

## **Exposition Vie en Lumière - Lumière sur la Vie au Centre Culturel Le Belvédère, à St Martin d'Uriage (Isère).**

L'exposition a été organisée dans le cadre de l'Année Internationale de la Lumière et a eu lieu du 25 septembre au 29 novembre 2015. Pendant la période de la Fête de la Science, nous avons organisé des visites commentées pour des scolaires (écoles primaires locales) et pour le grand public. Deux conférences ont également été proposées en association avec la thématique de l'exposition. L'exposition a accueilli plus que 1000 visiteurs.

### **Contenu:**

Les protéines fluorescentes et leur application dans le domaine de la microscopie fluorescente sont le thème central de l'exposition. Mon souhait était de proposer des lectures à différents niveaux: le visiteur peut faire le tour de l'exposition en regardant les images et les apprécier en tant que

"œuvres d'art" ou, selon l'envie, il peut approfondir ses connaissances dans différents domaines: la bioluminescence, la fluorescence des coraux, l'exploitation de ce phénomène pour l'études des récifs coralliens, la microscopie à fluorescence, les couleurs, la lumière .... De nombreux posters et documents accompagnent ainsi cette exposition. Il me paraît également important d'insister sur la fragilité des écosystèmes confrontés au réchauffement des océans et le risque de perdre ce monde merveilleux présenté sous forme de photos de coraux fluorescents.

L'ensemble des posters explicatifs présentés dans l'exposition sont soit bilingue (FR/EN), soit une traduction en anglais est fournie. A part de l'accueil d'un public non francophone, il me semble primordial aujourd'hui de communiquer sur l'importance de langue anglaise dans le monde des sciences, notamment en direction d'un public scolaire.

L'exposition a été préparée en étroite collaboration avec "Coral Guardian" (une organisation française de solidarité internationale qui a pour vocation la conservation des écosystèmes coralliens, [www.coralguardian.org](http://www.coralguardian.org)) ainsi qu'avec des scientifiques Grenoblois, Didier Grunwald (CEA), Yasmina Saoudi (GIN), Virgil Adam (IBS) et Dominique Marion (IBS). Des nombreux scientifiques à travers le monde ont également contribué à cette exposition en mettant gracieusement à ma disposition photos et musiques composées. Leurs noms sont listés à la fin de ce document.



Au sein du Centre Culturel du Belvédère, l'exposition a occupé quatre salles:

- la salle des organismes luminescents et fluorescents: était montré des photos d'organismes luminescents, de la méduse *Aequorea victoria*, organisme hôte de la protéine fluorescente verte ainsi qu'un nombre important de photographies des coraux fluorescents (photos murales et diaporama sur trois cadres numériques). En plus, un montage de différents vidéos trouvés sur YouTube et mettant en scène des organismes luminescents était montré sur un écran d'ordinateur.
- la salle de microscopie à fluorescence: cette salle montrait un choix de clichés de microscopie à fluorescence choisis pour leur caractère esthétique ainsi que des images "Brainbow" (différentes cellules sont colorées différemment en fonction de la couleur des protéines fluorescentes qu'elles expriment).
- la salle pédagogique: cette salle proposait des posters explicatifs sur le phénomène de la lumière (spectre électromagnétique, couleurs, absorption, ...) ainsi qu'une multitude de documents plastifiés en A4 (biographies des personnalités impliquées dans la recherche autour de la microscopie à fluorescence, documents supplémentaires sur la vie de coraux, l'écologie des récifs, ... la plupart en français, quelques-uns en anglais). Dans un coin, les reproductions des peintures de Henry Compton (organismes luminescents des profondeurs des océans) marquaient la transition entre l'espace "scientifique" et l'espace "artistique".
- la salle "artistique" montrait des photographies obtenues sous microscope à fluorescence d'objets insolites (langue de grenouille, pollen, minéraux), choisies pour leur valeur esthétique à l'interface entre art et science. C'était aussi le lieu où une vidéo de ca 16 minutes, obtenu à partir de trois vidéos de Coral Guardian, était projeté en boucle.

**Beate Bersch – Biomolecular NMR Spectroscopy Group**

Institut de Biologie Structurale, UMR-5075 CNRS-CEA-UJF

CS 10090

71 Avenue des Martyrs

F 38044 Grenoble Cedex 9

Tel. (33) 4 57 42 85 12



# Salle des organismes luminescents et fluorescents:

## Vie en Lumière - Lumière sur la Vie

Pourquoi cette exposition ?

Deux prix Nobel ont couronné les travaux sur l'utilisation de la fluorescence dans la recherche sur le vivant. J'aimerais vous convier à un voyage à travers les profondeurs des océans et jusqu'à l'intérieur des cellules pour vous faire découvrir la beauté des images obtenues par des collègues chercheurs à travers le monde.

L'année 2015 a été déclarée "Année Internationale de la Lumière". La lumière est omniprésente dans le monde du vivant et essentielle à la vie. Dans les mers et océans de la terre vit une multitude d'organismes qui émettent de la lumière: ils la produisent eux-mêmes (un phénomène appelé BIOLUMINESCENCE) ou renvoient la lumière ambiante avec une autre couleur (un phénomène appelé FLUORESCENCE). La première partie de cette exposition est dédiée au monde des êtres luminescents et fluorescents qui vous révèlent leurs couleurs surprenantes.

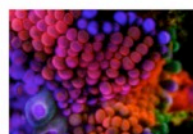
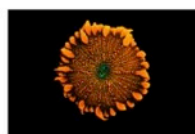
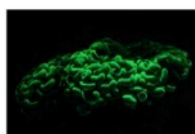
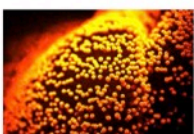
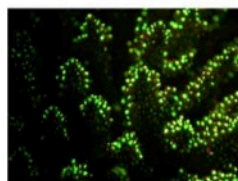
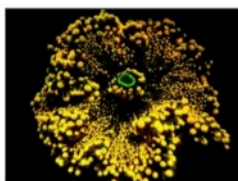
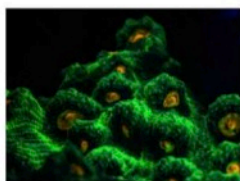
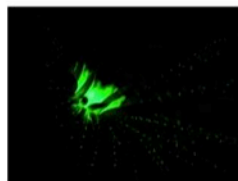
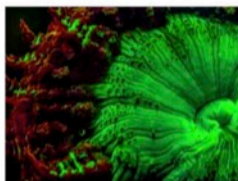
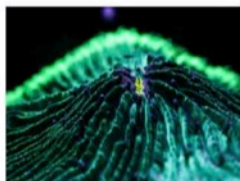
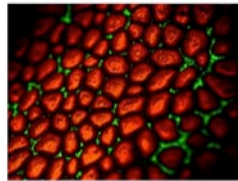
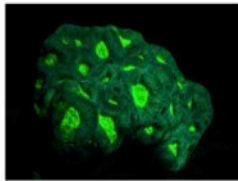
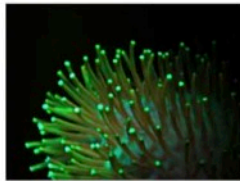
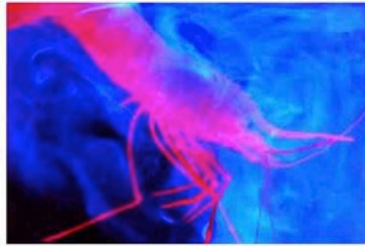
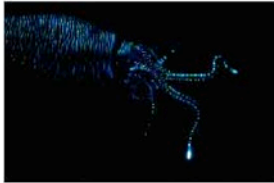
En 2008, le Prix Nobel de Chimie a été attribué au Japonais Osamu Shimomura et aux Américains Martin Chalfie et Roger Y. Tsien pour la découverte et le développement de la protéine fluorescente verte GFP (Green Fluorescent Protein), extraite d'une méduse luminescente, *Aequorea victoria*. De telles protéines provenant des méduses ou des coraux et leurs dérivés permettent aujourd'hui l'observation du plus petit édifice vivant, la cellule. Puis, couronnés par le prix Nobel de chimie 2014, les Américains Eric Betzig et William Moerner et l'Allemand Stefan Hell, poussent les limites encore plus loin: leurs travaux sur le développement de la microscopie à fluorescence à très haute résolution ont permis de franchir une limite théorique posée par l'Allemand Ernst Abbe en 1873 et de plonger dans l'extrêmement petit avec une étonnante netteté de l'image.

La deuxième partie de l'exposition vous montre la beauté des images microscopiques obtenues grâce aux substances fluorescentes introduites dans des cellules. Un monde infiniment petit s'ouvre à nos yeux et nous délivre les secrets de la vie cellulaire.

Dans les deux dernières salles vous trouverez du matériel pédagogique sur la lumière, les couleurs, la luminescence et la fluorescence, ainsi que des objets et images à l'interface entre l'art et la science.

Beate Bersch

Exemples de la composition de quelques murs d'exposition (salle 1):



Vie en Lumière - Amélie van La Vie

Amélie van La Vie

Une nuit d'été, une jeune fille découvre les secrets de la vie nocturne. Elle se livre à une aventure pleine de surprises et de découvertes. Elle apprend à connaître les animaux qui vivent dans la nuit et à apprécier la beauté de la nuit.

