

PREMIER MINISTRE

COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE

2.1

APPLICATIONS DE L'EFFET MOSSBAUER
A LA BIOLOGIE

par

Pierre BOULAY

Centre d'Etudes de Bruyères-le-Châtel

Rapport CEA-R-3630

1968

Ba

SERVICE CENTRAL DE DOCUMENTATION DU C.E.A

CEA-R-3630 - BOULAY Pierre

APPLICATIONS DE L'EFFET MOSSBAUER A LA
BIOLOGIE

Sommaire. - Les applications de la spectrométrie Mössbauer dans le domaine de la physique et de la chimie n'ont cessé de progresser depuis sa découverte en 1958.

Des essais d'application à la biologie ont été entrepris.

Dans ce domaine il existe deux possibilités d'investigation : l'étude des mouvements mécaniques ou vibratoires de certaines organes d'animaux, et la détermination de la structure moléculaire organique à destinée biologique.

Un exemple est donné de chacune de ces possibilités.

1968

16 p.

Commissariat à l'Energie Atomique - France

CEA-R-3630 - BOULAY Pierre

BIOLOGICAL APPLICATIONS OF THE MOSSBAUER
EFFECT

Summary. - The applications of Mössbauer spectrometry in the fields of physics and chemistry have been increasing steadily since its discovery in 1958.

Attempts have been made to find applications in biology.

Two possibilities of investigation exist in this field : the study of mechanical or vibrational movements in certain animal organs, and the determination of the organic molecular structure in a biological context.

An example is given of each of these possibilities.

1968

16 p.

Commissariat à l'Energie Atomique - France

Centre d'Etudes de Bruyères-le-Châtel
Groupe Médical

APPLICATIONS DE L'EFFET MOSSBAUER
A LA BIOLOGIE

par

Pierre BOULAY

(2ème sujet de thèse de docteur de l'Université)

- Décembre 1968 -

APPLICATIONS DE L'EFFET MOSSBAUER A LA BIOLOGIE

I - INTRODUCTION

Les applications de la spectrométrie Mossbauer dans le domaine de la physique et de la chimie ne cessent de progresser depuis la découverte, en 1958, de l'absorption résonnante nucléaire "sans recul" des radiations γ par certains noyaux appartenant à des réseaux cristallins.

Rappelons que l'effet Mossbauer repose sur le fait qu'un rayonnement γ émis ou absorbé par un noyau sous certaines conditions, se fait sans perte d'énergie par le recul du noyau. Dans ces conditions, le rayonnement γ émis transporte hors du noyau toute l'énergie de la transition.

L'émission et l'absorption résonnante des rayonnements γ dépend de plusieurs phénomènes :

- le recul de l'atome émetteur ou absorbeur lors de l'émission ou de l'absorption d'un photon
- l'élargissement des raies par effet Doppler.

L'énergie de recul est liée à la masse. L'effet Mossbauer n'est possible que lorsque l'énergie γ n'est pas trop grande - jusqu'à 150 keV - et lorsque l'atome émetteur est lié à un solide. Dans ce cas, l'énergie de recul de l'atome est assez faible pour qu'il y ait probabilité qu'elle soit délivrée dans l'ensemble du solide ou du cristal.

Quant à l'effet Doppler dû à l'agitation du noyau, il a pour effet un élargissement de la raie émise ou absorbée. On y remédie dans certains cas en refroidissant la source et l'absorbeur jusqu'à 4° ou 5° K.

Le nombre d'atomes sur lesquels l'effet Mossbauer peut être observé est limité. La figure 1 nous montre les atomes Mossbauer. Notons parmi ceux-ci le ^{57}Fe , ^{119}Sn , ^{67}Zn , ^{129}I , ^{197}Au , etc...

En résumé, l'effet Mossbauer est la seule technique qui permette d'apprécier l'influence de l'environnement atomique du noyau sur l'émission γ de ce dernier. Les différences d'énergie mesurables sont extrêmement petites, de l'ordre de 10^{-8} eV.

