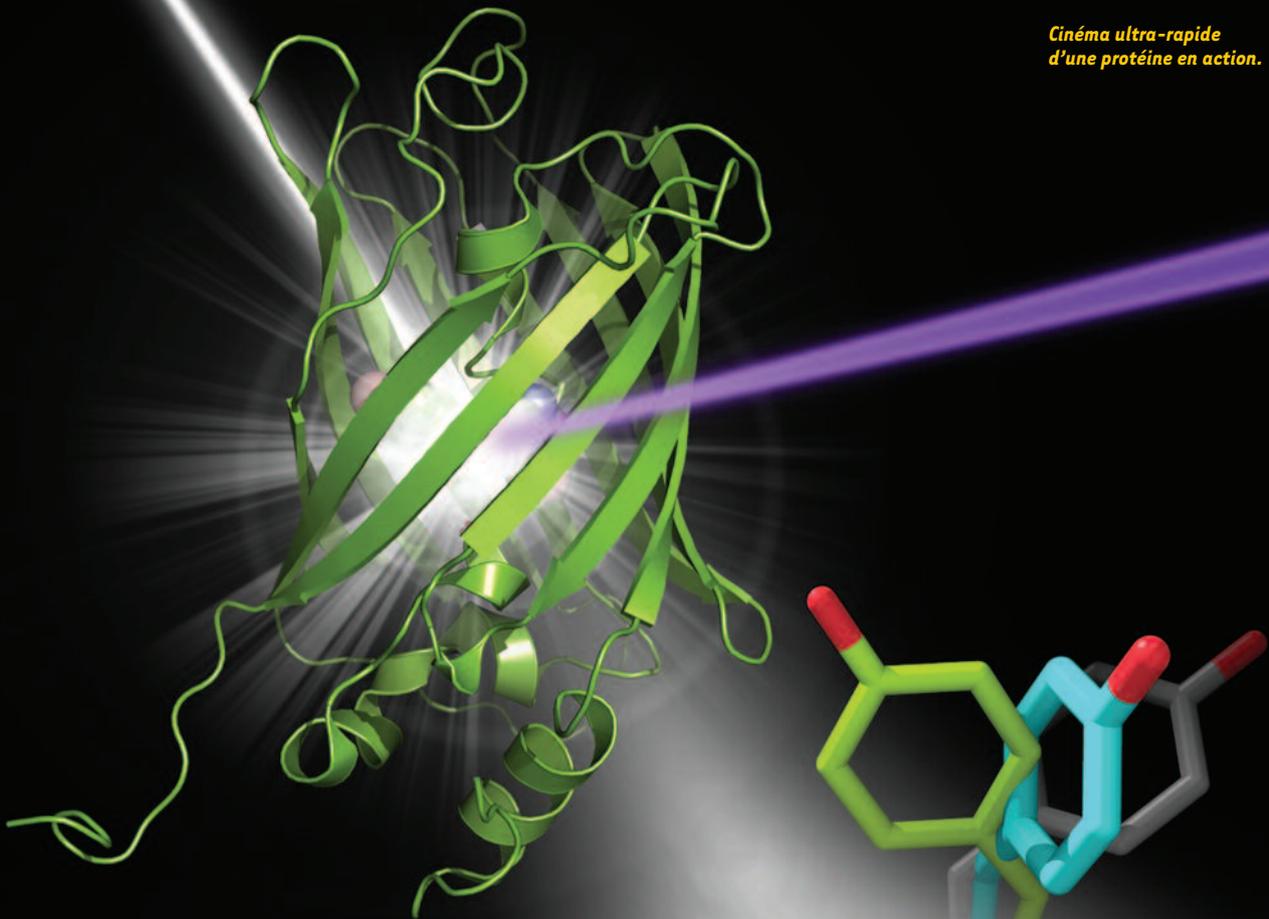


Cinéma ultra-rapide  
d'une protéine en action.



