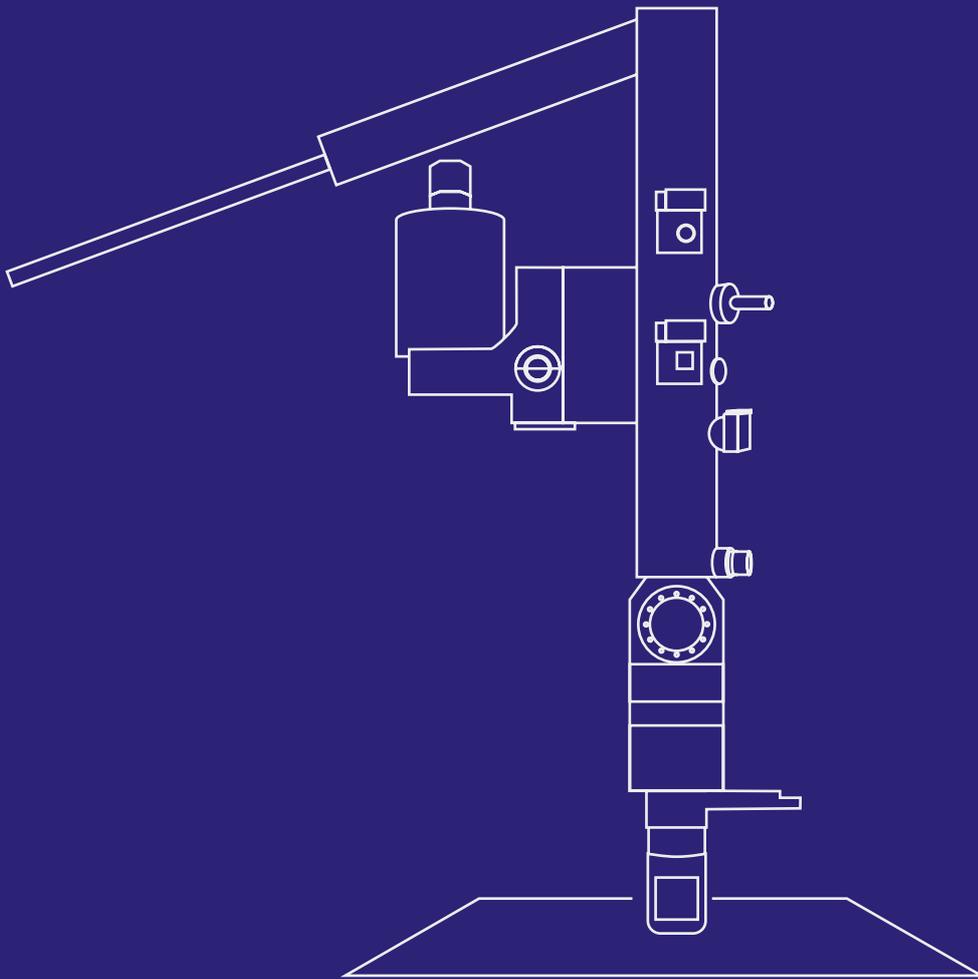


DOSSIER DE PRESE

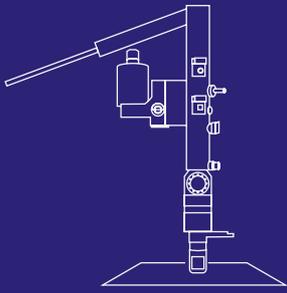
PLATEFORME CRYO-EM



Inauguration du
cryo-microscope électronique de l'ESRF

Vendredi 10 Novembre 2017

ESRF - Grenoble (France)



Les caractéristiques du cryo-microscope électronique de l'ESRF

L'ESRF dispose désormais d'un tout nouveau cryo-microscope électronique, un équipement qui ouvre de nouvelles possibilités pour les milliers de scientifiques internationaux qui viennent chaque année au synchrotron européen de Grenoble.

