



HAL
open science

Étude de l'interaction entre ions multichargés et systèmes complexes d'intérêt biologique : effets de l'environnement à l'échelle moléculaire

Michael Capron

► **To cite this version:**

Michael Capron. Étude de l'interaction entre ions multichargés et systèmes complexes d'intérêt biologique : effets de l'environnement à l'échelle moléculaire. Agrégats Moléculaires et Atomiques [physics.atm-clus]. Université de Caen, 2011. Français. NNT : . tel-00741879

HAL Id: tel-00741879

<https://theses.hal.science/tel-00741879>

Submitted on 15 Oct 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



T H E S E

présentée par

Michael Capron

et soutenue

le 5 décembre 2011

en vue de l'obtention du

DOCTORAT de l'UNIVERSITE de CAEN

Spécialité : Milieux dilués et optique fondamentale

(Arrêté du 07 août 2006)

**Etude de l'interaction entre ions multichargés et
systèmes complexes d'intérêt biologique : effets de
l'environnement à l'échelle moléculaire**



MEMBRES du JURY

M. Philippe Dugourd, Directeur de Recherche CNRS, Lyon
M. Philippe Ronsin, Directeur de recherche CNRS, Orsay
M. Patrick Moretto-Capelle, Chargé de recherche CNRS, Toulouse
M. Eric Suraud, Professeur des universités, Toulouse
M. Lamri Adoui, Professeur des universités, Caen
M. Bruno Manil, Professeur des universités, Villetaneuse
M. Bernd Huber, Ingénieur de recherche CEA, Caen

(Rapporteur)

(Rapporteur)

(Directeur de thèse)

A ma femme
Anne-Sophie.

Remerciements

Je souhaite remercier d'abord mes rapporteurs, M. Philippe Dugourd et M. Philippe Roncin d'avoir expertisé mon travail avec tout le sérieux qui les caractérise, et ce malgré le peu de temps à leur disposition. Je remercie également les autres membres de mon jury, M. Patrick Moretto-Capelle, M. Eric Suraud, M. Bruno Manil (co-directeur), M. Lamri Adoui (président de jury) et M. Bernd Huber (directeur de thèse).

Je tiens également à remercier l'ensemble des membres du laboratoire CIMAP, permanents ou non, qui ont finalement tous eu, de près ou de loin, une influence sur mon travail. Je ne peux hélas citer chacun d'eux (je n'ai pas la mémoire des noms, c'est un fait établi), mais je les sais assez intelligents pour ne pas s'en offusquer. Je remercie donc Serge Bouffard et Emmanuel Balanzat, respectivement directeur et co-directeur du laboratoire, pour leur accueil et leur disponibilité. Je pense également à l'ensemble du support administratif du laboratoire, véritable armature, que sont Christiane Malot, Linda de Baeremaker, Delphine Hasley et Chantal Brassy. Je pense aussi à Jean-Marc Ramillon, Fabien Noury, Stéphane Guillous et au reste de l'équipe technique sans qui les développements réalisés durant ma thèse n'auraient pas été possibles. A tous merci.

Je pense enfin aux membres de l'équipe AMA, passée, présente et à venir. Puissent-ils trouver dans la suite de ces remerciements l'expression de ma plus sincère gratitude.

Merci à mes directeurs de thèse et donc à Bernd, en premier lieu, qui a survécu à ces années de travail avec moi, et qui a tenu bon là où d'autres ont renoncé... Merci à Bruno bien sûr pour son soutien et ces nuits de manip qui ne dépassaient jamais la semaine... ce sont toujours les meilleurs qui partent (géographiquement) les premiers...

Un grand merci à Patrick, sans qui ma thèse n'aurait tout simplement pas pu exister. Il est de ces hommes qui vous font repenser à RADAM avec nostalgie... Elle ne s'y était pas trompée, un vrai « gentleman ».

Merci à Alicja... toujours là heureusement pour me rappeler ce que j'aurais oublié... toujours prête à boire un café sans jamais réclamer de *łyżeczka*. Mon polonais est aujourd'hui à son meilleur niveau grâce à elle.

Merci à Lamri, jamais avare de son temps précieux, toujours prêt à signer un papier ou à discuter quand il le faut. Ses étudiants me doivent un ou deux de ses retards.

Merci à Jimmy, mon premier encadrant au CIMAP, avec qui j'ai partagé ma passion pour la nourriture et dont la conversation a toujours été agréable.

Merci à Funky Alain qui m'aura beaucoup appris, à plusieurs niveau. Je sais notamment aujourd'hui que « si si, ça le fait, avec les champignons seulement ».

Merci à JC pour toutes ces discussions et tous ses calembours... Après ça, paraître drôle devenait plus facile.

Merci à Virgile avec qui j'ai partagé mon bureau, mes idées et bien sûr mes cafés.

Merci à Areck pour les rires que nous avons partagés. J'ai beaucoup apprécié notre interaction.

Merci à Elie avec qui il fait bon discuter et qui est le seul homme à ma connaissance ayant arrêté de fumer (presque) plus souvent qu'il n'a allumé de cigarettes.

Merci à Sylvain, spécialiste mondialement reconnu du renard des Pays-Bas, à qui je dois quelques-uns de mes plus beaux fous rires, parfois à ses dépens, toujours avec son accord.

Merci à Rémi Maisonny, loin de radoter lorsqu'il ne parle pas du lecteur CD de sa tante...j'ai beaucoup apprécié tous ces après-midi passés à discuter avec lui, mais aussi ceux passés à l'écouter discuter avec moi.

Merci aussi aux autres membres du groupe, Amine, Jean-Yves, François. Merci pour vos conseils et vos remarques qui m'ont permis d'avancer.

Et surtout merci à qui a dû(e) remplir lui(elle)-même ce blanc puisque je n'ai décidément pas la mémoire des noms. Qu'il soit noté que rien n'aurait été possible sans sa contribution. Mon ami(e), je reste ton obligé.

Table des matières

Introduction	11
1 Prolégomènes	15
1.1 Terminologie	15
1.2 Motivations scientifiques	16
1.2.1 Etudes fondamentales	16
1.2.2 Dommages induits par les radiations	17
1.2.3 Origine de la vie	18
2 Systèmes étudiés	21
2.1 Les bases azotées	21
2.1.1 Généralités	21
2.1.2 Bases choisies	21
2.2 Les acides aminés	22
2.2.1 Généralités	22
2.2.2 La liaison peptidique	23
2.2.3 Les acides α -aminés	24
2.2.4 Autres acides aminés	25
3 Mécanismes de l'interaction avec des ions multichargés	27
3.1 Généralités	27
3.2 Processus	28
3.2.1 Excitation	28
3.2.2 Ionisation	28
3.2.3 Transfert de charge	28
3.2.4 Cas général	29
3.3 Processus de fragmentation	29
4 Théorie et calcul	31
4.1 Introduction à la théorie	31
4.2 Différentes méthodes de calcul	32
4.2.1 Théorie Hartree-Fock	33
4.2.2 Théorie Møller-Plesset	33
4.2.3 Théorie de la fonctionnelle de la densité	34
5 Faits marquants	37
5.1 Notion d'agrégat	37
5.1.1 Types d'agrégats	38
5.1.2 Interaction ions multichargés lents - agrégats	38

5.2	Les molécules d'intérêt biologique	41
5.2.1	L'agrégat comme une première prise en compte de l'environnement	43
Développements expérimentaux		49
6	Principe des expériences	51
6.1	Principe général	51
6.2	Techniques possibles	52
6.2.1	Choix du projectile	52
6.2.2	Méthodes de production de la cible	53
7	Dispositif expérimental	55
7.1	Production des ions	55
7.1.1	Principe de fonctionnement d'une source ECR	57
7.1.2	La ligne de faisceau	58
7.2	Production de la cible	59
7.2.1	Four de molécules isolées	59
7.2.2	La source d'agrégation gazeuse	60
7.3	Spectrométrie de masse	64
7.3.1	Principe de fonctionnement	65
7.3.2	Application de ce principe à notre spectromètre	66
7.3.3	Spécificités techniques	67
7.3.4	Performances	68
7.4	Détection	68
7.5	Forme du signal et traitement de l'information	69
7.6	Avantages et défauts de la méthode employée	74
8	La source electrospray	77
8.1	Fonctionnement	77
8.2	Détails de la ligne de faisceau de biomolécules	80
8.3	Le quadripôle de sélection en masse	81
8.3.1	Principe mathématique	81
8.3.2	Résolution, transmission et sélection en masse du spectromètre	82
8.3.3	Forme du signal de sortie	84
8.3.4	Spécificités techniques du quadripôle	84
8.4	Améliorations et perspectives	86
8.4.1	Cas 1 : production	87
8.4.2	Cas 2 : piégeage	88
8.4.3	Cas 3 : guidage	88
Résultats		91
9	Fragmentation / Ionisation	93
9.1	Acides Aminés : glycine et valine	93
9.1.1	Acides aminés isolés	94
9.1.2	Agrégats d'acides aminés	98

9.1.3	Synthèse	103
9.2	Base azotée : adénine	103
9.2.1	Molécules isolées d'adénine	104
9.2.2	Agrégats d'adénine purs	108
9.2.3	Agrégats hydratés d'adénine	113
9.3	Synthèse de l'effet de l'environnement sur la fragmentation et l'ionisation	118
10	Réaction chimique induite	121
10.1	Cas des molécules isolées	122
10.2	Cas des agrégats	124
10.2.1	α -alanine	124
10.2.2	β -alanine	124
10.3	La liaison peptidique	128
10.3.1	Nomenclature	129
10.3.2	Identification et premières conclusions	130
10.3.3	Étude de la formation de la liaison peptidique	132
10.4	Approfondissements	138
10.4.1	Pourquoi l' α -alanine ne forme-t-elle pas de liaisons peptidiques? .	139
10.4.2	Autres molécules formant des liaisons peptidiques	140
10.5	Synthèse	143
	Conclusion	147
	Bibliographie	153

Introduction

Ce mémoire présente les résultats du travail accompli durant ma thèse. Il porte sur l'étude de l'interaction en phase gazeuse entre ions multichargés et molécules d'intérêt biologique et met en lumière certains effets liés à l'environnement moléculaire suite à la collision. Il s'appuie sur différentes expériences de collision en faisceaux croisés menées entre systèmes d'intérêt biologique neutres et ions multichargés de basse énergie (de l'ordre de quelques dizaines de keV d'énergie cinétique). Dans ces conditions, la vitesse du projectile est alors bien inférieure à celle des électrons de la cible et la capture électronique est alors majoritaire (voir partie 3).

Plus en détails, cette thèse peut être décomposée en deux parties : l'une apportant les informations nécessaires à la compréhension des recherches présentées dans ce mémoire, l'autre décrivant et expliquant les résultats obtenus au cours de ces trois années de travail. Elles contiennent, pour la première, les bases physico-chimiques nécessaires à la lecture de ce mémoire, ainsi que la description des techniques expérimentales utilisées. La seconde regroupe les résultats obtenus considérant dans un premier temps les processus d'ionisation et de fragmentation de systèmes biomoléculaires avant de s'attarder sur certains phénomènes de réactions induites par l'interaction avec des ions multichargés.

Cette thèse s'attache donc à présenter dans ce premier chapitre les motivations scientifiques qui ont conduit à ce travail ainsi que les clés indispensables à sa compréhension. Celles-ci consistent en une terminologie adaptée et en un système d'unités approprié capable de rendre compte des paramètres pertinents. Ce travail requiert également des connaissances théoriques pour l'étude de tels systèmes (espèces en phase gazeuse, interaction avec des ions multichargés). Un bref historique des recherches sur le sujet (s'attardant sur quelques faits marquants) permet également de replacer cette étude en perspective avec la recherche actuelle.

La partie 5.2.1 offre au lecteur le détail des différentes techniques et dispositifs expérimentaux employés tout au long de ces trois ans. Il permet de comprendre comment ont été obtenus l'ensemble des résultats présentés par la suite pour les expériences de collision entre systèmes biomoléculaires neutres et faisceaux d'ions multichargés de basse énergie. Une partie de ce chapitre est également consacrée à un dispositif en cours de développement : une source electrospray. Un soin particulier est d'ailleurs apporté à la description des améliorations que j'ai apportées à ce dispositif lors de mes trois années de thèse.

L'ensemble des notions et des techniques utiles ayant été présentées, le chapitre 9 permet d'entrer dans le vif du sujet et présente une partie des résultats obtenus. L'ionisation et la fragmentation de deux acides aminés (glycine et valine) et d'une base azotée (adénine) y sont discutées en s'attardant sur l'importance de l'environnement moléculaire sur ces processus (par la comparaison des résultats obtenus avec des cibles isolées ou en agrégats). Au-delà de la comparaison cible isolée / cible en agrégat, le cas des agrégats hydratés d'adénine est également considéré.

Le dernier chapitre (10) présente la suite du travail entamé sur l'effet de l'environnement proche en considérant la possibilité d'une réaction chimique induite par la collision. L'étude de la formation de liaisons peptidiques au sein des agrégats y est notamment détaillée. En particulier, le cas de l' α - et de la β -alanine permet d'ouvrir un certain nombre de pistes sur la compréhension de ce dernier processus. Enfin, l'étude de quatre autres acides aminés, conformères les uns des autres, permet de mettre en lumière l'importance de certains paramètres sur cette formation de liaisons.

Ce mémoire rappelle enfin les résultats obtenus et ouvre sur un ensemble de pistes permettant de mieux déterminer le rôle de l'environnement lors de l'irradiation. Plus spécifiquement, elle s'attarde sur un ensemble cohérent d'expériences qui devraient permettre d'accroître notre compréhension de la formation de liaisons peptidiques. Elle insiste également sur les différents développements expérimentaux (en cours ou à venir) et leurs applications.

1 Prolégomènes

Comme son nom l'indique, cette partie est là pour apporter l'ensemble des précisions nécessaires à la compréhension de ce mémoire. Certains termes propres à ce travail seront d'abord définis, ou redéfinis (leurs utilisations pouvant varier légèrement par rapport à celles communément admises). Les motivations scientifiques de ce travail seront ensuite présentées.

1.1 Terminologie

Différents termes utilisés ici nécessitent d'être définis clairement pour permettre une compréhension facilitée du manuscrit. Leur définition peut être propre à ce travail de thèse et présente donc quelques spécificités qui, tantôt élargissent, tantôt précisent, leur champ d'application. Cette partie propose donc une liste simple de ces expressions et de ce à quoi elles renvoient.

Les molécules d'intérêt biologique (ou biomolécules) regroupent communément l'ensemble des molécules organiques présentes au sein d'un organisme vivant. Cette définition est ici étendue à certaines molécules inorganiques dont le rôle dans l'organisme est essentiel. C'est le cas de la molécule d'eau (puisque sans atome de carbone), solvant principal des cellules vivantes, qui constitue souvent l'essentiel de l'environnement proche d'une molécule chez un être vivant. Le cas particulier des molécules utilisées durant la thèse est décrit plus loin.

Un système d'intérêt biologique correspond ici à un terme plus générique que celui de molécule biologique. Il peut renvoyer cette fois autant à ces dernières qu'à leurs agrégats ou encore à des agrégats mixtes de différentes molécules.

L'environnement moléculaire d'une molécule fait référence à l'ensemble des espèces chimiques présentes autour d'elle (via des liaisons non covalentes), à l'échelle du nanomètre. C'est ce que constitue par exemple l'agrégat pour la molécule. Les termes d'environnements immédiat, proche ou direct sont parfois employés comme synonymes de cette notion.

La nanosolvation renvoie encore à cette notion d'environnement immédiat. En particulier, l'ajout d'une ou plusieurs molécules à un système biologique sera qualifié plus loin de nanosolvation. Une espèce hydratée qualifie quant à elle un système nanosolvaté, dans le cas particulier où ce solvant est l'eau.

Outre ces quelques définitions, ce travail fait également référence à de nombreuses unités n'appartenant pas au système international. Elles sont utilisées pour des raisons historiques ou parce qu'elles sont finalement plus pratiques. C'est le cas par exemple de l'électronvolt noté eV (ou de son multiple le kiloelectronvolt, $1 \text{ keV} = 10^3 \text{ eV}$) dont la valeur est égale à l'énergie cinétique d'un électron accéléré dans une différence de potentiel

d'un volt (respectivement 1 kV pour le keV). Il vaut environ $1,6 \cdot 10^{-19}$ J.

Deux autres unités bien connues des physiciens atomistes seront également utilisées : pour la masse avec l'unité de masse atomique ou u.m.a. ($1 \text{ u.m.a.} \approx 1,66 \cdot 10^{-27}$ kg) et pour la vitesse avec l'unité atomique ($1 \text{ u.a.} \approx 2,188 \cdot 10^6 \text{ m.s}^{-1}$). Cette vitesse correspond à celle de l'électron de l'atome de Bohr. L'équation suivante permet alors de passer de l'énergie cinétique d'un projectile de masse m à sa vitesse en u.a. (avec E en eV et m en unité de masse atomique) :

$$v \approx 6,35 \cdot 10^{-3} \sqrt{\frac{E}{m}} \quad (1.1)$$

On vérifie bien qu'en prenant l'énergie d'ionisation de l'hydrogène (13,6 eV) et la masse de l'électron ($\approx 5,5 \cdot 10^{-4}$ u.m.a) on retrouve $v = 1$ u.a.

1.2 Motivations scientifiques

Les enjeux de ce travail de thèse sont multiples et renvoient à différentes problématiques physiques ou sociétales. Cependant trois axes majeurs de motivation peuvent être avancés pour justifier un tel travail.

D'abord, ces travaux ont une visée fondamentale et s'attachent à décrire au niveau moléculaire les interactions entre molécules biologiques et ions multichargés. Dans le cadre de cette thèse, il est apporté un soin particulier à l'effet de l'environnement moléculaire sur les mécanismes physiques alors mis en jeu.

Ensuite, puisque les systèmes étudiés sont ceux du vivant, l'étude de leur fragmentation induite par la collision avec des ions renvoie, par exemple, aux problématiques de radio-protection des individus. Cette étude fait aussi écho aux recherches sur l'hadronthérapie qui traite le cancer en irradiant les cellules malades avec des ions multichargés [1]. Là encore, l'environnement immédiat de la molécule joue certainement un rôle majeur sur son comportement.

Enfin, ces recherches apportent de nouveaux éléments pour étayer l'hypothèse d'une origine exogène de la vie [2]. Les résultats alors obtenus constituent une étape supplémentaire dans notre compréhension de l'apparition du vivant sur terre, à partir de molécules venues du milieu interstellaire.

1.2.1 Etudes fondamentales

L'étude des processus fondamentaux que sont l'ionisation et la fragmentation, de même que le transfert de la charge ou de l'énergie suite à la collision entre ions multichargés et systèmes d'intérêt biologique constitue déjà une fin en soi. Ces processus nous renseignent sur les propriétés intrinsèques des systèmes étudiés, comme par exemple leur caractère isolant ou conducteur [3], ou leur aptitude à stoker la charge ou l'énergie (et donc l'information) pour la redistribuer ensuite comme c'est le cas avec la porphyrine par exemple [4-6]. Toutefois, les biomolécules constituent des systèmes particulièrement complexes pour un physicien au regard de leur taille, de leur composition atomique ou encore de leurs propriétés. Ces points rendent la simulation de leur interaction avec des particules ionisantes difficile ou même parfois impossible.

Le travail accompli ici présente plus spécifiquement l'influence de l'environnement

immédiat de l'espèce dans le processus d'interaction avec les ions multichargés. Cet environnement accroît encore le niveau de complexité de nos expériences, autant par son approche théorique qu'instrumentale. Les méthodes théoriques utilisées pour prédire ou comprendre nos résultats sont par exemple d'autant plus longues à aboutir que le système étudié est grand. Cet ajout de molécules qui forment l'environnement conduit donc à une complexification des calculs. De plus, d'un point de vue technique, la formation de cet environnement ajoute un certain nombre de contraintes (ne serait-ce que matérielles) qui rendent les expériences plus délicates tant à réaliser qu'à interpréter. L'étude de ces systèmes biologiques constitue donc finalement un défi scientifique et technique.

1.2.2 Dommages induits par les radiations

Au delà de cet aspect fondamental, ces travaux de thèse font également écho à l'actualité et aux enjeux de société. Quelques mois après la catastrophe de Fukushima, quelques années après la fin des essais nucléaires, après la catastrophe de Tchernobyl, et plus d'un demi-siècle après l'explosion des bombes atomiques à Hiroshima et Nagasaki, les effets des rayonnements ionisants sur l'être vivant restent partiellement incompris. L'enjeu, pourtant, est colossal, que l'on cherche à lutter contre les effets d'accident déjà survenu ou encore que l'on souhaite prévenir les effets indésirables de l'irradiation chez les cosmonautes [7].

Comme l'illustre la figure 1.1, lorsqu'une particule de haute énergie traverse une cellule et notamment son noyau, elle va, par exemple, pouvoir induire des cassures simple ou double brins de la molécule d'ADN, qui constituent les dommages les plus graves [8]. Ce n'est cependant pas son seul effet. Elle va également provoquer la formation de très nombreuses particules secondaires (électrons, radicaux, ions) de moindre énergie qui vont interagir à leur tour avec le milieu cellulaire [9].

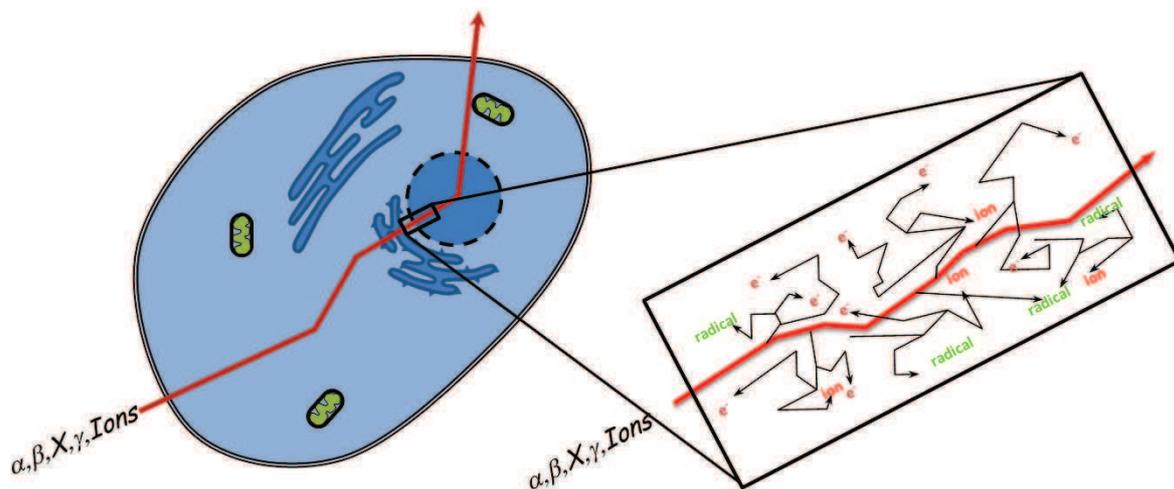


FIGURE 1.1: Schéma de principe du passage d'une particule ionisante de haute énergie au travers d'une cellule vivante.

Le rôle de ces particules secondaires dans l'endommagement cellulaire lors de l'irradiation est moins bien connu que celui de la particule primaire. Il ne peut pourtant

pas être négligé puisqu'on estime qu'il est responsable de deux tiers des dommages. L. Sanche et ses collaborateurs [10] ont en effet montré que des électrons ayant une énergie inférieure à l'énergie d'ionisation de la molécule d'ADN pouvaient tout de même induire des cassures (simple ou double brins) de celle-ci, par exemple par le mécanisme de l'attachement électronique dissociatif. Il a également été mis en évidence que les fragments chargés émis par une molécule après son interaction avec des ions multichargés présentaient une énergie similaire à celle des particules secondaires sus-citées [11]. De plus, parce qu'ils permettent de faire varier l'énergie transférée lors de la collision (voir page 27), les ions multichargés sont donc un candidat intéressant pour étudier la fragmentation des systèmes biologiques induite par l'irradiation.

En outre, il est difficile de ne pas faire le parallèle entre nos expériences et l'hadronthérapie : une méthode de traitement du cancer par irradiation de cellules tumorales avec des faisceaux d'ions C^{4+} [1]. Celle-ci s'appuie sur le fait que l'énergie transférée par les ions n'est pas constante sur leur trajet. Elle est en effet piquée à une certaine profondeur qui, pour un ion donné, varie en fonction de son énergie cinétique : c'est le pic de Bragg [12, 13]. Cela permet de venir déposer une grande quantité d'énergie à une profondeur bien définie sans risquer d'endommager les tissus sains (notamment en amont du trajet de l'ion) et autorise donc le traitement de tumeurs dont la position rend les rayons X contre indiqués. Notamment, cette technique évite le dépôt d'énergie (et donc l'endommagement) des tissus sensibles voisins.

Les mécanismes de fragmentation étudiés durant cette thèse (fragmentation qui découle de l'interaction avec des ions ayant une énergie proche de celle des particules dans la fin et la queue du pic de Bragg, soit quelques keV) sont donc autant de pistes supplémentaires pour accroître notre compréhension de la phase physique des dommages dus à l'irradiation qu'ils soient volontaires (comme dans le cas de l'hadronthérapie) ou non (lors d'irradiations accidentelles). L'effet d'un premier environnement, à l'échelle moléculaire, est alors considéré dans nos expériences. Le chapitre 9 présente les résultats de celles-ci.

1.2.3 Origine de la vie

Si nos expériences permettent de mieux comprendre les mécanismes de fragmentation et les conséquences de ceux-ci sur un système vivant soumis à l'irradiation, elles apportent également de nouvelles pistes pour comprendre les origines de la vie à partir de molécules simples. L'hypothèse d'une origine exogène de la vie suggère ainsi que les briques élémentaires qui composent le vivant, les molécules prébiotiques, se seraient formées dans le milieu interstellaire [2]. Elle s'appuie sur la découverte de molécules d'intérêt biologique (base nucléiques, acides aminés...) dans les météorites [14–17] ainsi que dans la queue des comètes (étude de spectroscopie) [18]. Des spéculations ont également été faites sur la possible formation de ces espèces directement dans le milieu interstellaire [19, 20]

Toutefois, si ces études suggèrent bien que les molécules élémentaires qui nous composent (telle que la glycine : le plus simple des acides α -aminés) nous viendraient de l'espace, elles n'expliquent pas comment se sont formées des molécules plus complexes telles que les polypeptides mais le rôle des glaces interstellaires est souvent mis en avant [21–23]. Il est nécessaire pour comprendre ce phénomène d'envisager la formation de ces molécules complexes à partir d'un environnement qui en contient les composants,

via l'irradiation par des particules présentes dans le milieu interstellaire (rayon X, ions, électrons...).

Le chapitre 10 présente les résultats d'une expérience signant la polymérisation d'acides aminés induite par l'interaction avec les ions multichargés au sein d'agrégats en phase gazeuse. La formation de liaisons peptidiques est rendue possible sous certaines conditions et les expériences présentées plus loin permettent de mieux comprendre ce processus.

2 Systèmes étudiés

Les molécules étudiées, bien qu'appartenant toutes à ce que nous avons appelé biomolécules, peuvent être rangées dans deux catégories : les bases azotées et les acides aminés. Toutes deux jouent un rôle primordial au sein d'un organisme vivant. Elle sont le squelette de la vie telle que nous la connaissons, les éléments à de base de sa structure, et sont donc devenues de fait des sujets d'étude essentiels pour les biologistes mais aussi les chimistes et les physiciens.

2.1 Les bases azotées

2.1.1 Généralités

La figure 2.1 présente les cinq bases azotées que l'on peut retrouver dans un être vivant. Les quatre premières (adénine, thymine, guanine et cytosine) constituent, associées chacune à une molécule de désoxyribose, l'ensemble des nucléosides. Ces dernières, associées à leur tour à un groupement phosphate, forment les nucléotides et sont alors les maillons de la chaîne que constitue l'ADN (Acide DésoxyriboNucléique) qui conserve l'information génétique. Celle-ci s'organise alors en deux brins liés par des liaisons hydrogène entre les bases (l'adénine face à la thymine et la guanine face à la cytosine) : ce sont les fameuses paires découvertes par Watson et Crick en 1953 [24].

Ces molécules jouent également un rôle dans l'ARN (Acide RiboNucléique) mais la thymine et le désoxyribose sont alors remplacés par l'uracile et le ribose, respectivement. Cette molécule d'ARN (ou plus exactement « ces » molécules étant données leurs compositions différentes) intervient dans de nombreux mécanismes physiologiques ne serait-ce que lors de la traduction d'un gène en protéine [25]. Cette étape fait alors intervenir pas moins de trois types d'ARN :

- L'ARNm (ou messenger) qui est la transcription d'une partie de la molécule d'ADN. Il va être lu par le ribosome et conduit à la formation d'une protéine bien spécifique : celle codée par le gène transcrit.
- L'ARNt (ou transmis) permet d'acheminer jusqu'au ribosome un acide aminé spécifique dont il a besoin pour poursuivre la formation de la protéine. Il y a alors autant d'ARNt qui participent à la protéogénèse (c'est à dire qui interviennent dans la formation des protéines) qu'il y a d'acides aminés différents.
- L'ARNr (ou ribosomal) est un composant des ribosomes. Il permet la catalyse de l'ensemble des réactions qu'impliquent la formation d'une protéine.

2.1.2 Bases choisies

Parmi les cinq bases, l'une d'elle en particulier a été étudiée au cours de cette thèse : l'adénine. Outre sa fonction au sein des molécules d'ADN et d'ARN (décrit plus haut) elle

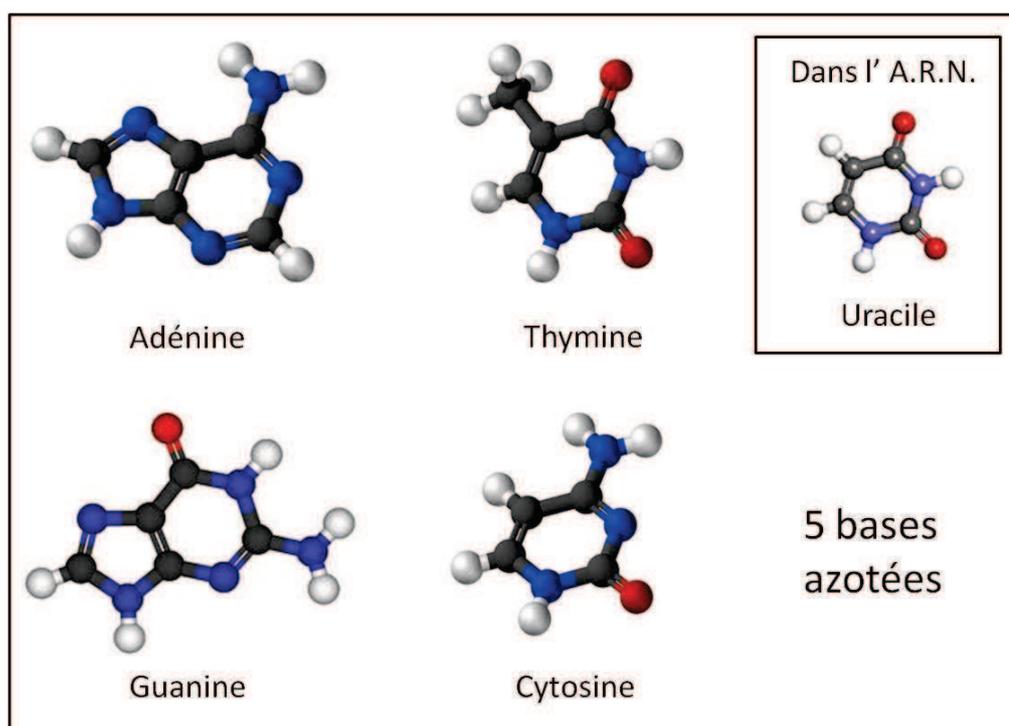
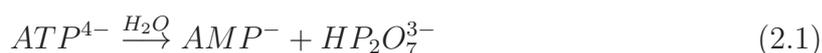


FIGURE 2.1: Structure des bases azotées présentes dans les organismes vivants : en gris le carbone, en bleu l'azote, en rouge l'oxygène et en blanc l'hydrogène.

intervient également dans de très nombreux autres mécanismes biochimiques. Pour n'en citer qu'un : l'ATP (ou adénosine triphosphate) joue un rôle essentiel dans la gestion de l'énergie au sein de la cellule. Son hydrolyse en AMP (adénosine monophosphate) libère de l'énergie que la cellule peut alors utiliser. Elle suit l'équation ci-dessous :



Ce mémoire rapporte notamment l'étude de la fragmentation de la molécule d'adénine après interaction avec des ions multichargés. Un soin particulier est apporté à l'étude des effets de l'environnement immédiat sur cette fragmentation. Pour ce faire, les résultats obtenus avec la molécule isolée seront comparés à ceux obtenus avec les agrégats, puis les agrégats hydratés (voir partie 9.10).

La molécule d'adénine a également servi, au même titre que celle de thymine, de molécule test pour la caractérisation et l'amélioration de la source électrospray. Ce travail de développement a ainsi représenté une partie essentielle de mon activité de thèse (voir chapitre 8 pages 77 pour plus de détails).

2.2 Les acides aminés

2.2.1 Généralités

Les acides aminés sont des molécules qui contiennent à la fois une fonction acide (un groupement $-COOH$) et une fonction amine (groupement $-NH_2$). La figure 2.2

présente un schéma de principe de la structure de ces acides aminés.

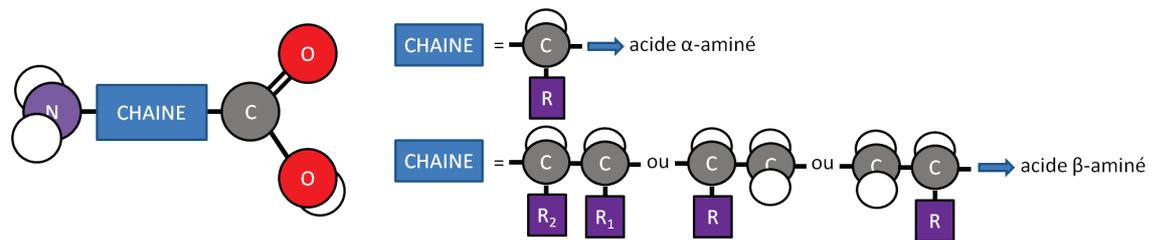


FIGURE 2.2: Schéma de principe de la structure des acides aminés : la longueur de la chaîne principale détermine l'appartenance aux acides α ou β -aminés. Les atomes d'hydrogène sont en blanc, ceux de carbone en gris, ceux d'oxygène en rouge et ceux d'azote en violet. Les chaînes latérales quelconques sont notées R.

Remarquons que l'encadré noté CHAINE sur la figure renvoie à l'ensemble de la chaîne carbonée qui sépare les deux groupements. Cette chaîne peut être plus ou moins longue et constitue un critère de dénomination pour les acides aminés. Une chaîne d'un atome de carbone conduira à la formation d'un acide α -aminé, une chaîne de deux atomes de carbone formera un acide β -aminé, une chaîne de trois atomes de carbone formera un acide γ -aminé et ainsi de suite. Une chaîne latérale (R) peut venir s'attacher à cette chaîne principale et former un autre acide aminé.

2.2.2 La liaison peptidique

Les acides aminés peuvent être associés les uns à la suite des autres par des liaisons peptidiques (voir plus loin) pour former :

- des peptides qui s'assemblent en chaîne de quelques acides aminés. Ils ne sont généralement pas issus de la traduction d'ARNm, mais d'une synthèse enzymatique. On appelle alors :
 - dipeptide un peptide constitué de 2 acides aminés (par exemple l'aspartame composée de l'acide L-aspartique et de la L-phénylalanine) ;
 - tripeptide un peptide composé de 3 acides aminés et ainsi de suite.
- des protéines, chaînes d'acides aminés plus longues encore, qui tantôt jouent un rôle structural, tantôt catalysent une réaction métabolique, ou encore permettent le passage des éléments d'un côté à l'autre de la membrane cellulaire. Ces macromolécules peuvent aussi constituer des antigènes (souvent composés également de lipides ou de sucres).

La formation de la liaison peptidique entre les acides aminés est le plus souvent assurée dans la cellule par les ribosomes qui vont relier deux acides aminés entre eux. La figure 2.3 montre le schéma de principe de cette réaction de polymérisation dans le cas des acides α -aminés puisque c'est plus particulièrement celle-ci qui intervient dans l'organisme.

Dans le milieu cellulaire, cette réaction aboutit à la formation d'une molécule d'eau à partir des groupements $-OH$ et $-H$ pris sur chacun des acides aminés. On peut alors

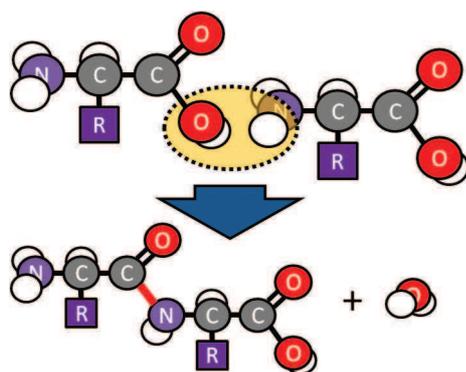


FIGURE 2.3: Schéma de principe de la formation d'une liaison peptidique entre deux acides α -aminés. Les atomes de carbone sont en gris, ceux d'oxygène en rouge, d'hydrogène en blanc et d'azote en violet. La chaîne latérale est notée par un R.

remarquer que si le peptide formé n'est pas cyclique, il présente toujours un groupement amine à l'une de ses extrémités ($-NH_2$) et un groupement carboxyle à l'autre ($-COOH$).

2.2.3 Les acides α -aminés

Ce groupe d'acides aminés joue un rôle majeur dans la chimie du vivant. Il englobe l'ensemble des acides aminés qui interviennent dans la formation des protéines. La figure 2.4 présente les 22 acides aminés protéogènes que l'on peut trouver chez un être vivant. Remarquons simplement que la pyrrolysine n'est présente a priori que dans certaines archées méthanogènes (les archées constituant l'un des trois grands groupes du vivant avec les bactéries et les eucaryotes) et que la sélénocystéine n'intervient apparemment que dans quelques enzymes de la famille des oxydo-réductases (famille d'enzymes qui regroupe ceux qui catalysent une réaction d'oxydoréduction).

L'étude de l'interaction de trois de ces acides α -aminés est présentée dans cette thèse : la glycine, l'alanine et la valine. Ils ont respectivement pour chaîne latérale un hydrogène, un groupement méthyle et un carbone sur lequel viennent s'accrocher 2 groupements méthyle et un hydrogène (soit $-H$, $-CH_3$ et $-CH(CH_3)_2$ respectivement). Un dernier acide α -aminé (non protéogène celui-ci) est également utilisé pour une comparaison isomérique. Il s'agit de l'acide 2-aminobutyrique de formule semi-développée $NH_2CH(C_2H_5)CO_2H$ et de 103 unités de masse.

Enfin, plusieurs acides α -aminés ont servi lors de la caractérisation de la source électrospray, et ce pour deux raisons. D'abord, il s'agissait de s'assurer de la capacité du dispositif à produire une large variété de faisceaux d'ions biomoléculaires. Ensuite, nous souhaitions optimiser le contrôle et la production de faisceaux d'espèces plus ou moins hydratées, c'est à dire présentant un nombre de molécules d'eau accrochées plus ou moins grand.

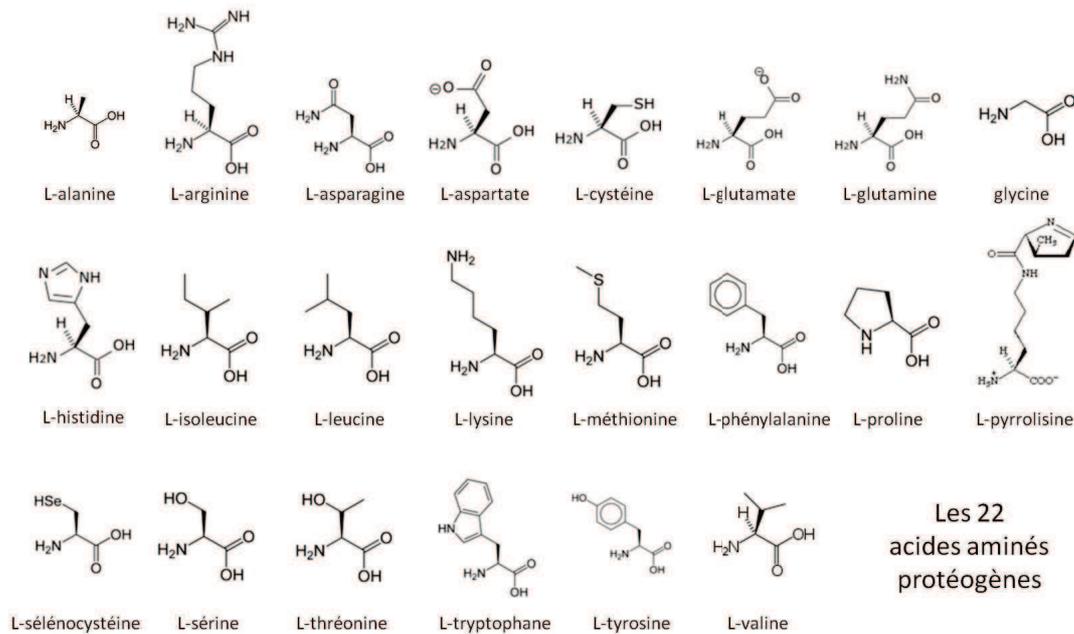


FIGURE 2.4: Formules semi-développées des 22 acides aminés protéogènes que l'on peut rencontrer chez un être vivant.

2.2.4 Autres acides aminés

Quatre autres acides aminés (n'appartenant pas au groupe α) ont été étudiés durant cette thèse pour tenter de comprendre les mécanismes de formation de la liaison peptidique (voir chapitre 10). Il s'agit de la β -alanine, de l'acide 3-aminoisobutyrique, de l'acide 3-aminobutanoïque et de l'acide γ -aminobutyrique. Le premier est un conformère de position de l' α -alanine et les trois autres sont des conformères de l'acide 2-aminobutyrique. La chaîne entre le groupement carboxyle et le groupement amine y est plus longue que dans ce dernier (2 atomes de carbone au moins) et la position de la chaîne latérale est variable. L'étude de ces molécules est présentée dans le dernier chapitre (page 121).

3 Mécanismes de l'interaction avec des ions multichargés

Nous nous sommes intéressés durant cette thèse à l'interaction entre systèmes biologiques et ions multichargés. Il est donc nécessaire de comprendre les processus physiques liés à cette interaction. Ce chapitre a pour but de rappeler les principes fondamentaux. Une description générale de la collision sera donc donnée avant que ne soient traités les cas de la capture électronique, de l'ionisation et de l'excitation. La fragmentation, enfin, sera considérée.

3.1 Généralités

Dans la gamme de vitesse utilisée durant les expériences de cette thèse, trois processus sont envisageables lors de la collision :

- l'excitation de la cible ;
- l'ionisation ;
- la capture électronique (ou transfert de charge).

Lors de la collision entre une particule chargée et un système d'intérêt biologique, c'est la vitesse du projectile vis-à-vis de celle des électrons de la cible qui détermine l'importance relative des mécanismes élémentaires de l'interaction. Par exemple, dans le régime des grandes vitesses ($v_{\text{projectile}} \gg v_{\text{électrons-cible}}$), les processus d'ionisation et d'excitation sont dominants.

Dans notre cas, la vitesse du projectile est comprise entre 0,25 et 0,6 u.a. : c'est le processus de capture électronique qui est dominant. Le temps d'interaction entre l'ion et la cible est de l'ordre de 10^{-15} seconde. Ce temps est beaucoup plus court que le temps caractéristique de la vibration de la molécule (typiquement 10^{-13} à 10^{-12} s). De la sorte, il est possible de découpler durant la collision les fonctions d'onde vibrationnelle des fonctions d'onde électronique et l'approximation de Born-Oppenheimer est applicable. Le plus souvent, il est possible de distinguer deux étapes majeures au niveau des mécanismes alors mis en jeu :

- La collision en elle même qui provoque l'excitation de la cible biomoléculaire ou la création d'une ou plusieurs lacunes électroniques par ionisation ou capture.
- La fragmentation qui découle de la première étape. L'espèce excitée et/ou ionisée suit alors un schéma réactionnel précis en parcourant la surface d'énergie potentielle. L'énergie transférée durant la collision joue alors un rôle prépondérant sur cette étape. Cette énergie dépend entre autres de celle du projectile, de sa charge et du paramètre d'impact.

À l'échelle de temps de l'interaction ($\approx 10^{-15}$ s), la position des noyaux de la cible (contrairement aux électrons plus rapides) peut être considérée comme inchangée : la géométrie de la molécule ne change pas. Les transitions électroniques sont alors de type

Franck-Condon (verticale).

Il est ensuite possible de préciser un peu les mécanismes mis en jeu en fonction, par exemple, du paramètre d'impact qui est pertinent pour décrire la collision. Notamment, si le paramètre d'impact est petit (collision proche) l'ionisation multiple sera plus fréquente. À plus grande distance (grand paramètre d'impact), c'est la capture électronique qui est attendue. Il est également possible que ces deux processus interviennent lors de la même collision. Ceux-ci s'accompagnent en général d'une excitation de la cible et du projectile.

Un grand nombre de travaux de recherche ont étudié les collisions entre petites molécules (di- ou tri-atomiques) et ions multichargés [26, 27]. De tels systèmes autorisent l'exploration des processus collisionnels ainsi que la compréhension complète de la dynamique de fragmentation. Une approche semblable n'est pas envisageable avec les biomolécules puisqu'il est alors extrêmement compliqué de décrire les surfaces d'énergie potentielle multidimensionnelles.

3.2 Processus

3.2.1 Excitation

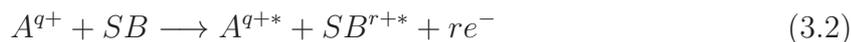
Lors de la collision entre un projectile A chargé q fois et un système biologique SB neutre, l'interaction peut conduire à l'excitation électronique de la cible comme l'indique l'équation ci-après :



Ce processus peut intervenir seul ou s'accompagner de l'ionisation de la cible (ou d'une capture) et sera noté par une étoile. Cette excitation électronique va pouvoir conduire à l'émission d'un photon ou, par couplage électrons/phonons, à l'excitation vibrationnelle de la cible qui pourra éventuellement fragmenter. Ce processus peut également conduire à l'émission retardée d'un électron par la cible.

3.2.2 Ionisation

Lorsque le projectile approche la cible et entre en collision avec elle, il va pouvoir conduire à l'ionisation de celle-ci qui va donc perdre un nombre s d'électrons. Ceux-ci vont être émis dans le continuum. L'équation suivante traduit ce phénomène :



3.2.3 Transfert de charge

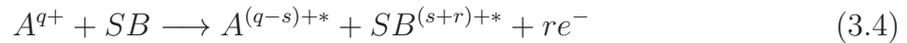
Lors de son passage près de la cible, le projectile est susceptible de lui arracher des électrons et de les stabiliser autour de lui. On parle alors de capture électronique, ou de transfert de charge. L'équation qui suit illustre ce mécanisme :



Ce phénomène de capture (ou de captures multiples) a été largement étudié entre ions et atomes ou même entre ions et agrégats. Le modèle classique de la barrière (en anglais *classical over the barrier model*) en est d'ailleurs l'une des approches possibles [28]. Toutefois, les systèmes biomoléculaires font intervenir un grand nombre d'électrons et il est alors difficile d'appliquer de tels modèles simples dès lors que le potentiel est méconnu. En effet, ce dernier considère par exemple la distance entre le projectile et la cible, ce qui est une notion moins évidente dans le cas d'un système d'intérêt biologique, non ponctuel, où l'orientation ou la conformation peuvent varier.

3.2.4 Cas général

Le plus souvent lors des expériences de collision avec des ions multichargés, capture et ionisation se produisent ensemble ne laissant finalement aucun des partenaires de la collision inchangé. L'équation 3.4 reprend finalement ce cas général :



avec s le nombre d'électrons capturés par le projectile et r le nombre de ceux émis dans le continuum par la cible (ou éventuellement le projectile).

3.3 Processus de fragmentation

À la suite de la collision, le système biologique est excité et peut avoir perdu un ou plusieurs électrons. Dans ce cas, le système se trouve chargé et peut donc être sélectionné et détecté à l'aide d'un dispositif adapté (voir partie 5.2.1 page 49). Le cas de l'excitation pure (sans chargement) ne sera pas discuté puisqu'inaccessible lors des expériences présentées ici.

Si l'énergie transférée durant la collision est faible et si l'état électronique du système biologique n'est pas répulsif, il se forme alors un ion parent intact. Dans d'autres cas, il y a fragmentation (soit immédiate, soit retardée si le système se trouve dans un état métastable). L'échelle de temps de ce processus (accessible avec notre dispositif) varie sur une plage allant de la pico à la microseconde. Compte tenu de ce temps et suivant la mobilité de la charge sur le système biologique, il est alors possible d'observer la formation de plusieurs fragments chargés ou neutres à partir du système de départ. Une partie de l'énergie interne du système peut alors être convertie en énergie cinétique (principalement avec les fragment chargés, mais aussi les neutres) : c'est ce que l'on appelle le KER (*Kinetic Energy Release*). La formule 3.5 illustre la façon dont le système biologique produit dans l'équation 3.4 peut fragmenter :



avec X_i les fragments chargés et Y_j les fragments neutres issus de SB et qui respectent les équations de conservation suivantes (avec m_{SB} la masse du système d'intérêt biologique) :

$$m_{SB} = \sum_{i=1}^n m_{X_i} + \sum_{j=1}^k k_{Y_j} \quad (3.6)$$

et

$$r + s = \sum_{i=1}^n q_i \quad (3.7)$$

La répartition de l'énergie cinétique est alors donnée par la conservation de l'impulsion. Plutôt que le cas général à n corps (plus ou moins chargés, ou même neutres), donné dans l'équation 3.5, qui n'admet pas de solutions analytiques, on peut discuter du cas de la fragmentation d'un système en deux espèces chargées (avec q_1 et q_2 leur charge respective et e la charge élémentaire).

La répulsion coulombienne conduit alors à des valeurs de KER importantes qui peuvent être estimées dans l'approximation des charges ponctuelles. L'énergie est calculée comme étant égale à la répulsion coulombienne de ces deux charges distantes de R_0 (distance internucléaire d'équilibre de la molécule dans son état fondamental). En première approximation, cette énergie potentielle est alors convertie dans son intégralité en énergie cinétique. On a donc (avec ϵ_0 la permittivité du vide) :

$$KER = \frac{q_1 q_2 e^2}{4\pi\epsilon_0 R_0} \quad (3.8)$$

soit, dans le système des unités atomiques :

$$KER \approx 27,2 \frac{q_1 q_2}{R_0} \quad (3.9)$$

La mesure du KER apporte ainsi une information supplémentaire sur les fragments et donc l'interaction. Toutefois, cette mesure réclame normalement la prise en compte des éventuels fragments neutres qui découlent de l'interaction, ce qui n'est pas possible dans notre dispositif. Il reste néanmoins possible d'évaluer l'énergie cinétique d'un fragment chargé comme cela sera illustré par la suite (voir partie 8.4.3). Adams et ses collaborateurs [29] ont ainsi utilisé cette mesure pour déterminer la position des deux charges sur l'angiotensine protonée deux fois (un oligopeptide issu de la cassure d'une protéine de plusieurs centaines d'acides aminés : l'angiotensinogène).

4 Théorie et calcul

Il existe aujourd'hui un certain nombre de méthodes théoriques capables de rendre compte des propriétés géométriques et électroniques des espèces considérées dans cette thèse. Elles peuvent être séparées en deux catégories : l'une basée sur une formulation empirique du problème (mécanique moléculaire) qui englobe les calculs en « champ de force », l'autre découlant de la résolution des équations de la physique quantique (théorie de la structure électronique).

Si la première catégorie est à même de modéliser des systèmes très grands contenant plusieurs millions d'atomes, elle ne prend pas en compte explicitement les électrons. Elle s'avère alors limitée, voir inefficace lorsqu'il s'agit de décrire des propriétés dépendant d'effets électroniques fins [30]. Il est alors nécessaire d'employer d'autres méthodes (2^{ème} catégorie), mais le nombre d'atomes considérés est alors fortement réduit, de part l'importance des calculs requis.

Le cas particulier des calculs réalisés au cours de cette thèse sera ici présenté plus en détail. Notons que c'est le programme GAUSSIAN [31] qui a servi ici à explorer les structures géométriques ou à calculer les différentes énergies.

4.1 Introduction à la théorie

Les méthodes de structure électronique sont basées sur la résolution de l'équation de Schrödinger. Dans le cas d'une particule, cette équation s'écrit :

$$\left(\frac{-\hbar^2}{8\pi^2 m} \Delta + V \right) \Psi(\vec{r}, t) = \frac{i\hbar}{2\pi} \frac{\partial \Psi(\vec{r}, t)}{\partial t} \quad (4.1)$$

avec Ψ la fonction d'onde, Δ l'opérateur laplacien, m la masse de la particule, \hbar la constante de Planck et V le potentiel dans lequel la particule évolue. La grandeur $|\Psi|^2 = \Psi\bar{\Psi}$ représente la probabilité de présence de la particule. Dans le cas d'un système plus complexe, Ψ est une fonction du temps t et des coordonnées de toutes les particules le constituant. L'énergie ainsi que d'autres propriétés du système peuvent être obtenues en résolvant l'équation de Schrödinger. Si le potentiel V n'est pas fonction du temps, il est alors possible de séparer les variables et l'équation de Schrödinger peut être simplifiée en écrivant :

$$\Psi(\vec{r}, t) = \psi(\vec{r})\tau(t) \quad (4.2)$$

En injectant dans 4.1 on obtient alors l'équation suivante, avec E l'énergie du système et \hat{H} l'opérateur hamiltonien :

$$\hat{H}\psi(\vec{r}) = E\psi(\vec{r}) \quad (4.3)$$

Les solutions de cette équation correspondent aux différents états stationnaires du système, par exemple une molécule. La solution de plus basse énergie est l'état fondamental. Pour un système moléculaire, ψ est une fonction des positions des électrons et des

noyaux de la molécule. Remarquons que les nucléons ne sont pas traités individuellement, le noyau étant considéré comme une seule entité.

Plusieurs approximations vont être utilisées pour simplifier l'équation de Schrödinger. L'approximation de Born-Oppenheimer, d'abord, repose sur le fait que la masse du noyau est beaucoup plus grande que celle de l'électron. Elle suppose que les mouvements de ces deux particules sont découplés. Cela ne signifie pas que le mouvement nucléaire ne joue pas un rôle important, car il est, en réalité, responsable des vibrations et des rotations de la molécule. L'approximation de Born-Oppenheimer permet d'effectuer le traitement des vibrations et des rotations en supposant, à chaque instant, que les électrons sont dans un état stationnaire calculé en admettant que les noyaux restent fixes (approximation adiabatique).

On peut alors écrire, en utilisant les unités atomiques, un hamiltonien électronique qui néglige le terme d'énergie cinétique du noyau :

$$\hat{H}_{\text{élec}} = -\frac{1}{2} \sum_i^e \Delta - \sum_i^e \sum_I^n \frac{Z_I}{|\vec{R}_I - \vec{r}_i|} + \sum_i^e \sum_{j<i}^e \frac{1}{|\vec{r}_i - \vec{r}_j|} + \sum_I^n \sum_{J<I}^n \frac{Z_I Z_J}{|\vec{R}_I - \vec{R}_J|} \quad (4.4)$$

où e et n renvoient respectivement aux électrons et aux noyaux. Dans cette équation le vecteur position qui décrit l'électron i (j) est noté \vec{r}_i (\vec{r}_j), respectivement \vec{R}_I (\vec{R}_J) pour les noyaux I et J . Le premier terme correspond à l'énergie cinétique de tous les électrons de la molécule, le second à l'attraction entre les électrons et les noyaux, le troisième à la répulsion entre les électrons et le quatrième à la répulsion entre les noyaux. L'utilisation de cet hamiltonien dans l'équation 4.3 permet alors le calcul de la fonction $E_{\text{effective}}$ qui dépend de la position des noyaux et qui décrit la surface d'énergie potentielle de la molécule. Pour une structure géométrique donnée, $E_{\text{effective}}$ correspond à l'énergie totale calculée. Ce calcul n'est pas une résolution exacte de l'équation de Schrödinger, seulement possible que pour quelques systèmes moléculaires extrêmement simples comme H_2^+ .

