

Biologie, chimie ou physique ?

Cela fait-il une différence au niveau le plus élémentaire de la pensée ?

par Christian AMATORE, Yann BOURET et Laurent MIDRIER
CNRS & École Normale Supérieure
Département de Chimie - URA CNRS 1679
24, rue Lhomond - 75231 Paris Cedex 05

RÉSUMÉ

L'utilisation d'électrodes de quelques microns de diamètre (ultramicroélectrodes), placées dans une configuration de synapses semi-artificielles, permet de recueillir une information primordiale pour la compréhension du mécanisme de l'exocytose d'adrénaline par des cellules chromaffines des capsules surrénales. De manière a priori surprenante, le traitement fin de la cinétique d'exocytose montre que ce processus biologique fondamental, à la base du fonctionnement des synapses neurales, implique un couplage fort entre divers processus physico-chimiques (diffusion moléculaire, dynamique des membranes, dynamique de dilatation des gels polyélectrolytes) dont les contributions respectives peuvent être séparées à travers un modèle physique simple.

INTRODUCTION

La capacité de communiquer, de traiter et d'échanger des informations avec le milieu extérieur représente une nécessité primordiale pour tous les organismes vivants, quel que soit leur niveau de complexité. Au stade le plus élémentaire, cette aptitude à communiquer se confond avec celle d'échanger des «*molécules-mots*» entre cellules. Ces molécules-mots émises par l'un des partenaires, «voyagent» dans le milieu extérieur pour finir par atteindre l'autre partenaire où elles sont identifiées, déclenchant ainsi une réponse déterminée. La pauvreté syntaxique d'un tel «langage» fondé sur une seule molécule, est compensée par une très grande spécificité de reconnaissance liée aux propriétés chimiques et physico-chimiques de ces molécules-mots. Au niveau d'un organisme complexe, comme le nôtre, cela autorise la transmission d'informations dont la complexité dépasse encore largement notre savoir-faire technologique. Il suffit pour s'en convaincre de penser que toute la perception de la richesse d'arôme d'un grand cru n'est que le «simple» résultat de l'activation simultanée d'une séquence particulière de cellules olfactives par une séquence complexe de molécules-mots, dont il faut le

préciser, la plupart ne sont présentes dans ce vin qu'à l'état de traces pratiquement indécélables même avec les moyens les plus modernes de la chimie.

Des messagers spécifiques sont ainsi transportés à l'intérieur d'un même organisme par exemple par la circulation sanguine (les hormones, l'adrénaline, *etc.*), ou entre deux organismes par le milieu ambiant (les phéromones, *etc.*). Lorsqu'il s'agit au contraire d'établir un dialogue entre deux cellules bien déterminées, identifiées à l'intérieur d'une population d'autres cellules identiques, le milieu à travers lequel sont échangés les messagers chimiques est nécessairement confiné, afin d'éviter une fuite de l'information vers des cellules non concernées. La communication entre deux neurones est établie selon ce principe. Les deux neurones (émetteur et récepteur) sont séparés par un mince film liquide, d'une vingtaine de nanomètres d'épaisseur, par l'intermédiaire duquel des «quanta» de messagers chimiques (neurotransmetteur) sont échangés. L'ensemble constitue une synapse (voir figure 1).

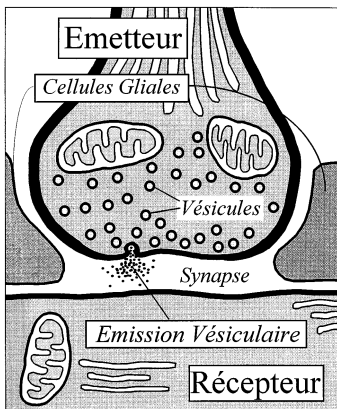
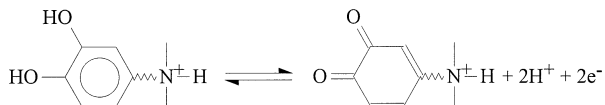


Figure 1 : Schéma simplifié d'une synapse neuronale. Le neurotransmetteur est stocké à l'intérieur du neurone émetteur dans les vésicules pré-synaptiques, par «paquets» d'une dizaine de millions de molécules. L'arrivée de l'influx nerveux provoque la migration de ces vésicules vers la membrane du neurone, puis leur fusion avec cette dernière. Le neurotransmetteur est ainsi libéré par «quanta» dans l'espace synaptique où il diffuse vers la membrane du neurone récepteur. Sa reconnaissance spécifique par un site de la membrane du neurone récepteur, entraîne une modification du potentiel membranaire laquelle déclenche à son tour la transmission de l'influx nerveux vers le corps du neurone récepteur.

