

GTBIO2009/107

Études Mécanistiques des Protéines Fluorescentes Photoactivables: Une Approche Combinée par Cristallographie et Spectroscopie

V. Adam^a, M. Lelimosin^b, S. Boehme^c, P. Carpentier^b, G. Desfonds^a, K. Nienhaus^c, M. Field^b, J. Wiedenmann^d, S. McSweeney^a, U. Nienhaus^c and D. Bourgeois^b

^aESRF, 6 rue Jules Horowitz, 38043 Grenoble, France

^bIBS, 41 rue Jules Horowitz, 38027 Grenoble, France

^cUniversity of Ulm, Institute of Biophysics, Albert-Einstein-Allee 11, 89081 Ulm, Germany

^dNational Oceanography Centre, University of Southampton, SO14 3ZH Southampton, UK
virgile.adam@chem.kuleuven.be

Les protéines fluorescentes photoactivables (PAFPs), récemment découvertes chez les anthozoaires, ont initié une révolution dans le domaine de la technologie des protéines fluorescentes. Certaines PAFP sont capables d'être irréversiblement photoconverties d'une forme verte à une forme rouge alors que d'autres peuvent être réversiblement commutées entre des formes allumées ou éteintes, selon des longueurs d'onde spécifiques. Ces protéines sont intensivement employées en imagerie et particulièrement en "nanoscopie", qui permet d'atteindre une résolution optique 10 fois meilleure que la limite théorique d'Abbe et ont aussi un intérêt biotechnologique dans le développement de futures supports de stockage optique de masse.

Afin de développer plus en avant ces techniques, notamment en terme de résolution temporelle, la nécessité d'obtenir des sondes fluorescentes plus lumineuses pouvant se photoconvertir ou se photocommuter efficacement est cruciale. Afin de mieux comprendre les mécanismes des phototransformations des PAFP, trois membres de la famille ont été étudiés : EosFP, Dendra2 et IrisFP. Les phénomènes de photoconversion du vert au rouge et de photocommutation réversible ont été étudiés grâce à une combinaison de cristallographie des rayons X et de microspectrophotométries UV/visible et Raman dans les cristaux. Les résultats nous ont permis de proposer des mécanisme réactionnels pour EosFP [1] et Dendra2 [2] et de découvrir et caractériser IrisFP, première PAFP combinant à la fois les propriétés de photoconversion et de photocommutation [3]. Les modifications structurales du chromophore associées à la formation d'un état radicalaire induit par les rayons X, probablement impliqué dans la voie de photoblanchiment des PAFP, ont aussi été caractérisées [4].

Ces travaux démontrent l'importance de la combinaison de techniques afin de mieux percer les détails mécanistiques du fonctionnement des biomolécules. Nous espérons obtenir, grâce aux connaissances acquises durant ces travaux, des variants plus performants et créer de nouvelles PAFP combinant les multiples phototransformations découvertes chez IrisFP.

Références 1. Lelimosin, M. et al. *Journal of American Chemical Society*, 2009. DOI: 10.1021/ja905380y. 2. Adam, V. et al. *Biochemistry*, 2009. 48(22): p. 4905-4915. 3. Adam, V. et al. *Proceedings of National Academy of Science USA*, 2008. 105(47): p. 18343-8. 4. Adam, V. et al. *Journal of American Chemical Society*, 2009. In press.

Number of words in abstract: 346

Keywords: Fluorescent proteins - Phototransformations - Cristallographie - Microspectrophotométrie

Technical area: Molecular mechanisms

Special session: Not specified

Presentation: Oral presentation preferred (Invited paper)

Special equipment: Video-projector (beamer)