

En 2003, nos équipes du CEA à Grenoble et de l'Institut Curie ont montré qu'en plus de ces mécanismes d'oxydation qui leur sont spécifiques, les ultraviolets A endommagent l'ADN comme le font les ultraviolets B. Nous avons obtenu ces résultats dans des cellules en culture et, en 2006, en collaboration avec l'Institut de recherche Pierre Fabre, nous les avons confirmés dans la peau humaine. Examinons ce qu'il en est.

Pour comprendre pourquoi les ultraviolets créent des mutations, les photochimistes étudient comment l'absorption d'un photon endommage l'ADN. Les bases (et non le squelette sucre-phosphate) absorbent les photons ultraviolets, ce qui modifie la structure électronique des atomes (la configuration des électrons autour des noyaux) : l'ADN se retrouve dans un état dit « excité », c'est-à-dire que son énergie est supérieure à celle de son état habituel. Ses constituants peuvent alors réagir les uns avec les autres.

Si les premiers travaux réalisés dès les années 1960 ont été consacrés aux bases isolées de l'ADN, nous étudions aujourd'hui les états excités de l'ADN double-brin. Ces progrès ont été rendus possibles grâce, d'une part, à la puissance des ordinateurs permettant des calculs complexes, et, d'autre part, à la spectroscopie résolue en temps, une technique qui fournit la durée de vie des espèces chimiques intermédiaires avant l'apparition d'un photoproduit (voir l'encadré ci-contre).

Nous avons d'abord étudié comment une double-hélice d'ADN absorbe les ultraviolets A. Nous avons fabriqué en laboratoire un modèle d'ADN constitué de 20 paires de bases adénine-thymine : cet ADN présente une absorption faible, mais réelle, des ultraviolets A (voir la figure 2). Au contraire, un mélange de ces bases isolées n'absorbe pas ces longueurs d'onde. Ces résultats montrent que, à l'inverse de ce que l'on a longtemps cru, les réactions photochimiques de l'ADN sont possibles non seulement avec les ultraviolets C et B, mais aussi avec les ultraviolets A.

Ensuite, grâce à la spectrométrie résolue en temps, nous avons montré que les états excités responsables de l'absorption des ultraviolets A diffèrent de ceux qui donnent lieu à l'absorption des ultraviolets B et C : ce sont des états dits à transfert de charge. En d'autres termes, dans la configuration électronique corres-

pondante, certaines bases sont chargées positivement et d'autres négativement, de sorte qu'elles peuvent réagir les unes avec les autres.

Que devient l'énergie du rayonnement ultraviolet absorbée par l'ADN ? Une part importante est dissipée sous forme de chaleur dans l'environnement de l'ADN. Une autre se répartit entre les bases, qui passent d'un état excité à un autre. Au laboratoire, nous avons montré qu'un tel transfert d'énergie commence moins de 100 femtosecondes (100×10^{-15} seconde) après l'absorption. Une toute petite fraction de l'ADN excité émet alors un rayonnement de fluorescence. Une autre, encore plus petite, subit des réactions chimiques.

La fusion des bases par les ultraviolets B

Visualiser en temps réel l'apparition d'un photoproduit dans une double hélice d'ADN reste pour le moment un défi. En effet, la probabilité de réaction de l'ADN est très faible. Pourtant, les photochimistes progressent en étudiant un simple brin formé uniquement de thymines, ce brin étant bien plus réactif qu'une double hélice. Nous avons ainsi appris que le temps qui

sépare l'absorption d'un photon ultraviolet C et la formation d'un photoproduit dépend beaucoup de la structure chimique de ce dernier. Par exemple, les dimères de thymines – des photoproduits formés de deux thymines liées – de la classe des cyclobutanes apparaissent en moins d'une picoseconde (10^{-12} seconde), alors que quatre millisecondes sont nécessaires à la formation de ceux de la classe des photoproduits (6-4) (leur nom provient de la position des atomes qui réagissent dans la molécule), car la réaction met en jeu un composé intermédiaire.

Entre 1960 et 1990, les chimistes ont étudié la structure des photoproduits découlant de ces états excités. Ils ont effectué la plupart des expériences sur de courts fragments d'ADN, faciles à obtenir en grande quantité, en les exposant à de fortes doses de rayons ultraviolets B. Ils ont ainsi montré que seulement deux des quatre bases de l'ADN sont concernées : la thymine et la cytosine, qui appartiennent à la famille des pyrimidines. Quand ces bases sont côte à côte sur un brin d'ADN, de nouvelles liaisons covalentes – des liaisons chimiques fortes – se créent entre elles, ce qui engendre des photoproduits dimériques.

L'ADN excité et ses photoproduits

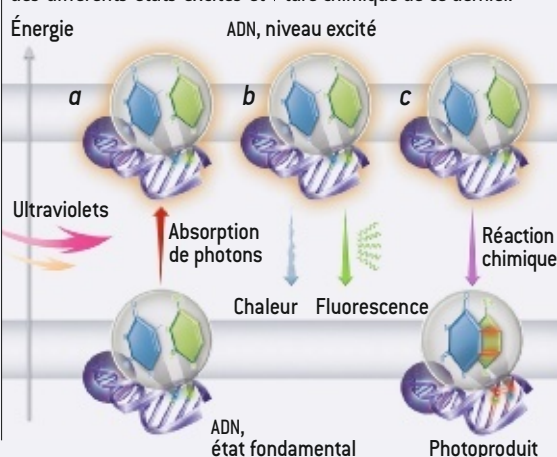
L'absorption des ultraviolets par l'ADN déclenche une série de mécanismes qui précèdent l'apparition des dommages ou photoproduits. Pour caractériser ces étapes intermédiaires, qui permettent de comprendre la formation des lésions, les photochimistes utilisent la spectroscopie résolue en temps.

L'ADN est excité par un laser ultraviolet pendant un instant très court (a). Une partie de l'énergie absorbée par l'ADN est dissipée sous forme de chaleur dans l'environnement (b). Une autre est transférée aux bases, qui passent d'un état excité à un autre. Une petite fraction de cet ADN excité émet de la fluorescence (b), tandis qu'une autre, encore plus petite, subit des réactions chimiques avec formation de photoproduits (c).

Ainsi, on détecte pendant des durées très brèves, allant de la centaine de femtosecondes à quelques nanosecondes, des signaux dont les propriétés dépendent des espèces engendrées par les rayons ultraviolets. La détection de fluorescence renseigne sur l'énergie des différents états excités et

sur leur durée de vie. On peut même identifier par le calcul le temps de présence d'espèces intermédiaires qui n'émettent pas de photons.

On a ainsi déterminé que le temps qui sépare l'absorption d'un photon et l'apparition d'un photoproduit dépend de la structure chimique de ce dernier.



Julia Fraud, Pour la Science