Les neurotransmetteurs de la famille des catécholamines (dopamine, adrénaline par exemple) comportent un motif hydroquinone facilement oxydable en quinone (selon une réaction très analogue à celle utilisée pour la révélation d'image en photographie) :



ce qui autorise leur détection et leur identification grâce à une électrode dont le potentiel est imposé sur la vague d'oxydation du neurotransmetteur [1]. On pourrait donc imaginer pouvoir «voir parler» un neurone, en substituant le neurone récepteur

par une électrode de très faibles dimensions placée en regard du neurone émetteur. L'activité de ce dernier se traduirait alors au niveau de l'électrode par un courant électrique proportionnel au flux de messagers chimiques franchissant la synapse semi-artificielle ainsi créée (deux électrons échangés par molécule de neurotransmetteur émise, selon l'équation ci-dessus).

SYNAPSES SEMI-ARTIFICIELLES

Du fait de la taille nanométrique des synapses et de leur architecture délicate, l'expérience précédente ne peut être réalisée sans en perturber radicalement le fonctionnement. Néanmoins, on peut en réaliser une version très proche à partir de cellules isolées provenant des glandes surrénales (cellules chromaffines) et qui ont pour fonction de libérer l'adrénaline. Dans ces cellules, l'adrénaline est elle aussi stockée dans des vésicules de 100 à 150 nm de rayon si l'on se fonde sur les évaluations faites par les neurobiologistes à partir de l'examen de coupes cellulaires par microscopie électronique. Par ailleurs, il est aussi connu en biologie que cette adrénaline, sous forme cationique au pH intra-vésiculaire, y est présente sous la forme d'un complexe fort avec un polyanion constitué d'une structure porteuse de groupes carboxylates [2]. Enfin, à partir du nombre moyen de vésicules par cellules (comptage à partir des coupes examinées en microscopie électronique) et de la détermination à partir de broyats cellulaires de la quantité moyenne d'adrénaline par cellule, il est considéré que ces vésicules contiennent en moyenne de deux à trois millions de molécules d'adrénaline, par conséquent présentes à une concentration moyenne de l'ordre de 0,5 M.

Ces cellules peuvent être stimulées chimiquement, par de la nicotine ou des ions baryum par exemple, ce qui permet de provoquer à l'échelle du laboratoire les réponses naturelles. Cette stimulation conduit à l'émission d'adrénaline par un processus considéré comme analogue aux mécanismes synaptiques (voir figure 1) par les neurobiologistes [2]. L'adrénaline émise peut alors être détectée par une *ultramicroélectrode* dont la taille (quelques microns) est analogue à celle de la cellule et que l'on peut placer au-dessus de cette dernière grâce à un micromanipulateur (voir figure 2). L'ensemble «cellule - film de solution - ultramicroélectrode» constitue en quelques sortes une synapse semi-artificielle [3, 4].

La réponse de l'électrode suivant la stimulation de la cellule est constituée par une succession de pics de courant (voir figure 3). Ces derniers traduisent l'arrivée sur l'électrode de «quanta» d'adrénaline émis en séquence aléatoire par la cellule. L'allure (intensité et largeur) de chaque pic est variable mais leur aire, c'est-à-dire la charge électrique détectée, est relativement constante [4]. Cette charge électrique, qui correspond à deux électrons par molécule détectée représente en moyenne 2,5 millions

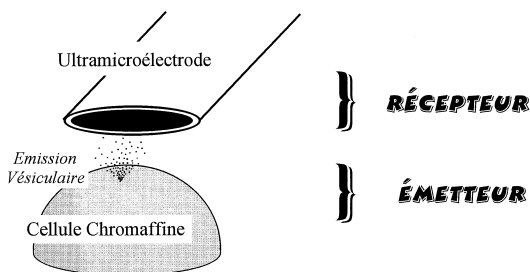


Figure 2 : Représentation schématique d'une ultramicroélectrode positionnée dans une configuration de synapse semi-artificielle au voisinage d'une cellule chromaffine des capsules surrénales. Nota Bene : les tailles et formes respectives de l'ultramicroélectrode et de la cellule sont à peu près respectées sur le dessin.