## STRATÉGIE

# Les chercheurs font leur cinéma moléculaire P.4 à 10

1 ps

VIRGILE ADAM / IBS



M. JARY / DR CEA



CHRISTOPHE TERRENCK  
ARC-NUCLÉART



Sylfen

## ACTUALITÉ

Une nouvelle piste de traitement contre la rougeole

P. 2

## ZOOM

ARC-Nucléart au chevet du patrimoine français

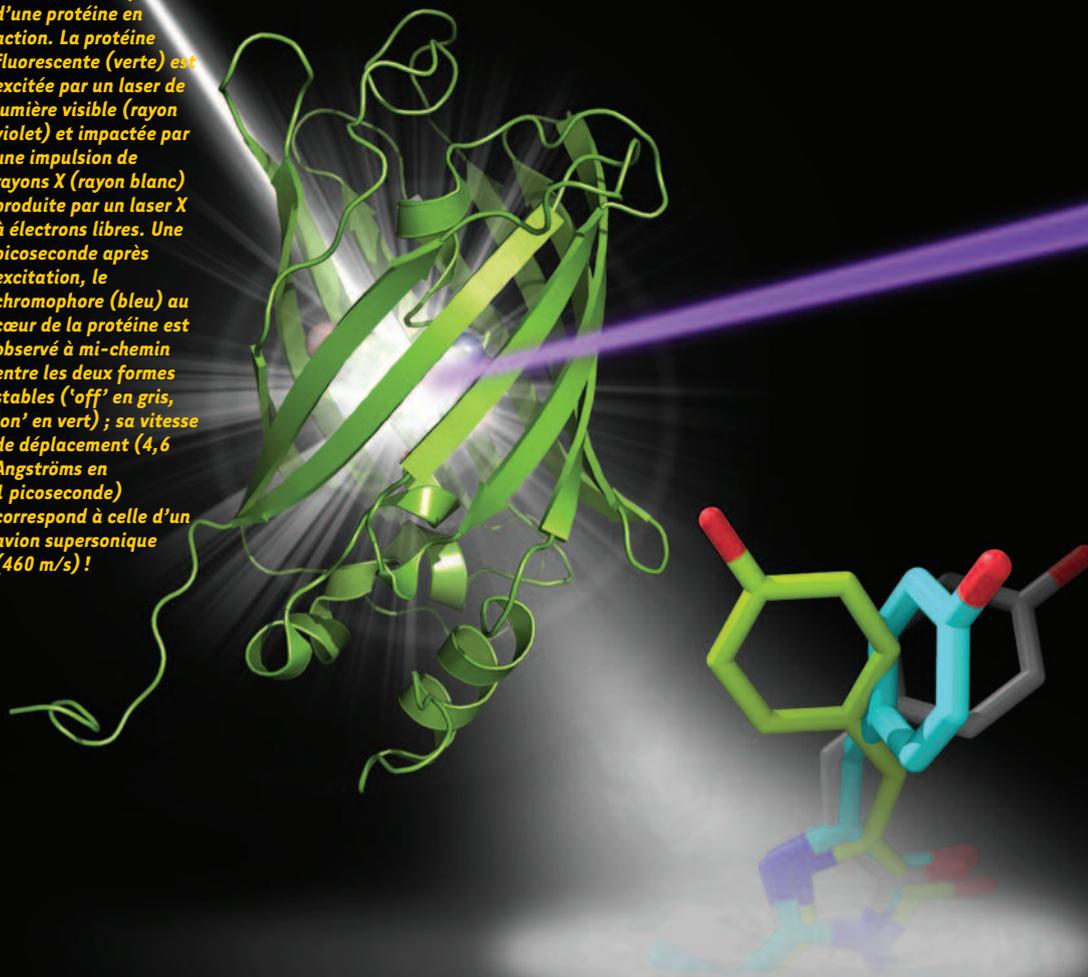
P. 11

## TALENTS

Sylfen va valoriser la technologie d'électrolyse haute température

P. 12

*Cinéma ultra-rapide d'une protéine en action. La protéine fluorescente (verte) est excitée par un laser de lumière visible (rayon violet) et impactée par une impulsion de rayons X (rayon blanc) produite par un laser X à électrons libres. Une picoseconde après excitation, le chromophore (bleu) au cœur de la protéine est observé à mi-chemin entre les deux formes stables ('off' en gris, 'on' en vert) ; sa vitesse de déplacement (4,6 Angströms en 1 picoseconde) correspond à celle d'un avion supersonique (460 m/s) !*



VIRGILE ADAM / IBS

## VOIR LES PROTÉINES ABSORBER LA LUMIÈRE

Des chercheurs de l'Institut de biologie structurale (IBS) ont pu filmer les processus ultra-rapides à l'œuvre dans les protéines fluorescentes, largement utilisées comme marqueurs en imagerie du vivant. Leur nouveau procédé, qui utilise un laser à électrons libres aux rayons X, permet d'étudier à l'échelle atomique les processus tels que la vision, la bioluminescence et d'autres jusqu'ici inobservables. Les biologistes ont pu déterminer la structure d'une protéine fluorescente dans son état excité, et observer le chromophore, la partie de la protéine qui absorbe la lumière, dans une conformation transitoire.

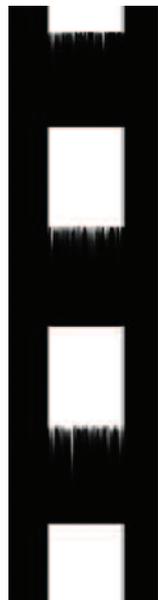
# Les chercheurs font leur cinéma moléculaire



