

Francisco Ferrer

Catégorie paramédicale
Biologie médicale A. Couvreur

Printemps des sciences 2009

- Evolution(s) - Révolution(s) -



Rue Terre-Neuve, 116 – 1000 Bruxelles
Tel. : 02 545 03.00 Fax. : 02 545 03 08
heff.paramedicale@brunette.brucity.be

Composition et réalisation

Les étudiants de 1^{ère} biologie médicale

encadrés par les tuteurs :

Nathalie Defacqz,
Anne De Groote,
Brigitte Dutrieue,
Christophe Panier.

Remerciements

Les tuteurs tiennent à remercier particulièrement Marc Leplat pour son aide précieuse à la conception et à la réalisation des expériences et Michel Raguet pour sa relecture attentive.

Ils tiennent également à mettre en évidence l'implication particulière des étudiants suivants :
Kevin Frogneux, Aurélie Gybels, Sébastien Vanderseypen.

Biologie médicale A. Couvreur
Catégorie paramédicale
Haute Ecole Francisco Ferrer

Introduction

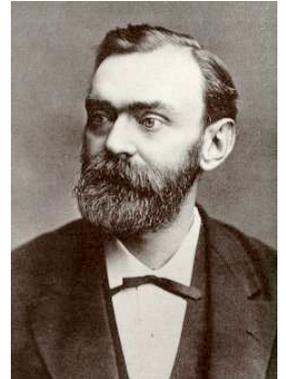
Dernière Révolution biochimique reconnue (Prix Nobel 2008) : la GFP ("Green Fluorescent Protein") illumine les sciences biomédicales. En révélant des mécanismes intracellulaires, cette protéine fluorescente, isolée chez la méduse *Aequorea victoria*, permet l'Evolution de nos connaissances du vivant.

Au travers d'aspects historiques, biologiques, chimiques et physiques, les étudiants de la Section Biologie médicale de la Haute Ecole Francisco Ferrer vous invitent à découvrir les secrets de la bioluminescence!

Le lumineux prix Nobel

Qu'est ce qu'un prix Nobel ?

Le Prix Nobel est une récompense de portée internationale fondée en 1901. À sa mort, Alfred Nobel (l'inventeur de la dynamite) laisse un héritage de 32 millions de couronnes afin de créer une institution qui se chargera de récompenser, chaque année, des personnes ayant apporté le plus grand bénéfice à l'humanité. Leurs inventions, découvertes et améliorations concernent différents domaines répondant aux derniers vœux d'Alfred Nobel : la paix ou la diplomatie, la littérature, la chimie, la physiologie ou la médecine et la physique.



Alfred Nobel

Le testament précise que la nationalité des savants primés ne doit jouer aucun rôle dans l'attribution du prix et que celui-ci ne peut pas être remis à titre posthume : il est obligatoirement attribué à des personnalités de leur vivant.

Les prix sont actuellement décernés au courant du mois d'octobre de chaque année. La cérémonie de remise des prix a lieu le 10 décembre, jour anniversaire de la mort d'Alfred Nobel (décédé le 10 décembre 1896).

C'est en 1901 qu'a lieu la première cérémonie de récompense dans l'ancienne académie royale de musique de Stockholm. À partir de 1902, les prix sont remis par le roi de Suède le 10 décembre de chaque année, à l'exception du prix Nobel de la Paix qui est remis par le roi de Norvège.

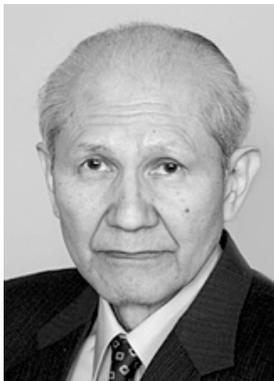
Les lauréats de chaque prix Nobel se partagent un montant de 10 millions de couronnes suédoises (soit plus d'un million d'euros), dont ils disposent librement, mais qui leur permet surtout de continuer leurs recherches ou travaux sans subir de pressions financières.

Depuis 1968, il a été décidé de ne plus ajouter de nouvelle catégorie de prix.

O. Shimomura, M. Chalfie et R. Y. Tsien. Qui sont-ils ?

Les trois lauréats du prix Nobel de chimie 2008 ont travaillé durant de nombreuses années sur les protéines fluorescentes, chacun apportant un complément à cette découverte.

Osamu Shimomura est né à Kyoto en 1928. En 1960, il obtient son doctorat à l'Université de Nagoya (au Japon). Il est chimiste, biologiste et actuellement Professeur émérite au Laboratoire de biologie marine de Woods Hole et à

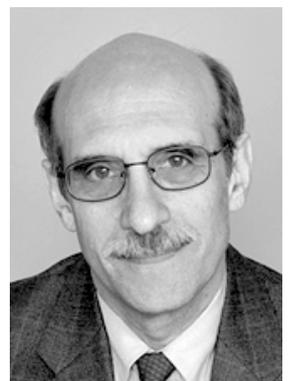


Osamu Shimomura

l'Université de Boston. C'est à l'Université de Nagoya qu'il réussit pour la première fois à isoler, avec le Professeur Yashimasa Hirata, une protéine (*Cypridina*) responsable de la brillance chez un mollusque. Suite à cette première découverte, il se fait recruter par Franck Johnson de l'Université de Princeton dans le New Jersey, avec qui il commence à

travailler sur la méduse *Aequorea victoria*. Il est célèbre pour sa découverte de la GFP (*Green Fluorescent Protein*), protéine responsable de la bioluminescence de la méduse. Il ouvre ainsi la voie à une révolution technique dans le domaine des sciences biologiques.

Martin Chalfie est né à Chicago en 1947. Il obtient son doctorat en neurobiologie à l'Université d'Harvard en 1977. Il est actuellement biologiste à l'Université Columbia de New York. Il est célèbre pour ses travaux sur le système nerveux de *Caenorhabditis elegans*, un nématode transparent composé d'exactly 959 cellules, auquel il fait exprimer la GFP, fusionnée à diverses protéines, afin de pouvoir mieux observer leur localisation.



Martin Chalfie

D'origine chinoise, Roger Tsien est né en 1952 à New York. Il obtient son doctorat en physiologie à l'Université de Cambridge en 1977. Il a commencé sa carrière en développant toute une série de sondes capables de mesurer la variation de



Roger Tsien

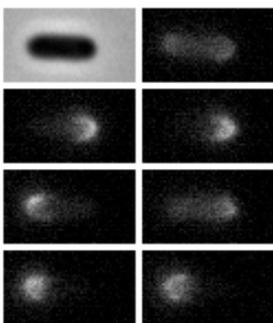
concentration des ions intracellulaires, ce qui lui vaut d'obtenir le prix Wolf en 2004. Chercheur à l'Université de Cambridge jusqu'en 1981, il est actuellement Professeur en chimie et biochimie à l'Université de Californie, à San Diego. Il commence à s'intéresser à la GFP dans les années 90.

Le prix Nobel de chimie 2008

Osamu Shimomura est à l'origine des travaux de recherche, récompensés par le prix Nobel 2008. C'est en effet le premier à avoir isolé, en 1962, d'abord l'aequorine puis la GFP à partir de plus de 10000 méduses *Aequorea victoria* récoltées sur les plages de la côte Ouest des USA. Osamu Shimomura étudie cette protéine avec Franck Johnson, Professeur à l'Université de Princeton, et découvre qu'elle fluoresce dans la lumière verte lorsqu'elle est soumise à une lumière bleue produite par l'aequorine.



Par la suite, au cours d'un séminaire en 1988, **Martin Chalfie** entend parler des travaux de Osamu Shimomura et commence également à s'intéresser à la GFP.



En 1990, il parvient à la faire produire par *Escherichia coli*, qui devient alors luminescente (cf. photo de gauche). Ensuite, il fusionne la GFP avec diverses protéines de *Caenorhabditis elegans* afin de pouvoir facilement observer leur localisation, mieux comprendre leur fonction ou encore suivre leur trajectoire dans l'organisme. La GFP se révèle être un bon

marqueur. En effet, elle ne modifie ni la forme ni la fonction de la protéine et permet de suivre dans l'espace et en temps réel des processus dynamiques *in vivo*.

Enfin, **Roger Y. Tsien** développe des « GFP-like », protéines analogues de la GFP, émettant à différentes longueurs d'onde (RFP : Red fluorescent Protein ; YFP : Yellow fluorescent Protein ; ...). Cette gamme de couleurs permet aux

biologistes d'observer plusieurs protéines en même temps, tout en les distinguant. Ses travaux facilitent l'étude des interactions entre les protéines. La photo de droite illustre les différentes couleurs des « GFP-like ».



Présentation de la GFP

La GFP est la molécule responsable de la fluorescence de la méduse *Aequorea victoria*. Elle constitue une découverte révolutionnaire par les nouveaux champs d'application qu'elle offre et qui permettront de faire évoluer l'observation des organismes vivants.



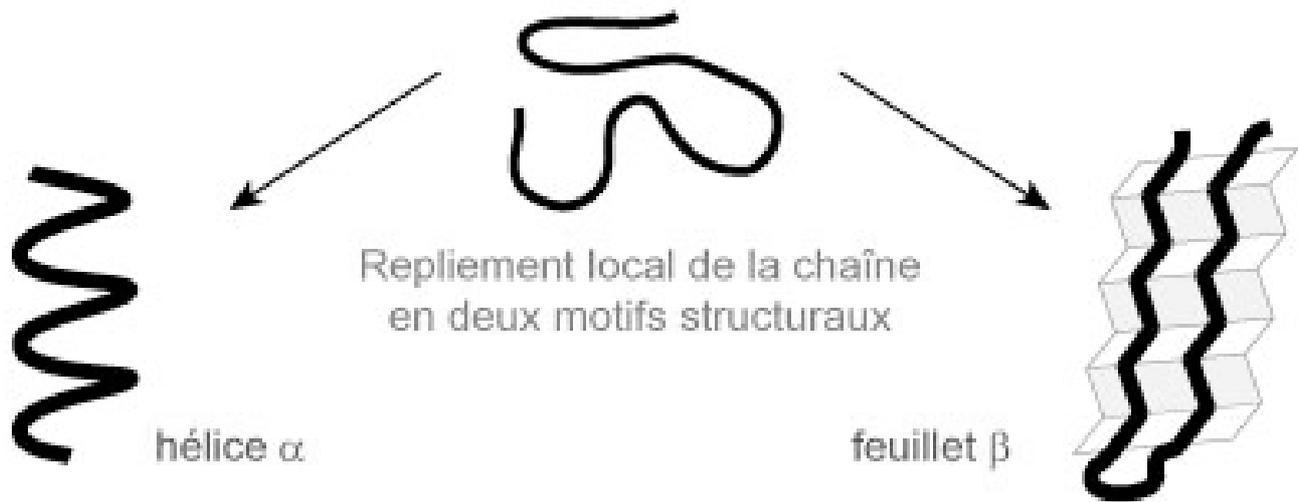
Conformation spatiale en tonneau de la GFP

La GFP présente une structure particulière en tonneau, découverte en 1996. Imaginons un enchaînement de perles, qu'on appelle « acides aminés », constituant un collier (structure primaire de la protéine). Tous ces acides aminés s'attirent entre eux comme des aimants, formant ainsi des interactions faibles appelées « liaisons hydrogène ». On entre alors dans la deuxième phase (structure secondaire) durant laquelle les acides aminés commencent à s'organiser dans l'espace pour constituer les hélices α et les feuillets β .

Dans l'hélice α , les acides aminés s'enroulent en spirale comme le ferait un ressort, tandis que dans les feuillets β , les portions de la séquence s'assemblent les unes à côté des autres, donnant au feuillet une forme d'escalier.