4.2 Différentes méthodes de calcul

Comme indiqué précédemment, la résolution de l'équation de Schrödinger réclame un certain nombre d'approximations et d'hypothèses pour permettre l'obtention d'un résultat approché, le plus rapidement possible. Parmi différentes techniques, les méthodes semi-empiriques, par exemple, utilisent des paramètres tirés de données expérimentales pour simplifier les calculs. Ces derniers sont alors grandement accélérés et autorisent donc la prise en compte d'un plus grand nombre d'atomes tout en permettant une description qualitative acceptable. Des jeux de paramètres adaptés permettent même des prédictions fines des énergies et des structures. AM1 (*Austin Model 1*) [32], PM3 (*Parameterized Model number 3*) [33,34] et MNDO (*Modified Neglect of Diatomic Overlap*) [35] sont des exemples de ce type de méthodes de calculs.

D'autres techniques utilisent cette fois un certain nombre d'approximations mathématiques (plutôt qu'une paramétrisation des équations) pour permettre la résolution des différents calculs : ce sont les méthodes *ab-initio*. La théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT : *Density Functional Theory*) sera incluse dans ces méthodes.

4.2.1 Théorie Hartree-Fock

L'idée de cette théorie est de considérer que le mouvement d'un électron est décrit par une orbitale moléculaire [36]. La fonction d'onde Ψ peut alors être décomposée en combinaisons d'orbitales moléculaires, en écrivant par exemple le produit de Hartree :

$$\Psi(\vec{r}) = \psi_1(\vec{r}_1)\psi_2(\vec{r}_2) \cdots \psi_n(\vec{r}_n) \quad (4.5)$$

où n est le nombre d'électrons du système. Cette fonction n'est cependant pas antisymétrique vis-à-vis de l'échange des coordonnées électroniques et n'est donc pas adaptée. En outre, le spin n'y est pas pris en compte et il s'agit, pour l'inclure, d'introduire la fonction :

$$\sigma(\omega) = \alpha(\uparrow), \beta(\downarrow) \quad (4.6)$$

où $\alpha(\uparrow)$ et $\beta(\downarrow)$ sont respectivement les fonctions de spin *up* et de spin *down*. Chaque orbitale peut alors être décrite sous la forme du produit, appelé orbitale de spin :

$$\chi(\vec{r}_i) = \psi_1(\vec{r}_i)\sigma_i(\omega) \quad (4.7)$$

On construit alors la fonction d'onde suivante (déterminant de Slater) :

$$\Psi(\vec{r}) = \frac{1}{\sqrt{n!}} \begin{bmatrix} \chi_1(\vec{r}_1) & \cdots & \chi_n(\vec{r}_1) \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ \chi_1(\vec{r}_n) & \cdots & \chi_n(\vec{r}_n) \end{bmatrix} \quad (4.8)$$

Il s'agit alors de déterminer la meilleure approximation possible de la fonction d'onde parmi les déterminants de Slater. Les orbitales moléculaires qui sont les inconnues du problème sont alors exprimées comme une combinaison linéaire de fonctions à un électron :

$$\psi_i = \sum_{j=1}^N C_{ji}\phi_j \quad (4.9)$$

Ces fonctions peuvent alors être de n'importe quel type et sont généralement centrées sur les noyaux. Le logiciel GAUSSIAN tire son nom du fait qu'il utilise justement des gaussiennes ($\phi \propto e^{-\xi r^2}$). Il reste alors à trouver les paramètres C_{ji} qui minimisent l'énergie de la fonction d'onde résultante. Ainsi, par suite d'itérations successives, les calculs convergent, tendant vers cette valeur minimale de l'énergie et les orbitales génèrent alors un champ qui produit les mêmes orbitales (méthode du champ auto-cohérent ou *Self Consistent Field*).

Toutefois, la théorie Hartree-Fock considère chaque électron comme une particule dans un champ résultant de la distribution moyenne des autres électrons. Le mouvement des électrons de spin opposé, par exemple, n'est donc pas corrélé. Un certain nombre de méthodes cherche à remédier à ce problème, permettant une amélioration significative de la précision des résultats.

4.2.2 Théorie Møller-Plesset

Une première manière de tenir compte de l'énergie de corrélations électroniques consiste à traiter ces corrélations comme des perturbations de la fonction d'onde de Hartree-Fock [37]. L'hamiltonien total est alors représenté par la somme de deux termes : l'hamiltonien d'ordre zéro et celui lié à la perturbation (qui doit être petite).

En outre, cette approche perturbative n'est plus variationnelle (comme l'était la méthode Hartree-Fock). Les méthodes basées sur le formalisme de Møller-Plesset sont relativement peu coûteuses en temps de calcul, d'où une certaine popularité. On peut ensuite préciser l'ordre des perturbations (MP2 au 2^{ème} ordre, MP3 au 3^{ème}...) mais le temps de calcul augmente alors rapidement.

D'autres théories, plus gourmandes en temps de calcul, permettent de rendre compte de façon très efficace de l'énergie de corrélation électronique mais nombre d'entre elles sont trop lourdes pour être appliquées aux systèmes d'intérêt biologique dont le nombre d'atomes est trop important.

4.2.3 Théorie de la fonctionnelle de la densité

À la fin des années 60, un modèle alternatif qui a atteint le statut de théorie s'est développé parallèlement à ces techniques : la théorie de la fonctionnelle de la densité (DFT). Dans celle-ci, l'objectif est de remplacer la fonction d'onde par la densité électronique comme quantité de base pour les calculs. Cette théorie trouve son origine dans le théorème de Hohenberg-Kohn [38] démontrant l'existence d'une fonctionnelle unique qui détermine exactement la densité et l'énergie de l'état fondamental sans pour autant en donner la forme. Kohn et Sham [39] proposent de partitionner l'énergie électronique afin de trouver des fonctionnelles approchées :

$$E = E^T + E^V + E^J + E^{XC} \quad (4.10)$$

avec E^T l'énergie cinétique liée au mouvement des électrons, E^V contenant les termes décrivant l'énergie potentielle de l'attraction entre les noyaux et les électrons et la répulsion entre les noyaux, E^J le terme de répulsion entre électrons et E^{XC} le terme d'échange et de corrélation qui inclut les interactions restantes entre les électrons. Remarquons que si nous connaissions la forme exacte de ce terme, le problème pourrait être résolu exactement, car la méthode ne repose, jusqu'à présent, sur aucune approximation. Hohenberg et Kohn ont démontré que E^{XC} était entièrement déterminée par la densité électronique, généralement explicitée sous forme d'une intégrale faisant intervenir la densité de spin et éventuellement ses gradients.

E^{XC} est le plus souvent divisée en un terme d'échange et un terme de corrélation (respectivement E^X et E^C) et le logiciel GAUSSIAN propose plusieurs fonctionnelles pour cela. Un certain nombre de fonctionnelles d'échanges sont basées sur celle de Becke (1988), là où différentes fonctionnelles de corrélations sont utilisées (celles de Perdew et Wang -1991- appelée PW91 ou de Lee, Yang et Parr -1988- nommée LYP). Un degré de précision supplémentaire est atteint en combinant l'échange et la corrélation obtenus par les méthodes DFT avec un certain pourcentage (déterminé de manière empirique) d'échange décrit par la théorie Hartree-Fock. Ces nouvelles fonctionnelles sont appelées fonctionnelles hybrides. Leur utilisation permet une amélioration significative des résultats et est devenue depuis plusieurs années le choix le plus populaire dans le domaine de la chimie quantique et donc de la modélisation de biomolécules. B3LYP est l'une d'elles, B3 renvoie à une fonctionnelle de type Becke à 3 paramètres.

Ces méthodes DFT, en conclusion, sont particulièrement attractives, parce qu'elles prennent en compte les effets des corrélations électroniques avec un coût en terme de temps de calcul proche de celui des méthodes Hartree-Fock.

Type de base

Les bases sont les représentations mathématiques des orbitales moléculaires. Ces fonctions restreignent chaque électron à une région particulière de l'espace. Ainsi, des bases plus grandes imposent moins de contraintes aux électrons et se rapprochent plus fidèlement des orbitales moléculaires exactes. Pour le calcul, on utilise souvent des combinaisons linéaires de fonctions gaussiennes pour décrire les orbitales.

Le logiciel GAUSSIAN offre un large choix de bases prédéfinies, qui sont classées en fonction du nombre et du type de fonctions de base qu'elles contiennent et plusieurs améliorations peuvent y être apportées. Dans la plupart des cas, par exemple, ce sont les électrons de valence qui participent à la création de liaisons chimiques. Ainsi, il est courant de représenter les orbitales de valence par plus qu'une fonction de base, chacune d'entre elles pouvant être à son tour composée d'une combinaison linéaire fixée de fonctions gaussiennes primitives. Un exemple particulièrement connu peut être cité : 6-31G, où le premier chiffre représente le nombre de gaussiennes primitives décrivant les orbitales atomiques de cœur. Les deuxième et troisième chiffres indiquent que les orbitales de valence sont composées chacune de deux fonctions, la première étant composée d'une combinaison linéaire de 3 fonctions gaussiennes primitives, l'autre d'une seule fonction gaussienne primitive. On trouve également des bases dont les orbitales de valence ont recours à trois fonctions : 6-311G.

Cependant si tenir compte séparément des électrons de valence permet le changement de taille des orbitales, cela ne permet pas le changement de forme. Pour remédier à cette limitation, des fonctions de polarisation sont ajoutées à la base et permettent de mieux rendre compte des liaisons entre atomes. Citons, entre autres, la base 6-31G(d) dont le nom indique que la base 6-31G a été améliorée par l'ajout de fonctions de type d pour les atomes lourds. Un autre exemple est la base 6-31G(d,p) pour laquelle des fonctions p ont été ajoutées aux atomes d'hydrogène. Ces deux bases sont également notées 6-31G* et 6-31G**, respectivement.

Enfin, une autre implémentation commune aux bases est l'ajout de fonctions diffuses, indiqué par un signe +. Ces fonctions de base supplémentaires (qui représentent mieux les extrémités des orbitales) sont importantes pour les systèmes dans lesquels les électrons sont relativement loin du noyau, en particulier lorsque l'on considère des anions. On trouve assez fréquemment la notation avec deux + (6-31++G(d) par exemple) indiquant que des fonctions de diffusion ont été ajoutées aux atomes d'hydrogène.

Terminologie

Afin de désigner les modèles de chimie utilisés, nous utiliserons à plusieurs reprises la convention suivante :

$$\text{méthode_énergie/base_énergie//méthode_géométrie/base_géométrie}$$

où le modèle indiqué à gauche de la double barre oblique est celui qui a été utilisé pour le calcul de l'énergie et celui à droite, celui grâce auquel la géométrie de la molécule a pu être optimisée. Par exemple, la notation B3LYP/6-311++G(2d,p)//B3LYP/6-31+G(d) signifie que le calcul en énergie est effectué en utilisant la théorie de la fonctionnelle de la densité (B3LYP) et une base 6-311++G(2d,p), alors que la géométrie a été optimisée avec une base moins développée : 6-31+G(d).

5 Faits marquants

Ce travail de thèse étudie l'effet de l'environnement à l'échelle moléculaire lors de l'interaction de systèmes d'intérêt biologique avec des ions multichargés de basse énergie. L'ensemble de ces études s'appuie sur des connaissances générales des mécanismes de l'interaction entre ions et agrégats. Toutefois si l'ionisation, la capture et l'excitation ont déjà été décrites plus tôt et permettent d'appréhender les processus collisionnels lors de l'interaction avec les ions, le cas des agrégats et de leurs propriétés n'a pas encore été expliqué. Cette partie a pour but de présenter au travers de différentes études illustrant leur comportement. Le cas particulier des systèmes d'intérêt biologique sera évoqué, en insistant sur les propriétés mises en évidence lors de l'agrégation de telles espèces.

5.1 Notion d'agrégat

L'utilisation des agrégats n'est pas nouvelle : depuis déjà plusieurs siècles, au Moyen-Âge, les hommes utilisaient des agrégats métalliques pour colorer le verre. Il a été démontré depuis que les couleurs obtenues étaient dues à la diffraction de la lumière par de petits agrégats métalliques implantés dans le verre et le spectre d'absorption de ces nanoparticules peut être relativement bien reproduit grâce à la fonction diélectrique du matériau massif correspondant, et l'évolution de la teinte en fonction de la taille du grain fut expliquée par Mie dès 1908 [40], par une théorie classique de la diffusion qui porte désormais son nom (on l'appelle aussi théorie de Lorenz-Mie).

Les propriétés des agrégats, pourtant, ne sauraient se limiter à celles d'un solide dont ils seraient un petit morceau. Effectivement, lorsque la taille du système devient de l'ordre de quelques nanomètres (entre quelques atomes à quelques milliers d'atomes), l'importance de sa surface dans les processus qui régissent son évolution croît. D'un point de vue électronique, on atteint un régime pour lequel la diffusion des électrons de valence en surface est dominante par rapport aux collisions entre électrons. Les bandes d'énergie, permettant de représenter l'état électronique dans le solide, laissent place à une description en niveaux discrets dont l'écart est d'autant plus grand que la taille du système diminue. Les propriétés physiques dévient donc de façon significative de celles du solide massif et l'ajout ou le retrait d'un atome ou d'une molécule peut même conduire à d'importants changements.

Ainsi, pour la première fois, en 1984, les expériences du groupe de W.D. Knight [41] montrent des surabondances pour des nombres bien précis d'atomes dans les agrégats de sodium Na_n ($n < 100$). Ces nombres magiques furent la première preuve de l'organisation des électrons de valence en couches électroniques, confirmée par les calculs théoriques de W. Ekardt dans le cadre du modèle du jellium [42].

5.1.1 Types d'agrégats

Différents types d'agrégats peuvent être définis. D'abord, plusieurs fois dans ce mémoire, il sera par exemple fait référence aux agrégats purs ou mixtes. Cette dénomination constitue un premier critère de tri des agrégats par genre. Ainsi, un agrégat pur sera exclusivement constitué de la même espèce (atomes ou molécules), là où un agrégat mixte en comprendra plusieurs (voir chapitre 9 pour un exemple).

Un autre critère de dénomination permettant une classification des agrégats pourrait également être la taille de ceux-ci. On distingue alors trois cas :

- les grands agrégats, où les phénomènes physiques se rapprochent de ceux rencontrés dans les solides (composés de plusieurs milliers de particules généralement) ;
- les agrégats de taille intermédiaire où les effets quantiques commencent à se faire sentir ;
- les petits agrégats dans lesquels chaque atome compte et où l'agrégat est un objet quantique (jusqu'à 100 particules environ, ou moins encore, selon l'espèce considérée).

Enfin, il est également possible de séparer les agrégats en fonction du type de liaisons liant les espèces entre elles. On parle alors d'agrégats covalents, ioniques, métalliques ou de van der Waals :

Agrégats covalents : les espèces sont liées par des liaisons covalentes.

Agrégats ioniques : les électrons sont localisés sur les atomes ou les molécules et leurs propriétés sont, a priori, peu perturbées par leurs voisins.

Agrégats métalliques : la cohésion est ici permise par des interactions électrostatiques entre les électrons de valence, délocalisés sur l'ensemble de l'agrégat.

Agrégats de van der Waals : les interactions sont faibles. Les liaisons hydrogène qui relient par exemple des molécules d'adénine entre elles permettent de constituer un agrégat de ce type. Les agrégats d'eau constituent un exemple d'agrégats de type van der Waals.

La force des liaisons interatomiques (ou intermoléculaires) au sein d'un agrégat peut varier considérablement selon l'espèce constituante, et surtout selon le type d'agrégats formé. Plus particulièrement, si l'énergie de ces liaisons est de l'ordre de quelques eV pour les trois premiers types (covalents, ioniques et métalliques), l'ordre de grandeur de l'énergie de liaison dans un agrégat de type van der Waals est seulement de quelques centaines de meV.

Les agrégats étudiés durant cette thèse entrent tous dans cette dernière catégorie et permettent de prendre en compte l'effet d'un premier environnement sur l'interaction avec les ions multichargés lents. Cette recherche est l'un des thèmes majeurs de l'équipe AMA depuis 2003, commencée avec l'étude des agrégats de fullerène.

5.1.2 Interaction ions multichargés lents - agrégats

La suite de ce chapitre présente un certain nombre de résultats caractéristiques de l'interaction entre ions multichargés lents et agrégats. Elle s'appuie en partie sur des travaux réalisés par notre équipe, seule ou en collaboration.

Transfert d'énergie dans les agrégats de sodium

Les agrégats de sodium sont de type métallique et présentent la particularité de garder un comportement identique au solide jusque dans les plus petites tailles. Par exemple, la réponse des électrons à un champ électromagnétique est collective (on parle d'excitation plasmon). L'analogie de l'agrégat avec l'échelle macroscopique reste cependant limitée notamment parce qu'une partie plus importante des constituants se situe à la surface.

Le modèle de jellium [43] décrivant l'organisation en couches du système électronique de même que la géométrie des agrégats a été développé en s'inspirant de la physique nucléaire. Il considère un liquide d'électrons confinés dans un puits de potentiel homogène et relativement sphérique. L'organisation prédite des agrégats en supercouche a pu être vérifiée expérimentalement [44] et l'analogie avec la physique nucléaire amène à parler de fission lors de la fragmentation d'un agrégat en fragments chargés. Le modèle de la goutte liquide peut être utilisé pour décrire ce phénomène [45].

Il est possible de citer l'exemple de Chandezon et de ses collaborateurs [46] qui se sont intéressés à la stabilité d'agrégats de sodium après interaction avec des ions multichargés lents (quelques keV). Il en est ressorti qu'il existait une taille minimale pour laquelle l'agrégat Na_n pouvait stabiliser q charges positives sans fragmenter aux échelles de temps de quelques unités à quelques dizaines de microsecondes. En dessous de cette taille minimale appelée « taille d'apparition » la répulsion coulombienne surpasse l'énergie de liaison et les agrégats fissionnent. Ces travaux, en particulier, ont permis de mettre en évidence l'influence de la charge du projectile sur cette taille d'apparition. Ainsi la figure 5.1, à gauche [46], montre l'évolution de la taille d'apparition de l'agrégat Na_n^{5+} en fonction de la charge du projectile utilisé. La taille d'apparition obtenue avec un laser picoseconde ainsi que les protons coïncident (projectiles de charge nulle et 1, respectivement).

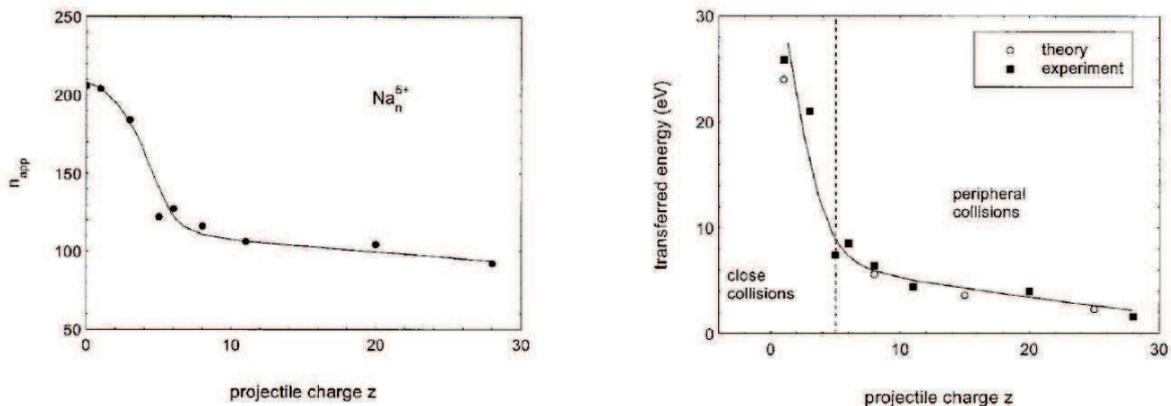


FIGURE 5.1: À gauche : taille d'apparition des agrégats de sodium chargés cinq fois Na_n^{5+} en fonction de la charge du projectile. À droite : estimation de l'énergie transférée lors d'une collision ionisant 5 fois l'agrégat en fonction de la charge du projectile utilisé. Les valeurs théoriques sont extraites de [47]. La ligne en pointillé indique la zone où la charge du projectile est égale à la charge de l'agrégat.

Dans le cas de projectiles faiblement chargés (comme les protons), une collision cen-

trale est nécessaire pour ioniser 5 fois l'agrégat, transférant alors une grande quantité d'énergie. Le proton perd beaucoup d'énergie à cause d'un couplage fort avec les électrons. À l'inverse, avec un projectile fortement multichargé tel que l'ion Xe^{20+} , la collision peut avoir lieu à grand paramètre d'impact, transférant moins d'énergie et expliquant la taille d'apparition du Na_n^{5+} inférieure. L'énergie transférée en fonction de la charge du projectile est représentée sur la figure 5.1, à droite. Ces résultats sont en bon accord avec ceux prédits par Plagne et ses collaborateurs [47].

Mobilité de la charge dans les agrégats de fullerène

Puisqu'il est possible d'obtenir après collision des espèces multichargées, il est logique de s'intéresser à la mobilité de la charge sur les agrégats. Ici, le cas des agrégats de fullerène, de type van der Waals, est exposé en particulier.

En 2002, Tappe et ses collaborateurs [48] ont étudié la position de la charge sur des agrégats de gaz rares Ar_n^{q+} . Par des mesures en coïncidences, ils ont notamment mesuré le fragment Ar^{7+} en corrélation avec Ar^+ après l'ionisation par des ions multichargés. Cela traduit l'absence de redistribution de la charge avant la fragmentation et donc l'absence de communication électrique entre les atomes d'argon. La charge n'est donc pas mobile.

L'étude des agrégats de fullerène, neutres ou une fois chargés (pour servir dans l'électronique), a mis en évidence la nécessité d'un partenaire métallique servant de « pont » entre les différentes molécules. Cela indique que la communication électrique entre fullerène neutres est quasi-nulle, comme dans le cas d'isolants. C'est dans ce contexte que Manil et ses collaborateurs [3] ont étudié l'interaction d'agrégats de fullerène avec des ions Xe^{q+} ($q = 20 - 30$) à des énergies de $20 \cdot q$ keV. En étudiant les spectres en coïncidences, une propriété surprenante des agrégats a été observée (comme le montre la figure 5.2).

Dans le cas où un seul évènement est détecté à la fois (en bas sur la figure), la distri-

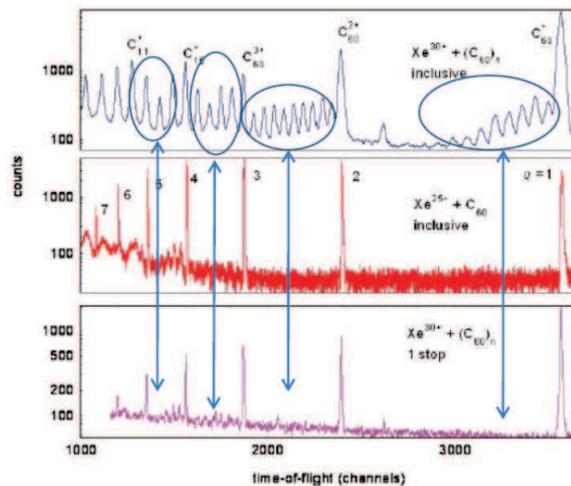


FIGURE 5.2: Spectre en temps de vol issu de l'interaction entre Xe^{q+} (à $20 \cdot q$ keV) et $(\text{C}_{60})_n$ (haut), C_{60} isolé (milieu). Le cas particulier des évènements de multiplicité 1 est également montré (bas).

bution obtenue est similaire à celle découlant de l'interaction avec le C_{60} isolé (spectre

du milieu). Dans ce cas, des cibles multichargées allant jusqu'à C_{60}^{7+} sont observées. En comparant ce spectre avec le premier (en haut sur la figure), il apparaît que la majorité des fragments provient des processus de multi-ionisation de l'agrégat. En considérant les cas de chaque multiplicité (en partie présentés sur la figure 5.3), il apparaît que le signal du fullerène multichargé est présent sur le spectre des 2-stops (multiplicité 2) mais disparaît pratiquement lorsque la multiplicité augmente encore.

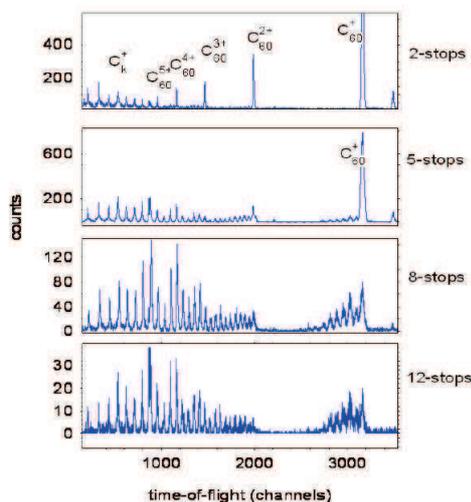


FIGURE 5.3: Spectres en temps de vol des produits cationiques issus de l'interaction entre Xe^{30+} (à 600 keV) et $(C_{60})_n$. Différentes valeurs de la multiplicité m sont considérées : $m = 2, 5, 8$ et 12 (respectivement du haut vers le bas).

Cette observation, couplée à l'analyse détaillée des autres fragments, a conduit Manil et ses collaborateurs à conclure que dans le cas des agrégats de fullerène, les événements de haute multiplicité venaient de l'émission de fragments monochargés émis lors de l'explosion coulombienne d'agrégats multichargés. Ainsi, contrairement aux agrégats neutres ou monochargés de C_{60} , la mobilité de la charge est grande dans le cas des agrégats multichargés. Ils deviennent donc conducteurs.

Remarquons également que la taille d'apparition des agrégats de fullerène doublement chargés mesurée avec l'ion Xe^{25+} est de 5 molécules, contre 25 lors de la photo-ionisation par un laser (pulse de l'ordre de la ns). Cela s'explique par la différence importante d'énergie transférée entre ces deux types de rayonnement (comme montré précédemment avec les agrégats de sodium).

5.2 Les molécules d'intérêt biologique

Cette thèse, pour la première fois, s'attache à préciser le rôle de l'environnement moléculaire dans les mécanismes qui régissent l'interaction ions / systèmes biologique. Cet environnement est en effet capable de modifier fondamentalement les propriétés du système d'intérêt et permet d'envisager de nouvelles applications. P. Dugourd et ses collaborateurs [49] ont ainsi mis en évidence que des complexes organo-métalliques non covalents d'argent et de tryptophane constituaient de bon marqueurs optique pour contrôler

l'agrégation et la croissance des particules. Cette recherche fondamentale ouvre ainsi sur un certain nombre d'applications. En effet, les agrégats métalliques présentent des propriétés optiques et électriques uniques fortement dépendantes du nombre d'atomes qui les composent. Ils peuvent donc être utilisés comme les premiers constituants de capteurs à l'échelle nanométrique, dès lors que la charge de ses systèmes est contrôlée. Le couplage avec des molécules d'intérêt biologique, et l'environnement qu'elles représentent, le permet justement.

Le rôle de l'environnement moléculaire ne s'arrête pourtant pas là et son influence lors de l'interaction entre ions multichargés et systèmes d'intérêt biologique, par exemple, peut être étudié. Cette recherche répond à plusieurs motivations (voir partie 1.2 page 16) et tente notamment de comprendre les processus qui régissent l'endommagement cellulaire à l'échelle moléculaire.

Plusieurs études déjà, se sont penchées sur le cas de dommages radio-induits par des particules de haute énergie sur des cellules vivantes [50, 51]. Il est rapidement apparu que la létalité d'un rayonnement n'est pas seulement liée à la dose déposée mais dépend plutôt de la manière dont cette énergie est déposée à l'échelle nanométrique, et notamment sur la molécule d'ADN. Par ailleurs, une étude au niveau mésoscopique [8] sur cette dernière ou sur de grands segments de cette molécule (en phase aqueuse) a clairement mis en évidence que les dommages les plus sévères découlaient de cassures simple ou double brins de l'ADN et qu'ils étaient d'autant plus difficiles à réparer que ces cassures étaient proches les unes des autres [52].

En outre, les effets biologiques de l'irradiation de cellules ne résultent pas seulement de l'impact direct de particules ionisantes de haute énergie. Comme cela a déjà été indiqué dans la partie 1.2.2, des particules secondaires telles que des électrons, des radicaux et des ions (monochargés ou multichargés) de basse énergie sont également formés dans la trace. Plus en détails, les phénomènes ionisants, dans les traces, peuvent être décrits par trois étapes successives :

Physique : cette phase renvoie au dépôt d'énergie lui-même (ionisation par collision, absorption d'un photon...) Son temps caractéristique est de l'ordre de 10^{-15} s.

Physico-chimique : cette phase de post-irradiation très rapide (pour des temps allant jusqu'à quelques 10^{-12} s) concerne la production des espèces radicalaires primaires par fragmentation des espèces ionisées, essentiellement via la radiolyse de l'eau présente dans la cellule.

Chimique : c'est durant cette troisième étape qu'a lieu une succession de réactions chimiques induites par les radicaux produits, pouvant conduire à l'endommagement du matériel génétique de la cellule.

L'interaction de ces particules secondaires avec l'environnement biologique est, par conséquent, également responsable soit directement, soit indirectement, d'une fraction des dommages biologiques induits dans une cellule. L'importance de ces particules secondaires dans l'endommagement cellulaire (pour ce qui est des électrons) a ainsi d'abord été mise en évidence par L. Sanche et ses collaborateurs [10] qui ont montré que des électrons de basse énergie étaient capables de provoquer des cassures simple et double brins de la molécule d'ADN plasmide. De tels dégâts sont même susceptibles d'être engendrés par des électrons d'énergie cinétique proche de zéro (cassure simple brin) [53], le maximum d'endommagement intervenant entre 0 et 3 eV. De la même manière, le groupe de C. Le Sech [54] a mis en évidence la production de cassure simple et double

brins dans de l'ADN plasmide irradié par des ions d'argon monochargés ($E \approx 1$ keV, énergie correspondant à la fin du pic de Bragg).

Toutefois, l'entière compréhension de ces processus passe par une interprétation complète de l'interaction entre l'électron (ou l'ion multichargé dans notre cas) et la molécule d'ADN à l'échelle moléculaire. Cependant cette molécule est gigantesque (jusqu'à plusieurs centimètres dépliée contre moins d'un nanomètre pour un acide aminé par exemple) et sa complexité ne permet pas d'extraire directement ce type d'information. Pour pallier cette difficulté, de nombreuses équipes ont choisi de n'étudier que des petites molécules en phase gazeuse pour faciliter l'interprétation des résultats.

Les travaux des groupes de L. Sanche [55] et T. Märk [56] ont montré que le processus d'attachement électronique dissociatif sur des bases nucléiques (isolées en phase gazeuse) présente des résonances pour des énergies très similaires à celles observées lors de cassures simple brin de l'ADN induites par des électrons de basse énergie. Ces expériences permettent ainsi de montrer qu'un processus d'attachement électronique dissociatif est à l'origine de ce type d'endommagement de l'ADN.

Pour les études utilisant les ions simplement et multiples chargés de basse énergie (quelques keV), quelques expériences ont été conduites sur les bases azotées de la molécule d'ADN (thymine [57] et adénine [58]) et de l'ARN (uracile [59]). Ces études ont par exemple mis en évidence que les propriétés structurales de la molécule cible jouaient un rôle important dans la dynamique de fragmentation. Notamment, l'équipe de T. Schlathölter a montré que la fragmentation de la thymine et de l'uracile [60] (qui occupent des rôles similaires dans l'ARN et l'ADN respectivement) était différente après l'interaction avec des ions C^+ à 24 keV. En particulier, certains gros fragments sont absents du spectre d'uracile là où ils sont bien présents avec la thymine.

Il ressort immédiatement que ces études en phase gazeuse sur des systèmes de taille finie permettent d'accéder aisément au processus d'ionisation et à la dynamique de dissociation sans être perturbées par l'environnement.

Néanmoins, si l'on s'intéresse à la valeur radiobiologique de ce type d'étude, trois problèmes apparaissent. D'abord les résultats obtenus ne sont pas nécessairement extrapolables (directement ou indirectement) aux dommages d'irradiation au niveau moléculaire car les dynamiques d'ionisation et de fragmentation en phase gazeuse sont bien différentes de celles dans l'environnement biologique (comme cela a été montré pour des séquences d'ADN en phase gazeuse [61]). Ensuite, la mise en phase gazeuse de la molécule étudiée n'implique pas nécessairement la conservation de la structure native (qui est la structure dans le milieu cellulaire) de la molécule. Enfin, par essence, le transfert d'énergie d'excitation vers le milieu environnant la molécule ne peut pas être pris en compte. Ce dernier point peut être partiellement compensé en considérant un agrégat moléculaire.

5.2.1 L'agrégat comme une première prise en compte de l'environnement

L'étude d'agrégats de molécules, si elle n'assure pas la validité et la transposition des résultats à la phase biologique, constitue toutefois un premier pas important vers la prise en compte d'un environnement biochimique similaire. Les expériences décrites et expliquées durant cette thèse permettent une meilleure compréhension du rôle de cet environnement par la comparaison avec le cas de molécules isolées, lors de l'interaction

avec des ions multichargés. Un certain nombre de comportements spécifiques des systèmes d'intérêt biologique sous irradiation a déjà été mis en évidence. La suite de ce chapitre en présente quelques exemples.

Ouverture de nouvelles voies de fragmentation

Lors de l'étude d'agrégats purs de différentes bases azotées de la molécule d'ADN, Schlathölter et ses collaborateurs, dans le cadre d'une collaboration avec notre équipe, ont mis en évidence un effet direct de l'environnement moléculaire sur la fragmentation de la molécule de thymine [62]. La figure 5.4 présente le spectre en m/q alors obtenu pour la molécule isolée de thymine et les agrégats purs de cette dernière (agrégats exclusivement composés de thymine).

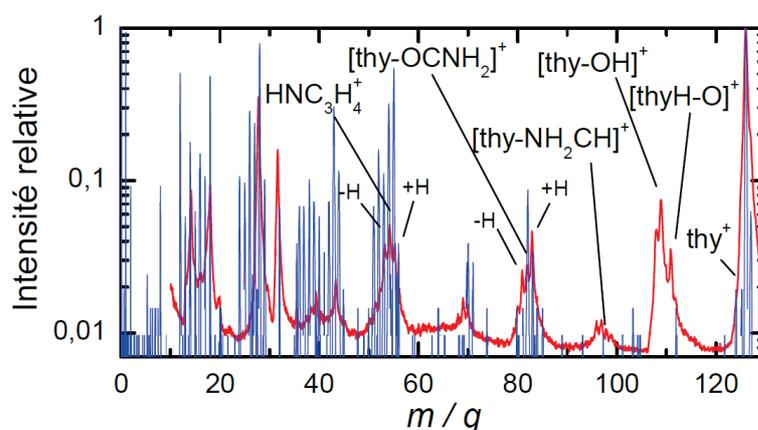


FIGURE 5.4: Comparaison des spectres de fragmentation issus de l'interaction d'un faisceau d'ions O^{5+} à 50 keV avec une distribution d'agrégats de thymine (courbe rouge) ou de molécules isolées de thymine (courbe bleue).

La comparaison des spectres indique clairement une différence dans la fragmentation des molécules environnées ou isolées (respectivement en rouge et en bleu sur la figure 5.4). Il apparaît nettement, dans le cas des agrégats, un pic à $m/q \approx 97$ et plus significativement encore à $m/q \approx 109$. Ce dernier (labellisé $[thy-OH]^+$ et $[thyH-O]^+$) renvoie à la perte de l'oxygène ou d'un fragment OH depuis la molécule intacte. Ce pic, absent du spectre de la molécule isolée, n'apparaît pas non plus lorsque l'ion O^{5+} est remplacé par des photons [63] ou des électrons [64]. À l'inverse, ce fragment semble plutôt caractéristique de la phase condensée [65]. Cela suggère que ce premier environnement que constitue l'agrégat permet d'ores et déjà l'ouverture de nouvelles voies de fragmentation, pourtant spécifiques de la phase condensée.

Des mesures en coïncidences ont également permis de constater que les nouveaux canaux apparaissaient dès les premières tailles d'agrégats et que leur intensité augmentait ensuite avec cette taille. De plus, des calculs de chimie quantique de structures des agrégats de thymine (Thy_n , optimisés au niveau B3PW91/6-31G(d)) jusqu'à $n=5$ permettent d'avancer une explication à ce phénomène (voir figure 5.5 pour $n=3$, $n=4$ et $n=5$).

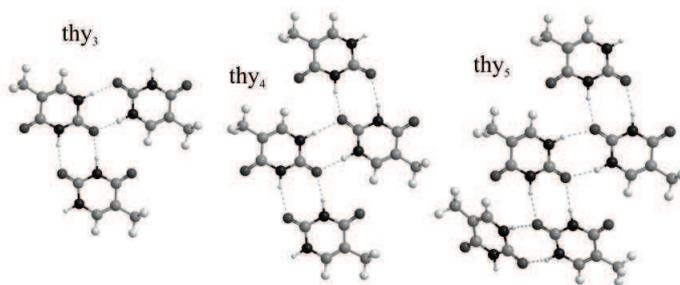


FIGURE 5.5: Structure des agrégats neutres de thymine Thy_n optimisée au niveau B3PW91/6-31G(d). Les liaisons hydrogène sont symbolisées en pointillé [62].

Il semble que les agrégats adoptent une géométrie planaire, où les molécules sont liées entre elles par des liaisons hydrogène. Ces voies sont d'ailleurs d'autant plus probables que leur nombre est grand (dans une certaine limite). Cela suggère que les liaisons hydrogène viennent affaiblir les liaisons covalentes des atomes qui y participent en modifiant la structure électronique de ces atomes. C'est ce processus qui conduit à une diminution de l'énergie de liaison intramoléculaire et facilite donc l'apparition de $[thy-OH]^+$.

Effet de protection de l'environnement

Par la comparaison des spectres de masse de CID (*Collision Induced Dissociation*) obtenus en faisant traverser une cellule gazeuse de sodium par un faisceau à 50 keV d'AMP hydratée (de la forme $[AMP + (H_2O)_m]^-$ avec n choisi et sélectionné entre 0 et 20), il a été mis en évidence, dans le cadre d'une collaboration du CIMAP avec l'équipe de P. Hvelplund et celle de H. Cederquist, un effet de l'environnement moléculaire sur la fragmentation [66]. Comme l'illustre la figure 5.6, la présence de molécules d'eau autour de l'anion AMP parent vient modifier la fragmentation du système.

Ainsi, les résultats obtenus nous indiquent que la voie de fragmentation principale du système correspond à la perte de molécules d'eau jusqu'à la formation de l'espèce AMP^- qui peut à son tour fragmenter. En outre, si l'intensité de la fragmentation de cette molécule augmente d'abord (notamment au niveau du groupement phosphate) avec le nombre de molécules d'eau accrochées, elle diminue ensuite à partir de $m = 13$ de façon significative (voir encadrés jaunes sur la figure 5.6). Les auteurs expliquent ce comportement en soulignant deux aspects du phénomène de fragmentation induite par collision :

- D'abord, la section efficace de collision (et donc la probabilité d'observer une fragmentation) augmente avec la taille du système considéré, et ce pour des raisons purement géométriques. Cela explique l'augmentation de la dissociation lors de l'attachement de quelques molécules d'eau.
- Ensuite, à partir de 13 molécules d'eau, l'énergie évacuée lors de l'évaporation des ces dernières permet de compenser le premier phénomène, et même de diminuer la dissociation de la molécule d'AMP. En effet, tout se passe comme si l'énergie de collision était principalement utilisée pour briser les très faibles liaisons hydrogène

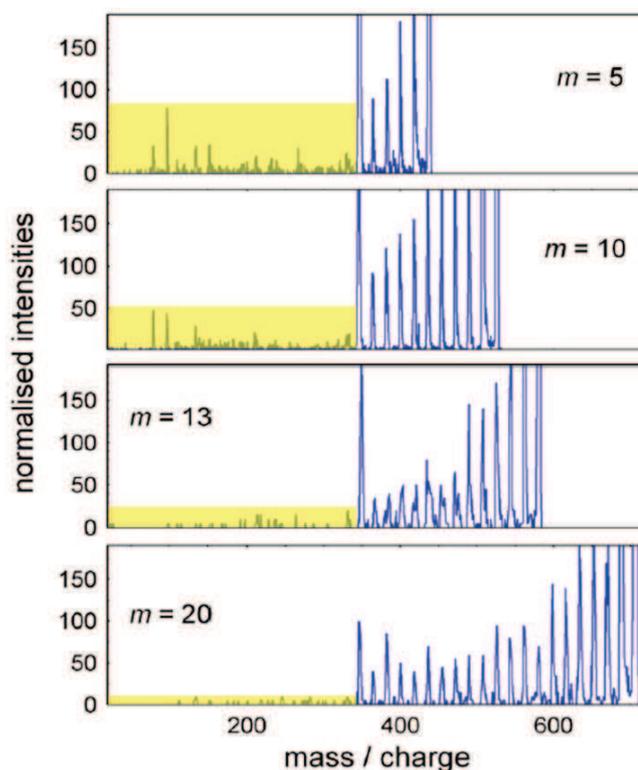


FIGURE 5.6: Évolution des spectres de masses obtenus par CID en fonction du nombre m de molécules d'eau accrochées à l'AMP. La partie du spectre correspondant à la fragmentation de la molécule d'AMP est surlignée en jaune.

$[AMP - H_2O]$ et $[H_2O - H_2O]$, permettant ainsi un « refroidissement » du système résiduel.

Ce premier environnement que représentent les molécules d'eau autour de l'AMP conduit donc d'une certaine façon à la protection de la molécule (dont la fragmentation sera diminuée) en permettant la diminution de l'énergie interne du système. L'agrégat, et *a fortiori* l'AMP, sont alors plus « froids » conduisant à une dissociation réduite de cette molécule.

Transfert de proton

Au-delà de l'ouverture de nouvelles voies de fragmentations ou d'un effet de protection de l'environnement moléculaire, ce dernier est également susceptible de permettre un certain nombre de réactions chimiques, ou physico-chimiques. L'équipe de Kim et de ses collaborateurs [67] a ainsi mis en évidence la formation d'agrégats de thymine protonnée à partir d'agrégats hydratés de thymine après la collision avec des électrons ($E_{\text{électrons}} > 12,6$ eV). La figure 5.7 illustre cette observation.

Lorsque le potentiel d'ionisation de l'eau n'est pas atteint (valeur de 12,6 eV), seuls les agrégats de thymine sont visibles. Les agrégats protonnés (de thymine et d'eau) n'apparaissent qu'ensuite. Les molécules d'eau sont alors ionisées par les électrons et se protonnent. Le proton va se déplacer sur la base azotée qui présente une affinité protonique

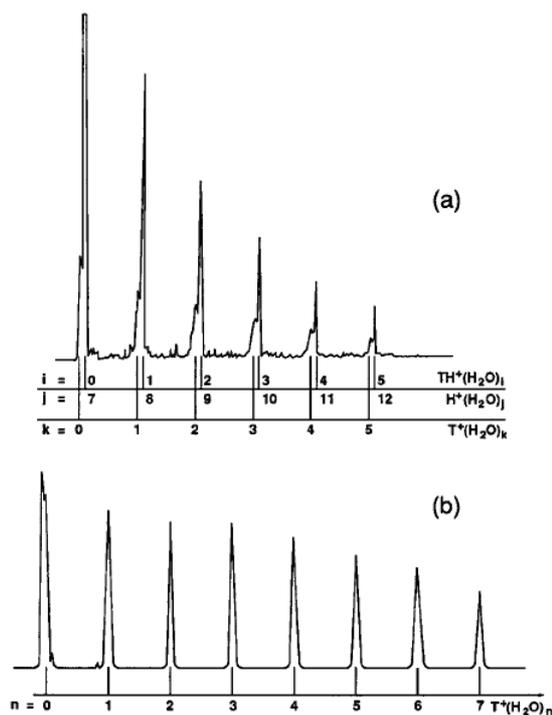


FIGURE 5.7: Spectres de masses de thymine obtenus dans un jet supersonique avec de la vapeur d'eau pour gaz porteur : (a) avec des électrons de 18 eV ou (b) avec des électrons de 10 eV.

supérieure à la molécule d'eau.

Ce transfert de proton, depuis les molécules d'eau vers la thymine, constitue déjà en soi une réaction chimique. Ce mémoire présentera d'autres résultats signant une activité chimique au sein de l'agrégat.

Développements expérimentaux

6 Principe des expériences

Ce travail de thèse s'appuie sur les résultats d'expériences de collisions entre deux faisceaux croisés d'ions multichargés et de systèmes d'intérêt biologique. La suite de cette partie présente le principe général du dispositif utilisé durant cette thèse ainsi que les raisons scientifiques sous-jacentes.

6.1 Principe général

La figure 6.1 montre le schéma de principe d'une expérience de collision en faisceaux croisés.

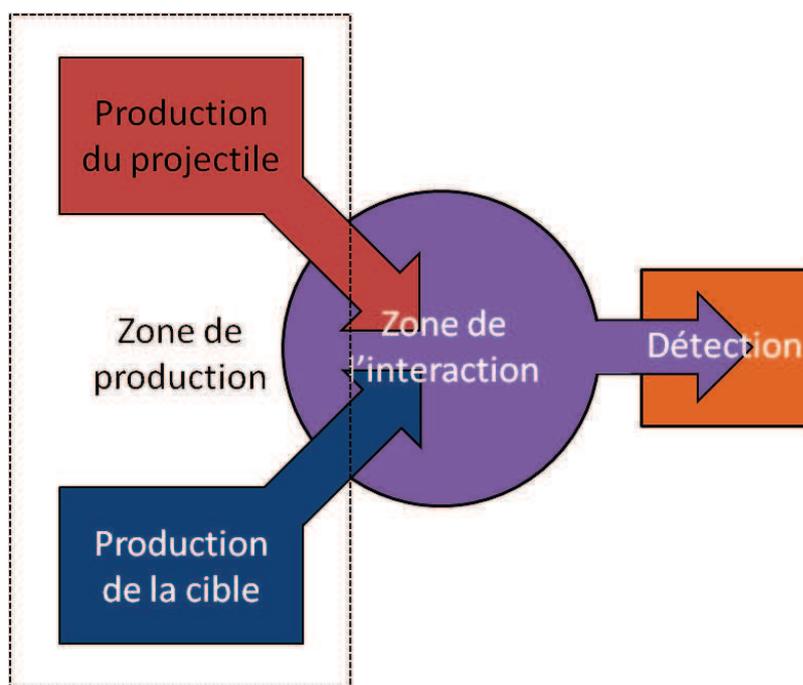


FIGURE 6.1: Schéma de principe d'une expérience de collision en faisceaux croisés.

Il est possible de distinguer trois zones ayant chacune une fonction propre au sein d'un tel dispositif :

- La zone de production qui contient les sources du projectile et de la cible. Elle varie bien entendu en fonction des espèces que l'on souhaite produire.
- La zone de collision (ou zone d'interaction) dans laquelle interagissent les deux faisceaux préalablement produits. Sa forme doit tenir compte des faisceaux en entrée mais doit surtout permettre l'ensemble des mesures souhaitées.

- La zone de détection où sont recueillies les informations (au sens large) sur cette interaction. Cela peut être par exemple le spectre de masse des produits de la collision, les photons ou les électrons émis, ou encore l'énergie des fragments collectés.

6.2 Techniques possibles

Le dispositif utilisé durant cette thèse suit un schéma identique, dans son principe, à celui montré précédemment (voir figure 6.1). Dans notre cas, la production des systèmes d'intérêt biologique « cible » et le contrôle de leur environnement immédiat doit être possible. C'est ce contrôle qui permet l'étude du rôle de cet environnement à partir de la comparaison du cas des molécules isolées et du cas des molécules environnées. Plusieurs dispositifs expérimentaux sont alors envisageables pour réaliser une telle étude.

6.2.1 Choix du projectile

Plusieurs types de projectiles tels que les photons, les électrons, les atomes et les ions sont couramment utilisés dans des expériences sur des systèmes d'intérêt biologique. Chacun de ces types de projectile peut ensuite être séparé en fonction de différents critères tels que l'énergie ou, dans le dernier cas, la charge. Notre choix s'est porté sur les ions multichargés de basse énergie (autour de 10 keV par charge) pour plusieurs raisons.

D'abord, un tel type de projectile permet d'étudier des processus différents, notamment la capture électronique, qui seraient inaccessibles avec des photons, des électrons ou même des ions plus rapides où l'ionisation et l'excitation seraient majoritaires. En effet, comme indiqué dans la partie 1.2 page 16, ce processus de capture sur des systèmes d'intérêt biologique présente un intérêt fondamental mais aussi un intérêt pratique lorsque l'on considère les dommages induits par l'irradiation de tissus vivants.

Ensuite, contrairement aux électrons et aux photons, les ions multichargés (comme l'ion Xe^{20+} par exemple) vont être capables de capturer des électrons de la cible à grand paramètre d'impact et le transfert d'énergie sera alors faible¹. Du point de vue de la cible, cela entraînera une ionisation douce, lorsque les électrons les plus faiblement liés seront arrachés. En outre, à paramètre d'impact plus petit, le transfert d'énergie sera plus grand et débouchera sur la fragmentation du système après son (multi)chargement. Cette multiplicité dans les transferts d'énergie et dans les processus mis en jeu (capture, ionisation, excitation) fait des ions multichargés de basse énergie un bon candidat pour explorer l'ensemble des voies de fragmentation de la cible de façon simultanée.

Enfin l'expertise du GANIL (Grand Accélérateur National d'Ions Lourds) et du CIMAP (Centre de recherche sur les Ions, les Matériaux et la Photonique) en terme de faisceaux et de sources d'ions, ainsi que l'infrastructure du site, permettent évidemment une utilisation facilitée de ce type de projectiles. Plus particulièrement, la plateforme ARIBE (Accélérateur pour la Recherche sur les Ions de Basse Energie) sur laquelle est installé notre dispositif de collision a permis, comme son nom l'indique, l'utilisation de faisceaux d'ions multichargés de basse énergie.

1. Notons que des expériences utilisant des lasers infrarouges permettent également l'ionisation d'un système sans que le transfert d'énergie soit grand, dans un processus multiphotons. Cette méthode a notamment permis d'observer l'ion C_{60}^{12+} .

La production d'un tel faisceau et son acheminement jusqu'à la zone de collision sont rendus possibles par l'utilisation d'une source de type ECR (Electron Cyclotron Resonance) couplée à une ligne de faisceaux. Cet ensemble, disponible sur la plateforme ARIBE, est décrit plus loin.

6.2.2 Méthodes de production de la cible

Il existe plusieurs dispositifs capables de produire des systèmes d'intérêt biologiques en phase gazeuse et certains permettent également de préparer la cible dans un état ou dans un environnement particulier. La méthode la plus simple consiste à évaporer l'espèce que l'on souhaite au moyen d'un four. Le chauffage permet alors d'atteindre une pression de vapeur saturante suffisante mais un certain nombre d'espèces fragmentent avant cela. Toutefois, compte-tenu de la simplicité de sa mise en place et de son utilisation, et puisque le faisceau de cibles neutres produit est très dense, cette technique est encore très utilisée sur des systèmes résistant à l'élévation de température. C'est d'ailleurs de cette façon que sont produits les systèmes isolés étudiés durant cette thèse (voir partie 7.2.1 page 59 pour plus de détails). En outre, de tels dispositifs se trouvent souvent à la base d'autres plus complexes. Ces derniers cherchent alors, après l'évaporation, à limiter par exemple le nombre de conformères présents dans le faisceau de biomolécules. Pour ce faire, les méthodes de jet supersonique ou de dépôt sur des gouttelettes d'hélium peuvent être envisagées avec des espèces neutres [68].

Plus particulièrement, Simon et ses collaborateurs [69] ont montré que des températures de l'ordre de 10 à 15 K pouvaient être atteintes dans un jet supersonique avec des molécules particulièrement flexibles. De plus, si la barrière énergétique entre les conformères est de l'ordre de 15 kJ.mol^{-1} (soit environ 160 meV par molécule²) la distribution de Boltzmann initiale est conservée. En revanche, si cette barrière est inférieure à 5 kJ.mol^{-1} la relaxation collisionnelle permet d'amener le système moléculaire vers des conformations plus basses, très proches du niveau fondamental. Cette technique permet également de produire une distribution d'agrégats neutres à partir de l'espèce évaporée. Cependant la taille de la distribution est généralement moins importante qu'avec l'utilisation d'une source d'agrégation gazeuse (voir plus loin partie 7.2.2 page 60). C'est ce dernier dispositif qui a été retenu pour la production d'espèces biomoléculaires environnées, au sein d'un agrégat.

Cette source permet donc la production d'un faisceau cible de systèmes biologiques neutres et autorise un contrôle relatif de l'environnement immédiat de la molécule d'intérêt biologique. En effet la taille de la distribution d'agrégats formés dépend de la température du four et de la pression dans les différentes enceintes (voir plus loin). Toutefois la cible étant neutre, il est impossible de sélectionner une taille particulière dans la distribution de masse sortant de la source. C'est donc l'ensemble de cette distribution qui interagit avec le faisceau d'ions.

Autres méthodes

D'autres techniques permettent également la mise en phase gazeuse de molécules d'intérêt biologique depuis la phase liquide. Il est par exemple possible d'injecter un liquide

2. On rappelle que : $1 \text{ eV/molécule} = 96,5 \text{ kJ/mol}$.

contenant le système d'intérêt au travers d'un diaphragme de 10 à 20 μm avec une pression de 10 à 100 bars. Cela conduit à des flux allant entre 10 et 100 m.s^{-1} [70]. Le système biomoléculaire peut alors être éjecté du jet par des impulsions lasers infrarouges qui vont exciter certains modes de vibration de la molécule [71]. Cette technique très douce permet l'étude de systèmes non-covalents [72] mais réclame l'utilisation d'une grande quantité de molécules en comparaison avec les techniques précédemment citées. Une solution alternative consiste à introduire des micro-gouttelettes sous vide en utilisant un injecteur piézoélectrique synchronisé avec un laser de désorption infrarouge [73] ou ultraviolet [74]. Les gouttelettes contenant les biomolécules explosent alors sous l'effet d'une onde de choc et l'espèce se retrouve alors en phase gazeuse.

Enfin, un certain nombre de techniques permettent la production de complexes moléculaires chargés qu'il sera donc possible de sélectionner en fonction de leur rapport masse sur charge (ou m/q). Cette sélection d'un rapport masse sur charge parmi plusieurs implique naturellement une réduction de l'intensité du faisceau cible. Une telle technique n'est donc souvent pas directement compatible avec des expériences de collision en faisceaux croisés avec des ions multichargés car le faisceau projectile est souvent peu dense. Il s'agit donc d'adapter un tel dispositif pour accroître la densité de cible, ne serait-ce que localement. La technique MALDI (pour *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization*) permet par exemple la production d'espèces moléculaires chargées mais elle repose sur l'incorporation dans une matrice de molécules d'intérêt biologique [75] ou de fines poudres métalliques [76] qui vont ensuite être désorbés par impulsion laser (souvent ultraviolet). Citons également la technique LIAD (pour *Laser Impact Acoustic Desorption*) qui permet la mise en phase gazeuse d'espèces ioniques et neutres par impact laser et propagation d'une onde acoustique dans une couche mince [77].

Un autre dispositif permet également la production d'espèces moléculaires chargées ou même de complexes non covalents : c'est la source electrospray dont un exemplaire est développé à Caen. Sa description ainsi que celle d'un certain nombre de méthodes permettant d'accroître l'intensité du faisceau sont détaillées plus loin (voir partie 8.4 page 81 pour plus de détails).

