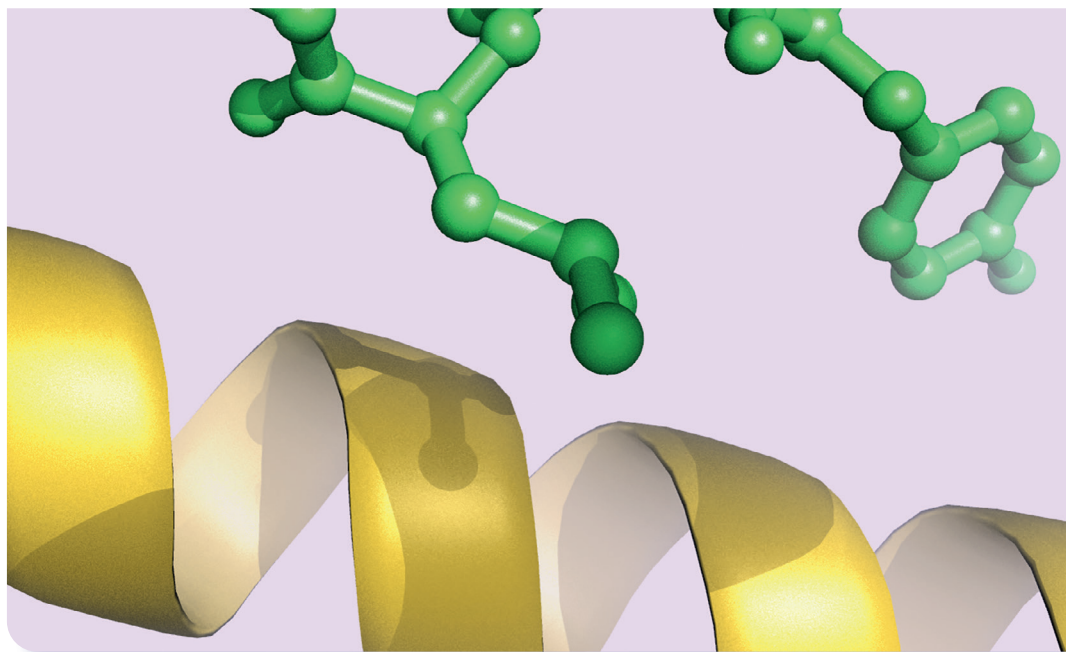


Marie-Hélène le Du, Pierre Legrand,
Serena Sirigu et Sylvain Ravy

Introduction à la cristallographie biologique



Préface d'Anne Houdusse

Marie-Hélène le Du, Pierre Legrand, Serena Sirigu et Sylvain Ravy

Introduction à la cristallographie biologique

Dans le monde du vivant, les mécanismes mis en jeu pour respirer, digérer, grandir ou bouger un bras, impliquent des molécules constituées de milliers d'atomes, ce sont les macromolécules. Ces macromolécules circulent, interagissent et se contournent en permanence. Visualiser ces macromolécules à l'échelle atomique constitue une aide incomparable pour comprendre comment elles fonctionnent, comment elles dysfonctionnent, et pour concevoir des médicaments, inhibiteurs ou activateurs. Quand on utilise la structure tridimensionnelle d'une macromolécule, il est essentiel de garder un œil critique, et pour cela, il faut comprendre comment cette structure a été obtenue. La cristallographie aux rayons X est une méthode historique qui utilise des rayons X et des cristaux pour déterminer la structure tridimensionnelle des molécules à l'échelle atomique. Elle est également la méthode la plus répandue.

Ce livre s'adresse d'abord aux biologistes, mais aussi à toute personne intéressée par la biologie structurale. Les auteurs vous proposent une initiation aux différentes étapes de la cristallographie biologique qui mène de la cristallisation à la structure tridimensionnelle d'une macromolécule. Ce livre fait suite au MOOC « Voyage au cœur du vivant avec des rayons X : la cristallographie ». Il peut en être le compagnon ou être utilisé seul. Grâce aux vidéos accessibles par les codes QR de chaque fin de chapitre, des lieux d'ordinaire fermés au public sont ouverts pour vous offrir un voyage unique au cœur du vivant.

Marie-Hélène le Du est biophysicienne au CEA à l'Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (I2BC/CNRS) de l'Université Paris-Saclay.

Pierre Legrand est scientifique de ligne sur la ligne Proxima-1 et membre de Héliobio au Synchrotron SOLEIL.

Serena Sirigu est scientifique de ligne sur la ligne Proxima-2A et membre de Héliobio au Synchrotron SOLEIL.

Sylvain Ravy est directeur de recherche au CNRS, au Laboratoire de Physique des Solides (LPS/CNRS) de l'Université Paris-Saclay.



Introduction à la biocristallographie

*Marie-Hélène Le Du, Pierre Legrand,
Serena Sirigu et Sylvain Ravy*

Illustration de couverture : Logo du MOOC « Voyage au cœur du vivant avec des rayons X », diffusé sur France Université Numérique.

