

Colloque Adebiotech

# Enzymes Innovations Industries

27 et 28 octobre 2014

*Parc Technologique Biocitech, Romainville*

## Table des matières

<b>Préface .....</b>	<b>5</b>
<b>Programme détaillé .....</b>	<b>6</b>
<b>Résumés des Conférences .....</b>	<b>11</b>
<i>PASCAL DHULSTER - UNIV. LILLE 1-INSTITUT CHARLES VIOLLETTE.....</i>	<i>11</i>
<i>JEAN-FRANÇOIS ROUS - SAS PIVERT, GROUPE SOFIPROTEOL .....</i>	<i>12</i>
<i>ANTOINE DREVELLE - GROUPE SOUFFLET .....</i>	<i>12</i>
<i>GABRIELLE VERONESE - INSA TOULOUSE .....</i>	<i>13</i>
<i>CECILE PERSILLON - PROTEUS.....</i>	<i>14</i>
<i>GURVAN MICHEL - STATION BIOLOGIQUE DE ROSCOFF .....</i>	<i>15</i>
<i>VERONIQUE DE BERARDINIS - GENOSCOPE/INSTITUT DE GENOMIQUE/CEA.....</i>	<i>16</i>
<i>PATRICE SOUMILLION - UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN.....</i>	<i>16</i>
<i>ISABELLE ANDRÉ - INSA TOULOUSE.....</i>	<i>17</i>
<i>NOËL VAN PEIJ - DSM BIOTECHNOLOGY CENTER .....</i>	<i>18</i>
<i>MÉLANIE LE PLAINE-MILEUR - SYNPA.....</i>	<i>19</i>
<i>LIONEL MUNIGLIA - BIOLIE.....</i>	<i>19</i>
<i>KEVIN HARDOUIN - AMADÉITE, OLMIX.....</i>	<i>20</i>
<i>JULIA WESSEL - CATHOLIC UNIVERSITY OF LOUVAIN (UCL) .....</i>	<i>20</i>
<i>DANIEL AURIOL - LIBRAGEN .....</i>	<i>21</i>
<i>ELEONORA ECHEGARAY - SWISSAUSTRAL BIOTECH SA.....</i>	<i>22</i>
<i>SABRINA JACOPINI - UNIVERSITE DE CORSE .....</i>	<i>23</i>
<i>STEPHANE NERON - UMR1145 INGENIERIE PROCEDES ALIMENTS, AGROPARISTECH/INRA/CNAM.....</i>	<i>23</i>
<i>RUDY PANDJAITAN - EVIAGENICS .....</i>	<i>24</i>
<i>AMELIE SAUMONNEAU - UNIVERSITE DE NANTES .....</i>	<i>25</i>
<i>CLAIRE ANDRE - UFR SMP .....</i>	<i>25</i>
<i>CAROLINE REMOND - UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE ARDENNE .....</i>	<i>26</i>
<i>VERONIQUE ALPHAND - AIX MARSEILLE UNIVERSITE CNRS .....</i>	<i>27</i>
<i>RENATO FROIDEVAUX - INSTITUT CHARLES VIOLLETTE - EQUIPE PROBIOGEM .....</i>	<i>28</i>
<i>JOSE SANCHEZ MARCANO - INSTITUT EUROPEEN DES MEMBRANES.....</i>	<i>28</i>
<i>PIERRE LANOS - ROQUETTE.....</i>	<i>29</i>
<i>OLIVIER GUAIS - ADISSEO.....</i>	<i>29</i>
<i>PATRICE PELLERIN - OENOBRAUNDS.....</i>	<i>29</i>
<i>JEAN-LUC SIMON - INGREDIA.....</i>	<i>30</i>
<i>CINDY GERHARDT - DSM INNOVATION.....</i>	<i>31</i>
<i>IAN BENTLEY - AB ENZYMES GMBH .....</i>	<i>31</i>
<i>YANN GODFRIN - ERYTECH.....</i>	<i>32</i>
<i>BRUNO DUMAS - SANOFI.....</i>	<i>32</i>
<i>MIRJANA GELO-PUJIC - SOLVAY .....</i>	<i>33</i>
<i>DANIEL AURIOL - LIBRAGEN - INDUCHEM COMPANIES .....</i>	<i>33</i>
<i>PHILIPPE SOUCAILLE - METABOLIC EXPLORER.....</i>	<i>34</i>
<i>ANDRÉ KLAASSEN - DYADIC INTERNATIONAL .....</i>	<i>34</i>
<i>SYLVAIN LAPERCHE - NOVOZYMES .....</i>	<i>35</i>
<i>ALAIN MARTY - CARBIOS.....</i>	<i>35</i>
<i>ANTOINE MARGEOT - IFP ENERGIES NOUVELLES.....</i>	<i>36</i>
<i>THEO VERLEUN - DSM BIO-BASED PRODUCTS &amp; SERVICES B.V.....</i>	<i>36</i>
<i>MACHA ANISSIMOVA - GLOBAL BIOENERGIES .....</i>	<i>37</i>
<i>GILLES MUR - DUPONT INDUSTRIAL BIOSCIENCES.....</i>	<i>37</i>

## Résumés des posters..... 39

CHRISTINE DELBARRE-LADRAT - IFREMER.....	39
ANNIE FRELET-BARRAND - CEA SACLAY/IBITEC-S/SB2SM UMR 8221/LSOD .....	39
JULIA WESSEL - CATHOLIC UNIVERSITY OF LOUVAIN (UCL) (VOIR PAGE 20) .....	40
DANIEL AURIOL – LIBRAGEN (VOIR PAGE 21) .....	40
ELEONORA ECHEGARAY - SWISSAUSTRAL BIOTECH SA (VOIR PAGE 22).....	40
ORLANE PATRASCU - INRA MICALIS.....	41
ISABELLE JACQUES - CEA/DSV/IBITECS-S/LTMB .....	41
THOMAS BENEYTON - LABORATOIRE DE BIOCHIMIE, ESPCI .....	42
GABRIELLE WORONOFF - LABORATOIRE DE BIOCHIMIE, ESPCI .....	43
FRANÇOIS RECHENMANN - CAD4BIO SAS .....	43
SABRINA JACOPINI - UNIVERSITE DE CORSE (VOIR PAGE 23).....	44
OLIVIER BOX - UCL - ISV - UNITE BBGM .....	44
GILLES JOACHIM - UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN .....	45
LAURENCE HECQUET - UNIVERSITE BLAISE PASCAL - CNRS UMR 6296.....	46
RENATO FROIDEVAUX - INSTITUT CHARLES VIOLLETTE - EQUIPE PROBIOGEM .....	46
MOUNA IMENE OUSSADI - UNIVERSITE CONSTANTINE 1, LABORATOIRE DE GENIE MICROBIOLOGIE.....	47
STEPHANE NERON - UMR1145 INGENIERIE PROCEDES ALIMENTS, AGROPARISTECH/INRA/CNAM (VOIR PAGE 23).....	48
RUDY PANDJAITAN – EVIAGENICS (VOIR PAGE 24) .....	48
AMELIE SAUMONNEAU - UNIVERSITE DE NANTES (VOIR PAGE 25).....	48
REBECA GARCIA - CNAM .....	48
CLAIRE ANDRE - UFR SMP (VOIR PAGE 25).....	49
CLAIRE ANDRE - UFR SMP .....	49
CAROLINE REMOND - UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE ARDENNE (VOIR PAGE 26) .....	50
VERONIQUE ALPHAND - AIX MARSEILLE UNIVERSITE CNRS (VOIR PAGE 27).....	50
ANNE ABOT - INSA/INRA/CNRS - LISBP - GET-BIOPUCE.....	50
RENATO FROIDEVAUX - INSTITUT CHARLES VIOLLETTE - EQUIPE PROBIOGEM (VOIR PAGE 28) .....	51
RENATO FROIDEVAUX - INSTITUT CHARLES VIOLLETTE - EQUIPE PROBIOGEM .....	51
RENATO FROIDEVAUX - INSTITUT CHARLES VIOLLETTE - EQUIPE PROBIOGEM .....	52
GABRIEL PAËS - INRA - UMR FARE.....	53
FABIENNE GUERARD - UNIVERSITE DE BRETAGNE OCCIDENTALE - LEMAR UMR6539 - IUEM - TECHNOPOLE BREST IROISE .....	54
JOSE SANCHEZ MARCANO - INSTITUT EUROPEEN DES MEMBRANES (VOIR PAGE 29) .....	54
MARINA MOLETTA-DENAT - INRA TRANSFERT ENVIRONNEMENT .....	55
HARIVONY RAKOTOARIVONINA - UNIVERSITE DE REIMS CHAMPAGNE ARDENNE.....	55
PIERRE-LOÏC SAAIDI - CEA IG GENOSCOPE.....	57
CÉCILE FISCHER - UMR8030 (CEA-IG GENOSCOPE/UEVE/CNRS) LGBM .....	57
ETIENNE SEVERAC - LISBP.....	58

## Parcours des intervenants et des membres des comités..... 59

ISABELLE ANDRÉ, INSA TOULOUSE.....	59
MACHA ANISSIMOVA, GLOBAL BIOENERGIES.....	59
DANIEL AURIOL, LIBRAGEN .....	59
VERONIQUE DE BERARDINIS, GENOSCOPE/INSTITUT DE GENOMIQUE/CEA.....	59
IAN BENTLEY, AB ENZYMES GMBH.....	60
CHARLES DELANNOY, PROCIDYS.....	60
ANTOINE DREVELLE, GROUPE SOUFFLET.....	60
BRUNO DUMAS, SANOFI.....	60
PASCAL DHULSTER, UNIV. LILLE 1 - INSTITUT CHARLES VIOLLETTE.....	61
MIRJANA GELO-PUJIC, SOLVAY .....	61
FRANÇOISE GEOFFROY, DSM FOOD SPECIALTIES.....	62
CINDY GERHARDT, DSM INNOVATION .....	62
YANN GODFRIN, ERYTECH.....	62
OLIVIER GUAIS, ADISSEO.....	62
KEVIN HARDOUIN, AMADEITE, OLMIX.....	62
LAURENCE HECQUET, UNIVERSITE BLAISE PASCAL - INSTITUT DE CHIMIE DE CLERMONT-FERRAND (ICCF) .....	63
ANDRÉ KLAASSEN, DYADIC INTERNATIONAL .....	63
DANIELLE LANDO, ADEBIOTECH.....	63
PIERRE LANOS, ROQUETTE.....	63
SYLVAIN LAPERCHE, NOVOZYMES .....	64
MELANIE LE PLAINE-MILEUR, SYNPA.....	64
ANTOINE MARGEOT, IFP ENERGIES NOUVELLES.....	64
ALAIN MARTY, CARBIOS .....	65

<i>GURVAN MICHEL, STATION BIOLOGIQUE DE ROSCOFF.....</i>	<i>65</i>
<i>PIERRE MONSAN, INSA TOULOUSE .....</i>	<i>65</i>
<i>LIONEL MUNIGLIA, BIOLIE.....</i>	<i>65</i>
<i>GILLES MUR, DUPONT INDUSTRIAL BIOSCIENCES.....</i>	<i>66</i>
<i>PATRICE PELLERIN, OENOBRAUNDS.....</i>	<i>66</i>
<i>CÉCILE PERSILLON, PROTÉUS.....</i>	<i>66</i>
<i>MAGALI REMAUD-SIMEON, INSA TOULOUSE.....</i>	<i>66</i>
<i>JEAN-FRANÇOIS ROUS, SAS PIVERT, GROUPE SOFIPROTEOL .....</i>	<i>67</i>
<i>JEAN-LUC SIMON, INGREDIA.....</i>	<i>67</i>
<i>PHILIPPE SOUCAILLE, METABOLIC EXPLORER.....</i>	<i>67</i>
<i>PATRICE SOUMILLION, UNIVERSITE CATHOLIQUE DE LOUVAIN.....</i>	<i>67</i>
<i>CHARLES TELLIER, CNRS/UNIVERSITE DE NANTES.....</i>	<i>68</i>
<i>NOËL VAN PEIJ, DSM BIOTECHNOLOGY CENTER .....</i>	<i>68</i>
<i>THEO VERLEUN, DSM BIO-BASED PRODUCTS &amp; SERVICES B.V.....</i>	<i>68</i>
<i>GABRIELLE VERENOSE, INSA TOULOUSE .....</i>	<i>68</i>
<b>Stands .....</b>	<b>69</b>
<i>DELPHI GENETICS.....</i>	<i>69</i>
<i>DSM .....</i>	<i>69</i>
<i>DYADIC INTERNATIONAL .....</i>	<i>69</i>
<i>FLOTTWEG .....</i>	<i>69</i>
<i>INTEGRATED DNA TECHNOLOGIES / NEW ENGLAND BIOLABS FRANCE .....</i>	<i>69</i>
<i>LIBIOS.....</i>	<i>69</i>
<i>M2P-LABS GMBH.....</i>	<i>69</i>
<i>MIRRI .....</i>	<i>69</i>
<i>PALL LIFE SCIENCES.....</i>	<i>69</i>
<i>PROTEIGENE / PROTEOMIC SOLUTIONS.....</i>	<i>69</i>
<b>Liste des Participants .....</b>	<b>71</b>



## *Préface*

**ADEBIOTECH** est ravie de vous accueillir au colloque

### **Enzymes Innovations Industries**

Ce colloque s'inscrit dans la démarche d'Adebiotech qui a pour objectif de valoriser les biotechnologies dans tous les champs d'application et de rapprocher les acteurs publics et privés pour faciliter les échanges et développer les collaborations.

Les enzymes qui sont au cœur de ce colloque se caractérisent par leur implication dans tous les processus de la vie.

Le développement des technologies durant ces dernières années a permis une explosion des applications industrielles ce qui a conduit Adebiotech à organiser cet événement.

Ceci a pu se concrétiser grâce à l'enthousiasme de notre regretté Daniel Thomas, Membre du Conseil d'Administration de notre association.

Nous avons souhaité lui rendre hommage en demandant à deux de nos collègues qui l'ont bien connu de le faire en notre nom à tous : Pascal Dhulster, Institut Charles Viollette et Jean-François Rous, SAS PIVERT, Groupe Sofiprotéol.

Nous adressons tous nos remerciements à tous ceux qui ont participé à la réalisation du programme de ce colloque, Membres du Comité d'Organisation, du Comité Scientifique, Intervenants et Modérateurs.

Nous remercions Biocitech, le département de la Seine-Saint-Denis et Sup'Biotech pour leur soutien ainsi que la DGE, Ministère de l'Industrie pour leur parrainage.

Nous souhaitons à tous un excellent colloque avec des discussions fructueuses.

Danielle Lando  
Vice-présidente ADEBIOTECH

## Programme détaillé

### Programme 27 octobre

13H00 Accueil café

13h25 **Bienvenue Danielle LANDO**, Vice-présidente, Adebitech

13H30 **Conférence hommage à Daniel THOMAS**

**Pascal DHULSTER**, Directeur, Univ. LILLE 1 - Institut Charles Viollette

**Jean-François ROUS**, Président, SAS PIVERT et Directeur R&D, Groupe Sofiprotéol

### Volet 1 : Avancées technologiques et méthodologiques

---

**14H00 Session 1** : Nouvelles technologies pour la découverte d'enzymes

Modérateur Laurence HECQUET, Université Blaise Pascal - Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (ICCF)

14h00 **Antoine DREVELLE**, Directeur de recherche, Groupe Soufflet

***Droplet-based microfluidic applied to enzymatic analysis and screening of fungi***

14h20 **Gabrielle VERONESE**, Directeur de recherche INRA, INSA Toulouse

***Functional metagenomics to boost enzyme discovery***

14h40 **Cécile PERSILLON**, Responsable scientifique, Protéus

***Industrial enzymes development through biodiversity screening and directed evolution***

15h00 **Gurvan MICHEL**, Directeur de recherche CNRS, Co-responsable de l'équipe «Glycobiologie Marine», Station Biologique de Roscoff

***Treasure hunting in the genome of the marine bacterium *Zobellia galactanivorans*: Discovery of novel enzymes for the bioconversion of algal polysaccharides***

15h20 **Véronique DE BERARDINIS**, Chef du laboratoire de criblage des activités de bioconversions, Genoscope/Institut de Génomique/CEA

***Iterative large-scale exploration of enzyme biodiversity to discover novel biocatalysts***

15H40-16h10 Pause café / Posters / Exposition

**16h10 Session 2** : Conception d'enzymes sur mesures : rêve ou réalité

Modérateur Charles TELLIER, CNRS/Université de Nantes

16h10 **Patrice SOUMILLION**, Professeur, Université Catholique de Louvain

***Accelerated evolution of enzymes: traps, hurdles and secret passages***

16h30 **Isabelle ANDRÉ**, Directeur de recherche au CNRS, INSA Toulouse

***The contribution of structural computational biology to the engineering of enzymes and the development of novel synthetic reactions***

16h50 **Laurence HECQUET**, Professeur, Université Blaise Pascal - Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (ICCF)

***Screening and selection strategies for assaying transketolase activity***

17h10 **Noël van PEIJ**, Principal Scientist, DSM Biotechnology Center

***Novel enzyme development: screening and design***

### **17h30 Session 3 : Verrous à lever**

*Modérateur Pierre LANOS, Roquette Frères*

**17h30 Mélanie LE PLAINE-MILEUR**, Secrétaire Générale, SYNPA  
*Food enzymes: how clear, predictable and reliable is the current regulation?*

**17h50 Lionel MUNIGLIA**, Directeur scientifique, Biolie  
*From laboratory to industrial scale: locks and opportunities of enzymatic extraction*

**18h10 Kevin HARDOUIN**, Doctorant CIFRE – Pôle Recherche & Développement, Amadéite, Olmix  
*Enzyme-assisted extraction of bioactive metabolites from seaweeds*

### **18h30 Tribune : Producteurs et distributeurs d'enzymes**

---

*Modérateur Françoise GEOFFROY, DSM Food Specialties*

*Chaque société présentera ses développements récents et innovants.*

**Sylvain LAPERCHÉ**, Strategic Account Manager - Grain Processing, Novozymes

**Cindy GERHARDT**, Global Innovation Manager Enzyme Solutions, DSM innovation

**Gilles MUR**, Global Marketing Director, Home and Personal Care, DuPont Industrial Biosciences

**Anna-Karin NYMAN**, Sales Representative, Dyadic

### **19h00 Présentation Flash Posters**

---

**19h00 Julia WESSEL**, Université Catholique de Louvain (UCL)  
*Directed evolution in droplets: towards the acellular birth of a beta-lactamase*

**19h05 Daniel AURIOL**, Libragen  
*Metagenomic screen for the identification of novel industrially relevant sulfatases*

**19h10 Eleonora ECHEGARAY**, Swissaustral Biotech  
*Extreme enzymes development*

**19h15 Sabrina JACOPINI**, Université de Corse Pasquale Paoli  
*Use of olive recombinant 13-Hydroperoxide Lyase in the biocatalytic process of production of green note compounds*

**19h20 Stéphane NERON**, AgroParisTech  
*Utilisation des lipases en panification : effets biochimiques et interfaciaux*

**19h25 Rudy PANDJAITAN**, Eviagenics  
*In vivo evolution of phenylpropanoid pathways by homeologous recombination*

**20h00 Cocktail / Posters / Exposition**

# Programme 28 octobre

8h00 Accueil café

## Volet 2 : Réalisations et besoins des filières industrielles

---

### 8h30 Session 4 : Industries agro-alimentaires

Modérateur Charles DELANNOY, Procidys

8h30 Pierre LANOS, R&D Procédés, Roquette

*Utilisation intensive des enzymes en bioraffinerie céréales*

8h50 Olivier GUAIS, Responsable développement biochimie / enzymologie, Adisseo

*Regulation of the expression of glycoside hydrolase-encoding genes in the industrial fungus *Talaromyces versatilis**

9h10 Patrice PELLERIN, Responsable développement et application, Oenobrand

*Use of enzymes in winemaking processes*

9h30 Jean-Luc SIMON, Directeur R & D, Ingredia

*Traitements enzymatiques de matrices laitières*

9h50 Cindy GERHARDT, Global Innovation Manager Enzyme Solutions, DSM innovation

*New proteases with high selectivity; two examples of specific product benefits in the beer and meat industry*

10h10 Ian BENTLEY, AB Enzymes GmbH

*Vegetable oil degumming assisted with enzymes*

10h30 Pause café / Posters / Exposition

### 11h20 Session 5 : Industries pharmaceutiques/Chimie fine/Cosmétiques

Modérateur Magali REMAUD-SIMEON, INSA Toulouse

11h20 Yann GODFRIN, Co-Fondateur et Directeur Scientifique, Erytech

*The Red Blood Cell as Vehicle for Therapeutic Enzymes*

11h40 Bruno DUMAS, Chef de groupe, Sanofi

*Two molecules of pharmaceutical interest made in yeast: artemisinic acid and hydrocortisone*

12h00 Mirjana GELO-PUJIC, Chercheur au département Sustainable Organic Chemistry, Solvay

*Industrial applications of biocatalysts*

12h20 Daniel AURIOL, Libragen

*Contribution des enzymes à la production d'actifs et additifs cosmétiques*

## Présentation Flash Posters

---

19h30 Amélie SAUMONNEAU, Université de Nantes

*Design of alpha-L-transfucosidases for the synthesis of fucosylated HMOs*

19h40 Caroline REMOND, Université de Reims

*Fonctionnalisation enzymatique du xylose et des xylo-oligosaccharides pour des applications en détergence et en cosmétique*



19H45 **Véronique ALPHAND**, CNRS

*Baeyer-Villiger Monooxygenases : A Promising Route to Chiral Enol-lactones and Ene-lactones*

19H50 **Rénato FROIDEVAUX**, Institut Charles Viollette

*Catalyse chemo-enzymatique appliquée au glucose pour l'obtention du 5-HMF*

19H55 **José SANCHEZ MARCANO**, CNRS

*Conception et étude d'un bioréacteur enzymatiques à membrane pour le traitement d'effluents contenant des micropolluants réfractaires d'origine pharmaceutique*

12h40-14h30 Buffet / Posters / Exposition

## **14h30 Session 6 : Bioraffinerie/Biomatériaux/Bioénergie/Environnement**

*Modérateur Jacky VANDEPUTTE, Coordinateur des projets de R&D, Pôle Industries et Agro-Ressources*

14h30 **Philippe SOUCAILLE**, Directeur Scientifique, METabolic Explorer

*Engineering of Escherichia coli for the production of 1,2-propanediol*

14h50 **André KLAASSEN**, Dyadic International

*C1 enzymes, turning waste in wealth*

15h10 **Sylvain LAPERCHE**, Strategic Account Manager - Grain Processing, Novozymes

*Solutions enzymatiques innovantes pour la production d'éthanol 1G*

15h30 **Alain MARTY**, Membre du Conseil Scientifique, Carbios

*Thanoplast Project: Reinventing Polymer Lifecycle*

15h50 **Antoine MARGEOT**, Chef de projet, IFP Energies Nouvelles

*Développement de cocktails d'enzymes pour l'hydrolyse de la biomasse lignocellulosique*

16h10 **Françoise GEOFFROY**, DSM Food Specialties (en remplacement de Theo VERLEUN, Sales & Marketing Director, DSM Bio-based Products & Services B.V.)

*The role of modern industrial biotechnology in the Biobased economy*

16h30 **Macha ANISSIMOVA**, Directrice de la Discovery, Global Bioenergies

*Development of artificial enzymatic cascades for the in vivo production of light olefins*

16h50 **Gilles MUR**, Global Marketing Director, Home and Personal Care, DuPont Industrial Biosciences

*Integrated science and collaboration brings innovation*

## **17h10 Conclusion**



## Résumés des Conférences

### Conférence hommage à Daniel THOMAS

---

**Pascal DHULSTER** - Univ. LILLE 1-Institut Charles Viollette

Daniel Thomas nous a quittés le 4 mai 2014. Né en 1946, il a marqué ces 4 dernières décennies tant par l'importance de ses travaux scientifiques que par son engagement personnel dans de nombreuses responsabilités nationales et internationales. Pionnier des biotechnologies, il s'attacha tout au long de sa carrière à démontrer que cette discipline n'avait de véritable sens que si elle s'appliquait autant à la recherche fondamentale, qu'à l'innovation et au transfert des résultats vers la société.

Après des études de chimie à l'Institut National Supérieur de Chimie Industriel de Rouen, Daniel Thomas oriente rapidement ses travaux vers la catalyse enzymatique. Recruté au CNRS en 1968, il soutient sa Thèse d'Etat en 1971 à l'Université de Rouen sur "l'élaboration de modèles biologiques structurés à l'aide de membranes porteuses d'enzymes réticulées". Après un séjour comme "research associate" à l'Université de Harvard, il rejoint en 1974 l'équipe des enseignants chargée de créer l'Université de Technologie de Compiègne, où il fonde le Laboratoire de Technologie Enzymatique, associé au CNRS, pour implanter une approche technologique et pluridisciplinaire de l'étude du vivant.

En associant les mathématiques, avec Jean Pierre Kernevez et l'équipe d'Ilya Prigogine (Prix Nobel de Chimie 1977), et l'enzymologie, il comprend bien avant le reste de la communauté des chercheurs en sciences de la vie le potentiel de la modélisation en biologie et la complémentarité entre approche expérimentale et théorique, notamment pour les phénomènes d'auto-organisation et les structures dissipatives. Une constante sera sa volonté de transposer les méthodes développées pour ces recherches fondamentales à une utilisation dans les domaines industriels, que ce soit dans l'immobilisation de systèmes enzymatiques complexes ou de cellules microbiennes, animales et végétales, dans la création des nanobiotechnologies, dans l'induction de biocatalyseurs nouveaux ou de fonctions nouvelles dans les organismes, principalement végétaux. Dans chaque approche, il cherchera à allier la compréhension du comportement des systèmes naturels dans leur environnement complexe à la création de nouvelles fonctions et de nouveaux outils pour expliquer les mécanismes intimes du vivant et transposer les résultats vers le secteur industriel ou de la santé.

Dès le début de sa carrière, celui qui allait présider en 1981 les assises régionales de la recherche et de la technologie en Picardie est convaincu que ses activités d'universitaire et de scientifique n'ont de sens que dans le contact avec l'environnement économique et social. Afin de faire reconnaître les biotechnologies par les milieux académique, industriel et politique, il s'implique au niveau Européen pour co-fonder de 1978 à 1981, puis présider le comité de gestion du premier programme des Biotechnologies de l'Union Européenne. Il dirige également le Programme National des Biotechnologies de 1985 à 1993 au Ministère de la Recherche.

L'un des aboutissements de son approche transdisciplinaire des biotechnologies fit de Daniel Thomas l'un des fondateurs du pôle de compétitivité à vocation mondiale Industries & Agro-ressources, en 2005, pour lequel il fut le premier universitaire à devenir président d'un pôle de compétitivité. Sa force de conviction catalysa les énergies des partenaires universitaires, industriels et territoriaux, pour que le projet d'institut d'excellence PIVERT, pour la chimie du végétal, les technologies et l'économie des bioraffineries de troisième génération, soit l'un des deux instituts d'excellence dans les énergies décarbonées reconnu dès 2011.

La curiosité artistique de Daniel le conduisit aussi en 1984 à mettre au point un procédé enzymatique pour la restauration des Nymphéas de Claude Monnet du Musée de l'Orangerie. La même année, il créa avec Ernest Pignon-Ernest et Claude Gudin les Arbrorigènes, sculptures végétales vivantes composées de microalgues immobilisées exposées au Jardin des Plantes de Paris.

En 40 ans de carrière, Daniel Thomas aura marqué la recherche scientifique par une volonté constante d'effacer les frontières, frontières entre disciplines, entre recherche cognitive et recherche finalisée, entre recherche et transfert technologique, et aussi entre science et société. Homme de convictions, Daniel était toujours à l'écoute des autres, toujours prêt à utiliser la confrontation entre les idées, les disciplines et les cultures pour en extraire l'essentiel et en dégager une dynamique propice à la créativité collective.

Auteur d'environ 400 publications scientifiques, il ne laisse pas seulement un important héritage scientifique, mais quiconque l'a côtoyé restera marqué par sa personnalité exceptionnelle de gentillesse, de dynamisme et de créativité.