De très faibles différences dans la densité ou la structure des électrons au niveau du noyau affectent l'émission γ .

Les modifications des spectres Mossbauer qui en découlent permettent par exemple d'établir la répartition des électrons de valence d'atomes engagés dans des combinaisons de coordination.

Dans son principe, un spectromètre Mossbauer est très simple. Il module l'énergie des photons γ émis par une source radioactive convenable en la déplaçant à une vitesse variable (10^{-12} de celle de la lumière, soit 1 mms^{-1}) par rapport à l'échantillon examiné. D'autre part, il enregistre en fonction de cette vitesse l'intensité du rayonnement γ transmis ou diffusé par l'échantillon.

Le spectre Mossbauer est donc une mesure de l'intensité du rayonnement γ absorbé en fonction de la vitesse de déplacement de la source ou de l'absorbeur. D'où la dénomination de spectre de vitesse. Celle-ci est proportionnelle à la variation d'énergie de la radiation γ incidente.

La technique spectrométrique par transmission ou d'absorption est la plus employée.

Nous présentons les différents spectres caractéristiques de la spectrométrie Mossbauer.

- Déplacement isomérique dû à la densité électronique au niveau du noyau
- Doublet quadrupolaire et effet Zeeman dû à la structure électronique (gradient de champ électrique et magnétique).

On observe très souvent le mélange de ces trois phénomènes sur le même spectre.

L'application de la spectrométrie Mossbauer peut être étendue à la biologie, bien que jusqu'ici le potentiel de cette méthode de recherche n'ait pas été entièrement exploité. Peu d'ouvrages en effet ont été publiés concernant l'étude des molécules biologiques et leurs composés voisins à l'aide de l'effet Mossbauer.

Dans cet exposé, nous allons essayer de faire ressortir à la fois l'utilité et les limites de l'effet Mossbauer pour les études biologiques et donner des exemples appropriés.

Deux possibilités d'investigations sont possible :

- 1° - L'étude des mouvements mécaniques ou vibratoires de certains organes d'animaux en observant les variations d'énergie σ dues à l'effet Doppler de la source, celle-ci étant couplée à l'organe étudié.
- 2° - La détermination de la structure moléculaire organique à destinée biologique par exemple dans l'hémoglobine.

Nous allons parler successivement de ces deux possibilités d'application :

I - ETUDE DES VIBRATIONS

Nous présentons tout d'abord une étude de P. GILAD et RUBINSTEIN (Etats-Unis) sur l'application de l'effet Mossbauer aux vibrations de l'oreille.

La mesure des vibrations de l'oreille soumise à des ondes sonores au moyen de l'effet Mossbauer a été faite pour la première fois en 1964.

Elle offre l'avantage d'une grande sensibilité et la possibilité de faire des mesures in vivo.

Dans le but d'obtenir des informations sur la transmission du son dans l'oreille, des mesures ont été faites sur les amplitudes relatives des mouvements de l'ombilic de la membrane du tympan chez des cobayes anesthésiés. On a utilisé des niveaux sonores proches de 80 dB A.S.A. dans une bande de fréquence comprise entre 250 CS et 9 KCS.

L'appareillage est constitué d'une source très petite de ^{57}Co diffusée dans du cuivre (\varnothing 0,3 mm et Poids 0,01 mg) placée sur l'ombilic de la membrane du tympan.

Au moyen d'un spéculum spécial, on a injecté le son dans l'oreille. La fréquence et l'intensité étant contrôlées par un microphone miniature placé dans la cavité du tympan. L'absorbeur - du ^{57}Fe - diffusé dans de l'acier inoxydable, et le détecteur ont été fixés à l'extrémité extérieure du spéculum. Le dispositif fonctionne de façon à ce que le rayonnement de la source atteigne l'absorbeur.

La figure 2 montre les courbes de réponse de la membrane du tympan en fonction du niveau sonore pour trois fréquences.

En ordonnée, les amplitudes sont données en Å, en abscisse, les niveaux en dB.