Imprimé en France

ISBN (papier) : 978-2-7598-2454-0 – ISBN (ebook) : 978-2-7598-2550-9

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés, réservés pour tous pays. La loi du 11 mars 1957 n'autorisant, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, d'une part, que les « copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective », et d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration, « toute représentation intégrale, ou partielle, faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite » (alinéa 1er de l'article 40). Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait donc une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du code pénal.

© EDP Sciences, 2021

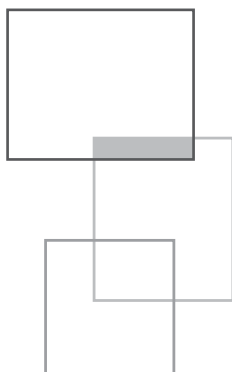


Table des matières

Table des matières	3
Table des encadrés	7
Préface	9
Préambule	13
Introduction	15
Qu'est-ce qu'une macromolécule biologique ?	15
Comment étudier la structure d'une macromolécule biologique ?	19
Vidéos associées	21
Chapitre 1 • Histoire de la cristallographie aux rayons X	23
1.1 La découverte des rayons X	23
1.2 La nature des rayons X	24
1.3 Naissance de la cristallographie	25
1.4 La découverte de la diffraction	26
1.5 Les premières structures	27
1.6 Le coup de génie de Sir William Henry Bragg	28
1.7 L'arrivée de la biologie	30
1.8 Rosalind Franklin et le secret du cliché 51	34
1.9 CCP4 : Collaborative Computational Project No 4	36
Références	40
Vidéos associées	42

Chapitre 2 • Préparation des échantillons	43
2.1 Connaître son échantillon	43
2.1.1 Prédiction des régions structurées d'une protéine	44
2.1.2 Approche biochimique : la protéolyse ménagée	47
2.2 Clonage, production, purification des échantillons	49
2.2.1 Le clonage	49
2.2.2 La (sur)production	50
2.2.3 La purification	52
Vidéos associées	56
Chapitre 3 • Caractéristiques et propriétés des cristaux	57
3.1 L'assemblage cristallin	57
3.2 Les symétries du cristal	59
3.3 Les réseaux de Bravais	60
3.4 Le réseau réciproque	62
Vidéos associées	65
Chapitre 4 • Les rayons X et la diffraction	67
4.1 Pourquoi utiliser des rayons X : l'interaction lumière / matière	67
4.1.1 Le choix des rayons X	68
4.1.2 L'interaction des rayons X avec les molécules	69
4.1.3 L'interaction des rayons X avec un réseau cristallin	73
4.2 La diffraction : la loi de Bragg	73
4.3 La diffusion anormale	76
Vidéos associées	78
Chapitre 5 • Cristalliser une macromolécule biologique	79
5.1 Principes généraux	79
5.1.1 Propriétés d'une protéine en solution	79
5.1.2 Schéma général du comportement de la protéine en solution	81
5.1.3 Agents cristallinisants	83
5.2 Approches, plateformes	83
5.2.1 Équipement nécessaire	84
5.2.2 Méthodes de cristallisation	84
5.2.3 Approches de cristallisation	86
5.2.4 Optimisation des conditions de cristallisation	87
Vidéos associées	89

Chapitre 6 • Voyage dans un synchrotron	91
6.1 Comment générer des rayons X ?	91
6.1.1 Premiers générateurs à rayons X	92
6.1.2 Le rayonnement synchrotron	93
6.2 Le dommage d'irradiation et la congélation des cristaux	95
6.2.1 Le phénomène de dommage d'irradiation	95
6.2.2 La congélation rapide des cristaux (flash freezing)	96
6.2.3 Procédé de congélation rapide des cristaux à l'azote liquide	96
6.3 Cabane expérimentale : l'environnement du cristal	98
6.3.1 Exemple de la ligne PROXIMA-1	98
6.3.2 La salle de contrôle	99
6.3.3 Les données de diffraction	100
Vidéos associées	102
Chapitre 7 • Acquisition, traitement et analyse des données de diffraction	103
7.1 La stratégie de collecte	103
7.1.1 Caractérisation du cristal	103
7.1.2 Le signal anomal	106
7.2 Le traitement des données de diffraction	107
7.3 L'analyse des données de diffraction	111
7.3.1 La loi de Friedel	111
7.3.2 Le choix du groupe de Laue	112
7.3.3 Évaluation de la qualité des données	112
Vidéos associées	115
Chapitre 8 • La transformée de Fourier	117
8.1 Introduction à la transformée de Fourier	117
8.1.1 La transformation de Fourier appliquée à la musique	118
8.1.2 La transformation de Fourier appliquée à un système cristallin	120
8.2 La transformée de Fourier et le problème de la phase	123
8.2.1 La transformée de Fourier	124
8.2.2 Le problème de la phase	126
Vidéos associées	127
Chapitre 9 • La fonction de Patterson	129
9.1 Le problème de la phase et la fonction de Patterson	129
9.1.1 Fonction de Patterson	129
9.1.2 Propriétés de la fonction de Patterson	130

