

AVIS DE SOUTENANCE DE THÈSE

Madame Han LIU

Candidate au Doctorat de Chimie analytique,
de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour

Soutiendra publiquement sa thèse intitulée :

Exploration of novel cold-active transglutaminases for preparing protein-based biomaterials

Dirigée par Madame CORINNE NARDIN et Madame Yi ZHANG

le 16 juillet 2025 à 15h00

Lieu : Technopôle Helioparc, 2 Av. du Président Pierre Angot, 64053 Pau Cedex 9

Salle : Amphitheatre, IPREM

Composition du jury :

Mme Corinne NARDIN, Professeur des universités	Université de Pau et des Pays de l'Adour	Directrice de thèse
Mme Yi ZHANG, Maître de conférences	Université d'État de Pennsylvanie	Co-directrice de thèse
M. Yves CHEVALIER, Directeur de recherche CNRS	Université Claude Bernard Lyon 1	Rapporteur
M. Julius VANCOSO, Professeur	Université de Twente	Rapporteur

Mots-clés : Transglutaminase, Activité à basse température, Expression recombinante, Réticulation, Protéine, Biomatérial

Résumé :

La transglutaminase (TGase, EC 2.3.2.13) est une enzyme de réticulation largement reconnue, catalysant la formation de liaisons isopeptidiques covalentes entre les résidus de glutamine et de lysine, ce qui améliore les propriétés structurales et fonctionnelles des biomatériaux à base de peptides et de protéines. La demande croissante d'utilisations de la TGase dans des procédés à basse température, notamment dans les industries agroalimentaire et biomédicale, stimule l'exploration d'enzymes actives à froid. Par ailleurs, l'activité réduite des TGases commerciales à basse température limite leur utilisation dans des conditions thermosensibles. Cette étude vise donc à découvrir et à exploiter des TGases actives à froid pour le développement de biomatériaux protéiques fonctionnels, adaptés à des procédés de mise en œuvre doux et à basse température. Dans cette thèse, une méthode innovante a d'abord été développée pour préparer des gels souples de β -lactoglobuline (β -LG) par un traitement thermique combiné à une réticulation enzymatique à l'aide d'une transglutaminase microbienne commerciale (mTGase). La méthode consistait à chauffer des solutions diluées de β -LG (5 % (p/v), pH 7,5) à 80 °C pendant 30 min afin de favoriser le dépliement et l'agrégation des protéines, suivi d'une catalyse par la mTGase à 50 U TGase/g β -LG. Les gels obtenus ont été caractérisés par des analyses rhéologiques, FTIR, TGA et TEM. Leur potentiel en tant qu'alternatives aux gels d'agar couramment utilisés a été évalué par un test de perforation, mettant en évidence leurs propriétés texturales uniques, notamment leur souplesse et leur faible fragilité. S'inspirant de cette étude, des applications potentielles des transglutaminases actives à froid ont ensuite été explorées. Une transglutaminase recombinante active à froid (rTGase) a été exprimée avec succès sous forme soluble dans *E. coli* par induction à basse température (20 °C). Cette rTGase a été utilisée pour réticuler des hydrolysats de protéines de pois (PPH) à 4 °C, modifiant efficacement la distribution des poids moléculaires des peptides. Les PPH réticulés ont présenté une structure plus stable et compacte, comme le montrent les analyses par spectroscopie de fluorescence, absorption UV-Vis et FTIR. La formation de liaisons isopeptidiques covalentes contribue à une hydrophobicité de surface accrue ainsi qu'à une meilleure stabilité thermique. Enfin, un nouveau gène de TGase adaptée au froid (aktGase), codant une protéine de 748 acides aminés (84,76 kDa), a été identifié à partir du transcriptome du plancton antarctique. Ses caractéristiques d'adaptation au froid ont été prédites par l'analyse de la composition en acides aminés, la prédiction de la structure secondaire et des simulations de dynamique moléculaire (MD). Une validation expérimentale de son activité à froid a été réalisée via une surexpression hétérologue dans *E. coli*, suivie d'un repliement par dialyse progressive et de mesures d'activité enzymatique. Pour conclure, cette thèse propose une évaluation exhaustive et une application approfondie des TGases actives à froid, structurées autour de trois volets principaux: (1) la caractérisation fonctionnelle d'une TGase commerciale dans des biomatériaux à base de protéines, en particulier les gels de β -lactoglobuline (β -LG); (2) l'expression soluble d'une TGase active à froid dans *E. coli* et son application dans la réticulation de protéines d'origine végétale; (3) la découverte et la validation d'une nouvelle TGase adaptée au froid. Les résultats obtenus apportent des connaissances précieuses ainsi que de nouveaux outils enzymatiques pour la modification des protéines à basse température. Ils ouvrent également des perspectives prometteuses pour la conception de biomatériaux protéiques dans les domaines de l'agroalimentaire, de la pharmacie et des biotechnologies.