On entre enfin dans la troisième phase de la formation de la protéine (acquisition de la structure tertiaire), c'est-à-dire que les hélices α et les feuillets β s'assemblent pour donner à la protéine sa forme tridimensionnelle. Dans le cas de la GFP, le feuillet se compose de 11 brins antiparallèles et se replie sur lui-même en une forme que les scientifiques ont baptisé « tonneau ».

Chaîne d'acides aminés d'une protéine



Cette forme en tonneau a un rôle particulier : elle protège une hélice α centrale, qui renferme la source lumineuse dont l'élément responsable est un chromophore. Ce dernier est composé d'une séquence de 3 acides aminés (sérine-tyrosine-glycine). Une fois sa forme spatiale acquise, la protéine est capable d'absorber de la lumière (lumière bleue et ultra-violette) puis, suite à la déstabilisation causée par l'énergie absorbée, d'émettre un photon de couleur verte en cherchant à revenir à son état initial plus stable.

Quand le vivant brille !

La luminescence dans la nature

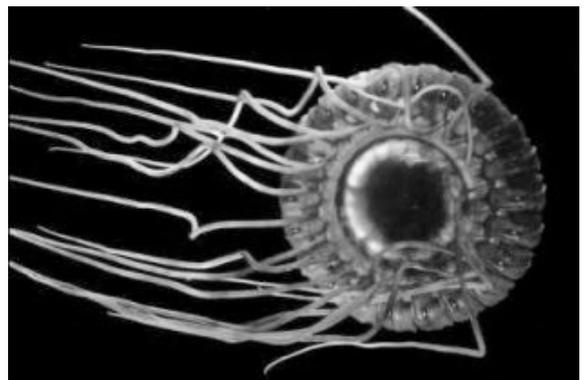
La bioluminescence, ou émission de lumière visible par un organisme vivant, est relativement répandue dans le monde animal, essentiellement en milieu aquatique profond. Si de nombreuses espèces d'invertébrés, certains insectes comme les lucioles, quelques scorpions ou encore des mollusques et des céphalopodes, possèdent des organes luminescents, chez les vertébrés, seuls certains poissons, essentiellement abyssaux, présentent cette caractéristique. Dans le reste du monde vivant, quelques algues ou champignons ainsi que diverses bactéries sont également capables de produire naturellement de la lumière.

La bioluminescence, par son activité attractive, ou au contraire répulsive, joue un grand rôle dans les interactions entre espèces ou au sein d'une même espèce.

La bioluminescence s'invite à table

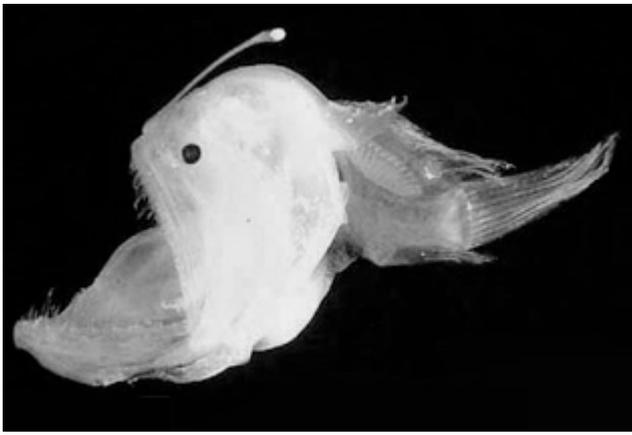
Proies et prédateurs ont établi de nombreuses stratégies basées sur la production de lumière.

Ainsi par exemple, en émettant un éclair lumineux aussi bref qu'inattendu, *Aequorea victoria* tente d'effrayer d'éventuels prédateurs. Une autre méduse, *Atolla*, illumine brièvement ses photocytes (cellules épithéliales produisant de la lumière) tout en effectuant un mouvement rapide de rotation

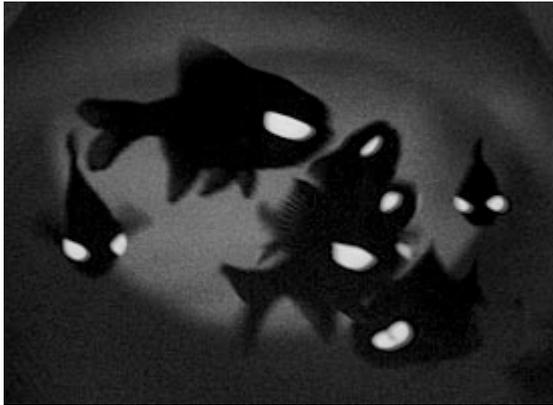


Méduse Atolla

sur elle-même, émettant ainsi un disque lumineux tournoyant qui a pour but d'éveiller l'attention d'un autre prédateur sur son éventuel attaquant. Ce même mécanisme peut, a contrario, lui permettre d'attirer ses propres proies. Certains calamars et crevettes des grands fonds projettent des nuages de substances bioluminescentes afin de dérouter les prédateurs et repousser leurs attaques.



Poisson lanterne (Melanocetus)



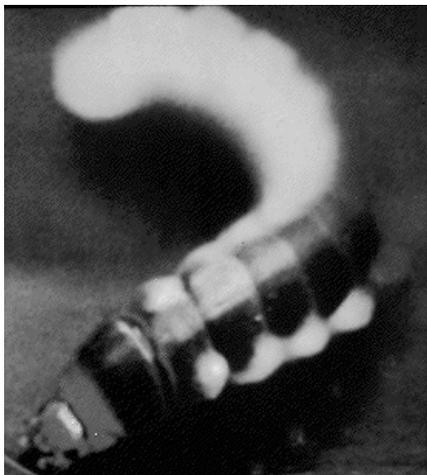
Poisson-phare (Photoblépharon)

Le poisson-lanterne ou *Melanocetus*, quant à lui, possède sur la tête un appendice lumineux nommé lumignon, qu'il agite frénétiquement afin de diriger ses proies vers sa bouche béante.

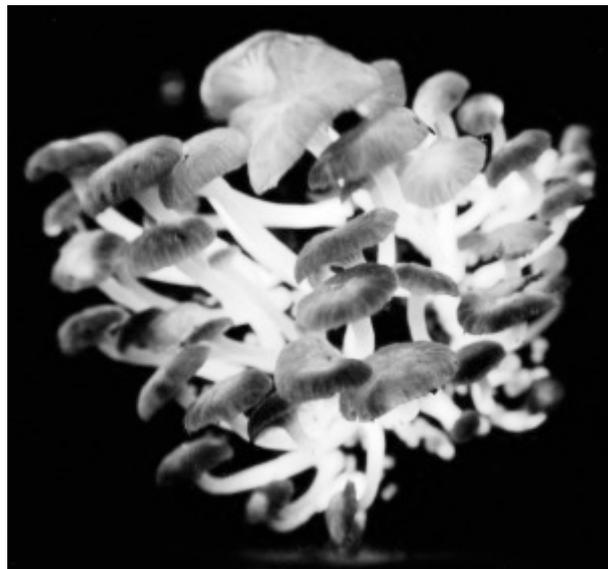
Le poisson-phare ou *Photoblépharon* possède deux énormes organes lumineux sous les orbites oculaires, qui lui permettent d'éclairer son champ de vision et ainsi repérer plus facilement le plancton dont il se nourrit. Par ailleurs, en cas de fuite, ses organes lumineux peuvent être rythmiquement découverts puis occultés par une paupière noire.

Ainsi étant, le poisson-phare, qui par

ailleurs change régulièrement de direction, perturbe son prédateur qui se trouve incapable de le localiser correctement. Diverses espèces émettent une lumière intense et très colorée afin de signifier à d'éventuels prédateurs qu'ils ne sont pas comestibles. Parmi elles, le « ver chemin de fer » qui présente trois rangées de photophores jaunes sur le corps et une large tache rouge au niveau de la tête, ou encore le champignon *Mycena lucentipes* qui produit une lumière verte.



Ver « chemin de fer »



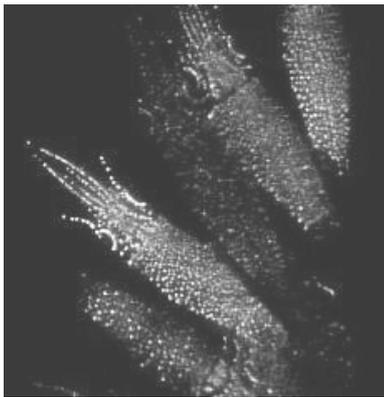
Mycena lucentipes

La bioluminescence comme mode de communication

Certaines espèces produisent de la lumière uniquement lors de la parade d'accouplement, afin d'attirer un partenaire sexuel. Chez les lucioles par exemple, la couleur, l'intensité et la fréquence des signaux lumineux émis par un individu sont propres à son espèce et lui permettent d'écarter les rencontres infructueuses avec des lucioles d'autres espèces. Chez certains poissons comme le *Diaphus*, la position des



luciole



Encornets scintillants

photophores sur le corps diffère chez le mâle et la femelle, (on parle alors de dimorphisme sexuel). Les encornets scintillants possèdent sur toute la surface du corps et des tentacules des photophores émettant une lumière bleue susceptibles être « allumés » ensemble ou alternativement avec une infinité de combinaisons possibles associées à des fonctions précises. Certains « motifs » produits semblent, par exemple, jouer un rôle dans les affrontements entre mâles rivaux. Chez certaines bactéries et chez quelques organismes unicellulaires tels que les dinoflagellés, la production de signaux lumineux permet aux individus de se regrouper en colonies (agrégation).

La luminescence au laboratoire

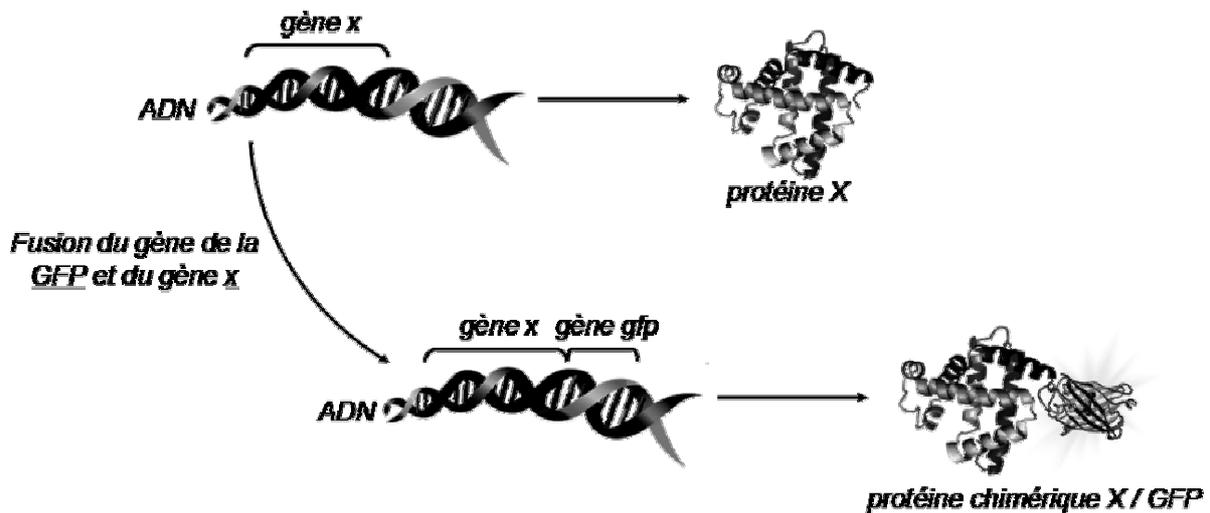
Suite aux découvertes des molécules responsables de la bioluminescence chez les organismes vivants, les biologistes ont développé différentes techniques exploitant cette propriété. Elles ont des applications dans de nombreux domaines tels que le diagnostic médical ou le contrôle de qualité dans l'industrie agro-alimentaire.

