

Offre de recrutement : chercheur postdoctorant

TITRE DU PROJET: Glycosylation contrôlée de mélanges de flavonoïdes naturels par voie enzymatique

Thème de recherche (mots clés) : antioxydants, flavonoïdes, ingénierie enzymatique, co-produits agricoles, analyses phytochimiques

Lieu de travail : Nantes & Angers

Unité(s) de recherche : UFIP (Unité Fonctionnalité et Ingénierie des Protéines) – UMR CNRS 6286, Université de Nantes & SONAS (Substances d'Origine Naturelle et Analogues Structuraux) - UPRES EA 921, Université d'Angers

Responsable(s) scientifique(s) du projet : Dr Corinne Miral (UFIP) & Dr Séverine Boisard (SONAS)

Type d'offre : chercheur contractuel (CDD 18 mois)

Etablissement employeur : Université de Nantes

Date limite de candidature : 01 juin 2019

Date prévisionnelle de prise de poste : 15 juin 2019

Environnement

L'établissement recruteur :

Fondamentale, appliquée ou technologique, la recherche est le socle de l'université de Nantes. **Pluridisciplinaire** et tournée vers **l'interdisciplinarité**, l'Université de Nantes s'inscrit dans une **dynamique d'excellence de sa recherche** avec la volonté d'accompagner l'émergence de nouveaux projets et d'explorer toujours plus de nouveaux champs de recherche pour répondre aux enjeux de demain.

Pour cela, l'Université de Nantes peut aujourd'hui compter sur **43 laboratoires** de recherche, couvrant l'ensemble des domaines scientifiques, et s'appuyer sur l'activité de près de **2 600 personnels dédiés**.

<https://www.univ-nantes.fr/version-francaise/page-accueil-site-institutionnel-universite-de-nantes-2037832.kjsp>

Les laboratoires partenaires du projet :

Les laboratoires partenaires de ce projet présentent des expertises complémentaires :

- L'UFIP détient une expertise importante dans le domaine de l'ingénierie des enzymes notamment celles utilisant des sucres comme substrats mais également en bioinformatique structurale. Certaines des méthodes développées à l'UFIP seront, dans le cadre de ce projet, appliquées à ces nouveaux systèmes enzymatiques pour la fonctionnalisation des flavonoïdes. (<http://ufip.univ-nantes.fr/>)
- Le SONAS est spécialisé dans la valorisation du métabolisme secondaire des végétaux par le biais d'analyses phytochimiques, de la résolution de mélanges complexes jusqu'à la caractérisation structurale des composés purifiés, et de tests biologiques. Ce laboratoire est également expert sur la démarche analytique envisagée *via* l'usage des techniques de caractérisation et d'élucidation structurale classique et de la spectrométrie de masse LDI (Laser Desorption Ionization). (<http://sonas.univ-angers.fr/fr/index.html>)

Contexte du projet

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires naturellement présents en abondance chez de nombreux végétaux. Ces poly(phénols), co-produits de l'industrie agricole, peuvent être obtenus par fractionnement de fruits et végétaux et présentent un intérêt majeur car ils sont de puissants agents antioxydants avec de nombreuses applications aussi bien dans le domaine des "aliments santé" que dans la cosmétique ou la pharmacie. Un grand nombre de leurs effets biologiques semble être lié à leur capacité à moduler certaines cascades de signalisation cellulaire. Les flavonoïdes, par différents mécanismes d'action *in vitro* validés sur différents modèles animaux, ont ainsi démontré des propriétés anti-inflammatoires, anti-thrombogène, antidiabétiques, anti-cancéreuses et neuroprotectrices. Ils sont généralement fonctionnalisés (glycosylation de façon majoritaire) ce qui modifie fortement leurs propriétés, notamment en termes de solubilité, stabilité, bio-disponibilité et bio-activité. La possibilité d'accès à des flavonoïdes fonctionnalisés et à leur caractérisation fine présente un intérêt majeur pour les chercheurs et le monde industriel.

L'extraction et la purification de flavonoïdes glycosylés à partir des plantes est cependant particulièrement délicate et donc coûteuse. En ce qui concerne les voies d'accès par synthèse chimique totale, la fonctionnalisation maîtrisée de ces motifs phénoliques présente également de multiples verrous. Pour ce qui est des voies enzymatiques, les enzymes permettant de fonctionnaliser de manière sélective les flavonoïdes sont rares alors que les besoins en antioxydants fonctionnalisés tant en recherche qu'en industrie sont considérables. Ainsi, parce qu'elles utilisent le sucrose, un substrat donneur peu cher et très réactif et du fait de leur promiscuité en termes de co-substrats (flavonoïdes accepteurs) et de la disponibilité d'homologues thermostables, les sucrose phosphorylases sont de très bons candidats pour la fonctionnalisation des flavonoïdes par voie enzymatique.