LES ATOUTS DE CETTE PLATEFORME DE CRYO-MICROSCOPIE ÉLECTRONIQUE

1. Son ouverture à une communauté scientifique internationale. Chaque année l'ESRF accueille environ 9 000 utilisateurs venant de ses 22 pays membres et du monde entier.
2. Sa synergie avec les techniques synchrotron (cristallographie macro-moléculaire et BioSAX) et donc la possibilité de combiner les techniques sur un même site pour explorer toujours plus précisément le monde du vivant.
3. Son caractère collaboratif, avec un service aux utilisateurs fourni par quatre instituts installés sur un même site, l'EPN Science campus : 3 instituts européens avec le synchrotron Européen (ESRF), le Laboratoire Européen de Biologie Moléculaire (EMBL), l'Institut Laue-Langevin (ILL) et une unité nationale mixte de recherche (CEA, CNRS, Université Grenoble Alpes), l'Institut de Biologie Structurale (IBS).

SPÉCIFICATIONS TECHNIQUES

Le cryo-microscope électronique Titan est équipé de :

- Une caméra haute résolution à détection directe d'électrons K2 Summit
- un filtre d'énergie Quantum LS
- Une plaque de phase Volta (VPP)

ACCÈS

Le microscope sera accessible comme les autres lignes de lumière ou laboratoires de l'ESRF, c'est-à-dire selon le mérite scientifique, après sélection par un comité d'experts internationaux. Des propositions d'expériences peuvent être soumises à n'importe quelle période de l'année.

Un laboratoire de préparation d'échantillon complètement équipé est disponible à proximité du microscope.

MISE EN FONCTIONNEMENT

La mise en route et les tests de la plateforme Cryo-EM se sont déroulés entre juillet et novembre 2017. La mise en fonctionnement va démarrer mi-novembre 2017.

L'ÉQUIPE SCIENTIFIQUE

ESRF

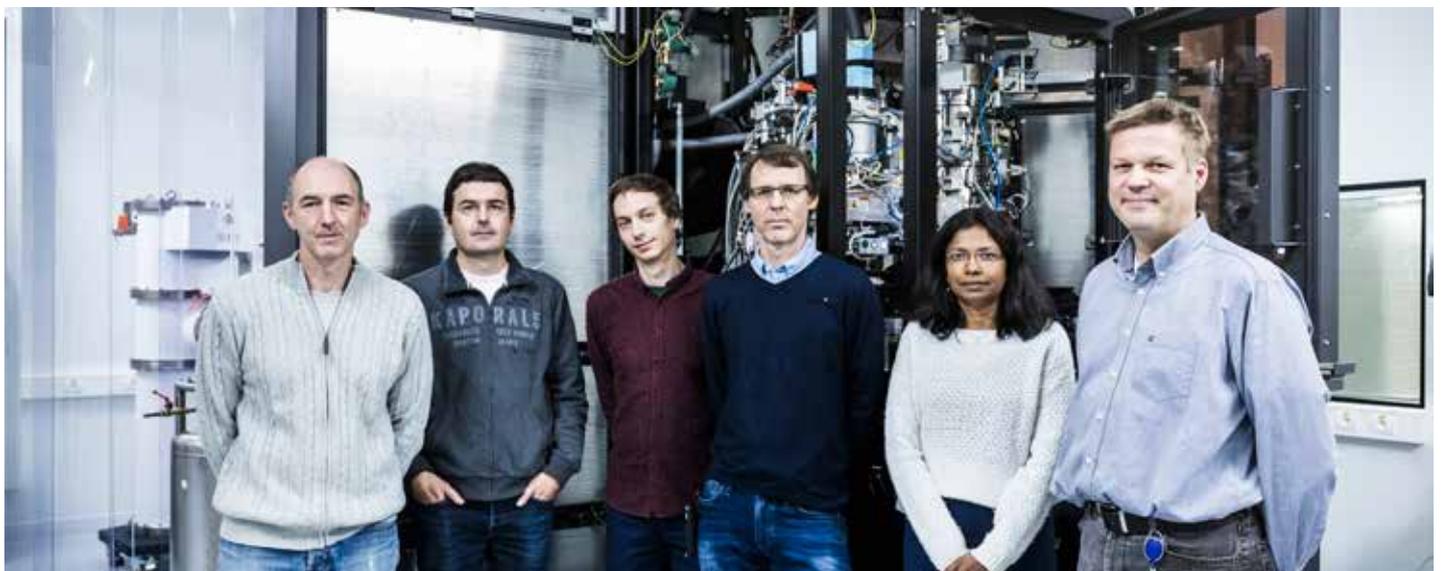
Christoph Mueller-Dieckmann, Scientifique Principal
David Flot, Responsable des Opérations de la ligne de lumière
Eaazhisai Kandiah, Scientifique