7 Dispositif expérimental

Si l'on se réfère au schéma de principe d'une expérience de collision en faisceaux croisés comme il se présente sur la figure 6.1 page 51, il est possible de distinguer trois zones sur le dispositif : une zone de production (qui se décompose en deux, une pour le projectile et une pour la cible), une zone d'interaction et une zone de détection.

La figure 7.1 reprend l'ensemble de ces zones et les situe sur le schéma du dispositif utilisé durant cette thèse. On y distingue :

- dans un **cercle rouge** la source ECR qui permet la production des ions multichargés.
- dans un **cercle bleu** les deux sources permettant la production des systèmes moléculaires cibles.
- dans un **cercle violet** la position de la zone d'interaction entre le faisceau cible et le faisceau projectile.
- dans un **cadre orange** la zone de détection incluant le spectromètre de masse par temps de vol.

L'ensemble de la ligne de faisceau y est également représentée de même que les dipôles et quadripôles magnétiques qu'elle contient. Le détail de cette ligne ainsi que les autres parties du dispositif vont être expliqués dans la suite de ce chapitre et seront regroupés en trois parties. D'abord la partie « Production des ions » décrira l'ensemble des éléments permettant la production et l'acheminement du faisceau de projectiles. Ensuite une section « Production de la cible » détaillera le fonctionnement du four et de la source d'agrégation gazeuse. Enfin les zones d'interaction et de détection seront décrites dans une dernière partie.

7.1 Production des ions

La production des ions multichargés a été rendue possible par l'utilisation de sources d'ions de type ECR (pour Electron Cyclotron Resonance). Deux sources de ce type ont servi à produire durant cette thèse les projectiles utilisés tout au long des différentes expériences :

- SUPERSHYPIE, utilisée durant la première partie de cette thèse, fonctionnant à une fréquence de 14,5 GHz pour une puissance de 1000 W maximum, capable de produire des ions allant de l'hélium monochargé au xénon trente fois chargé.
- GTS (pour Grenoble Test Source), prévue pour fonctionner à la fréquence de 18 GHz avec une puissance de 2500 W mais actuellement bridée à 14,5 GHz 1000 W. Elle permet de produire les mêmes ions que la précédente source et devait être plus efficace pour les hauts états de charge (à sa puissance nominale).

Ces deux sources, ainsi que la ligne de faisceau décrite plus loin (voir partie 7.1.2 page 58), ont été mises en place sur la plateforme ARIBE. [78] (Accélérateur pour la Recherche sur les Ions de Basse Énergie) dans le cadre du réseau européen ITS-LEIF (Ion Technology and Spectroscopy at Low Energy Ion Beam Facilities).

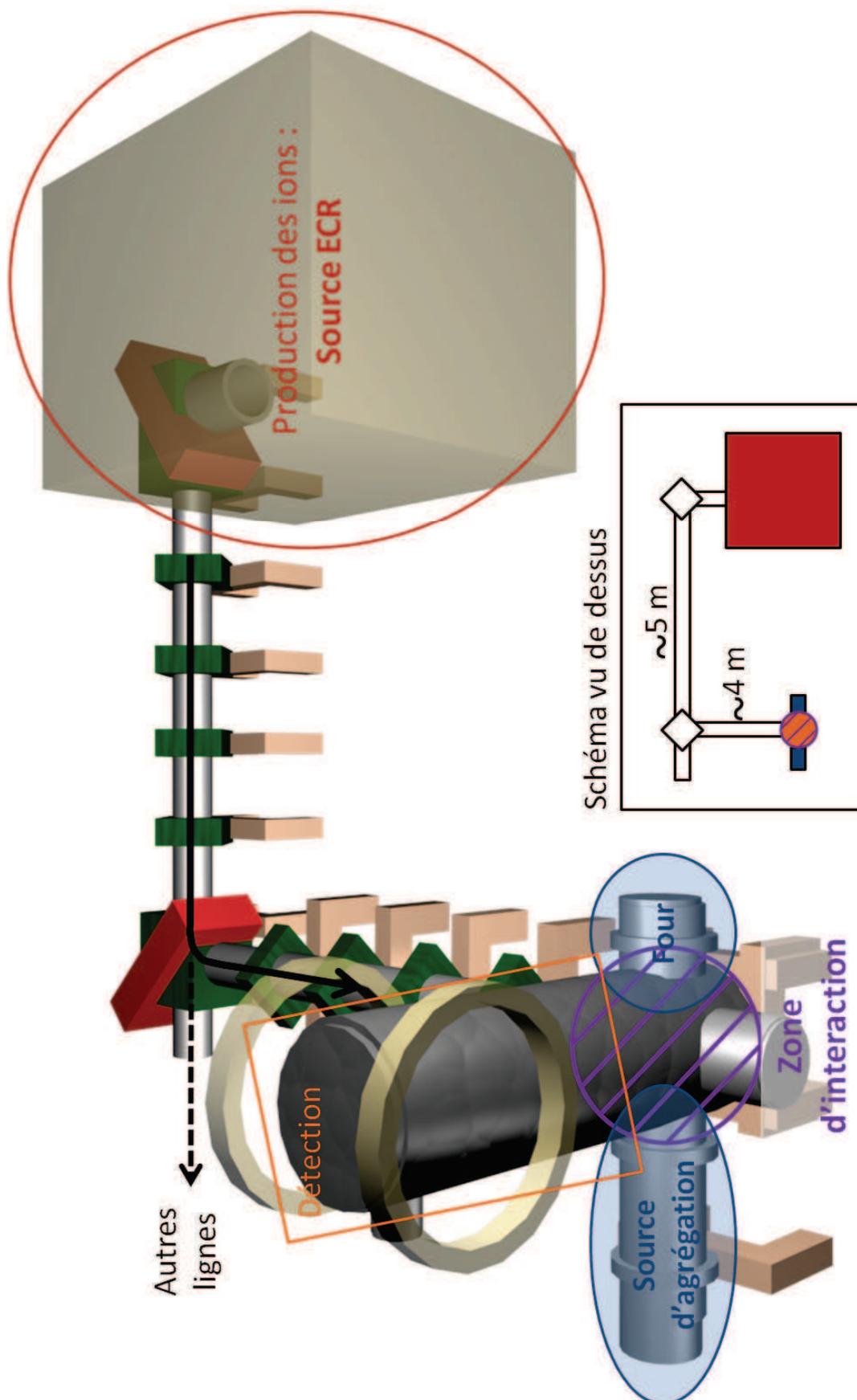


FIGURE 7.1: Schéma de principe et vue de dessus du dispositif expérimental utilisé au cours de cette thèse. La zone de production des ions est entourée en rouge, celles des cibles sont en bleu, la zone d'interaction est en violet et la zone de détection en orange.

7.1.1 Principe de fonctionnement d'une source ECR

Sous l'effet couplé du champ magnétique et de l'onde électromagnétique radio-fréquence les électrons libres dans l'enceinte vont entrer en résonance cyclotronique. Cet état est atteint dans les zones où la fréquence de rotation des électrons autour des lignes de champ magnétique devient égale à la fréquence de l'onde délivrée par le générateur, les zones de résonance HF. Les pulsations correspondantes notées ω_{cyc} et ω_{hf} respectivement sont telles que (avec e la charge élémentaire, B la valeur d'induction magnétique et m_e la masse de l'électron) :

$$\omega_{cyc} = \omega_{hf} = \frac{eB}{m_e} \quad (7.1)$$

À cette fréquence, les électrons vont être accélérés de façon stochastique et vont commencer à ioniser les atomes autour, produisant de nouveaux électrons et ainsi de suite jusqu'à ce qu'un plasma s'établisse. Le chauffage des électrons est dit stochastique puisque, s'il est localement possible qu'un électron ralentisse, en moyenne son énergie augmentera avec le temps. Le plasma, chargé par nature¹, sera confiné à l'intérieur de l'enceinte de la source par un champ magnétique. Notons que la production d'ions multichargés est obtenue après plusieurs ionisations successives et qu'un état de charge donné ne pourra être atteint que si les électrons sont suffisamment énergétiques (de façon à ce que l'ionisation puisse se faire en couche de plus en plus internes²).

Le champ magnétique qui assure le confinement est inhomogène et résulte de la contribution de deux aimants permanents et de deux solénoïdes pour sa partie axiale (voir figure 7.2 pour plus de détails) qui assurent le confinement le long de l'axe d'extraction. En outre ce confinement augmente localement la densité électronique et facilite donc l'ionisation. La composante radiale du champ magnétique est quant à elle induite par un hexapôle qui permet de maintenir le plasma radialement. L'ensemble de ces champs forment une « bouteille magnétique ».

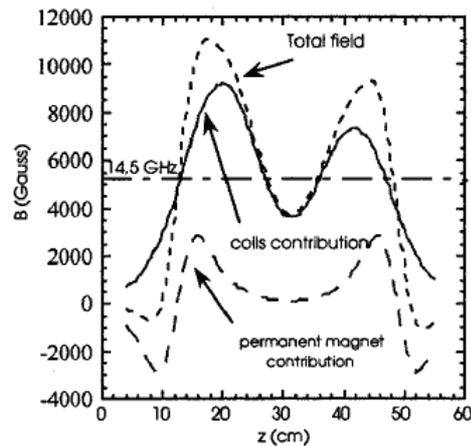


FIGURE 7.2: Champ magnétique axial d'une source ECR [79].

1. un plasma est un état de la matière où cohabitent des ions, des électrons et des atomes neutres
 2. Par exemple, la 11^{ème} énergie d'ionisation de l'argon est de l'ordre de 539 eV (l'argon 11 fois chargé pouvant être produit par les sources ECR utilisées durant cette thèse).

Les ions ainsi formés sont alors attirés par une première électrode et se trouvent accélérés au travers du système d'extraction vers les lignes de faisceaux d'ARIBE (Ligne L1 directement en sortie de source puis L3 vers le dispositif). L'énergie du faisceau d'ions en sortie de source est alors donnée par le potentiel de celle-ci (avec E l'énergie cinétique de l'ion eV, q son nombre de charges, et V le potentiel électrique de référence de la source en volts) :

$$E = q \cdot V \quad (7.2)$$

Les énergies typiques accessibles actuellement vont entre 5 et 25 keV par charge. La vitesse des ions correspondants varie donc par exemple entre environ 0,31 et 0,71 u.a. pour l'ion He^{2+} et entre environ 0,18 et 0,40 u.a. pour le Xe^{20+} (voir formule 1.1 page 16).

7.1.2 La ligne de faisceau

Les ions produits par la source ECR sont d'abord extraits vers un premier dipôle magnétique d'analyse. Celui-ci crée localement un champ magnétique uniforme orthogonal au trajet du faisceau sur lequel s'applique donc la force de Lorentz (avec v la vitesse de l'ion, q sa charge et B la valeur du champ magnétique) :

$$\vec{F} = q \cdot \vec{v} \wedge \vec{B} \quad (7.3)$$

On peut alors obtenir les égalités suivantes (dans le cas particulier de la mécanique classique, avec $B\rho$ la rigidité magnétique, v la vitesse de l'ion, m sa masse, q sa charge, B la valeur du champ magnétique et ω la fréquence cyclotronique de l'ion) :

$$\frac{B\rho}{v} = \frac{m}{q} = \frac{B}{\omega} \quad (7.4)$$

La rigidité magnétique maximum du système est ici de 0,05 T.m [79] et impose donc une limitation sur le choix des ions et de leurs énergies lors des différentes expériences. Un ensemble de fentes mobiles placé au point de focalisation du dipôle permet de tailler le faisceau pour en changer la forme. Cela améliore la résolution en masse au niveau de notre dispositif au détriment de l'intensité (voir partie 7.2.2 pour plus de détails).

Après ce dipôle, le faisceau d'ions peut alors être pulsé au moyen de deux plaques. Cela facilite l'utilisation du spectromètre de masse par temps de vol dans la suite du dispositif. La pulsation du faisceau sert d'origine des temps lors de chaque cycle de mesure. Lorsque le faisceau ne passe pas, l'une des deux plaques permettant la pulsation est mise à la masse tandis que l'autre est portée à quelques centaines de volts (typiquement 500). Lorsque le faisceau passe, les deux plaques sont à 500 V. Ce choix de tension permet de profiter du temps de montée de la bascule haute tension pour l'ouverture du passage du faisceau. Ce temps, plus court que celui de descente, assure une meilleure définition du paquet d'ions au niveau du dispositif. La taille et la fréquence des paquets d'ions peuvent être ajustées par l'utilisateur. Elles sont typiquement de l'ordre de la microseconde de largeur temporelle à une fréquence proche du kilohertz (soit typiquement 10^6 ions par paquets pour O^{6+}). Pour les régler, nous utilisons une bascule HT de marque Behlke commandée par un contrôleur de pulse Quantum Composur qui permet la synchronisation avec les autres tensions pulsées du dispositif, notamment l'extraction du spectromètre de masse par temps de vol.

Les ions sont guidés au moyen de deux quadripôles magnétiques et d'un jeu de déviateurs électrostatiques vers un second dipôle magnétique qui permet l'entrée du faisceau dans la ligne L3. Les quadripôles permettent de déplacer le faisceau indépendamment suivant les axes X et Y (Z correspondant à la direction de propagation du faisceau) par l'application d'un champ magnétique quadripolaire (c'est encore l'équation 7.3 qui s'applique). Le jeu de déviateurs engendre quant à lui des champs électriques dans une direction puis dans une autre (par application de potentiels sur deux jeux de plaques parallèles, les premières dans une direction, les suivantes dans l'autre). Il en résulte une force sur le faisceau de la forme $\vec{F} = q \cdot \vec{E}$ (avec q la charge de l'ion et E le champ électrique qu'il traverse). La déviation provoquée est donc proportionnelle au rapport de l'énergie cinétique de l'ion sur sa charge.

Après le passage du second dipôle, le guidage est assuré par deux autres quadripôles magnétiques et un autre jeu de déviateurs. Une lentille électrostatique (de type Einzel), placée à l'entrée de la zone d'interaction (voir encore 7.2.2) permet une meilleure focalisation du faisceau dans la zone de collision. Le vide avoisine 10^{-9} mbar dans les lignes de faisceaux.

Ces lignes permettent le transport de faisceaux d'ions de fort courant avec une émittance allant jusqu'à 150π mm mrad. La transmission est d'environ 80%, suivant le faisceau considéré. L'intensité peut en être contrôlée, a priori, au moyen de trois cages de Faraday (2 amovibles placées derrière chaque dipôle magnétique et 1 après la zone de collision) qui apportent une lecture absolue du courant recueilli (lié au nombre d'ions). À ces outils de diagnostic s'ajoutent trois profileurs amovibles qui nous renseignent sur la qualité du faisceau (forme en X et Y - placés avant les deux premières cages et devant la chambre d'interaction, avant la lentille).

7.2 Production de la cible

Le faisceau d'ions produit par la source ECR (conduit au travers de la ligne L3) vient interagir avec le faisceau cible. Celui-ci peut être obtenu par deux dispositifs placés de part et d'autre de la zone d'interaction. Il sera alors possible de produire d'un côté des molécules isolées à partir d'un four et de l'autre de produire des agrégats dans une source d'agrégation gazeuse.

7.2.1 Four de molécules isolées

Comme cela a été brièvement décrit dans la partie 6.2.2 page 53, l'utilisation d'un four rempli d'une poudre de biomolécules permet d'accroître la pression de vapeur saturante de l'espèce en élevant la température. La figure 7.3 illustre la façon dont est construit ce four et sa position dans le dispositif pour permettre aux molécules évaporées d'atteindre la zone d'interaction.

Le four est constitué d'un tube entouré d'éléments chauffant et recouvert d'un écran thermique venant se visser à la base. Sous l'effet de l'élévation de la température, il se forme un jet effusif à la sortie, dirigé vers la zone d'interaction, dont l'angle solide se trouve contraint par le passage au travers d'un diaphragme (diamètre $\phi = 5,3$ mm). Cela permet de limiter la taille du faisceau cible pour une meilleure résolution (voir plus loin,

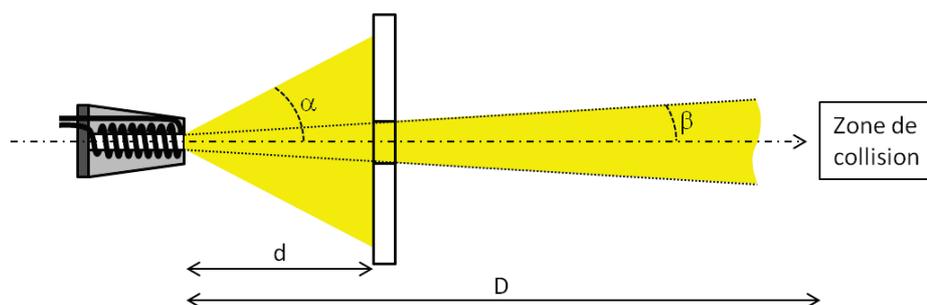


FIGURE 7.3: Schéma de principe et disposition du four de molécules isolées vis-à-vis du diaphragme et de la zone .

partie 7.3 page 64). Cela présente également l'avantage de réduire le besoin de nettoyage de la zone de collision qui est difficilement accessible. En première approximation, la taille en mètre (diamètre) du faisceau cible dans la zone d'interaction est donnée par la formule :

$$\Phi \approx 2 \tan(\beta) \cdot D \approx \frac{\phi \cdot D}{d} \approx \frac{5,3 \cdot 10^{-3} \cdot D}{7 \cdot 10^{-2}} \approx 7,6 \cdot 10^{-2} \cdot D \approx 1,3 \text{ cm} \quad (7.5)$$

Cette valeur est a priori supérieure à la taille du faisceau de projectile ce qui explique pourquoi la focalisation de ce dernier est finalement plus importante pour la résolution.

7.2.2 La source d'agrégation gazeuse

En face du four permettant la production de molécules isolées, de l'autre côté de la zone d'interaction, se trouve une source dite d'agrégation gazeuse (inspirée de celle de C. Bréchigniac et collaborateurs [80], développée alors pour produire des agrégats métalliques de sodium) . Celle-ci permet, comme son nom l'indique, de mettre en phase gazeuse une distribution d'agrégats atomiques [81] ou moléculaires [3, 62]. Plus particulièrement, elle permet la mise en phase gazeuse de molécules d'intérêt biologique telles que peuvent l'être les bases azotées de la molécule d'ADN ou certains acides aminés (voir parties 9 et 10 pages 93 et 121 respectivement pour plus de détails).

La figure 10 présente les différents éléments de ce dispositif. Outre la source en elle-même, on y trouve également le spectromètre de masse par temps de vol et le système utilisé pour la détection des produits de la collision. Ces deux points seront discutés plus loin.

Principes de formation des agrégats

Un four contenant une poudre de molécules est placé à l'intérieur d'une cloche où règne un vide primaire de quelques millibars d'hélium. Cette cloche est percée d'un canal refroidi à l'azote liquide (voir figure 7.5). Sous l'effet de l'augmentation de la température, la poudre dans le four va commencer à s'évaporer (comme dans le cas du four de molécules isolées) et les molécules vont entrer en collision avec le gaz tampon³ injecté par l'arrière de la cloche. Le gaz tampon, refroidi par contact avec les parois à la température de l'azote liquide, va les guider le long du canal de condensation. Les espèces

3. Dans notre cas, le gaz tampon est de l'hélium (⁴He 5.5 soit pur à 99,9995%)

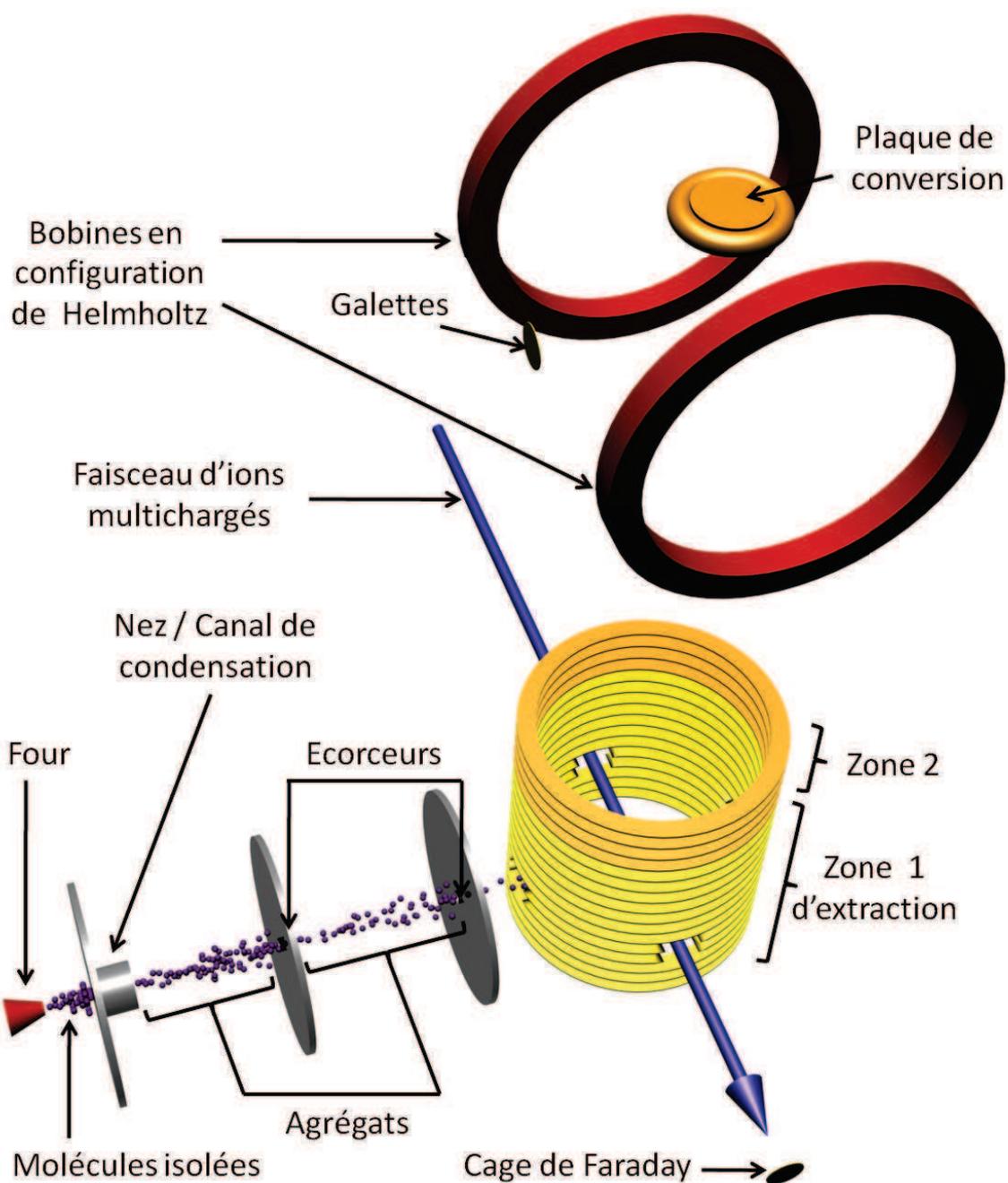


FIGURE 7.4: Schéma de principe et disposition des différents éléments constitutifs du dispositif expérimental.

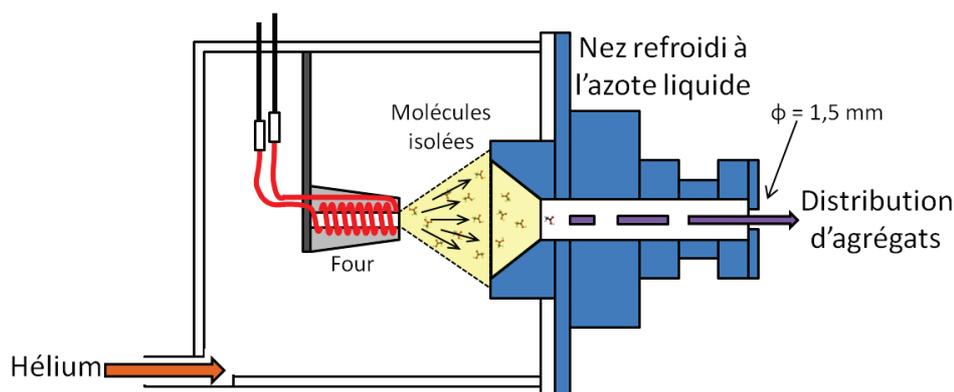


FIGURE 7.5: Schéma de principe de la source d'agrégation.

vont se refroidir à leur tour à mesure que les chocs avec le gaz tampon froid seront plus nombreux. Les molécules vont alors s'agréger les unes aux autres, soit par collage de molécules isolées, soit par collage d'agrégats, formant ainsi une distribution d'agrégats neutres de tailles et de formes (conformations) diverses. En effet, bien que les systèmes soient relativement froids (-180°C environ) ils ne sont pas dans l'état rovibrationnel fondamental mais vibrent et tournent sur eux-mêmes.

La distribution ainsi formée (en violet sur la figure 7.4) est ensuite entraînée par le gaz d'hélium et poursuit son trajet. Les agrégats traversent deux écorceurs et autant de chambres qui garantissent un pompage différentiel pour atteindre la zone de collision (qui est également la zone d'extraction du spectromètre à temps de vol). La distribution va alors interagir avec le faisceau d'ions multichargés délivré par la source ECR et arrivant perpendiculairement (revoir partie 7.1 page 55). Différents paramètres (accessibles ou non à l'utilisateur pendant l'expérience) vont jouer un rôle prépondérant dans le procédé d'agrégation. Leur modification engendrera une variation dans le processus d'agrégation et la distribution d'agrégats changera en conséquence.

La température du canal de condensation, d'abord, est primordiale. En effet, si ce dernier n'est pas assez froid, le gaz porteur, et donc les molécules évaporées resteront chaudes et ne s'agrégeront pas. Il n'est cependant généralement pas possible expérimentalement d'influer sur ce paramètre (sauf en modifiant légèrement le montage du nez - bain thermique -, ou en réduisant par exemple le débit d'azote liquide - jamais utilisés dans cette thèse) puisque le canal de condensation (c'est-à-dire le nez) est directement en contact avec la circulation d'azote liquide et se trouve donc à la même température.

La quantité de gaz tampon injectée, ensuite, est essentielle. Si elle est trop faible, les collisions avec les molécules seront peu nombreuses et la thermalisation inefficace. Ce paramètre peut être contrôlé au moyen d'un contrôleur de flux (ou débit-mètre)⁴ permettant de contrôler le débit du gaz porteur entre 0 et 600 mL/min à l'unité près pour une pression d'entrée avoisinant le bar. Les valeurs de fonctionnement typiques avoisinent les 120 mL/min. Cela correspond à une pression sous la cloche de l'ordre de la dizaine de millibars.

La quantité de molécules évaporées, enfin, est déterminante. Elle varie avec la température du four : insuffisante pour l'agrégation en dessous d'une valeur seuil, la quantité de molécules évaporées augmente avec la température (qui provoque l'accroissement

4. Brooks Instrument, 5850EM

exponentiel de la pression de vapeur saturante). De plus, si la quantité de molécules évaporées par le four devient plus grande, ces molécules s'agrègeront plus facilement les unes aux autres, ne serait-ce que si l'on raisonne de façon purement statistique. Plus de molécules signifie en effet potentiellement plus de chocs entre elles et donc plus de chances de les coller, à la condition que ces chocs supplémentaires ne débouchent pas sur une fragmentation de l'agrégat.

En outre, des températures trop élevées (pour un système donné), faute de permettre une bonne évaporation, vont littéralement détruire la molécule. De même, certains systèmes s'évaporent très rapidement sous vide (pression de vapeur saturante élevée, température d'évaporation faible) et une élévation de la température, ne serait-ce que de quelques degrés, peut conduire à la mise en phase gazeuse de l'ensemble du four en un instant. Enfin, sans tomber dans ce cas extrême, une trop grande densité peut également conduire à boucher le premier écorceur⁵ ou le four lui-même obligeant l'utilisateur à ouvrir le dispositif.

Spécificités de la source d'agrégation gazeuse

Au delà du principe même de son fonctionnement, cette source présente certaines spécificités ayant rendu possible l'ensemble des études menées. Ainsi, il est possible de monter dans la source deux fours pouvant chacun contenir quelques dizaines de milligrammes de poudres. Cela autorise l'étude de deux systèmes différents sans nécessiter de réouverture, ou encore la production de complexes mixtes (composés de différentes molécules dans un même agrégat) [82]. En outre, plusieurs améliorations ont été apportées au dispositif durant ma thèse, soit parce qu'elles facilitaient le travail autour du dispositif, soit qu'elles permettaient simplement d'obtenir de nouveaux résultats (voir figure 7.6 pour quelques photos).

Depuis le commencement de cette thèse, les mécanismes de montage de la cloche, du nez refroidi à l'azote liquide, et des fours ont été entièrement repensés pour accélérer les temps de démontage et de chargement mais aussi éviter les fuites au niveau du circuit d'azote.

Un four de grande taille, capable de recueillir six fois plus de poudre que les deux petits fours réunis peut maintenant être adapté sur le dispositif. Il permet des études plus longues, notamment avec les composés à l'évaporation rapide comme c'est le cas de la β -alanine (voir partie 10 page 121). En outre, le diamètre de son ouverture étant plus grand, il se bouche plus difficilement et facilite donc le travail sur les systèmes ayant tendance à « caraméliser » (comme c'est là aussi le cas de la β -alanine). Enfin, ce diamètre influe également sur la quantité de molécules évaporées à chaque instant, conduisant à la formation d'une vapeur plus dense au niveau du canal de condensation et donc à une distribution d'agrégats centrée vers des tailles plus grandes.

Après modification du dispositif, il est devenu possible d'injecter le gaz tampon de trois façons différentes : par le bas de la cloche (comme historiquement), directement à l'arrière des fours (des flux importants améliorent le guidage et l'entraînement vers la suite du dispositif) ou par un tuyau de cuivre qui débouche devant les fours et qui peut être chauffé (utilisé quelques fois lorsque l'on souhaite produire des agrégats d'eau). Il

5. Un déboucheur constitué d'un passage rotatif sous vide amenant une aiguille dans cet écorceur permet en général de le déboucher.

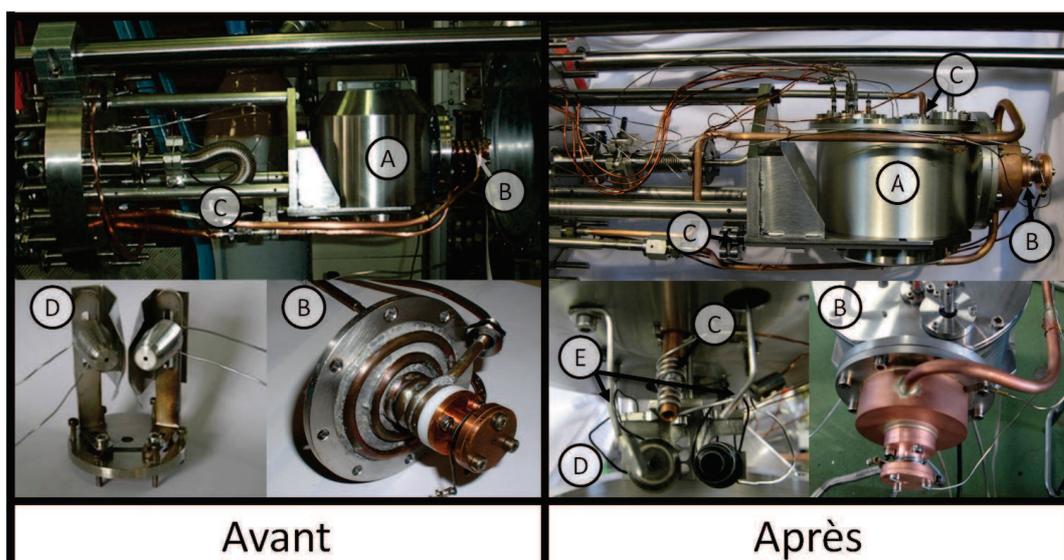


FIGURE 7.6: La source d'agrégation telle qu'elle était au début de la thèse (gauche) et à la fin (droite). A : Cloche, B : Canal de condensation / Nez, C : Entrée possible de l'hélium, D : Fours, E : Dispositif de décharge.

est également possible d'utiliser ce dispositif pour la production d'agrégats hydratés de molécules.

Ce dernier point est rendu possible par le couplage d'une ligne d'injection d'eau en amont de la source : au niveau de l'injection d'hélium. Un ballon rempli d'eau (chauffé par un chauffe ballon à une température avoisinant les 40°C) est relié à la ligne d'hélium par une vanne quart de tour et une vanne de microfuite. L'ensemble de la ligne est chauffé à 50°C pour limiter la condensation de l'eau sur les parois. L'eau se mélange ensuite avec l'hélium. Les proportions d'hélium et d'eau peuvent être modifiées en jouant sur la température du ballon, l'ouverture de la vanne de fuite et bien sûr la pression d'hélium. Les molécules évaporées du four vont alors pouvoir s'agréger avec les molécules d'eau.

Un système de décharge sous la forme d'une pointe et d'une contre-électrode placé devant les fours a également été installé. Il permet la mise en place d'un plasma qui va ioniser une partie des molécules évaporées pour constituer un noyau d'agrégation chargé et pouvoir former des agrégats chargés de plus grande taille. Cet aspect du dispositif est encore en phase de test mais a déjà donné quelques résultats concluants, avec la molécule d'anthracène notamment (voir figure 7.7, $N_{max} = 130$).

7.3 Spectrométrie de masse

Les systèmes d'intérêt biologique précédemment produits vont entrer dans la chambre de collision avec une vitesse due à la poussée initiale du gaz tampon (cas des agrégats). Ils vont interagir avec le faisceau d'ions multichargés produit par la source ECR. À la suite de cette interaction, une partie des produits sera chargée positivement et pourra être extraite perpendiculairement pour être analysée par un spectromètre de masse par temps de vol.

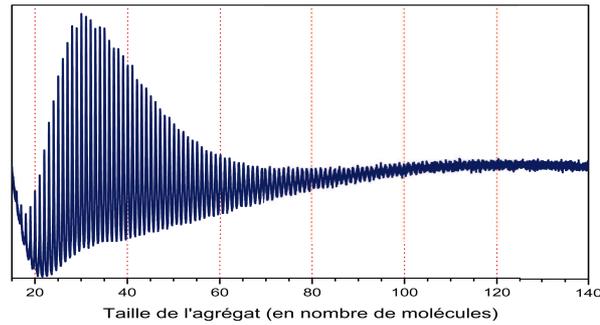


FIGURE 7.7: Spectre de masse d'agrégats cationiques de la molécule d'anthracène.

7.3.1 Principe de fonctionnement

Le principe du spectromètre de masse par temps de vol est simple. Celui-ci est décomposé en trois zones distinctes :

Une zone d'accélération dans laquelle une particule chargée est soumise à la seule force électrostatique (on néglige la pesanteur) sur une distance donnée. Cette force va amener la particule à une énergie E . Le début de l'accélération donne le temps $t_0 = 0$ du temps vol (*start signal*).

Une zone de temps de vol libre plus ou moins longue dans laquelle la particule n'est soumise à aucune force possédant donc un mouvement rectiligne uniforme.

Une zone de détection qui réagit à la présence de particules et qui permet d'enregistrer le temps de d'arrivée de la particule (*stop signal* et d'en déduire son temps de vol en connaissant t_0 .

Le temps de vol alors mesuré peut servir à remonter à la vitesse de la particule, donc à son énergie cinétique et donc à sa masse, ou plus précisément à son rapport masse sur charge. L'exemple qui suit détaille cette procédure dans le cas simple où les deux particules partent d'un point A, sont accélérées jusqu'à un point B puis suivent un mouvement rectiligne uniforme jusqu'à un point C distant de d . Soit deux particules de charges q_1 et q_2 et de masses m_1 et m_2 respectivement et soit ΔV_{AB} la différence de potentiel électrique entre deux points A et B. Il est bien connu que, en l'absence d'autres forces et avec des énergies cinétiques initiales nulles, les énergies E_1 et E_2 de ces particules en B seront telles que :

$$E_1 = \frac{1}{2}m_1v_1^2 = q_1\Delta V_{AB} \quad \text{et} \quad E_2 = \frac{1}{2}m_2v_2^2 = q_2\Delta V_{AB} \quad (7.6)$$

On en déduit immédiatement les temps t_1 et t_2 au bout desquels les particules auront parcouru la même distance d :

$$t_1 = d\sqrt{\frac{m_1}{2q_1\Delta V_{AB}}} \quad \text{et} \quad t_2 = d\sqrt{\frac{m_2}{2q_2\Delta V_{AB}}} \quad (7.7)$$

Et donc :

$$\Delta t_{12} = t_1 - t_2 = \frac{d}{\sqrt{2\Delta V_{AB}}} \left(\sqrt{\frac{m_1}{q_1}} - \sqrt{\frac{m_2}{q_2}} \right) \quad (7.8)$$

Ainsi, deux particules (non relativistes dans le cas qui nous intéresse) parcourent une même distance en des temps distincts, fonction du rapport masse sur charge de chacune d'elles. De fait, en mesurant le temps de vol de celles-ci, il est possible de remonter à leur masse en connaissant leur charge. C'est le principe de fonctionnement d'un spectromètre de masse par temps de vol.

En pulsant le potentiel d'extraction entre zéro et sa valeur nominale, il est possible de faire démarrer les particules en même temps et donc de connaître leur temps de départ. Remarquons qu'il est alors nécessaire que leurs points de départ soient les plus identiques possibles. Dans le cas contraire, une partie de la différence temporelle viendra en fait de la différence de distance parcourue.

En connaissant leur temps d'arrivée sur le détecteur (voir partie 7.4 pour le fonctionnement de celui-ci) il est alors possible de déduire le rapport masse sur charge des fragments.

7.3.2 Application de ce principe à notre spectromètre

Le temps de vol utilisé dans le dispositif est de type Wiley-McLaren [83]. Il possède donc deux zones d'extraction (ou d'accélération) l'une à la suite de l'autre où règnent des champs électriques \vec{E}_1 et \vec{E}_2 . Ce type de spectromètre de masse permet de déplacer la zone de focalisation des particules le long de l'axe d'extraction (par variation du rapport E_1/E_2) pour la faire coïncider avec le détecteur. La zone de détection, justement, après la zone de vol libre, est portée à un potentiel non nul qui permet la focalisation des fragments cationiques sur le détecteur. La figure 7.8 présente les différentes parties du spectromètre de masse telles qu'elles se présentent dans notre dispositif.

Plus particulièrement, il est possible de distinguer 4 régions sur le spectromètre. En effet, en plus des deux zones d'accélération déjà citées, il faut également considérer la zone de temps de vol libre (dans laquelle il est possible de compenser en partie la vitesse initiale de la cible) et la zone d'accélération vers le détecteur. En considérant une particule de masse m et de charge q partant avec la vitesse v le long de l'axe du spectromètre depuis la position x (voir figure 7.8). Le temps passé par la particule depuis le début de l'extraction jusqu'au détecteur est alors :

$$T(x, v) = T_1 + T_2 + T_3 + T_4 \quad (7.9)$$

où T_i correspond au temps passé dans la région i du spectromètre tel que :

$$T_1(x, v) = \frac{m}{qE_1} \left(\sqrt{v^2 + \frac{2q}{m} V_a \frac{x}{A}} - v \right) \quad (7.10)$$

$$T_2(x, v) = \frac{m}{qE_2} \left(\sqrt{v^2 + \frac{2q}{m} (V_a \frac{x}{A} + V)} - \sqrt{v^2 + \frac{2q}{m} V_a \frac{x}{A}} \right) \quad (7.11)$$

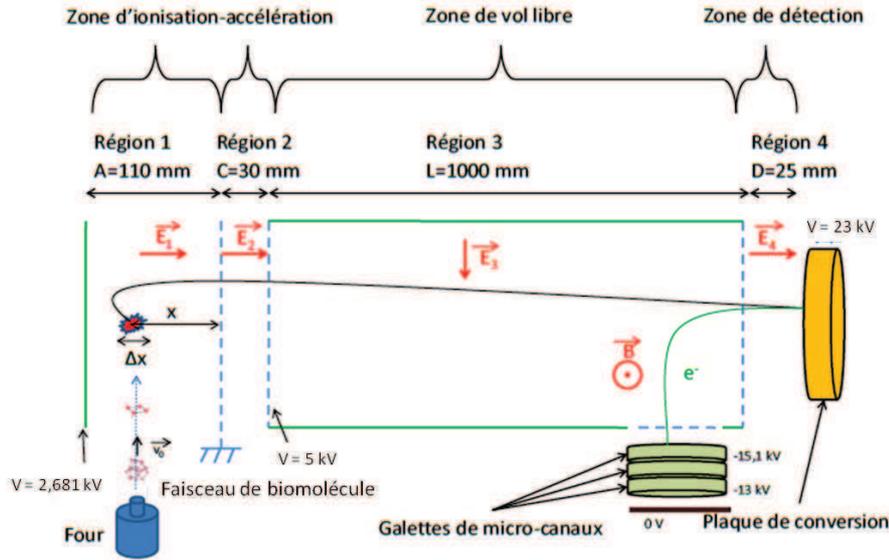


FIGURE 7.8: Schéma du spectromètre de masse par temps de vol utilisé durant cette thèse.

$$T_3(x, v) = \frac{L}{\sqrt{v^2 + \frac{2q}{m}(V_a \frac{x}{A} + V)}} \quad (7.12)$$

$$T_4(x, v) = \frac{m}{qE_2} \left(\sqrt{v^2 + \frac{2q}{m}[V_a \frac{x}{A} + V + (V_{\text{plaque}} - V)]} - \sqrt{v^2 + \frac{2q}{m}V_a \frac{x}{A} + V} \right) \quad (7.13)$$

7.3.3 Spécificités techniques

La première zone se compose de onze électrodes creuses espacées d'un centimètre et d'une grille à haute transmission (95%) à la masse qui fait la transition vers la seconde zone, elle-même composée de deux autres électrodes et d'une dernière grille.

Une tension de 2,68 kV est appliquée sur la première électrode de la zone 1 et est transmise aux autres plaques par un pont résistif qui assure l'uniformité du champ \vec{E}_1 jusqu'à la grille à la masse. La dernière électrode de la zone 2 (une grille - transmission 95%) est quant à elle portée au potentiel de -5 kV et là aussi un pont résistif assure l'application des tensions vers les électrodes inférieures jusqu'à la grille à la masse qui termine la première zone.

Commence alors la zone de temps de vol libre de part et d'autre de laquelle se trouvent des plaques à -5 kV également et dont le potentiel peut être modifié d'un côté ou de l'autre. Cela permet de compenser en partie la vitesse initiale des molécules (agrégats). La variation de cette tension est de l'ordre de quelques dizaines de volts pour les agrégats entraînés par le flux d'hélium.

7.3.4 Performances

Résolution spatiale

La résolution spatiale d'un spectromètre représente sa capacité à compenser la dispersion en temps de vol due aux différentes positions initiales des espèces au moment de l'extraction. Elle se traduit par la relation :

$$\frac{\partial T}{\partial x} = 0 \quad (7.14)$$

Pour éviter que la dispersion Δx initiale ne conduise à une diminution de la résolution spatiale, les dimensions du spectromètre ainsi que les tensions appliquées sont imposées afin de respecter le critère introduit par DeHeer et Milani [84]. Il est alors possible d'accéder à de plus grands volumes d'ionisation (expérimentalement $(\Delta x)_{\max} \approx 1$ cm). Le spectromètre présente un pouvoir de résolution $R = \frac{m}{\delta m}$ de 1500 pour $m = 720$ amu⁶.

Résolution en énergie

La résolution en énergie d'un spectromètre représente sa capacité à compenser la dispersion en temps de vol due aux différentes vitesses initiales des espèces, le long de l'axe du spectromètre, au moment de l'extraction. En effet, deux ions identiques en masse et en charge qui auraient des vitesses initiales opposées n'arriveraient pas en même temps sur le détecteur. Cet écart en temps est donné à partir de la formule 7.9 tel que :

$$\delta T(x, v) = T(x, -v) - T(x, v) \quad (7.15)$$

Cela correspond au temps mis par une particule pour faire demi-tour dans le champ \vec{E}_1 et est appelé temps « d'aller-retour ». À partir des équations 7.10 à 7.13, on montre alors [85] que :

$$\delta T(x, v) = \frac{2mv}{qE_1} \quad (7.16)$$

De fait, plus la vitesse initiale est grande, plus le temps d'aller-retour sera grand et plus le pouvoir de résolution sera faible. La solution pour limiter cet effet consiste à utiliser un champ d'extraction E_1 important. En outre, la largeur temporelle du signal se trouve finalement corrélée à la vitesse (et donc l'énergie) initiale des fragments émis. Il est donc possible, comme nous le verrons plus loin, de déterminer l'énergie cinétique des fragments à partir de la largeur du pic.

7.4 Détection

La détection des particules chargées de grande masse pose souvent problème. À la sortie de la zone de vol libre du spectromètre, ces systèmes ont une vitesse faible qui rend difficile leur détection directe par des galettes à microcanaux par exemple. La probabilité pour qu'une particule arrache un électron et amorce ainsi une cascade dans le détecteur est en effet liée à la vitesse de cette particule lorsqu'elle frappe la paroi du détecteur. Pour pallier ce défaut d'efficacité et pour que celle-ci soit constante sur toute

6. avec un laser picoseconde pour l'interaction

la gamme de masse des cations issus de la collision, le dispositif est muni d'un étage de détection en deux temps (voir figure 7.9) inspirée par Daly [86].

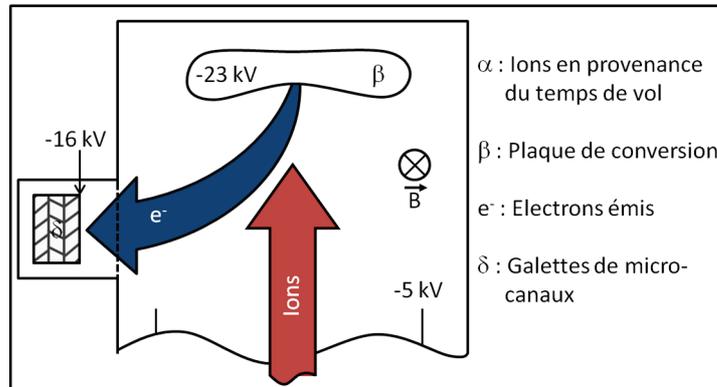


FIGURE 7.9: Agencement du dispositif de détection couplé au spectromètre.

Les ions extraits le long du spectromètre viennent frapper une plaque d'acier inoxydable recouverte d'or et portée au potentiel de -23 kV. Compte tenu de l'énergie de ces ions et de l'accélération impliquée par une telle tension, ces derniers ont une vitesse suffisante pour arracher un certain nombre d'électrons de la plaque. Ces électrons sont attirés dans le sens des potentiels croissants et se trouvent déviés par un champ magnétique induit par deux bobines en configuration de Helmholtz. Ils passent alors au travers d'une grille à haute transmission (95%) et entrent en collision avec la surface d'une galette à microcanaux.

Ce dispositif permet de s'affranchir de la non-linéarité de l'efficacité des galettes en fonction de la masse du projectile [87] qui les touche. Il a été démontré [81] que l'efficacité était maintenue constante (et proche de 1) pour de grandes masses (testé avec des agrégats de sodium de plus de 10 000 u.m.a. - Na_{500}^+).

Enfin, on pourra remarquer que l'absence de grille à l'extrémité de la zone de vol libre permet une légère focalisation du faisceau d'ions sur la plaque de conversion (β sur la figure 7.9). Cela permet d'accroître la transmission du spectromètre de masse vis-à-vis de l'énergie cinétique des fragments.

7.5 Forme du signal et traitement de l'information

Le signal de sortie des galettes passe dans un préamplificateur de marque Ortec qui, comme son nom l'indique, va l'amplifier avant de directement l'envoyer vers la carte d'acquisition de l'ordinateur d'analyse. Un seuil de $-0,3$ V assure la soustraction d'une partie du bruit électronique. En fonction du retard du signal par rapport au « start » déjà reçu par la carte, un histogramme se remplit avec en ordonnée le nombre de coups reçus par le détecteur et en abscisse le canal correspondant à un certain temps. Le « start » est un signal NIM, déclenché par le pulse d'extraction et synchronisé avec le pulse d'ions⁷.

7. La valeur du *start* et le temps de début de l'extraction doivent donc tenir compte de la longueur temporelle du pulse d'ions

Ce réglage doit permettre le passage du faisceau sans engendrer sa déviation (extraction alors que les ions multichargés sont encore présents). En effet si le faisceau projectile dévié frappe une surface proche de la zone d'interaction, cela engendrera du bruit sur le spectre.

Au-delà de la simple information temporelle qu'apporte le signal, la forme des pics formés sur le spectre nous renseigne également sur les processus physiques mis en jeu lors de la collision. En effet, comme l'indique la figure 7.10, la forme du signal ainsi reçu peut varier. Prenons le cas d'école où la zone d'interaction entre le faisceau d'ions et celui d'agrégats est ponctuelle et où les produits de la collision n'ont pas de vitesse initiale. Dans ce cas, le signal apparaîtra sur l'ordinateur comme une fonction porte dont la largeur ne dépendra que de la largeur temporelle du signal lui-même, ainsi bien sûr que de la résolution du spectromètre et du détecteur. Il en va de même si la zone d'interaction est un segment perpendiculaire au temps de vol, la distance parcourue par les produits de la collision étant alors identique. Cependant, dans les faits, la zone d'interaction, et donc le point de départ, n'est pas ponctuelle. Elle s'apparente plutôt à l'intersection de deux cônes, celui des agrégats et celui des ions multichargés. La forme du signal est alors différente (elle l'est aussi si les produits de la collision ont une vitesse initiale non nulle).

Le cas A de la figure 7.10 présente le signal tel qu'il pourrait apparaître sur l'écran lorsque les produits issus de la collision partent d'un cercle centré sur l'axe du faisceau d'ions. Les points de départ de chacune de ces particules chargées sont alors différents et répartis de façon homogène dans le cercle. Les temps de vol de deux fragments identiques sont alors différents car leurs parcours le sont aussi (voir équation 7.7 page 65), même s'il y a compensation partielle par le spectromètre (de type Wiley McLaren). Compte tenu de la forme de la zone d'interaction, cela se traduit par une fonction gaussienne sur l'écran. Plus la zone d'interaction est grande, par exemple si le faisceau d'ions multichargés est mal focalisé, et plus la largeur temporelle du pic sera importante.

Si les produits de la collision ont une vitesse initiale non nulle, isotrope et uniforme (cas B, C, D et E), alors le pic correspondant au signal sera là aussi plus large. En effet, une partie des ions sera émise vers le bas et devra d'abord être ralentie avant d'être extraite, arrivant sur le détecteur avec un certain retard. Il est alors possible de remonter à l'énergie cinétique des produits en utilisant la formule suivante (avec q la charge, E la norme du champ électrique dans la première zone, Δt la largeur à mi-hauteur du signal et m la masse de la particule), à la condition que le pulse d'ions soit court ($\leq 1\mu\text{s}$) et que l'extraction intervienne immédiatement (voir partie 7.5) :

$$E_c = \frac{q^2 E^2 \Delta t^2}{8m} \quad (7.17)$$

Dans le cas où l'énergie cinétique initiale des produits est grande mais inférieure à 10 eV (cas C), il apparaît une saturation qui se traduit par l'aplatissement du pic correspondant au signal.

Lorsque la vitesse initiale du cation produit lors de la collision est plus grande encore ($E_c > 10$ eV - cas D et E -) comme c'est parfois le cas lors d'une explosion coulombienne par exemple, le spectromètre ne permet plus le passage des ions partis dans une direction transverse (par rapport à son axe). Ils n'atteignent plus le détecteur (soit qu'ils touchent les bords soit qu'ils passent simplement à côté) ce qui se traduit par un creusement du signal en son centre. Ce phénomène est d'autant plus prononcé que l'énergie cinétique

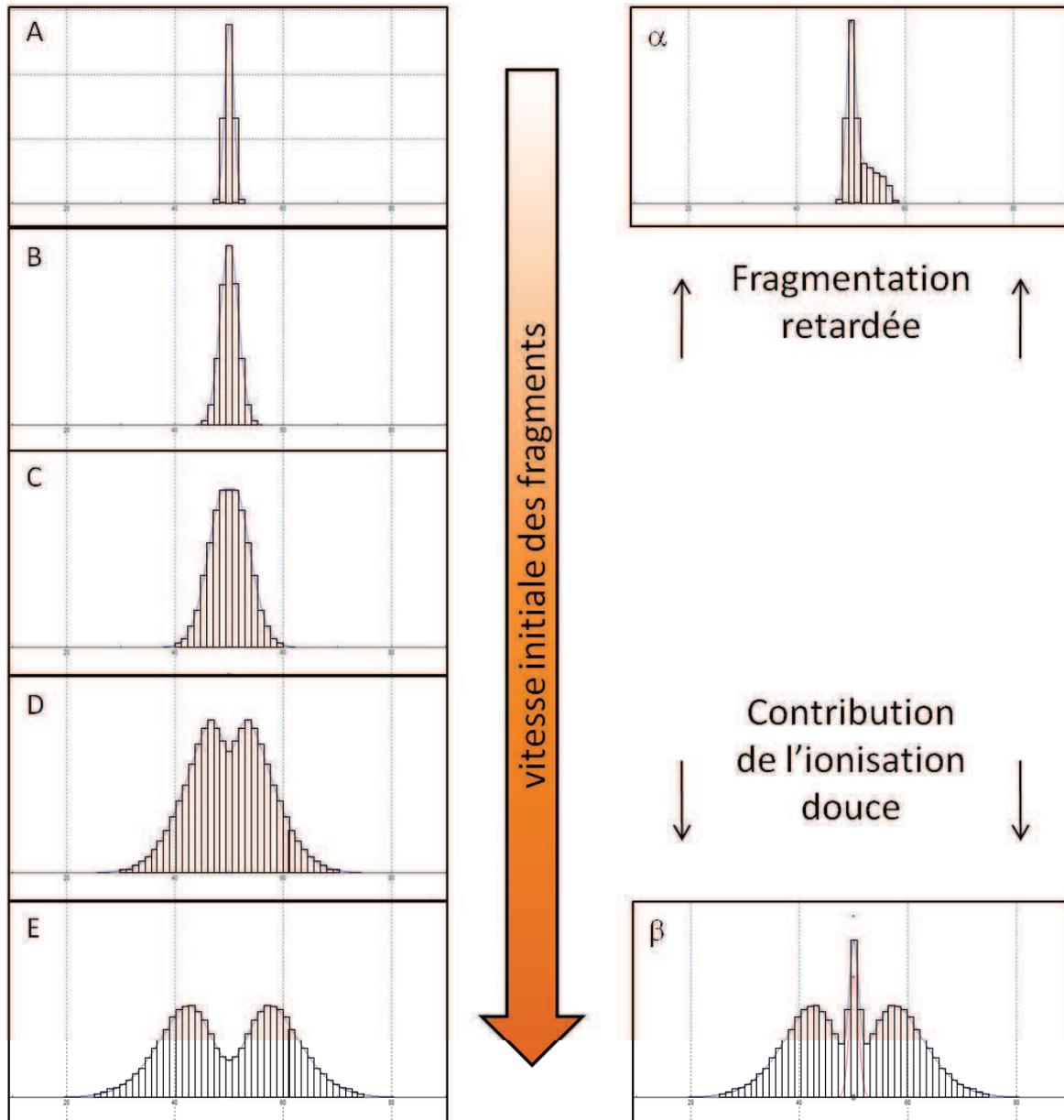


FIGURE 7.10: Différentes formes prises par un pic sur le spectre en temps de vol en fonction des conditions initiales précédant l'extraction.

initiale moyenne est grande (creux plus important dans le cas E que dans le cas D).

Plusieurs processus physiques peuvent également se superposer les uns aux autres, conduisant à la production d'espèces au rapport masse sur charge identique mais ayant une distribution en vitesses initiales différente. Le cas β présente ainsi un pic correspondant par exemple à la somme de deux contributions :

L'explosion coulombienne d'un dimère doublement chargé provoquant la formation de deux monomères monochargés mais avec des vitesses initiales grandes (induisant un creusement au centre).

