



Nouvelle Aquitaine, Cristallographie et Rayonnement Synchrotron : NACRES



Bourse de Recherche Doctorale

Biologie Structurale/Cristallographie/Biochimie/Biotechnologies

ETUDES STRUCTURALES ET MODIFICATIONS DE GLUCOSE DÉSHYDROGÉNASES POUR LA CRÉATION DE BIOPILES AUX PERFORMANCES ACCRUES.

Thèse en co-direction : IBGC-CNRS UMR 5095 / Synchrotron Soleil

Contexte scientifique et projet de thèse :

Les biopiles utilisent l'énergie chimique du couple oxygène-glucose, naturellement présent dans les fluides physiologiques, pour alimenter des dispositifs permettant, par exemple, aux patients diabétiques de doser leur glycémie.

La sélectivité des réactions enzymatiques utilisées pour ces biopiles permet la construction d'une cellule à un seul compartiment, contenant à la fois le réactif anodique (le glucose) et le réactif cathodique (l'oxygène). La puissance opérationnelle d'une biopile dépend de la densité de courant définie par le choix des enzymes et de la stabilité de la biopile. L'objectif de ce projet de thèse sera de tirer parti des nouvelles technologies de production *in vitro*, comme l'expansion du code génétique, pour introduire dans les enzymes constituant les biopiles des acides aminés non naturels de façon ciblée afin d'orienter et immobiliser ces enzymes sur les supports des biopiles. Cette fixation covalente orientée permettra d'améliorer le transfert des électrons et la stabilité des biopiles.

Les Glucose DésHydrogénases membranaires (m-GDH) d'*Escherichia coli* ou d'*Acinetobacter calcoaceticus* n'ont pas été étudiées jusqu'à ce jour du fait de la difficulté de produire ces protéines. Or, parce qu'elles sont naturellement immobilisées dans les membranes, ces enzymes offrent des potentialités énormes pour optimiser le transfert des électrons dans les biopiles. La production *in vitro* de la m-GDH d'*A. calcoaceticus* a permis de lever le frein sur l'expression de cette protéine et de vérifier que la protéine produite était active.

Les structures tridimensionnelles des m-GDH d'*E. coli* ou d'*A. calcoaceticus* n'ont pas été établies à ce jour. La production *in vitro*, la cristallisation et la résolution de la structure 3D par diffraction des rayons X de ces protéines permettront de déterminer quelles sont les meilleures positions dans ces protéines, pour introduire, par traduction orthogonale *in vitro*, des résidus non naturels possédant des fonctions à partir desquelles les enzymes pourront être immobilisées et orientées par chimie 'click' sur les supports fonctionnalisés des biopiles. L'objectif de ce travail est de générer des biopiles aux capacités accrues.



Nouvelle Aquitaine, Cristallographie et Rayonnement Synchrotron : NACRES



Université
de Limoges



Université
de BORDEAUX



Profil recherché :

Le ou la candidat(e) devra être titulaire d'un Master2 en biochimie ou en biophysique avec la mention « Bien ».

Des compétences en cristallographie (cristallisation des protéines et dans l'analyse des données de diffraction des rayons X) seront un plus. Le(la) candidat(e) devra posséder de solides connaissances théoriques en enzymologie, en bioénergétique et/ou en chimie et avoir un bon niveau en français et en anglais, afin de pouvoir évoluer dans un environnement interdisciplinaire et international.

Caractéristiques du contrat :

- **Financement** : Cette thèse bénéficie d'un co-financement « Région Nouvelle Aquitaine » et « Synchrotron Soleil ». Il entre dans le cadre du projet NACRES, regroupant des chercheurs de la région Nouvelle Aquitaine et du synchrotron SOLEIL.