9.1.3 Utilisation de la fonction de Patterson	133
Vidéos associées	134
Chapitre 10 • Le calcul des phases par remplacement moléculaire	135
10.1 Le remplacement moléculaire	135
10.1.1 Fonction de Patterson et remplacement moléculaire	136
10.1.2 Évaluation du résultat de remplacement moléculaire	139
Vidéos associées	141
Chapitre 11 • Le calcul des phases par approches expérimentales	143
11.1 Le remplacement isomorphe	143
11.1.1 Les données natives et dérivées	143
11.1.2 Fonction de Patterson et sections de Harker	145
11.1.3 Représentation vectorielle des sections de Harker	146
11.2 La diffusion anormale	148
11.2.1 Le signal anormal	148
11.2.2 Violation de la loi de Friedel	150
11.2.3 Exploitation du signal anormal	151
11.3 La combinaison des phases	153
Vidéos associées	154
Chapitre 12 • Amélioration des phases et construction du modèle	155
12.1 Erreur de fermeture et figure de mérite	155
12.2 Amélioration des phases	158
12.2.1 Modifications de la densité électronique	159
12.2.2 Boucle itérative d'amélioration des phases	160
12.3 Construction du modèle moléculaire	161
Vidéos associées	164
Chapitre 13 • Affinement et validation du modèle	165
13.1 Affinement	165
13.1.1 Le processus itératif d'affinement	167
13.1.2 Les cartes 2Fo-Fc, et Fo-Fc	169
13.1.3 Limites de l'affinement	170
13.2 Validation de la structure tridimensionnelle	172
Vidéos associées	175
Pour aller plus loin	177

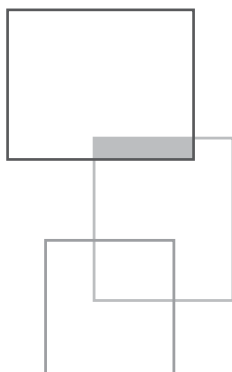
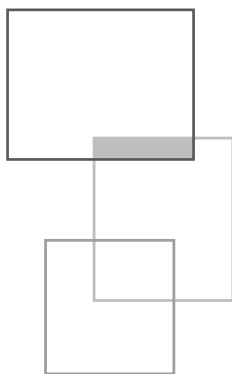


Table des encadrés

Les différentes catégories de macromolécules	16
La cristallographie aux rayons X et sa ribambelle de Prix Nobel	32
Les 20 acides aminés naturels	46
Les protéases et la protéolyse ménagée	48
Production de protéines marquées aux séléno-méthionines (SeMet)	52
Les opérations vectorielles	64
Processus d'interaction lumière / atomes	70
Facteur de diffusion atomique	72
Cristallisation des protéines membranaires	82
Production d'électrons à haute énergie	94
Petit historique des détecteurs bidimensionnels	108



Préface

Voyage au cœur du vivant avec des rayons X : la cristallographie

“A great advantage of X-ray analysis as a method of chemical structure analysis is its power to show some totally unexpected and surprising structure with, at the same time, complete certainty.”

Dorothy Hodgkin

Dans une ère post-génomique où l’acquisition de données scientifiques ne cesse de s’accélérer, un défi majeur est de repérer et valider les interactions clés pour un processus cellulaire particulier. Les interactions entre les composants de la cellule sont au cœur des fonctions du Vivant et elles ne peuvent être prédites. Les disciplines engagées dans l’étude fonctionnelle et structurale de ces composants sont essentielles et doivent guider les expériences des biologistes cellulaires et des microbiologistes. Grâce aux connaissances de la biologie moléculaire et à la visualisation de ces interactions, des expériences de biologie cellulaire peuvent être conçues de façon plus précises pour étudier l’impact de mutations ou d’interactions pour le processus cellulaire étudié. Les mécanismes clés qui régissent le Vivant peuvent ainsi peu à peu être déchiffrés.

