

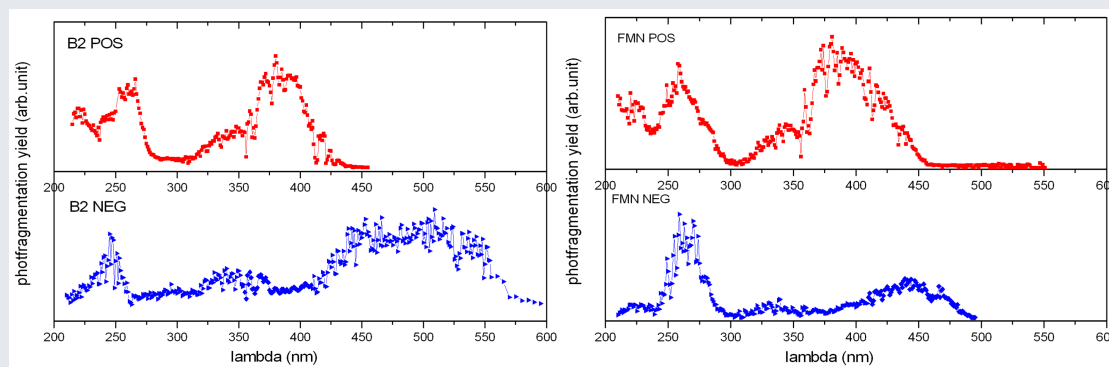
Nouvelle méthode optique pour sonder la dynamique structurale de protéines

Gilles Ohanessian (LCP)

Le projet consistait à acquérir des lasers à longueurs d'onde fixes pour une démonstration de faisabilité (d'où le dépôt du projet au thème Emergence de PALM), avec l'acquisition d'un laser accordable dans une étape ultérieure. Or une opportunité particulièrement intéressante s'est présentée pour l'achat d'un laser accordable (OPO/OPA, de marque Ekspla) dès le mois d'août 2013. Nous avons choisi de la saisir, ce qui a nécessité un complément de financement du laboratoire porteur (Laboratoire des Mécanismes Réactionnels, École Polytechnique) qui n'était pas prévu dans le projet initial. Ce laser a été installé à l'automne 2013.

Entre temps (juin et juillet 2013), le prêt d'un laser UV à longueur d'onde fixe nous a permis de réaliser les éléments du couplage entre le spectromètre FT-ICR et un laser. Nous avons ensuite pu engendrer la photo-fragmentation UV d'ions positifs ainsi que le photo-détachement d'électron d'ions négatifs, pour des peptides puis la calmoduline, une protéine contenant 144 résidus.

La mise en route du laser accordable de 210 à 2300 nm, cadencé à 50 Hz, avec une énergie/pulse supérieure à 1 mJ et un maximum de 10 mJ@430 nm, nous a permis d'enregistrer les premiers spectres jusqu'en avril 2014. Nous avons d'abord calibré l'expérience sur des chromophores isolés de protéines : les acides aminés aromatiques protonés Tyr et Trp pour lesquels des spectres de référence existaient dans la littérature. Comme prévu dans le projet, nous avons ensuite caractérisé la réponse optique de la Flavine Mono Nucléotide (FMN ou riboflavine-5'-phosphate, groupe prosthétique pour des enzymes oxydo-reductases, mais aussi cofacteur de photorécepteurs de la lumière bleue), et ses fragments sans phosphate : la vitamine B₂ et l'alloxazine.



Les spectres obtenus pour les formes protonée et déprotonée de la vitamine B₂ (ci-dessus à gauche) et de la FMN (à droite) montrent clairement l'effet de la charge sur les propriétés optiques du chromophore aromatique. Ceci s'explique par la localisation des charges et leurs interactions avec les divers groupes fonctionnels disponibles : la protonation de B₂ et de FMN se produit sur le chromophore alors que la déprotonation de la FMN a lieu sur le phosphate, qui reste à distance du chromophore. Ce site n'existant pas dans B₂, la déprotonation a lieu sur le sucre. Cette interprétation a pu être obtenue en complétant les expériences UV/Vis par des expériences IR réalisées au centre laser CLIO à Orsay (site d'accueil du LCP, membre de PALM) et par des calculs de chimie quantique. Ces résultats illustrent le potentiel de cette combinaison d'approches pour obtenir des empreintes de molécules biologiques complexes.

Résultats obtenus dans le cadre du projet DynProt financé par le thème émergence du LabEx PALM et porté Gilles Ohanessian (LCP)