

Annales L2

Cristallographie

S4

Sommaire

- Sujet session 1, 2017-2018 : page 3
- Sujet session 1, 2019-2020 ; page 8
- Correction session 1, 2019-2020 : page 16
- Sujet session 1 – DS1, 2021-2022 : page 25
- Sujet session 1 – DS2, 2021-2022 : page 31



Amicale Paris Sciences
Licence Sciences Biomédicales
2017-2018

Session 1 – S4
Sujet

Cristallographie

3

Les annales reprises par l'association Amicale Paris Sciences ne présentent en rien des documents officiels distribués par l'UFR Biomédicale. Aucune réclamation ne pourra être effectuée à l'encontre de l'UFR.

Siège administratif : Amical Paris Sciences – 45 Rue des Saints-Pères – 75006 Paris

<http://www.aps-paris5.fr> - Email : assosaps@gmail.com

Association régit par la loi 1901 enregistrée à la préfecture de Paris



UNIVERSITÉ
PARIS
DESCARTES

Année Universitaire 2017-2018

Faculté des Sciences Fondamentales et Biomédicales

L2 Science et Technologie

EPREUVE : Cristallographie – UE4.17

Semestre 2 - Session 1

Date : 7 Mai 2018

Dans l'ensemble de l'examen vos réponses doivent être justifiées.

Les calculatrices non programmables sont autorisées

Question 1 :

Donner 5 types de colonnes de purification de protéines et les noms des chromatographies qui leurs sont associées.

Question 2 :

- 1) Décrire un diagramme de phase par un schéma en indiquant les différentes zones et courbes.

Dans une expérience de cristallisation en goutte suspendu, on mélange initialement 2 μ L de protéine (poids moléculaire 50.000 Da) à 1 μ L de réservoir contenant du NaCl. Après équilibration ($t=+\infty$), les concentrations en protéine et en NaCl dans la goutte sont respectivement de 60 mg/mL et 3M.

- 2) Donner les concentrations stocks et initiales ($t=0$) de chacun des constituants (protéine et précipitant). Reporter ceci dans un diagramme de phase.
- 3) Quelle est la concentration de la protéine dans la goutte après équilibration ($t=\infty$), exprimée en millimolaire ?
- 4) Sachant que la masse molaire du NaCl est de 58,44g/mol, quelle quantité de NaCl doit-on dilué pour préparer 50 mL de solution stock de cristallisation.

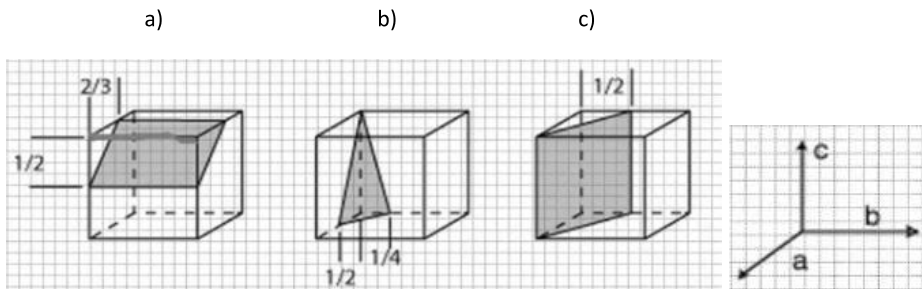
Question 3 :

Une protéine exprimée avec un tag GST en N-terminal a un point isoélectrique de 9.0. Il existe un site de coupure à la Thrombine (enzyme qui coupe une liaison peptidique spécifiquement) entre la GST et la protéine étudiée.

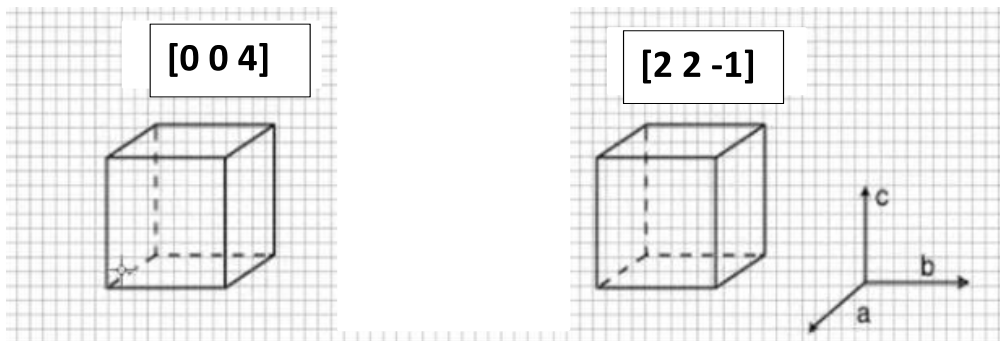
- 1) Quel type de chromatographie d'échange d'ion utiliseriez-vous et à quel pH afin de purifier la protéine seule ?
- 2) Proposer au moins trois étapes de chromatographie successives afin de purifier cette protéine sans le tag GST.

Question 4 :

- 1) Donner les indices hkl pour chacun des plans indiqués ci-dessous.



- 2) Tracer dans les mailles cubiques, les plans correspondants aux indices de Miller ci-dessous. Vous indiquerez le point origine que vous avez considéré.



- 3) Dans une autre couleur, tracer maintenant sur le même schéma 1 autre plan correspondant aux mêmes indices de Miller.

