

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LILLE 1 SCIENCES ET TECHNOLOGIES

N° d'ordre : 42488

NOM/PRENOM DU CANDIDAT : GILORMINI Pierre-André

Ecole doctorale : École doctorale Biologie Santé
Laboratoire : Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle
Discipline : Chimie Organique
Si cotutelle, établissement partenaire :

JURY:

- Directeur(s) de thèse : Pr. Christophe BIOT
- Rapporteurs : Pr. Dominique GUIANVARC'H, Dr. Alain WAGNER
- Examineurs : Pr. Patricia MELNYK, Dr. Véronique PILLER, Dr. Cédric LION

SOUTENANCE : 21/11/2017, 14 h, amphithéâtre du CCHB

TITRE DE LA THESE:

Nouvelles stratégies chimiques pour la visualisation et la compréhension des mécanismes de sialylation

RESUME:

Les glycanes, présents chez tous les êtres vivants forment une des grandes classes de biomolécules. À l'interface de la chimie organique et de la biologie, la chemobiologie a permis des avancées considérables comme le marquage métabolique des glycanes. Cette stratégie consiste en l'usage d'un monosaccharide modifié qui pourra entrer dans la cellule et emprunter ses voies métaboliques. Après incorporation, le rapporteur chimique est détecté de manière spécifique grâce à des réactions de ligation bioorthogonale entre le groupement incorporé et une sonde portant un groupement complémentaire. Cette thèse a pour but l'étude des acides sialiques selon deux axes :

(i) le développement d'une stratégie originale de marquage, utilisant de manière complémentaire deux monosaccharides modifiés, apportant de nouvelles informations sur les modes d'entrée de l'acide sialique exogène, mais aussi de son précurseur, la *N*-acétylmannosamine. (ii) l'introduction de manière exogène, d'acides sialiques modifiés mais cette fois avec des enzymes (sialyltransférases) qui transfèrent l'acide sialique préalablement activé sur des glycoprotéines solubles ou membranaires. À l'aide de suivis *in situ* par RMN ³¹P, une méthode versatile, simple et robuste a été développée pour la production d'acides sialiques activés utilisables immédiatement par des sialyltransférases recombinantes. Ces outils ont été appliqués à l'étude et à la caractérisation de différentes enzymes. Au-delà du développement d'outils, ces travaux de thèse ont permis l'application de nouvelles méthodes et stratégies à l'étude de mécanismes cellulaires, de réactions enzymatiques ou encore de déficiences de glycosylation.

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LILLE 1 SCIENCES ET TECHNOLOGIES

N° order: 42488

NAME/SURNAME OF THE CANDIDATE: GILORMINI Pierre-André

Doctoral School: École doctorale Biologie Santé

Laboratory: Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle

Discipline: Chimie Organique

In case of co-tutorial thesis, provide the partner institution:

THESIS COMMITTEE:

- Thesis supervisor(s): Pr. Christophe BIOT
- Referees: Pr. Dominique GUIANVARC'H, Dr. Alain WAGNER
- Examiners: Pr. Patricia MELNYK, Dr. Véronique PILLER, Dr. Cédric LION

DEFENSE: 2017.11.21, 2.00 pm, CCHB

TITLE OF THE THESIS:

Visualization and understanding of sialylation mechanisms through new strategies in
Chemical Biology

ABSTRACT:

Glycans are essential biomolecules found in every living system. The recent advent of chemical biology paved the way for great advances in glycobiology such as metabolic glycan engineering (MGE). This strategy consists in the use of a modified monosaccharide, the chemical reporter, which can enter the cell and hijack the metabolic pathway. Upon incorporation, the introduced chemical reporter detection is achieved in a specific manner through bioorthogonal ligation. The present work aims to study sialic acids, which are often found at the outermost position of glycan chains:

(i) we developed an original MGE-based strategy, using two different chemical reporters, each one being an analog of products from different steps of the biosynthetic pathway. This sequential bioorthogonal dual strategy (SBDS) has provided new insights in the entry mechanisms of both sialic acid and its precursor *N*-acetylmannosamine. (ii) we introduced chemically modified sialic acids, but, this time in an exo-enzymatic way, with specific glycosyltransferases (sialyltransferases) onto soluble glycoproteins or living cells. Before being transferred, sialic acids need to be activated as CMP-sialic acids which are very unstable and prone to decomposition. ³¹P NMR was used to optimize the production of ready-to-use CMP-sialic acids providing a versatile, simple and reproducible procedure. Natural and/or unnatural CMP-sialic acids have then proven to be great tools for the study and characterization of different enzymes. More than just a tool-box, this work describes some direct applications of our chemical tools to unravel cellular pathways, enzymatic reactions, or even biosynthesis defects.