi été utilisés comme précurseurs d'espèces cationiques générées *in situ* par addition d'un sel d'argent. Le choix du ligand est évidemment primordial puisque celui-ci va avoir un effet sur l'acidité de Lewis de l'espèce cationique formée et sur la stabilisation plus ou moins prononcée des espèces cationiques entrant en jeu lors d'un cycle catalytique [1h].

L'utilisation de sels d'argent est cependant contraignante d'un point de vue pratique, puisque ces espèces sont très hygroscopiques et sensibles à la lumière. Pour pallier ce problème, une série de complexes d'or stables à température ambiante et insensibles à l'humidité ont été développés. Ils peuvent être stockés pendant de longues périodes sans perte de réactivité et offrent également l'avantage d'être facilement manipulables, en particulier à petite échelle. Deux principales familles ont été développées (figure 7). La première représente une version stable d'un complexe d'or cationique possédant l'hexafluoroantimonate (SbF₆⁻) comme contre-anion [5]. La présence d'un dérivé de type nitrile complexé avec l'atome d'or est à l'origine de la stabilité de ces complexes développés par le groupe d'Echavarren. La deuxième famille, développée par notre groupe, fait appel au trifluorométhane sulfonimide (NTf₂⁻) comme contre-anion [6]. Ces complexes d'or sont généralement moins électrophiles mais représentent

un bon compromis entre stabilité (en particulier à des températures élevées) et réactivité. Ils sont très largement utilisés par les différents groupes de recherche qui travaillent actuellement dans le domaine de la catalyse à l'or. Deux représentants de cette famille de catalyseurs (1 et 2) sont désormais commercialisés par les compagnies Sigma-Aldrich et Strem.

On notera également que les sels ou complexes d'or(III) sont généralement moins utilisés en catalyse que les complexes d'or(I) car ils ont tendance à être moins sélectifs en terme d'activation⁽³⁾.

Création de nouvelles liaisons par activation de liaisons multiples

De très nombreuses méthodologies de synthèse ont été rapportées ces dix dernières années concernant l'addition de nucléophiles sur des insaturations activées par des complexes d'or [1]. Les paragraphes qui suivent donneront un bref aperçu de la variété des nucléophiles qui peuvent être utilisés comme partenaires ainsi que de la diversité des produits qui peuvent être obtenus, et ce à travers des exemples de transformations synthétiques développées par notre groupe.

Création de liaisons C-O

De très nombreux nucléophiles oxygénés, comme l'eau, des alcools, des cétones, des acides carboxyliques, des amides ou encore des époxydes, peuvent être utilisés comme partenaires dans des réactions de fonctionnalisation d'insaturations [7]. Notre équipe s'est particulièrement intéressée à l'utilisation du groupe *tert*-butyloxycarbonyl (Boc). Nous avons ainsi développé une série de méthodes permettant la synthèse de divers systèmes cycliques à cinq chaînons tels que des dioxolanones [8], des oxazolidinones [9] ou encore des oxazolones [10] par addition de la fonction Boc sur une fonction alcyne (figure 8). Dans ces transformations, l'addition du groupe Boc induit la fragmentation du groupe *tert*-butyloxy, libérant ainsi un proton qui réagit alors avec un intermédiaire de type vinyl-or pour régénérer le catalyseur.

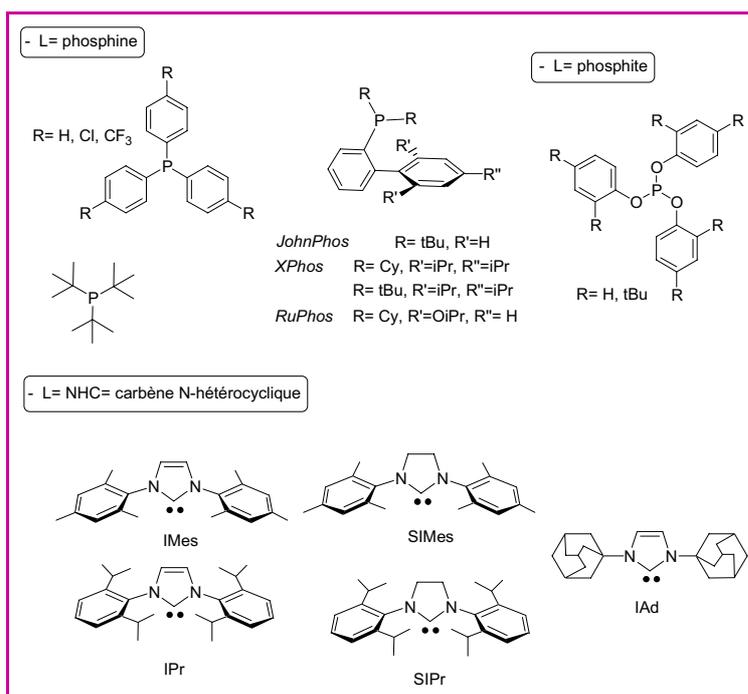


Figure 6 - Exemples de ligand L pour des complexes d'or(I).

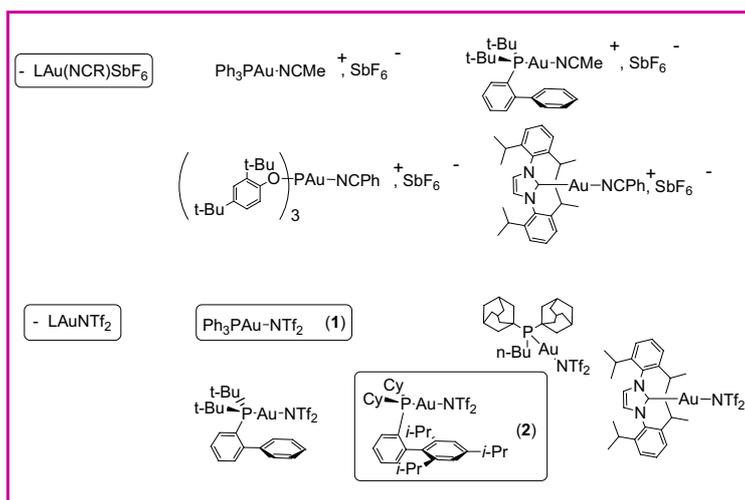


Figure 7 - Complexes d'or(I) stables et réactifs.

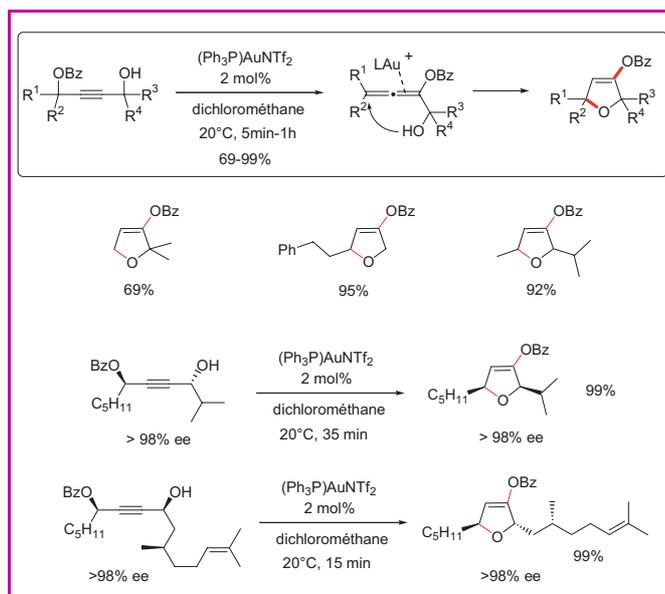


Figure 9 - Synthèse de dihydrofuranes.

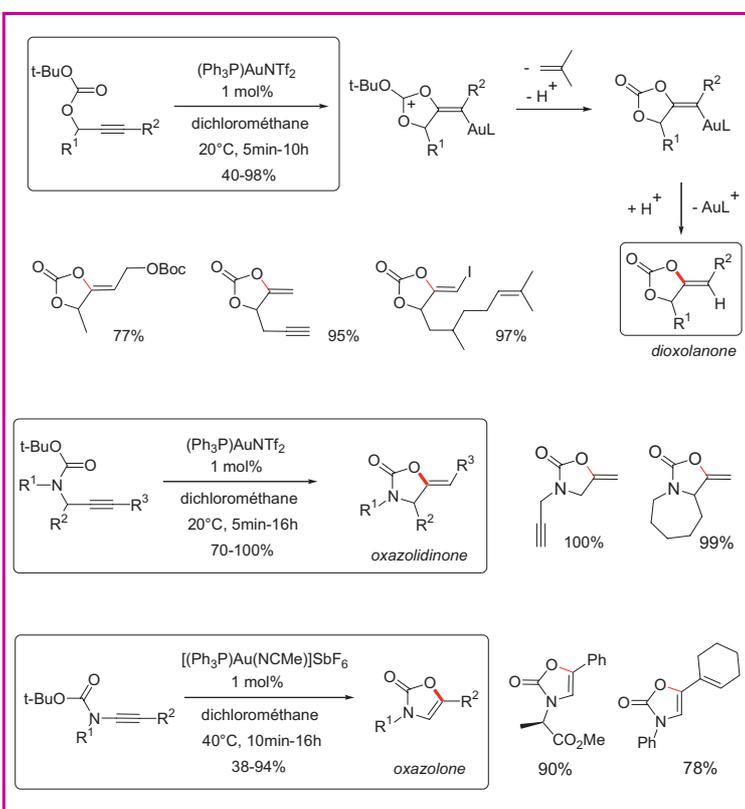


Figure 8 - Exemples de formation de liaisons C-O en utilisant un groupe Boc comme nucléophile.

Nous nous sommes également intéressés à la formation de dihydrofuranes à partir de substrats possédant des fonctions ester et hydroxyle en position propargylique (figure 9) [11]. Dans ce cas, une réaction en cascade a lieu qui permet de former un ester d'allénol intermédiaire qui est ensuite cyclisé par addition nucléophile de la fonction hydroxyle sur l'allène activé par le complexe d'or(I). Cette réaction a également pu être réalisée à partir de substrats optiquement purs sans perte d'information chirale durant l'ensemble du processus catalytique.

L'addition d'un nucléophile oxygéné sur un alcyne activé n'est pas limitée à la formation de systèmes cycliques, et de nombreuses autres transformations peuvent avoir lieu. Nous avons ainsi pu montrer que les esters d'allényl carbinol pouvaient être réarrangés en esters de butadiénol dans des conditions très douces, en présence d'un complexe d'or(I) (figure 10) [12].

Création de liaisons C-N

De très nombreux nucléophiles azotés (amines, amides, imines, azotures, carbamates...) ont également été utilisés dans des réactions catalysées par des complexes d'or [13]. La grande majorité des applications concerne la synthèse de systèmes cycliques. Dans ce domaine, nous avons mis au point une méthode permettant de synthétiser des pyrroles substitués à partir de dérivés de tosylamides par l'intermédiaire d'un réarrangement de Claisen catalysée par un complexe d'or(I) (figure 11) [14]. Dans cette transformation, qui permet la formation aisée de centres quaternaires, une liaison carbone-azote et une liaison carbone-carbone sont formées de manière séquencée.

Création de liaisons C-S

Même si les dérivés sulfurés sont connus comme étant de potentiels poisons pour les espèces cationiques d'or, quelques applications ont montré qu'ils pouvaient également être utilisés en tant que nucléophiles, en particulier pour la synthèse de systèmes cycliques dérivés du thiophène [15].

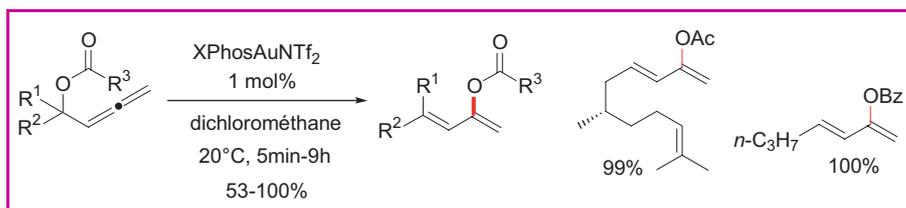


Figure 10 - Réarrangements d'esters d'allényl carbinols.

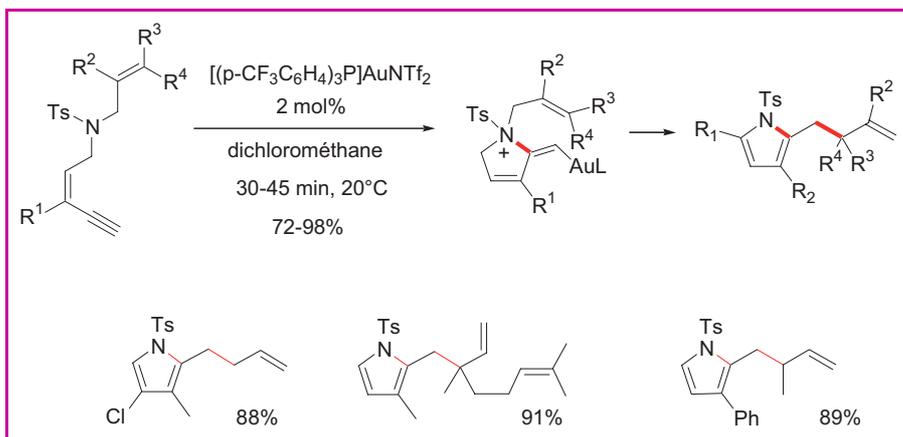


Figure 11 - Synthèse de pyrroles à partir de tosylamides.

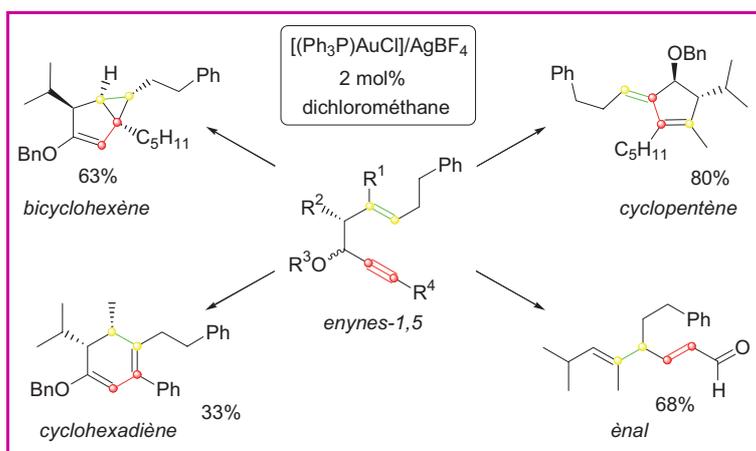


Figure 12 - Cycloisomérisation des ènynes-1,5.

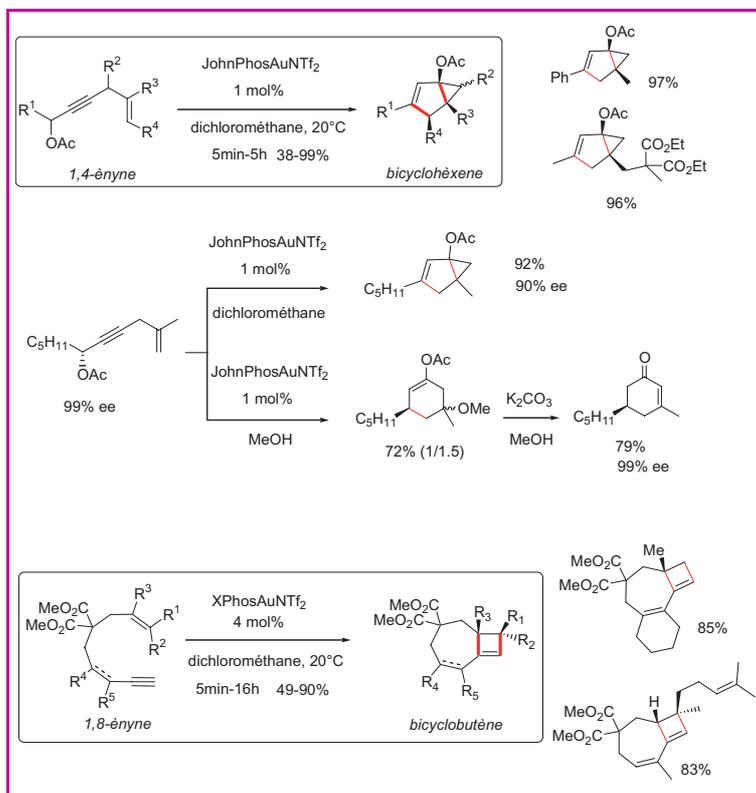


Figure 13 - Cycloisomérisation d'ènynes-1,4 et -1,8.

Création de liaisons C-C

La formation de liaisons carbone-carbone est de loin le domaine le plus étudié en catalyse à l'or, étant donné l'importance générale de cette transformation chimique pour la synthèse de squelettes carbonés. Une très large palette de nucléophiles carbonés a été utilisée à cet effet : des alcènes, des allènes, des alcynes, des aromatiques, des dicétones-1,3... [16].

Parmi les réactions permettant la création d'une ou plusieurs liaisons carbone-carbone, les cycloisomérisations sont de loin les plus nombreuses [1c]. Ces transformations permettent de former, à partir de composés linéaires, des produits possédant des tailles de cycles variables. Notre équipe a en particulier montré que la cycloisomérisation des ènynes-1,5 pouvait suivre des chemins réactionnels très variés en fonction des substituants portés par les substrats (figure 12) [17].

Ainsi, des dérivés de type bicyclohexène, cyclopentène, cyclohexadiène ou ènal peuvent être obtenus.

Nous avons également développé d'autres méthodologies permettant d'accéder à des bicyclohexènes hautement substitués ou à des bicyclobutènes par cycloisomérisations d'ènynes-1,4 et -1,8 (figure 13) [18].

Dans le cas des ènynes-1,4, la transformation est particulièrement efficace et permet d'accéder à partir du même substrat à des bicyclohexènes ou à des cyclohexénones optiquement purs en fonction du solvant utilisé lors de la catalyse. La formation des bicyclobutènes est quant à elle particulièrement remarquable, car la transformation, qui correspond formellement à une réaction de cycloaddition [2+2] entre un alcyne et un alcène non activés, est effectuée à température ambiante. Même si les alcènes, les allènes et les aryles sont les nucléophiles les plus couramment employés dans les réactions de cycloisomérisations, d'autres fonctionnalités peuvent être utilisées, à l'instar des alcynes. Notre équipe a ainsi montré qu'il était possible d'accéder à des cycloalcyènes à neuf ou dix chaînons par une réaction de cyclisation entre deux fonctions alcyne terminales (figure 14) [19]. Cette transformation atteste de la douceur des conditions réactionnelles de la catalyse à l'or, puisque les produits issus de cette transformation sont très insaturés et relativement sensibles aux conditions acides.

Réaction de piégeage et de couplage

Certains intermédiaires réactionnels cationiques issus des réactions catalysées par des complexes d'or peuvent être piégés par des nucléophiles oxygénés, azotés ou carbonés externes [20]. C'est en particulier le cas lors de réactions de cyclisation. Nous avons pu montrer, par exemple, que les intermédiaires cationiques, issus de la cyclisation d'ènynes-1,5, peuvent être interceptés par un nucléophile oxygéné, comme un alcool ou un acide, présent dans le milieu réactionnel [21]. Les produits issus de cette transformation sont obtenus de manière très sélective et possèdent un haut degré de fonctionnalisation. Dans le cas particulier où un groupe allyle est présent en position terminale de la fonction alcyne du substrat, une réaction en cascade peut avoir lieu. Le piégeage intervient alors au niveau du deuxième intermédiaire cationique formé (figure 15).

Des travaux très récents ont également montré qu'il était possible de réaliser des réactions de couplage à partir

d'intermédiaires d'or formellement neutres. Le groupe de Zhang a ainsi découvert que des intermédiaires de type vinyl-or pouvaient être couplés avec un acide boronique en présence de Selectfluor [22]. De son côté, le groupe de Blum a montré la possibilité de faire des couplages croisés en utilisant à la fois de l'or et du palladium (figure 16) [23].

Complexité structurale

Les catalyseurs à base d'or sont particulièrement puissants pour générer rapidement des molécules structurellement complexes à partir de substrats faciles d'accès [1b, 4b, 24]. Durant les réactions, plusieurs liaisons peuvent être formées de manière séquentielle pour permettre la création de systèmes polycycliques et/ou de plusieurs nouveaux centres asymétriques. Certains exemples représentatifs, issus de nos travaux de recherche, sont donnés sur la figure 17. Dans le premier cas, le cyclobutène initialement formé est réactivé par le complexe d'or(I) pour permettre l'addition nucléophile de la double liaison de la chaîne latérale. La seconde transformation présentée est relativement remarquable puisqu'elle correspond à un enchaînement de cinq étapes élémentaires : cycloaddition [2+2], fragmentation de cycle, réaction de type Friedel-Crafts, isomérisation et enfin réaction de Wagner-Meerwein. Il est intéressant de noter que trois des quatre liaisons nouvellement formées sont adjacentes. Enfin, le troisième exemple est sûrement le plus représentatif du potentiel synthétique de la catalyse à l'or puisque non moins de deux nouveaux cycles, trois nouvelles liaisons et trois nouveaux centres asymétriques (dont deux sont quaternaires) sont formés de manière stéréocontrôlée à partir d'un substrat linéaire et en utilisant l'eau comme nucléophile.

Conclusion

Après avoir été longtemps ignoré par les chimistes de synthèse, l'or a conquis de très nombreux groupes de recherche, dont le nôtre, comme en témoigne la multitude d'articles apparus ces dernières années dans le domaine de la catalyse à l'or. Ce domaine reste en très forte expansion et de nouvelles transformations sont découvertes chaque semaine. Cet engouement est à mettre à l'actif de la simplicité d'utilisation des catalyseurs d'or, de leur sélectivité et de leur efficacité à réaliser des transformations difficilement accessibles via d'autres méthodes. Cependant, certains axes de recherche ont connu un essor moins important à l'instar de la catalyse asymétrique, de l'application en synthèse totale [4b, 25] ou du développement de nouveaux catalyseurs.

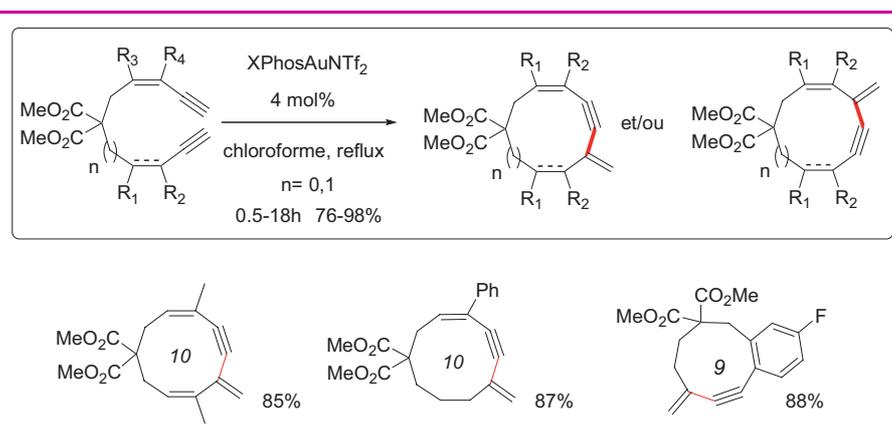


Figure 14 - Cycloisomérisation de diynes.

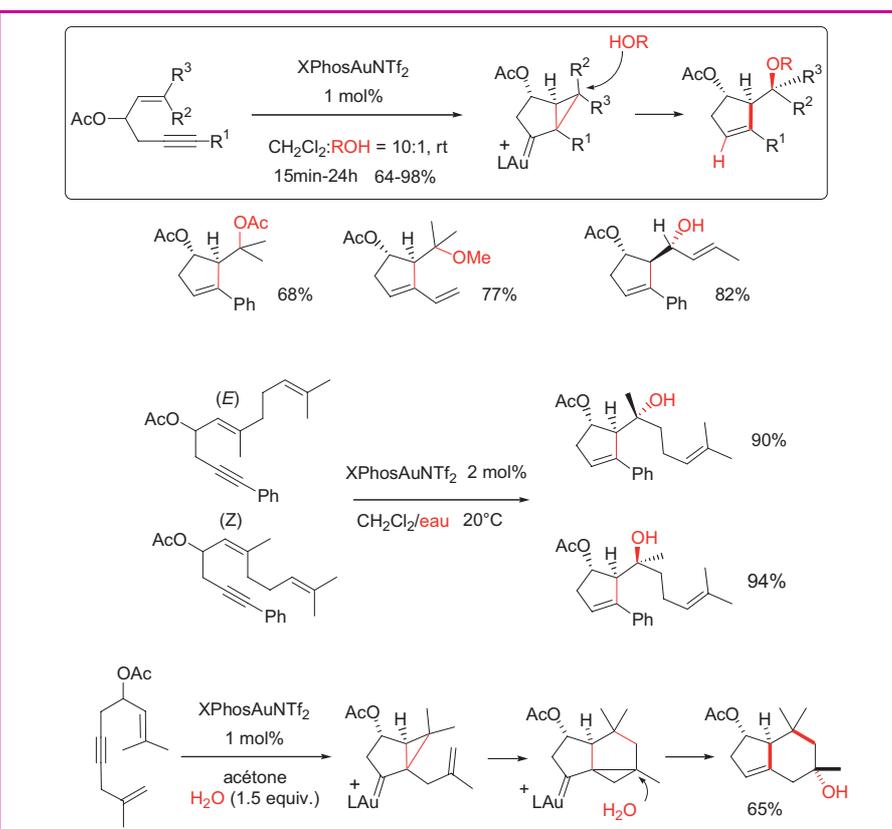


Figure 15 - Piégeage d'intermédiaires réactionnels.

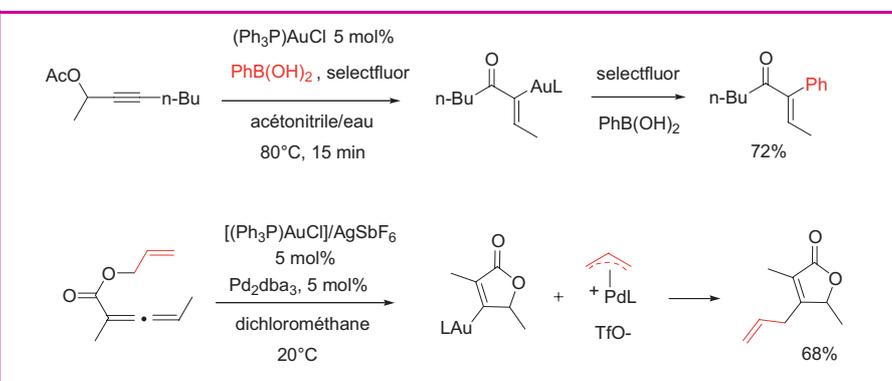


Figure 16 - Réactions de couplages.

Le selectfluor est un oxydant à base de fluor :

1 - chlorométhyl-4-fluoro-1,4-diazoniabicyclo[2.2.2]octane bis(tétrafluoroborate).

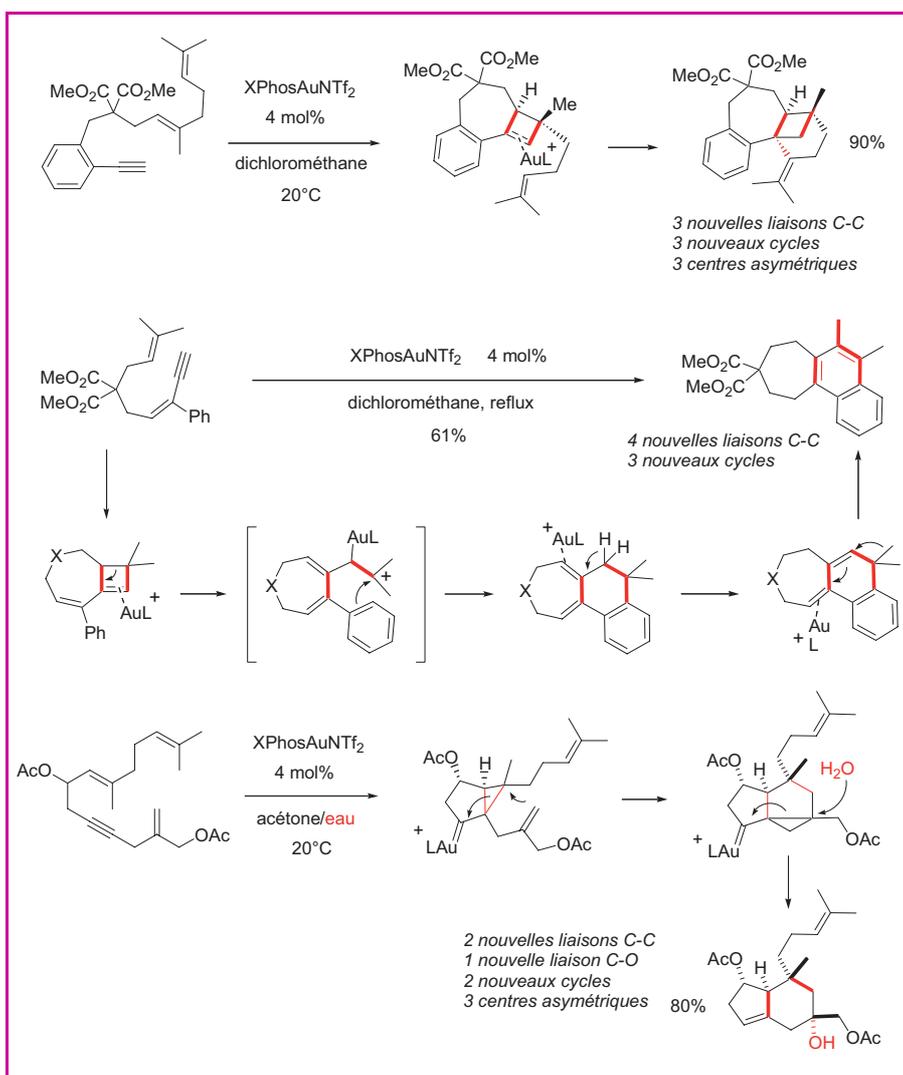


Figure 17 - Catalyse à l'or et complexité moléculaire.

En effet, relativement peu de transformations énantiosélectives, catalysées par des complexes d'or, ont été décrites [26]. Elles sont basées soit sur l'emploi de catalyseurs portant des ligands chiraux volumineux [27], soit sur l'utilisation d'un contre-anion chiral [28]. Il y a fort à parier que ces trois domaines feront l'objet d'une plus grande attention dans les années à venir. Enfin, la faible toxicité de l'or et la tolérance des espèces d'or(I) vis-à-vis de l'oxygène et de l'eau font de la catalyse à l'or un prétendant sérieux pour une utilisation future dans le domaine de la chimie verte ou pour le développement de nouveaux procédés industriels.

Remerciements

Je voudrais remercier à l'occasion de l'écriture de cet article le professeur Samir Zard pour m'avoir donné l'occasion d'intégrer en tant que chargé de recherche le département de chimie de l'École polytechnique. La liberté d'action qu'il m'a laissée dans mes activités de recherche et son soutien amical et scientifique ont participé pour beaucoup à la réalisation des travaux de notre équipe. Un grand merci également aux étudiants qui ont effectué les travaux dont les résultats apparaissent dans cet article (Sebastian Böhinger, Andrea Buzas, Florin Istrate, Igor Dias Jurberg et Yann Odabachian) ainsi qu'à mes collègues de l'École Polytechnique qui ont participé à certaines études (Xavier Le Goff, Nicolas Mezailles et Louis Ricard).

Notes et références

- (1) Données issues de Folkerts-Landau D., *A User Guide To Commodities*, Deutsche Bank, juillet 2006.
 - (2) Données issues de Heraeus Precious Metal (accès le 7 sept. 2010), [https://www.hmgcss.de/WCH2/HMGedelpreis.nsf/EMPDat/\\$First?Open](https://www.hmgcss.de/WCH2/HMGedelpreis.nsf/EMPDat/$First?Open).
 - (3) Les complexes d'or(I) se coordinent préférentiellement à une liaison C-C multiple plutôt qu'à une fonction carbonyle. Cette préférence est inversée pour les complexes d'or(III).
- [1] a) Belmont P., Parker E., *Eur. J. Org. Chem.*, **2009**, p. 6075; b) Fürstner A., *Chem. Soc. Rev.*, **2009**, *38*, p. 3208; c) Michelet V., Toullec P.Y., Genet J.-P., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2008**, *47*, p. 4268; d) Hashmi A.S.K., Rudolph M., *Chem. Soc. Rev.*, **2008**, *37*, p. 1766; e) Jiménez-Núñez E., Echavarren A.M., *Chem. Rev.*, **2008**, *108*, p. 3326; f) Li Z., Brower C., He C., *Chem. Rev.*, **2008**, *108*, p. 3239; g) Arcadi A., *Chem. Rev.*, **2008**, *108*, p. 3266; h) Gorin D.J., Toste F.D., *Chem. Rev.*, **2008**, *108*, p. 3351; i) Skouta R., Li C.-J., *Tetrahedron*, **2008**, *64*, p. 4917; j) Hashmi A.S.K., *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, p. 3180; k) Fürstner A., Davies P.W., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, *46*, p. 3410; l) Jiménez-Núñez E., Echavarren A.M., *Chem. Commun.*, **2007**, p. 333; m) Zhang L., Sun J., Kozmin S.A., *Adv. Synth. Catal.*, **2006**, *348*, p. 2271.
 - [2] a) Gorin D.J., Toste F.D., *Nature*, **2007**, *446*, p. 395; b) Fürstner A., Davies P.W., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, *46*, p. 3410.
 - [3] Benitez D., Shapiro N.D., Tkatchouk E., Wang Y., Goddard III W.A., Toste F.D., *Nature Chemistry*, **2009**, *1*, p. 482.
 - [4] a) Nieto-Oberhuber C., Muñoz M.P., Buñuel E., Nevado C., Cárdenas D.J., Echavarren A.M., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2004**, *43*, p. 2402; b) Lemièrre G., Gandon V., Cariou K., Hours A., Fukuyama T., Ghimane A.-L., Fensterbank L., Malacria M., *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, p. 2993.
 - [5] Amijs C.H.M., López-Carrillo V., Raducan M., Pérez-Galán P., Ferrer C., Echavarren A.M., *J. Org. Chem.*, **2008**, *73*, p. 7721.
 - [6] a) Mezailles N., Ricard L., Gagosz F., *Org. Lett.*, **2005**, *7*, p. 4133; b) Ricard L., Gagosz F., *Organometallics*, **2007**, *26*, p. 4704.
 - [7] Sélection d'articles avec des nucléophiles oxygénés : **Eau** : Marion N., Ramón R.S., Nolan S.P., *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, p. 448. **Alcools** : a) Yang C.-G., He C., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, p. 6966; b) Antoniotti S., Genin E., Michelet V., Genet J.-P., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, p. 9976; c) Nishina N., Yamamoto Y., *Tetrahedron Lett.*, **2009**, *65*, p. 1799. **Cétones** : Sromek A.W., Rubina M., Gevorgyan V., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, p. 10500. **Acides carboxyliques** : Genin E., Toullec P.Y., Antoniotti S., Brancour C., Genet J.-P., Michelet V., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, p. 3112. **Amides** : Hashmi A.S.K., Weyrauch J.P., Frey W., Bats J.W., *Org. Lett.*, **2004**, *6*, p. 4391. **Époxydes** : Blanc A., Tenbrink K., Weibel J.-M., Pale P., *J. Org. Chem.*, **2009**, *74*, p. 5342.
 - [8] a) Buzas A., Gagosz F., *Org. Lett.*, **2006**, *8*, p. 515; b) Buzas A., Istrate F., Gagosz F., *Tetrahedron*, **2009**, *65*, p. 1889.
 - [9] Buzas A., Gagosz F., *Synlett*, **2006**, *17*, p. 2727.
 - [10] Istrate F., Buzas A., Dias-Jurberg I., Odabachian Y., Gagosz F., *Org. Lett.*, **2008**, *10*, p. 925.
 - [11] Buzas A., Istrate F., Gagosz F., *Org. Lett.*, **2006**, *8*, p. 1957.
 - [12] Buzas A., Istrate F., Gagosz F., *Org. Lett.*, **2007**, *9*, p. 985.
 - [13] Sélection d'articles avec des nucléophiles azotés : **Amines** : Morita N., Krause N., *Org. Lett.*, **2004**, *6*, p. 4121. **Amides** : Lee P.H., Kim H., Lee K., Kim M., Noh K., Kim H., Seomoon D., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2005**, *44*, p. 1840. **Imines** : Kang J.-E., Kim H.-B., Lee J.-W., Shin S., *Org. Lett.*, **2006**, *8*, p. 3537. **Azotures** : Gorin D.J., Davis N.R., Toste F.D., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, p. 11260. **Carbamates** : Ritter S., Horino Y., Lex J., Schmalz H.-G., *Synlett*, **2006**, p. 3309.
 - [14] Istrate F., Gagosz F., *Org. Lett.*, **2007**, *9*, p. 3181.
 - [15] a) Morita N., Krause N., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2006**, *45*, p. 1897; b) Nakamura I., Sato T., Yamamoto Y., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2006**, *45*, p. 4473.
 - [16] Sélection d'articles concernant les additions de nucléophiles carbonés en version intra- ou intermoléculaire : **Cycloisomérisations** : a) Mauleón P., Zeldin R.M., González A.Z., Toste F.D., *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, p. 6348; b) Huang X., Zhang L., *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, p. 6398; c) Zhang L., Kozmin S.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, p. 6962; d) Lemièrre G., Gandon V., Agenet N., Goddard J.-P., de Kozak A., Aubert C., Fensterbank L., Malacria M., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2006**, *45*, p. 7596; e) Toullec P.Y., Blarrie T., Michelet V., *Org. Lett.*, **2009**, *11*, p. 2888. **Hydroarylations d'alcynes ou d'allènes intermoléculaires** : a) Ferrer C., Echavarren A.M., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2006**, *45*,

- p. 1105 ; b) Reetz M.T., Sommer K., *Eur. J. Org. Chem.*, **2003**, p. 3485 ; c) Tarselli A.A., Liu A., Gagné M.R., *Tetrahedron*, **2009**, *65*, p. 1785.
Dicétone comme nucléophile : Yao X.-Q., Li C.-J., *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, *126*, p. 6884.
- [17] Gagosz F., *Org. Lett.*, **2005**, *7*, p. 4129.
- [18] a) Buzas A., Gagosz F., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, p. 12614 ; b) Odabachian Y., Gagosz F., *Adv. Synth. Catal.*, **2009**, *351*, p. 379.
- [19] Odabachian Y., Le Goff X.-F., Gagosz F., *Chem. Eur. J.*, **2009**, *15*, p. 8966.
- [20] Sélection d'articles relatifs au piégeage d'intermédiaires de réaction par des nucléophiles externes : a) Johansson M.J., Gorin D.J., Staben S.T., Toste F.D., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, p. 18002 ; b) Shapiro N.D., Shi Y., Toste F.D., *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, p. 11654 ; c) Schelwies M., Dempwolff A.L., Rominger F., Helmchen G., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2007**, *46*, p. 5598 ; d) Toullec P.Y., Genin E., Leseurre L., Genet J.-P., Michelet V., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2006**, *45*, p. 7427 ; e) Zhang G., Huang X., Li G., Zhang L., *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, p. 1814.
- [21] a) Buzas A., Istrate F., Gagosz F., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2007**, *46*, p. 1141 ; b) Odabachian Y., Gagosz F., *Adv. Synth. Catal.*, **2009**, *351*, p. 379.
- [22] Zhang G., Peng Y., Cui L., Zhang L., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2009**, *48*, p. 3112.
- [23] Shi Y., Roth K.E., Ramgren S.D., Blum S.A., *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, p. 18022.
- [24] a) Zhang L., *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, p. 16804 ; b) Jiménez-Núñez E., Claverie C.K., Nieto-Oberhuber C., Echavarren A.M., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2006**, *45*, p. 5452.
- [25] Sélection de synthèses totales : a) Staben S.T., Kennedy-Smith J.J., Huang D., Corkey B.K., Lalonde R.L., Toste F.D., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2006**, *45*, p. 5991 ; b) Liu Z., Wasmuth A.S., Nelson S.G., *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, p. 10352 ; c) Veith G.E., Beckmann E., Burke B.J., Boyer A., Malsen S.L., Ley S.V., *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2007**, *46*, p. 7629.
- [26] Widenhofer R.A., *Chem. Eur. J.*, **2008**, *14*, p. 5382.
- [27] a) Chao C.-M., Beltrami D., Toullec P.-Y., Michelet V., *Chem. Commun.*, **2009**, p. 6988 ; b) Luzung M.R., Mauleón P., Toste F.D., *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, p. 12402 ; c) Liu C., Widenhofer R.A., *Org. Lett.*, **2007**, *9*, p. 1935 ; d) Watson I.D.G., Ritter S., Toste F.D., *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, p. 2056.
- [28] Hamilton G.L., Kang E.J., Mba M., Toste F.D., *Science*, **2007**, *317*, p. 496.



Fabien Gagosz

est chargé de recherche au CNRS à l'École Polytechnique*. Ses travaux lui ont valu l'attribution de la **Médaille de bronze du CNRS en 2008**.