Question 5 :

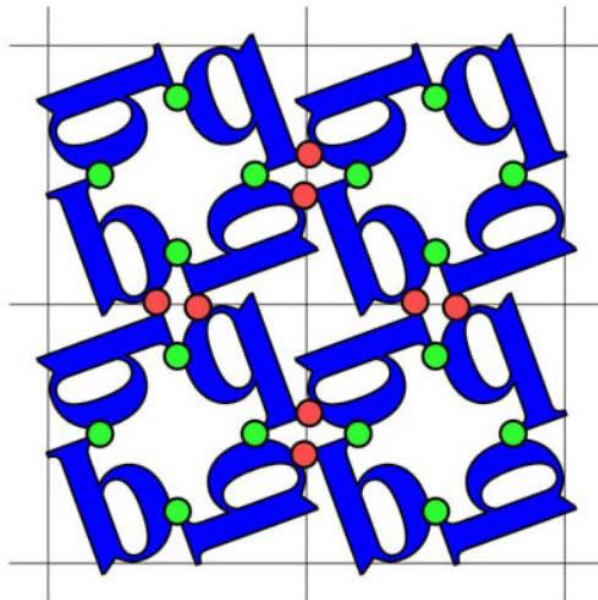
- 1) Ecrire le facteur de structure $F(hkl)$ sous forme d'une somme de termes complexes faisant apparaître le facteur de diffusion atomique f_j (j correspondant au $j^{\text{ème}}$ atome).
- 2) Les positions équivalentes dans la maille d'un cristal sont (x,y,z) et $(-x,-y,z+1/2)$. Montrer qu'il existe des valeurs 'l' où $F(00l)$ est nul.

Question 6 :

- 1) Donner la loi de Bragg et indiquer les unités des différents paramètres.
- 2) Faire un schéma d'une expérience de cristallographie où vous placerez cristal, détecteur, rayons X et angle θ de diffraction.
- 3) Dans une expérience de diffraction des rayons X, on souhaite positionner un détecteur circulaire de diamètre 600mm à 120mm d'un cristal. Sachant que les rayons X utilisés ont une longueur d'onde de 0.8 \AA , quelle sera la résolution maximale possible atteinte au bord du détecteur.
- 4) Si des tâches de diffraction sont observées jusqu'au bord du détecteur, pourra-t-on observer les atomes d'hydrogènes dans la carte de densité électronique ?

Question 7 :

Déterminer la symétrie de l'image suivante indiquer, directement sur l'image, **tous** les éléments de symétries, une maille, un motif et une unité asymétrique:





Amicale Paris Sciences

Licence Sciences Biomédicales 2019-2020

Session 1 – S4
Sujet

Cristallographie

Les annales reprises par l'association Amicale Paris Sciences ne présentent en rien des documents officiels distribués par l'UFR Biomédicale. Aucune réclamation ne pourra être effectuée à l'encontre de l'UFR.

Siège administratif : Amical Paris Sciences – 45 Rue des Saints-Pères – 75006 Paris

<http://www.aps-paris5.fr> - Email : assosaps@gmail.com

Association régit par la loi 1901 enregistrée à la préfecture de Paris

Question 1 :

Donner la définition et / ou l'utilisation des termes suivants :

- 1) IPTG
- 2) GST
- 3) HKL
- 4) Résolution



Question 2 :

Dans une expérience de cristallisation en goutte assise, on mélange initialement $1\mu\text{L}$ de protéine (poids moléculaire 10.000 Da) de concentration 25 mg/mL à $1\mu\text{L}$ de réservoir contenant du PEG200 à 30% de concentration.

- 1) Faites un schéma de l'expérience



- 2) Donner les concentrations initiales ($t=0$) et finales ($t=\infty$) de chacun des constituants (protéine et précipitant) dans la goutte.



- 3) Dans deux autres expériences, on réalise un mélange 3+1 μ L et 1+3 μ L (dans l'ordre protéine+PEG200). Donner les nouvelles concentrations initiales et finales.



4) Reporter les 3 trajectoires dans un diagramme de phase.



5) Quelle(s) expérience(s) recommanderiez-vous de faire au chercheur si la quantité de protéine n'est pas limitante ?




6) Quelle est la concentration de la protéine stock exprimée en millimolaire ?



Question 3 :

Une protéine exprimée avec un tag histidine en N-terminal a un point isoélectrique de 6.0. Il existe un site de coupure à la Thrombine (enzyme qui coupe une liaison peptidique spécifiquement) entre la protéine étudiée et le tag.

- 1) Quel type de chromatographie d'échange d'ion utiliseriez-vous et à quel pH afin de purifier la protéine ?

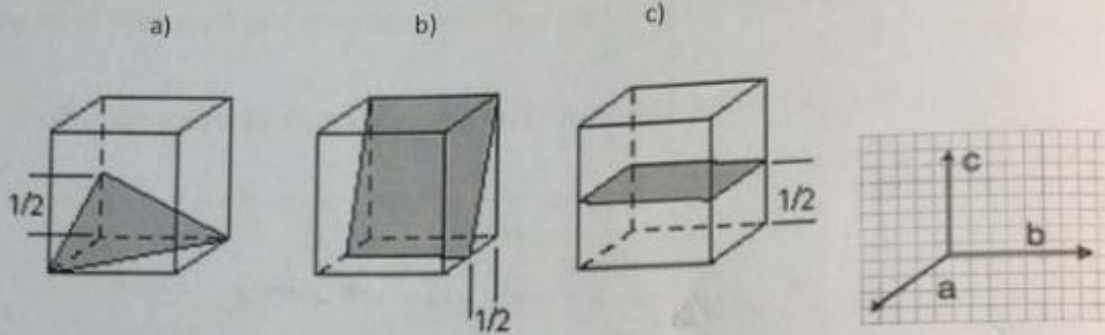


- 2) Proposer un protocole de purification en au moins 3 étapes, de cette protéine sans le tag Histidine.