VIRGILE ADAM / IBS

**C**'est un véritable petit cinéma à l'échelle moléculaire ! C'est ce que viennent de créer des chercheurs de l'Institut de biologie structurale (IBS), dans le cadre d'une collaboration internationale comprenant des laboratoires du CEA et du CNRS, les universités de Lille, de Rennes et de Paris-Saclay, des Instituts Max-Planck de Heidelberg et de Göttingen et l'accélérateur linéaire de Stanford, aux États-Unis. Grâce à cet accélérateur d'électrons, ils ont pu mettre en évidence les mouvements infimes et ultrarapides au cœur d'une protéine fluorescente. "Nos travaux ont été publiés dans *Nature Chemistry* en janvier 2018 <sup>(1)</sup>, et nous sommes associés aux premiers travaux qui ont eu lieu au XFEL à Hambourg et qui viennent d'être publiés dans *Nature Communications* <sup>(2)</sup>", souligne Martin Weik, directeur de recherche au CEA et responsable du groupe de recherche dynamique et cinétique des processus moléculaires (DYNAMOP) à l'IBS. Seuls deux lasers X à électrons libres

▲ **Vue aérienne du laser à électrons libres de Stanford (USA) mis en service en 2009.**



▼ **Le laser à électrons libres (SACLA) du Japon mis en service en 2011.**

sont actuellement pleinement opérationnels dans le monde : celui à Stanford qui a été utilisé pour cette étude et l'autre au Japon, près d'Osaka. Le premier laser à électrons libres européen (XFEL), auquel la France a contribué, a été mis en service fin 2017 à Hambourg et permettra de passer de 100 images par seconde à près de 27 000 (*lire l'encadré ci-dessous : XFEL, un laser européen au cœur de la matière*). "Grâce à cette installation, nous avons pu résoudre les structures de deux protéines à partir d'un mélange naturel de cristaux produit lors de l'extraction des protéines de fève. C'est un véritable tour de force, qui renoue avec les fondements de la cristallographie des protéines. C'est en effet cette préparation de cristaux qui a permis à James B. Sumner, (chimiste américain – 1887-1955, nldr), de démontrer la faisabilité de l'isolation et de la cristallisation des protéines, pour laquelle il a obtenu le prix Nobel de Chimie en 1946", confie Jacques-Philippe Colletier, directeur de recherche au CNRS et membre du groupe DYNAMOP à l'IBS.

Les chromophores sont de petites molécules absorbant la lumière au sein des protéines. Elles sont à la base de nombreux processus biologiques tels que la vision, la photosynthèse ou encore la fluorescence.

### Protéine lumineuse

On retrouve ces chromophores au cœur de protéines fluorescentes, couramment utilisées dans la recherche en biologie, comme marqueurs fluorescents pour les expériences d'imagerie. "Certains dérivés de ces protéines fluorescentes sont dits "photo-commutables", c'est-à-dire qu'on peut, grâce à une stimulation lumineuse, passer la conformation de leur chromophore d'un état fluorescent "on", où la protéine va émettre de la lumière, à un état éteint "off", où la protéine n'en émettra plus", souligne Dominique Bourgeois, directeur de recherche au CNRS et membre du groupe DYNAMOP à l'IBS. "La transition entre ces deux stades 'on' et 'off' est très rapide et implique des mouvements structuraux très fins. Les techniques de cristallographie classique développées jusqu' alors ne permettaient que de visualiser les structures stables de ces positions. Les structures transitoires sont pourtant essentielles pour comprendre le fonctionnement mécanique et photochimique de ces chromophores et des protéines qui les contiennent", détaille Martin Weik.

### La puissance de la diffraction

Pour découvrir ces structures transitoires, les scientifiques ont fait appel à une méthode jusqu' alors inédite, en utilisant la nouvelle technologie d'un laser à électrons libres aux rayons X, appelée XFEL (X-ray free electron laser).



EUROPEAN XFEL

(suite de la page 5)

Ces rayons X sont projetés sur un flux de protéines fluorescentes cristallisées. De par la puissance du rayonnement, les cristaux traversés sont instantanément désintégrés. Les expérimentateurs doivent donc alimenter en permanence le flux, d'où le nom de cette technique: la cristallographie sérielle. Les rayons X qui ont traversé l'échantillon cristallin produisent des images de diffraction juste avant la désintégration, que l'on peut utiliser pour générer des photos des protéines. Les résultats obtenus sont d'une telle précision qu'ils permettent de mesurer les plus petits détails des protéines avec une résolution temporelle inédite, de l'ordre de la picoseconde. Les scientifiques ont pu obtenir des images de chromophores dans une conformation transitoire entre leurs états "on" et "off", décrite comme un



