



HAL
open science

Un montage pour caractériser l'adsorption de biomolécules aux interfaces fluides

Eric Gicquel, Gilles Paboeuf, Vincent Burgaud, Sylvie Beaufls, Véronique Vié

► To cite this version:

Eric Gicquel, Gilles Paboeuf, Vincent Burgaud, Sylvie Beaufls, Véronique Vié. Un montage pour caractériser l'adsorption de biomolécules aux interfaces fluides. c2i- 7ème Colloque Interdisciplinaire en Instrumentation, Jan 2016, Saint-Nazaire, France. hal-01455498

HAL Id: hal-01455498

<https://hal.science/hal-01455498v1>

Submitted on 3 Feb 2017

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.

Un montage pour caractériser l'adsorption de biomolécules aux interfaces fluides

Eric Gicquel⁽¹⁾, Gilles Paboeuf⁽¹⁾, Vincent Burgaud⁽¹⁾, Sylvie Beaufiles⁽¹⁾, Véronique Vié⁽¹⁾

(1) Institut de Physique de Rennes, UMR-CNRS 6251
Campus de Beaulieu
Avenue du général Leclerc, 35042 Rennes cedex

1. Les interfaces hydrophile-hydrophobe révèlent la nature des interactions entre biomolécules

Beaucoup de biomolécules impliquées dans des processus biologiques possèdent à la fois des régions ayant une forte affinité avec les milieux aqueux (régions hydrophiles) et des régions n'ayant pas d'affinité avec ces mêmes milieux (régions hydrophobes). Cette dualité leur confère la particularité de s'adsorber aux frontières séparant deux milieux (l'un aqueux, l'autre non) telles les surfaces des membranes cellulaires ou celles des bulles dans les mousses alimentaires. Les mécanismes d'adsorption dépendent du type d'interaction de ces biomolécules avec les interfaces. La caractérisation de ces mécanismes apporte un éclairage très intéressant sur les processus biologiques en jeu aux surfaces des cellules ou sur les conditions de stabilisation des mousses. Pour cela, des dispositifs expérimentaux de caractérisation des couches adsorbées à une interface fluide modèle (Cf Figure 1) ont été développés, permettant de suivre l'évolution temporelle de la quantité de molécules adsorbées, l'hétérogénéité de la couche interfaciale et les caractéristiques mécaniques de cette dernière. Seuls les deux premiers dispositifs sont détaillés dans cette communication.

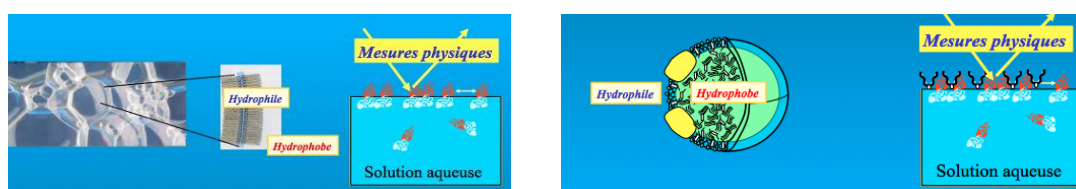


Figure 1. Schéma de principe de l'interface fluide modèle et des mesures physiques effectuées pour caractériser l'organisation interfaciale des Biomolécules. (a) interface eau-air pour modéliser l'adsorption de biomolécules sur les parois des bulles des mousses alimentaires (b) interface eau-lipide pour modéliser une des faces d'une paroi biologique

2. L'ellipsométrie aux interfaces fluides donne accès à la quantité de biomolécules adsorbées en fonction du temps.

Un ellipsomètre à annulation [1], dédié aux mesures aux interfaces liquides, a été conçu pour suivre en fonction du temps, sur des durées longues (plusieurs dizaines d'heures) l'adsorption de molécules à l'interface eau-air ou eau-lipide et l'évolution de la tension de surface tout en compensant l'évaporation du liquide.

Le principe de l'ellipsomètre à annulation repose sur la mesure du changement de polarisation d'un faisceau laser incident, par le repérage de la polarisation incidente (par un polariseur) et de la polarisation réfléchie (par un analyseur) correspondant à un minimum d'intensité réfléchie par l'interface. Deux valeurs sont extraites de ces deux mesures, les angles ellipsométriques Ψ et Δ , Δ étant proportionnelle à la quantité de biomolécules adsorbées [2].

