

Étude de complexes à forte diffusion anormale pour la détermination rapide de la structure de protéines par la méthode MAD

Pour résoudre *de novo* la structure de protéines par cristallographie, il est nécessaire de calculer les phases des facteurs de structure à partir des intensités des rayons X diffractés. Pour ce but, les méthodes SAD et MAD se servent de la diffusion anormale d'atomes présents dans le cristal de la protéine. L'introduction de ces diffuseurs anormaux dans les cristaux est une des étapes clés de la résolution de structure des protéines.

Nous avons étudié une classe de huit complexes de gadolinium servant à insérer les diffuseurs anormaux dans les cristaux de protéine. Le gadolinium présente une forte diffusion anormale et avec le rayonnement X d'un générateur de laboratoire et dans son seuil d'absorption L_{III} .

Une étude cristallographique menée avec cette classe de complexes et avec huit protéines différentes a permis de démontrer le potentiel élevé des complexes pour la préparation de dérivés à fort pouvoir de phasage. En effet, pour un grand nombre des dérivés testés, les phases expérimentales calculées ont mené à des cartes de densité expérimentale d'excellente qualité, permettant la construction aisée du modèle de la protéine.

L'affinement de la structure des complexes liés à la protéine a permis de comprendre l'interaction des différents complexes avec les protéines.

L'utilisation des complexes a permis de résoudre la structure de quatre nouvelles protéines.

Nous avons également étudié des méthodes physico-chimiques alternatives à la cristallographie dans le dessein de détecter la fixation d'un complexe sur une protéine en tenant compte de la particularité de l'interaction qui est caractérisée par une constante de d'association faible.

Mots clés : cristallographie des protéines, détermination des phases expérimentales, diffusion anormale, méthodes MAD et SAD, complexes de lanthanides, dérivés lourds.

Investigation of complexes exhibiting strong anomalous scattering for the fast structure determination of proteins by the MAD method

For the *de novo* structure resolution of proteins by crystallography, it is necessary to calculate the phases of the structure factors from the diffracted X-ray intensities. For this purpose, the SAD and MAD methods take advantage of the anomalous scattering properties of atoms inside the protein crystals. The introduction of the anomalous scatterers into the crystals is one of the key steps of protein structure resolution.

We have investigated a class of eight gadolinium complexes used to introduce the anomalous scatterers into the protein crystals. Gadolinium exhibits high anomalous scattering with a laboratory X-ray generator as well as in its L_{III} absorption edge.

A crystallographic study carried out with the class of complexes and eight different proteins allowed to demonstrate the great potential of the complexes for the preparation of derivatives with high phasing power. Indeed, for a great number of derivatives, the calculated experimental phases have led to experimental electron-density maps of excellent quality, allowing the easy construction of the protein model.

The refinement of the structure of the complexes bound to the proteins allowed to gain understanding of the interaction between the different complexes and the proteins.

The utilization of the complexes allowed the structure resolution of four new proteins.

Besides the crystallographic studies we attempted to detect the binding of a complex to a protein with different physico-chemical methods taking into consideration the weak binding constant that characterizes the interaction.

Keywords: protein crystallography, experimental phase determination, anomalous scattering, MAD and SAD methods, lanthanide complexes, heavy-atom derivatives.