Une nuit d'été, une jeune fille découvre les secrets de la vie nocturne. Elle se livre à une aventure pleine de surprises et de découvertes. Elle apprend à connaître les animaux qui vivent dans la nuit et à apprécier la beauté de la nuit.

Une nuit d'été, une jeune fille découvre les secrets de la vie nocturne. Elle se livre à une aventure pleine de surprises et de découvertes. Elle apprend à connaître les animaux qui vivent dans la nuit et à apprécier la beauté de la nuit.

Une nuit d'été, une jeune fille découvre les secrets de la vie nocturne. Elle se livre à une aventure pleine de surprises et de découvertes. Elle apprend à connaître les animaux qui vivent dans la nuit et à apprécier la beauté de la nuit.

Une nuit d'été, une jeune fille découvre les secrets de la vie nocturne. Elle se livre à une aventure pleine de surprises et de découvertes. Elle apprend à connaître les animaux qui vivent dans la nuit et à apprécier la beauté de la nuit.

Une nuit d'été, une jeune fille découvre les secrets de la vie nocturne. Elle se livre à une aventure pleine de surprises et de découvertes. Elle apprend à connaître les animaux qui vivent dans la nuit et à apprécier la beauté de la nuit.

## Qu'est-ce que la bioluminescence ?

Pendant une promenade nocturne en longeant une plage, lors d'un voyage en bateau pendant la nuit ou dans nos haies champêtres on peut souvent apercevoir des lumières scintillantes. C'est la bioluminescence - l'émission de la lumière visible par un organisme vivant.

Cette lumière est produite lors d'une réaction chimique.

La lumière est une forme d'énergie. Une réaction chimique peut libérer de l'énergie (on appelle cela une réaction exergonique) si le produit de la réaction est moins riche en énergie que les composés de départ. Cette énergie peut être libérée sous forme de chaleur (chaufferette), d'énergie chimique (travail musculaire), d'énergie électrique (pile) ou bien sous forme de lumière (bioluminescence).

Beaucoup d'êtres vivants - en dehors des mammifères et des plantes - émettent de la lumière, la plupart vivant dans les profondeurs des océans.

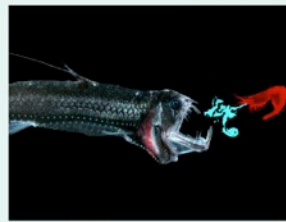
### À quoi sert la bioluminescence ?

#### What are the functions of bioluminescence ?



Attirer une proie

Prey attraction



Défense

Defense

Camouflage par contre-illumination

Camouflage by counterillumination

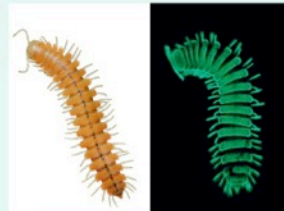


#### Signalisation/Communication



« coucou, je t'attends »

« hello, I am waiting for you »



« ne me mange pas, je suis toxique »

« do not eat me, I am toxic »

## What is bioluminescence ?

Walking along the beach at night or sailing on a darkened sea, you will often see sparkling lights in the water. This is bioluminescence - the emission of visible light by an organism as a result of a natural chemical reaction.

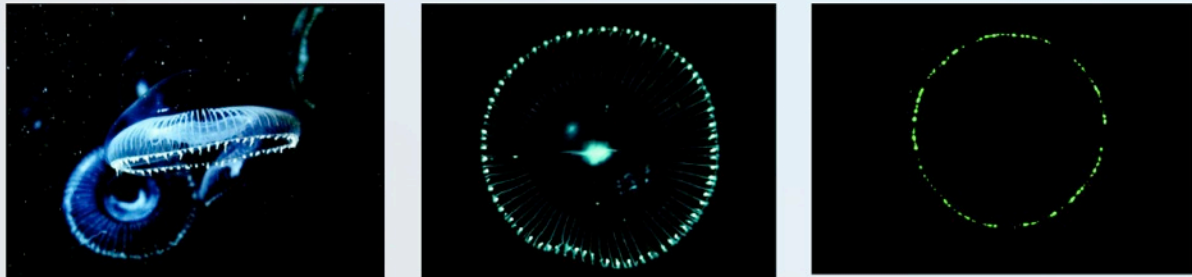
Light is a form of energy. A chemical reaction can yield energy (called an exergonic reaction) if the products of the reaction are less rich in energy than the reactants. This energy can be transformed to the production of heat (hand warmers), to chemical energy (consumed by muscles during an effort), to electrical energy (battery) or to the production of light (bioluminescence).

Many living organisms (except mammals and plants) are known to produce light, most of them occur in the depth of the oceans.

# Une méduse et la biologie cellulaire

## La success story d'*Aequorea victoria*

Après avoir travaillé sur la bioluminescence d'un crustacé microscopique (Cypridina) au Japon, Osama Shimomura part aux Etats-Unis pour rejoindre le laboratoire du Dr Frank Johnson à l'Université de Princeton en 1960. Le Dr Johnson lui demande de travailler sur la bioluminescence d'une méduse, *Aequorea victoria*, qui prolifère dans les eaux de Friday Harbor sur l'Océan Pacifique.



*Aequorea victoria* éclairée par la lumière blanche (gauche), les organes émetteurs de lumière vus d'en dessous (milieu) et leur fluorescence verte, détectable seulement dans le noir, le reste de l'animal restant invisible. Images tirées de O. Shimomura, Journal of Microscopy 217, 3-15 (2005).

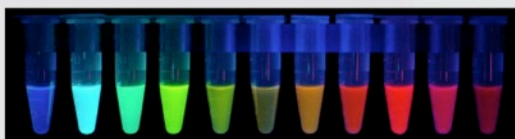
Après maints essais infructueux, O. Shimomura parvient à préparer un extrait de la substance lumineuse et démontre que la luminescence est sensible à l'acidité (pH). Par hasard, il met son extrait en contact avec de l'eau de mer et observe un éclair de lumière bleue ! Il comprend que la luminescence a besoin du calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ), présent dans l'eau de mer. Peu de temps et beaucoup de méduses sacrifiées après, il démontre que la substance lumineuse d'*Aequorea victoria* est une protéine qu'il nomme **Aequorine**. Cette protéine qui émet une lumière bleue est purifiée en 1962. Pour la caractérisation de son chromophore, Johnson et Shimomura développent une «machine à couper des méduses» (ce qui permet de traiter 1200 méduses par heure). Après cinq ans de travail intense, des centaines de milliers de méduses capturées, coupées et extraites (plusieurs tonnes de méduses pour 100 à 200 mg d'Aequorine pour 1 mg de chromophore), Shimomura et Johnson déterminent la structure chimique du chromophore !

**lexique: chromophore:** la substance chimique qui donne la couleur - **fluorophore:** la substance chimique qui fluoresce

Cependant, comment expliquer la lumière verte émise par la méduse (voir image ci-dessus) ? En effet, *A. victoria* contient deux protéines: l'Aequorine qui émet de la lumière bleue par une réaction de bioluminescence (production de la lumière lors d'une réaction chimique) et une deuxième protéine, également découverte par O. Shimomura, qui émet une lumière verte quand elle est éclairée par de la lumière bleue : cette deuxième protéine est appelée «**Green Fluorescent Protein**» (GFP, en français Protéine Verte Fluorescente).

Cette protéine est extraordinaire car elle est capable de faire son fluorophore toute seule, sans l'aide d'autres substances propres à son hôte d'origine, la méduse. En 1992, le gène codant pour la GFP est isolé et cloné par le Dr Douglas Prasher et deux ans après, le Dr Martin Chalfie introduit ce gène (et donc l'information comment produire la GFP et donc la fluorescence) dans des bactéries (*Escherichia coli*) et des nématodes (*Caenorhabditis elegans*) qui - deviennent fluorescents !

Très vite, les chercheurs commencent à utiliser cette protéine fluorescente couplée (fusionnée) à d'autres protéines d'intérêt: la GFP devient une molécule rapporteuse qui permet d'observer où et quand une protéine est présente dans la cellule.



Protéines fluorescentes du laboratoire du Dr R. Tsien

Les images multicolores montrées dans la prochaine section ont été obtenues avec des protéines fluorescentes dérivées de la GFP (le travail initié par le Dr Roger Tsien) ou d'autres protéines fluorescentes présentes dans des coraux (travail initié par le Dr Sergey Lukyanov).

## Les coraux fluorescents

Ces images révèlent la poésie de la biodiversité des récifs, de ces secrets biologiques qui s'opèrent au-delà du visible et de ces métamorphoses qui se développent en dehors de notre contrôle. Les thèmes de la fluorescence, de la lumière hantent l'oeuvre de ce collectif d'artistes unis pour la préservation de ces écosystèmes vitaux et pour l'incroyable beauté de la faune marine, si fascinante



## Fluorescent corals

These images reveal the poetry of coral reefs' biodiversity, of biological secrets operating beyond the visible and of metamorphoses that develop independently of our control. The themes of fluorescence, color and light emerge from the collaborative work of these artists who stand for the conservation of these vital ecosystems and of the incredible beauty of the marine fauna.