Comprendre le Vivant doit donc s’appréhender en plongeant dans le monde des macromolécules, principaux composants des organismes vivants. Les décisions au sein d’une cellule sont régies par les multiples interactions et mécanismes chimiques dont sont capables ces composants. Pour rendre compte des fonctions

de ces macromolécules et des complexes qu'ils peuvent former, il est essentiel d'étudier leur structure tri-dimensionnelle, c'est-à-dire la position précise adoptée par les atomes de ces composants cellulaires dans l'espace. En effet, cette connaissance donne accès à la visualisation tridimensionnelle des interactions entre composants cellulaires, et elle est essentielle pour accéder aux propriétés dynamiques de ces composants. Au cours d'une reconnaissance ou d'un mécanisme chimique, cette structure tri-dimensionnelle peut se modifier : un changement conformationnel a alors lieu. Les changements conformationnels sont inhérents à la reconnaissance de composants cellulaires et de co-facteurs requis pour la fonction cellulaire, et permettent à un composant d'adopter des formes actives ou inactives. De même, l'interaction avec de petits composés chimiques, candidats-médicaments, peut modifier la structure du composant cellulaire ou influencer les changements conformationnels qu'il doit effectuer pour accomplir sa fonction cellulaire. Obtenir une structure tri-dimensionnelle comprenant le candidat médicament peut permettre d'optimiser l'accès vers de nouvelles molécules plus performantes et mieux comprendre le mécanisme d'action d'un médicament. Les approches de biologie structurale sont incontournables pour visualiser ces diverses conformations et pour rendre compte des interactions entre composants qui peuvent en émaner. Elles sont donc essentielles pour comprendre le Vivant au niveau le plus intime de la matière et diriger les recherches de nouvelles thérapies pharmacologiques.

Avec 23 prix Nobel décernés dans le domaine, la cristallographie est devenue au cours du XX^e siècle un instrument puissant pour étudier la structure de la matière. De nombreux défis ont été relevés alors que les puissances de calculs étaient dérisoires au XX^e siècle comparées à celles dont nous bénéficions aujourd'hui. Le développement de cette discipline au profit de la science du vivant est un exemple édifiant de coopération en particulier à travers le projet de calcul collaboratif CCP4 qui a permis de mobiliser les utilisateurs et les développeurs pour qu'ils travaillent ensemble sur les méthodes permettant de décrire une structure tridimensionnelle. Le chapitre 1 de ce livre relate l'histoire de cette discipline. Il s'en dégage un sentiment d'humilité devant l'ingéniosité des pionniers et de reconnaissance vis-à-vis des scientifiques qui ont permis les bonds en avant méthodologiques ou technologiques. En particulier, la communauté des cristallographes doit beaucoup aux scientifiques qui ont contribué au développement des lignes de lumière des grands instruments. Aujourd'hui, la cristallographie est ainsi une méthode robuste, efficace et accessible pour visualiser les constituants du vivant à haute résolution.

Les chapitres suivants présentent les différentes étapes et méthodes requises pour résoudre une structure par cristallographie. Ils sont écrits d'une manière synthétique et didactique tout en étant complète et pragmatique. L'exposé clair des principes théoriques est associé aux considérations pratiques pour mener les expériences à chaque étape de la détermination d'une structure d'une macromolécule. Le contenu est adapté pour démystifier la cristallographie biologique et la rendre accessible à tout scientifique. Les auteurs de ce livre apportent ainsi un document précieux pour les chercheurs néophytes en biologie structurale en leur permettant d'appréhender de façon concise les principes qui permettent de résoudre une structure. Les

paramètres importants pour évaluer la qualité des données structurales disponibles à la Protein Data Bank (PDB) sont aussi définis, notamment dans le chapitre 13.

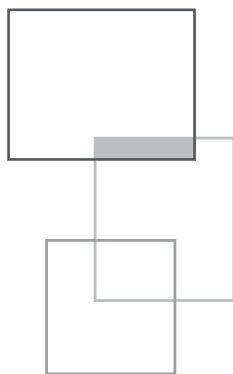
Une connaissance approfondie de la structure atomique des constituants du vivant est incontournable pour appréhender les mécanismes du Vivant. La richesse des informations d'une structure éclaire les résultats obtenus par les autres disciplines de la biologie. En émettant des hypothèses vérifiables, une structure est un guide précieux pour concevoir les expériences fonctionnelles de biologie cellulaire ou de reconstitution *in vitro* visant à décrire les processus régulant la vie d'une cellule et leur dysfonctionnement en cas de maladie ou d'invasion par un microorganisme ou un parasite. En apportant de façon synthétique une information critique pour accéder aux principes de base de la détermination d'une structure et en incitant ainsi les biologistes à prendre en compte la richesse des informations contenues dans une structure tridimensionnelle, ce livre aidera à rapprocher les approches de biologie moléculaire et de biologie cellulaire qui doivent coopérer pour étudier le Vivant.

Alors que les révolutions technologiques permettent aujourd'hui aux jeunes chercheurs d'acquérir des données plus rapidement et de poser des questions de plus en plus précises, il est plus que jamais indispensable pour la biologie cellulaire de s'enrichir des connaissances structure/fonction des composants cellulaires pour décrire les mécanismes qui régissent les processus cellulaires. Les études innovantes questionnant comment l'environnement d'une cellule ou les interactions entre cellules influencent les processus cellulaires décriront globalement comment une cellule est sensible à son environnement. Mais le défi est aussi de déchiffrer les mécanismes de lecture de la cellule qui intègrent ces informations. Visualiser les molécules du vivant, c'est une porte d'entrée riche d'informations qui sont recueillies à la PDB. Les biologistes doivent travailler ensemble pour exploiter ces informations et émettre des hypothèses qui guideront aussi bien les expériences de biologie cellulaire que de biochimie et de biologie structurale. Ainsi pourront-ils rendre compte des changements conformationnels des macromolécules qui sous-tendent les processus du Vivant, qu'ils soient physiologiques ou pathologiques.