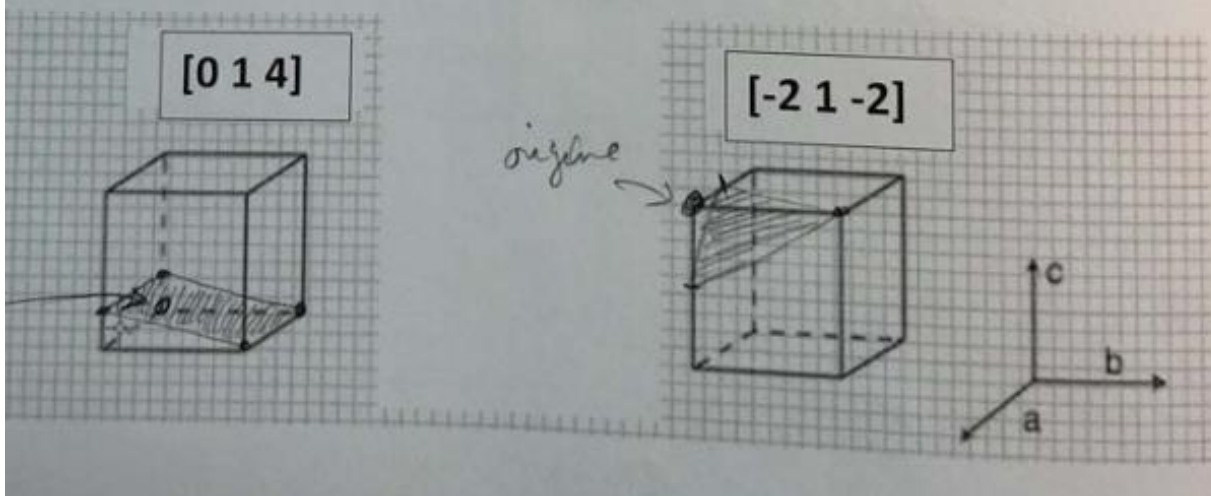


Question 4 :

1) Donner les indices hkl pour chacun des plans indiqués ci-dessous.



2) Tracer dans les mailles cubiques, les plans correspondants aux indices de Miller ci-dessous. Vous indiquerez le point origine que vous avez considéré.



Question 5 :

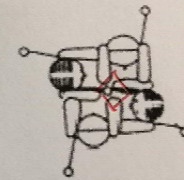
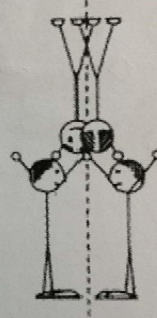
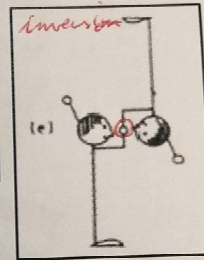
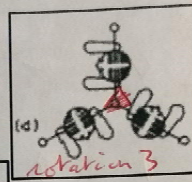
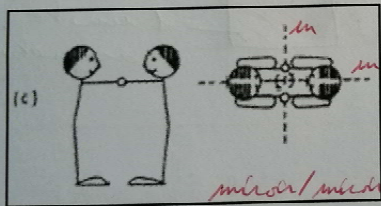
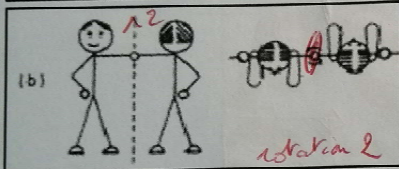
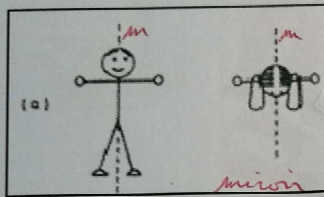
Déterminer la symétrie de l'image suivante indiquer, directement sur l'image, **tous** les éléments de symétries, une maille, un motif et une unité asymétrique:



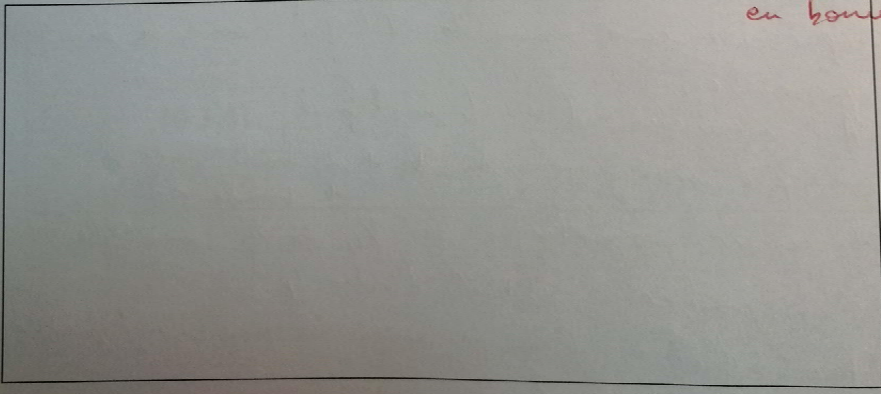
1 unité
asymétrique

Question 6 :

Donner les symétries, toutes différentes, représentées sur ces 6 figures (de 'a' à 'f', vues de face et/ou de dessus) et indiquer en rouge sur la figure, l'élément de symétrie correspondant.



inversion / rotation 2
(le plus dur!)
en bonus!