**Jean-François ROUS - SAS PIVERT, Groupe Sofiprotéol**

The production of food and feed, energy (heat, fuels), chemicals and materials from biomass defines the fundamentals of the vegetable biorefinery. Following the growing interest in a sustainable society, the vegetable oil industry, so far mainly focused on the production of human food and animal feed is starting its transition in order to increase its contribution to the biobased economy. Numerous societal factors such as the depletion of fossil resources, their uncertainty of supply and prices, and environmental concerns are driving the actors of the vegetable oil industry toward the development of a refinery based on oleaginous biomass. Traditional partners, namely crop seeds suppliers, farmers, cooperatives, agricultural machinery providers, vegetable oil producers, are joined by chemical and biochemical companies, commodity chemical users, and sustainability specialists to work together for the establishment of the vegetable oil biorefinery of the future. In this context, the French initiative around the ITE (Institut de la Transition Energétique) has seen the creation of the P.I.V.E.R.T. ITE, the oil crop biorefinery of the future. This initiative is organized around a research program, called GENESYS, designed by Pr. Daniel Thomas. This program is a fully integrated program where his vision of the bioeconomy, and more precisely of the biorefinery is now being deployed.

---

### ***Droplet-based microfluidic applied to enzymatic analysis and screening of fungi***

**Antoine DREVELLE - Groupe Soufflet**

Najah<sup>1</sup>, M ; Beneyton<sup>2</sup>, T. ; Mahendra-Wijaya<sup>1</sup>, P. ; Calbrix<sup>2</sup>, R. ; Mayot<sup>1</sup>, E. ; Postros<sup>1</sup>, P. ; Leblond<sup>1</sup>, P. ; Couvent<sup>1</sup>, A. ; Roch<sup>1</sup>, N. ; Griffiths<sup>2</sup>, AD & Drevelle<sup>1</sup>, A.

<sup>1</sup> Ets J. Soufflet, Division Biotechnologies, quai Sarrail 10400 Nogent-sur-Seine.

<sup>2</sup> Laboratoire de biochimie, ESPCI-ParisTech, 10 rue Vauquelin, 75005 Paris.

Droplet-based microfluidic or digital microfluidic consists in controlling droplets dispersed in an oil phase (water/oil emulsion) within microfluidic channels. Each droplet is used as an independent microreactor with a very small volume (20 pl to 20 nl). Individual operations on droplets are performed in elementary modules in a high-throughput manner (1000 droplets per second, which is ~1000-times faster than existing HTS technologies). The modules allow droplet production, droplet pair fusion, incubation, fluorescent detection, and fluorescent-activated sorting of the droplets[1]. These modules can be integrated to allow complex operations to be performed, including the high-throughput screening of micro-organisms in droplets. In a single experiment, we can reliably encapsulate millions of micro-organisms in droplets (single organisms in each droplet) and measure their individual enzymatic activities.

This technology allows the analysis of enzymatic activities produced by microorganisms or the

selection of the most efficient organisms among a population of variants[2].

We present here the development and application of droplet-based microfluidic to the analysis and screening of microbial enzymatic activities. We developed : new fluorogenic substrates[3] for various glycosidase suitable for microfluidic experiments and new microfluidic devices family dedicated to bacteria or fungi screening. We used these tools to screen cellulolytic bacteria extracted from soil sample[4] and library of *Aspergillus niger* mutants for acid amylase production[5].

<sup>[1]</sup> J.-C. Baret et al. (2009). Fluorescence-activated droplet sorting (FADS): efficient microfluidic cell sorting based on enzymatic activity. *Lab Chip*, 9, 1850-1858.

<sup>[2]</sup> J.J. Agresti et al. (2010). Ultra-high-throughput screening in drop-based microfluidics for directed evolution of peroxidases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 4004-4009.

<sup>[3]</sup> M. Najah et al. (2013). New glycosidase substrates for droplet-based microfluidics screening. *Anal. Chem.*, 85, 9807-9814.

<sup>[4]</sup> M. Najah et al. (2014). Ultrahigh-throughput bioprospection of cellulolytic microorganisms using droplet-based microfluidics. Submitted.

<sup>[5]</sup> T. Beneyton et al. (2014). Nanoliter Droplet-Based Microfluidics : Application to High-Throughput Screening of Filamentous Fungi for Industrial Enzyme Production. Under preparation.

This work was funded by BPI France and Ets J. Soufflet.

## Functional metagenomics to boost enzyme discovery

Gabrielle VERONESE - INSA Toulouse

Simon Ladeveze <sup>1,2</sup>, Davide Cecchini <sup>1,2</sup>, Elisabeth Laville <sup>1,2</sup>, Patrick Robe <sup>3</sup>, Bernard Henrissat <sup>5</sup>, Marion Leclerc <sup>4</sup>, Joël Doré <sup>4</sup>, Magali Remaud-Simeon <sup>1,2</sup>, Pierre Monsan <sup>1,2</sup>, and **Gabrielle Potocki-Veronese** <sup>\*1,2</sup>

<sup>1</sup> Université de Toulouse; INSA, UPS, INP; LISBP, 135 Avenue de Rangueil, F-31077 Toulouse

<sup>2</sup> UMR5504, UMR792 Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés, CNRS, INRA, F-31400 Toulouse

<sup>3</sup> LibraGenSA; Bat. Canal Biotech. I, 3 rue des Satellites, F-31400 Toulouse

<sup>4</sup> INRA UEPSD, bat 405, Domaine de Vilvert, F-78352 Jouy en Josas cedex

<sup>5</sup> Architecture et Fonction des Macromolécules Biologiques, UMR6098, CNRS, Universités Aix-Marseille I & II, 163 Avenue de Luminy, F-13288 Marseille

\*Corresponding author address: veronese@insa-toulouse.fr

The human gut hosts trillions of microorganisms, which play a major role in nutrition and in maintaining human health, though most of them have never been cultured. To explore their extraordinary functional potential, a multi-step function-based metagenomic approach was developed to boost the discovery of enzymes involved in complex glycan breakdown (Tasse et al., 2010). This generic strategy, which is applicable to any microbial ecosystem, allowed the identification of dozens of novel carbohydrate active enzymes that are highly efficient, alone or acting synergically, to breakdown plant cell wall polysaccharides and prebiotic compounds (Cecchini et al., 2013). Integration of biochemical, metagenomic and genomic data at the level of the entire human gut ecosystem, also revealed novel pathways and mechanisms of plant fiber and host glycan metabolism by highly prevalent, non-cultivated gut bacteria, and opens new perspectives for the design of functional foods (Ladeveze et al., 2013 ; Potocki-Veronese et al., European Patent 2014).

Tasse, L., J. Bercovici, S. Pizzut-Serin, P. Robe, J. Tap, C. Klopp, B.L. Cantarel, P.M. Coutinho, B. Henrissat, M. Leclerc, J. Doré, P. Monsan, M. Remaud-Simeon, and G. Potocki-Veronese. 2010. *Genome Res.*, 20: 1605-1612.

Ladeveze S, Tarquis L, Cecchini DA, Bercovici J, André I, Topham CM, Morel S, Laville E, Monsan P, Lombard V, Henrissat B, Potocki-Véronèse G. 2013. Role of glycoside-phosphorylases in mannose foraging by human gut bacteria. *J. Biol. Chem.*, 288:32370-32383.

Cecchini D, Laville E, Laguerre S, Robe P, Leclerc M, Doré J, Henrissat B, Remaud-Simeon M, Monsan P, Potocki-Veronese G. 2013. Functional metagenomics reveals novel pathways of prebiotic metabolism by human gut bacteria. *PLoS One* 8(9): e72766.

Potocki-Veronese. G., Henrissat. B., Ladeveze. S., Laville. E., Monsan. P., Tarquis. L. 2013. Use of specific glycoside phosphorylases for the implementation of phosphorolysis or reverse phosphorolysis reactions. Demande de brevet européen N° EP13306108.5 – extension internationale 2014.

**Cécile PERSILLON - Protéus**

*Protéus, 70 allée Graham Bell, Parc Georges Besse, 30035 Nîmes Cedex 1, France*

The presentation will focus on representative achievements of PROTEUS in both chemical industrial production and bioremediation of toxic pollutants using enzymes and enzyme-based processes.

For fifteen years, PROTEUS has acquired a unique experience in this domain by partnering with world leaders of the industry. PROTEUS focuses on the discovery, engineering and manufacturing of proteins of industrial interest, and on the development and industrialization of innovative protein-based bioprocesses. Proteins developed by PROTEUS provide tools to meet today's most demanding challenges such as oil price volatility, uncertainty on mid- or long-term supply in fossil energy and fossil raw materials, and the stronger-than-ever global environmental concerns. Enzymatic proteins provide opportunities to improve industrial productivity, lower energetic needs and environmental impact, while enlarging the access to new renewable raw materials.

The efficiency of PROTEUS technology platform has been demonstrated by a 10-year successful track record in healthcare, fine and specialty chemicals, environment and renewable energy. This platform is based on two complementary pillars: a unique collection of microorganisms, which is screened to identify novel biocatalysts and proprietary directed evolution technologies to adapt these natural biocatalysts for industrial use. Two examples will be presented:

The first one is the discovery of an haloalkane dehalogenase in the collection of microorganisms with a potential environmental degradation of chlorinated alkanes. The strategy that has been followed implies the design and synthesis of a colorimetric substrate simulating the structure of chlorinated alkanes, the screening of 1800 bacterial strains for activity towards the colorimetric substrate and selection of positive strains and the cloning of the dehalogenase gene and recombinant expression of the enzyme. The enzyme has been characterized in terms of tolerated reaction conditions (pH, temperature, solvents) and target spectrum and efficiency. Preliminary evaluations of the enzyme for the decontamination of surfaces have been performed. Further work is necessary for evaluation of enzyme's potential in soil remediation.

The second one is the improvement of a previously identified enzyme by directed evolution. Amongst the compounds which are useful in perfume and flavor industry, "green notes" (which include various hexanals, hexanols, hexenals and hexenols) are widely used in flavors, particularly fruit flavors, to impart a fresh green character. Furthermore, green notes are essential for fruit aroma and are used extensively in the aroma industry. A process for the enzymatic production of these aliphatic alcohols and aldehydes from fatty acids or a natural precursor thereof such as hydrolyzed oil was developed a few years ago by Firmenich. This method implies in particular the use of a guava homogenate containing 13-HPOL lyase activity that cleaves the long chain fatty acids into C6 and C12 aldehydes. In order to improve the performances of this process, and particularly to enhance the catalytic activity of the lyase, Protéus has applied its directed evolution technologies to develop 13-HPOL enzymes that allow the production at high yield of the desired products. Thus, by combining EvoSight™ and L-Shuffling™ molecular evolution methods, new 13-HPOL enzymes were identified with several orders of magnitude of improvement, which led to the implementation of a novel green process with higher productivity.

## **Treasure hunting in the genome of the marine bacterium *Zobellia galactanivorans*: Discovery of novel enzymes for the bioconversion of algal polysaccharides**

---

**Gurvan MICHEL** - *Station Biologique de Roscoff*

*Gurvan Michel, Aurore Labourel, François Thomas, Etienne Rebuffet, Jan-Hendrik Hehemann and Mirjam Czjzek*

Seaweeds dominate the primary production of coastal environments. This large biomass is mainly constituted by polysaccharides, either found as carbon storage compounds or cell wall. But marine algal polysaccharides display a huge chemical diversity and greatly differ in composition and structure from their terrestrial counterparts<sup>[1]</sup>. Several algal polysaccharides (e.g. agars, carrageenans, alginates...) are already widely used in various industries. To develop novel, high-value products from algal biomass, there is an urgent need for specific enzymes modifying the structure and thus the biological and/or physicochemical properties of these biopolymers. The most promising sources of such enzymes are marine heterotrophic bacteria which use seaweeds as a source of nutrients. Our group is developing *Zobellia galactanivorans* as a model marine bacterium for studying the bioconversion of algal polysaccharides. This flavobacterium was isolated from *Delesseria sanguinea* for its capacity to degrade agars and carrageenans and in the past years we performed numerous molecular, biochemical and crystallographic studies on its beta-agarases, kappa- and iota-carragenases<sup>[2]</sup>.

The sequencing of the genome of *Z. galactanivorans* has confirmed its huge capacity for polysaccharide utilization, with the presence of 141 glycoside hydrolases and 72 sulfatases. We have already started to exploit these genomic data. Notably, we have characterized the 3D structure and function of enzymes recycling polysaccharides from brown algae: the laminarinase LamA (GH16 family)[3] and the alginate lyases AlyA1 and AlyA5 (PL7 family)[4]. The alginolytic system of *Z. galactanivorans* is also organized in two operons inducible by the presence of alginate[5]. Using phylogenetic and comparative genomic approaches, we have also discovered novel families of enzymes involved in the degradation of agars: the beta-porphyranses[6] (a novel subfamily within the GH16 family) and the 1,3-alpha-3,6-anhydro-L-galactosidases[7] (novel family GH117). In depth structural and biochemical analyses of several beta-agarases and beta-porphyrases have revealed that *Z. galactanivorans* possesses a complex agarolytic system to deconstruct the cell wall of red algae[8]. Altogether, these works have enlightened the richness of marine bacteria as sources of original enzymes and the necessity to combine genomic and classical biochemical approaches to discover these enzymatic tools needed for the valorization of algal biomass.

1. Popper et al. (2011) *Annu Rev Plant Biol*, 62, 567-90 (Review).

2. Martin et al (2014) *Appl Microbiol Biotechnol*, 98, 2917-2935 (Review).

3. Labourel et al (2014) *J Biol Chem*, 289, 2027-2042.

4. Thomas et al (2013) *J Biol Chem* 288, 23021-23037.

5. Thomas et al (2012) *Environ Microbiol*, 14, 2379-2394.

6. Hehemann et al (2010) *Nature*, 464, 908-912.

7. Rebuffet et al (2011) *Environ Microbiol*, 13, 1253-70.

8. Hehemann et al (2012) *J Biol Chem*, 287, 30571-30584.

## ***Iterative large-scale exploration of enzyme biodiversity to discover novel biocatalysts***

---

**Véronique DE BERARDINIS** - *Genoscope/Institut de Génomique/CEA*

**De Berardinis V**<sup>a,b,c</sup>

<sup>a</sup>CEA, Institut de Génomique, Genoscope, <sup>b</sup>Université Evry Val d'Essonne (UEVE), <sup>c</sup>CNRS, UMR 8030 « Génomique métabolique » 2 rue Gaston Crémieux, Evry, France

vberard@genoscope.cns.fr

Some years ago, Genoscope, the French Sequencing Centre, had decided to diversify its activities to include large-scale functional genomics studies and to develop a high throughput platform for cloning genes and biochemical screenings of enzymes from prokaryote genomes and metagenomes. This platform is mainly used in a systematic enzymatic screening of large enzyme families to discover new biocatalysts for synthetic chemistry and metabolic engineering. We combine various bioinformatic genome analysis to select the smallest set of enzymes the most representative of the biodiversity and a systematic biochemical screening to explore the biocatalytic capabilities of a family.

Enzymes could have a large spectrum of activities and exploiting enzyme catalytic promiscuity might lead to new and efficient catalysts with, as yet, unprecedented activity for reactions where no enzyme alternatives exist today. Today, novelty in terms of biocatalysts is one of the most challenging problems. Novelty in terms of biocatalysts is usually created by evolution of already known enzymes (random or directed mutagenesis, DNA shuffling, ...) and is one of the most challenging problem to discover new biocatalytic "starting points".

Moreover, a large majority of the known enzymatic reactions were discovered in cultivated bacteria but now we are faced with a new situation in which sequences from metagenomes, which are orphans of organisms, become technically available. These metagenome sequences provide a reservoir of genes and represent an interesting source of novel proteins that will indubitably extend our knowledge of enzymatic reactions and lead to discover novel biocatalysts to fulfill the needs of synthetic biology or industrial processes and to propose alternatives to chemical synthesis. The Genoscope strain collection includes today 850 prokaryote strains and a metagenome from a waste water plant reservoir. A collection of ~8 000 genes have been cloned from oxidases (baeyer-villigerases,  $\alpha$ -KG dioxygenases, dehydrogenases), hydrolases (nitrilases, lipases), ligases (aldolases, transketolases), lyases (decarboxylases, synthases) and transferases (transaminases, hexokinases) and are screened for new biocatalysts and new activities. Among this collection and until today, around 1 500 new active enzymes have been discovered.

---

### ***Accelerated evolution of enzymes: traps, hurdles and secret passages***

**Patrice SOUMILLION** - *Université Catholique de Louvain*

Directed evolution of enzymes is a modern field of research in biochemistry and molecular biology aiming at generating biocatalysts endowed with new or improved properties. Although engineering enzymes with new specificities has been extensively reported, the evolution of new and efficient catalytic mechanisms within an enzyme active site remains extremely challenging. Here, we will focus on the accelerated evolution of a D-alanyl-D-alanine-peptidase (DD-peptidase) into a beta-lactamase as a model system. In nature, these two phylogenetically related enzyme families share common fold and active site motifs although beta-lactamases have acquired an additional hydrolytic machinery.

Through success and failures, we have finally succeeded in converting a DD-peptidase into a beta-lactamase by following a counter-intuitive evolutionary trajectory that involves an initial neutralization of the starting activity. This neutralization occurs by drift selection without any pressure for activity and results in variants featuring a reshaped active site but with conservation of



all the essential residues for catalysis. Interestingly, the neutralized mutants have acquired the potential to further evolve into beta-lactamases. Expression of the newly born enzymes is however associated with a fitness cost indicating that, besides antibiotic resistance, the new hydrolytic activity is creating a problem to the bacteria. Although natural DD-peptidases and beta-lactamases are phylogenetically related, these activities appear mutually exclusive. Overall, our results are shedding light on an unexplored property of natural enzymes, i.e. their security against interfering activities. Securing enzymes may constitute an important obstacle for their natural evolution as well as for their engineering in the laboratory.

---

### ***The contribution of structural computational biology to the engineering of enzymes and the development of novel synthetic reactions***

---

**Isabelle ANDRÉ - INSA Toulouse**

*A. Vergés, E. Cambon, S. Barbe, S. Traoré, C. Topham, E. champion, C. Moulis, M. Remaud-Siméon, I. André*

*Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des procédés – INSA, UMR CNRS 5504, INRA 792 ; Université de Toulouse; 135 Avenue de Rangueil, F-31077 Toulouse, France  
isabelle.andre@insa-toulouse.fr*

Enzymes are powerful catalysts, which can be used for a wide range of innovative, efficient and eco-compatible processes that can open the way to many biotechnological applications. However, enzymes available in nature have evolved to operate under physiological conditions on a narrow range of substrates and they often do not display the physico-chemical properties compatible with their use in extreme conditions required in industrial-scale biocatalytic processes. With the potential offered nowadays by enzyme engineering techniques, we have seen in recent years numerous examples of successful computer-aided protein design that enabled tremendous improvements of enzyme properties for various applications, including the catalysis of novel synthetic reactions. Nonetheless, progress in this field, in particular with computational techniques, remains to be done in order to fasten structure-based enzyme design and accelerate the generation of efficient biocatalysts.

This lecture will discuss recent developments of our laboratory in three areas: (i) development of computational methods for multi-scale modeling and protein design; (ii) structure/knowledge-based enzyme engineering; and (iii) the development of chemo-enzymatic synthesis processes. These developments will be presented through specific research projects ongoing in our laboratory and emphasis will be placed on the contribution of structural computational methods in our approaches.

---

### ***Screening and selection strategies for assaying transketolase activity***

---

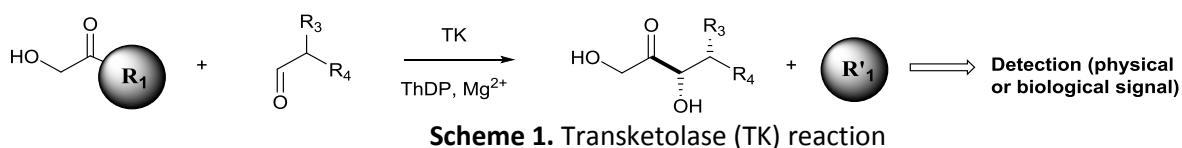
**Laurence HECQUET - Université Blaise Pascal - Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (ICCF)**

*Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (ICCF), CNRS UMR 6296, 63177 Aubière Cedex, France. laurence.hecquet@univ-bpclermont.fr*

Transketolase (TK; EC 2.2.1.1), a thiamine diphosphate (ThDP)-dependent enzyme, is a key enzyme in the non-oxidative branch of the pentose phosphate pathway. TK catalyzes the stereospecific formation of a C-C bond by a reversible transfer of the 1-C2 ketol unit from a ketose phosphate to an aldose phosphate.

TK occurs ubiquitously in all organisms. Microbial TKs [1] have been largely used as biocatalysts for the synthesis of ketoses and analogs [2] from non-natural substrates such as hydroxypyruvate as

donor and various aldehydes as acceptors. Under these conditions, the reaction becomes irreversible due to the release of carbon dioxide. The modification of the substrate specificity of TKs by rational or random mutagenesis promises to broaden their application range [3]. The screening of large libraries of mutant enzymes requires efficient *in vitro* High Throughput Screening (HTS) assays or the direct detection of enzyme activity in host cells using *in vivo* assays, to obviate the need for cell lysis and purification of enzymes. In this context, we have recently developed new strategies for TK activity detection. Recent *in vitro* [4] and *in vivo* [5] TK assays will be present (Scheme 1).



#### References :

- [1] a) G. Schneider et al. *J. Biol. Chem.*, 1994, 269, 32144 b) H. Watson et al. *Acta Crystallogr. Sect. D*, 1995, 6, 1074 c) K. Tittmann et al. *J. Biol. Chem.*, 2010, 285, 3155 d) J. Abdoul-Zabar et al. *Adv. Synth. Catal.* 2013, 355, 116-128.
- [2] a) F. Charmantray, et al. *Eur. J. Org. Chem.* 2006, 5526-5532 b) C. U. Ingram et al. *Biotechnol. Bioeng.* 2007, 96, 559-569 c) O. N. Slovejeva, et al. *J. Mol. Cat. B: Enz.* 2008, 54, 90-92 d) F. Charmantray et al. *J. Mol. Cat. B: Enz.* 2009, 57, 6-9. e) J. Abdoul Zabar et al. *Adv. Synth. Catal.* 2013, 355, 116-128.
- [3] a) M. E. B. Smith et al. *Adv. Synth. Catal.* 2008, 350, 2631-2638 b) A. Cazares, et al. *Org. Biomol. Chem.* 2010, 8, 1301-1309 c) B. O'Sullivan, et al. *J. Mol. Cat. B: Enz.* 2012, 77, 1-8 d) A. Ranoux et al. *ChemBioChem.* 2012, 3, 1921-1931.
- [4] a) F. Charmantray, et al. *J. Biotechnol.* 2010, 145, 359-366 b) D. Yi et al. *ChemBioChem.*, 2012, 13, 2290-2300 c) N. Touisni et al. *Bio-sens. Bioelectron.* 2014, 62, 90-96.
- [5] G. Simon et al. *ChemCatChem*, 2013, 5, 784-795.

## **Novel enzyme development: Screening and design**

### **Noël van PEIJ - DSM Biotechnology Center**

Noël N.M.E. van Peij, Principal Scientist, noel.peij-van@dsm.com

DSM Biotechnology Center, Delft, The Netherlands

In the process of developing novel enzymes for food applications, different technologies need to be combined to come to a novel, effective and cost-efficient enzyme product. Important developments in recent years for identification and improvement of potential enzyme candidates are, for example, the explosion of the genetic diversity available and the increased amount of protein families and structures available. Also an increased screening power and a shift from random to more rational approaches for optimization of enzymes or for optimal secretion of enzymes have become amenable in enzyme development. As a result of the trends above, combined with the use of efficient cell factories with a large intrinsic protein production capacity and a long history of safe use, enzyme development opportunities are extended and made more effective.

The impact and scope of recent technological progress on the process of enzyme development will be discussed using examples presenting novel enzyme development, enhanced enzyme performance and lower environmental impact, meeting the future needs of manufacturers of food and beverages.

## ***Food enzymes: how clear, predictable and reliable is the current regulation?***

---

**Mélanie LE PLAINE-MILEUR** - SYNPA

Food business operators need clear, predictable and reliable regulatory framework. Otherwise their business could be endangered. Does the regulation on food enzymes reply to these criteria?

From a French business operator point of view, food enzymes are regulated at two levels: European level and national level.

At European level, the framework was set up in 2008. Same rules apply for the 28 Member States. The European Union will have a positive list of food enzymes permitted for food uses. The authorization will be granted after a dossier received a favorable decision. Food enzymes producers are working on the dossiers to be submitted soon. However few uncertainties remain, which is not helpful.

In France, food enzymes have been regulated for many years. There is a positive list of food enzymes permitted for food in France. Food enzymes producers have to get an authorization, after the safety is assessed. The SYNPA got a real success a few years ago: the implementation of the mutual recognition for food enzymes permitted in Denmark. Today there is an urgent need to reduce the delay of the procedure. Moreover, there are French rules for the animal rennet, which are well known in the dairy business. The French criteria for animal rennet were set up in 1924.

*Lecture by Mélanie Le Plaine-Mileur, Secretary General of the SYNPA, feed and food specialty ingredients. [www.synpa.org](http://www.synpa.org)*

## ***From laboratory to industrial scale: locks and opportunities of enzymatic extraction***

---

**Lionel MUNIGLIA** - Biolie

The potential of enzymes is regularly highlighted in research. They allow performing specific chemical reactions under mild conditions that respect the environment. Against a backdrop of green chemistry and sustainable development, their industrial growth seems assured. However, many obstacles still impeding the processes involving enzymes and their implementation on an industrial scale. Yet some have demonstrated their performance and robustness (isomerization of glucose, for example). Several reasons can explain this fact and progress of enzyme technologies nevertheless contribute to the expansion of such methods. To ensure the success of an enzymatic process on an industrial scale, the first conditions are the qualitative and quantitative availability of enzyme preparations from suppliers, stability of key activities, potential for recycling... This availability comes with costs that must remain competitive to ensure the economic viability of the process. Then, the feasibility is directly related to the performance of the process in connection with the design of equipment that will allow optimizing the interactions between enzymes and their substrates. Finally, sometimes the brakes are "merely" psychological. What is not known can worry.

In this context with many apparent locks, we will see how, through the development of the BIOLIE Company, many opportunities exist and enable the expansion of enzymes in industry.

Think different and overcome preconceived ideas constitute often the major step... and the result is worth the effort.

**Kevin HARDOUIN** - Amadéite, Olmix

**K. Hardouin**<sup>\*1,2</sup>, A.S. Burlot<sup>1</sup>, P. Nyvall-Collén<sup>2</sup>, S. Blouin<sup>2</sup>, G. Bedoux<sup>1</sup>, N. Bourgougnon<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Univ. Bretagne-Sud, EA 3884, LBCM, IUEM, F-56000 Vannes, France.

<sup>2</sup> OLMIX Group, Z.A du Haut du Bois, 56580 Brehan, France.

\* khardouin@olmix.com

Seaweeds are the basis of a multibillion-dollar economy with an impact on highly diverse sectors, including food, feed, textile, pharmaceutical, nutraceutical, cosmetic, chemistry, bioactive compounds, and biotechnological sectors like bioenergy. The increasing reports of outbreaks of “green tides” (“brown or red tides”), fouling species and large piles of decomposing biomass which appear along shallow sandy bays represent a true economic constraint for the affected communities. Harvesting of invasive and proliferative species is an opportunity for collecting an important biomass for research of new compounds of interest. At this time when sustainable development and environmental protection are regarded as key factors, studies about innovative extraction processes of active compounds from natural products have attracted special attention. Enzymatic hydrolysis was tested in some studies and was shown as a relevant method for the extraction or production of molecules of interest. Three different types of hydrolysis, the enzyme-assisted extraction, the assisted enzymatic hydrolysis and the specific enzymatic hydrolysis, are used depending on the process design and the nature of the enzymes. In this study, six enzymatic preparations were used to produce water-soluble extracts of *Ulva armoricana*. The extraction yields were increased from 12 to 62% for the carbohydrases and from 77 to 82% for proteases. The seaweed components were unequally solubilized showing the selectivity of the enzymatic extractions. The total sugar contents were increased up to 2.34-fold in hydrolyzates compared to an extraction with water. Two samples revealed activities against herpes simplex virus type-1 at the effective concentrations (EC50) of 373.0±20.7 and 320.9±33.6 µg/ml without any cytotoxicity effect. These activities were in relation to the high amount of rhamnose, uronic acids and sulfate groups which are the main constituents of ulvans. The antiradical potential of the extracts was highlighted by the free radical scavenging capacity (DPPH, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl). Three hydrolyzates showed inhibition concentrations (IC50) of 1.8, 6.0 and 12.5 mg/ml. The biochemical composition of hydrolyzates, enzymatic hydrolysis efficiency, and biological activities depended the enzyme activity, the experimental conditions, and the design process. Industrial scaling-up was consistent with the lab scale experiments. However, the process also showed some limitations, related with seaweeds, process and enzymes, for an industrial viability.

