

# Fluorescence intrinsèque de l'ADN

Dimitra Markovitsi, Thomas Gustavsson et Akos Banyasz

## Résumé

Pendant longtemps, l'ADN a été considéré comme non fluorescent. Ceci n'est pas étonnant compte tenu du fait que le rendement quantique de fluorescence des acides nucléiques est extrêmement faible, de l'ordre de  $10^{-4}$ . Mais depuis le début du XXI<sup>e</sup> siècle, grâce au développement de protocoles d'expérimentation spécifiques et aux avancées en instrumentation, des études systématiques sur la fluorescence intrinsèque de l'ADN ont pu être menées. On a pu ainsi obtenir non seulement des spectres de fluorescence, mais aussi une pléthore de données résolues en temps, de la femtoseconde à la nanoseconde. Ces résultats, associés à des travaux théoriques, ont grandement contribué à la compréhension de l'interaction du rayonnement UV avec l'ADN. Ils ont notamment permis de décrire les processus responsables de la désactivation ultra-rapide des états excités des briques élémentaires, d'obtenir des informations sur les voies complexes que suit l'énergie des photons UV au sein des doubles hélices, énergie capable de provoquer des mutations cancérogènes, et enfin de démontrer le comportement collectif des excitations électroniques, particulièrement prononcé dans le cas de G-quadruplexes, structures impliquées dans d'importants processus biologiques mais également prometteuses pour des applications dans le domaine de l'électronique moléculaire et l'optoélectronique.

## Mots-clés

**ADN, fluorescence, spectroscopie femtoseconde, G-quadruplexes, excitons.**

## Abstract

### Intrinsic fluorescence of DNA

Up to very recently, DNA was considered to be non-fluorescent. This is not surprising given the fact that the fluorescence quantum yield of nucleic acids is extremely small, on the order of  $10^{-4}$ . But since the beginning of the 21<sup>st</sup> century, with the development of specific testing protocols and improved instrumentation, systematic studies of the intrinsic fluorescence of DNA have been performed with success. It has thus been possible to obtain not only fluorescence spectra, but also a large panel of time resolved data, from the femtosecond to the nanosecond timescale. These results, combined with advanced theoretical work, have contributed greatly to the understanding of the interaction of UV radiation with DNA. In particular, this combination of experimental and theoretical results has allowed to describe the processes responsible for the ultrafast deactivation of the excited states of the individual building blocks, to obtain information on the complex pathways followed by the excess energy deposited by absorption of UV photons in double helices, energy capable of leading to carcinogenic mutations, and then to demonstrate the collective behavior of the electronic excitations, particularly pronounced in the case G-quadruplexes, structures involved in many important biological processes but also promising for applications in the field of molecular electronics and optoelectronics.

## Keywords

**DNA, fluorescence, femtosecond spectroscopy, excitons, G-quadruplexes, excitons.**

**P**ourquoi s'intéresser à la fluorescence intrinsèque de l'ADN alors que son rendement quantique à température ambiante est extrêmement faible, de l'ordre de  $10^{-4}$ , ce qui veut dire que pour 10 000 photons absorbés, un seul photon est émis. Il fallait vraiment que l'enjeu soit de taille pour se donner autant de peine à surmonter les multiples obstacles pour travailler avec de si faibles signaux lumineux [1]. La réponse se trouve dans la nature même de la fluorescence. En effet, au-delà de ses innombrables applications, dont ce numéro fait largement écho, la fluorescence apporte des informations précieuses sur les états électroniquement excités à partir desquels les photons sont émis. Ces informations obtenues à travers les spectres, les déclins et l'anisotropie de fluorescence sont donc primordiales lorsqu'elles concernent l'ADN, molécule centrale de la vie.

Les spectres d'émission de fluorescence nous renseignent sur l'énergie des transitions électroniques. Non seulement

leur maximum, mais aussi leur largeur, analysée de façon appropriée, fournissent des indications sur l'interaction avec l'environnement et/ou des interactions entre les chromophores lorsque ceux-ci se trouvent l'un à côté de l'autre (couplage électronique). Et bien entendu, les spectres résolus en temps nous montrent comment ces interactions évoluent au cours du temps.

Les déclins de fluorescence sont reliés à l'évolution temporelle de la population électroniquement excitée. Néanmoins, dans le cas de l'ADN, où des processus de désexcitation non radiative prévalent et la force oscillatrice des transitions associées à l'émission peut varier au cours du temps, l'amplitude des signaux n'est pas toujours proportionnelle à la population excitée. Néanmoins, la persistance des signaux, même de faible intensité, témoigne de la survie des excitations, qui sont susceptibles de donner lieu à des réactions photochimiques.

L'anisotropie de fluorescence dépend de l'angle formé entre les transitions électroniques reliées à l'absorption et l'émission de photon. Ce paramètre moléculaire peut être mesuré au laboratoire en jouant sur la polarisation des faisceaux de l'excitation de fluorescence (figure 1). Une modification de l'anisotropie de fluorescence au cours du temps peut être due simplement à une diffusion rotationnelle du chromophore qui a lieu entre le moment de l'absorption et le moment de l'émission, ce qui se produit en général à des temps relativement longs. Mais si l'anisotropie change à des temps trop courts pour que de tels mouvements puissent se produire, cela témoigne d'une modification de la structure électronique, comme par exemple une conversion interne, ou encore un transfert d'énergie entre les chromophores.

