

## FICHE SUJET DE THESE

Sujet N° (à remplir par l'ED) :	<b>FINANCEMENT :</b> <input type="checkbox"/> Demandé <input checked="" type="checkbox"/> Acquis	<b>Origine du financement :</b> - demi-financement ANR-PRCI SulfASST - demi-financement contrat doctoral d'établissement
Titre de la thèse : <b>Etude séquence-structure-fonction et ingénierie de différentes sous-familles d'arylsulfate sulfotransférases</b>	3 mots-clés : Arylsulfate sulfotransférase Expression et criblage Ingénierie des protéines	
Unité/équipe encadrante : <b>UMR-CNRS 6286 / équipe IMG</b>		
Directeur de thèse : <b>Cyrille Grandjean</b> Co-encadrant : Franck Daligault ( <b>personne à contacter pour candidater</b> )	N° de tél : 02.51.12.57.32 Mail : cyrille.grandjean@univ-nantes.fr N° de tél : 02.51.12.57.30 Mail : franck.daligault@univ-nantes.fr	
<b>Contexte socioéconomique et scientifique (env. 10 lignes) :</b> La famille des ArylSulfate SulfoTransférases (ASSTs), sulfotransférases PAPS-indépendantes, est une famille peu étudiée à ce jour. Ces enzymes utilisent un donneur de sulfate simple, de type arylsulfate, en comparaison des sulfotransférases PAPS-dépendantes qui utilisent le PAPS, molécule peu stable et couteuse, comme donneur. Ceci confère aux ASSTs un atout pour des applications biotechnologiques. Des travaux préliminaires ont permis d'établir un arbre phylogénétique dans lequel 19 sous-familles ont été identifiées. Toutefois une seule structure cristallographique a été obtenue à ce jour pour ce type d'enzyme. Le projet a pour but d'établir des relations séquence-structure-fonction au sein de chaque sous-famille et de déterminer s'il existe des différences entre elles en terme de mécanisme, de substrat et de sélectivité (régio- et stéréosélectivités). Ces aspects seront abordés au travers de différentes approches complémentaires : biochimie (expression de protéines, criblage d'activité), analyse de contexte génomique, cristallographie, modélisation moléculaire. Les meilleurs candidats enzymatiques feront également l'objet d'une optimisation par évolution dirigée et/ou ingénierie (semi-)rationnelle pour de potentielles applications biotechnologiques.		
<b>Hypothèses et questions posées (env. 8 lignes) :</b> L'hypothèse principale est que la phylogénie gouverne la spécificité de substrat et le mécanisme comme cela est rencontré dans d'autres familles d'enzymes bien caractérisées comme les glycoside hydrolases (base de données CAZY) ou les sulfatases (base de données SulfAtlas). Afin de vérifier cette hypothèse, au moins un représentant de chacune des 19 sous-familles sera caractérisé biochimiquement, en terme de structure et mécanisme (cristallographie), de spécificité de substrat (criblage d'un panel de substrats potentiels), et par bio-informatique (analyse du contexte génomique, modélisation moléculaire), ce qui permettra d'avoir une connaissance plus détaillée de chacune de ces sous-familles, et de leur potentielles applications biotechnologiques. Des approches d'ingénierie rationnelle, semi-rationnelle et/ou d'évolution dirigée seront menées pour améliorer les caractéristiques des meilleurs candidats enzymatique pour évaluer et améliorer le potentiel de ces enzymes dans des applications biotechnologiques.		
<b>Grandes étapes de la thèse (env. 12 lignes) :</b> 1/ Mise au point des protocoles d'expression et de purification pour une approche à moyen débit 2/ Expression et purification d'un représentant de chaque sous-famille 3/ Mise au point d'un criblage d'activité à moyen débit sur un panel de substrats accepteurs potentiels 4/ Criblage d'activité sur le panel de substrats accepteurs pour chaque représentant de chaque sous-famille 5/ Etude cinétique des meilleurs mutants ( $K_m$ , $k_{cat}$ ) 6/ Rationalisation des résultats 7/ Ingénierie (semi-)rationnelle des meilleurs candidats enzymatiques sur la base des résultats obtenus lors du criblage, de la modélisation moléculaire menée au sein de notre unité et par nos partenaires et des structures cristallographiques obtenues par nos partenaires		
<b>Compétences scientifiques et techniques requises par le candidat (2 lignes) :</b> biologie moléculaire, expression de protéines chez <i>Escherichia coli</i> , purification de protéines, criblage d'activité (spectrophotométrie absorbance/fluorescence), chromatographie (HPLC), enzymologie. Compétences en modélisation moléculaire si possible		
<b>3 publications de l'équipe d'accueil relatives au domaine (5 dernières années) :</b> Assailly C, Bridot C, Saumonneau A, Lottin P, Roubinet B, Krammer EM, François F, Vena F, Landemarre L, Alvarez Dorta D, Deniaud D, Grandjean C, Tellier C, Pascual S, Montebault V, Fontaine L, Daligault F, Bouckaert J, Gouin SG. Chemistry. 2021 Feb 10;27(9):3142-3150. doi: 10.1002/chem.202004672. Polyvalent Transition-State Analogues of Sialyl Substrates Strongly Inhibit Bacterial Sialidases. Saumonneau, A.; Lagneau, N.; Ogonda, L.A.; Dupré, C.; Dutertre, S.; Grizeau, D.; Tellier, C.; Grandjean, C.; Daligault, F. <i>Bioresource Technol. Rep.</i> , <b>2023</b> , 21, 101335. <a href="https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101335">https://doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101335</a> . Disruption of <i>Botryococcus braunii</i> colonies by glycoside hydrolases Cabezas-Pérusse Y, Daligault F, Ferrières V, Tasseau O, Tranchimand S. <i>Molecules</i> . 2021 Sep 7;26(18):5445. doi: 10.3390/molecules26185445. Modulation of the Activity and Regioselectivity of a Glycosidase: Development of a Convenient Tool for the Synthesis of Specific Disaccharides.		
<b>Collaborations nationales et internationales :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mirjam Czjzek (DR-CNRS), Gurvan Michel (DR-CNRS), Station Biologique de Roscoff, UMR-CNRS 8227, Equipe Glycobiologie marine</li> <li>• Ulrich Schwaneberg (Professeur, Dr), Directeur de l'Institut de biotechnologie de l'université RWTH d'Aix La Chapelle (Aachen, Allemagne)</li> <li>• Mehdi Davari (Dr), responsable du groupe de chimie computationnelle au sein du département de chimie bio-organique à l'Institut Leibniz de biochimie des plantes (Leibniz Institute of Plant Biochemistry)</li> </ul>		