

Journées de prospective IN2P3 / DAPNIA 2004-2014

Interface avec les sciences de la vie

Caractérisation physique et chimique pour le vivant

Le savoir faire et les compétences instrumentales acquises en physique nucléaire à l'IN2P3 et à l'Université dans le domaines des faisceaux d'ions et d'agrégats (sources, transport et focalisation) et de la détection de particules ont permis à plusieurs équipes de physiciens de proposer l'application de techniques nucléaires à la caractérisation d'échantillons biologiques, en collaboration avec des biologistes, des chimistes et des médecins. Cette thématique s'est développée auprès d'accélérateurs d'ions légers dont certains ont été modifiés pour l'accélération d'ions lourds poly-atomiques : Van de Graaff de 2 MV à l'IPNL, Van de Graaff de 3.5 MV au CENBG et Tandem de 15 MV à l'IPNO et fait appel à des techniques d'imagerie, d'analyse chimique élémentaire et d'irradiation locale à l'échelle du micromètre : **STIM, PIXE, RBS, SIMS** complétées par **STEM, EXDS, EELS, ELNES, SIMS, PDMS, spectrométrie par absorption X** Elle regroupe aujourd'hui **trois axes de recherche**, développés par **quatre groupes interdisciplinaires de l'IN2P3** indépendamment de programmes de recherche externes : l'étude des bio-matériaux, par l'équipe Physique Nucléaire appliquée aux bio-matériaux du **LPC Clermont**, l'étude d'expositions environnementales à l'échelle du tissu biologique et de la cellule, par l'équipe Interface Physique-Biologie du **CENBG** et enfin la caractérisation de biomolécules pour la bactériologie, l'exobiologie et l'environnement par l'**IPN Orsay** (groupe Interaction Ion-Matière) et l'**IPN Lyon** (groupe Collisions Atomiques dans les Solides). A plus long terme, ces trois axes bénéficieront de nouvelles techniques à l'échelle nanométrique (accélérateur de nouvelle génération et nanosonde du programme AIFIRA au CENBG, projet de faisceaux d'ions polyatomiques TANCREDE et nanofaisceaux d'agrégats d'or à l'IPNO).

1- LES BIO-MATERIAUX

L'étude des biomatériaux menée au LPC Clermont se concentre sur trois points :

- **la caractérisation des réactions physico-chimiques à l'interface céramiques bioactives / tissus vivants.** Un des objectifs du groupe porte sur le développement de biocéramiques à dissolution et bioactivité contrôlées et la compréhension des réactions physico-chimiques à l'interface biocéramiques / tissus vivants conduisant à la bioactivité. La détermination des concentrations locales et le type d'ions relargués par **PIXE-RBS, STEM-EDXS-EELS-ELNES** permettent de comprendre la complexité des réactions qui ont lieu et le rôle des éléments traces. L'activité et la viabilité cellulaire sont étudiées par **cryo-spectrométrie X** en mesurant les concentrations intracellulaires (P, S, Mg, K, Na) des cellules exposées aux différentes biocéramiques. **Collaborations** : Société Depuy-Bioland (Toulouse) ; INSERM (Reims) et CENBG.
- **les transferts d'éléments métalliques à l'interface prothèse / tissus vivants.** L'objectif de cette étude est de caractériser la contamination et la toxicité en déterminant la teneur, la nature et la répartition des débris métalliques (Ti, Al, V, Co, Cr, Mo) par rapport à l'implant. **Collaborations** : Institut Calot de Berck-sur-Mer ; CENBG ; LURE ; CERi.
- **le développement de modèles de percolation pour les biomatériaux.** La modélisation, par la théorie de la percolation, de la résorption des biomatériaux (corail, hydroxyapatite)

permet de mettre en évidence l'influence de leurs caractéristiques sur leur intégration en milieu vivant. Les modèles 2D et 3D développés utilisent un réseau rectangulaire qu'il faudrait étendre à des réseaux de forme quelconque et il faudrait également prendre en compte l'effet de la taille des pores dans la simulation. **Collaboration** : équipe de physique théorique du LPC Clermont.