Biologie moléculaire : les protéines rapportrices

La technique des protéines rapportrices « lumineuses » représente une véritable avancée technologique dans l'étude des processus moléculaires régissant la cellule. L'utilisation de deux protéines a été particulièrement développée : la GFP et la luciférase de luciole.

Dans la cellule, les gènes codent pour des protéines qui assurent les diverses fonctions nécessaires au métabolisme. L'association artificielle de deux ou plusieurs gènes conduit à la synthèse par la cellule d'une protéine chimérique correspondant à la fusion des différentes protéines déterminées par les gènes concernés. Généralement, une de ces protéines est celle que l'on veut étudier tandis que l'autre, dite rapportrice, lui confère des propriétés qui la rendent facile à détecter.

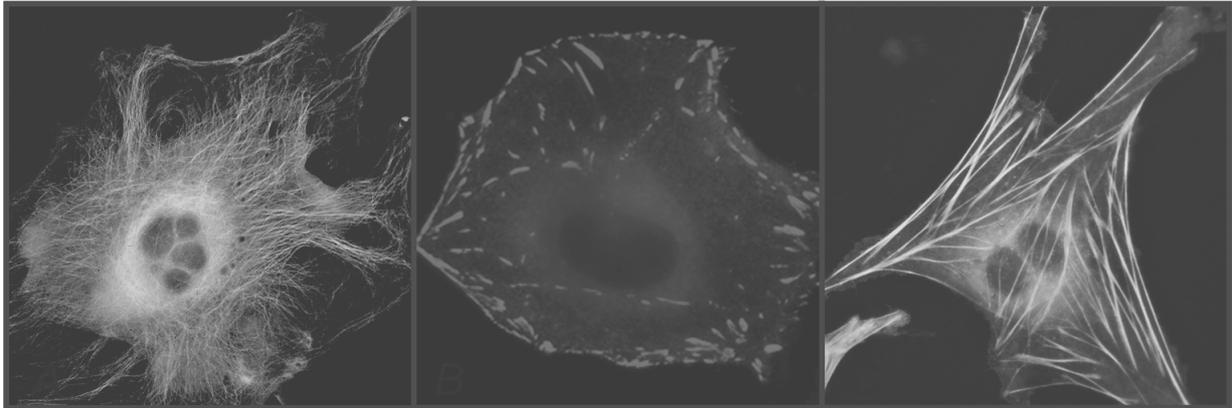
La fusion avec la GFP ne modifie pas la configuration spatiale de la protéine cible qui conserve ses propriétés et son activité mais présente dès lors la particularité d'être fluorescente. On peut donc aisément observer, au microscope à fluorescence, sa localisation dans la cellule ou suivre son déplacement d'un compartiment cellulaire à l'autre.



Principe de production d'une protéine chimérique contenant la GFP.

Les « GFP-like » sont des protéines présentant des propriétés spectrales différentes de la GFP native. Elles résultent de la mutation d'un ou de quelques acides aminés. Certaines mutations, au niveau du chromophore notamment, ont engendré des protéines capables d'émettre dans toute la gamme du visible.

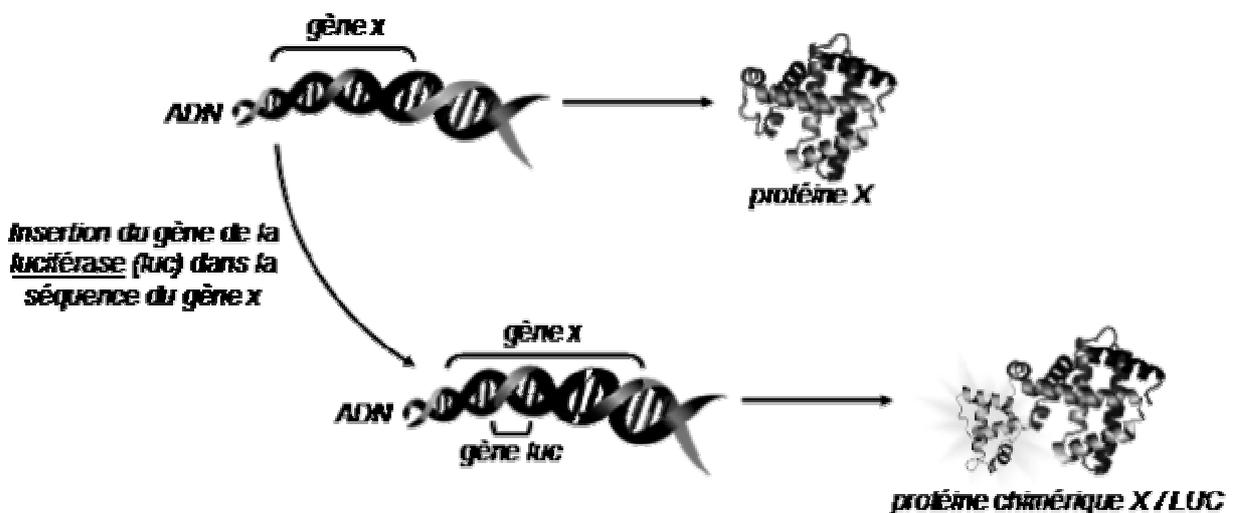
(RFP : *Red Fluorescent Protein* ; YFP : *Yellow Fluorescent Protein* ; ...). La combinaison de différents marquages permet dès lors aux chercheurs de suivre les interactions entre les protéines et d'encore mieux cerner leurs fonctions.



Observation au microscope à fluorescence de divers éléments du cytosquelette de cellules HeLa exprimant des protéines de fusion :

- A) tubuline α / GFP (microtubules)
- B) vinculine / RFP (filaments intermédiaires)
- C) actine β / YFP (microfilaments)

Une autre application de la technique consiste à remplacer dans le génome de la cellule le gène cible par un gène rapporteur (par exemple le gène *luc* codant pour la luciférase de luciole) ou bien d'insérer ce dernier dans la séquence du gène cible. La production de la protéine rapportrice (luciférase) est ainsi placée sous le contrôle du promoteur du gène cible. Le promoteur est une séquence d'ADN située en amont d'un gène et qui contrôle son expression.

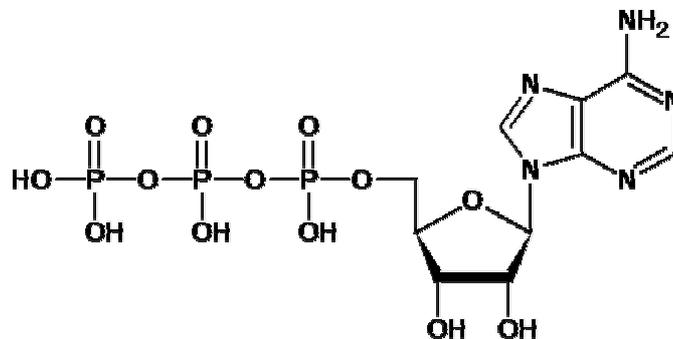


Principe de production d'une protéine chimérique contenant la GFP.

Cette technique permet donc d'étudier la régulation de la synthèse de la protéine cible dans les diverses conditions envisagées. En effet, lorsque les conditions sont favorables à la production de la protéine cible, la cellule va produire de la luciférase qui va catalyser la réaction d'oxydation de la luciférine, à l'origine de luminescence. La mesure de l'intensité de lumière émise (luminométrie) permet d'évaluer le niveau de régulation de la synthèse de la protéine cible.

Biochimie : dosage de l'ATP

L'ATP est une molécule riche en énergie, utilisée par les cellules pour leur métabolisme. L'oxydation de la luciférine par la luciférase, afin de produire de la lumière, consomme de l'ATP. Cette intensité lumineuse est proportionnelle à la quantité d'ATP présente dans le milieu. Il est donc possible de déterminer la quantité d'ATP consommée par une réaction en la couplant avec la réaction d'oxydation de la luciférine et en mesurant au luminomètre la quantité de lumière émise.



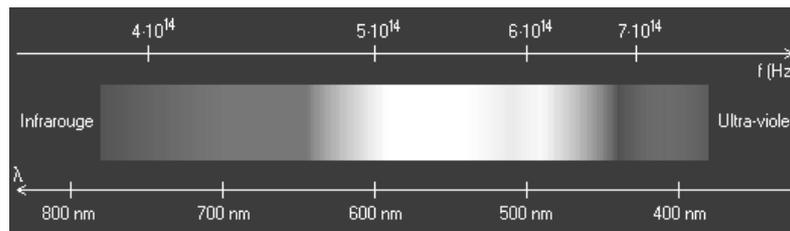
molécule d'ATP

Et la physique dans tout ça ?

Nous allons aborder la luminescence, vue sous son aspect physique, mettant en évidence le phénomène lui-même, ses différentes formes et ses causes.

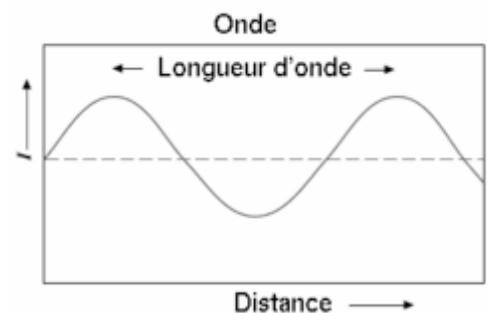
Quelques mots sur la lumière

La lumière peut être vue comme une onde (de type électromagnétique), ou être considérée comme une particule, appelée photon. Pour décrire l'ensemble des ondes électromagnétiques, on a recours à son spectre, qui représente la décomposition du rayonnement électromagnétique selon ses différentes composantes, en termes de fréquence, d'énergie des photons ou encore de longueur d'onde associée. C'est la partie visible de ce spectre qu'on appelle la lumière.



Longueur d'onde, fréquence et énergie

La longueur d'onde d'une onde périodique est la distance entre deux crêtes successives de l'onde, comme illustré sur la figure ci-contre. On la note par la lettre grecque λ (lambda). La fréquence, notée f , est le nombre d'oscillations par seconde de l'onde en un point donné. Elle se mesure en Hertz = s^{-1} (Hz).



La longueur d'onde et la fréquence sont liées à la vitesse de propagation de l'onde, notée c , par l'expression : $c = \lambda \cdot f$. Dans le cas de la lumière, la vitesse de l'onde dans le vide vaut $3 \cdot 10^8$ m/s.

En outre, l'énergie (E) est directement proportionnelle à la fréquence selon la relation $E = h f$, où h est la constante de Planck et vaut $6,63 \cdot 10^{-34}$ Js.