L'ionisation douce d'un monomère issu de la distribution initiale d'agrégats (contribution centrale), à grand paramètre d'impact et sans transfert d'énergie.

Enfin, certains processus physiques interviennent avec des temps caractéristiques proches du temps nécessaire pour extraire les ions du système d'extraction (jusqu'à quelques microsecondes après le passage du faisceau). Il arrive par exemple qu'un ion vienne ioniser et exciter une cible qui forme alors un cation métastable : par exemple le cation de la molécule intacte. Si la fragmentation n'intervient pas avant que ce cation soit dans la zone de temps de vol libre, le signal correspondant sur le spectre en temps de vol renvoie à la masse de la molécule. Si la molécule fragmente avant l'extraction (en un fragment chargé et un fragment neutre par exemple), le signal correspondant sur le détecteur correspondra à la masse du fragment chargé.

Cependant, si la fragmentation intervient pendant l'extraction, l'espèce ainsi formée se trouve accélérée moins longtemps et arrive donc légèrement après un fragment de même masse qui aurait été formé avant l'extraction. Ce phénomène qui nous renseigne sur la cinétique de fragmentation est appelé « fragmentation retardée » (voir cas α). Il est possible de montrer que seule une fragmentation retardée dans la première zone d'extraction est visible sur le spectre. La fin de cette fragmentation retardée est d'ailleurs caractéristique de la taille de la première zone d'extraction et du champ qui y règne.

Effet du retard entre le passage des ions et l'extraction

Comme nous venons de le voir, la position et la vitesse initiale des fragments influent sur la largeur du signal correspondant à une espèce. Dès lors, la résolution du spectromètre peut être dégradée si les paramètres expérimentaux choisis pour définir le paquet d'ions multichargés et pour synchroniser l'extraction ne sont pas optimaux.

La figure 7.11 illustre ce dernier point en montrant l'évolution des spectres de gaz résiduel en fonction du temps entre le passage des ions dans la zone d'interaction et le début de l'extraction des fragments (appelé retard).

Le spectre (A) a été réalisé dans les conditions expérimentales habituelles. On y distingue les pics dus à l'ionisation du gaz résiduel, soit O^+ , OH^+ et H_2O^+ de gauche à droite. La largeur temporelle de ce dernier pic est alors de 18 ns environ (largeur à mi-hauteur). Le retard alors utilisé correspond au temps nécessaire pour que l'intégralité du paquet d'ions traverse la zone d'interaction. Un retard plus court déclencherait l'extraction plus tôt, déviant le faisceau d'ions (qui n'atteindrait plus la cage de Faraday) ce qui occasionnerait un bruit important.

Le spectre (B) est enregistré avec un retard plus long (+1 μs). Les trois pics précédents y sont encore visibles mais une différence majeure est notable. La largeur de tous les pics est plus importante que précédemment. En effet, le temps entre le passage des ions

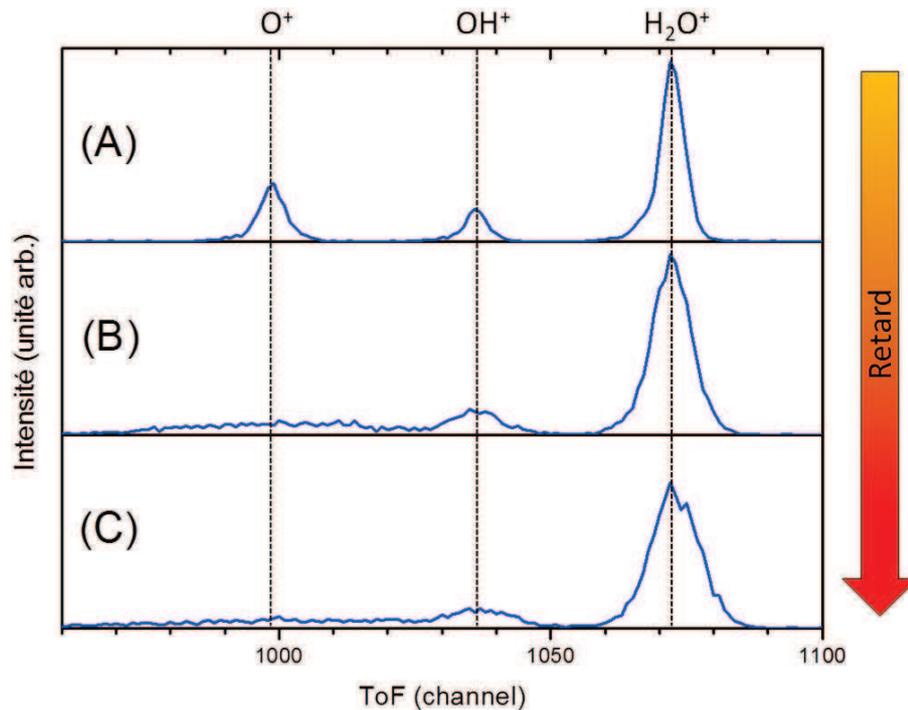


FIGURE 7.11: Différents spectres en temps de vol obtenus en faisant varier le retard entre le passage des ions multichargés et le début de l'extraction. (A) Retard minimum. (B) Retard de $+1\mu\text{s}$. (C) Retard de $+4\mu\text{s}$

(et donc plus ou moins le moment où les fragments se sont formés) et le moment où a lieu l'extraction sont plus éloignés. Les fragments ont donc plus de temps pour dériver. La variation dans leur position de départ et donc dans leur temps d'arrivée est alors plus grande que sur le spectre (A). Ainsi, le pic d'ionisation de l'eau passe à près de 29 ns de largeur temporelle. C'est ce même effet qui explique l'étalement du pic attribué à l'ion O^+ . Celui-ci provient vraisemblablement, soit du dioxygène gazeux ayant perdu 2 électrons (O_2^+ est stable à nos échelles de temps), soit de l'atomisation de la molécule d'eau après plusieurs captures électroniques. Le fragment O^+ est alors fortement accéléré compte tenu de la répulsion coulombienne engendrée par les autres fragments chargés. Sa vitesse initiale est alors grande et le retard plus important laisse au fragment le temps de s'éloigner. Il n'est alors plus possible de compenser correctement la dispersion spatiale de la plupart des fragments. Les limites du spectromètre en terme de vitesse radiale (par rapport à l'axe du spectromètre) sont par ailleurs atteintes plus rapidement puisque une partie de ces fragments sont extraits depuis les bords.

Les effets apparaissant sur le spectre (C) sont identiques à ceux observés sur le spectre (B). Le retard y est cette fois plus grand et la largeur des pics est donc encore augmentée. Ainsi, le pic d'eau ionisée a ici une largeur à mi-hauteur de l'ordre de 35 ns.

Effet de la taille temporelle du paquet d'ions

Lorsque le nombre d'évènements à chaque cycle de mesure est faible (ce qui arrive lorsque les faisceaux cibles et projectiles sont particulièrement peu intenses), il est possible d'augmenter le nombre de collisions en augmentant le nombre d'ions pouvant po-

tentiellement interagir : en augmentant la longueur temporelle du paquet d'ions. En effet, le taux de comptage augmente linéairement avec la longueur temporelle du pulse d'ions.

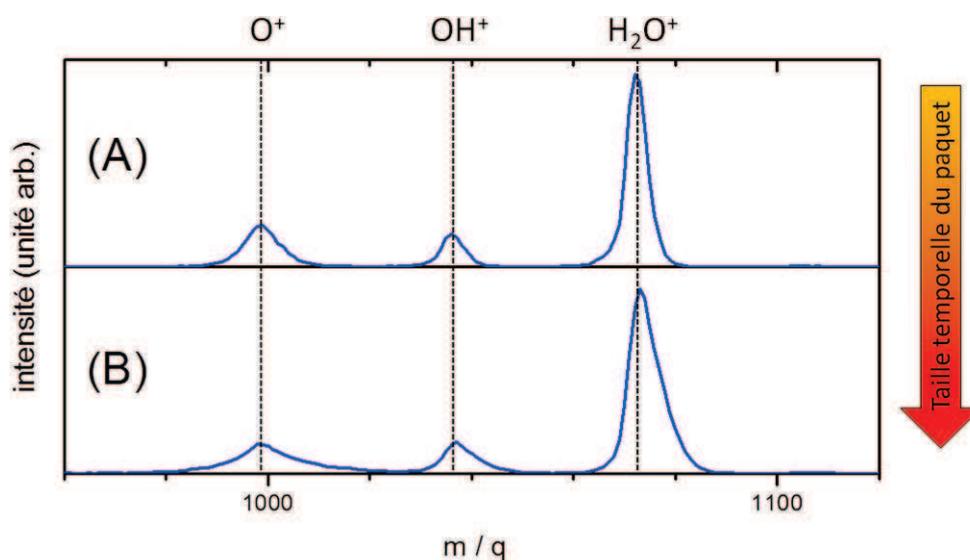


FIGURE 7.12: Différents spectres en temps de vol obtenus en faisant varier la longueur temporelle du paquet d'ions venant interagir avec le faisceau cible. (A) Longueur de $1\mu\text{s}$. (B) Longueur de $3\mu\text{s}$.

Toutefois, une telle opération n'est pas sans effets. Comme l'illustre la figure 7.12, une variation de la taille du paquet d'ions induit une perte de résolution, comme décrit précédemment. Les fragments créés au début du passage des ions auront le temps de dériver pendant que d'autres cations continueront de se former. Le spectre final correspond alors à la superposition de toutes ses contributions et donc à la superposition de fonctions gaussiennes de moins en moins larges.

7.6 Avantages et défauts de la méthode employée

Pour conclure, le dispositif tel qu'il a été décrit et tel qu'il existe aujourd'hui est bien adapté à nos études. Il permet de réaliser des expériences de collision entre un faisceau d'ions multichargés peu dense et un faisceau de cibles composé de systèmes moléculaires complexes. Par ce biais, il permet l'investigation du rôle de l'environnement immédiat de la molécule sur son interaction et apporte plus qu'un simple spectre de masse en renseignant sur les mécanismes collisionnels mis en jeu.

Toutefois, l'interprétation des résultats, notamment dans le cas des agrégats de molécules, n'est pas toujours évidente. La distribution initiale, avant interaction, étant inaccessible, la variété des cibles possibles ayant abouti au spectre final rend souvent l'étude plus incertaine. Il est par exemple impossible de déterminer avec certitude le parent d'un fragment chargé et donc de déterminer quel fragment neutre l'accompagne.

Pour pallier ce défaut, il serait intéressant de faire une sélection en masse de la cible

avant la collision. Cela passe par la production de cibles chargées, soit par décharge comme décrit plus tôt (non adaptée aux systèmes fragiles que sont les molécules d'intérêt biologique), soit en utilisant une toute autre source. La suite de cette partie présente les travaux de caractérisation d'une source électrospray qui doit à terme permettre l'interaction de systèmes moléculaires complexes sélectionnés en taille avec des ions multichargés.

8 La source electrospray

La source electrospray (ou source à nébulisation électrostatique) [88–90], a valu à son inventeur, John Bennett Fenn, le prix Nobel de chimie en 2002. C’est un système extrêmement polyvalent qui permet la mise en phase gazeuse d’espèces de grande taille, chargées et fragiles. Celles-ci sont impossibles à produire dans un four et ne peuvent donc pas être obtenues avec la source d’agrégation gazeuse (voir partie 7.2.2 page 60 et suivantes). Elle rend possible l’étude de systèmes isolés et complexes allant des acides aminés aux protéines. Elle a même permis la mise en phase gaz de virus qui, une fois déposés, se sont avérés toujours fonctionnels.

Ainsi, l’utilité d’une telle source pour notre étude devient évidente, puisqu’elle est capable d’extraire, depuis la phase liquide, des systèmes covalents ou non. C’est le cas notamment de molécules d’intérêt biologique relativement petites auxquelles s’attacheraient une ou plusieurs molécules de solvant. Elle rend dès lors possible l’étude précise de l’interaction entre ces systèmes et des ions multichargés grâce à la sélection en masse de la cible, de façon à identifier plus clairement le rôle de cet environnement moléculaire sur les mécanismes mis en jeu (voir page 11 et suivantes pour plus de détails).

Néanmoins, si sur le papier une telle étude paraît parfaitement réalisable, elle n’en présente pas moins quelques difficultés qu’il est nécessaire de contourner. Il sera donc montré ici, une fois les principes de fonctionnement clairement établis, comment il a été possible d’adapter et d’améliorer notre système pour se rapprocher de notre but.

8.1 Fonctionnement

Une solution contenant l’espèce que l’on souhaite retrouver en phase gazeuse est injectée au travers d’un capillaire en silice jusqu’à une aiguille portée à un haut potentiel (de l’ordre de 4 kV). L’entrée de la première enceinte sous vide, maintenue à la masse, constitue alors une contre-électrode et un gradient de potentiel s’établit entre l’aiguille et l’entrée. L’ensemble de cette zone est à la pression atmosphérique.

Sous l’effet de ce gradient, les espèces chargées¹ contenues dans la solution s’organisent. La surface du liquide à l’extrémité de l’aiguille vient à se déformer (voir figure 8.1). Il se forme alors un cône dit de Taylor au bout duquel va se détacher une goutte de liquide chargée. Dès lors, au contact du gaz environnant, cette goutte va s’évaporer et donc voir sa taille diminuer alors que la charge qu’elle contient reste constante.

Au cours de ce processus, il arrive un moment où la force de cohésion de la surface devient inférieure à la force de répulsion coulombienne et la goutte fissionne alors en gouttelettes qui vont s’évaporer à leur tour avant de fissionner, et ainsi de suite (comme

1. Une tension positive appliquée sur cette aiguille provoquera le déplacement des charges de même signe vers son extrémité (dans le sens des potentiels décroissants), permettant la production d’espèces chargées positivement. Une tension négative, à l’inverse, conduira à la production d’espèces négatives.

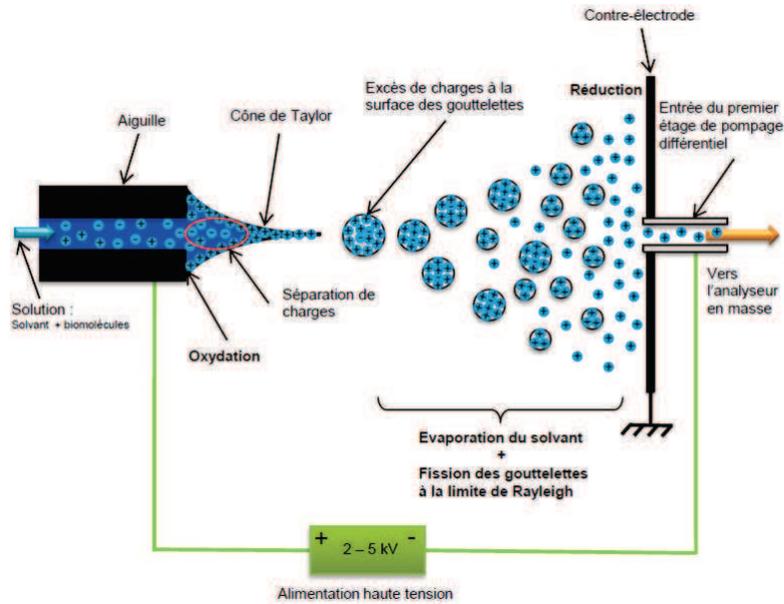


FIGURE 8.1: Schéma de principe du fonctionnement d'une source electrospray

décrit par John William Strutt Rayleigh [91] et observé sur des micro-gouttelettes chargées par Duft et ses collaborateurs [92, 93], voir figure 8.2). Au moment où la répulsion coulombienne égale la tension de surface, la limite de stabilité (donnée par la formule 8.1) est atteinte. On a alors :

$$q_R = 8\pi\sqrt{\epsilon_0\gamma R^3} \quad (8.1)$$

avec ϵ_0 la permittivité du vide, γ la tension de surface et R le rayon de la goutte. Cette suite d'évaporations et d'explosions successives conduit à la formation d'une plume (ou cône) de nébulisation formée de gouttelettes de plus en plus fines à mesure que l'on s'éloigne de l'aiguille pour se rapprocher de l'enceinte.

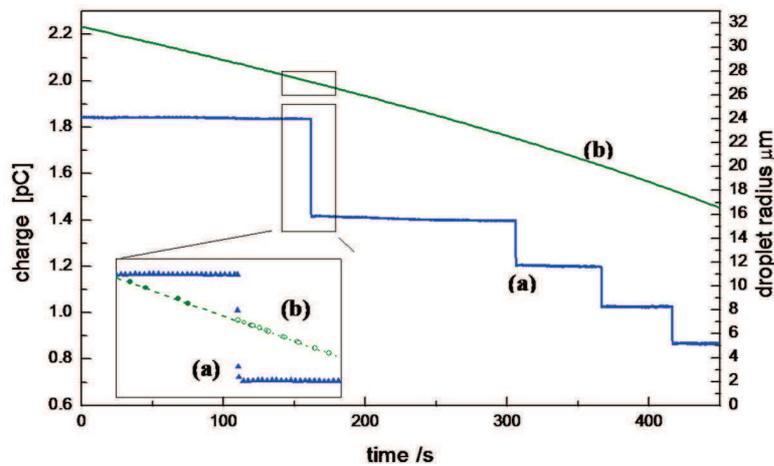


FIGURE 8.2: Évolution de la taille et de la charge d'une gouttelette en fonction du temps [92].

Au fur et à mesure que ce processus se poursuit, l'espèce chargée que l'on souhaite retrouver en phase gazeuse se retrouve dans des gouttes chaque fois moins importantes jusqu'à ce que tout ou partie du solvant autour soit retiré. Cette dernière étape peut se faire de deux façons :

- par suite d'évaporations et de fissions successives, exactement comme précédemment jusqu'à ce que la taille de la gouttelette ne permette plus de contenir qu'une seule molécule. Ce modèle proposé par Dole [94] est appelé CRM (en bas sur la figure 8.3) pour *Charge Residue Model*.
- par « émission » de la molécule en elle même, lorsque la goutte est suffisamment petite et fortement chargée, car l'évaporation de la molécule et de toutes ses charges devient alors favorable compte tenu de la répulsion coulombienne et des interactions molécule / solvant. Ce modèle appelé IEM (pour *Ion Evaporation Model*) propose qu'à partir d'une certaine taille de gouttelette (environ 10 nm), la force du champ à la surface du liquide devient suffisamment intense pour qu'un ion biomoléculaire à la surface puisse s'en échapper [95].

De ces deux procédés (voir figure 8.3), le deuxième (IEM) est celui qui conduit à la production d'espèces les plus fortement chargées. Néanmoins, quels que soient les mécanismes mis en jeu, il est évident que le gaz porteur joue un rôle prépondérant dans cette mise en phase gazeuse (lorsque la pression est suffisante - voir plus loin) puisqu'il intervient lors de l'évaporation de chaque gouttelette. En effet, si la température du gaz support est plus élevée, les chocs avec les gouttelettes seront plus énergétiques et l'évaporation sera plus importante. Ainsi, en contrôlant la température du gaz, il devient possible d'accélérer ou de ralentir l'évaporation de façon à produire plus ou moins d'espèces totalement ou partiellement désolvatées.

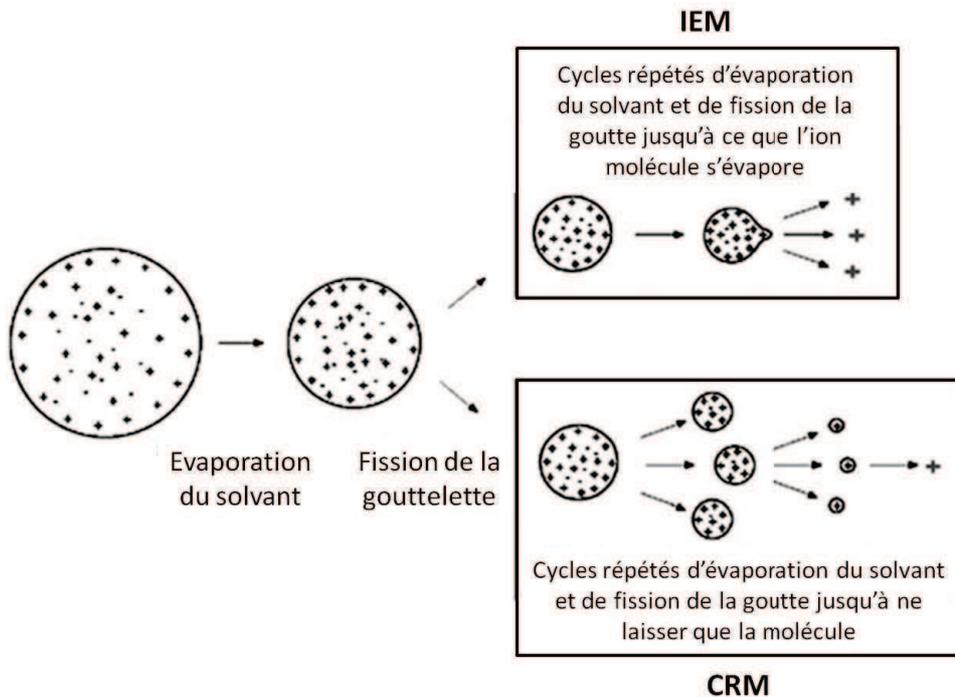


FIGURE 8.3: Fin du processus de mise en phase gazeuse de la molécule chargée.

C'est là que le capillaire chauffant intervient. Situé en entrée de l'enceinte, il permet de réguler la température du gaz² pour influencer sur l'évaporation. Cependant, la température n'est pas le seul paramètre à prendre en compte pour contrôler la solvation. En effet, il faut également considérer la distance parcourue par la gouttelette dans un environnement où les chocs avec le gaz porteur sont encore possibles, c'est à dire où la pression est suffisante³. Cette distance peut être modifiée en déplaçant l'aiguille par rapport à l'enceinte au moyen du support mobile auquel elle est fixée. Il est également possible d'ajouter d'autres pièces dans l'enceinte, là où la pression est encore élevée (voir partie 8.4 page 86 pour l'exemple d'un tel cas) ou encore de jouer sur la composition chimique de la solution initiale pour modifier l'hydratation de l'espèce. On pourra par exemple modifier les proportions d'eau par rapport au méthanol (qui sont habituellement de 50 : 50).

8.2 Détails de la ligne de faisceau de biomolécules

À la suite du capillaire chauffant se trouve un tube dont le potentiel peut être varié (+ ou -500V) au moyen d'un programme informatique contrôlant la majeure partie des tensions de la source. Cette pièce permet une meilleure focalisation du faisceau vers un premier écorceur, mettant fin au premier étage de la source (simplement pompé de façon primaire - $P \sim 1$ mbar).

La chambre suivante contient un octupôle qui assure le confinement radial des ions et donc leur guidage le long de ce deuxième étage de vide différentiel. Il débouche sur deux tubes faisant office de lentille et un nouvel écorceur limitant l'entrée de la troisième chambre. Les tensions appliquées sur ces trois éléments sont aussi pilotables à l'ordinateur. Le pompage est ici assuré par une pompe turbomoléculaire (V301 Varian) qui permet d'atteindre une pression de l'ordre de $3 \cdot 10^{-3}$ mbar lors du fonctionnement.

La troisième chambre comporte quatre tubes qui assurent le guidage électrostatique du faisceau vers la dernière chambre du dispositif, après le passage d'un dernier écorceur. Le pompage est là aussi assuré par une pompe turbomoléculaire V301. L'ensemble du dispositif décrit jusque là constitue la partie « source electrospray » (représenté sur la figure 8.4).

Le dernier étage est aussi celui de la sélection en masse. Jusque là l'ensemble des produits de la source (molécules isolées, complexées avec le solvant, fragments...) constitue le faisceau dans lequel il est nécessaire de sélectionner l'espèce que l'on souhaite étudier. Pour ce faire le faisceau est conduit au travers d'un quadripôle de sélection en masse dont le principe est décrit plus loin. Pour assurer le guidage du faisceau jusque là, deux jeux de déviateurs (composés chacun de quatre plaques) ainsi qu'une lentille sont placés devant lui. À la sortie, deux lentilles, deux nouveaux jeux de déviateurs et enfin un tube assurent le transfert des ions vers le détecteur. Le vide dans l'ensemble de la chambre est garanti par une pompe turbomoléculaire qui assure une pression de l'ordre de $1 \cdot 10^{-8}$ mbar en fonctionnement.

La détection se fait par deux galettes à microcanaux disposées en chevrons et dont la sortie est branchée sur un préamplificateur Ortec suivi d'un discriminateur à seuil (en mode fraction constante). Enfin, ce signal est envoyé à un compteur sur une carte

2. Variation entre la température ambiante et environ 250 ° C.

3. Pression de l'ordre de quelques dixièmes de millibar ou supérieure

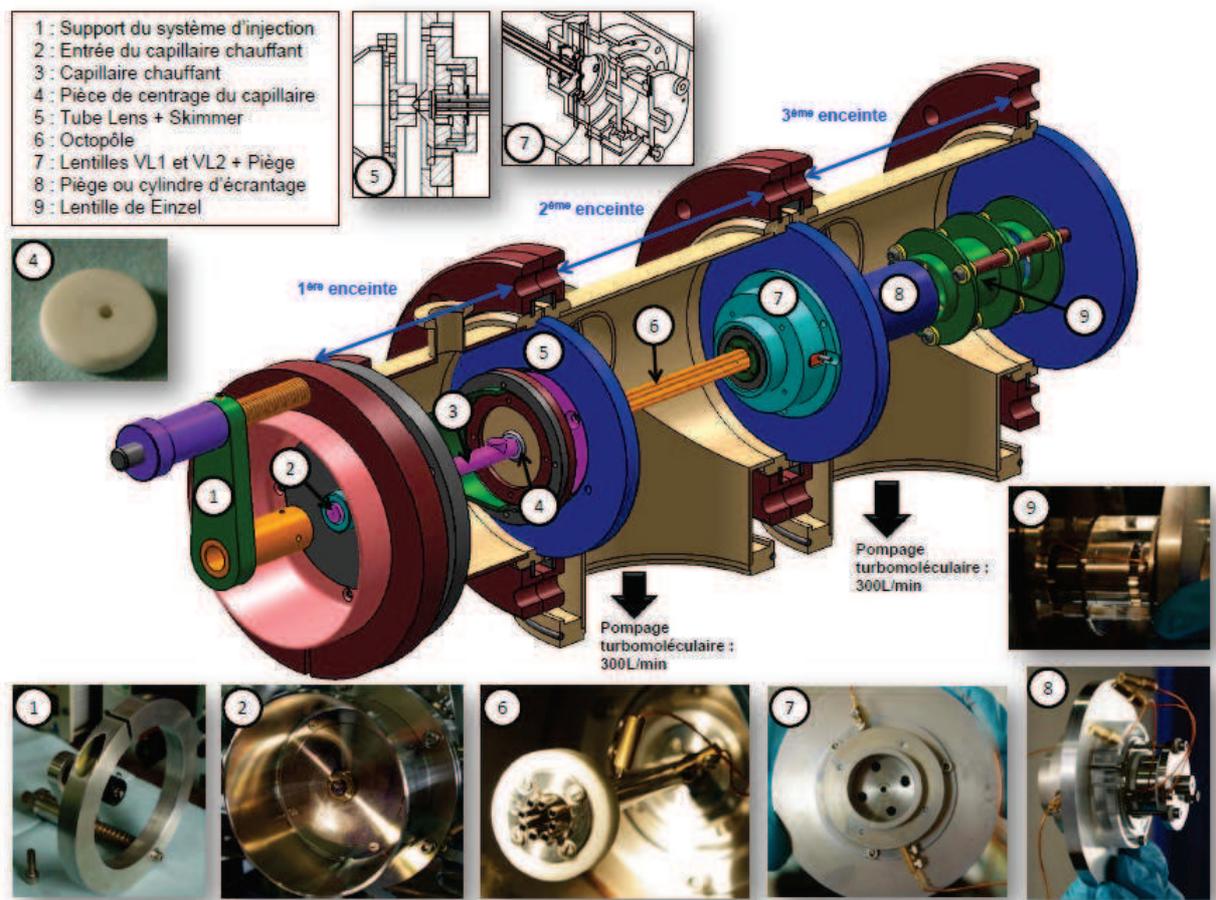


FIGURE 8.4: Schéma détaillé de la source électrospray développée à Caen.

PCI permettant à la fois l'enregistrement des données et leurs observations directes par l'utilisateur.

8.3 Le quadripôle de sélection en masse

8.3.1 Principe mathématique

Le quadripôle de sélection en masse se compose de quatre barres conductrices de sections hyperboliques (en réalité approximées par des barres cylindriques) disposées aux quatre coins d'un carré (en $+x$, $-x$ et $+y$, $-y$) et s'allongeant dans le sens des z croissants. Un potentiel de la forme :

$$U + V \cos(\omega t) \quad \text{et} \quad -U - V \cos(\omega t) \quad (8.2)$$

est appliqué sur deux barres se faisant face et sur les deux autres respectivement (avec U la composante continue, V l'amplitude du signal radiofréquence et ω la pulsation de ce dernier). Sous l'effet de ce potentiel, une particule chargée sera tantôt focalisée suivant l'axe x et défocalisée suivant y puis inversement. La description du mouvement d'une

particule massique chargée à l'intérieur du champ induit par les barres est alors donnée par la résolution des équations de Mathieu :

$$\frac{d^2u}{d\xi^2} + [a - 2q\cos(\xi)]y = 0 \quad (8.3)$$

avec $u = x$ ou y , et sachant que z est ici la charge de la particule et que r_0 est le rayon intérieur du quadripôle) :

$$a = a_x = -a_y = \frac{4zU}{mr_0^2\omega^2} \quad (8.4)$$

$$q = q_x = -q_y = \frac{2zV}{mr_0^2\omega^2} \quad (8.5)$$

$$\xi = \frac{\omega t}{2} \quad (8.6)$$

Pour comprendre la façon dont s'effectue la sélection en masse dans le quadripôle, il convient alors d'étudier les propriétés des solutions de l'équation 8.3 (équation de Mathieu dans sa forme canonique). Ces solutions sont de la forme :

$$u\xi = \alpha e^{\mu\xi} \sum_{n=-\infty}^{+\infty} C_{2n} e^{2in\xi} + \beta e^{-\mu\xi} \sum_{n=-\infty}^{+\infty} C_{2n} e^{-2in\xi} \quad (8.7)$$

où α et β sont des constantes d'intégration qui dépendent des conditions initiales et que C_{2n} et μ dépendent des valeurs des paramètres a et q uniquement (donc des valeurs de U et de V car $a/q = 2U/V$). Cette première propriété indique donc que la nature du mouvement de l'ion dépend uniquement du rapport a/q (donc du rapport masse sur charge à U , V , r_0 et ω fixés). Ce mouvement peut alors être séparé en deux catégories : stable et instable [96] déterminées par la nature de la constante μ . Les solutions « stables » correspondent au cas où μ demeure fini lorsque $\xi \rightarrow \infty$. La particule traversera alors le quadripôle pourvu que la valeur maximale de l'amplitude μ_{max} soit inférieure à r_0 . Le second groupe de solutions est celui pour lequel μ augmente sans limite lorsque $\xi \rightarrow \infty$. Ce sont les solutions dites « instables ». La représentation graphique des solutions stables (pour une particule donnée) est présentée sur le diagramme de la figure 8.5.

8.3.2 Résolution, transmission et sélection en masse du spectromètre

Par l'application d'un champ quadripolaire, il devient possible de sélectionner un rapport masse sur charge en variant par exemple les couples de tensions U et V . Il existe plusieurs possibilités mais l'une d'elles revient à faire varier U et V en maintenant leur rapport constant (c'est-à-dire a/q constant) et donc la résolution constante, telle que :

$$\Delta R = \frac{m}{\Delta m} = cst \quad (8.8)$$

Le pouvoir de résolution maximal d'un analyseur quadripolaire peut être estimé à l'aide de la relation suivante :

$$\Delta R_{max} = \left(\frac{m}{\Delta m}\right)_{max} = \frac{L^2\omega^2 m}{8\pi K E_z} \quad (8.9)$$

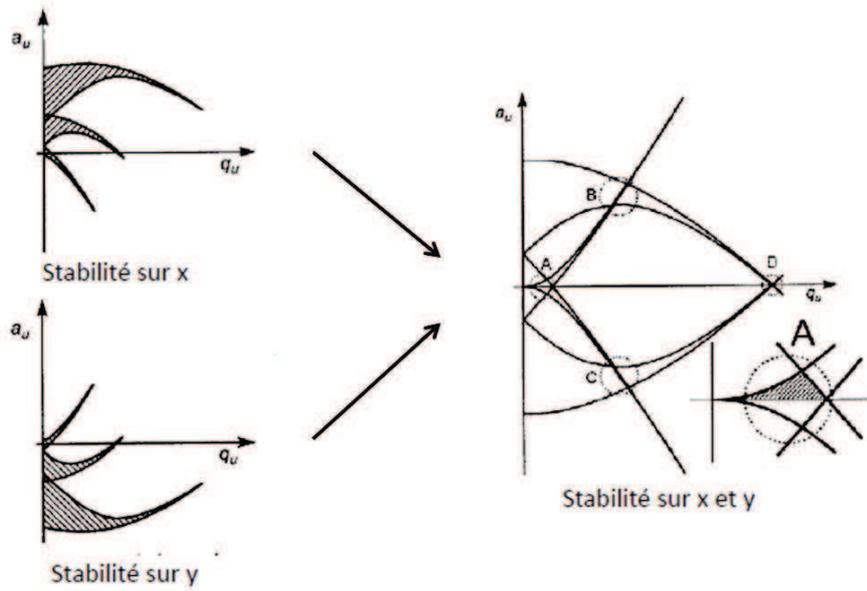


FIGURE 8.5: Diagrammes de stabilité des trajectoires d'un ion évoluant dans un champ quadripolaire. En haut à gauche, diagramme de stabilité suivant l'axe x, en bas à gauche suivant y, à droite, superposition des deux diagrammes précédents. Les régions nommées A, B, C et D sont les quatre régions de stabilité. La région A est celle généralement utilisée.

avec L la longueur des électrodes, K une constante déterminée expérimentalement, E_z l'énergie cinétique initiale des ions selon z . Typiquement, dans le spectromètre utilisé $L = 23$ cm et $f = 0,88$ MHz. Le rapport masse sur charge maximal est de 10 000 u.m.a. selon le constructeur. Toujours dans le cas particulier du quadripôle utilisé durant cette thèse (fourni par la société Extrel) le pouvoir de résolution $m/\Delta m$ est le suivant :

$$\Delta R = \frac{m}{\Delta m} = \frac{0,126}{0,16784 - \frac{U}{V}} \quad (8.10)$$

Enfin, si les équations 8.8 à 8.10 nous renseignent sur la résolution du spectromètre de masse, elles nous informent également sur sa transmission par la relation (avec D le diamètre du faisceau d'ions entrants) :

$$T = \left(\frac{r_0}{D}\right)^2 \frac{\Delta m}{m} \quad (8.11)$$

De façon à ce que la sélection en masse soit efficace, il faut que les ions ayant un rapport masse sur charge incorrect passent suffisamment de temps dans le champ quadripolaire pour que leur trajectoire quitte celle du faisceau sélectionné. Il existe donc une vitesse limite et donc une énergie cinétique le long de l'axe au delà desquels la sélection n'est pas efficace. Elle est donnée (en eV) par la relation :

$$E_{l,max} = \left(\frac{f^2 L^2}{25}\right)^2 \frac{\Delta m}{m} m \quad (8.12)$$

où f est la fréquence en MHz et L est en cm.

Enfin, il est possible qu'un ion entrant dans le quadripôle trop loin de l'axe voit

sa trajectoire sortir alors même que son rapport masse sur charge ainsi que sa vitesse auraient dû lui permettre de le faire. Ainsi pour un ion injecté parallèlement à l'axe, la distance d_{max} pour laquelle il ne sera pas éjecté est donnée par :

$$d_{max} < \frac{f1}{2} m f^2 r_0^2 \left(\frac{\Delta m}{m} \right)^{1/2} \quad (8.13)$$

De la même façon, on définit également une énergie transverse maximale, $E_{t,max}$ (en eV) :

$$E_{t,max} \approx \frac{f1}{2} m f^2 r_0^2 \left(\frac{\Delta m}{m} \right) \quad (8.14)$$

8.3.3 Forme du signal de sortie

La figure 8.6 représente le diagramme de stabilité (zone A de la figure 8.5) de trois ions moléculaires (de masses respectives m_1 , m_2 et m_3) en fonction des paramètres U et V pour une pulsation ω donnée, ainsi que le signal correspondant (code couleur et ordre respecté).

Si l'on se déplace suivant la droite (α) la résolution du spectromètre est à son maximum, mais alors la transmission est au plus bas (comme l'indiquent les équations 8.8 à 8.11). En terme de contrôle des paramètres pertinents (ici U et V) la moindre variation autour de la valeur juste fera sortir la particule d'une trajectoire stable. L'amplitude de ces oscillations augmenterait exponentiellement jusqu'à toucher l'une des barres ou quitter les limites du piège. Les droites (β) et (γ) assurent quant à elles le passage et la sélection des particules avec toutefois des valeurs de Δm allant croissant, et donc des transmissions augmentant. Il n'y a pas encore de recouvrement dans le diagramme des masses ce qui assure encore la possibilité de les différencier. Ce n'est plus le cas lorsque les couples U et V décrivent la droite (δ) car il existe alors un recouvrement partiel et les pics correspondants à chacune des masses ne peuvent plus être correctement distingués. Cela revient à dire que la sélection n'est plus suffisante car une particule de masse m_2 pourra par exemple traverser le piège alors que la rampe sera sur la masse m_1 . Remarquons que si la tension continue est nulle (*RF only mode*) le quadripôle se comporte comme un guide d'ions et laisse passer l'ensemble des masses. Notons enfin que, compte tenu de la forme du diagramme de stabilité, les pics sont par essence asymétriques.

Un autre mode, beaucoup moins utilisé, permet de se déplacer à Δm constant plutôt qu'à ΔR constant.

8.3.4 Spécificités techniques du quadripôle

Le quadripôle utilisé sur la source electrospray ainsi que l'alimentation radiofréquence ont été achetés chez Extrel. Pour cette raison, il ne nous est pas possible de contrôler chaque paramètre directement (tel que les valeurs des potentiels U et V). Il est nécessaire de passer par une interface où seules trois données sont accessibles et modifiables :

- la sélection du rapport masse sur charge que l'on souhaite laisser passer. Il est possible de le faire varier par pas de 0,306 au minimum, entre 50 et 10000 unités de masse.
- Une valeur arbitraire de Δm , variant entre -5 V et $+5$ V à la commande, la valeur basse correspondant à un Δm maximum, la valeur haute à un Δm minimum.

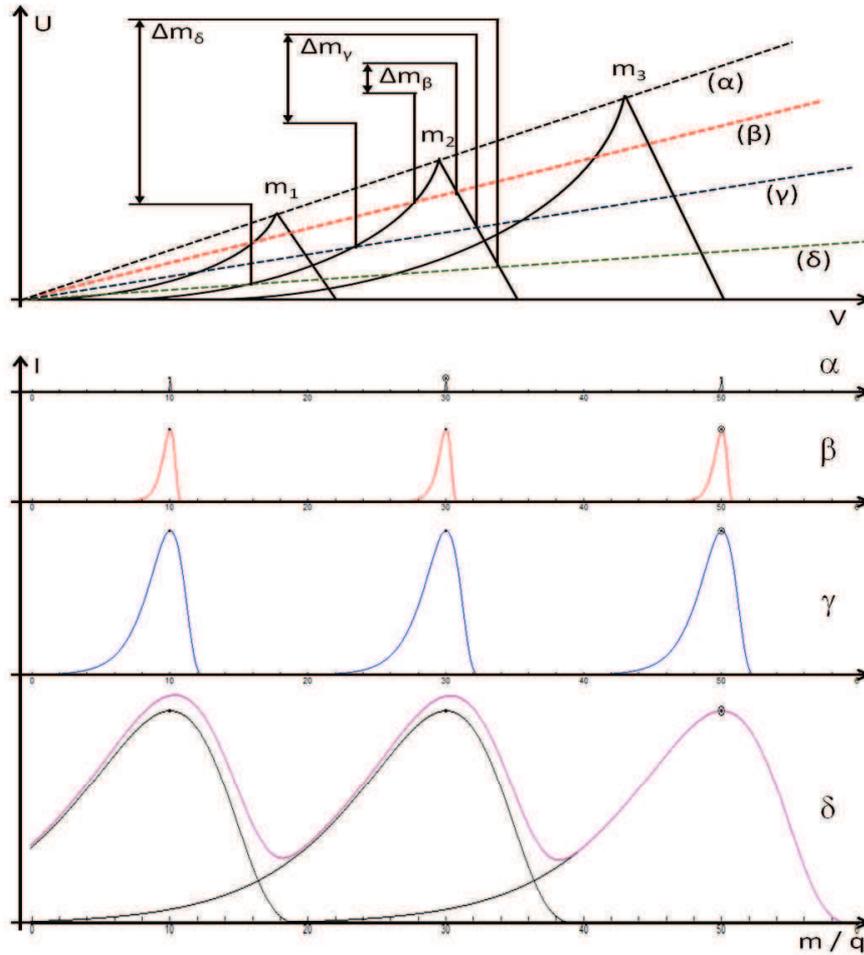


FIGURE 8.6: Diagramme de stabilité donné pour trois masses différentes et variation de Δm suivant le coefficient de la droite $U/V = cst$ (haut) et signaux correspondants (bas).

La modification de ce paramètre se ressent particulièrement aux relativement petites masses (< 1000 u.m.a.) et prend habituellement 0 V pour valeur dans nos expériences.

- Comme pour Δm , il est possible de modifier une valeur arbitraire de ΔR , variant entre -5 V et $+5$ V à la commande. La valeur basse correspond à un ΔR minimum, la valeur haute à un ΔR maximum. La modification de ce paramètre se ressent peu aux relativement petites masses (< 1000 u.m.a) et prend habituellement -4 V pour valeur.

À ces trois paramètres viennent s'en ajouter deux autres essentiels à la bonne conduite du faisceau. Les pré/post filtres d'une part, constitués de quatre barres dans le prolongement du quadripôle sur lesquelles est appliquée une tension continue. Ils permettent une meilleure transmission du faisceau vers et à la sortie du spectromètre. Ils limitent également la dispersion angulaire qui est un paramètre critique de la sélection (revoir les équations 8.13 et 8.14).

Le « pôle bias » d'autre part joue lui aussi un rôle prépondérant sur la conduite et la sélection du faisceau, et ce pour deux raisons. D'abord la sélection n'est efficace que

si les ions ont une énergie relative entre 2 et 12 eV à l'intérieur du spectromètre. La modification du « pôle bias », c'est à dire l'ajout d'une tension continue de même signe sur l'ensemble des barres du quadripôle permet donc de ralentir ou d'accélérer les ions en conséquence. Ensuite, pour que la transmission soit constante au cours d'une rampe de masse, il est nécessaire de faire varier le « pôle bias » de façon linéaire afin de maintenir la vitesse des ions, et donc leur temps de parcours dans le spectromètre, constants. En effet, si l'ion est plus lent, il fera un plus grand nombre d'oscillations dans le quadripôle et sa trajectoire aura donc plus longtemps l'occasion de diverger. De façon à permettre cette variation synchrone de la valeur du rapport masse sur charge sélectionné et de la valeur du « pôle bias », il m'a fallu repenser complètement une partie du programme de contrôle de la source electrospray.

8.4 Améliorations et perspectives

Si cette source électrospray permet la mise en phase gazeuse d'espèces fragiles, l'intensité d'un tel faisceau n'en reste pas moins réduite. C'est pourtant un paramètre critique, surtout lorsqu'il est question d'interaction avec un autre faisceau peu dense, comme c'est le cas des ions multichargés. La formule suivante permet de déterminer une approximation du nombre de collisions N entre deux faisceaux :

$$N = \frac{\sigma \cdot I_1 \cdot I_2}{\nu \cdot \mu \cdot e^2} \quad (8.15)$$

avec σ la section efficace ($\approx 10^{-15}$ cm² ici) de collision entre le faisceau projectile d'intensité I_1 et le faisceau cible d'intensité I_2 , μ le facteur de forme (= 5 mm) et ν est le facteur de vitesse tels que :

$$\nu = \frac{v_1 \cdot v_2 \cdot \sin(\theta)}{v_r} \quad (8.16)$$

avec v_1 et v_2 la vitesse du projectile et de la cible, θ l'angle entre les deux faisceaux (= 90°) et v_r la vitesse relative du projectile par rapport à la cible donnée par :

$$v_r = \sqrt{v_1^2 \cdot v_2^2 - 2v_1 \cdot v_2 \cdot \cos(\theta)} \quad (8.17)$$

Dans le cas d'une collision d'ions O^{5+} à 75 keV ($I_1 = 5$ nA, valeur réaliste du faisceau pulsé) sur un faisceau d'adénine protonée ($I_2 = 1$ pA), avec $\sigma \approx 10^{-15}$ cm² et $\theta = 90^\circ$, on a alors $N \approx 1 \cdot 10^{-3}$ collision par seconde. En détectant tous les événements, il faudrait alors attendre en moyenne 16 minutes et 40 secondes pour enregistrer un signal, en supposant (ce qui n'est pas le cas) que le bruit le permette. Pour pallier ce problème, c'est à dire augmenter la densité de cible à l'endroit de la collision, plusieurs pistes sont envisageables du point de vue du faisceau de la source electrospray mais elles peuvent se résumer à 3 catégories :

- En améliorant la production de la source en elle même par un travail sur les conditions de formation en phase gazeuse de l'espèce (ou du complexe) qui nous intéresse.
- En accumulant les ions pour former des paquets plus denses où l'interaction sera plus probable.
- En améliorant la transmission du faisceau au travers du dispositif entre la production et l'interaction au moyen d'outils appropriés et adaptés à l'étude en cours.

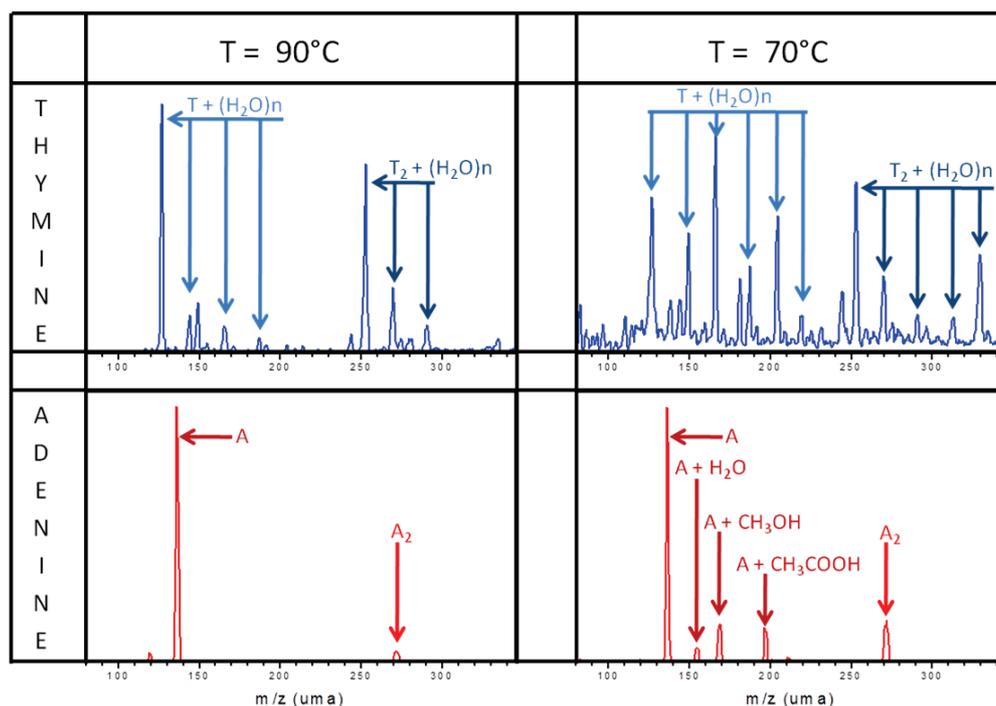


FIGURE 8.7: Variation des spectres de masse de thymine (haut) et d'Adénine (bas) protonées en fonction de la température du capillaire chauffant (gauche = 90 ° C, droite = 70 ° C)

8.4.1 Cas 1 : production

Cela passe par une optimisation des paramètres physiques tels que la température du gaz porteur (voir figure 8.7), la tension appliquée entre l'aiguille et l'enceinte, ou moins directement, la pression et l'hygrométrie. Il est également possible de modifier les propriétés chimiques de la solution d'origine comme la concentration de l'espèce [97], la quantité et le type de solvant (jouant un rôle essentiel lors de l'évaporation), l'acidité (qui influence la protonation, ou la déprotonation ainsi que la mobilité de charge) mais il est également possible d'adjoindre différents autres additifs.

De nombreux tests ont été effectués dans ce but sur un grand nombre de molécules (glycine, valine, thréonine, aspirine, bovine serum albumine - ou BSA -, tryptophane, chlorhexidine, ...). La figure 8.7 présente par exemple les spectres obtenus pour l'adénine protonée (notée A) et la thymine protonée (notée T) avec deux valeurs de température du capillaire chauffant. On y voit que plus cette dernière est élevée et moins les molécules de solvant restent accrochées sur la molécule d'intérêt. Ce comportement est logique puisque le gaz environnant dans la zone de mise en phase gazeuse est alors plus chaud et les collisions entre la gouttelette et ce dernier sont donc plus violentes, conduisant à une désolvatation plus efficace.

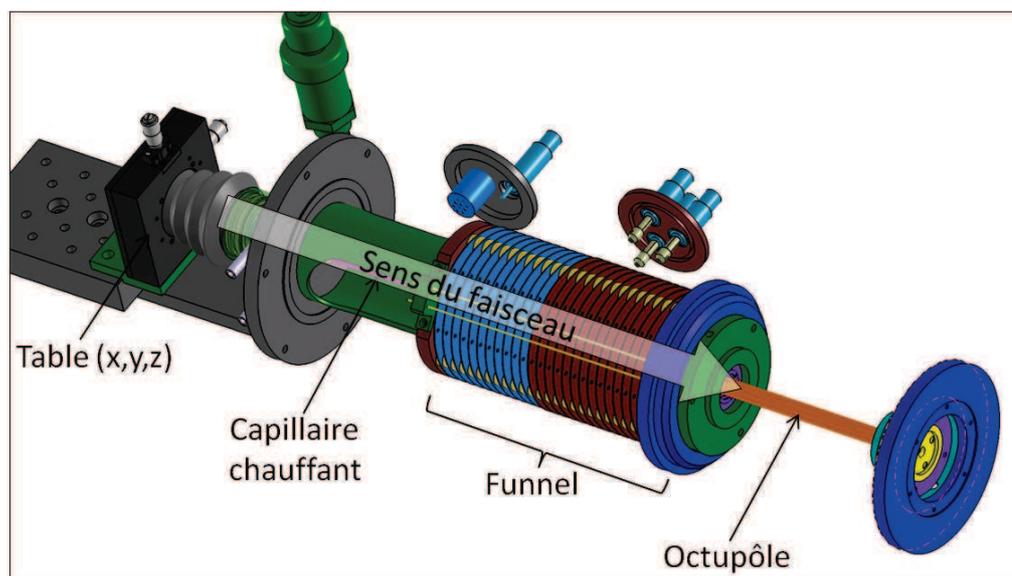


FIGURE 8.8: Position du funnel dans le dispositif de la source electrospray.

8.4.2 Cas 2 : piégeage

Une façon d'augmenter la densité de molécules localement consiste à les accumuler dans un piège. Pour ce faire, un piège de Paul tridimensionnel est en cours de développement et devrait permettre de retenir des ions ayant une masse entre 10 et 3000 u.m.a. Le principe est identique à celui du quadripôle mais la géométrie permet cette fois le piégeage selon les axes x , y et z . Son fonctionnement implique l'injection d'un gaz tampon lors du remplissage pour permettre d'évacuer l'excès d'énergie des ions incidents. Ce gaz doit ensuite être pompé avant que l'extraction du paquet d'ions vers la suite du dispositif ne soit possible.

8.4.3 Cas 3 : guidage

Il peut simplement s'agir de remplacer certains éléments d'optique ionique par d'autres, plus performants⁴ ou alors de mieux récupérer les ions produits par la source en ajoutant un « funnel » (entonnoir) [98].

Ce dernier permet la focalisation d'un faisceau d'ions dans une enceinte à haute pression en utilisant un champ électrique radiofréquence couplé à un gradient continu qui pousse les particules vers la suite du dispositif. La figure 8.8 permet de situer sa position dans le dispositif (entre le capillaire chauffant et l'octupôle).

Une partie de ma thèse a d'ailleurs été consacrée à l'élaboration, la construction et la mise en place d'un tel outil. Celui-ci se compose de 26 électrodes circulaires espacées de 5 millimètres, percées et centrées sur l'axe du dispositif et donc du faisceau. Les 11 premières ont un diamètre de 38 mm alors que celui des suivantes décroît linéairement jusqu'à la valeur de 8 mm à la fin. Un potentiel continu est appliqué sur la première

4. C'est le cas de notre ensemble Tube + Einzel situé dans la chambre qui précède celle du quadripôle, et qui pourrait être avantageusement remplacé par un octupôle

plaque et se trouve distribué sur les suivantes au travers d'un pont résistif jusqu'à l'antépénultième plaque. La tension continue aux bornes de celle-ci pouvant là aussi être fixée, il devient possible de choisir le gradient de tension appliquée. Le potentiel des deux dernières plaques peut lui aussi être ajusté indépendamment de façon à former une pseudo-lentille avec l'écorceur qui termine l'enceinte. Un potentiel radiofréquence est alors appliqué sur chacune des plaques paires et impaires avec des phases opposées au travers de condensateurs qui assurent la séparation entre le circuit RF et le circuit continu (voir figure 8.9).

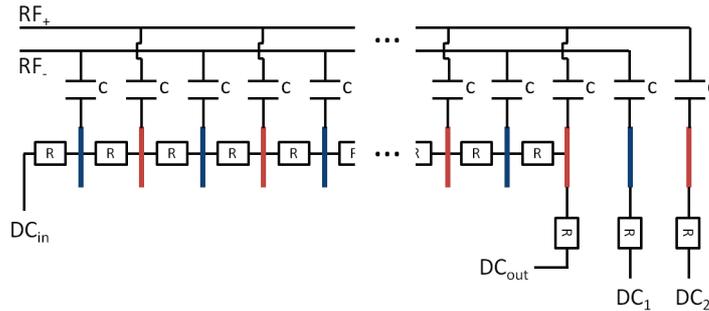


FIGURE 8.9: Schéma de principe du montage électronique du funnel. Les condensateurs sont notés C, les résistances R et les électrodes sont représentées par des traits bleus ou rouges suivant leur polarité.

Bien que ce funnel constitue une copie quasi conforme d'un dispositif équivalent chez nos collaborateurs suédois, il a fallu le simuler avant de le construire pour s'assurer a priori de sa capacité de couplage avec le dispositif déjà en place et pour tenter de prévoir les premiers jeux de paramètres pertinents pour son fonctionnement, compte tenu des systèmes que nous souhaitons étudier. Pour ce faire, ont été réalisées des simulations SIMION de celui-ci en utilisant un modèle de sphères dures censé rendre compte des collisions avec le gaz résiduel, non négligeable dans cette partie du dispositif. Ce modèle, après adaptation à notre étude, prend en compte différents paramètres tels que la pression, la section efficace de collision gaz / système d'intérêt (approximée ici à la section efficace géométrique), la température du gaz, sa vitesse d'entraînement et la masse des atomes qui le composent. Tout ceci permet de calculer une valeur théorique du libre parcours moyen du système d'intérêt dans la chambre et d'en déduire par suite de calcul de probabilité le comportement d'une particule qui se déplace dans un champ électrique oscillant, le long d'un gradient continu en interagissant avec le gaz tampon qui vient en changer la vitesse et la direction. La figure 8.10 montre ici un exemple de simulation obtenu après le lancer de 1000 ions de rapport masse sur charge égal à 100 à une pression de 1 millibar dans l'air à température ambiante, alors que le gradient continu est de l'ordre de la centaine de volts et que l'amplitude du signal radiofréquence est de 100 volts crête à crête. L'ordre de grandeur du temps de calcul était la journée.