Le sujet proposé vise, par l'utilisation d'enzymes issues de la biodiversité bactérienne, la fonctionnalisation contrôlée de flavonoïdes naturels avec des applications envisagées dans les domaines de la Santé, la nutraceutique et la cosmétique.

Objectifs du projet

Le projet a pour principal objectif de développer une démarche originale pour le criblage de la biodiversité bactérienne afin d'identifier des acteurs enzymatiques capables de glycosyler des mélanges complexes de flavonoïdes et de caractériser leurs spécificités et sélectivité. Dans ce cadre, ce projet vise également le développement d'une méthodologie innovante pour la caractérisation analytique des flavonoïdes ainsi fonctionnalisés. Leurs propriétés antioxydantes et leurs potentialités biologiques seront également abordées durant cette étude.

Mission & méthodologie

La méthodologie appliquée sera déclinée en 4 grandes étapes :

1. Le choix d'un panel d'enzymes candidates en vue des études expérimentales sera rationalisé par des approches de phylogénie moléculaire et de bioinformatique structurale. A cette fin, la biodiversité bactérienne sera explorée pour identifier des sucrose phosphorylases candidates (équipe « Conception de protéines *in silico* », UFIP).
2. Les enzymes identifiées lors de l'étape 1 seront produites et caractérisées expérimentalement par des approches classiques en biologie moléculaire, biochimie et enzymologie. Une librairie de trentaine d'enzymes sera produite. L'étude de leur capacité à fonctionnaliser des flavonoïdes sera

réalisée *in vitro* (équipe « Ingénierie Moléculaire et Glycobiologie », UFIP) sur une librairie de mélanges de flavonoïdes issus de fruits et d'autres sources végétales fournie par le laboratoire SONAS.

3. La caractérisation des flavonoïdes glycosylés obtenus par voie enzymatique sera réalisée *via* des approches de chimie analytique innovantes en utilisant deux approches complémentaires : par électrophorèse capillaire (équipe « Ingénierie Moléculaire et Glycobiologie », UFIP) et par spectrométrie de masse, couplée ou non : LDI-MS et UPLC-MSn et analyses déréplicatives par RMN-¹³C (Laboratoire SONAS).

4. L'évaluation des potentialités antioxydantes des flavonoïdes fonctionnalisés sera effectuée (tests DPPH, ORAC et anti-AGEs) au sein du laboratoire SONAS, et un criblage des activités biologiques sur modèles cellulaires (notamment sur le glioblastome) des flavonoïdes glycosylés obtenus sera réalisé (collaboration UFIP avec un partenaire extérieur).

Par l'application de cette démarche, il sera possible de déchiffrer rétrospectivement les règles sous-jacentes à l'activité et la sélectivité des sucrose phosphorylases sur les flavonoïdes cibles.

Résultats attendus

Ces travaux permettront de développer de nouveaux systèmes enzymatiques efficaces adaptés à la glycosylation contrôlée de pools de flavonoïdes issus d'extraits bruts végétaux, obtenus à partir de sources locales et renouvelables (plantes cultivées en zone ligérienne, co-produits de transformations agro- alimentaires...) et d'en étudier la sélectivité. Des méthodologies innovantes pour la caractérisation fine de ces mélanges complexes seront développées. Ainsi, la spectrométrie de masse LDI, récemment développées par le SONAS dans le cas des (poly)phénols, devrait fournir un outil performant et innovant pour l'identification des combinaisons flavonoïde-enzyme-glucide et pour la caractérisation structurale fine des flavonoïdes glycosylés synthétisés.

Profil recherché

Docteur en biochimie/biologie moléculaire avec au maximum 3 ans d'expérience après l'obtention de son doctorat¹, disposant d'une expérience de recherche à l'international (durant ou après son doctorat)², n'ayant pas soutenu sa thèse au sein de l'établissement de recrutement et n'ayant pas déjà travaillé dans l'unité de recherche d'accueil. Le candidat devra posséder une solide expérience dans les domaines de la chimie-biologie pour pouvoir mettre en œuvre des approches en enzymologie, biologie moléculaire et biochimie. Des compétences complémentaires dans le domaine de la caractérisation analytique des substances naturelles sont également requises.