"The important thing in science is not so much to obtain new facts as to discover new ways of thinking about them."

William Lawrence Bragg

Dr Anne Houdusse,
Directrice de recherche au CNRS, Membre de l'Académie des Sciences.



Préambule

L'exploitation des structures tridimensionnelles de macromolécules biologiques fait partie du quotidien d'un grand nombre de scientifiques biologistes. Ces structures permettent de comprendre le fonctionnement des molécules, de concevoir des mutants pour étudier leur fonction, ou encore de mettre au point des médicaments de façon à moduler leur activité. Cependant, le degré de fiabilité d'une structure tridimensionnelle n'est pas toujours le même, et les paramètres qui permettent d'évaluer cette fiabilité sont multiples. De façon à utiliser au mieux le modèle d'une macromolécule il est essentiel de conserver un regard critique, qui passe par la connaissance des forces et des limites de la méthode qui a permis de le construire.

Pour fournir aux biologistes les bases nécessaires à cet œil critique, avec l'aide de nombreux collègues, nous avons construit le MOOC¹ « Voyage au cœur du vivant avec des rayons X : la cristallographie ». Plusieurs sessions de diffusion se sont tenues sur la plateforme FUN-MOOC (<https://www.fun-mooc.fr/>), ainsi que quelques sessions en mode privatif (SPOC : Small Private Online Course) pour accompagner des ateliers de formation à la cristallographie biologique. Un MOOC est conçu pour être suivi entièrement en ligne à un moment précis dans le temps. Cet aspect temporel permet aux participants et aux encadrants d'échanger plus ou moins en direct sur un forum dédié. La contrepartie est qu'en dehors des sessions du MOOC, le contenu des cours n'est pas accessible, ce qui peut également être limitant.

1. MOOC : Massive Open Online Course. Il ne s'agit pas simplement de mettre des ressources pédagogiques en ligne et de les rendre accessible, mais d'un cours conçu pour être suivi entièrement en ligne à un moment précis, ce qui permet l'existence de forum internet de discussion, sur lesquels les participants et les encadrants pourront interagir, ainsi que la constitution de groupes de réseau internet qui dynamisent la communauté impliquée dans le MOOC.

Pour compléter le MOOC, nous avons décidé d'écrire ce livre dérivé de son contenu, révisé et enrichi de façon à pouvoir être utilisé indépendamment. Tout comme le MOOC, ce livre est une introduction à la cristallographie biologique, il s'adresse d'abord aux biologistes, mais aussi à toute personne intéressée par la biologie structurale. Nous avons choisi de commencer par vous raconter l'histoire de cette méthode centenaire et multidisciplinaire. Par ailleurs, de façon à satisfaire des niveaux de lecture variés, au fil des chapitres, nous avons inséré des « encadrés » qui reprennent certaines bases ou approfondissent des points particuliers. À la fin de chaque chapitre, nous avons regroupé les liens et codes QR qui permettent d'accéder aux vidéos du MOOC correspondant au chapitre. Enfin, nous avons regroupé les références dans l'annexe intitulée « Pour aller plus loin ».

La diversité de nos origines scientifiques transparait dans cette écriture à 8 mains, dans laquelle nous avons essayé de conserver un style accessible au plus grand nombre.

Nous avons bénéficié de l'aide de nombreux collègues dans ce travail. En particulier, nous tenons à remercier Pascal Arnoux, Patrice Gouet, Claudine Mayer et Mirjam Czjzek pour leur relecture du manuscrit et leurs commentaires constructifs. Tout en étant experte, Gerlind Sulzenbacher a réussi à endosser les vêtements d'un néophyte pour relever tout ce qui pouvait rester difficile d'accès, nous pensons qu'elle aura aidé beaucoup de lecteurs grâce à cela. Enfin, nous remercions vivement le Dr Anne Houdusse, de l'Académie des Sciences, qui nous a fait l'honneur d'accepter de préfacier le livre.

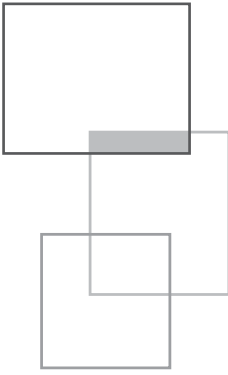
Enfin, ce travail n'aurait pas pu être réalisé sans le soutien du Commissariat à l'Énergie Atomique et aux Énergies Alternatives (CEA), de l'Université Paris-Saclay, du synchrotron SOLEIL et du Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS).

