

Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen
Faculté SNV & STU
Département de biologie
Master Biochimie Appliquée
2020-2021

Master 1 Biochimie Appliquée

Semestre 2: Unité Méthodologie

Méthodes d'identification et d'analyse structurale

Cours: Dr. Benariba N.

Partie 2: Méthodes d'identification et d'analyse structurale

Méthodes d'identification et de détermination de la structure chimique des molécules

1- Les Méthodes spectroscopiques

1-1 La Spectroscopie moléculaire UV-Visible: dosage des biomolécules

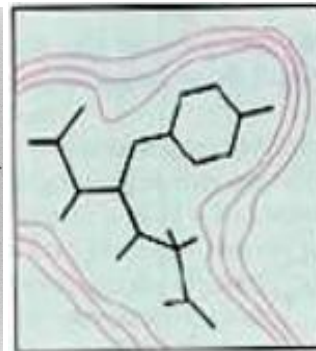
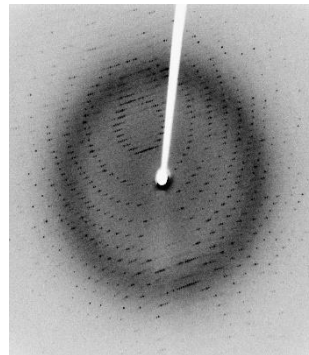
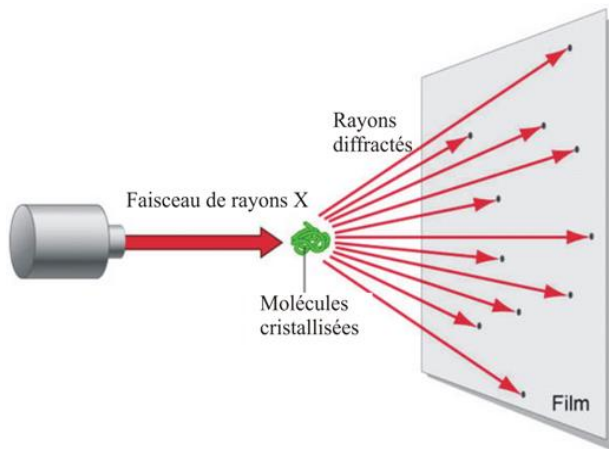
1-2 La Spectroscopie moléculaire infrarouge: caractérisation des groupements fonctionnels

1-3 La cristallographie par diffraction des rayons X : caractérisation de la structure des molécules cristallisées

1-4 La spectrométrie de masse : caractérisation de la masse des molécules

1-5 La Spectroscopie RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) : caractérisation de la structure des molécules (squelette carbonique) par la RMN du proton H et du carbone-13

Chapitre 3: Cristallographie par diffraction des rayons X



3- La cristallographie par diffraction des rayons X: Caractérisation de la structure des molécules cristallisée

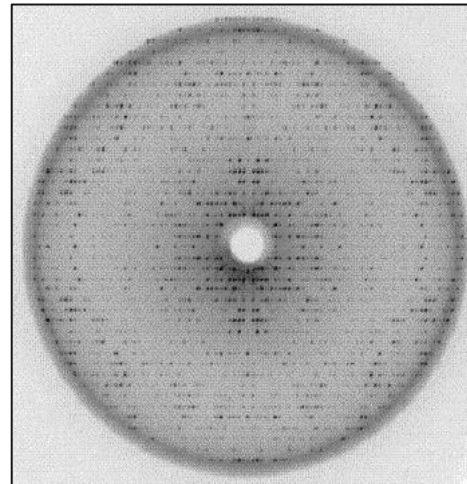
Les rayons X sont des rayonnements électromagnétiques, découverts en 1895 par le physicien allemand Röntgen, sont à la base de différentes techniques d'analyse comme la radiographie (analyse médicale) et la diffractométrie ou cristallographie (analyse chimique). Les rayons X ont une longueur d'onde de l'ordre de l'Ångström. (0,01-100nm)

On distingue les rayons X durs, de plus grande énergie (mais de plus faible longueur d'onde) et qui sont utilisés en radiographie. Tandis que des rayons X mous sont utilisés dans l'étude des cristaux (la cristallographie).

Film (cliché)
de radiographie



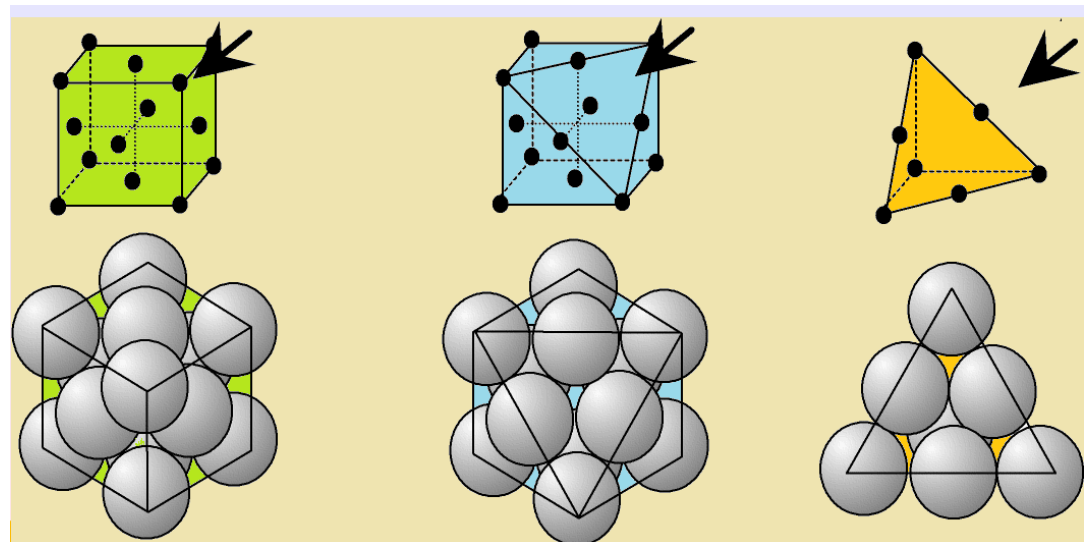
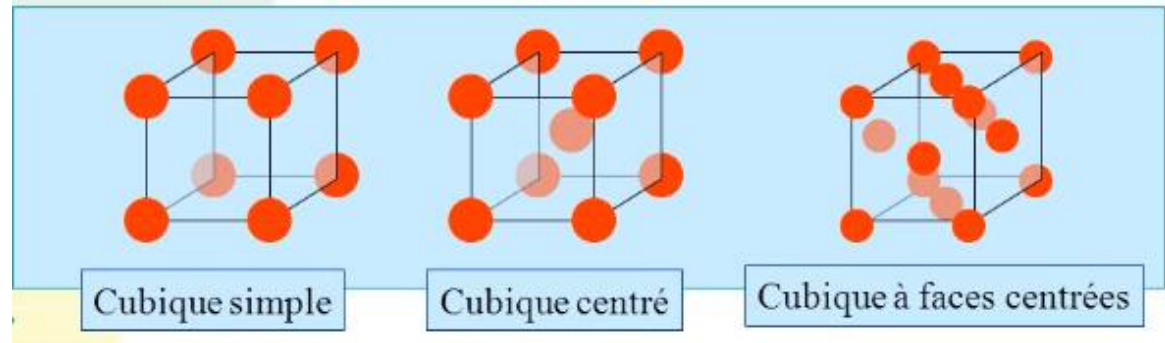
Film (cliché)
de cristallographie



3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X

La cristallographie a pour but de déterminer la symétrie cristalline.