Hardouin et al. (2014) *Advances in Botanical Research-Sea Plants*, N. Bourgougnon (Ed.), Vol. 71, Ch. 10: 279-320.

---

## **Directed evolution in droplets: towards the acellular birth of a beta-lactamase**

**Julia WESSEL** - Catholic University of Louvain (UCL)

**J. Wessel**, S. Mankowska, F. Hollfelder<sup>1</sup>, P. Soumillion<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departement of biochemistry, Cambridge, UK

<sup>2</sup> Institute of Life Science UCL, Louvain-la-Neuve, Belgium

Enzymes are generally described as very efficient and highly specific biocatalysts which have been optimized through the course of natural selection. Commonly, enzymes which are not toxic to their host can evolve. When engineering enzymes endowed with new functionalities in the laboratory, the potential toxicity of the new enzymatic activities can be problematic for a selection. The aim of my project is to circumvent such issues with the use of an innovative *in vitro* high throughput screening. We strive to perform an acellular directed evolution of a DD-peptidase, called PBP-A, towards a beta-

lactamase using microfluidic compartmentalization. Beta-lactamases, such as the well-known TEM-1, are able to hydrolyze beta-lactam antibiotics and therefore play a major role in the antibiotic resistance. DD-peptidases, on the other hand, build and remodel the cell wall. DD-peptidases are covalently blocked by beta-lactams, because they are not able to hydrolyze the product after enzyme acylation. Recent results in our group indicate that, when evolving a PBP-A *in vivo*, mutants create problems in the bacteria, most probably due to an interference with the peptidoglycan metabolism. Such interference would be absent in case of an *in vitro* evolution.

The first step is the creation of an error-prone-library of the encoding gene in order to create PBP-A mutants with enhanced beta-lactamase activity. The mutants of the library are then produced by *in vitro* transcription and translation. To identify the best mutants, billions of water-in-oil droplets are created on a microfluidic chip. Magnetic beads that each displayed copies of a monoclonal mutant protein from the library and its DNA are mixed with a fluorogenic cephalosporin substrate and enclosed in those droplets. After incubation, droplets that contain active mutants become fluorescent and can be automatically sorted on the chip. The DNA of positively sorted droplets can be amplified in order to analyze the mutations that result in a change of activity.

---

### ***Metagenomic screen for the identification of novel industrially relevant sulfatases***

---

**Daniel AURIOL - Libragen**

Cyrille Jarrin(1), Alhosna Benjdia(2), Jonathan Ulmer(2), **Daniel Auriol(1)** & Olivier Berteau(2)

(1) Libragen, F-31400 Toulouse, France,

(2) UMR 1319 Micalis, ChemSyBio, F-78350 Jouy-en-Josas, France,

Sulfatases are enzymes catalyzing the hydrolysis of sulfate groups. They can act on a broad diversity of substrates and are thus interesting tools to modify natural products. Indeed, sulfate groups have been shown to be critical for the biological properties of many natural products including pharmaceutical relevant ones such as glycosaminoglycans.

Among hydrolases, sulfatases are unique requiring a post-translational modification of a critical active-site residue. This post-translational modification leads to the formation of an aldehyde function which makes sulfatases difficult to investigate.

In order to increase the repertory of available sulfatases, we have developed the first metagenomic screen targeting this activity. This novel screen based on a fluorescent substrate has been optimized for the high through put screen of large bacterial metagenomic libraries. Among the more than >30,000 clones tested, only clones originating from human associated bacteria proved to exhibit sulfatase activity. The positive clones were further sub-cloned and fully sequenced. One novel sulfatase enzyme was isolated and is being characterized.

We have thus demonstrated that it is possible to screen for sulfatase activity despite the requirement of a post-translational modification. Using this novel screen, we anticipate that we will be able to access novel catalysts useful for industrial applications.

**Eleonora ECHEGARAY - Swisssaustral Biotech SA**

*Chirino, Bernardita, EcheGARAY, Eleonora*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Swisssaustral Biotech SA, Route de L'Ile-aux-Bois 1A, 1870 Monthey (VS) Switzerland.

At Swisssaustral we believe that nature is an incredible source of innovation. Over millions of years, life has evolved and adapted to extreme conditions and enzymes have been the key tool for this successful adaptation.

Swisssaustral Biotech has developed the know-how and the technology to bring the seemingly unattainable world of extremophiles to the market by developing a new research strategy, the “functional + genomic” approach. Highly specialized and targeted, this unique strategy ensures the development of novel biocatalytic solutions for non-standard technological challenges in biotechnology.

Our main asset is the exclusive access to one of the largest private collections of extremophilic microorganisms in the world, administrated by Fundación Biociencia in Chile. The bio-bank has every type of extremophilic groups currently known, such as (hyper)thermophiles, psychrophiles, halophiles, acidophiles, and mixed combinations (poly-extremophiles), and it is in constant expansion by means of new sustainable sampling expeditions. This allows us to research unexplored metabolic pathways as a unique and diverse natural resource for industrial applications.

Our extreme-biotechnology approach consists in applying selective pressures in order to isolate specific cultures according to targeted activities (psychrophiles for cold applications, acidophiles for low pH applications). Then, molecular biology techniques are applied to identify and purify extreme-enzymes, always measuring activity within the original culture. This allows us to apply a targeted genomic approach that aims at translating the unique extremophile characteristics into new recombinant products adapted to the specific operational conditions required by our clients.

High-performance enzymes derived from extremophilic microorganisms, share the same properties present in common enzymes, but they possess a new level of “extreme” features, which make them remarkably valuable for applications in research and industry.

Their “high-performance” features are:

- Performant: optimal activity under extreme conditions of temperature, pH and salt concentration among others.
- Versatile: high activity in a wide range of different substrates, temperatures, pH and salinity, among others.
- Stable: high resistance to proteolysis and organic solvents. Long shelf life, even at room temperature.

Swisssaustral vision of integral sustainable development enables the emergence of novel biocatalytic solutions for non-standard technological challenges in biotechnology.

## **Use of olive recombinant 13-Hydroperoxide Lyase in the biocatalytic process of production of green note compounds**

---

**Sabrina JACOPINI** - Université de Corse CNRS UMR 6134 SPE Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire végétale

*Jacopini S, Mariani M, Vincenti S, Brunini-Bronzini de Caraffa V, Gambotti C, Muselli A, Desjobert JM, Costa J, Maury J, Berti L*

The volatile compounds, responsible for the fresh odor of cut grass known as "green note", have a particularly interest for flavor and food industries. These compounds (hexanal, 3Z-hexenal and 2E-hexenal) are naturally synthesized in higher plants through the lipoxygenase pathway. Lipoxygenases catalyze, first, the oxygenation of linoleic and linolenic acids to form fatty acid hydroperoxides which are then cleaved by hydroperoxide lyase (HPL) to generate short-chain aldehydes and oxoacids. Unfortunately, their amounts are too low to consider their extraction from raw plant, and the processes of production currently used are highly polluting or lead to a low yield. To overcome these drawbacks, the use of recombinant enzymes in such processes constitutes an attractive alternative because they would allow producing these molecules in a more effective way, while benefiting from the "natural" label.

Here, we were interested to the hydroperoxide lyase. We isolated a cDNA encoding for HPL (HPLwt) from black olive fruit, and in order to improve the enzyme solubility, the HPL deleted of its chloroplast transit peptide (HPLdel) was then produced. Both enzymes were expressed into *E.coli* (M15), purified by affinity chromatography, and then characterized. We have showed that both enzymes act exclusively on 13-hydroperoxides at an optimum pH and temperature respectively of 7.5 and 25°C. The evaluation of their kinetic parameters showed that they have a better catalytic efficiency (kcat/Km) on the 13-hydroperoxides of linolenic acid ( $3.68 \text{ s}^{-1} \cdot \mu\text{M}^{-1}$ ) that on 13-hydroperoxides of linoleic acid ( $0.54 \text{ s}^{-1} \cdot \mu\text{M}^{-1}$ ).

We then studied the bioconversion of 13-hydroperoxides of linoleic and linolenic acids in hexanal and 3Z-hexenal respectively, using HPLwt or HPLdel. Reactions were optimized for each enzyme. Conversion yields reach a maximum of 91 % and 42 % for hexanal and 3Z-hexenal productions respectively, when reactions were performed by HPLwt, and only 67 % and 25 % for hexanal and 3Z-hexenal productions when HPLdel was used as catalyst. The low yield obtained for the production of 3Z-hexenal could be due to the underestimation of the amount of 3Z-hexenal due to its high volatility. Our results show that the use of olive recombinant HPL in bioconversion processes is an attractive alternative and that HPLwt is the better catalyst.

---

## **Utilisation des lipases en panification : effets biochimiques et interfaciaux**

---

**Stéphane NERON** - UMR1145 Ingénierie Procédés Aliments, AgroParisTech/Inra/Cnam

*Néron S., Duquenne E., Potus J., Nicolas J.*

La pâte à pain est un enchevêtrement structuré de molécules réparties dans trois phases, liquide, solide et gazeuse, que l'on peut séparer en deux fractions, l'une insoluble dans l'eau (la matrice amidon-gluten) et l'autre hydrosoluble. La phase aqueuse de la pâte (liqueur de pâte « dough liquor ») est obtenue par ultracentrifugation. Elle contient des protéines, des lipides et des arabinoxylanes.

Les lipases sont utilisées en panification française (décret 1993) pour remplacer certains additifs et améliorer les caractéristiques technologiques des pâtes et la qualité du pain. La lipopan FBG, la lipopan 50BG et la panamore sont des auxiliaires technologiques qui hydrolysent les lipides polaires et neutres. Elles libèrent des acides gras polyinsaturés, et constituent ainsi une voie d'activation de la lipoxygénase, enzyme connue pour favoriser la réticulation du réseau protéique de la pâte.

En modifiant les profils lipidique et protéique, ces lipases provoquent-elles des changements de la

composition de la phase aqueuse de la pâte appelée «dough liquor»?

Dans nos conditions opératoires, les effets de l'addition de lipases à des pâtes de farines de blé ont pour conséquences :

- une hydrolyse préférentielle des lipides polaires (de 16 à 39 %) puis des TAG (de 10 à 25 %) et une augmentation des AGL (de 19 à 83 %)
- l'activation de la lipoxygénase de blé (diminution significative des AGPI entre une farine et une pâte)
- une diminution significative de la teneur en protéines de la liqueur de pâte.
- une augmentation surprenante de la quantité totale (LPT + AGL + TAG) de lipides dans la liqueur de pâte.

Le suivi de la consommation d'oxygène au cours du pétrissage, à l'aide d'un pétrin instrumenté étanche développé au laboratoire, le sitoxygraphe, montre une augmentation de la consommation d'oxygène en présence de lipases.

La tension interfaciale d'une bulle d'air dans les dough liquor est de 46,55 mN/m (3600 s) dans une pâte témoin et montre une diminution significative dès la dose de 10 ppm (40,86 mN/m) ajoutée, pour atteindre un minimum (36,15 mN/m) à la dose de 100 ppm ajoutée.

Nous expliquons ces résultats par une réorganisation du contenu protéique et lipidique entre la phase condensée amidon-gluten et la phase aqueuse suite à l'activation de la lipoxygénase de la farine de blé par les différentes lipases.

---

### ***In vivo evolution of phenylpropanoid pathways by homeologous recombination***

**Rudy PANDJAITAN - *Eviagenics***

*Alejandro Luque, Sarra Sebai, Yann Le Coz, Delphine Jenot, Odile Ramaen, Vincent Sauveplane, Rudy Pandjaitan Eviagenics, Villejuif Biopark, 1 mail du Professeur Georges Mathé, 94800 Villejuif France*

The replacement of petrol based manufacturing by fermentative processes is one of the main challenges in the biotechnology field. It requires the efficient assembly and evolution of pathway genes or enzymes that generate production cells with competitive yields. The molecular evolution of metabolic pathways often represents a time and resource consuming obstacle for the commercialisation of a bio-based product/production process.

We describe a rapid and highly efficient method for the assembly, recombination, targeted chromosomal integration and regulated expression of mosaic metabolic pathways by homeologous recombination in DNA repair deficient yeast cells. We have assembled and recombined 23 kb pathways containing all the genes encoding enzymes for the production of flavonoids, a group of plant secondary phenylpropanoid metabolites of nutritional and agricultural value.

The mosaic genes of the pathways resulted from recombination of two non-identical (homeologous) wild-type genes. Recombination events occurred simultaneously in the cell and correct assembly of mosaic gene clusters were observed in DNA repair deficient strains.

Functional libraries of intragenic mosaic pathways were generated. Randomly isolated clones were screened for their ability to produce flavonoids such as naringenin kaempferol and galangin. Further analysis also revealed the production of different other compounds such as styrene, hydroxystyrene and phloretic acid.

We show that our in vivo homeologous recombination strategy can generate libraries of intragenic mosaic pathways producing a high diversity of phenylpropanoid compounds.

*Ref.:*

*Luque A, Sebai SC, Santiago-Schübel B, Le Coz Y, Jenot D, Ramaen O, Sauveplane V, Pandjaitan R. Metab Eng. 2014 May;23:123-35  
Luque A, Sebai SC, Sauveplane V, Ramaen O, Pandjaitan R. Bioengineered 2014; 5/6, 1-9*



---

## **Design of alpha-L-transfucosidases for the synthesis of fucosylated HMOs**

---

**Amélie SAUMONNEAU** - Université de Nantes, UMR-CNRS 6286, Unité Fonctionnalité et Ingénierie des Protéines

**Amélie Saumonneau**<sup>1</sup>, Elise Champion<sup>2</sup>, Johann Hendrickx<sup>1</sup>, Vinh Tran<sup>1</sup>, Gyula Dekany<sup>2</sup> and Charles Tellier<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Université de Nantes, UMR-CNRS 6286, UFIP, 2, rue de la Houssinière, 44322 Nantes cedex 3, France

<sup>2</sup>Glycom A/S, Diplomvej 373, 1 DK-2800 Kgs. Lyngby, Denmark

Human Milk Oligosaccharides (HMOs) are known for their human benefits. Most of these oligosaccharides are fucosylated, demonstrating that fucosylation has important function in human. However, one of the biggest roadblocks in HMOs research remains the limited availability of HMOs resources. In fact, a new source of synthetic fucosylated HMO would allow a better understanding of HMOs role in human health and neonate development.

Hence, the objective of this work is to design transfucosidases from fucosidases to decorate HMOs with fucosyl residues, and allow access to fucosylated HMOs family, which correspond to 50% of HMOs. Two enzymes from the GH29 family were chosen as starting candidates, which could be used as enzymatic tools for in vitro synthesis of fucosylated-oligosaccharides. This work presents a semi-rational approach to design regioselective alpha-L-transfucosidases.

The BiAfcB fucosidase from *Bifidobacterium longum* subsp. *Infantis*, cleaves preferentially alpha(1-3) or alpha(1-4) linkages such as those present respectively in HMO LNFP-II and LNFP-III, but has low transfucosidase properties (17% in presence of fucosyllactose as donor). By introducing two mutations, L321P/F34I, we were able to significantly improve the yield of transglycosylation allowing the synthesis of the LNFP-II and LNFP-III pentasaccharides at a yield of 32%.

The P25-TmFuc transfucosidase (alpha-L-fucosidase mutant from *Thermotoga maritima*) transfers a fucosyl residue in position 3 of the LNT terminal galactose with 2'FL as donor, to form Fuc-alpha?1-3)LNT which is not a HMO. The objective was to change regioselectivity of fucosyl linkage in alpha(1-3) to alpha(1-2) to synthesize LNFP I HMO. All possible conformations of the LNFP-I and Fuc-alpha(1-3)LNT pentasaccharides were docked in the P25-TmFuc active site. Several positions were targeted since they were close to GlcNAc residue (+2 site) of conformers. When the V269L, M55W and P188L mutations were introduced, an almost complete inversion of the regioselectivity led to the formation of LNFP-I at the expense of Fuc-alpha?1-3)LNT.

In conclusion, these engineered transfucosidases provide an efficient way to synthesize a mixture of fucosylated HMOs *in vitro*.

---

### **A novel bioanalytical method to study transthyretin peptidase activity: development of a monolithic bioenzymatic support and application for the research of amyloidogenesis inhibitors**

---

**Claire ANDRE** - UFR SMP

**Claire André**, Lydie Lethier and Yves Claude Guillaume.

Univ Franche-Comté, F-25000 Besançon, France ; EA4662 Nanomedecine/Pôle Chimie Analytique Bioanalytique et Physique, F-25000 Besançon, France ; CHU Besançon, Pôle Pharmaceutique, F- 25000 Besançon, France.

\*Corresponding author. Tel.: + 33-3-81-66-55-44; fax: + 33-3-81-66-56-55.

It has been shown an inverse correlation between transthyretin (TTR) levels in cerebro-spinal fluid (CSF) from Alzheimer's patients and abundance of amyloid deposition. TTR cleaved full length A $\beta$  amyloid peptide, generating smaller peptides with lower amyloidogenic properties. TTR activation could thus represent a novel strategy in AD.

In this work, a novel and simple HPLC bioanalytical system for the analysis of TTR peptidase activity

was thus desirable. For this objective, TTR was immobilized on a porous polymeric monolithic chromatographic support. The activity of the immobilized TTR peptidase with a Mn<sup>2+</sup> inducible site was determined in terms of active units (U) using the fluorescent short length fragment of A $\beta$  from the reaction between the full length fluorescent-labelled A $\beta$ (1-42) (Abs/Em=503/528 nm) with TTR. Entrapment of multi walled carbon nanotubes (MWCNT) in the porous polymeric monolithic structure allowed an efficient separation on the chromatogram between the fluorescent full length A $\beta$ (1-42) and its corresponding fluorescent short length peptidic fragment. The mechanism of TTR catalysis was thus explored by the pH profile of Km/Vmax versus pH which confirmed the role of Lys, Glu and Hist of the TTR active site. This HPLC bioanalytical system was also used to demonstrate, for the first time, that Genistein a phytoestrogen which belonged to the category of isoflavones, a natural product from soy, enhanced TTR peptidase activity and confirmed its interest in AD. This new analysis method is expected to contribute to the progress of TTR investigations and especially for the research of amyloidogenesis inhibitors.

### ***Fonctionnalisation enzymatique du xylose et des xylo-oligosaccharides pour des applications en détergence et en cosmétique***

---

**Caroline REMOND** - *Université de Reims Champagne Ardenne*

*Charlotte Brusa, Marjorie Ochs, Murielle Muzard, Richard Plantier-Royon, Caroline Rémond*

La bioraffinerie vise à valoriser la plante entière pour produire des biocarburants, des synthons et des matériaux. Dans ce contexte, la valorisation des pentoses issus du végétal et plus particulièrement du xylose représente un enjeu important. En effet, les co-produits agricoles tels que les pailles et les sons représentent une source importante de xylanes qui constituent 25 à 35% de la matière sèche. Les xylanes sont des hétéropolymères principalement constitués de résidus xylose (Ebringerova & Heinze, 2000).

Depuis plusieurs années, nous développons des voies enzymatiques et chimio-enzymatiques visant à fonctionnaliser le xylose et les xylo-oligosaccharides pour produire des molécules présentant des propriétés tensio-actives ou biologiques. Pour ce faire, des xylosidases et des xylanases sont mises en œuvre pour catalyser des réactions de transglycosylation ce qui permet non seulement de fractionner les xylanes mais également de les fonctionnaliser.

Diverses voies de synthèse enzymatiques ont été développées pour la production d'alkyl xylosides et oligosides (Muzard et al., 2009; Ochs et al., 2011; Ochs, 2012). Les molécules produites présentent des propriétés tensio-actives comparables à celles de molécules équivalentes produites par voie chimique classique.

Afin de cibler de nouvelles applications pour les molécules à base de xylose, nous nous intéressons à la synthèse de xylosides comportant une partie aglycone hydrophobe. En effet, de telles molécules sont connues pour initier la biosynthèse des glycosaminoglycanes (GAGs), macromolécules qui confèrent à la peau son élasticité et sa résistance et présentent donc un intérêt pour des applications en cosmétique. Nous développons des voies de synthèse enzymatiques et chimio-enzymatiques originales (Brusa et al., 2014) pour disposer d'un large panel de xylosides fonctionnalisés qui sont testés pour leur cytotoxicité et leur capacité à initier la biosynthèse des GAGs.

*L'ensemble de ces travaux sera présenté.*

*Brusa, C., Ochs, M., Remond, C., Muzard, M., Plantier-Royon, R. 2014. Chemoenzymatic synthesis of "click" xylosides and xylobiosides from lignocellulosic biomass. RSC Advances, 4(18), 9330-9338.*

*Ebringerova, A., Heinze, T. 2000. Xylans and xylan derivatives, biopolymers with valuable properties, 1. Macromol Rapid Comm, 21, 542-556.*

*Muzard, M., Aubry, N., Plantier-Royon, R., O'Donohue, M., Remond, C. 2009. Evaluation of the transglycosylation activities of a GH 39 beta-D-xylosidase for the synthesis of xylose-based glycosides. Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic, 58(1-4), 1-5.*

Ochs, M., Muzard, M., Plantier-Royon, R., Estrine, B., Remond, C. 2011. Enzymatic synthesis of alkyl beta-D-xylosides and oligoxylosides from xylans and from hydrothermally pretreated wheat bran. *Green Chemistry*, 13(9), 2380-2388.

Ochs, M., Muzard, M., Plantier-Royon, R., Estrine, B., Rémond, C. 2012. Procédé de préparation de compositions à base de polypentosides. French Patent 2 967 164-A1.

Okayama, M., Kimata, K., Suzuki S. 1973. The influence of p nitrophenyl b-D-xyloside on the synthesis of proteochondroitine sulfate by slices of embryonic chick cartilage. *Journal of Biochemistry*. 74, 1069-1073.

## **Baeyer-Villiger Monoxygenases : A Promising Route to Chiral Enol-lactones and Ene-lactones**

---

**Véronique ALPHAND - Aix Marseille Université CNRS**

*Reignier, T.<sup>1</sup>; Duquesne, K.<sup>1</sup>; **Alphand, V.<sup>1\*</sup>**, Mariage, A.<sup>2</sup>; Petit, J-L.<sup>2</sup>; de Berardinis, V.<sup>2\*</sup>*

<sup>1</sup>. Aix Marseille Université, Centrale Marseille, CNRS, iSm2 UMR 7313, Marseille

<sup>2</sup>. CEA, Genoscope, Université Evry Val d'Essonne, CNRS, UMR Génomique métabolique, Evry

Certaines lactones insaturées, comme les ène-lactones conjuguées ou les énol-lactones, sont des motifs de nombreux produits naturels et des synthons potentiellement intéressants. Leur synthèse, lorsqu'il s'agit de cycle de taille moyenne, n'est pas triviale, des limitations cinétiques ou thermodynamiques rendant les approches classiques (lactonisation ou métathèse) peu efficaces. La voie la plus directe, l'oxydation de Baeyer-Villiger (BV) de cétones  $\alpha,\beta$ -insaturées, ne conduit qu'à l'énol-lactone racémique et souffre de réactions secondaires fréquentes.

Les Baeyer-Villiger monoxygénases (BVMOs) sont des flavoenzymes capables d'insérer stéréospécifiquement un atome du dioxygène dans une cétone pour conduire à un ester ou une lactone, selon un mécanisme similaire à celui des réactions de BV chimiques. Comme les peracides, les BVMOs sont capables d'oxygéner des atomes de soufre, de sélénium, d'azote, de bore et, exceptionnellement, d'époxyder des doubles liaisons. Elles s'en distinguent cependant par leur manque d'activité envers les cétones  $\alpha,\beta$ -insaturées.

Grâce à la combinaison d'un clonage à haut débit et d'un criblage à haut débit, deux nouvelles BVMOs capables de catalyser l'oxydation de cycloalcènonnes substituées et non substituées ont été identifiées.

Parce que les BVMO sont des enzymes fragiles et qu'elles nécessitent du NADPH comme cofacteur, les biotransformations sont généralement réalisées avec des cellules entières de *E. coli* produisant ces enzymes. Malheureusement, ce microorganisme possède une activité énone réductase naturelle. Après avoir rapidement identifiée l'enzyme responsable grâce à des mutants de la collection Keio, nous avons construit une souche-hôte dépourvue de ce gène et donc de réactions secondaires indésirables.

Nous avons montré que ces deux BVMOs sont stéréospécifiques et régiocomplémentaires. Ainsi des énol-lactones (insertion de l'atome d'oxygène entre le groupe carbonyle et la double liaison) ou des ène-lactones (insertion de l'atome d'oxygène de l'autre côté du groupe carbonyle) ont été obtenues de manière efficace en fonction du choix du biocatalyseur.

## ***Catalyse chemo-enzymatique appliquée au glucose pour l'obtention du 5-HMF***

---

**Rénato FROIDEVAUX** - Institut Charles VIOLLETTE - Equipe ProBioGEM

*Remi VINCENT, Fatima Zohra Soraya ZAID, S. DESSET, Sébastien PAUL, Franck DUMEIGNIL, Pascal DHULSTER and Rénato FROIDEVAUX*

Context : In the current context of declining fossil fuels, a major interest is focused on the substitution of petrochemical products by processing bioproducts from renewable raw materials. The bio-based chemical intermediates called "building blocks", leading to a variety of products whose use value is intended to replace petroleum-sourced equivalents, such as bioplastics, biosurfactants, biopesticides... Biomass is particularly attractive because it is the only renewable carbon source used for obtaining chemical intermediates. To exploit the full potential of biomass, bio-refinery concept is now the focus of many studies. The transformation of biomass in these new plants requires the design of new processes and new transformations biological and / or chemical [1].

Aim: We study a hybrid catalyst system for the direct conversion of glucose to 5-hydroxymethylfurfural, a strategic chemical building block for the production of bio-based polyesters. The successive use of an enzyme and a chemical catalyst in two separate reactors is limited by the isomerization step which is highly balanced and allows a maximum yield of 50 % in 5 - HMF [2, 3].

In order to remove these technological barriers we propose to use within the same reactor a supported glucose isomerase and a heterogeneous catalyst. This strategy will convert a portion of the fructose formed in situ and thereby will shift the isomerization equilibrium.

Results: The poster will present the first results obtained in the enzyme approach for obtaining fructose from the glucose isomerization with an immobilized glucose isomerase, specially the physico-chemical parameters (E/S ratio, temperature...) parameters and the influence of ester formation in the isomerization equilibrium shifting.

## ***Conception et étude d'un bioréacteur enzymatiques à membrane pour le traitement d'effluents contenant des micropolluants réfractaires d'origine pharmaceutique***

---

**José SANCHEZ MARCANO** - Institut Européen des Membranes

*M. de Cazes, M.-P. Belleville, J. Sanchez Marciano*

*Institut Européen des Membranes, UMR 5635, cc 047, UM2, 2 Place Eugène Bataillon, 34095, Montpellier cedex 5*

L'objectif de ce travail consiste à développer et optimiser un réacteur enzymatique à membrane permettant d'étudier l'élimination des polluants pharmaceutiques réfractaires présents dans les eaux usées. Pour ce faire, la tétracycline a été choisie comme molécule modèle afin d'étudier la transformation enzymatique des antibiotiques avec une membrane greffée avec la laccase de *Trametes versicolor*. Les résultats expérimentaux de dégradation de la tétracycline dans l'eau et à température ambiante (25°C et pH = 6) avec une quantité équivalente d'enzymes libres ou immobilisées, démontrent que les enzymes immobilisées sur un support membranaire en céramique présentent une meilleure réactivité et stabilité. L'étude des paramètres opératoires du procédé de dégradation a permis d'obtenir les conditions optimales de dégradation. Ce projet de recherche est développé dans le cadre du projet européen ENDETECH du programme Eco-innovation du FP7.

**Pierre LANOS - Roquette**

Le fractionnement des matières premières d'origine agricole, blé, maïs, pomme de terre et pois permet d'accéder à l'amidon qui est à l'origine aujourd'hui d'une large gamme de produits. Il y a 150 ans l'hydrolyse acide de l'amidon permettait de produire les premiers sirops de glucose. L'arrivée des enzymes dans les années 1970 a donné une tout autre dimension à la filière en enrichissant son portefeuille produits : maltodextrines, sirop de maltose, cyclodextrine.