de molécules ce qui est précisément le contenu moyen d'une seule vésicule pré-synaptique (voir figure 1). Lorsque l'électrode est située à quelques microns de distance de la cellule, la variabilité d'intensité et de largeur des pics témoigne dans une large mesure de la variabilité des distances parcourues par chaque «quantum» entre son point d'émission à la surface de la cellule et la zone de l'électrode où il est détecté [4]. En effet, la durée du processus d'exocytose proprement dit (une quinzaine de millisecondes environ, voir plus bas) est dans ce cas très faible par rapport à la durée du «voyage» par diffusion entre le point d'émission et l'électrode (plusieurs dizaines de millisecondes au minimum). Il en résulte que le signal primaire de l'exocytose est trop filtré (c'est-à-dire distordu et élargi au sens d'un filtre électronique) par ce processus de diffusion pour permettre une extraction suffisamment précise de la cinétique d'émission [4].

La seule manière de pallier cette perte de résolution par filtrage diffusionnel, consiste à rapprocher l'électrode de la membrane cellulaire de telle manière que les deux objets soient quasiment au contact et ne soient séparés que par un mince film

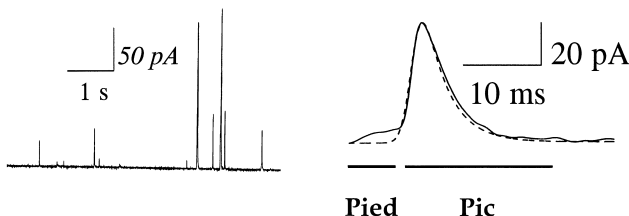


Figure 3 : Exocytose d'adrénaline par une cellule chromaffine. A gauche, séquence de pics de courant correspondant à une succession de phénomènes d'exocytose individuels mesurés par une ultramicroélectrode placée au contact de la cellule. A droite, agrandissement de l'un des pics de la séquence représentée à gauche (voir texte). Chacun des pics de courant observés correspond à la détection du contenu d'une seule vésicule, c'est-à-dire à environ 2,5 millions de molécules. (voir plus bas pour la signification de la courbe en tiretets).

capillaire de quelques dizaines de nanomètres d'épaisseur seulement. La disposition correspondante est alors quasiment identique à celle d'une véritable synapse, et le filtrage diffusionnel devient négligeable. Dans ces conditions l'électrode détecte instantanément le flux d'adrénaline émis par la cellule sans qu'aucune distorsion diffusionnelle ne soit introduite. Le courant détecté par l'électrode reproduit alors très fidèlement le flux exocytotique (figure 3, droite) [5].

On observe ainsi une croissance très rapide du flux d'exocytose, suivie après le maximum d'une décroissance bien plus lente, ce qui produit des pics ayant une allure de gaussienne atténuée exponentiellement. En outre, pour 20 à 30 % des événements, le pic possède un «pied» constitué par un palier horizontal de courant de faible amplitude et de durée variable (voir figure 3, droite). Ce palier de courant correspond à l'émission d'un faible flux constant d'adrénaline. Il peut s'interpréter par une «fuite» d'adrénaline à travers un canal ionique traversant les deux membranes et connectant l'intérieur de la vésicule à l'extérieur de la cellule (figure 4, gauche). L'intensité du palier permet d'évaluer théoriquement à environ une dizaine d'angströms le rayon de ce pore transmembranaire [5]. L'existence d'un tel pore et sa dimension sont d'ailleurs en parfait accord avec les conclusions obtenues à peu près simultanément par plusieurs groupes de neurobiologistes dont celui de E. Neher en utilisant une technique totalement indépendante de la notre puisqu'elle implique des mesures de capacité différentielle de la membrane par la technique dite de «patch-clamp» dont l'invention a valu à Neher le prix Nobel [2, 6].