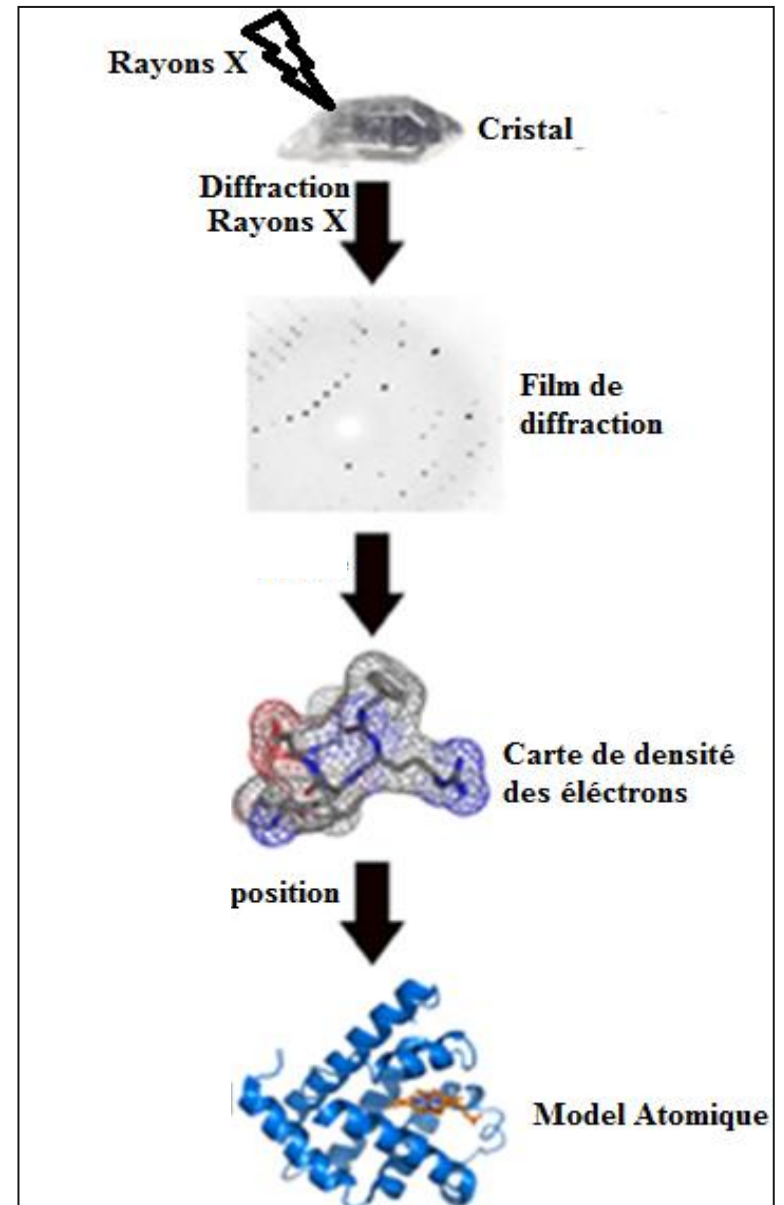
Un cristal est un agencement d'atomes, d'ions ou de molécules, avec un motif se répétant périodiquement dans les trois dimensions. Les distances interatomiques sont de l'ordre de l'Ångström, du même ordre de grandeur que les longueurs d'onde des rayons X: un cristal constitue donc un réseau 3D qui peut diffracter les rayons X.



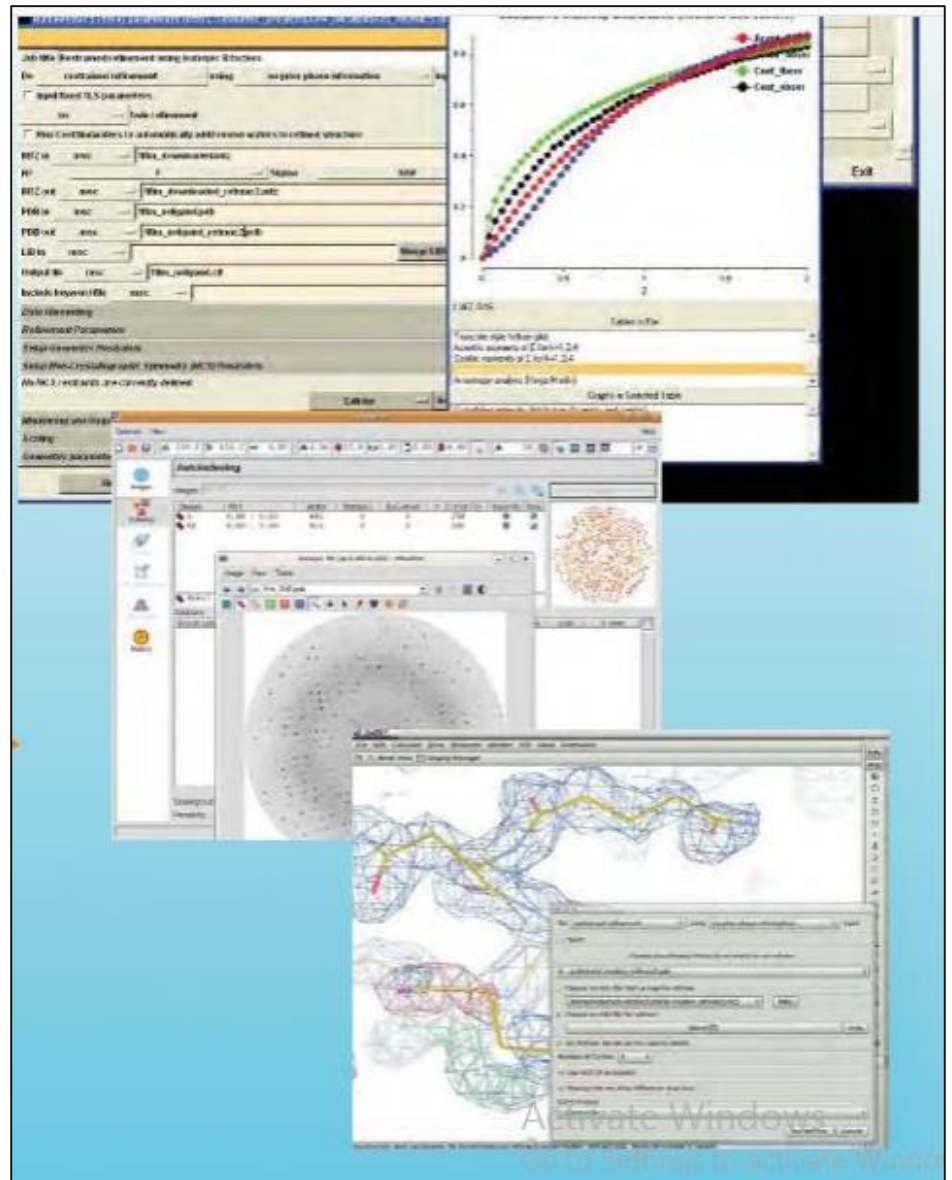
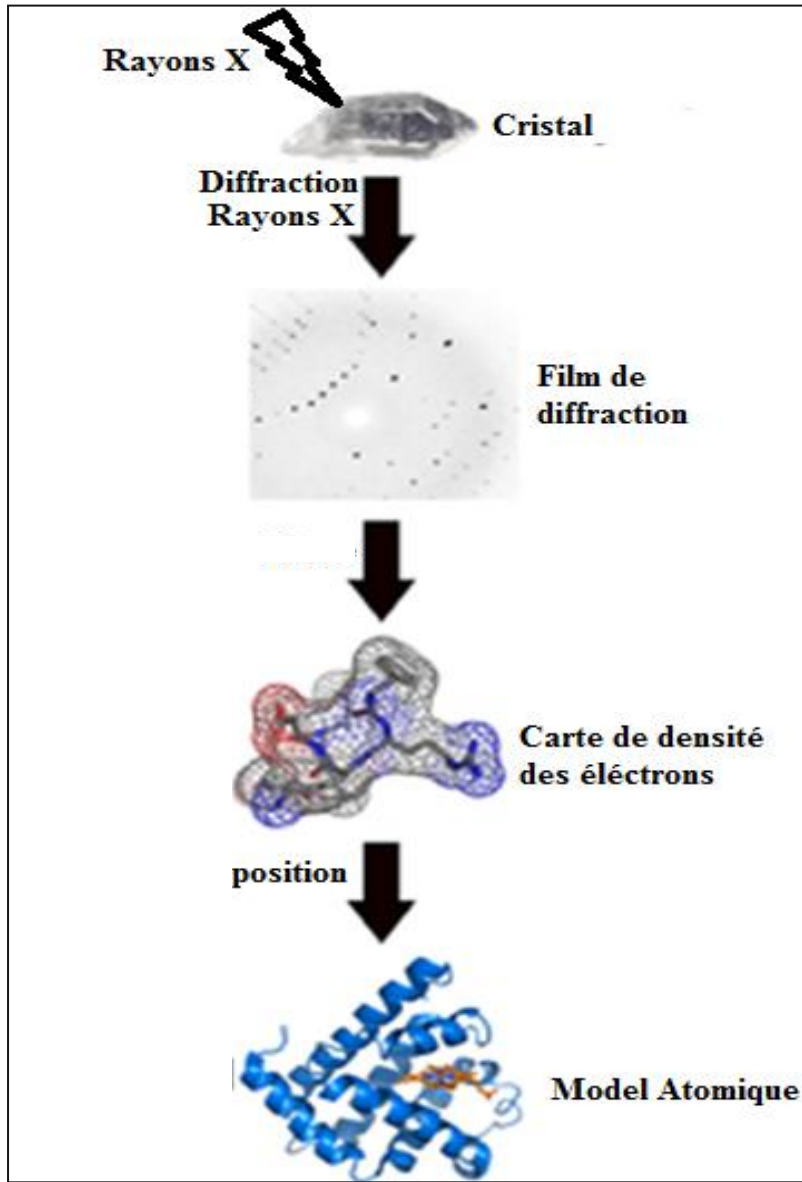
3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X

Principe de diffraction aux rayons X

La diffractométrie de rayon X (DRX) est une technique d'analyse basée sur la diffraction des rayons X par la matière cristalline. Les électrons entourant chaque atome diffractent le faisceau de rayon X sur un film de diffraction. Ensuite l'enregistrement des intensités diffractées et après mesure d'angles et d'intensité, des calculs sur ordinateur par des logiciels sont réalisés pour interpréter ce modèle de diffraction et déterminer une carte de densité électronique. L'analyse de la densité des électrons par les logiciels permet de reconstruire la position des atomes pour finalement donner un modèle atomique quasi exact de la structure de la molécule et obtenir une image 3D.