En parcourant les grandes étapes des amidonneries et glucoseries, nous montrerons en quoi et comment les enzymes permettent la trituration du grain et la transformation de l'amidon. Une revue des biocatalyseurs, dont dispose la filière, amylase, glucosidase, transglucosidase, des plus utilisées aux plus anecdotiques sera proposée, ainsi que des exemples d'utilisation et de mise en œuvre industrielle permettront de révéler et d'expliquer la diversité des produits fabriqués.

---

**Regulation of the expression of glycoside hydrolase-encoding genes  
in the industrial fungus *Talaromyces versatilis***

---

**Olivier GUAIS - Adisseo**

*Talaromyces versatilis*, formerly known as *Penicillium funiculosum* is a filamentous fungus that has the capability to secrete a mixture of enzymes that is used as an animal feed additive (Rovabio™) for the enhanced hydrolysis of plant polymers. The genome of *T. versatilis* was sequenced and, following computer-based annotation, a manual curation of the annotation has been initiated with a focus on genes likely to encode glycoside hydrolases, regulators and proteins involved in the secretion pathway. We also undertook a genome-wide transcriptome analysis, using RNA-seq, of *P. funiculosum* exposed to glucose or milled wheat straw (a complex lignocellulosic material). The data revealed that, when the mycelium was incubated on glucose and then transferred to wheat straw, 926 genes were differentially expressed between the two conditions. The genes, whose transcript levels were enhanced in response to lignocellulose, included genes coding for proteins such as swollenins, hydrophobic surface binding proteins and hydrolytic enzymes. Specific focus on genes of interest was undertaken through qPCR analysis. Furthermore, the differential response of key mutants in genes such as *xlnR*, *creA* or *araR* are analysed in order to study their roles in regulating transcription. Our approach provides a global view of the network that regulates the expression of the glycoside hydrolyse-encoding genes and other genes involved in the degradation of plant polymers by *T. versatilis*.

---

**Use of enzymes in winemaking processes**

---

**Patrice PELLERIN - Oenobrand**

*Oenobrand*, Parc Agropolis II, Bât 5, 2196 Bd de la Lironde, CS 34603, 34397 Montpellier Cedex 5, France

Since the first application of pectinases to ease the clarification of grape juices in the early 70's, advanced enological enzymes have been designed to provide a growing number of benefits to the wine industry and became an essential tool in winemaking. Today, enzymes can be used at every stage of modern winemaking processes, though such processes occur in acidic pH (from 2.9 to 4.0); in very diverse conditions of temperatures from cold maceration at 6 °C to thermovinification

treatments at 75 °C; and with processing steps varying from hours to days. To design enzymes products efficient in this variety of conditions, constraints and objectives, enzyme producers can blend fermentation products of *Aspergillus niger* that catalyse the hydrolysis of different polysaccharides extracted from grape berry cell walls or yeasts during winemaking. Recent legislation developments allow them to offer commercial products that contain glycosyl-hydrolases as pectinases, glucanases, glycosidases, cellulases, xylanases, galactanases, arabinases, ...; a wider range than ever before !

Winemakers use enological enzymes for a number of purposes, and examples will be given :

- time savings and process improvement as for instance grape juice settling is done in a few hours or pressing time can be reduced by 30 %;
- Yield improvement : more juice is obtained from crushed grapes;
- Cost reduction : due to energy savings and yield improvement;
- Quality improvement : more quality juices is obtained by draining grapes, more polyphenols and aroma precursors are extracted during grape maceration phases;
- Specific winemaking processes as thermovinification can be applied only when heat stable pectinases are added prior to pressing and filtration.
- Sustainability improvement : due especially to energy savings, and to the fact that less land is used for same wine volume.

Whereas there is an industry consensus on the use of glycosyl-hydrolases, the benefits of two enzyme activities considered as *secondary* are still being discussed by the industry :

- the application of proteases to prevent protein haze remains to be established as native wine proteins are resistant to proteolytic enzymes.
- Cinnamyl-esterase, a secondary activity that can lead to aroma spoilage by vinyl phenols in white wines, can be a source of stable pigments (pyranoanthocyanins) when used in combination with the proper yeast strain in the elaboration of red wines.

Enzymes have a bright future in winemaking, as the knowledge of molecular mechanisms involved in grape transformation into wine allows the design of more efficient and process-specific enological enzymes.

---

### ***Traitements enzymatiques de matrices laitières***

**Jean-Luc SIMON - *Ingredia***

Après avoir présenté en une diapositive la Société Ingredia, un des leaders mondiaux des protéines et peptides laitiers, Jean-Luc SIMON cite 7 exemples de traitements enzymatiques de matières laitières : les phosphopeptides de caséine, le glycomacropeptide, les ingrédients lactose free, la lactoferrine, les peptides bioactifs, les caséines réticulées et enfin les hydrolysats de protéines nutritionnels.

Jean-Luc SIMON détaille particulièrement ces derniers qui constituent une famille très diversifiée par ses procédés de production et de caractérisation et par ses applications en alimentation traditionnelle et en diététique.

***New proteases with high selectivity; two examples of specific product benefits  
in the beer and meat industry***

---

**Cindy GERHARDT** - *DSM innovation*

This presentation will deal with the concept of specific proteolysis. First, an overview of protein processing enzymes will be given, then we will provide a closer look at proteases, and the different types of proteases that exist today.

On the bases on two cases from the food industry we will outline the benefits of specific protein hydrolysis.

First, we will explain how specific hydrolysis of a protein in beer results in functional and nutritional benefits, without affecting taste and foam of the beer.

Second, we will explain how specific hydrolysis can be used for animal protein valorization, capturing protein that is currently not valorized, and turning it into good tasting, functional protein to be used in processed meats or specialty (sports, medical) nutrition.

---

***Vegetable oil degumming assisted with enzymes***

**Ian BENTLEY** - *AB Enzymes GmbH*

*Résumé non parvenu*

**Yann GODFRIN - Erytech**

*ERYTECH Pharma, Lyon, France*

Therapeutic enzymes are often characterized by toxicity and short half-life. Encapsulation into red blood cells offers a new solution to both reduce toxicity and increase half-life since enzymes are active inside the erythrocytes.

The substrates coming from the plasmatic compartment are generally very small and are able to pass through the red cell membrane. Especially, the plasmatic amino acids pass naturally through the red cell membrane thanks to active transporters. Thus, once entering inside the red cells, the substrate is cleaved by the encapsulated enzymes, then inside the red cells.

The membrane of the red cell protects the encapsulated enzyme. Consequently, hypersensitivity reactions – which can decrease the activity and effectiveness of the enzymes – are prevented. In addition, encapsulated enzyme' half-life is increased up to 30 days, corresponding to the red cell' half-life, and then number of injections are greatly reduced.

This technology finds applications in cancer area, encapsulated enzymes able to starve the tumor in substrates which are essential for their development and proliferation. It can be also a great improvement in the enzyme replacement therapy for genetic disease.

ERYTECH Pharma developed and automated the technology of drug encapsulation into red cells. A first product, consisting in L-asparaginase loaded into red cell, is at the end of its clinical development for acute lymphoblastic leukemia and still under clinical evaluation for acute myeloid leukemia and pancreatic carcinoma. Other enzymes are under preclinical development.

---

***Two molecules of pharmaceutical interest made in yeast:  
artemisinic acid and hydrocortisone***

---

**Bruno DUMAS - Sanofi**

In the past twenty years, molecular biology has evolved towards synthetic biology. On the one hand, synthetic chromosome and even synthetic organisms were constructed; on the other hand, challenging pathway engineering projects were achieved. In this presentation, two examples of molecules of pharmaceutical interest will be developed. Namely artemisinine, a traditional potent antimalarial compound and hydrocortisone, a well known immunosuppressor can be made hemi-synthetically or bio-synthetically, respectively in a recombinant *S.cerevisiae*, a well-known organism for industrial scale fermentation. The natural pathway corresponding to these compounds were elegantly transferred into a suitable host and their functions will be compared in their new environments. Artemisinic acid and hydrocortisone are pioneering works in Industrial Synthetic Biology. They open the possibility of making cheaper and greener pharmaceuticals.



**Mirjana GELO-PUJIC - Solvay**

*SOLVAY, Research and Innovation Center Lyon*

The art to make 'impossible' reactions work by using enzymes, the most powerful catalysts on earth is known as biocatalysis. A reaction conducted under mild conditions with high selectivity and efficiency by use of a suitable enzyme has become a standard technology. Enzyme catalyzed processes are gradually replacing chemical processes in many areas of industry.

Solvay has a long history and experience in using biocatalysis, biotransformation and fermentation technologies to make sustainable specialty chemicals including flavors, new polymers, surfactants, dermo-cosmetic active ingredients etc.

Solvay R&I teams develop bio-based processes from screening scale going to development and pilot scale. Pre-formatted and "off-the-shelf" biocatalysts (isolated enzymes and microbial diversity) for a rapid screening of desired enzymatic activity coupled with different analytical techniques are routinely used. An example of application of biocatalysis discussed in the presentation will be the selective de-acetylation in the synthesis of resveratrol derivatives for dermo-cosmetic applications. The second example demonstrated is the production of lysine cyclodeaminase and its use in the synthesis of L-pipecolic acid.

*References:*

*International Journal of Cosmetic Science, 2008, 30, 195.*

*Biochimie, 2007, 89, 591.*

---

### **Contribution des enzymes à la production d'actifs et additifs cosmétiques**

---

**Daniel AURIOL - Libragen - induchem companies**

La contribution des enzymes à l'élaboration d'actifs et additifs cosmétiques est à considérer selon trois points de vue : (1) leur utilisation directe en tant qu'actifs ou additifs, (2) leur mise en œuvre, sous toutes les formes envisageables (des cellules entières aux enzymes isolées, éventuellement immobilisées), dans la préparation de mélanges ou de substances définies présentant des propriétés favorables à la beauté ou au soin de la peau, (3) en tant que cible d'objectivation pour la conception d'ingrédients agissant sur une activité enzymatique définie, qu'elle soit d'origine humaine ou exprimée par le microbiote cutané. Si l'utilisation directe d'enzymes comme actifs ou additifs reste limitée, la conception et l'exploitation de substances visant à moduler l'expression ou l'activité des enzymes sécrétées ou excrétées par les cellules cutanées, parfois par le microbiote cutané, est quant à elle communément rencontrée chez les producteurs de matières premières et de produits finis.

Les avancées récentes dans la compréhension du mode de fonctionnement des enzymes et dans la découverte de moyens de modulation de leurs propriétés font qu'aujourd'hui la biocatalyse appliquée, c'est-à-dire la réalisation de transformations effectuées par des enzymes ou des cellules dormantes dans des bioréacteurs, est considérée comme une partie du répertoire général des méthodes de transformation chimique utilisables pour la production de biens et de services dans les domaines de l'alimentation et de la santé notamment mais aussi dans celui du bien-être ou de la cosmétique. Il est cependant à souligner que la technologie enzymatique ne peut être considérée comme supérieure aux techniques de transformation chimique en général et que le choix d'une approche enzymatique doit être justifié par des arguments techniques et commerciaux objectifs, la seule volonté d'introduire une différence technique, lorsque d'autres moyens d'obtention existent, ne suffisant généralement pas.

Après avoir rappelé les principales étapes du cycle de la biocatalyse appliquée, illustré à l'aide

d'exemples généraux et d'indicateurs sélectionnés le domaine de la biocatalyse appliquée, des exemples de produits/procédés concernant le secteur de la cosmétique seront exposés. En particulier, la biocatalyse appliquée aux ingrédients cosmétiques sera discutée en référence aux concepts de chimie verte.

S'attachant depuis maintenant plus de 10 ans à valoriser la ressource microbienne par le développement de processus de production de substances d'intérêt, libragen s'est construite sur deux plates-formes technologiques : la première visant à la découverte d'enzymes, notamment par l'exploitation de techniques de métagénomique propriétaires, la seconde visant à la conception et au développement de procédés enzymatiques. Cette seconde plate-forme a conduit à la mise en place de deux nouvelles plates-formes, l'une dédiée à la glycosylation enzymatique de substances naturelles ou synthétiques, l'autre à la phosphorylation enzymatique de sucres, de glycosides et de polyols. Un exemple de production de polyphénol glucosylé utilisé en cosmétique sera décrit et l'éventail des outils de glyco-bio-technologies développés et appliqués par libragen pour la fonctionnalisation de substances d'intérêt, en particulier mais pas uniquement pour l'industrie cosmétique, sera présenté.

En conclusion, à la lumière de l'expérience acquise dans la conception et le développement de procédés enzymatiques, la situation perçue de l'utilisation des enzymes pour l'obtention de matières utilisables notamment mais pas uniquement en cosmétique, sera commentée.

---

### ***Engineering of *Escherichia coli* for the production of 1,2-propanediol***

**Philippe SOUCAILLE** - *MEtabolic Explorer*

1,2-propanediol or propylene glycol is a bulk chemical with an annual market of 1.7 million tons worth \$ 2.2 billion. It is used in unsaturated polyester resins, de-icing and antifreeze liquids and personal care products. Currently the molecule is produced by a chemical process relying on crude-oil derived propylene as a raw material. As an alternative to the chemical process, we have developed a biological process for the conversion of sugars to 1,2-propanediol at high yield. For this purpose *E. coli* was initially engineered for the co-production of 1,2-propanediol and acetate and the strain was optimized by evolution. The evolved strain was characterized physiologically and genetically and the terminal biosynthesis pathway of 1,2-propanediol was elucidated. Molecular and biochemical characterization of the corresponding evolved enzymes showed that the kinetic properties are in agreement with the physiological properties of the evolved strain. In a rational approach integrating the evolved enzymes an industrial strain was constructed that served for the development of a fermentation process at pilot scale. This strain was then modified for the utilization of sucrose. The resulting strain produced 1,2-propanediol with higher titer, yield and productivity offering a sustainable production process for this bulk chemical.

---

### ***C1 enzymes, turning waste in wealth***

**André KLAASSEN** - *Dyadic International*

Dyadic Netherlands ([www.dyadic.nl](http://www.dyadic.nl)), a full subsidiary of Dyadic International Inc., USA ([www.dyadic.com](http://www.dyadic.com)), is a Dutch biotechnology company that develops and commercializes fungal micro-organisms and processes for the production of enzymes. Our activities have been particularly focused on the sacchrification of abundant agricultural waste streams such as corn stover and wheat straw using dedicated cellulolytic and hemicellulolytic enzyme cocktails. More recently, we are also developing enzymatic processes for the valorization of other waste streams. For example, in the USA

27,4 billion diapers are disposed yearly, which constitutes 2-5% our urban solid waste production. These diapers contain up to 40% cellulose, which can be converted enzymatically into 2<sup>nd</sup> generation bioethanol to replace fossil fuels or into biochemicals. Thereby it is possible to reduce urban waste while creating value. Chitin is another waste product with a large valorization potential, which remains after the processing of sea food. Instead of disposing of it, chitin can be enzymatically converted into glucosamine, which can be used as monomer for polyamide polymers. Sewage sludge can also be converted enzymatically to produce bioenergy. Although it might look unattractive, it contains a lot of lipids and carbohydrates, which can be converted into biogas or bioethanol. In fact sometimes more ethanol can be obtained per ton of sewage sludge than corn stover, highlighting the potential of such waste streams.

Thanks to Dyadic's enzymes waste can be turned into wealth today.

DYADIC INTERNATIONAL INC.

Nieuwe Kanaal 7s

6709 PA Wageningen

The Netherlands

+31 654 317031 Cellular

aklaassen@dyadic.nl

---

### ***Solutions enzymatiques innovantes pour la production d'éthanol 1G***

**Sylvain LAPERCHE - Novozymes**

Novozymes souhaite faire part des avantages en termes de rendement, d'économies d'énergie et pour l'extraction d'huile de maïs de leurs toutes dernières innovations pour les biocarburants de première génération: Novozymes<sup>®</sup> 50197, Spirizyme<sup>®</sup> Achieve, et Olexa<sup>®</sup>. Ces produits aident les producteurs d'éthanol à obtenir des rendements plus élevés lors de la conversion de la biomasse en éthanol et en huile de maïs. Ils permettent aussi d'obtenir un rendement et une efficacité plus élevés, et de réaliser de plus grandes économies d'énergie.

Novozymes « new Yield-Discovery Solutions » :

Novozymes<sup>®</sup> 50197 - Cette nouvelle technologie est un fer de lance pour la liquéfaction – Performance avancée pour l'hydrolyse enzymatique de l'amidon

Spirizyme<sup>®</sup> Achieve : La première glucoamylase du secteur dégradant les fibres – Performance avancée dans l'extraction de l'amidon branché à des fibres

Olexa<sup>®</sup> : La première enzyme spécialement conçue pour l'extraction d'huile et le rendement d'éthanol - Performance avancée pour l'hydrolyse des liaisons peptidiques liées à l'huile

---

### ***Développement de bioprocédés dédiés à la fin de vie des matières plastiques***

**Alain MARTY - Carbios**

Thanaplast Project: Reinventing Polymer Lifecycle

The ambition of this project, which is led by the young innovative company Carbios and receives funding within the framework of an OSEO project, is to develop industrial biological processes in order to significantly improve the environmental and economic performance of the life cycle of a target polymer. Among the innovations that are anticipated in this project, figure (i) the development of a system to program the self-destruction of single-use plastics (e.g. agricultural mulch bags); (ii) unlimited recycling of plastic waste, using a biological process for the recovery of plastic-based

components, identical to those of oil-based products; (iii) the development of competitive biosourced polymers. To improve the economics of polylactic acid (PLA), microbial cell factories are engineered for the bioconversion of renewable resources with low cost and with no food use.

The project is a large-scale cooperative project involving six partners, including INSA (LISBP) and INRA - as part of Toulouse White Biotechnology, CNRS, the University of Poitiers, Deinove S.A (a French SME), and the Barbier and Limagrain industrial groups.

The first enzymatic process for PLA recycling into lactic acid will be presented in more details.

---

### ***Développement de cocktails d'enzymes pour l'hydrolyse de la biomasse lignocellulosique***

**Antoine MARGEOT** - *IFP Energies Nouvelles*

Lignocellulosic biomass is the largest reservoir of renewable carbon sources on Earth. Cellulose and hemicellulose are its most readily usable components for generation of biofuels and other biorefinery products that could replace, at least in part, their fossil fuel counterparts. As the plant cell-wall is a protective structure, cost-effective depolymerisation of cellulose and hemicellulose into fermentable sugars is an industrial challenge. Enzymatic hydrolysis is preferred for this task as it generates no unwanted by-products and is more environment-friendly. However it still represents a significant cost for those industrial processes in which final value of the product is low, such as ethanol.

IFP Energies Nouvelles is a French public institute which has been involved in the development of biofuel production processes since the 80's. In the field of cellulolytic enzymes, a high enzyme producer *Trichoderma reesei* fungal strain was developed, as well as an efficient industrial production process.

The renewed interest in biofuels and bio-based chemicals, as well as opportunities offered by progresses made in biotechnology allowed several other breakthroughs during the last decade. Notably, IFPEN is involved in the Futurol project, a French collaborative project that aims to develop an integrated cellulosic biomass-to-ethanol process. Among the project highlights, on-site enzyme production gives the opportunity to lower production costs by process integration and to conceive tailored enzyme cocktails.

This talk will present some of the results obtained by IFPEN and its partners in their efforts to cut down the cost of enzymatic hydrolysis in a biorefinery context., including progresses made in domains such as enzymatic engineering, biodiversity screening, fermentation process design and -omics biology for strain engineering.

---

### ***The role of modern industrial biotechnology in the Biobased economy***

**Theo VERLEUN** - *DSM Bio-based Products & Services B.V.*

What would be the motivation to step in and be an active player in the arena of Biotechnology (enzymes) use in the Biobased economy? Several crucial questions will be addressed like; Can biomass be a solution?, Will there be enough biomass? And how do we need to work together to address the issues. Two real world examples will be presented where enzymes are used to help to make products. Will guide all through some basic enzymology in a non-boring way. Which enzymes can/will help us to fix a part of the biotech industrial solutions? And how do they work? Followed by some practical examples as applied for the biogas sector.

## ***Development of artificial enzymatic cascades for the in vivo production of light olefins***

---

**Macha ANISSIMOVA** - *Global Bioenergies*

*Head of Discovery, Global Bioenergies, Evry, France*

As of today, most bioproduction processes are based on enhancing metabolic pathways naturally existing in microorganisms.

Light olefins (ethylene, propylene, linear butylene, isobutylene, butadiene..) are currently obtained from fossil oil. They are the principal building blocks of the chemical industry, representing each an existing multi-billion dollar market. Light olefins are not produced by microorganisms and no direct bioprocess to produce these molecules industrially from natural resources has been developed so far.

Global Bioenergies (listed on the Alternext stockmarket) has been founded in 2008 to develop new metabolic pathways for the direct biological production of light olefins from renewable resources. "Direct" refers to the fact that the product secreted by the micro-organism is the light olefin itself, and not an alcohol such as ethanol or isobutanol or butanediol which are water-soluble and hence soluble in the production medium.

At room temperature and hence in the production reactor, light olefins are gaseous and therefore spontaneously volatilize from the fermentation medium, entailing two major advantages compared to liquid fermentation products:

- The gas does not accumulate in the reaction chamber and thereby does not reach concentrations slowing down or inhibiting the microorganism's production. Ethanol for example becomes toxic for yeast at concentrations slightly over 10%.
- The purification process is considerably easier and cheaper since no energy consuming methods such as distillation or phase separation are necessary to purify the end product.

The company initially focused its efforts on the production of isobutene, one of the most important petrochemical building blocks that can be converted into fuels, plastics, organic glass and elastomers. Global Bioenergies continues to improve the yield of its process and scale-up of the process towards industrialization is in progress.

The company then replicated this success to propylene and butadiene and is also looking to continue with other members of the gaseous olefins family, key molecules at the heart of petrochemical industry.

## ***Integrated science and collaboration brings innovation***

---

**Gilles MUR** - *DuPont Industrial Biosciences*

The theory of evolution, the discovery of the double helix, nuclear fission, the Internet are all born out of collaboration. At DuPont, we believe in the power of collaboration. And it's through this that we've been able to create world-changing products like Kevlar®, Teflon® and nylon.

Our textiles team at DuPont Industrial Biosciences worked with chemical manufacturer Huntsman to develop Gentle Power Bleach™, using our innovative PrimaGreen® EcoWhite technology. By significantly reducing water and energy usage, this unique enzymatic bleaching system is driving substantial efficiencies in cotton textile production.

In the detergent industry, the biggest single revolutionary trend of the last decades has been the use of enzymes. Enzymes enable the development of detergents that will deliver the highest level of performance while reducing the impact on our planet's natural resources. The top three criteria that make detergents "green" for consumers across all regions are further integration of biobased

ingredients, enabling shorter cycles and lower temperature washing. 75% of the product life cycle impact in detergents is in the consumer “in-use” phase.

Driving sustainability requires technology innovation but also consumer behavioral change. We put our Welcome to the Global Collaboratory™ approach into practice through an internal campaign across our European teams to drive lasting change for washing laundry at lower temperatures and to identify the hurdles to this behavioral change.

At the heart of our innovation are consumers. each product is designed to answer their needs, and we continue to work with partners to monitor current consumer lifestyles, habits and preferences worldwide.

### Enzymes pour l'ingénierie d'exopolysaccharides bactériens

Christine DELBARRE-LADRAT - Ifremer

Christine DELBARRE-LADRAT, Véronique VERREZ-BAGNIS, Sylvia COLLIEC-JOUAULT

Ifremer, Centre Atlantique, EM3B « Ecosystèmes Microbiens et Molécules Marines pour les Biotechnologies », Rue de l'Île d'Yeu, BP21105, 44311 Nantes Cedex 3, France

La biodiversité marine, encore sous-explorée et sous-exploitée, est une source prometteuse pour la découverte de biomolécules et de biocatalyseurs innovants. Nous nous intéressons aux glycopolymères ayant une activité biologique intéressant le domaine de la santé humaine. Ces polysaccharides font partie de la classe des glycosaminoglycanes caractérisés par des propriétés anioniques (présence de groupes hydroxyles et carboxyles) ainsi qu'une masse moléculaire élevée. Certains sont également sulfatés, un groupement fonctionnel particulièrement important pour des activités biologiques similaires à celles de l'héparine. Plusieurs bactéries marines appartenant aux genres *Vibrio*, *Alteromonas*, et *Pseudoalteromonas*, ont été décrites pour la production de ces polysaccharides dont les structures innovantes ont été établies. Des enzymes actives sur des composés glycosylés peuvent également être isolées de ces bactéries et sont des outils biotechnologiques indispensables pour la modification ciblée de polysaccharides ou oligosaccharides (Glycoside hydrolases et lyases, Glycosyltransférases, N-désacétylases, Sulfotransférases).

Nous utilisons différentes stratégies pour étudier ces enzymes en parallèle du polysaccharide : (i) criblage d'activité enzymatique sur des enzymes commerciales, des microorganismes, des extraits enzymatiques, (ii) étude génomique avec clonage et expression des gènes potentiellement intéressants. Ces études nécessitent parfois le développement de méthodes de criblage et de mesures d'activité, c'est le cas des sulfotransférases qui utilisent un co-facteur donneur de sulfate onéreux, le PAPS (3'-phosphoadenosine 5'-phosphosulfate). Par ailleurs, des travaux sont également menés sur les mécanismes de biosynthèse des polysaccharides ; ceci peut permettre une meilleure identification des enzymes et de leur spécificité.

### Lactococcus lactis, a new bacterial factory for functional expression of membrane proteins

Annie FRELET-BARRAND - CEA Saclay/iBiTec-S/SB2SM UMR 8221/LSOD

Annie FRELET-BARRAND<sup>1</sup>; Sana BAKARI<sup>1</sup>; Stéphane ORLOWSKI<sup>1</sup>; François ANDRÉ<sup>1</sup>; Daphné SEIGNEURIN-BERNY<sup>2</sup>; Norbert ROLLAND<sup>2</sup>; Danièle WERCK-REICHHART<sup>3</sup>

1 Laboratoire Stress Oxydant et Détoxication, CEA Saclay, iBiTec-S/SB2SM UMR 8221 CNRS, F-91191 Gif-sur-Yvette

2 Laboratoire de Physiologie Cellulaire et Végétale, CNRS/Univ. Grenoble Alpes/CEA/INRA, iRTSV, F-38054 Grenoble

3 Institut de Biologie Moléculaire des Plantes, UPR 2357 du CNRS, IBMP, Strasbourg – France

annie.barrand-frelet@cea.fr

In spite of the functional and biotechnological importance of membrane proteins, their study

remains difficult due to their hydrophobicity and relatively low abundance in the cells. Moreover, in the well-known heterologous systems, these proteins are often produced at very low rates, often toxic and/or not correctly folded. In the last decade, *Lactococcus lactis*, a Gram-positive lactic bacterium, proved to be a valuable alternative system for functional expression of MPs. This bacterium, traditionally used in food fermentation, is now largely used in biotechnology for large-scale production of functional prokaryotic and eukaryotic MPs from diverse origins and functions. Initially, several yeast mitochondrial carriers were successfully expressed in a functional state. Then, both prokaryotic and eukaryotic ABC transporters could be expressed and characterized in their structural and functional manner. More recently, four chloroplast MPs of *Arabidopsis thaliana* tested could be produced at levels compatible with further biochemical analyses (1,2) and several proteins were active (1,3). Interestingly, few human proteins, including some enzymes involved in the detoxification process, were expressed in active forms in this system (4, unpublished data). These recent data suggest that *L. lactis* can be an attractive system for effective and functional production of difficult membrane proteins, including enzymes.

1) Frelet-Barrand A et al. (2010) *PLoS ONE*. 5(1): e8746

2) Bernaudat F et al. (2011) *PLoS ONE*. 6(12): e29191

3) Catty P et al. (2011) *J. Biol. Chem.* 42: 36188–36197

4) Bakari S et al. (2014). Springer chapter book "Membrane Proteins Production for Structural Analysis". Springer, New-York, USA, 2014, Chapter 5. pp 107-132

---

## POSTER #16 SESSION 1

### Directed evolution in droplets: towards the acellular birth of a beta-lactamase

Julia WESSEL - *Catholic University of Louvain (UCL) (voir page 20)*

---

## POSTER #30 SESSION 1

### Metagenomic screen for the identification of novel industrially relevant sulfatases

Daniel AURIOL – *Libragen (voir page 21)*

---

## POSTER #32 SESSION 1

### Extreme enzymes development

Eleonora ECHEGARAY - *Swissaustral Biotech SA (voir page 22)*



## The human ileo-mucosal microbiota: a first actor in dietary fiber degradation as evidenced by a functional metagenomic screening.