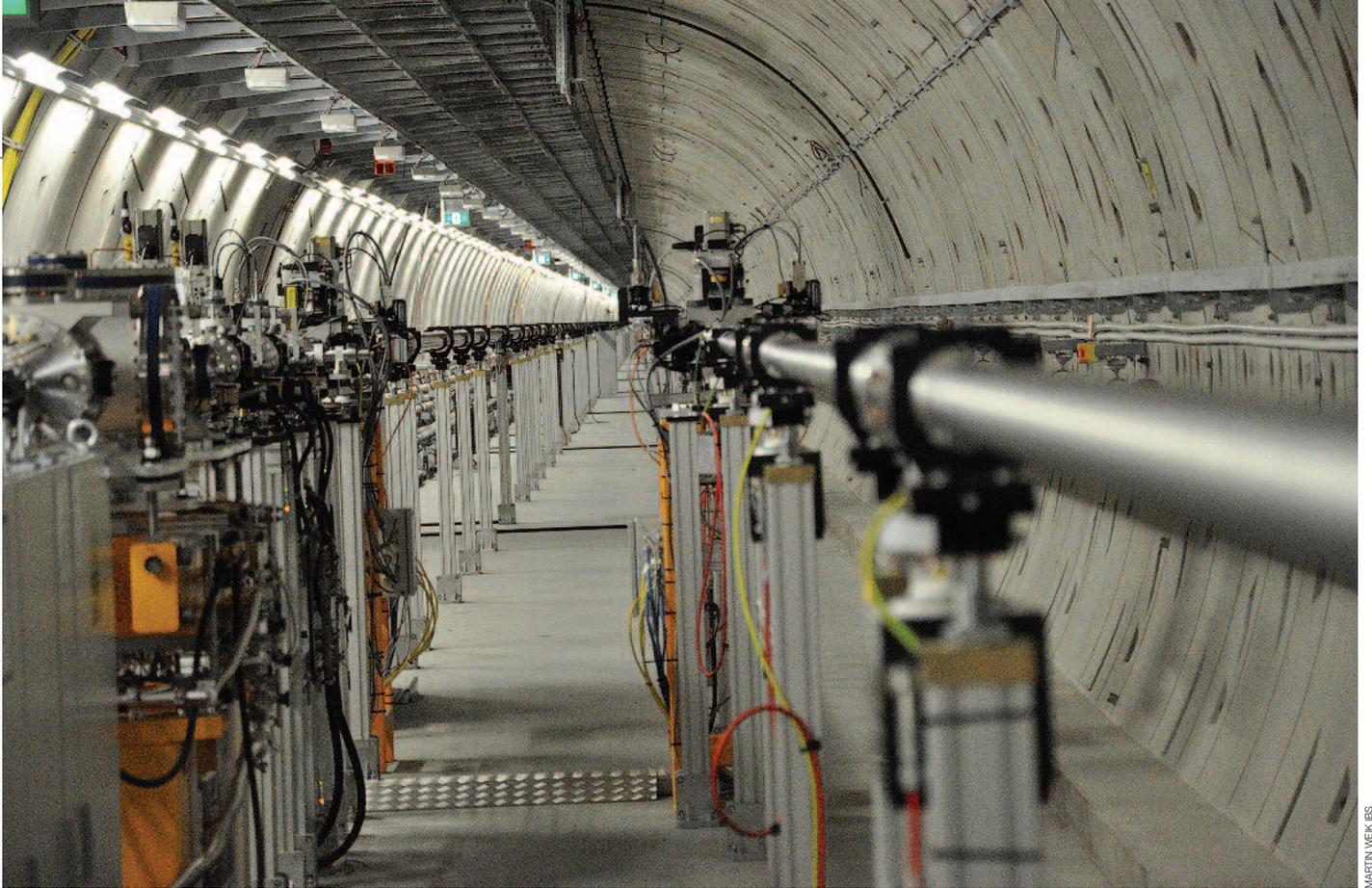
L'équipe de l'IBS dans la chambre expérimentale du XFEL à Stanford lors de l'expérience, de gauche à droite sur la photo: Jacques Philippe Colletier, Martin Weik, Nicolas Coquelle, Giorgio Schiro, Joyce Woodhouse.

MARTIN WEIK/IBS



EUROPEAN XFEL

▲ Au cœur du Laser Européen à Electrons Libres et à Rayons X (X-Ray Free Electron Laser). Cet équipement de pointe, soutenu par onze pays, plus particulièrement l'Allemagne et la Russie, mais aussi la France et la Suisse, s'étend sur 3,4 kilomètres dans les environs d'Hambourg.



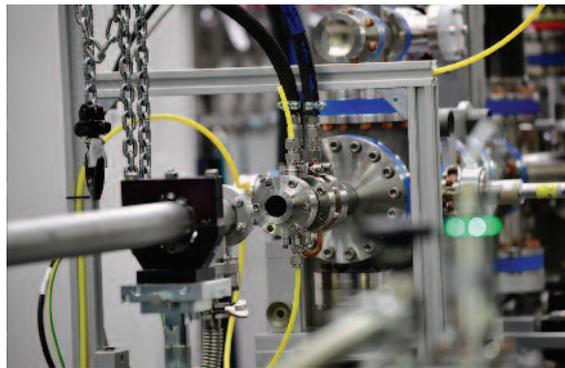
MARTIN WEIK IBS

état tordu (twisted). La structure de cet état tordu avait été prédite par des simulations, mais jamais observée expérimentalement. Les premiers clichés d'un film complet du changement d'état sont maintenant disponibles.

