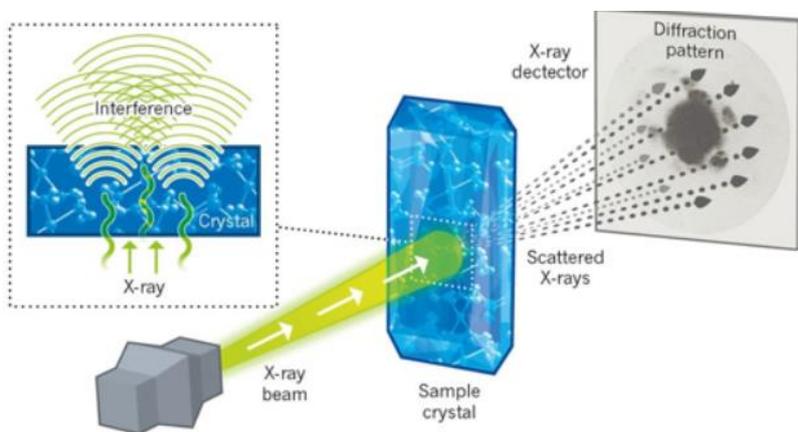


CRISTALLOGRAPHIE

SCIENCES EN TÊTE BIOLOGIE-ANNEE 2020-2021

1. PRINCIPE

La cristallographie permet d'observer des molécules, notamment à l'échelle de l'atome (10^{-10}) (ex : macromolécules, acides nucléiques, protéines...). Cette technique consiste à bombarder un cristal composé de macromolécules avec des rayons X. Pourquoi utiliser des rayons X ? Les longueurs d'ondes des rayons X sont de l'ordre de l'angström ce qui correspond à la distance approximative entre deux atomes liés. Pourquoi utiliser un cristal ? Dans un cristal les macromolécules identiques (environ 10^{15}) sont arrangées périodiquement selon les trois directions de l'espace et l'obtention du profil structural est plus facile.



Source : N. Jones (2014)

Figure 1 : Principe de fonctionnement de la cristallographie : la diffraction des rayons X par les électrons des atomes des macromolécules, permet par le calcul de retrouver la distribution du nuage électronique (=densité électrique), et donc la localisation de chaque atome et ses coordonnées 3D et ainsi reconstituer la structure de la macromolécule.

2. GRANDES ETAPES DE LA CRISTALLOGRAPHIE

- Analyses bioinformatiques de la séquence de macromolécule d'intérêt
- Méthodes biomoléculaires et biochimiques :
 - Clonage du gène d'ADN codant pour la macromolécule dans un vecteur d'expression
 - Purification des protéines (chromatographie) et caractérisation de l'échantillon
 → But : Obtenir un échantillon aqueux concentré (dizaine de gramme par litre) de macromolécules pur (> 98 %)
- Méthodes physico-chimiques :
 - Cristallisation de l'échantillon
 → But : Obtenir un cristal unique et homogène diffractant à la plus grande résolution possible. (A noter que la taille et la morphologie des cristaux ne sont pas forcements liés à leur pouvoir diffractant)



- Les cristaux péchés à l'aide d'une boucle cyrocongelée sont placés dans un faisceau de rayons X monochromatiques (parallèlement on fait tourner le cristal lors des mesures de diffractions)
 - Les ondes diffusées par les électrons des macromolécules s'additionnent et génèrent une tâche de diffraction dans des directions données (la tâche permet la caractérisation de l'amplitude de l'onde diffractée mais la phase ne peut pas être mesurée expérimentalement). L'ensemble des tâches forment le réseau de diffraction.
 - La distribution des tâches renseigne sur la maille du cristal, donc sur les dimensions de l'élément étudié.
 - L'intensité de la tâche est corrélée à la densité électronique des macromolécules
- Analyses mathématiques (par transformation inverse de Fourier) :
 - Détermination de la phase (par les méthodes de : remplacement moléculaire, remplacement isomorphe ou diffusion anormale) pour retrouver la densité électronique
 - Modélisation d'une carte de densité électronique
- Interprétations de la structure et son intégration dans le contexte biologique

AVANTAGES ET INCONVENIENTS

Avantages	Inconvénients
Reconstitutions 2D et 3D de la macromolécule	L'échantillon étudié doit être cristallisable
Technique relativement simple et de faible coût	Nécessité de travailler sur un monocristal organisé
Technique indépendante de la taille ou du poids moléculaire	Etude statique des macromolécules
Bonne résolution atomique	Limites d'analyse de certaines macromolécules (ex : protéines membranaires (solubilité faible))

APPLICATIONS

Dans le domaine de la santé (étude pathologique) la cristallographie a permis de reconstituer la structure de certaines protéines afin de pouvoir fabriquer des médicaments de plus en plus efficaces (ex : tuberculose)

SOURCES ET EN SAVOIR PLUS

<https://www.cnrs.fr/occitanie-ouest/IMG/pdf/petitcristalillustre2014b.pdf> (Le petit Cristal n°23,2014)

<https://www.lactualitechimique.org/Comment-voir-les-proteines-et-l-ADN-en-trois-dimensions-La-cristallographie-biologique> (Mayer, l'actualité chimique 2014)