IBS

Guy Schoehn, Chef du Groupe de Microscopie Electronique
Grégory Effantin, Scientifique

EMBL

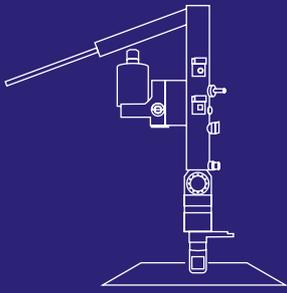
Wojtek Galej, Scientifique - Chef de groupe
Michael Hons, Scientifique



De gauche à droite :

Guy Schoehn, Grégory Effantin, Michael Hons, David Flot, Eaazhisai Kandiah, Christoph Mueller-Dieckmann.

Crédits Photos: ESRF/Stef Candé



Qu'est-ce que la technique de cryo-microscopie électronique ?



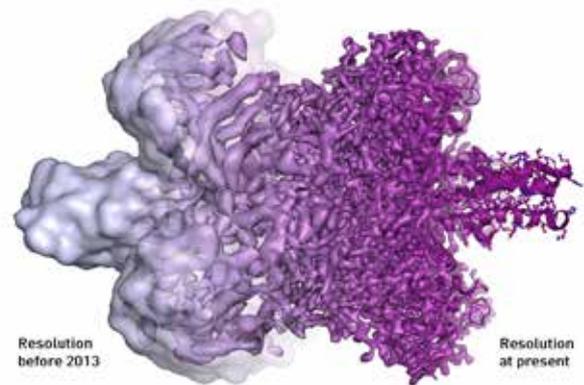
Vue du cryo-microscope électronique
Crédit: ESRF/Stef Candé

La technique de cryo-microscopie électronique ou cryo-EM est utilisée pour déterminer la structure des protéines avec une résolution proche de la résolution atomique. Contrairement à la cristallographie qui nécessite de cristalliser les protéines, la cryo-microscopie électronique utilise des électrons pour « imager » des molécules biologiques gelées afin de révéler leurs structures moléculaires.

La cryo-EM connaît un engouement croissant parmi les biologistes structuraux pour percer les secrets des macromolécules complexes. Cette nouvelle technique bénéficie de plusieurs décennies de développement technologique permettant aujourd'hui d'atteindre de très hauts niveaux de résolution et d'imagerie 3D, et donc d'étudier dans les moindres détails de larges complexes protéiques, y compris les protéines membranaires.

La technique de cryo-EM est complémentaire des techniques de diffraction et de diffusion des rayons X. Elle permet aux scientifiques d'étudier des objets qui, en raison de leur taille, de leur complexité ou d'un manque de maniabilité, seraient pratiquement impossibles à examiner avec d'autres techniques. D'un autre côté, la cristallographie aux rayons X est bien adaptée pour des échantillons plus petits et ordonnés. Elle fournit une structure à haute résolution, rapidement, une fois les conditions de cristallisation établies.

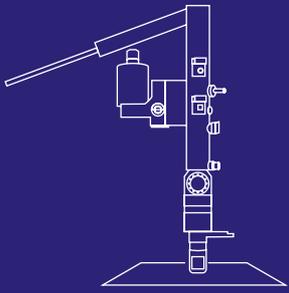
Le fait de pouvoir combiner, sur un même site, la technique de cryo-EM et les autres techniques synchrotron représente un atout majeur pour les scientifiques.



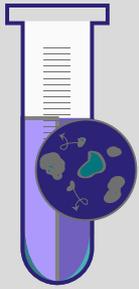
Évolution de la résolution

Crédit: The Royal Swedish Academy of Science / Martin Högborn

L'amélioration des microscopes électroniques a été radicale ces dernières années, passant de la basse résolution (forme peu détaillée à gauche) à la capacité de visualiser des protéines à une résolution atomique.