En parallèle à ces deux derniers points, un nouvel axe de recherche se dégage à long terme : **l'élaboration de céramiques bioactives et nanostructurées par chimie douce (procédé Sol-Gel, en collaboration avec les chimistes du LMI Clermont-Ferrand) et caractérisation de l'interface biocéramiques / fluides biologiques / cellules osseuses**. Cette étude doit conduire à un contrôle fin de la bioactivité et du comportement en solution des biocéramiques (possibilité de dépôts de brevets et de contrats industriels). Afin de mieux comprendre les réactions physico-chimiques conduisant à la formation de différentes couches en périphérie des biocéramiques, il est primordial d'analyser localement la distribution des éléments aux interfaces. Ces analyses nécessitent des méthodologies ayant une bonne sensibilité et une excellente résolution spatiale. Dans ce cadre, des cartographies chimiques de l'interface à l'échelle micrométrique et nanométrique seront nécessaires (**PIXE-RBS** dans la cadre du programme AIFIRA, **STEM-EDXS-EELS**).

18 publications dans des journaux des sciences de la vie dont :

- P. LAQUERRIERE, A. GRANDJEAN-LAQUERRIERE, S. ADDADI-REBBAH, E. JALLOT, D. LAURENT-MAQUIN, P. FRAYSSINET, M. GUENOUNOU, MMP-2, MMP-9 and their inhibitors TIMP-2 and TIMP-1 production by human monocytes in vitro in the presence of different forms of hydroxyapatite particles, **Biomaterials** 25,13 (2004) 2515-2524.
- P. LAQUERRIERE, E. JALLOT, L. KILIAN, H. BENHAYOUNE, G. BALOSSIER, Effects of bioactive glass particles and ionic products of bioactive glass particles on intracellular concentrations, **Journal of Biomedical Materials Research** 65A (2003) 441-446.
- J.L. IRIGARAY, H. OUDADESSE, V. BRUN, Nuclear methods to characterize biomaterials, **Biomaterials** 22 (2001) 629-640.
- Y. BARBOTTEAU, J.L. IRIGARAY, J.F. MATHIOT, Modelling by percolation theory of the behaviour of natural coral used as bone substitute, **Physics in Medicine and Biology** 48 (2003) 3611-3623.

Effectifs 2004 : 1 PR, 1 PR émérite, 1 MC, 1 Thésard, 1 stagiaire DEA

2- EXPOSITIONS ENVIRONNEMENTALES A DES NANOPARTICULES ET DES METAUX

L'analyse de la localisation intracellulaire du composé toxique dans le cadre des études de toxicité des métaux sur des systèmes cellulaires *in vitro* est un élément primordial pour l'évaluation du mode de transfert, la détermination des cibles cellulaires spécifiques et la compréhension des mécanismes impliqués. Les microfaisceaux d'ions développées au CENBG permettent cette exploration chimique du milieu vivant en termes d'éléments trace essentiels à la vie (Mn, Fe, Cu, Zn...), ions inorganiques entrant dans la majorité des échanges ioniques (Na, P, S, Cl, K, Ca), ou encore métaux cytotoxiques (Cr, Co, Pb, Hg, Pt).

Pénétration de métaux et nanoparticules à travers la barrière cutanée humaine : études dermatologiques et dermocosmétiques. Les microfaisceaux d'ions sont des outils de choix pour l'analyse et le suivi de la pénétration d'éléments exogènes comme des métaux ou des

minéraux dans le cadre d'études d'expositions à des toxiques ou au contraire pour suivre la pénétration percutanée de molécules à des fins curatives. L'exposition chronique à des nanoparticules de TiO₂ employées massivement comme filtres physiques dans des crèmes solaires est un des thèmes que nous étudions actuellement dans le cadre du programme R&D européen NANODERM (ID:QLK4-CT-2002-02678) (www.uni-leipzig.de/~nanoderm). Des questions se posent également sur les anti-transpirants à base d'aluminium. Ces études de sécurité sanitaire intéressent l'industrie pharmaceutique et dermo-cosmétique. Nous étudions également divers modèles de peau et d'épiderme reconstruits dans le but d'une utilisation future dans le cadre d'études de pénétration. Ces modèles sont actuellement en plein développement en raison notamment des lois éthiques sur l'utilisation de modèle animal. Nous sommes engagés notamment dans une phase de comparaison et de validation d'un épiderme commercialisé par une société privée dans le cadre d'un contrat de valorisation (SkinEthic, Nice). **Collaborations** : consortium européen NANODERM - 5^{ème} PCRD, "qualité de la vie", action "environnement et santé", sur le thème : "propriétés de la peau en tant que barrière aux particules ultra fines" ; 11 laboratoires européens participants. ; Laboratoire des facteurs de défense et de régulation cellulaire – EA 1915, Université de Bordeaux I ; Laboratoire d'évaluation clinique en dermocosmétique, Institut de recherche Pierre Fabre, Vigoulet-Auzil.

