

AVIS DE PRESENTATION DE THESE EN SOUTENANCE POUR L'OBTENTION DU DIPLOME NATIONAL DE DOCTEUR

Monsieur Ludovic CHAPUT

Présentera ses travaux intitulés :

« Compréhension de l'énantiosélectivité de la lipase B de *Candida antarctica*, étude par modélisation moléculaire et expérimentation »

Spécialité : Biochimie

Le 28 septembre 2012 à 10h30

Lieu :

**Université de La Rochelle
Institut du Littoral et de l'Environnement
Salle des Séminaires (rez-de-chaussée)
2 rue Olympe de Gouges
17000 LA ROCHELLE**

Composition du jury :

**Mme GRABER Marianne
Mme HUMEAU Catherine
M. PLEISS Juergen
Mme THIERY Valérie
M. TRAN Vinh**

**Professeur, Université de La Rochelle
Maître de conférences, Université de Nancy
Professeur, Université de Stuttgart
Professeur, Université de La Rochelle
Professeur, Université de Nantes**

Résumé :

La lipase B de *Candida antarctica* (CALB) est un enzyme présentant des propriétés énantiosélectives très intéressantes pour l'obtention de molécules énantiopures par dédoublement cinétique de mélanges racémiques, molécules utilisées comme synthons dans l'industrie pharmaceutique. En effet, le principe actif de nombreux médicaments est efficace sous une forme énantiopure, l'autre forme chirale pouvant se révéler délétère pour l'organisme. Les travaux de la thèse s'intéressent à mieux comprendre l'origine de l'énantiosélectivité de la lipase B de *Candida antarctica*, en particulier pour la résolution d'alcools secondaires par des réactions de transestérification. Nous utilisons pour la première fois la méthode de la perturbation de l'énergie libre pour estimer la différence d'énergie libre entre les intermédiaires tétraédriques obtenus avec les formes R et S d'alcools énantiomères pour une série d'alcools secondaires, dans le but de prédire *in silico* l'énantiosélectivité de la CALB. Les paramètres cinétiques apparents d'une réaction avec deux alcools substrats énantiopurs sont expérimentalement déterminés et permettent de définir la contribution respective du K_m et du k_{cat} de chaque énantiomère pour la définition de l'énantiosélectivité. L'étude expérimentale de l'effet d'empreinte par des molécules co-substrats est réalisée, ainsi qu'une étude par modélisation moléculaire de l'effet d'empreinte par le premier ester substrat de la réaction qui pourrait modifier la conformation du site actif de la CALB. La troisième partie porte sur l'étude de la CALB et de trois variants (T42V, S47A et T42V/S47A) chez lesquels les acides aminés dans la poche stéréospécifique sont mutés. T42V et S47A permettent d'obtenir une augmentation de l'énantiosélectivité. L'étude propose une étude détaillée de la conformation du site actif à partir de simulations de trajectoires de dynamique moléculaire.