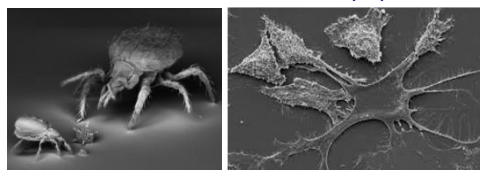


Autres Techniques d'Analyse 3D

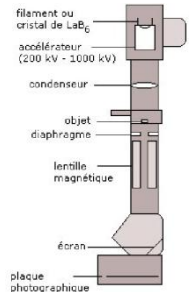
CHAPITRE 4: AUTRES TECHNIQUES D'ANALYSE 3D

1 - Microscopie électronique

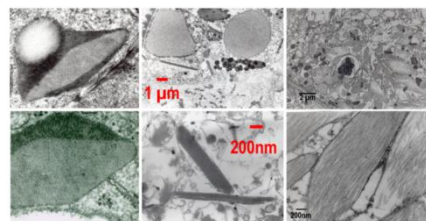
- ❖ **Microscope optique** = assemblage de lentilles minces = déviation de rayons lumineux (lumière visible  $400 \text{ nm} < \lambda < 800 \text{ nm}$ ).
- ❖ Résolution = distance minimum entre 2 points pouvant être distingués.
- ❖ Limite physique due à la longueur d'onde pour la résolution  $\sim 1400 \text{ \AA} = 0,14 \text{ \mu m} \neq$  distances interatomiques.
- ❖ Faisceau d'électrons = ensemble de photons et/ou onde électromagnétique de longueur d'onde  $\lambda$ .
  - Pour  $100 \text{ eV}$  :  $\lambda = 1,2 \text{ \AA} \rightarrow$  résolution limite  $\sim 0,4 \text{ \AA}$
  - Pour  $10 \text{ KeV}$  :  $\lambda = 0,12 \text{ \AA}$
  - ...
- ❖ **1931** : Premier microscope électronique.
- ❖ **Microscope électronique** = les lentilles sont remplacées par des champs magnétiques (lentilles magnétiques) qui ont le pouvoir de dévier les faisceaux d'électrons.
- ❖ **Microscope à balayage** = On bombarde une surface par un faisceau d'électrons et on analyse l'émission d'électrons rétrodiffusés (électrons Auger, rayons X).
  - Analyse de surface de la structure microscopique



Cellule de cancer du sein

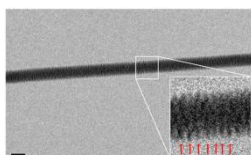


- ❖ **Microscope à transmission** = structure similaire à un microscope optique avec des lentilles magnétiques.
- ❖ Les faisceaux d'électrons traversent l'échantillon, ils sont plus ou moins absorbés et forment une image.
- ❖ On peut visualiser les plans réticulaires et obtenir des images de réseaux cristallins.



Biopsie rénale montrant la formation de cristaux hétérogènes associée au syndrome de Fanconi

- ❖ **Microscope électronique à haute résolution** = microscope électronique permettant d'atteindre une résolution à l'échelle atomique.
- ❖ Technique de reconstruction (indirecte) de l'image de diffraction des faisceaux électroniques traversant l'échantillon observé. → Résolution  $\sim 0,5 \text{ \AA} = 0,05 \text{ nm}$
- ❖ Méthodes particulièrement adaptée à l'observation des cristaux.

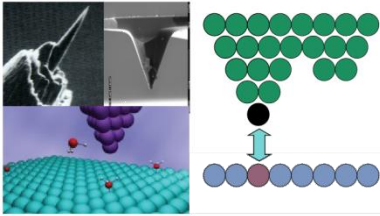


DNA's double-helix structure is on display for the first time in this electron microscope photograph of a small bundle of DNA strands. (2012)

Autres Techniques d'Analyse 3D

2 - Microscopie à effet tunnel et microscopie à force atomique (AFM)

- ❖ **Microscope à effet tunnel** = On déplace une pointe très fine a quelques angströms de la surface de l'échantillon et on mesure les échanges d'électrons entre la pointe et les molécules de surface.



Le bout de la pointe est quasi mono-atmique.  
L'échange d'électron se fait par effet tunnel (effet quantique).

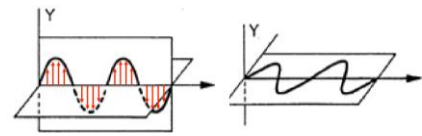
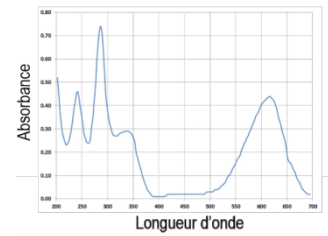
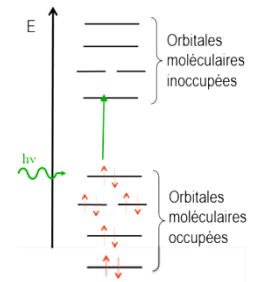
- ❖ **Microscope à force atomique (AFM)** = Effet tunnel + on contraint constantes les échanges électroniques entre la pointe et la surface => mesure des forces nécessaires a cette contrainte.
- ❖ Exploration des surfaces à l'échelle atomique.