Etude des modes d'administration d'un anticancéreux à base de platine. La résistance des tumeurs solides à la chimiothérapie conventionnelle peut s'expliquer par différents facteurs tels que l'architecture tumorale ou la faible vascularisation qui mènent à une pénétration insuffisante de la drogue dans les tissus. Afin d'optimiser cette pénétration, différentes méthodes d'administration locales ont été évaluées : action potentialisatrice de l'épinéphrine, un vasoconstricteur qui, en diminuant le flux sanguin autour du tissu tumoral, peut retarder la résorption systémique de la drogue et augmenter ainsi la durée de l'exposition. Nous poursuivons actuellement sur une nouvelle méthode d'injection intrapéritonéale sous pression. **Collaboration** : B. Chauffert, groupe d'étude sur la résistance des cellules épithéliales aux médicaments cytotoxiques, CJF INSERM 94/08, Faculté de médecine de Dijon.

Toxicologie nucléaire et environnementale. L'équipe IPB participe actuellement à la mise en place d'une plate-forme de techniques d'analyse et de spéciation dans le cadre du programme inter-organismes (CNRS-CEA-INSERM, INRA) Toxicologie Nucléaire Environnementale (Tox-NucE). Le but est ici de coordonner un ensemble de programmes interdisciplinaires pour l'étude des effets radio- et chimio-toxiques des métaux et radioéléments sur le vivant. Nous participons par le développement des techniques d'analyse chimique élémentaire en 2D et 3D à l'échelle de la cellule individuelle. En particulier, des études sur l'internalisation de métaux et particules solides sont envisagées. A plus long terme, les outils développés vont constituer une ressource incontournable dans le domaine. **Collaborations** : programme européen PROCOPE avec l'Université de Leipzig, T. Butz, Division of Nuclear Solid State Physics, Allemagne ; A. Simionovici, ENS Lyon et R. Ortega, CNAB, CNRS-DSC et Université de Bordeaux 1, dans le cadre de Tox-NucE.

Dans un proche avenir (2006), une nouvelle ligne nanofaisceau va permettre d'atteindre une résolution spatiale d'une cinquantaine de nanomètres. Ce développement est en cours dans le cadre du programme AIFIRA qui vise à implanter au CENBG un accélérateur de dernière génération. AIFIRA est un programme d'excellence fortement soutenu par l'Université Bordeaux 1, la région Aquitaine et les deux départements du CNRS que sont l'IN2P3 et le

DSC. Le budget global de l'opération financée en partie dans le cadre du contrat de plan Etat-Région Aquitaine, y compris le bâtiment, est d'environ 2.6 M€.

28 publications dans des journaux des sciences de la vie dont :

- A. GUIET-BARA, C. MICHELET-HABCHI, PH. BARBERET, R.K. DUTTA, PH. MORETTO, M. BARA, Elemental maps in human allantochoial placental vessels cells : 3.5-hydroxytryptamine effects, **Cellular and Molecular Biology** 49/4 (2003) 487-492.
- C. MICHELET-HABCHI, PH. BARBERET, R.K. DUTTA, PH. MORETTO, A. GUIET-BARA, M. BARA, Elemental maps in human allantochoial placental vessels cells : 2. MgCl₂ and MgSO₄ effects, **Magnesium Research** 16/3 (2003) 171-175.
- CH. DUVILLARD, L. BENOIT, PH. MORETTO, J.L. BELTRAMO, P. BRUNET-LECOMTE, M. CORREIA, C. SERGENT, B. CHAUFFERT, Epinephrine enhances penetration and anti-cancer activity of local cisplatin on rat sub-cutaneous and peritoneal tumors, **Int. J. Cancer** : 81,779-784 (1999).
- R.K. GHERARDI, M. COQUET, P. CHERIN, PH. MORETTO, P.A. DREYFUS, J.F. PELLISSIER, P. CHARIOT, F.J. AUTHIER, Macrophagic myofasciitis lesions asses long-term persistence of vaccine-derived aluminium hydroxide in muscle, **Brain** (2001), 124, 1821-1831.