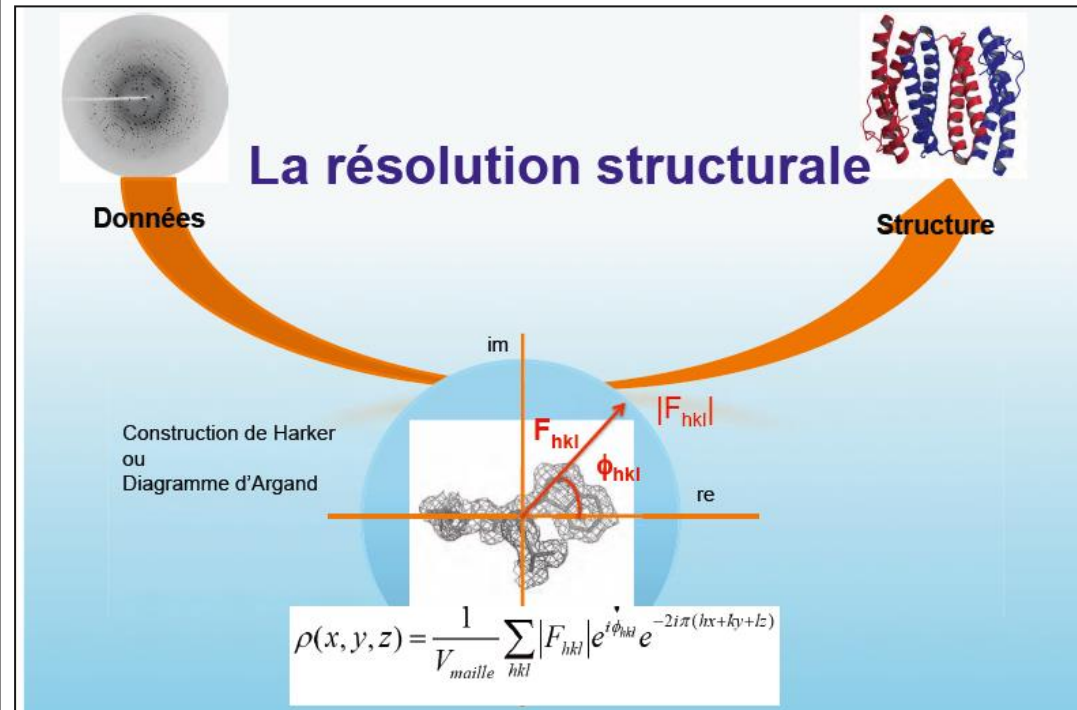
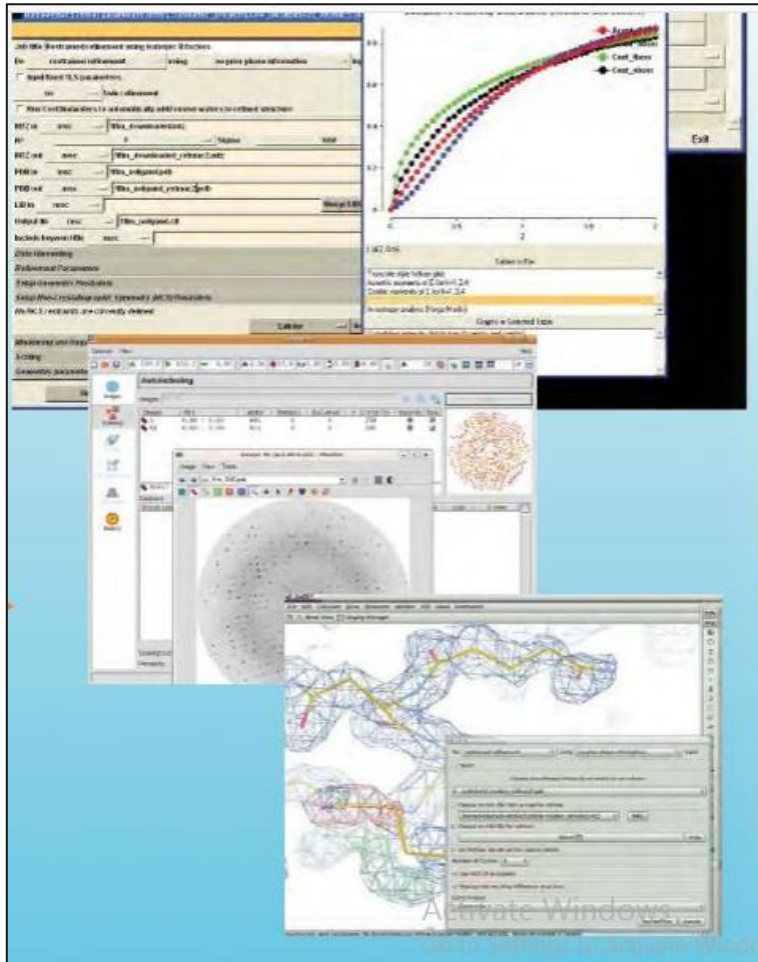


3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X



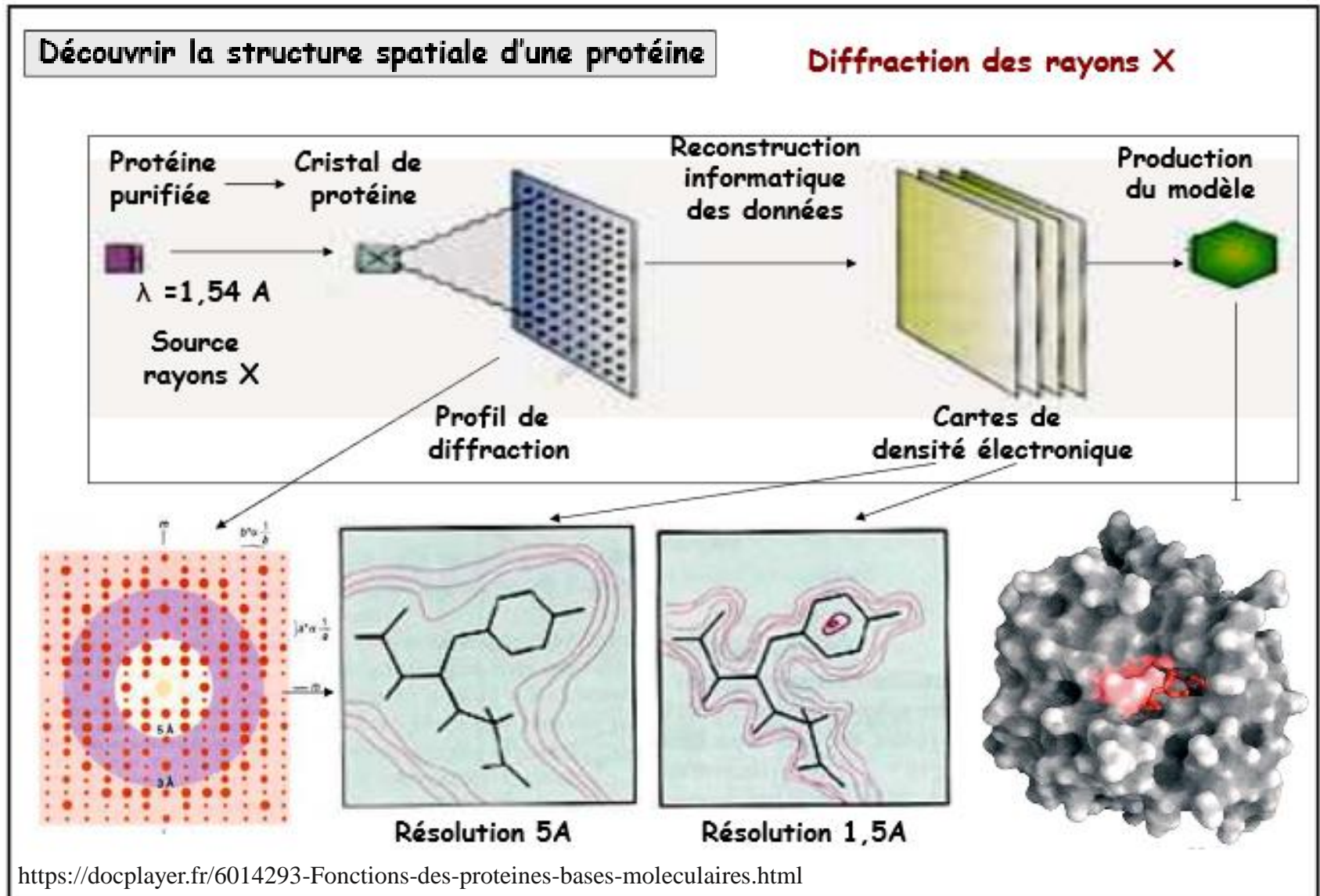
Traitement des signaux (diffractogramme) et développement de la carte de densité des électrons