Amicale Paris Sciences

Licence Sciences Biomédicales 2019-2020

Session 1 – S4
Correction

Cristallographie

Les annales reprises par l'association Amicale Paris Sciences ne présentent en rien des documents officiels distribués par l'UFR Biomédicale. Aucune réclamation ne pourra être effectuée à l'encontre de l'UFR.

Siège administratif : Amical Paris Sciences – 45 Rue des Saints-Pères – 75006 Paris

<http://www.aps-paris5.fr> - Email : assosaps@gmail.com

Association régit par la loi 1901 enregistrée à la préfecture de Paris

Question 1 :

Donner la définition et / ou l'utilisation des termes suivants :

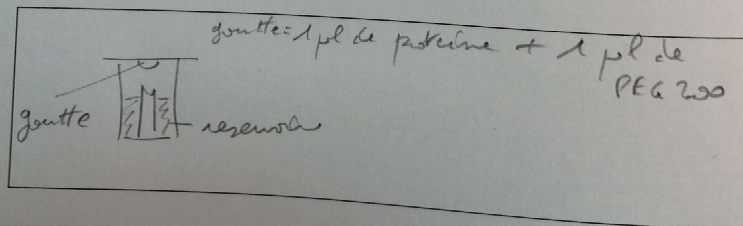
- 1) IPTG
- 2) GST
- 3) HKL
- 4) Résolution

1) IPTG : Petite molécule (Isopropyle Thio-
galactoside) capable d'induire l'expression
de protéines dans des bactéries contenant le système T7.
2) GST : Protéine utilisée en fusion afin de
purifier par affinité une protéine d'intérêt.
(Glutathione-S-transférase)
3) HKL : Indices de Nilles permettant de définir des
plans dans une maille et de représenter l'espace
réciproque des facteurs de structure (coordonnées de
chaque "F".
4) Résolution : Nombre représentant le détail d'une
structure. Indiquée par la lettre "d" dans la formule
de Bragg : $2d \sin \theta = n\lambda$

Question 2 :

Dans une expérience de cristallisation en goutte assise, on mélange initialement 1 μ L de protéine (poids moléculaire 10.000 Da) de concentration 25 mg/mL à 1 μ L de réservoir contenant du PEG200 à 30% de concentration.

- 1) Faites un schéma de l'expérience



- 2) Donner les concentrations initiales ($t=0$) et finales ($t=\infty$) de chacun des constituants (protéine et précipitant) dans la goutte.

$[prot]^{initial} = 25 \text{ mg/ml}$
 $[PEG200]^{initial} = 30\%$

	$t=0$	$t=\infty$
vol	1+1	1
$[prot]$	$\frac{25 \times 1}{2} = 12,5$	25 mg/ml
$[PEG200]$	$\frac{30 \times 1}{2} = 15$	30%

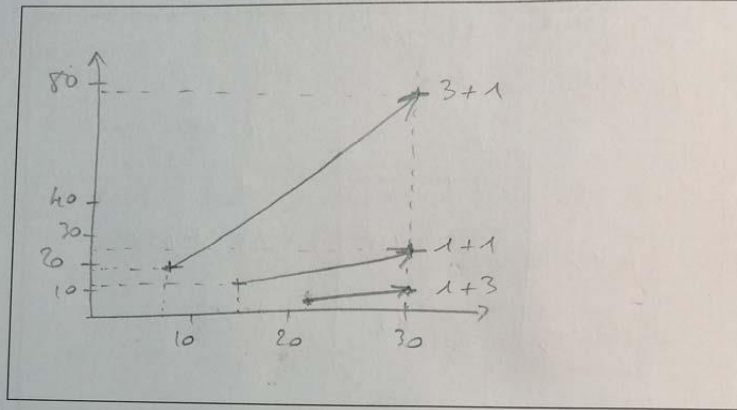
x2

- 3) Dans deux autres expériences, on réalise un mélange 3+1 μl et 1+3 μl (dans l'ordre protéine+PEG200). Donner les nouvelles concentrations initiales et finales.

	3+1		1+3	
	$t=0$	$t=\infty$	$t=0$	$t=\infty$
vol	4	1	4	3
$[prot]$	$\frac{3 \times 25}{4} = 18,75$	25	$\frac{1 \times 25}{4} = 6,25$	$\frac{1 \times 25}{3} = 8,3$
$[PEG]$	$\frac{1 \times 30}{4} = 7,5$	30	$\frac{3 \times 30}{4} = 22,5$	30

x $\frac{4}{3}$

4) Reporter les 3 trajectoires dans un diagramme de phase.



5) Quelle(s) expérience(s) recommanderiez-vous de faire au chercheur si la quantité de protéine n'est pas limitante ?

3+1 et 1+1 permettraient de bien quadriller le diagramme de phase.
Pour chaque point, cela consomme le pl de protéine.
Ceci est important en volume mais la quantité n'est pas limitée.

6) Quelle est la concentration de la protéine stock exprimée en millimolaire ?

$$\text{mg de mso / litre} : \frac{25}{10000} = 2,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$$

soit 2,5 mM.