Pour une raison que nous préciserons dans la suite, la durée de vie de ce pore est nécessairement finie, souvent non observable par notre méthode compte tenu de sa résolution temporelle actuelle, puisqu'elle ne dépasserait pas a priori une milliseconde dans 70-80 % des événements, bien que pour les autres elle puisse atteindre quelques millisecondes ce qui permet son observation (figure 3, droite). A la fin de sa vie, le pore éclate brusquement, ce qui provoque la fusion véritable des deux membranes puis un accroissement rapide de la surface d'exposition du contenu originel de la vésicule vers la solution, jusqu'à ce que l'essentiel de ce contenu se retrouve entièrement sur la membrane cellulaire à l'extérieur de la cellule (figure 4, droite). Dans la mesure où l'on conçoit facilement que le flux de neurotransmetteur émis dépende à la fois de la surface d'échange et de la vitesse de diffusion du neurotransmetteur dans la matrice remplissant la vésicule, on justifie aisément, tout au moins qualitativement, l'observation d'un pic dissymétrique (figure 3, droite) : montée rapide, reflétant le rôle prépondérant de la croissance de la surface d'échange ; descente plus lente, due au rôle prépondérant de la diffusion qui implique une participation des couches de plus en plus profondes (et tant plus éloignées et moins peuplées à densité égale) de la matrice vésiculaire [5].



Figure 4 : Représentation schématisée d'un mécanisme d'exocytose en deux phases. Première phase (pied) : Après accostage de la vésicule, un pore transmembranaire est créé par lequel un flux constant de neurotransmetteur est émis vers l'extérieur de la cellule ; cette phase prend fin avec l'éclatement du pore transmembranaire. Deuxième phase (pic) : Le diamètre de l'ouverture s'agrandit très rapidement ce qui conduit à la fusion complète des deux membranes et à un accroissement progressif de la surface d'exposition du contenu vésiculaire vers le milieu extérieur (montée) jusqu'à ce que le contenu de la vésicule originale soit finalement complètement exposé à l'extérieur de la cellule. Nota Bene : bien que formellement identiques, les bicouches lipidiques des deux membranes sont représentées avec des trames différentes pour faciliter la lecture du schéma.

MODÉLISATION DE L'EXOCYTOSE [7]

Présentation du modèle

Il est possible, sinon facile, d'examiner la validité de ces hypothèses dans un cadre plus quantitatif à partir du modèle simple dont le principe est décrit sur la figure 5. Ce modèle permet en effet d'évaluer numériquement l'évolution du flux pour différentes fonctions d'ouverture $\alpha(t)$ imposées a priori. Cela est réalisé en simulant par mouvement brownien numérique la diffusion du neurotransmetteur à l'intérieur de la sphère représentant la matrice vésiculaire. Ces simulations impliquent de trente à cinquante mille molécules modèles distribuées initialement de manière homogène dans

Milieu extracellulaire

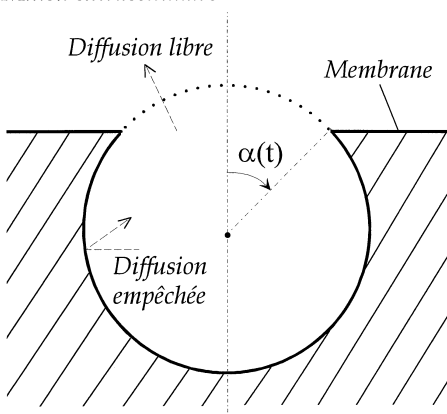


Figure 5 : Schéma du modèle développé pour décrire quantitativement le flux d'exocytose. La zone hachurée représente l'espace fermé à la diffusion (contour limité par les membranes), tandis que l'espace supérieur (milieu extracellulaire) est libre. La matrice vésiculaire est représentée par une sphère pleine, remplie de molécules (concentration initiale homogène). Une fraction donnée de la surface de la sphère (mesurée par l'angle $\alpha(t)$ variable avec le temps), entièrement transparente à la diffusion de ces molécules, s'expose progressivement au milieu extracellulaire. La vitesse de diffusion est considérée comme infinie dans le milieu extracellulaire par rapport à celle permise dans la matrice.

la sphère. La courbe en tiretets de la figure 3, droite, représente à titre d'illustration les prévisions du modèle pour une ouverture de type parabolique, $\alpha(t) = \alpha_0 (t - t_0)^2$. On observe que sans être parfait aux temps longs, l'accord avec l'expérience est assez correct.

