

Proposition de Sujet de Thèse

(Allocation de recherche à partir de Septembre 2005)

Etude par spectroscopie RPE de l'activation d'enzymes interfaciaux

Contact : André Fournel

Unité de Bioénergétique et Ingénierie des Protéines (UPR-CNRS 9036)

Institut de Biologie Structurale et Microbiologie (IBSM) – CNRS, 31 Chemin Joseph Aiguier, 13402 Marseille Cedex 20.

Tel : 04 91 16 45 57 – e-mail : fournel@ibsm.cnrs-mrs.fr

L'assimilation des lipides par les mammifères est réalisée par des enzymes lipolytiques – les lipases – qui catalysent leur hydrolyse.

Le sujet de thèse proposé porte sur l'étude du mécanisme enzymatique de ces lipases.

Leur activité élevée à l'interface eau/lipide a été observée dès les débuts de leur étude, et il a été suggéré qu'elle est consécutive à leur changement de conformation lors de leur adsorption à cet interface. La structure de la lipase pancréatique humaine (LPH) a renforcé cette hypothèse : le site catalytique est masqué par un volet et un changement de conformation qui en libère l'accès a été obtenu en présence de micelles de molécules amphiphiles.

Afin de progresser dans la compréhension, au niveau moléculaire, de l'interaction enzyme/lipide (et de tenter d'établir un lien entre les données de la cinétique enzymatique et les données structurales) il est nécessaire d'en faire une étude en phase aqueuse.

Nous proposons pour cela une approche basée sur l'observation à l'aide de la Résonance Paramagnétique Electronique (RPE), d'une sonde paramagnétique insérée en un site choisi de la lipase (sur le volet), grâce à la mutagenèse dirigée.

Au vu des résultats préliminaires que nous avons obtenus , il apparaît que les multiples utilisations de ces sondes (observation de leur mobilité, mesure de distance entre deux sondes, détermination de leur position par rapport à des interfaces hydrophile/hydrophobe) permettront de faire une étude de l'activation de la LPH en phase aqueuse dans des conditions expérimentales très diverses (présence des divers partenaires physiologiques, dans des concentrations variables, à pH variables ; action d'inhibiteurs ; utilisation d'interfaces hydrophiles/hydrophobes modèles).

Cette étude sera menée en étroite collaboration avec le laboratoire d'Enzymologie Interfaciale et de la Physiologie de la Lipolyse (EIPL, Dir. Frédéric Carrière) qui est une des composantes de l'Institut de Biologie Structurale et Microbiologie.

Pour mener à bien ce projet, l'étudiant(e) devra connaître (ou acquérir) les principes de base de la spectroscopie RPE. De bonnes connaissances en physico-chimie sont souhaitées. Il (Elle) réalisera l'ensemble des opérations depuis le marquage des enzymes mutées jusqu'aux études spectroscopiques et à leur interprétation, et devra donc faire preuve de qualités certaines pour le travail de nature expérimentale.