### Une protéine fluorescente mutante

Ces résultats ont mis en évidence l'importance de certains acides aminés proches du chromophore. Grâce à des expériences de génie génétique, les chercheurs ont pu créer une protéine fluorescente mutante dont un de ces acides aminés a été remplacé par un autre, plus petit et moins contraignant pour la structure et la fonction de la protéine. Ils ont ensuite constaté qu'il fallait un flash lumineux beaucoup plus faible que dans la protéine d'origine pour passer le chromophore de l'état "off" à l'état "on". Cette dernière expérience valide leur précédente découverte et donne une illustration claire de l'utilisation que peuvent avoir ces découvertes dans le domaine des biotechnologies.

De quoi promettre un avenir radieux au cinéma moléculaire ! ■



▲  
**Vue de l'intérieur du tunnel du XFEL Européen à Hambourg. Celui-ci comprend plusieurs tunnels souterrains dont l'un, qui s'enfonce jusqu'à 38 mètres sous terre, abrite un long accélérateur linéaire à électrons.**

◀  
**Un détail du laser européen à électrons libres et à rayons X (X-Ray Free Electron Laser, XFEL) à Hambourg.**



◀  
**Le groupe de recherche dynamique et cinétique des processus moléculaires (Dynamop) de l'IBS qui a préparé les échantillons étudiés au XFEL. De gauche à droite sur la photo : Virgile Adam, Joyce Woodhouse et Virginia Guillon.**

MARTIN WEIK IBS

1) Les auteurs: Coquelle N, Sliwa M, Woodhouse J, Schirò G, Adam V, Aquila A, Barends TRM, Boutet S, Byrdin M, Carbajo S, De la Mora E, Doak RB, Feliks M, Fieschi F, Foucar L, Guillon V, Hilpert M, Hunter MS, Jakobs S, Koglin JE, Kovacs G, Lane TJ, Lévy B, Liang M, Nass K, Ridard J, Robinson JS, Roome CM, Ruckebusch C, Seaberg M, Thepaut M, Cammarata M, Demachy I, Field M, Shoeman RL, Bourgeois D, Colletier J-P, Schlichting I, Weik M (2018) Chromophore twisting in the excited state of a

photoswitchable fluorescent protein captured by time-resolved serial femtosecond crystallography. *Nature Chemistry* 10: 31-37

2) Les auteurs: Grünbein ML, Bielecki J, Gorel A, Stricker M, Bean R, Cammarata M, Dörner K, Fröhlich L, Hartmann E, Hauf S, Hilpert M, Kim Y, Kloos M, Letrun R, Messerschmidt M, Mills G, Nass Kovacs G, Ramilli M, Roome CM, Sato T, Scholz M, Sliwa M, Sztuk-Dambietz J, Weik M, Weinhausen B, Al-Qudami N,

Boukhelef D, Brockhauser S, Ehsan W, Emons M, Esenov S, Fangohr H, Kaukher A, Klyuyver T, Lederer M, Maia L, Manetti M, Michelat T, Münnich A, Pallas F, Palmer G, Previtali G, Raab N, Silenzi A, Szuba J, Venkatesan S, Wrona K, Zhu J, Doak RB, Shoeman RL, Foucar L, Colletier J-P, Mancuso AP, Barends TRM, Stan CA, Schlichting I (2018) Megahertz data collection from protein microcrystals at an X-ray free-electron laser. *Nature communications* 9: 3487.

## XFEL, un laser européen au cœur

Inauguré en septembre 2017, le plus grand laser dans le domaine des rayons X au monde, l'European XFEL, permet aux chercheurs de sonder plus profondément les secrets de la matière à l'échelle atomique.

**C**'est la plus grande et la plus puissante source de rayons X fabriquée par l'homme, au monde", déclare Olivier Napoly, physicien au département Accélérateurs, Cryogénie et Magnétisme (DACM) à l'Institut de Recherche sur les lois Fondamentales de l'Univers (IRFU) de la Direction de la

