

Chimie du vivant et rayonnement synchrotron

Serge Pérez

À l'interface entre les sciences du vivant, la physique et la chimie, la biologie structurale a pour objet la compréhension de la structure des macromolécules biologiques (protéines, acides nucléiques, lipides, sucres...) à l'échelle atomique et d'intégrer ces connaissances à leurs propriétés dynamiques, leurs assemblages et leurs fonctions. En lien avec les données biochimiques, enzymatiques et fonctionnelles, la biologie structurale permet des avancées déterminantes dans l'élucidation des fonctions des protéines. C'est une étape fondamentale pour la compréhension des assemblages supramoléculaires vers l'échelle cellulaire et au-delà. La résolution de ces structures, composées de plusieurs milliers d'atomes, fait appel à des méthodes physiques, la plus utilisée étant la cristallographie des rayons X.

Les cristaux macromoléculaires, libres ou complexés de leurs substrats, sont souvent de petites tailles (quelques dizaines de microns) et très fragiles. L'enregistrement de données de diffraction requiert un appareillage complexe et une source de rayons X très intense. L'utilisation de rayonnement synchrotron a été décisive dans l'avancée de la biologie structurale et est à l'origine de l'essor considérable qu'a connu cette discipline au cours des quinze dernières années. Depuis la détermination à l'échelle atomique de la structure tridimensionnelle de la myoglobine en 1958, le nombre de structures de protéines de complexité croissantes qui ont été résolues s'est considérablement enrichi.

La complexité et la taille des systèmes macromoléculaires étudiés se traduisent par l'obtention de monocristaux de plus en plus petits. Des lignes de lumière équipées de microfaisceaux ont donc été aménagées. À l'ESRF, la dimension du faisceau de la ligne de lumière ID23-2 est de 5 x 7 µm et le faisceau de la ligne de lumière ID13 peut être ajusté entre 70 nm et 1 µm. Cette réduction de dimension nécessite le développement d'outils d'observation appropriés et de micromanipulations.

Aux difficultés liées aux dimensions des monocristaux s'ajoutent celles liées à la qualité de l'organisation structurale et donc à la qualité des données de diffraction. Il faut identifier parmi un ensemble de plusieurs centaines, voire de milliers d'échantillons, celui qui apportera une réponse structurale à la question biologique posée (comme dans le cas de la structure du ribosome). **Il faut évaluer avant de mesurer.** Des développements importants ont été réalisés dans le domaine de l'automatisation – passeurs d'échantillons, robots – et du traitement informatique des données. Ils permettent d'ordonner les échantillons selon des critères de qualité et de n'enregistrer les données que sur les meilleurs échantillons. L'automatisation représente le futur de la

biologie structurale (traitement de plusieurs centaines de milliers d'échantillons par an à l'ESRF) et conforte le traitement à distance des mesures et collections de données.

La spectroscopie d'absorption X appliquée aux biomolécules donne des informations locales précises sur la structure 3D d'une macromolécule ou d'un assemblage macromoléculaire et s'applique entre autre à des échantillons en solution. Elle permet des caractérisations structurales complémentaires de celles obtenues par diffraction, mais aussi de construire à partir de la connaissance d'éléments constitutifs des assemblages macromoléculaires complexes qui ne cristallisent pas, ou mal. Les mesures de diffusion SAXS peuvent être menées sous incidence rasante (méthode GISAXS) à des fins de caractérisation d'auto-assemblages moléculaires. D'autres spectroscopies d'absorption X (XANES, EXAFS) permettent de déterminer la sphère de coordination d'ions métalliques, dont la liaison à des peptides accompagne la formation d'agrégats tels que les plaques amyloïdes.

La complémentarité des méthodes d'analyse structurale par cristallographie des rayons X et des méthodes de spectroscopies optiques (absorption de lumière UV-visible, émission de fluorescence, spectroscopie vibrationnelle Raman) ouvre la voie à la cristallographie cinétique des protéines. Elle permet de vérifier que la protéine cristallisée est dans le même état fonctionnel que la protéine en solution. La cristallographie cinétique s'applique aux protéines photosensibles. Lorsqu'une protéine n'est pas photosensible par elle-même, on peut la rendre photo-activable grâce à l'adjonction de composé « cagé » photolabile sur le substrat, ou sur la protéine elle-même.

Environ 90 % des structures de protéines résolues et déposées dans la « Protein Data Base » résultent d'expériences réalisées à l'aide du rayonnement synchrotron. Les contours d'une cristallographie macromoléculaire à haut débit sont en train d'apparaître qui, dans la complémentarité des données issues des spectroscopies et de l'imagerie synchrotron, confèrent aux sources de la 3^e génération un rôle majeur dans les programmes de biologie des systèmes et de la chimie du et pour le vivant.



Serge Pérez

est directeur scientifique de la division des expériences de l'ESRF, en charge des programmes de sciences du vivant, de l'imagerie par rayons X et des sciences de la matière molle*.

* European Synchrotron Radiation Facility (ESRF), BP 220, F-38043 Grenoble Cedex 09.
Courriel : serge.perez@esrf.eu