

## Colloque VIIA : Caractérisation couplée (diffraction et spectroscopie)

Stefano TRAPANI<sup>1,4</sup>, G. Schoehn<sup>1,2</sup>, C. Abergel<sup>3</sup> et J. Navaza<sup>1</sup>

<sup>1</sup>IBS, Institut de Biologie Structurale Jean-Pierre Ebel, 41 rue Jules Horowitz, F-38027 Grenoble; CEA; CNRS; UJF

<sup>2</sup>UVHCI, BP 181 F-38042 Grenoble; UJF; EMBL; CNRS; CIBB

<sup>3</sup>IGS Laboratoire Information Génomique et Structurale, IBSM Institut de Biologie Structurale et Microbiologie, 163 avenue de Luminy, 13288 Marseille; CNRS; Université de la Méditerranée

<sup>4</sup>CBS, Centre de Biochimie Structurale, 29 rue de Navacelles 34090 Montpellier; UM2; UM1; CNRS; INSERM

### Utilisation conjointe cristallographie – microscopie électronique pour la détermination de structures biomoléculaires symétriques. Le cas de la déhydroquinase

L'utilisation de la microscopie électronique (ME) en transmission pour l'étude au niveau moléculaire des systèmes biologiques est de plus en plus fréquente. Des méthodes de reconstruction 3D permettent d'arriver à une représentation tridimensionnelle des biomolécules observées sous le microscope électronique à partir de leurs images (projections) bidimensionnelles. Actuellement, ces techniques ne sont applicables qu'à des biomolécules de taille importante et fournissent des reconstructions moléculaires à une résolution limitée (généralement entre 8 et 40 Å). L'étude des biomolécules par ME présente des aspects de complémentarité par rapport aux méthodes cristallographiques : d'un côté celles-ci nous permettent d'accéder à la structure à haute résolution (généralement entre 1 et 3 Å); de l'autre côté, la ME peut nous montrer comment plusieurs biomolécules interagissent et se disposent pour former de gros assemblages (ribosomes, virus, microtubules, etc.).

Un autre aspect de la complémentarité ME/cristallographie concerne la possibilité d'utiliser les résultats de la ME pour aider à la résolution de structures cristallographiques. Notamment, une reconstruction 3D issue de la ME constitue un modèle moléculaire de basse résolution potentiellement exploitable pour le phasage des données de diffraction par la méthode du remplacement moléculaire (RM). Puisque les phases ainsi calculées sont forcément limitées à la tranche de résolution en commun entre la reconstruction de ME et les données de diffraction, cette approche ne se révèle intéressante qu'en présence de symétrie non cristallographique (NCS). Dans ce cas, une extension des phases à plus haute résolution peut être en effet envisagée par application de méthodes de modification de la densité électronique (moyennation en suivant la NCS et aplatissement du solvant).

Cette stratégie de couplage ME/cristallographie se présente particulièrement appropriée à la résolution de la structure de gros complexes symétriques. L'utilisation, par exemple, de données de cryo-ME de virus icosaédriques pour le phasage de leurs données de diffraction cristallographiques a été reportée dans la littérature. Dans ce travail, on montre que la même stratégie peut être appliquée avec succès : (i) à des particules symétriques plus petites que les virus; (ii) en utilisant des images de ME obtenues par coloration négative (une technique expérimentalement plus simple que la cryo-ME). La résolution de la structure de la déhydroquinase, une protéine globulaire (masse moléculaire ~360 kDa; rayon ~60 Å) de symétrie tétraédrique, sera présentée.