Question 3 :

Une protéine exprimée avec un tag histidine en N-terminal a un point isoélectrique de 6.0. Il existe un site de coupure à la Thrombine (enzyme qui coupe une liaison peptidique spécifiquement) entre la protéine étudiée et le tag.

- 1) Quel type de chromatographie d'échange d'ion utiliseriez-vous et à quel pH afin de purifier la protéine ?

$pI = 6$, pH possible entre 5 et 9
 il faut 1 pH distant de au moins une unité de pH du pI :

zone de pH utilisable.
 Entre 7 et 9 la protéine est un anion →
 chromato échange d'anion.

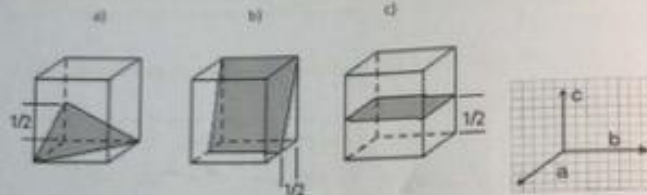
- 2) Proposer un protocole de purification en au moins 3 étapes, de cette protéine sans le tag Histidine.

Au départ : Hist tag X ↳ protéine d'intérêt.

1) chromato affinité His :	objet purifié
2) coupure thrombine	# X
3) chromato échange d'anion	H X
4) gel filtration	X
	X

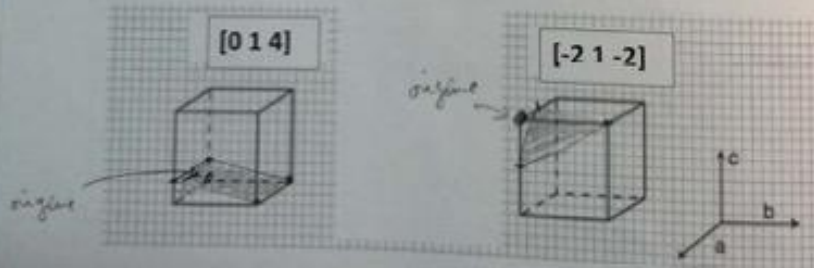
Question 4.

1) Donner les indices hkl pour chacun des plans indiqués ci-dessous.



112 201 002

2) Tracer dans les mailles cubiques, les plans correspondants aux indices de Miller ci-dessous. Vous indiquerez le point origine que vous avez considéré.



Question 5 :

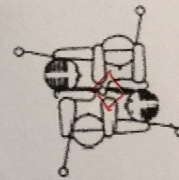
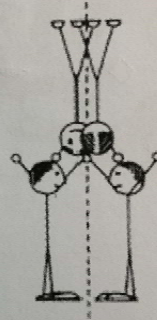
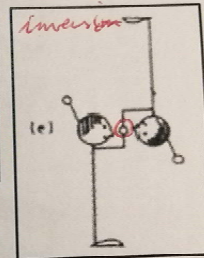
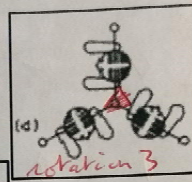
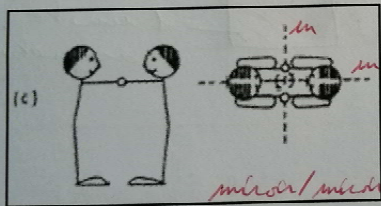
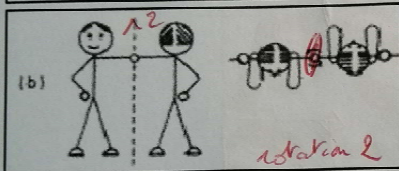
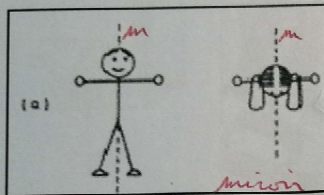
Déterminer la symétrie de l'image suivante indiquer, directement sur l'image, **tous** les éléments de symétries, une maille, un motif et une unité asymétrique:



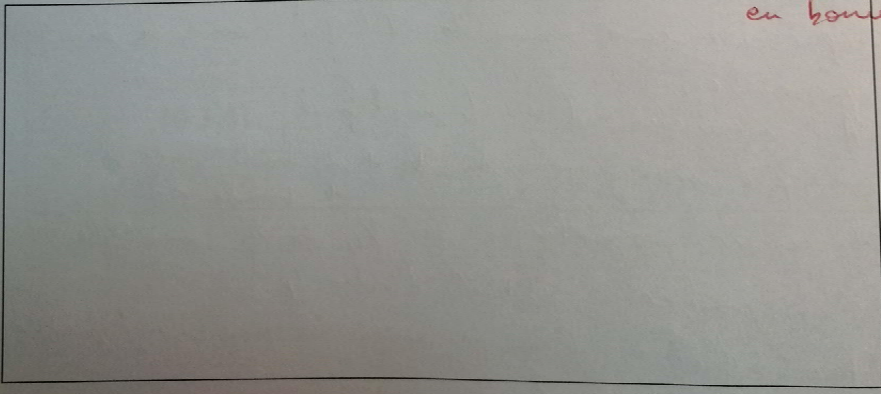
chaque carré est identique et représente une maille. Il y a donc 16 mailles représentées.
A l'intérieur, il y a le motif.
chaque motif = 1 'b' + 1 boule verte + 1 boule rouge.
1 unité asymétrique = $\frac{1}{4}$ de la maille.
la symétrie = rotation d'ordre 4
Par symétrie, il existe aussi des axes de symétrie d'ordre 2.

