

Résumé

Les polysaccharides algaux sont une ressource marine dont la valorisation est limitée par le manque d'outils adéquats à leur modification chimique. Grâce aux enzymes qu'elles synthétisent, les bactéries marines, qui vivent au contact des algues, représentent un enjeu majeur pour le développement des biotechnologies bleues. Cette thèse a permis de cloner et d'obtenir sous forme soluble plusieurs dizaines de nouvelles enzymes bactériennes marines actives sur des polysaccharides algaux. Quatre d'entre elles ont fait l'objet d'une étude plus spécifique. Les deux premières sont impliquées dans les voies de dégradation des carraghénanes. La première, ZgCgkA, est une κ -carraghénase de la famille 16 des glycosides hydrolases (GH), synthétisée par la bactérie *Zobellia galactanivorans*. Son étude biochimique et structurale, par cristallographie des rayons X, a permis de corrélérer certaines différences structurales à des modes d'interaction différents avec le substrat, au sein de cette sous-famille des GH16. La seconde enzyme étudiée, une β -carrabiose hydrolase de *Pseudoalteromonas carrageenovora*, agit sur des oligosaccharides hybrides β/κ . Son étude biochimique et phylogénétique a permis de proposer la création d'une nouvelle famille de GH apparentée aux GH42. Enfin, les deux dernières enzymes étudiées, une GH29 et une GH non-classée, sont codées dans un locus de *Z. galactanivorans* qui semble impliqué dans la dégradation de substrats enrichis en fucose sulfaté. La GH29 a fait l'objet d'une caractérisation biochimique sur substrat synthétique, et son analyse structurale est en cours. Ces différents résultats permettent d'envisager l'utilisation de ces enzymes comme outils de valorisation des polysaccharides algaux, en particulier des carraghénanes.

Abstract

Algal polysaccharides are marine resources valorization of which is hindered by the lack of proper tools to modify their structure. Marine bacteria living associated to macroalgae synthesize enzymes acting on these polysaccharides. They represent a great opportunity for the development of blue biotechnology. This thesis project resulted in the successful cloning and soluble protein production of several dozen new bacterial enzymes active on algal polysaccharides. Four of them have been studied in detail. The first two are involved in carrageenan degradation pathways. The first one, ZgCgkA, is a κ -carrageenase from family 16 of glycoside hydrolases (GH), synthesized by *Zobellia galactanivorans*. Its biochemical and structural study, by X-ray crystallography, provided a link between structural features and different interaction modes with the substrate in this GH16 sub-family. The second enzyme, a β -carrabiose hydrolase from *Pseudoalteromonas carrageenovora*, is active on hybrid oligosaccharides of β/κ -carrageenan. Its biochemical and phylogenetic study suggests the creation of a new GH family, distantly related to the GH42 family. The last two enzymes, a GH29 and a non-classified GH, are encoded in a locus of *Z. galactanivorans* probably dedicated to the degradation of sulfated fucans. GH29 was biochemically characterized on synthetic substrate, and its structural study is ongoing. These results raise the possibility to use these enzymes as tools for the valorization of algal polysaccharides, particularly carrageenans.