Marie-Hélène le Du est biophysicienne au CEA à l'Institut de Biologie Intégrative de la Cellule (I2BC/CNRS) de l'Université Paris-Saclay.

Pierre Legrand est scientifique de ligne sur la ligne Proxima-1 et membre de Héliobio au Synchrotron SOLEIL.

Serena Sirigu est scientifique de ligne sur la ligne Proxima-2A et membre de Héliobio au Synchrotron SOLEIL.

Sylvain Ravy est directeur de recherche au CNRS, au Laboratoire de Physique des Solides (LPS/CNRS) de l'Université Paris-Saclay.



Introduction

Qu'est-ce qu'une macromolécule biologique ?

La matière vivante est constituée de molécules organiques, dont certaines peuvent s'assembler entre elles pour former des molécules de plusieurs dizaines de milliers d'atomes, qu'on appelle des macromolécules (voir l'encadré sur [les différentes catégories de macromolécules](#)). Selon leur localisation et leur structure, ces macromolécules vont endosser des fonctions différentes et essentielles. Pour comprendre la fonction d'une macromolécule, il peut s'avérer crucial de connaître sa structure tridimensionnelle, c'est-à-dire l'organisation dans l'espace des atomes qui la composent. Ces informations permettent de comprendre les mécanismes associés aux fonctions des organismes vivants. Au-delà de la compréhension, elles peuvent servir de base pour concevoir des molécules qui vont bloquer, activer ou encore mimer ces fonctions.

La structure d'une macromolécule consiste en des blocs moléculaires distincts dont l'assemblage décrit cinq niveaux : la séquence, les structures secondaires, l'agencement spatial, les assemblages moléculaires et la dynamique. Ainsi, dans le cas des protéines :

- La séquence, 1D, correspond à l'ordre des acides aminés qui constituent la chaîne polypeptidique avec un squelette, l'enchaînement peptidique, et des chaînes latérales qui dépendent des acides aminés.
- Les structures secondaires, 2D, sont dues aux interactions du squelette. Elles incluent par exemple des brins bêta ou des hélices alpha.

Les différentes catégories de macromolécules

En biochimie, on définit trois grandes catégories de macromolécules, qui sont des biopolymères formés par l'enchaînement covalent de quelques centaines à plusieurs milliers de blocs moléculaires :

- Les polysaccharides, ou sucres complexes, sont constitués de monosaccharides. Chaque monosaccharide peut contenir 5 ou 6 carbones, comme le glucose (6 carbones), le fructose ou le ribose (5 carbones), naturellement replié en cycle. Ils ont un rôle de stockage d'énergie (l'amidon des féculents) ou de structuration cellulaire (la cellulose du bois).
- Les acides nucléiques sont constitués de nucléotides. Chaque nucléotide contient une base azotée (purique ou pyrimidique), un sucre (ribose ou désoxyribose) et un groupement phosphorique. La nature du sucre définit la catégorie de l'acide nucléique : acide ribonucléique (ARN) quand il s'agit d'un ribose, acide désoxyribonucléique (ADN) quand il s'agit d'un désoxyribose. Ils ont un rôle de stockage et transmission de l'information génétique, de régulation de l'expression génétique, et parfois de catalyse.
- Les protéines sont constituées de l'enchaînement peptidique des acides aminés (voir encadré, [chapitre 2](#)). Elles ont des fonctions de catalyse, de transport, de transmission de signaux...

Un aspect crucial des fonctions associées aux macromolécules passe par les nombreuses interactions stables ou transitoires qu'elles forment avec d'autres macromolécules, des ligands ou cofacteurs organiques, ou des ions. Une unité moléculaire fonctionnelle peut également être constituée de l'assemblage stable de macromolécules de catégories différentes : c'est le cas du ribosome (protéines + ARN), ou des nucléosomes (ADN + protéines). Certaines macromolécules sont elles-mêmes constituées d'un mélange de blocs de catégories différentes, comme le peptidoglycane (sucres + acides aminés) de la paroi de certaines bactéries. Enfin, les modifications post-traductionnelles comme les glycosylations des protéines ou les méthylations de l'ADN correspondent à l'ajout de blocs d'une autre catégorie à une macromolécule.

Dans la *Protein Data Bank* (PDB, la banque de stockage internationale des structures de macromolécules biologiques), plus de 90 % des structures déposées correspondent à des protéines seules, environ 5 % à des complexes protéine / acide nucléique, et 2 % à des acides nucléiques seuls (<https://www.rcsb.org/stats/summary>). Du fait de leur grande flexibilité, les polysaccharides sont presque absents de la PDB, sauf sous forme de glycosylation en conformation stable ou de fragment en complexe avec une protéine. Les acides nucléiques sont également très flexibles, mais peuvent adopter des conformations stables, comme dans le cas des ARN de transfert ou des quadruplex d'ADN. Par ailleurs, si la majorité des protéines adoptent un repliement structuré, de nombreuses protéines (entre 15 et 50 % selon les organismes), ou régions de protéines ne sont pas structurées, elles sont intrinsèquement désordonnées. Cela leur confère une plasticité à l'origine de leur importance dans certains phénomènes biologiques.