Les études récentes de la fluorescence résolue en temps sur l'ADN ont été réalisées en utilisant comme source d'excitation des lasers femtoseconde (fs) associés à différents types de détection. À des temps très courts, de la centaine de fs à la centaine de picosecondes (ps), la fluorescence par somme de fréquences (« up-conversion ») a été d'un grand secours (voir encadré) [2-4] ; quelques expériences ont été également réalisées par la technique de la porte Kerr [5-6]. En parallèle, le comptage de photon unique corrélé en temps permet de suivre le comportement de la fluorescence de la dizaine de ps à la centaine de nanosecondes (ns). Ces expériences

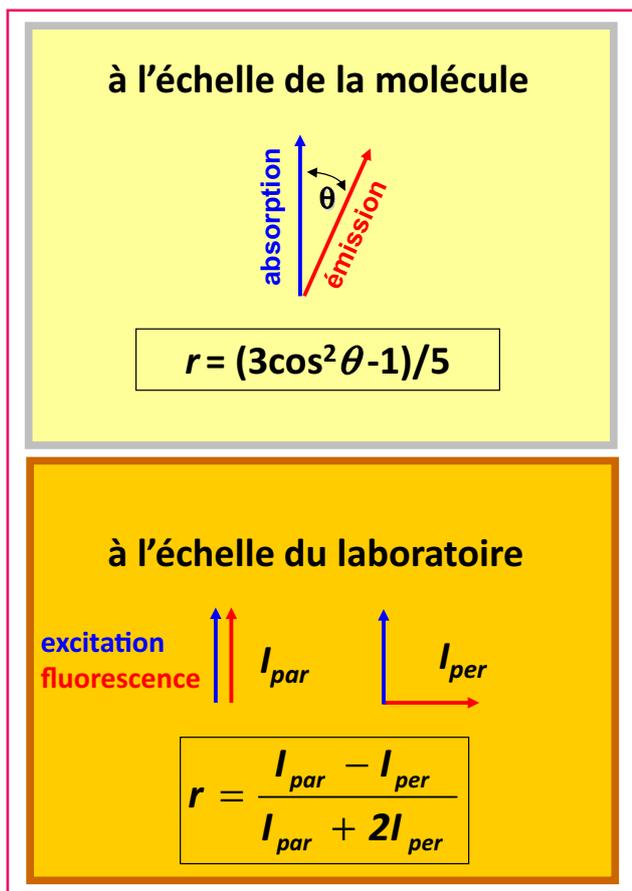
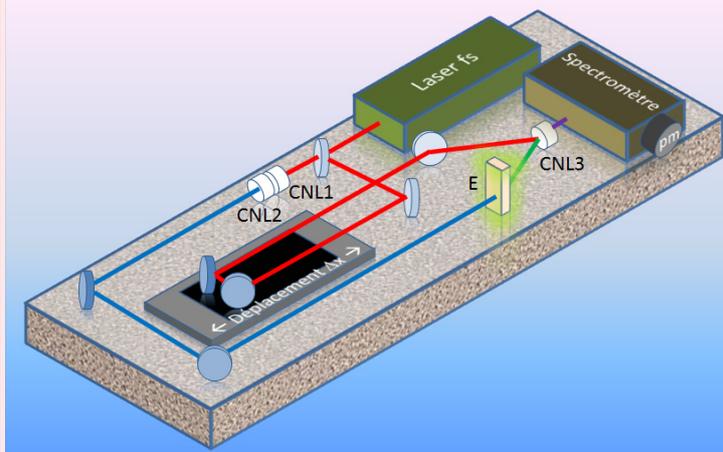


Figure 1 - L'anisotropie de fluorescence  $r$  permet de relier des paramètres moléculaires à des grandeurs qui peuvent être déterminées en laboratoire. À l'échelle moléculaire, elle dépend de l'angle  $\theta$  formé entre les vecteurs de transitions électroniques associées à l'absorption et à l'émission des photons. À l'échelle du laboratoire, sa détermination nécessite la mesure de l'intensité de fluorescence à travers un polariseur parallèle, puis perpendiculaire, à la polarisation de faisceau lumineux utilisé pour l'excitation.

### La spectroscopie de fluorescence femtoseconde

La lumière est un outil d'analyse essentiel pour les chimistes, qui s'en servent largement à travers différentes méthodes de spectroscopie optique. Elle est également indispensable pour caractériser des processus fondamentaux en chimie physique (relaxation des états excités, transfert d'énergie ou de charge, intermédiaires de réaction...). Dans ce contexte, les lasers impulsionnels sont devenus des outils de choix car ils donnent la possibilité d'une part de déclencher des processus photo-induits, et d'autre part de les suivre au cours du temps. Comme certains de ces processus peuvent être extrêmement rapides (par exemple la relaxation des états excités des bases de l'ADN), il est important d'utiliser des techniques expérimentales dotées d'une très grande résolution temporelle [a].

