

Soutenance

Soutenance de thèse

Jeudi 27 Sept. 2012

Institut de Biologie Structurale J.P. Ebel

41, rue Jules Horowitz

F-38027 GRENOBLE Cedex 1

Tél. +33 (0)4 38 78 95 50 - Fax +33 (0)4 38 78 54 94

www.ibs.fr

A 14h - Salle des séminaires de l'IBS

Par Aline Faro

Institut de Biologie Structurale J.P.Ebel

Groupe Dynamique et Cinétique des processus moléculaires

Mécanismes de photo-commutation réversible des protéines fluorescentes

Thèse de Doctorat de l'Université Joseph Fourier

La propriété d'être réversiblement commutable de certaines protéines fluorescentes homologues à la GFP ouvre un vaste champ d'applications possibles : notamment le bio-stockage de données à haute densité et la microscopie à super résolution. Parmi ces protéines, on trouve plusieurs variants de la GFP, notamment la protéine jaune YFP, et des protéines fluorescentes issues d'espèces marines Anthozoaires, comme Dronpa ou Padron. Plusieurs études structurales indiquent que ces protéines fluorescentes photochromiques commutent par isomérisation et protonation couplées du chromophore. Cependant, la synchronisation entre ces deux événements, le détail des mécanismes de photo-commutation, et le rôle de la dynamique conformationnelle restent incomplètement compris. Par l'utilisation combinée de la cristallographie cinétique et de la spectroscopie optique *in crystallo* à basse température, nous avons comparé le comportement des protéines YFP, Dronpa et Iris, et nous avons étudié en détail le mécanisme photo-physique de commutation chez la protéine Padron. Contrairement à Dronpa et IrisFP, la photo-commutation de YFP est plus efficace à basse température qu'à température ambiante. Nos résultats suggèrent que le mécanisme de commutation de YFP n'implique pas de changement conformationnel majeur, mais plutôt une protonation photo-induite du chromophore ne nécessitant pas d'isomérisation. Au contraire, les études réalisées sur la protéine Padron nous ont permis de montrer que, dans ce cas, l'isomérisation du chromophore peut se produire indépendamment de sa protonation, et, étonnamment, à température cryogénique. De plus, deux états intermédiaires ont pu être caractérisés au cours du processus de photo-commutation. La protéine Padron a permis de mettre à jour le premier marqueur codable génétiquement qui soit efficacement photo-commutable à température cryogénique.