* Laboratoire de Synthèse Organique (DCSO), École Polytechnique, UMR 7652, Route de Saclay, F-91128 Palaiseau Cedex.
 Courriel : gagosz@dcso.polytechnique.fr

L'INSTITUT LAVOISIER DE VERSAILLES

L'ILV est une unité mixte de recherche CNRS/université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines qui regroupe dans un bâtiment moderne tous les chimistes de l'université. L'institut créé en 2006 comprend plus de 70 chercheurs, enseignants chercheurs, ingénieurs et techniciens et une quarantaine d'étudiants doctorants et post-doctorants.

T H É M A T I Q U E S

Les thématiques de recherche de l'institut couvrent les grands domaines de la chimie.

Les points forts de l'institut sont :

- La chimie des matériaux à larges pores hybrides organiques/inorganiques
- La synthèse en chimie organique et inorganique moléculaire
- L'électrochimie et la physicochimie des surfaces semi-conductrices et métalliques
- Une expertise analytique forte (surfaces, RMN du solide, diffractométrie)

L'ILV assure sa mission en recherche fondamentale et collabore fortement avec de nombreux partenaires industriels. Il est engagé dans les pôles de compétitivité MOVEO, Cosmetic Valley et Medicen Paris Région. Par l'expertise de ses groupes, l'Institut est impliqué dans de nombreux programmes de recherche et propose, via sa plate-forme technique d'analyse très performante, différents services qui vont de l'analyse de surface à la synthèse ciblée de molécules organiques ou inorganiques.

INSTITUT LAVOISIER DE VERSAILLES



Université de Versailles
 Saint-Quentin-en-Yvelines
 Bâtiment Lavoisier
 45 avenue des États-Unis
 78035 Versailles CEDEX

<http://www.ilv.uvsq.fr>

Directeur : Arnaud Etcheberry
 Tél. : +33 1 39 25 43 84
arnaud.etcberry@uvsq.fr

Des virus comme système modèle de cristaux liquides

Éric Grelet

Résumé Cet article présente l'auto-organisation en phases cristal-liquides d'un système colloïdal anisotrope modèle : le virus *fd*. Du fait de son uniformité en taille et de sa capacité à être visualisé à l'échelle de la particule individuelle en microscopie optique, des investigations sur la structure et la dynamique des différentes mésophases formées par ces colloïdes d'origine biologique ont pu être menées. Les études confirment le caractère modèle, du point de vue de la physique, de ce système de virus en forme de filament. Elles ouvrent également des perspectives sur l'utilisation des virus dans les nanosciences et les biotechnologies.

Mots-clés Cristal liquide, colloïde, virus, bâtonnets à répulsion de cœur dur, auto-organisation, nanoscience.

Abstract **Viruses as liquid crystal model system**
This paper reports the self-organization into liquid-crystalline phases of an anisotropic colloidal model system: the *fd* virus. Due to its monodispersity and its ability to be visualized at the single particle scale, the structure and the dynamics of the different mesophases formed by these biological colloids have been investigated. These studies confirm the model feature of hard rods of the *fd* virus suspensions, and provide interesting outlook in the use of viruses in nanoscience and biotechnology.

Keywords Liquid crystal, colloid, virus, hard rod, self-organization, nanoscience.

Les particules colloïdales présentent une grande richesse d'organisations et de transitions de phase, et se comportent par bien des aspects comme des atomes ou des molécules [1]. En raison de la simplicité de leurs interactions, qui sont essentiellement d'origine entropique (volume exclu) et électrostatique, les colloïdes sont fréquemment considérés comme des paradigmes – ou systèmes modèles – en physique de la matière condensée. Ils présentent la particularité d'être souvent observables à l'échelle de la particule individuelle, et ce par des techniques facilement accessibles comme la microscopie optique. Le cas de particules colloïdales non sphériques (en forme de bâtonnets ou de disques) est particulièrement intéressant par leur

capacité à former des phases de type cristal-liquide. La phase nématique, utilisée dans les afficheurs LCD (« liquid crystals displays »), est la plus usuelle des mésophases et possède un ordre orientationnel à longue portée, tandis que les phases smectiques et colonnaires ajoutent un ordre positionnel à une et deux dimensions respectivement (figure 1).

Lars Onsager fut le premier en 1949 à proposer une description théorique de la transition entre la phase liquide isotrope et la phase nématique [2]. Il démontra que la phase nématique peut être thermodynamiquement stable en maximisant l'entropie du système, qui possède deux contributions : l'une orientationnelle (favorisant l'existence de la phase liquide) et l'autre associée au volume exclu

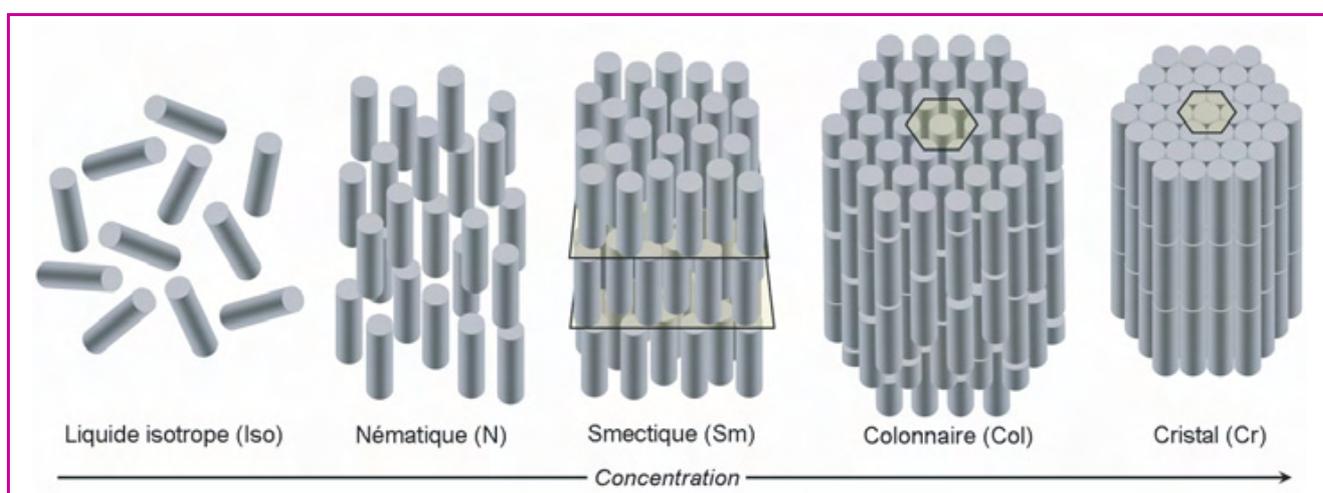


Figure 1 - L'auto-organisation en différentes mésophases des particules allongées en forme de bâtonnet : liquide isotrope, nématique, smectique, colonnaire et cristalline en augmentant la fraction volumique en particules. Les suspensions de virus *fd* sont le premier système expérimental à présenter l'ensemble de la séquence de phases prédite théoriquement.

(favorisant l'existence de la phase nématique), cette dernière étant d'autant plus importante que l'anisotropie des particules est grande, c'est-à-dire que celles-ci offrent un grand rapport d'aspect. Comme la contribution entropique reliée au volume exclu augmente avec la concentration, une transition du premier ordre apparaît pour une fraction volumique en particules suffisamment élevée, au-delà de laquelle la phase nématique est thermodynamiquement stable. Ainsi, l'élégance du modèle d'Onsager est de montrer que des particules anisotropes n'ayant d'autre interaction qu'une répulsion de cœur dur, peuvent s'auto-organiser dans une phase cristal-liquide nématique. Il a fallu ensuite attendre les années 1990 pour que, inspirées par la théorie d'Onsager, des simulations numériques montrent la stabilité des mésophases smectiques et colonnaires par des arguments basés également sur une maximisation de l'entropie [3] (figure 1).

Expérimentalement, il est difficile de trouver un système aussi simple que dans les analyses numériques permettant de confirmer – ou d'infirmer – les prédictions théoriques. La plupart des systèmes colloïdaux non sphériques présentent par exemple une large distribution en taille, et cette polydispersité empêche une comparaison directe avec la théorie. Du fait de leur monodispersité intrinsèque, les virus en forme de filament constituent ainsi un système modèle unique pour l'étude de l'auto-organisation des particules anisotropes [4]. Grâce à leur origine biologique, ils possèdent une architecture parfaitement définie (en termes de longueur, diamètre et charge), et en particulier, une exceptionnelle uniformité en taille, très précisément programmée génétiquement. Nous avons plus spécifiquement travaillé avec le virus *fd*, un bactériophage de l'*Escherichia coli*, dont nous avons importé la technique de production de l'Université de Brandeis à Boston (États-Unis). Ce bactériovirus, inerte pour l'homme, est constitué d'un monobrin circulaire d'ADN autour duquel s'enroulent de manière hélicoïdale 2 700 copies d'une même protéine formant ainsi la capsid (figure 2). Le virus *fd* possède une longueur micrométrique (0,88 μm) pour un diamètre de 7 nm et est semi-rigide.

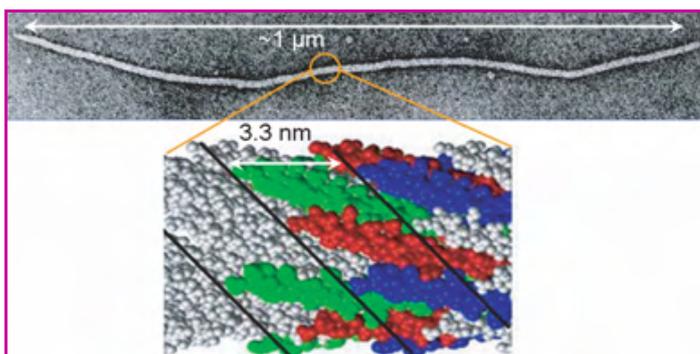


Figure 2 - Virus *fd* observé en microscopie électronique et représentation schématique de son enveloppe externe, appelée capsid, formée d'un arrangement hélicoïdal de protéines.

La monodispersité en taille de ce bactériovirus ainsi que sa surface parfaitement définie (en termes de structure, de distribution de charges...) en font un système modèle de colloïde anisotrope en forme de bâtonnets.

Dynamique dans la phase lamellaire

Mis en solution aqueuse, les virus *fd* s'auto-organisent en une phase nématique chirale (dite cholestérique), puis en une phase smectique en augmentant la concentration, comme l'ont principalement montré S. Fraden et Z. Dogic [5]. L'existence d'une phase smectique, dont l'arrangement

lamellaire est observable directement en microscopie optique en raison de sa périodicité de l'ordre du micromètre, est une conséquence directe de la monodispersité en taille de ces objets biologiques. En effet, la forte polydispersité des nanoparticules obtenues par voie synthétique n'autorise généralement pas l'apparition d'une organisation smectique, comme cela a été montré à la fois théoriquement et expérimentalement.

Grâce au marquage de quelques virus ($1/10^5$ environ) par des chromophores, le suivi de particules individuelles a pu être mené en microscopie de fluorescence. En collaboration avec M.P. Lettinga (FZ Jülich, Allemagne), nous avons étudié la dynamique des virus *fd* auto-organisés en mésophase smectique [6]. Contrairement à la phase liquide isotrope où les particules virales diffusent sans direction préférentielle de manière brownienne, ces mêmes particules organisées dans la phase lamellaire ne changent que peu leur position à l'intérieur d'une couche donnée, mais sautent de couche en couche par *pas quantifiés* correspondant à la périodicité lamellaire [7] (figure 3). Ce processus de diffusion des virus correspond à un phénomène de transport de matière entre les couches smectiques, appelé aussi *perméation*. Ce concept introduit par Helfrich et de Gennes n'avait jamais été directement mis en évidence.

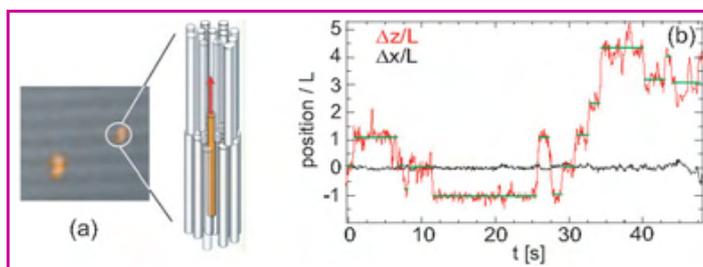


Figure 3 - (a) : image de microscopie optique montrant l'arrangement lamellaire (avec une périodicité spatiale d'environ $1 \mu\text{m}$) où deux virus seulement sont marqués en fluorescence et représentation schématique du saut d'un virus entre deux couches smectiques. (b) : exemple de trajectoire d'un virus, respectivement dans la direction parallèle (en rouge) et perpendiculaire (en noir) à la normale aux couches smectiques.

Hélicité de la phase nématique chirale ?

Les suspensions de virus *fd* ont permis également de mener des investigations sur les manifestations de la chiralité dans les structures auto-organisées. En effet, les mécanismes de transmission et d'amplification de la chiralité moléculaire vers l'élaboration de superstructures hélicoïdales restent peu compris [8-9]. La problématique de l'origine des manifestations mésoscopiques de la chiralité peut être illustrée par le fait que la périodicité hélicoïdale de la phase nématique chirale ne correspond à aucune taille caractéristique du système, et qu'elle ne peut pas, par exemple, être obtenue par des simples arguments en loi d'échelle.

Ainsi, l'étude de la phase nématique chirale formée par les virus *fd* a permis de faire un constat surprenant : ces virus chiraux qui intrinsèquement présentent une hélicité *droite* due à l'arrangement hélicoïdal des protéines du manteau (figure 2), et ce comme beaucoup d'objets biologiques, s'organisent collectivement en une phase hélicoïdale *gauche* [10] (figure 4). Le signe et la valeur de l'hélicité (ou pas) cholestérique ont pu être déterminés par microscopie confocale grâce à la visualisation individuelle des virus marqués.

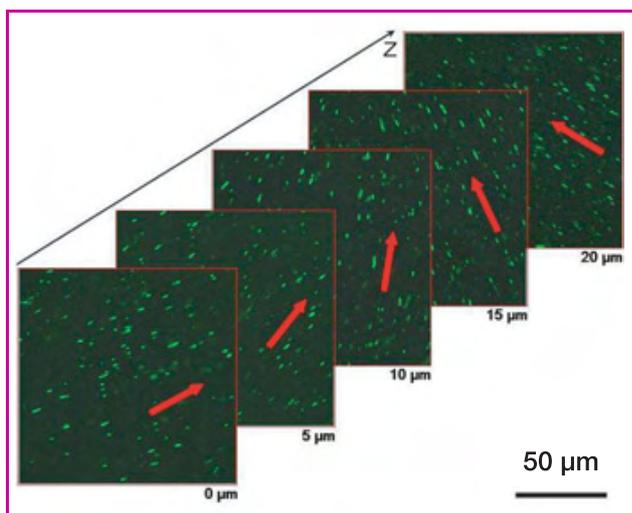


Figure 4 - Visualisation par microscopie confocale de l'hélicité gauche de la périodicité cholestérique dans les suspensions de virus marqués (en vert) par des chromophores.

La séquence d'images a été prise en suivant l'orientation moyenne des virus marqués, représentée par des flèches rouges, à travers l'épaisseur de l'échantillon (Z).

Ce résultat semble *a priori* contre-intuitif car l'on s'attend, par de simples arguments géométriques, à ce que l'empilement de vis droites ait lui-même une hélicité droite. Une collaboration avec le groupe d'A. Ferrarini de l'Université de Padoue (Italie) a alors été engagée pour rendre compte des observations expérimentales, et un modèle de la détermination du sens et de la valeur des pas cholestériques dans les suspensions de virus a été élaboré [10].

Les ingrédients du modèle supposent que la torsion supramoléculaire possède deux origines, pouvant être de signe opposé : l'une stérique correspondant à l'empilement compact de bâtonnets hélicoïdaux représentables schématiquement par des vis, et l'autre électrostatique due à la répulsion entre charges portées par les virus. On peut comprendre intuitivement que la configuration stériquement favorable (empilement compact) correspond à une configuration particulièrement défavorable d'un point de vue électrostatique car la distance entre les charges (négatives) de virus adjacents est alors minimale.

Ainsi, les calculs issus de ce modèle sont remarquables car ils permettent de rendre compte *quantitativement* des résultats expérimentaux que nous avons établis, tant sur la période que sur le sens de l'hélicité cholestérique. Des variations de la force ionique dans les suspensions de virus *fd* ont été entreprises pour moduler la portée des interactions électrostatiques, ainsi qu'une étude en fonction du pH. Il a ainsi été observé, en accord avec notre modèle où les interactions électrostatiques sont dominantes, un déroulement de l'hélice cholestérique (ou augmentation du pas) en se rapprochant du point isoélectrique, *i.e.* de charge nulle, du virus.

Mésophase colonnaire hexatique et phase cristalline

Des études structurales dans le régime des très grandes concentrations en virus ont été entreprises, essentiellement par diffusion des rayons X aux petits angles, où l'ordre est sondé dans la direction normale au grand axe des virus. Deux phases présentant une symétrie hexagonale ont ainsi

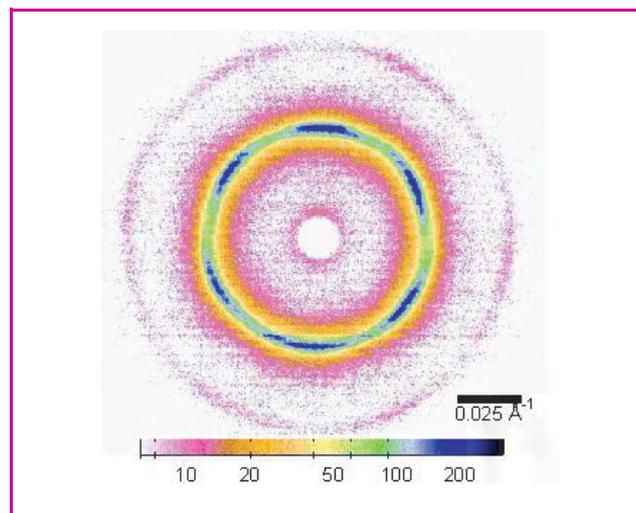


Figure 5 - Cliché obtenu par diffraction des rayons X d'un monodomaine de la phase colonnaire (voir figure 1) obtenue dans les suspensions concentrées de virus.

La symétrie d'ordre six est une signature de l'ordre hexagonal présent dans la mésophase.

été mises en évidence (figure 5) : l'une cristal-liquide colonnaire et l'autre cristalline [11]. Elles correspondent aux deux organisations manquantes prédites par la théorie pour des particules allongées en forme de bâtonnet (figure 1). Les premières analyses du profil des raies de Bragg obtenues par diffraction des rayons X indiquent une structure de type *hexatique* dans le domaine colonnaire. Cette mésophase possède une symétrie hexagonale, mais dont la longueur de corrélation de l'ordre de position diminue quand la fraction volumique en colloïdes augmente, et ce contrairement aux mésophases colonnaires hexagonales plus classiques. Théoriquement, l'origine de cette phase hexatique proviendrait de la présence de défauts topologiques intrinsèques (dislocations) qui traduisent la frustration géométrique résultant de la compétition entre torsion hélicoïdale – due à la chiralité des virus – et ordre de position à longue portée [11].

Conclusion et perspectives

Les suspensions de virus *fd* constituent le premier système expérimental présentant la séquence complète de phases prédite pour des bâtonnets à répulsion de cœur dur, soit – en augmentant la fraction volumique en particules – les phases : nématique chirale (ou cholestérique), smectique, colonnaire et cristalline. Ce résultat confirme le caractère modèle des dispersions de ces colloïdes biologiques. S'appuyant sur les connaissances acquises sur ce système, une utilisation des virus comme brique élémentaire pour la formation de nouveaux matériaux a été abordée ces dernières années, grâce entre autres à leurs propriétés de surface parfaitement définies. Ainsi une fonctionnalisation par des polymères [12] ou par des sels d'oxydes métalliques a été entreprise, conduisant par exemple à la réalisation d'électrodes performantes pour batteries lithium-ion [13], grâce à l'enrobage métallique des particules virales. Cette capacité des virus à être d'une part fonctionnalisés, et d'autre part à former des structures régulières auto-assemblées, offre de nombreuses perspectives dans le domaine des nanosciences et des biotechnologies.

Références

- [1] Pusey P.N., van Megen W., Phase behaviour of concentrated suspensions of nearly hard colloidal spheres, *Nature*, **1986**, 320, p. 340.
- [2] Onsager L., The effects of shape on the interaction of colloidal particles, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1949**, 51, p. 627.
- [3] Frenkel D., Lekkerkerker H.N.W., Stroobants A., Thermodynamic stability of a smectic phase in a system of hard rods, *Nature*, 1988, 332, p. 822.
- [4] Dogic Z., Fraden S., Ordered phases of filamentous viruses, *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, **2006**, 11, p. 47.
- [5] Dogic Z., Fraden S., *Soft Matter*, Vol 2: *Complex Colloidal Suspensions*, G. Gompper, M. Schick (eds), Wiley-VCH, **2006**, p. 1.
- [6] Lettinga M.P., Grelet E., Self-diffusion of rodlike viruses through smectic layers, *Phys. Rev. Lett.*, **2007**, 99, p. 197802.
- [7] Grelet E., Lettinga M.P., Bier M., van Roij R., van der Schoot P., Dynamical and structural insights into the smectic phase of rod-like particles, *J. Phys.: Condens. Matter*, **2008**, 20, p. 494213.
- [8] Grelet E., Fraden S., What is the origin of chirality in the cholesteric phase of virus suspensions?, *Phys. Rev. Lett.*, **2003**, 90, p. 198302.
- [9] Barry E., Beller D., Dogic Z., A model liquid crystalline system based on rodlike viruses with variable chirality and persistence length, *Soft Matter*, **2009**, 5, p. 2563.
- [10] Tomblato F., Ferrarini A., Grelet E., Chiral nematic phase of suspensions of rodlike viruses: left-handed phase helicity from a right-handed molecular helix, *Phys. Rev. Lett.*, **2006**, 96, p. 258302.
- [11] Grelet E., Hexagonal order in crystalline and columnar phases of hard rods, *Phys. Rev. Lett.*, **2008**, 100, p. 168301.
- [12] Zhang Z., Krishna N., Lettinga M.P., Vermant J., Grelet E., Reversible gelation of rod-like viruses grafted with thermoresponsive polymers, *Langmuir*, **2009**, 25, p. 2437.
- [13] Lee Y.J., Yi H., Kim W.J., Kang K., Yun D.S., Strano M.S., Ceder G., Belcher A.M., Fabricating genetically engineered high-power lithium-ion batteries using multiple virus genes, *Science*, **2009**, 324, p. 1051.



Éric Grelet

est chargé de recherche au CNRS et travaille au Centre de Recherche Paul-Pascal à Pessac*. Ses travaux lui ont valu l'attribution de la **Médaille de bronze du CNRS en 2009**.

* Centre de Recherche Paul-Pascal, CNRS-Université de Bordeaux, 115 avenue Schweitzer, F-33600 Pessac.
Courriel : grelet@crpp-bordeaux.cnrs.fr

NOUS CRÉONS

bien plus que des matériaux innovants :
des solutions pour donner
vie à tous les projets.



les matériaux au cœur de la vie™

HARRISON WILF

Conception sur mesure de solides microporeux et mésoporeux pour la catalyse

De la molécule au réacteur

Guillaume Laugel, Stéphane Walspurger et Benoît Louis

Résumé Les zéolithes, très largement produites industriellement, sont la famille de catalyseurs hétérogènes la plus utilisée en pétrochimie. En effet, dans le cadre d'une chimie verte, respectueuse de l'environnement, les transformations des hydrocarbures (alkylation, craquage, isomérisation) sont généralement catalysées par ces solides microporeux. La conception à dessein ainsi que l'élaboration maîtrisée de ces polymères inorganiques cristallins à structure parfaitement définie sont au cœur d'une recherche intensive aussi bien fondamentale qu'industrielle. Cette recherche porte sur l'adaptation de la formulation moléculaire, la hiérarchisation de la porosité, le contrôle de la taille des cristaux ou la mise à l'échelle du réacteur.

Mots-clés Zéolithes, catalyse, acidité, conception sur mesure, chimie verte.

Abstract From the molecule to the reactor: rational design of microporous and mesoporous solids for catalysis

Zeolitic materials are the heterogeneous catalysts with the highest annual production. They are used in a great variety of acid-catalyzed reactions. Nowadays, hydrocarbon transformations such as cracking, alkylation, and isomerization are preferably conducted while using these environmentally friendly microporous solid acids. In the general shift from homogeneous towards heterogeneous catalysis, zeolites play a key role. The rational design of these inorganic polymers with highly crystalline structure is warranted both in academic and in industrial research. A proper chemical composition, a hierarchical porosity, and an appropriate crystal size have therefore to be combined with a proper shape at the reactor level.

Keywords Zeolites, catalysis, acidity, rational design, green chemistry.

Des solides poreux à architecture contrôlée

Les zéolithes : de la cuisine à l'espace

Les zéolithes sont des tamis moléculaires qui possèdent des canaux et des cages interconnectés de 0,2 à 2 nm de diamètre formant de magnifiques structures cristallines (figure 1).

En vertu de leur structure microporeuse particulière, ces aluminosilicates cristallins sont utilisés dans différents secteurs de la vie courante. Les zéolithes peuvent

effectivement être utilisées dans le domaine domestique comme adoucisseur d'eau dans les lessives, dans l'emballage d'aliments, dans la purification de l'eau (tamis moléculaire) ou dans les litières pour chat. Elles sont également présentes dans nos habitations sous la forme d'additif dans les matériaux de construction [1-2].

Près de 70 % des applications des zéolithes reposent sur leur capacité d'échange de cations. Ces matériaux ont ainsi été utilisés lors de la catastrophe de Tchernobyl, afin de piéger l'isotope ^{137}Cs radioactif par échange d'ion avec le sodium présent au sein de la structure poreuse. Ces solides microporeux ont également servi d'absorbant de molécules gazeuses dans le télescope Hubble et de dioxyde de carbone au sein des stations spatiales. Il est à noter que seulement 15 % de la production totale de zéolithes est employée à des fins catalytiques. Grâce à leur structure poreuse extrêmement organisée, leur forte acidité (à la fois de Brønsted et de Lewis) et la possibilité d'introduire différents cations métalliques, ces matériaux peuvent être employés en catalyse acide (raffinage, réaction de Friedel-Crafts), dans des réactions d'oxydation (transformation du benzène en phénol), ou encore comme catalyseur bifonctionnel. Dans ce dernier cas, c'est à la fois le cation métallique et la fonction acide qui interviennent dans la réaction [3].

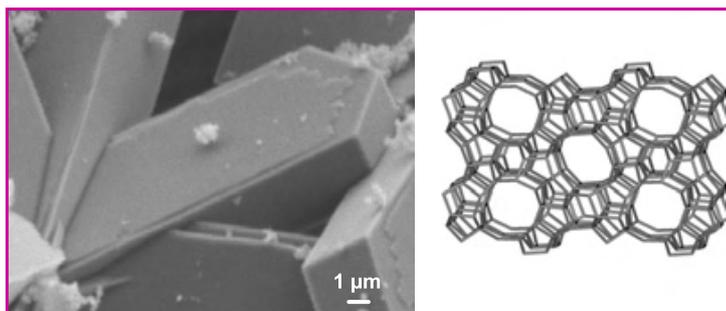


Figure 1 - Cristaux et maille élémentaire de la zéolithe ZSM-5.

Des matériaux mésostructurés ?

L'intérêt pour les solides mésoporeux présentant des pores ouverts de diamètres réguliers et s'organisant en réseau hexagonal ou cubique ne cesse de croître. Les silices mésoporeuses sont ainsi un matériau très prisé dans le domaine de la catalyse et de la chromatographie. Elles se différencient par la structure des pores à l'intérieur de la matrice : par exemple, les silices de type MCM-41, MCM-48 et MCM-50 possèdent respectivement une structure hexagonale, cubique et lamellaire [4].

Récemment, un nouveau type de silice mésoporeuse ordonnée a été synthétisé par Zhao *et coll.* [5]. Cette silice, dont la surface spécifique peut atteindre jusqu'à 1 000 m²/g, porte le nom de SBA-15 (Santa Barbara Amorphous n°15) et est constituée comme la MCM-41 d'un réseau hexagonal de canaux tubulaires et uniformes. Par contre, elle présente des pores de diamètres allant de 5 à 30 nm qui sont significativement plus larges que ceux de la MCM-41. Par ailleurs, grâce à une épaisseur de paroi de l'ordre de 3 à 6 nm, la SBA-15 montre une meilleure stabilité thermique et hydrothermale par rapport à la MCM-41 dont les parois sont plus fines. La présence de larges pores et la grande surface spécifique rendent la SBA-15 spécialement intéressante comme support car elle permet une bonne dispersion des oxydes, et un effet de confinement peut être attendu si l'oxyde métallique est correctement incorporé dans les pores [6-8].

Intérêts d'une élaboration maîtrisée du solide poreux : porosité hiérarchisée et taille de cristal appropriée

La synthèse et l'application des matériaux poreux cités précédemment symbolisent la quête du chercheur dans le contrôle du monde physique au niveau atomique. En effet, la maîtrise des conditions de synthèse et un choix judicieux de la nature des réactifs permettent de modifier la structure cristalline des zéolithes et des silices mésoporeuses. Ces modifications engendrent des variations importantes de leurs propriétés intrinsèques : taille des pores, teneur en ions, acidité. Ainsi par exemple, la conception à dessein de zéolithes comme catalyseurs façonnés à l'échelle de la molécule mais aussi à celle du cristal, voire même à celle du réacteur, devient possible pour satisfaire une application particulière.

Conception sur mesure de solides poreux structurés

Synthèse de matériaux mésostructurés

Mécanisme général de formation

Des études menées sur ces matériaux ont permis de mieux contrôler leurs différentes propriétés physico-chimiques par une grande diversité de synthèses. Le principe de base de l'élaboration de matériaux mésostructurés repose sur l'auto-assemblage d'un précurseur inorganique avec un agent structurant macromoléculaire de manière à former un réseau mésoporeux ordonné (figure 2).

La première étape consiste à mélanger un agent structurant et un précurseur à base de silice qui s'organisent de manière à former un réseau dans lequel les deux phases s'intercalent de façon plus ou moins régulière. D'un point de

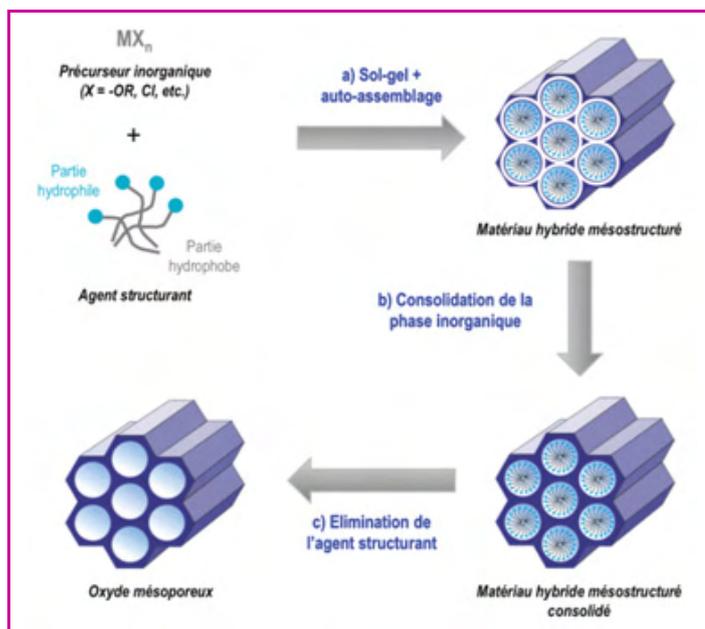


Figure 2 - Les différentes étapes conduisant à la formation d'un matériau mésostructuré.

vue cinétique, la formation du matériau hybride mésostructuré (organique-inorganique) est le résultat d'un équilibre entre trois processus distincts : la séparation des phases organique et inorganique (le plus rapide), l'organisation de l'agent structurant, et la polymérisation de la phase inorganique (le plus lent). La deuxième étape comprend un traitement hydrothermal qui permet une consolidation de la phase inorganique. La dernière étape implique l'élimination de la phase organique dans le matériau afin de pouvoir l'utiliser pour les applications désirées. Ces matériaux se sont avérés extrêmement prometteurs pour des applications en catalyse, et notamment pour palier aux contraintes dues à la taille de pores limitée des solides microporeux [6-7].

Les silices mésoporeuses : poudre d'or ou poudre aux yeux ?

Les deux principaux facteurs qui influencent la structure adoptée par une silice mésoporeuse sont la nature de l'interaction entre le surfactant et le précurseur de silice, ainsi que la géométrie des micelles formées par l'agent tensioactif dans des conditions de synthèse données. Cette géométrie dépend de la nature de l'agent tensioactif, mais également de la concentration de ce dernier, du pH, de la présence d'un co-solvant et de la température.

La silice de type SBA-15 demeure le solide mésoporeux le plus prometteur. Sa synthèse nécessite l'utilisation d'un copolymère à trois blocs de type poly(oxyde d'éthylène)-poly(oxyde de propylène)-poly(oxyde d'éthylène) (Pluronic P123 : $EO_{20}-PO_{70}-EO_{20}$) comme agent tensioactif, et d'un précurseur de silice tel que le tétraéthoxysilane (TEOS). La réaction se déroule en milieu fortement acide ($pH < 1$). La structure du copolymère à trois blocs Pluronic P123 consiste en une partie centrale hydrophobe formée par le polyoxyde de propylène (POP) entourée de part et d'autre de deux blocs hydrophiles de polyoxyde d'éthylène (POE). En solution aqueuse, le copolymère forme des micelles dont l'extérieur est composé des parties hydrophiles et dont le centre est formé de la partie hydrophobe. Les travaux de Zhao *et coll.* [5] ont démontré que la présence de ces micelles dans la solution est un facteur déterminant dans la

formation de la SBA-15. L'existence d'une corrélation entre la concentration micellaire critique (CMC) et la taille des pores est également possible.

L'agent tensioactif dissous dans l'acide forme initialement une solution micellaire dans laquelle les parties hydrophobes des molécules de copolymère se rassemblent dans une région appelée « corps » et leurs parties hydrophiles se regroupent en périphérie, dans la « couronne », en contact avec les molécules d'eau. Les molécules de TEOS ajoutées vont pénétrer au centre des micelles dans le « corps » en raison de leur caractère hydrophobe. Par contre, les molécules de TEOS déjà hydrolysées vont se placer dans la « couronne ». La polymérisation de la silice commence alors à la frontière « corps/couronne » de la micelle, ce qui va provoquer l'emprisonnement des chaînes du surfactant dans la silice partiellement polymérisée et le rétrécissement de la taille de la « couronne ». L'étape critique demeure la fusion des micelles en agrégats. En effet, la cinétique de formation de ces agrégats, par rapport à la cinétique de polymérisation de la silice, déterminera la qualité de la phase hexagonale qui sera formée. Ainsi, si le nombre d'agrégats formés lors du début de la polymérisation de la silice est insuffisant, il n'y aura pas de réarrangement hexagonal des micelles. Le mécanisme de formation de matériau mésostructuré de type SBA-15 est donc complexe.

Malgré l'engouement pour ces solides à la fin du siècle dernier, les applications dans des procédés catalytiques tardent à émerger. En effet, même si les voies de synthèse et la stabilité thermique de ces zéotypes à pores ultra-larges sont désormais mieux contrôlées, leur acidité réduite limite encore leur intérêt pour l'industrie pétrochimique. De plus, les dopages à l'aide de cations métalliques ou de complexes organométalliques sont encore affectés par les phénomènes de lessivage de la phase active en solution ou « leaching », faisant de ces matériaux un véritable « cheval de Troie » de la catalyse hétérogène [9]. La recherche dédiée à ces solides mésoporeux siliciques (ou aluminosiliciques), demeurant encore jeune et assez peu mature, laisse néanmoins de l'espoir pour des applications futures, et pourquoi pas en tant que nanoréacteur catalytique [10].

Synthèse contrôlée de zéolithes

Synthèse en milieu fluoré : design à l'échelle microscopique

Développée à Mulhouse dans les années 80 par Guth et Kessler [11], la synthèse en milieu fluoré est basée sur le remplacement des ions hydroxydes dans la synthèse de matériaux microporeux par des anions fluorures. Cette voie atypique présente de nombreux avantages tels qu'une facilité d'obtention de la structure désirée, la formation de cristaux plus larges présentant moins de défauts, la possibilité de préparer de nouveaux matériaux, l'introduction d'éléments peu solubles en milieu basique et une obtention de la forme acide par simple calcination. La taille des cristaux de zéolithes peut ainsi être modulée en fonction des applications visées : petits cristaux (0,1 à 1 μm) pour une réaction affectée par les phénomènes de diffusion, ou cristaux plus larges (10 à 100 μm) mieux appropriés dans l'industrie des pigments par exemple.

L'étude de la formation des cristaux en milieu fluorure nous a récemment permis de développer des arrangements microscopiques originaux et spectaculaires de cristaux. En outre, l'élaboration sur mesure d'un cristal de taille définie,

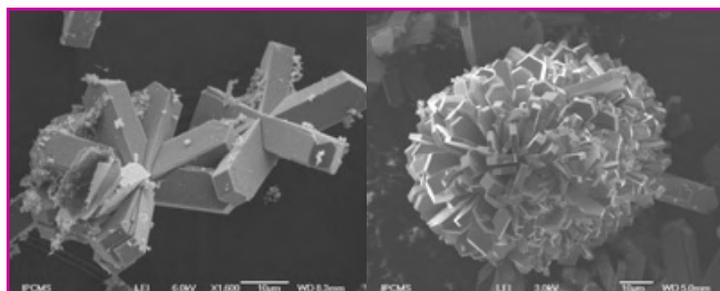


Figure 3 - Croissance de type « étoile » et « hérisson » pour la zéolithe ZSM-5.

Cette organisation à l'échelle du cristal s'appuie sur des interactions chimiques opérant au niveau moléculaire.

associée à un arrangement microscopique de ces cristaux en diverses morphologies, pourrait favoriser la diffusion des réactifs/produits, mais aussi induire des propriétés hydrophiles/hydrophobes particulières. La figure 3 présente nos premiers résultats dans lesquels des modes de croissance de type « étoile » (ou rose des sables) et « hérisson » ont été observés [12].

L'auto-assemblage :

la possibilité de prévoir l'imprévisible ?

Le design rationnel de nouveaux matériaux zéolithiques présentant des propriétés souhaitées commence par la compréhension du processus d'auto-assemblage supramoléculaire des briques de construction en solution (figure 4, [13]). Cette étape prépondérante permet le contrôle de la structure et de la texture du matériau.

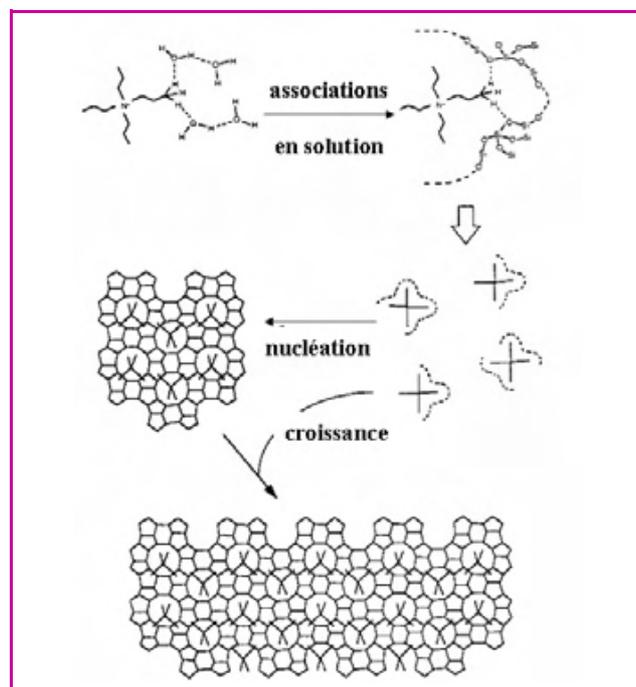


Figure 4 - Processus d'auto-assemblage des réactifs en solution menant au cristal [13].

Une partie de notre recherche vise à corrélérer l'architecture moléculaire d'une zéolithe, c'est-à-dire son assemblage microscopique, avec ses propriétés catalytiques. L'étude de la croissance de type « étoile » ou « rose des sables » de cristaux de la zéolithe ZSM-5 en milieu fluoré a permis de clarifier le rôle des différents éléments constitutifs de la

zéolithe lors du processus d'auto-assemblage [12]. Par ailleurs, nous avons développé une voie de synthèse originale basée sur la transformation et la recristallisation de la surface d'un support contenant du silicium, conduisant à la formation de nanocristaux de zéolithes qui s'auto-arrangent. Cette voie de synthèse atypique de cristaux auto-organisés sans ajout d'un agent extérieur de type surfactant, ou protéine, a fait l'objet de nombreuses publications par Louis *et coll.* [12, 14-16]. Finalement, en s'inspirant de cette stratégie, mais aussi des brillants travaux de Svetlana Mintova et Valentin Valtchev [17-18], une nouvelle classe d'acides solides ayant des propriétés de transfert de masse améliorées a ainsi été conçue. L'obtention de ces nouveaux acides solides est donc basée sur la préparation d'un gel de synthèse produisant des nanocristaux, et impliquant un support amorphe ou peu cristallin contenant du silicium (verres, végétaux, cordiérite) qui va se recristalliser en une structure zéolithique désirée. Cette nouvelle approche de synthèse de zéolithes est illustrée dans la *figure 5* qui représente un cliché de microscopie électronique à balayage (MEB) de cristaux ayant la forme de nanobâtonnets ou « nanofrites ». L'avantage et à la fois l'inconvénient de cette stratégie résident dans la difficulté de prévoir la structure obtenue, car les concentrations des divers précurseurs présents dans le gel de synthèse diffèrent au voisinage du substrat contenant du silicium. La concentration des silicates en solution peut notamment varier, ce qui entraîne la formation d'une autre structure métastable.