Comment fonctionne le cryo-microscope électronique ?



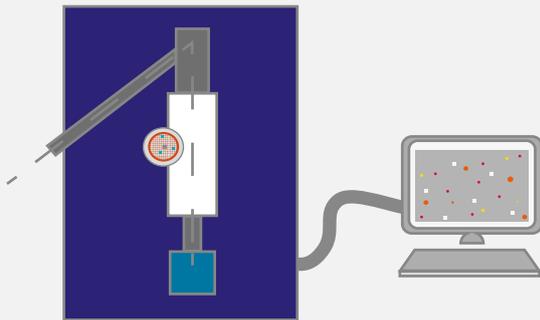
1



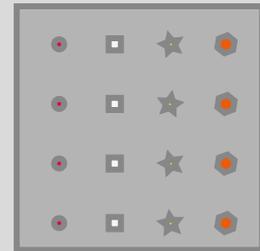
2



3



4



5



6



7

1. Le processus d'étude commence par la préparation d'un échantillon de protéine pure.
2. L'échantillon est ensuite congelé rapidement (« flash frozen ») de sorte que des cristaux de glace ne se forment pas.
3. Les molécules protéiques sont maintenues dans leur forme naturelle dans une très fine couche de glace.
4. L'échantillon est ensuite bombardé par les électrons, et les électrons transmis sont enregistrés par une caméra pour produire une image.
5. Les molécules de l'échantillon sont orientées de façon différente.
6. Les logiciels informatiques regroupent ensuite les molécules en fonction de leur orientation.
7. Des milliers d'images sont nécessaires pour créer une carte 3D des protéines.

Applications et cas scientifiques

En biologie on dit souvent « voir c'est croire » et c'est effectivement en visualisant l'arrangement atome par atome d'une biomolécule que les chercheurs peuvent comprendre son fonctionnement.

Le succès de la cristallographie aux rayons X pour révéler des structures de macromolécules ne peut être ignoré. Plusieurs Prix Nobel ont été décernés pour les réussites scientifiques impliquant l'utilisation de méthodes et techniques cristallographiques. La science continue de plonger toujours plus profondément dans les mystères de la vie et les macromolécules sont étudiées dans des configurations de plus en plus complexes. Par exemple, aujourd'hui le ribosome est étudié pour ses interactions avec des toxines, antibiotiques et autres macromolécules. Il est plus difficile d'avoir une vision de ces processus avec la cristallographie, notamment du fait de la difficulté de ces larges complexes protéiques à cristalliser. L'émergence de la technique de cryo-microscopie comme technique complémentaire à la cristallographie aux rayons X permet aux scientifiques de combiner les deux méthodes, en regardant les molécules indépendantes plus petites avec les rayons X et les complexes beaucoup plus grands avec les électrons.

La nouvelle plateforme de cryo-EM va offrir de nouvelles opportunités pour la biologie structurale :

- Analyse de la structure des protéines complexes impliquées dans les processus biologiques
- Protéines virales : structures et applications pour concevoir des vaccins
- Structure et détermination des complexes moléculaires dynamiques

LIAISON MÉDICAMENTS - PROTÉINES

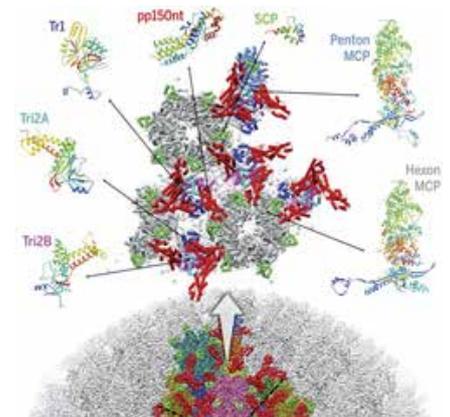
La technique de cryo-EM a aussi permis aux scientifiques d'observer comment les médicaments se lient aux complexes enzymatiques. Un complexe qui présente un intérêt particulier est l'AAA ATPase p97, une cible pour le développement thérapeutique du cancer. Du fait de sa flexibilité, le complexe p97 complet n'a pas pu être étudié par la cristallographie aux rayons X. Bien que des parties de la protéine aient été cristallisées, il n'a pu être trouvé de zone affectée par des médicaments qui inhibent l'activité enzymatique. En utilisant la cryo-EM, des chercheurs de l'Institut national du cancer aux États-Unis ont pu montrer directement comment et où exactement le médicament bloque le mouvement de la protéine.

