

Thèse – Pierre EZANNO

Résumé :

Membranaires ou solubles, les protéines sont sensibles à leur environnement. La tension mécanique latérale de membrane via les lipides est un paramètre physico-chimique de l'environnement des protéines membranaires.

La flippase (protéine membranaire) peut moduler cette tension en créant une asymétrie de population des lipides entre les deux feuillet d'une membrane. La flippase des érythrocytes est, dans cette thèse, utilisée non purifiée : à partir de sa membrane native. Une protéine membranaire mécanosensible change de conformation en fonction de la tension mécanique dans la membrane ; exemple, le MscL (Mechano sensitive channel Large conductance).

La flippase reste active dans les systèmes membranaires géants utilisés, malgré une étape de déshydratation partielle de la membrane. L'activité flippase est détectée par des changements de forme de liposomes suite à un ajout de Mg ATP. Puis, la tension mécanique latérale est déclenchée dans une membrane qui contient la flippase et aussi le MscL dont le changement de conformation est enregistré en électrophysiologie. En présence d'activité flippase, le comportement du MscL est modifié : la tension requise pour l'ouverture diminue.

**

Summary:

Membrane proteins and soluble proteins are sensitive to their environment. The lateral mechanical tension in membrane via lipids is a physico chemical parameter of membrane protein environment.

The flippase (a membrane protein) can modulate this tension creating an asymmetry of lipids populations between both of membrane leaflets. Flippase from erythrocytes is, in this thesis, used unpurified: from her native membrane. A mechanosensitive membrane protein changes conformation according to the mechanical tension in the membrane; for example, the MscL (Mechano sensitive channel Large conductance).

The flippase is still active in giant membrane systems used, despite a partial dehydration step of membrane. Flippase activity is detected with liposome shape changes following an addition of Mg APT. Then, lateral mechanical tension is triggered in a membrane containing the flippase and the MscL the opening of which is monitored by electrophysiology. In the presence of flippase activity, the MscLs behaviour is modified: the required tension to open the channel is lowered.