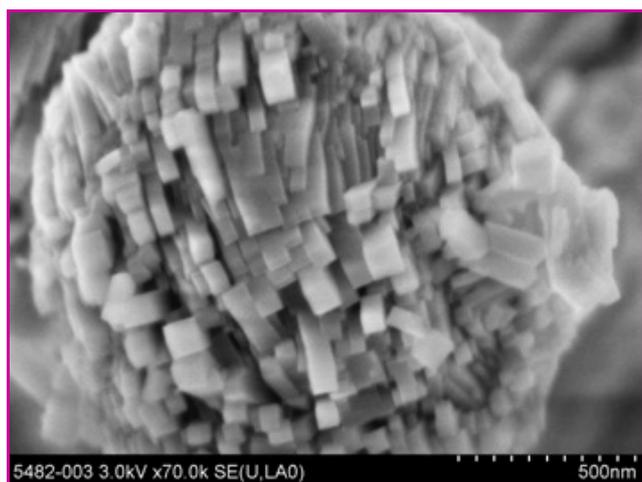


Figure 5 - Assemblage de cristaux de zéolithes sous la forme de « nanofrites ».

Croissance de zéolithes à la surface d'un monolithe et lits catalytiques structurés

Le principal challenge de notre étude consiste à coupler le contrôle de la taille et de l'assemblage des cristaux à l'échelle microscopique, à une porosité hiérarchisée au sein du cristal. Ainsi, la croissance de cristaux de zéolithes de différentes structures cristallines à la surface de monolithes en verre possédant déjà une mésoporosité et une macroporosité contrôlées a été effectuée. La *figure 6* présente une partie des formes possibles pour ces monolithes en verre, ainsi qu'une image de microscopie électronique à transmission (MET) qui illustre la mésostucture hexagonale.

La croissance de cristaux prismatiques de la zéolithe ZSM-5 à la surface du verre mésoporeux a engendré la présence de mésopores de 10-20 nm au sein du réseau microporeux de la zéolithe (*figure 7*).

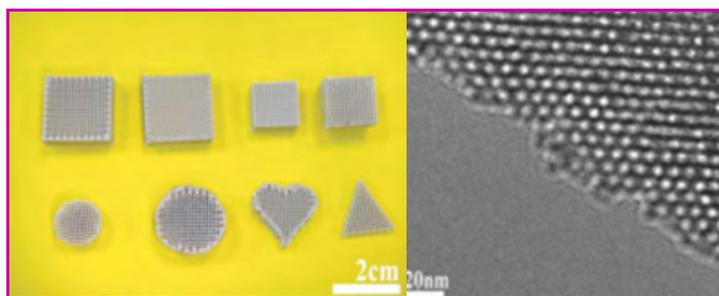


Figure 6 - Différentes morphologies possibles et structure mésoporeuse hexagonale organisée du monolithe en verre [19].

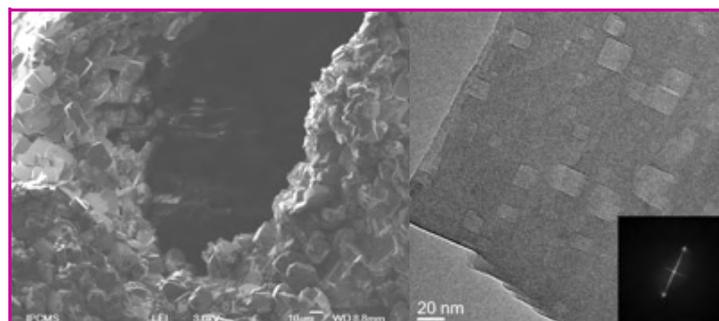


Figure 7 - Dépôt de cristaux de la zéolithe MFI sur le monolithe. Visualisation MET des mésopores formés de 10 à 20 nm, au sein de la structure microporeuse [14].

La maîtrise des conditions expérimentales au cours de la synthèse nous a ensuite permis de préserver (en partie du moins) la structure macroscopique du monolithe en verre et ainsi de combiner micro-, méso- et macroporosité au sein de ce composite zéolithe/verre. Notre approche permet donc de conserver l'usage de ce composite à l'échelle d'un réacteur dont la forme et la taille sont modifiables à souhait.

Le développement de ces lits catalytiques structurés formés par des zéolithes mésoporeuses vise à favoriser la diffusion des réactifs et des produits [19]. Ainsi, les avantages hydrodynamiques conférés par la structure monolithique sont préservés : réduction des pertes de charge au travers du lit catalytique, distribution homogène du flux, amélioration des transferts de masse et de chaleur. De plus, cette méthode permet de combiner un design du matériau à l'échelle microscopique (taille, assemblage des cristaux, porosité hiérarchisée) avec une structuration au niveau macroscopique, celui du réacteur. Un solide poreux hiérarchisé à la fois aux niveaux moléculaire et microscopique, couplé à une conception sur mesure à l'échelle du réacteur, devrait engendrer des propriétés catalytiques optimales.

Réactivité catalytique : vers une catalyse acide verte

Dans un contexte de développement durable, où les zéolithes jouent un rôle clé, il convient de remplacer les catalyseurs acides forts halogénés de type AlCl_3 , HCl , HF , SbF_5 produisant d'importantes quantités de sels après neutralisation par des acides solides régénérables. Bien que les zéolithes ne soient pas considérées comme des superacides – c'est-à-dire plus acides que l'acide sulfurique concentré –, la réactivité de bases faibles comme les alcanes à température élevée impliquant la formation d'espèces carbocationiques, intermédiaires des réactions d'échange

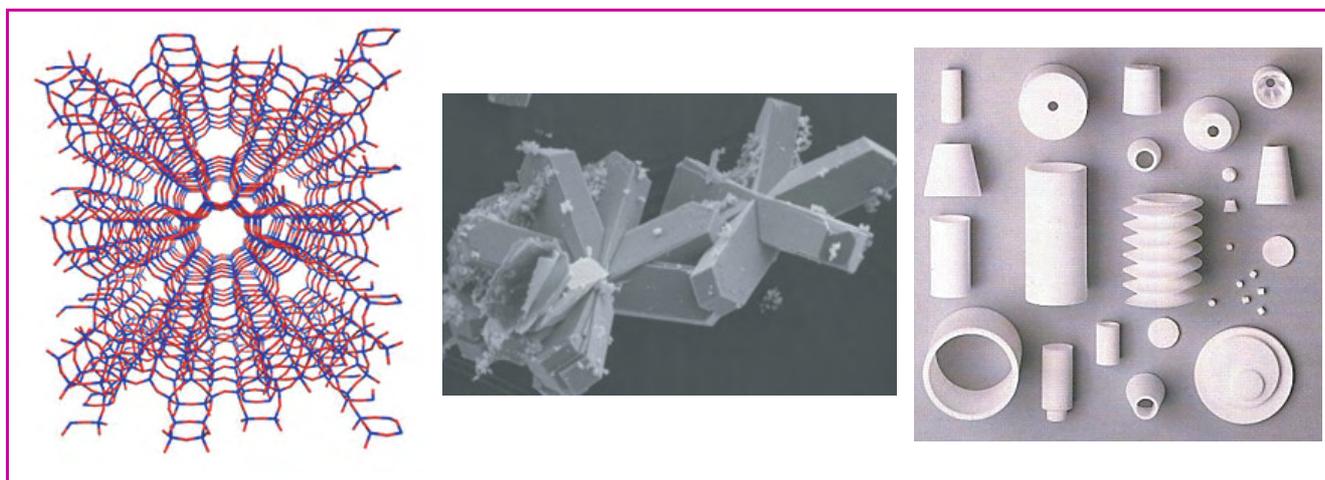


Figure 8 - Conception sur mesure des solides microporeux au niveau de la molécule, du cristal et du réacteur.

isotopique, oligomérisation ou craquage, suggère un caractère acide très fort. De plus, les effets de confinement, notamment par l'intensification des interactions électrostatiques et les contraintes stériques, permettent un effet de solvation qui favorise la réactivité des espèces adsorbées au sein de la matrice poreuse [10].

La structure et la composition chimique des acides solides préparés suivant la méthodologie énoncée précédemment peuvent être caractérisées à l'aide des techniques analytiques classiques (microscopie électronique à balayage (MEB), diffraction des rayons X (DRX), mesure de surface spécifique (BET), IR-TF, RMN du solide). La caractérisation de l'acidité de ces matériaux reste cependant non triviale en dépit de nombreuses méthodes telles que l'adsorption de molécules sondes basiques (« temperature programmed desorption », TPD). En effet, chaque technique présente ses avantages et ses inconvénients parmi lesquels il convient de citer la réactivité elle-même des molécules sondes adsorbées. Notre technique de quantification des sites de type hydroxyles, basée sur l'échange isotopique H/D, permet de quantifier précisément la population de sites -OH(D) d'un acide solide [20-21]. Cette méthode de mesure innovante ne dégrade pas le matériau catalytique et permet de surcroît de titrer sélectivement les sites acides de Brønsted. En affinant la méthode, nous avons été en mesure de déterminer les modes d'ancrage de cations métalliques, notamment du molybdène au sein de la zéolithe HZSM-5, en fonction de sa teneur et du nombre de sites acides de Brønsted [22]. Une relation entre la nature du complexe Mo-oxo, sa localisation au sein de l'hôte poreux et son activité catalytique dans la réaction d'aromatization du méthane a été établie [22]. Cette méthode s'avère être un outil précieux pour déterminer précisément la nature et la localisation du complexe/cation métallique ainsi que la manière selon laquelle il se greffe à la surface d'un acide solide. De précieux renseignements sur la nature et la géométrie d'un site actif métallique au sein de son hôte poreux peuvent ainsi être obtenus. Récemment, en couplant des techniques telles que l'EXAFS (« extended X-ray absorption fine structure »), et la TPR (« temperature programmed reduction ») avec cette méthode d'échange isotopique, nous avons pu déterminer les modes d'ancrage du nickel en fonction de la teneur en métal et de l'acidité de la zéolithe. Un lien entre la structure de ces matériaux et leur activité catalytique dans la réaction de craquage du n-hexane a ainsi pu être établi [23].

Vers un design à triple échelle du catalyseur

En conclusion, pour relever ce challenge, la démarche rationnelle présentée ci-après est généralement suivie :

1. Synthétiser un matériau (zéolithe ou autre acide solide) ayant les propriétés moléculaires appropriées pouvant permettre de mener à bien une réaction visée.
2. Appliquer une approche rationnelle pour améliorer ledit matériau : dopage avec des cations métalliques, cinétique, modélisation, marquage isotopique, caractérisations physico-chimiques.
3. Choisir la taille de cristaux appropriée (0,1 à 100 μm) et si possible guider l'arrangement des cristaux.
4. Réaliser un réacteur catalytique structuré par croissance *in situ* du matériau sur un support macroscopique parfaitement arrangé.

Par conséquent, la finalité de cette étude ambitieuse réside dans la possibilité de **pouvoir combiner un design à triple échelle** (figure 8) : allant de l'échelle moléculaire, en trouvant une formulation chimique du catalyseur adaptée, en passant par l'échelon microscopique (variant la taille des cristaux), jusqu'au niveau macroscopique du réacteur.

Remerciements

Les auteurs remercient Fabien Ocampo, Jaouad Arichi, Thierry Romero et Jean-Philippe Tessonier pour leur participation à ces travaux, ainsi que Catherine Hulot et Carolina Duarte pour leur soutien quotidien. Benoît Louis est reconnaissant envers le Centre National de la Recherche Scientifique pour l'attribution de la Médaille de bronze.

Références

- [1] Dyer A., *An Introduction to Zeolite Molecular Sieves*, John Wiley & Sons, **1988**.
- [2] Ghobarkar H., Schäf O., Guth U., *Prog. Solid State Chem.*, **1999**, *27*, p. 29.
- [3] Kuhn P., Pale P., Sommer J., Louis B., *J. Phys. Chem. C*, **2009**, *113*, p. 2903.
- [4] Beck J.S., Vartuli J.C., Roth W.J., Leonowicz M.E., Kresge C.T., Schmitt K.D., Chu C.T.W., Olson D.H., Sheppard E.W., McCullen S.B., Higgins J.B., Schlenker J.S., *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, p. 10834.
- [5] Zhao D., Feng J., Huo Q., Melosh N., Fredrickson G.H., Chmelka B.F., Stucky G.D., *Science*, **1998**, *279*, p. 548.
- [6] Sun Y.Y., Walspurger S., Tessonier J.P., Louis B., Sommer J., *Appl. Catal. A*, **2006**, *300*, p. 1.

- [7] Laugel G., Arichi J., Guerba H., Moliere M., Kiennemann A., Garin F., Louis B., *Catal. Lett.*, **2008**, *125*, p. 14.
- [8] Soler-Illia G.J., Sanchez C., Lebeau B., Patarin J., *Chem. Rev.*, **2002**, *102*, p. 4093.
- [9] Arends I.W.C.E., Sheldon R.A., *Appl. Catal. A*, **2001**, *212*, p. 175.
- [10] Mothe-Esteves P., Louis B., *J. Phys. Chem. B*, **2006**, *110*, p. 16793.
- [11] Guth J.L., Kessler H., Hiegel J.M., Lamblin J.M., Patarin J., Seive A., Chezeau J.M., Wey R., Zeolite synthesis in the presence of fluoride ions, *Zeolite Synthesis, ACS Symposium Series 398*, Washington DC, **1989**, p. 176.
- [12] Arichi J., Louis B., *Cryst. Growth & Des.*, **2008**, *8*, p. 3999.
- [13] Burkett S.L., Davis M.E., *Chem. Mater.*, **1995**, *7*, p. 920.
- [14] Ocampo F., Yun H., Pereira M.M., Tessonnier J.P., Louis B., *Cryst. Growth & Des.*, **2009**, *9*, p. 3721.
- [15] Ivanova S., Louis B., Ledoux M.J., Pham-Huu C., *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, p. 3383.
- [16] Ivanova S., Louis B., Madani B., Tessonnier J.P., Ledoux M.J., Pham-Huu C., *J. Phys. Chem. C*, **2007**, *111*, p. 4368.
- [17] Valtchev V., Smaïhi M., Faust A.C., Vidal L., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2003**, *42*, p. 2782.
- [18] Mintova S., Olson N.H., Valtchev V., Bein T., *Science*, **1999**, *283*, p. 958.
- [19] Louis B., Ocampo F., Yun H.S., Tessonnier J.P., Pereira M.M., *Chem. Eng. J.*, **2010**, *161*, p. 397.
- [20] Louis B., Walspurger S., Sommer J., *Catal. Lett.*, **2004**, *93*, p. 81.
- [21] Walspurger S., Louis B., *Appl. Catal. A*, **2008**, *336*, p. 109.
- [22] Tessonnier J.P., Louis B., Walspurger S., Sommer J., Ledoux M.J., Pham-Huu C., *J. Phys. Chem. B*, **2006**, *110*, p. 10390.
- [23] Maia A.J., Louis B., Lam Y.L., Pereira M.M., *J. Catal.*, **2010**, *269*, p. 103.



G. Laugel



S. Walspurger



B. Louis

Guillaume Laugel

est chercheur post-doctorant à la Technische Universität de Berlin, Institut für Chemie, Berlin (Allemagne)¹.

Stéphane Walspurger

est chef de projet à l'Energy Research Centre of the Netherlands (ECN, Pays-Bas), Unité « Production d'hydrogène et combustibles fossiles propres »².

Benoît Louis (auteur correspondant)

est chargé de recherche CNRS au Laboratoire des Matériaux Surfaces et Procédés pour la Catalyse (LMSPC), UMR 7515 CNRS, Université de Strasbourg³. Ses travaux lui ont valu l'attribution de la **Médaille de bronze du CNRS en 2009**.

¹ Technische Universität de Berlin, Institut für Chemie, Strasse des 17 Juni, 124, D-10623 Berlin (Allemagne).

² Energy Research Centre of the Netherlands, Unité « Production d'hydrogène et combustibles fossiles propres », Westerduinweg 3, NL-1755 ZG Petten (Pays-Bas).
Courriel : walspurger@ecn.nl

³ LMSPC, UMR 7515 CNRS, Université de Strasbourg, 25 rue Becquerel, F-67087 Strasbourg Cedex 2.
Courriel : blouis@unistra.fr



ÉCOLE EUROPÉENNE DE CHIMIE, POLYMÈRES ET MATÉRIAUX
ÉCOLE NATIONALE SUPÉRIEURE D'INGÉNIEURS
STRASBOURG



une carrière internationale

Préparez
votre avenir

Intégrez l'Ecole européenne de Chimie,
Polymères et Matériaux de Strasbourg

Ecole Nationale Supérieure d'Ingénieurs

25 rue Becquerel
67087 Strasbourg cedex 2
03 68 85 26 07 - scolarite@ecpm.u-strasbg.fr

www-ecpm.u-strasbg.fr

COURS DE LANGUES INTENSIFS

CURSUS FRANCO-ALLEMAND

STAGE À L'ÉTRANGER

3 filières
3 langues

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

Transfert d'énergie de Förster sur molécules uniques

Applications en biologie

Emmanuel Margeat

Résumé L'observation de molécules uniques permet aux biologistes d'obtenir des informations mécanistiques sur les biomolécules qui sont inaccessibles par les techniques d'observation classiques, lesquelles s'effectuent sur un ensemble de molécules souvent hétérogène, dynamique et asynchrone. Le transfert d'énergie d'excitation électronique de Förster (FRET) sur molécules uniques permet la mesure de la distance entre deux fluorophores et de tout changement de distance entre eux, par des mesures en temps réel. Ces dix dernières années, cette technique a permis d'apporter une meilleure compréhension de l'activité mécano-chimique de machines biomoléculaires telles que celles impliquées dans la réplication, la translocation, la transcription de l'ADN ou la synthèse des protéines (traduction). Les principes théoriques, les aspects pratiques et quelques applications en biologie du FRET sur molécules uniques sont présentés dans cet article.

Mots-clés Fluorescence, molécules uniques, protéine, ADN, FRET.

Abstract Förster resonance energy transfer on single molecules: biological applications

Single molecule observations allow the biologists to obtain mechanistic informations on biological molecules, otherwise inaccessible by classical methods, which rely on the observation of a heterogeneous ensemble of dynamic and unsynchronized molecules. Förster resonance energy transfer (FRET) on single molecules allows the measurement of the distance and distance changes between two fluorophores, in real time. This technique has allowed in the past ten years a better understanding of the mecanochemistry of some molecular motors, such as those implicated for example in DNA replication, translocation or transcription, or protein synthesis (translation). This paper covers the theory and practical aspects of single molecule FRET, and reviews some biological applications.

Keywords Fluorescence, single molecules, protein, DNA, FRET.

Les réactions biologiques qui régissent le vivant, telles que la réplication, la transcription ou la traduction de l'ADN en protéine, sont souvent d'une grande complexité. Afin de comprendre leur fonctionnement au niveau moléculaire, les techniques d'observation de molécules uniques se sont imposées ces dernières années comme des outils de choix. En effet, elles permettent l'observation directe, en temps réel, de réactions catalytiques très difficiles à synchroniser pour une étude classique. De plus, les études sur molécules uniques permettent de mettre en évidence l'hétérogénéité en termes de composition ou d'activité de ces complexes biomacromoléculaires. L'enregistrement de courants sur canaux ioniques, la nanomanipulation par pinces optiques ou magnétiques, l'imagerie par microscopie à force atomique ou la détection de fluorophores uniques sont des exemples de techniques permettant l'observation de molécules uniques et de leur activité [1]. Le transfert d'énergie d'excitation électronique de Förster (FRET) [2] est une technique spectroscopique permettant la mesure de la distance entre deux fluorophores sur une échelle allant de 2 à 11 nm, avec une précision de quelques angströms. Elle est donc particulièrement bien adaptée à l'étude des macromolécules biologiques, de par la gamme de distances couverte (la double hélice d'ADN fait 2 nm de diamètre environ, une protéine globulaire de 100 kDa a un rayon hydrodynamique de 3,5 nm). Aujourd'hui, l'amélioration des

techniques optiques et optoélectroniques (lasers, détecteurs, filtres...) rend possible la mesure du FRET sur un couple de fluorophores uniques.

Dans cet article, le principe, les avantages et limitations du FRET, ainsi que les techniques de microscopie à mettre en œuvre pour le mesurer sur des couples de fluorophores uniques seront tout d'abord exposés. Les approches permettant le marquage spécifique et l'immobilisation des macromolécules biologiques seront également décrites. Pour terminer, nous verrons quelques applications du FRET à l'étude du mécanisme d'action de nanomachines biomoléculaires : l'ARN polymérase et les hélicases.

Le mécanisme du transfert d'énergie de Förster

Théorie

Le transfert d'énergie entre deux fluorophores peut se produire de façon radiative via l'émission d'un photon par le donneur (D) et son absorption par l'accepteur (A), ou de façon non radiative. Dans ce dernier cas, deux processus d'échange différents peuvent être mis en jeu : un mécanisme d'échange d'électrons (mécanisme de Dexter), ou une interaction dipôle-dipôle (mécanisme de Förster) [3]. Le

mécanisme de Dexter implique un recouvrement des orbitales moléculaires des deux fluorophores, son efficacité décroît de façon exponentielle avec la distance D-A ; il est donc limité aux distances très courtes (< 1-2 nm). Le mécanisme de Förster dépend du recouvrement spectral entre les deux fluorophores. De par sa nature (interaction dipôle-dipôle), l'efficacité de transfert (E) est liée à la distance interfluorophore R par la relation :

$$E = \frac{R_0^6}{R_0^6 + R^6} \quad (1)$$

où R_0 , le « rayon de Förster », est la distance caractéristique pour deux fluorophores donnés dans un environnement donné, pour laquelle la probabilité de transfert d'énergie est égale à 50 % ($E = 0,5$). Cette distance R_0 dépend du rendement quantique du donneur en absence d'accepteur Φ_D , de l'indice de réfraction n du milieu interfluorophores (que l'on estime à $n \sim 1,4$ pour les macromolécules biologiques), de l'intégrale de recouvrement J entre les spectres d'émission du donneur et d'absorption de l'accepteur (exprimée en $M^{-1} \cdot cm^3$), et du facteur d'orientation κ^2 (voir ci-après) :

$$R_0 = 978 \cdot \sqrt[6]{\Phi_D \cdot \kappa^2 \cdot n^{-4} \cdot J} \quad (\text{en nm}) \quad (2)$$

Pour les couples de fluorophores utilisés classiquement dans les expériences de FRET sur molécules uniques, les valeurs de R_0 sont généralement comprises entre 3 et 7 nm. Il en résulte une gamme de distances mesurables (donnant lieu à une probabilité de transfert d'énergie allant de 5 à 95 %) comprise entre 2 et 11 nm environ (voir figure 1).

Mesure de l'efficacité du transfert de Förster

L'efficacité du transfert est définie par le nombre de quanta transférés à l'accepteur divisé par le nombre de quanta absorbés par le donneur [4]. Elle peut s'écrire sous la forme d'un rapport de constantes cinétiques (figure 2) :

$$E = \frac{k_{FRET}}{k_r + k_{nr} + k_{FRET}} \quad (3)$$

où k_{FRET} , k_r et k_{nr} sont, vis-à-vis du donneur, les constantes de vitesse des phénomènes de FRET, de désexcitation radiative (fluorescence) et de désexcitation non radiative, respectivement.

La durée de vie dans l'état excité du donneur est définie par $\tau_D = (k_r + k_{nr})^{-1}$ en absence d'accepteur (et donc de FRET), et par $\tau_{DA} = (k_r + k_{nr} + k_{FRET})^{-1}$ en présence d'accepteur. On peut donc réécrire l'équation 3 et déterminer l'efficacité de FRET en mesurant les durées de vie dans l'état excité du donneur en absence (τ_D) et en présence (τ_{DA}) d'accepteur :

$$E = 1 - \frac{\tau_{DA}}{\tau_D} \quad (4)$$

Par définition, il est également possible de déterminer l'efficacité du FRET si l'on connaît le nombre de photons émis par le donneur et l'accepteur (notés F_D et F_A , respectivement) et leurs rendements quantiques ($\Phi = k_r / (k_r + k_{nr})$) :

$$E = \frac{\frac{F_A}{\Phi_A}}{\frac{F_D}{\Phi_D} + \frac{F_A}{\Phi_A}} \quad (5)$$

En pratique, il est impossible de connaître le nombre de photons réellement émis par chaque fluorophore. La seule mesure accessible, pour chaque fluorophore, est le nombre

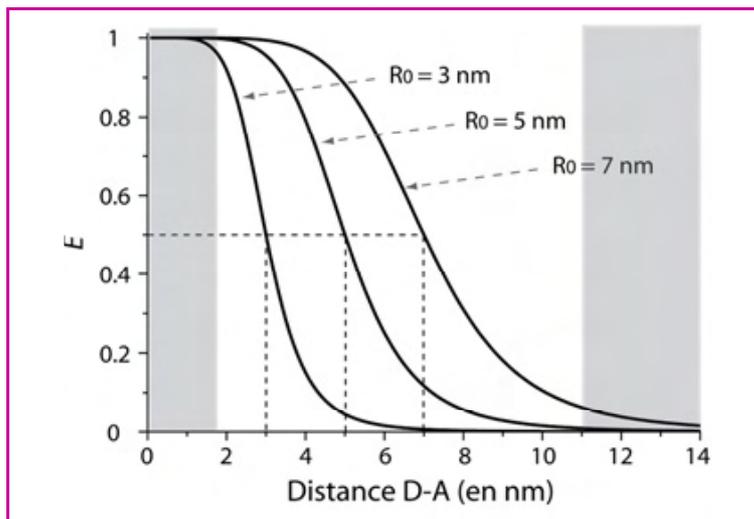


Figure 1 - Efficacité du transfert d'énergie E en fonction de la distance donneur-accepteur (D-A). L'efficacité du FRET est ici représentée pour trois valeurs de R_0 , le « rayon de Förster » (3, 5 et 7 nm).

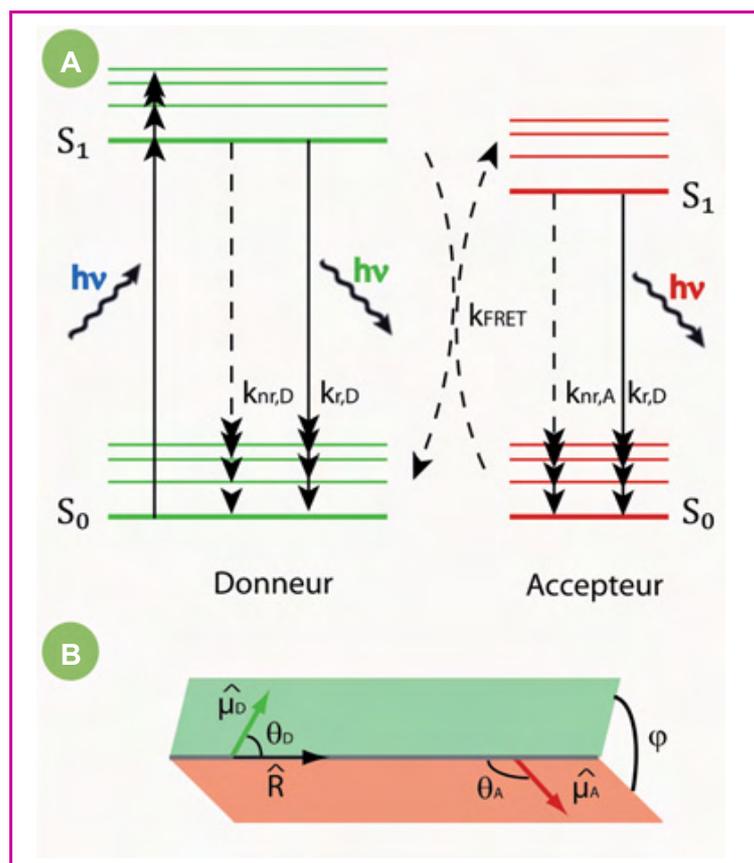


Figure 2 - A : Diagramme de Jablonski simplifié représentant le phénomène de FRET.

Après absorption d'un photon (hv, bleu) et relaxation vibrationnelle, le donneur peut se désexciter par des processus radiatifs (fluorescence, k_r , hv, vert) ou non radiatif (k_{nr}). Si l'accepteur est à proximité et que les conditions de transfert d'énergie sont remplies (voir texte), la désexcitation du donneur est couplée à l'excitation de l'accepteur (interaction dipôle-dipôle), lequel pourra à son tour se désexciter par fluorescence (hv, rouge) ou non radiativement.

B : Représentation de l'orientation relative des moments dipolaires des deux fluorophores, permettant le calcul du facteur d'orientation κ^2 (voir texte).

de photons détectés F , égal au nombre de photons émis multiplié par l'efficacité de détection notée δ . L'équation 5 peut alors être réécrite sous la forme :

$$E = \frac{F_A}{F_A + \gamma \cdot F_D} \quad (6)$$

où le rapport $\gamma = \frac{\Phi_A \cdot \delta_A}{\Phi_D \cdot \delta_D}$ qui intègre les rendements

quantiques et les efficacités de détection peut être déterminé expérimentalement (voir ci-après).

L'influence du facteur d'orientation κ^2

L'efficacité du transfert d'énergie de Förster dépend de l'orientation relative des moments dipolaires de transition du donneur et de l'accepteur, définie par le facteur d'orientation κ^2 (figure 2B) :

$$\kappa^2 = (\sin\theta_D \sin\theta_A \cos\varphi - 2\cos\theta_D \cos\theta_A)^2 \quad (7)$$

avec $0 \leq \kappa^2 \leq 4$ ($\kappa^2 = 0$ pour des dipôles statiques et perpendiculaires entre eux et au vecteur R, auquel cas il ne peut y avoir de transfert d'énergie, et $\kappa^2 = 4$ pour des dipôles statiques et colinéaires). Il est généralement impossible de déterminer cette valeur expérimentalement. Cependant, si la diffusion rotationnelle des fluorophores n'est pas contrainte et est plus rapide que la durée de vie du donneur (quelques nanosecondes), les moments dipolaires peuvent prendre toutes les orientations relatives possibles durant le processus de transfert d'énergie et le facteur κ^2 prend alors une valeur moyenne égale à 2/3. Afin de satisfaire ces conditions, les fluorophores sont généralement attachés aux molécules d'intérêt via une chaîne carbonée, suffisamment longue pour permettre une bonne mobilité rotationnelle. La valeur $\kappa^2 = 2/3$ est généralement utilisée pour le calcul de R_0 , cette approximation étant suffisante lorsque l'on ne souhaite pas mesurer des distances de façon absolue. Dans le cas contraire, il convient de vérifier la bonne mobilité rotationnelle des fluorophores par une mesure d'anisotropie de fluorescence, de préférence résolue en temps.

Stratégies de marquage spécifique

Pour les expériences de FRET, il est crucial que chaque complexe biomacromoléculaire soit marqué par un couple de fluorophores de façon stœchiométrique et dans une position bien définie. Un rendement de marquage de 100 % est souhaitable, mais pas nécessaire, notamment lors de l'étude de molécules uniques, où les complexes mono ou non marqués peuvent être écartés. En revanche, la spécificité du positionnement du fluorophore ne tolère pas de compromis. Plusieurs stratégies ont été développées dans ce but pour le marquage des protéines. Certaines de ces approches sont également applicables au marquage site-spécifique des acides nucléiques.

Marquage N-terminal des protéines

L'amine terminale de la chaîne polypeptidique des protéines, ainsi que les chaînes latérales des résidus lysines, peuvent être marquées par des fluorophores activés, sous la forme d'isothiocyanates ou d'ester de succinimide par exemple. De nombreux fluorophores sont disponibles commercialement sous cette dernière forme. Le résultat de la réaction entre l'ester de succinimide et les amines est une liaison amide (figure 3A). Il est possible d'augmenter la

spécificité du marquage sur l'amine terminale de la chaîne polypeptidique en réalisant la réaction à pH neutre, pH auquel les lysines seront protonées et donc moins réactives. Il s'agit de la stratégie de marquage la plus utilisée, hors expériences de FRET, malgré sa spécificité qui reste limitée.

Marquage C-terminal des protéines

Le marquage spécifique carboxy-terminal des protéines ne peut pas être réalisé directement par voie chimique, du fait de la réactivité des acides carboxyliques des chaînes latérales de tous les résidus acides. Une stratégie reposant sur l'activité catalytique de protéines appelées intéines a été mise au point pour palier ce problème [5]. Les intéines sont capables d'auto-épissage, c'est-à-dire de catalyser la formation de la liaison entre deux fragments protéiques (extéines 1 et 2) situés en position N et C terminale de l'intéine. Ce mécanisme peut être détourné pour lier un fluorophore couplé à une cystéine (jouant le rôle de l'extéine 2) à la protéine d'intérêt (extéine 1), produite en fusion avec une intéine en extrémité C terminale (figure 3B). La réaction consiste en la formation d'un thioester en C-terminal de l'extéine 1 (réaction favorisée par l'intéine), suivie d'une attaque nucléophile sur celui-ci par le groupement thiol du cystéine-fluorophore (extéine 2). La nouvelle liaison thioester ainsi formée se réarrange spontanément en liaison peptidique entre l'extéine 1 et l'extéine 2, c'est-à-dire la protéine d'intérêt et le fluorophore. Cette approche permet de marquer très spécifiquement l'extrémité C-terminale des protéines. En revanche, il est nécessaire de réaliser au préalable la synthèse du fluorophore couplé à la cystéine, non disponible commercialement.

Une approche alternative, réservée aux protéines synthétisées par une approche de transcription/traduction *in vitro*, consiste en l'introduction en cours de synthèse de puromycine couplée à un fluorophore (composé non commercial) [6]. Celui-ci est incorporé spécifiquement par le ribosome chargé de la traduction de la protéine en position C-terminale de la chaîne polypeptidique.

Marquage interne des protéines : résidus cystéines

Le groupement thiol des résidus cystéine peut être fonctionnalisé spécifiquement par un fluorophore activé sous forme maléimide (figure 3C), entraînant la formation d'un thioéther. Il est nécessaire de s'assurer que la protéine à marquer ne possède qu'un seul résidu cystéine accessible (c'est-à-dire en surface de la protéine, et non engagé dans un pont disulfure). Dans le cas contraire, il est nécessaire de modifier la protéine par mutagenèse dirigée afin de ne conserver qu'une seule cystéine réactive. Si la protéine ne possède aucune cystéine réactive, il est également possible d'en introduire une. Il conviendra par ailleurs de s'assurer que ces modifications ne perturbent pas la structure tridimensionnelle de la protéine. Il s'agit de la stratégie de marquage spécifique la plus couramment utilisée.

Marquage interne des protéines : acides aminés non naturels

La stratégie la plus versatile en termes de spécificité de marquage, mais également la plus fastidieuse à mettre en œuvre, est l'incorporation directe d'un acide aminé non naturel en cours de traduction. Il pourra s'agir d'un acide

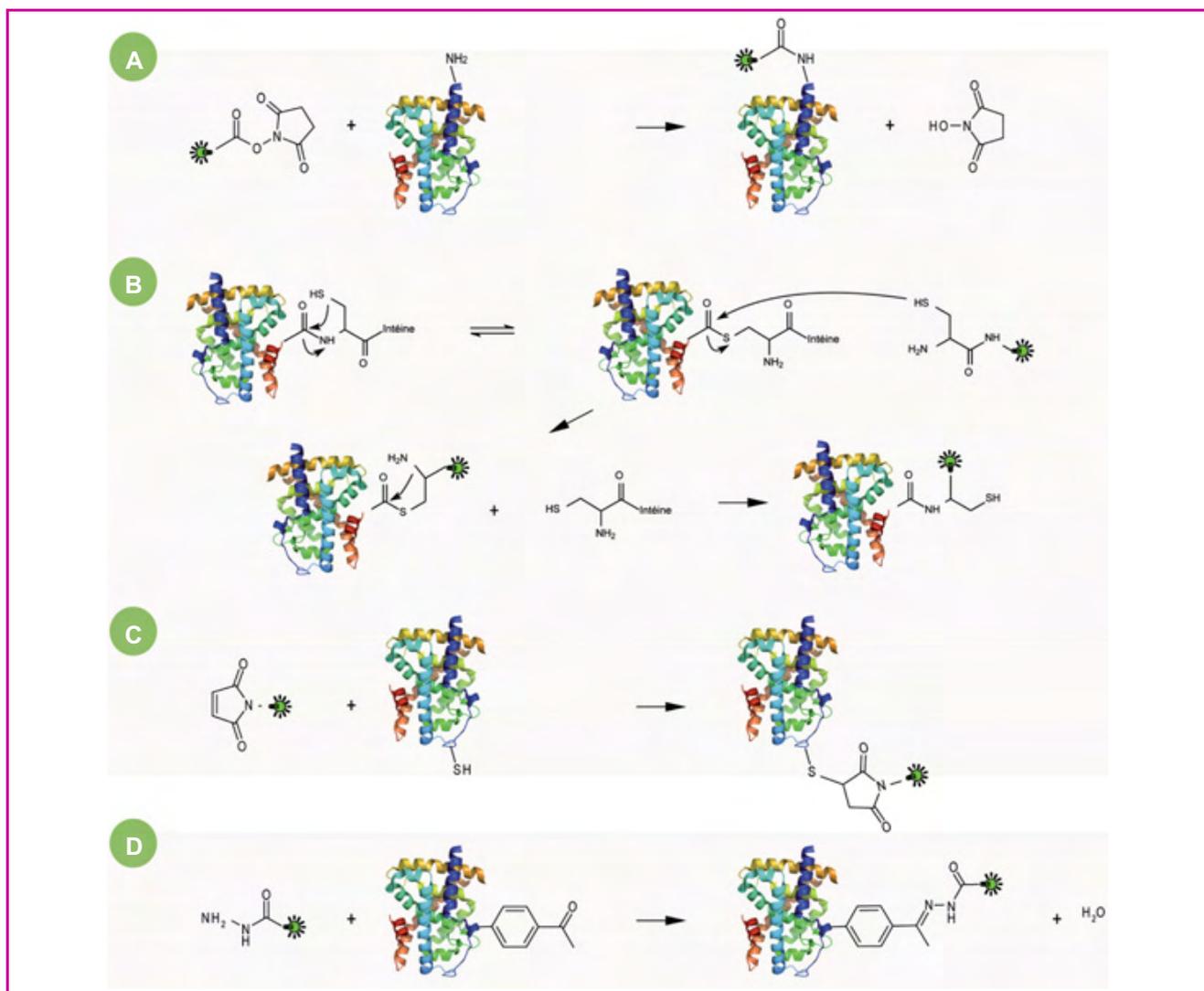


Figure 3 - Exemples de stratégies de marquage site-spécifique des protéines.

A : Marquage des amines et du N-terminal des protéines par un fluorophore activé par un ester de succinimide ; B : Marquage du C-terminal des protéines par un fluorophore couplé à la cystéine via une réaction autocatalytique médiée par l'intéine ; C : Marquage des cystéines par un fluorophore activé par un groupement maléimide ; D : Marquage d'un acide aminé non naturel (p-acétyl-L-phénylalanine) par un fluorophore couplé à un hydrazide.

aminé fluorescent, ou d'un résidu p-acétyl-L-phénylalanine qui sera marqué par un fluorophore activé sous forme hydrazide (disponible commercialement) (figure 3D). Ces résidus non naturels peuvent être incorporés grâce à un ARN de transfert suppresseur, reconnaissant le codon *Ambre* (UAG), ou le codon à quatre bases CGGG, qui doit être introduit par mutagenèse dirigée dans le gène codant pour la protéine. Des kits commerciaux d'incorporation comprenant l'ARN de transfert lié à la p-acétyl-L-phénylalanine sont disponibles pour la transcription/traduction *in vitro*. Par ailleurs, cette approche a été mise au point sur système d'expression bactérien [7].

Marquage des acides nucléiques

La synthèse chimique d'acides nucléiques (ARN ou ADN) d'une longueur de plusieurs dizaines de bases est aujourd'hui bien maîtrisée. Ce service est proposé par de nombreuses compagnies, à un coût dérisoire en ce qui concerne l'ADN. Il est possible d'incorporer certains fluorophores (fluorescéine, Cy3, Cy5), sous forme de phosphoramidite, directement en cours de synthèse. Tout autre fluorophore, sous forme

d'ester de succinimide, peut également être conjugué à un oligonucléotide dans lequel une amine réactive a été introduite (généralement en 5' de l'oligonucléotide, ou en remplaçant une thymidine par une C6-amino-thymidine en milieu de séquence). La réaction entre un fluorophore activé par un maléimide et un thiol introduit en cours de synthèse de l'oligonucléotide reste également possible, même si cette méthode est moins fréquemment utilisée [8].