Effectifs 2004 : 1 PR, 1 DR, 1 MC, 1 CR, 2 Thésards, 1 ATER, 4 Post-doc

3- LA CARACTERISATION DE BIOMOLECULES POUR LA BACTERIOLOGIE, L'EXOBILOGIE ET L'ENVIRONNEMENT

Deux équipes de l'IN2P3, l'IPN Lyon et l'IPN Orsay, étudient l'interaction des ions poly-atomiques (agrégats et molécules) avec les solides dans le but de comprendre les mécanismes conduisant aux émissions secondaires induites en surface par l'impact de ces particules. L'application de ces recherches dans les domaines de la biologie, de l'astrophysique et de l'environnement est aujourd'hui en plein développement. Le bombardement ionique associé à la spectrométrie de masse est utilisé depuis très longtemps pour analyser des surfaces. Cette technique fait l'objet de nombreux développements instrumentaux dans le monde, elle est communément connue sous l'abréviation **SIMS** (Secondary-Ion Mass Spectrometry) pour les bombardements ioniques et **MALDI** (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation) pour l'irradiation laser auxquelles l'IPNO a fortement contribué à depuis le début des années 1980. Le développement de sources d'ions poly-atomiques fournissant des fullerènes ou des agrégats d'or dans un large domaine de taille (jusqu'à plusieurs centaines d'atomes) permet d'obtenir beaucoup plus d'informations que les sondes atomiques. Ce bombardement, plus efficace et endommageant beaucoup moins les matériaux étudiés, permet une application pour les milieux biologiques avec pour objectifs l'imagerie moléculaire quelle que soit la matrice : sols, micrométéorites, tissus cellulaires. Dans le cas du SIMS, l'IPN d'Orsay et l'IPN Lyon ont développé des sources d'agrégats permettant d'accroître considérablement les émissions secondaires. La source d'agrégats et les deux accélérateurs (l'accélérateur Tandem de 15 MV à l'IPNO et l'accélérateur Van de Graaff de 2 MV à l'IPNL) permettent de couvrir le plus large domaine d'énergie pour ces études, du keV à la dizaine de MeV, avec une adaptation parfaite pour chaque domaine de masse et d'énergie. C'est un ensemble unique au monde utilisé par deux équipes de l'IN2P3 avec des collaborations nationales et internationales.

Durant les cinq prochaines années, ces deux groupes vont poursuivre leur collaboration à plusieurs niveaux :

1. **une recherche fondamentale propre sur la compréhension du dépôt d'énergie des projectiles poly-atomiques.** L'effort portera sur l'émission ionique secondaire dont on étudiera la multiplicité d'émission, l'énergie d'éjection, et la distribution angulaire. Ces recherches s'effectueront auprès de l'accélérateur Van de Graaff de l'IPNL, avec des sources d'agrégats d'or et auprès de la nouvelle source d'ions TANCREDE à l'IPNO.
2. **une recherche instrumentale dévolue aux recherches pluridisciplinaires :**
 - Le développement de **nouvelles sources d'ions d'agrégats** : le projet TANCREDE. . Ce développement s'effectue en particulier avec des sources ECR et doit aboutir à la conception d'un accélérateur, en relation avec la société Pantechnik.
 - Et un développement de **micro-faisceaux d'agrégats dans le domaine sub-micrométrique** avec des agrégats d'or. Cette recherche s'effectuera en collaboration avec la société Orsayphysics qui est un des leaders mondiaux pour les colonnes de faisceaux d'ions nanométriques. La R&D concernant les **détecteurs multipixels**, initiée à l'IPNO, se poursuivra au sein de la plate-forme D.T.P.I. (Détection, Temps pour l'Imagerie) créée sur le campus d'Orsay en collaboration avec plusieurs laboratoires du SPM en 2001.
3. **une recherche pluridisciplinaire orientée vers l'analyse de surface par spectrométrie de masse pour la biologie, l'astrophysique et l'environnement** avec pour objectifs l'amélioration de la sensibilité et la possibilité de minimiser, voire même supprimer, les traitements de préparation des échantillons.
 - Le premier projet multidisciplinaire présenté ci-dessous s'appuie sur plusieurs années de recherche et développement dans ce domaine à l'IPN d'Orsay et propose deux nouvelles approches pour **identifier et caractériser les bio-molécules issues de tissus biologiques, de cellules et de bactéries**. Ce projet sera réalisé en collaboration avec des équipes de biologistes de l'Institut de Biochimie, Biophysique Moléculaire et Cellulaire (IBBMC), l'UMR 8619, CNRS, un groupe de recherche du NIH et la société Ionwerks (USA). Dans un premier temps, le système biologique choisi pour évaluer ces deux techniques est la membrane des bactéries Gram-négatives avec l'étude des endotoxines. L'intérêt de ces molécules est considérable car elles sont responsables d'infections nosocomiales souvent mortelles mais elles présentent, à l'opposé, des pouvoirs bénéfiques utilisés dans les domaines des vaccins et de la recherche sur le cancer.
 - Pour le domaine astrophysique, le but est **l'analyse d'échantillons extraterrestres pour accéder aux conditions initiales du système solaire et étudier l'évolution chimique et biologique en milieu extrême, l'exobiologie**. Les questions abordées sont les suivantes : quel rôle les comètes ont-elles joué sur l'évolution moléculaire (voire l'apparition de la vie) terrestre et planétaire ? Mars a-t-elle abrité une évolution prébiotique ayant conduit, comme sur Terre, à l'apparition de structures vivantes, aujourd'hui fossilisées ou réfugiées dans des biotopes souterrains ? Cette recherche est menée au sein d'une collaboration autour de l'IAS et comporte de nombreuses équipes travaillant à l'Université Paris Sud et à Gif sur Yvette qui se sont regroupées sur un plan pluriformation de l'Université ParisXI. Et elle est au cœur des nouveaux programmes spatiaux et prépare les retours d'échantillons des missions Mars Express et StarDust.

