

**HABILITATION A DIRIGER DES RECHERCHES
UNIVERSITE DE LILLE 1 SCIENCES ET TECHNOLOGIES**

N° d'ordre : 41747

NOM/PRENOM DU CANDIDAT : RAVALLEC Rozenn

Ecole doctorale : Sciences Naturelles
Laboratoire/Etablissement : Institut Charles Viollette
Discipline : Génie Biologique et Agro-Alimentaires

JURY :

- Garant de l'habilitation : Pr Pascal DHULSTER
- Rapporteurs : Pr Jean-Marie PIOT – Pr Pascal DEGRAEVE – Pr John VAN CAMP
- Examineurs : Pr Jean LESAGE – Pr Dominique VERCAIGNE

SOUTENANCE : Le 8 Juillet 2015 à 9h30 dans l'amphi APPERT (Polytech'Lille)

TITRE DE L'HDR :

Mise en évidence et caractérisation de l'activité biologique de peptides issus de l'hydrolyse de protéines agro-alimentaires

RESUME :

Mes travaux de recherche peuvent se diviser en deux thématiques dont l'objectif commun est de générer des connaissances sur les mécanismes de la digestion *in vivo* et le rôle biologique des peptides obtenus au cours des cinétiques de digestion. Pour cela, dans une première thématique, j'ai développé des tests de criblage d'activités nous permettant d'identifier, de caractériser et de purifier des peptides actifs pouvant être produits au cours d'une hydrolyse classique protéine/enzyme ou lors d'un processus de simulation de la digestion gastro-intestinale, processus étudié dans la deuxième thématique.

Tout au cours de ces années de recherche, la mise en place du criblage de certaines de ces activités biologiques, en particulier opioïde (relaxante-antistress), inhibitrice de l'ECA (Enzyme de Conversion de l'Angiotensine) (antihypertensive), et sécrétrice des CCK (cholecystokinines) (impliquée dans la régulation de la prise alimentaire), est effectué par des dosages *in vitro* simple, spécifiques et reproductible utilisant des techniques de compétition pour un récepteur ou de la culture cellulaire. Des dosages *in vivo* ont été effectués sur les hydrolysats (ou fractions d'hydrolysats) particulièrement actifs *in vitro* afin de caractériser et de confirmer l'activité biologique d'intérêt. Ces travaux sur des hydrolysats de poissons ou des extraits de levure ont fait l'objet de publications et de nombreuses communications. La mise au point de modèles cellulaires (STC-1, Caco2), membranaires devrait permettre la caractérisation de leur activité au-delà du simple criblage par la mise en évidence, par exemple, des récepteurs impliqués à différents niveaux de la signalisation. Un lien étroit entre les tests *in vitro* et les tests *in vivo* permettent dans de nombreuses études de confirmer les mécanismes biologiques supposés.

Il existe peu de lien entre l'univers de la biotechnologie et de la valorisation, qui consiste surtout à détecter l'activité potentielle, et l'univers de la physiologie qui cherche à expliquer les mécanismes mis en jeu dans l'activité biologique. L'objectif et l'originalité de ce projet est de chercher à construire ce lien, cette passerelle, entre le peptide actif et son activité en définissant les mécanismes et les voies de signalisation mis en place par la présence des séquences dites actives au niveau intestinal.

La découverte constante de molécules possédant des activités biologiques apporte sans cesse de nouvelles connaissances sur la complexité des mécanismes mis en jeu *in vivo*. Cependant il reste encore difficile, pour certain type d'activité, de tirer des généralisations sur la structure, la composition en acides aminés, la taille ou encore les propriétés physico-chimiques indispensables au maintien de l'activité. La multiplicité des séquences peptidiques générées par hydrolyse nous offre un large panel de propriétés structurales et physico-chimiques pouvant permettre, en utilisant des procédés technologiques tels que les membranes, de les séparer par famille de propriétés et d'en tirer les conditions nécessaires à l'activité. Ces informations cumulées permettent d'alimenter des bases de données pour la prédiction *in silico* des peptides actifs pouvant être générés par hydrolyse.

En parallèle des développements menés sur l'activité biologique, j'ai cherché à générer des connaissances sur les mécanismes de la digestion *in vivo* par la mise en place d'une digestion *in vitro* permettant de simuler les trois compartiments que sont la bouche, l'estomac et les intestins. Cette digestion de protéines agroalimentaires menée en parallèle de l'hydrolyse enzymatique devrait nous permettre de mieux comprendre l'impact de la cinétique de production des peptides actifs, dans les différents compartiments, sur les processus biologiques impliqués dans l'activité, en particulier orexigène/anorexigène. La stratégie mise en jeu est de s'appuyer sur les séquences des peptides issus de l'hydrolyse de certaines protéines agroalimentaires, connues du laboratoire (modèle hémoglobine/pepsine établi par une des équipes du laboratoire avec la cartographie peptidique complète) et de les utiliser pour identifier les peptides issus de la digestion simulée de ces mêmes protéines *in vitro*.

Une utilisation des technologies microfluidiques pour la simulation de la digestion en microsystème est également envisagée dans le cadre d'un travail commun avec une autre équipe du laboratoire.