FRET sur molécules uniques en diffusion

Principe

La première observation de FRET sur molécules uniques en solution a été réalisée sur un microscope en configuration confocale [9]. Cette approche est toujours utilisée à l'heure actuelle, mais il faut cependant noter que les optiques et les détecteurs de la plupart des microscopes confocaux commerciaux ne sont pas optimisés pour ce type d'application et qu'il est préférable de concevoir un microscope à façon

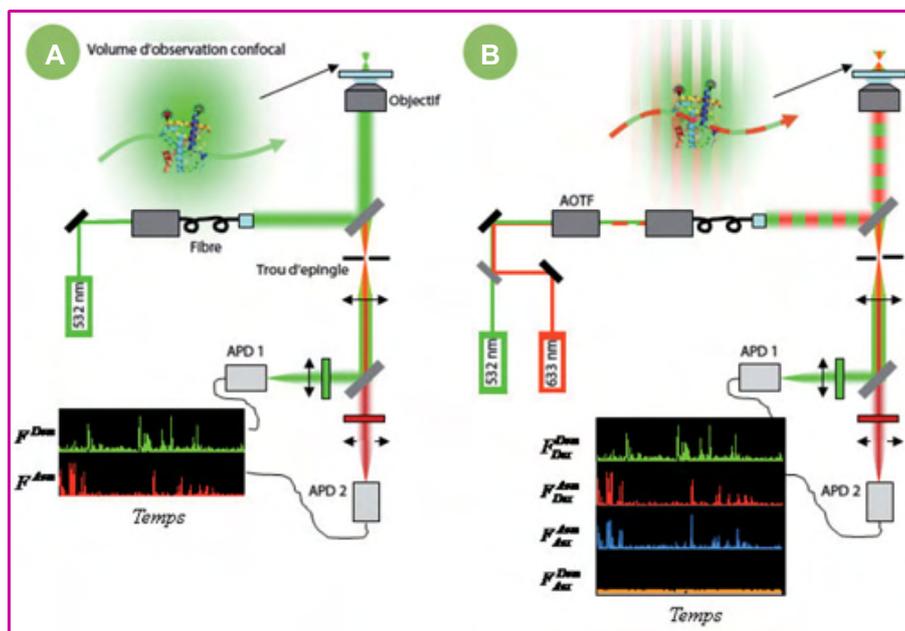


Figure 4 - Montages de type « confocal » permettant l'observation de molécules uniques diffusant en solution.

A) Approche classique : le laser (ici à 532 nm) chargé d'exciter est couplé dans une fibre optique monomode. En sortie, la lumière d'excitation est réfléchiée par un miroir dichroïque et couplée dans un objectif. Les photons émis par les fluorophores traversant le faisceau d'excitation sont récoltés par le même objectif et traversent le miroir dichroïque. Seuls les photons provenant du plan focal traversent le trou d'épingle (montage confocal), ce qui permet de restreindre le volume de détection au point focal, dont la taille est limitée par la diffraction (typiquement volume d'un femtolitre). Les photons sont séparés spectralement par un miroir dichroïque et détectés sur des photodiodes à avalanche (APD).

B) Approche ALEX (excitation alternée) : ici, un second laser (633 nm), chargé de l'excitation directe de l'accepteur, est couplé dans la fibre, après passage au travers d'un filtre acousto-optique (AOTF) qui permet d'alterner entre les deux lasers avec une période de quelques microsecondes. Il en résulte que les photons détectés sont classés en quatre flux, pour chaque détecteur et chaque laser allumés au moment de leur émission.

(figure 4A). Un laser collimaté excitant le donneur est couplé dans une fibre optique monomode. En sortie, la lumière d'excitation est réfléchiée par un miroir dichroïque et couplée dans un objectif à grande ouverture numérique (typiquement $ON > 1,2$). Le faisceau d'excitation est focalisé dans l'échantillon, et les photons émis par les fluorophores traversant celui-ci sont récoltés par le même objectif et traversent le miroir dichroïque. Seuls les photons provenant du plan focal traversent un trou d'épingle (montage confocal), ce qui permet de restreindre le volume de détection au point focal, dont la taille est limitée par la diffraction. Les photons correspondant essentiellement à ceux émis par le donneur et l'accepteur sont séparés spectralement par un miroir dichroïque, et focalisés et détectés sur des modules de comptage de photons uniques (photodiode à avalanche, APD). Ce système optique confocal permet d'obtenir un volume d'observation de taille limitée par la diffraction, c'est-à-dire typiquement inférieur à 1 femtolitre. Ainsi, pour une solution de concentration inférieure au nanomolaire, le nombre moyen de molécules présentes dans le volume de détection est inférieur à 1. Dans ces conditions, lorsqu'une molécule diffuse dans le volume de détection, un flux de photons généré par l'excitation du donneur va être détecté (figure 4A).

Détermination du FRET à partir des intensités

Il est possible d'intégrer ce flux de photons sur la durée de présence de la molécule dans le volume confocal, et ainsi, après soustraction d'un bruit de fond considéré comme

constant au cours du temps, d'obtenir pour chaque molécule le nombre de photons émis dans le canal du donneur F^{Dem} et dans celui de l'accepteur F^{Aem} . Ceux-ci seront utilisés pour calculer l'efficacité apparente du FRET pour chaque molécule [9] :

$$E_{app} = \frac{(F^{Aem} - LF^{Dem})}{(F^{Aem} - LF^{Dem}) + \gamma F^{Dem}} \quad (8)$$

où γ est le facteur de correction empirique défini pour l'équation 6, et L représente une fraction de F^{Dem} , correspondant aux photons émis par le donneur et détectés dans le canal de l'accepteur [10].

Les données sont généralement représentées sous la forme d'un histogramme (nombre de molécules vs E_{app}), ce qui permet de visualiser la présence d'une ou plusieurs populations (figure 5A). Pour chacune d'elles, l'histogramme est ajusté par une courbe gaussienne, dont le centre représente l'efficacité moyenne de FRET pour cette population (fonction entre autres de $1/R^6$), et dont la largeur peut être représentative de la dynamique conformationnelle de la molécule et/ou de phénomènes photophysiques des fluorophores (clignotement, photoblanchiment, sauts spectraux, etc.). Sur la figure 5A est représenté un histogramme typique obtenu pour une construction doublement marquée (ici un fragment d'ADN), où les deux fluorophores sont situés à une distance telle que l'efficacité du FRET $E_{app} \sim 1$. On remarque cependant la présence d'une autre population à

$E_{app} \sim 0$, qui peut correspondre à des complexes dans lesquels la distance donneur-accepteur est grande (pas de transfert d'énergie possible), ou à des complexes marqués seulement par le donneur, ou encore à des complexes dans lesquels l'accepteur est dans un état photophysique inactif.

FRET sur molécules uniques en diffusion avec excitation alternée (ALEX)

Afin de lever l'ambiguïté concernant la nature de la population à $E_{app} \sim 0$, nous avons mis au point une technique appelée ALEX (« alternating laser excitation ») [11]. Le principe est le suivant : un second laser, chargé d'exciter sélectivement l'accepteur, est couplé avec le laser excitant le donneur (figure 4B). Grâce à l'utilisation d'un filtre acousto-optique (AOTF) ou de modulateurs électro-optiques, les deux lasers sont allumés alternativement, sur une échelle de temps plus rapide que la diffusion des molécules d'intérêt dans le volume confocal (typiquement $50 \mu s/laser$). Les photons détectés sont ensuite classés en quatre flux de photons (F_{Dex}^{Dem} , F_{Dex}^{Aem} , F_{Aex}^{Dem} et F_{Aex}^{Aem}), suivant le laser utilisé à l'instant de l'excitation (indiqué en indice) et le canal dans lequel ils sont détectés (indiqué en exposant). Les deux premiers (F_{Dex}^{Dem} , F_{Dex}^{Aem}) servent à calculer l'efficacité de FRET pour chaque molécule (équation 8). F_{Aex}^{Dem} n'est pas utilisé car il est égal à zéro (il n'y a pas de photons détectés dans le canal « donneur » lorsque l'on excite l'accepteur). Enfin, F_{Aex}^{Aem} représente la fluorescence de l'accepteur lorsque celui-ci est excité directement, ce qui permet de sonder sa présence et son état photophysique,

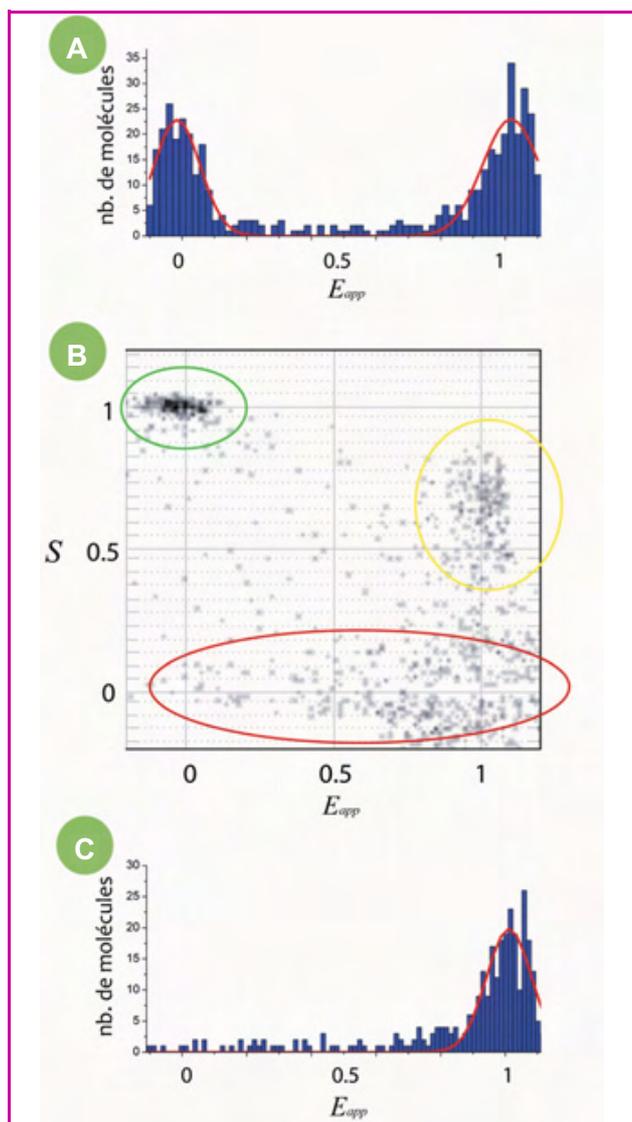


Figure 5 - Traitement des données de FRET sur molécules uniques diffusant.

A : Histogramme obtenu pour une construction doublement marquée (un fragment d'ADN), pour deux fluorophores situés à une distance telle que $E_{app} \sim 1$. On remarque la présence de deux populations, l'une à $E_{app} \sim 1$, ce qui correspond à la valeur attendue, et l'autre à $E_{app} \sim 0$ (voir texte). B : Histogramme bidimensionnel ($E_{app} - S$) obtenu à partir de l'échantillon de la figure 5A. La population à $S \sim 1$ et $E_{app} \sim 0$ (ellipse verte) correspond aux complexes marqués uniquement par le donneur. La population à $S \sim 0$ (ellipse rouge) correspond à des complexes marqués uniquement par l'accepteur ou dont le donneur est dans un état non émissif. La population à $S \sim 0,55$ correspond aux complexes donneur-accepteur. C : Histogramme de E_{app} limité aux complexes donneur-accepteur ($0,3 < S < 0,8$). Ceux-ci présentent l'efficacité de FRET $E_{app} \sim 1$ attendue, ce qui permet de montrer que la population à $E_{app} \sim 0$ de la figure 5A correspond à des complexes sans accepteurs.

indépendamment du phénomène de FRET. Pour chaque molécule, on définit le rapport S [11] :

$$S = \frac{F_{Dex}}{F_{Dex} + F_{Aex}} = \frac{(F_{Dex}^{Dem} + F_{Dex}^{Aem})}{(F_{Dex}^{Dem} + F_{Dex}^{Aem}) + F_{Aex}^{Aem}} \quad (9)$$

La valeur de ce rapport dépendra de la stœchiométrie de chaque complexe : si le donneur est seul, $S \sim 1$ (car $F_{Aex} \sim 0$) ; si l'accepteur est seul, $S \sim 0$ (car $F_{Dex} \sim 0$) ; pour un complexe donneur accepteur, S dépendra de l'intensité relative des deux lasers et prendra la valeur $S \sim 0,5$ pour un

rapport d'intensités tel que $F_{Dex} \sim F_{Aex}$. Chaque molécule est ensuite placée sur un histogramme bidimensionnel ($E_{app} - S$). Ainsi, l'histogramme de la figure 5B, obtenu à partir du même échantillon que celui de la figure 5A, met en évidence trois populations :

- une population à $S \sim 1$ et $E_{app} \sim 0$ (ellipse verte), correspondant donc à des complexes marqués uniquement par le donneur, ou dont l'accepteur est dans un état non émissif lorsqu'il est excité directement (photoblanchiment ou clignotement) ;
- une population à $S \sim 0$ (ellipse rouge), correspondant à des complexes marqués uniquement par l'accepteur, ou dont le donneur est dans un état non émissif ;
- une population à $S \sim 0,55$ (ellipse jaune), correspondant aux complexes D-A, avec l'efficacité de FRET $E_{app} \sim 1$ attendue.

On remarque qu'il n'y a pas d'autre population ayant une valeur S autour de 0,5. Ainsi cette technique permet de lever l'ambiguïté sur les populations $E_{app} \sim 0$ (presque toujours présentes sur les expériences de FRET simple excitation) et a permis de mettre en évidence pour les données de la figure 5A que la population à $E_{app} \sim 0$ correspond à des complexes sans accepteurs. Ceci peut également être illustré par un graphe où seuls les complexes D-A ($0,3 < S < 0,8$) sont représentés (figure 5C).

Outre cette possibilité d'analyser séparément les complexes D-A des molécules contenant un donneur seul ou un accepteur seul et de quantifier chacune de ces populations, la technique d'ALEX-FRET présente de nombreux autres avantages [11] :

- 1. Possibilité de mesurer des efficacités de FRET pour des distances telles que $E < 0,2$, grâce à l'élimination de la population correspondant au donneur seul ($E_{app} \sim 0$) [11].
- 2. Extension possible à une troisième couleur, permettant ainsi de mesurer simultanément trois distances sur chaque molécule [12].
- 3. Possibilité de calculer directement à partir des histogrammes 2D la valeur des coefficients L et γ , ainsi que du coefficient d qui représente la fraction des photons émis par l'accepteur du fait de son excitation directe par le laser

excitant le donneur (défini par $d = \frac{F_{Dex}^{Aem}}{F_{Aex}^{Aem}}$ pour la population

de molécules contenant seulement un accepteur ($S \sim 0$) (pour les détails, voir [10]).

Ainsi, connaissant tous ces facteurs correctifs, il devient possible de calculer la véritable efficacité de FRET E (et non plus une efficacité apparente E_{app}) :

$$E = \frac{F_{FRET}}{F_{FRET} + \gamma F_{Dex}^{Dem}} \quad (10)$$

avec $F_{FRET} = F_{Dex}^{Aem} - L \cdot F_{Dex}^{Dem} - d \cdot F_{Aex}^{Aem}$. La connaissance de E et de R_0 permet de calculer la distance D-A avec une précision inférieure à 0,5 nm [10].

Détermination du FRET à partir des durées de vie

L'efficacité de FRET peut également être déterminée directement à partir de la mesure de durée de vie de l'état excité du donneur en présence et en absence d'accepteur (équation 4). Cette technique présente l'avantage de ne pas nécessiter de facteurs de correction et peut permettre de

détecter des changements conformationnels rapides, à l'échelle de la nanoseconde [13]. Lorsqu'elle est couplée à une mesure d'anisotropie résolue en temps (en polarisant linéairement l'excitation et en utilisant un détecteur pour la polarisation horizontale et un pour la polarisation verticale), elle permet également de mesurer la vitesse de réorientation de chaque fluorophore et de vérifier ainsi la validité de l'approximation $\kappa^2 = 2/3$. L'inconvénient principal de cette approche est qu'elle nécessite un équipement coûteux, tant au niveau de l'excitation (laser pulsé picoseconde) que de la détection (carte de comptage de photons avec résolution picoseconde).

FRET sur molécules uniques immobilisées

Stratégies d'immobilisation

L'analyse des molécules en diffusion permet de distinguer et de quantifier des sous-populations et de suivre leur évolution au cours du temps si le système évolue très lentement – chaque mesure prenant quelques minutes, temps nécessaire à la détection de plusieurs centaines de molécules afin d'obtenir un échantillonnage des populations statistiquement significatif. Par contre, si l'on veut observer des changements conformationnels plus rapides (de l'ordre de la milliseconde à la seconde), il est nécessaire d'immobiliser les molécules sur une surface afin de récolter le signal de fluorescence provenant de chacune d'elle sur une longue durée.

Diverses stratégies ont été développées pour permettre l'immobilisation spécifique des biomolécules tout en conservant leur structure et leur activité. Les plus couramment utilisées sont schématisées sur la figure 6. Le principe général consiste tout d'abord à passiver la surface de verre, afin de minimiser l'adsorption non spécifique des molécules d'intérêt, puis à greffer un composé permettant leur fixation spécifique. La passivation peut être réalisée au moyen d'un excès de protéine (albumine (BSA), figure 6A). Un polymère hydrophile (polyéthylène glycol, PEG) peut également être greffé covalentement sous forme d'ester de succinimide, après aminosilanisation du support [14]. Le PEG pourra être linéaire (figure 6B, gauche) ou branché (figure 6B, droite), ce qui augmente l'efficacité de la passivation [15]. La fixation spécifique de la biomolécule se fait le plus souvent par interaction biotine/streptavidine/biotine : la molécule d'intérêt et la molécule ayant servi à la passivation doivent être dans ce cas biotinylées au préalable (ce qui est réalisé par des stratégies identiques à celles utilisées pour le marquage par des fluorophores). Une approche alternative consiste en l'utilisation d'un PEG modifié par un groupement tris-(acide nitrilotriacétique) (NTA) qui permet de fixer via la complexation d'un ion Cu^{2+} ou Ni^{2+} la protéine d'intérêt, marquée par une étiquette à six histidines (figure 6C) [16].

Observation de molécules uniques par microscopie en réflexion totale interne

La première observation du phénomène de FRET sur molécules uniques a été réalisée en 1996 dans le laboratoire de Shimon Weiss à Berkeley, grâce à un microscope optique à balayage en champ proche [17]. Aujourd'hui, ce type d'observation sur molécules immobilisées peut se faire en

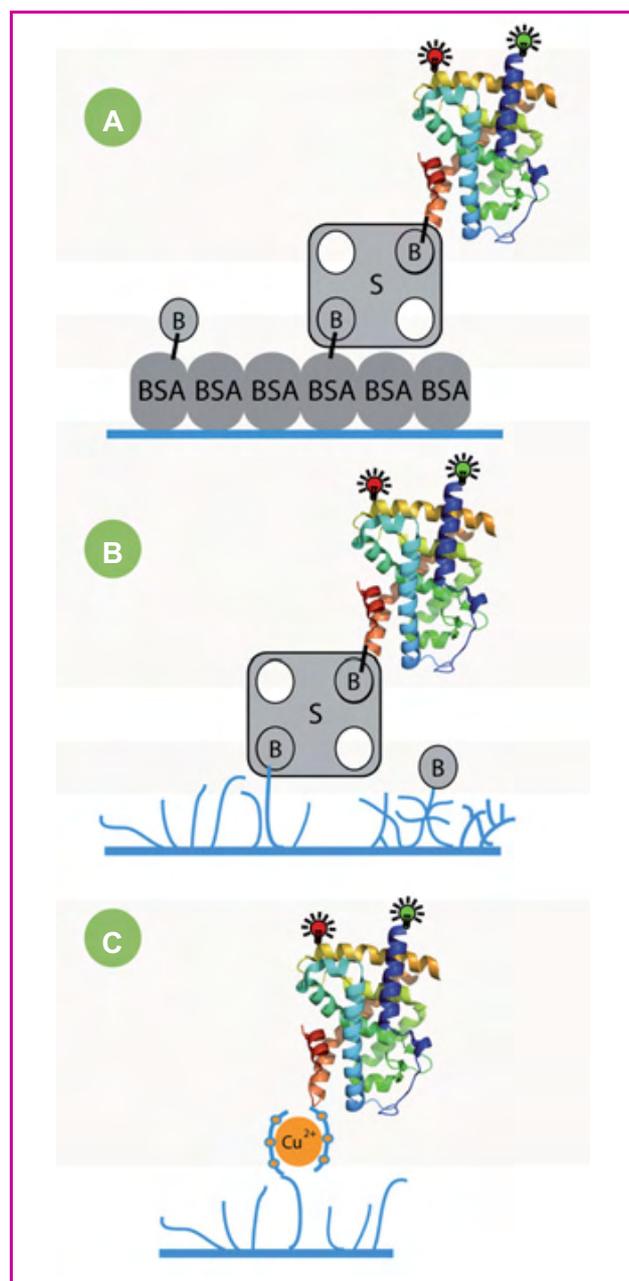


Figure 6 - Stratégies d'immobilisation des macromolécules biologiques.

A : Immobilisation d'une macromolécule biotinylée, via l'adsorption d'albumine (BSA) marquée à la biotine (B) sur le verre, et pontage par la streptavidine (S). B : Immobilisation d'une macromolécule biotinylée, via le greffage sur le verre de polyéthylène glycol linéaire (gauche) ou branché (droite), marqué à la biotine (B), et pontage par la streptavidine (S). C : Immobilisation d'une protéine marquée par une étiquette à six histidines, via la complexation d'un ion Cu^{2+} ou Ni^{2+} , immobilisé sur un polyéthylène glycol fonctionnalisé par un groupement tris-(acide nitrilotriacétique) (NTA).

champ lointain, notamment grâce aux progrès réalisés en termes de sensibilité des détecteurs matriciels (caméras intensifiées et emCCD). L'excitation de l'échantillon se fait généralement en réflexion totale interne (TIRF), une technique permettant d'augmenter le rapport signal/bruit de fond (voir annexe*). Le signal de fluorescence émis par les molécules immobilisées et collecté par l'objectif est quantifié grâce à une caméra permettant la détection de molécules uniques. Les caméras intensifiées ont été remplacées aujourd'hui par

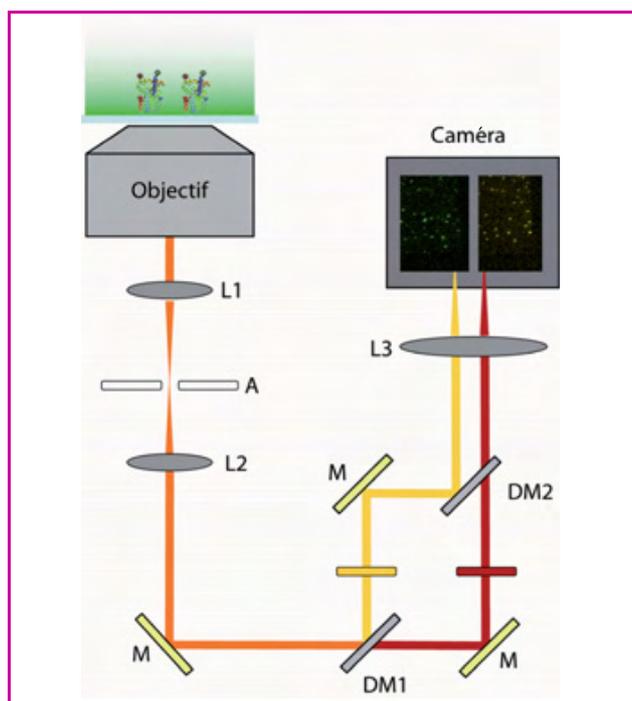


Figure 7 - Montage « dual-view » permettant la détection simultanée des signaux provenant du donneur et de l'accepteur. Les photons émis par les couples de fluorophores immobilisés et récoltés par l'objectif passent au travers d'une ouverture (A) permettant de restreindre le champ de vue. Le miroir dichroïque DM1 permet de séparer spectralement les photons, qui passent ensuite à travers un filtre passe bande avant d'être recombinés par le miroir dichroïque DM2, avec un léger décalage. La lentille L3 sert à focaliser les photons sur la caméra, créant ainsi deux images identiques mais spectralement distinctes, côte à côte, sur le capteur de la caméra.

des caméras CCD à multiplication d'électrons (emCCD) rétro-éclairées, qui permettent une efficacité quantique de détection de plus de 90 % avec un faible bruit. Le temps d'intégration est typiquement de 10 à 200 millisecondes, et grâce à l'utilisation d'agents réduisant le photoblanchiment (voir ci-après), il est possible d'observer chaque molécule pendant plusieurs dizaines de secondes. Les photons émis dans les canaux spectraux du donneur et de l'accepteur sont séparés au travers d'une optique « dual-view » (figure 7), permettant leur visualisation simultanée, côte à côte, sur la caméra CCD. Un logiciel permet ensuite de repérer chaque molécule sur chacune des demi-images (côté donneur et côté accepteur), d'intégrer le signal correspondant et de soustraire le bruit de fond local. On obtient ainsi pour chaque molécule les valeurs F^{Dem} et F^{Aem} en fonction du temps $F^{Dem}(t)$ et $F^{Aem}(t)$ (figure 8A), et pour plusieurs dizaines de molécules simultanément. Il est ensuite possible, après application des facteurs correctifs déjà définis, de calculer l'évolution temporelle de l'efficacité apparente du FRET (figure 8B) :

$$E_{app}(t) = \frac{(F^{Aem}(t) - L \cdot F^{Dem}(t))}{(F^{Aem}(t) - L \cdot F^{Dem}(t)) + \gamma \cdot F^{Dem}(t)} \quad (11)$$

Comme dans le cas des mesures sur des molécules en diffusion, il est possible d'utiliser l'excitation alternée (ALEX) pour l'observation de molécules immobilisées [18]. Les avantages de cette approche sont multiples :

- 1. Possibilité de distinguer les complexes contenant uniquement un donneur des complexes D-A pour lesquels l'efficacité de FRET est faible, et donc d'étendre la gamme des distances mesurables ;

- 2. Possibilité de distinguer les changements conformationnels réels (donnant lieu à des changements de distance D-A) des phénomènes photophysiques (clignotement de l'accepteur notamment) ;
- 3. Possibilité de mesurer les facteurs L , d et γ , et ainsi de déterminer précisément les distances D-A [18].

Prévention du photoblanchiment et du clignotement

Les fluorophores utilisés en fluorescence de molécules uniques doivent présenter de très bonnes propriétés photophysiques, notamment en termes de brillance (bon rendement quantique, fort coefficient d'extinction molaire et courte durée de vie dans l'état excité), de stabilité d'émission (pas de clignotement) et de résistance au photoblanchiment, afin de permettre leur observation pendant de longues durées. Pour améliorer cette photostabilité, un système enzymatique (mélange glucose oxydase/catalase) est traditionnellement utilisé afin d'éliminer l'oxygène présent en solution, qui pourrait réagir avec le fluorophore dans son état triplet et générer ainsi de l'oxygène singulet, particulièrement réactif. Cependant, l'absence d'oxygène a tendance à augmenter la durée de vie de l'état triplet, ce qui peut provoquer une intermittence (clignotement) dans l'émission de fluorescence (le fluorophore étant « piégé » dans un état non émissif). Afin de favoriser le retour du fluorophore dans son état fondamental, il est possible d'utiliser un mélange réducteur/oxydant qui permet de réduire/oxyder le fluorophore vers son état fondamental via un passage par un état radicalaire (pour les détails, voir [19]). Cette approche, appelée ROXS (« reducing/oxydizing system »), permet l'observation de fluorophores uniques pendant plusieurs minutes, sans intermittence dans leur émission [19].

Quelques applications en biologie

Étude de l'initiation de la transcription

L'ARN polymérase (ARNP) est l'enzyme centrale de l'expression génétique, transcrivant l'ADN des gènes en ARN messager. Chez la bactérie modèle *E. coli*, elle est composée de cinq sous-unités. Grâce à la spécificité

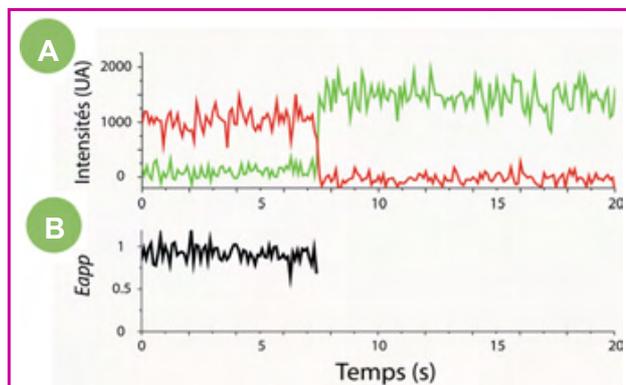


Figure 8 - Exemple de signal de FRET en fonction du temps pour une molécule immobilisée.

A : Intensités détectées dans les canaux correspondant à l'émission du donneur (en vert) et de l'accepteur (en rouge), pour une construction présentant une efficacité de FRET de 0,9 environ. On remarque à $t = 7,5$ s environ une diminution brutale de l'émission de l'accepteur, correspondant à son photoblanchiment. Simultanément, le signal du donneur augmente, car son émission n'est plus désactivée par transfert d'énergie. B : Efficacité apparente du FRET calculée à partir de ces intensités.

apportée par la liaison de facteurs de transcription σ , elle est capable de reconnaître et de se fixer aux séquences des promoteurs des gènes. Le complexe ARNP + σ + ADN subit ensuite une forte modification structurale au cours de laquelle les deux brins d'ADN sont séparés pour permettre sa lecture par l'enzyme (complexe ouvert, RP_o). L'enzyme peut alors commencer la transcription en catalysant l'élongation de l'ARN naissant. Cependant, tant que l'ARNP n'a pas transcrit neuf à dix nucléotides, le complexe ADN/protéine/ARN (appelé complexe de transcription intermédiaire, RP_{itc}) est instable. L'ARN polymérase peut alors relâcher l'ARN naissant et revenir en position de complexe ouvert, et un nouveau cycle de transcription doit alors redémarrer. Ce mécanisme cyclique et non productif, appelé « initiation abortive », constitue un niveau de régulation transcriptionnelle en lui-même, car il peut être influencé par des facteurs extérieurs ou par la séquence d'ADN. Après un nombre variable de cycles, lorsque l'ARNP parvient à transcrire neuf à dix nucléotides, elle entre dans une phase d'élongation active et processive (complexe d'élongation), au cours de laquelle la transcription de l'ADN peut se poursuivre. La connaissance des mécanismes moléculaires des ARN polymérases a été grandement facilitée par la résolution de structures cristallographiques d'holoenzymes, de complexes ouverts ou de complexes d'élongation. Cependant, toutes ces structures représentent des visions statiques d'ARN polymérases dans différents états et ne renseignent pas sur la dynamique du passage d'un type de complexe à un autre, et notamment sur la nature du phénomène de l'initiation abortive.

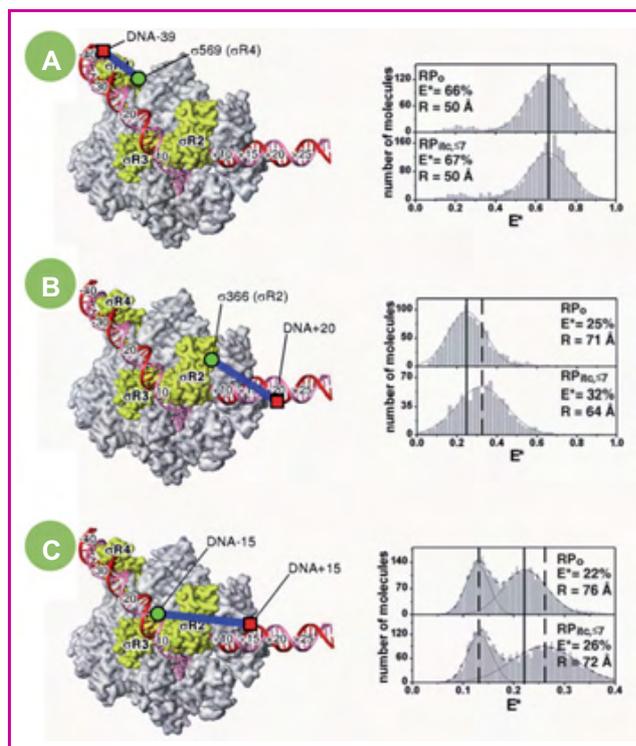


Figure 9 - Étude de l'initiation abortive de la transcription (d'après [20]).

Modèles structuraux de complexes de transcription ouverts et position des fluorophores donneur (vert) et accepteur (rouge) (gauche). Histogrammes de FRET apparent correspondant aux complexes ouverts RP_o et aux complexes abortifs $RP_{itc<7}$. A : La distance entre la région 4 de σ_{70} et l'ADN amont (- 39) n'est pas changée. En revanche, la distance entre la région 2 de σ_{70} et l'ADN aval (+ 20) (B) ainsi que la distance entre deux points situés sur l'ADN, en amont (- 15) et aval (+ 15) du site de transcription (C), sont réduites lors de l'initiation abortive (voir texte).

L'initiation abortive par l'ARNP a été étudiée par FRET sur molécules uniques (figure 9) [18, 20]. Nous avons pu extraire, en fonction de la longueur de l'ARN transcrit, la distance entre donneurs et accepteurs placés spécifiquement sur différents complexes ouverts et abortifs. Ces mesures ne pouvaient pas être réalisées par radiocristallographie du fait de la nature transitoire de ces complexes. La figure 9 présente certaines de ces mesures : à gauche, le modèle cristallographique du complexe ouvert RP_o , sur lequel sont représentées schématiquement la position du donneur (cercle vert) et de l'accepteur (carré rouge) ; à droite, les histogrammes de FRET pour des centaines de molécules diffusant en solution (extraits des histogrammes 2D ALEX), pour le complexe ouvert (RP_o , haut) et un complexe abortif pouvant incorporer jusqu'à 7 nucléotides ($RP_{itc<7}$, bas). La comparaison de ces deux histogrammes pour des couples de fluorophores placés à différentes positions nous a permis d'identifier les domaines structuraux du complexe ne présentant pas de mouvements relatifs lors de l'initiation abortive (figure 9A par exemple) et ceux où la distance donneur-accepteur est réduite (figure 9B et 9C). Nous avons ainsi montré que lors de l'initiation abortive, l'ADN était compacté dans l'ARN polymérase (« DNA scrunching »), ce qui a permis d'écarter les deux autres modèles proposés jusqu'à présent pour expliquer le mécanisme de ce phénomène cyclique (modèle des « excursions transitoires » et modèle du « ver de terre ») [20]. Nous avons par ailleurs émis l'hypothèse que le stress accumulé par l'ADN lors de cette compaction pouvait se relâcher, soit en dissociant l'ARN (cycle abortif), soit en rompant les contacts spécifiques ARNP/promoteur, démarrant ainsi la phase processive de transcription. Les histogrammes de la figure 9C illustrent la précision de l'analyse en molécules uniques : les mesures entre deux sondes placées sur l'ADN en position - 15 et + 15 par rapport au site de démarrage de la transcription mettent en évidence trois populations ayant des efficacités de FRET distinctes mais très proches : l'ADN linéaire ($E \sim 0,13$), l'ADN courbé du complexe ouvert ($E \sim 0,22$) et l'ADN compacté du complexe abortif ($E \sim 0,26$). Il est clair qu'une mesure de FRET d'ensemble n'aurait pas permis d'obtenir de telles données et d'éclaircir le mécanisme impliqué au cours de l'initiation abortive.

Mécanisme des hélicases

Les hélicases utilisent l'énergie d'hydrolyse de l'ATP ou du GTP pour se déplacer de manière orientée sur des acides nucléiques, catalyser la dissociation de protéines associées à ceux-ci ou l'ouverture de doubles hélices. Elles se retrouvent dans pratiquement tous les mécanismes fondamentaux impliquant des acides nucléiques : réplication, transcription, traduction, recombinaison, réparation, etc. Les études en molécules uniques ont permis ces dernières années une excellente caractérisation de leurs mécanismes, à travers la détermination de leur direction de translocation, la mesure de leur processivité et de leur vitesse, et de la taille de leur pas fondamental de translocation (c'est-à-dire la distance parcourue (en nombre de bases) par cycle enzymatique) [21]. Nous présentons ici deux exemples de ce type d'études : l'une sur l'hélicase Rep impliquée dans la recombinaison homologue, et l'autre sur l'hélicase NS3, qui participe à la réplication de l'ARN du virus de l'hépatite C.

L'hélicase Rep a été la première étudiée par FRET sur molécules uniques [14]. Un fragment d'ADN double brin, doublement marqué et biotinylé (voir figure 10A) a été

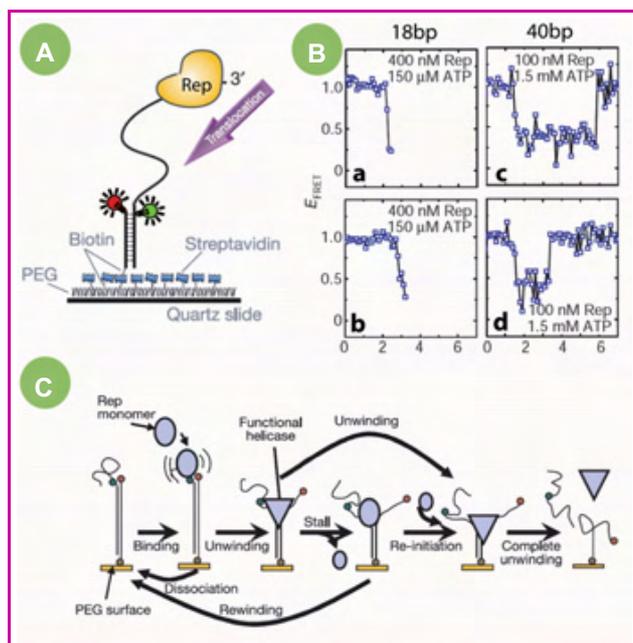


Figure 10 - Étude du mécanisme de l'hélicase Rep (d'après [14]).
 A : Schéma de principe : un fragment d'ADN double brin, doublement marqué et biotinylé, est immobilisé sur une surface PEG/biotine/streptavidine. L'un des brins est prolongé en 3' par une extension poly-dT permettant la liaison de l'hélicase Rep. B : En présence d'ATP, Rep va transloquer le long de l'ADN simple brin, puis dissocier l'hybride. La séparation des deux brins entraîne une diminution du FRET, qui peut être détectée. C : Modèle proposé pour le mécanisme d'action de l'hélicase Rep (voir texte).

immobilisé sur une surface PEG/biotine/streptavidine. L'un des brins est prolongé en 3' par une extension poly-dT permettant la liaison de l'hélicase Rep. En présence d'ATP, l'hélicase Rep va transloquer le long de l'ADN simple brin, puis dissocier l'hybride. La séparation des deux brins entraîne une diminution du FRET, qui peut être détectée (figure 10B) en visualisant ces molécules grâce à un microscope TIRF (voir annexe*). L'analyse des trajectoires de FRET, en fonction des concentrations d'ATP et d'hélicase, permet de mesurer la vitesse d'initiation de la réaction et de montrer que sur de longs hybrides (40 pb, figure 10B, c-d), l'ouverture de l'hybride n'est pas complète et qu'il peut se refermer. Cette observation a permis d'expliquer la faible processivité de l'hélicase Rep *in vitro* et de présenter un modèle de mécanisme (figure 10C). Il est ainsi proposé que Rep dissocie l'hybride lorsqu'elle est sous forme multimérique. Ce complexe est cependant instable : un monomère peut se dissocier, provoquant l'arrêt de l'hélicase (« stall »), voire la refermeture de l'hybride (« rewinding »). En revanche, la liaison d'un autre monomère peut provoquer le redémarrage de la réaction (« re-initiation »), jusqu'à la dissociation complète [14].

L'hélicase NS3 est un composant essentiel du complexe de réplication du virus de l'hépatite C. Elle se lie à l'ADN ou à l'ARN et déroule les doubles hélices de façon processive. Cette activité a pu être reconstituée *in vitro* sur des molécules uniques immobilisées et doublement marquées [22]. Les figures 11A et 11B représentent la dissociation d'un duplex de 18 pb et 9 pb, respectivement, caractérisée par une diminution en paliers du signal de FRET. L'analyse de ces signaux par un algorithme permettant de déterminer automatiquement le nombre de paliers a permis de montrer que la dissociation se faisait en six paliers pour le duplex de

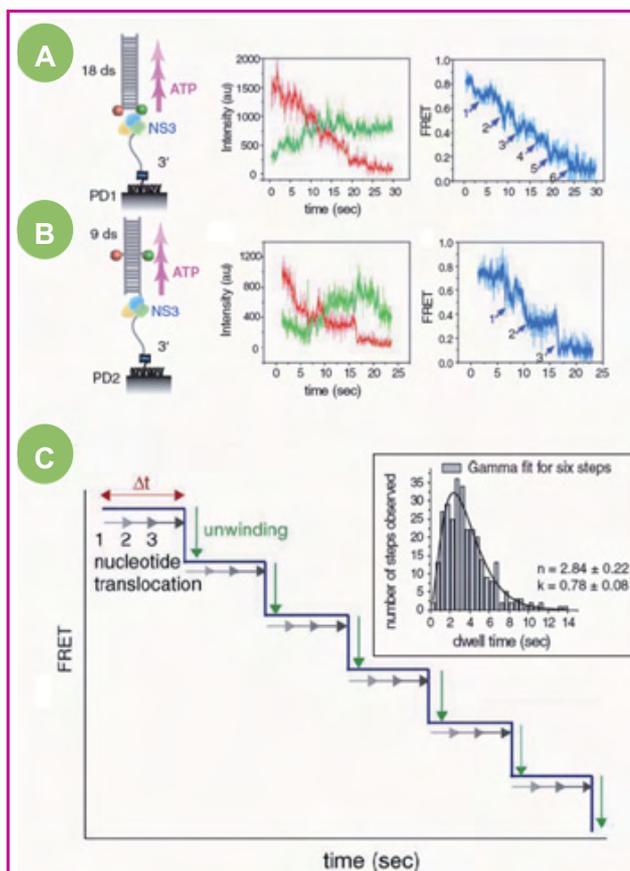


Figure 11 - Étude du mécanisme de l'hélicase NS3 (d'après [22]).
 A et B) Schémas de principe (à gauche) : un fragment d'ADN double brin de 18 pb (A) ou 9 pb (B), doublement marqué et biotinylé, est immobilisé sur une surface PEG/biotine/streptavidine. L'hélicase NS3 va se lier à une extension simple brin et dissocier l'hybride en présence d'ATP, entraînant une diminution du FRET (au centre et à droite). C) L'analyse du nombre de pas et de la durée de chacun d'eux permet de mettre en évidence la présence de trois sous-pas catalytiques pour chaque pas de translocation de 3 pb (voir texte).