- Dans le domaine des Sciences Analytiques pour l'Environnement, **la possibilité d'analyser in-situ des polluants organiques et biologiques adsorbés sur des solides**, comme par exemple des sols, est un atout majeur qui permet de s'affranchir de traitements préalables des échantillons qui sont toujours délicats et susceptibles de modifier l'échantillon réel.. Ces études sont menées en collaboration avec le CNRS Libanais de Beyrouth dans le cadre d'un Programme CEDRE (France-Liban). Cette recherche s'inscrit dans les thématiques de l'Institut des Sciences Analytiques, créé à Lyon en 2002, qui a pour objectifs, d'une part la recherche de base pour le développement des techniques analytiques futures et d'autre part la coordination des programmes scientifiques pluridisciplinaires de différents laboratoires de l'Université Lyon-1 (Bio-Analyse, Environnement).

25 publications dont 17 à dominantes SDV depuis 1980

- A. TEMPEZ, J.A. SCHULTZ, S. DELLA-NEGRA, J. DEPAUW, D. JACQUET, A. NOVIKOV, Y. LEBEYEC, M. PAUTRAT, M. CAROFF, M. UGAROV, H. BENSAOULA, M. GONIN, K. FUHRER, A. WOODS, Orthogonal time of flight secondary ion mass spectrometric analysis of peptides using large Gold Cluster, **Rapid Comm. in Mass Spectrom.** 18 (2004) 371-376.
- D. KARIBIAN, A. BRUNELLE., L. AUSSEL, M. CAROFF, ²⁵²Cf-Plasma Desorption Mass Spectrometry of unmodified lipid A : fragmentation patterns and localization of fatty acids, **Rapid. Comm. Mass. Spectrom.** (1999) 13, 2252-2259.
- D. KARIBIAN, C. DEPRUN, M. CAROFF, Use of Plasma Desorption Mass Spectrometry in structural analysis of endotoxins : effects on lipid A of different acid treatments", **Bacterial endotoxins: lipopolysaccharides from genes to therapy**, 103-111. Wiley-Liss, Inc. 1995.
- H. LAMTHANH, C. ROUMESTAND, C. DEPRUN, A. MENEZ, Side reaction during the deprotection of (S-acetamidomethyl) cysteine in a peptide with a high serine and threonine content, **Int. J. Peptide Protein Res.** 41 (1993) 85-95.
- M. CAROFF, C. DEPRUN, D. KARIBIAN, L. SZABO, Analysis of unmodified endotoxine preparation by ²⁵²Cf plasma desorption mass spectrometry. Determination of molecular weights of the constituent native lipopolysaccharides, **J. Biol. Chem.** Vol 266, n28 (1991) 18543-19549.
- M. CAROFF, R. CHABY, D. KARIBIAN, J. PERRY, C. DEPRUN, L. SZABO, Variations in the carbohydrate region of Bordetella-pertussis lipopolysaccharides : electrophoretic, serological and structure features **Journal of Bacteriology** vol 172, N° 2 (1990) 1121.

Effectifs 2004 : IPNL : 1 DR, 1 CR, 1 Thésard ; IPNO : 2 DR, 1 CR, 1 post-doc, 1 IR