Question 6 :

Donner les symétries, toutes différentes, représentées sur ces 6 figures (de 'a' à 'f', vues de face et/ou de dessus) et indiquer en rouge sur la figure, l'élément de symétrie correspondant.



inversion / rotation 2
(le plus dur !)
en bonus !





Amicale Paris Sciences

Licence Sciences Biomédicales 2021-2022

Session 1 – DS1 – S4
Sujet

Cristallographie

Les annales reprises par l'association Amicale Paris Sciences ne présentent en rien des documents officiels distribués par l'UFR Biomédicale. Aucune réclamation ne pourra être effectuée à l'encontre de l'UFR.

Siège administratif : Amical Paris Sciences – 45 Rue des Saints-Pères – 75006 Paris

<http://www.aps-paris5.fr> - Email : assosaps@gmail.com

Association régit par la loi 1901 enregistrée à la préfecture de Paris

DS1 de l'UE Cristallographie du L2 Sciences Biomédicales

17 Mars 2022

(Durée de l'épreuve : 60 min)

Calculatrice non programmable autorisée

Certaines réponses aux questions peuvent être écrites directement sur ce sujet de DS1.

Merci de rendre l'énoncé avec votre copie.

NOM :

PRENOM :

Question 1 :

Décrire le diagramme de Ramachandran par un schéma. Préciser les zones où doivent se trouver les acides aminés Phénylalanine et Glycine.

Question 2 :

Donner les caractéristiques générales d'un vecteur d'expressions bactérien. Répondez en vous aidant d'un schéma.

Question 3 :

Énoncer trois techniques pour aider au repliement des protéines au cours de l'expression d'une protéine d'intérêt.

Question 4 :

Dans une expérience de cristallisation en goutte suspendue, on mélange 4 μ L de protéine à une concentration stock de 10 mg/mL à 1 μ L d'une solution de réservoir contenant 40 % de PEG600.

- 1) Faites un schéma de l'expérience
- 2) Donner les concentrations initiales et finales de chacun des constituants (protéine et précipitant). Faites de même pour un mélange 1:1.
- 3) Dans un diagramme de phase, tracer les trajectoires correspondant aux mélanges 4:1 et 1:1.
- 4) Quel est l'intérêt de faire un mélange 4:1 comparé à un mélange 1:1 ? Donner un désavantage de ce protocole.

Question 5 :

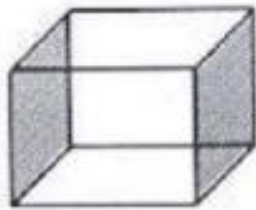
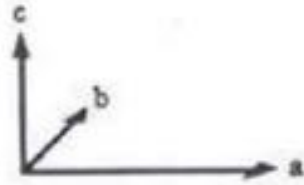
Décrire succinctement une méthode de cristallisation de petites molécules. Vous pouvez prendre exemple sur la méthode utilisée dans l'industrie pour préparer les médicaments sous forme de comprimés.

Question 6 :

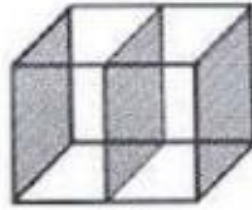
Donner les noms des 7 systèmes cristallin.

Question 7 :

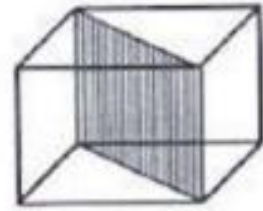
Préciser les indices hkl pour chacune des familles de plans indiquées ci-dessous.



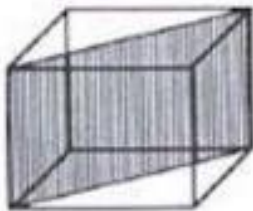
A



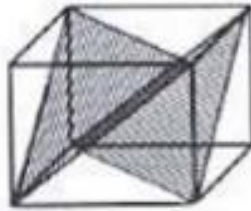
B



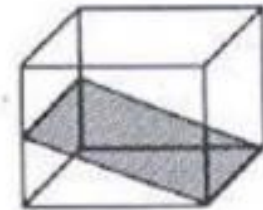
C



D



E



F

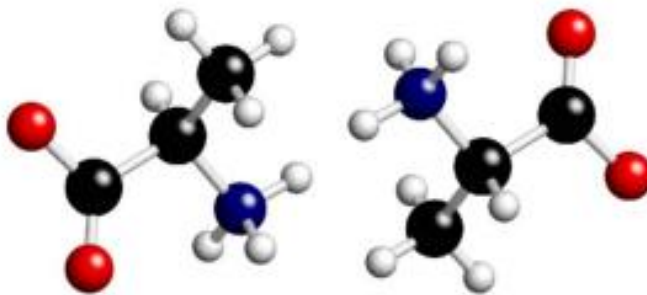
Question 8 :

Décrire les symétries suivantes et indiquer un ou plusieurs éléments de symétries, un motif, une maille et une unité asymétrique sur les figures :

a)