- **Encadrement** : La thèse se déroulera dans le cadre d'une co-direction entre l'IBGC de Bordeaux et SOLEIL. Le(la) thésard(e) évoluera dans l'équipe SYSTEMM (IBGC-UMR 5095), spécialisée dans l'ingénierie des protéines et la biologie structurale où il(elle) sera dirigé(e) par Marie-France Giraud (HDR). Léonard Chavas, responsable de la ligne de lumière PROXIMA-1 à SOLEIL, co-dirigera la partie diffraction/analyse des données.

- **Collaboration** : Cette thèse fera l'objet d'une collaboration étroite avec Claire Stines-Chaumeil du laboratoire 'Biotechnologies' (CRPP-Pessac) spécialisée dans l'étude enzymatique et électrochimique d'enzymes et la fabrication de biopiles à glucose.

- **Suivi de thèse** : Des réunions régulières entre les co-directeurs et les collaborateurs seront organisées tout au long de la thèse. Un contrôle de l'avancement des recherches de la thèse sera mené par un comité de suivi constitué de membres du projet NACRES.

- **Employeur** : le(la) thésard(e) sera employé(e) par le CNRS pour le compte de l'IBGC-CNRS de Bordeaux (UMR 5095).

- **Montant de l'allocation doctorale** : 2135 euros brut par mois (et possibilité d'enseigner).

- Localisation :

Le lieu principal du projet sera l'IBGC-CNRS, UMR 5095 à Bordeaux.

Les expériences de diffraction se dérouleront au Synchrotron Soleil. Le(la) doctorant(e) sera amené(e) à collaborer avec Claire Stines-Chaumeil, Laboratoire de Biotechnologies au Centre Paul Pascal (Pessac).

- **Période de la thèse** : 01/10/2019-30/09/2022

Gestion des candidatures :

Le dossier de candidature sera constitué

- d'un CV,
- d'une lettre de motivation
- de deux lettres de recommandation
- d'un relevé de notes du Master1 et du Master2.



Nouvelle Aquitaine, Cristallographie et Rayonnement Synchrotron : NACRES



Université
de Limoges



Université
de Poitiers

Université
de BORDEAUX



Université
BORDEAUX
MONTAIGNE



Le dossier de candidature sera à faire parvenir aux six membres du comité de sélection avant le 10 Juin 2019 :

- leonard.chavas@synchrotron-soleil.fr, co-directeur de la thèse à Soleil
- marie-france.giraud@ibgc.cnrs.fr, co-directrice de la thèse à l'IBGC
- claire.stines@crpp.cnrs.fr, collaboratrice du projet

La sélection du doctorant ou de la doctorante se fera à l'issue de l'audition de cinq candidats retenus à partir de leur dossier.

- **Date limite de soumission des candidatures** : 10 juin 2019.

IMPORTANT: Le candidat devra avoir déposé un dossier de pré-inscription à l'Ecole Doctorale des Sciences de la Vie et de la Santé de Bordeaux. La demande de pré-inscription doit être réalisée entre le 3 Mai et 27 Mai 2019 sur le site suivant (<https://ed-svs.u-bordeaux.fr/>).

PhD position

Structural Biology/Crystallography/Biochemistry/Bio-technologies

STRUCTURAL STUDIES AND MODIFICATION OF GLUCOSE DEHYDROGENASES TO CREATE ENZYMATIC BIOFUEL CELLS WITH ENHANCED PROPERTIES.

Thesis project in co-direction: IBGC-CNRS UMR 5095 / Synchrotron Soleil

PhD project:

Some Enzymatic Biofuel Cells (EBC), that use the chemical energy of the oxygen/glucose system constitute biomedical devices that can detect glycaemia. The selectivity of enzymatic reactions allows the design of cell compartments that contain both glucose as the anodic electron donor and oxygen as the cathodic electron acceptor. Currents and stability of EBC depend on the enzymes used.

Membrane Glucose DeHydrogenases (m-GDH) of *Escherichia coli* and *Acinetobacter calcoaceticus* have not been extensively studied because of the difficulty to produce them. However, as they are naturally immobilized in membranes, these enzymes have huge potentialities to improve electron transfers in EBC. Recently, the bottleneck on the production of an active m-GDH from *A. calcoaceticus* has been eliminated using the *in vitro* expression system.