Longueurs d'onde de la lumière visible :

Etant donné les relations entre la fréquence, la longueur d'onde et l'énergie, on peut dire que :

Couleur	λ
Violet	380–450 nm
Bleu	450–495 nm
Vert	495–570 nm
Jaune	570–590 nm
Orange	590–620 nm
Rouge	620–750 nm

- plus la fréquence de la lumière est élevée, plus son énergie est importante et plus la couleur tend vers le violet, de faible longueur d'onde
- plus la fréquence de la lumière est basse, plus son énergie est faible et plus la couleur tend vers le rouge

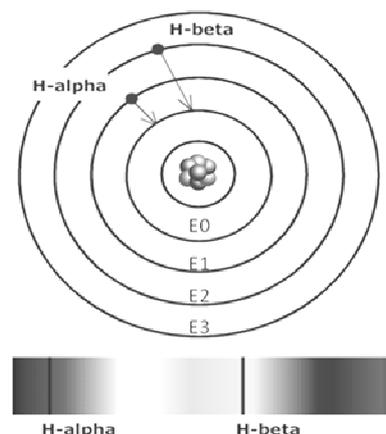
Organisation des électrons dans les atomes : la théorie des orbitales

La théorie des orbitales est une théorie selon laquelle les électrons d'un atome donné sont en « orbite », continuellement en mouvement autour du noyau atomique, sur des couches orbitales, appelées également couches électroniques. Plus l'atome est grand, plus il possède d'électrons et, par conséquent, plus il possède de couches électroniques. En effet, chaque couche peut contenir un nombre maximum d'électrons et correspond à un état d'énergie défini pour ces électrons. Plus un électron a d'énergie et plus il peut être dans une position éloignée du noyau, c'est-à-dire sur une orbitale éloignée. Dans l'état d'énergie minimale de l'atome, les électrons remplissent préférentiellement les couches proches du noyau jusqu'à les saturer (remplissage maximum), la dernière couche étant soit saturée (dans le cas des gaz nobles), soit incomplète (dans le cas des autres atomes). Dans les molécules, les couches électroniques non saturées sont réorganisées en orbitales moléculaires, avec un partage interatomique des électrons dans les orbitales communes. Ces nouvelles orbitales sont également caractérisées par des niveaux bien définis d'énergie.

Si un électron reçoit une certaine quantité d'énergie en surplus (excitation), celle-ci provoque un mouvement, par saut de l'électron, de son orbitale initiale à une orbitale supérieure. L'électron ne va pas rester dans cette situation mais va

retourner vers son état d'énergie minimum, appelé aussi état fondamental. C'est la désexcitation. En se désexcitant, l'électron émet un photon, c'est-à-dire de l'énergie sous forme de lumière, correspondant au surplus d'énergie qu'il avait acquise.

Un électron, qui fait un "saut" plus important d'une orbite atomique à une autre, émet un photon d'autant plus énergétique et donc de fréquence d'autant plus élevée, comme l'illustre l'exemple ci-joint.



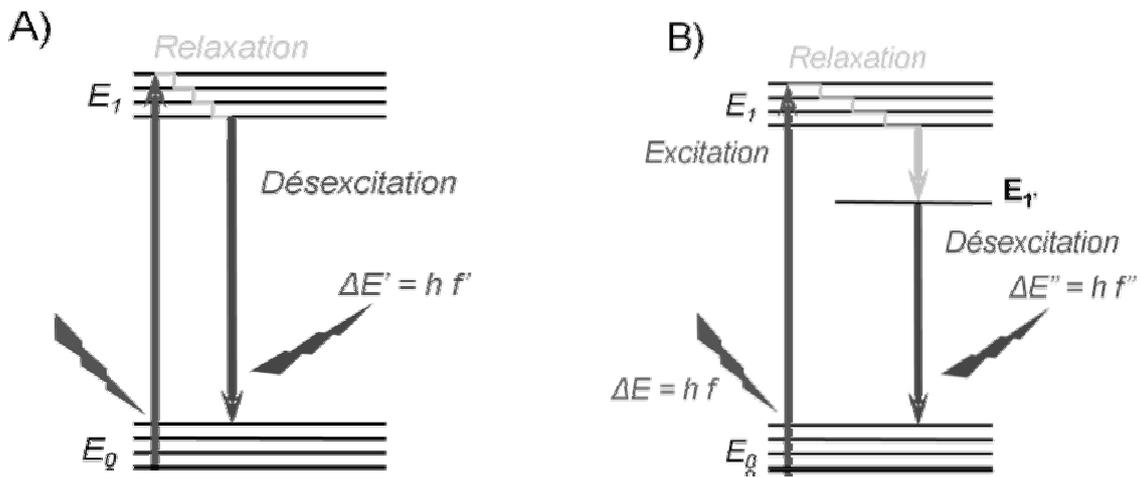
Chaque atome ou molécule ne peut donc émettre qu'une palette précise de couleurs caractéristiques, correspondant aux transitions d'énergie possibles entre les orbitales de cet atome. Tous les sauts d'électrons entre toutes les orbites possibles au sein d'un même atome (ou molécule) se traduisent donc par l'émission (ou l'absorption) d'un spectre de lumière caractéristique : il s'agit là d'une véritable carte d'identité d'un type d'atome (ou d'une molécule) donné(e), une sorte de "code barre". Il est à noter qu'on observe des raies lorsqu'il s'agit d'atomes et des bandes de raies lorsqu'il s'agit de molécules.

La luminescence et ses différents types

La luminescence correspond à l'émission de lumière par un corps non chauffé, soumis à une excitation. Il faut la distinguer de l'émission de lumière due à la température (incandescence), qui correspond à un tout autre mécanisme.

On distingue différents types de luminescence, en fonction de la manière dont les électrons sont amenés vers l'état excité : la photoluminescence, l'électroluminescence, la chimiluminescence ou encore la bioluminescence.

Dans le cas de la photoluminescence, les électrons sont excités par l'absorption de photons. Si l'intervalle de temps qui sépare l'excitation de l'émission est très court (inférieur à 10^{-8} s), le processus est appelé fluorescence (A) ; si cet intervalle est plus long, il s'agit de la phosphorescence (B).



Dans la plus part des cas, la lumière émise (hf') a une énergie inférieure à la lumière excitatrice (hf), une partie de l'énergie ayant été consommée lors du passage vers des sous-niveaux d'énergie inférieure, correspondant par exemple à des mouvements de vibration.

De façon générale, dans la photoluminescence, seule une petite partie des atomes du matériau est excitée lorsqu'il est éclairé sous une fréquence adéquate. Plus la lumière est intense, plus grand est le nombre d'atomes qu'on réussit à exciter et plus l'émission lumineuse est ensuite importante.

Dans le phénomène de l'électroluminescence, les électrons sont excités par le passage d'une décharge électrique dans le matériau ou la présence d'un champ électrique fort. Les lampes à vapeur de sodium qui éclairent nos autoroutes, les ampoules économiques et les tubes "à néon" en sont des illustrations.

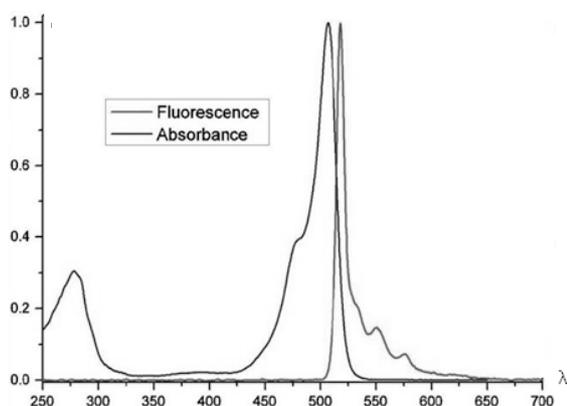
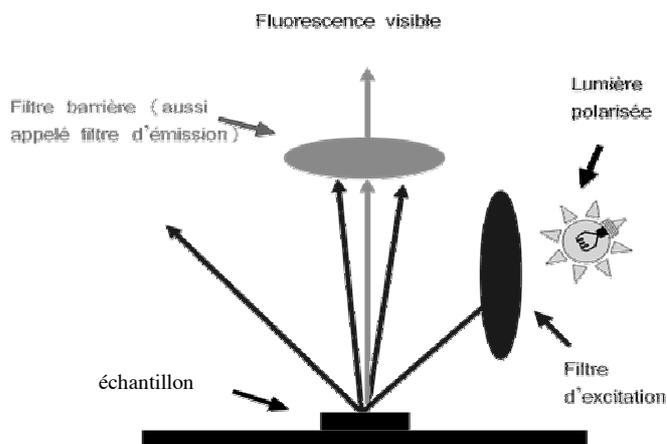
Dans le cas de la chimiluminescence, c'est une réaction chimique qui provoque l'excitation des électrons. Une réaction de ce type est par exemple l'oxydoréduction du luminol (3-aminophthalhydrazide) par l'eau oxygénée ou par un quelconque oxydant.

Dans la bioluminescence, une réaction chimique excitatrice initie la luminescence à l'intérieur des cellules d'un être vivant. Il s'agit donc, en fait, d'un cas particulier de chimiluminescence, qui peut être doublé de photoluminescence, lorsque la lumière émise par la chimiluminescence est utilisée pour exciter d'autres atomes ou molécules appartenant au même être vivant. On la rencontre par exemple

chez certaines espèces animales, principalement invertébrées, comme les lucioles.

La fluorescence moléculaire

La fluorescence, comme cela a été expliqué plus haut, est le processus au cours duquel des atomes ou des molécules sont excités par absorption d'un rayonnement électromagnétique (UV, lumière visible,...) à une certaine longueur d'onde. Après excitation, ces mêmes atomes ou molécules vont revenir à leur état fondamental (désexcitation) en libérant leur excès d'énergie sous forme de photons (à une longueur d'onde généralement différente de celle du rayonnement électromagnétique qui a excité les espèces de départ).



Une molécule fluorescente possède la propriété d'absorber de l'énergie lumineuse (lumière d'excitation) et de la restituer rapidement sous forme de lumière fluorescente (lumière d'émission).

L'émission de la lumière fluorescente lors de la désexcitation se fait sous la forme d'une onde de fréquence moins élevée, c'est-à-dire moins énergétique, correspondant donc à un déplacement du spectre d'émission vers des longueurs d'onde plus élevées par rapport au spectre d'absorbance. Le pourcentage maximum d'absorption / fluorescence qui est le sommet du graphique présenté ci-joint correspond à une longueur d'onde bien précise.

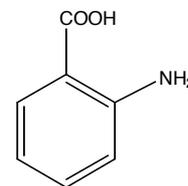
Les chercheurs ont constaté expérimentalement que la fluorescence est particulièrement intense si la molécule est rigide. Une structure rigide correspond

à des cycles aromatiques et à la présence d'insaturation (mouvement d'électrons au sein de la molécule).

Voici quelques exemples de molécules fluorescentes :

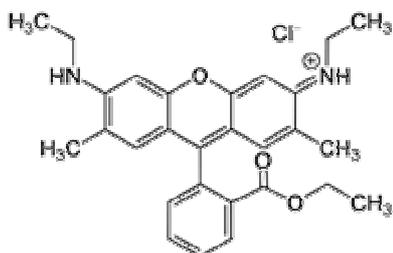
L'acide 2-aminobenzoïque :

Exposé à la lumière du jour, l'acide 2-aminobenzoïque est incolore (tout comme la quinine). Une fois en présence d'ultraviolets, la couleur change et le liquide devient bleu-foncé fluorescent.



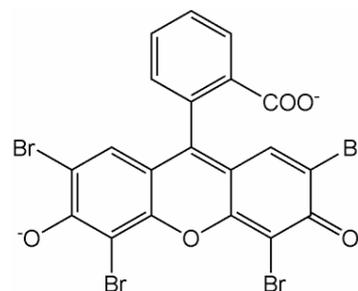
La rhodamine :

Exposée à la lumière du jour, la rhodamine est rose, légèrement fluorescent. En présence d'ultraviolets, le liquide devient orange fluorescent.



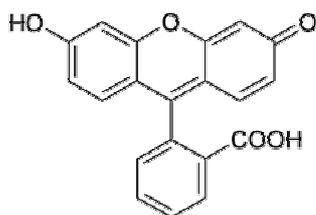
L'éosine jaunâtre :

Exposée à la lumière du jour, l'éosine jaunâtre a une couleur orange. Une fois en présence d'ultraviolets, la couleur change et devient jaune paille fluorescent.



