

Diffusion de lipides et de protéines dans les bicouches lipidiques supportées

Bernard TINLAND

CINaM-CNRS, Marseille

Les protéines membranaires constituent une classe particulière du protéome (environ 30 %) et sont fortement impliquées dans un nombre important de processus cellulaires cruciaux tels que la transduction du signal, l'adhésion des cellules, le transport d'ions et de métabolites, l'endocytose, etc...

Notre travail vise à développer une nouvelle stratégie de séparation par micro-électrophorèse de protéines membranaires après leur insertion dans un système biomimétique constitué par une bicouche lipidique adsorbée sur une surface, reproduisant ainsi partiellement leur environnement initial.

Au cours d'une première étape, nous avons construit et/ou implanté les outils de cette étude (manipulation de Fluorescence Recovery After Pattern Photobleaching – FRAPP- et installation d'une cuve de Langmuir Blodgett), puis acquis et mis au point les savoir-faire et protocoles adaptés à notre système. L'optimisation de notre montage de FRAPP a permis d'effectuer des mesures précises et reproductibles du coefficient de diffusion D et d'acquérir un corpus de connaissance sur le comportement dynamique d'une bicouche lipidique supportée (découplement des feuillettes selon le substrat, variation de la température de transition gel-fluide avec la taille des domaines lipidiques, existence d'une phase « ripple » dès la première BLS).

Par la suite nous avons suivi la cinétique d'insertion d'une protéine modèle, l' α -hémolysine, dans une bicouche de DMPC et quantifié l'insertion. La détermination de la mobilité de la protéine dans les différentes situations (libre en solution, insérée dans la bicouche ou adsorbée sur le verre) est en cours.