



**HAL**  
open science

## Physique nucléaire et biologie

L. Valentin

► **To cite this version:**

L. Valentin. Physique nucléaire et biologie. École thématique. Ecole Joliot Curie "Physique nucléaire instrumentale: des éléments pour un bon choix", Maubuisson, (France), du 12-17 septembre 1994: 13ème session, 1994. cel-00648819

**HAL Id: cel-00648819**

**<https://cel.hal.science/cel-00648819>**

Submitted on 6 Dec 2011

**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.

**PHYSIQUE NUCLEAIRE ET BIOLOGIE**  
**Luc VALENTIN, IPN d'Orsay et LPN de Paris VII**

Cet exposé, couplant instrumentation nucléaire et concepts biologiques, a été articulé sur le thème "Imagerie quantitative en génétique moléculaire". Il s'est déroulé à partir d'une bonne cinquantaine d'images obtenues à l'aide de détecteurs  $\beta$  appropriés. Il était exclu, pour des raisons à la fois techniques et économiques, d'en donner ici une version écrite. Nous avons donc opté pour la production d'un plan détaillé, offrant au lecteur intéressé une sélection des articles que nous avons publiés sur le sujet.

## **I - INTRODUCTION**

Pratiquement tous les domaines de la biologie exploitent aujourd'hui trois méthodes complémentaires d'investigation issues de la génétique moléculaire : la cartographie des gènes, le séquençage de l'ADN et l'hybridation in situ. Ces trois méthodes ont en commun de recourir à des marquages par sondes radioactives  $\beta$  qu'elles révèlent grâce à des films et des émulsions autoradiographiques. Nous avons développé trois détecteurs spécifiques qui présentent en particulier les avantages suivants :

- environ 100 fois plus rapides que les films ;
- quantification absolue des résultats ;
- traitement automatique des données.

Dans cette brève note on définira tout d'abord les trois méthodes citées ci-dessus et les trois types de détecteurs associés. Ensuite on fera un bilan de la situation actuelle. Enfin on citera les nouveaux imageurs que nous développons dans le but d'accéder à des études cinétiques.

## **II - LA CARTOGRAPHIE DES GENES**

La cartographie est la méthode qui consiste à répertorier et analyser les gènes (ou assemblages, ou fragments) d'un organisme. Par exemple l'homme, dans ses 23 paires de chromosomes, comporte environ  $5 \cdot 10^4$  gènes, chacun constitué en moyenne de  $5 \cdot 10^4$  paires de bases (A, T ; G, C) ; soit à peu près  $3 \cdot 10^9$  pb pour le génome humain.

### 1) La méthode

On fait migrer les divers fragments d'ADN dans un gel sous électrophorèse. Après environ 20 mn de migration ces fragments de tailles inégales sont séparés par plusieurs millimètres de sorte que pour les repérer, après hybridation radioactive, il suffit d'un détecteur bidimensionnel ayant une résolution de l'ordre du millimètre. C'est ainsi que l'on peut également identifier les gènes déficients, les mutations, pratiquer le diagnostic prénatal, la reconnaissance d'homologues...

### 2) Le détecteur SOFI

Adapté à la cartographie, ce détecteur X-Y présente une surface d'analyse pouvant aller jusqu'à 50 x 25 cm<sup>2</sup>. A base de 2 plans de fibres optiques scintillantes orthogonales et codées, il exploite des PM multianodes de 64 pixels équipés de circuits de réjection de diaphonie mis au point à l'IPN d'Orsay. Pour le marqueur <sup>32</sup>P (E<sub>β</sub> ~ 1,7 MeV) son efficacité est de 12% et sa résolution, avec des fibres de Ø = 0,5 mm, est de 0,8 mm pour le plan X et de 2 mm pour le plan Y situé en dessous. (1)

## III - LE SEQUENÇAGE DE L'ADN

Le séquençage est l'opération qui consiste à lire une à une les bases A, T, G, C, constitutives de l'ADN.

### 1) La méthode

Dans un premier temps, à l'aide de nucléotides marqués à <sup>32</sup>P ou <sup>35</sup>S, on synthétise des ADN double brins à partir des ADN monobrins que l'on veut séquencer. Plus précisément les synthèses sont effectuées dans 4 tubes distincts ne contenant en fin de compte que des brins se terminant tous respectivement par A, T, G ou C. Ensuite on fait migrer dans un gel sous électrophorèse, et dans 4 pistes parallèles, le contenu des 4 tubes. La lecture de la séquence s'effectue alors en repérant la position des divers brins dans les quatre pistes, ou leur vitesse de migration : les brins les plus courts, migrant plus vite, donnent l'ordre des premières bases de la séquence et les plus longs celui des dernières. Malheureusement avec les gels actuels (polyacrylamide) il est impossible de séquencer plus de 500 pb à la fois.