Aujourd'hui, ce sont les expériences laser dites « pompe-sonde » qui procurent la meilleure résolution temporelle. Ces expériences s'appuient sur l'utilisation de deux impulsions laser ultra-courtes : une impulsion « pompe » qui génère l'espèce à étudier en un temps beaucoup plus bref que sa transformation ultérieure, et une impulsion « sonde » qui permet de suivre l'évolution des espèces formées en fonction du temps. Si la méthode « pompe-sonde » la plus répandue est la spectroscopie d'absorption transitoire [b], nous avons opté pour notre part pour une détection de fluorescence, basée sur le principe de génération de somme des fréquences [c]. Contrairement à la technique d'absorption transitoire, l'impulsion « sonde » n'interroge pas directement l'échantillon photo-excité mais la fluorescence, même très faible, émise par celui-ci (voir figure). Dans un tel dispositif « tout optique », la résolution temporelle est limitée seulement par la durée des impulsions laser. Elle est donc bien meilleure que celle atteinte lorsqu'on détecte directement la fluorescence à l'aide d'un dispositif électronique.



Vue très schématique d'un montage de spectroscopie de fluorescence UV basée sur la génération de somme de fréquences. Le faisceau initial issu d'un laser titane-saphir (800 nm, 100 fs) est séparé par une lame semi-transparente en deux parties d'inégale intensité. La plus intense, constituant le faisceau « pompe », est convertie en un faisceau UV de 267 nm (en bleu) par triplement de fréquence dans les cristaux non linéaires CNL1 et CNL2. Une impulsion de ce faisceau « pompe » excite l'échantillon E au temps  $t = 0$ . La fluorescence émise par l'échantillon (en vert) est focalisée dans le cristal non linéaire CNL3. Une impulsion « sonde » du second faisceau (en rouge) est retardée par rapport à celle-ci à l'aide d'une ligne à retard avant d'être superposée avec la fluorescence dans CNL3. La génération de somme des fréquences (fluorescence « up-conversion ») respecte la conservation de l'énergie selon l'expression  $h\nu_{\text{somme}} = h\nu_{\text{pompe}} + h\nu_{\text{fluor}}$ . À titre d'exemple, en mélangeant la fluorescence à 330 nm ( $h\nu_{\text{fluor}} = 3,75$  eV) avec une impulsion laser à 800 nm ( $h\nu_{\text{pompe}} = 1,55$  eV), nous obtenons la génération d'une lumière somme à 234 nm ( $h\nu_{\text{somme}} = 5,30$  eV), détectée par le spectromètre. La ligne à retard permet de transformer un déplacement spatial ( $\Delta x$ ) en un délai temporel ( $\Delta t$ ) via la relation  $\Delta t = 2 \Delta x/c$ , où  $c$  est la vitesse de la lumière. Ainsi, 1  $\mu\text{m}$  correspond à 6,67 fs.

[a] Mostafavi M., Gustavsson T., *Réactions ultrarapides en solution, approches expérimentales et théoriques*, CNRS Éditions, 2006.

[b] Poizat O., Sliwa M., Ruckebusch C., Aloise S., Buntinx G., La chimie ultra-rapide capturée en temps réel, *L'Act. Chim.*, 2011, 348-349, p. 21.

[c] Mialocq J.-C., Gustavsson T., Investigation of femtosecond chemical reactivity by means of fluorescence up-conversion, in *New Trends in Fluorescence Spectroscopy*, Springer, 2001, p. 61.

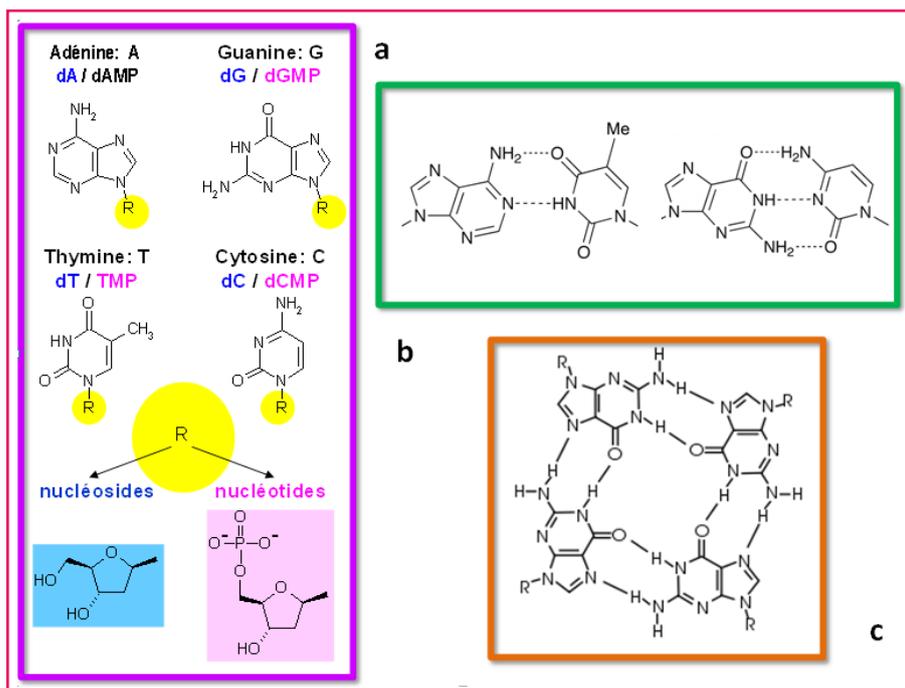


Figure 2 - Les briques élémentaires de l'ADN : bases (adénine A, thymine T, guanine G, cytosine C), nucléosides et nucléotides (a). Appariement des bases au sein de doubles hélices : adénine-thymine et guanine-cytosine (b). Association de quatre guanines en tétrade ; les G-quadruplexes sont caractérisés par l'empilement vertical de telles tétrades (c).