18 pb et en trois paliers pour celui de 9pb, ce qui suggère un pas de translocation moyen de 3 pb [22]. Or, si ces paliers correspondaient aux pas catalytiques fondamentaux (par exemple résultant de l'hydrolyse d'une molécule d'ATP), l'histogramme des temps de résidence dans chaque état (« dwell times », figure 11C, encadré) devrait présenter un profil de décroissance exponentielle, ce qui n'est pas le cas. Chaque palier de translocation contient donc des pas fondamentaux cachés. L'analyse statistique des histogrammes des temps de résidence (figure 11C, encadré) permet de déterminer qu'il y a $n = 2,84 \pm 0,22$ pas fondamentaux irréversibles pour chaque palier [22]. Ceci a permis de proposer un modèle où chaque pas de translocation physique de trois paires de bases est composé de trois sous-pas catalytiques correspondant à l'hydrolyse d'une molécule d'ATP (un par paire de bases).

Conclusion

Les mesures de transfert d'énergie de Förster sur molécules uniques permettent de mesurer les distances entre fluorophores avec une grande précision. Elles permettent de distinguer des sous-populations présentant des différences de distance D-A très faibles et de suivre l'évolution de ces distances au cours du temps, sur des échelles de temps allant de la nanoseconde à la minute. Différentes techniques

de marquage des macromolécules biologiques sont disponibles. Chaque fois qu'un marquage est réalisé, il convient de s'assurer que celui-ci ne perturbe pas la structure et la fonction de la molécule étudiée, par des mesures biophysiques, enzymatiques ou fonctionnelles. Par ailleurs, il est indispensable de s'assurer de la cohérence d'une mesure sur molécules uniques, en corrélant les paramètres déterminés avec ceux pouvant être mesurés par des techniques d'ensemble. Un défi pour les années à venir sera de pouvoir effectuer ces mesures de FRET sur molécules uniques directement à l'intérieur de cellules vivantes. L'une des clés de cette réussite sera de pouvoir disposer de nouvelles techniques utilisables *in vivo*, permettant des doubles marquages spécifiques et orthogonaux.

Note et références

- * Annexe téléchargeable librement sur le site www.lactualitechimique.org, page liée à cet article.
- [1] *Single Molecules Techniques*, Press CSHL, Cold Spring Harbour, New York, **2008**.
- [2] Valeur B., *Molecular Fluorescence: Principles and Applications*, Wiley-VCH, **2002**.
- [3] Förster T., Zwischenmolekulare Energiewanderung und Fluoreszenz, *Ann. Phys.*, **1948**, 437, p. 55.
- [4] Clegg R.M., Fluorescence resonance energy transfer and nucleic acids, *Methods Enzymol.*, **1992**, 211, p. 353.
- [5] Muir T., Sondhi D., Cole P., Expressed protein ligation: a general method for protein engineering, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1998**, 95, p. 6705.
- [6] Miyamoto-Sato E., Nemoto N., Kobayashi K., Yanagawa H., Specific bonding of puromycin to full-length protein at the C-terminus, *Nucleic Acids Res.*, **2000**, 28, p. 1176.
- [7] Zhang Z., Smith B.A., Wang L., Brock A., Cho C., Schultz P.G., A new strategy for the site-specific modification of proteins *in vivo*, *Biochemistry*, **2003**, 42, p. 6735.
- [8] *The Molecular Probes® Handbook, A Guide to Fluorescent Probes and Labeling Technologies*, 11^e ed., **2010**.
- [9] Deniz A.A., Dahan M., Grunwell J.R., Ha T., Faulhaber A.E., Chemla D.S., Weiss S., Schultz P.G., Single-pair fluorescence resonance energy transfer on freely diffusing molecules: observation of Förster distance dependence and subpopulations, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1999**, 96, p. 3670.
- [10] Lee N.K., Kapanidis A.N., Wang Y., Michalet X., Mukhopadhyay J., Ebricht R.H., Weiss S., Accurate FRET measurements within single diffusing biomolecules using alternating-laser excitation, *Biophys. J.*, **2005**, 88, p. 2939.
- [11] Kapanidis A., Lee N.-K., Laurence T., Doose S., Margeat E., Weiss S., Fluorescence-aided molecule sorting. Analysis of structure and interactions by alternating laser excitation of single molecules, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **2004**, 101, p. 8936.
- [12] Lee N.K., Kapanidis A.N., Koh H.R., Korlann Y., Ho S.O., Kim Y., Gassman N., Kim S.K., Weiss S., Three-color alternating-laser excitation of single molecules: monitoring multiple interactions and distances, *Biophys. J.*, **2007**, 92, p. 303.
- [13] Sisamakos E., Valeri A., Kalinin S., Rothwell P.J., Seidel C.A., Accurate single-molecule FRET studies using multiparameter fluorescence detection, *Methods in Enzymology*, **2010**, 475, p. 455.
- [14] Ha T., Rasnik I., Cheng W., Babcock H.P., Gauss G.H., Lohman T.M., Chu S., Initiation and re-initiation of DNA unwinding by the *Escherichia coli* Rep helicase, *Nature*, **2002**, 419, p. 638.
- [15] Groll J., Moeller M., Star polymer surface passivation for single-molecule detection, *Methods in Enzymology*, **2010**, 472, p. 1.
- [16] Kang E., Park J.W., McClellan S.J., Kim J.M., Holland D.P., Lee G.U., Frances E., Park K., Thomson D.H., Specific adsorption of histidine-tagged proteins on silica surfaces modified with Ni²⁺/NTA-derivatized poly(ethylene glycol), *Langmuir*, **2007**, 23, p. 6281.
- [17] Ha T., Enderle T., Ogletree D.F., Chemla D.S., Selvin P.R., Weiss S., Probing the interaction between two single molecules: fluorescence resonance energy transfer between a single donor and a single acceptor, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **1996**, 93, p. 6264.
- [18] Margeat E., Kapanidis A.N., Tinnefeld P., Wang Y., Mukhopadhyay J., Ebricht R.H., Weiss S., Direct observation of abortive initiation and promoter escape within single immobilized transcription complexes, *Biophys. J.*, **2006**, 90, p. 1419.
- [19] Vogelsang J., Kasper R., Steinhauer C., Person B., Heilemann M., Sauer M., Tinnefeld P., A reducing and oxidizing system minimizes photobleaching and blinking of fluorescent dyes, *Angewandte Chemie, Int. Ed.*, **2008**, 47, p. 5465.
- [20] Kapanidis A.N., Margeat E., Ho S.O., Kortkhonja E., Weiss S., Ebricht R.H., Initial transcription by RNA polymerase occurs through a DNA scrunching mechanism, *Science*, **2006**, 314, p. 1097.
- [21] Myong S., Ha T., Stepwise translocation of nucleic acid motors, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **2010**, 20, p. 121.
- [22] Myong S., Bruno M.M., Pyle A.M., Ha T., Spring-loaded mechanism of DNA unwinding by hepatitis C virus NS3 helicase, *Science*, **2007**, 317, p. 513.



Emmanuel Margeat

est chargé de recherche au CNRS dans l'équipe « Biophysique des molécules uniques » au Centre de Biochimie structurale de Montpellier* et travaille également à l'INSERM**. Ses travaux lui ont valu la **Médaille de bronze du CNRS en 2009**.

* CNRS UMR 5048, Centre de Biochimie structurale, 29 rue de Navacelles, F-34090 Montpellier.

Courriel : margeat@cbs.cnrs.fr

** INSERM U554, Universités Montpellier 1 et 2, F-34090 Montpellier.



102 avenue Georges Clemenceau - 94700 MAISONS ALFORT

Tél. : 01 43 53 64 00 - Fax : 01 43 53 48 00

edition@edif.fr - www.edif.fr

Matériaux pour la nanofabrication photoinduite

Ali Dirani, Hassan Ridaoui, Fernand Wieder, Renaud Bachelot et Olivier Soppera

Résumé

Le développement de techniques et de matériaux pour la nanofabrication constitue un secteur hautement stratégique dans le domaine de la microélectronique, de la photonique et de façon générale, dans le domaine des nanotechnologies et des nanosciences. Cet article présente trois techniques de nanofabrication récemment développées dans notre équipe : des nanostructures inorganiques préparées par interférométrie DUV, la nanophotopolymérisation en champ proche optique, et la nanofabrication par approches bottom-up et top-down combinées. À travers ces trois exemples, il s'agit d'illustrer les enjeux dans le domaine de la nanofabrication qui concernent à la fois le développement de matériaux nouveaux ainsi que la mise au point de procédés innovants adaptés permettant de répondre aux besoins constants de miniaturisation des systèmes.

Mots-clés

Photopolymères, photomatériaux, sol-gel, nanofabrication, lithographie, auto-assemblage.

Abstract

Materials for photoinduced nanofabrication

The development of techniques and materials dedicated to the nanofabrication constitutes a highly strategic field of research in microelectronics, photonics and more generally in nanotechnologies and nanosciences. This paper presents three techniques of nanofabrication recently developed in our research team: DUV lithography for the preparation of inorganic nanostructures, plasmon-based nanophotopolymerization, and combination of top-down and bottom-up techniques. These three examples are aimed to illustrate the current challenges in the field of nanofabrication. Novel routes dealing with the development of new materials with advanced functionalities and high resolution are presented as well as the suitable processes to respond to the ever increasing needs in smaller structures.

Keywords

Photopolymers, photomaterials, sol-gel, nanofabrication, lithography, self-assembly.

L'activation photochimique est une méthode de production d'espèces réactives très efficace qui présente un intérêt important pour la création de nouvelles espèces chimiques et/ou de nouveaux matériaux. C'est dans le domaine des polymères que cette technologie a connu durant ces vingt dernières années ses développements les plus intéressants, d'un point de vue fondamental et industriel [1-2]. Les avantages liés à la réaction de polymérisation photoinduite sont nombreux : rapidité du processus, faible quantité d'énergie nécessaire pour induire des différences de propriétés physico-chimiques significatives, large gamme de monomères, de systèmes photoamorceurs, d'additifs disponibles pour ajuster les propriétés du matériau final, etc.

Un autre avantage déterminant repose sur la possibilité de contrôle spatial de la réaction photoinduite, à la base du développement des techniques lithographiques (figure 1). Cette singularité est décisive pour les applications en micro-nano-fabrication : la modification du matériau n'intervient que dans des zones bien délimitées, qui correspondent aux zones irradiées.

Les applications qui découlent de cette propriété sont nombreuses, dans des secteurs aussi divers que la microélectronique, l'optique, la photonique, la biologie, les micro- et nano-électro-mécanico-systèmes

(MEMS et NEMS)... L'industrie de la microélectronique a joué un rôle clé pour ce secteur, en particulier en ce qui concerne la course à la résolution. Les techniques et matériaux développés pour cette industrie ont depuis été détournés vers d'autres applications pour permettre de nombreuses avancées dans le domaine des nanotechnologies.

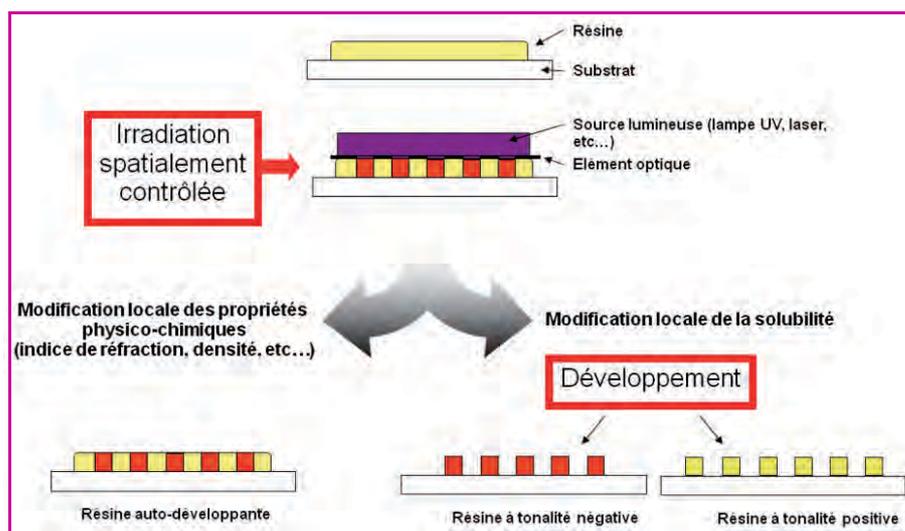


Figure 1 - Micro- et nanofabrication photoinduites.

En fonction de la nature chimique du matériau photosensible, sa solubilité est modifiée lors de l'irradiation, ce qui conduit à l'élimination de la partie irradiée (respectivement non irradiée) lors de l'étape de développement pour une résine à tonalité positive (respectivement négative). Un troisième cas (résine auto-développante) repose sur la modification photoinduite de la résine (augmentation de la densité par photopolymérisation par exemple).

Les aspects liés au contrôle spatial de la réaction photochimique sont tout particulièrement au cœur des préoccupations de l'équipe PHOTON (PHOTomatériaux pour l'Optique et les Nanosciences) à l'Institut de Sciences des Matériaux de Mulhouse (IS2M, CNRS LRC 7228). L'originalité de notre démarche réside dans l'approche développée, dont l'objectif est de comprendre et maîtriser les processus photochimiques et physico-chimiques impliqués dans les applications en micro- et nanofabrication, de l'échelle moléculaire à l'échelle mésoscopique, et d'établir le lien avec les propriétés macroscopiques des dispositifs réalisés [3-5]. Cette approche aboutit à des résultats d'un point de vue fondamental, mais elle est également fortement motivée par une application concrète dans des domaines aussi divers que l'optique, la photonique, l'électronique, les capteurs, la biologie, etc.

Ces travaux ont ainsi permis de proposer des méthodes originales de préparation de matériaux micro- et nanostructurés, à base organique, inorganique, hybrides ou nanocomposites, en contrôlant les propriétés finales et les processus de mise en œuvre aux différentes échelles.

Aujourd'hui, les techniques de micro- et nanofabrication sont nombreuses et communément présentes dans les laboratoires et l'industrie. Il reste toutefois des enjeux en termes de recherche fondamentale et appliquée très importants, qui reposent essentiellement sur le développement de nouveaux procédés et matériaux pour obtenir des fonctionnalités toujours plus complexes, et par des méthodes les plus simples possibles.

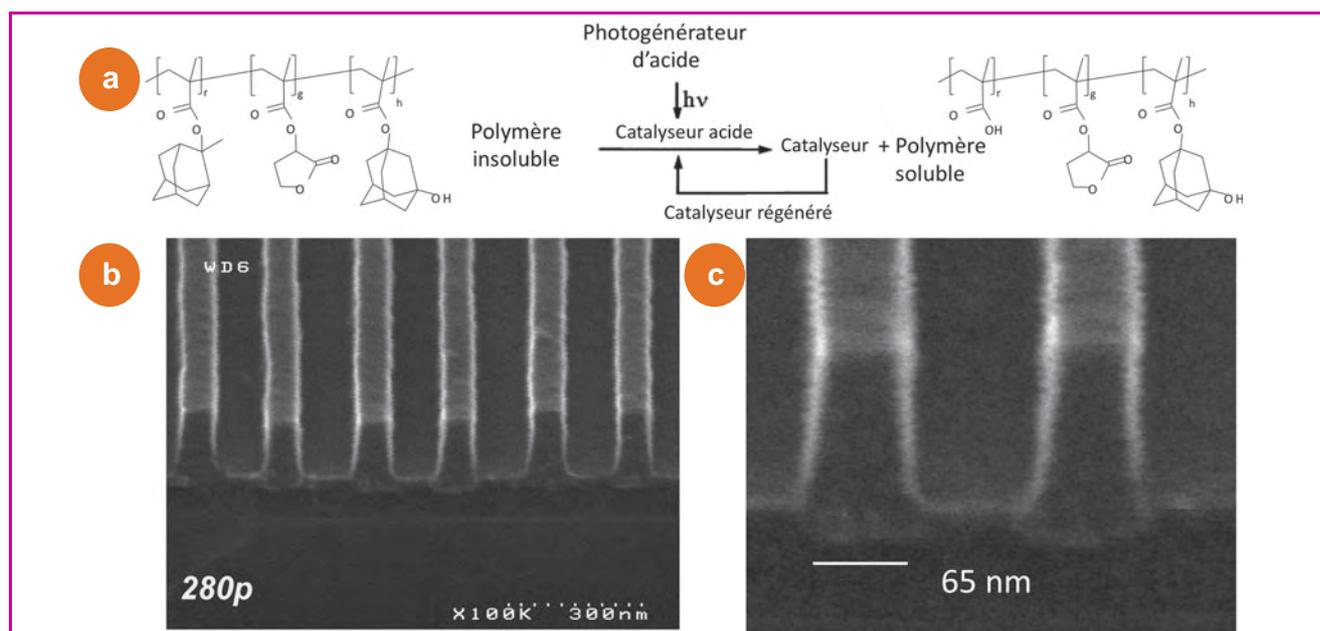
Cet article a pour but de présenter trois techniques de nanofabrication récemment développées dans notre équipe :
 - des nanostructures inorganiques préparées par interférométrie UV profond (DUV : « deep-UV »),
 - la nanophotopolymérisation en champ proche optique,
 - la nanofabrication par approches bottom-up et top-down combinées.

Ces trois exemples ne couvrent pas l'intégralité des travaux actuellement menés pour développer de nouvelles méthodes de nanofabrication (en particulier les avancées très

intéressantes obtenues en lithographie électronique ou par des techniques de nanomoulage). Ils correspondent toutefois à trois solutions différentes pour répondre à des besoins actuels de fabrication de nanostructures assistée photochimiquement, en proposant soit des matériaux nouveaux, soit des procédés en rupture avec la technologie actuelle.

Nanostructures inorganiques préparées par interférométrie DUV

L'industrie de la microélectronique a déployé durant les dernières années des efforts considérables pour poursuivre la tendance constante de diminution de la taille des motifs fabriqués par lithographie, suivant ainsi le paradigme énoncé en 1965 par Gordon Moore [6]. Cette prédiction, connue sous le nom de « loi de Moore », prévoit que le nombre de transistors dans un microprocesseur double tous les deux ans, ce qui revient à diminuer la taille des motifs d'un facteur 2 tous les deux ans. Ainsi, la stratégie qui a été suivie par l'industrie de la microélectronique depuis ses débuts a consisté à diminuer la longueur d'onde de plus en plus bas dans l'UV. Aujourd'hui, c'est principalement l'UV profond (« deep-UV ») qui est utilisé dans cette industrie : le recours à une longueur d'onde de 193 nm permet de repousser les limites de diffraction suffisamment loin pour obtenir des objets de dimensions caractéristiques aussi petites que 22 nm [7]. Toutefois, cette industrie semble aujourd'hui confrontée à une difficulté sans précédent : les dernières avancées telles que l'immersion [8] et la double exposition [9] ont permis de répondre aux besoins de miniaturisation jusqu'alors, mais les prochaines générations de lithographie impliquent des difficultés pour leur mise en œuvre qui semblent insurmontables. En parallèle, se pose un problème de matériaux, les résines photosensibles utilisées en microélectronique se positionnant en fonction de trois paramètres à optimiser de façon indépendante : résolution, rugosité et sensibilité [10]. La *figure 2* présente un exemple de photorésists [11], résines photosensibles couramment utilisées



actuellement en microélectronique (à 248 ou 193 nm), ainsi que des exemples de nanostructures fabriquées à 193 nm.

À côté de cette recherche extrêmement active dans un secteur stratégique, il existe des besoins de « niche » qui consistent à proposer des matériaux innovants pouvant être mis en forme par ces outils de lithographie dérivés de la microélectronique.

C'est ainsi que nous avons proposé récemment une nouvelle approche pour obtenir par écriture DUV des nanostructures de type ZrO_2 . Ce matériau possède en effet des propriétés inédites, comme un indice de réfraction élevé, une large bande interdite (> 5 eV), une faible absorption et dispersion dans le visible et le proche infrarouge, associées à une excellente stabilité chimique et thermique, qui en font un candidat de choix pour des applications en optique, photonique, photovoltaïque ou photocatalyse [12-16].

Nous avons utilisé l'interférométrie DUV pour obtenir des nanostructures sur des grandes surfaces [17]. Cette technique permet d'atteindre des résolutions aussi petites que 50 nm sur la base de moyens techniques relativement légers. La méthode de préparation du matériau retenue est la voie sol-gel. Le procédé sol-gel constitue en effet une voie privilégiée pour obtenir des films minces d'oxydes avec des propriétés parfaitement contrôlées [18]. Dans notre cas, nous avons modifié un précurseur de zirconium pour le rendre photosensible à la longueur d'onde utilisée pour la nanofabrication (193 nm), comme illustré sur la *figure 3*. La complexation du précurseur de zirconium par l'acide méthacrylique a deux objectifs : il permet d'abord de diminuer la réactivité du complexe de Zr de départ par rapport à l'eau, ce qui est une condition nécessaire pour parvenir à élaborer des films minces par ce procédé sans risque de précipitation. De surcroît, le complexe ainsi formé absorbe dans le DUV et son excitation peut être mise à profit pour photolyser le complexe, ce qui conduit *in fine* à une réaction de condensation photoinduite.

L'interférométrie DUV combinée au procédé sol-gel permet ainsi d'obtenir par photoréticulation des nanostructures suivant un procédé très simple. Des exemples de nanostructures sont donnés sur la *figure 4*, caractérisées par microscopie à force atomique (AFM). Ces structures sont obtenues par irradiation puis développement dans un solvant du précurseur. La partie du matériau qui a reçu un maximum d'intensité est suffisamment réticulée pour résister au développement. Le matériau a été caractérisé par spectroscopie XPS, FTIR, DRX, pour à la fois expliquer les processus photoinduits et également décrire la structure finale du matériau. Il a ainsi pu être démontré qu'au final, le matériau est composé exclusivement de ZrO_2 , ce qui correspond au but recherché. On notera la forme des nanostructures, à profils carrés, alors que le profil d'irradiation est sinusoïdal (interférences entre ondes cohérentes). Ce point montre comment la réponse photochimique du matériau peut être extrêmement non linéaire.

L'intérêt de cette méthodologie sur la base de matériaux préparés par voie sol-gel repose sur la possibilité de proposer un grand nombre de matériaux différents, en modifiant le précurseur de départ et les conditions de préparation de films minces. De la même façon, des nanostructures TiO_2 ont pu être obtenues ; elles sont potentiellement intéressantes pour des applications en photovoltaïque et photocatalyse.

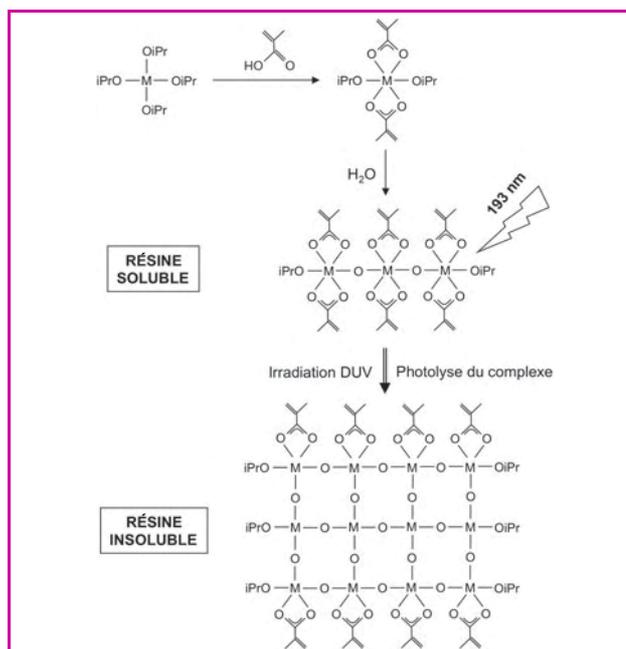


Figure 3 - Description du système sol-gel utilisé pour la nanofabrication par lithographie (193 nm).

Un précurseur à base de zirconium est préparé et partiellement condensé avant d'être irradié sous forme de film mince. L'irradiation DUV provoque une réticulation du matériau qui le rend insoluble, permettant de définir les nanostructures après une étape de développement [33].

Nanophotopolymérisation en champ proche optique

Les difficultés récentes pour pousser plus en avant les dernières générations de photolithographie amènent à proposer des méthodes alternatives de nanofabrication en rupture avec celles proposées par la microélectronique. C'est ainsi que le recours au champ proche optique apparaît comme extrêmement pertinent. Une première façon d'obtenir un tel champ consiste par exemple à générer des ondes évanescentes par réflexion totale à une interface. Dans une telle configuration, un exercice classique de premier cycle permet de démontrer qu'une onde non propagative et extrêmement confinée se crée à partir de l'interface [19]. Une autre configuration encore plus intéressante consiste à exciter des nanoparticules métalliques dans leur bande de résonance plasmonique [20-21]. L'oscillation collective des électrons de la nanoparticule métallique crée des effets électromagnétiques très particuliers dont une des conséquences est la création d'une onde confinée à proximité des nanoparticules

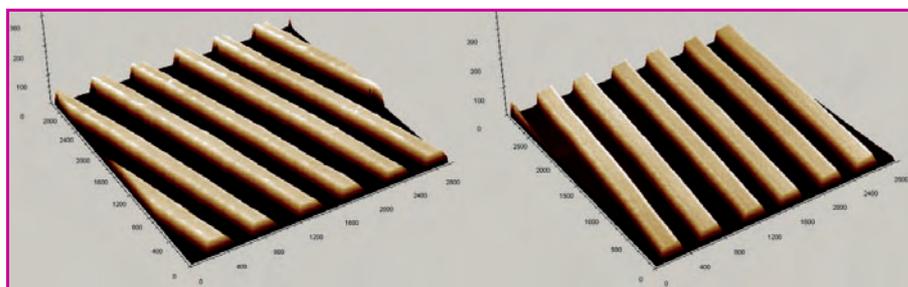


Figure 4 - Exemple de structures obtenues par photoréticulation à 193 nm de couches minces préparées par chimie sol-gel.

La largeur des structures présentées ici est de 300 nm. À gauche, on observe les structures après lithographie optique et à droite, après une étape de recuit qui permet de complètement minéraliser les nanostructures tout en conservant leurs caractéristiques géométriques [33].

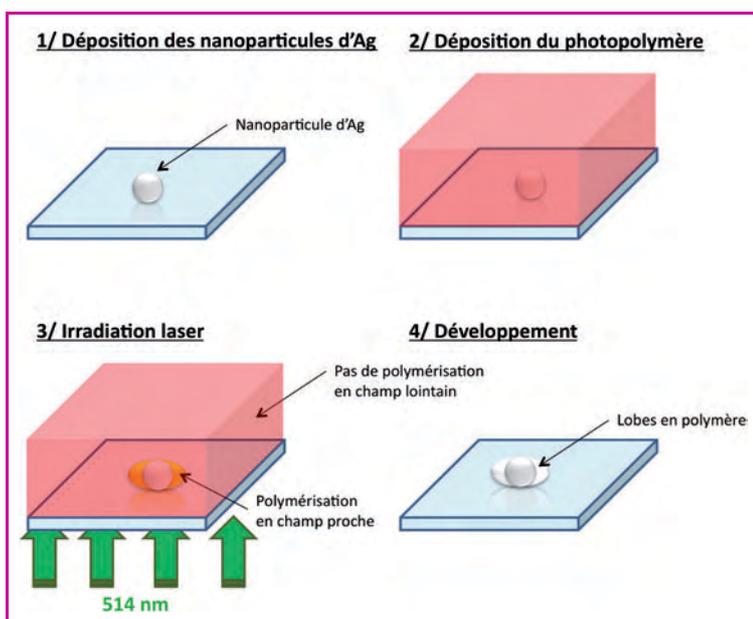


Figure 5 - Procédé de nanolithographie en champ proche optique mettant à profit la réponse dipolaire de nanoparticules métalliques irradiées par une onde polarisée de longueur d'onde comprise dans la bande d'absorption plasmonique des nanoparticules.

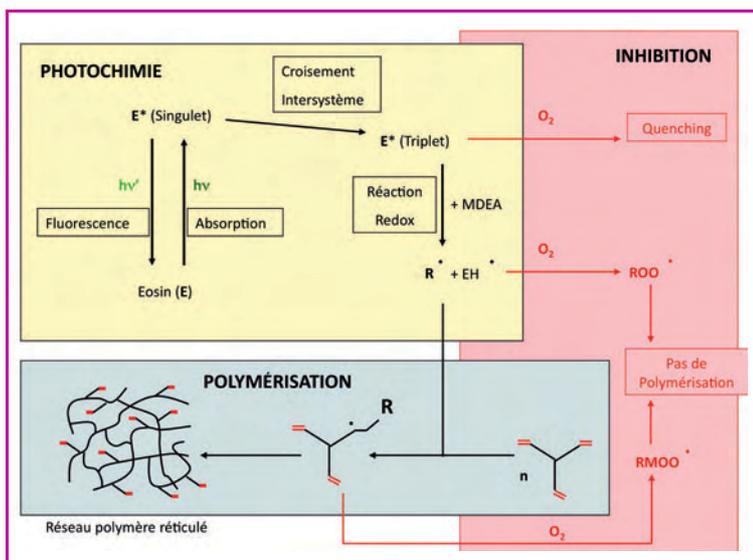


Figure 6 - Mécanismes moléculaires conduisant à la photopolymérisation du système utilisé pour la nanofabrication en champ proche (colorant xanthénique, amine et monomère acrylate trifonctionnel). Les différentes réactions peuvent être classées en trois catégories : mécanismes photochimiques, polymérisation et inhibition [5].

et d'intensité plus importante que l'onde incidente (phénomène d'exaltation). Dans ces deux cas, l'idée est d'utiliser cette onde extrêmement confinée comme source d'énergie pour déclencher une réaction de photopolymérisation. L'intérêt de cette approche pour la nanofabrication réside dans le fait que le confinement spatial de ces ondes n'est pas limité par la diffraction, ce qui permet d'espérer des résolutions inédites.

Les premiers travaux dans ce domaine ont été réalisés par Ecoffet et coll. [22] : dans ce cas, une onde évanescente créée par réflexion interne totale a été utilisée pour induire la photopolymérisation d'un film de polymère extrêmement mince (entre quelques nm et 1 micron).

Plus récemment, en collaboration avec l'équipe de Renaud Bachelot (LNIO, UTT, Troyes), nous avons démontré qu'il était possible d'utiliser le champ proche au voisinage de nanoparticules métalliques pour induire une photopolymérisation restreinte spatialement à quelques nanomètres, donc avec une résolution équivalente à $\lambda/100$ puisque la longueur d'onde utilisée ici est dans le visible. Le procédé est illustré sur la figure 5. Le système photochimique qui a été utilisé dans cette étude est présenté sur la figure 6. Sur ce schéma, on distingue trois types de mécanismes : 1) les mécanismes photochimiques sont induits par absorption d'un photon par le colorant. Une cascade de processus photophysiques et photochimiques plus ou moins complexes aboutit à la création des espèces réactives. 2) Les espèces réactives ainsi produites (radicalaires dans le cas présent) amorcent la réaction de polymérisation conduisant au polymère réticulé. 3) En parallèle, une série de mécanismes entrent en compétition : il s'agit des réactions parasites d'inhibition qui détruisent les espèces réactives créées. De telles réactions sont en général évitées en photopolymérisation puisqu'elles réduisent le rendement de la photopolymérisation. Dans le cas de la photostructuration, ces réactions peuvent être mises à profit pour obtenir une réponse non linéaire du matériau. Ces aspects sont développés en détail dans la réf. [5].

Outre la fabrication de nanoparticules hybrides dont la symétrie a été brisée par l'adjonction de lobes de polymères (voir figure 7), particules qui possèdent des propriétés optiques originales [23], cette configuration expérimentale est idéale pour étudier les processus de photopolymérisation en milieu confiné. Un calcul simple permet en effet de se rendre compte des spécificités liées au confinement extrême : dans un volume de $10 \times 10 \times 10 \text{ nm}^3$ (qui correspond typiquement au volume irradié), le nombre de molécules de colorants à l'origine de la polymérisation se limite à seulement 4. On comprend alors aisément que les phénomènes spécifiques découlent de cette limitation. En particulier, les phénomènes de diffusion deviennent tout à fait prédominants.

Nous avons donc là un exemple d'utilisation d'une configuration innovante de nanophotolithographie, pour des objectifs en nanofabrication, et au-delà de ces objectifs, il s'agit ici d'un outil pour appréhender les phénomènes photoinduits à des échelles extrêmes, qui approchent celles de la molécule unique.

Cet aspect illustre bien les difficultés intrinsèques liées à la poursuite des objectifs de réduction de taille : les tailles caractéristiques visées s'approchent de celles des objets moléculaires, ce qui oblige à revoir un grand nombre de principes valables à l'échelle macroscopique mais qui perdent de leur intérêt à l'échelle nanométrique.

Nanofabrication par approches bottom-up et top-down combinées

On a vu dans les deux parties précédentes que la réduction de la taille des objets fabriqués en photolithographie à des échelles sub-100 nm requiert des moyens toujours plus complexes, en termes de dispositifs et de matériaux. En comparaison, il est intéressant de considérer qu'un grand nombre de phénomènes naturels conduisent à la formation d'édifices extrêmement complexes par des processus spontanés. Les exemples les plus marquants sont certainement dans le domaine de la biologie si on considère la complexité des êtres vivants [24].

Cette observation a poussé un grand nombre d'équipes à travers le monde à s'intéresser aux phénomènes d'auto-assemblage pour déterminer comment ces phénomènes spontanés peuvent dans une certaine mesure être reproduits de façon contrôlée pour conduire à une fabrication synthétique de nanosystèmes complexes à architecture contrôlée. Notre contribution à ce vaste chantier s'est focalisée sur un type d'objet connu depuis plusieurs années pour sa capacité à l'auto-assemblage : les copolymères à blocs [25-26].

Les copolymères à blocs ont en effet été proposés récemment comme des matériaux de choix pour obtenir des nanostructures régulières grâce à leur capacité naturelle à s'auto-assembler. Toutefois, leur utilisation pratique reste limitée en raison de la difficulté à contrôler spatialement ces phénomènes d'auto-organisation et de l'impossibilité d'obtenir des structures régulières sur de grandes surfaces. Parmi les voies envisagées pour accéder à des nanostructures alignées, le recours à des substrats nanostructurés chimiquement ou en topographie a été récemment proposé [27-29]. Nous montrons ici dans quelles conditions un alignement des blocs de copolymère sur des grandes longueurs (plusieurs dizaines de microns) peut être obtenu.

Le contrôle de l'auto-assemblage suppose de pouvoir proposer une préstructuration du substrat ayant une périodicité commensurable avec la période du système à auto-organiser. C'est pourquoi la structuration du substrat aux échelles micro et nano a été réalisée par lithographie DUV interférométrique. Des nanostructures d'or de largeur comprise entre 100 et 500 nm ont ainsi pu être préparées, avec des hauteurs de marche contrôlées entre 10 et 40 nm. Des films minces de copolymères à blocs de P(S-b-MMA) ont été déposés dans ces nanostructures et les paramètres de procédés ont été optimisés afin d'obtenir une démiction sous forme de cylindres parallèles au substrat (voir figure 8). Les paramètres de dimension et chimie de surface des nanostructures ont été modifiés pour étudier les phénomènes d'auto-organisation des copolymères à blocs dans ces volumes nanoconfinés [30]. En particulier, l'impact de la largeur des tranchées et de la hauteur des marches sur la régularité des nanostructures de copolymères à blocs a été étudié. Dans des conditions optimisées, il est ainsi possible d'obtenir une auto-organisation parfaitement régulière des copolymères à blocs sur plusieurs dizaines de microns, ce qui ouvre de nouvelles perspectives dans le domaine de la nanofabrication.

D'un point de vue conceptuel, ce procédé revient donc à combiner deux approches de nanofabrication que l'on oppose en général : l'approche « top-down », qui est une procédure descendante consistant à transposer des processus connus sur des échelles de plus en plus petites, et l'approche « bottom-up », procédure ascendante consistant à mettre à profit les capacités que peuvent présenter des atomes, ions, molécules ou nano-objets à s'organiser suivant des structures déterminées, sous certaines conditions.

L'avantage de cette approche consiste à repousser les limites de résolution intrinsèques des processus top-down, déjà évoqués précédemment, en conservant l'un des avantages déterminants de ces techniques qui est la possibilité de concevoir des structures complexes. Ces surfaces pourront par la suite être utilisées comme masques pour la gravure ou

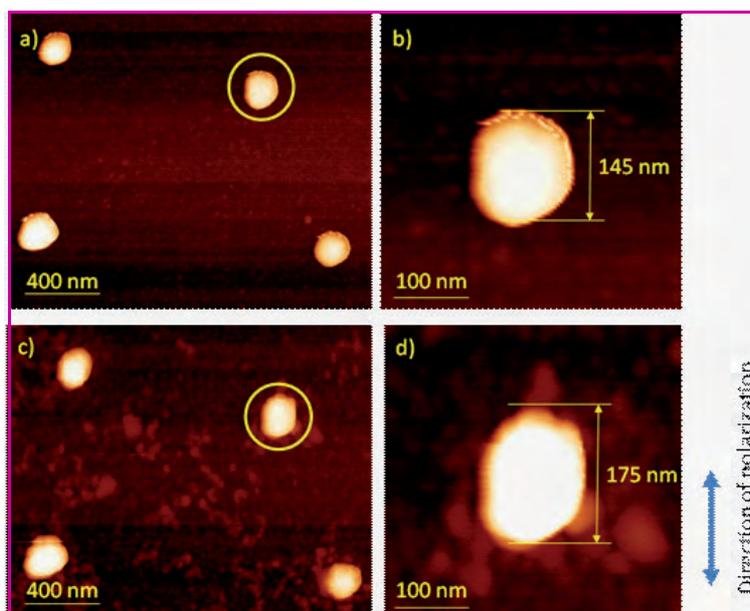


Figure 7 - Photopolymérisation en champ proche optique à proximité de nanoparticules d'argent.

a) : image AFM de nanoparticules ; b) : zoom sur la particule dans le cercle jaune ; c) image des mêmes particules après avoir appliqué le procédé décrit sur la figure 4. Sur le zoom en d), on observe l'élongation de la nanoparticule selon le sens de la direction de polarisation de la lumière incidente, ce que prévoit la théorie [30].

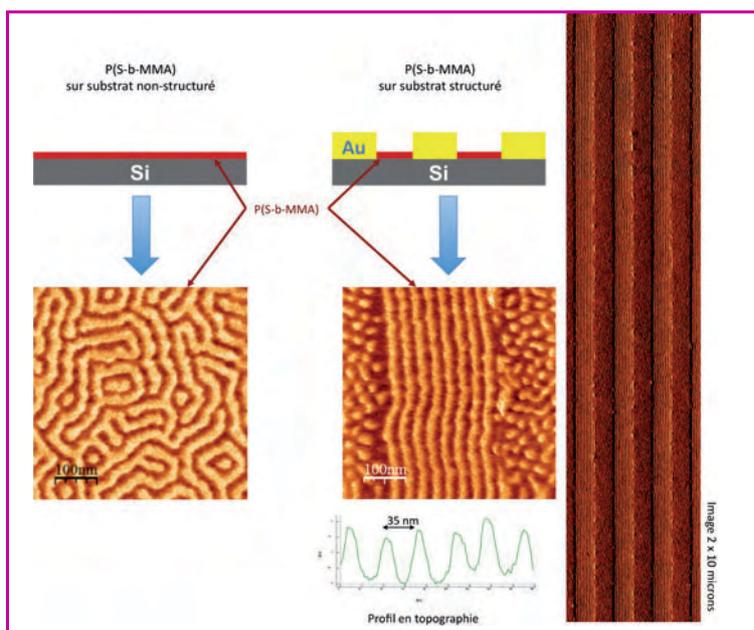


Figure 8 - Images AFM de nanostructures auto-assemblées de copolymères à blocs.

À gauche, les nanostructures sur substrat nu ont une orientation aléatoire ; à droite, la préstructuration du substrat par lithographie conduit à une orientation des blocs dans la direction de ces structures. Dans ce cas, le substrat est une surface de silicium sur laquelle des nanofils d'or ont été déposés par lithographie, définissant des tranchées de 300 nm de large et 30 nm de profondeur.

pour le dépôt contrôlé de nano-objets (nanoparticules, boîtes quantiques, nanotubes de carbone...).