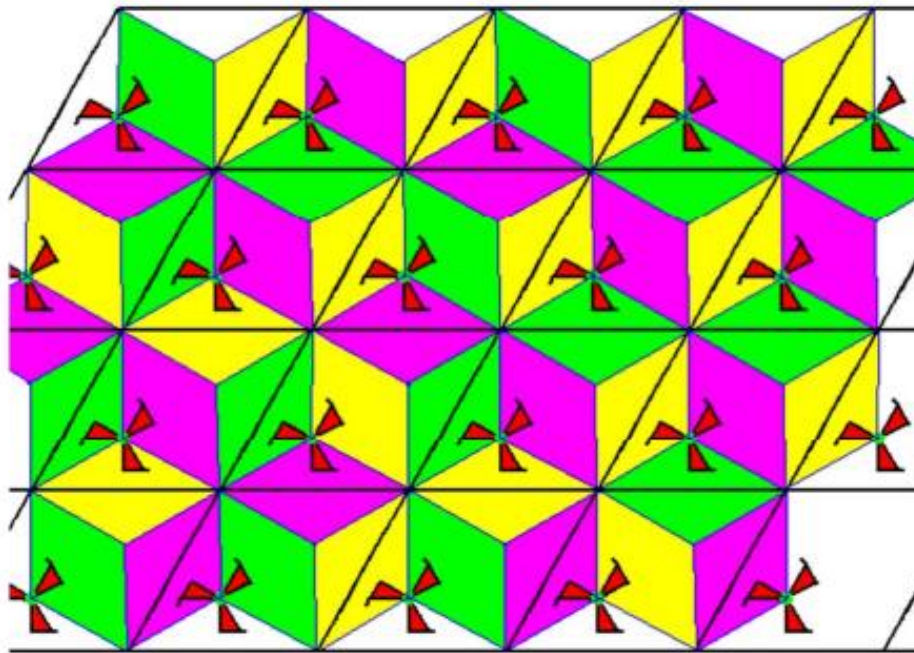


b)



QUESTION BONUS :

c) Ici, les couleurs ne sont là que pour faire jolie.





Amicale Paris Sciences

Licence Sciences Biomédicales 2021-2022

Session 1 – DS2 – S4
Sujet

Cristallographie

Les annales reprises par l'association Amicale Paris Sciences ne présentent en rien des documents officiels distribués par l'UFR Biomédicale. Aucune réclamation ne pourra être effectuée à l'encontre de l'UFR.

Siège administratif : Amical Paris Sciences – 45 Rue des Saints-Pères – 75006 Paris

<http://www.aps-paris5.fr> - Email : assosaps@gmail.com

Association régit par la loi 1901 enregistrée à la préfecture de Paris

DS2 de l'UE Cristallographie du L2 Sciences Biomédicales

21 avril 2022

(Durée de l'épreuve : 60 min)

Calculatrice non programmable autorisée

Certaines réponses aux questions peuvent être écrites directement sur le sujet de DS1.

Question 1 :

Une protéine exprimée avec un tag Histidine en N-terminal a un point isoélectrique de 7.0. Il existe un site de coupure à la Thrombine (enzyme qui coupe une liaison peptidique spécifiquement) entre la protéine étudiée et le tag histidine.

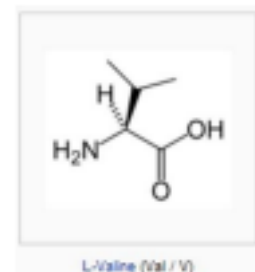
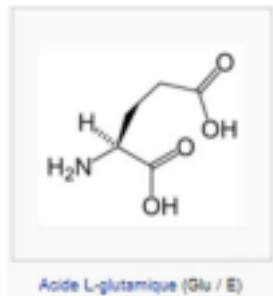
- 1) Quel type de chromatographie d'échange d'ion utiliseriez-vous et à quel pH afin de purifier la protéine seule ?
- 2) Proposer au moins trois étapes de chromatographie successives afin de purifier cette protéine sans le tag histidine.

Question 2 :

Calculer le point isoélectrique (pI) du peptide **Glu-Val-Glu-Val** à l'aide du tableau ci-dessous :

Tableau donnant les pKa des fonctions acido/basiques de certains acides aminés et leurs structures chimiques :

	COOH terminal	R	NH2 terminal
Glu	1.9	4.4	9.5
Val	2.0	-	9.6



Question 3 :

Donner six paramètres qui influencent la cristallisation des protéines.

Question 4 :

Quels sont les différences ou similarités d'une étude cristallographique faite sur des petites molécules ou des macromolécules en terme de :

- a) Taille des objets
- b) Cristallisation
- c) Maille
- d) Groupe d'espace
- e) Résolution
- f) Méthodes de détermination des phases

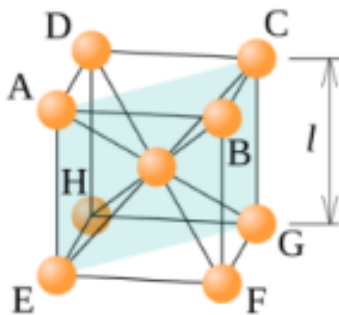
Vous pourrez répondre sous la forme d'un tableau.

Question 5 :

Pour une structure cubique en corps centré, de côté ' l ' ($AB=l$) comme représentée sur la figure ci-dessous.