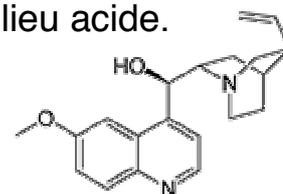
La fluorescéine :

Exposée à la lumière du jour, la fluorescéine a un aspect jaune fluorescent très léger. Une fois exposé aux ultraviolets, le liquide devient jaune fluorescent intense.



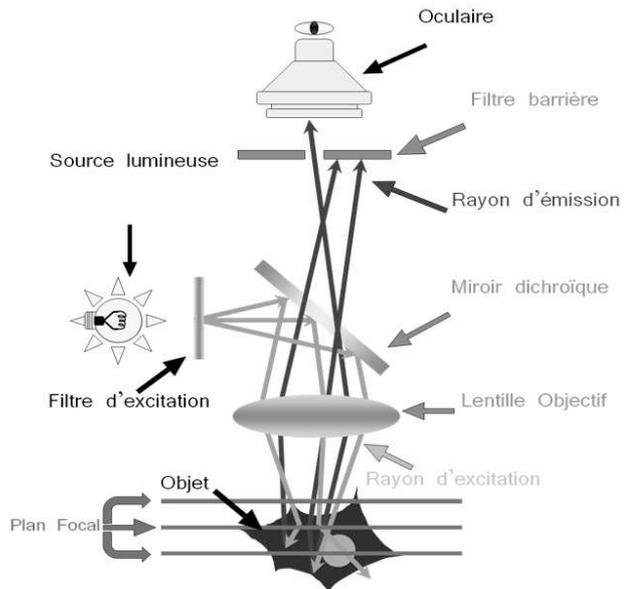
La quinine :

Exposée à la lumière du jour, la quinine a un aspect incolore. Une fois exposée aux ultraviolets, le liquide fluoresce dans le bleu-clair. Pour obtenir cette couleur ainsi qu'une fluorescence, il faut se trouver en milieu acide.



Microscope à fluorescence

Le microscope à fluorescence diffère du microscope optique, par la présence d'une source de lumière plus puissante et de filtres permettant de choisir une gamme de longueurs d'onde spécifiques pour exciter une molécule fluorescente (fluorochrome). La lumière émise en réponse à l'excitation par l'échantillon est filtrée à la longueur d'onde d'émission du fluorochrome, pour ne détecter que ces molécules.



Le microscope à fluorescence permet de localiser plusieurs molécules différentes simultanément et éventuellement de suivre leur parcours. Contrairement au microscope confocal, le microscope à fluorescence détecte les fluorochromes dans toute l'épaisseur de l'échantillon. Il peut être utilisé aussi pour des études de matériaux et de surfaces.

Quelle chimie pour la bioluminescence ?

Introduction :

La bioluminescence, une réaction enzymatique !

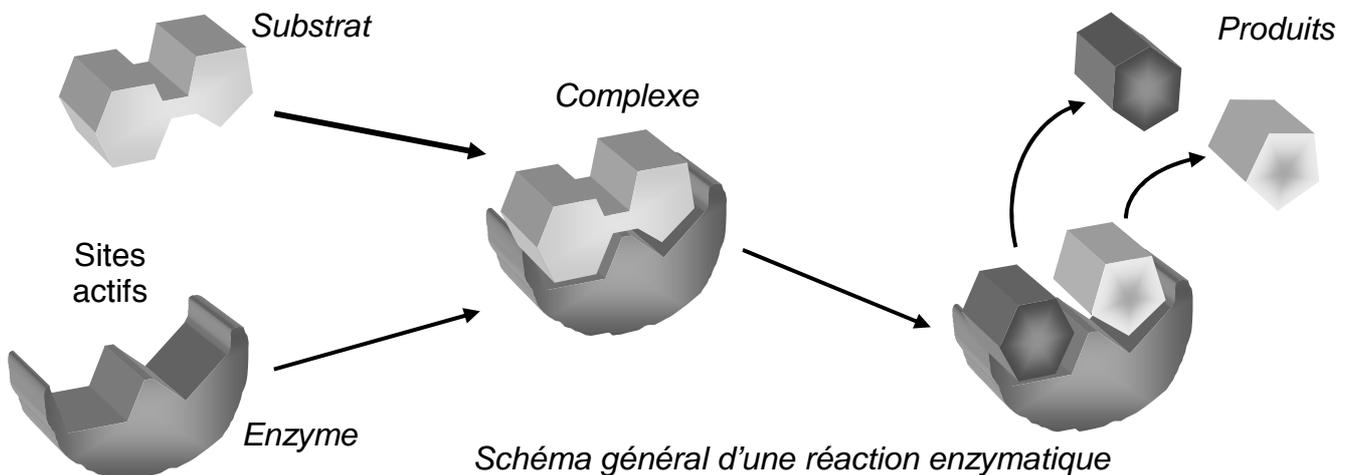
La bioluminescence désigne une émission de lumière chez certains êtres vivants. Ce phénomène ne s'accompagne pas de dégagement de chaleur et est différencié de la phosphorescence ainsi que de la fluorescence par le fait qu'il ne nécessite pas une absorption préalable de lumière par les molécules intervenantes.

La base de la bioluminescence est une réaction enzymatique. Lorsqu'un être vivant veut créer sa propre bioluminescence pour se protéger ou s'accoupler, cette lumière est produite par une réaction chimique dans l'organisme. Cette réaction implique un substrat et une enzyme. Nous spécifierons cela plus loin dans le cas de la méduse et de la luciole.

Au niveau chimique, la « chimiluminescence » n'est autre que le terme employé pour expliquer plus précisément ce qu'il se passe au niveau moléculaire lors des différents stades de la réaction de bioluminescence.

Réaction enzymatique :

Qu'est-ce qu'une réaction enzymatique ? Voici un schéma explicatif :



Les réactions enzymatiques nécessitent une enzyme et un substrat. L'enzyme a pour but d'accélérer la réaction chimique tandis que le substrat fournira un produit et ce, suite à sa fixation sur le site actif (= région qui reconnaît le substrat) de l'enzyme. Dans le cadre de la bioluminescence, le substrat est la luciférine et l'enzyme, la luciférase.

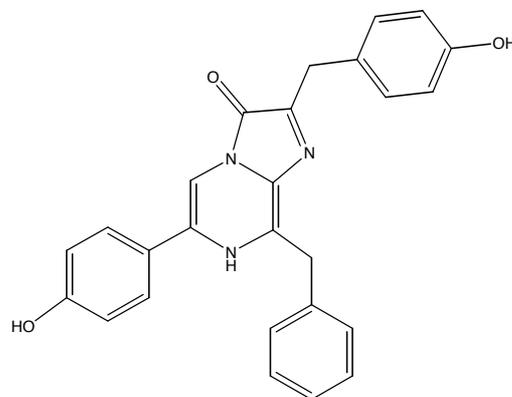
Entrons plus profondément dans la réaction !

Comme nous venons de le présenter, le mécanisme global de la bioluminescence résulte de la combinaison entre un substrat, la luciférine et une enzyme, à savoir la luciférase. A ce stade, il est intéressant de noter que le couple luciférine-luciférase ne présente pas une structure unique. Il existe au moins cinq groupes de luciférines rencontrées dans les différents organismes étudiés : les aldéhydes, les benzothiazoles, les tétrapyrroles, les flavines et les imidazolopyrazines.

Chaque espèce animale capable de bioluminescence possède un de ces types de luciférine à la base de leur réaction, ce qui explique les différentes couleurs émises par celle-ci. Par exemple, les coléoptères lumineux produisent de la lumière verte, jaune ou rouge alors que les créatures marines utilisent généralement une luciférine de type coelentérazine (famille des imidazolopyrazines) qui émet de la lumière bleue ou verte.

Chez la méduse :

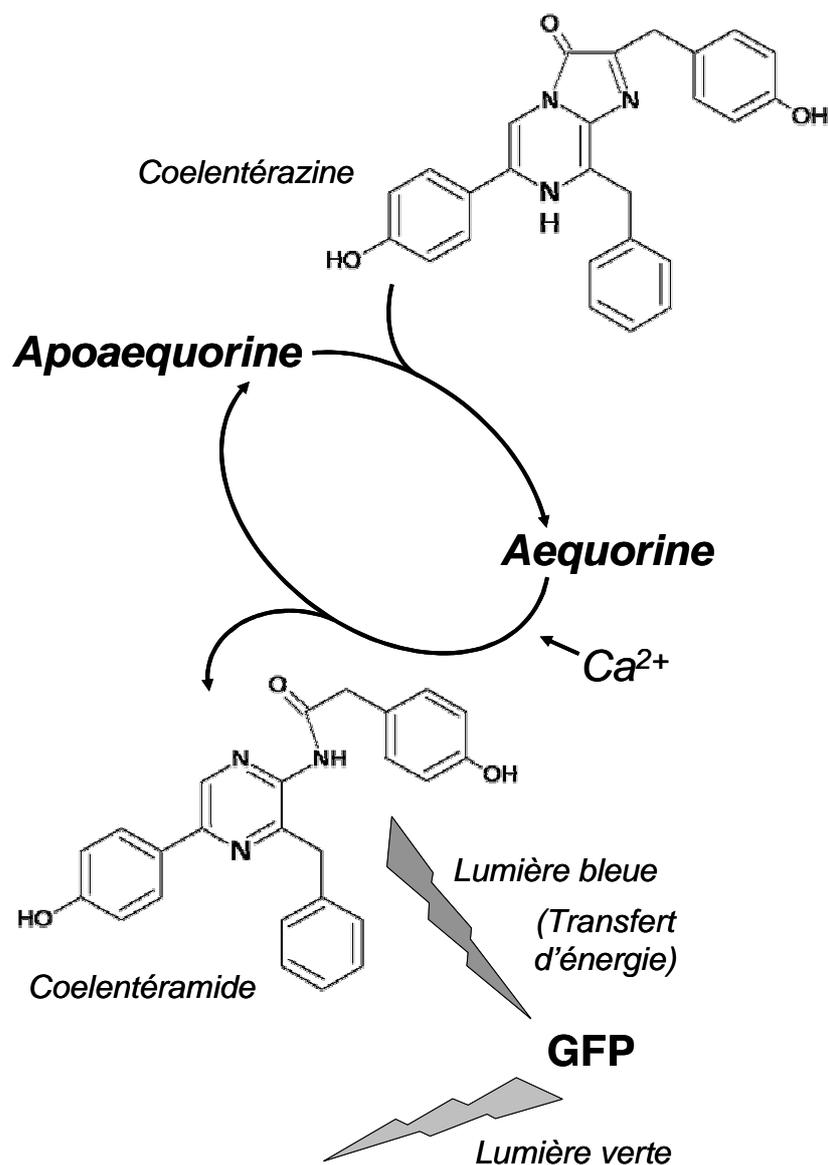
La méduse *Aequorea victoria* contient de l'aequorine, une photoprotéine et utilise une luciférine de type coelentérazine (appartenant au groupe des imidazolopyrazines). Cette luciférine est caractérisée par le fait qu'elle produit de la lumière en présence de calcium.



La coelentérazine

De plus, cette méduse contient également une deuxième protéine, fondamentale dans l'émission de la lumière, à savoir la GFP. La luminescence est due à l'activation séquentielle de ces deux protéines, l'aequorine et la GFP.

