

Colloque I : Révolutions technologiques (méthodes, sources, détection)

Franck BOREL, F. Bouis, P. Charrault, L. Jacquamet, J. Joly, M. Pirocchi, X. Vernede & J.-L. Ferrer

Groupe Synchrotron, Laboratoire de Cristallographie et Cristallogenèse des Protéines, Institut de Biologie Structurale J.-P. Ebel, UMR5075 CEA-CNRS-Univ. J. Fourier, 41 rue Jules Horowitz, 38027 Grenoble Cedex 1, France.

G-Rob, un système versatile et innovant pour la cristallographie

La cristallographie par rayons X est aujourd'hui la méthode la plus utilisée pour élucider la structure tridimensionnelle des macromolécules biologiques. La plupart des étapes de ce processus ont été simplifiées et automatisées, que ce soit la cristallogénèse avec les kits commerciaux et les robots de cristallisation ou le traitement des données à l'aide de logiciels de plus en plus accessibles et simples d'utilisation. Cependant le criblage des cristaux et l'enregistrement des données sont toujours des phases complexes de par la sophistication des appareillages mis en jeu.

Le Groupe Synchrotron de l'Institut de Biologie Structurale de Grenoble en charge de la ligne de lumière française pour la cristallographie des protéines (FIP-BM30A) à l'European Synchrotron Radiation Facility a toujours été à la pointe de l'automatisation. Nous avons déjà développé un changeur d'échantillons basé sur un bras robotisé commercial. Ce changeur, appelé CATS (Cryogenic Automated Transfer System), permet le montage/démontage sur le goniomètre des cristaux de protéine stockés dans l'azote liquide [1].

Pour aller plus loin dans l'intégration de ce système, un nouveau dispositif, appelé G-Rob, a été mis au point. Ce dispositif consiste en un robot qui assure à la fois la fonction de changeur d'échantillons et de goniomètre et qui permet de présenter les plaques de cristallisation directement dans le faisceau.

Dans sa configuration «plaques de cristallisation» G-Rob permet de réaliser in situ un criblage haut débit des conditions de cristallisation. Ainsi, l'utilisateur peut rapidement obtenir des informations précieuses sur le groupe d'espace, les paramètres de maille, la mosaïcité de ces cristaux ou alors vérifier la présence de substrats spécifiques ou d'atomes lourds sans avoir à retirer le cristal de sa goutte. Dans les cas les plus favorables, il est même possible de déterminer la structure.

Dans sa configuration «goniomètre», G-Rob va saisir l'échantillon congelé placé dans le Dewar de stockage et le positionner dans le faisceau de rayons X. Grâce à ses 6 axes le robot peut, si nécessaire, orienter le cristal et réaliser un enregistrement de données de type " ϕ ". La précision et la reproductibilité du bras robotisé permettent au dispositif d'effectuer des enregistrements de clichés de diffraction ayant une qualité comparable à ceux obtenus avec un goniomètre classique.

En se substituant à quatre éléments (le diffractomètre Kappa et sa tête goniométrique, le robot de montage des échantillons et des plaques de cristallisation, les moyens de diagnostics et, à terme, le système cryogénique) G-Rob simplifie grandement le dispositif expérimental et son utilisation. Cette diminution du nombre de matériels nécessaires à l'analyse entraîne aussi une meilleure fiabilité. G-Rob représente donc une solution d'avenir pour rendre la résolution de structure par cristallographie aux rayons X encore plus rapide et plus aisée.

[1] Ohana et al., J. Appl. Cryst. 2004, 37 :72-77