### 2) Le détecteur SOFAS

Dédié au séquençage, qu'il effectue en vol pendant la migration, ce détecteur repose sur la même technologie que SOFI. Pour atteindre des résolutions de l'ordre de 250  $\mu$ , il utilise en fait une identification Y des pistes mais deux plans X parallèles de façon à effectuer une reconstitution de traces. En parallèle nous menons des recherches en vue d'aboutir à la conception de nouveaux matériaux susceptibles de remédier aux déficiences des gels actuels. (2)

### III - L'HYBRIDATION IN SITU

L'hybridation in situ consiste à aller repérer sur leur lieu d'expression (la cellule) les gènes actifs dans diverses fonctions.

#### 1) La méthode

Reposant sur le concept "un gène - des protéines", via des ARN messagers associés, l'hybridation radioactive est effectuée sur les ARNm (toujours monobrans) présents dans les cellules contenues dans une coupe tissulaire. Par exemple pour l'étude des mécanismes cérébraux chez le rat, celui-ci est sacrifié, son cerveau congelé et débité en tranches de 20  $\mu$ , desséché, hybridé, élué et enfin imagé, lame par lame. Pour atteindre une précision de la cellule unique il faut que l'imageur employé ait une résolution de l'ordre de 10  $\mu$ .

#### 2) L'imageur RIHR

C'est précisément le cas du détecteur RIHR qui exploite un scintillateur de 10  $\mu$  d'épaisseur couplé à un intensificateur de lumière autodéclenchant une camera CCD. Son efficacité est supérieure à 80% pour l'ensemble des radioéléments couramment employés, à l'exception du tritium pour lequel elle est néanmoins supérieure à 35%. Bien que conçu pour l'étude, par hybridation in situ, du taux d'expression des gènes, RIHR est également bien adapté aux études pharmacologiques qui utilisent le marquage par anticorps ou par traceurs métaboliques. (3)

### IV - IMAGERIE QUANTITATIVE EN GENETIQUE MOLECULAIRE

Les trois détecteurs décrits ci-dessus illustrent les trois axes sur lesquels reposent les recherches menées en génétique moléculaire. Mais il existe d'autres techniques, soit nucléaires, soit par sondes froides.

### 1) Autres détecteurs nucléaires

Parmi les imageurs exploitant les sondes nucléaires citons :

- le "phosphorimager" qui enregistre les événements sur une plaque mémorisatrice et les dénombre ensuite par lecture au laser ; sa résolution est de 200  $\mu$ .

- l'"instant imager" qui fonctionne en temps réel puisqu'il exploite une chambre à fils, précédée de collimateurs pour atteindre une résolution de 400  $\mu$ .

- le " $\beta$  imageur" qui emploie un gaz photoémissif, avec avalanches lues par un CCD placé derrière une lentille ; son seul avantage par rapport aux deux précédents est d'être sensible au tritium.

### 2) Les sondes froides

On entend par sondes froides, les sondes non nucléaires de type fluorescence ou chemiluminescence. Pour l'instant aucune ne permet d'études quantitatives. Ceci n'empêche pas les sondes fluorescentes d'être déjà employées pour le séquençage. Quant aux sondes par chemiluminescence, leur mise au point permettrait d'atteindre des sensibilités de détection très performantes (quelques dizaines de molécules).

## V - L'IMAGERIE FONCTIONNELLE

Quoi qu'il en soit, les sondes nucléaires resteront incontournables dans bien des circonstances, comme par exemple pour l'investigation des coupes opaques et les études cinétiques in vivo qui définissent l'imagerie fonctionnelle.