## Fluorescence des coraux et écologie: évaluation des populations

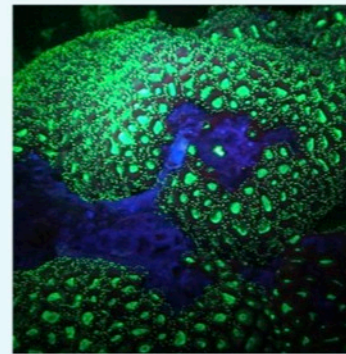
Les récifs coraliens sont menacés à travers le monde par l'activité humaine et par des facteurs naturels. Les raisons de leur déclin sont nombreux: activités industrielles, pêche, activités touristiques, réchauffement climatique, acidification des océans suite à l'absorption du CO<sub>2</sub> de l'atmosphère ...

Or, les récifs sont essentiels pour la biodiversité de l'écosystème marin ainsi que pour la protection des côtes.

L'observation de la fluorescence des récifs coraliens permet d'évaluer l'état de ses populations: les coraux morts ainsi que les parties nécrosées ne sont plus fluorescents tandis que les jeunes individus, difficilement détectables à cause de leur taille minuscule, apparaissent clairement comme des petits points avec une fluorescence très intense.

bleu: parties nécrosées du corail

blue: dead parts of the coral

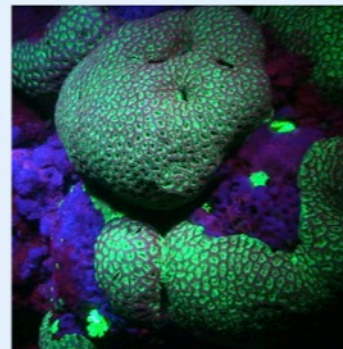


## Coral fluorescence and ecology: evaluation of reef populations

Coral reefs are under human and natural threat worldwide. The reasons for their decline are numerous: industrial activities, fishing, touristic activities, global warming, acidification of the oceans due to CO<sub>2</sub> absorption from the atmosphere ...

However, coral reefs are essential for the biodiversity of marine ecosystems as well as for coastal protection.

Observation of the reefs using fluorescence allows evaluation of the state of its populations: died or endamaged corals do not show fluorescence whereas young individuals, difficult to detect because of their small size, show up as brilliant, fluorescent spots.



taches intenses et vertes: jeunes individus

light green spots: young individuals

## Qu'est-ce que la fluorescence des coraux ?

La lumière blanche contient toutes les couleurs de l'arc en ciel. Un objet nous paraît coloré car une partie de la lumière est absorbée et l'autre réfléchi (couleur aperçue). La fluorescence implique l'absorption d'une partie définie de la lumière (par exemple le bleu) et sa restitution sous forme d'un rayonnement de plus faible énergie (déplacement vers le rouge dans les couleurs de l'arc en ciel). Un corail fluorescent illuminé avec de la lumière bleue peut alors apparaître dans un vert néon stupéfiant. Ce sont des pigments spécifiques des coraux qui sont fluorescents.

## Pourquoi les coraux sont fluorescents ?

On ne sait toujours pas ! La fluorescence pourrait jouer un rôle de « crème solaire » en protégeant les coraux exposés à un rayonnement trop intense. Selon une autre hypothèse, la fluorescence contribue à la transformation de la lumière bleue prédominante dans les profondeurs vers un plus large spectre de rayonnements qui pourraient servir à des algues photosynthétiques vivant en symbiose avec les coraux. Il est également proposé que la fluorescence soit utilisée à des fins stratégiques de défense du corail par le changement de son aspect visuel ...

## Comment observer la fluorescence des coraux ?

La fluorescence des coraux peut être observée en plongée en fin de journée ou de nuit en s'équipant d'une phare de lumière bleue. L'excès de lumière bleue émis par le phare peut être éliminé par l'utilisation d'un filtre orange pour ne détecter que la fluorescence émise par le corail (d'une intensité beaucoup plus faible).

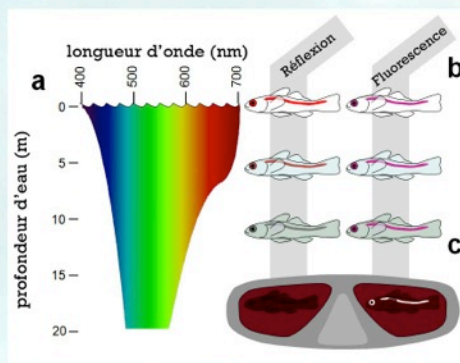


© BioQuest Studios, <http://bioqueststudios.com.au>

Un corail (*Faventis pentagonia*) exposé à la lumière blanche.

Le même corail éclairé avec un spectre de lumière mimant les conditions à une profondeur de 10 m. Des couleurs roses et verts apparaissent qui sont dues à la fluorescence

Le même spécimen éclairé avec de la lumière bleue et observé à travers un filtre qui élimine le bleu.



## Lumière, perception des couleurs et fluorescence sous l'eau

**a.** spectre de la lumière en fonction de la profondeur de l'eau d'océan. La composante rouge est rapidement perdue alors que le bleu et le vert pénètrent plus profondément.

**b.** à faible profondeur (lumière blanche) un poisson rouge réfléchit la lumière rouge. L'intensité de la lumière réfléchi est plus forte que la fluorescence et la masque. A une profondeur de plus de 10 m, il n'y a plus de lumière rouge qui puisse être réfléchi. Cependant, la fluorescence induite par la lumière bleue est visible et les pigments apparaissent rouge, même en absence de lumière rouge.

**c.** Puisque la lumière d'éclairage (bleue) est plus intense que la fluorescence, cette dernière est plus brillante si un filtre est utilisé qui ne laisse passer que la couleur de fluorescence (ici le rouge). Toute lumière rouge observée à une profondeur de 20 m et à travers un filtre rouge a été « produite » localement par bioluminescence ou fluorescence.



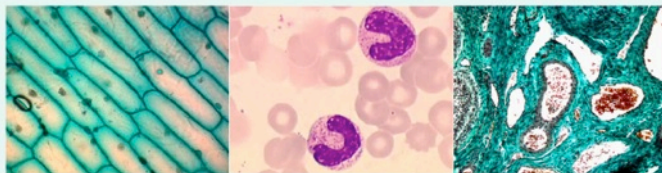
# Salle de la microscopie à fluorescence

## La Microscopie à Fluorescence: pourquoi et comment ?

Comme pour toute observation, la microscopie a besoin de **lumière**.

La première approche en microscopie, toujours valide aujourd'hui, a été la microscopie dite « en lumière transmise » (XVII<sup>ème</sup> siècle : Galilée, Huygens, van Leeuwenhoek).

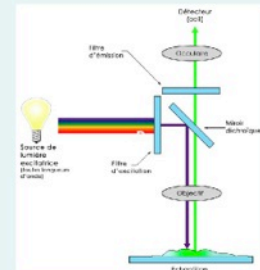
Par le biais d'une combinaison de lentilles ayant un effet de grossissement plus important qu'une simple loupe, il est possible d'observer des objets qui échappent à notre vue directe. Sur la lame d'observation, posée entre le système de grossissement et une source de lumière, ces objets sont mis en évidence par les perturbations subies par la lumière en les traversant. Des cellules déposées sur une lame, totalement invisibles à l'œil nu, sont capables (surtout si on les a soumises à une coloration) de perturber suffisamment la lumière pour être visualisées à travers le système optique du microscope.



Cette approche en lumière transmise a été et reste un formidable outil, grâce auquel nos connaissances de la biologie du vivant ont fait d'immenses progrès. Néanmoins, la technique trouve ses limites dans son incapacité à détecter des objets de taille moléculaire, spécifiquement, au milieu des milliards d'autres molécules qui constituent une cellule.

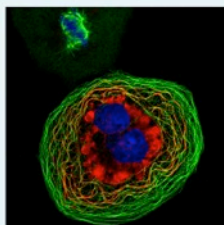
Or, les renseignements concernant la localisation intracellulaire d'une molécule particulière, le moment de sa production, ses moyens de transport, sa dynamique, ses partenaires et la nature de ses collaborations, sont essentiels pour comprendre son rôle dans le fonctionnement d'une cellule. Ces informations sont devenues accessibles à l'observation en microscopie optique, grâce à la **Fluorescence**.

L'observation du phénomène de fluorescence en microscopie, nécessite une source d'excitation puissante, et un système de filtres séparant la lumière d'excitation (dirigée vers la lame) de celle d'émission (dirigée vers les yeux).

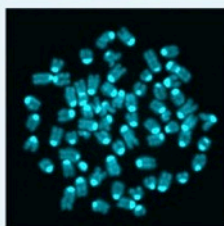


Pour détecter les molécules qui les intéressent, les biologistes ont trouvé plusieurs moyens pour leur associer une fluorescence, de manière spécifique, parmi lesquels :

- des sondes chimiques spécifiques (ions, ADN ...)
- des anticorps rendus fluorescents et reconnaissant spécifiquement la protéine étudiée
- des protéines de fusion fluorescentes: les protéines de fusion fluorescentes sont le produit de la combinaison des gènes de la protéine étudiée et d'une protéine naturellement fluorescente de type GFP (pour Green Fluorescent Protein).



Fibroblaste en culture.  
Rouge: réticulum endoplasmique (Anti-Triadine-Cy3) Vert: tubuline (Anti-Tubuline-AF488), Bleu: ADN (Hoechst, sonde spécifique)



Chromosomes de souris (marqués au Hoechst)

Ainsi, grâce à la fluorescence, sous l'œil du microscopiste, les molécules apparaissent comme des phares dans l'obscurité, faciles à détecter.

