

Valérie LEONARD

Née le 07 février 1981 à Barbezieux (16)

✉ : valerie.leonard@univ-lr.fr



ATER, DOCTEUR en Génie Enzymatique, Biotechnologie et Microbiologie

Formation et Diplômes

2008	Qualifiée aux fonctions de Maître de Conférences en section 32 et 64 du CNU
2007	Doctorat , Université de La Rochelle (17)
2004	DEA « Stratégies d'Exploitation des Fonctions Biologiques » , Université de Technologie de Compiègne (60), Mention Bien.
2003	Licence et Maîtrise de Biochimie Structurale , Université de La Rochelle, Mention Bien: major de promotion en Licence et en Maîtrise.
2001	DEUG Sciences de la Vie , Université de La Rochelle, Mention Bien: major de promotion.

Expérience Professionnelle

Depuis le 1^{er} Septembre 2007..... **ATER** (à 50%) Littoral, ENvironnement, Sociétés (LIENSS) CNRS UMR 6250, équipe BIEN, Université de La Rochelle.

Septembre 2004- Août 2007 **Doctorat** Laboratoire de Biotechnologies et de Chimie-Biorganique (LBCB) CNRS FRE 2766, Université de La Rochelle. **Directeur de thèse** : D^r HDR Marianne Graber.

Titre de la thèse : « Etude de l'énantiosélectivité de la lipase B de *Candida antarctica* à l'aide d'un bioréacteur solide-gaz ».

Résumé de la thèse : voir p 5 et 6

Thèse soutenue le **26 octobre 2007** à l'Université de La Rochelle devant un jury composé de :

Mme Marianne Graber, Maître de Conférences HDR, Université de La Rochelle

Mr Karl Hult, Professeur, University Center School of Biotechnology, Stockholm

Mr Sylvain Lamare, Professeur, Université de La Rochelle

Mr Daniel Thomas, Professeur, Université de Technologie de Compiègne

Mr Vinh Tran, Professeur, Université de Nantes

Mr Pierre Monsan, Professeur, INSA de Toulouse

Financement : allocation de recherche ministérielle MENRT.

Monitorat

Séjour de 6 semaines au Laboratoire de Biotechnologies de l'Institut Royal de Technology (KTH) de Stockholm (SUEDE) dans l'équipe du Professeur Karl Hult (août-septembre 2006). **Objectifs du séjour** : production et purification d'un enzyme issu d'une souche mutée, modélisation moléculaire.

- Janvier à juillet 2004 **Stage de DEA LBCB CNRS FRE 2766.**
Sujet : « Etude de l'effet des solvants sur l'énantiosélectivité de la lipase B de *Candida antarctica* ».
- Avril à juillet 2003 **Stage de Maîtrise LBCB CNRS FRE 2766.**
Sujet : « Optimisation de méthodes de mesure de l'énantiosélectivité de lipases en Chromatographie Gazeuse ».
- 2001 et 2002 **Stages de Licence et de DEUG** au Laboratoire de Génie Protéique et Cellulaire (LGPC), Université de La Rochelle.
Sujet 2002: « Purification d'un peptide de synthèse par CLHP et évaluation de son activité biologique » (1mois).
Sujet 2001: « Etude de deux techniques biochimiques appliquées aux protéines et aux peptides » (dosage et électrophorèse) (2 semaines).

Compétences particulières

- Méthodes analytiques**:..... Chromatographie (CLHP, CPG), spectrométrie de masse.
Modélisation moléculaire:..... Logiciels Discovery Studio 1.7, Accelrys : DS Biopolymer, DS CHARMM, DS Visualizer Pro Enterprise.
Informatique:..... Word, End Note, Excel, Powerpoint, Isidraw.
Langues: Anglais courant
 Allemand scolaire

Activités d'enseignement

- Depuis septembre 2007** **ATER à l'Université de La Rochelle (à 50%).**
- Du 1^{er} septembre 2004 au 31 août 2007** **Monitrice à l'Université de La Rochelle formée par le Centre d'Initiation à l'Enseignement Supérieur (CIES).**

Enseignements effectués de 2004 à 2008 en tant que monitrice puis ATER (435 heures équivalent TP) :

- Travaux Pratiques « Méthodologie et TP de biochimie » (CCM, dosages, cinétiques enzymatiques)(niveau L2) 135 heures TP.
 Travaux Pratiques « Extraction et purification de biomolécules à partir d'écorces de fruits » (niveau L3) 120 heures TP.
 Travaux Pratiques « Analyses Physico-chimiques » (CCM, dosages) (niveau L3) 55 heures TP.
 Travaux Pratiques « Agents de texture alimentaires » (rhéologie) (niveau L3 et M1) 44 heures TP.
 Travaux Dirigés « Biochimie métabolique » (niveau L2) 54 heures TD.

Formations délivrées par le CIES Centre de 2004 à 2007 :

- « Prise de parole en public à but pédagogique » par M^r Proudhon.
 « Gestion des relations difficiles » par M^r Proudhon.
 « Animation de réunions et de groupes de travail » par M^r Proudhon.
 « Pratique de la pédagogie interactive » par M^{me} Leclerc.
 « Déontologie de l'enseignement supérieur » par M^r Furon.
 « Structure des Universités » par M^r Vachon.