Orlane PATRASCU - INRA Micalis

Orlane Patrascu, Fabienne Béguet-Crespel, Emmanuelle le Chatelier, Marine Plestan, Audrey Boniface-Guiraud, Florence Blon, Ludovica Marinelli, Joël Doré, Christel Béra-Maillet.

INRA, UMR1319 Micalis, Functionality of the Intestinal Ecosystem team, F-78350 Jouy-en-Josas, France

The human gut microbiota is a complex anaerobic ecosystem which is involved in a profusion of functions maintaining homeostasis in the gastrointestinal tract (GIT) such as the metabolism of dietary fibers. Microbial fermentation of plant storage glycans and plant cell wall polysaccharides provide human health benefits, whereas dysbiosis in microbial biodiversity and reduction of gene richness are correlated with metabolic or inflammatory diseases (1).

Despite extensive cultural (2, 3) and recent metagenomic studies of the human gut microbiota (1), the fibrolytic community of the GIT is still misunderstood regarding the organization and properties of their enzymatic systems dedicated to the breakdown of plant cell wall glycans. These glycoside hydrolases (GH) are however enzymes of major interest for biotechnologies and for human health as biomarkers of intestinal diseases considering their preponderance in individuals.

Here, we focused on the microbiota from the small intestine, and particularly on the ileo-mucosal microorganisms to examine their capabilities to degrade polysaccharides from the dietary fibers. A functional metagenomic screening of a large insert metagenomic library highlighted glycoside hydrolase activities regarding several types of purified polysaccharides (from cellulose and hemicelluloses). This allowed the identification of almost 15 different GH families in bioactive metagenomic clones including highly active enzymes, as well as genes encoding proteins involved in the fixation and transport of oligosaccharides, and genes of unknown function.

Several GH genes were subcloned and the characteristics of the enzymes analyzed.

1. Le Chatelier et al. (2013). *Nature*. 500:541-546.

2. Chassard, C et al (2007) *FEMS Microbiol Ecol*. 61,121-131

3. Mirande, C., et al (2010) *J Appl Microbiol*. 109, 451-460

## Expanding the diversity of diketopiperazines biosynthesized by cyclodipeptide synthases

Isabelle JACQUES - CEA/DSV/iBiTecs-S/LTMB

Isabelle Jacques<sup>1</sup>, Mireille Moutiez<sup>1</sup>, Jerzy Witwinowski<sup>2</sup>, Jérôme Seguin<sup>1</sup>, Emmanuel Favry<sup>1</sup>, Robert Thai<sup>1</sup>, Jean-Luc Pernodet<sup>2</sup>, Muriel Gondry<sup>1</sup>, and Pascal Belin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> - CEA, iBiTec-S, Service d'Ingénierie Moléculaire des Protéines, F-91191 Gif-sur-Yvette, France

<sup>2</sup> - Université Paris-Sud 11, CNRS, UMR8621, Institut de Génétique et Microbiologie, F-91405 Orsay, France

Cyclodipeptides and more complex diketopiperazines (DKPs) are secondary metabolites mostly synthesized by microorganisms. They are well known for their wide range of noteworthy biological activities including antibacterial, antifungal, antiviral and anticancer effects<sup>1</sup>. In the last decade, an important effort has been made to elucidate the biosynthesis pathways of these compounds. Our

group and others characterized five novel pathways<sup>2–4</sup> that are dependent on cyclodipeptide synthases (CDPSs)<sup>5–8</sup>, enzymes that catalyze the formation of the DKP scaffold by condensing two aminoacyl-tRNAs. Herein, I will describe our medium-high throughput method to characterize 49 putative CDPSs identified by bioinformatics. Our work confirms thereby 41 new CDPSs and reveals a large variety of produced cyclodipeptides. This study opens the ways to a future characterization of the CDPS-dependent pathways, enabling combinatorial biosynthesis to produce unnatural natural DKPs.

Borthwick, A. D. *2,5-Diketopiperazines: Synthesis, Reactions, Medicinal Chemistry, and Bioactive Natural Products*. *Chem. Rev.* 112, 3641–3716 (2012).

Belin, P. et al. *The nonribosomal synthesis of diketopiperazines in tRNA-dependent cyclodipeptide synthase pathways*. *Nat Prod Rep* 29, 961–979 (2012).

Giessen, T. W., von Tesmar, A. M. & Marahiel, M. A. *Insights into the Generation of Structural Diversity in a tRNA-Dependent Pathway for Highly Modified Bioactive Cyclic Dipeptides*. *Chem. Biol.* 20, 828–838 (2013).

Giessen, T. W., von Tesmar, A. M. & Marahiel, M. A. *A tRNA-Dependent Two-Enzyme Pathway for the Generation of Singly and Doubly Methylated Dityryptophan 2,5-Diketopiperazines*. *Biochemistry* 52, 4274–4283 (2013).

Gondry, M. et al. *Cyclodipeptide synthases are a family of tRNA-dependent peptide bond-forming enzymes*. *Nat. Chem. Biol.* 5, 414–420 (2009).

Seguin, J. et al. *Nonribosomal Peptide Synthesis in Animals: The Cyclodipeptide Synthase of Nematostella*. *Chemistry & Biology* 18, 1362–1368 (2011).

Moutiez, M. et al. *Specificity determinants for the two tRNA substrates of the cyclodipeptide thase AlbC from Streptomyces noursei*. *Nucleic Acids Res* 42, 7247–7258 (2014).

Moutiez, M. et al. *Unravelling the mechanism of non-ribosomal peptide synthesis by cyclodipeptide synthases*. *Nat. Commun* 5, 5141, doi: 10.1038/ncomms6141 (2014).

---

## POSTER #36 SESSION 1

### Droplet-based microfluidic applied to enzymatic analysis and screening of fungi

Thomas BENEYTON - *Laboratoire de Biochimie, ESPCI*

Najah<sup>1</sup>, M.; Beneyton<sup>2</sup>, T.; Mahendra-Wijaya<sup>1</sup>, P.; Calbrix<sup>2</sup>, R.; Mayot<sup>1</sup>, E.; Postros<sup>1</sup>, P.; Leblond<sup>1</sup>, P.; Couvent<sup>1</sup>, A.; Roch<sup>1</sup>, N.; Griffiths<sup>2</sup>, AD & Drevelle<sup>1</sup>, A.

<sup>1</sup> Ets J. Soufflet, Division Biotechnologies, quai Sarrail 10400 Nogent-sur-Seine.

<sup>2</sup> Laboratoire de biochimie, ESPCI-ParisTech, 10 rue Vauquelin, 75005 Paris.

Droplet-based microfluidic or digital microfluidic consists in controlling droplets dispersed in an oil phase (water/oil emulsion) within microfluidic channels. Each droplet is used as an independent microreactor with a very small volume (20 pl to 20 nl). Individual operations on droplets are performed in elementary modules in a high-throughput manner (1000 droplets per second, which is ~1000-times faster than existing HTS technologies). The modules allow droplet production, droplet pair fusion, incubation, fluorescent detection, and fluorescent-activated sorting of the droplets[1]. These modules can be integrated to allow complex operations to be performed, including the high-throughput screening of micro-organisms in droplets. In a single experiment, we can reliably encapsulate millions of micro-organisms in droplets (single organisms in each droplet) and measure their individual enzymatic activities.

This technology allows the analysis of enzymatic activities produced by microorganisms or the selection of the most efficient organisms among a population of variants[2].

We present here the development and application of droplet-based microfluidic to the analysis and screening of microbial enzymatic activities. We developed: new fluorogenic substrates[3] for various glycosidase suitable for microfluidic experiments and new microfluidic devices family dedicated to bacteria or fungi screening. We used these tools to screen cellulolytic bacteria extracted from soil

sample[4] and library of *Aspergillus niger* mutants for acid amylase production[5].

[1] J.-C. Baret et al. (2009). Fluorescence-activated droplet sorting (FADS): efficient microfluidic cell sorting based on enzymatic activity. *Lab Chip*, 9, 1850-1858.

[2] J.J. Agresti et al. (2010). Ultra-high-throughput screening in drop-based microfluidics for directed evolution of peroxidases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 107, 4004-4009.

[3] M. Najah et al. (2013). New glycosidase substrates for droplet-based microfluidics screening. *Anal. Chem.*, 85, 9807-9814.

[4] M. Najah et al. (2014). Ultrahigh-throughput bioprospection of cellulolytic microorganisms using droplet-based microfluidics. Submitted.

[5] T. Beneyton et al. (2014). Nanoliter Droplet-Based Microfluidics : Application to High-Throughput Screening of Filamentous Fungi for Industrial Enzyme Production. Under preparation.

This work was funded by BPI France and Ets J. Soufflet.

---

## POSTER #37 SESSION 1

### Activity Fed Translation Assay “AFT”, a new in vitro detection strategy for enzymes in droplets

**Gabrielle WORONOFF** - *Laboratoire de biochimie, ESPCI*

*Gabrielle Woronoff, Michaël Ryckelynck, Olivier Schike, Andrew D. Griffiths, Patrice Soumllion*

*Laboratoire de Biochimie, ESPCI, 10 rue Vauquelin, 75005 Paris, France*

*Institute of Life Sciences & Institute of Condensed Matter and Nanosciences, Université Catholique de Louvain*

*ISIS Université de Strasbourg*

Droplets-based microfluidic technology enables the handling of a multitude of reactions with drastic reduction in reaction volumes compared to classical techniques. There is an increasing demand for the development of sensitive enzymatic assays compatible with such microfluidic systems. Here we describe an original enzymatic assay called “AFT” for Activity Fed Translation, well adapted to microvolume formats. The enzymatic activity converts a substrate into an amino acid which is required for both the in vitro translation of the enzyme and of a reporter gene, here penicillin acylase (PAC) and green fluorescent protein (GFP), respectively. The autocatalytic cycle resulting from coupling of PAC activity to translation renders the system highly sensitive: by combining in vitro transcription of PAC and GFP genes with an AFT assay, we were able to detect droplets containing a single PAC gene by monitoring GFP fluorescence. It was also possible to further increase the sensitivity of the assay by using PCR to pre-amplify genes in droplets. Both the kinetics of GFP production and the final GFP concentration in the plateau correlated with the efficiency of the enzyme tested, allowing a simple end-point read out. Moreover, varying the concentration of the reporter gene enabled fine tuning of the assay kinetics. This strategy is potentially applicable for any enzymatic activity that can be coupled to the production of an amino acid.

---

## POSTER #19 SESSION 2

### CAD4Bio - high-throughput genomic design software for molecular cloning

**François RECHENMANN** - *CAD4Bio SAS*

*Dr. Sylvie Chenavas, Cyril Perot, Dr. François Rechenmann*

High-throughput optimization of expression systems and bioproduction microbial strains implies designing genomic constructs which incorporate multiple alternatives: typically, a gene with several harmonized coding sequences to best match the codon usage of the target organism preceded by several hypothetically strong promoters and efficient RBSs. The resulting combinatorial combination

of these variants can mean tens—or thousands—of different constructs and clones to build and test. Automated lab systems are the only way to cope with the sheer number of tasks this creates.

CAD4Bio software has been developed specifically to address this problem, serving as a valuable technological enabler for biotech laboratories planning to migrate to high-throughput strain engineering, and a source of increased productivity for those already using high-throughput techniques.

CAD4Bio software is a crucial link in the automated high-throughput genomic design process. Its simple and intuitive graphical interface allows users to focus on designing their constructs, which can include multiple alternative bricks at a same location. CAD4Bio supports a wide range of cloning methods—from the classical restriction-ligation to Gibson assembly, In Fusion, and LCR—particularly suited to high-throughput strategies. The algorithms embedded in the software compute the optimal set of primers and oligonucleotides required for the gene synthesis and the assembly phase. The cloning plan is generated either for bench work or for liquid-handling robots. For bench work, the cloning plan can be displayed on a tablet or other mobile support and interactively edited according to its actual execution on the bench. For liquid-handling devices, the software is interfaced with the robot and provides the required files, including plate layouts.

As a collaborative work environment, CAD4Bio enables selective sharing of the constructs and all their components between connected users. And, to ensure a high degree of traceability, the constructs are saved in the integrated database and every user action is automatically recorded.

The CAD4Bio team can provide labs with targeted scientific and technical recommendations to help them get more out of their high-throughput workflows.

---

## POSTER #21 SESSION 2

### **Use of olive recombinant 13-Hydroperoxide Lyase in the biocatalytic process of production of green note compounds**

**Sabrina JACOPINI** - *Université de Corse CNRS UMR 6134 SPE Laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire végétale (voir page 23)*

---

## POSTER #27 SESSION 2

### **Directed evolution of a dimeric enzyme expressed from a chromosomal gene**

**Olivier BOX** - *UCL - ISV - Unité BBGM*

*Box O., Hols P., Soumillon P.*

We would like to evaluate the potential of *Streptococcus thermophilus* as a host for the directed evolution of proteins encoded by chromosomal genes by taking advantage of the efficient natural competence of this bacterium (capacity of uptake of environmental DNA and its integration into the chromosome by homologous recombination). In comparison to classical methods of directed evolution using high-copy plasmids as expression vectors of the protein of interest, an expression from a chromosomal gene may allow the emergence of protein with very high activity.

The gene selected as the starting point for this project encodes for the isocitrate dehydrogenase (IDH) of *S. thermophilus*. We would like to use this homo-dimeric enzyme to assess its evolving potential toward an isopropylmalate dehydrogenase (IPMDH) activity *in vivo*. IPMDH is a IDH

homologue that is essential for the synthesis of leucine.

The strain that we constructed for these experiments is deleted for the *ipmdh* gene and leucine auxotroph. Moreover, a cassette containing a resistance gene for kanamycine and the *rpsL* gene from *S. pneumonia* replaces the wild type *idh* gene. A mutation is also introduced in the WT *rpsL* gene of *S. thermophilus* so that it provides a resistance to streptomycine but only in the absence of the dominant version of *rpsL* from *S. pneumoniae*. We can then easily select the insertion of a mutated version of *idh* in its own original locus as it will result in the restoration of the resistance to streptomycine. The selection for mutants endowed with IPMDH activity is then performed on a chemically defined medium deprived of leucine. The comparison of the results obtained between strains containing or not an additional *idh* gene cloned in the *ipmdh* locus will allow to evaluate the impact of gene duplication on the evolvability of the enzyme notably by telling us if chaperoning effects through heterodimerization is advantageous.

POSTER #31 SESSION 2

## A tandem duplication in the Omega-loop of class A beta-lactamase : a key event in the emergence of catalytic activity ?

Gilles JOACHIM - *Université catholique de Louvain*

Joachim G<sup>1</sup>, Soumillon P<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Life Science, UCL, Louvain-La-Neuve, Belgium*

Keywords: evolution, tandem duplication, omega-loop, beta-lactamase

In the field of protein evolution, short insertions and deletions seem to play a very important role (Janssen et al., 2005; Zhang et al., 2011). However, in protein evolution and engineering, only few experimental studies are addressing this question. In this work, we want to assess the evolutionary impact of a probable insertional event in the Omega-loop of class A beta-lactamases and its potential role in the emergence of the catalytic activity. A trace of an ancestral heptapeptide tandem duplication event, involving an essential catalytic residue, is observed in the Omega-loop of enzymes that are annotated as class A beta-lactamases and found in various *Streptomyces* species. Moreover, another class A beta-lactamase has recently evolved by a pentapeptide tandem duplication in the omega-loop (Arpin et al., 2001).

In this work, we created a mutant of the TEM-1 beta-lactamase featuring a heptapeptide tandem duplication in the omega-loop. The mutant is still capable of conferring a poor resistance to ampicillin. It will be subjected to mutagenesis and selection for evaluating the evolutionary trajectory of the omega loop. Secondly, we deleted one of the heptapeptide in the mutant. This deletant is not active anymore and we want to evaluate the possibility to evolve it into a phenotypically active enzyme by substitutional mutagenesis. We also planned to apply this strategy to an enzyme identified in the genome of *Streptomyces sp.* and featuring a marked signature of the tandem duplication. However, this enzyme appears toxic for *E. coli*, suggesting that it may not be a beta-lactamase.

### References

Arpin et al. (2001). *SHV-16, a  $\beta$ -Lactamase with a Pentapeptide Duplication in the Omega Loop*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 45(9), 2480–2485.

Janssen et al. (2005). *Bacterial degradation of xenobiotic compounds: evolution and distribution of novel enzyme activities*. *Environmental Microbiology*, 7(12), 1868–82.

Zhang et al. (2011). *Impact of indels on the flanking regions in structural domains*. *Molecular Biology and Evolution*, 28(1), 291–301.

\*Corresponding author: gilles.joachim@uclouvain.be

## Transketolase from *Geobacillus stearothermophilus* : asymmetric synthesis of polyols by C-C bond formation

Laurence HECQUET - Université Blaise Pascal - CNRS UMR 6296

M. Lorillière<sup>1</sup>, J. Abdoul-Zabar<sup>1</sup>, V. Hélaine<sup>1</sup>, F. Charmantray<sup>1</sup>, W.-D. Fessner<sup>2</sup>, L. Hecquet<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ICCF-CNRS UMR 6296, BP 10448, F-63177 Aubière, France

<sup>2</sup> Technische Universität Darmstadt, Petersenstraße 22, D-64287 Darmstadt, Germany

**Key-words.** transketolase, thermostability, chiral polyols, screening assays

The selectivity and particularly the stereochemical properties of enzymes are of major interest for preparing the enantiopure compounds required for use as drugs and agrochemicals. Transketolase (TK, EC 2.2.1.1.), a thiamine-dependent enzyme, catalyzes the stereospecific transfer of a two-carbon ketol unit to the carbonyl of a variety of aldehydes leading to chiral polyols. TK from yeast and *E. coli* is used with hydroxypyruvate (Li-HPA) as donor substrate, thereby rendering the ketol transfer irreversible. This enzyme is receiving increased attention because of the highly stereocontrolled formation of an (S)-configuration chiral center with efficient concomitant chiral resolution for (2R)-hydroxyaldehydes producing ketose structures with a D-threo (3S,4R) configuration (Figure 1A). We and other groups have described various syntheses of valuable chiral target compounds.

We propose new advances and insights for improving synthetic processes based on TK-catalyzed reactions. We have recently cloned, overexpressed and studied a new TK from a thermophilic microorganism, *Geobacillus stearothermophilus*. In this presentation, we will report its substrate specificities at different temperatures, in unusual media and some applications on a preparative scale. To broaden the substrate specificity of this new TK, and particularly to invert enantioselectivity towards (2S)-hydroxyaldehyde acceptor substrate, we modified the TK active site by mutagenesis (Figure 1B). To allow rapid screening of substrate tolerance of TK variants, we developed generic high-throughput assays for TK activity.

## Influence de la microfluidique sur les cinétiques d'apparition de peptides bioactifs au cours de la protéolyse enzymatique en microréacteur

Rénato FROIDEVAUX - Institut Charles VIOLLETTE - Equipe ProBioGEM

Adil Elagli, Simon Laurette, Anthony Treizebre, Bertrand Bocquet, Pascal Dhulster et Rénato Froidevaux

Les micro-réacteurs représentent un nouvel outil pour l'ingénierie des enzymes. Dans ce contexte, nous avons montré que l'écoulement laminaire dans des microcanaux influence la sélectivité cinétique de la réaction enzymatique impliquant l'hémoglobine et la pepsine. Les conditions réactionnelles (pH, température, concentration en réactants, temps de séjour...) étaient les mêmes dans les études en mode « batch » et « microfluidique », de manière à comparer les cinétiques d'hydrolyse à partir de l'analyse des profils chromatographiques d'hydrolysats peptidiques obtenus par HPLC de phase inverse.

En mode batch, l'hémoglobine est rapidement et complètement hydrolysée pour donner des peptides transitoires. Linderstrøm-Lang a développé un modèle pour expliquer ces phénomènes fréquemment observés lors de l'hydrolyse des protéines globulaires, appelé mécanismes « zipper » et

«one by one". Dans le mode microfluidique, de l'hémoglobine intacte reste dans le microréacteur et de petits peptides avec de faibles temps de rétention, combiné avec l'absence de peptides intermédiaires, montrent que la réaction enzymatique procède différemment qu'en mode batch, probablement en raison de l'écoulement microfluidique et des propriétés de diffusion de l'enzyme, du substrat et des peptides générés pendant la réaction. Des simulations de diffusion et de mélange enzyme/substrat à l'intérieur du microsystème ont été réalisées avec le logiciel COMSOL, afin de prédire les concentrations de substrat et d'enzyme grâce à l'équation d'advection / diffusion. Enfin, un algorithme stochastique a été utilisé pour modéliser la cinétique d'hydrolyse du substrat en modes microfluidique et batch. Cette étude démontre une nouvelle approche dans la modulation de la sélectivité de la catalyse enzymatique conduisant à un contrôle de la cinétique de réaction. D'autres paramètres physico-chimiques et de conception du microréacteur ont été étudiés en mode microfluidique afin de déterminer leur influence sur la sélectivité de la réaction par rapport au mode batch. Les cinétiques d'apparition de peptides bioactifs (antimicrobiens, opioïdes...) ont enfin été déterminées au cours de l'hydrolyse de l'hémoglobine bovine par la pepsine en mode batch et microfluidique. Les résultats démontrent une influence significative du régime laminaire, caractéristique de l'écoulement dans le microréacteur, sur la modulation des cinétiques d'apparition de tels peptides.

POSTER #9 SESSION 4

## Optimisation des conditions de production d' $\alpha$ -amylase par *Streptomyces.sp* selon le modèle de Box et Wilson

Mouna Imene OUSSADI - Université Constantine 1, Laboratoire de Génie microbiologie

OUSSADI Mouna Imene, KITOUNI Mahmoud.

Les actinobactéries sont d'excellentes candidates productrices de substances aux propriétés intéressantes telles que les enzymes. La production industrielle des protéases et d'amylases constitue la majorité du marché des enzymes en offrant de nombreuses possibilités d'applications industrielles.

Les déchets d'orange, disponibles en grande quantité, issus de la fabrication du jus, sont une source peu coûteuse, et très riche en sucres facilement fermentescibles, de ce fait ils peuvent être valorisés par leur utilisation comme milieu de base en vue de produire une substance à haute valeur ajoutée comme l' $\alpha$ -amylase.

Vingt souches actinomycétales sont criblées afin de sélectionner la souche la plus productrice d' $\alpha$ -amylase, parmi ces souches testées, une seule s'est démarquée par sa forte capacité à hydrolyser l'amidon, c'est la souche 20r appartenant au genre *Streptomyces*.

Le but du présent travail était d'optimiser les paramètres de production d' $\alpha$ -amylase par *Streptomyces sp.* avec une approche statistique en fermentation liquide, en utilisant le déchet d'orange comme substrat. Les paramètres qui influent la production de l'enzyme ont été identifiés à l'aide du plan de Plackett-Burman avec  $N = 24$  expériences et  $k = N-1$  facteurs (23 facteurs: dont 19 facteurs de production et 4 dummy). L'analyse statistique des résultats a permis la sélection de quatre facteurs qui ont un effet significatif sur la production d'enzyme: la concentration en déchets d'orange de (5 à 15%), la concentration en NaCl de (0 à 6,5%), le taux d'inoculum de (5 à 10%) et la variation du pH de (5 à 9). Les optima de ces paramètres ont été déterminés en employant la méthode des surfaces de réponse de Box et Wilson, ils sont comme suit : une concentration en déchets d'orange de (16,03%), une concentration de NaCl de (6,60%), un taux d'inoculum de (9,45%) et un pH de (8,95) ont été trouvés, avec une activité enzymatique optimale de 11,55 U/mL.

Les résultats confirment le haut potentiel biotechnologique de cette souche actinomycétale pour la production d' $\alpha$ -amylase en fermentation submergée. L'utilisation des déchets d'orange constitue un

substrat agro-industriel efficace et peu coûteux pour la production d'  $\alpha$ -amylase, en plus, c'est un moyen approprié pour sa valorisation et la réduction de son impact écologique.

*Mots clés: Streptomyces sp.,  $\alpha$ -amylase, orange waste, Box and wilson design, optimization media.*

---

POSTER #23 SESSION 4

## Utilisation des lipases en panification : effets biochimiques et interfaciaux

**Stéphane NERON** - UMR1145 Ingénierie Procédés Aliments, AgroParisTech/Inra/Cnam  
(voir page 23)

---

POSTER #25 SESSION 4

## In vivo evolution of phenylpropanoid pathways by homeologous recombination

**Rudy PANDJAITAN** – Eviagenics (voir page 24)

---

POSTER #28 SESSION 4

## Design of alpha-L-transfucosidases for the synthesis of fucosylated HMOs

**Amélie SAUMONNEAU** - Université de Nantes, UMR-CNRS 6286, Unité Fonctionnalité et Ingénierie des Protéines (voir page 25)

---

POSTER #29 SESSION 4

## Impact des enzymes d'oxydation sur la qualité de produits alimentaires d'origine végétale

**Rebeca GARCIA** - CNAM

*Garcia Rebeca, Billaud Catherine, Boussard Aline, Bertrand Laure, Rakotozafy Lalatiana*

Le contrôle des mécanismes d'oxydation initiés par des systèmes enzymatiques (polyphénoloxydase, laccase, lipoxygénase, peroxydase, catalase, carbohydre oxydase, ascorbate oxydase...) mettant en jeu l'oxygène moléculaire, des macromolécules (lipides, protéines, glucides et composés phénoliques oxydables) et des micronutriments hydrosolubles (vitamines, composés phénoliques antioxydants, composés thiols) reste un enjeu majeur en technologie alimentaire. La maîtrise de ces réactions au sein de produits alimentaires d'origine végétale est nécessaire pour optimiser les opérations de transformation (découpe, broyage, trempage, malaxage, pétrissage...), leur conservation et/ou leur utilisation.

Dans les céréales (blé, orge...) et les fruits et légumes frais et transformés (pomme, aubergine...), la



maîtrise de l'action des enzymes d'oxydation endogènes et/ou l'ajout optimisé d'enzymes exogènes sont des solutions qui permettent de corriger les déficiences naturelles des matières premières du fait de leur variabilité (nature, composition, qualité), d'augmenter le rendement et d'améliorer la qualité organoleptique, nutritionnelle et fonctionnelle des produits transformés.

Par exemple, l'addition raisonnée d'enzymes d'oxydation exogènes (lipoxygénase de fève, carbohydre oxydase, glucose oxydase (exogène)/peroxydase (endogène) par exemple) dans la filière céréalière a montré leur rôle technologique (sur les caractéristiques rhéologiques) et sensoriel (couleur, flaveur) des pâtes de farine au cours du pétrissage et l'état d'agrégation des protéines et des arabinoxylanes.

De même, la recherche d'alternative à l'utilisation des sulfites (dont les phénols et l'acide ascorbique) permet de maîtriser l'activité des enzymes d'oxydation endogènes (polyphénoloxydase et peroxydase principalement) dans la prévention du brunissement enzymatique des fruits et légumes frais et transformés (tranches, purées, jus).

La connaissance approfondie des enzymes mises en jeu (extraction, purification, caractérisation, rôle des effecteurs, étude des voies réactionnelles, modélisation des réactions de co-oxydations et d'interactions entre molécules) permet ainsi d'optimiser la formulation et d'améliorer les paramètres de production et de qualité des produits finis.

---

## POSTER #13 SESSION 5

### **A novel bioanalytical method to study transthyretin peptidase activity: development of a monolithic bioenzymatic support and application for the research of amyloidogenesis inhibitors**

Claire ANDRE - UFR SMP (voir page 25)

---

## POSTER #14 SESSION 5

### **A particulate biochromatographic support doped with nanomaterials: differences observed between carbon and boron nitride nanotubes: application to three plant extracts**

Claire ANDRE - UFR SMP

*Claire André, Lydie Lethier and Yves Claude Guillaume.*

*Univ Franche-Comté, F-25000 Besançon, France ; EA4662 Nanomedecine/Pôle Chimie Analytique Bioanalytique et Physique, F-25000 Besançon, France ; CHU Besançon, Pôle Pharmaceutique, F- 25000 Besançon, France.*

*\*Corresponding author. Tel.: + 33-3-81-66-55-44; fax: + 33-3-81-66-56-55.*

Arginase catalyzes the hydrolysis of arginine to ornithine and urea. In mammals, there are two isoforms of arginase. Arginase I is the cytosolic form that participates in the urea cycle and is expressed at high level in the liver. By contrast, arginase II is localized in the mitochondria and is highly expressed in the kidney. Recently, the demonstration that both arginase isoforms are expressed by vascular endothelial and smooth muscle cells rise interest to this enzyme in cardiovascular physiology and pathology. Of interest, arginase was found to reciprocally regulate nitric oxide (NO) levels in endothelial cells by competing with NO synthase for the substrate L-arginine. Arginase inhibition improves endothelial function and lowers blood pressure and then

represented a novel strategy in hypertension. Thus it was necessary to focus on the development of arginase bioenzymatic reactor to find arginase inhibitors.