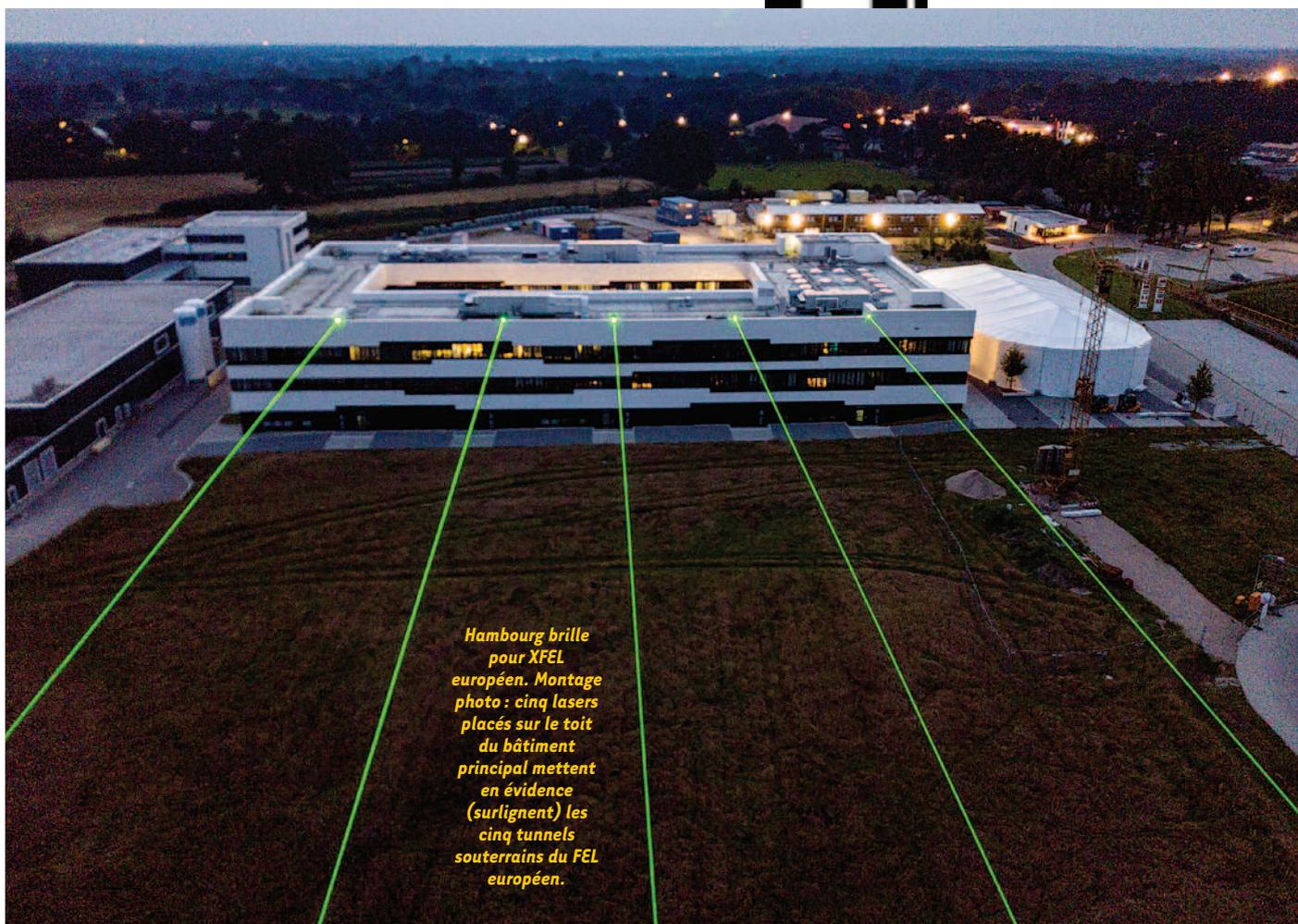
recherche fondamentale du CEA, dont le Département a participé à la construction de l'équipement. Ce laser X peut produire jusqu'à 27 000 flashes de rayons X par seconde. Un énorme bond comparé aux 120 flashes par seconde émis par le laser américain du même type, le LCLS de Stanford et aux 60 flashes générés par un autre au Japon (SACLA).

Le laser européen à électrons libres et à rayons X aura "la plus grande brillance moyenne au monde", déclare Robert Feidenhans'l, président du conseil d'administration de l'European XFEL. La brillance mesure le nombre de photons (particules de lumière) générés à une certaine longueur d'onde. "À son pic, celle du laser European XFEL sera un milliard de fois plus grande que celle des synchrotrons, les meilleures

sources de rayons X conventionnelles", assurent ses concepteurs.

Cet équipement est "comme une caméra et un microscope et il va permettre de voir les plus petits détails et processus jamais encore observés dans le nanomonde", ajoute Robert Feidenhans'l. "Les applications seront nombreuses. Elles vont de la médecine à la biologie, la chimie et la science des matériaux."

Grâce à sa brillance impressionnante, les scientifiques vont pouvoir observer dans les détails des virus à l'échelle atomique, déchiffrer la composition moléculaire des cellules, prendre des images en trois dimensions du nanomonde, et étudier des procédés similaires à ceux qui se produisent à l'intérieur des planètes. La durée des flashes de rayons X étant extrêmement



**Hambourg brille pour XFEL européen. Montage photo : cinq lasers placés sur le toit du bâtiment principal mettent en évidence (surlignent) les cinq tunnels souterrains du FEL européen.**