D'autres séries de mesures ont été effectuées par les auteurs. Mais cet exemple illustre bien la possibilité des études de mouvements vibratoires sur des organes au moyen de la spectrométrie Mossbauer.

Soulignons la simplicité relative de la technique et la précision de la mesure malgré les mouvements des animaux et enfin qu'aucune destruction des tissus n'a été observée.

III - ETUDE DE STRUCTURE

Nous allons examiner l'autre possibilité d'application de la spectrométrie Mossbauer sur l'étude de la structure de molécule à destinée biologique. Nous reprenons les travaux publiés par GONSER et GRANT aux Etats-Unis.

Notons tout d'abord que la spectrométrie Mossbauer permet de choisir et d'étudier un seul atome (et son entourage immédiat) dans une grosse molécule, évitant ainsi les spectres complexes obscurcis par d'autres atomes comme on peut l'observer dans la spectroscopie optique.

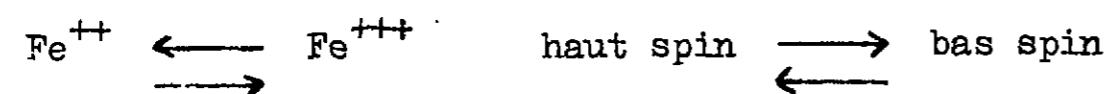
Mais peu de molécules, en biologie, remplissent les conditions exigées par la spectrométrie Mossbauer.

La molécule d'hémoglobine en raison de la situation importante occupée par l'atome de Fe et la présence de ^{57}Fe offre un terrain particulièrement favorable à l'investigation par effet Mossbauer.

Tout changement même minime survenant dans l'environnement de l'atome de ^{57}Fe perturbe les niveaux d'énergie et produit un changement mesurable dans le spectre d'absorption.

Les composés qui ont été étudiés par GONSER et GRANT ont tous en commun le fait que la configuration contenant l'atome central de fer est une porphyrine. La figure 3 montre la configuration qui entoure l'atome de Fe dans l'hémoglobine. L'atome de Fe est placé au centre de la porphyrine formé par quatre atomes d'azote. La molécule globine occupe la position 5 et la position 6 est occupée normalement par les coordinats, O_2 , CO, etc...

La facilité avec laquelle ils peuvent être échangés et les transitions électroniques



sont parmi les fonctions que présentent des composés de la porphyrine et qui peuvent être mis en évidence par l'effet Mossbauer.

Pour cette expérience, on a préparé des échantillons à partir de globules rouges humains en prélevant du sang veineux. On a également prélevé des globules de rat, préalablement enrichis de ^{57}Fe .

Après préparation, les échantillons ont été placés dans le support d'absorbeur. La figure 4 montre le principe de l'appareillage.

La source est du ^{57}Co , diffusé dans du platine à la température ambiante. L'absorbeur est refroidi à 5° K.

La figure 5 nous montre quelques uns des spectres obtenus.

Le premier spectre est celui de sang veineux de rat enrichi de ^{57}Fe .

Le spectre "b" celui de sang humain après 5 minutes d'exposition à l'oxygène, et le spectre "c", du sang humain saturé en CO.

Toutes les subdivisions hyperfines observées dans ces composés peuvent être attribués à une interaction quadrupolaire au cours de l'état excité $I = 3/2$.

Nous savons que le doublet quadrupolaire résulte de l'interaction du gradient du champ électrique avec le moment quadrupolaire nucléaire.

L'existence d'un gradient de champ électrique au niveau du Fe dans la molécule met en évidence que la symétrie de la position de l'atome de Fe n'est pas cubique. L'amplitude du gradient de champ électrique peut fournir des informations concernant la force du champ de liaison.

Il existe bien entendu d'autres possibilités d'investigation de la molécule d'hémoglobine à l'aide de la spectrométrie Mossbauer.

CONCLUSION

Dans cet exposé, nous avons tenté de mettre en évidence deux aspects d'application de la spectrométrie Mossbauer à la biologie,

- l'étude de mouvements vibratoires et
- la recherche sur l'état électronique et l'environnement de l'atome de F_n dans l'hémoglobine.