In this work, the arginase enzyme was bound to porous silica using a reactive polymer where two types of nanomaterial were entrapped, i.e., carbon nanotubes (CNTs) and boron nitride nanotubes (BNNTs). For the first time, it was shown that BNNTs was highly efficient for increasing the performance of a particulate bioactive support. As well, we demonstrated that BNNTs enhanced more strongly this effect in comparison with CNTs. As well, with this novel bioactive support, the relative IC50 values of well known arginase inhibitors, N-hydroxy-L-arginine (NOHA), N-hydroxy-nor-L-arginine (nor-NOHA) and (S)-(2-boronoethyl)-L-cysteine (BEC) were found in agreement with those derived by the conventional spectrometric method. It was shown the ethylacetate extract of the roots of *spirotropis longifolia* (SL) and of the ethanol extract of sunflower seed (SS) and *Lonicera japonica* Thunb i.e., honeysuckle (H) on the arginase activity inhibited the enzyme activity. Our results confirmed the direct effect of some plant extracts on the arginase activity and their interest in therapies for treating several NO-dependent smooth disorders

---

POSTER #17 SESSION 5

## **Fonctionnalisation enzymatique du xylose et des xylo-oligosaccharides pour des applications en détergence et en cosmétique**

**Caroline REMOND** - *Université de Reims Champagne Ardenne (voir page 26)*

---

POSTER #20 SESSION 5

## **Baeyer-Villiger Monooxygenases : A Promising Route to Chiral Enol-lactones and Ene-lactones**

**Véronique ALPHAND** - *Aix Marseille Université CNRS (voir page 27)*

---

POSTER #2 SESSION 6

## **CAZyChip : a bioChip for bacterial glycoside hydrolases detection and dynamic exploration of biodiversity for plant cell wall hydrolysis**

**Anne ABOT** - *INSA/INRA/CNRS - LISBP - GeT-Biopuce*

*Anne Abot<sup>1,2,3</sup>, Delphine Labourdette<sup>1,2,3</sup>, Lidwine Trouilh<sup>1,2,3</sup>, Gabrielle Véronèse<sup>1,2,3</sup>, Michael O'Donohue<sup>1,2,3</sup>, Claire Dumon<sup>1,2,3</sup> and Véronique Le Berre<sup>1,2,3</sup>*

*Université de Toulouse, INSA, UPS, INP; LISBP, 135 Avenue de Rangueil, F-31077 Toulouse, France1 ; INRA, UMR792 Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés, F-31400 Toulouse, France2 ; CNRS, UMR5504, F-31400 Toulouse, France3*

Plant cell wall is a renewable and potentially sustainable source of carbon and energy that will help to reduce gas emissions. The development of biocatalysts for the deconstruction of plant cell wall polysaccharides such as cellulose and hemicelluloses is currently a major endeavor and will contribute to the development of alternative economic model, known as the bioeconomy.

Micro-organisms responsible for the hydrolysis of lignocellulosic polysaccharides play an important role in biotransformation of plant cell walls and produce large collections of enzymes, including glycoside hydrolases (GHs) that are the key enzymes involved in the deconstruction of plant cell wall polysaccharides. GHs are classified in 133 families in the CAZy database ([www.cazy.org](http://www.cazy.org)).

We develop a robust and generic tool, allowing the quick exploration and elucidation of functional dynamics of the enzymatic arsenal of microbial communities in order to efficiently discover new sources of enzymatic potential. This tool based on the DNA microarray principle (CAZyChip) allows a rapid characterization of GH at the genomic or transcriptomic level and the characterization of plant cell wall-degrading enzyme systems that act in concert on the different polysaccharide components of lignocellulosic biomass. The CAZyChip provides a method to monitor the evolution of GH activity in microbial communities that are actively degrading lignocellulosic biomass and will constitute pertinent results to guide and optimize the production of enzymatic cocktails for biomass degradation.

The aims of this study are consistent with the overarching challenges of the biorefinery, green chemistry, and industrial biotechnology sectors.

---

## POSTER #3 SESSION 6

### **Catalyse chemo-enzymatique appliquée au glucose pour l'obtention du 5-HMF**

**Rénato FROIDEVAUX** - *Institut Charles VIOLLETTE - Equipe ProBioGEM (voir page 28)*

---

## POSTER #4 SESSION 6

### **Nouvelle approche d'immobilisation d'enzymes par la technologie des plasmas froids**

**Rénato FROIDEVAUX** - *Institut Charles VIOLLETTE - Equipe ProBioGEM*

*K.Belhocene, A.Elagli, C.Vivien, P.Supiot, P.Dhulster et R.Froidevaux*

Au fil des ans, l'immobilisation d'espèces biologiquement actives, telles que les enzymes sur des supports solides a donné lieu à une large gamme d'applications analytiques et industrielles. L'élaboration de stratégies d'immobilisation rapides, simples et efficaces représente un challenge important dans la fabrication de BioMEMS et dans la perspectives de créer des microsystèmes bio-fonctionnalisés. Ainsi, nous avons développé une méthodologie originale d'immobilisation d'enzymes en utilisant la polymérisation par la technologie des plasmas froids d'un monomère, le 1,1,3,3, tétraméthylsiloxane (ppTMDSO), connu en tant que matériau de microfabrication. En utilisant le silicium ou le film mince de ppTMDSO comme support, la stratégie développée a consisté à adsorber la  $\beta$ -galactosidase suivi d'un recouvrement par une couche mince de ppTMDSO obtenue à partir de la polymérisation du TMDSO déposé par Remote Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition (RPECVD) en mode post-décharge. L'activité enzymatique résiduelle de la  $\beta$ -galactosidase, déterminée par hydrolyse du substrat synthétique ortho-nitrophényl- $\beta$ -D-galactopyranoside, et la caractérisation de l'état de la surface du support, réalisée par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, par microscopie électronique à balayage et par microscopie à force atomique, ont permis de valider notre stratégie d'immobilisation. Après lavage des échantillons (supports contenant  $\beta$ -galactosidase immobilisée), nous avons montré que l'enzyme reste efficacement piégée à l'intérieur

de la matrice poreuse définie par le polymère, tout en permettant la diffusion et l'hydrolyse du substrat synthétique o-NPG, avec une stabilité de l'activité enzymatique sur au moins 8 lavages de l'échantillon. Par conséquent, notre procédure d'immobilisation aboutit à l'obtention de revêtements bio-fonctionnels, où la  $\beta$ -galactosidase semblerait être incluse dans le film polymérisé par plasmas froids, tout en conservant sa structure native et son activité enzymatique. La préparation de tels films bio-fonctionnels minces (de 200 nm à 650 nm) est rapide et compatible avec les procédés de fabrication de biopuces ou de micro-réacteurs, tout en évitant l'utilisation de produits chimiques toxiques et les procédures d'immobilisation couramment rencontrées et qui impliquent souvent plusieurs étapes.

POSTER #6 SESSION 6

---

## **REALCAT: plate-forme technologique pour la conception de catalyseurs hybrides à haut débit pour les bioraffineries**

**Rénato FROIDEVAUX** - *Institut Charles VIOLLETTE - Equipe ProBioGEM*

*Pascal Dhulster, Philippe Jacques et Rénato Froidevaux, Sébastien Paul et Franck Dumeignil*

Dans le contexte actuel de baisse des combustibles fossiles, un intérêt majeur est axé sur la substitution des produits pétrochimiques par la transformation des bioproduits à partir de matières premières renouvelables. Les intermédiaires chimiques biosourcés appelés «building blocks», conduisent à une variété de produits dont la valeur d'usage est destiné à remplacer des équivalents pétroliers, tels que les bioplastiques, biosurfactants, biopesticides ...

La biomasse est particulièrement intéressante, car elle est la seule source de carbone renouvelable utilisée pour l'obtention de produits chimiques intermédiaires. Pour exploiter pleinement le potentiel de la biomasse, le concept de bio-raffinerie fait aujourd'hui l'objet de nombreuses études. La transformation de la biomasse dans ces nouvelles usines requière la conception de nouveaux procédés et de nouvelles voies technologiques de transformations biologiques et / ou chimiques. Dans ce contexte, il est maintenant clair que la «catalyse hybride», qui est la combinaison de la biocatalyse et de la catalyse chimique, peut jouer un rôle important dans les bio-raffineries. Le développement de ce concept innovant de «catalyse hybride» est actuellement initié dans des travaux de recherche au sein de la plate-forme de criblage à haut débit REALCAT en cours d'installation à l'université de Lille1. Cette plate-forme associe des équipes de recherche en catalyse chimique hétérogène (UCCS) et de la biotechnologie enzymatique et cellulaire (ProBioGEM). REALCAT abordera toutes les étapes de l'évolution et du criblage de catalyseurs enzymatiques, hétérogène et homogène dans un même lieu. Ainsi, cette plate-forme regroupera des robots pour la synthèse de catalyseurs et biocatalyseurs, des outils de caractérisation rapide, des (micro) réacteurs continus et discontinus. Actuellement, nous travaillons sur deux réaction « catalyse hybride » : l'isomérisation du glucose en fructose et l'obtention de furane, molécule plate-forme; l'oxydo-réduction du lactate en pyruvate et la co-régénération de médiateur(s).

## **Des assemblages de polymères bio-inspirés pour mesurer la diffusion et les interactions des enzymes impliquées dans la déconstruction de la biomasse lignocellulosique**

**Gabriel PAËS** - INRA - UMR FARE

La biomasse lignocellulosique (BL) est constituée d'un réseau complexe de polymères (cellulose, hémicelluloses et lignines) dont la transformation dans les bio-raffineries peut potentiellement fournir une panoplie de produits chimiques, matériaux et carburants. Afin de valoriser l'ensemble des constituants de la BL, l'utilisation d'enzymes spécifiques et travaillant dans des conditions douces est un atout. Cependant, la complexité architecturale et chimique de la BL restreint la mobilité et l'activité des enzymes.

Dans ce contexte, il est essentiel de pouvoir caractériser finement les propriétés des enzymes au niveau de leur catalyse et de leurs interactions avec leur environnement. En effet, plusieurs études ont démontré que lors de l'hydrolyse de la BL, les enzymes peuvent être inactivées soit par des inhibiteurs, soit par la formation d'interactions irréversibles avec des motifs chimiques impliquant notamment la lignine. Or, lors de leur caractérisation, les enzymes sont généralement testées sur des substrats simples, ce qui ne permet pas de rendre compte de ces phénomènes : de nouvelles approches doivent donc être mises en œuvre.

Pour cela, nous avons préparé des assemblages 3D de polymères bio-inspirés qui miment la composition et certaines des interactions rencontrées dans la BL. Puis nous avons développé un protocole de mesure de la mobilité dans ces assemblages de différentes molécules d'intérêt (polysaccharides, protéines CBM et enzymes) rendues fluorescentes et appelées sondes, par l'utilisation de la technique de FRAP en microscopie confocale. Cette méthode permet de déterminer l'influence de plusieurs paramètres liés soit à la sonde (taille, oligomérisation, catalyse, présence ou non de CBM), soit à l'assemblage bio-inspiré (nature et concentration des polymères, teneur en eau), et de les hiérarchiser. Ainsi, nous avons pu mettre en évidence que :

- Il existe une relation exponentielle entre la teneur en eau des assemblages et la diffusion des sondes ;
- Le réseau formé par les interactions entre les polymères des assemblages n'influence pas les sondes uniquement en fonction de leur taille ;
- Les motifs chimiques créés dans les assemblages influencent différemment la diffusion des sondes en fonction des types de résidus de surface.

Ces résultats permettent d'optimiser l'ingénierie des enzymes afin de maximiser leur diffusion donc leur activité, et de les rendre compatibles aux conditions dans lesquelles elles sont utilisées.

## Partial characterization of a high molecular weight collagen from salmon (*Salmo salar*) skin before and after enzymatic cross-linking using a microbial transglutaminase

**Fabienne GUERARD** - Université de Bretagne Occidentale - LEMAR UMR6539 - IUEM - Technopole Brest Iroise

Margot Provost(1), Klervi Le Lann(1), Philippe Roquefort(2), Thierry Aubry(2), **Fabienne Guérard(1)\***

(1) LEMAR UMR 6539, IUEM Technopôle Brest-Iroise - rue Dumont d'Urville 29280 Plouzané FRANCE

(2) LIMATB, Equipe Rhéologie, UFR Sciences et Techniques, Université de Bretagne Occidentale 6, avenue Le Gorgeu - CS93837 29238 Brest Cedex 3 FRANCE

\*Corresponding author: [fabienne.guerard@univ-brest.fr](mailto:fabienne.guerard@univ-brest.fr)

Collagen, one of the most abundant proteins in the animal kingdom, can be obtained from many sources including mammals and marine vertebrates and invertebrates. The Pesk& Co1 project explored the extraction of a high molecular weight collagen from salmon skin (*Salmo salar*), followed by an enzymatic cross-linking procedure using a microbial transglutaminase in order to improve mechanical properties of native collagen for use as a tissue-engineering scaffold.

Results from Size Exclusion Chromatography, SDS-PAGE and amino acid pattern of native collagen suggested a type I collagen consisted of two different  $\alpha$  chains, as well as  $\beta$  and  $\gamma$  chains, with an amount of imino acids of 196 per 1000 residues.

Scanning electron microscopy showed that the lyophilized cross-linked collagen is a sponge-like scaffold, with pore size between 50 and 100  $\mu\text{m}$ . FTIR spectra of both collagens were quite similar and results suggested that cross-linking procedure did not affect the triple-helical structure.

Additionally, the values of storage modulus ( $G'$ ) and loss modulus ( $G''$ ) of both native and cross-linked collagens were measured to characterize the visco-elasticity of hydrogels. Results showed that the visco-elastic properties of collagen hydrogel were enhanced after cross-linking. Moreover the viscoelastic behavior of native collagen was studied upon a temperature gradient in order to identify the sol-gel transition temperature which is about 13.5°C. For cross-linked collagen, it is above 90°C.

These results suggest that cross-linked salmon collagen using a microbial transglutaminase would be an excellent material for further investigations in biomedical applications as an alternative source of mammal's collagen.

*Key-words: Collagen, Salmon skin, transglutaminase, cross-linking, FTIR, SEM, rheometry, scaffold*

## Conception et étude d'un bioréacteur enzymatiques à membrane pour le traitement d'effluents contenant des micropolluants réfractaires d'origine pharmaceutique

José SANCHEZ MARCANO - Institut Européen des Membranes (voir page 29)

## Nouveaux services de prestations de microbiologie moléculaire : un appui 'sur mesure' au management des ressources microbiennes

**Marina MOLETTA-DENAT** - *INRA Transfert Environnement*

La gestion de la diversité microbienne, et de ses services biotechnologiques sont des points clés de la réussite de l'exploitation des ressources microbiennes. Tout au long du processus de R et D ainsi qu'au niveau de la production, plusieurs étapes peuvent nécessiter l'utilisation des outils de pointe en matière de microbiologie moléculaire. La caractérisation de nouvelles espèces, l'expression de leurs fonctions d'intérêts, les performances et le contrôle de la production, la gestion des sous-produits en sont des exemples concrets.

Les nouveaux outils moléculaires développés depuis 30 ans sont maintenant à l'heure du haut débit et disponibles pour le plus grand nombre grâce aux structures spécialisées.

Centre de ressources et de transfert dans le domaine des biotechnologies, INRA Transfert Environnement, propose des prestations de microbiologie moléculaire. Ces prestations sont issues des compétences scientifiques et techniques du Laboratoire de Biotechnologies de l'Environnement en termes de management des écosystèmes microbiens. Les compétences analytiques d'INRA Transfert Environnement s'étendent notamment à l'eau, à l'air, aux surfaces, aux bioprocédés, aux matériaux, aux sites et sols pollués et aux matrices agroalimentaires. Elles regroupent des analyses quantitatives et qualitatives du microbiome et permettent notamment d'apporter des réponses 'sur mesure' aux questions concrètes pouvant être posées par les demandeurs.

Ces prestations s'appuient sur les moyens techniques de la plateforme de microbiologie moléculaire du LBE regroupant des outils de PCR, PCRq et RT-PCRq qui permettent la quantification de groupes microbiens et de gènes de fonction spécifiques, qu'ils soient contaminants (Salmonella, E. coli, Bio-indicateurs...) ou impliqués dans des services éco-systémiques (levains, algues, méthanogènes...). Des outils qualitatifs, empreintes moléculaires et séquençage haut débit sont également utilisés. INRA Transfert Environnement propose également des services d'analyses de bioinformatique et de gestion des méta-données, tels que la construction de bases de données spécifiques et la définition d'indicateurs d'intérêt, via un pipeline dédié.

## Les hémicellulases de *Thermobacillus xylanilyticus*, enzymes d'intérêt pour fractionner les xylanes de la biomasse lignocellulosique

**Harivony RAKOTOARIVONINA** - *Université de Reims Champagne Ardenne*

*Harivony Rakotoarivonina, Caroline Rémond*

La biomasse lignocellulosique suscite un engouement important dans le contexte du développement des bioraffineries pour produire des biocarburants, des synthons et des matériaux. Les co-produits agricoles tels que les pailles et les sons représentent une source importante de xylanes (hémicelluloses) qui constituent 25 à 35% de la matière sèche. Les xylanes sont composés d'une chaîne principale de résidus xylose liés en beta-1,4 et certains résidus sont substitués par des résidus arabinose, acide glucuronique et des groupements acétyl et hydroxycinnamiques (acides férulique et p-coumarique) (Ebringerova & Heinze, 2000).

Nos recherches visent à fractionner sélectivement les xylanes de la biomasse lignocellulosique pour valoriser les xylanes. Contrairement au glucose, les molécules constitutives des xylanes (pentoses, acides hydroxycinnamiques) sont beaucoup moins valorisés que le glucose. Les applications envisagées pour ces molécules sont multiples : prébiotiques, xylitol, alkyl pentosides, ... (Deutschmann & Dekker, 2012).

Afin de fractionner de façon efficace les xylanes de la biomasse lignocellulosique, nous exploitons le potentiel enzymatique de *Thermobacillus xylanilyticus*, bactérie thermophile hémicellulolytique stricte (Touzel et al., 2000). Pour ce faire, plusieurs stratégies sont mises en œuvre.

La première stratégie vise à cloner, exprimer et caractériser les gènes d'enzymes de la bactérie d'intérêt afin de les associer pour produire des cocktails enzymatiques minimum efficaces sur la biomasse lignocellulosique. Plusieurs hémicellulases efficaces sur les parois végétales lignocellulosiques ont ainsi été obtenues : xylanases, arabinosidase, féruloyl-estérase (Beaugrand et al., 2004; Debeche et al., 2000; Rakotoarivonina et al., 2011).

L'autre approche est basée sur l'étude de la physiologie et de la dynamique de mise en œuvre des enzymes hémicellulasiques par la bactérie en présence de diverses sources de biomasses lignocellulosiques de composition en xylanes contrastées. Ceci permet la production de cocktails hémicellulasiques complets après croissance de *T. xylanilyticus* sur les parois végétales. Ainsi, des activités et des ratios d'activités enzymatiques variés sont obtenus de par l'adaptation de la bactérie à son substrat de croissance. Des cocktails hémicellulasiques adaptés aux biomasses à fractionner sont générés (Rakotoarivonina et al., 2012). Récemment, une approche par transcriptomique a été développée afin d'étudier la stratégie de production d'enzymes par la bactérie lors de sa croissance (Rakotoarivonina et al., 2014).

*Les résultats récemment obtenus seront présentés.*

Beaugrand, J., Chambat, G., Wong, V., Goubet, F., Remond-Zilliox, C., Paes, G., Benamrouche, S., Debeire, P., O'Donohue, M., Chabbert, B. 2004. Impact and efficiency of GH10 and GH11 thermostable endoxylanases on wheat bran and alkali-extractable arabinoxylans. *Carbohydrate Research*, 339, 2529-2540.

Debeche, T., Cummings, S., Connerton, I., Debeire, P., O'Donohue, M.J. 2000. Genetic and biochemical characterization of a highly thermostable alpha-L-arabinofuranosidase from *Thermobacillus xylanilyticus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(4), 1734-1736.

Deutschmann, R., Dekker, R.F.H. 2012. From plant biomass to bio-based chemicals: Latest developments in xylan research. *Biotechnology Advances*, 30(6), 1627-1640.

Ebringerova, A., Heinze, T. 2000. Xylans and xylan derivatives, biopolymers with valuable properties, 1. *Macromol Rapid Comm*, 21, 542-556.

Rakotoarivonina, H., Hermant, B., Aubry, N., Rabenoelina, F., Baillieul, F., Rémond, C. 2014. Dynamic study of how the bacterial breakdown of plant cell walls allows the reconstitution of efficient hemicellulasic cocktails. *Bioresource Technology*, 170(0), 331-341.

Rakotoarivonina, H., Hermant, B., Chabbert, B., Touzel, J.P., Remond, C. 2011. A thermostable feruloyl-esterase from the hemicellulolytic bacterium *Thermobacillus xylanilyticus* releases phenolic acids from non-pretreated plant cell walls. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90(2), 541-552.

Rakotoarivonina, H., Hermant, B., Monthe, N., Remond, C. 2012. The hemicellulolytic enzyme arsenal of *Thermobacillus xylanilyticus* depends on the composition of biomass used for growth. *Microbial Cell Factories*, 11.

Touzel, J.P., O'Donohue, M., Debeire, P., Samain, E., Breton, C. 2000. *Thermobacillus xylanilyticus* gen. nov., sp nov., a new aerobic thermophilic xylan-degrading bacterium isolated from farm soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 50, 315-320.



## La chlordécone est-elle biodégradable ?

**Pierre-Loïc SAAIDI** - CEA IG Genoscope

*Saaidi P-L, Ugarte E, Chaussonerie S, Barbance A, Couturat L, Marie L, Chevallier M, Fossey A, Bröls T, Barbe V, Gyapay G, Fonknechten N, Zaparucha A, Salanoubat S, Weissenbach J et Le Paslier D*

*CEA, DSV, Institut de Génomique (IG), UMR8030, Laboratoire de Génomique et Biochimie du Métabolisme, 2 rue Gaston Crémieux, F-91057 Evry Cedex 07, France.*

*Université d'Evry Val d'Essonne (UEVE), UMR8030, F-91057 Evry Cedex 07, France*

*CNRS, UMR8030, F-91057 Evry Cedex 07, France*

La chlordécone (Kepone) est un composé organochloré synthétique (C10Cl10O) utilisé dans diverses régions du globe pour lutter contre un large éventail de parasites agricoles dont le charançon du bananier aux Antilles françaises. La persistance de la chlordécone dans les sols, sa présence et sa toxicité pose de nombreux problèmes de santé publique, socio-économiques et politiques. Depuis l'arrêt de sa production et son interdiction il n'y a pratiquement pas eu de recherche concernant sa biodégradation. Les rares études publiées mettent en avant une possible diminution de la chlordécone dans des échantillons sans identifier clairement des métabolites de dégradation.

Afin d'étudier la possible biodégradation de la chlordécone, des cultures microbiennes en anaérobiose ont été initiées à partir de microcosmes et analysées au cours du temps. Les propriétés physico-chimiques de la chlordécone et les doses massives employées ont rendu impossible sa quantification de façon fiable, le suivi de son éventuelle disparition ainsi que le suivi de la croissance bactérienne. Des analyses par GC/MS ont cependant permis de détecter de nombreux composés chlorés dérivés de la chlordécone dont une quinzaine jamais mis en évidence jusque-là. De façon intéressante, certaines cultures ont montré l'apparition et l'accumulation de plusieurs de ces métabolites, dont un très nettement majoritaire, ainsi que la quasi-disparition de la chlordécone. Ces consortiums bactériens sont en cours d'analyse par différentes méthodes (microbiologie et métagénomique). L'analyse par GC/MS et LC/MS a permis de déterminer la formule brute des métabolites chlorés : de manière totalement inattendue, le composé majoritaire ne présente plus la structure bishomocubane de la chlordécone puisqu'il ne possède que neuf atomes de carbone. Cinq atomes de chlore ont également disparu. Une production à plus grande échelle des métabolites chlorés a été réalisée, des travaux sont en cours pour élucider complètement leur structure.

## Insights into the previously undescribed bacterial trigonelline pathway reveal new enzymes for the aerobic breakdown of the pyridine ring

**Cécile FISCHER** - UMR8030 (CEA-IG Genoscope/UEVE/CNRS) LGBM

*Saaidi, P.-L., Perchat, N., Gimbernat, A., Perret, A., Dupont, M., Pelle, C., Darii, E., de Berardinis, V., Salanoubat, M., Fischer, C.*

*CEA, DSV, Institut de Génomique (IG), UMR8030, Laboratoire de Génomique et Biochimie du Métabolisme, 2 rue Gaston Crémieux, F-91057 Evry Cedex 07, France.*

*Université d'Evry Val d'Essonne (UEVE), UMR8030, F-91057 Evry Cedex 07, France*

*CNRS, UMR8030, F-91057 Evry Cedex 07, France*

Many soil bacteria degrade natural and human-made (and harmful) pyridine compounds. The nicotinic acid pathway is the only one to be genetically and biochemically elucidated.

We use post genomic resources implemented in our laboratory for the soil bacterium *A. baylyi* ADP1 to investigate the (enzymatic) function of genes of unknown or imprecise function and identify new metabolic pathways.

We focused on a cluster of genes conserved among many dozen bacterial species which proved to be responsible for trigonelline (N-methylnicotinate) dissimilation; the bacterial catabolism of this plant osmoprotectant is not documented. A degradation pathway for a by-product of the paraquat herbicide, N-methylisonicotinate (an isomer of trigonelline) has been proposed more than 40 years ago, but still the enzymes and genes are unknown.

We identified catabolic intermediates of unknown identity in reaction mixtures by an untargeted LC/MS-based metabolomic experiment. With two specific enzymes, a first metabolite was produced on a preparative scale and purified. 1D- and 2D-NMR techniques (APT, COSY, HMQC and HMBC) revealed that it harbours a rare cyclic 5-hydroxy-butyrolactone structure instead of the pyridinium ring. Slow proton-deuterium exchange in (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO-D<sub>2</sub>O mixture demonstrated the occurrence of an aldehyde-hemiacetal equilibrium involving a 4-oxobutyrate open-form. A cascade reaction using three enzymes and trigonelline led to the production of the next metabolite whose structure was assigned to a dicarboxylic acid derivative. The next step in the pathway breaks it down into succinate semialdehyde. Interestingly, the reductive-oxidative pyridine ring attack in trigonelline resembles the initial steps postulated for N-methylisonicotinate biodegradation and differs from the nicotinic acid pathway. As a spin-off of the initial trigonelline project, we are intending to investigate the catalytic activities of a set of bacterial enzymes toward selected pyridine compounds to search for valuable candidates for biotechnological applications in the field of bioremediation.

POSTER #26 SESSION 6

---

## Economic impact of CalB immobilization method to be used in continuous oil transesterification

Etienne SEVERAC - LISBP

*Etienne Séverac, Olivier Galy, Fabrice Turon, Catherine Azzaro Pantel, Jean-Stéphane Condoret, Pierre Monsan, Alain Marty*

Enzymatic transesterification of triglycerides in a continuous way is still today a great challenge for a large field of applications including biodiesel, bio-lubricant or bio-surfactant productions, for instance. The lipase B from *Candida antarctica* (CalB) is one of the most appreciated enzyme for that purpose. Nevertheless, the medium hydrophilic nature of the support used for its commercial form (Lewatit VP OC 1600) is a limitation. Indeed, glycerol is adsorbed onto support, inducing drastic decrease in enzyme activity. Glycerol would form a hydrophilic layer around the enzyme, resulting in diffusional limitations during triglyceride transfer to the enzyme. In that context, Accurel MP, a very hydrophobic macroporous polymer of propylene, was found not to adsorb glycerol, and then was chosen for an optimization of CalB use in industrial processes. An economical approach (maximization of the process net present value) was expanded in order to explore the impact of immobilization on the development of an industrial packed bed reactor. The crucial ratio between the quantity of lipase and the quantity of support, taking into account enzyme, support and equipped packed bed reactor costs was optimized in this sense. The biocatalyst appeared as the main cost centre (2–10 times higher than the investments for the reactor vessel). In consequence, a compromise between immobilization yield (90%), biocatalyst activity, reactor volume and total investments was defined and will be presented.

