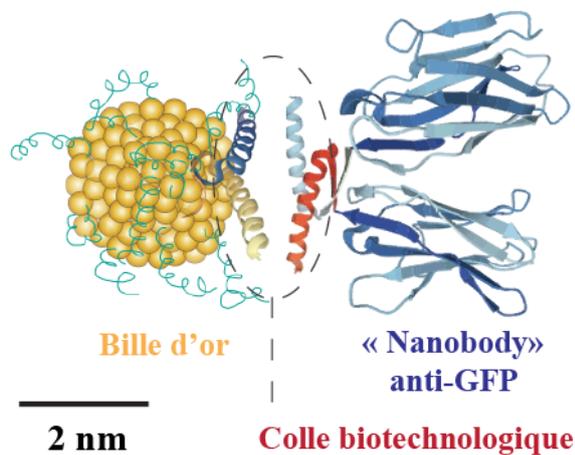


Cibler et positionner des protéines à l'intérieur des cellules humaines, à la molécule près !

Un traceur miniature avec une colle biotechnologique a été développé pour explorer par microscopie électronique le positionnement précis d'une protéine cible à l'intérieur d'une cellule humaine. Ces résultats sont publiés dans la revue *Nanoscale Advances*.



© Guy Zuber

Équiper des animaux sauvages avec des traceurs contribue à améliorer notre compréhension de la manière dont ils évoluent et dans quel environnement complexe et dynamique, à condition que l'addition de ces traceurs ne perturbe pas le comportement naïf de l'hôte. Des critères sont à remplir comme une taille de l'émetteur petite par rapport à l'hôte, une facilité à accrocher, et une acceptation comme un élément non perturbant.

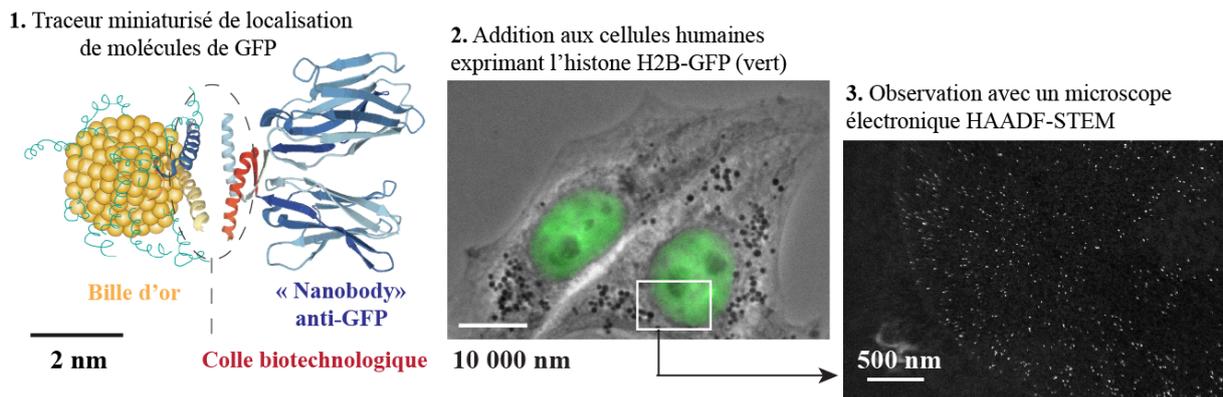
De la même façon, équiper une protéine de quelques nanomètres avec un traceur apporte des informations primordiales sur le fonctionnement du vivant. Le pouvoir résolutif des microscopes électroniques, inférieur au nanomètre, et un traceur spécifique aux microscopes électroniques permettraient ainsi de localiser la protéine cible à l'intérieur d'une cellule humaine et de la positionner par rapport aux autres constituants cellulaires, ceci avec une précision jamais obtenue.

Pour aller vers cet objectif, les mêmes critères énumérés que pour les animaux sont valables avec une miniaturisation du traceur et une imbrication des éléments le constituant poussée à l'extrême.

Les scientifiques ont développé un nouveau traceur de protéine GFP à partir d'anticorps miniaturisée ou « nanobody » anti-GFP et d'une bille d'or de 2.4 nm de diamètre. Le nanobody a pour rôle de s'accrocher à la GFP, la bille d'or de produire un signal détecté par microscopie électronique. Ils ont découvert qu'une colle biotechnologique, dérivée de la protéine suppresseur de tumeur p53, pouvait lier sélectivement le nanobody à la bille d'or et former un assemblage, extrêmement précis, cohésif et résistant. Aussi, ni la bille d'or, ni la colle ne perturbent la capacité du nanobody anti-GFP à diffuser dans le cytosol et le noyau puis à reconnaître sa cible moléculaire. La microscopie électronique HAADF-STEM d'une portion de cellule humaine, contenant des protéines nucléaires vertes H2B-GFP mises en présence de cet outil de localisation moléculaire miniature, révèle ainsi des points blancs qui précise le

positionnement individuel de ces protéines H2B-GFP dans l'environnement nucléaire d'une cellule humaine.

Cet outil miniature, les futurs développements autour de son optimisation et son emploi en cryo-microscopie électronique ouvriraient un champ réellement nouveau pour explorer l'intérieur des cellules. Non seulement le positionnement des éléments serait mis en évidence mais la préservation cryogénique de l'ultrastructure cellulaire permettrait de discerner les contacts intimes entre la protéine cible et les constituants vicinaux.



© Guy Zuber

Figure : Image de gauche : illustration du traceur miniaturisé de GFP pour une localisation moléculaire par microscopie électronique. Image centrale : microscopie optique de cellules humaines exprimant des histones H2B-GFP fluorescentes (couleur verte). La localisation précise des H2B-GFP est limitée par la diffusion de la lumière. Image de droite : la microscopie électronique HAADF-STEM révèle la position individuelle de chaque H2B-GFP lié à une bille d'or.

Pour en savoir plus :

[Gold labelling of Green Fluorescent Protein \(GFP\)-tag inside cells using recombinant nanobodies conjugated to 2.4 nm thiolate-coated gold nanoparticles](#)

N. Groybeck, M. Donzeau, A. Stoessel, A. M. Haeberlé, S. Ory, D. Spehner, P. Schultz, O. Ersen, M. Bahri, D. Ihiwakrim and G. Zuber.

Nanoscale Advances, 24 septembre 2021. DOI: 10.1039/D1NA00256B

Contact chercheur :

Guy Zuber

Directeur de recherche CNRS

zuber@unistra.fr

03 68 85 47 68

Laboratoire Biotechnologie et Signalisation Cellulaire

ESBS, 300 Bd Sébastien Brant CS 10413

67412 ILLKIRCH