3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X



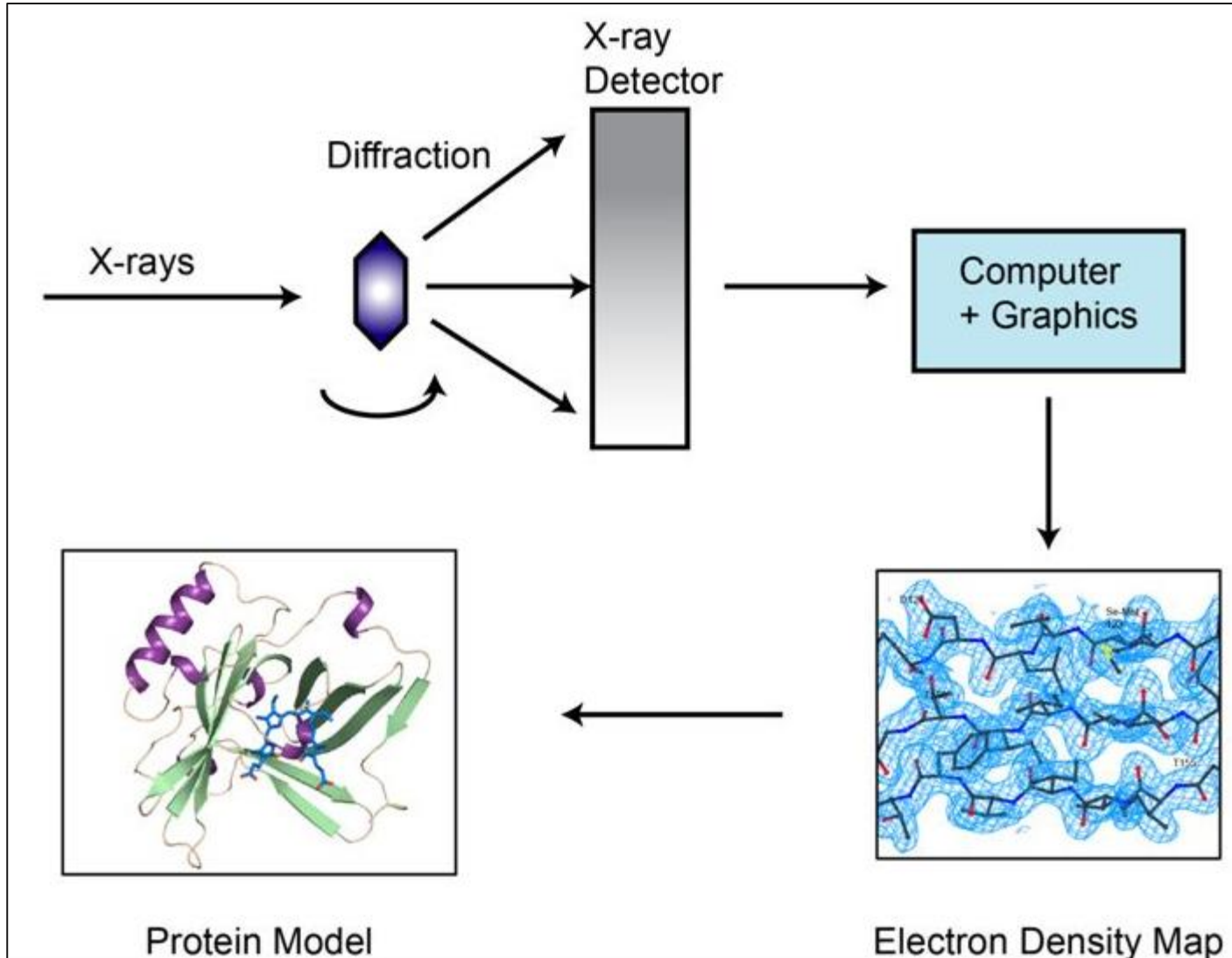
Analyse de la densité des électrons par les logiciels permet de reconstruit la position des atomes et donner un modèle atomique de la structure de la molécule et obtenir une image 3D.

3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X: Caractérisation de la structure des molécules cristallisée



3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X: Caractérisation de la structure des molécules cristallisée

Découvrir la structure spatiale d'une protéine

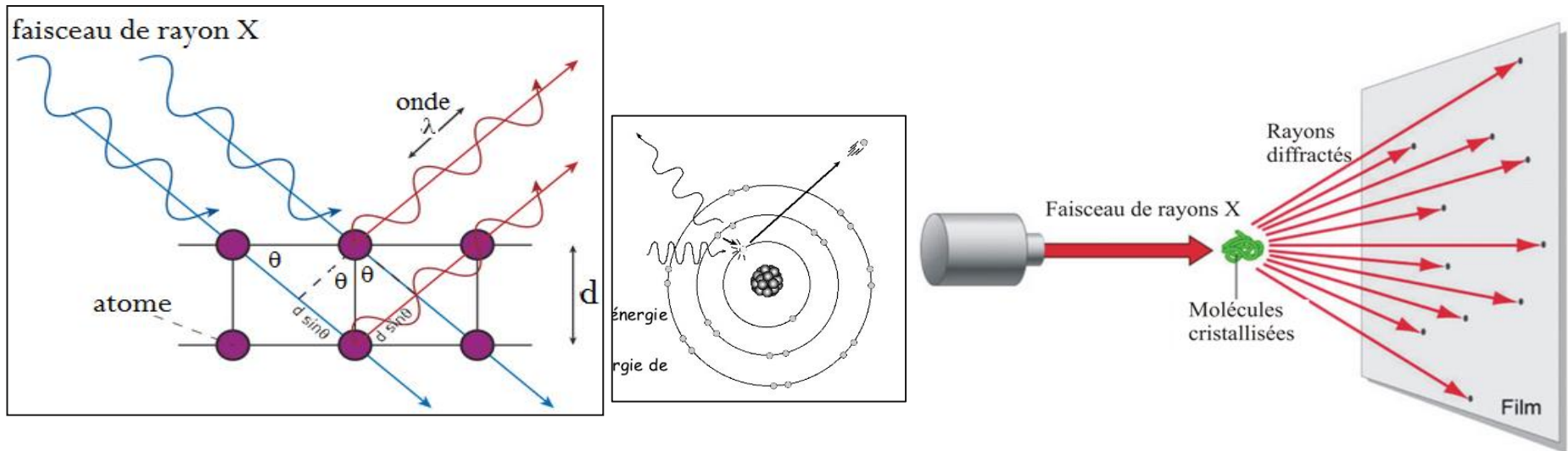


<https://slideplayer.fr/slide/10909642/>

3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X

Interaction RX-matière:

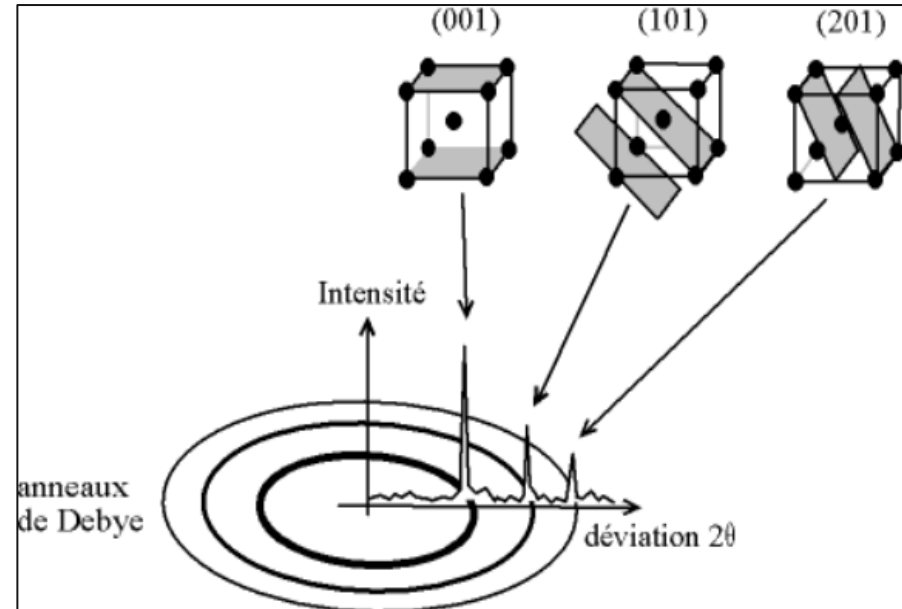
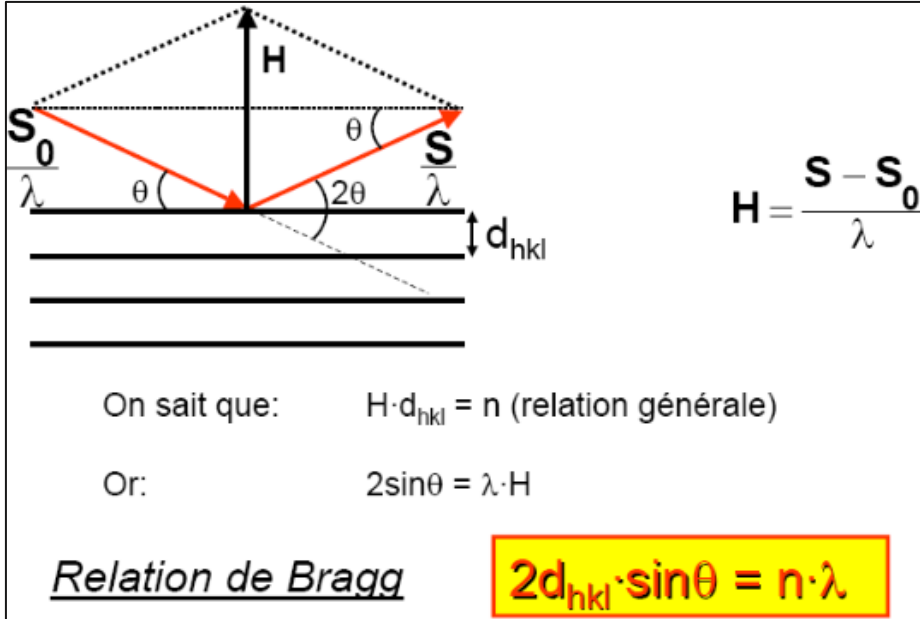
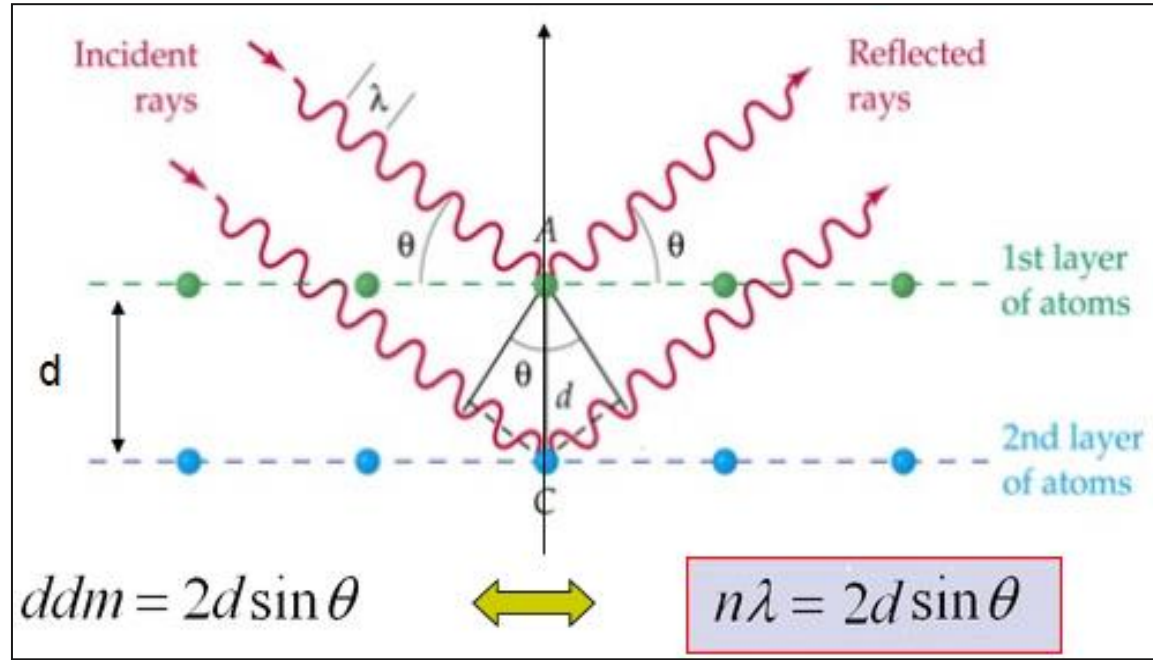
- La matière cristallisée est constituée d'un empilement de familles de plans réticulaires parallèles et équidistants. Le faisceau de rayons X incident est réfléchi partiellement par le premier plan. Le faisceau non réfléchi "tombe" sur le deuxième plan pour être à nouveau partiellement réfléchi. Et ainsi de suite.
- Chacun des atomes réfléchit une onde, qui se propage dans toutes les directions. Les ondes issues des atomes, apparaître sur un film photographique sous forme de taches



3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X

Interaction RX-matière

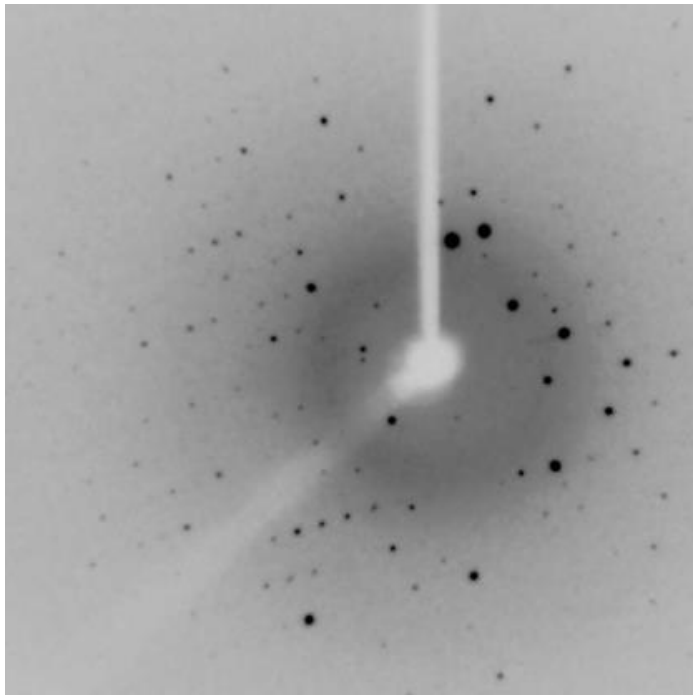
L'interprétation du processus de diffraction des rayons X a été grandement simplifiée avec le concept de réflexion des rayons X par des plans cristallins successifs apporté par **W.L.Bragg** en 1913



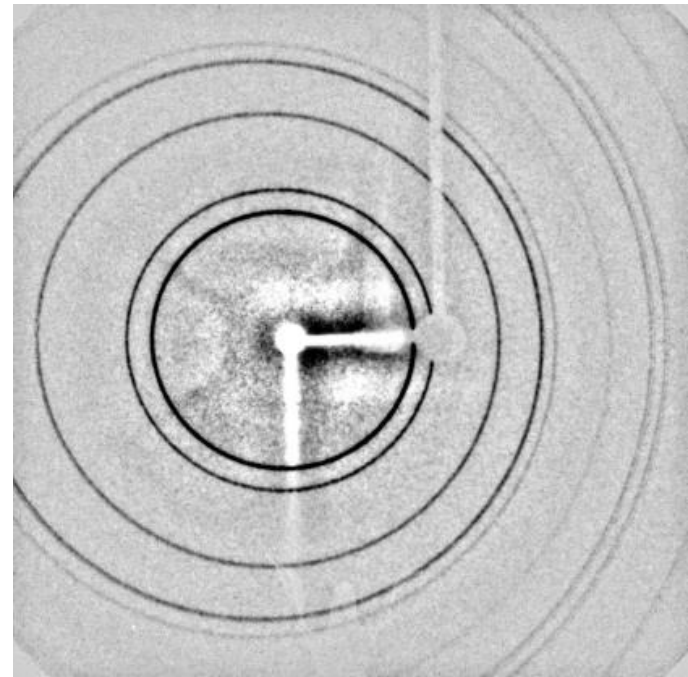
3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X

Nature de l'échantillon

L'exposition d'un monocristal (dimension de l'ordre de 0,1 mm) à un faisceau de rayons X produit une image constituée de taches de diffraction bien définies