Extraction de la fonction d'ouverture

On pourrait formellement chercher à obtenir un meilleur accord avec l'expérience en ajustant empiriquement la fonction d'ouverture $\alpha(t)$. En fait, il est préférable de l'extraire de la courbe expérimentale elle-même, à partir du modèle précédent. En effet, le même modèle permet d'extraire les variations de la fonction $\alpha(t)$ par déconvolution de l'effet de la diffusion à partir des pics expérimentaux. La procédure de déconvolution a été testée en utilisant les courbes simulées pour une série de fonctions d'ouverture imposées, $\alpha_{\text{imp}}(t) = \alpha_0 (t - t_0)^2$, de manière à extraire par déconvolution de la diffusion une fonction d'ouverture, $\alpha_{\text{extr}}(t)$. La validité et la précision de la procédure de déconvolution ont été ainsi établies par le taux de corrélation extrêmement satisfaisant ($r \geq 0,99$) entre $\alpha_{\text{extr}}(t)$ et $\alpha_{\text{imp}}(t)$, et ce pour une gamme de valeurs de α_0 permettant de reproduire toute la gamme des formes expérimentales des pics de courant. Cette procédure a donc ensuite pu être utilisée pour extraire la vraie fonction d'ouverture $\alpha(t)$ à partir des courbes expérimentales. La figure 6 représente à titre d'exemple le résultat d'une telle procédure d'extraction.

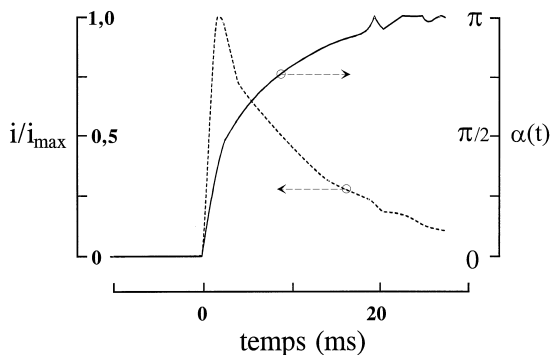


Figure 6 : Variations de l'angle d'ouverture de la vésicule (voir définition sur la figure 5) en fonction du temps. Le flux d'émission correspondant est représenté en tiretets.

La forme de la fonction d'ouverture est caractéristique : montée assez raide de 0 à $\pi/2$, suivie d'une croissance bien plus lente de $\pi/2$ à π , limite finale qui correspond à l'ouverture complète de la vésicule (figure 4, droite). Un tel comportement est a priori surprenant dans le cadre du modèle simple ci-dessus. En effet, on pourrait s'attendre

à ce que la vitesse d'ouverture soit commandée par celle à laquelle les molécules de bilipide constituant la membrane de la vésicule peuvent s'évacuer par diffusion dans la membrane de la cellule. En ne considérant que ce facteur, on s'attendrait en effet à une vitesse angulaire d'ouverture du type $\arccos(1 - t/t_{\max})$, légèrement atténuée aux temps longs par la diffusion des molécules de bilipide. Une telle forme est a priori en contradiction avec le résultat expérimental de la figure 6.

Conséquences sur la mécanique de l'exocytose

Pour interpréter les résultats expérimentaux, il est donc nécessaire de faire intervenir au moins un second facteur. Nous pensons que ce second phénomène trouve son origine dans la nature même de la matrice vésiculaire. En effet, cette matrice est constituée par un polymère polyélectrolyte anionique formant dans la vésicule intacte un complexe fort avec l'adrénaline, cette dernière étant sous forme protonée au pH interne de la vésicule (figure 7, gauche). L'adrénaline, un cation, ne peut être émise hors de la vésicule sans que sa charge ne soit compensée par l'entrée d'un autre cation (vraisemblablement H_3O^+ ou K^+) incapable de constituer un complexe aussi fort avec la matrice polyanionique. Comme cela est connu en physique des gels polyélectrolytes [8], le polyélectrolyte va donc tendre à se dilater. Cette tendance aura pour effet de développer une pression interne s'exerçant sur les parois de la vésicule. Nous pensons d'ailleurs que c'est ce phénomène qui est à l'origine de l'éclatement du pore. Ce dernier ne peut exister que tant que la pression interne qui s'accroît dans le gel vésiculaire situé à sa base peut être compensée par la résistance de l'architecture protéique constituant l'armature chimique du pore. Au-delà, le pore doit nécessairement exploser et conduire à l'ouverture de la vésicule. En d'autres termes, ou bien le pore se referme avant ce point de rupture [6], c'est-à-dire tant que son énergie est suffisante [9], ou bien il doit «exploser». Ces deux situations sont d'ailleurs observables par la technique de patch-clamp [6] qui possède une résolution temporelle bien meilleure que la nôtre tout au moins telle que nous la maîtrisons encore aujourd'hui.