Conclusion

« *There's plenty of room at the bottom!* » La prédiction de Richard P. Feynman énoncée en 1959 reste plus que jamais d'actualité [31]. Pour reprendre l'un des passages célèbres de son discours du meeting annuel de l'American Physical

Society en 1959, cela n'étonne plus grand monde que l'on puisse « écrire les 24 volumes de l'*Encyclopedia Britannica* sur une tête d'aiguille. » En revanche, il reste encore de nombreux challenges en nanofabrication et les prochaines avancées impacteront assurément notre vie quotidienne aussi fortement que les puces et processeurs l'ont fait récemment, en rendant possible le développement et la démocratisation d'ordinateurs, de téléphones portables, et d'une façon générale de tous les dispositifs électroniques que l'on retrouve dans des domaines aussi divers que les télécommunications, les loisirs, la médecine, les transports...

Pour répondre à cette attente, il est nécessaire d'aborder en amont des aspects fondamentaux de chimie, physico-chimie et optique. Cette thématique de nanofabrication apparaît donc par essence un domaine par nature très pluridisciplinaire.

Il convient enfin d'ajouter que le passage de l'échelle micrométrique à nanométrique ne suppose pas seulement de transposer les phénomènes bien connus aux plus grandes échelles, mais qu'il est nécessaire d'intégrer les phénomènes spécifiques se déroulant aux différentes échelles, depuis les phénomènes moléculaire induits par l'absorption d'un photon jusqu'aux propriétés macroscopiques des systèmes.

Remerciements

Les auteurs remercient chaleureusement les étudiants qui ont participé au travail reporté dans cet article – en particulier Ihab Dika et Fabrice Stehlin –, ainsi que les membres du Laboratoire de Nanotechnologie et d'Instrumentation Optique, collaborant depuis plusieurs années au projet de photopolymérisation en champ proche optique (et tout particulièrement Claire Deeb et Hicham El Harach).

Le projet DUV a commencé à travers une collaboration avec l'équipe du professeur Georges Hadziioannou qu'ils remercient également, ainsi que les organismes ayant financé ces travaux : le CNRS, l'ANR, la région Alsace et l'Université de Haute-Alsace.

Références

- [1] Rabek J.F., *Mechanisms of Photophysical Processes and Photochemical Reactions in Polymers: Theory and Applications*, John Wiley & Sons, 1987.
- [2] *Radiation Curing: Science and Technology*, J.P. Fouassier, J.F. Rabek (eds), Plenum Press, 1992, p. 51.
- [3] Soppera O., Croutxe-Barghorn C., Lougnot D.J., *New. J. Chem.*, **2001**, 25, p. 1006.
- [4] Soppera O., Croutxe-Barghorn C., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **2003**, 41, p. 716.
- [5] Soppera O., Jradi S., Lougnot D.J., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **2008**, 46(11), p. 3783.
- [6] Moore G.E., Cramming more components onto integrated circuits, *Electronics*, **1965**, 38(8), p. 114.
- [7] a) Bowden M.J., Turner S.R., *ACS Adv. Chem. Ser.*, **1988**, 218, p. 109 ; b) Macdonald S.A., Wilson C.G., Fréchet J.H.J., *Acc. Chem. Res.*, **1994**, 27, p. 151.
- [8] Raub A.K., Brueck S.R.J., Optical microlithography XVI, *Proceedings of SPIE*, A. Yen (ed), **2003**, 5040, p. 667.
- [9] Kemp K.G., US Patent 5308741, **1992**.
- [10] Yoshimura T., Shiraishi H., Yamamoto J., Okazaki S., *Jpn. J. Appl. Phys.*, **1993**, 32, p. 6065.
- [11] Hiroshi I., *Adv. Polym. Sci.*, **2005**, 172, p. 37.
- [12] Thomas I.M., *Proceedings of SPIE*, **1994**, 2288, p. 50.
- [13] Belleville P., Bonnin C., Priotton J.J., *J. Sol-gel Sci. Technol.*, **2000**, 19, p. 223.
- [14] Belleville P., Prené P., Bonnin C., Beaurain L., Montouillout Y., Lavastre E., *Proceedings of SPIE*, **2003**, 5250, p. 196.
- [15] Zhang Q.Y., Shen J., Wang J., Wu G.M., Chen L.Y., *Int. J. Inorg. Mater.*, **2000**, 2, p. 319.
- [16] Tian G.L., Huang J.B., Wang T., He H.B., Shao J.D., *Appl. Surf. Sci.*, **2005**, 239, p. 201.
- [17] Ridaoui H. et al., *J. Polym. Sci., Part A: Polym. Chem.*, **2010**, 48(6), p. 1271.
- [18] Judeinstein P., Sanchez C., *J. Mater. Chem.*, **1996**, 6, p. 511.
- [19] *Internal Reflection Spectroscopy*, N.J. Harrick (ed), Wiley, **1967**.
- [20] Maier S.A., *Plasmonics: Fundamental and Applications*, Springer, **2007**.
- [21] Zayats A.V., Smolyaninov I.I., *J. Opt. A: Pure Appl. Opt.*, **2003**, 5, p. 16.
- [22] Ecoffet C., Espanet A., Lougnot D.J., *Adv. Mater.*, **1998**, 10, p. 5411.
- [23] El Harach H., Bachelot R., Vial A., Lerondel G., Plain J., Royer R., Soppera O., *Phys. Rev. Lett.*, **2007**, 98, p. 107402.
- [24] Chai J., Buriak J.M., *ACS Nano*, **2008**, 2, p. 489.
- [25] *Developments in Block Copolymers 2*, I. Goodman (ed), Elsevier Applied Science, **1985**.
- [26] Hamley I.W., *The Physics of Block Copolymers*, Oxford University Press, **1998**.
- [27] Fasolka M.J., Harris D.J., Mayes A.M., Yoon M., Mochrie S.G., *Journal of Physics Review Letters*, **1997**, 79, p. 3018.
- [28] Kim S.O., Solak H.H., Stoykovich M.P., Ferrier N.J., de Pablo J.J., Nealey P.F., *Nature*, **2003**, 424, p. 411.
- [29] Knoll A., Magerle R., Krausch G., *Journal of Chemical Physics*, **2004**, 120, p. 1105.
- [30] Deeb C., Bachelot R., Plain J., Baudrion A.L., Jradi S., Bouhelier A., Soppera O., Jain P.K., Huang L., Ecoffet C., Balan L., Royer P., *ACS Nano*, **2010**, 4(8), p. 4579.
- [31] On peut voir une transcription du discours original sur www.zyvex.com/nanotech/feynman.html par exemple.
- [32] Chochois C.L. et al., *Adv. Mater.*, **2009**, 21(10), p. 1121.
- [33] Ridaoui H., Wieder F., Ponche A., Soppera O., *Nanotechnology*, **2010**, 21, p. 065303.



A. Dirani



H. Ridaoui



F. Wieder



R. Bachelot



O. Soppera

Ali Dirani a effectué sa thèse de doctorat sous la direction d'Olivier Soppera à l'IS2M* sur le thème « matériaux organiques pour la lithographie DUV ». Il est actuellement post-doctorant à l'Université de Louvain (Belgique).

Hassan Ridaoui a effectué un stage post-doctoral dans l'équipe PHOTON de l'IS2M*. Il est actuellement post-doctorant au CEA/LITEN (Grenoble).

Fernand Wieder est ingénieur de recherche CNRS dans l'équipe PHOTON de l'IS2M*.

Renaud Bachelot est professeur à l'Université de Technologie de Troyes (Institut Charles Delaunay)**.

Olivier Soppera est chargé de recherche CNRS et responsable scientifique de l'équipe PHOTON à l'IS2M*. Ses travaux lui ont valu l'attribution de la **Médaille de bronze du CNRS en 2009**.

* Institut de Sciences des Matériaux de Mulhouse, Équipe PHOTON, IS2M-LRC CNRS 7228, 15 rue Jean Starcky, BP 2488, F-68057 Mulhouse Cedex.

Courriel : olivier.soppera@uha.fr

** Laboratoire de Nanotechnologie et d'Instrumentation Optique, LNI0-ICD FRE CNRS 2848, Université de Technologie de Troyes, 12 rue Marie Curie, BP 2060, F-10010 Troyes Cedex.

Les agents fluorés pour la théragnostique

Vers une détection de plus en plus précoce des pathologies et un traitement localisé

Nicolas Tsapis

Résumé L'encapsulation d'un liquide perfluoré, le bromure de perfluorooctyle, dans des capsules polymère de poly(lactide-co-glycolide) a été optimisée afin d'élaborer des agents théragnostiques. La présence du cœur fluoré permet de détecter ces capsules *in vitro* aussi bien par ultrasonographie que par IRM du fluor. Leur évaluation ultrasonore a montré que plus les capsules sont fines, plus elles sont échogènes. La surface des capsules a été recouverte de chaînes de polyéthylène glycol pour les rendre furtives vis-à-vis du système réticulo-endothélial et favoriser leur accumulation dans des tumeurs solides. *In vivo*, après injection intraveineuse chez la souris, les tumeurs n'ont pas pu être observées par ultrasonographie du fait d'une trop faible concentration de nanocapsules dans la tumeur. La biodistribution des capsules après injection intraveineuse reste donc à optimiser. À terme, la coque polymère devrait permettre d'encapsuler des principes actifs qui seraient libérés de manière ciblée au moyen d'ultrasons.

Mots-clés Perfluorocarbones, théragnostique, nanoparticules, ultrasonographie, IRM.

Abstract Fluorinated agents for theragnostics
Liquid perfluorooctyl bromide encapsulation within polymeric capsules of poly(lactide-co-glycolide) have been optimized to obtain theragnostic agents. The presence of the fluorinated core allows to detect these capsules *in vitro* with both ultrasonography and fluorine MRI. Ultrasonic evaluation has shown that most capsules are thin, the more echogenic they are. Capsule surface was modified to avoid uptake by the reticulo-endothelial system and favor their accumulation within solid tumors. However, capsules were not visualized in tumors due to a low concentration. Nanocapsule biodistribution after intravenous injection therefore remains to be optimized. In the long term, drug encapsulation within the polymer shell followed by ultrasound-triggered release will be evaluated.

Keywords Perfluorocarbons, theragnostics, nanoparticles, ultrasonography, MRI.

La combinaison de l'imagerie et du traitement est l'essence même du concept de *théragnostique* (contraction de thérapeutique et de diagnostic). Alors que l'imagerie conventionnelle permet la visualisation anatomique des organes et des tissus, l'imagerie du futur s'oriente désormais vers le dépistage spécifique et précoce de pathologies à l'échelle moléculaire. De nouvelles thérapies de plus en plus spécifiques et localisées seront mises en place afin de combiner la détection précoce avec un traitement non invasif, évitant le développement d'une pathologie avant même sa manifestation clinique. Les progrès de ces nouvelles imageries et thérapies moléculaires sont étroitement liés à la mise au point de microparticules ou de nanoparticules permettant un marquage spécifique de certaines cellules pour fournir une source de contraste et vectoriser de façon ciblée un principe actif.

Notre travail consiste à développer ces nouveaux systèmes particuliers servant à la fois d'agents de contraste pour l'imagerie médicale et de vecteurs de principe actif. Nous cherchons à concevoir un agent théragnostique permettant de cibler les tumeurs et ayant la particularité d'être observable par deux modalités d'imagerie : l'ultrasonographie et l'imagerie par résonance magnétique du fluor. Cet agent, injectable par voie intraveineuse et encapsulant un principe actif, devrait

permettre de visualiser les tumeurs par les deux modalités d'imagerie. Les ultrasons seraient ensuite focalisés pour induire la libération du principe actif encapsulé afin de réaliser une chimiothérapie locale. L'efficacité du traitement pourrait alors être vérifiée par une seconde injection de l'agent théragnostique, les médecins prenant alors la décision ou non de réitérer l'application des ultrasons.

Optimisation des capsules

Nous avons conçu des agents théragnostiques composés d'une coque polymère encapsulant un cœur perfluoré liquide. La présence de la coque de polymère biodégradable permet d'augmenter la stabilité des agents théragnostiques vis-à-vis des ultrasons, tandis que leur cœur perfluoré assure aussi bien leur échogénicité que la possibilité de les observer en IRM du fluor. Dans un premier temps, nous avons optimisé l'encapsulation de bromure de perfluorooctyle (PFOB) liquide dans une coque de poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) biodégradable [1] et biocompatible [2] utilisé très fréquemment pour l'encapsulation de principes actifs [3]. La méthode utilisée pour obtenir ces capsules s'inspire des travaux de Loxley *et coll.* [4]. Il s'agit d'une modification du

procédé d'émulsion-évaporation de solvant à partir d'une émulsion simple phase organique dans l'eau. La phase organique est un mélange de PLGA, de dichlorométhane et de PFOB. Pour obtenir la formation des capsules, la phase organique est émulsifiée dans une solution aqueuse de tensioactifs, et le dichlorométhane est ensuite évaporé sous pression réduite. Comme le PFOB est peu miscible avec le dichlorométhane, la composition des gouttes d'émulsion atteint rapidement la binodale et on observe une séparation de phase entre la phase polymère riche en dichlorométhane et la phase fluorée. Dans le meilleur des cas, le polymère précipite à l'interface et forme la coque solide qui encapsule le cœur liquide. En effet, l'obtention de capsules n'est pas aussi facile que l'on peut le penser et dépend des tensions interfaciales du système comme proposé par Torza et Mason [5-6], mais aussi de l'organisation interfaciale du polymère et du tensioactif utilisé pour stabiliser l'émulsion [7]. Selon les cas, il est possible d'obtenir différentes morphologies : capsules, double-goutte ou coexistence des deux (figure 1).

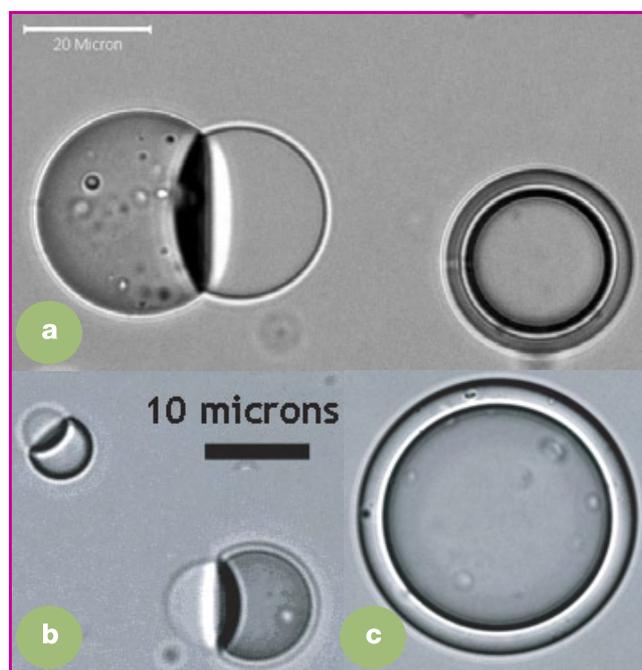


Figure 1 - Exemples des morphologies obtenues avec différents tensioactifs (alcool polyvinylique (a), taurocholate de sodium (b) et cholate de sodium (c)).

Nous avons finalement choisi d'utiliser le cholate de sodium comme tensioactif, ce qui nous a permis d'obtenir des microcapsules sphériques avec un cœur de bromure de perfluorooctyle et une coque de polymère d'une épaisseur homogène. La microscopie confocale a confirmé que les cavités sont bien concentriques dans les particules et que l'épaisseur de la coque est homogène pour chaque particule. En outre, la taille des capsules peut être modulée entre 70 nm et 6 microns en faisant varier la puissance mise en œuvre lors de l'émulsion, sans modifier la morphologie (figure 2).

Nous avons observé expérimentalement que le rapport entre l'épaisseur de la coque (T) et le rayon (R) dépend seulement des proportions PFOB/PLGA et que la gamme de rapport épaisseur sur rayon (T/R) qu'il est possible d'obtenir est comprise entre 0,25 et 1, aussi bien pour les microcapsules que pour les nanocapsules [8].

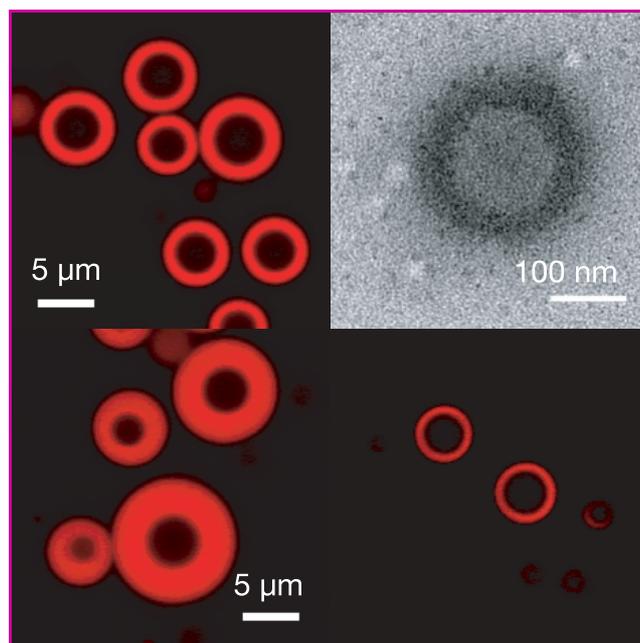


Figure 2 - Haut : suspension de capsules observée par microscopie confocale (à gauche ; le PLGA apparaît en rouge) et microscopie électronique à transmission (à droite). Bas : images de microscopie confocale de microcapsules préparées avec le même volume de PFOB et différentes masses de PLGA : 0,5 g (à gauche) et 0,04 g (à droite).

Évaluation ultrasonore

Les propriétés échogéniques des nanocapsules de 150 nm ont été évaluées *in vitro* en collaboration avec le laboratoire d'imagerie paramétrique (Vladimir Urbach et Nicolas Taulier, LIP, UMR CNRS 7623) via la mesure du rapport signal sur bruit qui permet de quantifier l'échogénicité. Plus les capsules sont fines (*i.e.* plus T/R est petit), plus elles sont échogènes (figure 3).

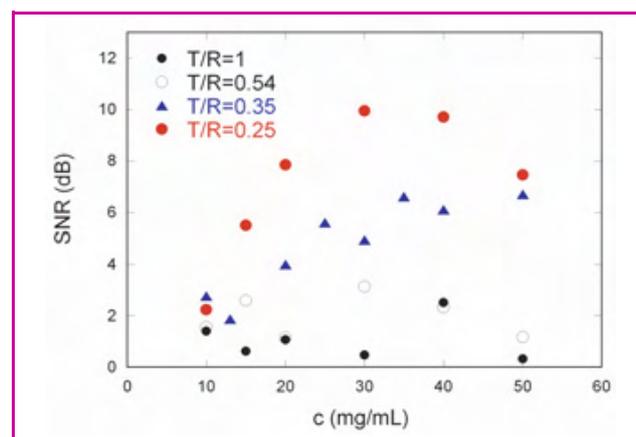


Figure 3 - Influence du rapport épaisseur de la coque sur rayon (T/R) sur le rapport signal sur bruit (SNR) pour des nanocapsules de 150 nm.

Les nanocapsules ont ensuite été injectées en intraveineuse chez la souris (T/R = 0,35, 50 mg.mL⁻¹, 200 µL) dans le but de visualiser la vascularisation, puis le foie dans lequel elles s'accumulent (collaboration avec Lori Bridal, LIP, UMR CNRS 7623). En effet, lorsqu'elles sont administrées par voie intraveineuse, les nanocapsules interagissent avec les protéines plasmatiques en raison de leur hydrophobie et de



Figure 4 - Images ultrasonographiques du foie d'une souris avant (à gauche) et après (à droite) injection intraveineuse de 200 µL d'une suspension de nanocapsules (150 nm, T/R = 0,35, 50 mg.mL⁻¹). Les flèches signalent la veine cave qui, noire initialement, apparaît plus claire après injection (échographe médical, 7-14 MHz).

leur grande surface spécifique. Certaines des protéines plasmatiques appelées opsonines sont reconnues par des récepteurs spécifiques localisés au niveau des macrophages du système réticulo-endothélial (foie, rate, moelle). Les nanocapsules décorées d'opsonines et circulant dans le sang sont captées principalement par les cellules de Kupffer (macrophages du foie) [9]. Du fait de cette capture par les macrophages, la veine cave sous-hépatique a pu être observée pendant une dizaine de secondes seulement (flèches, *figure 4*). La microvascularisation du foie s'est aussi mise à scintiller mais de manière moins intense. Quant au foie, son échogénicité intrinsèque ne permet pas d'observer l'accumulation des nanocapsules [10]. La brièveté des observations dans la veine cave pourrait aussi provenir d'un effet de dilution.

Modification de la surface des capsules

Afin de modifier la biodistribution des nanocapsules, leur surface a été recouverte de chaînes de polyéthylène glycol (PEG). Leur présence empêche l'adsorption des opsonines par répulsion stérique, ce qui a pour conséquence un temps de résidence vasculaire prolongé : on parle alors de nanocapsules furtives [11]. Leur furtivité favorise la probabilité qu'elles traversent les endothéliums vasculaires de perméabilité accrue comme ceux localisés au niveau des tumeurs. Il est alors possible de tirer avantage de l'effet dit EPR (« enhanced permeation and retention ») pour que les nanocapsules s'accumulent dans les tumeurs solides [12-13].

La modification de la surface des nanocapsules a été obtenue dans un premier temps en introduisant des phospholipides PEGylés dans la phase organique avant l'étape d'émulsion selon une méthode proposée par Fahmy *et coll.* [14]. Les premières expériences de faisabilité ont été réalisées sur des microcapsules et ont montré que la morphologie des capsules était très sensible à la concentration de phospholipides PEGylés. Lorsqu'ils sont en trop forte concentration, leur présence modifie les tensions interfaciales et peut entraîner l'apparition de particules ayant une morphologie en double-goutte (cf. *figure 1*) [15]. La formulation a donc été optimisée pour conserver des nanocapsules d'épaisseur homogène comme celle présentée *figure 2*. L'échogénicité des nanocapsules PEGylées a été vérifiée *in vivo* après injection intratumorale à des souris porteuses de tumeurs du pancréas implantées à partir de la lignée MIA PaCa-2. Ces tumeurs sont suffisamment hypoéchogènes et sont utilisées pour évaluer l'efficacité d'anticancéreux [16]. Les tumeurs initialement noires s'illuminent après injection des nanocapsules, indépendamment de leurs propriétés de surface (*figure 5*).

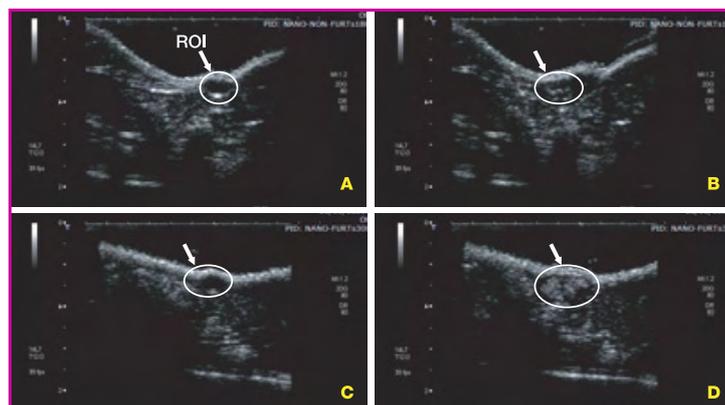


Figure 5 - Images obtenues *in vivo* : tumeurs avant injection (A, C) et après injection de 200 µL à 50 mg.mL⁻¹ d'une suspension de nanocapsules nues (B) ou PEGylées (D). La tumeur correspond à la région d'intérêt (ROI) notée par un cercle.

Les nanocapsules nues et PEGylées ont ensuite été injectées par voie intraveineuse à des souris porteuses de tumeurs du pancréas implantées (200 µL à 50 mg.mL⁻¹). Nous avons observé d'une part la veine cave sous-hépatique juste après injection : comme précédemment, celle-ci s'illumine (cf. *figure 4*). Nous avons d'autre part évalué la prise de contraste des tumeurs au cours du temps. Il nous a été possible d'observer très brièvement quelques spots correspondant au premier passage des nanocapsules dans la microvascularisation tumorale, indépendamment du type de nanocapsules. Aucune prise de contraste n'a été observée dans les tumeurs durant les 24 heures suivant l'injection, temps suffisamment long pour permettre l'accumulation des capsules dans les tumeurs par effet EPR [12-13].

Plusieurs hypothèses sont envisageables pour expliquer l'absence de prise de contraste : soit les capsules ne sont pas assez furtives, sont éliminées rapidement de la circulation et se retrouvent dans les organes du système réticulo-endothélial (foie, rate), soit la concentration de nanocapsules dans la tumeur est insuffisante pour donner du signal, soit les nanocapsules sont trop grosses pour quitter le compartiment vasculaire. Malheureusement, le foie et la rate sont trop échogènes intrinsèquement pour pouvoir espérer détecter un signal supplémentaire provenant des nanocapsules. Nous avons donc marqué les nanocapsules avec du rouge Nil pour pouvoir les détecter par microscopie confocale. Les injections intraveineuses ont alors été répétées et les animaux ont été sacrifiés 24 heures après. Les foies et les tumeurs ont alors été prélevés et fixés avant congélation. Des coupes d'environ 20 microns ont été réalisées au cryostat puis observées au microscope confocal. L'autofluorescence du foie ne permet pas de constater une quelconque différence entre le contrôle (aucune injection), les nanocapsules nues et les nanocapsules PEGylées. En revanche, on observe peu de spots rouges dans les tumeurs contrôles ou celles des souris ayant reçu des nanocapsules nues, tandis que les tumeurs provenant des animaux ayant reçu les nanocapsules PEGylées présentent de nombreux spots rouges correspondant sans doute à une accumulation de nanocapsules PEGylées (*figure 6*). Cette accumulation est encore plus marquée lorsque l'on réalise une superposition de tous les plans de coupe sur la même image.

Ces résultats prouvent que la furtivité des nanocapsules PEGylées est effective *in vivo* puisque contrairement aux capsules nues, elles s'accumulent dans les tumeurs implantées par effet EPR. En revanche, leur concentration n'est pas

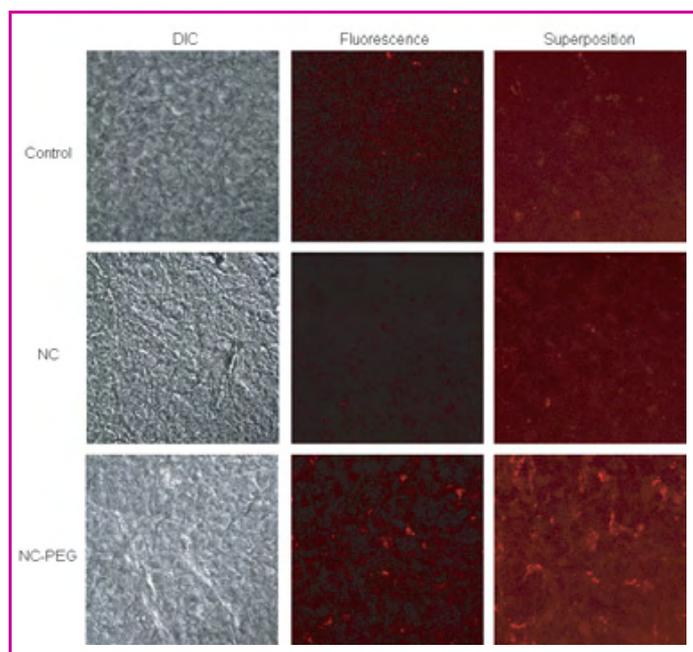


Figure 6 - Images de microscopie confocale des coupes de tumeurs d'une souris contrôle (control), d'une souris ayant reçu une injection intraveineuse de nanocapsules nues (NC) ou PEGylées (NC-PEG).

Les images font toutes 146,5 par 146,5 microns. DIC correspond au contraste interférentiel qui permet de vérifier que le tissu est en bon état. Confocal correspond à une coupe typique d'environ 1 micron d'épaisseur. Quant à la superposition, il s'agit de la superposition sur une même image de toutes les coupes confocales réalisées sur une épaisseur de 20 microns. Ces images sont représentatives de six coupes de tumeur par souris obtenues sur cinq animaux distincts.

suffisante pour permettre la prise de contraste en ultrasonographie [17]. Cette concentration insuffisante pourrait provenir d'une couverture insuffisante par les chaînes de PEG. Un autre mode de PEGylation est donc envisagé pour améliorer la couverture de la surface des nanocapsules.

Potentiel en IRM du fluor ^{19}F

Parallèlement à ces études ultrasonographiques, le potentiel des nanocapsules en tant qu'agent de contraste pour l'IRM du fluor ^{19}F a ensuite été évalué. Bien que l'IRM du proton ^1H soit la plus fréquente, l'IRM du fluor ^{19}F présente certains avantages. Le fluor ^{19}F est naturellement abondant et possède des propriétés magnétiques proches de celle du proton. De plus, le fluor est principalement présent dans le corps au niveau des os et des dents et ce fluor endogène est difficile à détecter *in vivo* [18]. L'injection d'agents fluorés exogènes est donc intéressante car ces agents peuvent être observés sans interférences [19-23]. Le spectre RMN ^{19}F du PFOB est caractérisé par sept pics dont le plus intense correspond au groupement CF_3 (décalage chimique de 83,4 ppm). L'encapsulation du PFOB dans les capsules de PLGA ne modifie pas la position des pics, prouvant que le PFOB n'interagit pas avec le PLGA et qu'il est protégé de l'environnement externe. Les temps de relaxation caractéristiques ne sont pas non plus modifiés par l'encapsulation. En IRM du ^{19}F , *in vitro*, le PFOB pur a pu être observé rapidement en 8 minutes (figure 7, A insert) et les nanocapsules ($c = 50 \text{ mg/mL}$) en 8 et 34 minutes (figure 7, A et B). Ces temps d'acquisition sont du même ordre que ceux rapportés dans la littérature [20-23]. Ces études ont été réalisées en collaboration avec Brigitte Gillet (ICSN, UPR

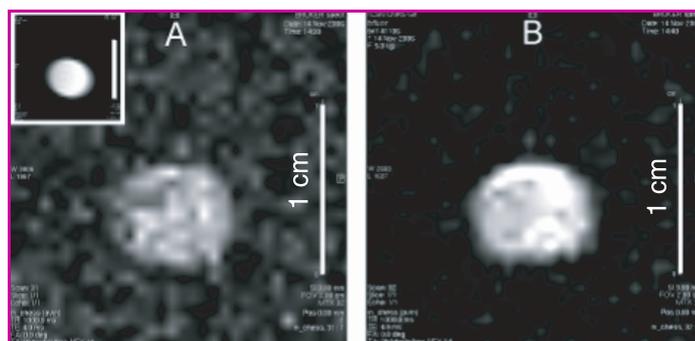


Figure 7 - Images obtenues en IRM du ^{19}F du PFOB pur (A, insert, 8 min) et des nanocapsules (50 mg/mL : A, 8 min ; B, 34 min).

CNRS 2301), Bich-Thuy Doan et Jean-Claude Beloeil (CBM, UPR CNRS 4301).

Le potentiel des nanocapsules pour l'IRM du fluor ^{19}F reste à évaluer *in vivo* après administration chez l'animal. Ce travail sera réalisé en collaboration avec Céline Giraudeau et Julien Valette (CEA, Neurospin). L'IRM du fluor à haut champ disponible à Neurospin devrait nous permettre de réaliser une biodistribution des nanocapsules furtives chez la souris porteuse de tumeurs implantées.

Conclusion

Nous avons optimisé l'encapsulation de bromure de perfluorooctyle (PFOB) dans des capsules de polymère biodégradable utilisé très fréquemment pour l'encapsulation de principes actifs, en jouant sur des paramètres physico-chimiques tels que la tension interfaciale. Ces nanocapsules possèdent un fort potentiel comme agents théranostiques pour l'ultrasonographie et l'IRM de fluor. Leur biodistribution après injection intraveineuse reste à optimiser pour favoriser leur accumulation dans les tumeurs solides. L'encapsulation au sein de ces agents théranostiques d'un anticancéreux dont la libération pourrait être modulée par l'application d'ultrasons est en cours. Ce système pourrait permettre de réaliser des chimiothérapies ciblées et ainsi de minimiser les doses d'anticancéreux injectées et *a fortiori* les effets secondaires pour les patients.

Remerciements

L'auteur remercie l'ensemble des doctorants, post-doctorants et collaborateurs qui ont contribué à l'obtention de ces résultats. Que soient aussi remerciés le CNRS, l'Université Paris-Sud, l'ANR et la Fondation de l'Avenir pour leur soutien financier.

Références

- [1] Reed A.M., Gilding D.K., Biodegradable polymers for use in surgery – poly(glycolic)/poly(lactic acid) homo and copolymers: *in vitro* degradation, *Polymer*, **1981**, 22(4), p. 494.
- [2] Yamaguchi K., Anderson J.M., *In vivo* biocompatibility studies of Medisorb 65/35 D,L-lactide/glycolide copolymer microspheres, *J. Control. Release*, **1993**, 24, p. 81.
- [3] Gomez-Gaete C., Tsapis N., Besnard M., Bochet A., Fattal E., Encapsulation of dexamethasone into biodegradable polymeric nanoparticles, *Int. J. Pharm.*, **2007**, 331(2), p. 153.
- [4] Loxley A., Vincent B., Preparation of poly(methylmethacrylate) microcapsules with liquid cores, *J. Colloid Interface Sci.*, **1998**, 208(1), p. 49.
- [5] Torza S., Mason S.G., Coalescence of two immiscible liquid drops, *Science*, **1969**, 163(3869), p. 813.
- [6] Torza S., Mason S.G., Three-phase interactions in shear and electrical fields, *J. Colloid Interface Sci.*, **1970**, 33(1), p. 67.

- [7] Pisani E., Fattal E., Paris J., Ringard C., Rosilio V., Tsapis N., Surfactant dependent morphology of polymeric capsules of perfluorooctyl bromide: influence of polymer adsorption at the dichloromethane-water interface, *J. Colloid Interface Sci.*, **2008**, 326(1), p. 66.
- [8] Pisani E., Tsapis N., Paris J., Nicolas V., Cattel L., Fattal E., Polymeric nano/microcapsules of liquid perfluorocarbons for ultrasonic imaging: physical characterization, *Langmuir*, **2006**, 22(9), p. 4397.
- [9] Andrieux K., Desmaële D., D'Angelo J., Couvreur P., Nanotechnologies et nouveaux médicaments, *L'Act. Chim.*, **2003**, 11-12, p. 135.
- [10] Pisani E., Tsapis N., Galaz B., Santin M., Berti R., Taulier N., Kurtisovski E., Lucidarme O., Ourevitch M., Doan B.-T., Beloeil J.-C., Gillet B., Urbach W., Bridal S.L., Fattal E., Perfluorooctyl bromide polymeric capsules as dual contrast agents for ultrasonography and magnetic resonance imaging, *Adv. Funct. Materials*, **2008**, 8, p. 9.
- [11] Lasic D.D., Martin F.J., Gabizon A., Huang S.K., Papahadjopoulos D., Sterically stabilized liposomes: a hypothesis on the molecular origin of the extended circulation times, *Biochim. Biophys. Acta (BBA) - Biomembranes*, **1991**, 1070(1), p. 187.
- [12] Maeda H., The enhanced permeability and retention (EPR) effect in tumor vasculature: the key role of tumor-selective macromolecular drug targeting, *Advan. Enzyme Regul.*, **2001**, 41, p. 189.
- [13] Yuan F., Dellian M., Fukumura D., Leunig M., Berk D.A., Torchilin V.P., Jain R.K., Vascular permeability in a human tumor xenograft: molecular size dependence and cutoff size, *Cancer Research*, **1995**, 55(17), p. 3752.
- [14] Fahmy T.M., Samstein R.M., Harness C.C., Saltzman W.M., Surface modification of biodegradable polyesters with fatty acid conjugates for improved drug targeting, *Biomaterials*, **2005**, 26(28), p. 5727.
- [15] Diaz-Lopez R., Tsapis N., Libong D., Chaminade P., Connan C., Chehimi M.M., Berti R., Taulier N., Urbach W., Nicolas V., Fattal E., Phospholipid decoration of microcapsules containing perfluorooctyl bromide used as ultrasound contrast agents, *Biomaterials*, **2009**, 30(8), p. 1462.
- [16] Derosier L.C., Vickers S.M., Zinn K.R., Huang Z., Wang W., Grizzle W.E., Sellers J., Stockard C.R. Jr., Zhou T., Oliver P.G., Arnoletti P., Lobuglio A.F., Buchsbaum D.J., TRA-8 anti-DR5 monoclonal antibody and gemcitabine induce apoptosis and inhibit radiologically validated orthotopic pancreatic tumor growth, *Mol. Cancer Ther.*, **2007**, 6(12 Pt 1), p. 3198.
- [17] Diaz-Lopez R., Tsapis N., Santin M., Bridal S.L., Nicolas V., Jaillard D., Libong D., Chaminade P., Marsaud V., Vauthier C., Fattal E., The performance of PEGylated nanocapsules of perfluorooctyl bromide as an ultrasound contrast agent, *Biomaterials*, **2010**, 31(7), p. 1723.
- [18] Code R.F., Harrison J.E., Mcneil K.G., Szykowski M., *In vivo* F-19 spin relaxation in index finger bones, *Magnetic Resonance in Medicine*, **1990**, 13(3), p. 358.
- [19] Lanza G.M., Winter P.M., Neubauer A.M., Caruthers S.D., Hockett F.D., Wickline S.A., H-1/F-19 magnetic resonance molecular imaging with perfluorocarbon nanoparticles, *Current Topics in Developmental Biology*, **2005**, 70, p. 57.
- [20] Fan X.B., River J.N., Muresan A.S., Popescu C., Zamora M., Culp R.M., Karczmar G.S., MRI of perfluorocarbon emulsion kinetics in rodent mammary tumours, *Physics in Medicine and Biology*, **2006**, 51(2), p. 211.
- [21] Wolf U., Scholz A., Heussel C.P., Markstaller K., Schreiber W.G., Subsecond fluorine-19 MRI of the lung, *Magnetic Resonance in Medicine*, **2006**, 55(4), p. 948.
- [22] Ahrens E.T., Flores R., Xu H.Y., Morel P.A., *In vivo* imaging platform for tracking immunotherapeutic cells, *Nature Biotechnology*, **2005**, 23(8), p. 983.
- [23] Du W., Nystrom A.M., Zhang L., Powell K.T., Li Y., Cheng C., Wickline S.A., Wooley K.L., Amphiphilic hyperbranched fluoropolymers as nanoscopic 19F magnetic resonance imaging agent assemblies, *Biomacromolecules*, **2008**, 9(10), p. 2826.



© CNRS Photothèque/S. Godéfray.

Nicolas Tsapis

est chargé de recherche CNRS à la Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry*. Ses travaux lui ont valu la **Médaille de bronze du CNRS en 2009**.

* Physicochimie-Pharmacotechnie-Biopharmacie, UMR CNRS 8612, Faculté de Pharmacie, 5 rue Jean-Baptiste Clément, F-92296 Châtenay-Malabry.
Courriel : nicolas.tsapis@u-psud.fr

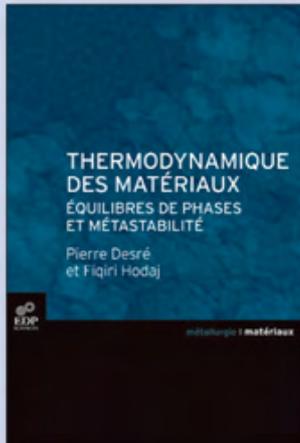
Thermodynamique des matériaux

Équilibres de phases et métastabilité

Pierre Desré et Fiqiri Hodaj

Les propriétés thermodynamiques de la matière conditionnent l'élaboration, l'utilisation et le comportement en service des matériaux.

Cet ouvrage reprend les concepts de base de la thermodynamique et montre la richesse de ses applications à travers les efforts de recherches qui ont constitué les 40 années du Laboratoire de Thermodynamique et Physico-Chimie Métallurgiques (LTPCM), devenu depuis 2006 le laboratoire de Science et Ingénierie des Matériaux et Procédés (SIMAP).



Le développement de la thermodynamique au LTPCM, basé initialement sur l'étude des phases volumiques, s'est étendu vers l'étude des surfaces et interfaces, aux transformations de phases, aux phénomènes de métastabilité et plus récemment aux nanomatériaux.

L'objectif de cet ouvrage est d'une part l'initiation à l'étude thermodynamique des transformations physiques et chimiques de la matière inorganique et aux équilibres stables et métastables qu'elles engendrent et d'autre part, à l'étude des propriétés thermodynamiques et physico-chimiques des surfaces et interfaces ; celles-ci limitant des phases étendues ou de très petites dimensions.

Collection "Science des Matériaux" - Parution 2010
978-2-7598-0427-6 / 408 pages / 49 €

www.edpsciences.org



BON DE COMMANDE
à renvoyer à :
EDP Sciences - BP 112
91944 Les Ulis Cedex A

| Titre | | Prix SCF | | Quantité | Total | |
|-------------------------------|---------|----------|----------|----------|------------------|-----------|
| Thermodynamique des matériaux | | 46,55 € | | X | = € | |
| Frais de port* | 1 livre | 2 livres | 3 livres | 4 livres | 5 livres ou plus | + € |
| France métropolitaine | +4 € | +5 € | +6 € | +7 € | Gratuit | |
| DOM et Europe | +7 € | +9 € | +11 € | +13 € | | |
| TOM et reste du monde | +9 € | +12 € | +15 € | +18 € | | |
| TOTAL GÉNÉRAL | | | | | | = € |

* Aucune commande ne pourra être expédiée sans ajout des frais de port.