Il semble que le comportement du funnel soit celui attendu puisque la transmission des ions depuis la sortie du capillaire chauffant avoisine les 95%. Néanmoins, il est nécessaire de garder à l'esprit que cette simulation ne reflète pas parfaitement la réalité. Ainsi, le

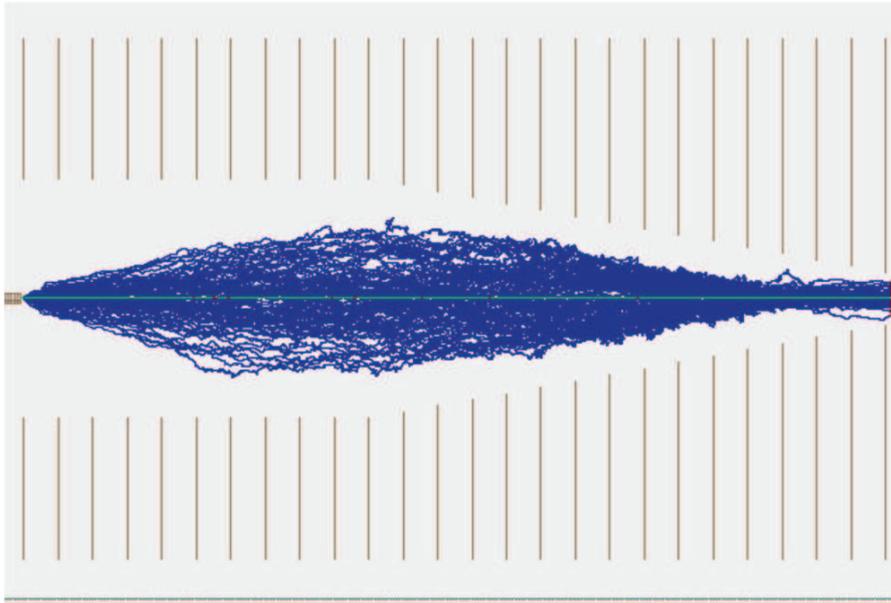


FIGURE 8.10: Simulation du transport des ions à travers le funnel.

modèle actuel ne prend pas convenablement en compte les variations de la pression dans la chambre et particulièrement aux bornes de celle-ci (sortie du capillaire et écorceur) de même que les fluctuations de la vitesse du gaz (norme et direction) qui en découlent. Des tests expérimentaux actuellement en cours doivent permettre de quantifier plus clairement l'apport de cette nouvelle partie du dispositif.

Résultats

9 Fragmentation / Ionisation

Les bases azotées de la molécule d'ADN (Acide Désoxyribo-Nucléique) de même que les acides aminés sont des constituants essentiels d'une cellule vivante. Les premières interviennent lors de la transmission, de la transcription et du codage de l'information génétique. Les seconds sont les briques élémentaires à partir desquelles se forment peptides et protéines.

L'étude de la fragmentation ou de l'ionisation de ces systèmes a constitué un aspect majeur de la recherche biophysique ces dernières années. Au delà d'un enjeu fondamental (compréhension de l'interaction entre systèmes complexes et rayonnement ionisant), cette recherche apporte de nouvelles données pour comprendre les effets d'une particule ionisante sur un organisme vivant [25].

Toutefois les recherches *in vivo* et *in vitro* interdisent la spectrométrie de masse qui constitue pourtant un outil efficace pour l'étude des systèmes à l'échelle moléculaire, en apportant des informations précises sur eux (masse, charge, énergie et donc processus). D'un autre côté, les études en phase gazeuse ne permettent a priori pas la prise en compte de l'effet du milieu cellulaire sur l'interaction. Il est donc difficile d'étudier finement les phénomènes alors mis en jeu.

Une première étape consiste donc à introduire un environnement proche dans les expériences en phase gazeuse. Celui-ci pourra influencer sur l'interaction et en modifier les effets. L'environnement le plus simple pour une molécule est ici un agrégat d'elle-même. Un environnement plus complexe mais aussi plus approprié se rapprocherait du milieu cellulaire et contiendrait donc certainement de l'eau.

À cet intérêt biophysique s'ajoute l'intérêt astrophysique que renferment ces molécules. Certaines, présentes dans le milieu interstellaire, renvoient à l'hypothèse d'une origine exogène de la vie et sont associées aux éléments prébiotiques [2]. Dans ce cas, l'étude de l'interaction de ces systèmes avec des rayonnements ionisants présents dans l'espace (tels que les ions H^+ et He^{2+}) devient là aussi un sujet d'étude intéressant.

Ce chapitre présente l'étude des spectres de masse des produits cationiques issus de la collision entre des ions multichargés et des systèmes d'intérêt biologique. Nous avons considéré le cas de deux acides aminés (glycine et valine) ainsi que celui d'une base azotée (adénine). Dans chaque cas, le but est de déterminer le rôle de l'environnement proche sur l'interaction en comparant les résultats obtenus pour les molécules isolées, les agrégats et le cas échéant les agrégats hydratés.

9.1 Acides Aminés : glycine et valine

Les acides aminés sont un ensemble de molécules possédant (au moins) deux groupes fonctionnels : un groupe carboxyle ($-COOH$) et un groupe amine ($-NH_2$). Parmi ceux-ci, les acides α -aminés constituent les éléments de base des protéines. Le groupement

amine vient alors s'attacher sur le carbone α de la molécule (le carbone α est celui qui s'attache directement au groupement carboxyle). Ils peuvent être représentés de façon générique, comme le montre la figure 9.1 (gauche) et se trouvent distingués par leur chaîne latérale notée R , en violet sur la figure. Il en existe 22 différents dans le corps humain et la suite de ce chapitre se propose d'en étudier deux, la glycine (au milieu) et la valine (à droite). Ce travail s'appuiera pour cela particulièrement sur une étude publiée récemment [99].

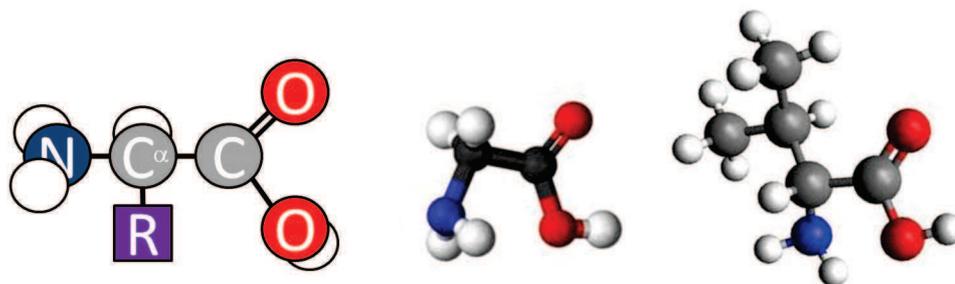


FIGURE 9.1: Structure des acides α -aminés (gauche), de la glycine (milieu) et de la valine (droite). L'azote est en bleu, l'oxygène en rouge, le carbone en gris et l'hydrogène en blanc.

La glycine est l'acide aminé le plus simple que l'on trouve dans un être vivant. Sa chaîne latérale se limite à un unique atome d'hydrogène et sa formule semi-développée est donc $NH_2 - CH_2 - COOH$ ($m = 75$ u.m.a). Son observation dans le milieu interstellaire reste controversée [100, 101] mais sa présence dans les météorites à été confirmée [102]. Il est donc naturel qu'elle constitue un candidat de choix dans l'étude de l'irradiation par des ions multichargés. Les résultats présentés plus loin ont été obtenus en utilisant de la glycine deutérée sur le carbone α .

La valine, quant à elle, constitue un pas supplémentaire vers un système plus complexe. Sa chaîne latérale est constituée d'un carbone sur lequel viennent s'attacher un atome d'hydrogène et deux groupements méthyle (soit : $-CH(CH_3)_2$).

9.1.1 Acides aminés isolés

Les premiers résultats présentés ci-après ont été obtenus en utilisant le four situé de l'autre côté de la zone de collision par rapport à la source d'agrégation gazeuse (voir partie 7.2.2 page 60). Ce dispositif permet la production en phase gazeuse de molécules d'intérêt biologique ainsi que l'étude de leur interaction avec des ions multichargés.

Glycine

La figure 9.2 présente le spectre de masse obtenu après l'interaction de la molécule de glycine deutérée sur le carbone α avec un faisceau d'ions xénon (chargés 20 fois) à 300 keV d'énergie. Si la molécule simplement ionisée (notée Gly^+ à $m/q = 77$) est présente, le spectre reste dominé par les signaux dus à la fragmentation.

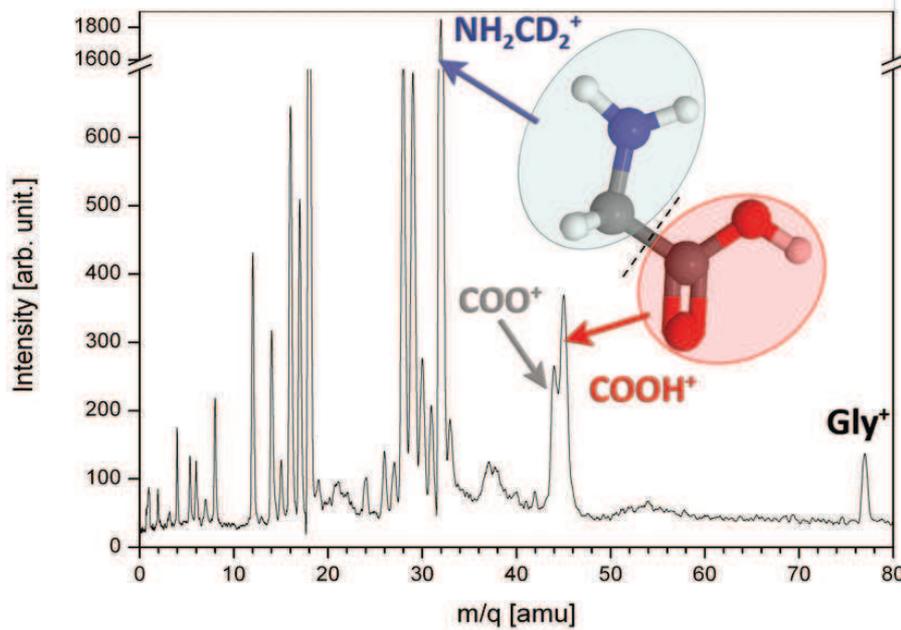


FIGURE 9.2: Spectre de masse des produits chargés obtenu après interaction de la molécule de glycine isolée avec un faisceau de Xe^{20+} à 300 keV.

On distingue notamment trois zones sur le spectre à m/q inférieur à 20, m/q appartenant à l'intervalle $[20; 32]$ et m/q supérieur à 32 qui seront détaillées plus loin. Quelques pics peuvent d'ores et déjà être expliqués :

- Dans la première zone, le pic à $m/q = 18$ est dû à la présence d'eau dans le gaz résiduel. Sa décomposition en OH^+ et O^+ contribue aux pics à $m/q = 17$ et 16. De la même façon, le gaz résiduel ionisé (c'est à dire de l'air) contribue aussi au pic à $m/q = 16$ (O) et 14 (N) ainsi qu'aux sous-multiples de ces valeurs pour des états de charge plus élevés¹.
- Dans la seconde zone, le pic principal de l'ensemble du spectre correspond au fragment NH_2CD_2^+ formé par la cassure de la liaison $\text{C}-\text{C}_\alpha$ en bleu sur la figure 9.2. On peut remarquer également que le pic à $m/q = 28$ se trouve pollué par la contribution du diazote du gaz résiduel.
- Dans la dernière zone, on peut distinguer le cas de deux pics à $m/q = 44$ et 45 correspondant respectivement aux fragments COO^+ et COOH^+ résultant là aussi de la cassure de la liaison $\text{C}-\text{C}_\alpha$. Leur formation sera détaillée plus loin.
- Aucun pic correspondant à la glycine doublement chargée n'est observé ($m/q = 38, 5$).

Dans le cas de l'ionisation simple de la molécule, la rupture de la liaison $\text{C}-\text{C}_\alpha$ peut donc donner lieu à la formation de deux fragments cationiques de rapport $m/q = 32$ ou 45, correspondant aux deux parties de la molécule de glycine : le cation NH_2CD_2^+ ou le cation COOH^+ . Cependant l'intensité de ce dernier est trois fois inférieure à celle du premier. Ce résultat est corroboré par les études théoriques menées par Simon et ses

1. L'ensemble de ces contributions peut être estimé (et donc soustrait lors du calcul des intensités) à partir des intensités relatives de ces différents pics en l'absence de molécule (spectre de gaz résiduel) dès lors qu'un de ces pics (au moins) ne correspond pas à un fragment de la molécule (comme c'est le cas de l'eau ici).

collaborateurs [103]. Ils ont montré que la voie de fragmentation la plus probable de la glycine cationique (simplement chargée) débouchait sur la formation de l'ion $NH_2CH_2^+$ (correspondant au $NH_2CD_2^+$ de notre molécule deutérée). La charge du cation et la densité de spin de l'électron apparié se situent en effet sur le groupement amine. Simon et ses collaborateurs ont également expliqué que si la charge ne restait pas sur le fragment contenant le carbone α la formation de l'ion $COOH^+$ devait être la plus probable des autres possibilités.

La table 9.1 liste l'intensité des principaux pics (normalisée à celle du pic le plus intense) apparaissant sur notre spectre de masse et compare leur intensité à celles obtenues avec d'autres projectiles. Il s'avère que l'intensité du pic de glycine intacte est plus importante dans notre cas que dans celui des photons [104, 105], des électrons [106] ou de l'ion He^{2+} [107].

La comparaison de nos résultats avec d'autres obtenus précédemment montre que l'intensité relative du pic de $COOH^+$ est de 4 à 10 fois supérieure à celles observées pour l'ion He^{2+} et pour les électrons, respectivement (voir tableau 9.1). Ce comportement peut indiquer que le fragment $COOH^+$ est dû à la multi-ionisation de la cible., car la probabilité de retirer plusieurs électrons à la cible est bien plus grande dans le cas d'un projectile fortement chargé, comme c'est le cas du Xe^{20+} . Cela peut aboutir à la localisation d'une seconde charge sur le groupement carboxyle de la molécule qui pourra alors être détectée. Notons que l'énergie cinétique du fragment $COOH^+$ (0,73 eV) déterminée à partir de la largeur du pic [108] est plus importante que celle du fragment $NH_2CD_2^+$ (0,35 eV). La largeur du pic de ce dernier est principalement due à l'émission d'une molécule $COOH$ neutre comme expliqué plus avant. Ces observations tendent à confirmer l'hypothèse selon laquelle arracher plusieurs électrons de la cible favoriserait la formation du fragment $COOH^+$, suivie par la répulsion coulombienne des deux fragments formés.

Enfin, outre ces deux pics (à $m/q = 32$ et 45), c'est la multifragmentation de la glycine qui semble aboutir aux autres pics présents sur le spectre de masse. Ainsi, la fragmentation de l'ion $NH_2CD_2^+$ conduit aux différents ions de rapport masse sur charge compris entre 20 et 32. Pour les plus faibles masses, on observe le signal correspondant à l'atomi- sation de la molécule ainsi que le multichargement de ces atomes².

Fragment	Xe^{20+}	He^{2+}	Électrons	Photons
$(Gly - COOH)^+$	100	100	100	100
$COOH^+$	29,2	7,9	2,7	-
Gly^+	5,2	3,8	3,6	3

TABLE 9.1: Intensités relatives des principales espèces cationiques obtenues après la collision entre la glycine et le Xe^{20+} à 300 keV, He^{2+} à 20 keV, des électrons à 70 eV et des photons à 10 eV.

Valine

Un spectre de masse typique des produits de la collision entre des molécules isolées de valine et un faisceau d'ions Xe^{20+} est représenté sur la figure 9.3. Contrairement au cas de la glycine (figure 9.2), aucun pic caractéristique de la molécule intacte simplement ionisée n'apparaît sur le spectre. Ainsi, même si la molécule est plus grande, le cation

2. Notons que le pic correspondant au rapport $m/q = 18$ est principalement dû à l'eau qui contribue grandement au gaz résiduel dans la zone de collision.

semble incapable de s'accommoder de l'énergie transférée lors de la collision (ainsi qu'à l'excès de charge) et ne survit pas à cette dernière. Des résultats similaires ont été observés par d'autres auteurs [105–107]. L'intensité relative des principaux fragments chargés (normalisés au plus intense) est donnée dans la table 9.2 et est comparée aux données obtenues après interaction avec des ions He^{2+} [107], des électrons à 70 eV [106] et des photons (entre 6 et 22 eV) [104].

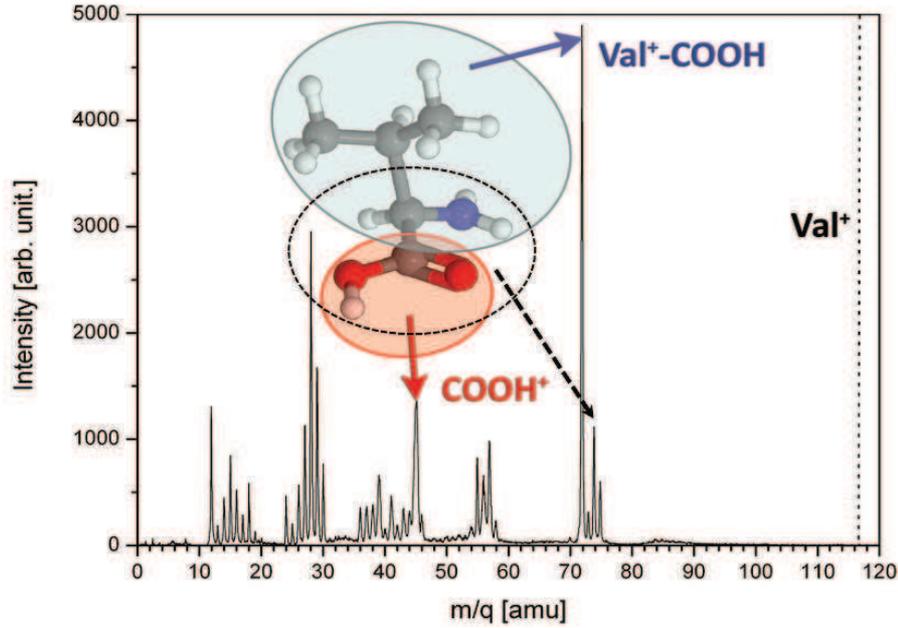


FIGURE 9.3: Spectre de masse des produits chargés obtenu après interaction de la molécule de valine isolée avec un faisceau de Xe^{20+} à 300 keV.

Fragment	Xe^{20+}	He^{2+} [107]	Electrons [106]	Photons [104]
$(\text{Val} - \text{COOH})^+$	100	100	100	100
COOH^+	70,6	50,7	5,1	6
$\text{NH}_2\text{CHCOOH}^+$	22,6	25,7	13,2	45

TABLE 9.2: Intensités relatives des principales espèces cationiques obtenues après la collision entre la valine et le Xe^{20+} à 300 keV, He^{2+} à 20 keV, des électrons à 70 eV et des photons à 20 eV.

De la même façon que pour la molécule de glycine (voir partie 9.1.1) nous observons majoritairement le cation correspondant à la perte du groupement carboxyle (indiquant la rupture de la liaison $C - C_\alpha$). En outre, un plus grand nombre de pics apparait sur le spectre de masse, signant un processus de dissociation plus complexe, ne serait-ce que parce que la molécule est elle-même plus complexe. Cela signifie que plusieurs voies de fragmentation en compétition les unes avec les autres s'ouvrent lorsque la complexité de la molécule augmente. Comme dans le cas de la glycine, le canal le plus important correspond à la cassure de la liaison $C - C_\alpha$ et à la formation du cation $(\text{Val} - \text{COOH})^+$.

En accord avec la mesure faite par Bari et ses collaborateurs [107], l'intensité relative du fragment $COOH^+$ est plus élevée dans le cas de l'ion Xe^{20+} , indiquant encore une fois l'importance de la multiple capture électronique pour la production de ce fragment. Cependant, la différence relative en fonction du projectile est plus prononcée dans le cas de la glycine comparé à celui de la valine (lorsque He^{2+} est remplacé par Xe^{20+}). Cela pourrait indiquer que, pour cette dernière, un plus grand nombre de voies de fragmentation sont ouvertes, constituant autant d'alternatives à la formation de l'ion $COOH^+$.

À notre connaissance, il n'existe pas à ce jour de calculs théoriques concernant le cation de valine. Toutefois Gil et ses collaborateurs [109] indiquent qu'un accroissement de la chaîne latérale faciliterait la délocalisation de la charge : la perte de cette chaîne deviendrait alors une voie de fragmentation compétitive. Le pic observé à $m/q = 74$ est associé à la perte complète de la chaîne latérale ($NH_2CHCOOH^+$). La fragmentation de ce cation conduit alors à la formation de l'ion $HCNH^+$ (à $m/q = 28$) comme attribué par Jochims et ses collaborateurs [104] ainsi qu'à la série de fragments entre $m/q = 26$ et $m/q = 30$. Ceux-ci proviennent de la cassure de la liaison $C - C_\alpha$ couplée à la perte de la chaîne latérale. La multifragmentation observée semble néanmoins plus faible (dans le cas du Xe^{20+}) comparée au cas de l'ion He^{2+} . Cela s'explique certainement par une collision plus douce, à grand paramètre d'impact. Cela pourrait indiquer que la perte du groupement carboxyle et de la chaîne latérale constitueraient des voies de fragmentation privilégiées du cation de valine, intervenant même lors d'un faible excès d'énergie interne.

Considérons maintenant les signaux associés à la multifragmentation de la molécule. Comme mentionné précédemment, la cassure de la liaison $C - C_\alpha$ et la perte de la chaîne latérale débouchent sur la production du fragment NH_2CH^+ . Ce dernier peut alors encore subir de multiples fragmentations aboutissant à la formation de fragments de rapport masse sur charge compris entre 18 et 30, en fonction de l'excès d'énergie déposé dans le système. Les masses plus grandes (m/q de 36 à 42) correspondent à la fragmentation de la chaîne latérale. Enfin, la série entre 50 et 56 est associée à la cassure des liaisons $C - C_\alpha$ et $C_\alpha - NH_2$ avec différents degrés de déshydrogénation.

En conclusion, une molécule isolée d'acide aminé fragmentera préférentiellement suivant la liaison $C - C_\alpha$ (en émettant un $COOH$ neutre) après l'interaction avec des ions Xe^{20+} , He^{2+} , des électrons ou des photons. Cela confirme que cette liaison est bien la plus faible du système. Dans le cas d'un plus grand acide aminé (valine), la perte de la chaîne latérale constitue toutefois une voie alternative et compétitive de dissociation. La formation de l'ion $COOH^+$ est attribuée à la la formation du dication. Le reste du spectre semble quant à lui découler de captures électroniques multiples ou encore de collisions à faibles paramètres d'impact débouchant sur un transfert d'énergie plus élevé vers la molécule.

9.1.2 Agrégats d'acides aminés

Les cibles étudiées ici ont été produites par la source d'agrégation gazeuse décrite page 60, à partir des mêmes poudres commerciales que celles utilisées lors des expériences sur les molécules isolées. L'ion projectile fut, là aussi, le Xe^{20+} à 300 keV.

Glycine

La figure 9.4 présente les produits cationiques issus de la collision entre un faisceau d'ions Xe^{20+} à 300 keV et une distribution d'agrégats neutres de $[\text{d}_2]\text{glycine}$, montrant la formation d'agrégats jusqu'au tétramère. Aucun agrégat doublement (ou multiples) chargé n'est observé sur le spectre. La partie précédant le monomère ($m/q = 77$) correspond à la fragmentation résultant de la collision.

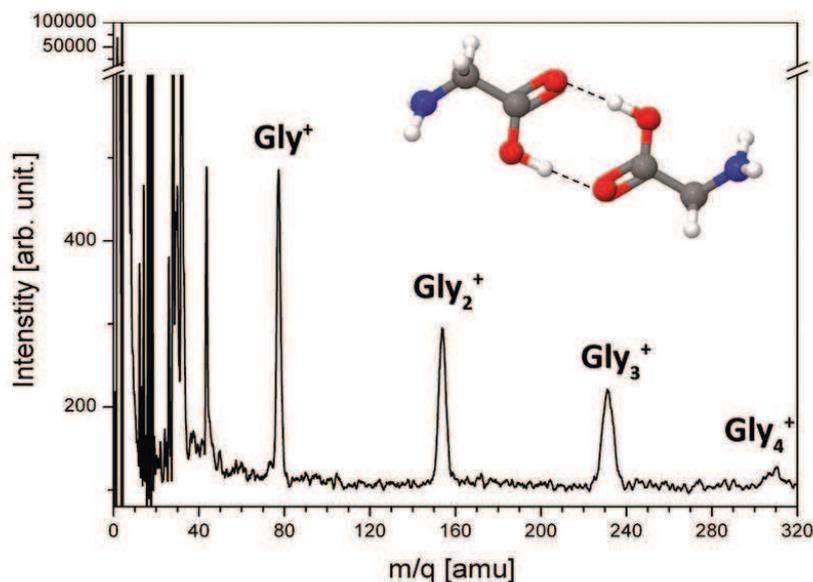


FIGURE 9.4: Spectre de masse des produits chargés obtenu après interaction d'agrégats de glycine avec un faisceau de Xe^{20+} à 300 keV.

La fragmentation de la molécule de glycine, environnée de l'agrégat a été observée et la figure 9.5 montre la comparaison des intensités de chaque pic pour la molécule isolée (en pointillé bleu) et de l'agrégat (trait plein rouge). Les intensités ont été normalisées par rapport au pic d'eau ($m/q = 18$) provenant du gaz résiduel. Puisque la densité des cibles était différente et méconnue lors de chacune de ces deux expériences, il n'est pas possible de comparer directement les intensités. Toutefois, les intensités relatives d'un pic par rapport à un autre peuvent être comparées. En particulier, le cas de l'ion intact (Gly^+ , $m/q = 77$) et du fragment majoritaire issu de la cassure de la liaison $C - C_\alpha$ (NH_2CD_2^+ , $m/q = 32$) constitue une mesure de la probabilité de fragmentation et peut être étudié sur chacun des spectres (c'est-à-dire pour chacun des systèmes).

On constate que le rapport de ces intensités (I_{32}/I_{77}) est aux alentours de 19 pour la molécule isolée, là où il vaut 1,5 pour la molécule dans l'agrégat. De plus, le fragment COOH^+ disparaît dans le cas des agrégats (figure 9.5 et 9.6 à droite). Ces deux observations conduisent à penser que la cassure de la liaison $C - C_\alpha$ est fortement réduite. Il y a donc un effet protecteur induit par l'environnement sur la molécule. De fait, les agrégats de glycine sont constitués de monomères liés entre eux par des liaisons hydrogène de quelques centaines de meV [110] qui constituent alors la liaison la plus faible du système. L'excès d'énergie est redistribué au travers de l'agrégat en causant la cassure

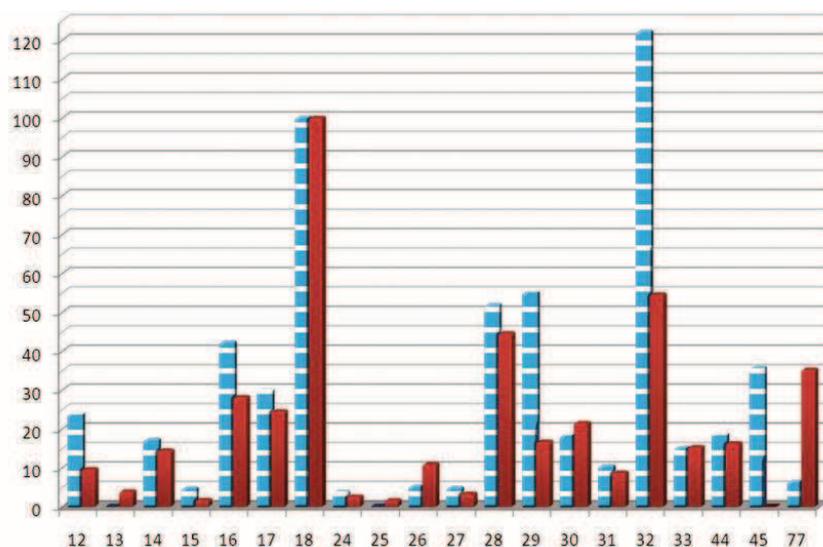


FIGURE 9.5: Histogramme des intensités normalisées des produits chargés obtenus après interaction d'un faisceau de Xe^{20+} à 300 keV et de molécules isolées (pointillé bleu) et d'agrégats (barre pleine rouge) de $[\text{d}_2]\text{glycine}$ en fonction de leur rapport masse sur charge.

de ces liaisons hydrogène préférentiellement.

Néanmoins, la disparition du fragment COOH^+ n'est certainement pas le seul fait de la répartition de l'énergie dans l'agrégat mais signe également la mobilité de la charge. En effet, si ce fragment est bien dû à la multi-capture d'électrons, la redistribution de la charge sur l'ensemble de l'agrégat de glycine empêche l'apparition de cette voie.

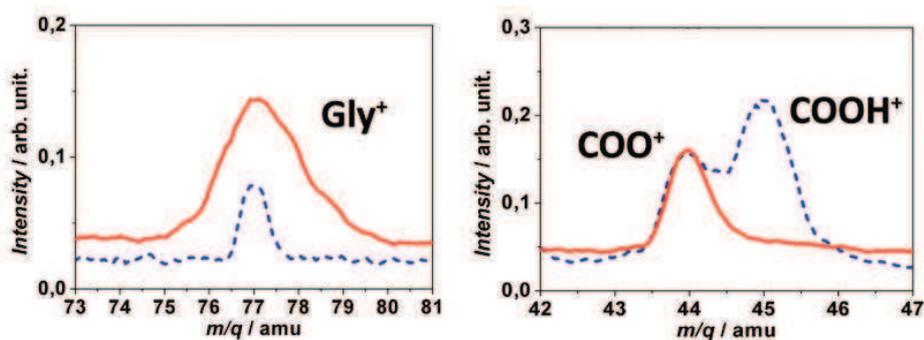


FIGURE 9.6: Comparaison détaillée des pics correspondant aux signaux de la glycine cationique (gauche) et du fragment COOH^+ pour la molécule isolée (- -) et en agrégats (-). La normalisation des intensités est donnée par rapport au pic d'eau.

En outre, la largeur du pic correspondant à la molécule intacte simplement ionisée ($m/q = 77$, figure 9.6 à gauche) est bien plus importante dans le cas des agrégats que dans celui de la molécule isolée. Cela indique une énergie cinétique plus grande, mise en jeu lors du processus de formation. Le signal correspondant à l'espèce protonée et l'espèce

ayant subi une déshydrogénation peut également se superposer aux pics. En négligeant ces dernières contributions (le pic est très majoritairement dû à l'agrégat ionisé), il a été déterminé que l'énergie cinétique maximum du cation était de 2,1 eV (voir équation 7.17 page 70). Il semble donc bien que le cation de la molécule soit produit à partir d'agrégats plus gros après évaporations et/ou fragmentations successives. Le cation se situe ainsi à la fin d'une chaîne au cours de laquelle l'agrégat dissipe l'excès d'énergie transféré durant la collision par la perte de certains de ses constituants.

Valine

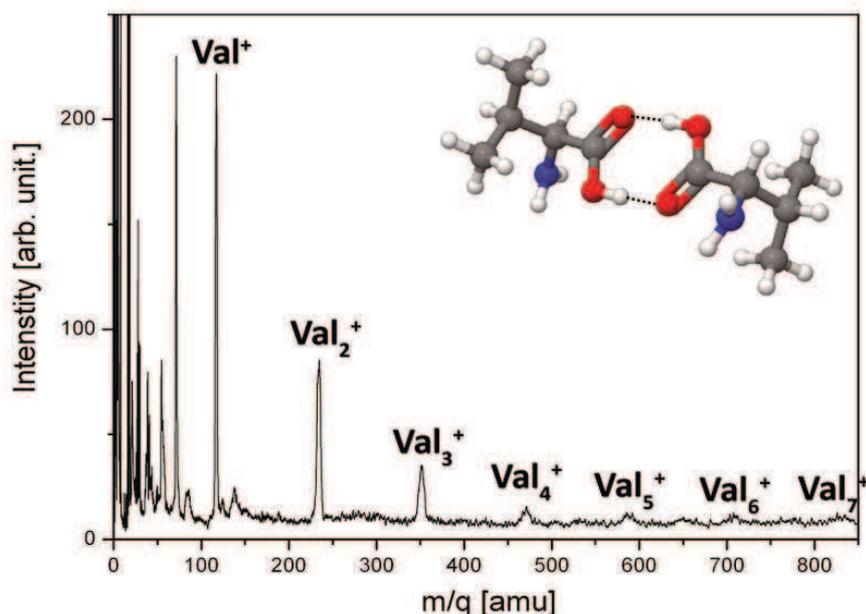


FIGURE 9.7: Spectre en m/q des produits chargés obtenu après interaction d'agrégats de valine avec un faisceau de Xe^{20+} à 300 keV.

Le spectre de masse obtenu après interaction entre un faisceau d'ions Xe^{20+} à 300 keV et une distribution d'agrégats neutres de valine est montré sur la figure 9.7. Les intensités relatives des produits chargés (dans le cas de la molécule isolée et dans le cas des agrégats) sont montrées sur la figure 9.8. On remarque alors que le pic correspondant au cation de la molécule intacte est présent sur le spectre des agrégats alors qu'il était absent dans le cas de la molécule isolée. Ainsi, grâce à son environnement immédiat, le cation de valine (comme celui de glycine) est stabilisé et peut survivre après l'interaction. Le spectre montre également des agrégats contenant jusqu'à sept molécules liées entre elles par des liaisons hydrogène.

Comme dans le cas de la glycine, l'agrégat protège la molécule de valine et limite la cassure de la liaison $C - C_\alpha$. Le rapport des intensités (I_{72}/I_{117}) passe ainsi de « l'infini » dans le cas de la molécule isolée (pas de pic à $m/q = 117$) à environ 1 pour les agrégats. De plus, la grande largeur du signal est certainement due à une énergie cinétique plus grande (voir figure 9.9, à droite) et indique là aussi que le cation de valine est

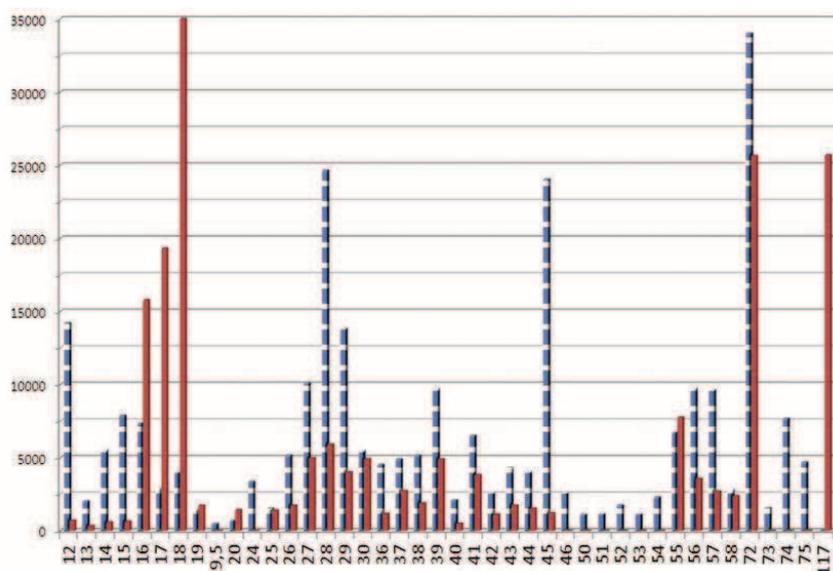


FIGURE 9.8: Histogramme des intensités relatives des produits chargés obtenus après interaction d'un faisceau de Xe^{20+} à 300 keV et de molécules isolées (pointillé bleu) et d'agrégats (barre pleine rouge) de valine en fonction de leur rapport masse sur charge.

le résultat de la fragmentation d'agrégats plus gros qui « refroidissent » par évaporation de monomères, ou par fission (se scindant en deux à chaque fois). Le signal correspondant au cation $(\text{Val}_n + \text{NH}_2\text{C}_4\text{H}_8)^+$ n'est pas visible sur notre spectre, contrairement à ce qui a été observé dans le cas de la collision d'électrons avec des agrégats de valine piégés dans une gouttelette d'hélium [111] ou lors de la photodissociation d'agrégats de valine [112]. La formation de ce cation étant attribuée à la cassure de la liaison $C - C_\alpha$ d'une valine voisine dans l'agrégat, l'absence de ce pic confirme encore la protection de la liaison $C - C_\alpha$ par l'environnement que constitue l'agrégat.

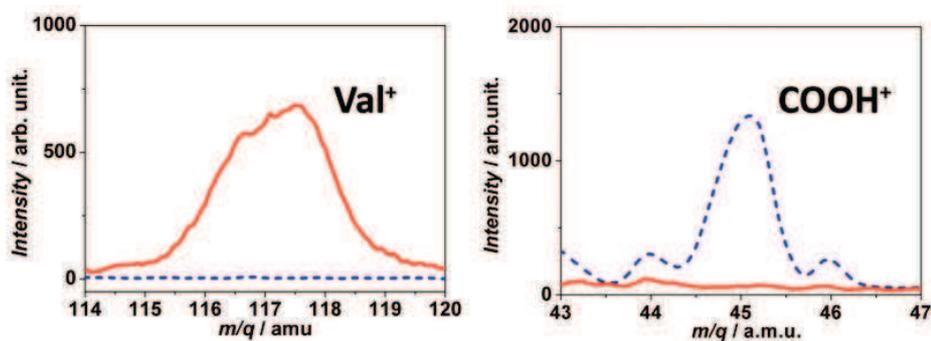


FIGURE 9.9: Comparaison détaillée des pics correspondant aux signaux de la valine cationique (gauche) et du fragment COOH^+ pour la molécule isolé (–) et en agrégats (–). La normalisation des intensités est donnée par rapport au pic d'eau.

Ensuite, au niveau des fragments de la molécule (comme nous l'avons fait pour la glycine), la complète disparition du signal du cation $COOH^+$ est observée (figure 9.8 et 9.9). La voie de fragmentation majoritaire reste la perte du groupement carboxyle, conduisant à la production de $(Val - COOH)^+$. La perte de la chaîne latérale est elle aussi gênée comme le montre l'absence de signal à $m/q = 74$.

Fort de ces observations, il apparaît que les pics compris entre 26 et 30 seraient dûs à la cassure de la liaison $C - C_\alpha$ suivie de la perte de la chaîne latérale. L'intensité relative de ces fragments est fortement réduite laissant penser que la deuxième étape (la perte de la chaîne latérale) est moins nécessaire. Cela va dans le sens d'une dissipation de l'excès d'énergie par une suite d'évaporations et de fissions au sein de l'agrégat.

9.1.3 Synthèse

Ces deux études ont mis en évidence un effet protecteur de l'environnement chimique que constitue l'agrégat. Ce « tampon » a plusieurs effets et permet par exemple l'observation du cation de valine, totalement absent du spectre de la molécule isolée en autorisant la redistribution de l'excès d'énergie (par fission/évaporation) au sein de l'agrégat et sa dissipation. La diminution de la fragmentation (notamment la cassure de la liaison $C - C_\alpha$) est elle aussi le signe de cet effet de l'environnement. Enfin, ce dernier semble permettre une redistribution rapide de la charge, empêchant la formation de l'ion $COOH^+$.

De fait, la dissociation des systèmes étudiés semble toujours suivre le même comportement en cela que la liaison la plus faible cède toujours en premier ($C - C_\alpha$ pour les molécules isolées pour $E \approx 3,6$ eV par molécule [109], liaisons hydrogène entre monomères pour les agrégats). L'émission successive de monomères par l'agrégat apparaît alors comme un moyen efficace de dissiper l'excès d'énergie et la fragmentation de la molécule se trouve alors réduite.

9.2 Base azotée : adénine

Les bases azotées (guanine, cytosine, adénine, thymine et uracile) sont des molécules essentielles par leur fonctions au sein d'un organisme vivant. Associées à un sucre et à un groupement phosphate, elles constituent les maillons de la molécule d'ADN (ou d'ARN lorsque l'uracile remplace la thymine) qui transporte l'information génétique chez les êtres vivants.

Parmi les cinq bases nommées précédemment nous nous intéresserons plus particulièrement à l'adénine dont la structure est donnée en figure 9.10 (formule brute $C_5H_5N_5$, $m = 135$ u.m.a).

Du fait de son importance dans les organismes vivants, mais aussi pour son rôle possible dans le développement de la vie sur terre, à partir du milieu interstellaire [2] (certaines bases nucléiques ont par exemple été observées dans les météorites [14–17]), la fragmentation de la molécule d'adénine en phase gazeuse a déjà été étudiée. On retrouve ainsi plusieurs projectiles utilisés pour fragmenter la molécule comme les électrons de 20 et 70 eV par le groupe de Dudeck [64, 113] (suivi par d'autres équipes [114–120]) les photons [121–129] ou encore les ions [62, 130–132].

La partie suivante se propose d'étudier l'interaction de l'adénine avec des ions multi-chargés à partir d'une série de nouvelles expériences : depuis la molécule isolée jusqu'aux

agrégats d'adénine hydratés en passant par les agrégats purs. Cela nous permettra de mettre en lumière le rôle de l'environnement proche, notamment sur la fragmentation de la molécule. La collision avec deux projectiles différents que sont l'ion O^{3+} et l'ion Xe^{20+} sera considérée afin de déterminer l'effet de la charge sur les processus mis en jeu.

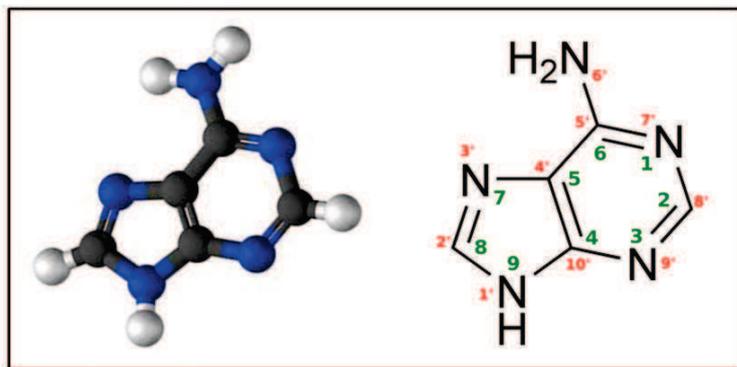


FIGURE 9.10: La molécule d'adénine ($C_5H_5N_5$).

9.2.1 Molécules isolées d'adénine

Dans un premier temps, nous avons réalisé l'interaction entre des ions multichargés et des molécules isolées d'adénine. L'étude des spectres obtenus se limitera ici à un rappel des résultats importants. Cela permettra au lecteur de faire le lien avec les études nouvelles sur les agrégats hydratés. C'est par la comparaison des résultats que nous serons à même d'identifier le rôle de l'environnement moléculaire proche sur la fragmentation et l'ionisation. Le recoupement des différents spectres de masse permettra la mise en évidence d'ouverture ou de fermeture de voies éventuelles de même qu'une variation plus globale du comportement de la molécule après l'interaction (augmentation ou diminution de la fragmentation, de l'énergie des fragments, réaction chimique...).

Interaction avec un projectile faiblement chargé : O^{3+}

La figure 9.11 présente le spectre de masse des produits cationiques issus de l'interaction d'un faisceau d'ions O^{3+} à 37,2 keV avec des molécules isolées d'adénine. Le pic majoritaire³ correspond à la formation du cation d'adénine ($m/q = 135$). Le dication d'adénine est également présent sur la figure ($m/q = 67, 5$). Le reste du spectre présente les différents fragments cationiques (stables à l'échelle de la microseconde) obtenus après la collision.

Comme cela à été observé par Alvarado et ses collaborateurs [131] lors d'une interaction avec de l'hydrogène, de l'hélium ou du carbone (neutres ou monochargés), les fragments s'organisent en séries de la forme $C_iN_jH_k^+$. Le nombre n d'atomes lourds

3. Rappelons naturellement que l'intensité d'un pic correspond à l'aire sous la courbe : l'intégrale du pic. La hauteur du pic ne suffit donc pas à déterminer le pic majoritaire

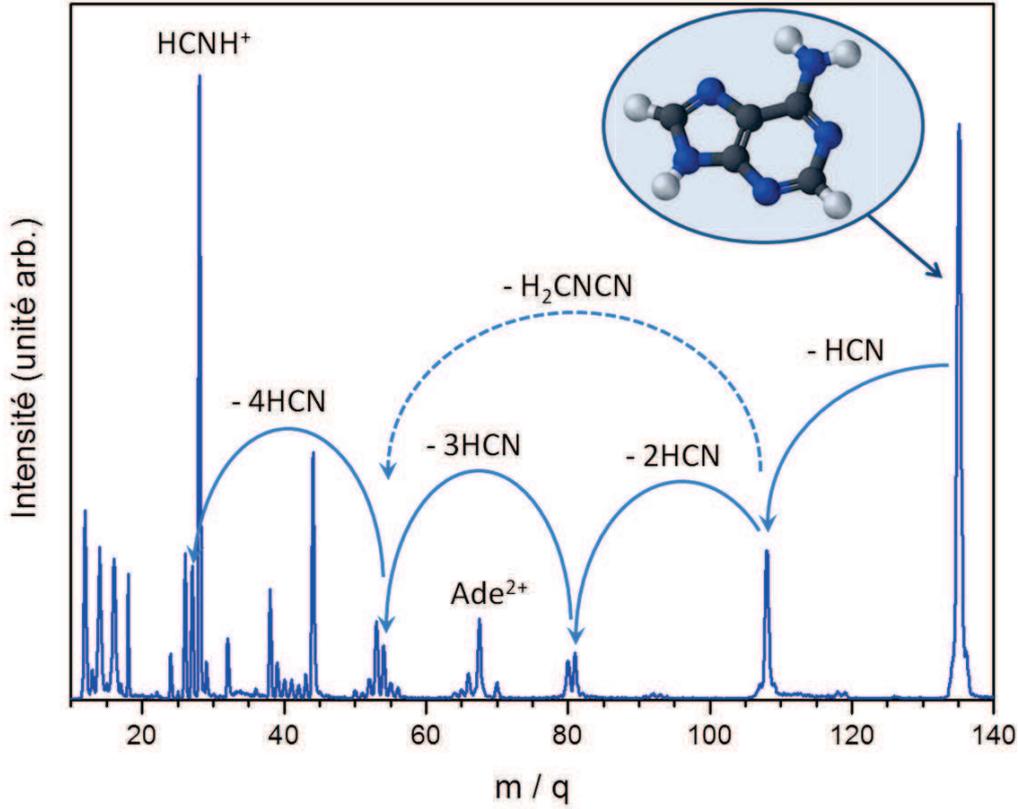
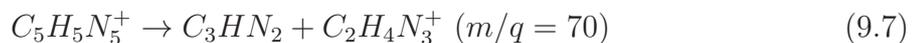
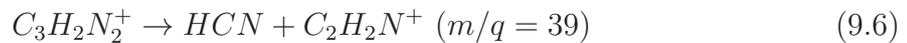
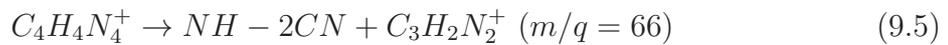
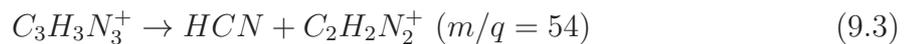
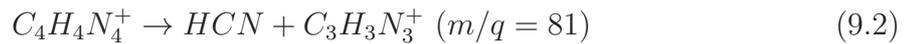
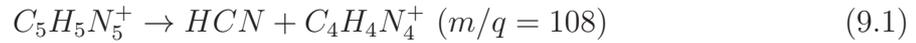
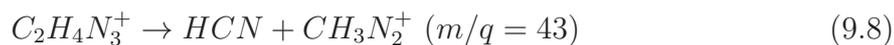


FIGURE 9.11: Spectre de masse des produits cationiques issus de l'interaction d'un faisceau d'ions O^{3+} à 37,2 keV avec des molécules isolées d'adénine.

(carbone ou azote, $n = i + j$) est alors fixe dans chaque série et c'est le nombre d'hydrogènes qui varie. Un comportement similaire (séries composées d'atomes lourds ayant un nombre d'hydrogènes variable) a pu être observé avec la molécule de thymine [130] ou d'uracile [133]. Remarquons également qu'à l'instar de ce qu'ont observé Alvarado et ses collaborateurs, la série de fragments telle que $i + j = 7$ est peu intense, la série telle que $i + j = 9$ n'apparaissant elle quasiment pas.

Les séries labellisées sur le spectre sont attribuées à des pertes successives d'un fragment neutre HCN . Les canaux correspondant à chacune de ces pertes ont pu être assignés à partir de spectres de photoionisation [63], et les voies de fragmentation suivantes sont notamment proposées :





Martin et ses collaborateurs [58] ont également montré que lors de l'interaction avec des ions Ar^{8+} , la perte de H_2CNCN neutre depuis le fragment $C_4H_4N_4^+$ (en pointillé sur la figure 9.11) était presque aussi probable que la perte de HCN (46% contre 54%). Notons également l'importance du fragment $HCNH^+$ à $m/q = 28$ qui constitue le fragment majoritaire observé.

Interaction avec un projectile fortement chargé : Xe^{20+}

La figure 9.12 présente le spectre de masse des produits cationiques issus de l'interaction d'un faisceau d'ions $^{129}Xe^{20+}$ à 300 keV avec des molécules isolées d'adénine (la vitesse du xénon est identique à celle de l'oxygène présenté précédemment soit environ 0,306 u.a. - voir l'équation 1.1 page 16).

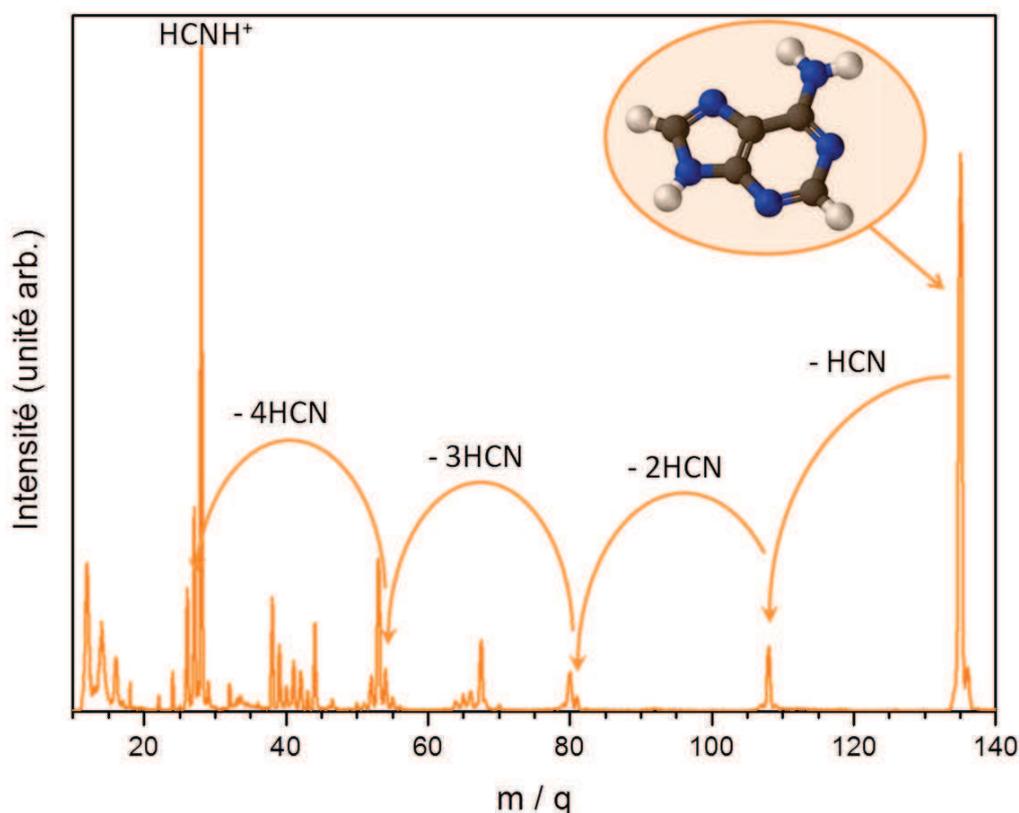


FIGURE 9.12: Spectre de masse des produits cationiques issus de l'interaction d'un faisceau d'ions Xe^{20+} à 300 keV avec des molécules isolées d'adénine.

Comme dans le cas de l'ion O^{3+} , le pic majoritaire correspond à la formation du cation d'adénine ($m/q = 135$). Le dication d'adénine est également présent sur la figure ($m/q = 67,5$). Le reste du spectre présente les mêmes séries de fragments cationiques (stables à l'échelle de la microseconde) que celles obtenues après interaction avec l'ion O^{3+} . En particulier, les séries ayant 7 et 9 atomes lourds sont peu présentes ou même absentes du spectre. Enfin, le fragment majoritaire est attribué à l'espèce $HCNH^+$ à $m/q = 28$.

Comparaison de l'effet des électrons, des photons et des ions

Si l'on considère les rapports $I_{\text{fragment}}/I_{\text{molécule}}$ comme une mesure permettant la quantification de la fragmentation de notre système, il est alors possible de comparer l'effet de différents projectiles. La table 9.3 présente l'intensité relative (en pourcentage) des différents fragments majoritaires par rapport à l'intensité de la molécule cationique suite à l'impact d'électrons à 70 eV [113], à l'impact de photons de 20 eV [63], d'ions O^{3+} à 37,2 keV et d'ions Xe^{20+} à 300 keV. Chacun des fragments présentés ici découle d'une réaction identifiée précédemment.

m/q	Electrons	Photons	O^{3+}	Xe^{20+}	Formules	Réactions
135	100	100	100	100	$C_5H_5N_5^+$	-
119	-	3	1	-	$C_5H_4N_4^+$	$m/q = 135 - NH_2$
108	34	57	27	11	$C_4H_4N_4^+$	9.1
92	-	9	1	1	$C_4H_2N_3^+$	$m/q = 119 - HCN$
81	19	50	8	9	$C_3H_3N_3^+$	9.2
70	5	17	3	1	$C_2H_4N_3^+$	9.7
66	15	41	4	5	$C_3H_3N_2^+$	9.5
54	31	55	10	8	$C_2H_2N_2^+$	9.3
43	12	34	4	3	NH_2CNH^+	9.8
39	8	1	6	12	HC_2N^+	9.6
28	78	110	62	94	$HCNH^+$	9.4 + H
27	12	10	22	34	HCN^+	9.4

TABLE 9.3: Intensités relatives des principales espèces cationiques obtenues après la collision entre des molécules isolées d'adénine et des électrons à 70 eV [113], des photons à 20 eV [63], des ions O^{3+} à 37,2 keV et des ions Xe^{20+} à 300 keV.

En général, la fragmentation est moins forte avec les ions qu'avec les autres projectiles. Il est possible toutefois de préciser un peu cette comparaison : les ions multichargés produisent moins de gros fragments que les photons et les électrons, mais le nombre de petits fragments est comparable ($m/q < 40$). Cela s'explique par la contribution de la multi-ionisation (du point de vue de la cible), beaucoup plus importante avec les ions multichargés, et a fortiori avec l'ion Xe^{20+} . Ces ions multichargés vont capturer plusieurs électrons de la molécule d'adénine qui explosera ensuite sous l'effet de la répulsion coulombienne. Les fragments formés seront alors d'autant plus petits (en moyenne) que le système de départ était chargé.

Ce résultat est corroboré par la présence importante de pics aux faibles rapports masse sur charge ($m/q < 20$) qui correspondent à l'atomisation de la molécule. La largeur de ces pics est par ailleurs plus importante que celle de leurs voisins. Elle s'explique par une énergie cinétique des fragments plus grande, en accord avec l'hypothèse de l'explosion coulombienne du système. L'importance relative de ces petits fragments est d'ailleurs plus grande avec Xe^{20+} où des captures multiples sont plus probables qu'avec O^{3+} ($I_{<30}/I_{\text{adénine}}$ respectivement 4 et 3 environ).