L'angle d'incidence du faisceau laser est décalé de 1° de l'angle de Brewster de l'interface eau-air (Cf Figure 2) de façon à avoir un minimum tout en gardant une intensité mesurable. La polarisation incidente est choisie dans le plan d'incidence du faisceau laser. Ainsi, lorsque l'interface est vierge de toute molécule adsorbée, un minimum d'intensité est obtenu lorsque l'analyseur est croisé avec le polariseur. Cette position constitue le niveau de référence au temps $t=0$. Par la suite, lorsque des molécules s'adsorbent à l'interface, les positions du polariseur et de l'analyseur sont mesurées en fonction du temps et le suivi de $\Delta(t)$ reflète la cinétique d'adsorption des biomolécules à l'interface.

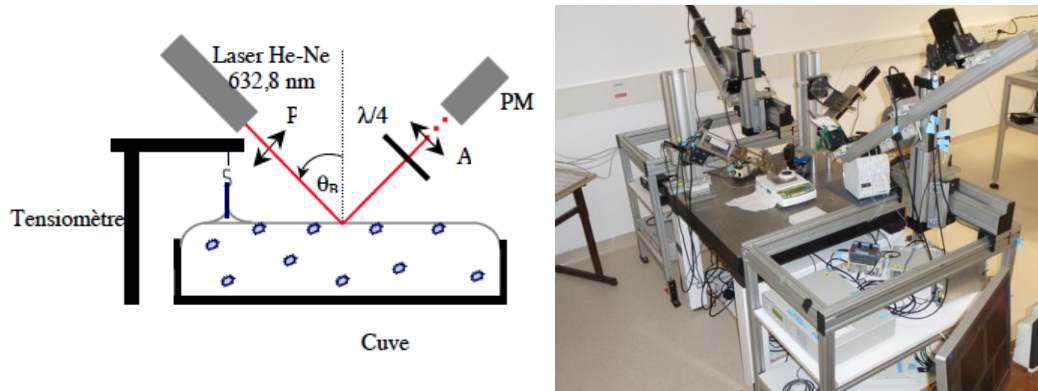


Figure 2. Schéma de principe de l'ellipsomètre à annulation à l'interface eau-air : l'angle d'incidence est égal à l'angle de Brewster - 1° (soit 52.01°)

Les contraintes expérimentales sont les suivantes :

Les cinétiques doivent être suivies sans interruption sur des durées longues (plusieurs heures) ce qui impose un nombre de rotation des moteurs « polariseur » et « analyseur » élevé et une grande sensibilité du dispositif aux ruptures de dialogue entre les moteurs et le codeur.

A l'opposé des contraintes précédentes, certaines opérations de compression latérale de la couche interfaciale s'effectuent en quelques minutes. Pour disposer d'un nombre de mesures suffisantes pendant la compression, chaque jeu de mesure des positions du polariseur et de l'analyseur doit pouvoir être effectuée en une durée ne dépassant pas quelques secondes. Compte-tenu de l'amplitude de rotation sur l'analyseur (8° de part et d'autre de la position d'équilibre) cela impose une vitesse de déplacement élevée entre deux positions angulaires des moteurs.

Au cours du suivi des cinétiques longues, l'évaporation du liquide doit être compensée.

Enfin, une mesure de tension de surface par la méthode de Wilhelmy doit être effectuée simultanément avec les mesures par ellipsométrie et est assurée par un logiciel commercial de la société NIMA.

Les moteurs de la société NEWPORT sont des moteurs à courant continu ayant une résolution de 0.001° .

La précision absolue est de 0.06 degré mais ils travaillent avec une précision de 0.1° pour une vitesse de maximum de $5^\circ/s$ sur ce poste d'expérimentation.

Ils sont commandés par un driver de moteur ESP301 qui est lui-même piloté par le PC par une liaison USB.

La remise à niveau du liquide est assurée par un pousse-seringue réglé par le suivi du poids total de la cuve qui est mesuré par une balance en liaison RS232 (précise au μg et auto-calibrante), de façon à assurer un fonctionnement ininterrompu de plusieurs jours.

Un programme unique (Labview) de conception locale assure la gestion des différentes mesures : recherche de positions polariseur/analyseur, asservissement de la balance et du pousse-seringue, et mesure de tension de surface.

