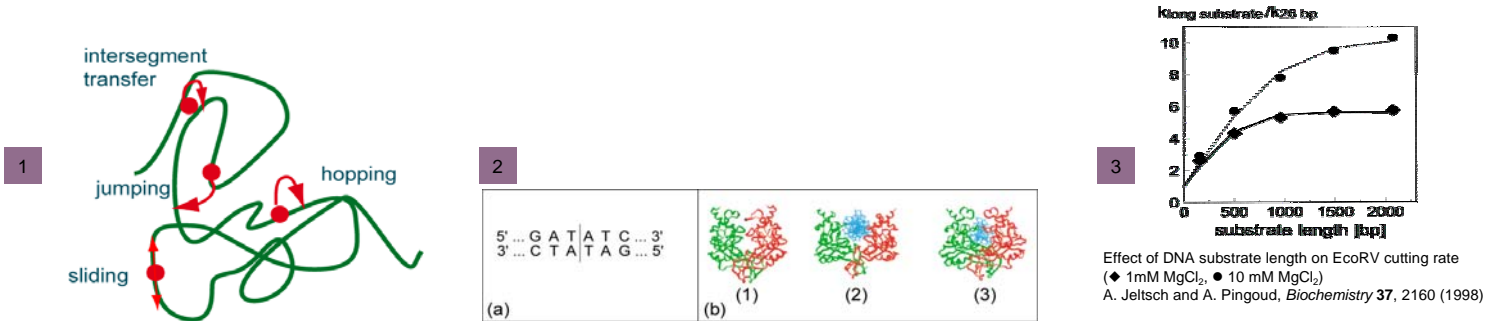


Diffusion facilitée des protéines le long de l'ADN



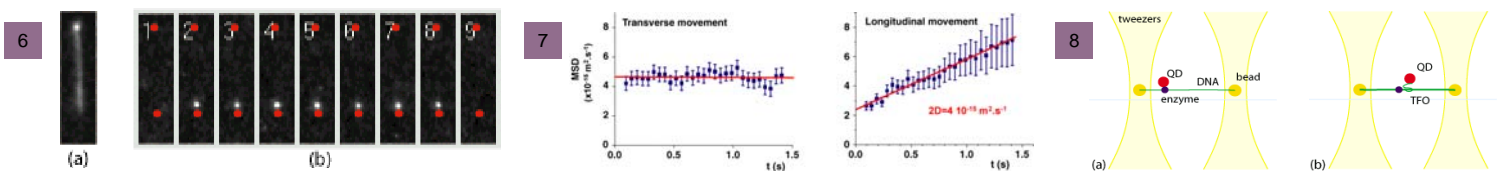
Parmi les nombreuses protéines qui interagissent avec l'ADN, certaines sont site-spécifiques et doivent trouver une très courte séquence, de l'ordre de quelques paires de bases, sur de l'ADN pouvant compter plusieurs dizaines de milliers de paires de bases. La rapidité avec laquelle ces enzymes trouvent leur cible a conduit les biologistes à proposer des mécanismes de « diffusion facilitée » [1], dont le mécanisme sous-jacent, *sliding*, *hopping* ou *jumping* [1], reste à déterminer. Nous avons mené des expériences à l'échelle de la molécule unique avec une enzyme de restriction de type II, *EcoRV*, dont la cible est une séquence d'ADN de 6 paires de base [2 a]. La structure du complexe avec l'ADN est connue [2 b], et suggère la possibilité de *sliding*, comme l'indiquent également des expériences de cinétique chimique menées par des biochimistes [3].

Étirement de l'ADN, marquage d'EcoRV avec des nanocristaux



Nous avons mis au point une technique qui nous permet d'attacher de l'ADN spécifiquement par ses extrémités à une surface [4]. Le taux d'étirement de l'ADN est ajustable, il est de l'ordre de 70% dans nos expériences. Nous utilisons des enzymes *EcoRV* modifiées [5], sur lesquelles un groupement biotine a été greffé. Ces enzymes sont ensuite marquées avec des nanocristaux semi-conducteurs couverts de streptavidine [6]. Ces sondes lumineuses, peu sensibles au photoblanchiment, sont très brillantes, ce qui nous a permis de détecter par microscopie de fluorescence des enzymes individuelles en interaction avec l'ADN étiré.

Résultats et perspectives



Nous avons observé une centaine d'événements d'association/dissociation d'enzymes avec l'ADN [6]. L'analyse du mouvement est menée en calculant la dépendance temporelle de la MSD, qui révèle une diffusion de l'enzyme le long de l'ADN avec un coefficient de diffusion 1D de l'ordre de $10^{-3} \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ [7]. Un double piège optique est actuellement en construction afin de contrôler la tension de l'ADN et de l'éloigner de la surface [8]. Nous pensons étudier dans un proche futur le mouvement d'enzymes processives sur l'ADN en utilisant des oligonucléotides cadenas associés à des nanocristaux. L'enzyme ne serait plus marquée, et son mouvement révélé par celui de l'oligonucléotide qu'elle pousserait le long de l'ADN [8].

Contact : pierre.desbiolles@lkb.ens.fr