Nom / Prénom :
Adresse :
Tél :
Code Postal : Ville : Pays :

Paiement au choix : par chèque à l'ordre d'EDP Sciences (à joindre à la commande)
 par carte bancaire : Visa Eurocard American Express
N° de carte :
Date d'expiration : / CCV (3 derniers chiffres au dos de la carte) :

Date : / /
Signature :

AC_Sep2010

Les marchés de l'hydrogène industriel français

Situation en 2008 et perspectives

Alain Le Duigou et Marianne Miguet

| | |
|------------------|--|
| Résumé | Qu'en est-il de la situation actuelle de l'hydrogène utilisé à des fins chimiques en France et quels sont ses perspectives d'évolution, ne serait-ce qu'à moyen terme (2030) ? Cet article rapporte les analyses et conclusions d'une étude conduite par le CEA dans le cadre d'un projet collaboratif, après enquête menée notamment auprès des industriels du secteur. |
| Mots-clés | Hydrogène, industrie, marchés, perspectives. |
| Abstract | The French hydrogen industrial markets: current situation and outlook This paper reports the analysis and conclusion of a study carried out near producers regarding the current situation and the outlook up to 2030 of the French hydrogen industrial markets. |
| Keywords | Hydrogen, industry, markets, prospects. |

Si l'hydrogène fait aujourd'hui l'objet de beaucoup d'attention et de publications, c'est que son utilisation en tant que « vecteur énergétique » dans les piles à combustible pour des applications mobiles et stationnaires peut représenter à terme (2030-2050) un marché potentiel très important. Ainsi, les évaluations prospectives de développement de l'hydrogène énergie réalisées lors de la dernière décennie montrent des taux de pénétration du marché automobile mondial à l'horizon 2050 pouvant aller jusqu'à 40 % [1], voire 70 % dans certaines conditions [2], ce qui reviendrait en gros à devoir globalement doubler la production actuelle et à la multiplier par au moins cinq dans les régions les plus industrialisées comme l'Europe ou les États-Unis qui comptent une voiture particulière pour deux habitants. Notre pays, acteur important de la R & D dans le domaine, est ainsi largement concerné par de tels bouleversements. Mais qu'en est-il de la situation actuelle de l'hydrogène utilisé à des fins chimiques en France et de ses perspectives d'évolution, ne serait-ce qu'à moyen terme (2030) ? C'est ce qu'a analysé une étude conduite par le CEA en 2009 et cofinancée par l'ADEME, dans le cadre du projet collaboratif HyFrance3 [3] réunissant dix partenaires (ADEME (Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie), AFH2 (Association Française de l'Hydrogène), CNRS, IFP, Air Liquide, EDF, GDF Suez, Total, ALPHEA (pôle de compétences sur l'hydrogène et ses applications) et CEA – coordinateur), en se fondant certes sur les données disponibles dans la littérature, mais surtout au travers d'une enquête la plus large possible auprès des industriels du secteur.

L'hydrogène aujourd'hui : secteurs industriels et usages

Deux applications principales de l'hydrogène industriel se partagent aujourd'hui le marché à parts à peu près égales : le raffinage (désulfuration des produits et conversion des coupes lourdes) et la chimie (ammoniac principalement, mais également méthanol, HMDA

(hexaméthylène diamine), THF (tétrahydrofurane), H₂O₂, aniline), ainsi que la métallurgie, l'agroalimentaire et l'industrie du verre. Actuellement, la production mondiale d'hydrogène à des fins industrielles est d'environ 60 Mt (dont environ 14 % en Europe et 1 % en France) [4-5], et on s'attend à une forte progression à court terme (+ 4 %/an environ). Par ailleurs, on notera que les besoins de l'industrie sont pratiquement entièrement couverts par des productions sur les sites mêmes, ou à proximité par des fournisseurs de gaz industriel ; l'hydrogène est ainsi peu transporté.

Il convient de préciser quelques notions largement utilisées au cours de cette étude : on y distingue l'hydrogène volontairement produit – le plus souvent sur le site industriel par l'entreprise qui le consomme (hydrogène dit « captif ») ou par un gazier industriel (hydrogène dit « marchand », qui peut également être transporté depuis un site de production éloigné) – de l'hydrogène résultant d'un procédé non dédié à sa production (hydrogène dit « coproduit ») et qui est généralement soit réutilisé dans d'autres procédés (quelquefois même revendu), soit brûlé ou éventé.

L'hydrogène est très majoritairement produit à partir de combustibles fossiles (plus de 95 % au niveau mondial). La *figure 1*, établie d'après les références [4] et [6], montre une répartition légèrement différente pour l'Europe : part plus importante (12 % au lieu de 4) prise par la coproduction par l'industrie du chlore (électrolyse), au contraire de l'utilisation du charbon (5 % en Europe pour près de 18 % dans le monde). Plus de 80 % de la production est réalisée par SMR (« steam methane reforming ») – reformage du méthane pour les productions captive et marchande – et à partir de pétrole – coproduction directement réutilisée dans le raffinage. La répartition de la consommation d'hydrogène par secteur au niveau européen est illustrée par la *figure 2* [4, 6] Cette répartition est similaire au niveau mondial. Les premiers consommateurs sont les raffineries (près de 50 % de la consommation), suivis par les producteurs d'ammoniac (près de 40 %). Les autres domaines, plus minoritaires, sont ceux de la production de méthanol, de la

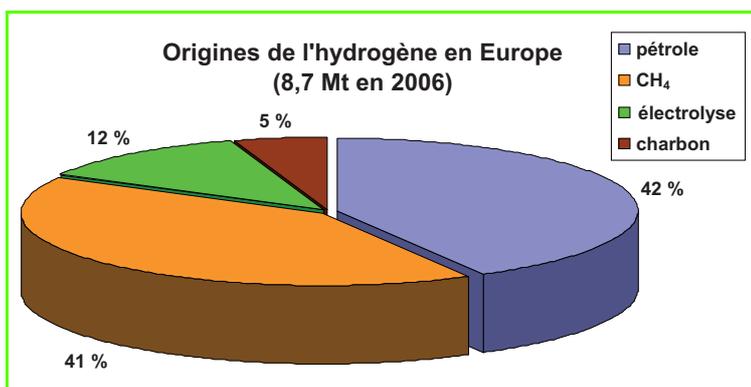


Figure 1 - Répartition des matières premières utilisées pour la production d'hydrogène en Europe en 2006 (d'après [4] et [6]).

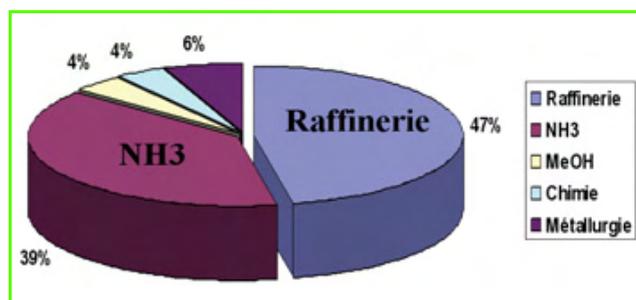


Figure 2 - Répartition globale de la consommation d'hydrogène en Europe en 2006 (d'après [4] et [6]).

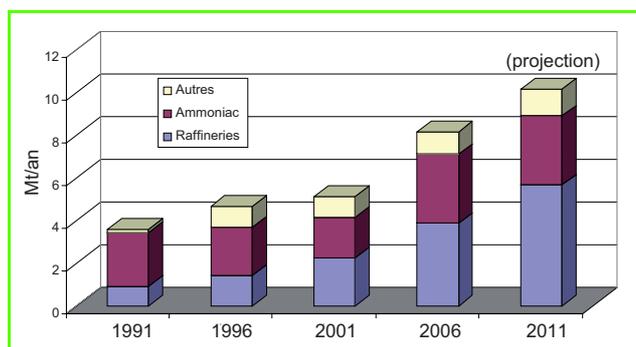


Figure 3 - Évolution par secteurs de la consommation d'hydrogène en Europe sur les vingt dernières années (en Mt/an).

chimie (hors méthanol et ammoniac) et de la métallurgie. La *figure 3* montre l'évolution de la consommation d'hydrogène en Europe, avec une projection jusqu'en 2011, selon les études précédemment citées mais également d'autres sources [7-9]. Les valeurs fournies pour la France se situent entre 600 000 et 700 000 t/an pour les années 2005-2007, avec dans tous les cas plus de 50 % d'hydrogène captif, de 23 à 32 % d'hydrogène coproduit et 16 % ou moins d'hydrogène marchand. L'hydrogène coproduit en sidérurgie n'est que partiellement, voire pas du tout, pris en compte dans ces études.

Situation actuelle de l'hydrogène en France

L'analyse de la situation nationale s'est essentiellement fondée sur une enquête (sous forme de questionnaire) effectuée entre février et juin 2009 auprès des industriels des

secteurs concernés, dont la liste la plus complète possible a été établie au moyen des données bibliographiques existantes [4-6] et de compléments d'informations obtenus lors des divers contacts. Des experts de l'Agence nationale de la recherche (ANR), de la Société Française de Génie des Procédés (SFGP) et de l'ADEME ont également été contactés [10-12]. Les réponses ont été classées suivant les définitions d'hydrogène « captif », « marchand » et « coproduit » décrites ci-dessus. On a en particulier cherché à identifier le plus précisément possible la part de l'hydrogène coproduit utilisée sous forme énergétique, c'est-à-dire lorsqu'il est brûlé, afin de quantifier les quantités potentiellement récupérables pour d'autres applications (cela suppose bien entendu que l'on devrait dans ce cas lui substituer une autre source d'énergie) : hydrogène ici nommé CPS (coproduit potentiellement substituable).

Les industriels suivants ont été contactés : Acetex, Air Liquide, ArcelorMittal, Arkema, Comurhex, Eka Chemicals, Esso, GPN, Ineos, Linde, Lyondellbasell, Naphtachimie, PEC-Rhin, Perstorp, Petroplus, Polimeri Europa, PPC, Produits Chimiques de Loos, Saint-Gobain, Solvay Electrolyse, SPCH, Total, Yara, ainsi que StatoilHydro (NorskHydro) et IHT (ces deux derniers en tant que producteurs par électrolyse de l'eau). Une proportion très importante des industriels contactés a répondu (21 sur 23, réponses individuelles conservées par le CEA), partiellement ou complètement, ce qui représente environ 87 % en masse de la quantité totale d'hydrogène produite et consommée (d'après cette étude). En cas d'absence de réponse, les données de la littérature ont été conservées. Enfin, certaines valeurs ont pu être consolidées par des données sur les consommations de méthane (CH₄) fournies par GDF Suez. Les résultats fournis ici, ainsi que dans le cadre du projet HyFrance3, sont regroupés par secteurs industriels afin de préserver la confidentialité des informations fournies par chaque entreprise. Le paysage de l'hydrogène est rendu complexe par des transferts de secteurs producteurs à secteurs consommateurs ; les résultats de l'enquête sont donc présentés en distinguant la production de la consommation – ce qui permet notamment de mettre en évidence la part prise par l'hydrogène utilisé à des fins énergétiques (CPS) –, avant d'en montrer les liens. Le bilan GES (gaz à effet de serre) des méthodes de production a également été évalué.

L'étude a enfin abordé les perspectives d'évolution à l'horizon 2020/2030 des divers marchés de l'hydrogène, en particulier celui de la production d'engrais azotés (utilisation d'ammoniac), ainsi que celui d'une possible utilisation dans les opérations de réduction du minerai pour la sidérurgie (en remplacement du coke).

Production d'hydrogène captif, marchand et coproduit en France

La production totale d'hydrogène en France est d'environ 920 000 t/an d'après cette enquête. Il s'agit du bilan de l'année 2008, qui montre une augmentation sensible par rapport aux bilans des années 2006 et 2007 fournis plus haut, augmentation qui s'explique principalement d'une part par la comptabilisation des gaz de cokerie, représentant déjà à eux seuls 127 000 t/an d'hydrogène, d'autre part par la mise à jour des valeurs et de la liste des sites (certains sont absents des études précédentes), et enfin par quelques augmentations dans certains secteurs.

La *figure 4* montre la partition en hydrogène captif, marchand et coproduit. On note la nette prédominance de la production d'hydrogène coproduit (près de 60 % du total), à l'inverse de ce que montraient les précédentes études. Cela est dû à la classification en « coproduit », et non en « captif », de l'hydrogène produit dans des opérations de raffinage (qui nécessitent par ailleurs un apport complémentaire d'hydrogène volontairement produit, classé en « captif » ou en « marchand » suivant les cas), classification qui apparaît également dans une étude américaine récente du Department of Energy (DOE) [13].

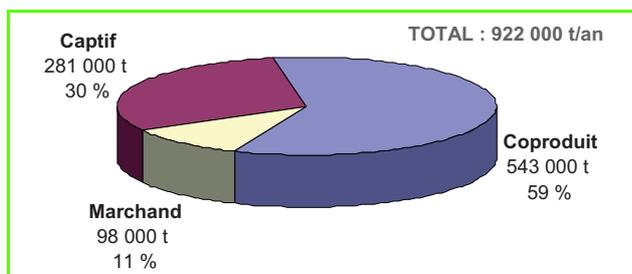


Figure 4 - Bilan et répartition de l'hydrogène captif, coproduit et marchand produit en France en 2008 (d'après les données bibliographiques et les contacts).

La répartition par secteurs industriels est illustrée par la *figure 5*. Comme au niveau mondial et européen, le premier producteur est le pétrole (raffinage et pétrochimie), suivi par l'ammoniac (NH_3), la production marchande et celle de la sidérurgie (gaz de cokerie). Le plus petit producteur est l'industrie du chlore. L'hydrogène coproduit correspond aux secteurs du chlore, de la cokerie et de la pétrochimie (éthylène, acétylène, styrène). Le secteur de la raffinerie assure à la fois une production d'hydrogène coproduit et d'hydrogène captif. L'hydrogène volontairement produit, captif et marchand, correspond aux secteurs de l'ammoniac, de la chimie (la France ne produit pas de méthanol) et de la métallurgie.

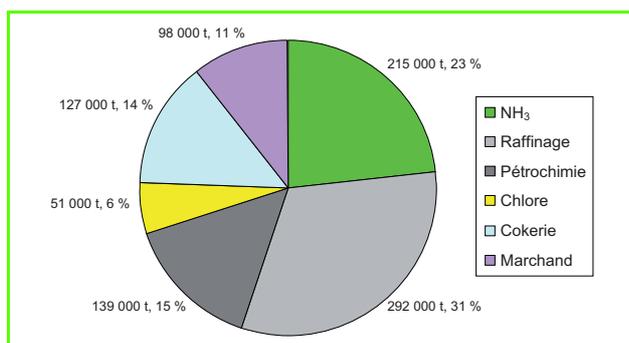


Figure 5 - Répartition de la production annuelle d'hydrogène par secteurs en France.

La *figure 6* montre la répartition des matières premières utilisées, volontairement (gaz naturel) ou non (coproduction), dans la production d'hydrogène en France. La coproduction provient de l'utilisation du coke (production de gaz de cokerie), du recours à l'électrolyse (chlore et chlorate de sodium) et du pétrole (raffinage et pétrochimie). La production captive et marchande se fait en général par SMR, donc avec du gaz naturel. Un peu plus de 5 000 t/an sont produites à partir d'oxydation partielle (comptabilisée avec le gaz naturel dans le graphique). Une très faible quantité est produite à partir d'électrolyse de l'eau.

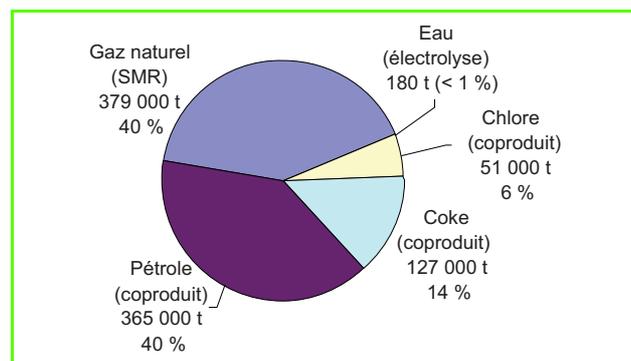


Figure 6 - Matières premières utilisées dans la production d'hydrogène en France (hydrogène captif, marchand, coproduit).

Consommation d'hydrogène en France

L'hydrogène est le plus souvent utilisé là où il est produit, car il est plus aisé de transporter le gaz naturel que l'hydrogène pour le reformer sur le lieu de consommation. Par ailleurs, les échanges frontaliers sont très réduits (données INSEE et Douanes), tout au plus quelques centaines de tonnes par an, ce qui permet de dire qu'au niveau national, les quantités produites sont égales aux quantités consommées.

Les raffineries sont les plus gros consommateurs ; leur hydrogène vient de leur propre coproduit et de celui de la pétrochimie, de leurs unités captives et du marchand. Les consommations de la pétrochimie (hydrogénation) sont négligeables et ont été classées dans la partie raffinerie. L'ammoniac consomme très majoritairement de l'hydrogène captif. Le CPS provient de l'industrie de production du chlore, des gaz de cokerie et du pétrole (raffinage et pétrochimie). La chimie recouvre à la fois l'utilisation du coproduit des chloriers (par exemple la production de peroxyde d'hydrogène par Arkema) et la consommation d'hydrogène marchand par divers chimistes (par exemple Rhodia qui produit du HMDA, utilisé pour le nylon). La métallurgie consomme de l'hydrogène marchand, mais comme pour le spatial, les quantités sont faibles. On obtient alors les répartitions montrées dans la *figure 7*, suivant que l'on considère ou non la part CPS qui se répartit de la manière suivante : un total de 237 000 t/an qui se décompose en 127 000 t issues du secteur de la sidérurgie, 82 000 t issues du secteur du pétrole et 28 000 t issues du secteur de la chimie. La quantité totale de CPS est ainsi très importante : 44 % de tout l'hydrogène coproduit, ou le quart de la production d'hydrogène toutes origines confondues. Dans le cas du raffinage, la teneur en hydrogène CPS des mélanges est faible ; il n'est donc pas, pour des raisons de coûts, récupérable pour d'autres applications que celles auxquelles il est destiné aujourd'hui dans le procédé (principalement brûlé en tant que « fuel gas »). Dans tous les cas, la teneur en impuretés ainsi que le type d'impuretés seront déterminants pour l'usage que l'on veut en faire – les conditions technico-économiques d'une récupération n'ont pas été abordées dans cette étude. Cette notion de CPS n'est pas nouvelle : dans le projet européen Roads2HyCom [14], une évaluation de l'hydrogène coproduit en Europe a été réalisée ; la part potentiellement récupérable, et par conséquent remplaçable par une autre source d'énergie, suivant une définition similaire à la nôtre (il est question de « surplus »), a été évaluée entre 10 et 20 % de l'hydrogène coproduit.

Bilan des échanges entre production et consommation

Une comparaison des répartitions, par secteurs, de la consommation et de la production d'hydrogène est intéressante sur le plan des flux d'hydrogène : quel producteur pour quel consommateur ? La pétrochimie est elle aussi consommatrice d'hydrogène, mais cela concerne de très faibles quantités par rapport à la raffinerie ; sa consommation a donc été incluse avec cette dernière. La *figure 8* et le *tableau 1* montrent les répartitions et les liens entre la production et la consommation d'hydrogène en France. Concernant le secteur raffinage + pétrochimie (le plus complexe) : sur les 473 000 t/an d'hydrogène consommées, 124 000 t sont volontairement produites (66 000 t sur place en captif et 58 000 t achetées à des gaziers industriels – hydrogène marchand), principalement par SMR, et 349 000 t sont issues de coproduction.

En ce qui concerne la coproduction par les gaz de cokerie (gaz de coke – le seul présentant un taux d'hydrogène significatif –, gaz des hauts fourneaux, gaz d'aciérie), l'hydrogène qu'ils contiennent n'est pas aujourd'hui récupéré pour une utilisation chimique ; il est utilisé en tant que « vent chaud » et brûlé [15]. La pertinence de sa récupération est évaluée dans le projet japonais COURSE50 [15], principalement pour réutilisation (après traitement approprié) dans le procédé de réduction du minerai. La totalité de l'hydrogène coproduit ne pourrait cependant assurer qu'une petite partie des opérations de réduction du minerai, et il faudrait en parallèle assurer par une autre voie les rôles thermique et thermo-aérodynamique dévolus aujourd'hui aux gaz de cokerie. Tout comme dans le projet japonais METI [16], Fred Joseck *et coll.* (Argonne National Laboratory) [17] ont de leur côté analysé l'ensemble du procédé de récupération de l'hydrogène coproduit par les gaz de cokerie pour une utilisation en pile à combustible, en établissant en particulier un bilan des émissions de gaz à effet de serre (CO₂, CH₄ et N₂O) du puits à la roue ; d'après les auteurs, ces dernières resteraient inférieures à celles qui seraient produites par reformage de gaz naturel.

Bilan des émissions de gaz à effet de serre de la production d'hydrogène

Les deux principaux procédés de production volontaire d'hydrogène, par SMR et par électrolyse alcaline, ont été évalués et comparés en termes d'émissions de gaz à effet de serre. Le *tableau II* présente les émissions de CO₂ équivalent, ou de CO₂, par kg d'hydrogène produit, ainsi que la puissance nécessaire à l'électrolyse (kWh), suivant le projet PROTEC-H2 [1], qui se fonde sur les données de l'IFP et de la base H2A [18], des publications du NREL (National Renewable Energy Laboratory) [19-20] et sur le projet européen INNOHYP-CA [21]. Selon [19] et [21], une proportion modeste, comprise entre 7 et 16 %, du gaz naturel entrant dans le SMR est utilisée à des fins énergétiques (réactions endothermiques, vaporisation de l'eau).

Si les émissions pour le procédé SMR sont assez semblables entre les diverses sources bibliographiques, celles dues à l'utilisation de l'électrolyse alcaline dépendent

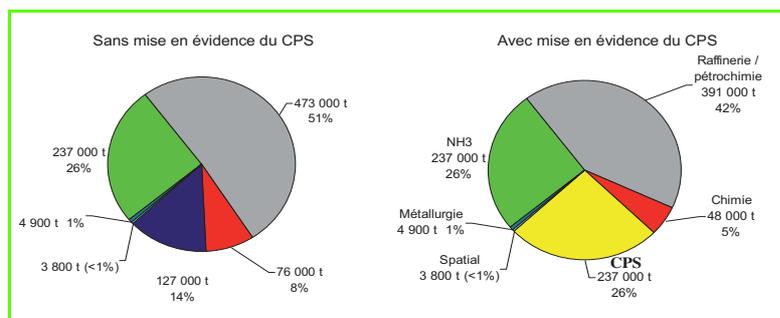


Figure 7 - Répartition de la consommation d'hydrogène (en t/an), avec mise en évidence de la part prise par le « CPS ».

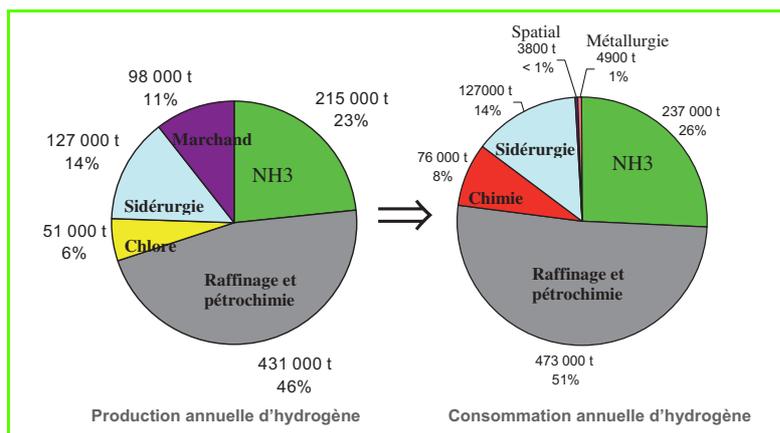


Figure 8 - Répartitions et liens entre la production et la consommation d'hydrogène en France (t/an).

Tableau I - Flux d'hydrogène circulant des producteurs aux consommateurs.

| Production | | Consommation | |
|---|--|--------------------------------|--------------------------------|
| Producteurs | Quantité H ₂ (t/an) | Consommateurs | Quantité H ₂ (t/an) |
| Pétrole (raffinerie et pétrochimie) (captif et coproduit) | 409 000 (343 000 coproduit, 66 000 captif) | Raffinerie | 327 000 |
| | | CPS (raffinerie + pétrochimie) | 82 000 |
| Pétrochimie (coproduit) | 22 000 | NH ₃ | 22 000 |
| NH ₃ (captif) | 215 000 | NH ₃ | 215 000 |
| Chlore (coproduit) | 51 000 | Chimie | 17 000 |
| | | CPS (chlore) (chimie) | 28 000 |
| | | Marchand | 1 400 |
| Marchand (SMR) | 98 000 | Raffinerie | 4 700 |
| | | Raffinerie | 58 000 |
| | | Chimie | 31 000 |
| Cokerie (coproduit) | 127 000 | Métallurgie | 4 900 |
| | | Spatial | 3 800 |
| | | CPS (sidérurgie) | 127 000 |

fortement du mix énergétique utilisé. Les *tableaux III* et *IV* distinguent deux cas : le cas 1, qui considère les émissions dues à la production volontaire d'hydrogène (captif et marchand), et le cas 2 qui y ajoute la coproduction. Ces

Tableau II - Émissions de CO₂ équivalent, de CO₂ ou de kWh par kg d'H₂, pour les procédés SMR et électrolyse alcaline.

| Source | Procédé | kg _{CO2eq} /kg _{H2} |
|-----------|---|--|
| PROTEC-H2 | SMR avec séquestration | 0,89 |
| | SMR sans séquestration | 9,9 |
| NREL | SMR sans séquestration (ACV filière complète) | 11,9 |
| INNOHYP | SMR | 6,38 à 9,46 kg _{CO2} /kg _{H2} |
| INNOHYP | Électrolyse alcaline | 11,44 à 44,2 |
| NREL | Électrolyse alcaline (valeur moyenne) | 60,0 kWh/kg _{H2} |

Tableau III - Émissions de CO₂ équivalent dues à la production d'H₂ par SMR.

| | Cas 1 | Cas 2 |
|--|----------------------------------|---------------------------------|
| Production d'H ₂ | 379 000 t/an | 922 000 t/an |
| Émissions de CO ₂ (suivant NREL, 11,9 kg _{CO2eq} /kg _{H2}) | 4,5 Mt_{CO2eq}/an | 11 Mt_{CO2eq}/an |

Tableau IV - Émissions de CO₂ qui seraient dues à la production d'H₂ si elle se faisait par électrolyse alcaline.

| Source | Mix | Cas 1 | Cas 2 |
|---|-------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Production d'H ₂ | kg _{CO2} /kg _{H2} | 379 000 t/an | 922 000 t/an |
| (suivant NREL, 60 kWh/kg _{H2}) | Européen : 20,4 | 7,8 Mt _{CO2} /an | 19 Mt _{CO2} /an |
| | Français : 5,46 | 2 Mt _{CO2} /an | 5 Mt _{CO2} /an |
| | Nucléaire : 0,3 | 0,11 Mt _{CO2} /an | 0,28 Mt _{CO2} /an |

tableaux fournissent les valeurs des émissions totales de CO₂ en France dues à la production d'hydrogène, d'une part par SMR, d'autre part par électrolyse suivant que l'on considère le mix électrique européen (0,341 kg_{CO2}/kWh), le mix électrique français (0,091 kg_{CO2}/kWh) ou l'utilisation de la seule énergie nucléaire (0,005 kg_{CO2}/kWh) (émissions des mix fournies par [22]). La production par SMR contribue ainsi aux émissions totales de CO₂ équivalent en France métropolitaine (environ 520 Mt/an en 2007 suivant le CITEPA (Centre interprofessionnel technique d'études de la pollution atmosphérique) [23]), à hauteur de 0,9 % et 2 % respectivement suivant les cas 1 et 2. Lorsque la production se fait par électrolyse, les émissions de CO₂ diminuent si l'on utilise un mix énergétique français (0,4 et 1 %) et nucléaire (moins de 0,1 %), mais augmenteraient avec un mix européen (1,5 et 3,7 %).

Perspectives d'évolution du marché de l'hydrogène en France

La littérature donne des prévisions d'évolution pour les quelques années à venir, mais ce ne sont jamais des perspectives jusqu'en 2020-2030 et elles concernent le plus souvent l'Europe et le monde, beaucoup plus rarement la France. Ainsi, le rapport de Freedonia [24] donne quelques évolutions pour la

France de 1996 à 2006 et les perspectives jusqu'en 2016 pour l'hydrogène marchand ; les données sont des coûts en dollars et non des quantités d'hydrogène, et sont toujours en hausse. Le rapport d'ALPHEA indique également des évolutions pour l'Europe [4] : le marché européen de l'hydrogène devrait croître d'environ 4,1 % pour la période 2006-2011 (stagnation dans le secteur de l'ammoniac, croissance de 8 % pour l'hydrogène marchand). Le rapport XERFI 700 [8] sur la production de gaz industriels en France indique quant à lui que le secteur des gaz industriels, après deux années de forte croissance en 2006 et 2007, a souffert en 2008 de pertes de débouchés dans l'industrie. La production d'hydrogène marchand, croissante jusqu'alors, a ainsi chuté de 5,2 %, touchée par la réduction des commandes dans la métallurgie, l'électronique et surtout le verre.

Certains industriels et experts contactés lors de cette enquête ont pu apporter les éléments qui sont développés ci-après.

La production d'ammoniac en France est en baisse depuis 2000, comme en atteste la figure 9 (INSEE, [25]). C'est un processus qui devrait se poursuivre, tout du moins dans les dix ans à venir, voire s'accélérer pendant la décennie suivante [11]. En effet, la politique agricole commune n'incite plus aux augmentations de rendements ni à l'utilisation d'engrais azotés (pollution aux nitrates), et des alternatives à caractère biologique sont aujourd'hui développées (avec la fixation symbiotique de l'azote de l'air en ammoniac) afin de diminuer la dépendance au prix du gaz (indexé sur le prix du pétrole) nécessaire à la production d'hydrogène et du fait d'une conscience environnementale forte qui tend à se développer à la fois chez les producteurs et chez les consommateurs. Par ailleurs, le contexte réglementaire relatif aux émissions atmosphériques d'ammoniac, qui n'est pour l'instant pas contraignant pour la France (plafond suffisamment élevé), est en cours de révision et il est fort probable que le plafond d'émissions de NH₃ pour 2020 diminuera significativement [12]. En outre, l'ammoniac est un des pré-curseurs de formation des particules fines, et des objectifs ambitieux pour les échéances 2015 et 2020 ont été inscrits dans la directive européenne sur la qualité de l'air publiée en 2008. Il semble ainsi que le besoin en hydrogène nécessaire à la production d'ammoniac pour les engrais azotés pourrait être réduit de 25 à plus de 50 % à l'horizon 2030 [11].

Si les besoins en hydrogène pour les raffineries sont aujourd'hui majoritairement couverts par l'hydrogène coproduit, un apport d'hydrogène complémentaire est cependant nécessaire, notamment pour les opérations de désulfuration : environ 170 000 t/an d'après cette étude. Ce besoin supplémentaire pourrait s'accroître de quelques centaines de milliers de tonnes par an à l'horizon 2030, principalement afin d'assurer la désulfuration des produits et la conversion des coupes lourdes.

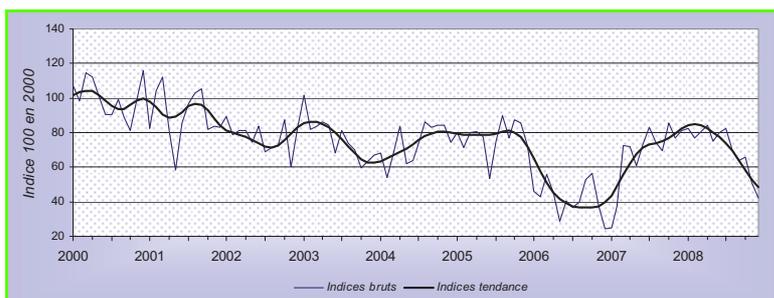


Figure 9 - Évolution de la production d'ammoniac en France (INSEE).

En ce qui concerne l'hydrogène issu de la production du chlore (produit utilisé principalement dans les secteurs du bâtiment et de l'automobile) et du chlorate de soude, la prévision à l'horizon 2030 est une gageure pour les professionnels de ce secteur, mais il leur semble que ce marché devrait rester stable après une reprise suite à la crise.

Enfin, un marché de grande ampleur est susceptible d'émerger dans les décennies à venir : celui de la sidérurgie. Le procédé de réduction du minerai fer (Fe_2O_3 ou Fe_3O_4) aujourd'hui en œuvre utilise le coke. Son inconvénient majeur est l'émission d'une grande quantité de CO_2 : la production d'une tonne de bande de laminage d'acier émet 1,8 t de CO_2 . Ce secteur industriel a décidé de réduire sensiblement ses émissions de gaz à effet de serre – il contribue à lui seul à environ 6 % des émissions nationales –, comme en témoignent divers projets à travers le monde : ULCOS [15], COURSE50 (Japon) [15], POSCO (Corée) et AISI (États-Unis). Le projet européen ULCOS, piloté par Arcelor Mittal, a en particulier pour ambition de réduire de 50 % les émissions de CO_2 de la sidérurgie. La réduction directe par l'hydrogène est aujourd'hui un procédé mature (il existe des unités de réduction par l'hydrogène au niveau mondial, mais pas en France) [15], et le seul obstacle semble être le coût d'approvisionnement en hydrogène des installations. Cette réduction nécessite 60 kg d'hydrogène par tonne d'acier produit ; en considérant les perspectives d'évolution de la production d'acier en France (environ 20 Mt/an, quasi-stagnation dans les décennies à venir), on peut évaluer la quantité d'hydrogène qui serait nécessaire pour réaliser la réduction directe du minerai : plus d'1 Mt/an, soit une valeur supérieure à la production totale d'hydrogène actuelle, toutes origines confondues (captif, marchand et coproduit) – ce qui est considérable. Les procédés permettant de répondre aux objectifs d'ULCOS sont le SMR avec séquestration du CO_2 (quel que soit le mix utilisé pour les parties de procédé utilisant de l'électricité) et l'électrolyse alcaline, à condition de n'utiliser que l'énergie nucléaire ($320 \text{ kg}_{\text{CO}_2}/\text{t}_{\text{acier}}$), voire un mix français (objectif presque atteint, avec un peu plus de $900 \text{ kg}_{\text{CO}_2}/\text{t}_{\text{acier}}$) [15, 26].

Conclusion

La quantité totale d'hydrogène produit et consommé en France est d'environ 920 000 tonnes par an. Les secteurs producteurs et consommateurs sont par ordre d'importance : le pétrole (raffinerie et pétrochimie), l'ammoniac, la sidérurgie (coproduction), la chimie et l'industrie du chlore (coproduction). Les matières premières utilisées sont à 80 % le gaz naturel (SMR) et le pétrole (coproduction), le reste étant produit par les gaz de cokerie et le chlore. La production volontaire (à partir de gaz naturel) est inférieure à celle coproduite (40 % vs 60 %). La quantité d'hydrogène brûlé (potentiellement récupérable pour d'autres applications) est de l'ordre de 25 % du total.

Les émissions actuelles de CO_2 sont comprises entre environ 1 et 2 % des émissions totales françaises. Elles diminueraient avec une production par électrolyse utilisant un mix énergétique français et nucléaire, mais augmenteraient avec un mix européen.

Les prévisions d'évolution de la production d'hydrogène sont globalement à la hausse, essentiellement du fait du secteur pétrolier (baisse attendue dans le secteur de l'ammoniac). La production annuelle vers 2030 devrait ainsi être supérieure à 1 Mt/an. Si la sidérurgie utilisait de l'hydrogène partout où cela est possible, cela doublerait les quantités totales d'hydrogène produites et consommées en France.

Remerciements

Les auteurs remercient vivement les correspondants des entreprises et sites industriels pour leurs réponses au questionnaire et les échanges très fructueux par téléphone et courriels.

Notes et références

- [1] *Synthèse du projet PROTEC-H2/ANR-05-PANH-007*, ENERDATA, 27 février 2009.
- [2] HyWays, the European Hydrogen Roadmap, Contract SES6-502596.
- [3] Le Duigou A. *et al.*, *Aims and first assessments of the French hydrogen chains Project HyFrance3*, World hydrogen energy congress (WHEC), 16-20 mai 2010, Essen (All.).
- [4] ALPHEA, *Marché de l'hydrogène, hors énergie, en France et en Europe*, 2009.
- [5] *Roads2HyCom*, Roads2HyCom Hydrogen & Fuel Cell Database, 2007 (www.roads2hy.com).
- [6] D'Estaintot G., Thiry S., *Étude de marché : l'hydrogène industriel en France*, DELPHIS ENERGY, Partie 1 « Vue d'ensemble du marché de l'hydrogène », document réalisé pour le compte de N-GHY dans le cadre du projet VabHyogaz (maître d'ouvrage PHYrenées), 2009, aimablement transmis par D. Grousset (N-GHY) et B. Grano (ENSTIMAC).
- [7] *World Industrial Gases to 2011*, The Freedonia Group, 2008.
- [8] *Groupes de gaz industriels dans le monde*, XERFI 700, juillet 2008.
- [9] <http://indexmundi.com/minerals/?country=tr&product=ammonia&graph=production>, d'après <http://minerals.usgs.gov>.
- [10] Jacques Bousquet (président du Conseil scientifique et technique de la SFGP), entretien et courriels, mai 2009.
- [11] Michel Griffon (ingénieur agronome, directeur général adjoint de l'ANR, président du Comité scientifique du Fonds français pour l'environnement mondial (FFEM), auteur de *Nourrir la Planète*), entretiens téléphoniques et courriels, juin 2009.
- [12] Emmanuel Fiani (expert émissions polluantes, ADEME), courriels, juillet 2009.
- [13] Gerdes K., Skone T. (Department of Energy, National Energy Technology Laboratory), *Development of baseline data and analysis of life cycle greenhouse gas emissions of petroleum-based fuels*, 2008.
- [14] *Industrial surplus hydrogen and markets and production, deliverables 2.1 and 2.1 A*, Roads2HyCom, mars 2007.
- [15] Jean-Pierre Birat (Arcelor Mittal, coordinateur du projet ULCOS), entretien et courriels, avril 2009.
- [16] Tomuro J. (Hydrogen Project Office, Engineering Advancement Association of Japan (ENAA)), *Japan Hydrogen & Fuel Cell Demonstration (JHFC), project overview, METI project*, Conférence lors du 4^e IPHE Steering Committee Meeting (15 sept. 2005, Kyoto, Japon).
- [17] Joseck F. *et al.* (Office of Hydrogen, Fuel Cells and Infrastructure Technologies, US Department of Energy, Center for Transportation Research, Argonne National Laboratory), Potential energy and greenhouse gas emission effects of hydrogen production from coke oven gas in US steel mills, *Int. Journal of Hydrogen Energy*, 2008, 33, p. 1445.
- [18] Projet USDOE H2A, www.hydrogen.energy.gov/h2a_analysis.html.
- [19] Mann M., Spath P., *Life cycle assessment of hydrogen production via natural gas steam reforming*, NREL/TP-570-27637, fév. 2001.
- [20] Ivy J., Summary of electrolytic hydrogen production, *Milestone Completion Report*, NREL/MP-560-36734, sept. 2004.
- [21] Ewan B. *et al.*, *INNOHYP CA - Final Report*, INNOHYP CA-FR-CEA/07-05, 2007.
- [22] Daval M., *Mémento de l'Énergie*, CEA/DCom, I-Tésé (Institut de Technico-Économie des Systèmes Énergétiques), 2008.
- [23] *Émissions de GES en France*, CITEPA, 2007.
- [24] *World Industrial Gases to 2011*, The Freedonia Group, 2008.
- [25] www.insee.fr/fr/themes/detail.asp?reg_id=99&ref_id=panorama-industrie.
- [26] Fabrice Patisson (professeur, École des Mines de Nancy), entretien et courriels, avril-juin 2009.



A. Le Duigou

Alain Le Duigou est ingénieur coordinateur de projets au CEA DEN, Gif-sur-Yvette*.

Marianne Miguet est stagiaire fin d'études, ENSTIMAC, École des Mines d'Albi Carmaux**.



M. Miguet

* CEA DEN, I-Tésé, F-91191 Gif-sur-Yvette.

Courriel : alain.le-duigou@cea.fr

** ENSTIMAC, École des Mines d'Albi Carmaux, Campus Jarlard, F-81013 Albi CT Cedex 09.

Courriel : miguet@mines-albi.fr



Henri Kagan, Médaille Blaise Pascal 2010



L'Académie européenne des sciences (EAS) a remis la Médaille Blaise Pascal à Henri Kagan le 5 novembre dernier à Athènes, allongeant l'impressionnante liste de ses distinctions. Elle honore ainsi son exceptionnelle contribution en catalyse asymétrique et en synthèse organique.

Après des études à la Sorbonne et à l'École Nationale Supérieure de Chimie de Paris, Henri Kagan, membre de l'Académie des sciences qui fête ce mois-ci ses 80 ans*, a préparé sa thèse de doctorat sous la direction de Jean Jacques au Collège de France. En 1967, il a rejoint l'Université Paris-Sud Orsay, où il a fondé le Laboratoire de synthèse asymétrique. Il est professeur émérite de l'Université Paris-Sud depuis 1999.

