

**ORANGE CAROTENOID PROTEIN DANS DES MATRICES INORGANIQUES: COUPLAGE ENTRE  
MESURES SPECTROSCOPIQUES ET SIMULATIONS MOLÉCULAIRES**

**ORANGE CAROTENOID PROTEIN IN INORGANIC MATRICES: COUPLING SPECTROSCOPIC  
MEASUREMENTS AND MOLECULAR SIMULATIONS**

*Etablissement* **Sorbonne Université SIM (Sciences, Ingénierie, Médecine)**

*École doctorale* **Physique et Chimie des Matériaux**

*Spécialité* **Physique et chimie des matériaux**

*Unité de recherche* **Laboratoire de Réactivité de Surface**

*Encadrement de la thèse* **Alberto MEZZETTI (detailResp.pl?resp=84641)**

**Financement** du 01-10-2023 au 30-09-2026

*Début de la thèse le* **1 octobre 2023**

*Date limite de candidature (à 23h59)* **15 avril 2023**

**C O N T A C T**

**SPEZIA Riccardo**

 Riccardo.Spezia@Sorbonne-  
Universite.fr

(mailto:Riccardo.Spezia@Sorbonne-  
Universite.fr)

 01 44 27 70 87

**Mots clés - Keywords**

Orange Carotenoid Protein , Spectroscopie théorique, silice mésoporeuse, protéine photoactive, spectroscopie IRTF différentielle, simulations QM/MM

Orange Carotenoid Protein, theoretical spectroscopy, mesoporous silica, photoactive protein, FTIR difference spectroscopy, QM/MM simulations

**Description de la problématique de recherche - Project description**

Plusieurs protéines photoactives sont utilisées dans plusieurs domaines, de l'optogénétique aux biocapteurs.

Récemment, plusieurs groupes de recherche, y compris le nôtre, a exploré l'encapsulation de protéines photoactives dans des matrices de silice mésoporeuse. Dans notre laboratoire, la protéine photoactive Orange Carotenoid Protein (OCP) [1], impliquée dans la photoprotection des cyanobactéries, a été immobilisé sur des matrices SBA-15 [2, 3]. L'OCP preserve sa photoactivité meme dans la matrice inorganique. Le choix de l'OCP a été suggéré par sa simplicité (elle est constituée par une chaîne de 300 acides aminés et un seul caroténoïde), par son comportement photochromique et pour ses excellentes propriétés antioxydantes.

Le mécanisme de photoactivation de l'OCP est l'objet d'un forte débat dans la littérature [4-7], avec la spectroscopie infrarouge résolue en temps parmi les techniques les plus utilisées [4,6,7]. Nous avons récemment identifié [4, 8], par spectroscopie IRTF différentielle statique, certains bandes qui ont été attribuées à des alfa hélices spécifiques de la protéine et à certaines vibrations de la caroténoïde.

Dans ce projet nous envisageons conduire des études spectroscopiques (principalement, pas exclusivement, de spectroscopie IRTF différentielle statique et résolue en temps) sur l' OCP dans des matrices de silice pour étudier l'influence de l'environnement sur le photocycle. Des simulations moléculaires permettront d'identifier les bandes vibrationnelles pour mieux comprendre le rôle de l'environnement local sur le mécanisme de photoactivation. Pour ce faire, une combinaison de simulations classiques et QM/MM seront utilisés.

Several photoactive proteins are nowadays used in various fields, ranging from optogenetics to biosensors.

Recently, several research groups, including ours, have explored the encapsulation of photoactive proteins in mesoporous silica matrices. In our laboratory LRS, the photoactive Orange Carotenoid Protein OCP [1], involved in photoprotection of cyanobacteria, has been successfully encapsulated in SBA-15 matrices [2] Interestingly, OCP retains its photoactivity when bound to the matrix [2,3]. The choice of OCP has been prompted by its simplicity (being constituted by a ~300 amino acids and a single carotenoid, acting as a chromophore), its photochromic behaviour and its strong anti-oxidant properties.

The photoactivation mechanism of OCP is still object of lively debate [4-7] with time-resolved IR spectroscopy as one of the main used techniques [4,6,7]. We have recently identified [4,8] by static FTIR difference spectroscopy some putative IR marker bands for specific alpha-helices and for the carotenoid. In this project we plan to perform spectroscopic studies (mainly, but not exclusively, static and time resolved IR difference spectroscopy) on OCP inside mesoporous silica matrices to clarify the influence of the environment of the photocycle. Molecular simulations will be also performed to identify the vibrational bands to understand the role of local environment on the photoactivation mechanism. At this aim, a combination of classical and QM/MM molecular dynamics simulations will be used.

## Thématique / Domaine / Contexte

---

Le sujet de thèse est dans le périmètre de la thématique 'Biointerfaces' active depuis 20 ans au LRS.

Spectroscopie moléculaire couplée à des simulations théoriques pour mieux comprendre la dynamique d'une protéine photoactive dans une matrice mésoporeuse inorganique

L' Orange Carotenoid Protein est parmi les protéines photoactives les plus étudiées - à l'heure actuelle - au niveau mondial. Plusieurs articles dans des journaux à très fort facteur d'impact ont été publiés dans les dernières années (Science, Nature Comm, JACS, PNAS...). Notre équipe est la seule - pour l'instant - à avoir développé un protocole pour l'encapsulation de l'OCP dans des matrices inorganiques mésoporeuses tout en gardant son photoactivité.

De plus, le Dr Mezzetti et le Dr Spezia collaborent dans le domaine des protéines photoactives depuis 2008 (5 articles publiés ensemble). A mentionner que ce projet suit la thèse de Silvia Leccese (2019-2022) que était plus focalisée sur la mise au point des procédures d'encapsulation de l'OCP dans les matrices mésoporeuses.