# de la matière

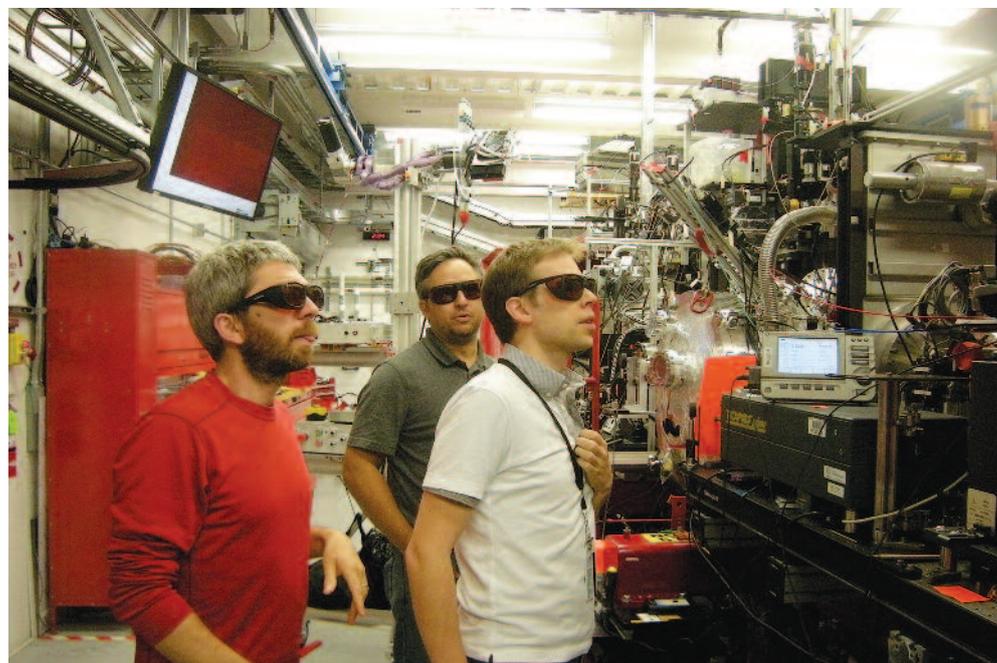
courte, les chercheurs vont pouvoir également réaliser "des films" de processus ultra-rapides, comme les réactions chimiques ou les changements dans les biomolécules (lire plus haut : *Les chercheurs font leur cinéma moléculaire*).

## 103 cryomodules accélérateur supraconducteurs

C'est le centre de recherche allemand DESY (Deutsches-Elektronen-Synchrotron) à Hambourg qui est à l'origine de ce projet, ayant lui-même démontré cette nouvelle génération de laser à électrons libres avec un accélérateur de moindre taille et énergie.

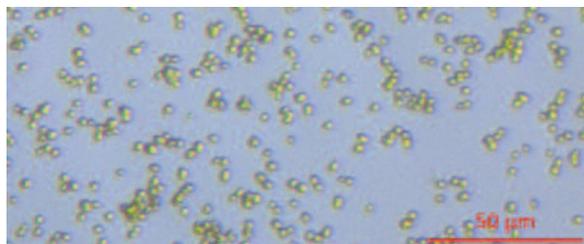
L'European XFEL a ensuite fait l'objet d'un accord intergouvernemental dès 2007 en raison de son ambition et de son coût. Dix pays européens et la Russie ont ainsi contribué. Le Royaume Uni s'est engagé à les rejoindre prochainement.

"Le département Accélérateurs, Cryogénie et Magnétisme (DACM) de l'Institut de Recherche sur les lois Fondamentales de l'Univers (IRFU) de la Direction de la Recherche Fondamentale du CEA (DRF) a concrétisé l'engagement de la France par une contribution portant sur l'intégration des 103 cryomodules accélérateur supraconducteurs (12 mètres de longueur, 7 tonnes de masse, près de 10 000 composants) opérée sur le site du CEA-Saclay par une société fran-



Les chercheurs, de gauche à droite sur la photo, Marco Cammarata (université de Rennes), Sébastien Boutet (XFEL Stanford), Michel Sliwa (Université de Lille) sont en train de mettre au point le laser optique du XFEL.

çaise, au rythme d'un cryomodule livré par semaine, ainsi que par la fourniture des blindages magnétiques et d'instruments de mesure de positions des faisceaux d'électrons", détaille Olivier Napoly.



Microcristaux de protéine utilisés en cristallographie sérielle au XFEL. La protéine a été produite avec l'aide de Franck Fieschi et de Michel Thépaut sur la plateforme MP3 de l'IBS.



La construction de ce centre de recherche a coûté près d'1,5 milliard d'euros.

MJ

L'équipe expérimentale franco-allemande qui travaille au XFEL.

## Un laser XXL pour espionner atomes et virus

Un laser à électrons libres (en anglais : free electron laser : FEL) est un type de laser qui fonctionne en utilisant des électrons qui ne sont pas liés à un atome, d'où l'adjectif "libres", pour créer des photons.