Ateliers suivis lors des stages résidentiels organisés par le CIES Centre :

« Communication orale » par M^r Belle.

« De la peur au plaisir de prendre la parole en public » par M^r Bernard.

« Approche du langage théâtral » par la compagnie Cano Lopez, LA RICHE (37).

Projet CIES pluridisciplinaire de diffusion de la culture scientifique et technique :

Interventions dans des lycées de Poitou-Charentes (lycées de la Venise Verte et Jean Macé à Niort, lycée Emile Combes à Pons et Lycée St Louis à Pont L'Abbé d'Arnoult) et de Dordogne (lycée Laure Gatet à Périgueux) sur le thème « La Recherche au service de la Société ? » pendant la semaine de la Fête de la Science 2006.

Co-encadrements de stagiaires

Sofyatuddin KARINA, étudiante de MASTER 2 Recherche de Janvier à juin 2008.

Paco LAVEILLE, étudiant de MASTER 2 Recherche de janvier à juin 2006.

Claire CUSATIS, étudiante de L3 d'avril à juin 2007.

Tutorat de biochimie pour les étudiants de DEUG Sciences de la Vie (2002-2003).

Collaborations entretenues pendant le doctorat

Nationale : équipe du Professeur Vinh Tran CNRS UMR 6204 Faculté des Sciences et des Techniques, Université de Nantes. Travaux de modélisation moléculaire sur la lipase B de *Candida antarctica* (type sauvage et mutée).

Internationale : équipe du Professeur Karl Hult Laboratoire de Biotechnologies de l'Institut Royal de Technology (KTH) de Stockholm (SUEDE). Travaux de modélisation moléculaire sur la lipase B de *Candida antarctica* complémentaires de notre approche expérimentale menée en réacteur solide-gaz.

Divers



Trésorière à l'Association des Doctorants de l'Université de La Rochelle (ADOCS) (2004-2005), participation à l'organisation d'un festival de courts-métrages de vulgarisation scientifique



Attestation de Formation aux Premiers Secours (2007)
Formation à la manipulation d'extincteurs et à la gestion des déchets chimiques (2004).



permis B, permis mer côtier.

Liste des travaux

Publications :

Valérie Léonard, Sylvain Lamare, Marie-Dominique Legoy, Marianne Graber. **Enantioselective acylation of R-2-pentanol in a solid/gas reactor catalysed by lipase B from *Candida antarctica***. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 32 (2004) p53-59 IF (2006): 2,149

Valérie Léonard, Linda Fransson, Sylvain Lamare, Karl Hult, Marianne Graber. **A water molecule in the stereospecificity pocket of *Candida antarctica* lipase B enhances enantioselectivity towards pentan-2-ol**. ChemBioChem Vol 8 issue 6 (2007) 662-667 IF (2006): 4,1

Marianne Graber, Valérie Léonard, Zsuzsanna Marton, Claire Cusatis and Sylvain Lamare. **Exploring the possibility of predicting CALB activity in liquid organic medium, with the aid of intrinsic kinetic parameters and intrinsic solvent effect data obtained in solid/gas reactor**. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 52-33 (2007) p121-127

Communications par affiche:

Valérie Léonard, Sylvain Lamare, Marie-Dominique Legoy, Marianne Graber. **Enantioselective acylation of R-2-pentanol in a solid/gas reactor catalysed by *Candida antarctica* lipase B**. BIOCATALYSIS IN NON-CONVENTIONAL MEDIA WORKSHOP, 13-14 avril 2005, MANCHESTER, ROYAUME-UNI.

Marianne Graber, Valérie Léonard, Sylvain Lamare, Marie-Dominique Legoy. **Determination of intrinsic kinetic parameters of lipase with the aid of solid/gas catalysis**. BIOCATALYSIS IN NON-CONVENTIONAL MEDIA WORKSHOP, 13-14 avril 2005, MANCHESTER, ROYAUME-UNI.

Valérie Léonard, **Voyage au cœur d'une enzyme**. DOCTORIALES POITOU-CHARENTES, 26 juin-1^{er} juillet 2005, Abbaye Royale ST JEAN D'ANGELY (17).

Valérie Léonard, **Voyage au cœur d'une enzyme**. COLLOQUE DES DOCTORANTS, 11-12 mai 2006, LA ROCHELLE.

Communications orales :

Valérie Léonard, COLLOQUE DES DOCTORANTS, **Voyage au cœur d'une enzyme**, 11-12 mai 2006, LA ROCHELLE.

Valérie Léonard, SEMINAIRE, **High potentiality of solid/gas reactors as tools for fundamental research in thermodynamics of enzymes**, 22 septembre 2006, STOCKHOLM, SUEDE.

Valérie Léonard, SEMINAIRE, **Etude de l'énantiosélectivité de la lipase B de *Candida antarctica* à l'aide d'un bioréacteur solide-gaz**, 9 février 2007, LA ROCHELLE.