## Objectifs

---

Meilleure compréhension du mécanisme du photocycle de l'Orange Carotenoid Protein

Meilleure compréhension de l'influence de la matrice sur ce photocycle, dans le but de développer des matériaux hybrides avec propriétés photochromiques et antioxydantes sur mesure

## Méthode

---

Nous allons utiliser plusieurs techniques spectroscopiques (UV-Vis, Raman...) mais surtout la spectroscopie IRTF différentielle résolue dans le temps, dont le Dr Mezzetti est l'un des spécialistes au niveau mondial. L'originalité de l'approche est 1) de se focaliser sur l'influence de la matrice inorganique

2) de coupler les mesures à des simulations QM/MM très avancées, grâce à la co-direction du Dr Spezia

## Résultats attendus - Expected results

---

Nous estimons pouvoir aboutir à plusieurs articles, dont au moins un dans un journal de très haut niveau.

## Références bibliographiques

---

[1] F. Muzzopappa, D. Kirilovsky, *Trands in Plant Science* 2020, 25, 92

[2] S Leccese, T Onfroy, A Wilson, D Kirilovsky, S Casale, S Guira, M. Selmane, C. Jolival, A. Mezzetti, *Microporous mesoporous materials* 2022, 340, 112007

[3] S. Leccese. Thèse 'Interactions entre la Orange Carotenoid Protein et la silice mésoporeuse: des investigations spectroscopiques aux dispositifs nano-actifs' Sorbonne Université, Septembre 2022.

[4] A Mezzetti, M Alexandre, A Thurotte, A Wilson, M Gwizdala, D Kirilovsky

*The Journal of Physical Chemistry B* 2019, 123, 3259-3266

[5] Maksimov et al, *Scientific Reports* 2020, 10, 11729

[6] P.E. Konold, I. H. M. van Stokkum, F. Muzzopappa, A. Wilson, M.-L. Groot, D. Kirilovsky, J.T. M. Kennis\*, *J. Am. Chem. Soc.* 2019, 141, 1, 520–530

[7] V. U. Chukhutsina et al. *Nature Comm.* 2022, 13, 6420

[8] S. Leccese, A. Wilson, D. Kirilovsky, R. Spezia, C. Jolival, A. Mezzetti, *Photochem Photobiol. Sci.* 2023, accepté pour la publication.

DOI : 10.1007/s43630-023-00384-7

## Précisions sur l'encadrement - Details on the thesis supervision

---

Le doctorant sera suivi pour la partie de calculs théoriques pour la simulation des spectres expérimentaux acquis au LRS par le Dr Spezia, DR CNRS, Laboratoire Chimie Théorique, UMR 7616 Sorbonne Université. Le fait que le superviseur et le co-encadrant soient sur le même campus est sans doute un atout et permettra des réunions régulières en présentiel entre le superviseur, le co-encadrant et le doctorant.

## Conditions scientifiques matérielles et financières du projet de recherche

---

Disponibilité d'un spectromètre IRTF rapid-scan de dernière génération acquis en 2018 (grâce à un AAP du Labex Matisse) et des accessoires nécessaires, par exemple les LED pour la photoactivation, au LRS. La plateforme classique de spectroscopie (IR, UV-Vis, Raman) du LRS sera aussi utilisée.

Utilisation du grappe de calcul du LCT pour les premiers test et la possibilité ensuite d'utiliser les centres de calcul nationaux. Le LCT développe le code Tinker-HP qui pourra être utilisé dans le cadre de la thèse. Le Dr Mezzetti envisage participer à un ANR sur la photoactivation de l'OCP à déposer l'année prochaine.

## Ouverture Internationale

---

Le Dr Mezzetti et le Dr Spezia collaborent depuis longtemps avec des collègues italiens sur les biomolécules photoactives et ont des contacts très forts avec les communautés internationales de la spectroscopie moléculaire (notamment vibrationnelle) et de la chimie théorique appliquée à la spectroscopie. Ils participent régulièrement (souvent comme invités) à des conférences internationales. Le Dr Mezzetti est en train d'organiser une école thématique européenne sur la spectroscopie optique appliquée à l'étude des mécanismes de réaction.

De plus, la communauté européenne qui travaille sur l'OCP est très liée, et un workshop européen a eu lieu en Janvier 2023 (le Dr Mezzetti était orateur invité).

## Objectifs de valorisation des travaux de recherche du doctorant : diffusion, publication et confidentialité, droit à la propriété intellectuelle,...

---

Nous estimons que les résultats de ce projet doivent être diffusés le plus largement possible, donc publiés dans des journaux à haut facteur d'impact et, où possible, en 'open access'.

## Collaborations envisagées

---

Nous allons collaborer avec le Dr Adjélé Wilson, Université Paris-Saclay, qui nous fournira la protéine OCP. Nous envisageons également collaborer avec le Pr Mennucci, Université de Pise, qui a publié deux articles théoriques sur la photoactivation de l'OCP. A la fois le Dr Mezzetti et le Dr Spezia ont déjà collaboré (et publié) avec le Pr Mennucci. D'autres collaborations par l'intermédiaire du 'réseaux OCP' européen ne sont pas à exclure.

## Profil et compétences recherchées - Profile and skills required

---

Physico-chimiste avec expérience en spectroscopie vibrationnelle et en calculs associés, ainsi que un fort intérêt pour la biophysique, la photochimie et la science de matériaux.

Physical Chemist with experience in vibrational spectroscopy and in related calculations, and a strong interest in biophysics, photochemistry and material science.

Dernière mise à jour le 24 février 2023