De plus, plusieurs molécules peuvent être détectées simultanément, en associant à chacune une couleur particulière.

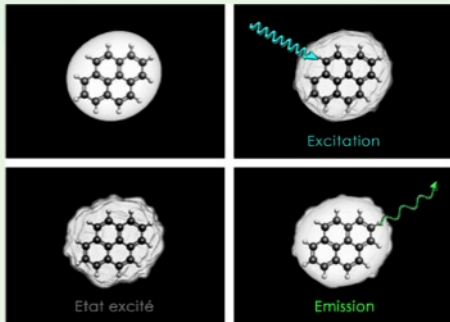
Malheureusement, aussi puissante soit-elle, cette approche a trouvé à son tour ses limites avec les objets épais, tels que certains tissus biologiques. Dans ces cas là, le plan focal, net, est caché par la lumière émise par les molécules situées dans les plans flous, situés en dessus et en dessous. La microscopie confocale a permis de pallier ce problème: la technique consiste à collecter uniquement le plan focal à travers un petit orifice, en éliminant ainsi la fluorescence des plans adjacents.

Aujourd'hui, de nombreuses nouvelles techniques dites de super-résolution se développent, permettant d'accéder à une résolution de quelques dizaines de nanomètres en XY et d'une centaine de nanomètres en Z (Prix Nobel de Chimie en 2014).

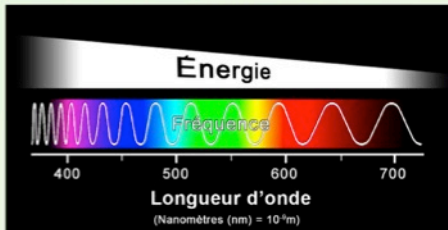
## Qu'est-ce que la fluorescence

Le terme de fluorescence a été emprunté à l'anglais et tire son nom d'un minéral, la fluorite (fluorine).

On dit qu'une molécule (A) est fluorescente, lorsqu'elle est capable d'absorber l'énergie de la lumière (d'une certaine couleur) (B), qui va l'amener à un état excité (C), qu'elle va quitter en évacuant son trop plein d'énergie, également sous la forme de lumière, mais de moindre énergie (D). La couleur de la fluorescence sera alors différente, décalée vers le rouge par rapport à la couleur de la lumière d'excitation.

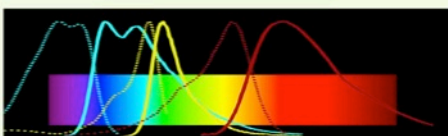
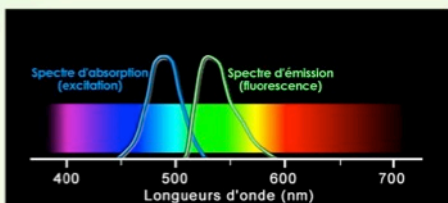


L'énergie de la lumière est reliée à sa couleur:



Chaque molécule fluorescente peut absorber la lumière d'une ou plusieurs couleurs caractéristiques (par exemple, la fluorescence de la GFP est la plus intense quand on l'excite à 395 nm et un peu moins quand on l'excite à 470 nm). De même, la couleur de la fluorescence est caractéristique de la molécule (et de son environnement - aqueux, huileux, acide, basique ...).

On parle de spectre d'excitation (zone de couleurs capables d'exciter la molécule) et spectre d'émission (zone de couleur de fluorescence émise par la molécule suite à l'excitation). L'allure de ces spectres spécifique de chaque fluorophore dépend de sa structure chimique.



Spectres d'excitation (ligne pointillée) et d'émission (ligne continue) de trois protéines fluorescentes différentes: CFP (protéine fluorescente cyan), YFP (protéine fluorescente jaune) et mKate-2

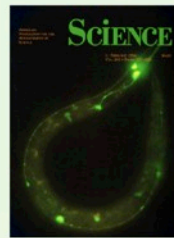
## Qu'apportent les protéines fluorescentes à la microscopie ?

La GFP (protéine verte fluorescente) isolée par O. Shimomura de la méduse *Aequorea victoria* et caractérisée plus en détail par D. Prasher et M. Chalfie a révolutionné la microscopie à fluorescence.

La GFP et d'autres protéines qui lui ressemblent (protéines structurellement homologues) ont la propriété unique de former un fluorophore à partir de leur séquence (leur composition). Toute l'information nécessaire pour obtenir une protéine fluorescente est donc codée sur l'ADN (ADN: matériel génétique contenant l'information permettant la synthèse des protéines, premières actrices du monde vivant).

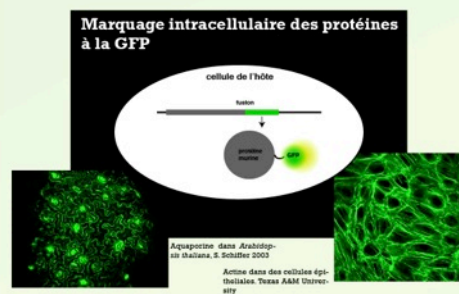
Aujourd'hui, les scientifiques savent manipuler l'ADN. Il est donc facile d'introduire le gène codant pour la GFP dans n'importe quel organisme et ceci à des endroits précis du génome.

M. Chalfie a été le premier à introduire le gène de la GFP dans des bactéries et des nématodes.



Couverture du journal scientifique «Science» de février 1994, montrant le nématode *Caenorhabditis elegans* qui exprime la GFP dans certains neurones

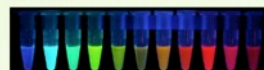
Quand le gène codant pour la GFP est directement collé à un gène de l'hôte codant pour une protéine d'intérêt, cette dernière, une fois synthétisée par la cellule, contient une extension: la protéine fluorescente. Puisque celle-ci sait faire son fluorophore toute seule dans n'importe quelle cellule, la protéine d'intérêt possède maintenant une étiquette fluorescente - et peut être détectée au microscope à fluorescence !



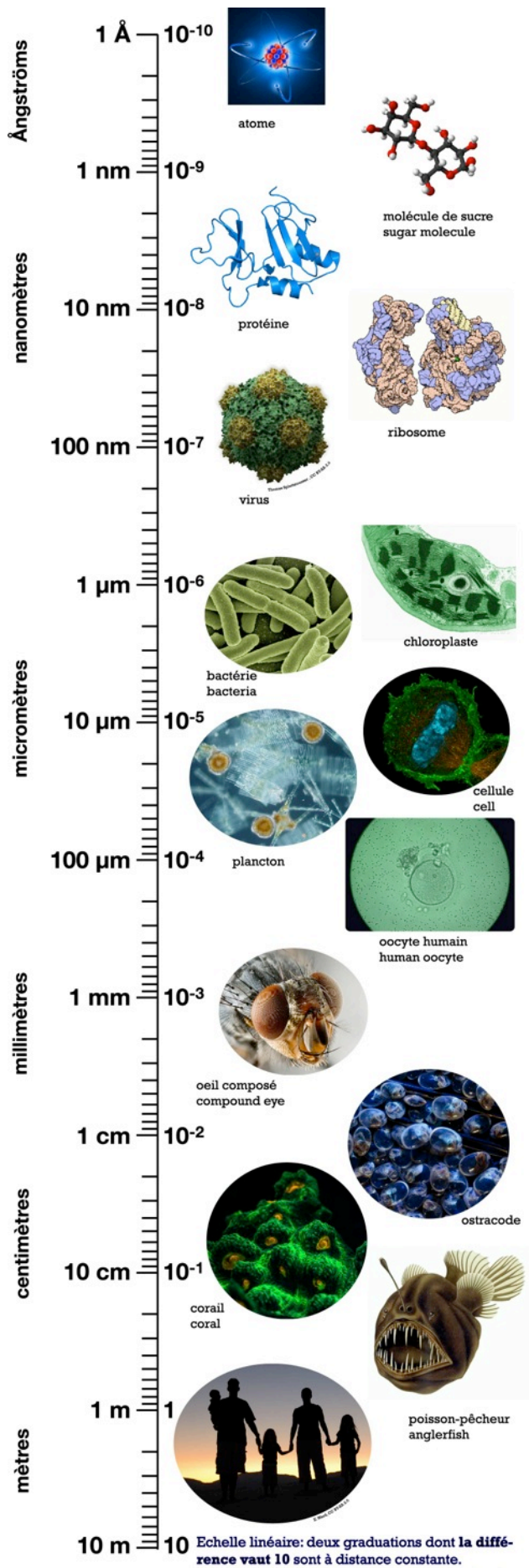
## Pourquoi des protéines fluorescentes plutôt que d'autres marqueurs de fluorescence ?

- elle peuvent être produites et observées dans des cellules vivantes
- leur production est soumise aux mêmes contrôles que celle de la protéine d'intérêt (elles sont collées), les scientifiques savent alors quand, où et sous quelles conditions la protéine d'intérêt est fabriquée par l'hôte.