Références académiques

D^r Marianne Graber, MCF, HDR

Littoral, ENvironnement, Sociétés (LIENSS) CNRS 6250, Université de La Rochelle, (marianne.graber@univ-lr.fr, 05 46 45 86 30).

Professeur Sylvain Lamare

Littoral, ENvironnement, Sociétés (LIENSS) CNRS 6250, Université de La Rochelle, (sylvain.lamare@univ-lr.fr, 05 46 45 82 75).

Résumé de la thèse

Les activités que j'ai menées en matière de recherche au cours de mon Doctorat portaient sur l'étude de l'influence des facteurs structuraux (de l'enzyme et des substrats) et environnementaux (température, solvant, activité thermodynamique de l'eau (a_w)) sur l'énantiosélectivité de la lipase B de *Candida antarctica* à l'aide d'un bioréacteur solide-gaz. Ce thème s'inscrit dans un contexte actuel global de recherche d'énantiomères purs. En effet, depuis plusieurs années, il est obligatoire de commercialiser des produits pharmaceutiques optiquement purs afin d'éviter la mise sur le marché de mélanges racémiques dans lesquels seul l'un des énantiomères est actif, l'autre pouvant être très toxique. De ce fait, la recherche pour l'obtention de substances optiquement pures par biocatalyse s'est largement développée. En particulier, l'énantiosélectivité des enzymes a été largement étudiée et il est aujourd'hui connu que de nombreux facteurs structuraux et environnementaux peuvent la modifier. Cependant, jusqu'à présent, aucune loi générale n'a encore pu être établie. C'est donc pour répondre à la nécessité de comprendre plus précisément l'influence des conditions environnementales et des facteurs structuraux de la lipase B de *Candida antarctica* (LBCA) et des substrats sur l'énantiosélectivité de cette enzyme que nous avons mené cette étude. Celle-ci a essentiellement été effectuée à l'aide d'un bioréacteur solide-gaz qui présente l'avantage majeur de pouvoir fixer et contrôler indépendamment les activités thermodynamiques des substrats et autres composés ajoutés. De plus, des travaux de modélisation moléculaire nous ont permis de comparer et de compléter les résultats expérimentaux obtenus grâce à ce réacteur.

Premièrement, l'influence de l'activité thermodynamique de l'eau (a_w) sur l'activité et l'énantiosélectivité de la LBCA pour l'acylation du pentan-2-ol a été étudiée. Nous avons observé que l'eau, en fonction de sa disponibilité pour l'enzyme, peut agir comme un lubrifiant et augmenter l'activité enzymatique, comme un second substrat et comme un inhibiteur compétitif du premier substrat. Puis, il a été montré qu'une molécule d'eau peut se lier dans la poche stéréospécifique du site

actif de la LBCA et affecter les deux énantiomères différemment, provoquant une inhibition énantiosélective dépendante de l' a_w .

Dans un second temps, nous avons élargi notre étude à trois autres alcools secondaires linéaires.

Puis, dans une troisième partie, nous avons étudié l'influence de l' a_w sur l'activité et sur l'énantiosélectivité de trois enzymes issues de souches présentant des mutations des deux acides aminés polaires de la poche stéréospécifique (T42V, S47A et T42VS47A). Nous avons mis en évidence un comportement inattendu pour les mutants simples qui pourrait s'expliquer par des modifications des liaisons hydrogène entre la molécule d'eau présente dans la poche stéréospécifique et les acides aminés de cette poche.

Enfin, dans une dernière partie, nous avons exploré l'influence d'autres paramètres sur l'énantiosélectivité de la LBCA. Premièrement, des travaux sur l'influence du solvant sur l'énantiosélectivité de la LBCA ont été effectués et nous avons constaté que l'ajout d'un composé organique non réactant n'a pas d'influence sur l'énantiosélectivité de la LBCA pour la réaction étudiée, quel que soit le type de solvant et la disponibilité de ce composé pour l'enzyme. Deuxièmement, nous avons montré que la chaîne alkyle du donneur d'acyle peut avoir une influence sur l'énantiosélectivité de la LBCA lors de l'acylation d'un mélange racémique d'alcools secondaires. Les résultats suggèrent la présence d'une poche, autre que le site catalytique, pouvant recevoir l'alcool primaire libéré (premier produit) et pouvant induire une modification structurale du site actif qui conduirait à la baisse d'énantiosélectivité observée, lorsque la disponibilité en cet alcool primaire pour l'enzyme augmente.

En poste d'ATER (à 50%) depuis le 1^{er} septembre 2007, je poursuis ce travail. Premièrement, il est essentiel de compléter les résultats de modélisation moléculaire sur l'influence de l' a_w sur l'activité et sur l'énantiosélectivité des trois enzymes issues de souches mutées.

Deuxièmement, les résultats concernant l'influence de la chaîne alkyle du donneur d'acyle sur l'énantiosélectivité de la LBCA sont encourageants mais nécessitent une étude complémentaire en réacteur solide-gaz. De plus, des expériences de modélisation moléculaire pourraient permettre de prouver l'hypothèse de l'existence d'une poche, différente du site actif, qui jouerait un rôle dans la modification d'énantiosélectivité observée expérimentalement.