- La structure tertiaire, 3D, est due à la fois aux interactions du squelette et des chaînes latérales. Elle correspond à l'arrangement de la séquence et des structures secondaires dans l'espace tridimensionnel.
- L'assemblage moléculaire, 4D, vient des interactions entre chaînes polypeptidiques et/ou d'autres macromolécules. Il implique plusieurs chaînes polypeptidiques ou une ou plusieurs chaînes polypeptidiques et une ou plusieurs autres macromolécules.
- La dynamique, 5D, est due aux interactions avec le milieu, avec l'environnement chimique. Elle introduit la notion de mouvements structuraux dans le temps, les changements de conformation ou de forme d'une molécule ou d'un assemblage moléculaire (figure 1).

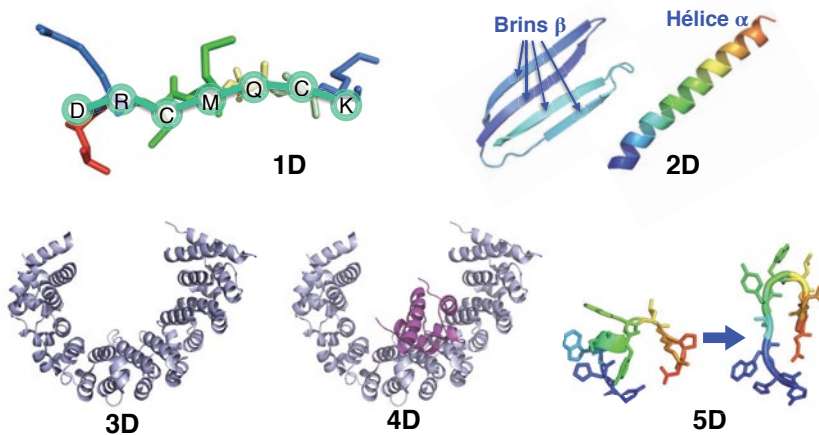


Figure 1 Représentation des différents niveaux d'organisation structurale d'une macromolécule biologique.

En biologie structurale, nous nous intéressons avant tout aux structures tridimensionnelles et quaternaires des macromolécules, et quand c'est possible à leur dynamique. Mais toutes les macromolécules ne sont pas nécessairement structurées (voir l'encadré sur [les différentes catégories de macromolécules](#)).

Continuons avec l'exemple d'une protéine. Nous pouvons la visualiser sous la forme d'un ruban, pour mettre en valeur les structures secondaires. Il est également possible de visualiser seulement la surface de la molécule, de façon à mettre en valeur son encombrement et éventuellement les potentiels électrostatiques créés par la répartition des charges positives et négatives à la surface de la protéine. Il peut être intéressant de représenter tous les atomes, sous forme de bâtonnets, ou sous forme de sphères dont la taille sera ajustée au nombre d'électrons de l'atome (figure 2). Chacune de ces représentations est issue du même modèle tridimensionnel, mais permet de souligner des propriétés différentes de la molécule.

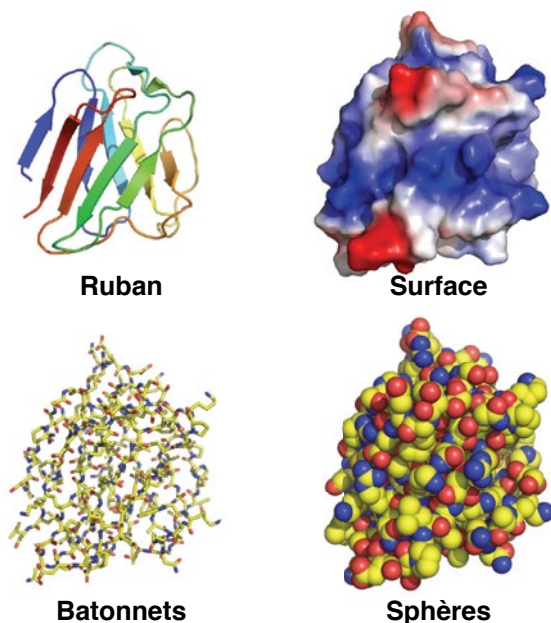


Figure 2 Différents modes de représentation d'une macromolécule biologique. Les flèches sur la représentation en ruban représentent le sens des brins bêtas. Les couleurs bleue et rouge sur la représentation en surface sont associées respectivement à un potentiel électrostatique positif et négatif. Sur les représentations en bâtonnets ou en sphères, les atomes de carbone sont en jaune, les oxygènes en rouge, les azotes en bleu. Notons que les atomes d'hydrogène ne sont pas représentés, car ils sont presque toujours invisibles dans les structures résolues par cristallographie aux rayons X.