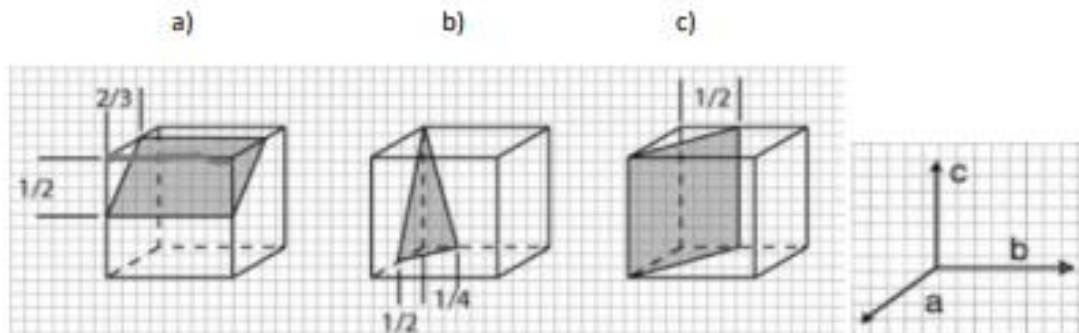
Déterminer :

- a) le volume de la maille
- b) le nombre de motifs dans la maille
- c) Représenter le plan $ACGE$, le plus compact, en utilisant les sphères (motifs) les plus volumineuses possible.
- d) En déduire une relation entre R (rayon d'une sphère) et l .
- e) En déduire la compacité du système exprimé en pourcentage (volume occupé par les motifs divisé par le volume de la maille).

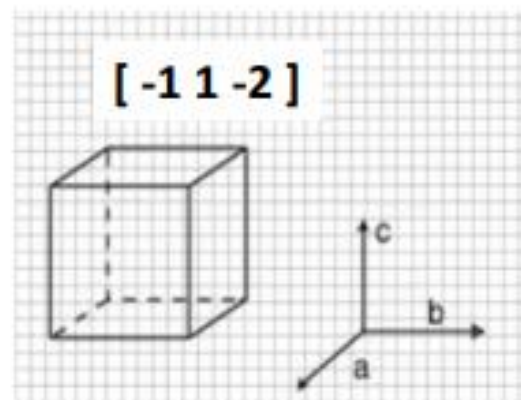
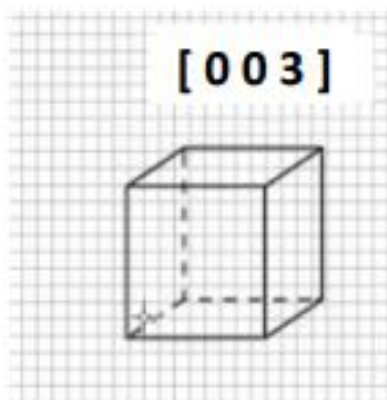


Question 6 :

1) Donner les indices hkl pour chacun des plans indiqués ci-dessous.

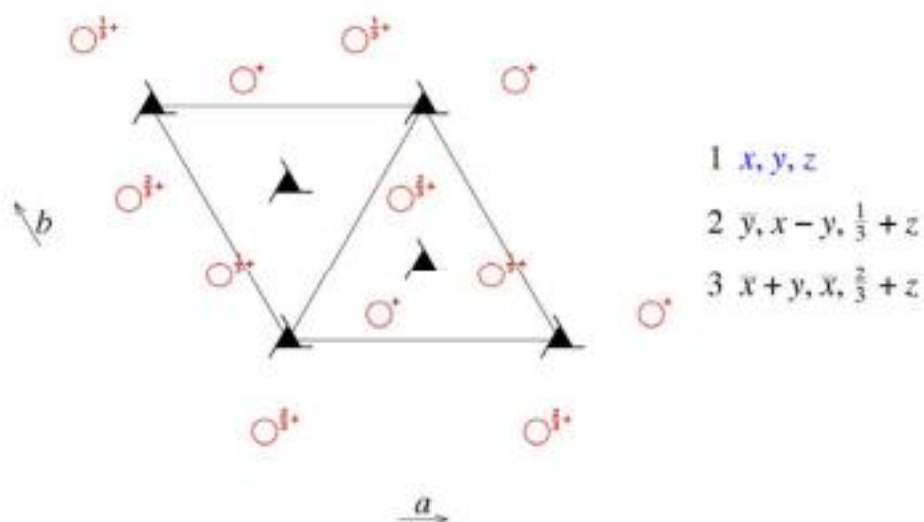


2) Tracer dans les mailles cubiques ci-dessous, les plans correspondants aux indices de Miller. Vous indiquerez le point origine que vous avez considéré. Lorsque cela est possible, indiquez sur le même schéma, d'autres plans appartenant à la même famille.



Question 7 :

- 1) Ecrire le facteur de structure $F(hkl)$ sous forme d'une somme de termes complexes faisant apparaître le facteur de diffusion atomique f_j (j correspondant au $j^{\text{ème}}$ atome).
- 2) En utilisant les positions des atomes équivalents dans le groupe d'espace ci-dessous, montrer qu'il existe des valeurs l' où $F(00l')$ est nul.



- 3) Indiquer sur le schéma une maille, une unité asymétrique, un élément de symétrie et un motif.
- 4) A quel groupe d'espace pourrait correspondre ce schéma ?

Question 8 :

- 1) Donner la loi de Bragg et indiquer les unités des différents paramètres.

- 2) Dans une expérience de diffraction des rayons X, on souhaite positionner un détecteur circulaire de diamètre 400 mm afin de pouvoir mesurer des taches de diffraction de 1.5\AA de résolution au bord du détecteur. Les rayons X utilisés ont une longueur d'onde de 0.9\AA .
 - a) Faire un schéma de l'expérience.

 - b) A quelle distance du cristal doit-on placer le détecteur ?

Question 9 :

Décrire la méthode MIR ou la méthode MAD utilisée dans la résolution du problème de la phase.