REPARATION DE L'ADN

Les scientifiques du laboratoire National Lawrence Berkeley ont utilisé la technique de cryo-EM pour résoudre la structure 3D d'un complexe protéique appelé facteur de transcription IIH (TFIIH), actif dans la réparation de l'ADN. Ce complexe protéique est utilisé pour « ouvrir » la double hélice d'ADN afin que les gènes puissent être observés et lus pendant la transcription et la réparation. Lorsque TFIIH ne fonctionne pas, la réparation de l'ADN ne peut se produire, engendrant par exemple des développements cancéreux ou un vieillissement prématuré. En utilisant cette structure - identifiée grâce à la cryo-EM - les scientifiques peuvent maintenant commencer à mieux comprendre le mode d'action ou les dysfonctionnements dans les cellules.

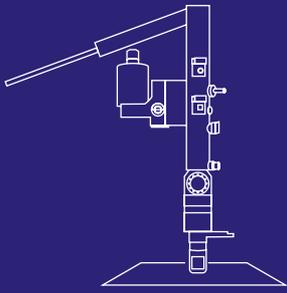
VIRUS DE L'HERPÈS

Le cytomégalovirus humain, ou HCMV, est le plus grand de tous les virus de l'herpès. C'est la principale cause infectieuse d'anomalies congénitales et un agent pathogène menaçant la vie des patients atteints de SIDA ou ayant subi une transplantation d'organes. Le HCMV est composé d'une enveloppe protéique renfermant son ADN double brin. Des scientifiques de UCLA aux États-Unis ont étudié le virus HCMV et résolu la structure des enveloppes de protéines en utilisant la technique de cryo-EM. Cela donne aux scientifiques de nouvelles perspectives pour contrer le HCMV et développer des stratégies thérapeutiques contre les infections à HCMV.



Traduction en attente

Crédit: Xuekui Yu et al. Science 2017;356 :eaam6892



Pourquoi une plateforme cryo-EM à l'ESRF ?

À l'ESRF, la cryo-microscopie électronique est utilisée comme technique complémentaire à la cristallographie macromoléculaire et bioSAXS. Pour une protéine qui peut être cristallisée, la diffraction des rayons X reste toujours le moyen le plus efficace pour obtenir sa structure à très haute résolution. En revanche, la technique de bioSAXS est moins performante pour la structure globale d'une seule protéine ou l'arrangement particulier d'un complexe macromoléculaire en solution.

La technique de cryo-EM, quant à elle, est idéale pour étudier la structure des protéines et des complexes plus gros, intrinsèquement difficiles à cristalliser, des résolutions sub-nanométriques pouvant aller, aujourd'hui, jusqu'à ~ 2 Å.

La combinaison des techniques synchrotrons et de la microscopie électronique en un seul endroit permettra aux scientifiques de faire avancer les frontières de la biologie structurale, d'obtenir des informations toujours plus précises et plus détaillées sur la structure des complexes moléculaires, leurs interactions, leur fonctionnement.

Avec l'installation de ce cryo-microscope électronique Titan Krios, l'ESRF, la source de rayons X la plus intense au monde, offre à la communauté internationale de biologie structurale la possibilité d'un accès coordonné à des méthodes et instruments de pointe, de la préparation et sélection jusqu'à l'imagerie 3D à très haute résolution. Une installation cryo-EM sur le site renforcera encore l'attrait scientifique de l'ESRF et le statut du campus scientifique EPN en tant que centre international majeur de biologie structurale intégrée.