Si l'on examine maintenant le rôle de la dilatation du gel pendant la phase d'ouverture de la vésicule, on conçoit aisément que deux situations limites vont se produire suivant la valeur de l'angle d'ouverture. Pour des angles d'ouverture inférieurs à $\pi/2$, la pression interne due à l'expansion du gel crée une force qui d'une part accélère l'ouverture (figure 7, droite) et d'autre part joue le rôle d'une rétroaction positive (plus la membrane s'ouvre vite, plus de nouvelles sections du gel sont accessibles au milieu extérieur, plus elle peuvent se dilater rapidement, etc.). Inversement, lorsque l'angle d'ouverture dépasse $\pi/2$, la concavité de la membrane devient telle que la pression due à la dilatation du gel ne joue a priori plus de rôle mécanique important sur l'ouverture de la vésicule. On conçoit donc aisément à partir de ce simple modèle mécanique de la répartition des forces dues à la dilatation du gel que l'on doive observer deux régimes

cinétiques différents de part et d'autre de $\pi/2$ d'ouverture : un régime «accéléré» pour $\alpha < \pi/2$, un régime «normal» pour $\alpha > \pi/2$. Dans ce contexte, le régime normal reflèterait principalement la dynamique membranaire de la résorption de la courbure imposée par la «poche» vésiculaire. Bien que cette interprétation ne puisse pas encore être validée quantitativement au stade actuel de notre étude, elle a le mérite de pouvoir expliquer qualitativement la forme expérimentale de la vitesse d'ouverture et surtout établir l'existence d'une discontinuité de comportement au voisinage de $\pi/2$ d'ouverture.

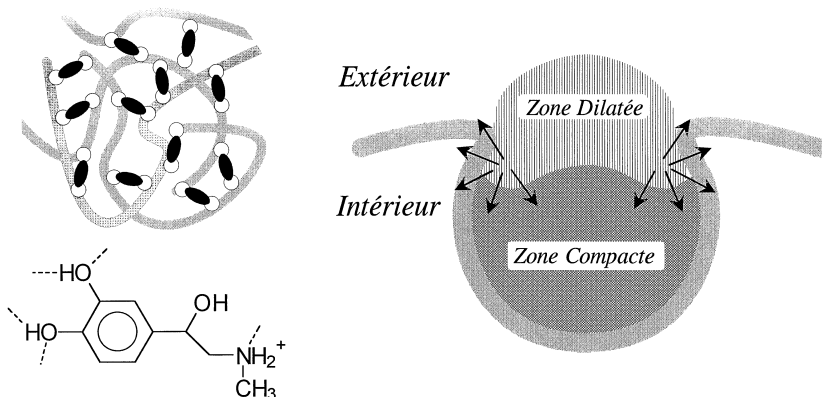


Figure 7 : A gauche, représentation schématique de la structure du gel polyélectrolyte constituant la vésicule. Les molécules polymériques de chromogranine A constituant l'ossature du gel sont représentées par les traits épais en gris, tandis que les petits traits noirs munis de deux «poignées» blanches figurent (sans que cela n'implique d'hypothèse sur la nature ou la stœchiométrie des liaisons ioniques et hydrogène ; voir bas de la page gauche) les interactions entre les groupes carboxylates portés par la chromogranine A et les cations adrénaline. A droite, représentation schématique du rôle de la pression de gonflement du polyélectrolyte sur la vitesse d'ouverture de la vésicule pour $\alpha < \pi/2$.