En conclusion, les spectres de fragmentation et d'ionisation d'adénine obtenus lors des expériences réalisées à Caen s'organisent de la même façon que ceux obtenus par d'autres équipes [63, 113]. La signature des pertes de fragments HCN neutres y est notamment visible. Toutefois, si les voies de fragmentation semblent comparables, leurs intensités relatives sont plus faibles dans le cas des ions multichargés. Ces derniers apparaissent donc comme une méthode d'ionisation plus douce où les voies de fragmentation sont plus réduites. Ces résultats sont en accord avec ceux déjà observés durant d'autres expériences auxquelles il m'a été donné de participer mais dont les systèmes d'étude n'entrent pas directement dans le cadre de cette thèse [134, 135].

9.2.2 Agrégats d'adénine purs

Les expériences précédentes portant sur l'adénine isolée ne nous permettent pas de rendre compte de l'effet de l'environnement sur les mécanismes collisionnels. Pour ce faire, nous avons réalisé l'interaction entre des agrégats d'adénine et des ions multichargés en couplant la source d'agrégation gazeuse aux lignes de faisceau d'ARIBE. La comparaison avec les résultats obtenus jusque là (molécules isolées) doit donc permettre de comprendre le rôle de cet environnement et son influence sur l'ionisation et la fragmentation.

Interaction avec un faisceau d'ions O^{3+}

La figure 9.13 montre le spectre en m/q des produits cationiques issus de la collision entre une distribution d'agrégats neutres d'adénine et des ions O^{3+} à 37,2 keV. Il y est présenté le spectre global obtenu après interaction.

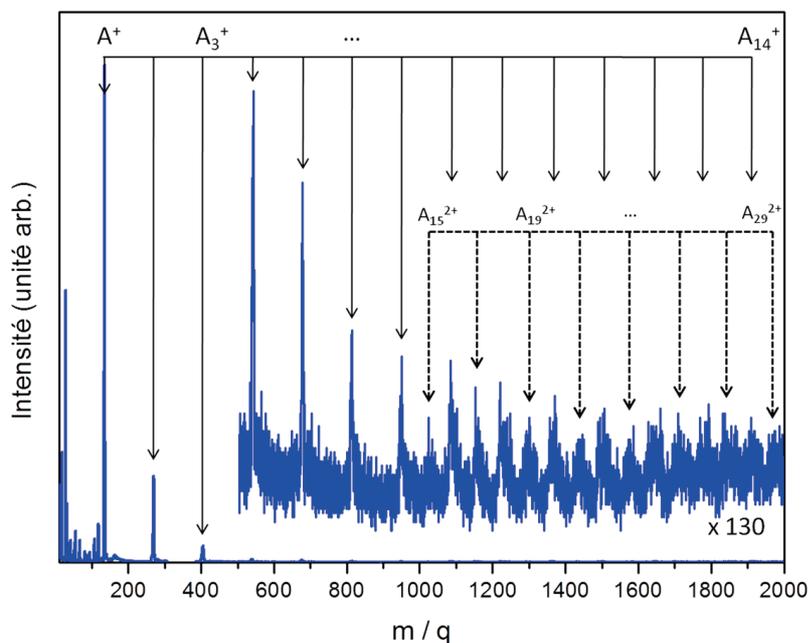


FIGURE 9.13: Spectre en m/q des produits cationiques issus de l'interaction d'un faisceau d'ions O^{3+} à 37,2 keV avec une distribution d'agrégats neutres d'adénine.

Le pic le plus intense correspond au cation d'adénine ($m/q = 135$). Il est suivi par une distribution d'agrégats monocationiques. Le spectre montre des agrégats allant jusqu'à la taille $n = 14$ ($m/q = 1890$). Une distribution d'agrégats dicationiques est également présente et apparaît sur notre spectre à la taille $n = 15$ ($m/q = 1012,5$) et s'étend jusqu'à la fin du spectre ($n = 29$).

Le spectre présente également une partie située à gauche du pic du monomère correspondant à la fragmentation de la molécule d'adénine. La figure 9.14 montre un zoom de cette partie pour faciliter la comparaison avec la fragmentation de la molécule isolée.

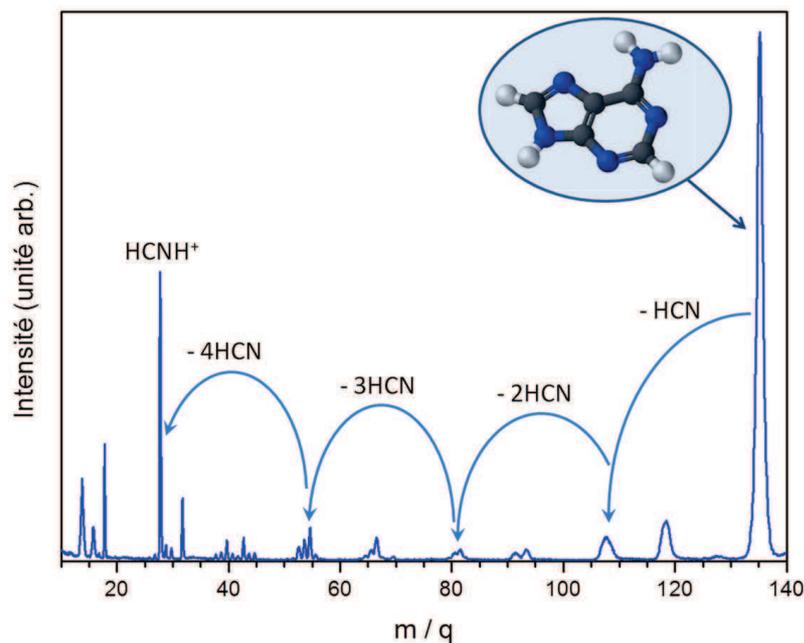


FIGURE 9.14: Spectre en m/q des produits cationiques issus de l'interaction d'un faisceau d'ions O^{3+} à 37,2 keV avec une distribution d'agrégats neutres d'adénine : zoom sur la gamme de fragmentation.

Le pic du monomère ($m/q = 135$) est ici beaucoup plus large que dans le cas de la molécule isolée. Cela s'explique par le fait qu'il se trouve à l'extrémité d'une chaîne évaporative où les agrégats plus gros ont pu relâcher l'excès d'énergie interne transmis durant la collision (de manière identique aux résultats de glycine et de valine).

En outre, comme avec la molécule isolée, le spectre de fragmentation se décompose en séries de la forme $C_i N_j H_k^+$ avec un nombre d'atomes lourds constant (carbone ou azote) et un nombre variable d'hydrogène. Toutefois, les séries de 7 et 9 atomes lourds sont ici bien plus importantes que précédemment. Ainsi, leurs intensités relatives sont 2 et 3 fois supérieures (respectivement). Ce comportement a déjà été décrit par Schlathöler et ses collaborateurs [62]. Il a alors été mis en évidence que l'ensemble de ces pics était rendu visible car les liaisons intermoléculaires conduisaient à un affaiblissement des liaisons intramoléculaires. Plus particulièrement, les liaisons hydrogène entre les molécules viennent fragiliser la liaison $C - NH_2$ qui fragmente plus facilement. Cela conduit à l'augmentation de la série 9 (qui peut ensuite perdre HCN et former la série 7 qui

augmente donc elle aussi). L'environnement immédiat que constitue l'agrégat d'adénine fragilise donc dans une certaine mesure la molécule.

Cependant, si l'agrégat semble affaiblir certaines liaisons, il permet également de protéger la molécule. En effet, nous avons notamment montré que l'agrégat autorisait la relaxation de l'énergie interne par évaporation (comme l'a montré l'élargissement du monomère). Cela se traduit par un rapport de l'intensité des fragments sur l'intensité du monomère $I_{\text{fragments}}/I_{\text{monomère}} \approx 5$ pour la molécule isolée contre moins de 1 dans le cas des agrégats.

Interaction avec un faisceau d'ions Xe^{20+}

La figure 9.15 montre le spectre de masse des produits cationiques issus de la collision entre une distribution d'agrégats neutres d'adénine et des ions Xe^{20+} à 300 keV. Il y est présenté le spectre global obtenu après interaction.

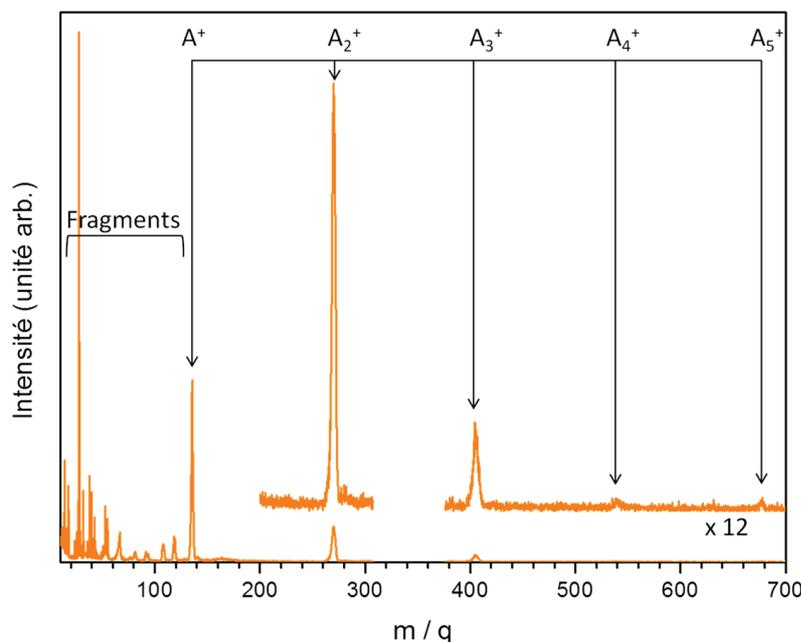


FIGURE 9.15: Spectre en m/q des produits cationiques issus de l'interaction d'un faisceau d'ions Xe^{20+} à 300 keV avec une distribution d'agrégats neutres d'adénine.

Le pic de plus grande intensité correspond au monomère ($m/q = 135$). Il est suivi d'une distribution d'agrégats cationiques allant jusqu'au pentamère ($m/q = 675$). Le signal a été tronqué entre $m/q = 310$ et 380 car le spectre est alors saturé par le bruit électronique lié à l'extraction électrostatique. Aucun agrégat doublement chargé n'apparaît sur le spectre étant donné la largeur de la distribution. La taille d'apparition mesurée avec l'oxygène ($n = 14$) n'est en effet pas atteinte. La distribution d'agrégats cationiques est ici plus centrée sur les petites tailles que dans le cas de O^{3+} alors que les conditions de formation des agrégats neutres sont identiques (température du four et flux d'hélium). Cela s'explique sans doute par une interaction différente avec un chargement de la cible plus élevé dans le cas de l'ion Xe^{20+} . L'agrégat, lié par des liaisons hydrogène

(faibles), va alors rapidement exploser sous l'effet de la répulsion coulombienne. Les agrégats ainsi formés auront une énergie cinétique supérieure.

Comme l'illustre la figure 9.16, la largeur des pics d'agrégats nous apprend que l'énergie cinétique des espèces produites est de l'ordre de 3 fois supérieure à celle mesurée avec O^{3+} (plus de 0,57 eV ici contre 0,19 eV pour l'oxygène - voir équation 7.17). D'autres résultats impliquant un plus grand transfert de charge avec l'ion Xe^{20+} suivi de l'évaporation de monomères chargés (avec une énergie cinétique mais aussi interne plus grande) ont également été obtenus avec d'autres systèmes durant la période de ma thèse [134, 135] et un tel résultat tend à être généralisé.

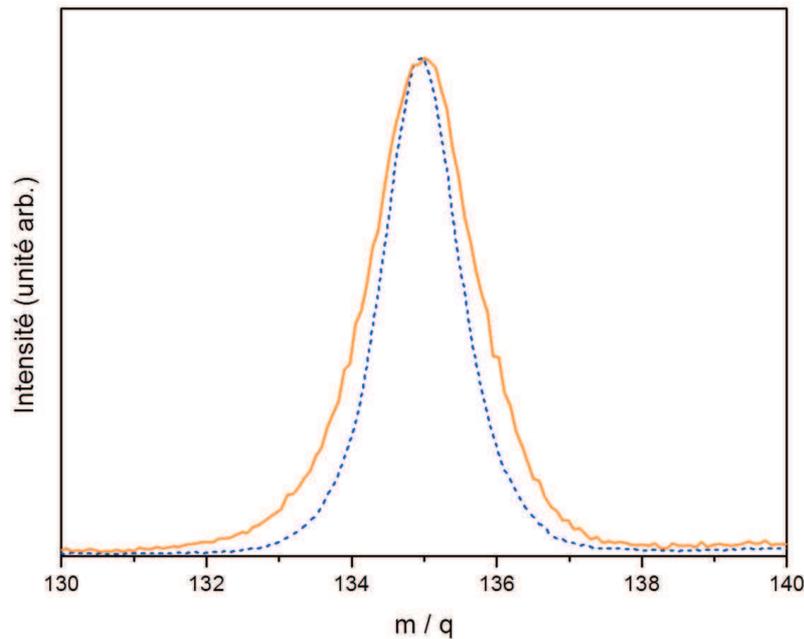


FIGURE 9.16: Comparaison sur les spectres de masse de la largeur des pics du monomère pour l'oxygène (pointillé bleu) et le xénon (trait plein orange).

Une partie liée à la fragmentation de la molécule d'adénine est également visible sur le spectre (marqué « Fragments » sur la figure 9.15). La figure 9.17 montre un zoom de cette partie pour faciliter la comparaison avec la fragmentation de la molécule isolée.

Comme avec O^{3+} , le pic du monomère ($m/q = 135$) est plus large dans le cas des agrégats que dans le cas des molécules isolées. L'explication est d'ailleurs identique (fin d'une chaîne évaporative qui relâche l'excès d'énergie et explosion coulombienne d'agrégats). De plus, le spectre de fragmentation présente les mêmes séries $C_i N_j H_k^+$ que celui de la molécule isolée avec, là encore, une plus grande importance relative des séries constituées de 7 et 9 atomes lourds (respectivement 4 et 50 fois plus que pour la molécule isolée). Ce comportement reflète encore une fois celui décrit par Schlathölter et ses collaborateurs [62]. Le pic correspondant à $m/q = 28$ ($HCNH^+$) paraît en outre beaucoup plus important ici que précédemment. En réalité, la contribution du gaz résiduel (avec N_2) est ici un peu plus forte car le vide était légèrement moins bon. Ainsi, après soustraction de cette contribution (déduite du rapport I_{O_2}/I_{N_2} obtenu dans un spectre de gaz résiduel

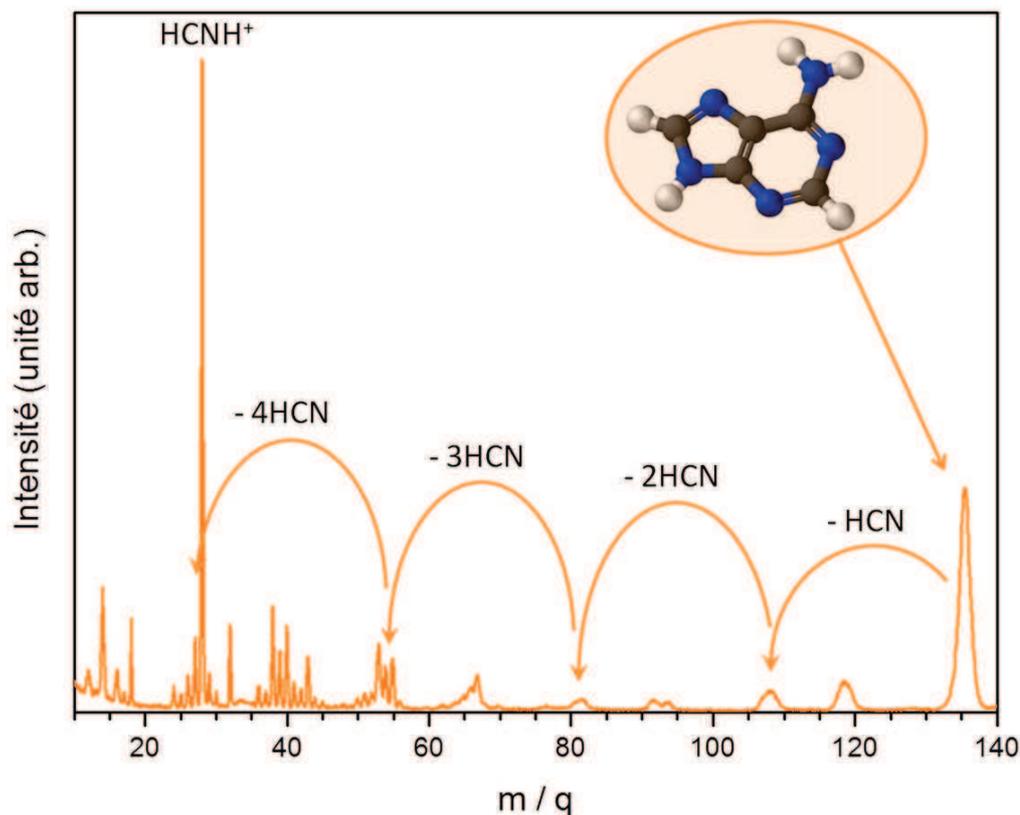


FIGURE 9.17: Spectre de masse des produits cationiques issus de l'interaction d'un faisceau d'ions Xe^{20+} à 300 keV avec une distribution d'agrégats neutres d'adénine : zoom sur la fragmentation.

avec le même projectile), le rapport I_{28}/I_{135} deux fois plus faible que dans le cas de la molécule isolée.

En outre, et comme nous l'avons vu avec O^{3+} , la fragmentation est plus réduite ici que dans le cas de l'adénine isolée ($I_{\text{fragments}}/I_{\text{molécule}} = 3$ pour les agrégats contre plus de 7 pour la molécule isolée). Ce rapport reste néanmoins bien supérieur à celui obtenu avec O^{3+} . Cela va dans le sens de l'hypothèse avancée d'un multichargement de la cible suivi d'une explosion coulombienne de celle-ci avec Xe^{20+} . Cela conduit donc à une fragmentation plus importante de l'agrégat, mais pas nécessairement de la molécule.

En conclusion l'environnement moléculaire que constitue l'agrégat intervient de différentes façons dans l'interaction avec les ions multichargés. Parce qu'il permet aux molécules de s'influencer (déplacement du nuage électronique, polarisation ou mouvement des protons), il fragilise certaines liaisons internes à la molécule (en particulier la liaison $\text{C} - \text{NH}_2$), qui sont alors plus susceptibles de fragmenter. Cependant, parce qu'il permet l'évacuation de l'excès d'énergie transféré durant la collision (par évaporation ou fission), il stabilise également la molécule et limite donc globalement sa fragmentation.

9.2.3 Agrégats hydratés d'adénine

Après avoir considéré l'agrégat pur d'adénine comme un premier environnement, il est intéressant de chercher à se rapprocher un peu plus du milieu cellulaire. Cela commence par l'ajout d'eau (solvant principal de notre corps - 70% -) aux agrégats d'adénine. Pour ce faire, nous avons couplé à la ligne d'injection d'hélium une ligne d'injection d'eau. Un ballon rempli d'eau, chauffé au moyen d'un chauffe-ballon, est relié par une vanne microfuite qui permet un contrôle efficace et surtout reproductible du débit.

Ce dispositif nous a permis de produire des agrégats mixtes d'adénine et d'eau $[A_m + (H_2O)_n]$ que nous avons fait interagir avec les faisceaux d'ions multichargés délivrés par la source ECR d'ARIBE. La partie qui va suivre se propose de présenter les résultats obtenus et de les comparer aux précédents (molécules isolées ou en agrégats purs).

Interaction avec un projectile faiblement chargé

La figure 9.18 montre le spectre en m/q des produits cationiques issus de la collision entre une distribution d'agrégats neutres d'adénine hydratée et des ions O^{3+} à 37,2 keV. Il y est présenté le spectre global obtenu après interaction.

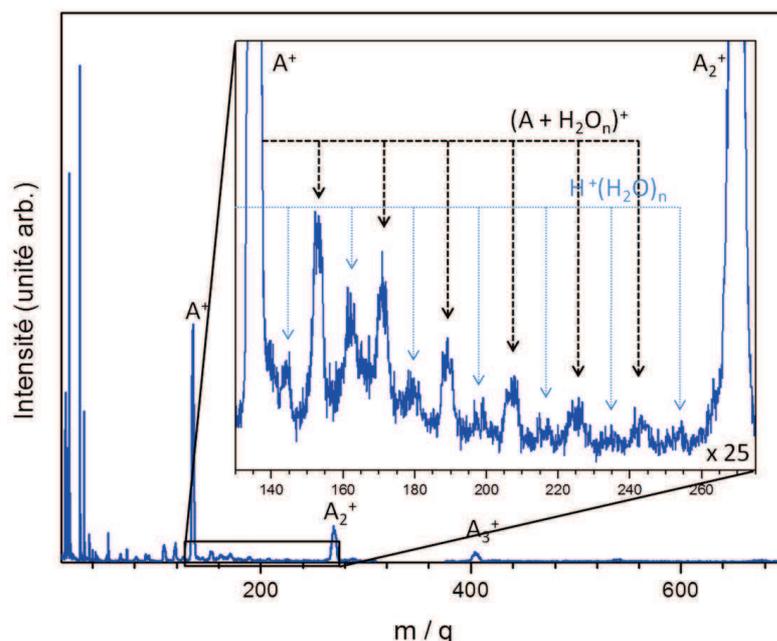


FIGURE 9.18: Spectre en m/q des produits cationiques issus de l'interaction d'un faisceau d'ions O^{3+} à 37,2 keV avec une distribution d'agrégats hydratés neutres d'adénine.

La distribution d'agrégats cationiques visibles s'étend entre le monomère et le pentamère d'adénine pure auxquels viennent s'attacher un certain nombre de molécules d'eau. Le zoom effectué entre les masses 130 et 275 montre par exemple jusqu'à 7 molécules d'eau sur l'adénine. Entre chaque pic un autre de moindre intensité est présent. Il correspond à la fin de la distribution d'agrégats d'eau protonés qui se forment également dans la source. Le pic de plus forte intensité est celui du monomère d'adénine ($m/q = 135$)

et non pas celui du fragment $HCNH^+$ ($m/q = 28$) comme aurait pu le laisser penser sa hauteur.

La distribution d'agrégats purs d'adénine est ici plus centrée sur les petites masses que celle obtenue précédemment. Cela s'explique probablement par le fait que l'adjonction d'eau vient d'une certaine façon perturber l'agrégation. La pression peut par exemple être modifiée et conduire donc à une variation dans la distribution.

La largeur des agrégats cationiques d'adénine est particulièrement importante sur ce spectre (plus d'une fois et demi celle observée pour les agrégats purs). Cela s'explique partiellement par le fait que ces agrégats fassent partie d'une chaîne d'évaporation et de fission comme dans le cas des expériences précédentes. En outre, si la distribution initiale est différente, en particulier si les agrégats sont plus petits, l'énergie cinétique des agrégats après une explosion coulombienne peut se trouver augmentée. En effet, lors d'une capture double sur un agrégat composé de deux molécules par exemple, la distance entre les charges est plus faible que dans le cas d'un agrégat plus gros. Cela conduit à une répulsion plus forte et donc à une énergie cinétique des fragments plus grande. Cependant la différence reste très importante (0,62 eV contre 0,19 eV dans le cas des agrégats purs - voir équation 7.17). Il est difficile de justifier un tel écart alors même que le projectile est identique. Il est donc possible que le pic corresponde en fait à deux espèces : l'une protonée, l'autre non.

La figure 9.19 présente le pic du monomère d'adénine ajusté par une ou deux gaussiennes (respectivement spectre A à gauche et spectre B à droite). Les données expérimentales sont représentées par des points bleus. Les gaussiennes sont en bleu et la somme de leurs contributions est en rouge.

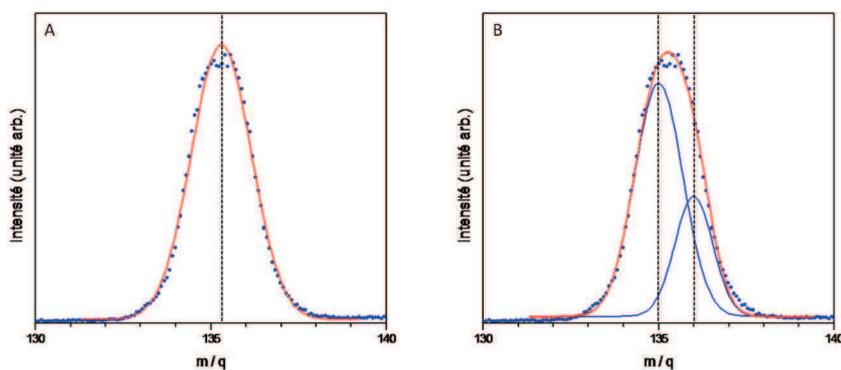
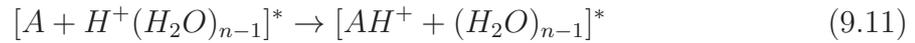
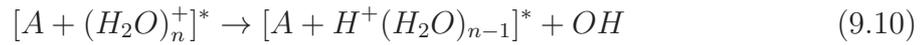
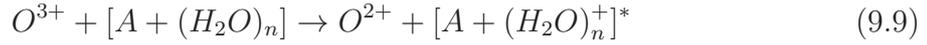


FIGURE 9.19: Pic à $m/q = 135$: ajustement avec une ou deux gaussiennes (respectivement gauche - A - et droite - B -).

La calibration a été obtenue à partir de la distribution d'agrégats d'eau et est naturellement identique sur les deux spectres de la figure. Si l'ajustement avec une seule gaussienne reproduit relativement bien les données expérimentales, la masse alors déduite situe le centre du pic à 135,3 environ. En revanche, l'ajustement par deux gaussiennes situe chacune des contributions à 135 et 136 u.m.a. respectivement et la courbe rouge s'ajuste bien aux données. Il y a donc vraisemblablement présence d'adénine pure et protonée, expliquant la plus grande largeur du pic. Ce phénomène est observé pour la première fois dans nos expériences, soulignant l'importance de l'eau dans ce processus.

Ce phénomène (protonation) est rendu possible par la présence de molécules d'eau autour de l'adénine qui vont elles aussi interagir avec le faisceau d'ions multichargés. Il a en effet été observé à l'aide du même dispositif qu'une distribution d'agrégats d'eau neutres en interaction avec un faisceau de Xe^{20+} à 300 keV (ou d'ions O^{3+} à 45 keV) conduisait à des agrégats de la forme $(\text{H}_2\text{O})_n\text{H}^+$ [135] susceptibles de transférer un proton. La chaîne réactionnelle décrite ci-dessous (voir 9.9 à 9.11) peut alors être proposée pour expliquer ce processus (avec A la molécule d'adénine et en considérant la réaction bien connue $(\text{H}_2\text{O})_n^+ \rightarrow \text{H}^+(\text{H}_2\text{O})_{n-1} + \text{OH}$) [135]). La perte des molécules d'eau attachées débouche alors sur la production d'adénine protonée.



Kim et ses collaborateurs [67] ont trouvé un résultat similaire (protonation de la base nucléique) avec des agrégats hydratés de thymine obtenus dans un jet supersonique. En outre, comme le souligne cette équipe, l'affinité protonique de la base est toujours supérieure à celle de l'eau [136]. Cela suggère donc bien que le proton vient se fixer sur l'adénine après l'interaction.

La figure 9.20 montre un zoom sur la partie liée à la fragmentation de la molécule sur le spectre de la figure 9.18.

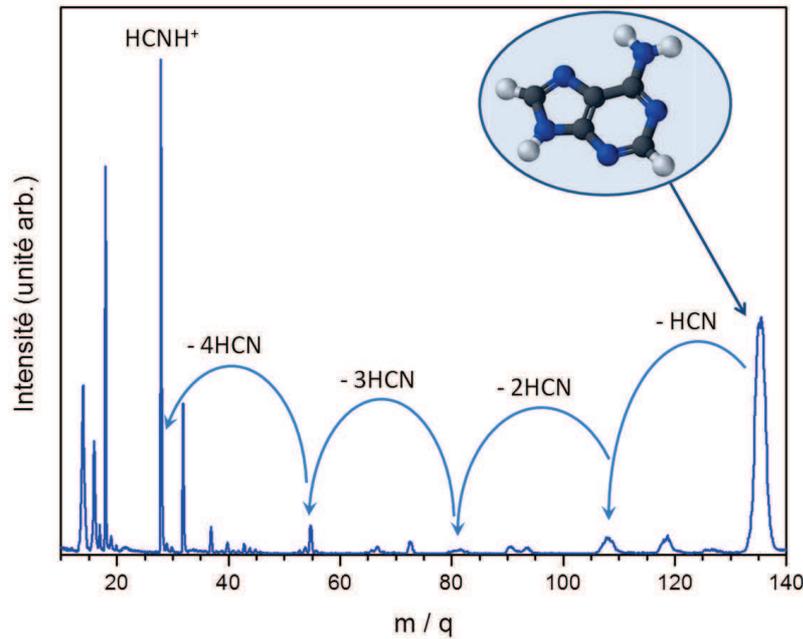


FIGURE 9.20: Spectre en m/q des produits cationiques issus de l'interaction d'un faisceau d'ions O^{3+} à 37,2 keV avec une distribution d'agrégats hydratés neutres d'adénine : zoom sur la fragmentation de la molécule.

Comme avec les agrégats purs, le pic le plus intense est celui du monomère ($m/q = 135$) et l'ensemble des séries précédemment observées apparaît également ici (séries $C_iN_jH_k^+$).

Cette fois, l'importance relative des séries constituées de 7 et 9 atomes lourds est plus réduite mais reste comparable au cas des agrégats purs (respectivement 0,04 et 0,06 pour les séries 7 et 9 contre 0,05 et 0,10 pour les agrégats purs). En outre, le rapport de l'intensité des fragments sur l'intensité du monomère n'est plus que de 0,4 environ (presque 0,8 précédemment). Les molécules d'eau viennent donc stabiliser plus encore la molécule, et ce, malgré le transfert de proton observé. La fragmentation s'en trouve presque réduite de moitié.

Interaction avec un projectile fortement chargé

La figure 9.21 présente le spectre en m/q des produits chargés issus de la collision entre les ions Xe^{20+} (200 keV) et une distribution d'agrégats hydratés d'adénine. Les résultats montrent la formation d'agrégats cationiques d'adénine allant jusqu'à une taille de quatre molécules mais l'intensité du signal ne permet pas d'observer l'hydratation au delà du dimère (à droite sur le spectre). De façon similaire au cas des agrégats purs, les fragments $C_iN_jH_k^+$ sont observés.

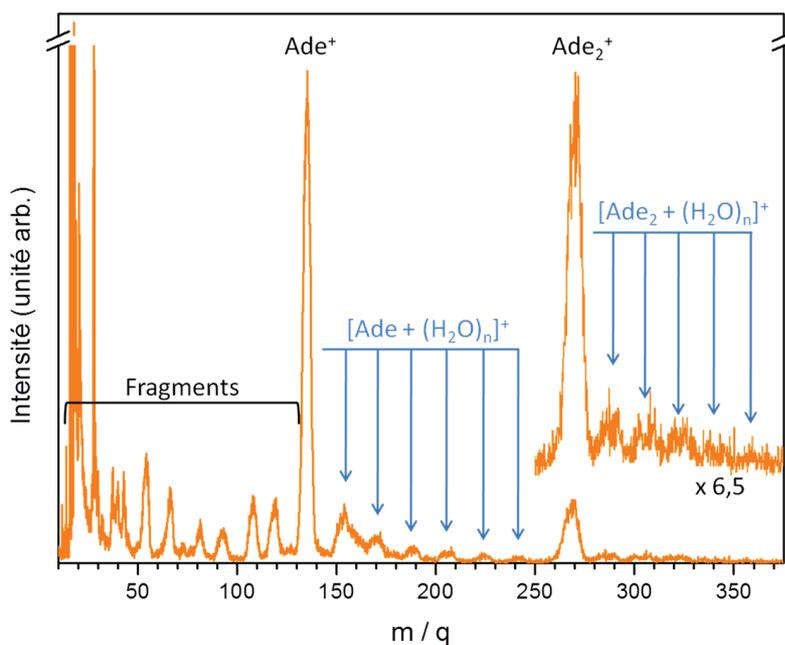


FIGURE 9.21: Spectre en m/q des produits de la collision entre un faisceau d'ions Xe^{20+} à 200 keV et une distribution neutre d'agrégats hydratés d'adénine. Mise en évidence des pics d'agrégats et des molécules d'eau qui leur sont attachées (en bleu).

Comme avec O^{3+} , jusqu'à 7 molécules d'eau viennent s'attacher à la molécule d'adénine et l'intensité des pics décroît avec le nombre de molécules. Là encore, les pics correspondant aux agrégats purs sont élargis par rapport au spectre obtenu sans eau. Cela suggère la formation d'espèces protonées dont la contribution vient se superposer à celle des espèces ionisées.

La figure 9.22 présente le pic du monomère d'adénine ajusté par une ou deux gau-

siennes (respectivement spectre A à gauche et spectre B à droite). Les données expérimentales sont représentées par des points orange. Les gaussiennes sont en orange et la somme de leurs contributions est en rouge.

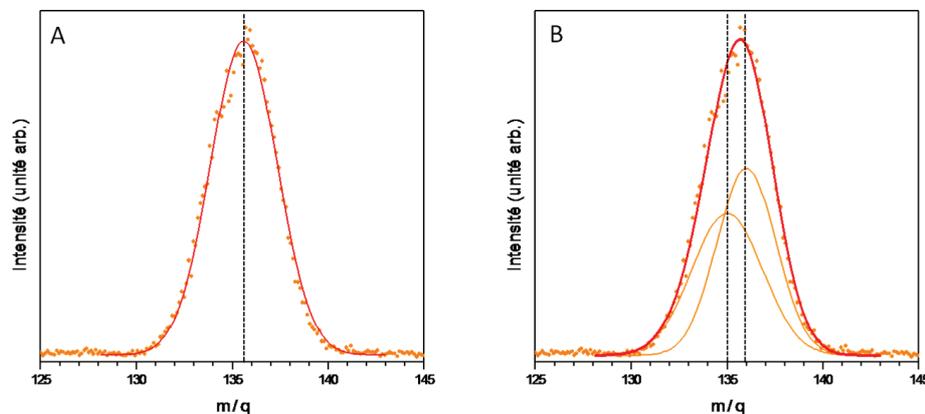


FIGURE 9.22: Pic à $m/q = 135$ obtenu après interaction avec le xénon : ajustement avec une ou deux gaussiennes (respectivement A à gauche et B à droite).

Comme dans le cas de O^{3+} , l'ajustement avec une gaussienne unique aboutit à un centre décalé par rapport à la masse de l'adénine. Les deux gaussiennes (spectre B) quant à elles se placent bien à $m/q = 135$ et 136 . Ce résultat confirme que la molécule peut se protoner par transfert depuis les molécules d'eau. En outre, les pics correspondant au monomère avec plus ou moins d'eau paraissent également présenter une double contribution ionisée et protonée. Cependant, comme précédemment, la statistique ne permet pas de conclure définitivement.

Enfin, il est possible de comparer la fragmentation du spectre d'adénine hydratée avec celui des agrégats purs (tous deux obtenus avec l'ion Xe^{20+}). Les résultats présentent alors la même tendance que ceux obtenus avec O^{3+} : une diminution globale de la fragmentation.

Comparaison générale

La figure 9.23 présente l'histogramme de l'intensité de chaque série de fragments normalisée à l'intensité du monomère (série labellisée par le nombre d'atomes lourds la composant). Les différents environnements y sont reportés (molécules isolées, agrégats purs et agrégats hydratés) dans le cas de l'interaction avec l'ion O^{3+} . La tendance est identique pour Xe^{20+} .

La fragmentation est plus forte dans le cas de la collision d'ions multichargés avec des molécules isolées d'adénine. Le premier environnement que constitue l'agrégat permet alors de diminuer cette fragmentation dans chaque série, exceptions faites de la 7^{ème} et de la 9^{ème}. De tels résultats sont en accord avec ceux obtenus par Schlathölter et ses collaborateurs [62] qui ont montré que les liaisons intermoléculaires pouvaient affaiblir les liaisons intramoléculaires. C'est le cas par exemple pour le groupement $-NH_2$ de la molécule qui, une fois détaché, aboutit à la formation de la série 9.

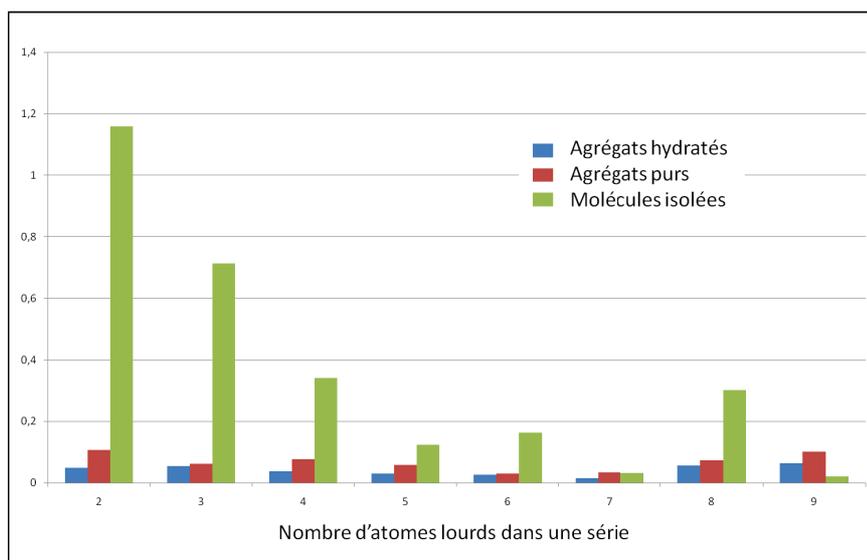


FIGURE 9.23: Histogramme présentant les rapports de l'intensité d'un fragment sur l'intensité de cation d'adénine dans le cas des molécules isolées (en vert), les agrégats purs (en rouge) ou hydratés (en bleu). L'abscisse présente les fragments en fonction du nombre d'atomes lourds (carbone ou azote) qu'ils contiennent.

L'adjonction de molécules d'eau dans les agrégats d'adénine vient ensuite accentuer les effets apparus pour les agrégats. La fragmentation est à nouveau réduite et même l'importance relative de la série 9 diminue. Les molécules d'eau en interaction avec la molécule d'adénine viendraient donc d'une certaine façon la stabiliser sans affaiblir ses liaisons intramoléculaires, et ce, malgré un transfert de proton entre l'eau et la base azotée (en accord avec les travaux de Kim et de ses collaborateurs [67]). Ces molécules d'eau permettent en outre l'évacuation de l'énergie interne par suite d'évaporation. Cela conduit à la formation d'un système plus froid et donc moins enclin à fragmenter.

Cette diminution de la fragmentation, plus marquée pour les petits fragments, suggère bien que l'une des voies principales de fragmentation découle de la perte successive de HCN neutres, demandant chaque fois un peu d'énergie. Les agrégats ont en effet la possibilité de fissionner ou d'évaporer des molécules neutres pour libérer l'excès d'énergie transféré pendant la collision. La molécule d'adénine qui en résultera aura donc en moyenne moins d'énergie interne et sa fragmentation, si elle intervient, sera d'autant moins importante. Ceci est renforcé pour les voies dont la barrière de dissociation est forte.

Enfin, si l'on considère qu'une partie des petits fragments découle en réalité de la multi-ionisation de la molécule, la répartition de la charge sur l'agrégat conduit alors également à une diminution de ces voies de fragmentation.

9.3 Synthèse de l'effet de l'environnement sur la fragmentation et l'ionisation

Différents effets de l'environnement ont été mis en évidence tout au long de ce chapitre. Il a été montré que ce premier environnement à l'échelle moléculaire que constitue

l'agrégat pour la molécule pouvait tantôt la protéger, tantôt la rendre plus fragile.

Ainsi, dans le cas de l'étude de la glycine et de la valine, l'agrégat conduit à une diminution de la cassure de la liaison $C - C_\alpha$ et donc à une diminution globale de la fragmentation. De façon encore plus marquée, dans le cas de la valine, c'est finalement la présence de l'agrégat qui permet l'observation du monomère ionisé pourtant absent du spectre de la molécule isolée. De fait, l'agrégat va être capable de dissiper une partie de l'énergie transférée durant la collision par suite de fissions et d'évaporations de molécules constituant l'agrégat. Enfin, en permettant la répartition de la charge sur l'ensemble des molécules qui le constituent, l'agrégat inhibe la formation du cation $COOH^+$ et contribue donc à la fermeture de certaines voies de fragmentation.

Ces résultats renvoient, dans une certaine mesure, à la question des dommages d'irradiations des tissus vivants. Les molécules ne s'y trouvent jamais isolées et vont donc bénéficier de cet effet protecteur de l'environnement, au sein même de la cellule.

Ce comportement protecteur se retrouve en partie lors des expériences menées sur l'adénine où la fragmentation globale apparaît diminuée dans le cas des agrégats, comparativement au cas de la molécule isolée. Toutefois, de façon plus surprenante, l'agrégat vient aussi fragiliser certaines liaisons de la molécule (notamment la liaison $C - NH_2$). Cette fragilisation peut être réduite par l'ajout de molécules d'eau dans l'agrégat d'adénine. Dès lors, la fragmentation globale, de même que la cassure de la liaison $C - NH_2$, baissent de façon significative.

Une fois de plus, ces résultats soulignent l'importance de ces études pour la compréhension des mécanismes qui régissent l'endommagement du vivant lors de l'irradiation. Le fait que quelques molécules d'eau permettent par exemple une telle modification de nos spectres de fragmentation souligne l'importance du solvant majoritaire de notre corps lors de l'irradiation.

Enfin, il semble qu'au delà de cet effet protecteur, ce dernier environnement (agrégats mixtes d'adénine et d'eau) induise également une certaine chimie au niveau de la molécule par un transfert de proton de l'eau vers la base.

10 Réaction chimique induite

Ce chapitre, dans le prolongement des précédents, présente l'étude de l'interaction de molécules d'intérêt biologique avec des ions multichargés (voir partie 5.2.1). Le cas particulier de deux conformères de l'alanine sera discuté. L'étude de ces molécules isolées en phase gazeuse a déjà donné lieu à plusieurs articles [107, 137] et un bref rappel de ces résultats sera présenté ici avant d'étudier le cas des agrégats de ces molécules. L'ensemble sera présenté en suivant l'ordre chronologique de nos recherches pour tenter de rendre compte de l'évolution de nos questionnements.

Au delà de la fragmentation de la molécule au regard de ces différents environnements (molécule isolée ou dans un agrégat), discutés précédemment, ce chapitre va s'intéresser à un autre effet en étudiant une réaction chimique induite par l'interaction avec des ions multichargés. Le cas particulier de la formation de la liaison peptidique entre acides aminés sera ainsi discuté.

Ces travaux ont été effectués en collaboration avec le groupe de T. Schlathölter¹. Il s'agissait, au départ, d'étudier et de comprendre l'effet de l'isomérisation sur la fragmentation de la molécule d'alanine. Deux conformères de position ont donc été choisis : l' α - et la β -alanine (voir figure 10.1)

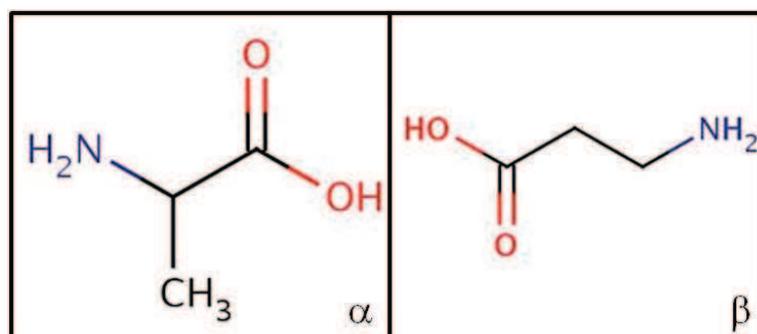


FIGURE 10.1: Formules semi-développées des molécules d' α - et de β -alanine (respectivement à gauche et à droite).

Ces deux molécules sont des acides aminés et présentent donc un groupement carboxyle à l'une des extrémités ($-\text{COOH}$) et un groupement amine à l'autre ($-\text{NH}_2$). Ce dernier vient s'attacher sur le carbone α ou le carbone β de la molécule, expliquant le nom de ces deux conformères. Si la première (α -alanine) est un acide aminé non essentiel (qui peut être synthétisé dans le corps) jouant un rôle plus ou moins direct dans un grand nombre de réactions métaboliques (notamment la protéogénèse), la suivante (β -alanine) est particulièrement connue des sportifs pour indirectement limiter la fatigue musculaire.

1. groupe de physique atomiques et moléculaire de KVI, Université de Groningen, Pays-Bas

10.1 Cas des molécules isolées

En 2007, l'équipe AMA (Atomes Molécules Agrégats du CIMAP, à CAEN) commence une série d'expériences en collaboration avec l'équipe de T. Schlathölter aux Pays-Bas sur l'interaction entre un faisceau d'ions multichargés et des molécules isolées d' α - et de β -alanine. La figure 10.2 présente les spectres typiques obtenus après interaction avec des ions O^{6+} à 90 keV. Ces résultats ont déjà été décrits en détail [107,137] et il ne s'agit ici que d'en rappeler les points importants.

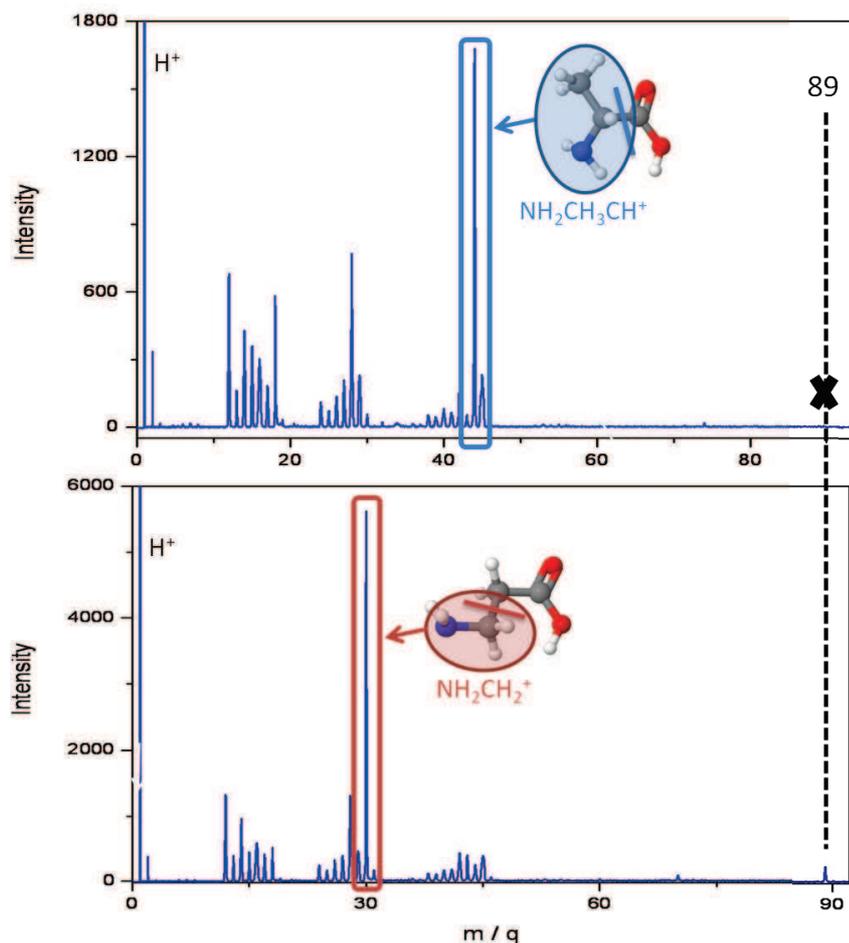


FIGURE 10.2: Spectres en m/q des produits cationiques issus de l'interaction entre un faisceau d'ions O^{6+} à 90 keV et des molécules isolées d' α - et de β -alanine (respectivement haut et bas).

On remarque d'abord que le pic correspondant à la molécule intacte simplement ionisée ($m/q = 89$) n'est pas présent dans le cas de l' α -alanine et que son importance relative est très faible dans le cas de la β -alanine. La fragmentation domine donc l'ensemble du spectre, se traduisant par un grand nombre de pics correspondant à des masses inférieures à celle de la molécule intacte (lorsqu'elle est présente). Les spectres présentent notamment trois groupements de pics :

- à $m/q < 20$: cette partie présente les pics correspondant à l'atomisation de la

molécule ainsi qu'au signal résultant de l'ionisation du gaz résiduel.

- autour de $m/q = 28$: cette partie regroupe les fragments qui contiennent deux atomes lourds (carbone, azote ou oxygène). C'est dans cette zone que se trouve le fragment majoritaire de la β -alanine ($NH_2CH_2^+$).
- autour de $m/q = 40$: les fragments ont ici 3 atomes lourds. C'est là que se trouve le pic majoritaire du spectre d' α -alanine ($NH_2CH_3CH^+$) ainsi que le pic correspondant au fragment $COOH^+$ à $m/q = 45$.

La grande quantité de fragments et leur importance par rapport au signal de la molécule intacte montre la faible résistance de la molécule vis-à-vis du transfert d'énergie lors de la collision. La molécule ne peut pas à s'accommoder de l'excès d'énergie interne, et, devenue instable, elle fragmente. Sur le spectre, un fragment dominant peut être distingué pour chacune des molécules :

- $NH_2CH_3CH^+$ ($m/q = 44$) qui correspond à la cassure de la liaison $C - C_\alpha$ de la molécule d' α -alanine et où la charge vient se localiser sur la partie contenant le groupement amine.
- $NH_2CH_2^+$ ($m/q = 30$) correspondant cette fois à la cassure de la liaison $C_\alpha - C_\beta$ de la molécule de β -alanine et où la charge vient là aussi se localiser sur la partie contenant le groupement NH_2 .

Les résultats obtenus pour la molécule d' α -alanine se trouvent en accord avec les prévisions théoriques présentées dans le chapitre précédent et données par Gil et ses collaborateurs [109] où la cassure de la liaison $C - C_\alpha$ et la localisation de la charge avec le groupement amine sont attendues comme étant la voie de dissociation majoritaire. De plus, la détermination de l'HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital* ou orbitale occupée la plus haute) obtenue par le calcul sur les molécules d' α - et de β -alanine neutres et chargées une fois, est en accord avec nos résultats [107] (voir figure 10.3).

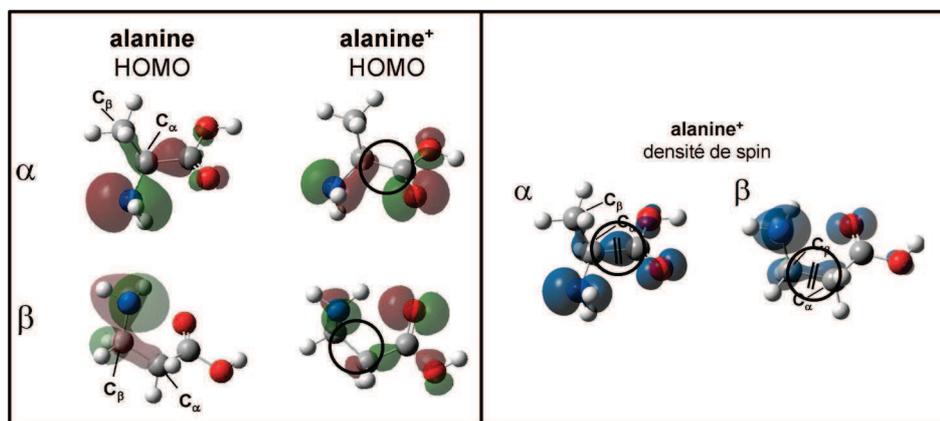


FIGURE 10.3: Calcul de l'HOMO des molécules d' α - et de β -alanine neutres et cationiques (carré de gauche). Calcul de la densité de spin sur les cations d' α et de β -alanine (carré de droite) [137].

Il apparait que la densité électronique de l'HOMO du cation présente une densité électronique faible au niveau du clivage majoritairement observée si on le compare au cas de la molécule neutre. De plus, la densité de spin calculée confirme bien la forte probabilité de présence de l'électron apparié au niveau de la liaison. Cela va dans le sens

de nos observations et c'est donc bien la clivage de la liaison la plus faible de l'espèce considérée qui intervient majoritairement.

L'importance du nuage électronique autour du groupement amine suggère quant à elle que le fragment cationique sera majoritairement celui qui contient ce groupement. La théorie rejoint donc l'expérience et toutes deux distinguent le comportement des deux molécules lors de leurs fragmentations. Il y a donc bien un effet d'isomérisation sur la fragmentation de la molécule.

10.2 Cas des agrégats

L'étude du cas des agrégats constituait la suite logique des expériences réalisées sur les molécules isolées en collaboration avec l'équipe de T. Schlathölter. Ceux-ci représentent un premier environnement autour de la molécule (de façon similaire à ce qui a été montré précédemment) et une nouvelle série de mesures a donc été réalisée en utilisant la source d'agrégation gazeuse de Caen. Il s'agissait alors de déterminer, entre autres, si la conformation avait là aussi une influence sur les résultats de l'interaction.

10.2.1 α -alanine

La figure 10.4 présente un spectre typique obtenu après interaction d'une distribution d'agrégats neutres d' α -alanine avec un faisceau d'ions O^{6+} à 90 keV. On constate immédiatement la formation de différents agrégats cationiques sur le spectre, depuis le monomère jusqu'au dodécamère (la statistique manquant pour voir au delà). L'intensité des agrégats diminue fortement avec la taille de ceux-ci. Le spectre présente également une série de pics attribués aux agrégats doublement chargés (pointillés rouge sur la figure) apparaissant dès la plus petite taille observable ($n = 3$ molécules, $n = 2$ ayant le même rapport m/q que le monomère) et des agrégats triplement chargés (point bleu) dont la taille d'apparition est $n \approx 23$.

La présence du pic signant de la molécule intacte constitue déjà un résultat intéressant. En effet, celle-ci, simplement ionisée, est absente du spectre obtenu avec la molécule isolée (voir figure 10.2) car l'énergie transférée lors de la collision par l'ion est trop grande. Cependant, dans le cas des agrégats, le monomère se situe au bout d'une chaîne de fission et d'évaporation où des agrégats de plus grande taille ont pu évacuer l'excédent. L'ensemble de l'énergie transférée lors de la collision va donc être réparti sur l'agrégat. La molécule est alors plus stable du fait de sa plus faible énergie interne et peut donc survivre et être observée à l'échelle de temps de quelques microsecondes.

10.2.2 β -alanine

La figure 10.5 présente les résultats d'une expérience similaire mais pour des agrégats de β -alanine. L'importance relative du monomère dans le spectre ($m/q = 89$) est forte comparée au cas de la molécule isolée. Cela s'explique de nouveau exactement comme dans le cas de l' α -alanine : par suite d'évaporation et de fission qui refroidissent l'agrégat. Il se forme ainsi une série de pics correspondant aux agrégats simplement ionisés allant du monomère à l'heptamère.

