

Rapport

14/06/2004

Dr Anne Houdusse – Institut Curie
Laboratoire de motilité structurale

Ligne : BM30a

30-01-657 : Etude structurale des protéines Rab en complexe avec leurs effecteurs

Date de la Manip : 25 juin 2004 (Local contact : Dr. Michel PIROCCHI)

Rab6A-Rab6IP1 - Au cours de cette expérience, nous avons cherché à collecter des données sur un complexe entre Rab6A et son effecteur, Rab6IP1 dans le but de résoudre la structure par MIR ou MIRAS.

Nous disposons d'un jeu natif à 3.5 Å collecté sur ID14. Par conséquent, le but de notre expérience était d'obtenir une meilleure résolution pour notre structure native et de collecter des données en présence d'atomes lourds (mercure, platine et or). Nous testions ces cristaux en présence d'atomes lourds pour la première fois sur une ligne synchrotron.

La majorité des cristaux trempés en présence d'atomes lourds ne diffractaient pas en dessous de 4.5 Å (même résolution sur notre générateur au laboratoire), alors que nos cristaux natifs diffractaient autour de 4.0-3.5 Å. Les cristaux trempés dans du platine diffractaient un peu mieux (4 Å), mais ne présentaient pas de signal anomal. Ces premiers résultats ne nous ont donc pas permis de résoudre la structure de ce complexe, ni d'obtenir une meilleure native.

Néanmoins, ces expériences nous ont permis de mieux définir les conditions de trempage en présence d'atomes lourds et devraient augmenter nos chances d'obtenir des données exploitables lors d'une prochaine visite. Nous avons aussi l'intention de tester de nouveaux dérivés lourds.

D'autre part, nous avons exprimé ce complexe en présence de selenométhionine et nous l'avons cristallisé. Ainsi, nous devrions multiplier nos chances de résoudre cette structure. Les cristaux ressemblent aux cristaux natifs (hexagonal), même s'ils sont un peu plus petit.

Rab27a/MyRIP – Nous avons collecté plusieurs jeux de données natifs de ce complexe jusqu'à 2.3 Å. Cependant, nous n'avons pas réussi à résoudre cette structure par remplacement moléculaire. C'est pourquoi, nous avons décidé de nous tourner vers le MIR ou le MAD pour résoudre cette structure.

Au cours de cette expérience, une vingtaine de cristaux de ce complexe trempés dans différents atomes lourds ont été testés (Hg, Pt, Au principalement ; différent temps de soaking, différentes concentrations). Nous avons collecté plusieurs jeux de données diffractant jusqu'à 3.5 Å. Cependant, nos tentatives pour trouver les atomes lourds n'ont pas abouti et nous n'avons toujours pas, à ce jour déterminé la structure de ce complexe.

Ces expériences nous ont permis d'affiner les conditions de trempage de nos cristaux et nous souhaitons aussi poursuivre cette approche avec d'autres atomes lourds non encore testés. En parallèle, nous avons aussi exprimé ce complexe dans un milieu de selenométhionine dans le but de résoudre cette structure MAD.