D'autres atomes tels que ^{127}I et ^{129}I peuvent offrir un champ d'application à cette technique.

Nous nous sommes volontairement limité à ces deux exemples. Mais il semble raisonnable de dire que l'effet Mossbauer peut offrir un outil nouveau pour la recherche biologique en dépit de ses nombreuses limites qui restreignent son utilisation.

Manuscrit reçu le 4 Septembre 1968

BIBLIOGRAPHIE

- BONCHEV T. et Coll. - Possibility of investigations Movement in a group of ants by the Mossbauer effect.
Nature, Vol. 217, January 6, 1968
- GILAD P. - SHTRIKMAN - HILLMANN P. - Application of the Mossbauer. Method to ear vibrations.
Journal of the accoustical society of America
Vol. 41, n° 5 - 1232-1236 - May 1967 - USA
- FRAUENFELDER H. - The Mossbauer effect
Benjamin, New York, 1962
- GOL'DANSKI V.J. - The Mossbauer effect and its applications in chemistry
Consultant Bureau, New York, 1964
- GONSER U. - GRANT - Determination of the chemical structure of hemoglobin using the Mossbauer effect
Applied Physics Letters, Nov. 1963, Vol. 3, n° 10
- GONSER - GRANT - Mossbauer effect in hemoglobin with different ligands
Sciences, Feb. 14, 1964. Vol. 143, n° 3 607
pp. 680-681
- GONSER- GRANT - Mossbauer effect methodology
Vol. 1 Plenum Press, 1965
- LANG G. and MARSHALL W. - Mossbauer effect in some haemoglobin compounds
Proc. Phys. Soc. 1966, Vol. 87, Great Britain Bristol
Edit. J.W. ARROWSMITH
- PERUTZ M.F. - The hemoglobin molecule
Science America, Nov. 1964, vol. 211, n° 5, pp. 64-76
- WERTHEIM G.K. - Mossbauer effect - principes and applications
Academic Press, New York, 1964.

Groupe IA																				Gaz rares	
1																					2
H																					He
3	4											5	6	7	8	9	10				
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne				
11	12	IIIA	IVA	VA	VIA	VIIA	VIII			IB	II B	13	14	15	16	17	18				
Na	Mg										Al	Si	P	S	Cl	Ar					
	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36				
	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr				
37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54				
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe				
	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72				
	Ba	La	Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Th	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu					
87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103					
Fr	Ra	Ac	Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr					

Figure 1 - Eléments pour lesquels l'effet Mössbauer a été observé

Figure 2

Niveau sonore, dB

Réponse de l'ombilic de la membrane du tympan du cobaye pour trois fréquences. Les lignes passent par le point zéro de l'amplitude et du niveau sonore. L'échelle du niveau sonore peut présenter une erreur absolue de ± 6 dB environ.