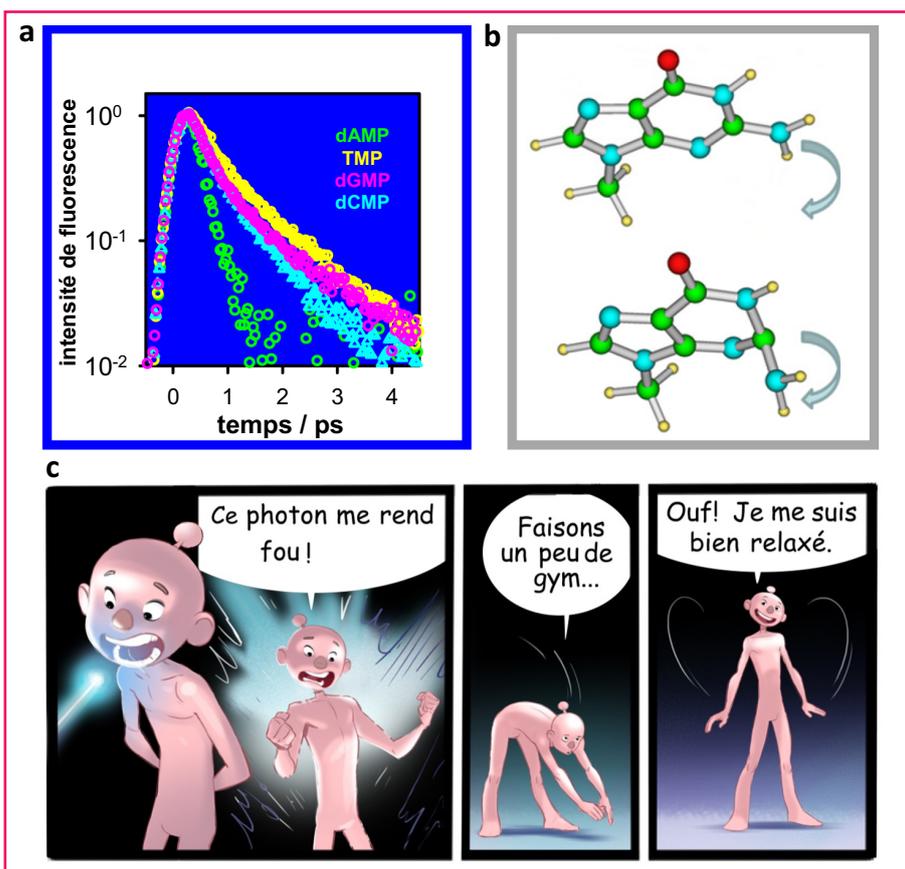


Figure 3 - Déclins de fluorescence de quatre nucléotides de l'ADN enregistrés par la technique de « up-conversion » à 330 nm pour une excitation à 267 nm (a). Leur désactivation ultra-rapide implique des mouvements de certains substituants des bases hors du plan aromatique. Un tel changement conformationnel (groupement  $\text{NH}_2$ ) est montré en (b) dans le cas de la guanine et illustré en (c) sous forme de gymnastique effectuée par la molécule. Dessin de Ghislain Aubry, © LFP.

« multi-échelles temporelles » sont très importantes pour saisir toute la complexité des processus impliqués que suivent les excitations électroniques, notamment des doubles hélices dans les acides nucléiques [7-8].

## Les briques élémentaires

L'histoire de la fluorescence intrinsèque de l'ADN commence véritablement en 1971, lorsqu'un laboratoire américain et un laboratoire français publient, quasi simultanément, les premiers spectres de fluorescence à température ambiante en solution aqueuse de ses briques élémentaires (bases, des nucléosides et des nucléotides, *figure 2a*) [9-10]. Il apparaît alors que leur rendement quantique de fluorescence est de l'ordre de  $10^{-4}$ , c'est-à-dire mille fois plus faible que celui déterminé au cours des études antérieures, effectuées à de très basses températures sur structures rigides (77 K) [11]. Les auteurs constatent que les voies de désactivation non radiative sont très largement majoritaires et prévoient des durées de vie de fluorescence autour d'1 ps. Mais il a fallu attendre une trentaine d'années pour que les déclins de fluorescence soient directement déterminés [3-12].

Les expériences réalisées depuis ont montré que ces durées de vie sont plus courtes que celles suspectées [13]. Par exemple, dans le cas de nucléotides, elles sont de 130 fs pour dAMP, 500 fs pour TMP, 340 fs pour dGMP et 300 fs pour dCMP ; mais ces valeurs ne sont que des moyennes. Contrairement au comportement des molécules fluorescentes habituelles, telles que les colorants, les cinétiques observées pour les briques élémentaires de l'ADN ne suivent pas des lois mono-exponentielles. En effet, elles sont dominées par une composante ultra-rapide, entre 100 et 300 fs, suivie par une composante plus lente, d'environ 1 ps, de très faible amplitude. Nous constatons alors que, bien que ces composés soient assez « simples », les processus sous-jacents à leur désactivation ne le sont pas.