Pour conclure, il est nécessaire de revenir sur un point important que nous avons volontairement évacué jusqu'à présent par souci pédagogique. En effet, dans ce qui précède, nous avons conduit le lecteur à admettre tacitement que le flux d'exocytose n'est contrôlé que par la vitesse de diffusion des cations adrénaline hors de la vésicule ; celle-ci n'est que modulée par la cinétique d'exposition au milieu extérieur, cette dernière étant en partie imposée de 0 à $\pi/2$ par le phénomène de dilatation du gel. Cependant cela implique implicitement que la vitesse de dilatation du gel soit toujours infinie par rapport à la diffusion des molécules. Cela pourrait et même devrait apparaître comme un choix parfaitement arbitraire. En effet, la situation inverse pourrait très bien être observée si la cinétique de dilatation du gel était le phénomène lent. Les deux situations sont évidemment possibles et leur occurrence respective ne dépend que des valeurs relatives de la vitesse de diffusion du cation adrénaline dans le gel dilaté et de celle de la dilatation du gel qui autorise cette diffusion.

Pour trancher entre ces deux hypothèses limites contradictoires, les deux situations ont été modélisées à partir d'une sphère diffusante non masquée ($\alpha = \pi/2$ et constant). Dans le premier cas (contrôle cinétique par la diffusion du cation, modélisation par simulation brownienne) on observe bien un comportement du flux aux temps longs qui respecte les formes expérimentales observées aux temps longs (décroissance linéaire en $t^{-1/2}$), c'est-à-dire lorsque la vésicule est entièrement exposée [5, 7]. Dans le deuxième cas (contrôle par la cinétique d'expansion du gel) l'utilisation de résultats théoriques et expérimentaux publiés en physique des gels polyélectrolytes [8] prévoit un flux aux temps longs ne décroissant que très lentement et ne respectant pas du tout les formes expérimentales [5]. Par conséquent, il semble bien que si le gel polyélectrolyte naturel (constitué principalement par la chromogranine A et les cations adrénaline) se comporte bien comme les gels synthétiques étudiés en physique des gels polyélectrolytes [8], l'on puisse considérer que la cinétique d'expansion du gel n'est pas limitante dans le phénomène d'exocytose. Cela valide a posteriori notre approche, ce qui explique que nous ayons pris la liberté de ne faire état de ce problème qu'à la fin de ce texte.

CONCLUSION

Nous avons voulu démontrer ici que les ultramicroélectrodes constituent de nouveaux objets dotés de propriétés assez extraordinaires, permettant d'aller rechercher au niveau de la cellule même une information fondamentale liée à l'un des processus les plus élémentaires de la pensée. Pour ce faire nous avons adopté une stratégie inspirée de la solution retenue par la Nature pour les processus mêmes que nous avons étudiés. En effet, le coût énergétique et entropique des neurotransmetteurs et des polymères polyanioniques du type chromogranine empêche leur utilisation en masse pour la transmission d'un seul quantum d'information. Par ailleurs la transmission de cette information avec un bon rapport signal sur bruit impose de pouvoir construire une concentration suffisamment importante en neurotransmetteur au niveau du récepteur de cette information. La réponse de la Nature à ce paradoxe est assez simple mais très efficace : peu de molécules (quelques millions) dans un volume réduit (quelques femtolitres) constituent une concentration importante (de l'ordre de millimolaire). L'ultramicroélectrode, placée au-dessus de la cellule émettrice dans la configuration de la figure 2 ne fait qu'emprunter ce «truc» habile sélectionné par la Nature.

La même technique peut être mise à profit pour étudier d'autres processus cellulaires fondamentaux, comme par exemple le stress oxydatif [10], un phénomène qui est à l'origine de la production des fameux radicaux libres devenus si chers à nos fabricants de produits de beauté mais qui sont aussi, et malheureusement, à la base d'un grand nombre de maladies (cancers, maladies auto-immunes, SIDA, arthrite, vieillissement, etc.). Nous avons cependant préféré nous borner ici au cas de l'exocytose de

neurotransmetteurs, bien entendu car c'est l'un des actes les plus élémentaires du mécanisme physiologique de la pensée, mais aussi et surtout car cette étude est particulièrement exemplaire en ce sens qu'elle démontre parfaitement que les distinctions entre les grandes familles comtiennes de la Science n'ont plus réellement cours dans les laboratoires d'aujourd'hui : où sont la Chimie, la Physique ou la Biologie dans ce qui précède ? Et puis d'ailleurs, la Nature et la Connaissance s'en soucient-elles vraiment ?