Depuis, d'autres protéines fluorescentes ont été découvertes dans les Anthozoaires (anémones de mer, coraux ...), élargissant la palette des couleurs

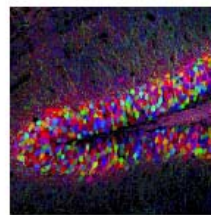
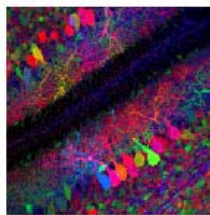
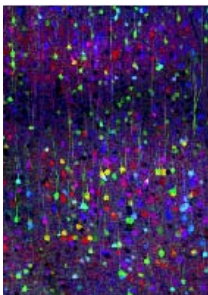
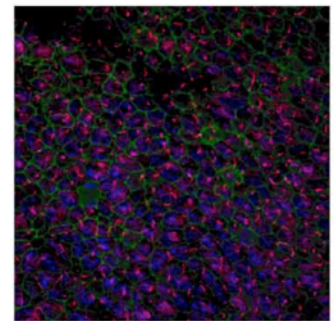
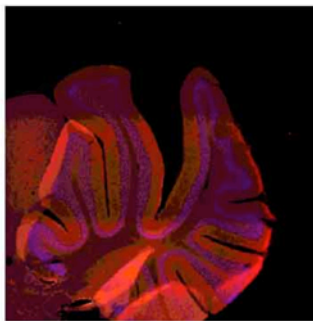
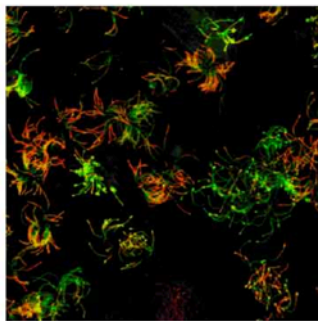
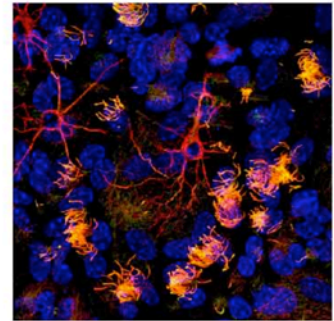
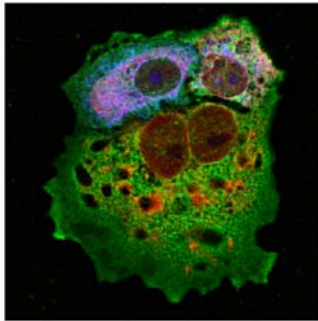
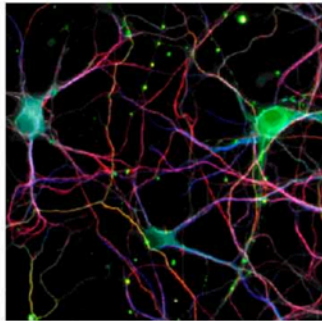
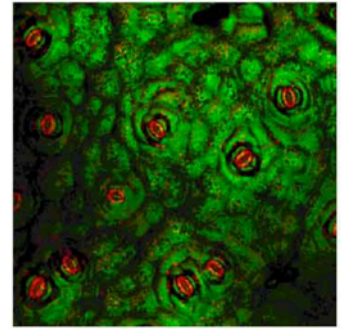
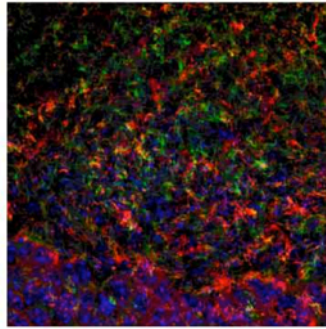
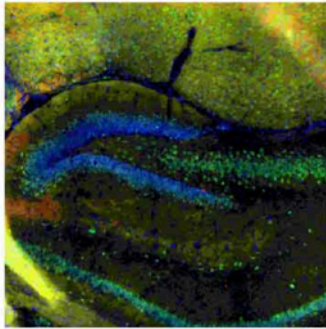


Protéines fluorescentes du laboratoire du Dr R. Tsien



10 Echelle linéaire: deux graduations dont la différence vaut 10 sont à distance constante.  
 Echelle logarithmique: deux graduations dont le rapport vaut 10 sont à distance constante.

Quelques clichés de la salle microscopie



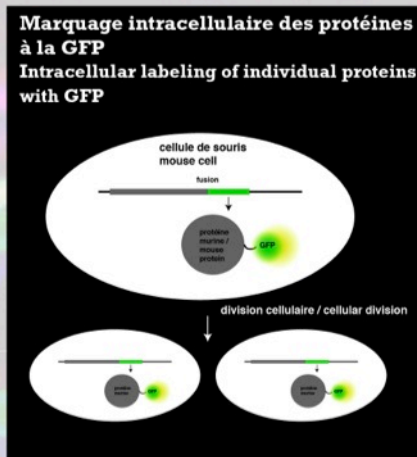
# Brainbows

Brain : Cerveau  
Rainbow : Arc-en-Ciel

Dans les images de microscopie à fluorescence, des protéines individuelles sont marquées par la GFP (protéine verte fluorescente) ou avec des fluorophores. Ceci permet la détection d'un seul type de protéine par couleur et éventuellement la colocalisation de différentes protéines marquées avec des fluorophores différents. Cependant, cette approche n'est pas adaptée à la distinction de cellules individuelles.

Dans des tissus complexes tel que le cerveau, l'identification des connections entre cellules ainsi que le suivi de mouvements cellulaires est très difficile en marquant des protéines à l'aide de molécules fluorescentes. Pour étudier les connections neuronales, on aimerait plutôt colorier les cellules individuelles par des couleurs différentes. C'est dans ce but que le marquage aux couleurs multiples «Brainbow» a été développé.

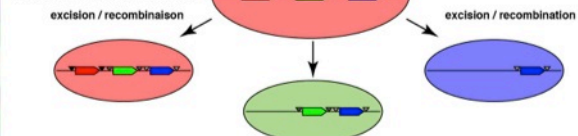
Brainbow fonctionne comme nos écrans d'ordinateur qui créent des milliers de couleurs à partir du rouge, du vert et du bleu: dans les cellules sont introduites une ou plusieurs copies des cassettes de gènes codant pour des protéines fluorescentes rouge, vert et bleu. Ces cassettes de gènes sont conçues pour induire une expression aléatoire des protéines fluorescentes qui, à travers les différentes combinaisons exprimées vont donner à chaque cellule une couleur particulière. Seul le premier gène de chaque cassette étant traduit en protéine, il est ainsi possible d'obtenir une centaine de couleurs différentes.



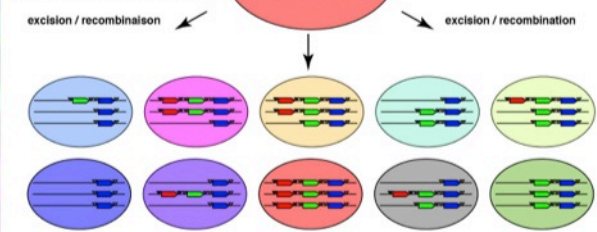
For most fluorescence microscopy pictures, individual proteins are labeled by the Green Fluorescent Proteins or fluorophores. This allows detection and colocalization of different proteins labeled with different fluorophores. However, all cells are labeled using the same pattern and cannot be distinguished easily.

**Marquage de cellules individuelles avec une combinaison de protéines fluorescentes**  
Labelling of individual cells by a combination of different fluorescent proteins

avec une cassette RVB  
with one RGB cassette



avec trois cassettes RVB  
with three RGB cassettes



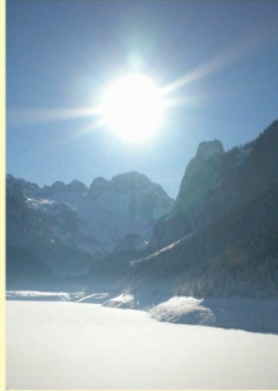
In complex tissues such as the brain, observation of the connections between individual cells and of their relative mobility requires differential coloring of individual cells rather than that of individual proteins. This goal is achieved in the application known as «Brainbow» (combining brain and rainbow).

Brainbow works as do our computer screens in which thousands of colors are obtained by mixing red, green and blue light in different ratios. Different copies of genes coding for red, green and blue fluorescent proteins are introduced in the form of cassettes, hosting one copy of each protein flanked by short DNA sequences that allow excision of entire genes by specific proteins. This stochastic (or random) process, called recombination, leads to a modification of the fluorescent protein cassette as illustrated above. Because only the first gene on each cassette is translated into a protein, different fluorescent proteins (in different combinations) are present in each cell resulting in a specific color.

# La salle pédagogique

## Qu'est-ce que la lumière ? What is light ?

### Sources de lumière - Sources of light



© Charles Goussier, www.astrophoto.com, CC BY-SA 4.0



© iStockphoto.com, iStockphoto.com, CC BY-SA 4.0



© iStockphoto.com, iStockphoto.com, CC BY-SA 4.0



© iStockphoto.com, iStockphoto.com, CC BY-SA 4.0

### Des objets chauds émettent de la lumière Hot objects give out light

Quand on chauffe un morceau de métal celui-ci commence à rougeoyer. L'énergie de la chaleur est transformée en lumière (les atomes du métal sont amenés à un état excité par la chaleur et émettent de la lumière). La lumière est produite à partir d'énergie libérée lors des réactions chimiques (flamme), à partir des transformations d'énergie électrique (ampoule incandescente) ou lors de la transformation des noyaux atomiques (soleil, étoiles). La fusion des atomes d'hydrogène au sein du soleil produit de l'hélium ainsi que des larges quantités d'énergie qui sont libérées sous forme de chaleur et de lumière.