### 1) Le radioimageur RITM

Les recherches menées avec RIHR nous ont montré l'intérêt de développer une imagerie fonctionnelle de haute résolution, ouvrant la voie à des études cinétiques sur de petits animaux. Pour nous faire la main dans cette direction, nous avons tout d'abord réalisé une mini  $\gamma$  camera de bloc opératoire destinée au contrôle des exérèses, grâce à des marqueurs tumoraux. Par rapport aux  $\gamma$  cameras standard ce détecteur présente l'avantage d'être transportable (il ne comporte qu'un seul PM à localisation) et d'atteindre une résolution inférieure à 2 mm. Son inconvénient dans les études cinétiques est de ne donner accès qu'à une projection en 2D. (4)

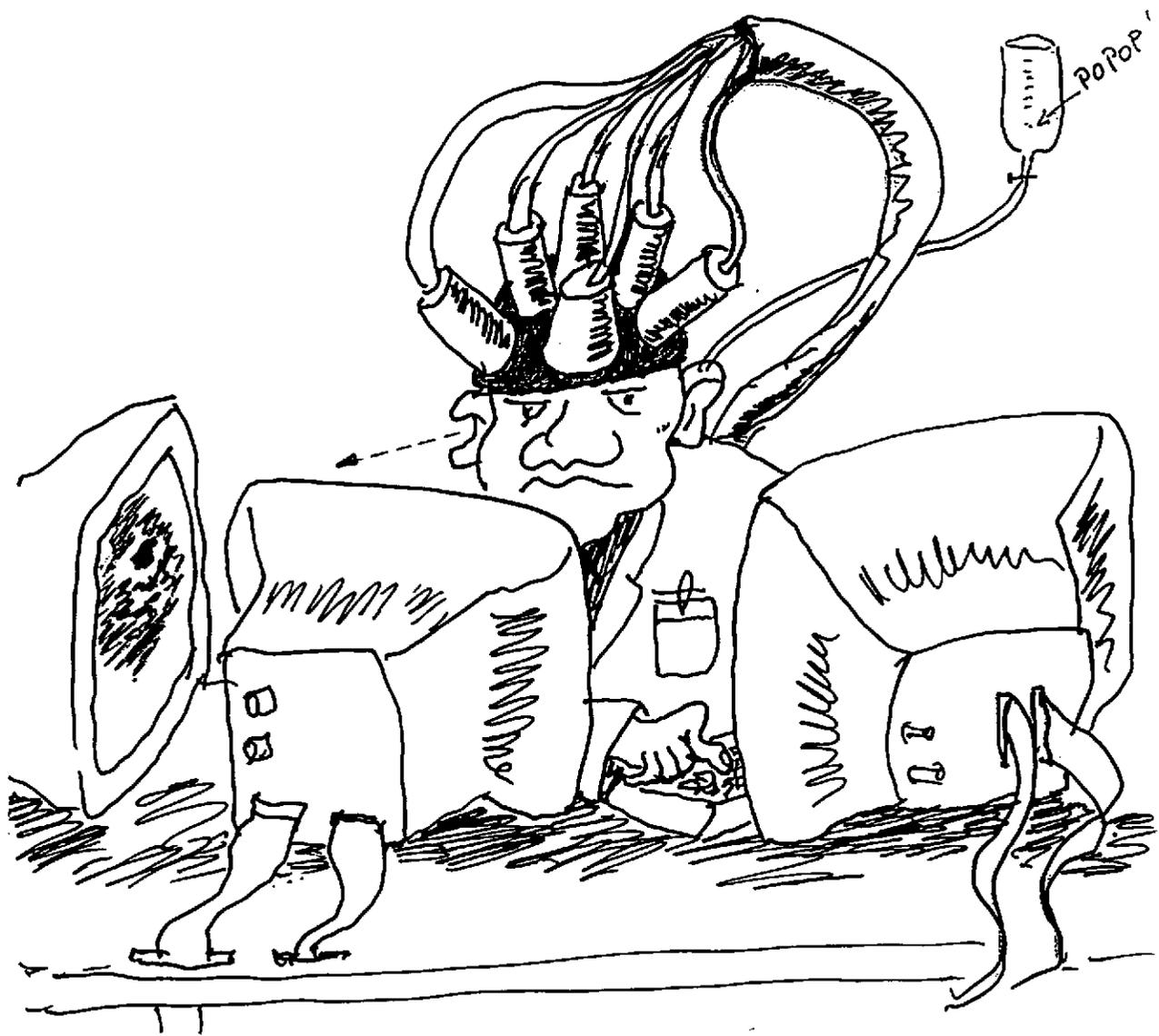
## 2) Le tomographe TOHR

Pour remédier à ce défaut nous venons de démarrer la réalisation d'un tomographe submillimétrique dont le principe permet de s'affranchir de la technique de reconstitution d'image. Reposant sur l'emploi de collimateurs focalisants et de marqueurs à cascade  $\gamma$ , il permet, grâce à sa haute efficacité (5% à comparer à  $10^{-3}$  avec PET), de recueillir l'image souhaitée point par point. (5)

