



FRET

Sciences EN Tête Biologie-Année 2020-2021

1. Principe

Le FRET également appelé Transfert d'énergie entre molécules fluorescentes ou transfert d'énergie par résonance de type Förster est une technique utilisée en biologie moléculaire afin de mesurer des intensités. Le FRET est utilisé principalement avec la GFP et ses dérivées.⁽³⁾

2. Méthode

Cette technique utilise deux fluorochromes, un donneur va transmettre son énergie à un autre fluorochrome accepteur. Ce qui permet d'étudier des interactions entre deux molécules distantes de 7nm.⁽¹⁾ Lorsque l'on veut visualiser le transfert d'énergie on utilise un microscope à fluorescence confocal (monophoton, 2 photons spinning disque, ..), avec un filtre laissant passer les longueurs d'ondes d'excitation et d'émission du donneur et de l'accepteur, ainsi que d'un filtre correspondant aux longueurs d'onde d'excitation du donneur et d'émission de l'accepteur.⁽³⁾

Expérimentalement le signal obtenu avec le FRET peut être mesuré à l'aide d'un fluorimètre ou en microscopie. Lorsque l'on mesure avec un fluorimètre le signal mesuré provient d'une population cellulaire disposé dans des puits de tailles différentes selon les microplaques utilisées. On peut mesurer le FRET entre deux fluorophores en mesurant la diminution de la fluorescence du donneur et l'augmentation de celle de donneur ou en calculant la fluorescence d'émission de l'accepteur et la fluorescence d'émission du donneur.⁽²⁾

Pour pouvoir utiliser cette technique il faut que les 2 molécules fluorescents soient des dipôles électrostatiques, il faut que le spectre d'émission du donneur chevauche le spectre d'excitation du receveur, et il faut que les molécules soit proche l'une de l'autre.

On peut également visualiser un changement de conformation d'une protéine en fusionnant sur 2 parties différentes d'une protéine, 2 fluorophores.⁽²⁾

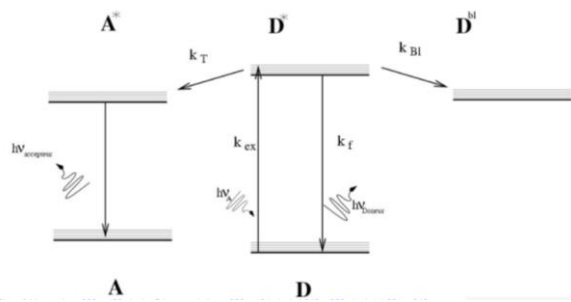


Fig1 : Diagramme de Jablonsky. La molécule D (le donneur) passe à l'état excité D*. En fournissant son énergie d'excitation à A (accepteur), il permet son excitation sous forme de A*

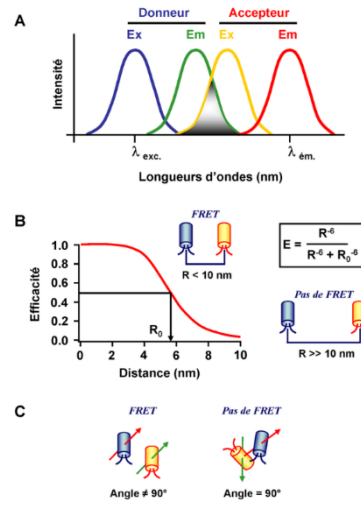


Fig2 : Condition pour utilisation FRET

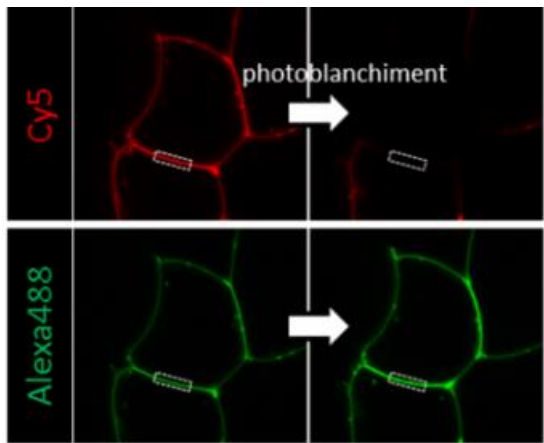


Fig 3 : Résultats observable au microscope à fluorescence

Avantages et Inconvénients	
Avantages	Inconvénients
Permet dépistage hybridation/mutation d'ADN	Difficulté d'analyse des signaux car recouvrement pouvant exister entre les spectres d'excitation et d'émission
Permet l'étude de protéines	Important bruit de fond donc réduction sensibilité du test

Il existe différents types de FRET tel que :

- FRET par photoblanchiment (pbFRET)

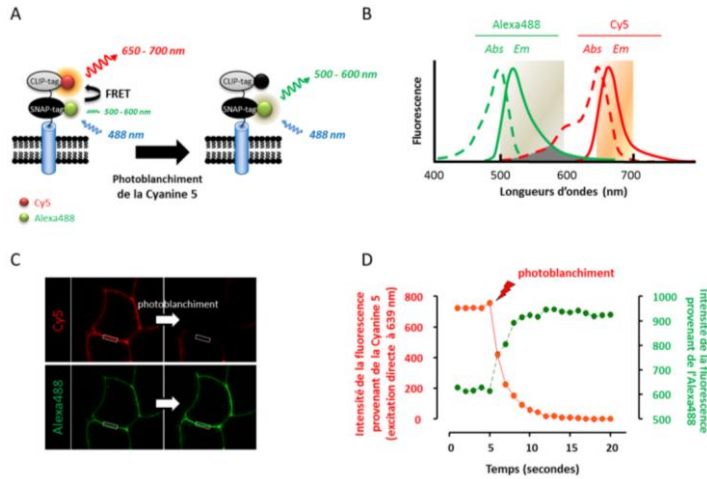


Fig4 : techniques et resultat obtenus avec technique pbFRET

- TR-FRET (Time-Resolved Förster Resonance Energy Transfer) : est une technique qui permet d'améliorer le bruit du FERT en s'affranchissant d'une partie des signaux parasites grâce à une lecture en temps résolu.

Sources

- (1) <http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/TexteTD/5TDBioCell1/2TDMethodEtudCell/3Figures/3Fluorescence/1Fluorescence.htm#:~:text=La%20technique%20du%20FRET%20%28transfert%20d%27%C3%A9nergie%20de%20r%C3%A9sonance,Elle%20permet%20d%27%C3%A9tudier%20des%20interactions%20entre%20deux%20mol%C3%A9cules.>
- (2) https://fr.wikipedia.org/wiki/Transfert_d%27%C3%A9nergie_entre_mol%C3%A9cules_fluorescentes
- (3) <https://biologiecellulaire.wordpress.com/2014/05/22/fret/#:~:text=Le%20transfert%20d%27%C3%A9nergie%20entre%20mol%C3%A9cules%20fluorescentes%20%28FRET%29%20est,Ce%20dernier%20estune%20autre%20mol%C3%A9cule%20fluorescente%20on%20excit%C3%A9.>
- (4) [https://www.news-medical.net/life-sciences/FRET-Applications-in-Biology-\(French\).aspx](https://www.news-medical.net/life-sciences/FRET-Applications-in-Biology-(French).aspx)

- (5) <https://fr.byvdev.com/universal-bioluminescence-resonance-energy-transfer-sensor-design-enables-high-sensitivity-screening-494338#menu-20>