



# Diffusion aux petits angles d'échantillons biologiques (BioSAXS)

## La technologie d'un coup d'œil

La diffusion des rayons X aux petits angles (DXPA, ou SAXS en anglais) est un outil fondamental pour déterminer les propriétés structurales (dimensions et enveloppes moléculaires à basse résolution) des macromolécules en solution. Cette technique est relativement efficace pour étudier des macromolécules qui ne peuvent cristalliser et dont les masses varient de 1kDa à 1MDa (protéines, biopolymères, glucides, lipides, ainsi que leurs complexes). De plus, des changements de conformation de protéines suffisamment larges peuvent être repérés sur un large éventail de conditions expérimentales (pH, températures, concentrations, etc).

## Quelle information puis-je obtenir ?

### Uniquement à partir des données SAXS

- Monodispersité et comportement d'une macromolécule en solution (utile lors de l'optimisation des conditions de cristallisation ou d'essais de stabilisation des protéines)
- Dimensions des particules diffusantes : rayon de giration ( $R_g$ ) et diamètre maximum ( $D_{max}$ ), et ainsi une information sur leur état oligomérique (monomères, dimères, tétramères, ...)
- Forme d'une protéine non-cristallisable (obtention de phases à basse résolution)
- Forme d'un complexe macromoléculaire.

### Combinaison données SAXS/données cristallographiques

- Confirmation de la structure quaternaire d'une protéine ou un complexe multiprotéine
- Elucidation de la forme d'un nouveau domaine ou d'un domaine invisible dans la structure cristalline
- Suivi des changements conformationnels et des mouvements d'un domaine produits par la fixation d'un ligand ou la formation de complexes.

## Les plus de la ligne BioSAXS

### Facile à utiliser, entièrement automatisée et nécessitant de petites quantités d'échantillons

ID14-3 est la ligne de lumière de l'ESRF entièrement dédiée à l'étude d'échantillons biologiques en solution. Un robot permet d'automatiser tout le cycle de chargement/déchargement des échantillons et de nettoyage de la cellule de mesure. De très petites quantités d'échantillons (généralement 50µL à 10 mg / mL) sont suffisantes pour réaliser une expérience complète. L'interface graphique de contrôle de l'expérience (BsxCuBE) est facile d'utilisation, permettant des mesures en séquence sans intervention de l'utilisateur et est liée à un programme de traitement automatique des données SAXS (« AutoSub » développé par le groupe BioSAXS de EMBL, Hambourg).

Nos scientifiques offrent toute l'aide nécessaire pour réaliser l'expérience et analyser les données en cas de besoin.

## Détails pratiques

### De quoi ai-je besoin ?

- Échantillons en solution monodisperse (aucune agrégation)
- 3 dilutions à différentes concentrations (de 1 à 10 mg / ml) bien déterminées (mesures au Nanodrop par exemple)
- Une solution tampon qui correspond exactement au solvant des échantillons.

### Combien de temps dure une expérience SAXS ?

L'étude d'un échantillon dure approximativement 1 heure de temps de faisceau, y compris l'analyse préliminaire des données \* (le démarrage de la ligne de lumière par nos scientifiques n'est pas inclus).

\* Ceci inclut la collecte de données à partir de 3 différentes concentrations de l'échantillon, la vérification de sa monodispersité, la détermination du rayon de giration et le poids moléculaire de la biomacromolécule.



Gros plan du changeur d'échantillon sur ID14-3 avec le compartiment de stockage des échantillons ouvert.

### Comment puis-je accéder à cette technique?

Deux modes d'accès sont actuellement disponibles: accès standard au temps de faisceau, avec et sans assistance scientifique, et un service de collecte des données par courrier.

#### Données techniques de la ligne BioSAXS de l'ESRF ESRF ID14-3

Gamme de Q (nm <sup>-1</sup> )	0.05 - 5 nm <sup>-1</sup>
Cellule de mesure de l'échantillon	Capillaire en quartz
Volume de l'échantillon exposé	Typiquement 10-30 µl
Temps d'exposition de l'échantillon	Typiquement 100 secondes
Changeur d'échantillons	Tubes PCR, tubes eppendorf et 3 plaques de 96 puits
Température de l'échantillon (°C)	4-60 °C

## Le récepteur intracellulaire PYR1 de *A. Thaliana*

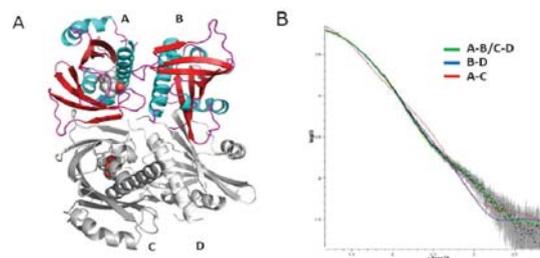
**Le défi :** Identifier le dimère biologiquement actif du PYR1 et sa relation avec la structure cristalline qui a montré un arrangement tétramérique.

**Le contexte :** L'acide abscissique (ABA) est une hormone végétale qui a un rôle central dans la réponse adaptative à la contrainte de dessiccation. Dans cette étude, les auteurs [1] ont déterminé la structure cristalline de la protéine PYR1 issu de *A. thaliana* en complexe avec l'ABA. Le modèle cristallographique de PYR1 contient quatre monomères dans l'unité asymétrique (schéma A). Or, la chromatographie d'exclusion stérique combinée avec la diffusion de lumière laser multi-angle (MALLS) démontre que la structure de PYR1 est un dimère en solution.

**Le résultat :** La solution de la protéine PYR1 a été étudiée sur la ligne de lumière BioSAXS. Les trois modèles cristallographiques de dimères présumés A-B, A-C et B-D ont été comparés aux données SAXS (schéma B) et la comparaison montre un bon ajustement uniquement

pour le dimère A-B, confirmant ce dernier comme le dimère biologiquement actif de la protéine PYR1.

**L'apport du synchrotron :** Les données de diffusion des rayons X aux petits angles de la protéine PYR1 collectées sur la ligne de lumière BioSAXS ont été essentielles pour identifier la structure du dimère en solution biologiquement pertinent.



[1] Santiago J, Dupeux F, Round A, Antoni R, Park SY, Jamin M, Cutler SR, Rodriguez PL, Márquez JA. "The abscisic acid receptor PYR1 in complex with abscisic acid", Nature 462, 665-668.