Comme nous pouvons le voir sur le schéma qui suit, l'aequorine se couple à la coelentérazine. Dès lors, cette protéine va être activée en présence de calcium, car ce dernier induit un changement de conformation de la protéine. Cela provoque une oxydation de la coelentérazine en coelentéramide et s'accompagne d'une émission de lumière bleue. Il en résulte un transfert d'énergie entre l'aequorine et la GFP, ce qui conduit à l'émission d'une lumière verte. L'apoequorine est une protoprotéine qui, lorsqu'elle se lie à la coelentérazine, peut émettre des photons en présence de Ca^{2+} .

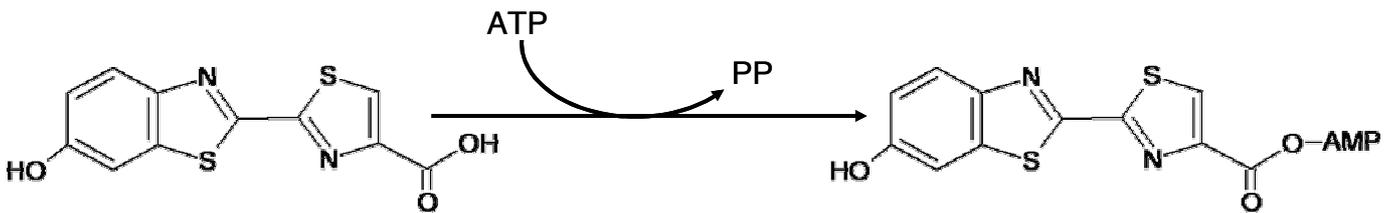


Représentation générale de la production de lumière chez la méduse

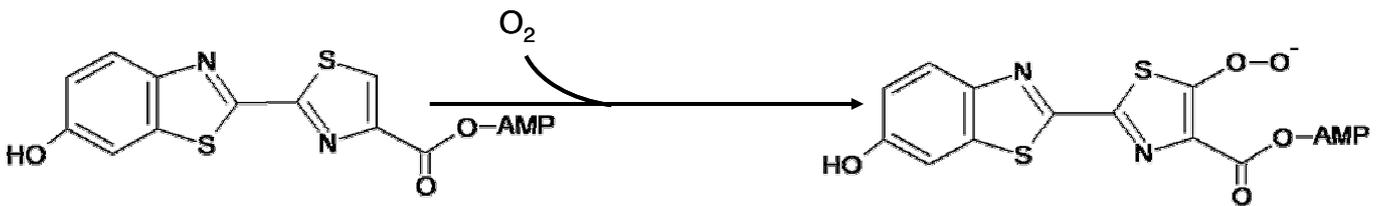
La luciole

La luciférine présente chez la luciole est une benzothiazole. Le mécanisme général de production de lumière à partir d'une luciférine de type benzothiazole se compose de quatre étapes.

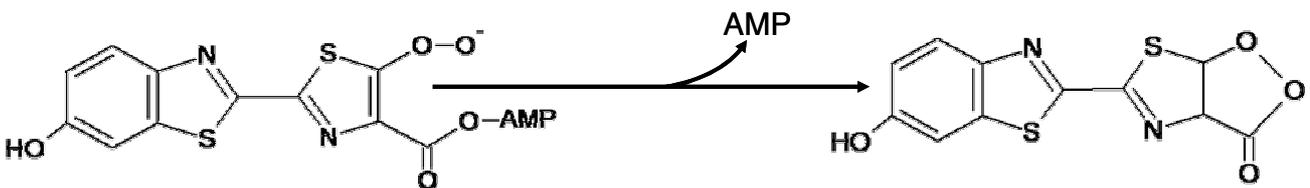
On observe, premièrement, la formation d'un intermédiaire, la luciférine adénylate. La formation d'un complexe 'luciférine-luciférase-AMP' s'accompagne de l'élimination de pyrophosphate.



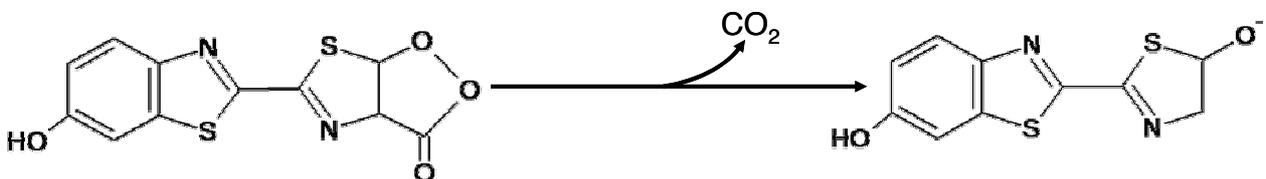
Lors de la seconde étape, l'oxydation du complexe 'luciférine-luciférase-AMP' par de l'oxygène forme un intermédiaire, la peroxy luciférine :



Au cours de la troisième étape, le peroxyde va rapidement se cycliser après une libération d'AMP (Adénosine-5'-monophosphate).



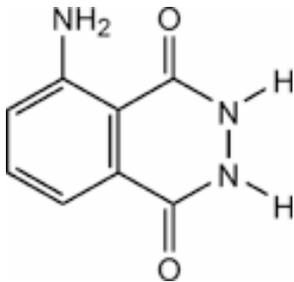
Cette molécule, dans un état électronique excité, retourne à l'état stable avec émission d'un photon (lumière) et formation de CO₂. Par la même occasion, l'enzyme se détache pour aller catalyser une autre réaction.



Expérience : Oxydation du luminol

Le luminol :

Formule brute :

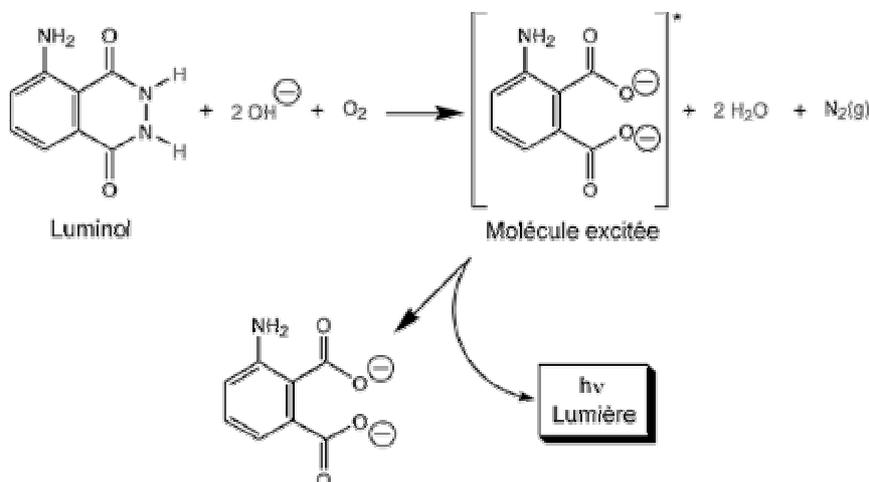


Le luminol

Le luminol est un composé solide, cristallin, de couleur blanche à légèrement jaune. Ce solide possède des propriétés de luminescence lorsqu'il réagit avec certains oxydants. Il produit alors un éclat bleu caractéristique. Il est soluble dans l'éthanol et l'acétone mais insoluble dans l'eau. Il s'agit d'un composé irritant pour les yeux, les voies respiratoires ainsi que la peau. Il faut donc porter un masque, des gants et des lunettes de sécurité lors de la manipulation ou de l'utilisation et ne pas inhaler la poussière.

La réaction :

Un oxydant, ici l'eau oxygénée, est indispensable à la luminescence du luminol. Le catalyseur le plus souvent utilisé est le ferricyanure de potassium. De cette oxydation du luminol par l'eau oxygénée, en présence de ferricyanure de potassium, en milieu basique, résulte un dégagement de lumière non thermique. En effet, la réaction s'accompagne de la formation de 3-aminophthalate. Celui-ci se trouve dans son état excité. Il retourne ensuite à son état stable en dégageant des photons, ce qui provoque une lumière visible.



Production de lumière à partir de luminol en milieu oxydant

Application du luminol : la criminologie :

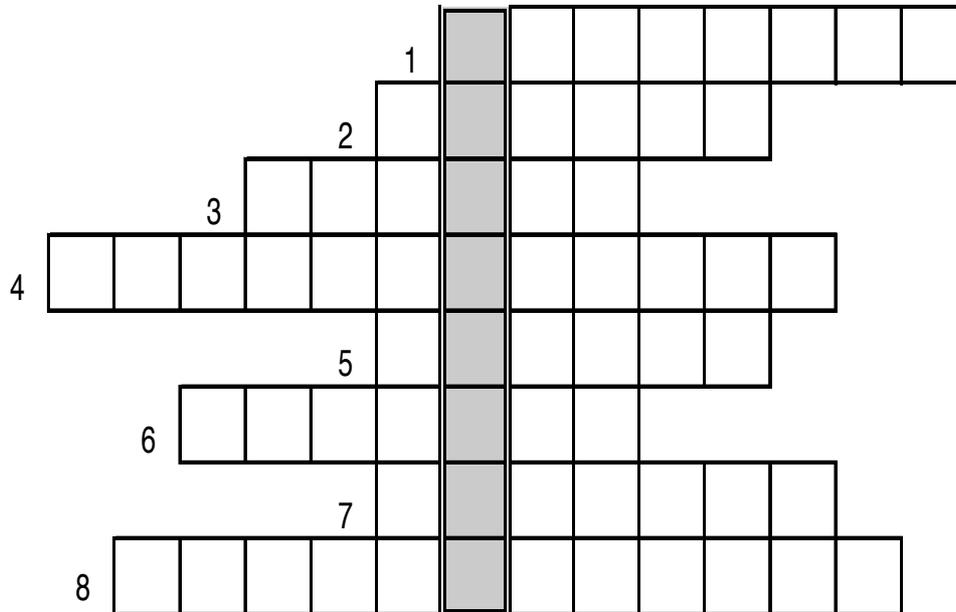
Le luminol est utilisé par la police scientifique pour repérer les traces de sang même si celles-ci ont été nettoyées. Le fer présent dans le sang va en effet catalyser la réaction chimique qui provoque la luminescence, révélant l'emplacement du sang. La quantité de catalyseur nécessaire à la réaction est très faible par rapport à la quantité de luminol, ce qui permet la détection de quantités de sang infinitésimales. Il y a quand même certains inconvénients à l'utilisation du luminol :

- le luminol réagit avec l'eau de Javel. Si la pièce a été nettoyée, elle va devenir entièrement fluorescente, camouflant les éventuelles traces de sang
- le luminol ne fait pas la différence entre le sang animal et celui des humains. Il réagit également avec les matières fécales de la même façon que si c'était du sang.