## *Parcours des intervenants et des membres des comités*

**Isabelle ANDRÉ**, *INSA Toulouse*

Après une thèse en chimie moléculaire au Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales de Grenoble (1992-1995) et un séjour postdoctoral à l'Instituto Rocasolano-CSIC de Madrid (Espagne), Isabelle André a rejoint la société biopharmaceutique GLYCODESIGN Inc. à Toronto au Canada, où elle animait le groupe de chimie computationnelle (1997-2003). A son retour en France, elle a été recrutée par le CNRS au Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés à Toulouse (LISBP, INSA, UMR CNRS 5504, UMR INRA 792). Depuis 2010, elle est Directrice de Recherche. Ses activités reposent sur le couplage d'approches de biologie computationnelle et de méthodes d'ingénierie moléculaire pour étudier les relations structure-fonction des enzymes, développer des méthodes de modélisation et design computationnel d'enzymes et concevoir de nouveaux catalyseurs enzymatiques originaux et performants pour les biotechnologies.

Site internet du laboratoire : <http://www.lisbp.fr/>

**Macha ANISSIMOVA**, *Global Bioenergies*

Head of Discovery Department, Global Bioenergies

Macha Anissimova received a PhD from the Université de Technologie de Compiègne (UTC, France) in 1999 with specialty in Enzyme Engineering, Bioconversion and Microbiology. She completed a postdoctoral fellowship at the Natural Product Chemistry Institute (ICSN, CNRS), where she carried out studies related to enzyme mechanisms, involved in antibiotic resistance. She acquired since further expertise in enzymology and metabolic engineering in both public (French Alternative Energies and Atomic Energy Commission (CEA) and private establishments (Evologic SA). She joined Global Bioenergies in 2009 as a Head of Discovery Department.

**Daniel AURIOL**, *Libragen*

Libragen – induchem companies

Daniel joined libragen in 2004 as Chief of Technology Development, where he managed external and internal programmes leading in particular to the founding of the libragen glycosylation and phosphorylation technological platforms. Chief Scientific Officer since 2012, Daniel has nearly 30 years of experience covering biocatalysis, microbial engineering and bioprocesses.

After graduating from his PhD (INSA Toulouse, 1985), he completed an industrial post-doctorate in Chemical Engineering at UC Berkeley, California, and moved into industry to join BioEurope (1986 – 1998) and specialized in applied biocatalysis. He completed his expertise in fermentation and management by being Chief Technical Officer and Director of CRITT-BioIndustries (INSA Toulouse, 1998 - 2004).

Leading R&D programmes for enzyme production, purification and application, he also developed expertise in optimization, scale-up and transfer of bioprocesses.

**Véronique de BERARDINIS**, *Genoscope/Institut de Génomique/CEA*

Véronique de Berardinis a réalisé son PhD sur les cytochromes P450 humains dans un contexte de levures dites « humanisées » sous la direction de Denis Pompon. En rejoignant le Genoscope en 1998, elle a pris en charge une équipe de R&D liée à la plateforme de séquençage et a participé en parallèle au projet de séquençage du génome humain par son implication dans l'annotation du chromosome 14. En 2004, elle prend la tête d'un laboratoire en charge de la création d'une collection de mutants par knock-out pour réaliser des études fonctionnelles systématiques sur le métabolisme d'*Acinetobacter baylyi* ADP1, bactérie modèle au laboratoire. Lors de l'intégration du Genoscope au CEA en 2008, elle devient chef du Laboratoire de Criblage d'Activités de Biocatalyse au sein duquel elle développe une plateforme haut-débit de clonage et de criblage enzymatique. Depuis 2008, environ 8000 gènes ont été clonés et environ 1600 enzymes appartenant aux grandes familles utilisées en biocatalyse (lipases, aminotransférases, dehydrogénases/réductases, dioxigénases, aldolases, nitrilases, transcétolases, baeyer villigerases,...) ont été expérimentalement identifiées.

**Ian BENTLEY, AB Enzymes GmbH**

Ian Bentley has over 30 years of experience in the industrial enzyme business. He has worked in many different areas including technical, production and sales. Over his time in the business he has gained an extensive knowledge of the use of industrial enzymes.

Ian has specialising in the application of enzymes into a variety of industries including brewing, alcohol grain processing and edible oil processing.

Over the course of his career, he has travelled extensively throughout the world to establish relationships and ultimately sales with the top global brewers and distillers.

Although now operating as a self-employed consultant, Ian has been working closely with AB Enzymes for the last three years on the development of application methods.

He is passionate about enzymes.

**Charles DELANNOY, Procidys**

La société Procidys est une société de conseil et d'études en agro-alimentaire et plus particulièrement dans le domaine des produits marins.

Charles DELANNOY en est le dirigeant. Il est ingénieur chimiste est a une expérience de 32 ans dans le domaine des procédés agro-alimentaires.

- Expérience de quelques années dans la production d'acides aminés par fermentation dans le groupe Ajinomoto (responsable de recherche et responsable de production).
- Expérience de 23 ans dans la valorisation des co produits de poisson comme directeur technique et directeur de recherche. Mise au point et transfert industriel de la plupart des produits fabriqués par une société spécialisée dans la valorisation des co produits de poisson et qui produit et commercialise des ingrédients marins pour l'alimentation animale, l'alimentation humaine, la nutraceutique et la cosmétique.
- Gestion de projets d'investissements importants et en particulier participation à la création d'une unité de production de protéines hydrolysées de poisson au Canada.
- Développement de procédés de production d'extraits végétaux à partir de différentes matières premières (soja, pomme de terre, blé, pois, lupin, mélasse de betterave etc...)
- Participation à de nombreux programmes internationaux de recherche dans le domaine des produits marins. Dépôt de 2 brevets et participation à de nombreuses publications scientifiques.

**Antoine DREVELLE, Groupe Soufflet**

Après une thèse en ingénierie des protéines obtenue à l'Université Paris-Sud 11 dans l'Institut de Biochimie et Biophysique Moléculaire et Cellulaire suivie d'un séjour postdoctoral à l'Université de Strasbourg dans l'Institut de Science et d'Ingénierie Supramoléculaire, Antoine Drevelle a rejoint en 2010 le groupe SOUFFLET dans sa division Biotechnologies. Il a été en charge du transfert technologique d'outils innovants de criblages (microfluidique digitale) au sein de la société où il animait une équipe de 8 personnes. Depuis mars 2014, il a pris la direction du département de recherche de la division Biotechnologies et de son centre de recherche dédié à la valorisation des agroressources et de leurs co-produits dans différents domaines d'applications (alimentation animale, production de biocarburant, nutrition humaine, bioprotection des cultures).

**Bruno DUMAS, Sanofi**

Bruno Dumas a travaillé au sein du groupe Sanofi sur différents sites et différents projets autour de l'ingénierie génétique pour découvrir, identifier ou produire des molécules d'intérêt pharmaceutique en thérapie humaine. Son travail (en collaboration avec des chercheurs de Sanofi, du CNRS et de Transgène) sur la production d'hydrocortisone dans la levure est considéré comme pionnier dans le domaine de la biologie synthétique pour un usage industriel.

Actuellement basé sur le site de Vitry sur Seine, il est maintenant impliqué dans la recherche de molécules innovantes d'intérêt pharmaceutique visant à réveiller le système immunitaire dans la thérapie anti-cancéreuse.

**Pascal DHULSTER**, Univ. LILLE 1 - Institut Charles Viollette

Professeur des Universités IUT A

Cursus universitaire :

1976 Diplôme Universitaire de Technologie (DUT) Option Industrie Alimentaire IUT Créteil • 1980 Diplôme d'Ingénieur Génie Biologique Université de Technologie de Compiègne (U.T.C.)

1981 DEA (UTC), microbiologie, technologie enzymatique, bioconversion.

1984 Diplôme de Docteur Ingénieur (U.T.C.)

1994 Habilitation à Diriger des Recherches en Sciences Naturelles ( USTL)

Parcours professionnel :

1984-1986: Ingénieur de recherche, UTC- GRADIENT

1986-1989: Assistant associé en GIA, IUT A Lille1

1989-1995 : Maître de conférences en GIA, IUT A Lille1

1995-2011 : Professeur en GIA, IUT A Lille1

2008-2013 : Directeur Laboratoire ProBioGEM (EA 1026)

Activités de recherche, programme et encadrement :

L'objectif de ces recherches est de développer dans le laboratoire une recherche en bioprocédé basée sur des approches micro-cinétique et macro-cinétique. La micro-cinétique permettra d'étudier le comportement des catalyseurs biologiques (enzymes, bactéries ou cellules) lors de leurs mises en œuvre en bioréacteurs. Cette approche permettra de concevoir de nouveaux bioprocédés et de modéliser les termes de réactions. Dans le cadre de la macro-cinétique on pourra s'intéresser à l'optimisation et à la maîtrise des bioprocédés qui sont toujours fort complexes, même si par moment ils semblent bien simples. Ainsi les concepts d'intensification de procédé amènent-ils à imaginer des couplages d'opérations originaux ou des modes opératoires nouveaux, où les transferts de quantité de mouvement sont associés aux transferts de matière, les bioréactions associées à des techniques séparatives pour améliorer la productivité et la sélectivité. Notre action porte plus spécifiquement sur le couplage de procédés bio catalytiques et à des techniques séparatives à membrane, avec l'objectif de développer une recherche amont sur le concept de couplage de procédés en étudiant spécifiquement : L'amélioration de la productivité et de la sélectivité d'obtention de peptides à activités ou propriétés physico-chimiques définies par couplage de procédés séparatifs à des bioréacteurs (réacteurs enzymatiques et fermenteurs à membranes). En ce qui concerne le couplage de réacteurs enzymatiques à des techniques séparatives nous cherchons à développer le concept de membrane contacteur en extraction liquide- liquide et d'électro-ultrafiltration à la séparation sélective des peptides. Nous cherchons d'autre part à développer un bioréacteur à membrane pour la production de lipopeptides (surfactine) par *Bacillus subtilis* : Modification qualitative et quantitative de la production de bio molécules par couplage d'une extraction continue à une fermentation à haute densité cellulaire. Ces recherches s'inscrivent dans le champ plus large de la valorisation de sources de protéines alimentaires (crûor porcin, concentré protéique de luzerne) par hydrolyse enzymatique contrôlée en réacteur à membrane : Conception, mise en œuvre, optimisation de procédés d'obtention d'hydrolysats peptidiques parfaitement définis à l'échelle pilote de 100 litres. Mise en évidence de propriétés d'usage des hydrolysats.

Production scientifique et encadrement

50 articles dans des journaux internationaux à comité de lecture, 62 communications orales et par affiches, nationales et internationales.

Directions et codirections de thèse : 16

**Mirjana GELO-PUJIC**, Solvay

Elle a fait ses études à la Faculté de Sciences Naturelles et de Mathématique à l'Université de Zagreb (Croatie) et a continué un Master à l'Institut Rudjer Boskovic à Zagreb (Croatie). Un stage à Technische Universität Graz (Autriche) et le rencontre avec Pr. Kurt Faber en 1991 lui font découvrir le monde merveilleux des enzymes appliquées à la chimie et la motivent à poursuivre la thèse dans le domaine de biotransformations stéréosélectives. Entre 1994-1997 elle continue ses recherches, toujours en biocatalyse et explore les extremophiles dans les conditions non-conventionnelles comme la biocatalyse sous microondes avec Dr. André Loupy au Laboratoire des Réactions Sélectives sur Supports à Orsay. Puis en 1997 elle traverse l'Atlantique et les USA pour s'installer à l'Université de Californie Davis où elle va effectuer un premier postdoc avec Pr. Tayhas G Palmore sur la biologie moléculaire et biochimie de laccases et leur application dans les piles combustibles. En 1999 elle est embauchée comme Post Graduate Researcher à Medical School à l'Université de Californie Davis et travail avec les Pr. Blaine L. Beaman et Pr. John H Crowe sur les interactions hôte - pathogène par des méthodes biophysiques.

Solvay (Rhodia) lui propose un poste de chercheur et elle rejoint le Groupe au Centre de recherche à Lyon en septembre 2000 où elle va effectuer plusieurs postes : au Laboratoire de biocatalyse et de biotransformation (2000-2007), au Laboratoire de Contrôle Qualité dont elle aura la responsabilité entre 2007-2010, au Laboratoire d'analyse séparative entre

2011-2013 et de nouveau dans le domaine de biotech au Laboratoire de Chimie Organique Avancée. Elle est auteure d'une trentaine de publications et une dizaine de brevets.

**Françoise GEOFFROY, DSM Food Specialties**

Françoise Geoffroy (Française) a obtenu un diplôme d'ingénieur et une thèse de docteur ingénieur de l'Université de Technologie de Compiègne. Depuis 30 ans, elle travaille pour Gist-Brocades/DSM dans le domaine de la production d'enzymes et a occupé les fonctions suivantes: responsable du pilote fermentation et extraction; responsable assurance qualité d'un site de production d'enzymes (certification ISO 9002); responsable qualité et sécurité pour une business unit (enzymes pour les boissons et la panification); responsable produit (enzymes pour le « food processing » puis pour l'industrie laitière).

**Cindy GERHARDT, DSM innovation**

Cindy Gerhardt has a Dutch nationality, she studied in Amsterdam, and got her master in medical biology and graduated with a PhD in molecular pharmacology, studying genes and signal transduction involved in neurotransmission. In 1996, she moved to Paris where she did a post-doctoral study investigating molecular signaling and cell biology of primary human adipose tissue. Early 2000 she left the academic research and started working as an industrial scientist at Unilever food Research. She set up cellular assays mimicking taste perception, and then became a research project manager aiming at the discovery of new food ingredients with health benefits (blood pressure-lowering, cholesterol-lowering, or satiety-inducing). She focused on proteins and bioactive peptides and collaborated with a number of protein hydrolysate suppliers. In 2006, she started to work for DSM Food Specialties in the Netherlands, continuing her work on bioactive peptides, but now with more focus on the enzymes generating these peptides. Within DSM, Cindy moved from R&D portfolio management to business development and currently holds a position as a global innovation manager for Enzyme Solutions. In this role, Cindy is responsible for the innovation pipeline from ideation to launch, in a number of different food and beverage market segments such as Dairy, Brewing and Protein Processing.

**Yann GODFRIN, Erytech**

Co-Fondateur, et Directeur Scientifique d'ERYTECH Pharma. Avant de co-fonder la société, Yann était le directeur de R&D d'Hemoxymed Europe. Il a également été consultant en développement industriel pour BioAlliance Pharma et Hemosystem. Yann est Docteur ès Sciences de la Vie et de la Santé de l'Université de Nantes, Ingénieur Biomédical de l'Université de Technologie de Compiègne et est titulaire d'un Master « Développement Clinique des Produits de Santé » de l'Université de Lyon, France. Il est inventeur de 11 brevets et co-auteur de 28 publications scientifiques. Il est membre de plusieurs sociétés savantes.

**Olivier GUAIS, Adisseo**

Après un DEA en génétique à l'Université des Sciences et Technologies de Lille, il a réalisé un doctorat en contrat CIFRE pour la société Adisseo. Les travaux concernaient la caractérisation du Rovabio, produit enzymatique naturel et complexe, très efficace pour la dégradation des polysaccharides non amylacés. La caractérisation protéomique du produit combinée au séquençage du génome de l'organisme producteur a ouvert de nouvelles possibilités d'optimisation. Il a ensuite intégré le CINABio (Centre d'INnovation et d'Amélioration des Bioprocédés d'Adisseo) en tant que responsable développement biochimie/enzymologie en 2009. Il participe désormais activement au développement de nouveaux produits enzymatiques.

**Kevin HARDOUIN, Amadéite, Olmix**

Doctorant en Biologie Marine

Thèse CIFRE au sein d'OLMIX S.A. et du Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines (Université de Bretagne-Sud).

Issu d'une formation technologique (DUT) dans le domaine médical, Kevin Hardouin s'est ensuite orienté vers la recherche académique et les algues durant son cursus universitaire. Il est titulaire d'un Master Biotechnologie/Valorisation des Ressources Biologiques de l'Université de Bretagne-Sud. Au cours de stages, ses travaux ont porté sur l'algue rouge *Solieria chordalis* et l'algue verte *Ulva* sp. Ces deux algues ayant pour point commun leurs échouages massifs sur les côtes bretonnes, ses recherches l'ont donc mené à identifier des voies de valorisation potentielles.

Actuellement en doctorat CIFRE au sein de la société Olmix S.A et du Laboratoire de Biotechnologie et Chimie Marines (LBCM) de l'Université de Bretagne-Sud, Kevin Hardouin travaille dans le cadre du projet ULVANS (Ulves Valorisation Nutrition Santé) sur la mise au point d'un procédé d'extraction assistée par enzyme(s) de métabolites d'algues vertes du genre *Ulva* sp. en vue d'applications dans les domaines de la nutrition et la santé, animale et végétale. A l'heure actuelle, ses recherches l'ont conduit à mettre en évidence les bénéfices apportés par les enzymes pour l'extraction de molécules

d'intérêt (Hardouin et al., 2013, J. Appl. Phycol.) mais également à s'intéresser aux verrous industriels liés à l'utilisation du cracking enzymatique.

**Laurence HECQUET, Université Blaise Pascal - Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (ICCF)**

Après un doctorat d'Université portant sur la « Synthèse enzymatique d'analogues de sucres en vue de la production d'un arôme à statut naturel" en collaboration avec Sanofi, elle a été nommée Maitre de Conférences à l'Université Blaise Pascal de Clermont en 1992. Laurence Hecquet a effectué un stage post-doctoral à l'Institut Karolinka de Stockholm (Suède) sous la direction du professeur G. Schneider portant sur l'étude et la modification du site actif d'une transcétolase par mutagenèse. Laurence Hecquet a ensuite été nommée professeur en 2000 et elle est actuellement responsable de l'Equipe SEESIB « Synthèse et Etude de Systèmes à Intérêt Biologique » au sein de l'Institut de Chimie de Clermont-Ferrand (UMR 6296CNRS). Elle est aussi présidente du « Club Bioconversion en Synthèse Organique » (CBSO), réseau français d'une vingtaine de laboratoires académiques, spécialisés en biocatalyse.

Ses activités de recherche portent sur la synthèse enzymatique d'analogues de polyols chiraux par formation stéréospécifique de liaison C-C, l'ingénierie d'enzymes (surexpression, mutagenèse dirigée et aléatoire, immobilisation) et le développement de tests enzymatiques pour le screening de banques d'enzymes ou pour des applications biomédicales. Ses travaux s'appuient sur des collaborations nationales et internationales dans le cadre de nombreux programmes et réseaux et sur des partenariats industriels.

**André KLAASSEN, Dyadic International**

Sales & Marketing Director

Europe, Middle East & Africa – Dyadic Netherlands

In the mid eighties, André started his career at Gist-brocades in Delft the Netherlands in the production of penicillin's. During this time he studied Process engineering which supported his move to the R&D group to work on Downstream Processing of newly developed enzymes. After Genencor bought the Industrial Enzyme Business from Gist-brocades, André moved into Application Development & Technical Service which led eventually to his business career in Starch, Glucose and Ethanol enzymes. After a brief Product Management function in Feed Enzymes, André build his customer portfolio throughout Europe, the Middle East and Africa in Sweeteners and Fuel Alcohol.

Later Danisco purchased the Genencor shares and the company had moved into the facility in Leiden's Bioscience park. After DuPont acquired Danisco, André continued for some time as Key Account Manager but then decided to look for a new challenge.

At 51 years of age, this past June, André has been appointed Sales & Marketing Director for Europe, Middle East and Africa at Dyadic. It is his job to help grow the company by implementing new innovation in Sales & Marketing and guide the company's Application & Technical Service efforts.

**Danielle LANDO, Adebiotech**

Danielle Lando est titulaire d'un doctorat d'état obtenu à l'Institut Pasteur pour la recherche en virologie. Elle a effectué sa carrière dans l'industrie pharmaceutique où elle a exercé des fonctions de chercheur en pharmacologie cellulaire et moléculaire avant de prendre la responsabilité des biotechnologies au sein de Roussel Claf devenu Aventis.

Elle a œuvré pour des rapprochements entre son entreprise et le secteur académique en soutenant des projets collaboratifs. Elle a été membre nommé au Comité National du CNRS de 1995 à 2000.

Depuis 2001, elle exerce des activités scientifiques bénévoles au sein d'Adebiotech et est actuellement vice-présidente d'Adebiotech.

**Pierre LANOS, Roquette**

Diplômé de l'ENSIA-Massy, Pierre LANOS rejoint le groupe ROQUETTE (un des leaders mondiaux de l'amidonnerie) en 1989. Il a occupé de nombreux postes : ingénieur junior R&D, manager de production, chef de projet d'amélioration de la performance.

Depuis 2009 au sein de la Direction Etudes de Procédés, il est l'expert ROQUETTE des procédés Amidons, Sucres liquides/poudres et Fermentaires.

En tant que Senior Process Manager, il a la charge des développements procédés à des fins d'amélioration et d'innovation des procédés pour le groupe Roquette.

Son domaine de compétence aussi bien Up-Stream et Down-Stream lui a permis de participer aux développements de nombreux produits innovants. On peut citer quelques réalisations :

Procédé fermentaire batch et continu avec recyclage de levure : Production d'enzymes, d'acide organiques, de sucres et de polyols

Développement et amélioration de procédés : Séparation chromatographique, déminéralisation, cristallisation, séchage,

Développement de nouveaux produits par catalyse enzymatique. Génomique et Down Stream Processing (DSP)

#### **Sylvain LAPERCHE, *Novozymes***

Sylvain Laperche possède un Master en biochimie de la Faculté des sciences et technologies de Nancy 2, en France. Il possède également un diplôme d'études supérieures en technologie alimentaire et des boissons de l'université FH-Lippe de Lemgo, en Allemagne. En septembre 2012, il a été nommé Directeur des grands comptes au sein du groupe Novozymes Grain Processing, axé sur les biocarburants 1 G à base d'amidon en Europe.

M. Laperche a rejoint Novozymes en 2003 en tant que scientifique spécialiste en applications et responsable des ventes pour les spécialités alimentaires et a occupé divers postes au sein de l'entreprise, et a notamment été impliqué dans la direction des Opérations commerciales depuis la DR basée en Suisse.

M. Laperche a pris part à des projets de biotechnologie radicalement innovants, et il orchestré des contrats stratégiques mondiaux, le soutien technique et la gestion des produits avec le réseau du service clientèle. Il est en charge de la stratégie mondiale et de la gestion des projets pour les comptes partenaires stratégiques.

#### **Mélanie LE PLAINE-MILEUR, *SYNPA***

Diplômée de l'ENSIA (devenue AgroParisTech Massy), elle obtient son diplôme d'ingénieur des industries agroalimentaires - spécialité « sciences de l'aliment » . Elle apporte un complément juridique et politique à sa formation avec le DESS « Droit de la sécurité sanitaire et alimentaire » (La Sorbonne) et la formation « Alimentation et politiques publiques » suivie à l'ENGREF.

Cette double formation lui ouvre les portes du SYNPA, qu'elle intègre en 2006 en qualité de chargée d'affaires réglementaires. En octobre 2007 elle est nommée Secrétaire Générale du SYNPA.

Mélanie Le Plaine-Mileur intervient régulièrement auprès des professionnels de l'alimentaire (pôles de compétitivité, CRITT, associations professionnelles, Master « Management of Industrial Performance of dairy companies»...) et des futurs professionnels (AgroParisTech, AgroSupDijon).

Le SYNPA, les ingrédients de spécialité de la chaîne alimentaire, est l'association professionnelle représentative des producteurs et distributeurs de ces ingrédients, tant en alimentation humaine qu'animale. Créé en 1968, il regroupe 41 sociétés.

Le périmètre des produits représentés au SYNPA couvre les additifs pour l'alimentation animale, ainsi qu'en alimentation humaine : les ingrédients fonctionnels (vitamines, minéraux, fibre...), les ferments, les novel foods, les additifs alimentaires et les enzymes alimentaires. La réglementation et la communication sont le cœur de métier du SYNPA. Le SYNPA a récemment développé des brochures pour mieux expliquer les rôles et bénéfices des ingrédients de spécialité, l'une consacrée aux additifs alimentaires, l'autre aux ingrédients santé. Les suivantes seront consacrées aux ferments et aux enzymes alimentaires.

Tourné vers l'innovation, le secteur consacre 5 % de son chiffre d'affaires au poste de R&D.

Le SYNPA coopère avec plusieurs associations : en France avec l'ANIA (Association nationale des industries alimentaires) et Réséda (réseau pour la sécurité et la qualité des denrées animales) ; au niveau européen, avec l'ELC (Federation of European Specialty Food Ingredients Industries) et la FEFANA (EU Association of Specialty Feed Ingredients and their Mixtures).

#### **Antoine MARGEOT, *IFP Energies Nouvelles***

Antoine Margeot est ingénieur AgroParisTech, docteur et HDR de l'Université Paris 7. Après une thèse en génomique de la levure *Saccharomyces cerevisiae* soutenue en 2005, il a rejoint IFP Energies nouvelles. Il y exerce la fonction de chef de projet sur le thème de la conversion de la biomasse lignocellulosique en alcools carburants, et plus spécifiquement sur les étapes d'hydrolyse enzymatique et de production d'enzymes par le champignon filamentueux *Trichoderma reesei*. Biologiste moléculaire de formation, son champ d'expertise recouvre à la fois la conception d'enzymes plus efficaces et le développement de souches industrielles plus productives par voie d'ingénierie génétique. Il est intervenu en tant que coordinateur ou Work Package leader dans plusieurs projets ANR ou Européens sur ces thématiques, notamment les projets ANR HYPAB, E-Tricel et ACTIFE, ou le projet FP6 NILE. Aujourd'hui, il est partie prenante avec les équipes d'IFP Energies nouvelles dans le projet FUTUROL, qui vise à mettre sur le marché un procédé pour assurer la production de bioéthanol de deuxième génération à partir de plantes entières dédiées mais aussi de coproduits agricoles et forestiers, résidus verts et autres biomasses lignocellulosiques. Antoine Margeot est auteur d'une quinzaine de publications et d'une dizaine de brevets.



**Alain MARTY, Carbios**

Diplômé ingénieur en Génie Biochimique de l'INSA de Toulouse en 1989 et après une thèse au Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés à Toulouse (LISBP, INSA, UMR CNRS 5504, UMR INRA 792), Alain Marty a été recruté comme enseignant-chercheur à l'INSA de Toulouse. Depuis 2007, il est Professeur et ses activités de recherche sont focalisées sur le développement de procédés enzymatiques et l'ingénierie enzymatique. Depuis 3 ans, il est consultant auprès de la société Carbios et depuis 2 ans, il fait partie de son Conseil Scientifique. Il est très impliqué dans le projet Thanaplast, soutenu par BPI France, dont l'ambition est d'associer biotechnologie et plasturgie pour développer des polymères biodégradables compétitifs à durée de vie adaptée à l'usage.

Site internet du Lisbp : <http://www.lisbp.fr/>

Site internet de Carbios : <http://www.carbios.fr/>

**Gurvan MICHEL, Station Biologique de Roscoff**

Après une thèse en cristallographie des protéines à l'Institut de Biologie Structurale de Grenoble (1997-2000) et un post-doctorat de deux ans au Biotechnology Research Institute de Montréal (Canada), Gurvan Michel a été recruté en 2003 à Station Biologique de Roscoff comme Chargé de Recherche CNRS. Avec Mirjam Czjzek (DR1 CNRS), il a participé au développement du premier groupe de biocristallographie en Bretagne (Equipe Glycobiologie Marine, UMR 8227). Depuis 2011, il est Directeur de Recherche CNRS. Sa stratégie de recherche actuelle est de combiner des approches génomiques à des méthodes structurales pour étudier la fonction de nouvelles enzymes de bactéries et algues marines. Avec Tristan Barbeyron (IR1 CNRS), il a coordonné le séquençage et l'annotation du génome de *Zobellia galactanivorans*, une bactérie marine modèle pour la bioconversion des polysaccharides d'algues. L'exploitation de ces données génomiques a notamment permis la découverte de nouvelles classes d'enzymes spécifiques de la dégradation des agars. De façon inattendue, ces gènes de bactéries marines ont été transférés à des bactéries intestinales d'individus japonais en raison de la consommation traditionnelle d'algues alimentaires au Japon (Hehemann et al, Nature, 2010). Il a aussi récemment analysé le métabolisme des glucides des premières algues brunes et rouges dont le génome a été séquencé, *Ectocarpus siliculosus* (Cock et al, Nature, 2010) et *Chondrus crispus* (Collén et al, PNAS, 2013). Depuis le 1er janvier 2014, il est co-responsable de l'équipe Glycobiologie Marine avec Mirjam Czjzek.