## La lumière nous éclaire ! Light illuminates !

### lumière froide émise par la luciole cold light emitted by a firefly

When a piece of metal is heated it starts to glow. The energy of the heating is transferred to light (the atoms of the metal are excited by the heating and they emit light). Light is produced from energy liberated during chemical reactions (flame), from the transformation of electric energy (light bulb) or by the transformation of atomic nuclei (sun, stars). Fusion of hydrogen atoms to helium within the sun provides large amounts of energy that are liberated as heat and light.

### La lumière voyage dans l'espace sous forme de rayons et est détectée par nos yeux Light travels in straight lines across the space and is detected by our eyes



© iStockphoto.com, iStockphoto.com, CC BY-SA 4.0

### Nature de la lumière - Nature of light

La lumière naturelle dont nous disposons sur terre, est constituée pour l'essentiel par l'énergie que le soleil émet dans notre direction. Cette énergie, dite électromagnétique, est un phénomène décrit par les physiciens comme à la fois ondulatoire et corpusculaire.

La lumière peut, d'une part, être considérée comme une onde, une vibration se développant de manière rectiligne dans l'espace. Et, plus qu'une onde, la lumière que nous envoie le soleil est un mélange innombrable d'ondes, dont chacune peut-être caractérisée par sa longueur d'onde (ou sa fréquence).

Par ailleurs, l'approche corpusculaire considère également la lumière comme un flux constant de particules, les photons, porteurs d'une certaine énergie, et se déplaçant à 300 000 km/s.

Ces deux approches sont compatibles, car il existe entre elles une relation stricte et directe.

The natural light that we receive on earth is constituted of the energy that the sun emits in our direction. This energy, called electromagnetic, is a phenomenon that can be described as having simultaneously properties of waves and particles.

Light can be considered as a wave, a vibration which travels straightly through space. The sunlight is a mixture of numerous waves, each being characterized by its wave length (or frequency).

In addition, using the particle approach, light can be considered as a constant flux of particles, called photons, that are associated with a well-defined energy, and which travel at light speed, i.e. 300 000 km/s (in the vacuum).

The two approaches, describing light either as a wave or a flux of particles are compatible with each other, as they are related by a strict and direct relationship.

# Le spectre des ondes électromagnétiques

## Spectrum of electromagnetic waves

Pour comprendre la relation entre l'approche onde électromagnétique et corpusculaire, commençons par faire passer la lumière du soleil dans un prisme. Celui-ci va provoquer la séparation des différentes ondes qui la composent, et nous révéler « les couleurs de l'arc en ciel ». Chaque couleur correspond à une longueur d'onde particulière, les violets à une extrémité, avec une longueur d'onde d'environ 400 nm, les rouges de l'autre côté, à environ 700 nm. Ce spectre de lumière dite « visible » car perçue par nos yeux, se prolonge en réalité de chaque côté, vers des ondes de plus en plus petites d'un côté (les premières sont les ultra-violets), et plus grandes de l'autre (les premières étant les infra-rouges).

Les différentes ondes étant séparées les unes des autres, qu'en est-il de l'énergie des photons correspondants à chacune?

La relation entre l'énergie des photons et les longueurs d'ondes est inversement proportionnelle. Plus la longueur d'onde est courte, plus les photons correspondant sont riches en énergie (voir schéma ci-dessous).

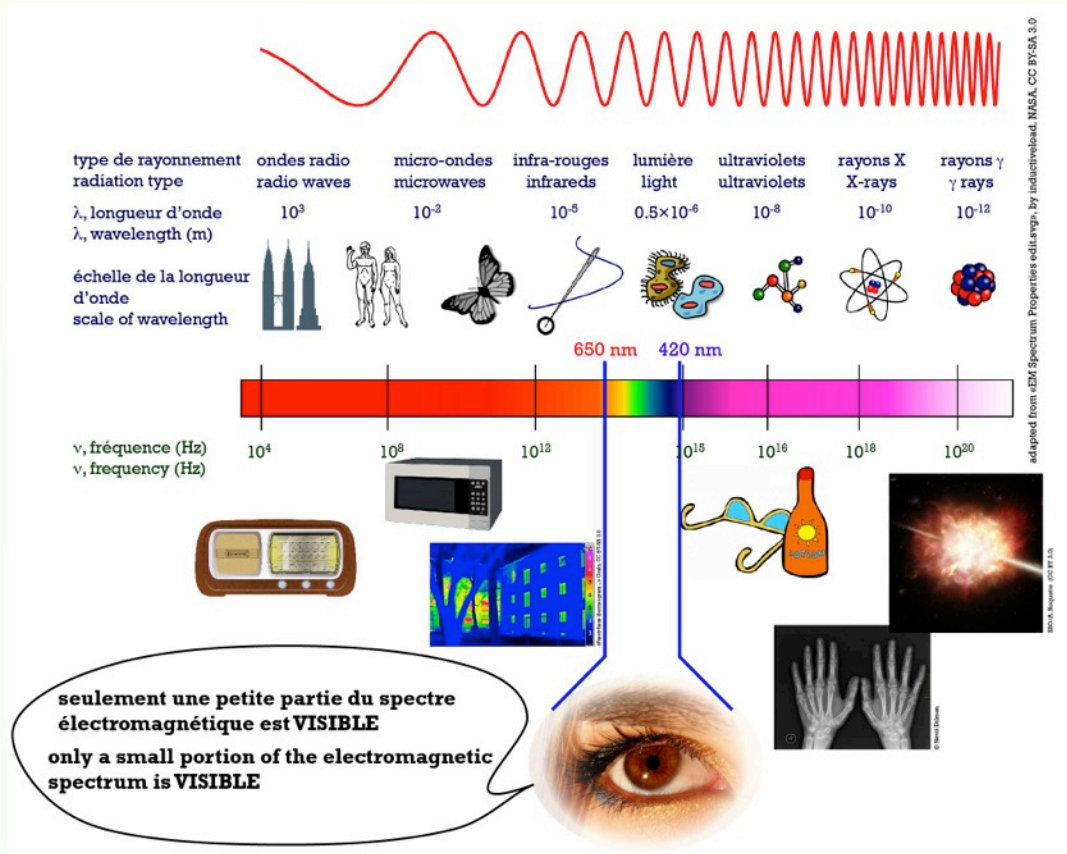
Ainsi, les ultraviolets proches du visible de longueur d'onde courte (200-380 nm), sont si énergétiques que nous nous en protégeons, tandis que les infrarouges (700 nm-800  $\mu\text{m}$ ) correspondent à une énergie « douce », utilisée comme principe thérapeutique par la chaleur pour soulager certaines douleurs.

In order to understand the relation between the description of light as an electromagnetic wave or as a particle, one might start by observing white light that passes through a prism. This will separate the different waves composing the white light and display the well-known colors of the rainbow. Each color corresponds to a particular wave-length (or frequency), violet, on one edge corresponds to a wave length of roughly 400 nm, red, on the other edge, to a wave-length of roughly 700 nm. The spectrum of waves with wave-lengths in between these limits is called «visible light», because we can perceive these wave-lengths with our eyes. In reality, the electromagnetic spectrum extends to much shorter wave-lengths on one edge, starting with UV light and to much longer wave-lengths on the other edge, starting with infrareds.

Now, having separated the different components of white light, what about the energy associated to the photons corresponding to each color ?

There is an inverse-proportional relationship between the photon's energy and the wave-lengths: shorter wave-lengths correspond to higher energies of the photons (see scheme below).

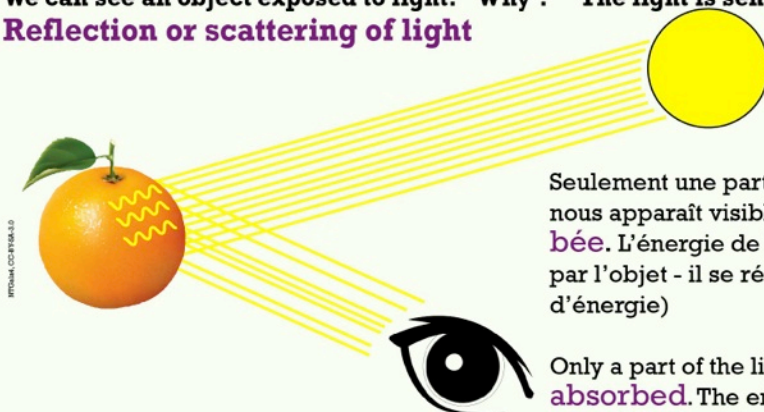
Therefore, UV light (200-380 nm) is so rich in energy that we need to protect our skin and eyes from being damaged whereas infrared radiations (700 nm-800  $\mu\text{m}$ ) are a soft energy, used as a therapeutics (heat) to relax muscles and calm pain.