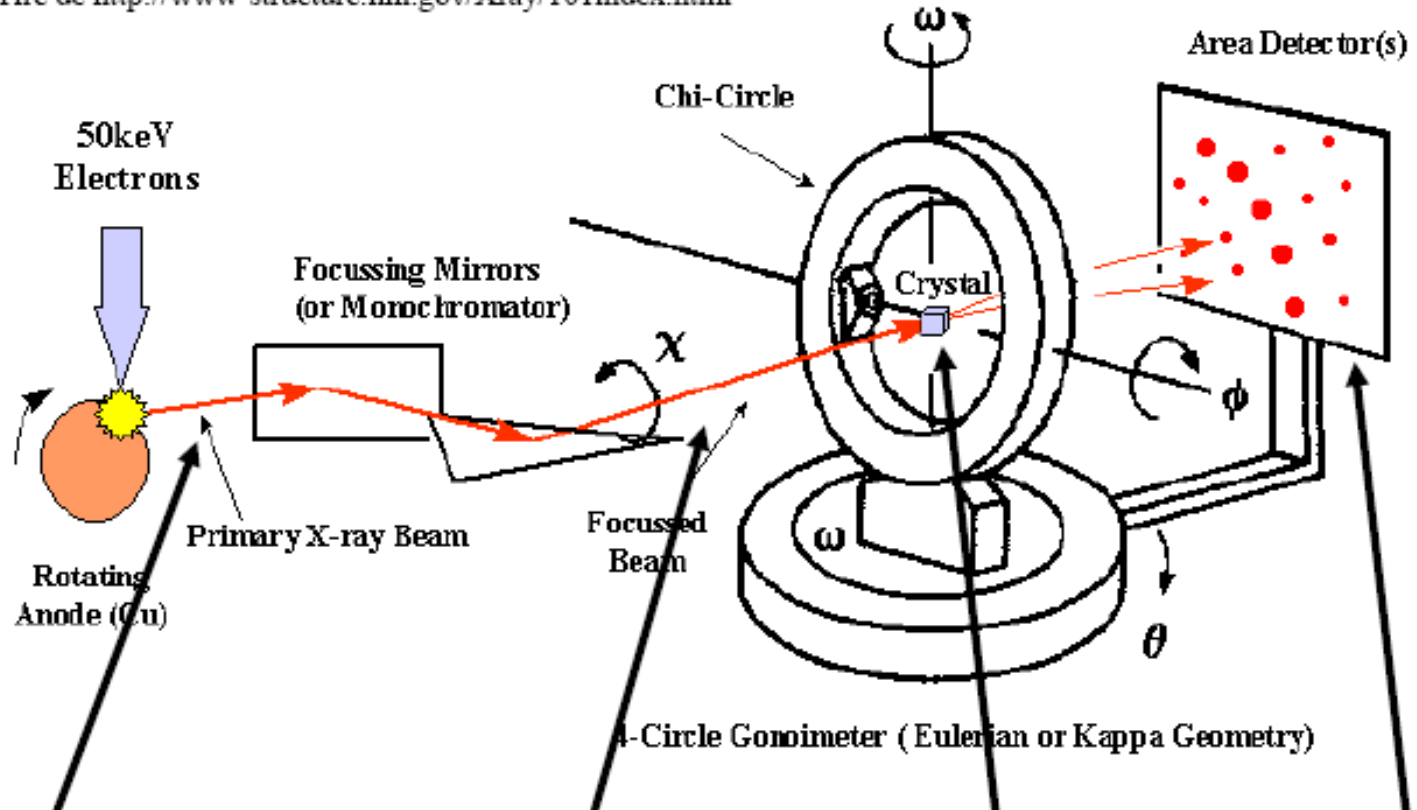
Une poudre cristalline (ensemble de cristaux microscopiques) produit un très grand nombre de taches groupées en cercles concentriques



3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X

Principe de fonctionnement du diffractomètre

Tiré de <http://www-structure.llnl.gov/Xray/101index.html>



Source polychromatique

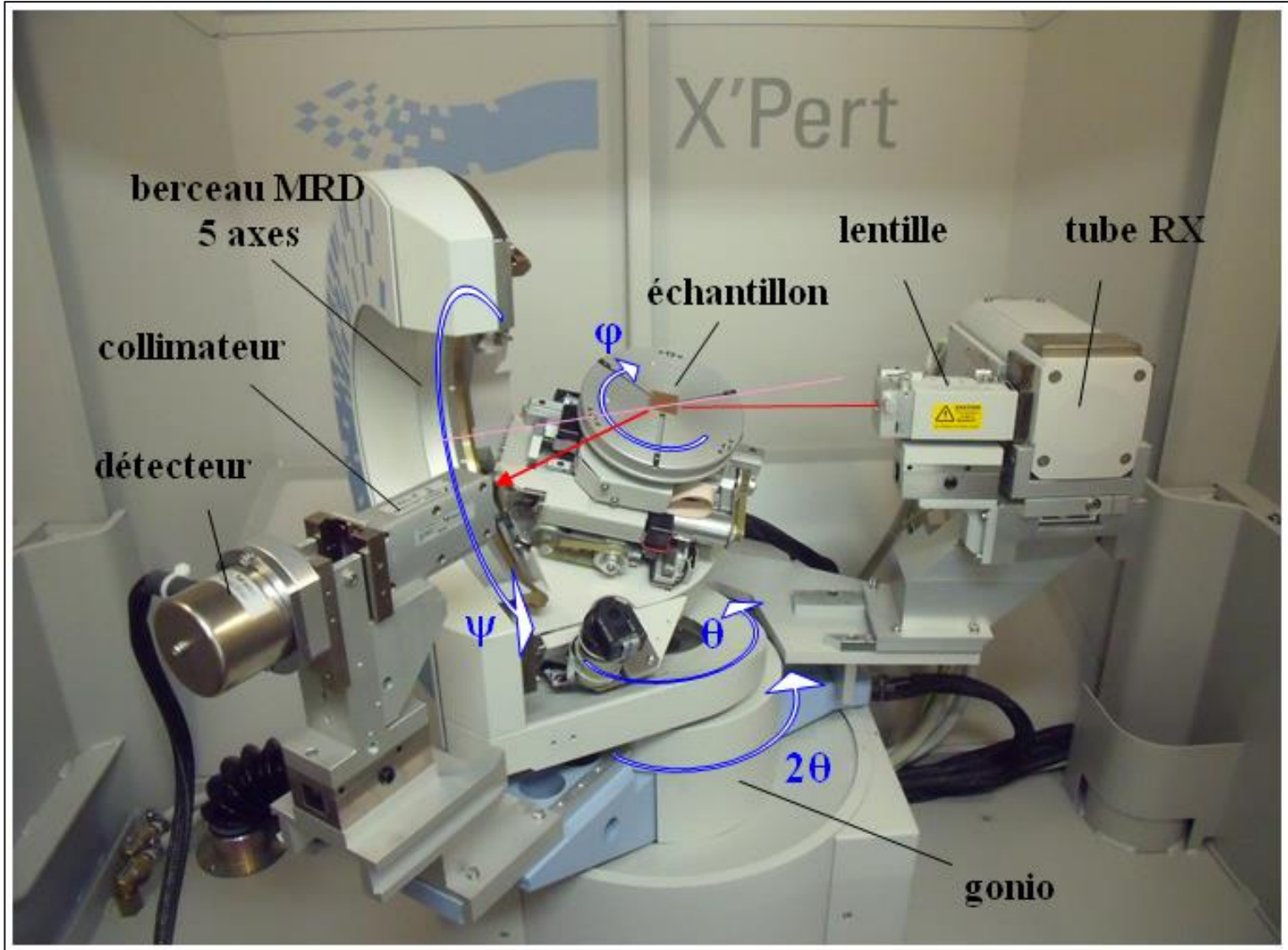
Source monochromatique et focalisée

Cristal

Détecteur

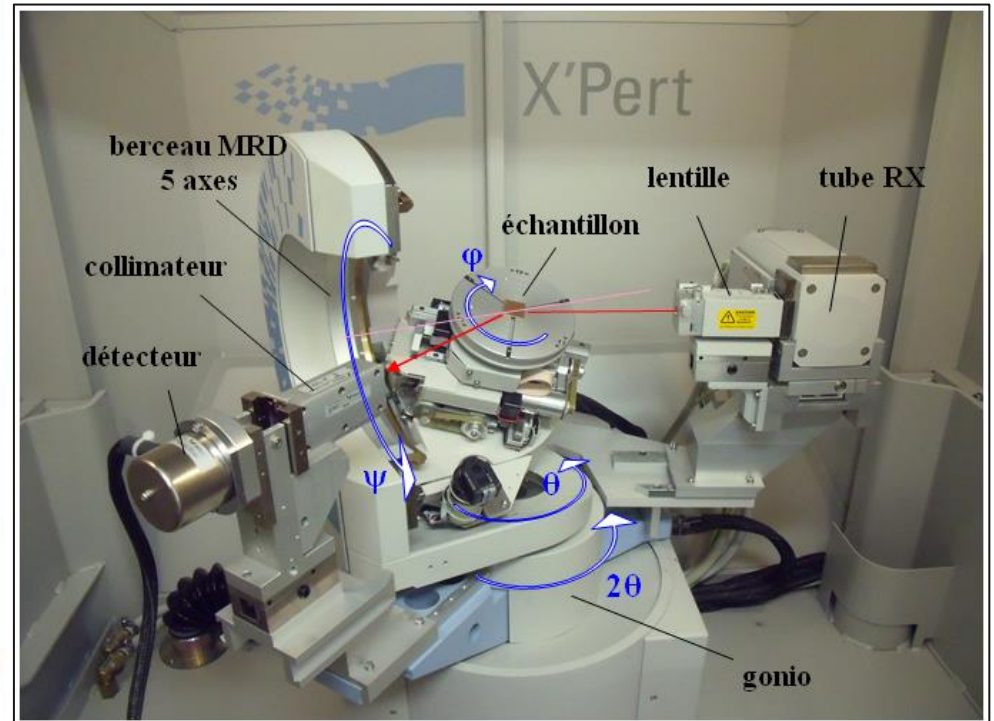
Le diffractomètre: les données collectées forment le diagramme de diffraction ou diffractogramme