De nombreuses expériences ont sondé l'influence du solvant et des substituants des bases sur les propriétés de fluorescence. Ces résultats, associés à d'autres études expérimentales et théoriques [14], ont permis l'élucidation des changements de la structure électronique qui ont lieu pendant la relaxation de l'état excité singulet  $\pi\pi^*$  [15]. Selon l'image qui a émergé, la conversion interne très efficace est due à l'existence des intersections coniques qui lient la surface de potentiel du premier état excité  $\pi\pi^*$  avec l'état fondamental. La conversion interne est accompagnée par des mouvements de certains substituants des bases hors du plan aromatique (*figure 3*). Ces

mouvements sont bloqués à basse température, mais ils sont toujours possibles à température ambiante dans les doubles hélices.

La désactivation des états singulets  $\pi\pi^*$  des briques élémentaires de l'ADN a constitué en quelque sorte un « showcase » pour les mécanismes en général de relaxation non radiative des composés organiques. Elle est aussi considérée par certains comme une cause de « sélection naturelle » des acides nucléiques en tant que lettres du code génétique ; leur photostabilité aurait été cruciale pendant la période prébiotique, où le rayonnement UV du Soleil n'était pas encore filtré par la couche d'ozone (voir l'article de S. Godin-Beekmann dans ce numéro [16]). Mais une telle explication doit être modérée, car les effets que nous venons de discuter concernent des excitations autour de 260 nm. Cependant, en allant vers des longueurs d'onde plus courtes, à partir de 230 nm, les photons UV deviennent très énergétiques et provoquent des phénomènes d'ionisation de plus en plus importants qui déclenchent des réactions chimiques [17].

## Les doubles hélices

Malgré la photostabilité exceptionnelle des briques élémentaires de l'ADN, l'absorption des photons UV par des doubles hélices, dans lesquelles les adénines sont appariées aux thymines et les guanines aux cytosines (figure 2b), peut déclencher des réactions chimiques susceptibles d'induire des mutations cancérogènes [18]. Comme de tels photons, délétères pour le code génétique, se trouvent dans le rayonnement solaire qui arrive jusqu'à la surface de la Terre, la caractérisation des photo-processus qui endommagent l'ADN constitue un enjeu pour la santé publique. Une étape importante dans cette direction consiste à suivre le sort de l'énergie d'excitation électronique au sein des doubles hélices [19]. C'est à ce niveau précisément que se situe la contribution de la spectroscopie de fluorescence.

Des études de fluorescence résolue en temps ont démontré que les excitations électroniques persistent dans des doubles hélices pendant plusieurs décades de temps, leurs déclin étant multi-échelles, de la femtoseconde à la nanoseconde [20]. Cette complexité a ses sources dans des interactions électroniques qui opèrent entre les bases à cause de leur proximité (couplage dipolaire, recouvrement d'orbitales...). Il en résulte une délocalisation des états excités sur un certain nombre de bases. Nous pouvons distinguer deux cas limites d'états excités délocalisés : les excitons Frenkel et les états à transfert de charge. Les excitons Frenkel sont des combinaisons linéaires des états  $\pi\pi^*$  localisés sur des bases individuelles. Les états à transfert de charge sont caractérisés par la présence des charges positives et négatives sur des bases différentes.

Des travaux récents, effectués dans le cadre du projet ANR DNAexciton, ont montré que les excitons Frenkel et les états à transfert de charge sont des précurseurs, respectivement, des dimères cyclobutanes et des photo-adduits (6-4) [21-22]. Ces composés dimériques, formés par fusion de deux bases cytosine et/ou thymine, sont les photoproduits les plus importants induits dans l'ADN par absorption du rayonnement UV. Leur formation dépend donc de la probabilité que les états excités précurseurs soient peuplés au cours de la relaxation électronique qui peut suivre des chemins bien tortueux [23].

L'anisotropie de fluorescence constitue un outil de choix pour sonder les transformations entre différents types

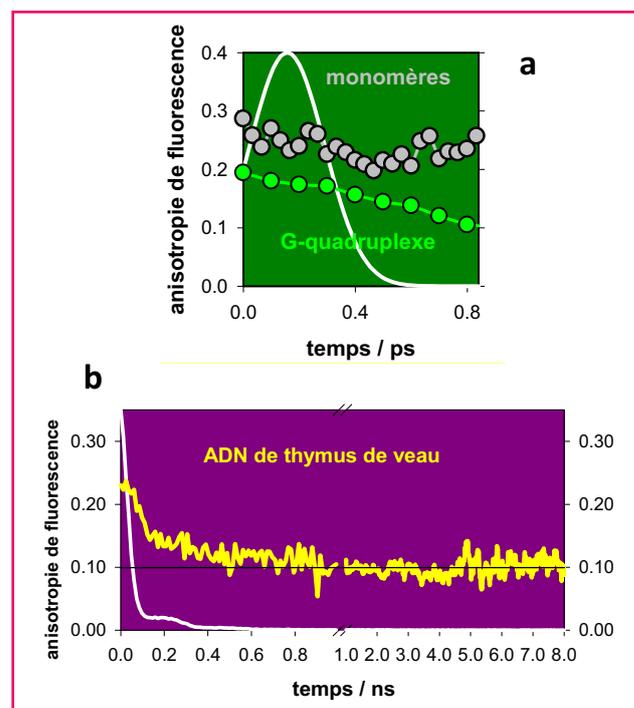


Figure 4 - Anisotropie de fluorescence déterminée à 330 nm pour (a) un G-quadruplexe et le mélange stœchiométrique de mono-nucléotides et (b) l'ADN du thymus de veau, avec une excitation à 267 nm. Les signaux en (a) et (b) ont été obtenus par les techniques « somme de fréquences » et « comptage du photon unique corrélé en temps », respectivement. En blanc : les fonctions d'appareil.