## Quand la lumière rencontre la matière .... When light encounters matter ....

Nous voyons un objet quand il est éclairé par la lumière. Pourquoi ? Les rayons de lumière détectés par nos YEUX sont renvoyés par l'objet **Réflexion ou diffusion de la lumière**

We can see an object exposed to light. Why ? The light is sent back to our EYES by the object **Reflection or scattering of light**



Seulement une partie de la lumière est réfléchié et nous apparaît visible, une autre partie est **absorbée**. L'énergie de la lumière absorbée est «avalée» par l'objet - il se réchauffe (la chaleur est une forme d'énergie)

Only a part of the light is reflected, the other part is **absorbed**. The energy of the absorbed light is integrated by the object - it warms up (heat is a form of energy)

Expérience:

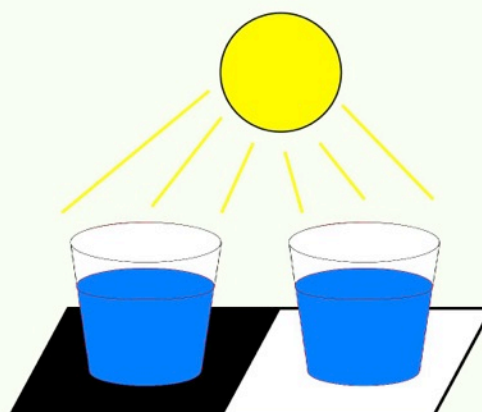
Un verre d'eau posé sur un carton noir chauffe plus vite ou plus lentement s'il est éclairé par le soleil ? Pourquoi ?

En été, vaut-il mieux porter des vêtements noirs ou blancs ?

Experiment:

A glass of water put on a black carton heats quicker or more slowly when lit by the sunlight ? Why ?

During summer, is it better to wear black or white clothes ?



Pourquoi un objet est-il noir ? Est-il blanc ?

Un objet noir ne réfléchit pas de lumière, c'est pour cela qu'il apparaît noir. Le noir = absence de lumière, absence de couleur. Un objet noir absorbe la lumière et ne la restitue pas. Il est sombre.

Un objet blanc réfléchit une très grande partie de la lumière et nous paraît clair - la lumière du soleil est une lumière blanche (même si nous dessinons le soleil en jaune). Donc, un objet blanc réfléchit la lumière et en absorbe peu.

Why an object appears black ? Why white ?

A black object does not reflect any light, this is why it is black. Black = absence of light, of colour. A black object absorbs light and does not reconstitute it. It is dark.

A white object reflects a big part of the light and therefore appears bright - the light of the sun is white (even if we draw the sun in yellow). Thus, a white object reflects light and does not absorb much.



# Couleurs - Colours



La lumière visible correspond au rayonnement électromagnétique avec des longueurs d'onde entre 400 nm (violet) et 700 nm (rouge). Lorsqu'on envoie de la lumière blanche sur un prisme en verre, la raie de lumière est déviée en entrant et en sortant du prisme. L'angle de déviation dépend de la longueur d'onde - le rouge étant moins dévié que le violet. Ainsi on visualise la composition de la lumière.

La lumière blanche contient toutes les couleurs de l'arc en ciel !

Visible light corresponds to electromagnetic waves with wavelengths between 400 nm (violet) and 700 nm (red). When white light is sent across a prism made of glass, the beam is deviated when entering and exiting the prism. The angle of deviation varies with the wavelength - red light is less deviated than violet light. Therefore we can visualize the composition of light.

White light contains all the colours of the rainbow !



## Couleur des objets - Perception des couleurs / An object's color - Color perception

On appelle couleur perçue l'impression visuelle donnée par une lumière. Donc, pour un objet, sa couleur perçue dépend de la lumière qu'il diffuse mais aussi de celle qu'il reçoit.

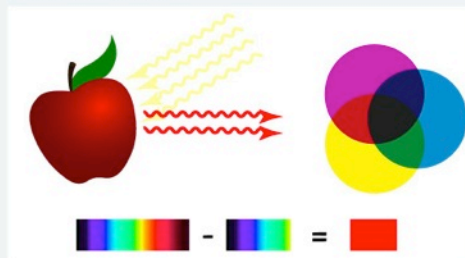
Une pomme rouge éclairée par la lumière blanche est perçue rouge car elle réfléchit uniquement la lumière perçue comme rouge tandis que les autres longueurs d'ondes de la lumière sont absorbées.

Le rouge de la pomme est obtenu par synthèse soustractive, la pomme soustrait une partie du spectre de la lumière blanche :

Perceived color can be defined as the visual impression induced by light. The perceived color of an object depends on the light reflected by that object but also on the light that is shone onto the object.

A red apple illuminated by white light appears red because it only reflects light that we perceive as red. Other components of the visible light are absorbed by the apple.

The apple's red is obtained by subtractive synthesis, the apple subtracts parts of the white light.



lumière blanche - vert/bleu = rouge (couleur perçue)  
white light - green/blue = red (perceived color)

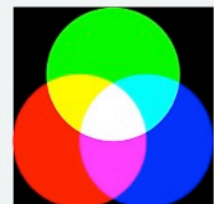
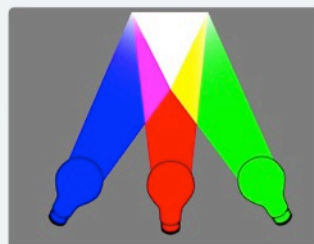
Dans la représentation de la synthèse soustractive des couleurs, le rouge est obtenu par soustraction du cyan de la lumière blanche (le cyan se trouve à l'opposé du rouge). Or, le cyan est obtenu par le mélange des deux couleurs primaires bleu et vert. Une pomme rouge absorbe donc la lumière verte et bleue.

In the representation of subtractive color synthesis, red is obtained by filtering cyan out of white light (cyan is situated on the opposite of red). Cyan is the result of mixing the two primary colors blue and green. A red apple therefore absorbs green and blue light.

## Jouons avec la lumière colorée - Playing with colored light

Pour comprendre le principe de la synthèse additive des couleurs on peut s'imaginer trois projecteurs émettant de la lumière bleue, verte et rouge. Les mélanges de ces trois couleurs primaires permet d'obtenir les couleurs complémentaires (jaune pour le bleu, magenta pour le vert, cyan pour le rouge). L'addition de ces trois couleurs primaires donne la lumière blanche !

To understand the principle of additive color synthesis one can imagine three light sources emitting blue, red and green light. Mixing of these three primary colors gives rise to the complementary colors yellow, magenta and cyan. Addition of all three primary colors yields white light !



bleu + rouge = magenta (couleur perçue)  
blue + red = magenta (perceived color)

# Photo/PhytoChimie - Photo/PhytoChemistry

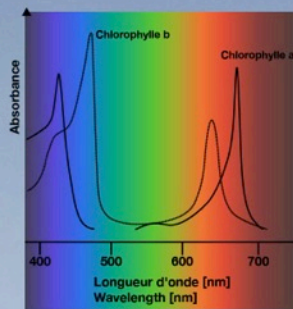
## La photochimie des plantes - Plant photochemistry



©iStockphoto.com/Andreas Bauer, CC BY 4.0

Plants use the energy of the sunlight in order to create biomass. This is called photosynthesis. Chlorophyll is a molecule contained in plants that captures the energy of light. Only light of certain wavelengths is absorbed by the chlorophyll, the remaining components are reflected.

Les plantes utilisent l'énergie de la lumière du soleil pour se «nourrir» et pour produire de la biomasse. C'est la photosynthèse. La chlorophylle est une molécule contenue dans les plantes qui capte l'énergie de la lumière, mais elle n'utilise que certaines longueurs d'onde qui sont absorbées, les autres composantes sont réfléchies.



Le spectre d'absorption indique la quantité de la lumière absorbée en fonction de la longueur d'onde.

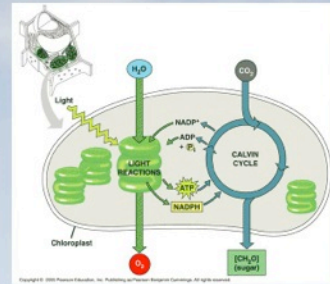
La chlorophylle absorbe dans le bleu-violet et dans le rouge alors que la lumière verte est réfléchiée.

Absorption spectra indicate the quantity of light absorbed as a function of the wavelength. Chlorophyll absorbs blue-violet and red light whereas green light is reflected.

La photosynthèse est le processus par lequel les plantes utilisent l'énergie de la lumière pour produire du sucre. Elle comporte deux phases:

La phase claire: le pigment vert qu'est la chlorophylle capte la lumière et est impliqué dans la conversion de l'énergie de la lumière en énergie chimique. Ceci se produit lors de deux chaînes de transfert d'électrons (Photosystèmes II et I) qui participent à la production de deux substances chimiques: l'ATP, le réservoir d'énergie de la cellule, et le NADPH. L'absorption d'énergie s'accompagne de la dégradation de molécules d'eau et de la libération d'oxygène.

Pendant la phase sombre, l'énergie absorbée par la chlorophylle est utilisée pour la transformation de molécules de gaz carbonique en molécules de sucres. Ces sucres sont par la suite transformés lors des diverses réactions métaboliques dans toutes les molécules organiques requises par la plante (lipides, ADN, composés des parois cellulaires ...)