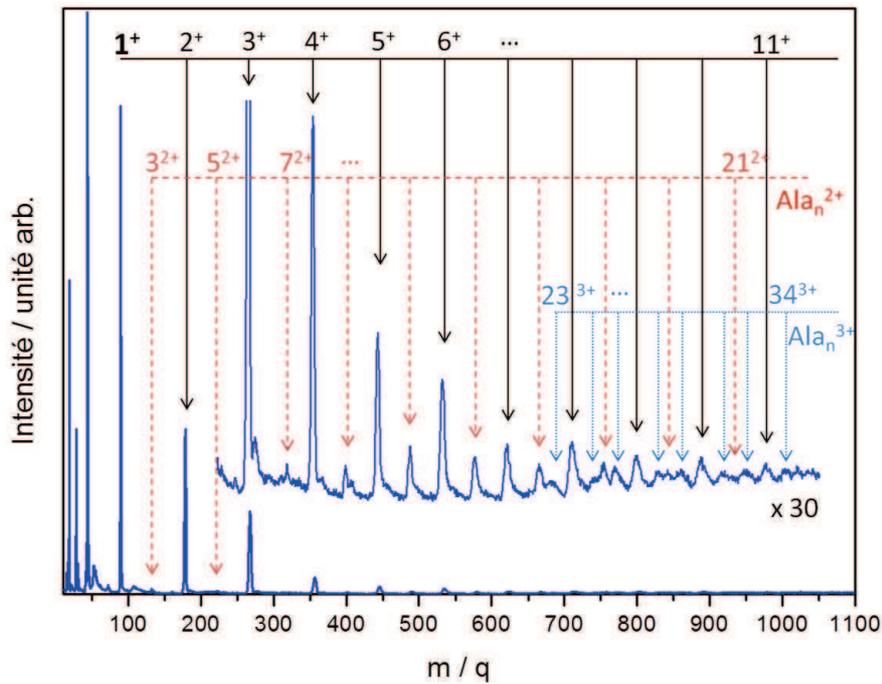


FIGURE 10.4: Spectre typique obtenu après interaction d'une distribution d'agrégats neutres d' α -alanine avec un faisceau d'ions O^{6+} à 90 keV.

Une série de pics correspondant aux agrégats doublement chargés est présente sur le spectre, débutant dès la plus petite taille mesurable ($n = 3$) mais la statistique ne permet pas de voir les dications de taille supérieure à 7. En revanche, aucun agrégat triplement chargé n'apparaît sur le spectre.

Une fois l'identification des différents cations et dications faite, il apparaît clairement, contrairement au cas de l' α -alanine, un ensemble de pics non expliqués par le chargement multiple des agrégats. Ces pics inexpliqués sont distants entre eux de 18 (ou 17) unités de masse. Du fait de la résolution du spectromètre de masse et compte-tenu de la largeur des pics il n'est pas possible de distinguer un écart d'une unité de masse ici, ce qui rend donc l'identification incertaine.

Toutefois, comme l'illustre la figure 10.6 obtenue lors d'une autre série de mesures, ces pics semblent s'organiser en séries précédant chaque pics correspondant à un agrégat constitué uniquement de molécules d'alanine intactes. Le nombre de pics est apparemment corrélé à la taille de l'agrégat en question (2 pics devant le dimère, 3 devant le trimère, 4 devant le tétramère... comme sur la figure 10.6). Chaque série présente de fait un nombre de pics égal à la taille de l'agrégat qui la suit, ce qui permet de lever cette incertitude sur l'écart de 17 ou 18 unité de masse. Il ne s'agit plus de différencier deux pics séparés d'une unité de masse mais, pour le quatrième pic de la série, de distinguer 4 unités de masse : ce que permet la résolution en masse du spectromètre.

Il s'agit donc de comprendre le ou les phénomènes sous-jacents ayant pu conduire à l'apparition de ces pics sur nos spectres de β -alanine. Il vient alors plusieurs explications envisageables à ce stade de notre étude. En effet, l'ensemble de ces séries peut être

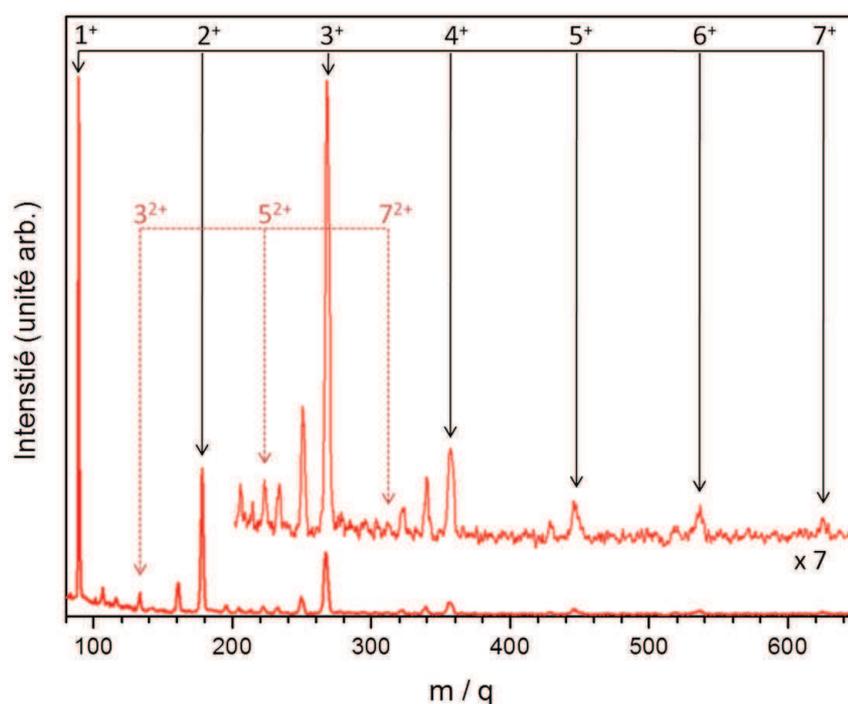


FIGURE 10.5: Spectre typique obtenu après interaction d'une distribution d'agrégats neutres de β -alanine avec un faisceau d'ions O^{6+} à 90 keV.

considéré comme la traduction de trois « phénomènes » qui conduiraient à la formation d'espèces aux masses observées :

- une pollution de notre échantillon,
- une fragmentation différente de celle envisagée jusque là,
- une réaction chimique induite au sein même de l'agrégat.

Pollution

Une pollution de l'échantillon de poudre de β -alanine aurait pu être responsable de la présence de pics supplémentaires sur nos spectres. En effet, si une espèce non désirée se retrouve dans la poudre utilisée dans le four de la source d'agrégation gazeuse, elle pourra :

- être évaporée et guidée jusqu'à la zone de collision pour y être ionisée et apparaître sur le spectre.
- former des agrégats, soit purs soit mélangés avec la β -alanine, dont la contribution viendra se superposer à celle des agrégats ne contenant que de l'alanine.

En effet, les spectres obtenus avec la molécule isolée (avec les mêmes échantillons de poudre) ne présentent aucun pic de masse supérieure à la molécule ce qui laisse penser que cette pollution (si elle existe) s'agrègerait dans la source pour donner lieu aux espèces de la forme X_nP_m (X est le nombre de molécules d'alanine, P le nombre de molécules de polluant). Le spectre de masse alors obtenu présenterait les même séries de pics pour peu que l'espèce polluante ait une masse inférieure de 18 u.m.a à celle de l'alanine, ce qui est peut probable.

Pourtant, l'expérience présente les mêmes résultats quelle que soit l'origine de la

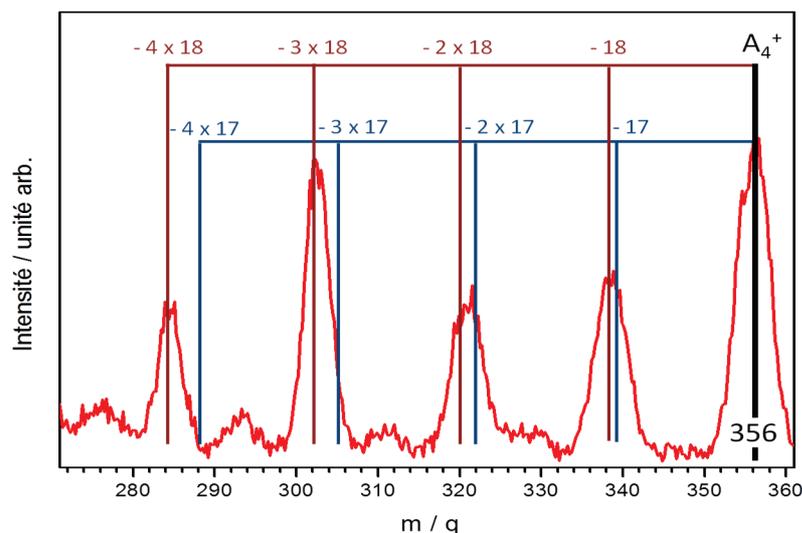


FIGURE 10.6: Spectre montrant l'écart entre chaque pic appartenant à une série précédant le tetramère de β -alanine.

poudre utilisée (SigmaAldrich 99% ou obtenue auprès d'un laboratoire caennais²) alors qu'il est très peu probable que les pollutions de synthèse soient identiques.

Enfin, comme on peut le voir sur la figure 10.6, la distribution des séries observées présente des variations dans son intensité difficilement explicables et non statistiques.

Tout cela rend donc plus qu'improbable l'hypothèse d'une pollution comme explication de ce « phénomène ».

Fragmentation

L'hypothèse d'une fragmentation lors du chauffage de la molécule dans le four pourrait expliquer le spectre de masse que nous observons. En effet, si certaines molécules excitées vibrationnellement lors de leur évaporation cassent et perdent 18 unités de masse puis viennent s'agréger, il devient possible d'expliquer le spectre. Une telle hypothèse expliquerait que des agrégats se forment alors à partir d'un mélange de molécules intactes et de molécules fragmentées sous la forme $X_n Y_m$. X serait le nombre de molécules intactes et Y le nombre de molécules fragmentées. Les agrégats viendraient ensuite interagir avec le faisceau d'ions pour conduire aux différents pics observés.

La perte de 18 unités de masse sur la molécule pose cependant problème. A priori, une perte de 17 unités de masse est la traduction de la cassure de la liaison $C - OH$ au sein du groupement carboxyle. Si elle s'accompagne de la perte d'un hydrogène, elle correspond alors à une perte de 18 u.m.a et implique donc la rupture de deux liaisons covalentes. Cependant, il serait surprenant que le chauffage dans le four, s'il provoque une cassure, se limite exclusivement à la liaison $C - OH$ du groupement carboxyle (qui n'est pas la liaison la plus faible de la molécule) et à la perte d'un unique hydrogène. Des calculs théoriques préliminaires évoqués dans l'introduction ont de plus mis en évidence que l'énergie nécessaire à la fragmentation de ces liaisons était de l'ordre de la dizaine d'électronvolts. Ce nombre est bien supérieur à l'énergie que peut apporter le four par

2. CERMN

chauffage ($E \approx 1$ eV).

En outre, les récents spectres obtenus avec la molécule isolée de β -alanine (septembre 2011) ont mis en évidence avec certitude qu'aucun pic correspondant à la masse de la molécule moins 18 u.m.a n'apparaît sur le spectre alors que la température du four était dans la même gamme que lors des expériences avec les agrégats. Si la molécule se fragmentait, un pic aurait dû être présent.

De plus, cette hypothèse de la fragmentation explique une fois de plus difficilement les variations d'intensité non statistiques des séries observées.

Enfin, plutôt que la formation d'agrégats mixtes $X_n Y_m$ suivie de leur interaction avec les ions, on peut envisager que l'interaction elle-même est responsable de la fragmentation au sein d'agrégats purs de β -alanine. La liaison $C - OH$ viendrait à céder avant même les liaisons intermoléculaires pourtant plus faibles (quelques centaines de meV pour les liaisons hydrogène contre plus de 3,5 eV pour une liaison $C - O$). C'est très peu probable.

Réaction chimique

Une réaction de polymérisation rendue possible grâce à l'excès d'énergie déposé lors de la collision au sein de l'agrégat pourrait conduire à une perte de masse. Elle s'accompagnerait de la formation d'une liaison covalente entre les différentes molécules. Cette formation pourrait alors expliquer les variations dans le comportement des « agrégats » (intensité fluctuant suivant le projectile par exemple) puisqu'ils seraient de fait composés d'espèces différentes. La suite de ce chapitre étaiera cette hypothèse et considèrera la formation d'une ou plusieurs liaisons peptidiques (liaisons entre les acides aminés dans les protéines entre les groupements amine et carboxyle) comme la piste la plus vraisemblable.

10.3 La liaison peptidique

La liaison peptidique est celle qui relie entre eux deux acides aminés au sein d'un peptide ou d'une protéine. Elle est principalement réalisée dans l'organisme au niveau des ribosomes, lors de la traduction de l'Acide Ribo-Nucléique (ARN) [117]. Elle constitue un lien entre le groupement carboxyle d'un premier acide aminé et le groupement amine d'un second. Elle implique alors la perte du groupement $-OH$ sur l'un et d'un H sur l'autre, conduisant à la formation d'une molécule d'eau dans le milieu condensé que constitue la cellule. C'est une liaison simple à caractère double qui empêche toute rotation et joue donc un rôle essentiel dans la structure finale de la protéine. La figure 10.7 présente un schéma de principe de la formation de la liaison peptidique entre deux β -alanines. Le carbone est en gris, l'oxygène en rouge, l'azote en violet et l'hydrogène en blanc.

Cette liaison, de par son rôle majeur dans la chimie du vivant, constitue un aspect essentiel de cette dernière et fait écho à plusieurs motivations de recherches. Rappelons par exemple simplement que les ions peuvent être utilisés lors du séquençage de protéines pour lequel la cassure de cette liaison est cruciale [107]. De même, il vient à l'esprit l'hypothèse de l'origine exogène de la vie qui considère que des molécules prébiotiques (à l'origine des constituants du vivant) nous viendraient du milieu interstellaire. L'interaction de telles molécules (comme la glycine, présente dans les météorites ou la queue

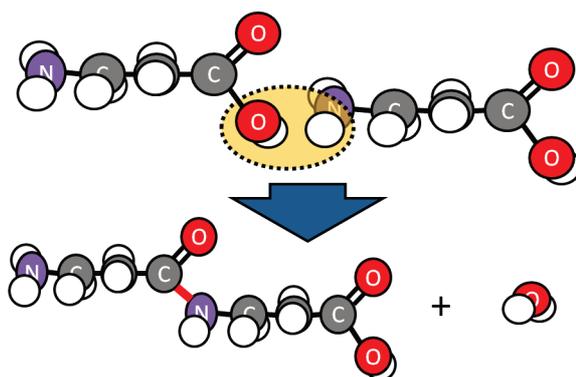


FIGURE 10.7: Schéma de principe de la formation de la liaison peptidique entre deux β -alanines.

des comètes [14, 18]) avec le rayonnement présent dans l'espace peut constituer un pas important dans la compréhension de l'apparition de la vie sur terre, si cette interaction peut conduire à la formation de molécules plus complexes.

10.3.1 Nomenclature

Si les différentes séries de pics s'expliquent par la formation d'un nombre variable de liaisons peptidiques, il peut être intéressant d'introduire une nouvelle dénomination pour faciliter la lecture et l'interprétation des spectres. En effet, la nomenclature habituellement utilisée en biologie, si elle reste claire, devient rapidement lourde et ne permet pas de rendre compte de tous les aspects de la formation de la liaison peptidique induite par les ions au sein de l'agrégat. Ainsi, les pics seront identifiés comme suit :

$$X, Y, Z^{q+} \quad (10.1)$$

avec X le nombre de molécules de β -alanine dans l'agrégat considéré, Y le nombre de liaisons peptidiques au sein de cet agrégat, Z le nombre de liaisons peptidiques fragmentées (liaisons formées ayant cassées) et q la charge du système. Ainsi, le trimère et le tripeptide d'alanine seront notés $3, 0, 0^+$ et $3, 2, 0^+$ respectivement. Notons qu'il n'est pas possible de former plus de $(n - 1)$ liaisons dans un agrégat de taille n dans le cas où il est non cyclique, c'est à dire dont l'une des extrémités n'interagit pas avec l'autre.

En outre, si la réaction chimique est incomplète et que le groupement OH se sépare sans qu'il y ait formation de liaisons, ou si « l'agrégat » vient en réalité d'un système plus grand, fragmenté au niveau d'une liaison peptidique, alors « l'agrégat » apparaît comme ayant perdu un groupement $-OH$, débouchant sur une perte de 17 unités de masse contre 18 pour une formation complète. C'est de cela qu'il est question plus haut lorsque l'on parle de liaison fragmentée. Il n'est pas possible d'obtenir plus d'une liaison fragmentée par agrégat et Z vaut donc 0 ou 1 (respectivement absence ou présence d'une liaison fragmentée).

Cette nomenclature permet ainsi d'identifier l'ensemble des pics observés sur nos spectres. Une analyse fine de l'un d'eux est donnée en exemple dans la partie suivante. Certains aspects de la formation de liaisons peptidiques semble alors déjà ressortir.

10.3.2 Identification et premières conclusions

La figure 10.8 montre une partie d'un spectre obtenu après interaction d'un faisceau d'ions He^{2+} et d'une distribution d'agrégats neutres de β -alanine. Les séries attribuées à la formation de liaisons peptidiques y sont particulièrement visibles et les pics correspondant aux différents polypeptides « purs » sont encadrés.

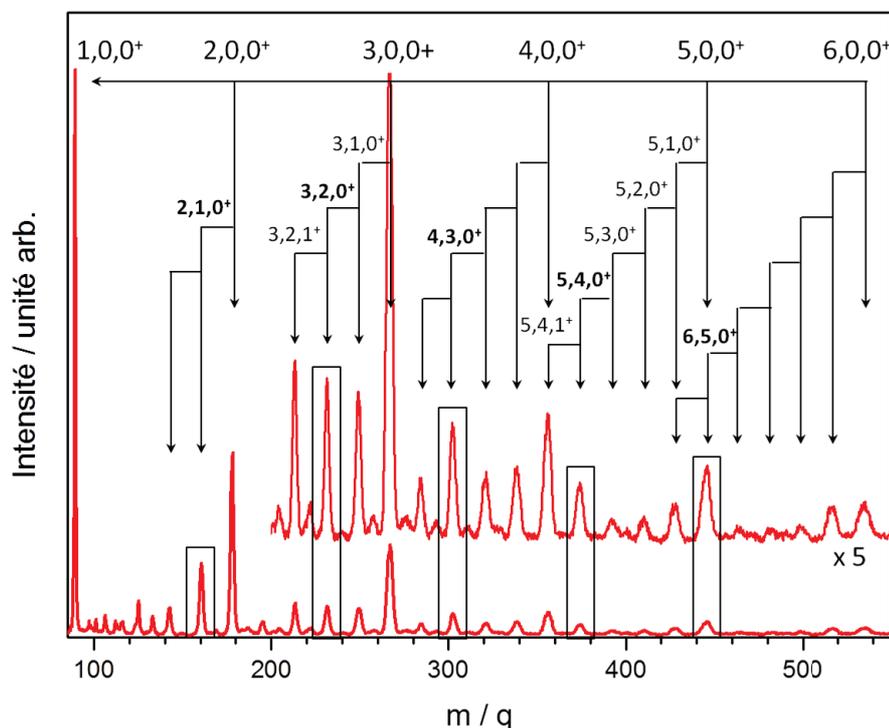


FIGURE 10.8: Spectre de masse obtenu après interaction d'une distribution d'agrégats neutres de β -alanine avec un faisceau d'ions He^{2+} à 35 keV.

Le spectre se limite à la partie entre le monomère et l'hexamère. Les agrégats purs ($X, 0, 0^+$, sans liaison peptidique) de même que les différentes séries sont identifiés. Des séries doublement chargées apparaissent également sur le spectre, et ce dès la première taille visible ($X = 3$) mais ne sont pas explicitement indiquées pour des raisons de lisibilité. On observe de plus que les agrégats purs dominent encore le spectre : les pics de X -mères sont plus intenses que leurs voisins.

L'intensité au sein d'une même série semble quant à elle diminuer à mesure que le nombre de liaisons peptidiques augmente (c'est-à-dire que Y augmente et donc que la masse diminue). Il existe cependant deux exceptions à cette tendance :

- Le pic du tripeptide ayant perdu son groupement $-\text{OH}$ ($3, 2, 1^+$) semble plus intense que les autres pics de la série. Toutefois, si l'on soustrait la contribution de la série 5, Y, Z^{2+} (contribution estimée à la moyenne des pics en amont et en aval dans la série) on constate que le pic concerné est en fait moins intense.
- Le tripeptide, le tétrapeptide et le pentapeptide (respectivement $3, 2, 0^+$, $4, 3, 0^+$ et $5, 4, 0^+$) présentent des intensités supérieures à leurs voisins. Ces systèmes, liés de façon uniquement covalente, constituent en effet des édifices plus stables (c'est-à-

dire plus stables que les autres espèces de la série) et s'accommodent donc d'un excédant plus important d'énergie interne. Ils sont donc les plus intenses.

Néanmoins ces « systèmes magiques » que sont les peptides ne ressortent pas de façon aussi marquée sur les spectres obtenus avec O^{6+} . Cela laisse penser que le projectile, parce qu'il influe sur l'énergie et la charge transférées durant la collision, joue un rôle important sur la formation des liaisons peptidiques. Ce point sera développé dans la suite de ce chapitre.

L'hypothèse de la formation de liaisons peptidiques semble se justifier. Elle explique la longueur des séries observées devant chaque agrégat pur ($X \geq Y + Z$) ainsi que l'ensemble des pics de nos spectres. La figure 10.9 montre par exemple en haut un zoom effectué entre les rapports $m/q = 100$ et 185 (zone entre le monomère et le dimère) et en bas un zoom plus fort encore sur la série du pentamère chargé trois fois.

Au-delà de l'identification de tous les pics du spectre (qui constitue déjà un argument de poids en faveur de la formation de la liaison peptidique), cette hypothèse justifie aussi la plus grande stabilité d'espèces identifiées comme des peptides vis-à-vis de la charge. Ce dernier point est illustré par la figure 10.9 (bas) pour des masses entre le tripeptide doublement chargé ($3, 2, 0^{2+}$ à $m/q = 115, 5$) et le dipeptide monochargé ($2, 1, 0^+$ à $m/q = 160$). Les points expérimentaux sont en vert et les pics ont été ajustés par des gaussiennes (rouge pour la série $5, Y, Z^{3+}$ et rouge pâle pour les autres). La somme des gaussiennes est donnée en bleu. Les largeurs à mi-hauteur (FWHM : *Full Width at Half Maximum*) des gaussiennes sont constantes pour une même série.

Dans la série $5, Y, Z^{3+}$, on n'observe ni l'agrégat moléculaire $5, 0, 0^{3+}$ (qui serait à côté du $4, 3, 0^{2+}$ et alors même que la taille d'apparition de l'agrégat chargé trois fois est de $n = 23$ pour l' α -alanine) ni le tripeptide accompagné du dimère ($5, 2, 0^{3+}$). Cela suggère qu'il n'y a pas non plus de $5, 1, 0^{3+}$ même si l'éventuelle contribution serait noyée dans le $2, 1, 1^+$. C'est un résultat logique puisque les molécules seraient alors liées entre elles par des liaisons hydrogène, trop faibles pour résister à la répulsion coulombienne engendrée par les trois charges.

En revanche, le pic attribué au pentapeptide ($5, 4, 0^{3+}$) est bien présent sur le spectre, indiquant que les liaisons qui le constituent sont plus fortes : ce sont des liaisons covalentes. Ce résultat se retrouve expérimentalement avec la série $4, X, Y^{3+}$ où le térapeptide est présent alors que le tétramère ne l'est pas. Des calculs théoriques reproduisent également ce résultat et l'on constate que le tétramère explose sous l'effet de la répulsion coulombienne tandis que le térapeptide reste intact. Il peut accommoder plus facilement une charge élevée étant un système covalent.

Cette stabilité accrue vis-à-vis de la charge rejoint l'observation faite sur le spectre où l'intensité des pics correspondant aux espèces $X, X - 1, Z^+$ était supérieure à celle de leurs voisins. Ce résultat va bien dans le sens de la formation de liaisons peptidiques induites par l'interaction avec les ions multichargés au sein de l'agrégat. De fait, cet « agrégat » atteint un maximum de stabilité lorsque les molécules qui le composent sont liées uniquement par des liaisons covalentes, autrement dit lorsqu'il se forme un polypeptide.

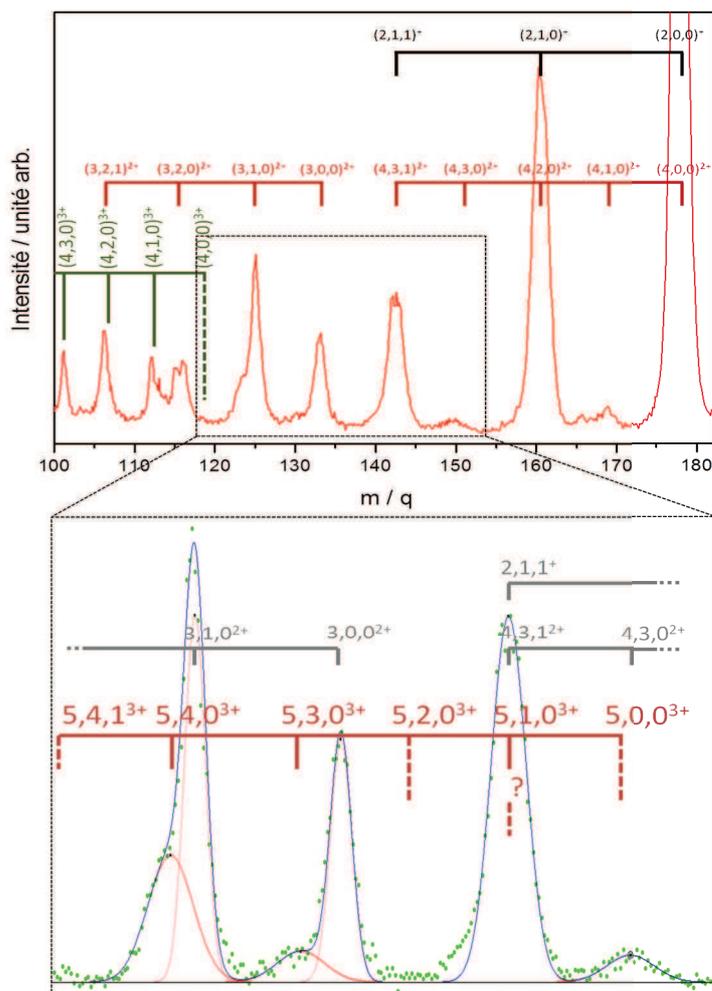


FIGURE 10.9: Spectre de masse obtenu après interaction d'une distribution d'agrégats neutres de β -alanine avec un faisceau d'ions He^{2+} à 35 keV : l'hypothèse de la liaison peptidique permet d'expliquer tous les pics du spectre (haut). Mise en évidence de la stabilité des systèmes covalents que sont les polypeptides vis-à-vis de la charge (bas).

10.3.3 Étude de la formation de la liaison peptidique

Si la formation de liaisons peptidiques dans les agrégats de β -alanine apparaît clairement, il reste encore à en étudier l'origine et l'évolution selon différentes conditions expérimentales telles que le projectile choisi. En effet, ce processus (formation de liaison) permet d'évacuer une partie de l'énergie interne du système tout comme le font l'évaporation ou la fission (responsables de la stabilité du monomère d' α -alanine par exemple, voir partie 10.4 page 125). Par exemple, l'ionisation de la cible par une simple capture électronique conduit à un transfert d'énergie plus grand en moyenne avec l'hélium (chargé 2 fois, 35 keV) qu'avec l'oxygène (chargé 6 fois, 90 keV) et pourtant la formation des liaisons peptidiques est alors plus marquée avec les ions He^{2+} . On peut penser qu'un transfert d'énergie plus grand favorise donc d'une certaine façon la formation des systèmes présentant le plus grand nombre de liaisons peptidiques. Ces systèmes liés de

Ions	$I_{\text{liaisons peptidiques}}/I_{n\text{-mere}}$
He ²⁺	0,5
O ⁶⁺	0,2
Xe ²⁰⁺	0,1

TABLE 10.1: Rapports de l'intensité des pics attribués à la formation de liaisons peptidiques sur l'intensité de la série d'agrégats cationiques obtenus pour différents projectiles.

façon covalente qui utiliseront un maximum d'énergie interne pour leur formation et qui, finalement, seront des édifices plus stables. Il reste cependant nécessaire de poursuivre les investigations pour mieux comprendre ce phénomène.

De même, la formation de liaisons peptidiques peut dépendre également de la distribution d'agrégats initiale. De gros peptides se forment à partir de nombreuses molécules, c'est-à-dire à partir de plus gros agrégats. De fait, il n'est mathématiquement pas possible de former par exemple un tétrapeptide avec moins de 4 molécules dans l'agrégat initial. Il s'agit donc une fois de plus de poursuivre notre étude pour mesurer l'importance de ce paramètre (tailles des agrégats) sur les mécanismes de formation de la liaison peptidique.

La suite de ce chapitre est là pour apporter des éléments de réponse à l'ensemble de ces interrogations.

Influence du projectile

A la suite des expériences sur les agrégats de β -alanine, utilisant différents ions multichargés (He²⁺, O³⁺, O⁶⁺ et Xe²⁰⁺), il est apparu que les séries de pics attribués à la formation de liaisons peptidiques étaient d'autant plus visibles que la charge du projectile utilisé était faible. Ce critère est estimé à partir du rapport des intensités des pics attribués à la formation de liaisons peptidiques sur l'intensité des pics d'agrégats purs de β -alanine. (voir tableau 10.1). Ce processus semble donc plus probable suite à l'interaction avec l'hélium (bien plus présent dans le milieu interstellaire que l'oxygène et a fortiori le xénon) et nous amène à penser que le dépôt d'énergie lors de la collision joue un rôle important dans la formation de liaisons peptidiques. En effet, l'énergie moyenne transférée lors de la collision dépend du paramètre d'impact à une charge et une vitesse données. Un ion Xe²⁰⁺ par exemple pourra capturer des électrons alors qu'il est encore loin de la cible, la laissant beaucoup plus « froide » que dans une collision plus proche (comme c'est le cas avec un ion He²⁺).

La figure 10.10 présente trois spectres obtenus après interaction d'une distribution d'agrégats de β -alanine et de faisceaux d'ions Xe²⁰⁺, O⁶⁺ et He²⁺ (respectivement du haut vers le bas en orange, bleu et rouge). La hauteur du dimère (2,0,0⁺) est normalisée à 80% de l'échelle sur chaque spectre pour plus de lisibilité. La zone d'intérêt se situe ici entre le monomère et le tétramère car l'intensité sur chacun des spectres y est suffisante pour une comparaison des effets des différents projectiles.

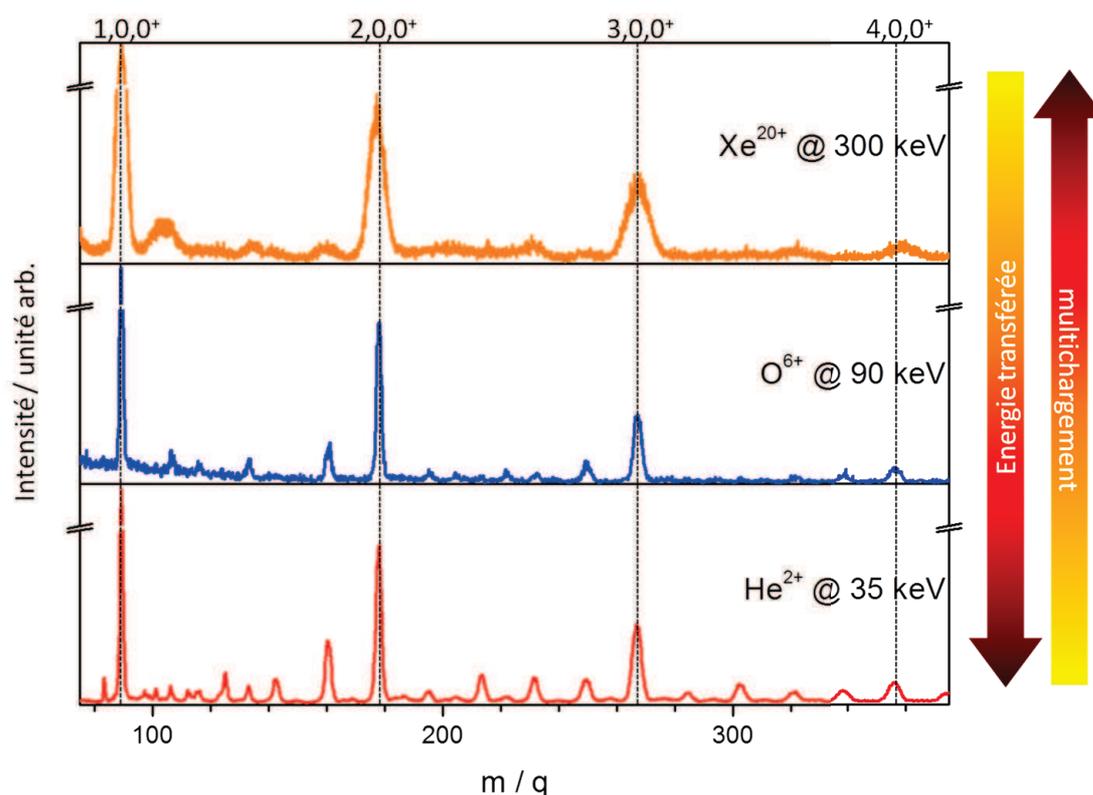


FIGURE 10.10: Spectres en m/q obtenus après interaction d'une distribution d'agrégats neutres de β -alanine avec des faisceaux d'ions Xe^{20+} , O^{6+} et He^{2+} à 300 keV, 90 keV et à 35 keV (respectivement du haut vers le bas).

On observe d'abord avec l'ion Xe^{20+} deux particularités. Premièrement, comme le montrait déjà la table 10.1, la formation de liaisons peptidiques semble plus réduite que dans le cas des autres projectiles. Deuxièmement, les pics sont aussi plus larges, caractérisant une énergie cinétique des espèces observées plus grande. En effet, le xénon étant 20 fois chargé, il va pouvoir arracher un grand nombre d'électrons à la cible qui va exploser sous l'effet de la forte répulsion coulombienne. L'élargissement des pics traduit donc ce phénomène. Les fragments ainsi formés auront une énergie cinétique grande (environ 2 eV pour le dimère contre environ 0,7 eV avec O^{6+} et 0,6 eV avec He^{2+} - voir équation 7.17).

Pour ce qui est des ions O^{6+} et He^{2+} , il semble que la formation de liaisons peptidiques soit d'autant plus efficace que le transfert d'énergie lors de la collision est grand, dès lors qu'il n'y a pas trop de captures multiples (cas du xénon). Ainsi le rapport des intensités du dipeptide sur le dimère (qui constitue une première quantification de la formation de liaisons peptidiques) est plus important dans le cas de l'hélium. Il en va de même pour les rapports tripeptide sur trimère et tetrapeptide sur tetramère comme le présente la table 10.2.

Ce comportement suggère bien qu'il est nécessaire de transférer une quantité suffisante d'énergie durant la collision, en évitant un transfert de charge trop important,

$I_{X,X-1,0}/I_{X,0,0}$	O ⁶⁺	He ²⁺
$X = 2$	0,2	0,4
$X = 3$	0,1	0,3
$X = 4$	< 0,1	0,7

TABLE 10.2: Rapports de l'intensité des pics attribués aux polypeptides sur l'intensité de l'agrégat cationique pur pour différents projectiles.

pour permettre la formation de la liaison peptidique. En outre, cette observation est en adéquation avec les résultats obtenus par calculs théoriques.

Ainsi, près de 10 eV sont nécessaires ne serait-ce que pour casser la liaison $C - OH$ d'un acide aminé et la liaison $H - NH$ d'un autre, avant même que la liaison peptidique ne puisse se former dans un dimère. Ce résultat a été obtenu en comparant l'énergie d'un dimère d'alanine dans la configuration la plus stable trouvée et l'énergie de ce même dimère auquel on a retiré un OH du groupement carboxyle et un H du groupement amine ($MP2//MP2/6-31G(d)$). L'énergie correspondant à ces parties (OH et H) a été déterminée séparément. La valeur obtenue correspond donc finalement bien à une estimation de l'énergie nécessaire à la cassure des liaisons avant la formation d'une liaison peptidique (et donc sans tenir compte du gain d'énergie de celle-ci), avec $E(x)$ l'énergie de x :

$$\Delta E = E(\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{COOH})_2 - [E(\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CO}) + E(\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}) + E(\text{OH}) + E(\text{H})] \quad (10.2)$$

Influence de la taille de la distribution d'agrégats

En augmentant la température du four il est possible d'augmenter la quantité de molécules évaporées par unité de temps et donc d'augmenter la taille moyenne des agrégats en sortie de source (voir partie 7.4 page 61). La figure 10.11 présente quatre spectres obtenus après interaction avec un même faisceau d'ions O³⁺ à 45 keV pour des températures d'environ 150 °C, 170 °C, 190 °C et 225 °C. Cela correspond donc normalement à des distributions initiales contenant des agrégats de plus en plus gros.

Notons que l'intensité a été normalisée à celle du pic le plus important (ici le monomère 1,0,0⁺) pour des raisons de lisibilité. Notons également que les agrégats purs sont ici repérés par des pointillés noirs et que les spectres se bornent à la zone séparant le monomère du trimère pour des raisons de lisibilité. Cependant, le tétramère est parfaitement visible sur tous les spectres.

Les mesures ont été effectuées les unes à la suite des autres et l'intensité du faisceau d'ions n'a quasiment pas varié au cours de l'expérience (contrôle de l'intensité sur une cage de Faraday après le dispositif, cf partie 5.2.1 page 49 et suivantes). De cette façon, il est possible de comparer les variations relatives dans chaque spectre.

Le spectre (1), obtenu à plus basse température, est particulièrement intéressant. Aucun pic correspondant à la formation de liaisons peptidiques n'y est visible. Cela suggère que la distribution d'agrégats est alors trop petite pour permettre à ce processus d'avoir lieu. En effet, jusque là, la seule contrainte était une contrainte logique : il faut

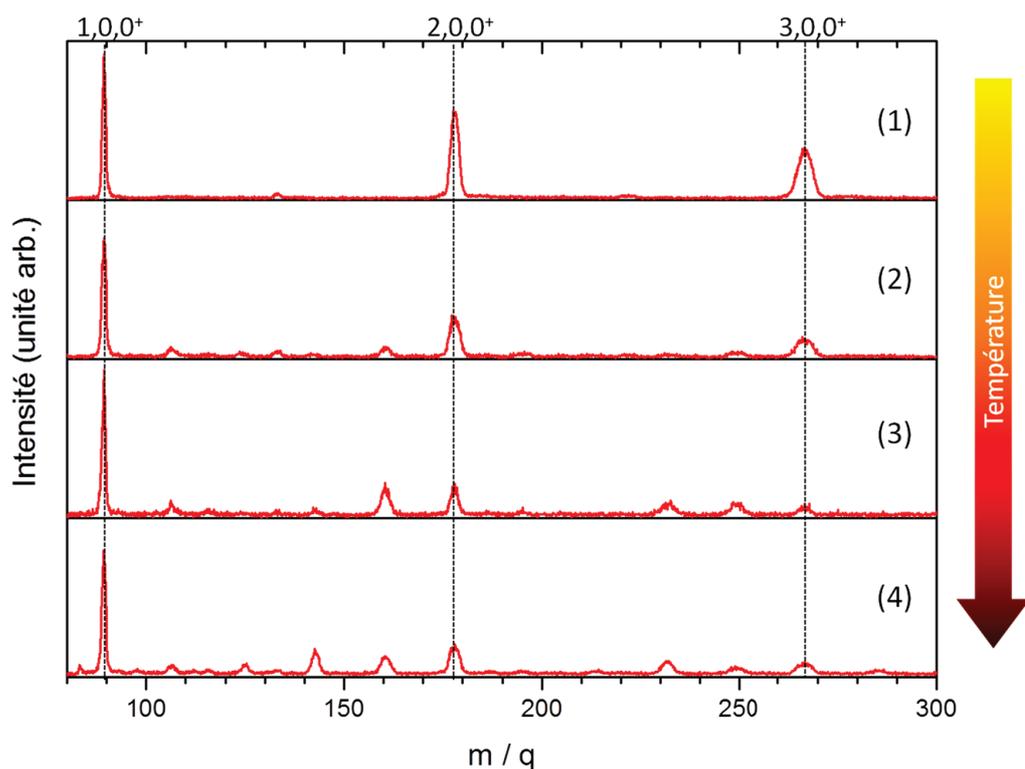


FIGURE 10.11: Spectres en m/q obtenus après interaction de quatre distributions d'agrégats neutres de β -alanine avec un faisceau d'ions O^{3+} à 45 keV : effet de la température du four sur la formation de liaisons peptidiques. (1) $T = 150^\circ C$. (2) $T = 170^\circ C$. (3) $T = 190^\circ C$. (4) $T = 225^\circ C$.

au moins deux molécules pour former un dipeptide, trois pour un tripeptide et ainsi de suite. Toutefois ce spectre nous montre des agrégats cationiques allant jusqu'au tétramère avec une intensité raisonnable. Cela nous apprend qu'il existe une taille minimale en dessous de laquelle il n'est pas possible d'observer la formation de liaisons peptidiques et que cette taille est supérieure à celle envisagée a priori.

Ainsi, il semble que les liaisons se forment dans des agrégats plus gros (autant que l'on puisse en juger : $n = 5$ au minimum d'après le spectre entier) qui vont ensuite fissionner, fragmenter ou évaporer pour conduire à la formation des espèces observées.

Lorsque la température du four augmente, passant de $150^\circ C$ à $170^\circ C$ (mais pas la température des agrégats, qui reste aux alentours de 80 K), la formation de liaisons peptidiques commence. Celle-ci s'accroît ensuite rapidement (spectre (3) - $T = 190^\circ C$) avant d'évoluer moins vite en apparence (spectre (4) - $T = 225^\circ C$). En effet, si l'on considère comme précédemment les rapports d'intensité du dipeptide sur le dimère et du tripeptide sur le trimère comme des mesures efficaces de la formation de liaisons peptidiques (comme dans la table 10.2 page 135), il devient possible de quantifier l'évolution de cette formation (voir tableau 10.3).

De fait, après l'apparition des premières liaisons à la température du four de $170^\circ C$, la formation devient rapidement plus efficace : un facteur 3 entre cette température et $190^\circ C$. Par la suite, les rapports demeurent stables, suggérant, à tort, une saturation

$I_{X,X-1,0}/I_{X,0,0}$	Spectre 1	Spectre 2	Spectre 3	Spectre 4
X= 2	0	0,3	0,9	0,8
X= 3	0	0,3	1	1

TABLE 10.3: Rapport de l'intensité des pics attribués aux polypeptides sur l'intensité de l'agrégat cationique pur pour différentes températures du four.

du phénomène. D'abord l'importance relative du $2,1,1^+$, du $3,2,1^+$ et du $4,3,1^+$ (respectivement $m/q = 143$, 214 et 285 u.m.a) augmente nettement d'un spectre à l'autre. En outre, la contribution des espèces multichargées change de façon significative. La figure 10.12 présente un zoom des spectres 3 et 4 sur la zone entre $m/q = 100$ et 140 . Les données expérimentales sont en rouge et le signal est « lissé » (courbe noire) pour améliorer la lisibilité.

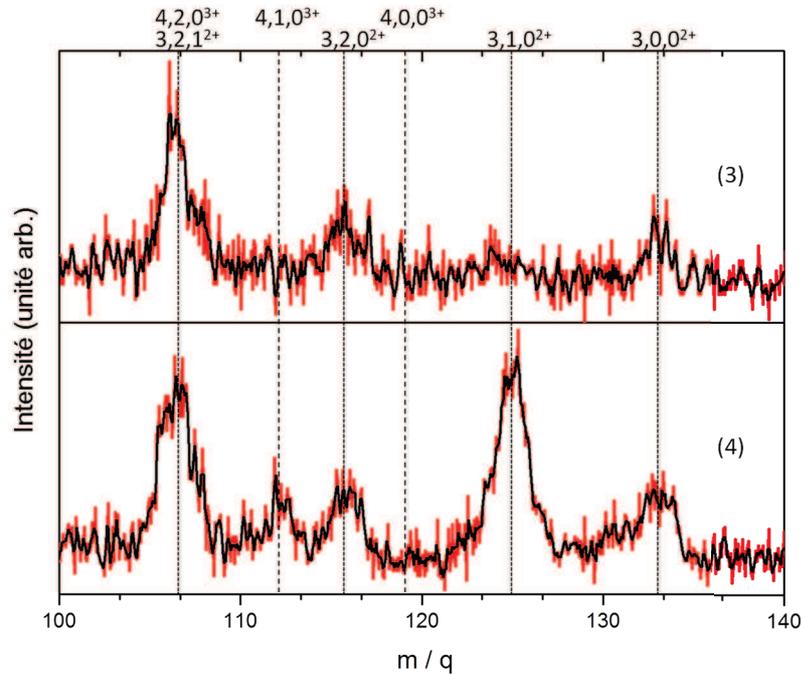


FIGURE 10.12: Spectres en m/q obtenus après interaction de deux distributions d'agrégats neutres de β -alanine (obtenus aux températures $T_{(1)} = 190^\circ \text{C}$ et $T_{(2)} = 225^\circ \text{C}$) avec un faisceau d'ions O^{3+} à 45 keV : zoom sur la série $3, Y, Z^{2+}$.

Alors que le rapport signal sur bruit y est similaire, apparait clairement le début de la série $4, Y, Z^{3+}$ (exception faite du tétramère dont les liaisons hydrogène sont trop faibles pour s'accommoder de la répulsion entre trois charges). Puisque le faisceau d'ions n'a pas changé d'un spectre à l'autre, ce comportement s'explique par la taille initiale des agrégats cibles. On peut en effet penser qu'à cette dernière température se forment des agrégats de plus grande taille qui n'exploreront pas immédiatement après avoir perdu

trois électrons (ou plus). Ils laisseront donc le temps aux liaisons peptidiques de se former avant de fissionner, conduisant à la formation des espèces observées.

Pour résumer, la formation de liaisons peptidiques est influencée par deux paramètres :

L'énergie transférée lors de la collision dont la valeur moyenne peut être modifiée en changeant le projectile utilisé.

La taille de l'agrégat cible venant d'une distribution dont la taille moyenne dépend, entre autres, de la température du four. Un effet similaire a également été mesuré (début de la formation de liaisons peptidiques) en changeant la quantité d'hélium injectée dans la source d'agrégation pour, là aussi, modifier la taille des agrégats.

Il apparaît alors qu'une liaison ne se formera que si l'agrégat est de taille suffisante (5 molécules au minimum), de même que l'apport énergétique de la collision pour permettre la rupture des liaisons excédentaires (c'est-à-dire $C - OH$ et $H - NH$, soit près de 10 eV pour le dimère). Enfin, le transfert de charge ne doit pas être trop important.

10.4 Approfondissements

Considérant la formation hypothétique de liaisons peptidiques au sein des agrégats de β -alanine comme étant une explication plausible et valable de l'apparition de nos pics additionnels sur nos spectres de masse, il reste néanmoins quelques questions en suspens. Ainsi, on est en droit de se demander si les liaisons ne se forment pas directement au sein des agrégats neutres, sans que les ions multichargés n'interviennent dans le processus.

En effet, au niveau de la cellule, il semble que le rôle du ribosome consiste à mettre les acides aminés face à face, permettant ensuite la formation de la liaison sans apport direct d'énergie par l'organisme (par exemple en métabolisant de l'ATP). Cependant ce processus implique alors le milieu cellulaire qui fournit l'énergie nécessaire. La présence de solvant joue également certainement un rôle de même que la présence de radicaux.

En outre, il est impossible que le chauffage du four apporte l'énergie nécessaire à la cassure des liaisons $C - OH$ et $H - NH$ (≈ 10 eV) sans même que soient observées d'autres fragmentations, et donc d'autres pics additionnels. Il serait de même plus délicat d'expliquer l'effet du projectile sur la distribution observée sur les spectres.

Enfin, si la formation des peptides précédait la collision, le spectre obtenu serait alors la superposition de deux contributions : celle de l'interaction avec les agrégats purs et celle qui découle de l'interaction avec les peptides préformés. Le spectre de masse devrait alors être plus complexe encore que ce que l'on observe puisque la fragmentation n'aurait pas nécessairement lieu au niveau de la liaison peptidique comme l'ont observée Bari et ses collaborateurs [138, 139] lors de la fragmentation d'un pentapeptide induite par des ions lents.

Cela suggère que la formation des liaisons peptidiques est induite par les ions multichargés et peut expliquer les phénomènes observés. Toutefois, si la liaison se forme bien sous les conditions que nous avons décrites, un aspect reste surprenant. Pourquoi n'observe-t-on pas un comportement similaire dans le cas de l' α -alanine, ni dans le cas de la glycine et de la valine ? C'est à cette question que nous essayerons de répondre par la suite.

10.4.1 Pourquoi l' α -alanine ne forme-t-elle pas de liaisons peptidiques ?

L' α -alanine, comme son nom l'indique, est un acide α -aminé au même titre que la valine ou la glycine. Sa forme et ses propriétés physico-chimiques diffèrent de celles de la β -alanine mais elle reste évidemment capable de former des liaisons peptidiques [25].

Il est pourtant possible que la structure des agrégats formés dans la source ne permettent pas la formation de la liaison, par exemple parce que les molécules n'y sont pas arrangées convenablement. Plus précisément, la liaison peptidique ne pourra se former que si le groupement carboxyle d'un des acides aminés fait face, au moment de la formation, au groupement amine d'un autre acide aminé. L'agencement des molécules par rapport aux autres au sein de l'agrégat peut donc être responsable de la non formation de la liaison si elle ne permet pas ce « face à face ».

On peut également penser que la formation de la liaison nécessiterait une quantité d'énergie différente, rendant le processus inaccessible à notre expérience. Enfin, α - et β -alanine présentent des différences évidentes, en terme de flexibilité ou encore d'encombrement stérique qui pourraient à elles seules expliquer ces différences de comportement.

Structure de l'agrégat

Afin de déterminer si la structure initiale des agrégats en sortie de source était responsable de la formation ou non de liaisons peptidiques, notamment en terme d'orientation des molécules les unes par rapport aux autres (groupement $-NH_2$ d'un acide aminé faisant face au groupement $-COOH$ d'un autre) nous avons mené l'étude théorique suivante :

Les cinq structures les plus stables trouvées pour les 10-mères, 20-mères et 30-mères d' α - et de β -alanine ont été calculées à 100 K (la température de notre source d'agrégation gazeuse). Nous avons ensuite compté le nombre de liaisons hydrogène formées entre le groupement amine ($-NH_2$) d'un acide aminé et le groupement carboxyle ($-COOH$) d'un autre. Ce nombre augmente bien sûr avec le nombre de molécules constituant l'agrégat, mais reste sensiblement identique quelle que soit l'espèce considérée : α - ou β -alanine. Ce n'est donc a priori pas la structure initiale des agrégats et plus particulièrement l'orientation des molécules en leur sein qui serait responsable des différences de comportement de ces deux molécules.

Énergie de formation

Il est difficile de déterminer clairement l'énergie nécessaire à la formation de liaisons peptidiques au sein de nos agrégats après l'interaction. Ils ont en effet une charge et une taille inconnue et la réaction chimique en elle-même peut présenter une barrière qu'il serait nécessaire de franchir pour former la liaison.

Ainsi, nous nous sommes d'abord limités à la détermination d'une énergie minimale nécessaire à la formation : celle qui permet la cassure des liaisons $H - NH$ et $C - OH$ sur deux acides aminés d' α - puis de β -alanine (méthode décrite page 135). Pour ce faire, nous avons déterminé la différence d'énergie entre le dimère chargé une fois et ce même dimère séparé du groupement $-OH$ d'un acide aminé et d'un H du groupement amine de l'autre acide aminé. Si l'énergie alors calculée était plus grande dans le cas de l' α -alanine cela suggérerait que la réaction demande plus d'énergie pour être réalisée et

expliquerait l'absence de formation de la liaison.

Les résultats obtenus indiquent pourtant l'inverse et les cassures nécessaires à la formation des liaisons peptidiques seraient donc énergétiquement en faveur de l' α -alanine ($E_\alpha = 950\text{kJ/mol}$ contre $E_\beta = 1040\text{kJ/mol}$). La différence dans le comportement des deux espèces ne se situe donc pas à ce niveau.

Toutefois, ce type de calculs ne considère pas l'énergie de formation du peptide de même que les barrières de réaction éventuelles. De plus, le calcul présenté ici est fait en considérant la conformation la plus stable trouvée à 100 K qui n'est pas nécessairement celle impliquée dans la formation de la liaison peptidique. Enfin, l'expérience a montré que la formation d'un peptide n'était pas possible avant d'atteindre une taille d'agrégat de 5 molécules. Cette étude théorique simple sur le dimère ne reflète donc pas la réalité physique sous-jacente.

Flexibilité et encombrement stérique

En observant les formules semi-développées de l' α et de la β -alanine (figure 10.1 page 121) deux différences majeures apparaissent immédiatement.

D'abord, l' α -alanine possède une chaîne latérale ($-CH_3$) qui, après interaction, pourrait gêner les mouvements de la molécule au sein de l'agrégat (encombrement stérique) et donc empêcher un alignement pour la formation de la liaison. Cela ne suffit cependant pas à expliquer l'absence de liaisons peptidiques. En effet, un autre acide aminé ne présentant pas de chaîne latérale (la glycine) n'en forme pas non plus. La présence de cette chaîne peut tout au plus avoir un facteur limitant sur la formation de liaison peptidique au sein de « nos » agrégats.

Ensuite, la chaîne carbonée qui sépare le groupement amine du groupement carboxyle est plus longue dans le cas de la β -alanine. La molécule est donc plus souple et peut peut-être s'aligner plus facilement après l'interaction, facilitant alors la formation d'une liaison.

Ces deux aspects sont difficiles à appréhender directement par un calcul théorique car ils impliquent de tenir compte de la répartition de l'énergie au fur et à mesure que le temps passe après la collision : c'est à dire de faire un calcul de la dynamique qui suit l'interaction de la cible avec les ions. En outre, ces techniques, gourmandes en temps de calcul, doivent être appliquées à de très nombreux systèmes différents puisque les caractéristiques de tailles et d'état de charge de la cible ne sont pas déterminées avec précision dans notre dispositif.

En revanche, l'expérience peut nous apporter des éléments de réponse sur l'ensemble de ces questions. Notamment, il est possible d'évaluer l'importance de la chaîne latérale ou de la flexibilité de la molécule en choisissant, selon ces critères, d'autres molécules qui devraient former des liaisons peptidiques.

10.4.2 Autres molécules formant des liaisons peptidiques

Si l'on reprend les résultats obtenus jusque là, il semble que la chaîne séparant les deux groupements (amine et carboxyle) doive être longue d'au moins deux atomes de carbone. En effet, la formation de liaisons peptidiques n'est observée avec aucun des acides α -aminés déjà utilisés et n'apparaît qu'avec la β -alanine. Les candidats à la formation de liaisons peptidiques doivent donc être « longs ». Ensuite, pour comprendre

un peu mieux le rôle de la chaîne latérale, et notamment l'influence de sa position dans la molécule, nous pouvons par exemple prendre plusieurs conformères de position pour mener à bien notre investigation sur l'effet de la géométrie.

Ces contraintes nous ont conduits à choisir quatre conformères de formule brute $C_4H_7NO_2$ et de 103 unités de masse (voir figure 10.13 pour plus de détails) :

- L'acide 2-aminobutyrique (acide α -aminé). Il est « court » (1 seul atome de carbone entre les groupements amine et carboxyle). La chaîne latérale ($-C_2H_5$) s'accroche au carbone α .
- L'acide 3-aminoisobutyrique (acide β -aminé), plus long (2 atomes de carbone entre les groupements amine et carboxyle), où la chaîne latérale ($-CH_3$) est accrochée au carbone α . On attend, selon nos critères de flexibilité, qu'il soit capable de former des liaisons peptidiques.
- L'acide 3-aminobutanoïque (acide β -aminé), identique au précédent si ce n'est que la chaîne latérale ($-CH_3$) est accrochée au carbone β . Il permettra de tester, par comparaison avec le précédent, l'importance de la position de la chaîne latérale sur la formation éventuelle de liaisons peptidiques.
- L'acide γ -aminobutyrique (acide γ -aminé), sans chaîne latérale, qui est le plus long avec 3 atomes de carbone entre le groupement carboxyle et le groupement amine. Il est abrégé en GABA. La formation de liaisons peptidiques devrait y être encore facilitée compte tenu de sa grande « souplesse ».