Eaazhisai Kandiah introduisant un échantillon dans le cryo-microscope

Crédit: ESRF/Stef Candé

LA BIOLOGIE STRUCTURALE À L'ESRF SUR LES 5 DERNIÈRES ANNÉES :

700

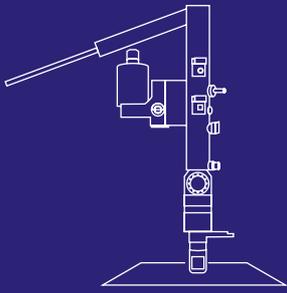
publications à facteur d'impact élevé (IF>9)

> 4 500

dépôts de structure dans la Banque de Données sur les Protéines
13 101 depuis le début de l'ESRF)

20 %

de la collecte de données effectués à distance



Pourquoi une plateforme cryo-EM sur le campus scientifique EPN ?

L'ESRF est situé sur un campus européen, appelé « EPN Science campus » pour « European Photon and Neutron Science Campus ». Ce campus abrite trois grands équipements de recherche européens, l'installation européenne de rayonnement synchrotron (ESRF), le Laboratoire européen de biologie moléculaire (EMBL), l'Institut Laue Langevin (ILL) et une unité mixte de recherche (CEA, CNRS, Université Grenoble Alpes) avec l'Institut de Biologie Structurale (IBS). Depuis 2002, les quatre instituts ont associé leur expertise en biologie au sein d'un Partenariat pour la Biologie Structurale (PSB).

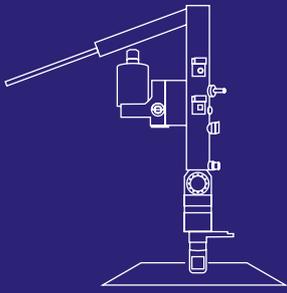
Installée à l'ESRF, au cœur de l'EPN Science campus, cette plateforme cryo-EM va offrir aux scientifiques du monde entier une approche holistique de leur recherche et un service unique, basé sur l'expertise de 350 scientifiques sur un même site, d'une instrumentation et de laboratoires à la pointe de l'innovation.

Le campus scientifique EPN en bref :

- Une collaboration de longue date avec la création d'une plate-forme commune pour les études intégrées de biologie structurale, le PSB (Partenariat pour la biologie structurale), établi par un protocole d'accord en 2002 par l'EMBL, l'ESRF, l'ILL et l'IBS.
- 350 scientifiques en biologie structurale sur le même site.
- 23 plateformes technologiques couvrant la préparation des protéines, l'analyse de structure 3D, la caractérisation des échantillons et les études supramoléculaires.
- ~ 200 articles publiés par an avec affiliation PSB.



Haut: Laboratoire au sein de l'EPN science campus - Crédit: ESRF/Pierre Jayet
Bas: Vue aérienne de l'EPN Science Campus - Crédit: ESRF/Jocelyn Chavy



EMBL, partenaire du cryo-microscope électronique

L'EMBL, ou Laboratoire Européen de Biologie Moléculaire, est le laboratoire de référence pour les sciences de la vie en Europe. L'EMBL est une organisation inter-gouvernementale fondée en 1974 et soutenue par plus de 20 pays membres.

La recherche fondamentale en biologie moléculaire faite à l'EMBL vise à mieux comprendre l'histoire de la vie. De plus l'EMBL offre des services à la communauté scientifique, forme la prochaine génération de scientifiques, et oeuvre pour une plus grande intégration des sciences de la vie en Europe.

L'EMBL est international, innovant, et interdisciplinaire. Plus de 1 600 personnes, originaires de plus de 80 pays, travaillent sur les 5 sites : à Grenoble (France), Hambourg (Allemagne), Heidelberg (Allemagne), Hinxton (Royaume-Uni), et Rome (Italie). Les scientifiques EMBL travaillent en groupes indépendants; ils dirigent des projets de recherche et offrent des services dans tous les domaines de la biologie moléculaire.

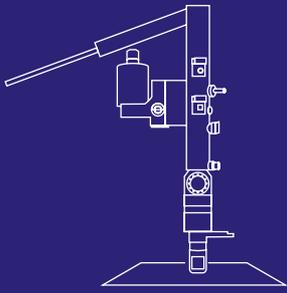
Les recherches menées à l'EMBL, permettent le développement de nouvelles technologies et méthodes en sciences de la vie. Les connaissances développées dans les laboratoires de l'EMBL bénéficient à toute la société.

