

Etude des relations séquence-structure-fonction d'hydroxylases membranaires pour la production d'acides gras à haute valeur ajoutée

Les réactions de modification des acides gras les plus communes sont les réactions de désaturations. Ces réactions sont catalysées par **la famille des désaturases membranaires à motif histidine**. Par ailleurs, de rares représentants de cette famille (retrouvés majoritairement chez les végétaux) ont évolué et sont capables de réaliser d'autres réactions (hydroxylation, époxydation, conjugaison, ...) conduisant à des lipides fonctionnalisés présentant un intérêt majeur pour le secteur de l'oléochimie. Aujourd'hui, ces enzymes membranaires sont peu caractérisées d'un point de vue structural : seules trois structures de cette famille d'enzymes ont été résolues par cristallographie et les déterminants structuraux pour expliquer la spécificité de réaction de ces enzymes restent incompris.

Au laboratoire, nous nous intéressons à la production d'acide ricinoléique : une souche de levure a été optimisée pour la production de cet acide gras hydroxylé d'intérêt industriel en exprimant une enzyme de cette famille issue d'un champignon. Cette enzyme est cependant bi-fonctionnelle puisqu'elle réalise à la fois l'hydroxylation et la désaturation d'acide oléique pour conduire à la production d'acide ricinoléique et linoléique.

Le sujet de stage aura donc pour objectif

- 1) De réaliser une étude bio-informatique approfondie à partir des séquences de désaturases et hydroxylases des bases de données pour identifier les acides aminés impliqués dans la réaction d'hydroxylation. Des analyses de co-évolution des acides aminés pourront être réalisées.
- 2) De construire des modèles tridimensionnels d'une hydroxylase et d'une désaturase homologue par modélisation comparative à partir des structures 3D disponibles d'homologues. A l'aide de ces modèles, il s'agira ensuite d'étudier le mode d'arrimage des substrats et produits dans le site actif des enzymes par des techniques de docking moléculaire. Ces études permettront d'élucider les déterminants moléculaires responsables de la spécificité enzymatique. Pour confirmer ces hypothèses des propositions de mutagenèse seront réalisées
- 3) De construire et d'exprimer ces mutants dans la souche de levure optimisée au laboratoire pour analyser les acides gras synthétisés par cette levure et valider nos hypothèses

Le stage de M2R ou 5^{ème} année d'école d'ingénieur (6 mois) se déroulera dans l'équipe de Catalyse et Ingénierie Moléculaire Enzymatiques du Toulouse Biotechnology Institute.

<http://www.toulouse-biotechnology-institute.fr/fr/index.html>

Le candidat recruté devra donc posséder une formation en biologie structurale et en bio-informatique/modélisation moléculaire et des compétences en biologie moléculaire.

Contacts :

florence.bordes@insa-toulouse.fr

isabelle.andre@insa-toulouse.fr