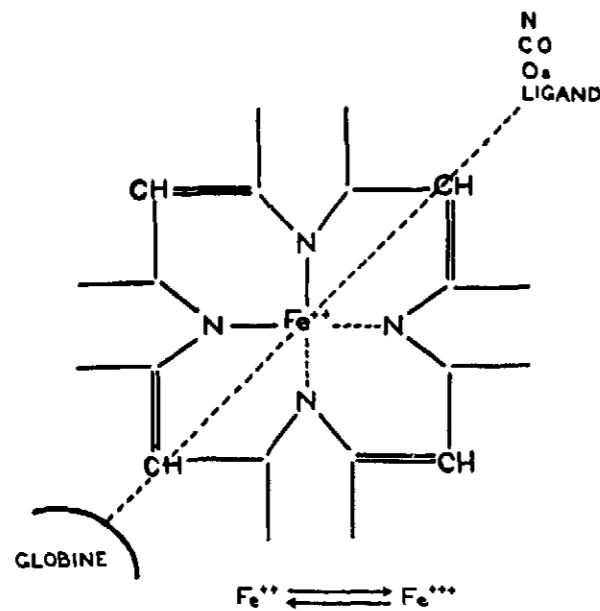
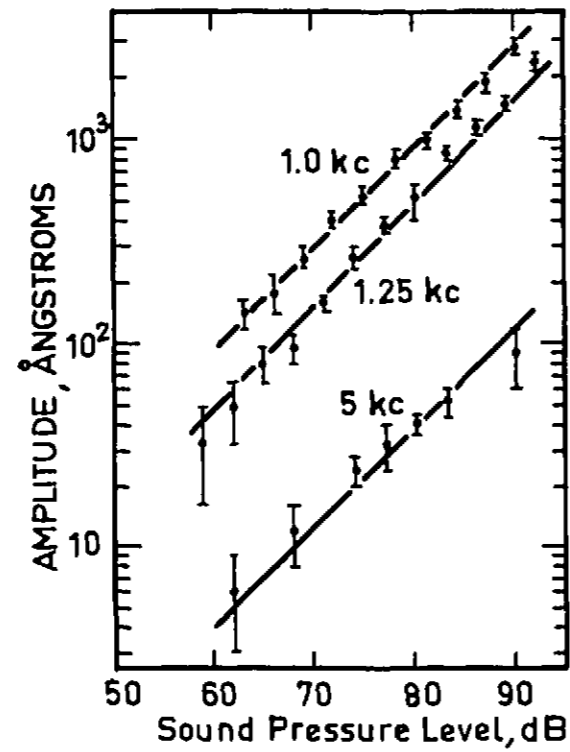


