

Décrypter un cryptochrome par cristallographie résolue dans le temps et spectroscopie in crystallo résolue dans le temps, de la nanoseconde à la seconde en XFEL et synchrotron

Nicolas CAMELLO (Universität Hamburg ; European Synchrotron Radiation Facility, Grenoble - France)

Antoine ROYANT (Institut de Biologie Structurale UMR 5075 CEA-CNRS-UGA-PSB, Grenoble)

Manuel MAESTRE-REYNA (National Taiwan University, Taipei - Taiwan)

Lars-Oliver ESSEN (Philipps University Marburg, Marburg - Germany)

Junpei YAMAMOTO (Osaka University, Osaka - Japan)

Yuhei HOSOKAWA (National Taiwan University, Taipei - Taiwan)

Sylvain ENGILBERGE (Institut de Biologie Structurale UMR 5075 CEA-CNRS-UGA-PSB, Grenoble)

Kevin YANG (National Taiwan University, Taipei - Taiwan)

Po-Hsun WANG (Philipps University Marburg, Marburg - Germany)

Abstract

Les photolyases et les cryptochromes appartiennent à la super-famille des photolyases/cryptochromes (PCSF), présente dans tous les domaines de la vie. Tandis que les photolyases réparent les lésions de l'ADN causées par le rayonnement UV, les cryptochromes ont principalement perdu cette fonction et agissent comme des photorécepteurs et magnétorécepteurs modulant la croissance des plantes et le rythme circadien. Un consortium, dirigé par Manuel Maestre-Reyna (Université nationale de Taiwan) impliquant les équipes de Lars-Oliver Essen (Universität Marburg), Junpei Yamamoto (Université d'Osaka) et Antoine Royant (IBS, ESRF), s'est attaché à décrypter le mécanisme permettant la transduction du signal chez le cryptochrome 'animal-like' de l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii* (CraCRY). La séquence d'événements menant à la signalisation se déroule sur une large échelle de temps, nécessitant l'utilisation de la TR-SX (cristallographie sérielle résolue dans le temps) au synchrotron ESRF en France et au laser à électrons libres (XFEL) SACLA au Japon. Les événements ultrarapides après absorption d'un photon par le cofacteur flavine (nanoseconde à centaines de millisecondes) et menant à la génération d'une paire stable de radicaux ont été étudiés par TR-SX au XFEL. En complément, la cinétique de protonation du cofacteur flavine radicalaire, stabilisant la paire de radicaux, a été déterminée par spectroscopie in crystallo résolue dans le temps (TR-icOS) sur un nouvel équipement de la plateforme icOS à l'ESRF. La méthodologie pompe-sonde utilisée à SACLA étant moins adaptée aux délais excédant 300 ms, les événements ultérieurs (transition vers l'état de signalisation) ont été visualisés par cristallographie sérielle d'oscillation résolue dans le temps (TR-SOX) sous illumination continue, sur la ligne ID30A3 à l'ESRF. Les cartes de densité électronique produites ont été analysées par décomposition en valeur singulières (SVD). En combinant plusieurs techniques de cristallographie, spectroscopie et analyse de données, nous avons fourni un mécanisme moléculaire à la transduction du signal lumineux par les cryptochromes.