Sur le site de Grenoble, les scientifiques révèlent la structure 3D de protéines et leurs interactions avec le génome. Sur le site, des experts développent une instrumentation et des méthodes pour chaque étape de la détermination de la structure biologique et fournissent des services de pointe aux scientifiques du monde entier. L'EMBL Grenoble est situé sur l'EPN Science Campus, où les interactions étroites avec des partenaires tels que l'ESRF créent les conditions idéales pour repousser les frontières en microscopie cryogénique et diffraction des rayons X.



Gauche: Vue du bâtiment de l'EMBL Grenoble

Droite: The structure of influenza virus polymerase, a key target for anti-viral drug design.



IBS, partenaire du cryo-microscope électronique

L'Institut de Biologie Structurale (IBS) est un centre de recherche dédié à la biologie structurale intégrée. Il a vu le jour en 1992 et est financé par le Commissariat à l'Energie Atomique (CEA), le Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) et l'Université Grenoble Alpes (UGA).

L'Institut de Biologie Structurale (IBS) est un centre de recherche dédié à la biologie structurale intégrée. Il a vu le jour en 1992 et est financé par le Commissariat à l'Energie Atomique (CEA), le Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) et l'Université Grenoble Alpes (UGA).

L'IBS vise à décrire des phénomènes biologiques complexes qui se déroulent à l'intérieur des cellules, en élucidant la structure des macromolécules impliquées dans ces processus à l'échelle atomique, en comprenant le lien entre leur structure et leur fonction, en identifiant les interactions entre protéines, la composition de complexes des biomolécules ainsi que leur dynamique.

L'IBS dispose d'un savoir-faire et d'une infrastructure uniques pour étudier les processus biologiques du niveau moléculaire à cellulaire.

UNE RECHERCHE FONDAMENTALE ET APPLIQUÉE D'EXCELLENCE

Les recherches menées à l'IBS s'inscrivent dans 3 axes thématiques principaux:

- Maladies infectieuses et médecine moléculaire
- Signalisation et transport membranaire
- Frontières en Biophysique et Chimie pour la Biologie Structurale

DES PLATE-FORMES TECHNIQUES UNIQUES

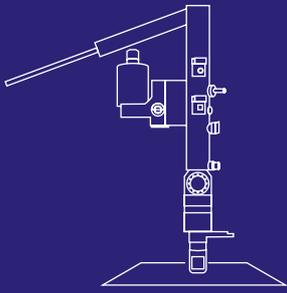
La résonance magnétique nucléaire (RMN), et la cristallographie et la cryo-microscopie électronique font partie des techniques de pointe utilisées à l'IBS pour décrypter la structure du vivant à l'échelle atomique.

- La plateforme RMN de l'IBS (dotée de 6 spectromètres, dont certains équipés pour la RMN du solide) fait partie du TGIR-RMN national, ainsi que du réseau européen BIO-NMR, ouvrant ainsi l'accès de ses spectromètres haut-champ à l'ensemble de la communauté européenne.

- La résolution de structure aux rayons X est très utilisée par les groupes de recherche de l'IBS. L'IBS a notamment construit une ligne de lumière à l'ESRF et a la charge de son fonctionnement et des développements instrumentaux pour la communauté nationale de biologie structurale. Certains chercheurs utilisent également une toute nouvelle génération de source de rayons X, les lasers à électrons libres (XFEL), dont il n'existe à ce jour que trois exemplaires opérationnels dans le monde.
- L'IBS dispose également de trois microscopes électroniques, de tous les instruments de préparation d'échantillons associés, ainsi que - en collaboration avec l'EMBL - d'un centre de calcul permettant de traiter les données générées par ces microscopes. Le plus performant des microscopes électroniques de cette plateforme (un Tecnai Polara installé en 2010) permet d'accéder à la résolution atomique grâce à sa caméra à détection directe d'électrons.



Vue du bâtiment de l'IBS.



L'ILL, partenaire de la plateforme Cryo-EM

L'Institut Laue-Langevin (ILL) est un centre de recherche international basé à Grenoble. Financé par la France, l'Allemagne et le Royaume-Uni, en partenariat avec 10 autres pays européens, il est leader mondial des sciences et technologies neutroniques depuis 45 ans.