Figure 3 - Molécule d'hémoglobine

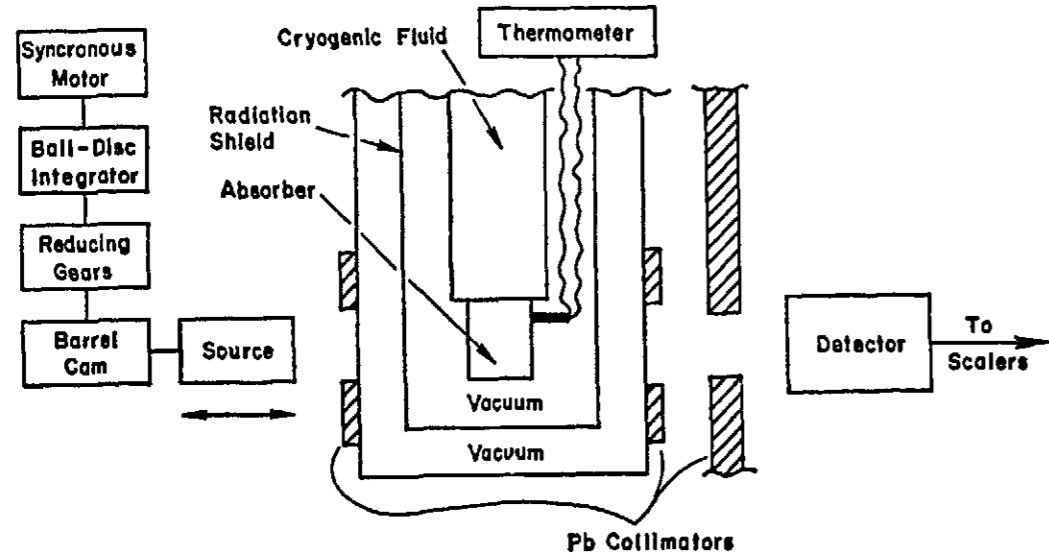


Figure 4 - Diagramme schématique du spectromètre de Mössbauer

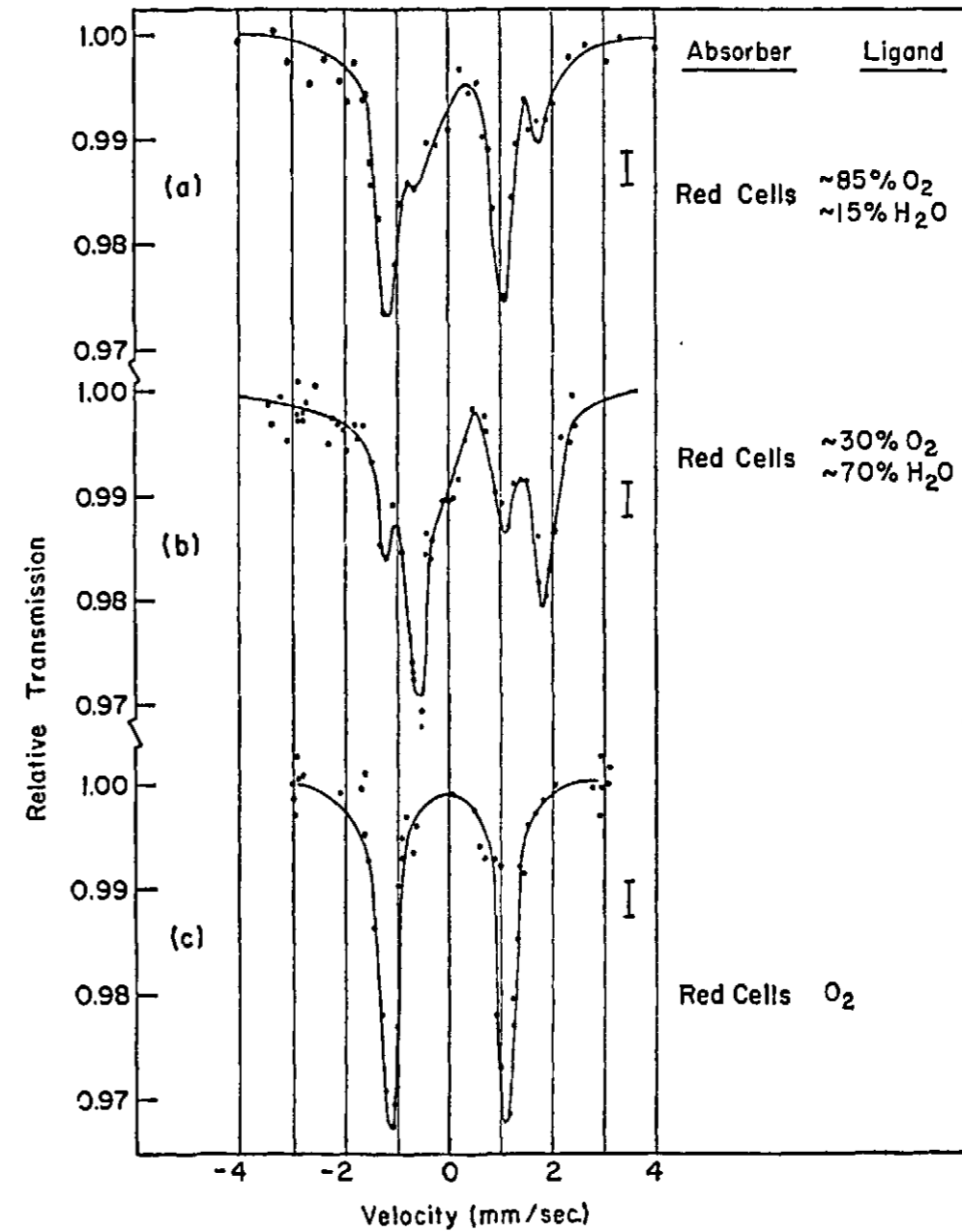


Figure 5 - Spectres de Mössbauer obtenus avec du Co^{57} à température ambiante dans une source de platine et les absorbeurs à $5^{\circ}K$:
 (a) globules rouges isotopiquement avec du Fe^{57} ;
 (b) globules rouges humains après une exposition de 5 minutes à O_2 gazeux ;
 (c) globules rouges humains saturés avec O_2 gazeux.