Henri Kagan est mondialement reconnu comme l'un des pionniers de la catalyse asymétrique et de l'utilisation des lanthanides en synthèse organique. Ses découvertes ont eu un impact considérable sur les procédés utilisés dans l'industrie pharmaceutique notamment.

* *Tetrahedron: Asymmetry* lui a consacré à cette occasion un numéro spécial en trois volumes qui montre, à travers plus de cent articles, l'influence de ses travaux dans de nombreux domaines de la chimie organique : « Henri Kagan: an 80th birthday celebration special issue » (J.-C. Fiaud, J.M. Brown (eds), 2010, 21(9-10, 11-12 et 13-14)).

• www.eurasc.org/medals/pb_medals.asp

Extrait : « *The hydrogen bond is an attractive interaction between a hydrogen atom from a molecule or a molecular fragment X-H in which X is more electronegative than H, and an atom or a group of atoms in the same or a different molecule, in which there is evidence of bond formation [...].* »

Suit notamment une liste de critères expérimentaux et/ou théoriques pouvant être utilisés comme preuve de la présence de la liaison hydrogène.

* Consultable sur http://media.iupac.org/reports/provisional/abstract11/arunan_prs.pdf

** Les commentaires sont à adresser avant le 31 mars 2011 au professeur E. Arunan, Department of Inorganic and Physical Chemistry, Indian Institut of Science (arunan@ipc.iisc.ernet.in).

Création d'un réseau national de recherche sur les batteries

Le premier réseau national de recherche et technologie sur les batteries a été mis en place en France sous la tutelle du Ministère de la Recherche avec comme acteurs principaux le CNRS, le CEA, l'IFP, et des industriels tels Arkema, Air Liquide, Rhodia, SAFT, Renault.... Son objectif : accélérer l'innovation et le développement de l'activité industrielle dans le domaine des batteries pour répondre au mieux aux exigences du Grenelle de l'environnement en matière de consommation d'énergie (stockage électrochimique de l'énergie : batteries, condensateurs chimiques...). À noter, le Ministère s'est engagé à soutenir fortement le réseau, et notamment le Laboratoire de réactivité et chimie des solides (LRCS, UMR 6007, Univ. de Picardie/CNRS), considéré comme l'un des laboratoires phares au niveau international dans le domaine des matériaux et systèmes pour l'énergie (batteries au lithium), où Jean-Marie Tarascon – spécialiste mondialement reconnu de la chimie/électrochimie du solide – joue un rôle moteur.

• Source : Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche, juillet 2010.

Nominations et distinctions

Ulrich Schubert, président de l'EuChemS



L'assemblée générale de l'European Association for Chemical and Molecular Sciences a élu son prochain président : Ulrich Schubert. Il succèdera à Luis A. Oro en octobre 2011 et prendra ses fonctions pour trois ans.

Membre de la Société des chimistes autrichiens, dont il a été président, cet ancien élève d'E.-O. Fischer est professeur de chimie inorganique* au « Materials Chemistry Institute of Vienna », Université de Technologie.

* http://info.tuwien.ac.at/inorganic/staff/pers_schubert_e.php

Premier lauréat du prix « European sustainable chemistry award »



Matthias Beller, directeur du Leibniz Institute for Catalysis in Rostock (LIKAT, Allemagne) en reconnaissance de ses travaux dans le domaine de la catalyse homogène

appliquée au développement durable. Ce prix est encouragé par l'European Environment Agency (EEA) avec le support de SusChem (European Platform for Sustainable Chemistry) et du CEFIC (European Chemical Industry Association).

Recherche et développement

Axelera : quatre nouveaux programmes retenus par le FUI

Quatre nouveaux programmes – dont un programme de pôle – labellisés par Axelera (le pôle de compétitivité Chimie-Environnement Lyon et Rhône-Alpes) ont été retenus dans le cadre du 9^e appel à projets du Fonds unique interministériel (FUI). Fruits de la dynamique des premiers écosystèmes lancés il y a un an par Axelera pour répondre aux besoins des marchés cibles de la filière chimie-environnement, ils sont porteurs de ruptures technologiques : INNOVAL, piloté par Arkema et l'IFP, pour l'analyse industrielle au cœur des procédés ; MISHY, porté par Air Liquide, pour la séquestration du CO₂ ; YCARE, porté par la PME Récupyl, pour le recyclage des batteries au plomb par voie non thermique ; et COVADIS, piloté par la start-up Ethera, pour un procédé simple et instantané de détection des COV dans l'air.

• Pour en savoir plus : www.axelera.org/srt/axelera/content/actualites/actualites?id=1483

L'IUPAC redéfinit la liaison hydrogène

La liaison hydrogène est une chose merveilleuse. Ce lien omniprésent est à l'origine de la double hélice de l'ADN, mais aussi de la symétrie hexagonale des flocons de neige. L'IUPAC en propose une nouvelle définition* et attend vos remarques à ce sujet**.

Industrie

BASF annonce la première synthèse de MOF à l'échelle industrielle

Après près de dix ans d'efforts, des chercheurs de BASF ont mis au point une méthode innovante sans solvant pour produire des MOF (metal-organic frameworks) à l'échelle industrielle. Ces matériaux nanoporeux étonnants sont



actuellement testés pour le stockage de gaz naturel dans les poids lourds. Ces « éponges » capables d'absorber de grandes quantités de gaz favoriseront peut-être l'émergence de l'hydrogène comme source d'énergie. Mais ils visent aussi la catalyse, le piégeage des gaz, l'administration contrôlée de médicaments... Cette avancée intéresse tant l'industrie que la recherche académique.

• Source : BASF, 5 octobre 2010.

Rhodia :

30 ans de présence en Chine



La nouvelle usine de silice haute performance située à Qingdao (© Rhodia).

Rhodia a fêté en octobre dernier à Shanghai, ses 30 ans de présence en Chine, y réaffirmant son ambition de croissance. Ce pays constitue en effet aujourd'hui le fer de lance du développement du groupe en Asie-Pacifique, région où Rhodia réalise 28 % de son chiffre d'affaires et compte 21 % de ses effectifs.

Les activités du groupe y sont concentrées dans trois secteurs : l'automobile, avec les silices pour les pneumatiques, les plastiques techniques et les technologies de la catalyse ; les cosmétiques et la détergence, avec les tensio-actifs de spécialités où le leadership sera renforcé par l'acquisition de Feixiang Chemicals ; l'électronique, avec des formulations à base de terres rares. Rhodia y développe par ailleurs son savoir-faire dans le domaine des énergies renouvelables.

Le même jour, Rhodia inaugurerait une nouvelle usine de silice haute

performance à Qingdao (le 3^e port de Chine dans la province de Shandong). Homologuée par les grands pneumaticiens mondiaux et commercialisée sous le nom de Zeosil®, la silice hautement dispersible de Rhodia entre dans la fabrication du pneu à faible consommation d'énergie. Cette technologie permet d'en diminuer la résistance au roulement, réduisant ainsi de 5 à 7 % la consommation de carburant des véhicules légers.

Implantée sur sept hectares et d'une capacité de production de 72 000 t/an – soit plus de 30 % de production supplémentaire de silice hautement dispersible –, cette usine complète le réseau mondial de production de Rhodia et permet de répondre aux besoins de croissance de ses clients.

Rhodia en Chine, c'est 2 000 collaborateurs (86 % des managers sont d'origine chinoise) et 13 sites de production situés à l'est du pays, un solide réseau qui ne cesse de se renforcer avec les investissements réalisés sur la plateforme de Zhengjiang, près de Shanghai, ou encore le démarrage de la nouvelle usine de silices à Qingdao. Le groupe dispose par ailleurs d'un centre de R & D mondial à Shanghai où une équipe de cent chercheurs développe des solutions innovantes spécifiques à destination des marchés chinois et asiatiques. En 2009, ce centre a déposé 15 brevets et lancé 32 nouveaux produits.

Reconnu en Chine comme un acteur responsable, Rhodia a reçu le « 2010 Corporate Social Responsibility Special Award » lors d'une conférence à Pékin sur la contribution des multinationales au développement durable du pays.

• Source : Rhodia, 20 octobre 2010.

Arkema investit dans les émulsions en Chine

Arkema a annoncé fin septembre la construction d'une unité de latex acryliques en Chine pour la production d'une gamme de polymères en émulsion destinés principalement aux marchés des revêtements et des adhésifs. Cette nouvelle unité, dont le démarrage est prévu pour fin 2012, est située sur la plate-forme de Changshu et représente 30 millions de dollars d'investissements. Le groupe renforcera ainsi sa position de fournisseur en Asie, consolidant son offre aux fabricants de produits de revêtements de cette région.

• Source : Arkema, 24 septembre 2010.

Stockholm Junior Water Prize 2011

Vous avez entre 12 et 20 ans ? Il y a de l'eau dans vos projets ? Alors, participez au Stockholm Junior Water Prize, prix international pour les jeunes visant à mettre en avant des questions liées à la protection, à l'utilisation et au partage de l'eau.

Ce prix a pour objectif de faire collaborer autour d'un projet éducatif, le monde des entreprises, les mouvements associatifs et les industriels du secteur. Les candidats doivent présenter un dossier écrit et illustré. Les actions et projets peuvent être portés par une personne ou un groupe, dans un cadre scolaire ou extrascolaire.

L'an dernier, c'est un groupe d'élèves du lycée Louis Vincent à Metz qui a été sélectionné pour représenter la France à Stockholm. Leur projet portait sur le traitement de bains usagés de teintureries, destiné aux artisans de Yako au Burkina Faso.

• Date limite d'envoi des dossiers pour la sélection française : **8 avril 2011**.
www.juniorwaterprize.fr/telecharger-document/92-appel-a-candidature-sjwp-2011.html

Enseignement et formation

Le futur de l'enseignement supérieur et de la recherche

L'Association nationale de la recherche et de la technologie (ANRT) a publié un rapport FutuRIS sur le « Devenir des relations entre l'enseignement supérieur et la recherche ». Y sont synthétisés en cinq questions-clés et trois scénarios les évolutions et effets possibles à l'horizon 2020.

• Disponible en ligne sur :
www.anrt.asso.fr/fr/futuris/netpilote_rapport_futuris_03.2010.jsp

Un Master « Food innovation »

Un nouveau Master Erasmus Mundus intitulé FIPDes pour « food innovation & product design » vient de voir le jour, en collaboration avec quatre universités européennes : AgroParisTech (France), Dublin Institute of Technology (Irlande), University of Naples « Federico II » (Italie) et Lund University (Suède).

• Pour en savoir plus : www.fipdes.eu

Livres



Vivre mieux avec la science

M. Bohy

220 p., 19,50 €

Hermann, 2010

C'est un livre pour « grand public ». Un livre qui veut l'éduquer pour qu'il ne se perde plus dans des débats autant passionnés que sentimentaux sur le monde technique dans lequel nous vivons – débats qui ne concluent jamais – : l'énergie (en aurons-nous assez ?), les médicaments (pourront-ils tout soigner ?), l'alimentation (c'est bien sain ce qu'on mange ?), l'eau (ça va manquer ?), les matériaux (ça ne cesse pas de changer)... et la place de la chimie dans tout cela.

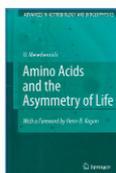
Marcel Bohy sait que la science, comprise modestement, cadrée par la compréhension élémentaire des ordres de grandeur, évite les divagations et construit les réflexions. Il explique que le bon sens, dans toutes ces questions, on le trouve par une compréhension et un respect des principes de base de la science – science qu'il est indispensable d'enseigner à tous les citoyens. Les questions économiques reviennent souvent dans les préoccupations du public et, en conséquence, dans le livre. La « loi du Boston » qui montre que la pratique régulière – par un processus d'apprentissage – fait baisser les coûts de production explique la grande consommation ; la vertu de l'état liquide qui permet des manipulations aisées explique le succès des hydrocarbures ; la versatilité des « plastiques » qui, copiant la nature, savent remplir les cahiers des charges les plus compliqués et tendent à devenir le matériau universel au détriment des métaux de naguère : toutes ces évolutions – et tant d'autres – n'ont rien de mystérieux et ne doivent rien au machiavélisme de telle ou telle multinationale. On peut saisir, par une science de bon sens, qu'elles sont le résultat de lois scientifiques élémentaires.

Ce petit livre aborde d'autres aspects : les supports de l'information, la pollution, les substances toxiques, les drogues, les risques et le principe de précaution. Chaque fois, il démontre qu'on peut ne pas être dépassé par tout ce qui se passe, si l'on connaît et

respecte le raisonnement scientifique de base.

Ce livre sincère, qui est un plaidoyer convaincant pour la diffusion de la culture scientifique – et particulièrement chimique –, est à mettre entre toutes les mains.

Paul Rigny



Amino acids and the asymmetry of life Series "Advances in astrobiology and biogeophysics"

U. Meierhenrich

242 p., 73,80 €

Springer, 2008

L'origine de l'asymétrie du monde vivant ! Quelle est l'origine de la rupture de la parité gauche-droite des aminoacides, phénomène à l'origine de cette asymétrie ? L'homochiralité existe, en particulier dans les protéines constitutives des organismes vivants (tous les aminoacides sont gauches). Est-ce que cette homochiralité existe ailleurs que sur Terre ? Existe-t-il une vie « image miroir » de celle que nous connaissons sur Terre ? Ce livre procure matière à réflexion et débat pour toutes ces questions étroitement liées à celle de l'origine de la vie, en restant centré sur l'origine de l'homochiralité des biomolécules.

Une phase d'évolution formellement chimique a produit les molécules organiques prébiotiques énanti enrichies que sont les aminoacides. Ces derniers sont ensuite entrés dans les processus d'évolution biologiques, même si le lien entre ces deux phases est loin d'être élucidé. Parmi les hypothèses développées pour appréhender l'origine de l'enrichissement énantiomérique des aminoacides prébiotiques, on trouve le hasard, les phénomènes physiques tels les champs électromagnétiques, la force nucléaire faible, la photochirogenèse, la chirogenèse interstellaire, la présence de molécules chirales dans les météorites et les comètes. Tous ces points sont abordés dans les chapitres 3 à 10.

Afin de permettre à un public divers de se familiariser avec la dialectique de la stéréochimie et les méthodes expérimentales utilisées pour déterminer la structure des molécules chirales, un chapitre est dédié aux aminoacides, à l'activité optique, à la nomenclature en

stéréochimie, au pouvoir rotatoire, au dichroïsme circulaire et à la chromatographie chirale.

Les aminoacides droits ne sont pas pour autant absents de notre environnement : on les retrouve chez les plantes, les bactéries, les grenouilles, les serpents... et même chez les humains, sans compter les aliments que nous consommons qui en contiennent – leur quantité augmente d'ailleurs fréquemment lors de la cuisson. Les organismes vivants peuvent les utiliser à des fins précises, comme par exemple l'achitine I, isolé des tissus d'un serpent géant africain *Achatine fulica*, un térapeptide comportant de la D-phénylalanine qui augmente l'activité cardiaque, alors que l'achitine II contenant de la L-phénylalanine présente des propriétés biologiques nettement moindres. Les organismes peuvent transformer ces aminoacides D pour les éliminer (D-amino-acides oxydases), ou peuvent pâtir de leur toxicité avec les conséquences que cela peut entraîner (phénomènes de vieillissement, maladie d'Alzheimer, opacification du cristallin sont des processus dans lesquels les aminoacides D sont suspectés). Des éléments relatifs à ces points sont apportés dans le chapitre 3.

Des cristaux chiraux peuvent être obtenus spontanément à partir de matériaux inorganiques achiraux. C'est le cas du quartz (SiO₂). C'est aussi le cas de certains composés organiques polyaromatiques tel le 1,1'-binaphthyle. Mais rien de tel n'a pu être démontré pour les aminoacides. De nombreuses expériences ont été imaginées pour démontrer la capacité de cristaux chiraux sélectionnés à adsorber des molécules chirales avec une certaine sélectivité. D'autres encore mettant en œuvre des cristaux chiraux sont restituées sur les tentatives d'enrichir des mélanges racémiques en un énantiomère. Les détails sont présentés dans le chapitre 4.

Puis quelques questions essentielles sont débattues : y a-t-il une relation entre la non-conservation de la parité au cours de réactions chimiques dues à l'énergie faible et l'asymétrie des molécules des organismes vivants ? Est-ce que ce phénomène a été l'un des paramètres des processus à l'origine de la vie ? Y a-t-il une relation entre « l'asymétrie » de cette loi fondamentale de la physique et l'asymétrie de la vie ?... La radiolyse de mélanges racémiques et de composés optiquement purs a été étudiée sous flux d'électrons polarisés issus de la désintégration β⁻.

Il a été observé que ces électrons interagissent différemment avec les énantiomères *R* et *S*. Les effets sont faibles et difficiles à reproduire. Des expériences sont aussi menées pour tenter de prouver et mesurer la différence d'énergie des deux énantiomères d'une molécule ; la différence d'énergie liée à la non-conservation de la parité a pu être mesurée pour l' α -alanine. Elle est de $0,7 \times 10^{-8}$ eV. Le chapitre 5 est entièrement consacré à reporter les avancées pour démontrer la contribution de cette non-conservation de la parité.

Le chapitre 6 est dédié à la question : est-ce que l'asymétrie d'un champ chiral tel qu'un champ magnétique orienté, un champ de radiation ou une combinaison des deux peut être transférée à un mélange racémique au point d'obtenir un enrichissement énantiomérique ?

Le chapitre suivant informe sur l'identification de molécules chirales dans des échantillons authentiques de météorites, de comètes et de Mars ; 89 composés organiques ont été identifiés dans la météorite de Murchison. Des molécules pouvant être considérées comme les précurseurs de pré-ARN ont été recherchées. Les protéines originelles et les

matériaux génétiques ont pu être synthétisés à partir de précurseurs présents dans le milieu interstellaire puis transférés sur Terre. Les diaminoacides se trouvent en bonne place pour donner accès aux acides nucléiques peptidiques par polycondensation. Toutefois, ils ne constituent qu'un type de modèles parmi d'autres.

Le chapitre 8 est spécifiquement destiné à faire le point sur la recherche de molécules chirales dans les météorites. Dans ce contexte, un projet ambitieux en cours concerne la mission ROSETTA, qui doit atterrir en 2014 sur la comète 67P/Churyumov-Gerassimenko pour analyser son noyau composé d'agrégats de particules de poussières interstellaires. L'identification des molécules et la détermination de la pureté optique des composés chiraux se fera à l'aide d'un module intégrant des techniques de couplage chromatographie phase vapeur et spectrométrie de masse.

Plusieurs projets de recherche de molécules chirales extraterrestres sont décrits dans le chapitre 9 (comètes, Mars), ainsi que les modules destinés à analyser la pureté optique des molécules chirales (UREY, MOMA, SETH). Le dernier chapitre est consacré aux

phénomènes d'amplification chirale à partir de modèles mathématiques (modèle de Kondepudi-Prigogine) et expérimentaux (amplification par accumulation progressive, amplification réaction de Soai, effets non linéaires de H. Kagan).

Francine Agbossou-Niedercorn

À signaler

Le guide de la valorisation de la recherche 2010

Le guide de la R & D 2010-2011

Les enjeux de la recherche à travers différents points de vue... (ANR, Réseau Curie, DG Recherche de la Commission européenne...) : un panorama des professionnels de la valorisation, des laboratoires et centres de R & D publics.

- www.innovationonline.eu
380 € chaque vol.

L'espace européen de la recherche et de l'innovation à l'horizon 2020

Rapport FutuRIS téléchargeable en ligne.

- www.anrt.asso.fr/fr/futuris/groupe_travail_2009_2010_3.jsp?p=50&p1=1

Les lauréats de la 24^e édition du Prix Roberval

Organisé par l'Université de Technologie de Compiègne avec le soutien de nombreux partenaires, le prix Roberval récompense des œuvres francophones permettant de comprendre la technologie et l'évolution des connaissances. À nouveau, les membres du jury (experts, universitaires et industriels) ont eu une tâche ardue : seules 24 œuvres ont été nominées cette année parmi 583 auteurs provenant de 17 pays... et il leur a été encore plus difficile d'attribuer le prix tant les œuvres retenues sont toutes de grande qualité.

La cérémonie de remise des prix s'est tenue à Paris le 24 novembre dernier au Palais de la découverte, en présence de Claudie Haigneré, présidente d'Universcience, qui n'a pas manqué de rappeler l'excellence des œuvres récompensées et l'importance de communiquer la technologie et la science.

Nous ne mentionnons ci-après que ce que nous pensons intéresser nos lecteurs, mais nous vous invitons à découvrir sur le site* les autres œuvres retenues et récompensées dans les diverses catégories.

- **Grand public** : Prix à L. Fontaine et R. Anger pour *Bâtir en terre, du grain de sable à l'architecture* (Belin). Mention à J. et C. Lebeaume pour *Dokéo, comprendre comment ça marche* (Nathan) et P. Zweiacker pour *Vivre dans les champs électromagnétiques* (Presses Polytechniques et Universitaires Romandes).

Étaient nominés : A. Le Dars pour *Tout sur l'énergie nucléaire, d'Atome à Zirconium* (AREVA), S. Sarrade pour *Quelles sont les ressources de la chimie verte ?* (EDP Sciences), J.-M. Cornu pour *ProspectiC, nouvelles technologies, nouvelles pensées ?* (FYP éditions), B. Valeur pour *Sons et lumière* (Belin).

- **Enseignement supérieur** : Prix à J.-P. Lebet, M.A. Hirt pour *Ponts en acier, conception et dimensionnement des ponts métalliques et mixtes acier-béton* (Presses Polytechniques et Universitaires Romandes). Mention à F. Samouelian, V. Gaudin, M. Boccard pour *Génétique moléculaire des plantes* (Éditions Quae).

Était nommé : R. Moletta pour *La méthanisation* (Éditions Tec & Doc, Lavoisier).

- **Télévision** : Prix à C.-A. De Rouvre, J. Scemla, A.-F. Sion pour *Bienvenue dans le nanomonde* (quatre documentaires de La Compagnie des Taxi-brousse, diffusés par France 5).

- **Multimédia** : Prix à C. Darrigan pour *scienceamusante.net* (Anima-Science), un site tout public regroupant des expériences en chimie, physique et biologie pour jeunes expérimentateurs (ou enseignants).

Étaient nominés : E. Gorman pour *clim'city* (Cap sciences) et R. Pansard-Besson, M. Serres, P. Lena, G. Delerue pour *Tours du monde, tours du ciel, une exploration de l'Univers à travers les âges* (EDP Sciences).

Roselyne Messal

*<http://prixroberval.utc.fr>



13 janvier 2011

SCF

Conférence de la section régionale Alsace

Mulhouse

Vers une médecine personnalisée au moyen de petites et grandes molécules bio-actives, par Romeo Paioni (Novartis Pharma).

• j.streith@uha.fr

2-3 février 2011

SCF

25^e Forum Horizon Chimie

Paris

• <http://www.horizon-chimie.fr>

3-4 février 2011

SCF

JCC 2011

Journées Chimie de coordination

Angers

• <http://moltech-anjou.univ-angers.fr/JCC2011/Site/accueil.htm>

6-10 mars 2011

SCF

Hybrid materials 2011

2nd International conference on multifunctional, hybrid and nanomaterials

Strasbourg

• <http://www.hybridmaterialsconference.com>

20-23 mars 2011

Frontiers in medicinal chemistry

Saarbruck (Allemagne)

• http://www.gdch.de/vas/tagungen/tg/5211__e.htm

11-15 avril 2011

SCF

Carbohydrate chemistry

From synthesis to applications European young investigators workshop

Lyon

• <http://www.euroglycoscience2011.gwdg.de>

25-28 avril 2011

XXXI^e JIES

Journées internationales de l'éducation scientifique

Chamonix

• <http://www.jies-chamonix.org>

2-7 mai 2011

Faire la guerre, faire la paix

136^e Congrès du Comité des travaux historiques et scientifiques (CTHS)

Perpignan

• <http://cths.fr/co/congres.php?id=155>

3-6 mai 2011

Glucidoc

Glucides, biotechnologies et développement durable

Sète

• <http://www.glucidoc.com>

18-20 mai 2011

Les chimistes, leurs institutions et leurs sociétés savantes entre les deux guerres

Congrès de la Société Française d'Histoire des Sciences et des Techniques (SFHST)

Nantes

• <http://www.sfhst.org>

23-26 mai 2011

SCF

ElecNano4-7th ECHEMS

Electrochemistry in nanostructuring of substrates and energy

Paris

• <http://elecnano.univ-paris-diderot.fr>

24-27 mai 2011

SCF

27^e JIREC

Journées de l'innovation et de la recherche dans l'enseignement de la chimie

Orsay

Thème : La chimie et le vivant

• <http://www.miec-jirec-2011.u-psud.fr>

29-31 mai 2011

Frontiers in polymer science 2nd International symposium

Lyon

• <http://www.frontiersinpolymerscience.com>

5-8 juin 2011

COPS 9

9th International symposium on the characterisation of porous solids

Dresdes (Allemagne)

• <http://events.dechema.de/cops>

14-17 juin 2011

SCF

IMTEC

International micro technologies conferences and expo

Lyon

• <http://www.imte-expo.com>

19 janvier 2011

Dans le cadre des colloques « Chimie et... » de la Fondation de la Maison de la Chimie :

Chimie et habitat

Qu'il s'agisse du neuf ou de l'ancien, l'efficacité énergétique, le confort intérieur, l'écotoxicologie des produits et matériaux et la mise en œuvre de ces derniers ont conduit les scientifiques universitaires et industriels à multiplier les innovations pour répondre à des besoins diversifiés de plus en plus nombreux. Cependant les exigences plus anciennes en matière d'acoustique, de normes antisismiques, de confort intérieur et d'esthétique ne sauraient être sacrifiées sur l'autel de la seule efficacité énergétique. C'est pourquoi nous avons réuni architectes, urbanistes, spécialistes de la construction des bâtiments, scientifiques universitaires et industriels de la chimie des matériaux, de l'énergie et de l'environnement pour débattre de ces différents points et de leur évolution future. Les conférenciers, choisis parmi les meilleurs spécialistes de leur domaine, adapteront le niveau de leur intervention pour que le débat puisse être accessible et intéressant pour un large public, en particulier pour les lycéens, leurs enseignants et les étudiants (universités, écoles d'architecture et d'ingénieurs). La qualité des conférenciers, la diversité des thèmes abordés conduiront spécialistes universitaires et industriels à échanger sur des questions d'ordre scientifique, industriel ou sociétal du plus haut intérêt.

Bernard Bigot

Président de la Fondation internationale de la Maison de la Chimie

Inscription gratuite mais obligatoire

Déjeuner offert par la Fondation internationale de la Maison de la Chimie

Date limite d'inscription : 7 janvier 2011.

<http://actions.maisondelachimie.com/index-p-colloque-i-17.html>



© andrzej/Fotolia

Vous trouverez de nombreuses autres manifestations sur le site de la SCF : www.societechimiquefrance.fr, rubrique Manifestations.

Prix des divisions 2010

Chimie organique

• Prix de thèse Dina Surdin :
Piero Geotti-Bianchini

Né à Venise en 1981, Piero Geotti-Bianchini a étudié la chimie industrielle en Italie à Padoue, où il a reçu son Master *cum laude* en 2005 après une thèse

intitulée « Synthèse de peptides à conformation contrôlée pour des études de surfaces » sous la direction de Fernando Formaggio.

Puis il a effectué sa thèse de doctorat intitulée « Nouveaux nucléo-peptides hélicoïdaux pour des applications en modulation d'acides nucléiques » en co-tutelle avec l'Université Louis Pasteur-Strasbourg 1, sous la direction d'Alberto Bianco (ICT-CNRS), et l'Université de Padoue, sous la co-direction de Fernando Formaggio (2006-2008). Ces travaux ont donné lieu à trois articles dans des revues internationales et à des conférences dans plusieurs congrès nationaux et internationaux. Il était notamment invité au 30^e European peptide symposium à Helsinki (Finlande) en septembre 2008.

Depuis mai 2009, il est post-doctorant à l'Université de Berne (Suisse), dans le groupe du professeur Jean-Louis Reymond, où il étudie les effets de l'introduction de résidus non codifiés dans des peptides synthétiques, aussi bien pour l'analyse des aspects structuraux que fonctionnels.

• Prix de thèse Fournier :
Éric Busseron

Éric Busseron, 27 ans, a effectué ses études supérieures à l'École Nationale Supérieure de Chimie de Clermont-Ferrand (ENSCCF) et a obtenu son doctorat en septembre 2009 sous la direction de Frédéric Coutrot (Institut des Biomolécules Max Mousseron, UMR 5247, Montpellier).

Ses travaux de thèse ont porté sur la synthèse et l'étude de machines moléculaires, de type glyco[2]rotaxane caméléon, pouvant permettre un ciblage spécifique des cellules cancéreuses par une approche originale.

Depuis octobre 2009, il effectue un stage postdoctoral en Californie sous la direction de Julius Rebek Jr. au Scripps Research Institute (La Jolla, CA, États-Unis). Ses travaux de recherche actuels concernent le développement de nouveaux cavitands fonctionnalisés, basés sur le resorcinarène.

À la suite du séminaire des 16-17 novembre et des nombreuses propositions qui ont été élaborées de façon très participative et collégiale par tous les participants (membres du CA, présidents des divisions scientifiques, des sections régionales et des clubs de jeunes), le Bureau de la SCF a proposé à l'approbation du Conseil d'administration réuni le 29 novembre dernier six messages forts marquant la volonté de la SCF de se développer et de mieux répondre aux attentes de vous tous.

Ces six messages vont se traduire en sept actions prioritaires pour l'année 2011, qui vont se concrétiser dans les trois mois qui viennent par l'effort commun de tous les responsables régionaux et nationaux, et de toutes les bonnes volontés qui se manifesteront essentiellement au niveau régional.

Vous trouverez ci-dessous ces six messages et ces sept actions prioritaires tels que présentés en Conseil d'administration.

Six messages principaux

1. Nous voulons mieux nous organiser en interne et notamment restaurer l'équilibre entre les sections régionales et les divisions scientifiques.
2. Nous voulons renforcer la politique scientifique de la SCF et davantage communiquer en externe.
3. Nous voulons attirer les jeunes et faire mieux en sorte que la SCF soit aussi leur association.
4. Nous voulons mieux accueillir, fidéliser et reconnaître tous nos adhérents.
5. Nous voulons rapprocher davantage les mondes académique et industriel et renforcer la place des groupes thématiques.
6. Nous voulons assurer une meilleure communication interne, une plus grande transparence, et une meilleure adéquation entre nos objectifs et nos ressources.

Sept actions prioritaires pour 2011

1. Être tous les ambassadeurs de la SCF pour augmenter le nombre d'adhérents (tous : membres du CA, présidents des divisions, sections régionales, groupes de travail), faire soutenir nos actions au niveau opérationnel local (CNRS, universités, écoles d'ingénieurs et industriels) ; avoir les indicateurs pour pouvoir suivre ces éléments.
2. Finaliser le projet de vade-mecum, y compris avec la partie relative aux ressources financières, et communiquer en conséquence.
3. Simplifier les bulletins d'adhésion, faire un livret d'accueil, établir des actions de reconnaissance des adhérents (carte...).
4. Créer une fonction de coordination interne, et assurer une meilleure représentation des sections régionales au niveau du CA et revoir la cartographie des entités opérationnelles.
5. Renforcer la politique Prix de la SCF, la développer, lui donner plus d'éclat, et instituer d'autres formes de reconnaissance (statut de « fellow »).
6. Soutenir activement les jeunes et s'adresser à eux (réseaux sociaux sur le web, aller concrètement vers eux en région, leur donner les moyens, collaborer avec les réseaux Redox ou autres, créer des clubs de jeunes là où il n'y en a pas).
7. Organiser un grand colloque SCF (tous les 3 ans ?), organiser les remises de prix (annuellement), et faire un séminaire interne SCF (annuel).

N'hésitez surtout pas à vous manifester si vous pouvez et souhaitez participer à certaines de ces actions : c'est l'engagement de chacun qui nous permettra de développer la SCF et de répondre aux attentes de tous.

Merci d'avance !

Le Bureau de la SCF

Appel à communications
ICCDU XI

11th International conference on carbon dioxide utilization
27-30 juin 2011, Dijon

Thèmes :

1. Fundamentals in CO₂ activation
2. CO₂ separation and capture
3. Catalysis and biotechnologies for CO₂ conversion into energy products and chemicals
4. Photocatalytic and electrochemical reduction of CO₂
5. CO₂ as solvent
6. CO₂ in the context of green chemistry for sustainability
7. Innovative process engineering and LCA methods
8. Impact of CO₂ regulations on industrial processes

Date limite de soumission des résumés : 15 février 2011

www.ffc-asso.fr/ICCDU

2011 : Année internationale de la chimie

Le Chemical World Tour : votez maintenant !

En signant une charte le 18 mai 2009, les principaux acteurs du Comité Ambition Chimie⁽¹⁾ ont affirmé leur volonté commune, entre autres, de partager toujours davantage savoirs et savoir-faire pour relever, ensemble, les grands défis sociétaux, économiques et environnementaux en multipliant les interactions entre les partenaires, et de proposer à tous les niveaux une formation scientifique adaptée aux nouvelles attentes de la société.

Dans le cadre de l'Année internationale de la chimie, le Comité Ambition Chimie, l'Union des Industries Chimiques et la Fondation internationale de la Maison de la Chimie ont lancé, en partenariat avec CAPA Entreprises, le Chemical World Tour : une série de reportages pour faire connaître le rôle

moteur de la chimie dans le développement durable de la planète⁽²⁾.

La SCF s'est impliquée particulièrement dans cette opération : **Jorge Ballester**, l'un des cinq jeunes reporters, est en effet un membre actif du club des jeunes de Montpellier. Il est allé chercher les innovations pouvant améliorer l'efficacité énergétique sur le site de recherche d'Arkema à King of Prussia (Philadelphie, PA, États-Unis). Grâce aux relations internationales de la SCF, deux autres jeunes reporters, **Pablo Lerey** et **Florent Lahmeri**, ont eu la chance de s'entretenir pour le premier avec le professeur Roberto de Souza, qui a travaillé en France avec Yves Chauvin, pour enquêter sur les nouveaux solvants verts au laboratoire La Reatividade e Catalise de Porto Alegre (Brésil), et le second avec le professeur Can Li du State Key Laboratory of Catalysis à Dalian

L'AIC : c'est bientôt !

Un événement à suivre en direct sur

www.chimie2011.fr

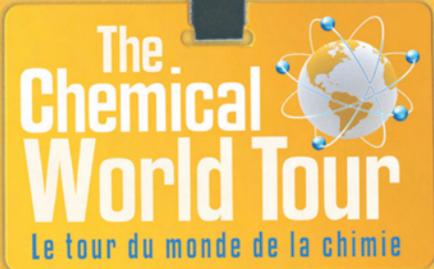
(Chine), pour enquêter sur des innovations préservant les ressources en eau de la planète.

Les cinq reportages réalisés sont maintenant sur le site du Chemical World Tour* et soumis à votre vote depuis le 6 décembre. Alors, allez vite les visionner et votez pour votre favori.

(1) Le Comité Ambition Chimie regroupe le CNRS, le Comité national de la chimie (Académie des sciences), la Fédération Française pour les sciences de la Chimie, la Fédération Gay-Lussac, la Fondation internationale de la Maison de la Chimie, la Société Chimique de France et l'Union des Industries Chimiques.

(2) Voir *L'Act. Chim.*, 2010, 346, p. 38.

* www.chemicalworldtour.fr



The Chemical World Tour
Le tour du monde de la chimie

5 innovations 5 reportages



Votez le 6 décembre
sur www.chemicalworldtour.fr





Comité
Ambition Chimie



Année internationale de la
CHIMIE
2011

Opération réalisée dans le cadre de la convention de coopération signée entre l'Union des Industries Chimiques, le ministère de l'Éducation Nationale et le ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche.

Abonnement 2011 (numéros spéciaux inclus)

Cochez la case qui correspond à l'abonnement auquel vous voulez souscrire :

| | Abonnement papier + électronique* | | Abonnement électronique seul* | | Abonnement multiple** | |
|--------------|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | France | Étranger | France / Étranger | France / Étranger | (pour les lycées et les institutions) | |
| Particuliers | <input type="checkbox"/> 95 € | <input type="checkbox"/> 100 € | <input type="checkbox"/> 55 € | <input type="checkbox"/> 55 € | <input type="checkbox"/> 400 € | <input type="checkbox"/> 400 € |
| Lycées | <input type="checkbox"/> 110 € | <input type="checkbox"/> 130 € | <input type="checkbox"/> 70 € | <input type="checkbox"/> 70 € | <input type="checkbox"/> 400 € | <input type="checkbox"/> 400 € |
| Institutions | <input type="checkbox"/> 195 € | <input type="checkbox"/> 205 € | <input type="checkbox"/> 155 € | <input type="checkbox"/> 155 € | <input type="checkbox"/> 400 € | <input type="checkbox"/> 400 € |

* Courriel obligatoire ** Adresse IP obligatoire (cet abonnement correspond à un abonnement papier + dix abonnements électroniques + l'accès aux archives de la revue)

Complétez votre collection

Les sommaires de tous les numéros peuvent être consultés sur notre site <http://www.lactualitechimique.org>

Les numéros spéciaux

Les numéros spéciaux sont disponibles en **version électronique** sur le site à un tarif préférentiel

- La chimie mène l'enquête (juin-juillet-août 2010) : 32 €
- Chimie et développement durable. L'engagement des écoles de la Fédération Gay-Lussac (fév.-mars 2010) : 32 €
- Adolphe Pacault, un acteur majeur dans la renaissance de la chimie physique en France (décembre 2009) : 24 €
- Electrochimie & Art, Environnement, Santé, Nanosciences... (fév.-mars 2009) : 32 €
- Les cosmétiques. La science au service de la beauté (oct.-nov. 2008) : 24 €
- Chimie organique physique. Hommage à Jacques-Émile Dubois (juin-juil. 2008) : 24 €
- Chimie et patrimoine culturel, vol. II (avril 2008) : 15 €
- La photochimie pour transformer la matière (mars 2008) : 15 €
- Chimie et patrimoine culturel, vol. I (oct.-nov. 2007) : 15 €
- La photochimie pour mieux vivre (mai-juin 2007) : 15 €
- Fluor et produits fluorés à l'aube du XXI^e siècle (oct.-nov. 2006) : 15 €
- Les matériaux carbonés (mars-avril 2006) : 15 €
- Chimie moléculaire et nanosciences (oct.-nov. 2005) : 15 €
- Sciences chimiques et déchets radioactifs (avril-mai 2005) : 15 €
- Le chimiste et le profane (2004) : 15 €
- Chimie et environnement (2004) : 15 €
- La chimie dans les sciences médicales (2003) : 15 €
- Les isotopes stables (2003) : 15 €
- Quoi de neuf en chimie organique ? (2003) : 15 €
- La chimie des substances renouvelables (2002) : format papier épuisé
- La catalyse enzymatique (2002) : 15 €
- Quoi de neuf en catalyse ? (2002) : 15 €
- Les matériaux (2002) : 15 €
- L'hydrogène, carburant propre ? (2001) : 15 €
- Magnétisme moléculaire (2001) : 15 €
- La femtochimie (2001) : 15 €
- Nourrir les hommes, hier et demain (2000) : 15 €
- La chimie combinatoire (2000) : 15 €
- Chimie et vie quotidienne (1999) : 15 €



Achat à l'unité hors numéros spéciaux

11 € pour les numéros avant 2009 ; 20 € à partir de 2009
(à partir de 2005, ces numéros sont également disponibles en version électronique sur le site)

- Numéros souhaités :

Hors-séries "L'Actualité Chimique - Livres", co-édités et diffusés par EDP Sciences

- La chimie et l'alimentation (oct. 2010) : 24 €
- La chimie et l'art (juin 2010) : 24 €
- La chimie et la santé (janv. 2010) : 19 €
- La chimie et la mer (sept. 2009) : 24 €
- Radiation chemistry (mai 2008) : 59 €

À commander chez votre libraire
ou directement sur <http://livres.edpsciences.org>



Bon de commande

Nom Prénom
 Adresse (pour les particuliers, préciser l'adresse personnelle)
 Code Postal Ville Pays
 Tél Fax Courriel
 Adresse IP (pour l'abonnement multiple)

Montant total de la commande (frais de port inclus) :

Mode de règlement

- sur facturation (joindre obligatoirement le bon de commande)
- par chèque bancaire ou postal libellé à l'ordre de la SCF souhaite recevoir une facture acquittée
- par virement bancaire ou postal

France Société Générale Paris Seine Amont, 03081/00037265820/87 CCP Paris 30041 Compte 070786U020/90
 Étranger IBAN FR7630003030810003726582087 Swift.Sogefrpp

- par carte bancaire (Visa, Eurocard Mastercard) Validité /
- Cryptogramme visuel (les trois derniers chiffres du numéro imprimé au dos)

L'Actualité Chimique

SCF, Service Abonnement, 250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris. Tél. : 01 40 46 71 66 - Fax : 01 40 46 71 61.
adhesion@societechimiquedefrance.fr - <http://www.lactualitechimique.org>



Protection  des cultures

La science pour une vie meilleure

Lucia Rosano voudrait que le monde soit plus accueillant, pour tous. En tant que biologiste chez Bayer, Lucia sait que c'est justement ce en quoi consiste son travail. Rechercher des solutions et ne jamais abandonner.

C'est la Passion qui nous unit tous chez Bayer. Nous appelons ça "l'esprit Bayer". Si vous ressentez également cet esprit, alors il est grand temps que nous parlions ensemble d'une carrière chez nous.

www.myBayerjob.com