d'états électroniques (figure 4). Il a été ainsi mis en évidence qu'un transfert d'énergie entre les états  $\pi\pi^*$  des bases a lieu à l'échelle femtoseconde. Un tel processus ultra-rapide n'étant possible que *via* des excitons Frenkel, ces expériences ont révélé que les photons UVC/UVB sont absorbés simultanément par plusieurs bases. Les excitons Frenkel sont ensuite piégés par des états à transfert de charge, ce processus dépendant fortement du potentiel redox des bases concernées. Ainsi, la formation des cyclobutanes est affectée par la nature des bases voisines des pyrimidines réactives [21-24]. Mais ce n'est pas tout ; il est possible qu'une petite fraction des excitations soit dépiégée, aboutissant de nouveau vers des états  $\pi\pi^*$ , ce qui est détecté par l'apparition d'une fluorescence retardée [7].

L'interconversion entre états à transfert de charge et états  $\pi\pi^*$  se produit également dans le domaine spectral UVA. Alors que les bases isolées n'absorbent pas de photons UVA, les doubles hélices sont capables de le faire. Des études de fluorescence ont montré que ceci est dû à une contribution des états à transfert de charge [25]. Mais curieusement, une telle absorption conduit à la formation de dimères cyclobutanes. Ceci est possible car les surfaces d'énergie potentielle des états  $\pi\pi^*$  et des états à transfert se croisent, comme l'indiquent leurs spectres d'émission qui se recouvrent, permettant ainsi le passage de l'un à l'autre.

L'existence d'états excités délocalisés et les transformations entre eux dépendent des mouvements conformationnels des doubles hélices : plus ils sont restreints, plus le comportement collectif est favorisé [8]. Ainsi par exemple, une augmentation de la force ionique de la solution, connue pour renforcer la rigidité de l'ADN, conduit à un rallongement de sa durée de vie de fluorescence (figure 5). Ceci est

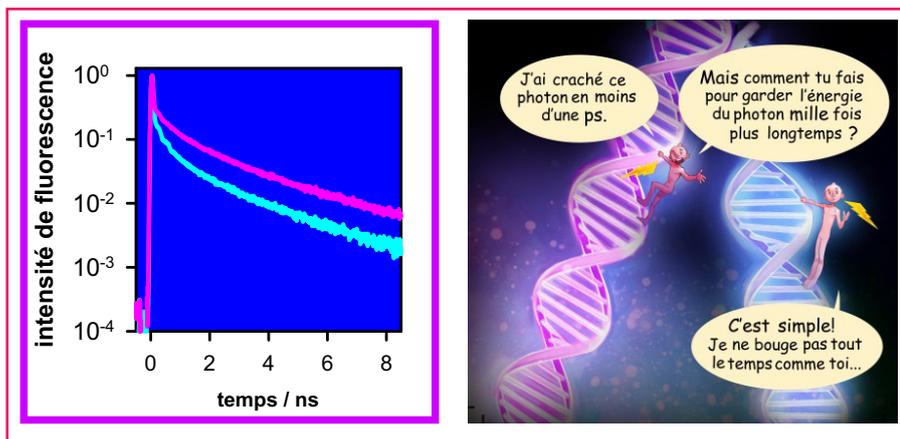


Figure 5 - Les mouvements conformationnels affectent la durée de vie de fluorescence des doubles hélices. Une augmentation de la force ionique rend le système plus rigide et conduit à une augmentation de la durée de vie de fluorescence. Cet effet est illustré sur le graphique supérieur où sont comparés les déclinés de fluorescence à 330 nm de l'ADN de thymus de veau en solution aqueuse à force ionique faible (cyan) et forte (rose), obtenus pour une excitation à 267 nm. Dessin de Ghislain Aubry, © LFP.

important car la rigidité doit être encore plus élevée *in vivo*, où l'ADN peut se trouver dans un état condensé, en forte interaction avec d'autres biomolécules.

## Les G-quadruplexes

Dans les doubles hélices, la guanine s'apparie avec la cytosine pour former une paire de bases (figure 2b). Mais les guanines ont aussi la capacité de s'auto-assembler en tétrades (figure 2c) dont l'empilement vertical donne lieu à des structures dites G-quadruplexes. Ceux-ci peuvent être obtenus à partir des séquences riches en guanine. Leur présence *in vivo*, soupçonnée depuis longtemps, a été mise en évidence récemment. En plus de leur énorme intérêt biologique (implication dans l'expression de gènes, cibles pour des médicaments anticancéreux...), les G-quadruplexes sont étudiés en vue de leurs applications potentielles dans le domaine de l'électronique moléculaire et l'optoélectronique (nanoconducteurs, guides d'énergie) [26].

Les études de fluorescence révèlent que, au premier abord, les excitations électroniques se comportent dans des G-quadruplexes de la même façon que dans des doubles brins : il y a bien un transfert ultra-rapide de l'énergie d'excitation entre les bases, dû à la délocalisation des états  $\pi\pi^*$ . Les excitons Frenkel peuvent être également piégés par des états à transfert de charge. Mais malgré cela, il existe des caractéristiques spécifiques aux structures G-quadruplexes [27].