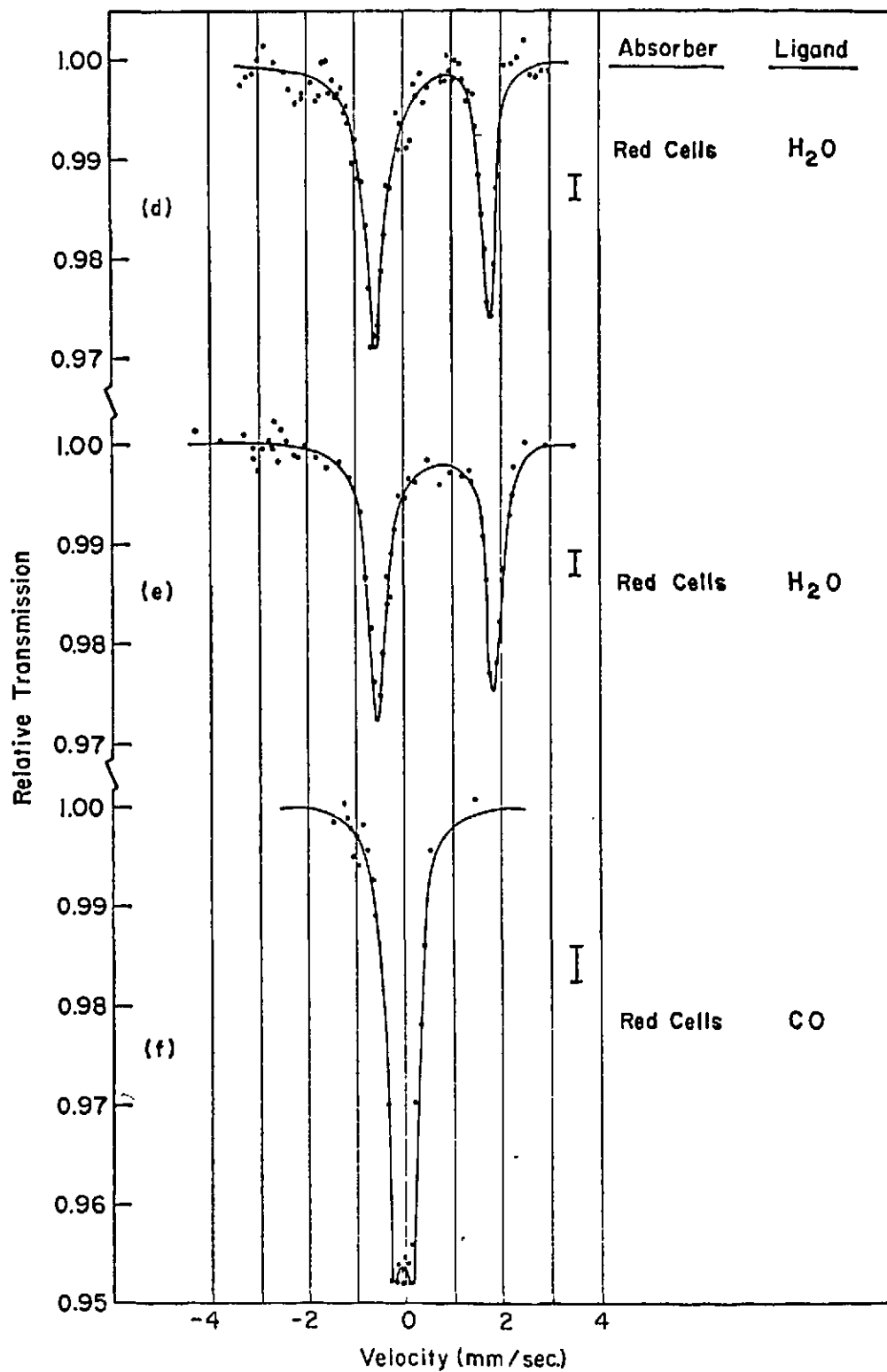


Figure 5 bis - Spectres de Mössbauer obtenus avec du Co^{57} à température ambiante dans une source de platine et les absorbeurs suivants à 5 °K :

- (d) globules rouges humains saturés avec CO_2 ;
- (e) globules rouges humains saturés avec N_2 ;
- (f) globules rouges saturés avec CO.

FIN