L'ILL exploite une des sources de neutrons les plus intenses au monde. Il offre aux scientifiques des faisceaux de neutrons extrêmement brillants, alimentant quelque 40 instruments de très haute technologie en constante modernisation.

Les recherches répondent à un très large éventail de questions en biologie, chimie verte, sciences des matériaux, physique de la matière condensée, physique des particules.

En collaboration étroite avec l'Université de Keele (Royaume-Uni), l'ILL s'engage dans le développement de la microscopie cryo-électronique sur le campus EPN. Cette méthode est conçue pour fournir un accès inégalé à des informations de haute résolution sur les systèmes biologiques à grande échelle. Elle est très complémentaire des techniques de diffusion de neutrons aux petits angles (SANS) et permettra d'exploiter encore plus efficacement la plateforme commune SANS/SAXS du Partenariat pour la Biologie Structurale (PSB).

L'Université de Keele va recruter un scientifique qui intégrera le groupe des Sciences de la Vie de l'ILL, et travaillera en étroite collaboration avec les membres des équipes Cryo-EM de l'ESRF, de l'EMBL et de l'IBS. Les principaux domaines d'études seront liés aux interactions hôte-pathogène en parasitologie et aux systèmes à grande échelle, essentiels en neurosciences. On trouve parmi les exemples d'applications les protéines associées aux cellules sensorielles ciliées - impliquées dans l'audition des vertébrés et les organes d'équilibre, et les grands complexes viraux.



Vue du bâtiment de l'ILL.
Crédit: ILL / S.Claïsse.

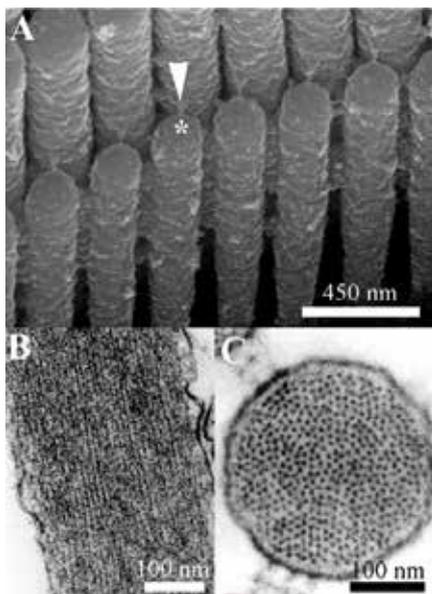
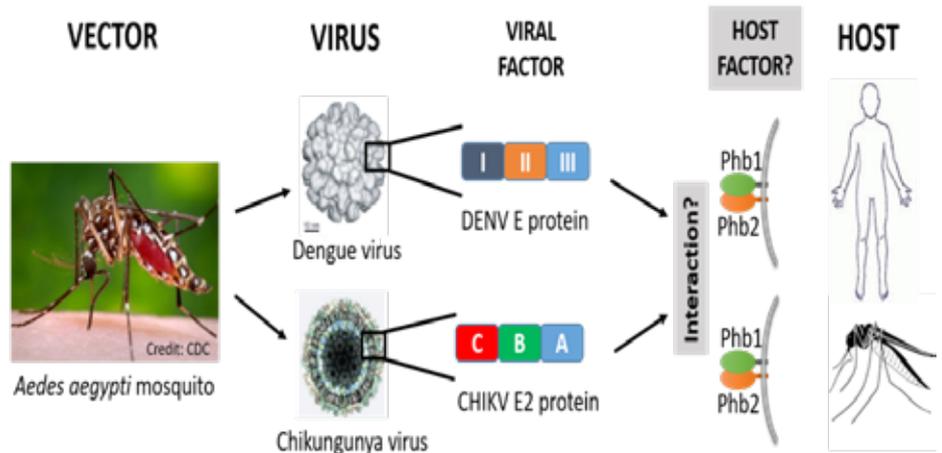


Image basse résolution par microscope électronique de stéréocils dans une cellule de cheveux. Des protéines spécifiques à l'extrémité de ces cils seront l'objet d'étude par cryo-EM à haute résolution.



Complexes protéiques viraux avec la protéine prohibitive.