Tout d'abord, le comportement collectif des excitations électroniques est plus prononcé dans des G-quadruplexes que dans des doubles hélices. Cela se produit parce que l'empilement vertical des tétrades, dans lesquels chaque guanine est liée à deux autres, rend les structures à quatre brins très rigides. Il en résulte un transfert d'énergie plus rapide, comme l'indique l'anisotropie de fluorescence. En effet, les transitions  $\pi\pi^*$  étant polarisées dans le plan des tétrades, un transfert d'énergie impliquant un grand nombre d'états différents conduit à une dépolarisation de la fluorescence dans le plan des tétrades, ce qui donne lieu à une anisotropie de fluorescence égale à 0,1. Cette valeur peut être atteinte pour des G-quadruplexes en seulement 1 ps, alors que le même phénomène prend 900 ps dans le cas de l'ADN

naturel (figure 4b). Une autre conséquence de la rigidité structurale des G-quadruplexes est que des états délocalisés contribuent à l'émission  $\pi\pi^*$  et cet effet est d'autant plus important que le nombre des tétrades est élevé.

Nous mentionnons enfin le rôle étonnant joué par des ions métalliques situés dans la cavité centrale de G-quadruplexes sur le devenir de leurs états excités. La présence des cations  $\text{Na}^+$ , de plus petite taille et donc plus mobiles que des cations  $\text{K}^+$ , favorise la formation des états à transfert de charge [28]. Tel n'est pas le cas des doubles hélices, dont le comportement des états excités est le même en présence de ces deux types de cations, biologiquement pertinents. Cette particularité des G-quadruplexes pourrait inspirer la conception de G-quadruplexes biomimétiques pour des applications dans le domaine de l'électronique moléculaire et l'optoélectronique dans lesquels le piégeage des excitons Frenkel par des états à transfert de charge pourrait être modulé par le biais des ions métalliques.

## Références

- [1] Markovitsi D., Onidas D., Talbot F., Marguet S., Gustavsson T., Lazzarotto E., UVB/UVC induced processes in model DNA helices studied by time-resolved spectroscopy: pitfalls and tricks, *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **2006**, *183*, p. 1.
- [2] Markovitsi D., Onidas D., Gustavsson T., Talbot F., Lazzarotto E., Collective behavior of Franck-Condon excited states and energy transfer in DNA double helices, *J. Am. Chem. Soc.*, **2005**, *127*, p. 17130.
- [3] Onidas D., Markovitsi D., Marguet S., Sharonov A., Gustavsson T., Fluorescence properties of DNA nucleosides and nucleotides: a refined steady-state and femtosecond investigation, *J. Phys. Chem. B*, **2002**, *106*, p. 11367.
- [4] Schwalb N.K., Temps F., Base sequence and higher-order structure induce the complex excited-state dynamics in DNA, *Science*, **2008**, *322*, p. 243.
- [5] Kwok W.-M., Ma C., Phillips D.L., A doorway state leads to photostability or triplet photodamage in thymine DNA, *J. Am. Chem. Soc.*, **2008**, *130*, p. 5131.
- [6] Kwok W.-M., Ma C., Phillips D.L., Femtosecond time- and wavelength-resolved fluorescence and absorption study of the excited states of adenosine and an adenine oligomer, *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, p. 11894.
- [7] Vayá I., Gustavsson T., Douki T., Berlin Y., Markovitsi D., Electronic excitation energy transfer between nucleobases of natural DNA, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, p. 11366.
- [8] Vayá I., Gustavsson T., Miannay F.A., Douki T., Markovitsi D., Fluorescence of natural DNA: from the femtosecond to the nanosecond time-scales, *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, p. 11834.
- [9] Vigny P., Fluorescence des nucléosides et nucléotides à température ambiante, *C.R. Acad. Sci. Paris*, **1971**, *272 D*, p. 3206.
- [10] Daniels M., Hauswirth W., Fluorescence of the purine and pyrimidine bases of nucleic acids in neutral aqueous solution at 300 K, *Science*, **1971**, *171*, p. 675.
- [11] Eisinger J., Gueron M., Shulman R.G., Yamane T., Excimer fluorescence of dinucleotides polynucleotides and DNA, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1966**, *55*, p. 1015.
- [12] Peon J., Zewail A.H., DNA/RNA nucleotides and nucleosides: direct measurement of excited-state lifetimes by femtosecond fluorescence up-conversion, *Chem. Phys. Lett.*, **2001**, *348*, p. 255.
- [13] Markovitsi D., Gustavsson T., Banyasz A., DNA fluorescence, in *CRC Handbook of Organic Photochemistry and Photobiology*, A. Griesbeck, F. Ghetti, M. Oelgemoeller (eds.), Taylor and Francis, Boca Raton, **2012**, p. 1057.
- [14] Barbatti M., Borin A.C., Ullrich S., *Photinduced Phenomena in Nucleic Acids*, Springer, **2015**.
- [15] Gustavsson T., Improta R., Markovitsi D., DNA/RNA: building blocks of life under UV irradiation, *J. Phys. Chem. Lett.*, **2010**, *1*, p. 2025.
- [16] Godin-Beekmann S., L'ozone stratosphérique : rôles complexes du Soleil et des activités humaines dans son équilibre, *L'Act. Chim.*, **2015**, *397-398*, p. 86.
- [17] Candeias L.P., Steenken S., Ionization of purine nucleosides and nucleotides and their components by 193-nm laser photolysis in aqueous solution: model studies for oxidative damage of DNA, *J. Am. Chem. Soc.*, **1992**, *114*, p. 699.

