

Capacités exigibles :

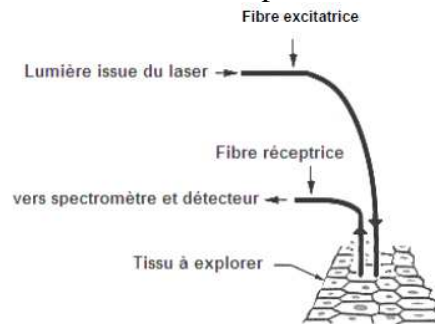
- Fluorescence atomique
- Fluorescence moléculaire
- Spectrofluorimétrie

Exercice 1 (Fluorescence moléculaire)

Les cellules cancéreuses se distinguent des cellules saines de plusieurs manières : en particulier, la fluorescence des cellules malades n'est pas la même que celle des cellules normales. Au laboratoire, un prototype a été développé en collaboration avec des médecins afin de pouvoir illuminer avec de la lumière UV des cellules de la vessie : la fluorescence collectée via une fibre optique permet alors de faire un diagnostic médical.

La technique décrite ici se base sur la capacité qu'ont les molécules de tryptophane et de NADH (forme réduite de la nicotinamide adénine dinucléotide) d'émettre une fluorescence respectivement à 360 nm et à 440 nm lorsqu'elles sont excitées par une radiation de longueur d'onde 308 nm.

Le dessin ci-contre décrit le principe d'observation : le fibroscope utilisé est constitué d'un ensemble de fibres optiques, les fibres excitatrices et les fibres réceptrices.

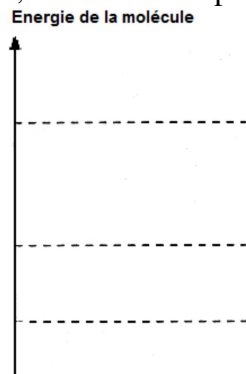


Les fibres excitatrices éclairent le tissu avec la radiation d'excitation produite par un laser. Les fibres réceptrices guident la lumière émise par le tissu vers un spectrophotomètre puis un détecteur permettant d'enregistrer le spectre correspondant. Le spectre obtenu permet de déterminer le rapport

$R = \frac{I_{360}}{I_{440}}$ R = entre les intensités de fluorescence obtenues à 360 nm et à 440 nm. On estime que si ce rapport est inférieur à 1 le tissu est sain alors que s'il dépasse largement 2, le tissu est tumoral.

On modélise de façon simple le mécanisme énergétique mis en jeu lors du phénomène de fluorescence moléculaire du tryptophane de la façon suivante : sans sollicitation extérieure la molécule de tryptophane est dans son état « fondamental » stable E_0 . Lorsqu'elle est soumise à un rayonnement de longueur d'onde $\lambda_1 = 308$ nm, elle est excitée et portée dans un état d'énergie E_1 . Elle se désexcite sans émettre de radiation vers un état d'énergie E_2 , différent de E_0 , puis retourne depuis l'état d'énergie E_2 à l'état fondamental en émettant un rayonnement de longueur d'onde $\lambda_2 = 360$ nm.

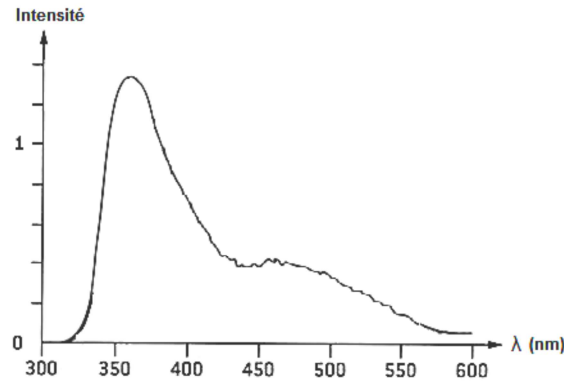
1. Placer sur le diagramme ci-dessous, au niveau des pointillés, les états d'énergie E_0 , E_1 et E_2 .



2. Représenter, sur ce diagramme, par des flèches repérées par 1 et 2 les transitions permettant :
 - d'exciter la molécule vers l'état E_1 depuis l'état fondamental (flèche1).
 - de retourner à l'état fondamental depuis l'état d'énergie E_2 (flèche2).

3. Préciser, sur ce diagramme, pour chacune des transitions précédentes s'il s'agit d'une absorption ou d'une émission de rayonnement.

4. L'exploration d'un tissu par la méthode décrite plus haut conduit à l'enregistrement du spectre suivant :



Le tissu exploré est-il sain ? Justifier clairement la réponse.

Exercice 2 (Spectrofluorimétrie)

La régulation de la production d'hormones thyroïdiennes se fait par une hormone sécrétée par l'antéhypophyse, la thyroïdostimuline ou TSH. En dosant la TSH, il est possible de déterminer de manière indirecte le taux de thyroxine libre. La technique utilisée est celle de la spectrofluorimétrie. Pour réaliser ce type de mesure, on forme un complexe en intégrant la TSH entre deux anticorps dont l'un est fluorescent. Pour simplifier, on supposera que le complexe présente un diagramme énergétique identique à celui d'un atome. (Annexe)

On envoie une radiation dont la longueur d'onde fait passer le complexe de l'état de plus basse énergie E_0 à l'état excité d'énergie E_2 . La fluorescence s'explique par le fait qu'une transition non radiative (c'est à dire n'émettant pas de photon) le ramène dans un état intermédiaire d'énergie E_1 . La fluorescence s'observe ensuite lorsque le complexe passe du niveau E_1 au niveau E_0 .

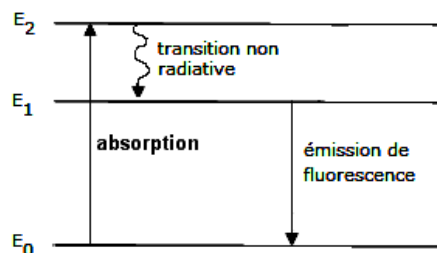
Données : $h = 6,62 \times 10^{-34} \text{ J.s}$ $c = 3,00 \times 10^8 \text{ m.s}^{-1}$ $1 \text{ eV} = 1,6 \times 10^{-19} \text{ J}$

1. A quelles conditions la molécule de l'anticorps utilisée est-elle fluorescente ?
2. Comment s'appelle le niveau d'énergie E_0 ?
3. De quel type de fluorescence s'agit-il ? Pourquoi ?
4. Calculer la valeur de la fréquence de la radiation d'émission de fluorescence.
5. Que penser de l'affirmation " le spectre de fluorescence est décalée vers les grandes longueurs d'onde par rapport à celui de l'absorption" ?
6. On prélève 0,1 mL exactement d'un échantillon de TSH que nous déposons dans une fiole jaugée de 10 mL. Nous complétons avec le solvant adéquat. La solution obtenue est mesurée en même temps que la gamme et donne une intensité de 480. Déterminer la concentration en TSH de l'échantillon. Les résultats de la gamme étalon sont les suivants :

C_{TSH} ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	1	2	4	6	8	10
Intensité	95	193	379	570	762	948

- 6.1 Donner l'équation de la droite d'étalonnage.
- 6.2 En déduire la concentration de l'échantillon en TSH.

ANNEXE : DIAGRAMME ENERGETIQUE DU COMPLEXE



$E_0 = - 5,14 \text{ eV}$ $E_1 = - 3,03 \text{ eV}$ $E_2 = - 1,94 \text{ eV}$
