



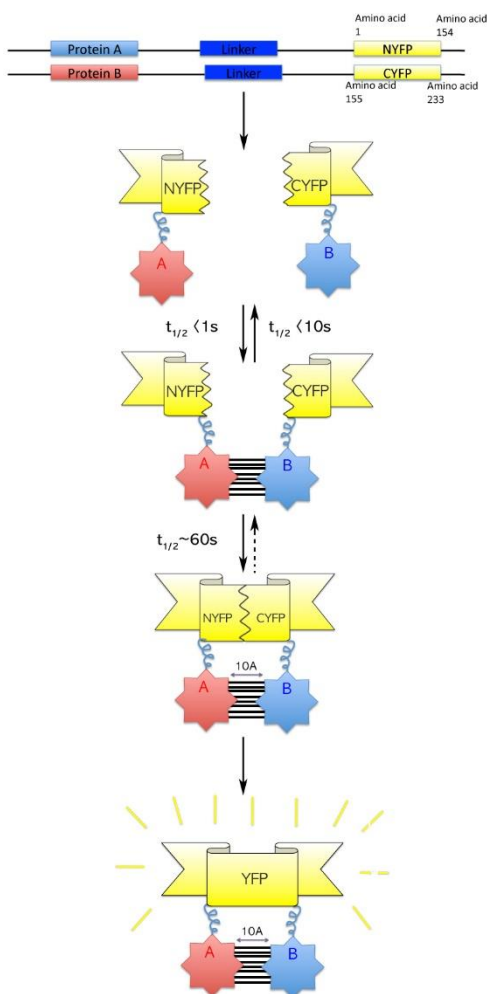
BIFC

Science en Tête Biologie-Année 2020-2021

1. Principe

La BIFC également appelée « bimolecular fluorescence complementation » est une nouvelle technique d'observation des interactions protéiques. Elle peut également être utilisée en association avec d'autres techniques récentes et cribler des interactions protéine-protéine et de leurs régulateurs.⁽¹⁾

2. Méthode



Cette technique permet de connaître les fonctionnalités des protéines à l'intérieur des cellules en se basant sur le développement d'un composé fluorescent de par l'addition de deux segments d'une protéine fluorescente quand ils sont à proximité l'une de l'autre.⁽²⁾ Les extrémités sur la figure 1 : NYFP et CYFP correspondent aux extrémités du fluorophore qui est divisé en deux extrémités : terminales aminées et carboxyliques. Lorsque deux protéines sont proches l'une de l'autre, ces deux extrémités se rejoignent et deviennent fluorescentes.⁽¹⁾

Pour parvenir à ce resultat il y a plusieurs étapes :

- L'étalonnage de BiFC :
 - Choix du fluorophore,
 - Marquages des protéines,
 - Détermination des circonstances de transfections,
 - Détermination des modifications dans la localisation des protéines
- Transfection de placage et de cellules :
 - Cellules plaquées dans une embase en verre et dans des puits d'une plaque
 - Puis cellule d'ADN disposée pour le procédé de transfection
 - A la fin de celui-ci la combinaison est divisé et incubée à température ambiante pour quelques heures
 - médias de transfection sont alors retirés et incubés de nouveau
- Préparation des cellules pour la représentation
 - Ajout de paraformaldéhyde puis lisage des protéines pour obtenir l'image au microscope à fluorescence
- Mesure de l'intensité de la fluorescence pour chaque cellule avec plusieurs logiciels de représentation avec un microscope confocal
- Et enfin, Analyse des caractéristiques.
 - Pour analyser les caractéristiques (ce qui correspond au rendement de fluorescence), on divise les intensités de la complémentation de fluorescence et des intensités de la protéine fluorescente entière en chaque cellule.⁽¹⁾

Avantages et Inconvénients	
Avantages	Inconvénients
Interaction protéines fluorescente	Dépendance à l'égard de l'expression de la protéine de fusion traductionnelle
Interactions passagères stabilisées	Dépendance à l'égard de la température
Visualisation directe des protéines dans les cellules (contrairement à d'autres techniques)	Fusion le long du N-terminal ou du C-terminal doit être tenues en compte dans l'analyse de BiFC

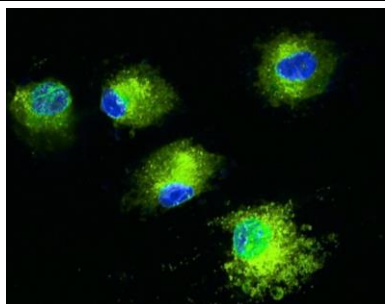


Fig 2 : Résultat observable avec technique BiFC au microscope à fluorescence

Sources

- (1) https://fr.wikipedia.org/wiki/M%C3%A9thodes_d%27investigation_des_interactions_prot%C3%A9ine%28E2%80%93prot%C3%A9ine#:~:text=La%20bimolecular%20fluorescence%20complementation%20%5B2%5D%20%28BiFC%29%20est%20une,%5B%204%20%5D%20%2C%20%5B%205%20%5D%20
- (2) [https://www.news-medical.net/life-sciences/Bimolecular-Fluorescence-Complementation-\(BiFC\)-\(French\).aspx](https://www.news-medical.net/life-sciences/Bimolecular-Fluorescence-Complementation-(BiFC)-(French).aspx)
- (3) [https://www.news-medical.net/life-sciences/BiFC-Limitations-\(French\).aspx#:~:text=Un%20autre%20inconv%C3%A9nient%20de%20BiFC%20est%20sa%20d%C3%A9pendance,de%20l%27expression%20des%20prot%C3%A9ines%20fluorophore-%C3%A9tiquet%C3%A9es%20g%C3%A9n%C3%A9ral%20leur%20](https://www.news-medical.net/life-sciences/BiFC-Limitations-(French).aspx#:~:text=Un%20autre%20inconv%C3%A9nient%20de%20BiFC%20est%20sa%20d%C3%A9pendance,de%20l%27expression%20des%20prot%C3%A9ines%20fluorophore-%C3%A9tiquet%C3%A9es%20g%C3%A9n%C3%A9ral%20leur%20)
- (4) [https://www.news-medical.net/life-sciences/BiFC-Advantages-\(French\).aspx#:~:text=Les%20principaux%20avantages%20de%20BiFC%20sont%20interaction%20de,stabilis%C3%A9e%20et%20post%20traitement%20minimal%20des%20caract%C3%A9ristiques%20imag%C3%A9es](https://www.news-medical.net/life-sciences/BiFC-Advantages-(French).aspx#:~:text=Les%20principaux%20avantages%20de%20BiFC%20sont%20interaction%20de,stabilis%C3%A9e%20et%20post%20traitement%20minimal%20des%20caract%C3%A9ristiques%20imag%C3%A9es)
- (5) www.biotechniques.com/.../biotechniques-337088.html?pageNum=1
- (6) <http://www.vanderbilt.edu/cbi/Presentations/EmPresentation.pdf>
- (7) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2829326/>
- (8) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3169261/>
- (9) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2829326/>
- (10) onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-313X.2008.03612.x/pdf
- (11) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2518326/>