¹ Durée appréciée au 1/9/2018 : la date de soutenance doit être postérieure au 31/08/2015, sauf dérogation exceptionnelle. Les périodes de congés pour maladie, maternité ou parentalité ne sont pas comptées dans cette durée.

² Cette expérience de recherche peut être une mobilité de quelques mois durant le doctorat, une cotutelle internationale de thèse, un doctorat réalisé entièrement à l'étranger, un précédent postdoc à l'étranger après un doctorat en France. En cas d'expérience internationale uniquement pré-doctorale, il s'agira d'évaluer s'il s'est agi d'une véritable expérience de pratique/initiation à la recherche (stage dans un laboratoire). En cas de doute, l'éligibilité de la candidature sera décidée par le(s) directeur(s) du/des Département(s) de recherche concerné(s).

Références utiles

Sites internet :

Université de Nantes : <https://www.univ-nantes.fr/version-francaise/page-accueil-site-institutionnel-universite-de-nantes-2037832.kjsp>

UFIP (Unité Fonctionnalité et Ingénierie des Protéines) – UMR CNRS 6286, Université de Nantes : <http://ufip.univ-nantes.fr/>

SONAS (Substances d'Origine Naturelle et Analogues Structuraux) - UPRES EA 921, Université d'Angers : <http://sonas.univ-angers.fr/fr/index.html/>

Références bibliographiques :

1. Aerts D, Verhaeghe TF, Roman BI, Stevens CV, Desmet T, Soetaert W (2011) Transglucosylation potential of six sucrose phosphorylases toward different classes of acceptors. *Carbohydr. Res.* 346:1860–1867.
2. Dirks-Hofmeister ME, Verhaeghe T, De Winter K, Desmet T (2015) Creating Space for Large Acceptors: Rational Biocatalyst Design for Resveratrol Glycosylation in an Aqueous System. *Angewandte Chemie* 127:9421–9424.
3. Kraus M, Grimm C, Seibel J (2016) Redesign of the Active Site of Sucrose Phosphorylase through a Clash-Induced Cascade of Loop Shifts. *Chembiochem* 17:33–36.
4. Kraus M, Grimm C, Seibel J (2018) Reversibility of a point mutation induced domain shift : expanding the conformational space of a Sucrose Phosphorylase *Sci Rep.* 8(1):10490
5. **Kraus M, Grimm C, Seibel J.** (2017) Switching enzyme specificity from phosphate to resveratrol glycosylation *Chem Commun (Camb)* 53(90):12181-12184
6. **Kraus M, Görl J, Timm M, Seibel J.** (2016) Synthesis of the rare disaccharide nigerose by structure-based design of a phosphorylase mutant with altered regioselectivity. *Chem Commun (Camb)* 28;52(25):4625-7
7. Verhaeghe T, De Winter K, Berland M, De Vreese R, Dhooche M, Offmann B, Desmet T (2016) Converting bulk sugars into prebiotics: semi-rational design of a transglucosylase with controlled selectivity. *Chem. Commun. (Camb.)* 52:3687–3689.

Dossier de candidature

Pour candidater à cette offre, veuillez transmettre les éléments suivants à :

Corinne MIRAL (corinne.miral@univ-nantes.fr)

avec copie à la mission recherche de l'UBL recherche@u-bretagne-loire.fr :

- Un CV court et une lettre de motivation qui aborde notamment votre projet professionnel
- Une liste de vos principaux travaux réalisés (2 pages max.) : publications scientifiques, brevets et autres productions scientifiques
- D'éventuelles lettres de recommandations
- Une copie de votre diplôme de doctorat³

Vous trouverez la description du processus général de sélection sur la page suivante :

<https://u-bretagne-loire.fr/dossiers/postdoc2018/candidatures>

Procédure de sélection : les candidats dont le profil sera retenu seront auditionnés début juin par un jury de sélection constitué de représentants des deux unités de recherche porteuses du projet et d'un représentant de chacun des départements concernés.

Informations complémentaires

Salaire brut annuel : 44500 Euros

Ce poste est co-financé par l'Université Bretagne Loire et La Région Pays de la Loire.

³ Pour les titulaires d'un doctorat soutenu dans un établissement français, un lien vers la notice de votre thèse dans le [catalogue SUDOC](#) ou le portail officiel [Theses.fr](http://theses.fr) suffit.