**Pierre MONSAN, INSA Toulouse**

Pierre Monsan (65) est professeur émérite de l'INSA de Toulouse (Université de Toulouse) et professeur de l'option Biotechnologie de l'Ecole des Mines ParisTech. Il est membre Senior de l'Institut universitaire de France depuis 2003. Il est directeur de la Cellule Exécutive du démonstrateur préindustriel « Toulouse White Biotechnology » (UMS INRA/INSA/CNRS), doté de 20 M€ par l'ANR au titre du programme Investissements d'avenir. Il est co-fondateur des sociétés BioEurope, BioTrade et Génibio, et membre fondateur de l'Académie des Technologies. Il est membre du Conseil Exécutif de la Fédération Européenne de Biotechnologie et Vice-président de de la Fédération Française de Biotechnologie. Il représente la France au Conseil d'administration de l' « International Carbohydrate Organization ». Il préside le Comité Consultatif Régional Recherche Développement Technologiques Midi-Pyrénées.

Son domaine de recherche est celui de la catalyse et de l'ingénierie moléculaire enzymatiques. Il est l'auteur de plus de 220 publications scientifiques, de deux ouvrages et de 61 brevets. Son facteur H est 35.

[Pierre.Monsan@insa-toulouse.fr](mailto:Pierre.Monsan@insa-toulouse.fr)

**Lionel MUNIGLIA, Biolie**

Directeur scientifique BIOLIE - Maître de Conférences LIBio / ENSAIA / UL

A l'issu d'un doctorat en procédés biotechnologiques et alimentaires obtenu en 2001, Lionel MUNIGLIA focalise ses travaux de recherche sur l'emploi de catalyseurs enzymatiques pour le développement de procédés d'extraction et de synthèse de biomolécules respectueux de l'environnement. Il développe ses activités autour de la biocatalyse à l'ENSAIA (Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires) où il est nommé Maître de Conférence en 2002. Quelques années plus tard, un procédé de fractionnement du végétal assisté par des enzymes en phase aqueuse est mis au point et breveté. Les applications pour cette technologie étant nombreuses, il crée en 2012 la société BIOLIE qui exploite le brevet pour lequel elle dispose d'une licence internationale exclusive. Sur le principe de la bioraffinerie, BIOLIE propose une valorisation complète des matières premières végétales traitées : huiles, protéines, sucres, polyphénols... Ses travaux contribuent aussi à développer des procédés de biosynthèse enzymatique avec comme spécialité les oxydases et plus particulièrement les laccases. De nombreux dérivés de composés phénoliques peuvent ainsi être produits en phase aqueuse avec des applications variées comme la production de colorants identiques-nature ou la fonctionnalisation de biopolymères comme le chitosane.

Aujourd'hui, Lionel MUNIGLIA assure la direction scientifique de la société BIOLIE et poursuit ses travaux de recherche au laboratoire d'Ingénierie des Biomolécules (LIBio) de l'Université de Lorraine sur la catalyse enzymatique et le développement de procédés « verts » respectueux de l'environnement.

**Gilles MUR, DuPont Industrial Biosciences**

Global Marketing Director, Home and Personal Care, DuPont Industrial Biosciences

Gilles is graduated from "Industrial Physics and Chemistry School of Paris" and have a MSc in Science of materials, and an executive MBA from INSEAD. After more than 10 years of various global business management responsibilities in the food ingredients business Danisco, he joined Genencor, the Biotechnology division of Danisco in 2007 to lead global business development for animal nutrition and food markets. In this role, he led strategic projects such as acquisitions, strategic partnerships and alliances.

Then, he took the responsibility for Sales and Marketing Excellence in Genencor. Further to the acquisition of Danisco by DuPont, Gilles has been moving to a new position as Global Marketing Director for the Home and Personal Care business in DuPont Industrial BioSciences.

**Patrice PELLERIN, Oenobrand**

Titulaire d'un Doctorat en Biochimie Appliquée à l'Université des Sciences et Techniques de Lille, et de l'Habilitation à Diriger les Recherches, spécialité Biologie, de l'Université Joseph Fourier de Grenoble, Patrice Pellerin a effectué la première partie de sa carrière à l'INRA en tant que scientifique, dans les centres de recherche de Villeneuve d'Ascq puis de Montpellier.

Au cours de sa carrière de scientifique, il a effectué des stages post-doctoraux à l'Institut Bolivien de Biologie d'Altitude, en Centre de recherche de Rhône-Poulenc Agro, et au Complex Carbohydrate Research Center, University of Georgia.

En 1999, a rejoint DSM Food Specialties, où il a été en charge de l'équipe application des enzymes alimentaires destinées aux industries des boissons, de la panification et des ovoproduits. Depuis 2010, il est responsable Développement et Application d'Oenobrand, JV entre DSM Food Specialties et Rymco International, dédié aux ingrédients biotechnologiques utilisés en vinification.

Patrice Pellerin est l'auteur de plus de 50 publications scientifiques, co-inventeur d'une dizaine de brevets et les produits qu'il a contribué à développer et commercialiser ont fait l'objet de plusieurs prix innovations.

**Cécile PERSILLON, Protéus**

Cécile Persillon graduated in Industrial Biochemistry from the INSA (Institut National des Sciences Appliquées) of Toulouse, France and received a PhD in 1993 from INSA in Toulouse.

In 1995, she joined the biotech company Appligene, Illkirch (France) as Research scientist. She established and developed recombinant expression of enzymes and nucleic acid extraction kits.

Cécile was one of the first scientists to join Protéus as Research Scientist. Protéus is a biotechnology company dedicated to the discovery and design of novel enzymes and bioprocesses for industrial and environmental application. She rapidly became Project Manager. Cécile successfully managed several challenging R&D programs including biodefense and environmental projects. She acquired a strong experience in the management of multidisciplinary project teams.

In 2010, after completion of the acquisition of Proteus by the PCAS Group, Cécile Persillon was appointed Scientific Manager. Her duties now include the design of scientific strategies that meet the expectations of the company and its clients.

**Magali REMAUD-SIMEON, INSA Toulouse**

Professeur à l'INSA de Toulouse, elle anime depuis 2002 le groupe Catalyse et Ingénierie Moléculaire Enzymatiques du Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et Procédés. Ses activités de recherche concernent l'étude des relations structure-fonction et l'ingénierie d'enzymes. Elles visent à élucider les facteurs intervenant dans la promiscuité des enzymes et à développer des méthodologies d'ingénierie semi-rationnelle s'appuyant sur des analyses structurales et biochimiques ainsi que des outils de modélisation moléculaire. Par mise en œuvre de technologies d'évolution in vitro des protéines, l'objectif ultime est la génération d'enzymes déployant de nouvelles spécificités pour une intégration réussie dans de nouvelles voies métaboliques ou procédés de synthèse enzymatique ou chimio-enzymatique originaux.

Membre du CA de la SFBBM depuis début 2012 et du groupe thématique Enzymes depuis 2010.

**Jean-François ROUS, SAS PIVERT, Groupe Sofiprotéol**

Après avoir exercé différentes fonctions, toujours dans le secteur de l'innovation, dans des grands groupes multinationaux, Jean-François a intégré l'Agence de l'Innovation Industrielle (AII) où il a participé à la genèse d'un certain nombre de grands projets d'innovation français.

En 2008 il rejoint le Groupe Sofiprotéol où en 2010, il prend la responsabilité de la Direction Innovation où sa principale mission est de développer et conduire la vision Innovation du groupe dans les différents secteurs de l'énergie et de la chimie durables, de l'alimentation humaine et de la nutrition animale.

Depuis avril 2012, il assume les fonctions de président de la SAS PIVERT, société créée à ce moment-là pour gérer l'IEED éponyme.

**Jean-Luc SIMON, Ingredia**

Ingénieur ENSAIA, Docteur en Biotechnologies et Sciences de l'aliment, Habilitation à diriger des recherches en Sciences alimentaires et Biotechnologies.

Professeur contractuel en Biotechnologies dans différentes universités françaises et organismes de formation professionnelle. Chairman de colloques sur les Biotechnologies. Rapporteur de thèses. Expert à l'Agence nationale de la recherche. Ex membre du Comité stratégique de l'ADEME.

Ex rédacteur en chef de la rubrique Biotechnologies de la revue « Techniques de l'Ingénieur ».

Président du Groupe Génie des Procédés Biotechnologiques et alimentaires de la Société française du Génie des procédés.

Vice-président du pôle de compétitivité Nutrition Santé Longévité du Nord Pas de Calais. Membre du pôle de compétitivité Goût Nutrition Vitagora de Dijon.

Membre du Comité scientifique du CNIEL (industries laitières), de l'Institut Carnot Qualiment, de la Commission recherches de l'ANIA, de la plateforme Food for Life France et d'Adebiotech.

Directeur de la Recherche et du Développement du groupe Ingredia, spécialiste des ingrédients fonctionnels et nutritionnels issus du lait, depuis 2009.

Directeur de la Recherche du Groupe Lesaffre, leader mondial des levures pour les applications alimentaires, nutraceutiques et les biocarburants, de 2001 à 2009.

Directeur des recherches en procédés de production d'ingrédients biologiques pour toutes applications hors Pharma chez Rhodia de 1993 à 2001.

Chef de projet de recherches en procédés biochimiques chez Rhône-Poulenc Santé de 1985 à 1991. Animateur des recherches en procédés biochimiques de Rhône-Poulenc Rorer de 1991 à 1993.

**Philippe SOUCAILLE, METabolic Explorer**

Directeur Scientifique

Philippe Soucaille, qui a rejoint METabolic EXplorer en 2002 est un professeur de renommée internationale à l'Institut National des Sciences Appliquées (INSA) de Toulouse, une école d'ingénieur réputée en biotechnologie. Auparavant, il a été senior scientist et chef de projet au sein de Genencor International Inc (USA) où il a dirigé une collaboration industrielle avec Dupont de Nemours. Ces recherches innovatrices représentent un important progrès technologique dans le domaine du développement de produits chimiques à partir de matières premières propres et renouvelables.

**Patrice SOUMILLION, Université Catholique de Louvain**

Patrice Soumilion a réalisé un doctorat en biochimie à l'Université catholique de Louvain (UCL) sous la supervision du Professeur Jacques Fastrez. Après un stage postdoctoral dans le laboratoire du Professeur Steven Benkovic (Pennsylvania State University), il revient à l'UCL comme chargé de recherches (1996) puis chercheur qualifié (1998) du Fonds National pour la Recherche Scientifique (FNRS). Depuis 2011, il est Professeur à l'UCL et travaille au sein de l'Institut des Sciences de la Vie, dans le groupe de Biochimie, Biophysique et Génétique Microbienne. Ses recherches concernent essentiellement l'évolution dirigée des enzymes via des approches de sélection in vivo et in vitro (phage display, compartimentalisation). Plus récemment, il a développé une autre activité centrée sur l'ingénierie de peptides cycliques biosynthétiques générés par épissage d'intéines.

**Charles TELLIER, CNRS/Université de Nantes**

Professeur des universités classe exceptionnelle à l'université de Nantes

Doctorat d'État ès Sciences en 1986 à l'université de Nantes.

Charles Tellier, 59 ans, est Professeur de Biochimie à l'université de Nantes où il enseigne dans les trois cycles universitaires et dans les filières des sciences de la vie et de chimie. Biochimiste de formation à l'ENS Cachan, il a orienté, dès le début des années 80, ses recherches à l'interface de la chimie et de la biologie. Au début de sa carrière, il se consacre aux développements de la RMN en biologie, puis après un séjour d'un an à Texas A.& M University (1989-90), il s'oriente vers l'ingénierie des protéines en travaillant successivement sur l'obtention d'anticorps catalytiques, l'évolution dirigée d'enzymes et de protéines affines. Plus récemment, il s'est également intéressé à de nouvelles stratégies d'ancrage de biomolécules sur les biopuces. Il est l'auteur de plus de 70 articles scientifiques. Il est Directeur de l'Unité de Fonctionnalité et Ingénierie des Protéines (UFIP, UMR CNRS 6286) à l'Université de Nantes, et depuis septembre 2008, Directeur de l'école doctorale régionale « Biologie –Santé » (ED502, 300 doctorants). Il a été membre (2007-08) du comité national du CNRS (section 21) et membre du comité SVSE8 du programme Blanc de l'ANR (2011-2013). Il est co-fondateur d'une entreprise de biotechnologie « Affilogic » en 2010.

**Noël van PEIJ, DSM Biotechnology Center**

Noël van Peij (born 12-07-1969, Dutch nationality) studied Molecular Sciences at Wageningen University, where he also obtained his PhD on the characterization of xylanase gene regulation in *Aspergillus niger*.

After a short post-doc period at Groningen University, he is working for DSM since 1999 currently in the position as principal scientist at the DSM Biotechnology Center in Delft, the Netherlands. For 17 years he is working with filamentous fungi in the field of carbohydrate degradation, enzyme expression and molecular genetics. His main responsibilities currently are in strain development and screening for the production of enzymes and metabolites. He is the (co-)author of >10 scientific papers and inventor on >20 patent applications.

**Theo VERLEUN, DSM Bio-based Products & Services B.V.**

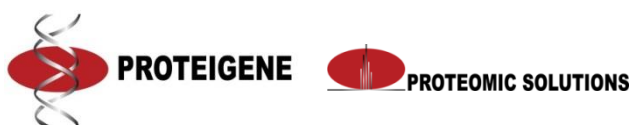
Theo Verleun is has an education in medical biochemistry and as such worked in hospital setting on brain cancer research as well as HIV diagnostics. Moved into the industrial biotechnology and has hands on experience in virtually all industrial enzyme settings from paper, detergents, leather, textile to food and cosmetic applications of enzymes. In this lecture Theo will take us into the activities of DSM in the Biobased Economy. In which DSM is looking for innovation to convert "agricultural and household waste" to useful products.

**Gabrielle VERENOSE, INSA Toulouse**

Gabrielle Veronese est Directeur de Recherche INRA au Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés à Toulouse. Elle détient un doctorat de Biologie-Biotechnologies de l'INSA de Toulouse, et a intégré le LISBP en 2001 après un post-doctorat au CEA. Ses travaux portent sur la découverte et l'ingénierie de nouvelles enzymes pour les biotechnologies industrielles.

# Stands

---





## Liste des Participants

ABOT.....	Anne.....	INSA TOULOUSE
ALIPRANDI.....	Pascale.....	METABOLIC EXPLORER
ALPHAND.....	Véronique.....	CNRS
ANDRE.....	Claire.....	UFR SMP-UNIV. FRANCHE-COMTÉ
ANDRÉ.....	Isabelle.....	INSA TOULOUSE
ANISSIMOVA.....	Macha.....	GLOBAL BIOENERGIES
ANTHONI.....	Julie.....	ARD
ARAR.....	Khalil.....	SIGMA-ALDRICH
AUCLAIR.....	Eric.....	LESAFFRE FEED ADDITIVES
AURIOL.....	Daniel.....	LIBRAGEN
AUTRET.....	Jean-Marie.....	INSTITUT DE RECHERCHE PIERRE FABRE
BAJUL.....	Gilles.....	CELODEV
BARAILLER.....	Christian.....	SAFIC ALCAN
BARET.....	Jean-Luc.....	FERM'N ZYM
BARILLON.....	Bruno.....	SUEZ ENVIRONNEMENT
BENEYTON.....	Thomas.....	ESPCI
BENSOUSSAN.....	Claude.....	BIOADVICE
BENTLEY.....	Ian.....	AB ENZYMES GMBH
BERTI.....	Liliane.....	UNIV. CORSE PASQUALE PAOLI
BERTIN.....	Marine.....	SANOFI
BEY.....	Mathieu.....	BIOMÉTHODES
BIGOT.....	Benoit.....	FLOTTWEG FRANCE
BIZET.....	Chantal.....	INSTITUT PASTEUR
BIZOT.....	Jean-Sébastien.....	FLOTTWEG FRANCE
BÖHNERT.....	Heidi.....	CPE- LYON
BOITARD.....	Laurent.....	BIOMILLENIA
BONNIER.....	Véronique.....	ID MER
BOUQUET.....	Peggy.....	PROCIDYS
BOUSSANGE.....	Jean.....	GE HEALTHCARE
BOUVERET.....	Thérèse.....	BIOTECHINFO 3.0
BOX.....	Olivier.....	UNIV. CATHOLIQUE DE LOUVAIN
BROSSAT.....	Maude.....	L'ORÉAL
CHAUDIERE.....	Jean.....	UNIV. BORDEAUX
CHAUPRADE.....	Christa.....	SILAB
CHAUVIN.....	Dany.....	ESPCI
CHEVREL.....	Anne.....	IBBMC
CHIRINO.....	Bernardita.....	SWISSAUSTRAL BIOTECH
CLAVERIE.....	Marion.....	LISBP
COLAVIZZA.....	Didier.....	LESAFFRE INTERNATIONAL
CRISTOFANI.....	Joelle.....	GE HEALTHCARE
DALIGAULT.....	Franck.....	UFIP/ UNIVERSITÉ DE NANTES
DANIELLOU.....	Richard.....	ICOA UMR CNRS 7311
DAVID.....	Christine.....	INRS
DE BERARDINIS.....	Véronique.....	GENOSCOPE
DE BRUYN.....	Colin.....	ENZYBEL INTERNATIONAL
DELANNOY.....	Charles.....	PROCIDYS
DELBARRE-LADRAT.....	Christine.....	IFREMER

DEQUIER.....	Emmanuel .....	GIP GENOPOLE
DERVYN.....	Etienne .....	INRA
DHAISNE.....	Amandine .....	SOREDAB
DHULSTER.....	Pascal.....	INSTITUT CHARLES VIOLLETTE
DOS SANTOS.....	J-P.....	HTS BIO
DREVELLE.....	Antoine .....	GROUPE SOUFFLET
DRILLET.....	Yoan .....	BROCELIANDE
DUCATEL.....	Hélène .....	CVG
DULERMO.....	Rémi .....	INRA-MICALIS
DULERMO.....	Thierry .....	INRA-MICALIS
DUMAS .....	Bruno.....	SANOFI
DUMAY.....	Justine .....	MMS-UNIV. NANTES
ECHEGARAY .....	Eleonora .....	SWISSAUSTRAL BIOTECH
ESNAULT .....	Eric .....	LYVEN
EUZENAT.....	Olivier .....	BIO SPRINGER
FARGUES .....	Claire .....	ADEPRINA
FAVREAU.....	Charlotte.....	TAKABIO
FISCHER.....	Cécile.....	CEA-IG GENOSCOPE/UEVE/CNRS
FOUQUES.....	Dominique .....	AGROPARISTECH
FOURAGE.....	Laurent .....	TOTAL
FRANCOIS-LOPEZ.....	Emilie.....	CNRS
FRELET-BARRAND .....	Annie .....	CNRS
FROIDEVAUX .....	Gianni .....	INGREDIA
FROIDEVAUX .....	Rénato .....	INSTITUT CHARLES VIOLLETTE
GADOT.....	Philippe.....	DSM DFS
GARCIA.....	Rebeca .....	CNAM
GARCONNET.....	Renaud .....	SOREDAB
GATTIN.....	Isabelle .....	ESITPA
GELU-PUJIC.....	Mirjana .....	SOLVAY
GEOFFROY .....	Françoise.....	DSM FOOD SPECIALTIES
GERHARDT .....	Cindy .....	DSM INNOVATION
GINISTY.....	Hervé.....	GTP TECHNOLOGY
GODFRIN .....	Yann .....	ERYTECH PHARMA
GODINA .....	Alexei.....	ETH ZURICH
GOURDEL.....	Marie-Edith .....	HYBRIGENICS SERVICES
GRAILLE .....	Emmanuel .....	LYVEN
GUAIS .....	Olivier .....	ADISSEO
GUERARD.....	Fabienne.....	IUEM / UBO
GUERRAND.....	David .....	INDEPENDANT
GUYONVARCH.....	Alain.....	INVIVO NSA
HARDOUIN .....	Kevin.....	OLMIX, AMADÉITE
HECQUET .....	Laurence.....	CBSO
HENRY.....	Sylvain .....	SAFIC ALCAN
HENRYON.....	Vivien.....	ACTIVATION
HETZEL.....	Christian .....	M2P-LABS GMBH
HIDOT .....	Grégory.....	PALL LIFE SCIENCES
HOCHARD .....	Delphine .....	ARMOR PROTÉINES
HUGON .....	Stéphanie .....	DGE
HUPPERT .....	Arthur.....	SATT LUTECH
HURTADO-ORTIZ.....	Raquel .....	INSTITUT PASTEUR
JACOPINI.....	Sabrina .....	UNIV. CORSE PASQUALE PAOLI



JACQUES.....	Isabelle .....	CEA
JAILLARDON .....	Karine .....	ALDERYS
JOACHIM .....	Gilles.....	UNIV. CATHOLIQUE DE LOUVAIN
JOUSSET.....	Michel .....	SUEZ ENVIRONNEMENT
KEDDAM .....	Elise.....	DUPONT DANISCO
KERBAJE.....	Boutros .....	LIBIOS
KLAASSEN.....	Andre .....	DYADIC NETHERLANDS
KOENIG .....	Romain .....	NOVANCE
LADRIERE.....	Jean-Marc.....	LESAFFRE INTERNATIONAL
LANDO .....	Danielle.....	ADEBIOTECH
LANOS .....	Pierre .....	ROQUETTE
LAPERCHE .....	Sylvain .....	NOVOZYMES
LAVAL.....	Karine .....	ESITPA
LE BERRE.....	Véronique .....	LISBP
LE DEIT.....	Hervé .....	SATT OUEST VALORISATION
LE PLAINE-MILEUR.....	Mélanie .....	SYNPA
LEPLAT .....	Christophe .....	INRA-MICALIS
LOUIS.....	Dominique .....	ALDERYS
MAESTRACCI.....	Marc.....	ADISSEO
MALINGE .....	Jean.....	TOTAL E&P
MANACH.....	Michel .....	TWB
MANGIANTE .....	Gino.....	CARGILL
MARGEOT .....	Antoine .....	IFP ENERGIES NOUVELLES
MARIANI .....	Magali .....	UNIV. CORSE PASQUALE PAOLI
MARTY .....	Alain .....	CARBIOS
MAUGARD.....	Thierry .....	LIENSS CNRS
MAZALREY.....	Sylvain .....	SILAB
MECHAKRA-MAZA .....	Aïcha.....	UNIV. CONSTANTINE 1
MEREA.....	Cécilia.....	CHIMEX
MERIADEC.....	Elodie.....	THESEO
MICHEL.....	Gurvan.....	STATION BIOLOGIQUE DE ROSCOFF
MODESTE.....	Virginie.....	CITOLAB
MOINE.....	Virginie.....	BIOLAFFORT
MOÏNI.....	Fanny.....	THE COSMO COMPANY
MOLETTA-DENAT .....	Marina.....	INRA TRANSFERT ENVIRONNEMENT
MONCHY.....	Luen-Luen .....	CNRS
MONSAN.....	Pierre .....	LISBP
MOREAU.....	Sandrine .....	TECHNOLOGIE SERVIER
MORTAMAIS .....	Pierre .....	SOFT-INGREDIENTS
MOULIS.....	Claire .....	LISBP
MULLER.....	Aurélié .....	LIBIOS
MUNIGLIA .....	Lionel .....	BIOLIE
MUR .....	Gilles.....	DUPONT
NERON .....	Stéphane .....	CNAM
NETO.....	Roberto.....	ADISSEO
NICAUD.....	Jean-Marc.....	INRA-MICALIS
NORMAND.PLESSIER .....	France .....	BIOTECHNOLOGIE FRANCE
NYMAN .....	Anna-Karin.....	DYADIC
OLIVIER .....	Guilherm.....	DGE
OMASSON.....	Alain.....	PROTEIGENE
PAES .....	Gabriel .....	INRA

PANDJAITAN.....	Rudy.....	EVIAGENICS
PARMENTIER.....	Elsa.....	TEREOS
PATRASCU.....	Orlane.....	INRA
PELLERIN.....	Patrice.....	OENOBANDS
PERSILLON.....	Cécile.....	PROTÉUS
PEYRACHE.....	Sylvain.....	ACCINOV
PHALIP.....	Vincent.....	UNIV. STRASBOURG
PLOQUIN.....	Mickael.....	NEW ENGLAND BIOLABS FRANCE
PRIMS.....	Oscar.....	DSM ESPAÑA S.A.
RAIN.....	Jean-Christophe.....	HYBRIGENICS SERVICES
RANDRIANJATOVO.....	Irina.....	LBAE
RAOUCHE.....	Sana.....	INRA-UNIVERSITÉ AIX MARSEILLE
REA-BOUOTROIS.....	Angela.....	CPE- LYON
RECHENMANN.....	François.....	CAD4BIO
REMAUD-SIMÉON.....	Magali.....	INSA TOULOUSE
REMOND.....	Caroline.....	UNIV. REIMS
ROBERT.....	Bénédicte.....	CAFE SANS SUCRE
ROSE.....	Sébastien.....	AXYNTIS
ROUS.....	Jean-François.....	SAS PIVERT
ROUSSEAU.....	Alix.....	ARD
RUELLE.....	Virginie.....	INTEGRATED DNA TECHNOLOGIES
SAAIDI.....	Pierre-Loïc.....	GENOSCOPE CEA
SABLIER GALLIS.....	Frédérique.....	DA VOLTERRA
SALMAIN.....	Michèle.....	CNRS
SANCHEZ MARCANO.....	José.....	CNRS
SAPIN.....	Leslie.....	SOLETANCHE BACHY INTERNATIONAL
SARAZIN.....	Benoît.....	PROTEOMIC SOLUTIONS
SAUMONNEAU.....	Amélie.....	UNIV. NANTES
SAUX.....	Adrienne.....	LIBIOS
SAVITSKY.....	Valery.....	TEBU-BIO
SERGENT.....	Luce.....	COPALIS
SEVERAC.....	Etienne.....	LISBP
SIMON.....	Estelle.....	LESAFFRE FEED ADDITIVES
SIMON.....	Jean-Luc.....	INGREDIA
SOUCAILLE.....	Philippe.....	METABOLIC EXPLORER
SOUMILLION.....	Patrice.....	UNIV. CATHOLIQUE DE LOUVAIN
SPOLAORE.....	Pauline.....	BIO SPRINGER
SUAU.....	Laurent.....	LYCÉE RAOUL DAUTRY
TALBOT.....	Hélène.....	LABORATOIRES EXPANSCIENCE
TAYEB.....	Jean.....	INRA - UMR FARE
TELLIER.....	Charles.....	CNRS
TIJANI.....	Amina.....	NANOSERVE
TOITOT.....	Clarisse.....	ADEBIOTECH
TOZY.....	Rita.....	CRISTAL UNION
URBAN.....	Philippe.....	TWB UMS INRA INSA CNRS
VAN PEIJ.....	Noël.....	DSM BIOTECHNOLOGY CENTER
VAN REETH.....	Thierry.....	DELPHI GENETICS
VANDEPUTTE.....	Jacky.....	POLE IAR
VARKADOS-LEMARECHAL.....	M.....	BIOTECHINFO 3.0
VERLEUN.....	Theo.....	DSM BIO-BASED PRODUCTS & SERVICES
VERONESE.....	Gabrielle.....	INSA TOULOUSE

VERREZ-BAGNIS ..... Véronique ..... IFREMER-NANTES  
VINCENT..... Christian ..... VINCENT CONSULTANT  
WAHLER..... Denis ..... LIBRAGEN  
WATTEZ..... Elodie..... INGREDIA  
WESSEL ..... Julia ..... UNIV. CATHOLIQUE DE LOUVAIN  
WORONOFF..... Gabrielle ..... ESPCI  
ZAPARUCHA..... Anne ..... GENOSCOPE  
ZOUICHA ..... Yasmine..... PALL LIFE SCIENCES