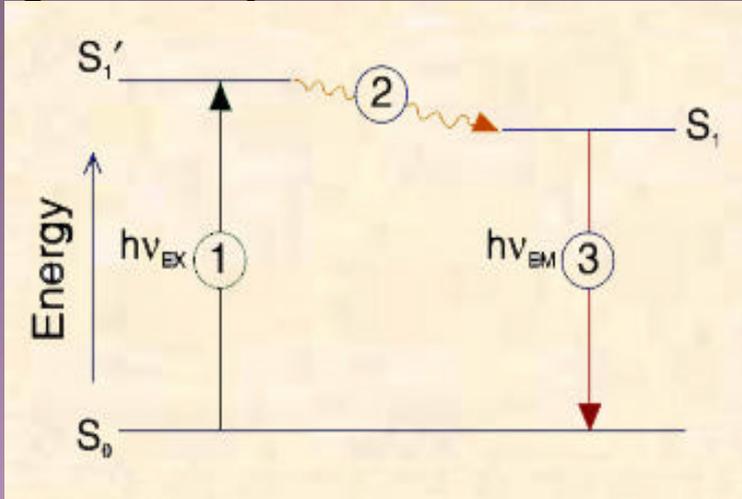


La fluorescence et ses applications.

Qu'est-ce que la fluorescence?



La fluorescence est une propriété de certaines molécules, capables d'absorber une radiation de longueur d'onde donnée et de ré-émettre, après un bref intervalle de temps, une radiation de longueur d'onde plus élevée.

Etape 1: absorption de l'énergie lumineuse par les atomes de la molécule. On a alors passage de l'état fondamental à l'état excité.

Etape 2: l'état excité (de courte période) est suivi de la relaxation au cours de laquelle une partie de l'énergie est dissipée sous forme de chaleur et de transfert d'énergie entre molécules.

Etape 3: retour à l'état fondamental par émission lumineuse de longueur d'onde plus élevée (moins énergétique) que la longueur d'onde d'excitation.

La protéine GFP.



Fig.1. Aequora victoria.

La GFP (pour Green Fluorescent Protein) est une protéine auto fluorescente isolée chez une méduse du nom de *Aequora victoria*.

Le gène codant pour la GFP peut être isolé et introduit dans le génome de la cellule étudié.

Il est alors possible de détecter la fluorescence émise par la GFP à l'aide d'un microscope à fluorescence.



Fig.2. Structure de la GFP.

La microscopie à fluorescence

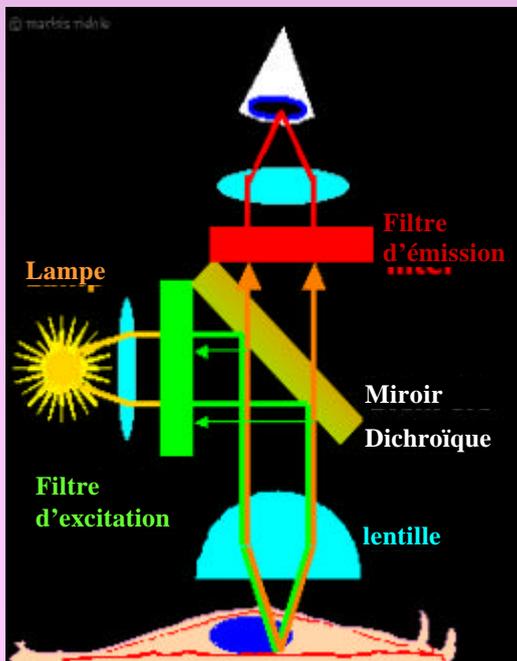


Fig.4. Schéma d'un microscope à fluorescence.

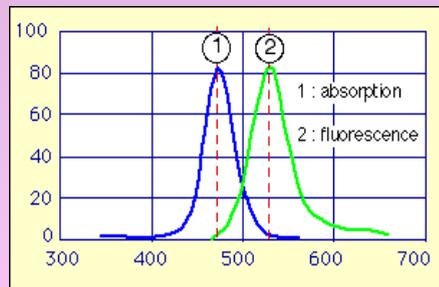


Fig.3. Spectre d'absorption et de fluorescence de la GFP.

Principe :

De la lumière est émise par une source de forte intensité sur un large spectre de longueurs d'ondes (lampe à vapeur de mercure).

Celle-ci est alors filtrée (filtre d'excitation) pour en isoler la longueur d'onde qui va exciter de manière spécifique la préparation.

Suite à l'excitation, on a émission d'un rayonnement de la part de l'échantillon sous forme de fluorescence. Ce rayonnement est alors filtré (filtre d'émission) en vue de l'élimination des longueurs d'ondes non utilisables (ondes qui pourraient masquer le signal à observer).