- [18] Cadet J., Douki T., Pouget J.P., Ravanat J.L., Sauvaigo S., Effects of UV and visible radiations on cellular DNA, *Curr. Prob. Dermat.*, **2001**, *29*, p. 62.
- [19] Markovitsi D., Gustavsson T., Banyasz A., Absorption of UV radiation by DNA: spatial and temporal features, *Mutat. Res. - Rev. Mutat. Res.*, **2010**, *704*, p. 21.
- [20] Markovitsi D., Gustavsson T., Vayá I., Fluorescence of DNA duplexes: from model helices to natural DNA, *J. Phys. Chem. Lett.*, **2010**, *1*, p. 3271.
- [21] Esposito L., Banyasz A., Douki T., Perron M., Markovitsi D., Improta R., Effect of C5-methylation of cytosine on the photoreactivity of DNA: a joint experimental and computational study of TCG trinucleotides, *J. Am. Chem. Soc.*, **2014**, *136*, p. 10838.
- [22] Banyasz A., Douki T., Improta R., Gustavsson T., Onidas D., Vayá I., Perron M., Markovitsi D., Electronic excited states responsible for dimer formation upon UV absorption directly by thymine strands: joint experimental and theoretical study, *J. Am. Chem. Soc.*, **2012**, *134*, p. 14834.
- [23] Markovitsi D., Talbot F., Gustavsson T., Onidas D., Lazzarotto E., Marguet S., Complexity of excited state dynamics in DNA, *Nature*, **2006**, *441*, p. E7.
- [24] Pan Z.Z., Hariharan M., Arkin J.D., Jalolov A.S., McCullagh M., Schatz G.C., Lewis F.D., Electron donor-acceptor interactions with flanking purines influence the efficiency of thymine photodimerization, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, p. 20793.
- [25] Banyasz A., Vayá I., Changenet-Barret P., Gustavsson T., Douki T., Markovitsi D., Base-pairing enhances fluorescence and favors cyclobutane dimer formation induced upon absorption of UVA radiation by DNA, *J. Am. Chem. Soc.*, **2011**, *133*, p. 5163.
- [26] Livshits G.I., Stern A., Rotem D., Borovok N., Eidelstein G., Migliore A., Penzo E., Wind S.J., Di Felice R., Skourtis S.S., Carlos Cuevas J., Gurevich L., Kottlyar A.B., Porath D., Long-range charge transport in single G-quadruplex DNA molecules, *Nature Nanotechnology*, **2014**, *9*, p. 1040.
- [27] Changenet-Barret P., Hua Y., Markovitsi D., Electronic excitations in guanine quadruplexes, *Top. Curr. Chem.*, **2015**, *356*, p. 183.
- [28] Hua Y., Changenet-Barret P., Improta R., Vayá I., Gustavsson T., Kottlyar A.B., Zikich D., Šket P., Plavec J., Markovitsi D., Cation effect on the electronic excited states of guanine nanostructures studied by time-resolved fluorescence spectroscopy, *J. Phys. Chem. C*, **2012**, *116*, p. 14682.



D. Markovitsi



T. Gustavsson



A. Banyasz

Dimitra Markovitsi et Thomas Gustavsson sont directeurs de recherche CNRS et Akos Banyasz est chargé de recherche CNRS au Laboratoire Francis Perrin, URA 2453, CEA Saclay\*.

\* CNRS, IRAMIS, LIDyL, Laboratoire Francis Perrin, URA 2453, CEA Saclay, F-91191 Gif-sur-Yvette.  
Courriels : dimitra.markovitsi@cea.fr ; thomas.gustavsson@cea.fr ; akos.banyasz@cea.fr

**Institut des Sciences Analytiques et de Physico-chimie pour l'Environnement et les Matériaux**

**IPREM-UMR 5254**

## L'IPREM en lumière

Dans le **Sud Aquitain**, les chercheurs de l'IPREM s'attachent à décrypter les mécanismes mis en jeu de l'atome au solide, de l'inorganique à l'organique, de l'inerte au vivant.

Par leurs collaborations régionales, nationales et internationales, ils **synthétisent, caractérisent et modélisent** les matériaux de demain qui trouveront des applications dans l'environnement, la santé, l'énergie et les transports.

**Les applications**

- Authentification et traçabilité des vins
- Iridescence de films structurés en nids d'abeilles
- Utilisation de microorganismes phototropes
- Cellule solaire organique
- Dépollution de l'air par photocatalyse
- Ablation laser

**La caractérisation**

- Imagerie de fluorescence
- Spectroscopies Microscopies

**La synthèse - photochimie**

Réacteurs photochimiques

Mécanismes photo-induits

**La lumière au service de la chimie**

**Directeur : Olivier Donard**  
Technopole Hélioparc  
2 avenue du Pdt P Angot  
64053 Pau cedex 09  
<http://iprem.univ-pau.fr/>

❖ 220 personnes  
❖ des équipements d'excellence  
❖ au service de la recherche à Pau, Anglet et Mont de Marsan