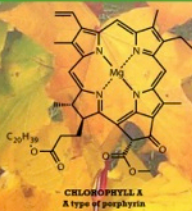


Photosynthesis is the process by which plants use the energy from sunlight to produce sugar. It can be divided in two parts:

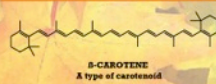
The light reaction: the green pigment chlorophyll captures light and is involved in the conversion of light energy to chemical energy. This is done by means of two chains of electron transfer reactions (Photosystem II and I) that lead to production of two chemicals: ATP, the fuel molecule of the cell, and NADPH. During the electron transfer reactions, water is split and oxygen is released as a waste product. The dark reaction then converts CO<sub>2</sub> to sugar while using the ATP and NADPH molecules formed during the light reaction. Sugar is used by the plants in diverse metabolic reactions to produce all other necessary organic molecules (lipids, DNA, cell wall components ...)

## La chimie des feuilles d'automne - Chemistry of autumn leaves

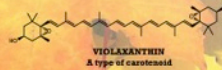
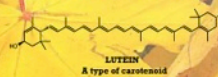
### CHLOROPHYLL



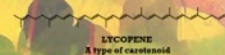
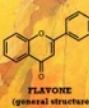
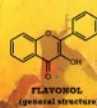
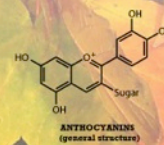
### CAROTENOIDS



### CAROTENOIDS & FLAVONOIDS



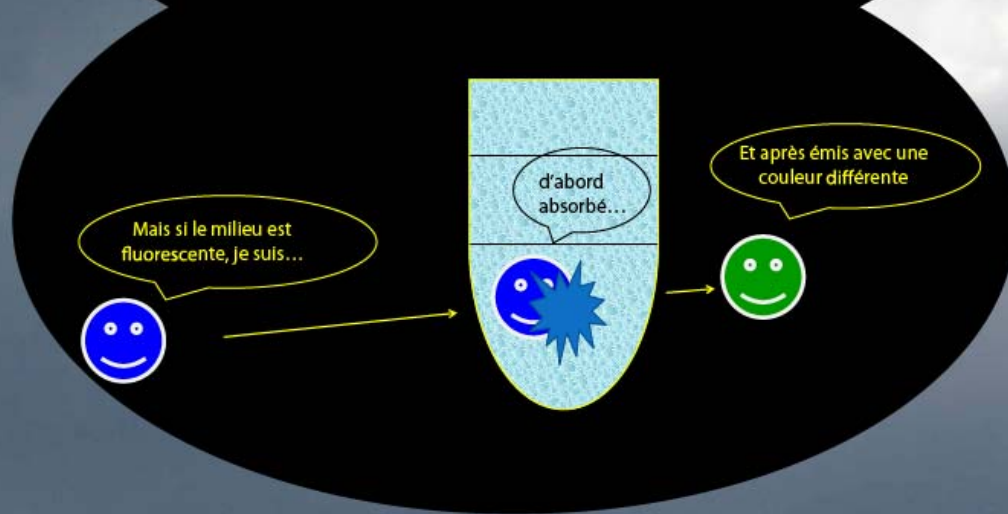
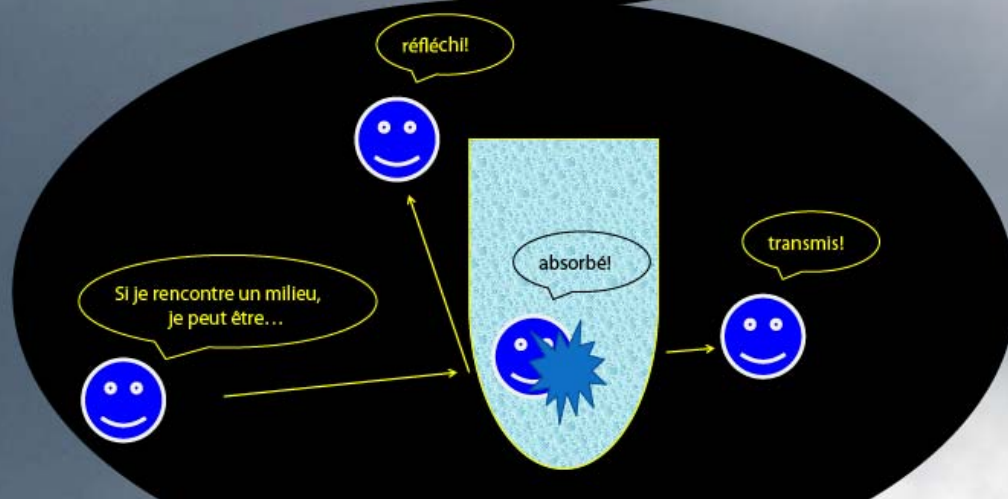
### ANTHOCYANINS & CAROTENOIDS



À l'automne, la chlorophylle est dégradée et ne restent dans les feuilles que d'autres pigments qui sont responsables des couleurs d'automne.

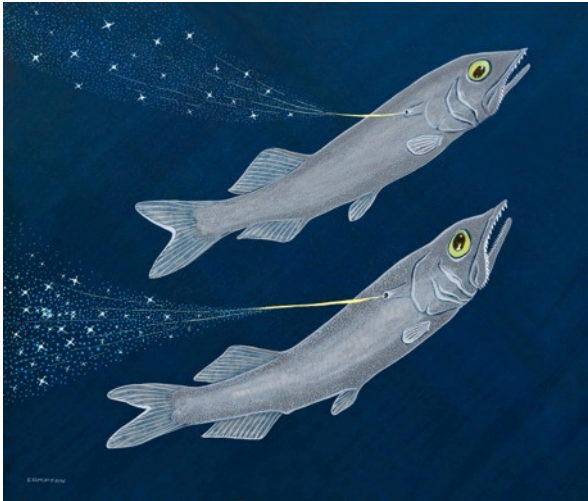
In autumn, chlorophyll is degraded but in the leaves persist other pigments that are responsible for the well-known autumn colors.

# Lumière, Matière et Fluorescence



# La salle fluorescence à l'interface entre art et science

Photos de l'exposition



## Remerciements

### **Cette exposition a été préparée en étroite collaboration avec:**

Didier Grunwald, iRTSV, CEA-Grenoble, France

Yasmina Saoudi, Grenoble Institute of Neurosciences, France

Guillaume Holzer, Coral Guardian, Limours, France

Régina Trindade, Création Artistique, Grenoble, France

Dominique Marion, IBS, Grenoble, France

Virgile Adam, IBS, Grenoble, France

### **Remerciements à tous ceux qui ont partagé leurs images, oeuvres et connaissances:**

Helena Amalric, design mobilier - bio design, Lalley, France

Tamily Weissman, Lewis & Clark College, Portland (OR), USA

Daniel Stoupin, BioQuest Studios, Queensland, Australie

David McKee, Texas A&M University, Corpus Christie (TX), USA

Larry Hide, Texas A&M University, Corpus Christie (TX), USA

Horst Grunz, Universität Duisburg-Essen, Duisburg, Allemagne

Sönke Johnson, Duke University, Durham (NC), USA

Ilya Yampolsky, Institute of Bioorganic Chemistry, Moscou, Russie

Serimedis Banque d'Images, INSERM, Pôle Audiovisuel, Paris, France

### **Merci aux partenaires pour leur soutien scientifique et financier:**

Office Thermal et Touristique d'Uriage

Commune de St Martin d'Uriage

Institut de Biologie Structurale

Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS)

Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM)

Commissariat à l'Energie atomique et aux Energies Alternatives (CEA)

Coral Guardian

Région Rhône-Alpes

Grenoble Alpes Métropole

La Casemate - CCSTI, Grenoble

### **Communication et Impression**

Eric Chartier - Cervõcom, Grenoble, Nîmes, Charolles, France

Eric Prioul, Flash Marquage, Montbonnot, France



## Liste des œuvres exposées

### **Photos d'organismes bioluminescents** (contrecollées sur PVC expansé de 3 mm):

1 x 60x40 (largeur x hauteur)

4 x 45x30

2 x 30x45

### **Photos de coraux fluorescents** (contrecollées sur PVC, châssis en bois pour suspension)

7 x 60x40

1 x 70x40

2 x 50x70

9 x 53x40

### **Photos de microscopie à fluorescence** (contrecollées sur PVC, châssis en bois pour suspension)

10 x 60x60

### **Photos de microscopie à fluorescence** (contrecollées sur PVC expansé de 3 mm)

3 x 50x50

1 x 50x70

1 x 70x38

### **Photos de microscopie "art & science"** (contrecollées sur PVC expansé de 3 mm)

13 x 50x50

### **Reproductions des œuvres de Henry Compton** (photos encadrées, cadres de bois)

10 x 30x30

6 x 30x40

### **Posters** (fichiers informatiques)

10 x DIN A0

1 x 60x180

6 posters largeur 40 cm, hauteur variable

2 entre A0 et A1

### **Vidéos**

Montage de vidéos de Coral Guardian: 9:21

Montage de vidéos du domaine public: 14:37

### **Diaporama** (montré sur trois écrans 15")

61 photos de Daniel Stoupin

(<http://www.microworldsphotography.com/Galleries/Macro-of-corals/i-FMSHxTk>)

Article paru sur Echosciences Grenoble (<http://www.echosciences-grenoble.fr/articles/vie-en-lumiere-lumiere-sur-la-vie-a-saint-martin-d-uriage>)

Quelques images ...