3. La microscopie à Angle de Brewster donne accès aux inhomogénéités de l'interface

Sur le même montage expérimental est installé un montage de Microscopie à Angle de Brewster [3] sensible aux changements locaux d'indice de réfraction de la surface, donc sensible à la présence de domaines de biomolécules.

Le principe est similaire à celui de l'ellipsométrie : un faisceau laser polarisé dans le plan d'incidence est réfléchi par l'interface et son image agrandie est envoyée sur une caméra CCD fournissant une image de la surface. L'angle d'incidence est exactement l'angle de Brewster de l'interface eau-air (environ 53°). Ainsi, les zones de l'interface dépourvues de biomolécules ne réfléchissent pas la lumière et apparaîtront en noir sur l'image alors que les zones sur lesquelles des

biomolécules sont adsorbées réfléchiront la lumière en raison de modification locale de l'indice optique.

Les contraintes sont les suivantes :

La mesure doit s'effectuer sur la cuve sur laquelle la mesure d'ellipsométrie et la tension de surface sont effectuées.

Le bras portant la caméra CCD doit être mobile verticalement pour ajuster l'image au centre de la caméra et selon son axe pour focaliser l'image sur la caméra. Des moteurs assurent les déplacements du bras supportant la caméra : vertical et horizontal (focalisation).

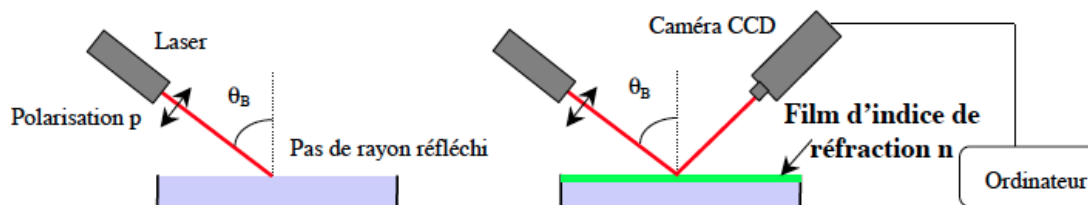


Figure 3. Schéma de principe du microscope à Angle de Brewster à l'interface eau-air : l'angle d'incidence est exactement égal à l'angle de Brewster (soit 53.01°). A gauche : interface libre, à droite : interface couverte d'un film de biomolécules.

4. Perspectives de développement instrumental

Des appareils commerciaux existent mais l'intérêt de ce montage est l'association sur un même dispositif des trois types de mesure (1-Ellipsométrie, 2- Microscopie à Angle de Brewster, 3-mesure de tension de surface) ainsi que le dispositif de remise à niveau.

De plus, un système expérimental conçu en local est plus simple à modifier pour l'adapter aux différentes problématiques de recherche.

Ce montage est dédié au suivi de cinétiques longues (plusieurs jours) et exige qu'aucune rupture de dialogue entre le moteur et le codeur ne se produise pendant la durée de la cinétique. Le « zéro erreur » sur des durées aussi longues est rare avec le système d'exploitation (de type windows en USB) actuel et nous envisageons la bascule vers un système d'exploitation en temps réel pour fiabiliser l'acquisition et sur des liaisons ethernet entre matériels.

Par ailleurs, un dispositif de contrôle de l'atmosphère au dessus de la surface liquide (humidité, température) est en cours de réalisation.

Le principal enjeu aujourd'hui sur ce type de montage expérimental est de pérenniser les programmes et d'être capable de les faire évoluer indépendamment des modifications techniques du matériel et principalement des systèmes d'exploitation informatique.

5. Références

1. Azzam RMA, « Instrumentation and techniques of ellipsometry », In: EN Holland (ed): Ellipsometry and Polarized Light, Amsterdam, 364-416 (1977)
2. De Feijter J.A, Benjamin J, Veer F.A. « Ellipsometry as a tool to study the adsorption behavior of synthetic and biopolymers at the air-water interface » Biopolymers, vol 17, pp 1759-1772 (1978)
3. Henon S., Meunier J. « Microscope at the Brewster angle : Direct observation of first-order phase transitions in monolayers ». Review of Scientific Instruments vol 62, pp 936-939 (2004)