Jouons ensemble

Mots cachés n°1

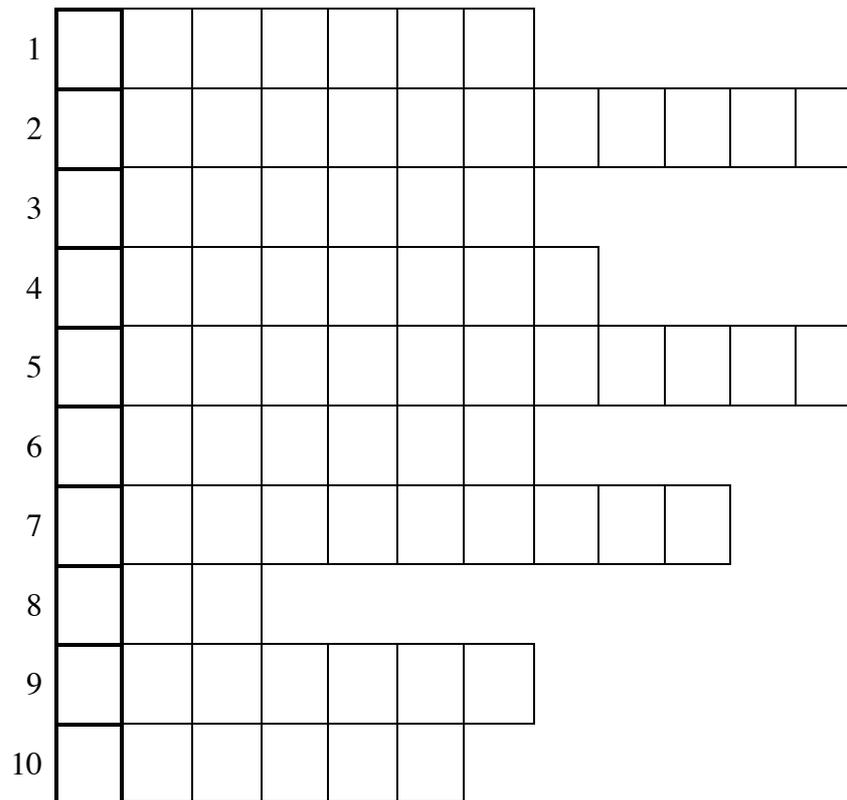
Dans la partie grise, placée verticalement, se cache un mot scientifique. A vous de le découvrir grâce aux huit mots définis ci-dessous.



Définitions :

1. Macromolécule constituée par une longue chaîne d'acides aminés.
2. Particule spécifique de la lumière.
3. Catalyseur biologique.
4. Propriété de certains corps de réémettre immédiatement de la lumière lorsqu'ils reçoivent un rayonnement.
5. Dispositif sélectionnant certaines fréquences d'un signal électrique.
6. Partie de la physique qui traite des propriétés de la lumière et des phénomènes de la vision.
7. Ensemble des rayonnements monochromatiques résultant de la décomposition de la lumière
8. Emission de rayons lumineux par un corps non chauffé et soumis à une excitation.

Mots cachés n°2



Définitions :

1. Quel est le produit chimique responsable de chimiluminescence avec un éclat bleu caractéristique lorsqu'il est mélangé avec un oxydant adéquat ?
2. Quelle partie du spectre électromagnétique excite les électrons provoquant la fluorescence ?
3. En présence de quel cation, la luciférine produit-elle de la lumière ?
4. Quelle pourrait être à l'avenir, une utilisation médicale de la bioluminescence ?
5. Quel est le phénomène physique produisant une émission rapide de lumière après excitation ?
6. Dans quel état sont les électrons immédiatement avant un processus de fluorescence ?
7. Comment appelle-t-on un bouleversement profond d'ordre économique, culturel ou scientifique?
8. Quelle est la source principale d'énergie pour le corps humain ?
9. Comment appelle-t-on l'ensemble des ondes électromagnétiques visibles par l'œil humain ?

10. Quel est le nom de la protéine catalysant les réactions biochimiques ?

Charade :

Mon premier est la première syllabe du mot alphabet.

Mon deuxième est synonyme de cargaison.

Mon troisième est le mot « non » en anglais.

Ma dernière est jolie.

Mon tout a donné son nom à un prix

Sudoku

En partant des lettres déjà inscrites, vous devez remplir la grille de manière à ce que : chaque **ligne**, chaque **colonne**, chaque **carré de 3*3** contiennent une seule fois le mot Rhodamine.

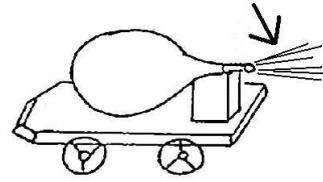
				O	A		E	M
A		E			H			
		H				D		
			D		O			E
R	H	M	A		E	I	O	D
E			R		M			
		A				R		
			E			N		H
D	M		H	R				

Rebus

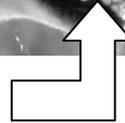
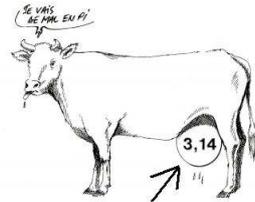
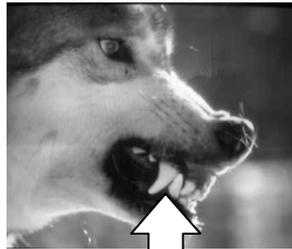
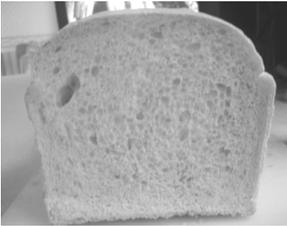
1.



2.



3.



PERI

Mots en vrac

Recherchez les mots suivants. Ces derniers peuvent se trouver en diagonale, verticalement, horizontalement ou peuvent être écrits à l'envers.

Cellule – Printemps – UV – Prédateur – Photon – Bactérie – Chimie – Calmar
 Osamu – Optique – Nobel – Abdomen – Lumière – Poisson – Alfred – Vivant –
 Chercheurs – Filtre – Bioluminescence – Tactile – Luciole – GFP – Encre –
 Victoria – Fluor – Aequorea – Vert – Océan – Osamu

B	B	U	C	E	L	L	U	L	E	T	K	N	G	M	K
A	V	I	C	T	O	R	I	A	E	Q	U	O	R	E	A
C	E	P	O	E	L	P	N	E	M	O	D	B	A	L	L
T	R	R	C	L	J	P	F	L	U	O	R	E	J	U	F
E	T	E	E	P	U	E	R	E	I	M	U	L	D	C	R
R	A	D	A	F	O	M	F	I	L	T	R	E	G	I	E
I	C	A	N	V	T	I	I	L	N	C	S	O	C	O	D
E	T	T	O	J	F	A	S	N	M	T	H	K	U	L	O
C	I	E	G	F	P	Q	B	S	E	J	E	I	S	E	S
A	L	U	R	K	H	J	O	I	O	S	O	M	M	Q	G
L	E	R	A	O	O	O	W	S	F	N	C	F	P	I	K
M	Z	U	P	L	T	V	I	V	A	N	T	E	G	S	E
A	L	S	H	R	O	E	P	C	D	M	F	U	N	M	J
R	P	P	I	G	N	O	P	T	I	Q	U	E	E	C	D
M	C	H	E	R	C	H	E	U	R	S	E	N	C	R	E

Quiz

1. Quel est le nom de la méduse bioluminescente ?
 - *Aequorea victoria*
 - *Beckham Victoria*
 - *Aquarius Victoria*
2. Qu'ont reçu M. Chalfie, O. Shimomura, R. Tsien ?
 - *Le prix Nobel de la paix*
 - *Le prix Nobel de chimie*
 - *Le prix Goncourt*
 - *The NRJ Chemistry Award*
3. Qui est Alfred Nobel ?
 - *Un scientifique*
 - *Un footballeur*
 - *Un maître chocolatier*
4. Une diminution de l'énergie est liée à un déplacement du spectre :
 - *Vers le rouge*
 - *Vers le bleu*
5. Dans le microscope à fluorescence, les filtres d'excitation permettent de/d' :
 - *Choisir la longueur d'onde incidente*
 - *Choisir la longueur d'onde réfléchie*
 - *Filtrer les poussières*
 - *Exciter l'observateur*
6. Si l'intervalle de temps qui sépare l'excitation et l'émission d'un photon est très court, on a une :
 - *Fluorescence*
 - *Bioluminescence*
 - *Phosphorescence*
7. Certains matériaux sont phosphorescents s'ils :
 - *Emmagasinent de la lumière*
 - *Détruisent les photons*
 - *S'oxydent*
8. Parmi ces molécules, laquelle est fluorescente ?
 - *La dopamine*
 - *Le DDT*

Rebus

1. Fluorophore
2. Lumière
3. Microscopie

Quiz

1. *Aequorea victoria*
2. *Prix Nobel de chimie*
3. *Un scientifique*
4. *Vers le rouge*
5. *Choisir la longueur d'onde incidente*
6. *Fluorescence*
7. *Emmagasinent de la lumière*
8. *La rhodamine*

Lexique

Acide désoxyribonucléique (ADN) : Acide nucléique composant le matériel génétique de tous les organismes et formé de deux chaînes complémentaires de nucléotides enroulées en double hélice.

Acide ribonucléique (ARN) : Acide nucléique produit à partir du programme génétique porté par l'ADN, formé d'une chaîne simple de nucléotides et indispensable à la traduction (synthèse des protéines par les ribosomes). On distingue l'ARN messager (ARNm) amenant l'information génétique depuis l'ADN aux ribosomes, l'ARN de transfert (ARNt) portant les acides aminés et l'ARN ribosomique (ARNr) constituant les ribosomes.

Actine : Protéine globulaire polymérisant en une double chaîne torsadée appelée microfilament et appartenant au cytosquelette. Elle participe notamment à la contraction musculaire ou à la motilité cellulaire.

Adénosine triphosphate (ATP) : Nucléotide composé d'adénine, de ribose et de trois groupements phosphate. L'ATP est une molécule riche en énergie, utilisée par les cellules pour leur métabolisme.

Aequorea victoria : Méduse bioluminescente des côtes ouest de l'Amérique du Nord. Elle est à la base de la découverte de la GFP.

Aldéhyde : Composé organique dont le carbone final de la chaîne carbonée porte un groupement carbonyle, à savoir une double liaison carbone-oxygène.

Allostérie : Propriété qu'ont certaines enzymes d'être activées ou inhibées par la fixation d'une molécule effectrice (ion ou coenzyme) sur un site spécifique, modifiant ainsi la structure spatiale de la protéine et les conditions de fixation du substrat sur le site actif.

Atome : « Que l'on ne peut diviser » ; plus petite partie d'un corps simple, pouvant se combiner chimiquement avec une autre. Il est généralement constitué d'un noyau composé de protons et de neutrons autour desquels gravitent des électrons. Son diamètre est de l'ordre du dixième de nanomètre (nm), soit un Angström (10^{-10} m).

Bioluminescence : Processus selon lequel un organisme vivant produit de la lumière par une réaction enzymatique conduisant à l'oxydation d'une molécule de luciférine.

Cellules HeLa : Cellules cancéreuses issues d'un prélèvement effectué sur une patiente atteinte d'un cancer du col de l'utérus, Henrietta Lacks. Ces cellules sont d'un usage extrêmement courant dans les laboratoires de recherche de biologie.

Chalfie M. : Citoyen américain né en 1947 à Chicago. Il obtient son doctorat en neurobiologie en 1977 à l'Université d'Harvard. Depuis 1982, il est professeur de sciences biologiques à l'Université Columbia de New York. Avec O. Shimomura et R.Y. Tsien, il a reçu le prix Nobel en 2008 pour ses découvertes sur la GFP.

Chimiluminescence : Succession de réactions chimiques ayant pour conséquence la production de lumière. Un exemple est l'oxydoréduction du luminol.

Chromophore : Groupement d'atomes au sein d'une molécule, responsable de sa couleur.

Cytosquelette : Réseau de filaments protéiques parcourant la cellule, il en maintient la forme, permet l'ancrage des organites ou intervient dans la motilité cellulaire. Le cytosquelette comprend trois types de filaments de diamètres, structures et rôles différents : les microtubules, les filaments intermédiaires et les microfilaments.

Cytosquelette : Réseau dynamique de filaments protéiques parcourant la cellule animale et responsable, entre autres, de sa forme, de sa mobilité, de l'ancrage ou de la mobilité des organites.

Décarboxylation : Réaction chimique au cours de laquelle une molécule de gaz carbonique (CO_2) est éliminée (généralement par chauffage) d'une molécule organique portant un groupement carboxyle.

Dimorphisme sexuel : Ensemble des différences morphologiques, plus ou moins marquées et non indispensables à la reproduction, entre les individus mâles et femelles d'une même espèce.