Si la longueur de la chaîne principale constitue bien le paramètre clé pour présager de la formation de liaisons peptidiques, les trois dernières molécules devraient convenir mais pas la première qui servira donc de « témoin ». L'effet de la chaîne latérale sera également étudié en comparant les spectres de trois acides β -aminés (la β -alanine, l'acide 3-aminoisobutyrique et l'acide 3-aminobutanoïque).

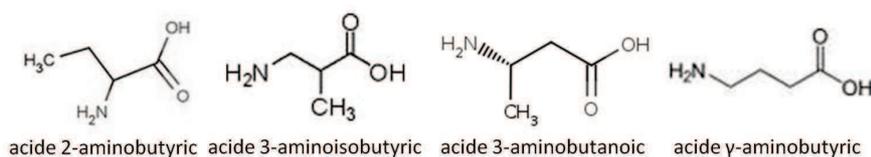


FIGURE 10.13: Formules développées des candidats choisis pour tester la formation de liaisons peptidiques : acides 3-aminoisobutyrique, 3-aminobutanoïque, γ -aminobutyrique et 2-aminobutyrique (respectivement de gauche à droite).

La figure 10.14 présente les spectres de masse obtenus après interaction d'un faisceau d'ions O^{3+} à 45 keV avec des distributions d'agrégats neutres d'acides 2-aminobutyrique, 3-aminoisobutyrique, 3-aminobutanoïque et γ -aminobutyrique (respectivement de haut en bas). Les spectres se limitent ici à la zone entre le monomère ($1,0,0^+$) et le tétramère ($4,0,0^+$). L'ensemble des agrégats purs est repéré sur la figure par des pointillés verticaux noirs. La position des éventuels pics caractéristiques de la formation de liaisons peptidiques est repérée par des pointillés gris.

L'acide 2-aminobutyrique (premier spectre) présente une chaîne carbonée courte (un atome) entre les groupements amine et carboxyle et ne conduit pas, comme supposé, à

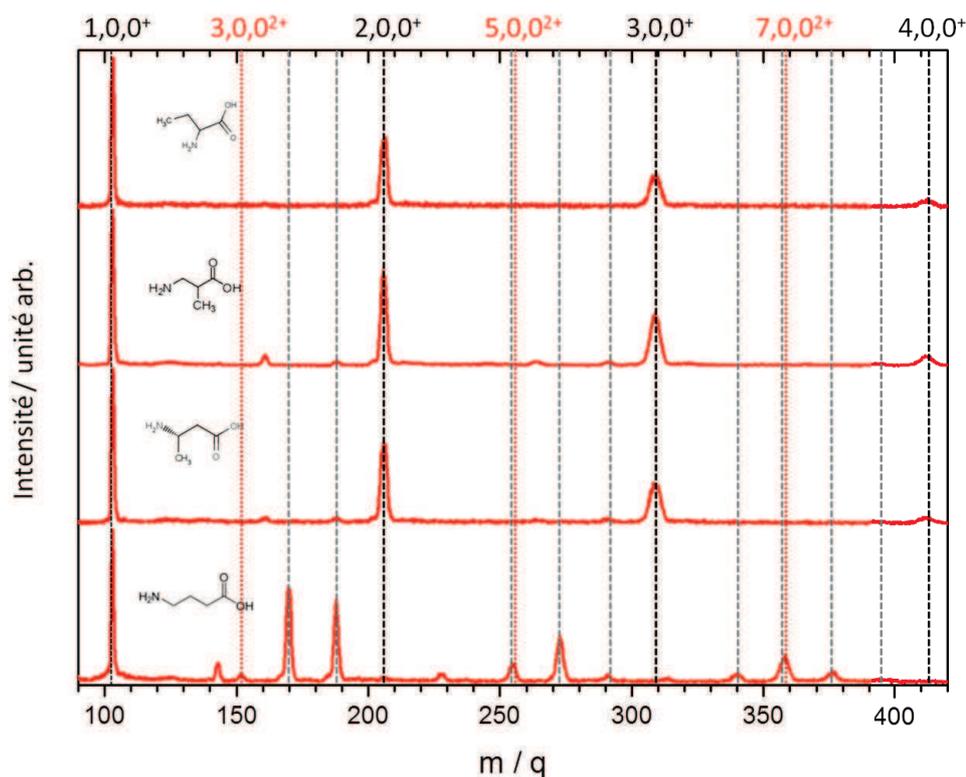


FIGURE 10.14: Spectres en m/q obtenus après interaction d'un faisceau d'ions O^{3+} à 45 keV avec des distributions d'agrégats neutres d'acides 2-aminobutyrique, 3-aminoisobutyrique, 3-aminobutanoïque et γ -aminobutyrique (respectivement de haut en bas).

la formation de liaisons peptidiques. Notons que la distribution d'agrégats cationiques n'est visible que jusqu'à l'octamère et que la distribution d'agrégats neutres initiale n'était peut-être pas de taille suffisante pour permettre la formation de liaisons. Toutefois, puisque le comportement est celui attendu et que la distribution cationique est de taille raisonnable (comparable au cas de la β -alanine) on peut penser qu'il n'y a effectivement pas de formation de liaison peptidique possible. Notons enfin l'apparition du premier agrégat doublement chargé à la taille $n=9$, supérieur à la taille d'apparition pour l' α -alanine alors même que la molécule est plus grosse. Cela peut sans doute être attribué à de plus faibles liaisons hydrogène entre les constituants de l'agrégat.

L'acide 3-aminoisobutyrique (spectre 2) et l'acide 3-aminobutanoïque (spectre 3) montrent bien quant à eux la perte de 18 u.m.a attribuée à la formation de liaisons peptidiques avec un rapport de l'intensité du dipeptide sur celle du dimère proche 0,1 et 0,05 respectivement. Néanmoins, la formation apparaît de façon moins spectaculaire que dans le cas de la β -alanine, indiquant a priori que la présence d'une chaîne latérale rend plus difficile la formation de la liaison peptidique. Ce résultat confirme de l'hypothèse d'une gêne stérique qui limiterait l'arrangement des molécules dans l'agrégat. Notons également la présence de pics associés à la perte du groupement carboxyle du dimère et du trimère (aux masses 161 et 264). Ils découlent de la cassure de la liaison $C - C_{\alpha}$. S. Denifl et ses collaborateurs ont aussi observé la rupture de cette liaison dans le cas de la fragmentation induite par impact électronique des agrégats de valine [111].

L'acide γ -aminobutyrique (ou GABA) conduit, a priori, lui aussi à la formation de liaisons peptidiques. Cette formation est si efficace que les espèces comportant une ou plusieurs liaisons peptidiques deviennent plus intenses que la distribution d'agrégats cationiques. Le rapport de l'intensité du dipeptide sur celle du dimère monte à 27 environ. Ce processus est tel que le dimère comme le trimère sont à peine visibles, alors que le tétramère a, lui, complètement disparu. Ce comportement est à rapprocher de la très grande flexibilité de cette espèce, capable de former un cycle avec une liaison hydrogène entre le groupement amine et le groupement carboxyle, comme l'ont montré de récentes expériences sur la molécule isolée et des calculs de structure du cation (septembre 2011). Notons par ailleurs la présence d'agrégats purs doublement chargés dès la taille $n=3$ (5 et 7 tombent avec des pics correspondant à la formation de liaisons peptidiques et restent donc incertains). Si l'on imagine alors que la charge se répartit sur l'agrégat, la répulsion coulombienne doit dans ce cas empêcher la formation d'un cycle et donc permettre l'observation de ces espèces alors même que les agrégats simplement chargés correspondants n'apparaissent pas.

10.5 Synthèse

Cette partie a mis en évidence des résultats expérimentaux qui peuvent être expliqués par l'hypothèse de la formation de liaisons covalentes au sein de différents agrégats d'acides β -aminés. Ces expériences laissent penser qu'il est possible de former des molécules plus complexes que celles qui constituent à l'origine l'agrégat : par polymérisation et plus particulièrement par formation de liaisons peptidiques.

Ce phénomène se traduit sur nos spectres de masse par l'apparition de pics organisés en séries devant chaque pic d'agrégats de molécules intactes. Ceux-ci sont espacés de 18 u.m.a, ceci correspondant à la perte d'un groupement OH d'un acide aminé et d'un H d'un autre. De plus, la répétition de ces séries (nombre de pics précédant celui d'un agrégat pur d'acides aminés) renvoie à la taille des agrégats qui les suivent sur le spectre. Ce comportement est logique puisqu'il est possible de former jusqu'à $X - 1$ liaisons peptidiques avec X molécules d'acides aminés (et une liaison fragmentée -voir partie 10.1 page 129). Enfin, la formation de liaisons peptidiques explique les différences d'intensité de certains pics (ceux attribués à la formation de polypeptides) ainsi que la stabilité des polypeptides produits, vis-à-vis du multichargement, signant la présence de liaisons uniquement covalentes.

Cette interprétation par la formation de liaisons peptidiques au sein d'agrégats d'acides aminés ouvre ainsi de nouvelles voies de réflexion quant à l'hypothèse d'une origine exogène de la vie. Elle nous permet d'appréhender un peu mieux l'émergence de molécules complexes à partir de molécules prébiotiques.

De plus, l'ensemble des études effectuées depuis la première observation de ce phénomène avec la β -alanine et l'ion O^{6+} , permettent aujourd'hui d'avancer plusieurs arguments démontrant l'importance des ions multichargés dans ce processus de formation. Ainsi, la formation d'une liaison peptidique entre deux agrégats nécessite la rupture de deux liaisons covalentes : $C-OH$ et $H-NH$. D'après un premier calcul qu'il s'agira d'affiner, cette rupture réclame une énergie de l'ordre de la dizaine d'électronvolts que seul l'ion projectile peut a priori fournir. En outre, l'étude menée sur l'influence du projectile

vis-à-vis de la formation de liaisons peptidiques apporte un argument supplémentaire : puisque le projectile choisi induit d'importantes variations sur nos spectres (variation d'intensité des pics pouvant aller jusqu'à leur disparition) c'est donc qu'il joue un rôle dans la formation de ces liaisons. Plus en détail, les conditions les plus favorables pour la formation de liaisons peptidiques semblent être liées à un grand transfert d'énergie lors de la collision (petit paramètre d'impact), accompagné d'une ionisation faible de la cible (bas états de charge). Dans ce sens, l'ion He^{2+} (particule α , très présente dans le milieu interstellaire) est particulièrement efficace.

La taille de l'agrégat initial à partir duquel se forment les peptides après l'interaction semble, comme le choix du projectile, être déterminant dans la formation de la liaison peptidique. Mathématiquement, il est déjà évident que X molécules (au moins) sont nécessaires pour former jusqu'à $X - 1$ liaisons peptidiques. Il faut par exemple un agrégat d'au moins deux molécules pour former un dipeptide. Cependant, une étude menée avec différentes températures du four à molécules dans la source d'agrégation gazeuse, et donc avec différentes distributions en taille d'agrégats, a mis en évidence qu'il existe une taille (plus grande que X) en dessous de laquelle il est peu probable de former des liaisons peptidiques : $n = 5$. Ce nombre pourrait encore être précisé par une nouvelle expérience en essayant d'atteindre plus finement la taille limite, en influant à la fois sur la température du four et la quantité d'hélium injectée dans la source d'agrégation.

Ces données soulignent une fois de plus l'importance de l'environnement proche de la molécule. Il semble que des effets collectifs rendent possibles la formation de la liaison peptidique, par exemple en fragilisant certaines liaisons de la molécule (celles intervenant dans la formation de la liaison peptidique) comme cela a été observée avec les agrégats d'adénine.

Enfin, deux hypothèses ont été avancées pour expliquer pourquoi les agrégats de β -alanine forment ce qui semble être des liaisons peptidiques et pas ceux d' α -alanine.

La première hypothèse consistait à dire que la chaîne latérale présente sur l' α -alanine et l'encombrement stérique qu'elle engendrait pouvait gêner l'arrangement de molécules dans l'agrégat après l'interaction, et donc empêcher la formation de la liaison peptidique. Toutefois, la vraisemblable formation de liaisons peptidiques dans le cas des agrégats de deux acides β -aminé (3-aminoisobutyrique et 3-aminobutanoïque) présentant une chaîne latérale, démontre que la présence de cette dernière n'interdit pas la formation de liaisons peptidiques et donc que cette hypothèse est erronée. Néanmoins, la présence d'une chaîne latérale semble tout de même être un facteur limitant de la formation de la liaison peptidique puisque les deux premières molécules (présentant un $-\text{CH}_3$ en chaîne latérale, respectivement en position α et β) forment apparemment moins de liaisons que la β -alanine.

La seconde hypothèse suppose que la grande flexibilité de la molécule de β -alanine constitue un paramètre clé qui lui permet de s'aligner dans l'agrégat pour former la liaison. Dans ce cas, d'autres molécules présentant de longues chaînes entre le groupement carboxyle et le groupement amine devraient elles aussi former des liaisons peptidiques. Cette hypothèse se vérifie avec les acides 3-aminoisobutyrique, 3-aminobutanoïque et γ -aminobutyrique (GABA). La flexibilité ressort bien comme un paramètre essentiel de la formation de la liaison, car l'acide γ -aminobutyrique, dont la chaîne principale est longue de trois atomes de carbone, et qui est donc plus « souple » que toutes les autres

molécules testées, présente les signes les plus flagrants de la formation de liaisons peptidiques (disparition des agrégats purs au profit des peptides - à corréler avec la capacité de cette molécule à former un cycle).

Conclusion

Ce mémoire, et à travers lui mon travail de thèse, s'est intéressé à l'interaction entre des ions multichargés lents et des systèmes d'intérêt biologique en insistant pour la première fois sur l'effet de l'environnement à l'échelle moléculaire. Ce point, qui constitue le fil conducteur de mes recherches, a été étudié à Caen en comparant le cas d'espèces isolées avec le cas d'espèces au sein d'un agrégat pur ou mixte. Dans le régime de vitesse considéré ici pour le projectile (≈ 0.3 u.a.), c'est la capture électronique qui est le processus dominant.

Ces recherches menées sur différentes molécules du vivant que sont les bases azotées (adénine) ou les acides aminés (glycine, valine, α et β -alanine, acide 3-aminoisobutyrique, acide 3-aminobutanoïque et acide γ -aminobutyrique) ont révélé plusieurs effets attribués à l'environnement, tant sur l'endommagement (fragmentation) que sur la chimie de ces espèces. Il a ainsi été démontré que l'environnement moléculaire, tantôt conduisait à une fragilisation de la molécule avec l'ouverture de nouvelles voies de fragmentation, tantôt conduisait à sa protection en permettant la répartition de la charge et l'évacuation de l'énergie interne par une suite d'évaporations et de fissions au sein de l'agrégat. Le cas des agrégats d'adénine purs a ainsi montré un accroissement de l'intensité des fragments contenant 7 et 9 atomes lourds. Ce phénomène s'accompagne paradoxalement d'une réduction globale de la fragmentation, et ce, quel que soit le projectile considéré (ions O^{3+} ou Xe^{20+}). Les agrégats de molécules de glycine et de valine montrent eux aussi cet effet protecteur de l'environnement, illustré par exemple par la fermeture de certaines voies de fragmentation.

Par ailleurs, l'agrégat n'influence pas uniquement la phase physique qui suit l'interaction et apporte également un premier environnement chimique à la molécule. Celui-ci est notamment capable de transférer un proton à la molécule d'adénine lorsqu'elle est hydratée. C'est aussi cet environnement qui rend possible la formation supposée de liaisons peptidiques au sein des agrégats de β -alanine, après l'interaction avec des ions multichargés lents.

L'explication de l'ensemble des pics de nos spectres, les pertes successives de 18 unités de masse, de même que l'intensité (et donc la stabilité) accrue de pics attribués à la formation de polypeptides vis-à-vis de la charge transférée constituent autant de preuves indirectes de la formation de liaisons peptidiques.

En outre, l'influence de différents paramètres sur cette formation éventuelle, tels que le projectile ou la taille moyenne des agrégats cibles, ainsi que la longueur de la chaîne principale de la molécule et la position de la chaîne latérale ont fait l'objet d'une étude approfondie. Il est apparu que :

- le projectile, en intervenant sur l'énergie et la charge transférées lors de la collision, modifie le processus de formation. Une énergie plus grande, mais un transfert de charge réduit conduisent ainsi à plus de formation de liaisons, faisant en ce sens de l'ion He^{2+} (la particule α) le projectile le plus efficace.
- des premières mesures indiquent qu'un agrégat de taille 5, au moins, est nécessaire à la formation de liaisons peptidiques.
- la chaîne principale de l'acide aminé considéré, et avec elle, la flexibilité de la molécule au sein de l'agrégat, semble être un critère pertinent pour prévoir la présence ou non de ce que nous attribuons à la liaison peptidique. Ainsi, parmi l'ensemble des espèces testées, seules celles présentant une chaîne principale longue d'au moins deux atomes de carbone semblent susceptibles de former des liaisons, au sein des agrégats produits dans notre dispositif.

-
- la chaîne latérale de l'acide aminé, lorsqu'elle est présente, parait limiter le phénomène attribué à la formation de liaisons peptidiques, certainement en raison de la gêne stérique qu'elle engendre dans l'agrégat. En outre, la position de cette chaîne sur la molécule modifie vraisemblablement elle aussi cette formation, la rendant plus difficile à mesure qu'elle se rapproche du groupement amine de l'acide aminé.

Perspectives

À la lumière de ces travaux, de nombreuses perspectives sont envisagées pour permettre une compréhension plus fine de l'effet de l'environnement sur l'ensemble des mécanismes qui interviennent pendant (et à la suite de) l'interaction avec des ions multichargés. En particulier, trois axes de recherche et de développement peuvent être envisagés :

1. Une nouvelle série d'expérience sur la formation de liaison peptidique, en faisant varier la cible et le projectile, afin d'optimiser les paramètres de cette réaction chimique.
2. Une preuve directe de la formation de peptides par une expérience en deux étapes.
3. Une étude plus fine de l'effet de l'environnement avec, par exemple, une cible moléculaire entourée d'un nombre choisi de molécules d'eau.

Cas 1 : Dans le prolongement des expériences précédentes, une détermination plus fine du nombre de molécules minimum nécessaires à la formation de la liaison peptidique dans les agrégats de β -alanine peut par exemple être obtenue. Il faut pour cela étudier avec plus de précision les paramètres expérimentaux accessibles régissant la taille de la distribution (température du four et flux d'hélium). Il est ensuite possible de réaliser une étude similaire pour d'autres molécules que la β -alanine afin de comparer les tailles d'apparition de la liaison peptidique et de déterminer si ce paramètre dépend du système étudié, et dans quelles mesures.

De plus, il est possible de poursuivre les investigations entamées sur l'effet de la chaîne latérale et de sa position sur la formation de la liaison peptidique. On peut pour cela imaginer prendre d'autres acides β -aminés pour déterminer si une plus grosse chaîne latérale réduit encore la formation de liaisons et si les observations réalisées se vérifient bien pour d'autres systèmes. On peut également choisir d'autres molécules présentant la même chaîne principale que GABA mais avec un groupement $-CH_3$ en chaîne latérale pour déterminer plus finement l'impact de la position de ce groupement sur la formation de liaisons peptidiques.

En outre, si les ions He^{2+} semblent bien constituer le projectile le plus efficace pour ce que nous attribuons à la formation de liaisons peptidiques, on est en droit de se demander si des protons, par exemple, ne représenteraient pas un candidat plus efficace encore. En effet, la collision serait alors en moyenne plus centrale, s'accompagnant d'un grand transfert d'énergie et d'un faible échange de charge. Un tel résultat renverrait une fois de plus à l'hypothèse d'une origine exogène de la vie puisque cette particule ionisante est plus présente encore dans le milieu interstellaire.

Cas 2 : Pour confirmer l'hypothèse de la formation de liaisons peptidiques, il est possible de mener une expérience en deux étapes. Dans un premier temps, on réalise une

collision entre les ions multichargés et des agrégats de β -alanine (comme décrit dans ce mémoire). Ensuite, un peptide supposé sera sélectionné et fragmenté lors d'une seconde collision avec un photon ou un gaz neutre. En comparant le spectre de fragmentation obtenu avec celui de photodissociation ou de CID d'un « vrai » peptide, il sera alors possible de mettre en évidence la présence, ou non, de liaisons avec certitude.

Une telle expérience est actuellement difficile à réaliser, mais un projet de grand équipement (COSMOS pour *CryOgenic Storage of MOlecular Systems*) devrait permettre de la mener à bien. Ce projet permettra de coupler, autour d'un anneau de stockage électrostatique refroidi à quelques kelvin, différentes méthodes de spectroscopie et de spectrométrie. Plus particulièrement, il sera possible d'étudier la fragmentation de systèmes d'intérêt biologique en fonction de leur structure vis-à-vis de différents processus d'excitation (photo-ionisation, impacte d'ions multichargés lents...). L'utilisation de l'anneau de stockage permettra d'accéder à une dynamique de relaxation aux temps longs (de l'ordre de la seconde). Il sera donc possible de vérifier avec précision la validité de l'hypothèse de la formation de liaison peptidiques.

Cas 3 : Au-delà des expériences réalisables avec notre dispositif actuel, le projet PI-BALE, entre autres, laisse présager de nouvelles possibilités d'expériences, puisqu'il permettra, une fois terminé, de réaliser l'interaction en faisceaux croisés d'une cible d'intérêt biologique sélectionnée en taille avec des ions multichargés de basse énergie. En ce sens, la mise en place et la caractérisation prochaine du funnel sur la source électrospray constitue un objectif essentiel des mois à venir et la concrétisation de mon investissement dans ce projet.

La sélection en masse du faisceau cible devrait rendre plus facile l'interprétation de nos résultats, mais elle devrait surtout nous permettre de mieux comprendre les différents processus qui suivent l'interaction. Cette avancée sera permise par la mesure en coïncidence des fragments chargés, des électrons émis dans le continuum (leur nombre) ainsi que la charge du projectile.

Par ailleurs, la source électrospray qui sera couplée à ce dispositif permet d'ores et déjà la production d'agrégats d'eau protonés contenant jusqu'à 200 molécules (mode décharge couronne). L'utilisation d'une cellule contenant un gaz évaporé de molécules d'intérêt biologique, traversé par le faisceau d'agrégat d'eau, devrait alors permettre la formation de complexes non covalent de molécules hydratée en contrôlant l'environnement de façon à en étudier l'impacte sur l'interaction.

Bibliographie

- [1] T. A. Trikalinos, T. Terasawa, S. Ip, G. Raman, and J. Lau. *Particle Beam Radiation Therapies for Cancer*. Agency for Healthcare Research and Quality (US), 2009.
- [2] A. Brack. *The molecular origins of life*. Cambridge University Press, 1998.
- [3] B. Manil, L. Maunoury, B. A. Huber, J. Jensen, H. T. Schmidt, H. Zettergren, H. Cederquist, S. Tomita, and P. Hvelplund. Highly Charged Clusters of Fullerenes : Charge Mobility and Appearance Sizes. *Phys. Rev. Lett.*, 91 :215504, 2003.
- [4] L. Rosaria, A. D'Urso, A. Mammanna, and R. Purrello. Chiral memory : Induction, amplification, and switching in porphyrin assemblies. *Chirality*, 20 :411, 2008.
- [5] Q. L. Li, G. Mathur, S. Gowda, S. Surthi, Q. Zhao, L.H. Yu, J. S. Lindsey, D.F. Bocian, and V. Misra. Multibit memory using self-assembly of mixed ferrocene/porphyrin monolayers on silicon. *Advanced Materials*, 16 :133, 2004.
- [6] L. Rosaria and R. Purrello. Transfer, memory and amplification of chirality in porphyrin aggregates. *Supramolecular Chemistry*, 17 :61, 2005.
- [7] Information needed to make radiation protection recommendations for space missions beyond low earth orbit. Technical report, National Council on Radiation Production and Measurements, 2006.
- [8] B. Fayard, A. Touati, F. Abel, M.A. Hervé du Penhoat, I. Despiney-Bailly, F. Gobert, M. Ricoul, A. L'hoir, M. F. Politis, M. A. Hill, D. L. Stevens, L. Sabatier, E. Sage, D.T. Goodhead, and A. Chetioui. Cell inactivation and double-strandbreaks : The role of core ionizations, as probed by ultrasoft X rays. *Radiation Research*, 157 :128, 2002.
- [9] P. Swiderek. Fundamental processes in radiation damage of DNA. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45 :4056, 2006.
- [10] B. Boudaiffa, P. Cloutier, D. Hunting, M.A. Huels, and L. Sanche. Resonant formation of dna strand breaks by low-energy (3 to 20 eV) electrons. *Science*, 287 :1658, 2000.
- [11] F. Alvarado, R. Hoekstra, and T. Schlatholter. Dissociation of water molecules upon keV H^+ - and He^{q+} - induced ionization. *J. Phys. B : At. Opt. Phys.*, 38 :4085, 2005.
- [12] W. H. Bragg and M. A. Elder. The influence of the velocity of the alpha particle upon the stopping power of the substance through which it passes. *PHILOSOPHICAL MAGAZINE*, 13 :507, 1907.
- [13] P. Sigmund. *Stopping of heavy ions*, volume 204. Springer Tracts in Modern Physics, 2004.

- [14] P. G. Stocks and A. W. Schwartz. Uracil in Carbonaceous Chondrites. *Nature*, 282 :709, 1979.
- [15] P. G. Stocks and A. W. Schwartz. Nitrogen-heterocyclic compounds in meteorites : significance and mechanisms of formation. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 45 :563, 1981.
- [16] L.-L. Hua, K. Kobayashi, E.-I. Ochiai, C.W. Gerke, K.O. Gerhardt, and C. Ponnamperuma. Identification and quantification of nucleic acid bases in carbonaceous chondrites. *Origins Life Evol. B.*, 16 :226, 1986.
- [17] A. Shimoyama, S. Hagishita, and K. Harada. Search for nucleic acid bases in antarctic carbonaceous chondrites. *Origins of Life and Evolution of Biospheres*, 19 :469, 1990.
- [18] J. Kissel and F. R. Krueger. The organic component in dust from comet Halley as measured by the PUMA mass spectrometer on board Vega 1. *Nature*, 326 :755, 1987.
- [19] S. Chakrabati and S.K. Chakrabarti. *Astron. Astrophys*, 354, 2000.
- [20] I.W.M. Smith, D. Talbi, and E. Herbst. The production of HCN dimer and more complex oligomers in dense interstellar clouds. *Astron. Astrophys*, 369 :611, 2001.
- [21] J. E. Elsila, D. P. Glavin, and J. P. Dworkin. Cometary glycine detected in sample returned by stardust. *The meteorical society*, 9 :1323, 2009.
- [22] M. P. Bernstein, J. P. Dworkin, S. A. Sandford, G. W. Cooper, and L. J. Allamandola. Racemic amino acids from the ultraviolet photolysis of interstellar ice analogues. *Nature*, 416 :401, 2002.
- [23] J. E. Elsila, J. P. Dworkin, M. P. Berstein, M. P. Martin, and S. A. Sandford. Mechanism of amino acid formation in interstellar ice analogs. *Astrophys. J.*, 660 :911, 2007.
- [24] J. D. Watson and F.H.C. Crick. Molecular structure of nucleic acids - a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171 :737, 1953.
- [25] J.-C. Callen. *Biologie cellulaire Des molécules aux organismes*. Dunod, 2005.
- [26] L. Adoui, C. Caraby, A. Cassimi, D. Lelievre, J.P. Grandin, and A. Dubois. Fast ion-induced CO molecule fragmentation in the strong interaction regime. *Journal Of Physics B-Atomic Molecular And Optical Physics*, 32 :631, 1999.
- [27] M. Tarisien, L. Adoui, F. Fremont, and A. Cassimi. RIMS for electron capture and molecular fragmentation study : He²⁺ (11 keV/u) and O⁷⁺ (4 keV/u) + CO collisions. *Phys. Scr.*, T80B :182, 1999.
- [28] A. Bárány, G. Astner, H. Cederquist, H. Danared, S. Huldt, P. Hvelplund, A. Johnson, H. Knudsen, L. Liljeby, and K.-R. Rensfelt. Absolute cross sections for multi-electron processes in low-energy Ar^{q+} - Ar collisions : Comparison with theory. *Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. B*, 9 :397, 1985.
- [29] J. Adams, H. Strobel, A. Reiter, and M. Sullards. The importance of charge-separation reactions in tandem mass spectrometry of doubly protonated angiotensin II formed by electrospray ionization : experimental considerations and structural implications. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 7 :30, 1996.

- [30] J.B. Foresman, A. E. Frisch, and I. Gaussian. Exploring chemistry with electronic structure methods. *Gaussian Pittsburgh*, 1996.
- [31] G.W. Frisch, M.J. Trucks, H.B. Schlegel, G.E. Scuseria, M.A. Robb, J.R. Cheeseman, J.A. Montgomery Jr, T. Vreven, K.N. Kudin, and J.C. et al. Burant. Gaussian 03, revision c. 02. *gaussian. Inc., Wallingford*, 2004.
- [32] M.J.S. Dewar, E.G. Zoebisch, E.F. Healy, and J.J.P. Stewart. The development and use of quantum-mechanical molecular models .76. AM1 - a new general purpose quantum mechanical molecular model. *J. Am. Chem. Soc.*, 107 :3092, 1985.
- [33] J.J.P. Stewart. Optimization of parameters for semiempirical methods .1. method. *Journal of Computational Chemistry*, 10 :209, 1989.
- [34] J.J.P. Stewart. Optimization of parameters for semiempirical methods .2. applications. *Journal of Computational Chemistry*, 10 :221, 1989.
- [35] M.J.S. Dewar and W. Thiel. Ground states of molecules. 38. the MNDO method. approximations and parameters. *J. Am. Chem. Soc.*, 99 :4899, 1977.
- [36] A. Szabo and N.S. Ostlund. *Modern quantum chemistry*. McGraw-Hill New York, 1989.
- [37] C. Moller and M.S. Plesset. Note on an approximation treatment for many-electron systems. *Physical Review*, 46 :618, 1934.
- [38] P. Hohenberg and W. Kohn. Inhomogeneous electron gas. *Physical Review B*, 136 :864, 1964.
- [39] W. Kohn and L. J. Sham. Self-consistent equations including exchange and correlation effects. *Physical Review*, 140 :1133, 1965.
- [40] G. Mie. Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Annalen der Physik*, 330 :377, 1908.
- [41] W. D. Knight, K. Clemenger, de Heer, W. A. Saunders, M. Y. Chou, and M. L. Cohen. Electronic shell structure and abundances of sodium clusters. *Physical review letters*, 52 :2141, 1984.
- [42] W. Ekardt. Work function of small metal particles : Self-consistent spherical jellium-background model. *Phys. Rev. B*, 29 :1558, 1984.
- [43] M. Brack. The physics of simple metal clusters : self-consistent jellium model and simple models. *Rev. Mod. Phys.*, 65 :677, 1993.
- [44] J. Pedersen, S. Bjorneholm, J. Borggreen, K. Hansen, T.P. Martin, and H.D. Rasmussens. Observation of quantum supershells in clusters of sodium atoms. *Nature*, 353 :733, 1991.
- [45] U. Näher, S. Bjorneholm, S. Frauendorf, F. Garcias, and C. Guet. Fission of metal clusters. *Physics Reports*, 285 :245, 1997.
- [46] F. Chandezon, H. Lebius, S. Tomita, C. Guet, A. Pesnelle, and B.A. Huber. Energy transfer in multi-ionizing ion/cluster collisions. *Phys. Scr.*, T92 :168, 2001.
- [47] I. Plagne and C. Guet. Highly ionized but weakly excited metal clusters in collisions with multicharged ions. *Physical Review A*, 59 :4461, 1999.
- [48] W. Tappe, E. Flesch, R. and Ruhl, R. Hoekstra, and T. Schlatholter. Charge localization in collision-induced multiple ionization of van der waals clusters with highly charged ions. *Phys. Rev. Lett.*, 88 :143401, 2002.

- [49] A. Kulesza, R. Mitrić, V. Bonačić-Koutecký, B. Bellina, I. Compagnon, M. Broyer, R. Antoine, and P. Dugourd. Doubly charged Silver Clusters Stabilized by tryptophan : Ag_4^{2+} as an optical marker for monitoring particle growth. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 50 :878, 2011.
- [50] C. von Sonntag. *The chemical basis of radiation biology*. Taylor, Francis London, 1987.
- [51] C. von Sonntag. *Free-radical-induced DNA damage and its repair : a chemical perspective*. Springer, 2006.
- [52] K. M. Prise, C.H.L. Pullar, and B.D. Michael. A study of endonuclease III-sensitivesites in irradiated DNA : Detection of α -particle-induced oxidative damage. *Carcinogenesis*, 20 :905, 1999.
- [53] F. Martin, P. D. Burrow, Z. Cai, P. Cloutier, D. Hunting, and L. Sanche. DNA Strand Breaks Induced by 0-4 eV Electrons : The Role of Shape Resonances. *Phys. Rev. Lett.*, 93 :068101, 2004.
- [54] S. Lacombe, C. Le Seck, and V. A. Esaulov. DNA strand breaks induced by low keV energy heavy ions. *Phys. Med. Biol.*, N 65 :49, 2004.
- [55] H. Abdoul-Carime, M. A. Huels, F. Brüning, E. Illenberger, and Sanche L. Dissociative electron attachment to gas-phase 5-bromouracil. *J. Chem. Phys.*, 113 :2517, 2000.
- [56] S. Denifl, S. Ptasinska, M. Cingel, S. Matejcik, P. Scheier, and T. D. Märk. Electron attachment to the DNA bases thymine and cytosine. *Chem. Phys. Lett*, 377 :74, 2003.
- [57] J. de Vries, R. Hoekstra, R. Morgenstern, and T. Schlathölter. Charge Driven Fragmentation of Nucleobases. *Phys. Rev. Lett.*, 91 :053401, 2003.
- [58] R. Brédy, J. Bernard, L. Chen, B. Wei, A. Salmoun, T. Bouchama, M.C. Buchet-Poulizac, and S. Martin. Fragmentation of adenine induced by collision with slow f^{2+} ions. *Nucl. Instr. Meth. Phys. Res. B*, 235 :392, 2005.
- [59] B. Coupier, B. Farizon, M. Farizon, M.J. Gaillard, F. Gobet, N.V. de Castro Faria, S. Jalbert, G. and Ouaskit, M. Carré, B. Gstyr, G. Hanel, S. Denifl, L. Feketeova, P. Scheier, and T.D. Märk. Inelastic interactions of protons and electrons with biologically relevant molecules. *Eur. Phys. J. D.*, 20 :459, 2002.
- [60] J. de Vries, R. Hoekstra, R. Morgenstern, and T. Schlathölter. Ionization and Fragmentation Modes of Nucleobases after Collisions with Multiply Charged Ions. *Physica Scripta*, T110 :336, 2004.
- [61] D.M. Close. Calculation of the Ionization Potentials of the DNA Bases in Aqueous Medium. *J. Chem. Phys. A*, 108 :10376, 2004.
- [62] T. Schlathölter, F. Alvarado, S. Bari, A. Lecointre, R. Hoekstra, V. Bernigaud, B. Manil, J. Rangama, and B. A. Huber. Ion-Induced Biomolecular Radiation Damage : From Isolated Nucleobases to Nucleobase Clusters. *ChemPhysChem*, 7 :2339, 2006.
- [63] H.-W. Jochims, M. Schwell, H. Baumgärtel, and S. Leach. Photoion mass spectrometry of adenine, thymine and uracil in the 6-22 eV photon energy range. *J. Chem. Phys.*, 314 :263, 2005.

- [64] J.M. Rice, G.O. Dudek, and M. Barber. Mass spectra of nucleic acid derivatives .I. Pyrimidines. *J. Am. Chem. Soc.*, 87 :4569, 1965.
- [65] Z.W. Deng, M. Imhoff, and M.A. Huels. Fragmentation dynamics of condensed phase thymine by low-energy (10-200 eV) heavy-ion impact. *Journal of Chemical Physics*, 123 :144509, 2005.
- [66] B. Liu, S. Nielsen, P. Hvelplund, H. Zettergren, H Cederquist, B. Manil, and Huber B. A. Collision-Induced DIssociation of Hydrated Adenosine Monophosphate Nucleotide Ions : Protection of the Ion in Water Nanoclusters. *Phys. Rev. Let.*, 97 :1, 2006.
- [67] S. K. Kim, W. Lee, and D. R. Herschbach. Cluster Beam Chemistry : Hydration of Nucleic Acid Bases ; Ionization Potentials of Hydrated Adenine and Thymine. *J. Phys. Chem.*, 100 :7933, 1996.
- [68] S. Denifl, F. Zappa, I. Mahr, J. Lecointre, T. D. Probst, Mark, and P. Scheier. Mass spectrometric investigation of anions formed upon free electron attachment to nucleobase molecules and clusters embedded in superfluid helium droplets. *Phys. Rev. Lett.*, 97 :043201, 2006.
- [69] L. C. Snoek, T. Van Mourik, and J. P. Simons. Neurotransmitters in the gas phase : A computational and spectroscopic study of noradrenaline. *Molecular Physics*, 101(9) :1239, 2003.
- [70] A. Wattenberg, F. Sobott, H. D. Barth, and B. Brutschy. Laser desorption mass spectrometry on liquid beams. *European Mass Spectrometry*, 5(2) :71, 1999.
- [71] F. Mafune, J. Kohno, T. Nagata, and T. Kondow. Mechanism of ion ejection from a liquid beam following laser photoionization. *Chemical Physics Letters*, 218 :7, 1994.
- [72] W. Kleinekofort, A. Pfenninger, T. Plomer, C. Griesinger, and B Brutschy. Observation of noncovalent complexes using laser-induced liquid beam ionization desorption. *International Journal Of Mass Spectrometry And Ion Processes*, 156(3) :195, 1996.
- [73] N. Morgner, H. D. Barth, and B. Brutschy. A new way to detect noncovalently bonded complexes of biomolecules from liquid micro-droplets by laser mass spectrometry. *Australian Journal Of Chemistry*, 59(2) :109, 2006.
- [74] J. Kohno, N. Toyama, and T. Kondow. Ion formation to the gas phase by laser ablation on a droplet beam. *Chem. Phys. Lett.*, 420(1-3) :146, 2006.
- [75] M. Karas and F. Kruger. Ion formation in MALDI : The cluster ionization mechanism. *Chemical Reviews*, 103 :427, 2003.
- [76] K. Tanaka. The origin of macromolecule ionization by laser irradiation (nobel lecture). *Angew. Chem. Int. Ed.*, 42 :3860, 2003.
- [77] V.V. Golovlev, S.L. Allman, W.R. Garrett, N.I. Taranenko, and C.H. Chen. Laser-induced acoustic desorption. *International Journal of Mass Spectrometry And Ion Processes*, 169 :69, 1997.
- [78] V. Bernigaud, O. Kamalou, A. Lawicki, M. Capron, R. Maissonny, B. Manil, L. Maunoury, J. Rangama, P. Rousseau, J.-Y. Chesnel, and B. A. Huber. ARIBE : A low energy ion beam facility in Caen. *Publ. Astron. Obs. Belgrade*, 84 :83, 2008.

- [79] L. Maunoury, R. T. Been, G. Gaubert, L. Guillaume, D. Leclerc, A. Lepoutre, V. Mouton, J. Y. Paquet, J. M. Ramillon, and Vicquelin R. LIMBE : A new facility for low energy beams. *Rev. Sci. Instrum.*, 73 :561, 2002.
- [80] C. Bréchnac, P. Cahuzac, F. Carlier, M. Defrutos, M. Masson, and J. P. Roux. Generation of rare-earth-metal clusters by means of the gas-aggregation technique. *Z. Phys. D - Atoms Molecules and Clusters*, 19 :195, 1991.
- [81] F. Chandezon. *Etude expérimentale de la stabilité d'agrégats de sodium multichargés produits par collision d'agrégats neutres avec des ions*. PhD thesis, Université Joseph Fourier Grenoble, 1994.
- [82] V. Bernigaud. *Etude de la fragmentation de molécules d'intérêt biologique isolées et nanosolvatées induite par collision avec des ions multichargés et des particules neutre*. PhD thesis, Université de Caen Basse-Normandie, 2009.
- [83] W. C. Wiley and I. H. McLaren. Time of flight spectrometer with improved resolution. *Rev. Sci. Instrum.*, 23 :1150, 1955.
- [84] W.-A. Deheer and P. Milani. Large ion volume time-of-flight massspectrometer with position-sensitive and velocity-sensitive detection capabilities for cluster beams. *Review of Scientific Instruments*, 62 :670, 1991.
- [85] K. Schafer, W.Y. Baek, K. Forster, D. Gassen, and W. Neuwirth. Analysis of initial energies of fragments produced by 65-keV proton-molecule collisions using a time-of-flight mass- spectrometer. *Z. Phys. D-Atoms Molecules and Clusters*, 21 :137, 1991.
- [86] N.-R. Daly. Scintillation type mass spectrometer ion detector. *Rev. Sci. Instrum.*, 31 :265, 1960.
- [87] H. C. Straub, M. A. Mangan, B. G. Lindsay, K. A. Smith, and R. F. Stebbings. Absolute detection efficiency of a microchannel plate detector for kilo-electron volt energy ions. *Rev Sci Instrum*, 70 :4238, 1999.
- [88] J. B. Fenn, M. Maan, C. K. Meng, S. F. Wong, and C. M. Whitehouse. Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. *Science*, 246 :64, 1989.
- [89] J. B. Fenn, M. Maan, C. K. Meng, S. F. Wong, and Whitehouse C. M. Electrospray ionisation principles and practice. *Mass Spectrom Rev*, 9 :37, 1990.
- [90] S. J. Gaskell. Electrospray : principles and practice. *J Mass Spectrom*, 32 :677, 1997.
- [91] L. Rayleigh. On the equilibrium of liquid conducting masses charged with electricity. *Phil. Mag.*, 14 :184, 1882.
- [92] D. Duft, H. Lebius, B. A. Huber, C. Guet, and T. Leisner. Shape oscillations and stability of charged microdroplets. *Phys. Rev. Lett.*, 89 :084503, 2002.
- [93] D. Duft, T. Achtzehn, R. Muller, B. A. Huber, and T. Leisner. Coulomb fission - rayleigh jets from levitated microdroplets. *Nature*, 421 :128, 2003.
- [94] M. Dole, L.L. Mack, and R.L. Hines. Molecular beams of macroions. *J. Chem. Phys.*, 49 :2240, 1968.
- [95] J.V. Iribarne and B.A. Thomson. Evaporation of small ions from charged droplets. *J. Chem. Phys.*, 64 :2287, 1976.

- [96] W. Paul. Electromagnetic traps for charged and neutral particles. *Rev. Mod. Phys.*, 62 :531, 1990.
- [97] P. Tang, L. Kebarle. Dependence of ion intensity in electrospray mass-spectrometry on the concentration of the analytes in the electrosprayed solution. *Anal. Chem.*, 65 :3654, 1993.
- [98] R. R. Julian, S. R. Mabbett, and M. F. Jarrold. Ion funnels for the masses : experiments and simulations with a simplified ion funnel. *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, 16 :1708, 2005.
- [99] S. Maclot, M. Capron, R. Maissonny, A. Lawicki, A. Méry, J. Rangama, J.-Y. Chesnel, S. Bari, R. Hoekstra, T. Schlathölter, B. Manil, L. Adoui, P. Rousseau, and B. A. Huber. Ion-induced Fragmentation of Amino Acids : Effect of the Environment. *ChemPhysChem*, 12 :930, 2011.
- [100] Y.-J. Kuan, S. B. Charnley, H.-C. Huang, W.-L. Tseng, and Z. Kisiel. Interstellar glycine. *Astrophys. J.*, 593 :848, 2003.
- [101] L.E. Snyder, F. J. Lovas, J. M. Hollis, D.N. Friedel, P. R. Jewell, A. Remijan, V. V. Ilyushin, E.A. Alekseev, and S.F. Dyubko. A Rigorous Attempt to Verify Interstellar Glycine. *Astrophys. J.*, 619 :914, 2005.
- [102] P. Ehrenfreund, D. P. Glavin, O. Botta, G. Cooper, and J. L. Bada. Extraterrestrial amino acids in Orgueil and Ivuna : tracing the parent body of CI type carbonaceous chondrites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 98 :2138, 2001.
- [103] S. Simon, A. Gil, M. Shodupe, and J. Bertrán. Structure and fragmentation of glycine, alanine, serine and cysteine radical cations. A theoretical study. *J. Mol. Struct.-THEOCHEM*, 727 :191, 2005.
- [104] H.-W. Jochims, M. Schwell, J.-L. Chotin, M. Clemeno, F. Dulieu, H. Baumgärtel, and S. Leach. Photoion mass spectrometry of five amino acids in the 6-22 eV photon energy range. *Chem. Phys.*, 298 :279, 2004.
- [105] A. F. Lago, L. H. Coutino, R. R. T. Marinho, A. Naves de Brito, and G. G. B. de Souza. Ionic dissociation of glycine, alanine, valine and proline as induced by VUV (21.21 eV) photons. *Chem. Phys.*, 307 :9, 2004.
- [106] P. J. Linstrom and W. G. Mallard, editors. *NIST Chemistry WebBook* <http://webbook.nist.gov/>, *NIST Standard Reference Database Number 69*. National Institute of Standards and Technology, 2011.
- [107] S. Bari, F. Alvarado, J. Postma, P. Sobocinski, R. Hoekstra, and T. Schlathölter. Kinetic energy releases of small amino acids upon interaction with keV ions. *Eur. Phys. J. D*, 51 :81, 2009.
- [108] S. Tomita, H. Lebius, A. Brenac, F. Chandezon, and B. A. Huber. Energetics in charge-separation processes of highly charged fullerene ions. *Phys. Rev. A*, 67 :063204, 2003.
- [109] A. Gil, S. Simon, L. Rodrigez-Santiago, J. Bertrán, and M. Shodupe. Influence of the Side Chain in the Structure and Fragmentation of Amino Acids Radical Cations. *J. Chem. Theory Comput.*, 3 :2210, 2007.
- [110] J. Chocholouzova, J. Vacek, F. Huisken, O. Werhahn, and P. Hobza. Stacked Structure of the Glycine Dimer Is More Stable than the Cyclic Planar Geometry

- with Two O⁺H...O Hydrogen Bonds : Concerted Action of Empirical, High-Level Nonempirical ab Initio, and Experimental Studies. *J. Phys. Chem. A*, 106 :11540, 2002.
- [111] S. Deniff, I. Mahr, F. Ferreira da Silva, F. Zappa, T. D. Mark, and P. Scheier. Electron impact ionization studies with the amino acid valine in the gas phase and (hydrated) in helium droplets. *Eur. Phys. J. D*, 51 :73, 2009.
- [112] Y. Hu and E. R. Bernstein. Vibrational and Photoionization Spectroscopy of Neutral Valine Clusters. *J. Phys. Chem. A*, 113 :8454, 2009.
- [113] J.M. Rice and G.O. Dudek. Mass spectra of nucleic acid derivatives. II. Guanine, adenine, and related compounds. *J. Am. Chem. Soc.*, 89 :2719, 1967.
- [114] J.L. Occolowitz. Carbon-14 as a label in mass spectrometry. *Chem. Commun. (London)*, 1968 :1226, 1968.
- [115] M.G. Barrio, D.I.C. Scopes, J.B. Holtwick, and N.J. Leonard. Syntheses of all singly labeled [¹⁵N]adenines : Mass spectral fragmentation of adenine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78 :3986, 1981.
- [116] S.K. Sethi, S.P. Gupta, E.E. Jenkins, C.W. Whitehead, L.B. Townsend, and J.A. McCloskey. Mass spectrometry of nucleic acid constituents. Electron ionization spectra of selectively labeled adenines. *J. Am. Chem. Soc.*, 104 :3349, 1982.
- [117] J.A. McCloskey. *Basic Principles in Nucleic Acid Chemistry, vol. I*. Academic Press, New York, 2005.
- [118] E.G. Brown and B.S. Mangat. *Biochim. Biophys. Acta*, 177 :427, 1969.
- [119] K.C. Smith and R.T. Aplin. A Mixed Photoproduct of Uracil and Cysteine (5-S-Cysteine-6-hydrouracil). A Possible Model for the in Vivo Cross-Linking of Deoxyribonucleic Acid and Protein by Ultraviolet Light. *Biochemistry*, 5 :2125, 1966.
- [120] S.M. Hecht, A.S. Gupta, and N.J. Leonard. *Biochim. Biophys. Acta*, 182 :444, 1969.
- [121] N.S. Hush and A.S. Cheung. Ionization potentials and donor properties of nucleic acid bases and related compounds. *Chem. Phys. Lett.*, 34 :11, 1975.
- [122] S. Urano, X. Yang, and P.R. LeBreton. UV photoelectron and quantum mechanical characterization of DNA and RNA bases : valence electronic structures of adenine, 1,9-dimethyl-guanine, 1-methylcytosine, thymine and uracil. *J. Mol. Struct.*, 214 :315, 1989.
- [123] G. Lauer, W. Schäfer, and A. Schweig. Functional subunits in the nucleic acid bases uracil and thymine. *Tetrahedron Lett.*, 16 :3939, 1975.
- [124] C. Yu, T.J. O'Donnell, and P.R. LeBreton. Ultraviolet photoelectron studies of volatile nucleoside models. Vertical ionization potential measurements of methylated uridine, thymidine, cytidine, and adenosine. *J. Phys. Chem.*, 85 :3851, 1981.
- [125] M.H. Palmer, I. Simpson, and R.J. Platenkamp. The electronic structure of flavin derivatives : Part I. Ab initio calculations for 1H-alloxazine and 10H-isoalloxazine, their reduced derivatives and related compounds ; assignments of photoelectron spectra. *J. Mol. Struct.*, 66 :243, 1980.
- [126] D. Dougherty, K. Wittel, J. Meeks, and S.P. McGlynn. Photoelectron spectroscopy of carbonyls. Ureas, uracils, and thymine. *J. Am. Chem. Soc.*, 98 :3815, 1976.

- [127] M. Kubota and T. Kobayashi. Electronic structure of uracil and uridine derivatives studied by photoelectron spectroscopy. *J. Electr. Spectrosc. Rel. Phenom.*, 82 :61, 1996.
- [128] S. Peng, A. Padva, and P.R. LeBreton. Ultraviolet photoelectron studies of biological purines : the valence electronic structure of adenine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 73 :2966, 1976.
- [129] J. Lin, C. Yu, S. Peng, I. Akiyama, K. Li, L. Kao Lee, and P.R. LeBreton. Ultraviolet photoelectron studies of the ground-state electronic structure and gas-phase tautomerism of purine and adenine. *J. Am. Chem. Soc.*, 102 :4627, 1980.
- [130] J. de Vries, R. Hoekstra, R. Morgenstern, and T. Schlathölter. Charge Driven Fragmentation of Nucleobases. *Phys. Rev. Lett.*, 91 :053401, 2003.
- [131] F. Alvarado, S. Bari, R. Hoekstra, and T. Schlathölter. Interactions of neutral and singly charged keV atomic particles with gas-phase adenine molecules. *J. Chem. Phys.*, 127 :34301, 2007.
- [132] P. Moretto-Capelle, A. Le Padellec, G. Brière, S. Massou, and F. Franceries. Energetics and metastability of the adenine dication observed in proton-adenine collisions. *J. Chem. Phys.*, 127 :234311, 2007.
- [133] J. de Vries, R. Hoekstra, R. Morgenstern, and T. Schlathölter. C^{q+} -induced excitation and fragmentation of uracil : effects of the projectile electronic structure. *J. Phys. B : At. Mol. Opt. Phys.*, 35 :4373, 2002.
- [134] A. Ławicki. *Interaction de molécules et d'agrégats d'hydrocarbures aromatiques polycycliques avec des ions multichargés lents*. PhD thesis, Université de Caen Basse-Normandie, 2010.
- [135] R. Maissonny. *Etude expérimentale de la fragmentation d'agrégats d'eau induite par impact d'ions multichargés*. PhD thesis, Université de Caen Basse-Normandie, 2011.
- [136] M. Meot-Ner. Ion thermochemistry of low-volatility compounds in the gas phase. 2. Intrinsic basicities and hydrogen-bonded dimers of nitrogen heterocyclics and nucleic bases. *J. Am. Chem. Soc.*, 101 :2396, 1979.
- [137] S. Bari, P. Sobocinski, J. Postma, F. Alvarado, R. Hoekstra, V. Bernigaud, B. Manil, J. Rangama, B. Huber, and T. Schlathölter. Fragmentation of alpha- and beta-alanine molecules by ions at Bragg peak energies. *J. Chem. Phys.*, 128 :074308, 2008.
- [138] S. Bari, R. Hoekstra, and T. Schlathölter. Peptide fragmentation by kev ion-induced dissociation. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 12 :3376, 2010.
- [139] S. Bari. *The influence of peptide structure on fragmentation pathways*. PhD thesis, University of Groningen, The Netherland, 2010.

Etude de l'interaction entre ions multichargés et systèmes complexes d'intérêt biologique : effets de l'environnement à l'échelle moléculaire

RÉSUMÉ

Cette thèse présente l'étude de l'interaction d'ions multichargés de basse énergie (quelques 10 keV) avec des systèmes complexes d'intérêt biologique (acides aminés et base azotée). Dans ce cadre, l'objectif de travail se situe dans la compréhension et la mise en évidence d'effets de l'environnement moléculaire. Afin d'étudier ce phénomène, les spectres en temps de vol des produits cationiques issus de la collision ont été comparés dans le cas de molécules isolées ou au sein d'agrégats purs ou mixtes. Il est apparu que l'environnement moléculaire permettait d'une part de protéger la molécule en autorisant la répartition de l'énergie et de la charge après la collision (se traduisant par une diminution de la fragmentation globale, la fermeture de certaines voies, ...). D'autre part, l'environnement semble susceptible de fragiliser certaines liaisons intramoléculaires comme l'illustre l'apparition de nouvelles voies de fragmentations dans les agrégats d'adénine. Enfin, l'agrégat constitue également un premier environnement chimique avec lequel la molécule va pouvoir interagir. Les spectres obtenus avec des agrégats hydratés d'adénine signent par exemple le transfert d'un proton depuis les molécules d'eau vers la base azotée. Plus surprenant encore, les ions multichargés semblent induire la formation de liaisons peptidiques au sein d'agrégats de beta-alanine. Ce dernier résultat a été étudié plus en détails en fonction de la taille des agrégats ou de l'ion projectile utilisé. Un certain nombre de critères (flexibilité et géométrie de la molécule, testées en utilisant d'autres acides aminés) ont été avancés pour prédire la formation de liaisons peptidiques.

Experimental study of the fragmentation of water clusters induced by multiply charged ions.

ABSTRACT

This PhD thesis describes the experimental study of the interaction between slow multiply charged ions (tens of keV) and molecular systems of biological interest (amino acids and nucleobases). It is the aim to identify and to better understand the effect of a molecular environment on different collision induced phenomena. To do so, the time of flight spectra of cationic products emerging from collisions with isolated molecules as well as clusters are compared. It is shown that the molecular environment protects the molecule as it allows to distribute the transferred energies and charges over the whole system (global decrease of the fragmentation and quenching of some fragmentation channels). Furthermore, in the case of adenine clusters, the molecular environment weakens some intramolecular bonds. Moreover, products of chemical reactions are observed concerning proton transfer processes in hydrated cluster of adenine and the formation of peptide bonds between beta-alanine molecules in a cluster. The latter finding is studied as a function of the cluster size and type of the projectile. Some criteria for peptide bond formation, such as flexibility and geometry of the molecule, are investigated for different amino acids.

MOTS-CLES

Spectrométrie de masse à temps de vol, interaction ion-molécule, ions multichargés, biomolécules, cluster (chimie), ionisation, chimie sous rayonnement, spectrométrie de masse avec ionisation électrospray

DISCIPLINE

Milieux dilués et optique fondamentale

LABORATOIRE

CIMAP - GANIL

Centre de Recherche sur les Ions, les Matériaux et la Photonique

Boulevard Henry Becquerel, BP 5133, 14070 Caen, Cedex 05, France