3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X



Le diffractomètre de laboratoire

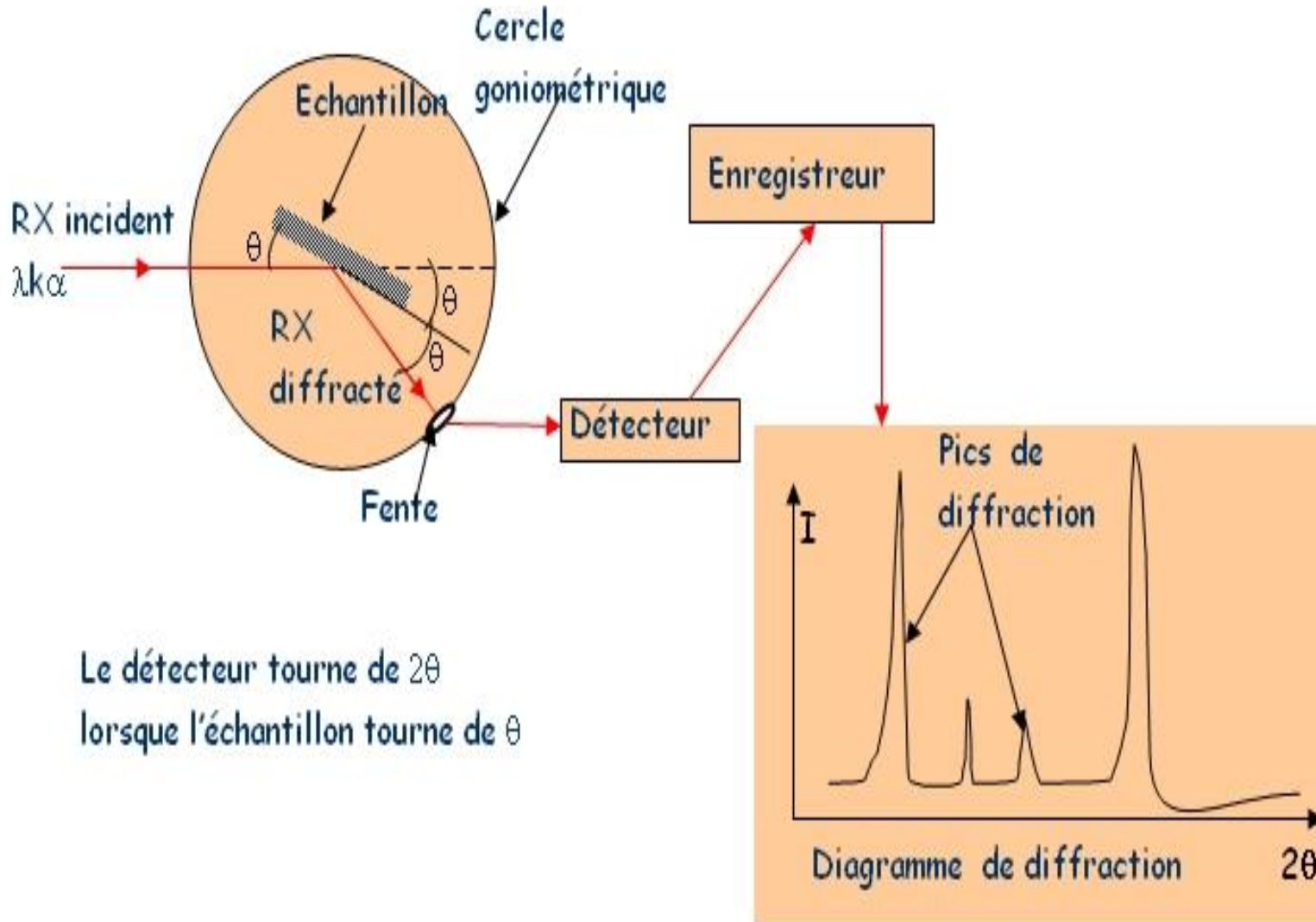
3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X



Le diffractomètre de laboratoire

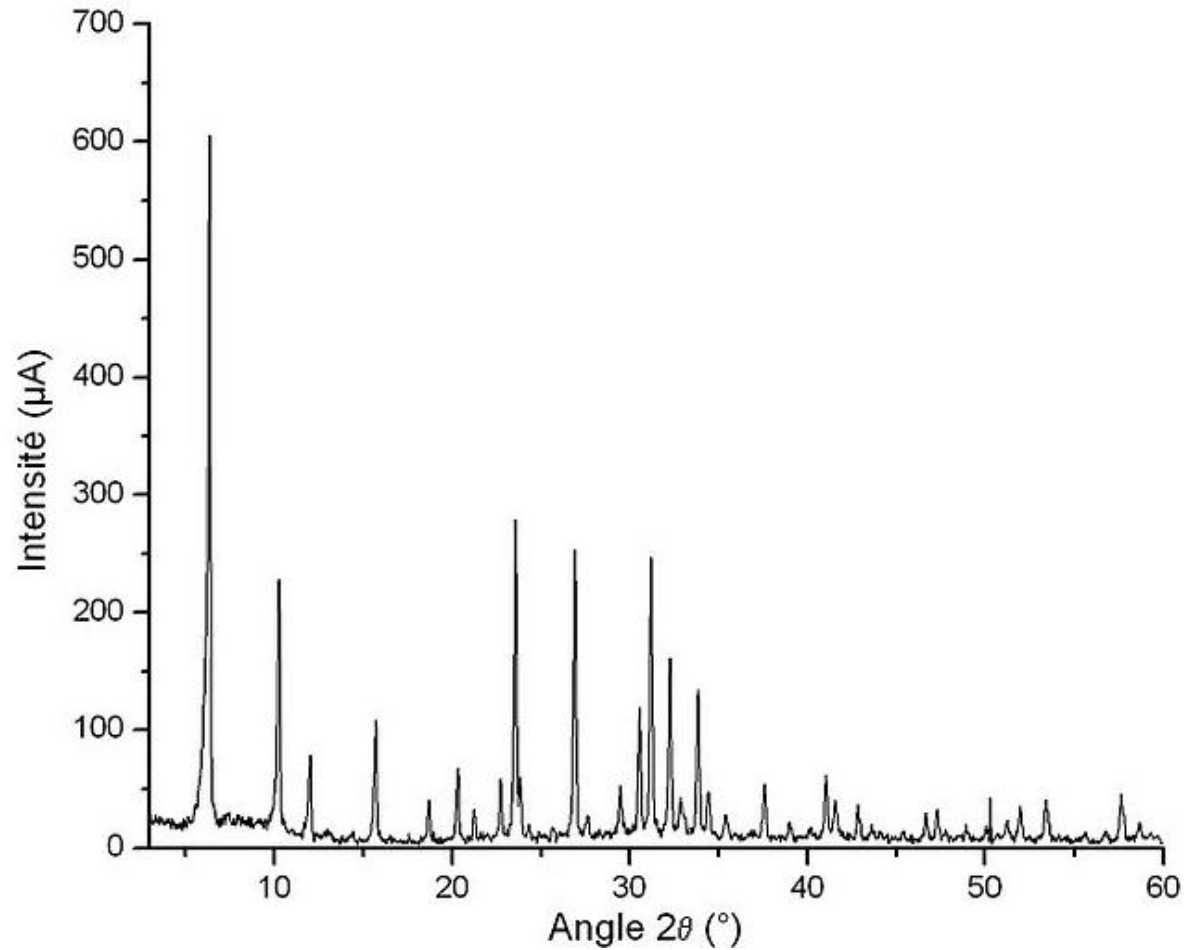
3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X

Le diffractomètre: les données collectées forment le diagramme de diffraction ou diffractogramme