The 3D structures of the m-GDH of *E.coli* or *A. calcoaceticus* have not been determined yet. During this project, their cell-free expression, their crystallization and the elucidation of their tertiary structures by X-ray diffraction will be performed. Their 3D structures will help to determine the positions where unnatural amino acids will be introduced using genetic code expansion. These unnatural amino acids with new functionalities will enable to bind and orient these enzymes on functionalized matrices using click chemistry.

The final goal of this project is to create EBC with enhanced properties.



Nouvelle Aquitaine, Cristallographie et Rayonnement Synchrotron : NACRES

Universit 
de LimogesUniversit 
de Poitiersuniversit 
de BORDEAUXUniversit 
BORDEAUX
MONTAIGNEBordeaux INP
AQUITAINECNRS
d passer les frontières

Terms of PhD contract:

- **Financial support:** This position is co-funded by the region Nouvelle Aquitaine and the SOLEIL Synchrotron in the frame of a large consortium project (NACRES), gathering ~30 researchers from the Nouvelle Aquitaine region and SOLEIL.

- **Supervision:** The PhD student will be supervised by two co-directors. The first co-director, Dr Marie-France Giraud (HDR) will supervise the work in the SysTEMM team at the IBGC (IBGC-UMR 5095, Bordeaux). This team is specialized in protein engineering and structural biology. Dr L onard Chavas, manager of the beam line Proxima-1 at SOLEIL will be the other co-director and will supervise diffraction and data analyses. The PhD work will be developed in strong collaboration with Dr Claire Stines-Chaumeil from the Biotechnology laboratory (CRPP-Pessac) specialized in the enzymatic and electrochemical study of enzymes used for glucose biofuel cells.

- **PhD monitoring:** Regular meetings between co-directors and collaborators will be organized all along the 3 years of this PhD. A monitoring committee, composed of NACRES members will control the progress of the project.

- **Employer:** The PhD student will be employed by the CNRS on behalf of the IBGC-CNRS in Bordeaux (UMR 5095).

- **Salary:** The gross salary will be 2135 euros/month. The PhD student will also have the possibility to teach.

- Workplaces:

The main place of work will be the IBGC-CNRS, UMR 5095 in Bordeaux. Diffraction experiments will be performed at the SOLEIL synchrotron. The PhD student will have to collaborate with Dr Claire Stines-Chaumeil, at the Biotechnology laboratory, at the Centre Paul Pascal (CRPP) in Pessac.

- **Position period:** 10/01/2019 - 09/30/2022

Candidate's profile:

Candidates should hold a Master degree (or equivalent) in Biochemistry or Biophysics with honors. An experience in protein crystallography would be a plus. Candidates should be fluent both in French and English and have strong theoretical knowledge in enzymology, bioenergetics and chemistry in order to be able to work in an interdisciplinary and an international environment.

Application:

Applications, including a CV, a cover letter, two reference letters and copies of transcripts from the last two years should be addressed to each member of the selection committee:

- leonard.chavas@synchrotron-soleil.fr, Co-supervisor, beamline manager at Soleil
- marie-france.giraud@ibgc.cnrs.fr, Co-supervisor at the IBGC
- claire.stines@crpp.cnrs.fr, Collaborator.



Nouvelle Aquitaine, Cristallographie et Rayonnement Synchrotron : NACRES



Université
de Limoges



Université
de Poitiers

université
de BORDEAUX



Université
BORDEAUX
MONTAIGNE



Five candidates will be selected according to their motivation and academic records for an interview and after the interview process, one candidate will be offered the position.

Application deadline: 10 June 2019.

IMPORTANT: Candidates should be pre-registered at the Doctoral School of Life Sciences and Health of Bordeaux University by filling a pre-registration form on the following website <https://ed-svs.u-bordeaux.fr/> from May the 3rd to May the 27th.