Quelle que soit la représentation choisie, les logiciels adaptés lisent des fichiers de coordonnées, dans lesquels se trouve la position xyz de chaque atome de la molécule. Ces fichiers répondent à un standard international, dont le plus utilisé est celui d'une banque de données appelée la *Protein Data Bank*. Les fichiers de coordonnées sont disponibles sur deux sites principaux :

- RCSB (Research Collaboratory for Structural Bioinformatics) : <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> ;
- PDBe (Protein Data Bank in Europe) : <http://www.ebi.ac.uk/pdbe/>.

Quelques vidéos

Les séries de Fourier et la cristallographie : <https://www.dailymotion.com/video/x27u551>

Quelques animations de description du rayonnement synchrotron et ses applications :

<https://www.synchrotron-soleil.fr/fr/videos/soleil-une-source-de-lumiere-pour-la-recherche-vfstf-et-lsf-13>

<https://www.synchrotron-soleil.fr/fr/videos/les-lumieres-de-soleil-vfstf-et-lsf-23>

<https://www.synchrotron-soleil.fr/fr/videos/quand-la-lumiere-explore-la-matiere-vfstf-et-lsf-33>

<https://www.synchrotron-soleil.fr/fr/videos/le-synchrotron-soleil>

<https://www.synchrotron-soleil.fr/fr/videos/proxima-1-etude-des-proteines-par-cristallographie>

Vidéos du MOOC “Voyage au cœur du vivant avec des rayons X : la cristallographie.”

Applications :

Le monde des virus : <https://youtu.be/vP3lWfBekDU>

Ces mutations qui rendent malades : <https://youtu.be/36cKKLqG54Q>

De la photosynthèse aux bioénergies : 1- La photosynthèse : <https://youtu.be/sEPm37VRePs>

De la photosynthèse aux bioénergies : 2- Vers les bioénergies : <https://youtu.be/5UllIqUoSU>

Introduction :

1- Qu’est-ce qu’une structure tridimensionnelle : <https://youtu.be/YyqYkiPcyGI>

2- Les méthodes de biologie structurale : <https://youtu.be/BTgLGw5dD5A>

1.1 Histoire de la cristallographie aux rayons X : les débuts : <https://youtu.be/uBMipJbzz48>

1.2 Histoire de la cristallographie aux rayons X : suite : <https://youtu.be/Xzgv5wtgcco>

1.3 Le rôle du CCP4 : <https://youtu.be/unlDN2HfLkY>

2.1 Les prérequis : connaître son échantillon : <https://youtu.be/rTYO0hsUGiU>

2.2 Clonage, production, purification des échantillons : <https://youtu.be/RhBaWJjxFlw>

2.3 Visite du laboratoire : la préparation des échantillons : <https://youtu.be/ZA-nCSOloXE>

3. Interaction lumière / matière : <https://youtu.be/HiBrbKFfX4o>
4. Les caractéristiques d'un cristal et la loi de Bragg : <https://youtu.be/YjKhznck8f0>
- 5.1 Cristallisation : principes généraux : <https://youtu.be/CC7m2JM4yu8>
- 5.2 Cristallisation : Approches, plateformes : <https://youtu.be/dgPcErIBCEI>
- 5.3 Visite du laboratoire : cristallisation : <https://youtu.be/VUxspwIdyXc>
- 6.1 Comment générer des rayons X : <https://youtu.be/8SLr51Iblk8>
- 6.2 La congélation des cristaux : <https://youtu.be/rWG2Rqx2BEc>
- 6.3 L'environnement du cristal dans la cabane expérimentale : <https://youtu.be/l69Ebuj0SaU>
- 7.1 Acquisition des données : la stratégie de collecte : <https://youtu.be/EUHxyiAMzXo>
- 7.2 Le traitement des données de diffraction : https://youtu.be/AnVEJ_oSq1I
- 7.3 L'analyse des données de diffraction : <https://youtu.be/jqFEnTkGbke>
- 7.4 Les approches du futur : <https://youtu.be/6CFbzAtTOKY>
- 8.1 Introduction à la transformée de Fourier : <https://youtu.be/mZ2fDZb9l2o>
- 8.2 La transformée de Fourier et le problème de phase : <https://youtu.be/edSax-cHdTBU>
9. La fonction de Patterson : <https://youtu.be/gyxrLUHtGNo>
10. Le remplacement moléculaire : <https://youtu.be/5w6EY-ofCIA>
- 11.1 Phasage expérimental : le remplacement isomorphe : <https://youtu.be/bB7tYlf9WBM>
- 11.2 Phasage expérimental : la diffusion anormale : <https://youtu.be/NdF70PTDAQU>
12. Amélioration des phases et construction du modèle : <https://youtu.be/bB38X40dxTg>
13. Affinement, interprétation et évaluation du modèles : https://youtu.be/BpSx_vsJnak