3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X

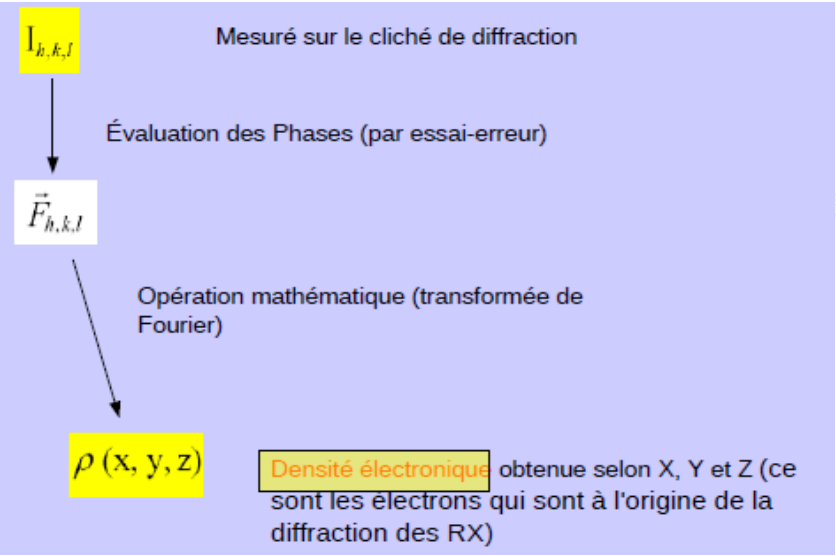
Le diffractomètre: les données collectées forment le diagramme de diffraction ou diffractogramme



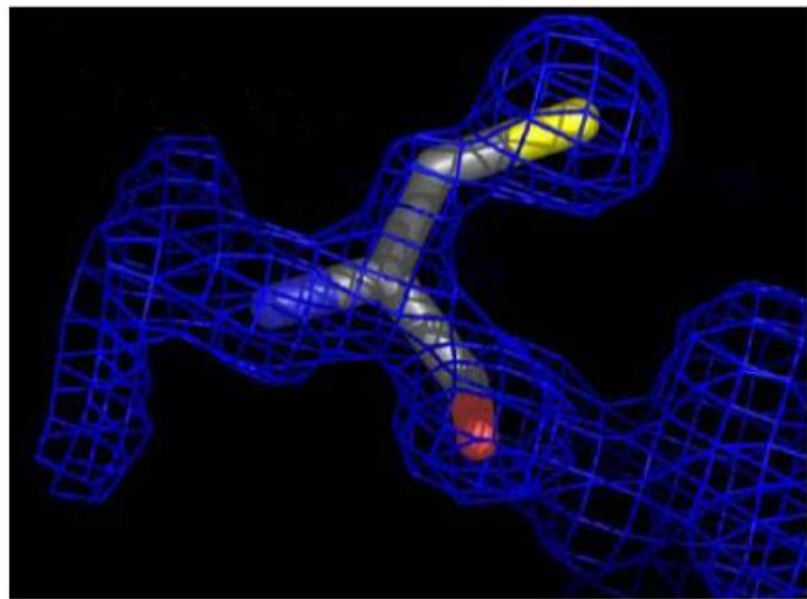
Exemple de diffractogramme de poudre

3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X

Chaque tache sur le cliché à ces coordonnées (h,k,l). Son facteur de Structure $\vec{F}_{h,k,l}$ est l'intensité + la phase. L'application d'une transformation mathématique: Transformée de Fourier détermine la carte de densité électronique



$\rho(x, y, z)$ est la densité électronique en tout point de la maille du cristal



La densité est calculée sur une grille de points, puis les points d'isodensité sont reliés entre eux par une ligne continue (cf. carte géographique IGN)

La résolution structurale

Données

Structure

Construction de Harker ou Diagramme d'Argand

$\rho(x, y, z) = \frac{1}{V_{maille}} \sum_{hkl} |F_{hkl}| e^{i\phi_{hkl}} e^{-2i\pi(hx+ky+lz)}$

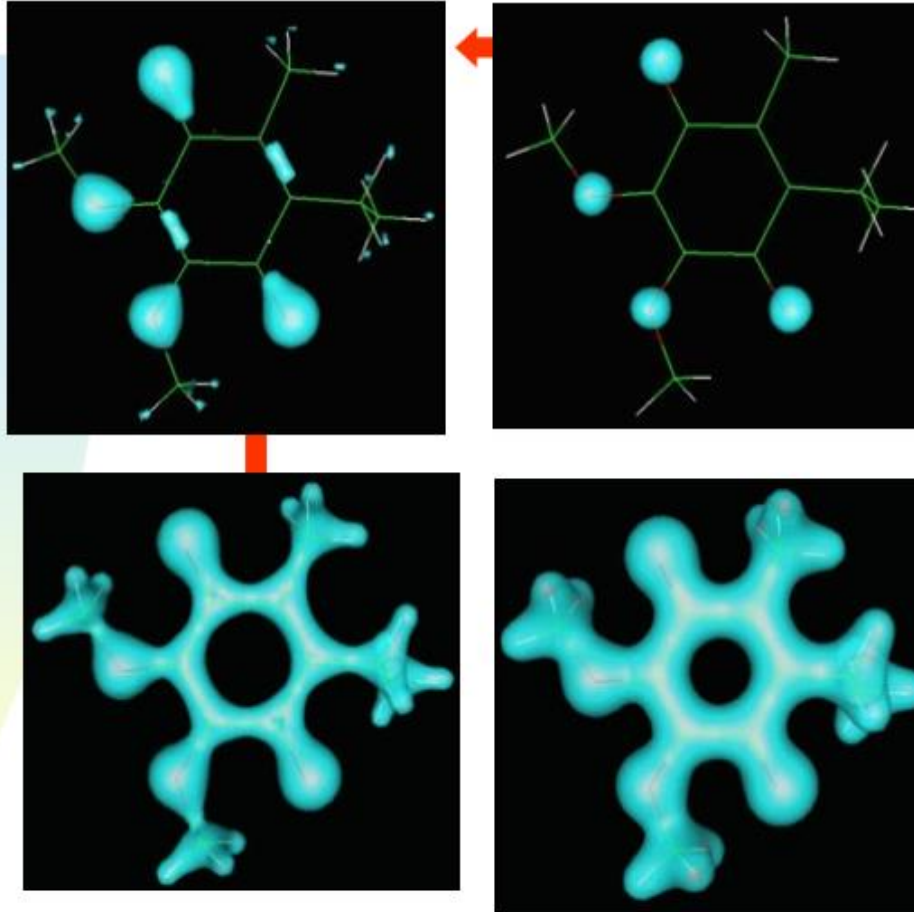
3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X

Densité électronique de la ubiquine $C_{11}H_{14}O_4$

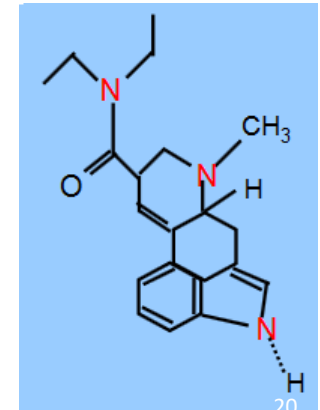
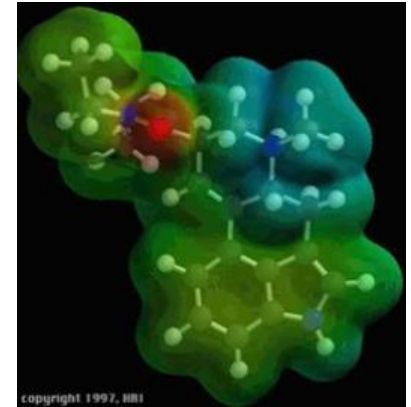
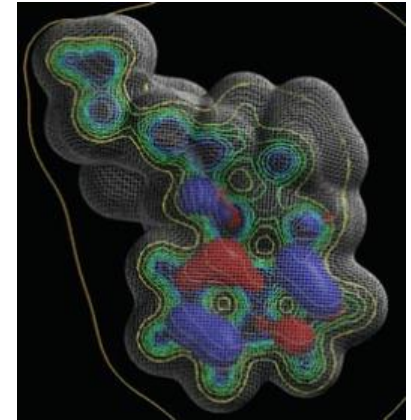
lv

UQAC

Université du Québec à Chicoutimi



<https://slideplayer.fr/slide/1156407/>



3-1 La cristallographie par diffraction des rayons X

Le domaine d'application de la diffraction des rayons X

La méthode analytique de diffraction des Rayons X est une méthode de référence très utilisée dans divers domaines: la catalyse, la valorisation de ressources naturelles ou de substances naturelles pour la pharmacie ou l'industrie agro-alimentaire, la bio- cristallographie,

Références bibliographiques

<https://slideplayer.fr/slide/1156407/>

<http://culturesciencesphysique.ens-lyon.fr/ressource/Diffraction-rayons-X-techniques-determination-structure.xml>

<https://docplayer.fr/9115460-Diffraction-des-rayons-x.html>

<https://slideplayer.fr/slide/1156657/>