N.D.A. : Ce texte reprend le contenu de la conférence présentée par C. AMATORE à l'Institut de France dans le cadre de sa nomination comme Membre Correspondant de l'Académie des Sciences. Pour sa partie expérimentale, ce travail est réalisé dans le cadre d'une collaboration très étroite entre notre groupe de l'ENS et celui de Mark WIGHTMAN (Université de Caroline du Nord, Chapel Hill, USA).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] E. L. CIOLKOWSKI, K. M. MANESS, P. S. CAHILL, R. M. WIGHTMAN, D. H. EVANS, B. FOSSET et C. AMATORE, 1994. *Anal. Chem.*, 66, p. 3611.
- [2] *Voir par exemple* : C. NANAVATI et J.-M. FERNANDEZ, 1993. *Science*, 259, p. 963.
- [3] C. AMATORE, 1996. *C.R. Acad. Sci. Paris, Ser. Iib*, 323, p. 757.
- [4] T. J. SCHROEDER, J. A. JANKOWSKI, K. T. KAWAGOE, R. M. WIGHTMAN, C. LEFROU et C. AMATORE, 1992. *Anal. Chem.*, 65, p. 2711.
- [5] T. J. SCHROEDER, R. BORGES, J.-M. FINNEGAN, K. PIHEL, C. AMATORE et R. M. WIGHTMAN, 1996. *Biophys. J.*, 70, p. 1061.
- [6] *Voir par exemple* :
 - (a) J.-M. FERNÁNDEZ, E. NEHER et B. D. GOMPERTS, 1984. *Nature*, 312, p. 453 ;
 - (b) L. BRECKENRIDGE et W. ALMERS, 1987. *Nature*, 312, p. 814 ;
 - (c) J. ZIMMERBERG, M. CURRAN, F. S. COHEN et M. BRODWICK, 1987. *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.*, 84, p. 1585 ;
 - (d) E. NEHER, 1993. *Nature*, 363, p. 498 ;
 - (e) G. ALVAREZ de TOLEDO, R. FERNÁNDEZ-CHACÓN et J.-M. FERNÁNDEZ, 1993. *Nature*, 363, p. 554.
- [7] Ces résultats ont été obtenus dans notre groupe de l'ENS en 1996, dans le cadre des travaux du DEA de M. L. MIDRIER (DEA de Matière Condensée, ENS et Université Paris VI, 1996) et du Stage de Magistère de M. Y. BOURET (Magistère de Interuniversitaire de Chimie, ENS, 1996). Ils n'ont pas encore fait l'objet de publications régulières.

- [8] *Voir par exemple :*
(a) T. TANAKA et D. J. FILLMORE, 1979. *J. Chem. Phys.*, 70, p. 1214 ;
(b) J. RICKA et T. TANAKA, 1984. *Macromol.*, 17, p. 2916 ;
(c) P. E. GRIMSHAW, J. H. NUSSBAUM et GRODZINSKY, 1990. *J. Chem. Phys.*, 93, p. 4462.
- [9] *Voir par exemple :* C. TAUPIN, M. DVOLAITZKY et C. SAUTEREY, 1975. *Biochem.*, 21, p. 4771.
- [10] (a) S. ARBAULT, P. PANTANO, J. A. JANKOWSKI, M. VUILLAUME and C. AMATORE, 1995. *Anal. Chem.*, 67, p. 3382;
(b) S. ARBAULT, P. PANTANO, N. SOJIC, C. AMATORE, M. BEST-BELPOMME, A. SARASIN et M. VUILLAUME, 1997. *Carcinogenesis*, 18, *sous presse* ;
(c) M. EDEAS, S. ARBAULT, S. LEGRAND-POËLS, N. SOJIC, C. AMATORE, J. PIETTE, M. BEST-BELPOMME, A. LINDENBAUM et M. VUILLAUME, 1997. *AIDS Sciences*, *sous presse*.