La lumière produite est à la fois cohérente, intense et peut avoir une longueur d'onde située dans une large gamme, depuis les micro-ondes jusqu'aux rayons X durs, en passant par l'ultraviolet, le domaine visible et l'infrarouge. Apparus en 1977, les lasers à électrons libres s'appuient sur un faisceau d'électrons à haute énergie. Celui de Hambourg agit dans le domaine des rayons X. L'European XFEL est un laser à électrons libres de quatrième génération, qui implique un accélérateur linéaire (et non en anneau comme les synchrotrons, lasers de troisième génération).

Après avoir été générés par un canon à électrons, ces derniers sont accélérés dans des cavités spéciales supraconductrices, refroidies à l'hélium (à -271 degrés Celsius), au nombre de 800. "Les électrons



IRFU / DR-CEA

montent progressivement à de très hauts niveaux d'énergie", explique Olivier Napoly physicien au CEA/IRFU.

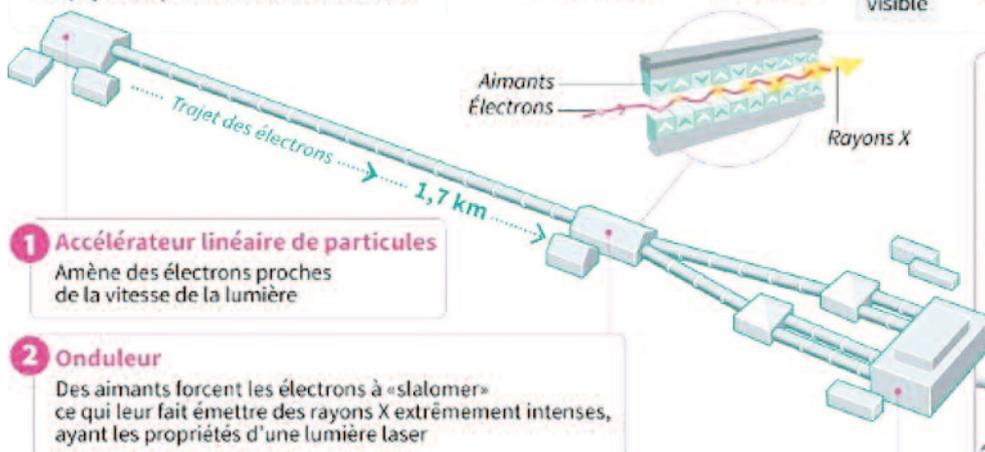
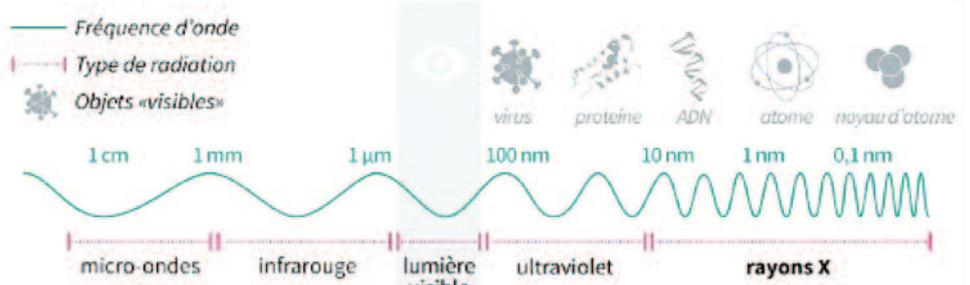
### Slalom très serré

"Les électrons effectuent ensuite une course à travers des onduleurs dont les aimants les contraignent à effectuer une sorte de slalom très serré." Ils émettent alors des photons et le phénomène va "s'auto amplifier" par interaction entre les

▲ L'équipe projet CEA-Alsyom en charge de l'intégration des cryomodules (2014).

électrons et les photons. À la fin du parcours, les chercheurs disposent de flashes de rayons X très courts et très intenses. Les scientifiques s'enthousiasment d'être les premiers à expérimenter l'équipement qui va monter progressivement en puissance. "Il y a une forte compétition entre les chercheurs pour obtenir du temps de faisceau", reconnaît Robert Feidenhans'l, président du conseil d'administration de l'European XFEL. MJ ■

- ▶ **Le principe**  
Laser à électrons libres projetant des rayons X à une fréquence de 27 000 flashes par seconde pour «voir» la matière à un niveau atomique
- ▶ **Dimension**  
3,4 km de long
- ▶ **Coût**  
environ 1,5 milliard €
- ▶ **Partenaires**  
10 pays européens et la Russie associés



- 1 Accélérateur linéaire de particules**  
Amène des électrons proches de la vitesse de la lumière
- 2 Onduleur**  
Des aimants forcent les électrons à «slalomer» ce qui leur fait émettre des rayons X extrêmement intenses, ayant les propriétés d'une lumière laser
- 3 Expériences scientifiques**

### Exemple d'expérience : filmer une réaction chimique à l'échelle moléculaire

- ▶ Réaction chimique provoquée par un laser optique
- ▶ Le laser à rayons X va permettre de décomposer et reconstituer une «image» de l'évolution de la réaction



XFEL EUROPEEN