Dinoflagellé : Organisme unicellulaire marin capable de se déplacer grâce à un ou plusieurs flagelles animés de battements réguliers.

Électron : Particule fondamentale portant une charge électrique négative et gravitant autour du noyau au sein d'un atome.

Enzyme : Molécule (protéine ou ARN dans le cas des ribozymes) capable d'accélérer jusqu'à plusieurs millions de fois des réactions chimiques spécifiques du métabolisme cellulaire, en abaissant l'énergie d'activation requise. Les enzymes agissent à faible concentration et se retrouvent intactes en fin de réaction : ce sont des catalyseurs biologiques (ou biocatalyseurs).

Escherichia coli (E. coli) : Bactérie intestinale des mammifères, également appelée colibacille, très commune chez l'être humain. Certaines souches peuvent être pathogènes, entraînant alors des gastro-entérites, des infections urinaires, des méningites ou des septicémies.

Feuillet β : Structure secondaire (avec l'hélice α d'une protéine), caractérisée par la formation de plis successifs de la chaîne polypeptidique et stabilisée par la formation de ponts hydrogène entre acides aminés distants les uns des autres dans la séquence linéaire.

Flavine mononucléotide : Coenzyme (partie non protéique d'une enzyme) dérivée de la riboflavine (vitamine B₂).

Fluorescéine : Colorant organique jaune doté d'une fluorescence verte intense.

Fluorescence : Processus dans lequel un corps absorbe de la lumière à une longueur d'onde donnée et la réémet immédiatement à une autre longueur d'onde plus élevée.

Fluorochrome : Substance chimique capable d'émettre de la lumière de fluorescence après excitation.

Fréquence : Nombre de répétitions par unité de temps d'un phénomène périodique. L'unité de fréquence est le Hertz = 1 période/seconde.

Gène : Unité de base de l'hérédité ; séquence d'ADN d'un chromosome qui spécifie la synthèse d'une protéine ou d'un ARN fonctionnel.

Génome : Ensemble des séquences d'ADN d'un organisme.

GFP (Green Fluorescent Protein) : Protéine issue d'une méduse (*Aequorea victoria*), ayant la propriété d'émettre une fluorescence de couleur verte. La découverte et les applications de la GFP ont été couronnées par le prix Nobel de chimie 2008, décerné à Osamu Shimomura, Martin Chalfie et Roger Y. Tsien.

Hélice α : Structure secondaire (avec le feuillet β) d'une protéine formée par l'enroulement régulier de la chaîne polypeptidique sur elle-même et stabilisée par la formation de ponts hydrogène entre acides aminés proches dans la séquence linéaire.

In vitro : « Dans le verre » ; se dit de toute exploration, expérimentation ou manipulation biologique qui se déroule en dehors de l'organisme, en milieu artificiel.

In vivo : « Dans le vif » ; se dit de toute exploration, expérimentation ou manipulation biologique qui se déroule dans l'organisme.

Incandescence : Etat d'un corps porté à une température si élevée qu'il émet de la lumière.

Invertébré : Animal sans colonne vertébrale. Les invertébrés représentent 95% des animaux.

Longueur d'onde : La plus courte distance séparant deux points d'une onde qui présentent à tout instant un comportement identique en amplitude. On la note par la lettre grecque λ (lambda).

Luciférase : Enzyme contrôlant l'oxydation de la luciférine en oxyluciférine en provoquant l'émission d'un photon.

Luciférine : Molécule dont l'oxydation, sous le contrôle de la luciférase, aboutit à la formation d'oxyluciférine et à l'émission de photons. La luciférine a été découverte chez plus de 300 espèces produisant de la bioluminescence.

Lumière : Ensemble des rayonnements électromagnétiques visibles par l'œil humain. Elle peut être émise par des corps portés à haute température (incandescence) ou par des substances excitées (luminescence).

Luminescence : Emission de lumière par un corps non chauffé et soumis à une excitation.

Luminol : Produit chimique présentant une chimiluminescence avec un éclat bleu caractéristique, lorsqu'il est mis en présence d'un oxydant adéquat. Il s'agit d'un solide cristallin, de couleur blanche à légèrement jaune, soluble dans l'eau et dans la plupart des solvants organiques polaires.

Lyse : Destruction de l'intégrité physique de la membrane plasmique par l'action d'un agent physique, chimique ou biologique, et menant à la mort de la cellule.

Macrophage : Grande cellule dérivant d'un globule blanc, capable d'ingérer et de digérer les débris cellulaires et les bactéries envahissant l'organisme.

Métabolisme : Ensemble de tous les processus chimiques qui se déroulent au sein d'une cellule ou d'un organisme vivant.

Métabolite : Produit de transformation d'une substance dans l'organisme.

Molécule : Assemblage d'atomes dont la composition est décrite par sa formule chimique.

Monomère : Molécule utilisée dans la synthèse des polymères.

Motilité : Aptitude à effectuer des mouvements spontanés ou réactionnels chez l'être vivant.

Myocarde : Tissu musculaire du cœur, épais et creux, se contractant de manière rythmique.

Myopathie : Affection dégénérative héréditaire des muscles évoluant progressivement vers l'atrophie (réduction de volume) et la faiblesse musculaire.

Nématode : Ver cylindrique, généralement de petite taille, dont quelques espèces vivent en parasites des mammifères.

Nucléotide : Acide désoxyribonucléique pour l'ADN et ribonucléique pour l'ARN.

Onde périodique : Onde dont la forme présente une périodicité dans le temps et dans l'espace.

Onde : Déformation d'un milieu ou d'une grandeur physique qui se propage dans un milieu matériel ou immatériel.

Oxydoréduction : Réaction chimique au cours de laquelle se produit un transfert d'électrons entre deux ions dont l'un est réducteur et l'autre est oxydant.

Oxyluciférine : Substance chimique de type peroxyde issue de l'oxydation de la luciférine.

Paludisme (malaria) : Parasitose des régions chaudes et marécageuses provoquant des fièvres intermittentes, due à un *Plasmodium* et transmise par la piquûre d'un moustique femelle, l'anophèle.

Phospholipide : Lipide constituant l'essentiel des membranes cellulaires. C'est un dérivé des acides gras, du glycérol, de l'acide phosphorique et des composés azotés.

Phosphorescence : Processus dans lequel un corps absorbe de la lumière à une certaine longueur d'onde et la réémet petit à petit à une longueur d'onde plus grande.

Photocyte : Cellule produisant de la lumière.

Photoluminescence : Luminescence provoquée par un rayonnement visible, ultraviolet ou infrarouge.

Photon : Particule spécifique de la lumière, porteuse des interactions électromagnétiques.

Photophore : Organe luminescent présent chez divers animaux, principalement marins.

Plancton : Ensemble des organismes de très petites tailles en suspension dans la mer ou l'eau douce.

Plasmodium : Genre de protozoaire parasite, dont certaines espèces causent le paludisme chez l'homme.

Polymère : Macromolécule constituée de l'enchaînement répété d'un grand nombre de monomères

Polypeptide : Polymère caractérisé par la condensation d'un nombre important de molécules d'acides aminés.

Pont hydrogène : Interaction entre un hydrogène acide et un atome électronégatif comme l'oxygène ou l'azote. Cette interaction joue un rôle important en chimie organique et en biochimie.

Prix Nobel : Récompense de portée internationale, décernée depuis 1901. Le prix est attribué chaque année à des personnes vivantes ayant apporté un grand bénéfice à l'humanité, par leurs inventions, leurs découvertes et les

améliorations apportées dans divers domaines de la connaissance, par la création d'une œuvre littéraire impressionnante, ou par leur travail en faveur de la paix. Les prix proviennent de la fondation Alfred Nobel selon les derniers vœux de ce brillant chimiste, inventeur de la dynamite.

Prix Wolf : Prix décerné depuis 1978 à des artistes et à des scientifiques vivants d'envergure exceptionnelle, pour des réalisations dans l'intérêt de l'humanité et des relations pacifiques entre les peuples.

Promoteur : Séquence nucléotidique spécifique située en amont d'un gène et régulant son expression.

Protéine chimérique : Protéine recombinante résultant de la fusion de plusieurs protéines natives.

Protéine rapportrice : Protéine dont l'activité est facilement détectable au laboratoire et qui est synthétisée simultanément avec une protéine à étudier.

Protéine recombinante : Protéine synthétisée par des cellules ayant subi une modification au niveau du génome.

Protéine : Macromolécule constituée par une très longue chaîne d'acides aminés, réunis par des liaisons peptidiques.

Protozoaire : Organisme unicellulaire appartenant au règne des Protistes et vivant essentiellement en milieu humide.

Quinine : Alcaloïde naturel utilisé dans la prévention du paludisme et qui possède des propriétés de fluorescence.

Région caudale : Région du dos.

Shimomura O. : Citoyen japonais né à Kyoto en 1928. Il obtient son doctorat en 1960 à l'Université de Nagoya au Japon. Il est actuellement Professeur émérite du *Marine Biological Laboratory* de Woods Hole et de la *Boston University Medical School* dans le Massachusetts. Avec M. Chalfie et R.Y. Tsien, il a reçu le prix Nobel 2008 pour ses découvertes sur la GFP.

Substrat : réactif à partir duquel se produit une réaction enzymatique.

Tsien R. Y. : Citoyen américain né en 1928 à New York. Il obtient son doctorat en physiologie en 1955 à l'Université de Cambridge. Depuis 1989, Roger Tsien est Professeur à l'Université de Californie à San Diego. Avec M. Chalfie et

O. Shimomura, il a reçu le prix Nobel de 2008 pour ses découvertes sur la GFP.

Tubuline : Protéine globulaire polymérisant en un cylindre creux appelé microtubule et appartenant au cytosquelette. Elle intervient, entre autres, dans les processus de division ou de motilité cellulaires.

Vertébré : Animal doté d'une colonne vertébrale. Les vertébrés comprennent les mammifères, les oiseaux, les reptiles, les amphibiens et diverses classes de poissons.

Vinculine : Protéine fibrillaire polymérisant en un cylindre creux faisant partie des filaments intermédiaires du cytosquelette. Elle intervient dans les ancrages cellulaires.

Références

Ouvrages et articles :

S. Altairac, Protéines à la Une, A la lueur d'une protéine, Dossier n°23, déc. 2007.
V. Georget, J.-C. Nicolas, C. Sultan, médecine/sciences, vol. 15 : 45-55, 1999.
Le petit Larousse illustré, Larousse, 2007.
Peter W. Atkins, CHIMIE PHYSIQUE, de Boeck Université 2000.
Raven, Johnson, Losos et Singer, Biologie, trad. 7^e éd. améric., de Boeck, 2007.
Skoog, West, Holler, CHIMIE ANALYTIQUE, de Boeck Université 1997.

Sites internet :

<http://ascussat.free.fr>
<http://coxcorns.free.fr>
<http://fr.encarta.msn.com>
<http://fr.wikipedia.org>
<http://le-monde-abyssale.skyrock.com>
<http://molaire1.club.fr>
<http://nicolem.perso.libertysurf.fr>
<http://nobelprize.org>
<http://scienceamusante.net>
<http://search.acros.com>
<http://wapedia.mobi>
<http://wikipédia.fr>
<http://www.astronoo.com>
<http://www.chimie-biochimie.umoncton.ca>
<http://www.cite-sciences.fr>
<http://www.crpp.u-bordeaux.fr>
<http://www.e-scio.net>
<http://www.expasy.ch>
<http://www.futura-sciences.com>
<http://www.techno-science.net>
<http://www.telem.fr>
<http://nicolem.chez-alice.fr>
<http://www.didier-pol.net>

