



# Soutenance de thèse

*Viviane Devauges*

*ISMO (Institut des Sciences Moléculaires d'Orsay), Orsay*

## **Microscopie de fluorescence résolue en temps et en polarisation pour le suivi d'interactions protéiques en neurobiologie**

Le suivi des interactions entre protéines, localisées à la membrane plasmique ou à l'intérieur de cellules, a été réalisé au cours de cette thèse par imagerie de fluorescence et par l'analyse de processus dits de FRET (*Forster Resonance Energy Transfer*). Pour quantifier le FRET entre nos protéines d'intérêt, nous avons choisi le contraste de durée de vie de fluorescence car cette méthode est indépendante de la concentration et de l'intensité de fluorescence. Afin d'obtenir une résolution suffisante pour des problématiques neurobiologiques, un microscope TIRFLIM (*Total Internal Reflection Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy*) avait préalablement été développé. Celui-ci nous permet de faire de l'imagerie en plein champ avec une résolution axiale sub-longueur d'onde. Ce dispositif a été calibré et optimisé au cours de cette thèse pour répondre au mieux aux problématiques biologiques posées. Différentes approches ont ainsi été testées dans le but de calibrer la profondeur de pénétration de l'onde évanescente. Des surfaces plasmoniques ont entre autres été utilisées pour augmenter la sélectivité axiale du montage.

Notre microscope a été dédié à l'étude de l'effet du cholestérol sur l'interaction entre la protéine précurseur de l'amyloïde APP, protéine transmembranaire impliquée dans la maladie d'Alzheimer et une de ses enzymes de clivage BACE1. Nous avons ainsi effectué un suivi dynamique de l'effet du cholestérol sur l'interaction entre APP et BACE1 de la membrane plasmique à l'intérieur de cellules modèles HEK-293 et dans des cultures primaires de neurones d'hippocampe d'embryons de rat.

La mesure d'anisotropie de fluorescence résolue en temps a également été implémentée sur notre montage. Ces mesures résolues en temps et en polarisation ont permis d'évaluer le temps de corrélation rotationnelle de fluorophores et de mettre en évidence de manière qualitative différents niveaux d'homodimérisation de protéines impliquées dans la maladie d'Alzheimer.

### Mots clés :

*TIRF, FLIM, FRET, surfaces plasmoniques, interactions protéiques, neurobiologie, anisotropie de fluorescence.*

**Jeudi 15 Décembre 2011 à 10h30**

*Auditorium de l'Institut d'Optique*

*2 Avenue Augustin Fresnel*

*91127 Palaiseau*

*La soutenance sera suivie d'un pot auquel vous êtes chaleureusement conviés.*