- NaCl
- ADN
- Graphite

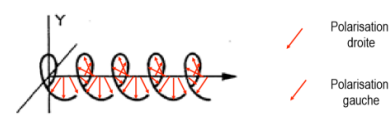
Voir sur diapo pour illustrations

3 - Dichroïsme circulaire

- ❖ Absorption UV/Vis = absorption de la lumière visible (400 nm < λ < 800 nm) + UV (λ < 400 nm).
- ❖ Les photons UV/Vis sont absorbés sélectivement par les molécules (excitation des électrons dans les orbitales moléculaires π inoccupées).
- ❖ A chaque excitation (état excité) correspond une bande d'absorption → spectres UV/Vis.
- ❖ Chaque bande a une intensité caractéristique de la molécule ou d'une partie de la molécule.
- ❖ ε = coefficient d'absorption molaire = coefficient d'extinction molaire = capacité d'une molécule à absorber une longueur d'onde.
- ❖ L'intensité d'absorption (~ absorbance A) est proportionnelle à ε.  
→ **Loi de Beer** :  $A = \epsilon \cdot L \cdot [C]$ , L = Longueur échantillon et [C] concentration du médicament
- ❖ La lumière = flux de photons ou onde (électromagnétique)
- ❖ Lumière polarisée linéairement = propagation en ligne droite et le champ électromagnétique oscille en sinusöide dans un plan.

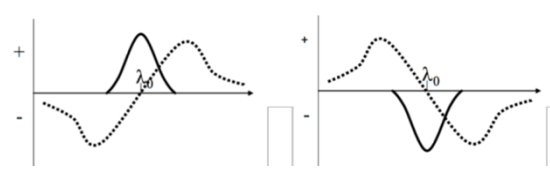


- ❖ Lumière polarisée circulairement (gauche ou droite)



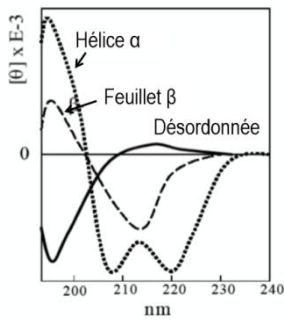
- ❖ La lumière polarisée est sensible a la chiralité des molécules → au niveau d'un centre chiral la lumière polarisée gauche est absorbée différemment de la lumière polarisée droite.  
→ Différence entre les 2 spectres :  $\Delta\epsilon = \epsilon_{gauche} - \epsilon_{droite}$  (pas sur)

- ❖ La mesure de Δε constitue la spectroscopie par dichroïsme circulaire (spectre CD)
- ❖ Si Δε = 0 la structure moléculaire n'est pas ordonnée
- ❖ Si Δε ≠ 0 la structure moléculaire est ordonnée
  - Δε > 0 = effet Cotton positif
  - Δε < 0 = effet Cotton négatif



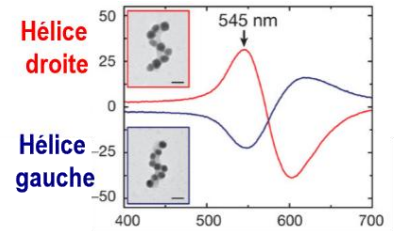
Autres Techniques d'Analyse 3D

- ❖ Utilisation des spectres CD à l'identification de la stéréométrie d'une molécule.
- ❖ Le signe de l'effet Cotton dépend de la chiralité des atomes.
- ❖ On peut identifier la chiralité dans les biomolécules de haut poids moléculaire (protéines et ADN).

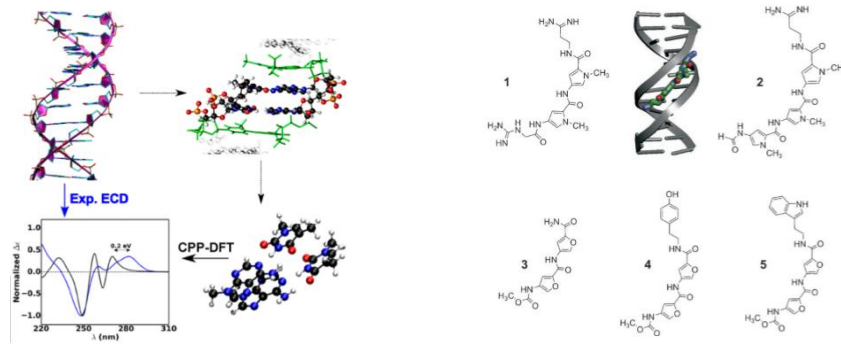


Spectres CD de la L-Lysine dans différentes structures secondaires.

Remarque : les hélices α sont plus faciles à visualiser.



- ❖ Caractérisation de l'ADN : structure, défaut et intercalation



Intercalation de peptides antibiotiques et antiviraux dans le petit sillon de l'ADN