### REFERENCES

- 1 – R. Matrippolito et al., SOFI : a bidimensional detector for fast direct on line quantification of  $\beta$  particles on blots.  
Biotechniques, Vol. 11 N°6 (1991)
- 2 – M. Bendali et al., Scintillating opticalfiber detectors for DNA sequencing.  
Nucl. Instr. Meth. A 310 (1991)
- 3 – P. Lanièce et al. HRRI : a high resolution radioimager for fast direct quantification in in situ hybridization experiments.  
Biotechniques, Vol. 17 N°2 (1994)
- 4 – A. Saoudi. Thèse. Orsay (1994)
- 5 – A. Valda Ochoa. Thèse en cours.

## L'AVENIR (?)



Chercheur surveillant, *IN SITU & IN VIVO*,  
son **taux de dopamine** pendant la simulation,  
*EX NIHILO + MONTE CARLO*, de l'interaction  
d'une **WIMP** dans un bolomètre.

## SEMINAIRES JEUNES

### **INDRA ; Les Calibrations des CsI**

*Nathalie MARIE - GANIL - Groupe INDRA*

Pour calibrer les 324 CsI d'INDRA, nous avons produit des réactions de diffusions élastique et inélastique de faisceaux secondaires constitués de p, d, t,  $^3\text{He}$ ,  $\alpha$  sur des cibles de diffusion d'Au, Ta, et C. Ils étaient obtenus par le bombardement d'un faisceau primaire d' $^{16}\text{C}$  à 95 A. MeV sur une cible de production de  $^{12}\text{C}$ . Les énergies des projectiles étaient fixées par le réglage de la rigidité magnétique du spectromètre de la ligne de faisceau. Les relations fonctionnelles reliant les points expérimentaux ainsi obtenus permettent de déterminer l'énergie déposée par un p, d, t,  $^3\text{He}$ , ou  $\alpha$  lors de son passage dans un CsI.

### **Un détecteur temps de vol pour des expériences de fission au FRS**

*Axel GREWE - Collaboration TH Darmstadt / GSI Darmstadt*

Au FRS, il est possible d'étudier la fission coulombienne ( $E^* \approx 12\text{MeV}$ ) de fragments exotiques de  $^{238}\text{U}$ . On peut ainsi mesurer les distributions de charge d'isotopes non accessibles jusqu'à présent. Comme le recul de fission détériore la résolution en  $\Delta E$  et donc en Z, un détecteur de temps de vol a été développé qui permet d'obtenir des résolutions  $Z / \Delta Z > 50$ .

*Ce travail est soutenu par le BMFT.*

### **Mesures de distributions angulaires de particules chargées produites par des neutrons rapides (30-70MeV) sur des noyaux légers (O, Al)**

*Sylvie BENCK - UC Louvain*

En utilisant les facilités de production de neutrons rapides du Cyclotron à L-N-N, on mesurera pour plusieurs énergies de neutrons incidents les spectres en énergie et les distributions angulaires (allant de  $20^\circ$  à  $160^\circ$  par pas de  $10^\circ$ ) des sections efficaces doublement

différentielles ( $\frac{d^2\sigma}{d\Omega dE}$ ) pour les réactions (n, px), (n, dx), (n, tx) et (n,  $\alpha$ x) sur O et Al. De ces mesures on déduira le facteur "KERMA" (utilisé en dosimétrie) de l'oxygène pour plusieurs énergies de neutrons incidents.

### **Production de faisceaux isométriques**

*Dominique LESTRADE - Bruyères PTN*

Le développement de nouvelles techniques expérimentales permet aujourd'hui de produire des faisceaux secondaires d'ions lourds radioactifs et d'étudier leur structure. Dans ce cadre, notre groupe cherche à étudier les propriétés des noyaux dans leur état isomérique. Des résultats expérimentaux encourageants montrent qu'il est possible d'obtenir des faisceaux isomériques de grande pureté par réaction directe. Cependant, les intensités obtenues restent faibles et nous envisageons d'autres mécanismes de réaction, telle la fragmentation du projectile, pour les améliorer.