

BBF et le Boite d'Outils Fongique

Craig Faulds

Professeur de Biochimie, Polytech, Aix-Marseille Université
Directeur de l'UMR Biodiversité et Biotechnologie Fongique (BBF)
(craig.faulds@univ-amu.fr)

Notre mission est de produire des connaissances génériques sur les champignons dégradant les lignocellulolytiques et leurs enzymes afin d'améliorer la transformation de la biomasse lignocellulosique dans la bioéconomie d'aujourd'hui.



La collection CIRM-CF

❑ Champignons filamenteux (> 3000 souches)

- Dégradation et transformation de la biomasse lignocellulosique
- 60 % Basidiomycètes (Polyporales)



Fomitopsis pinicola



Pycnoporus sanguineus



Leiotrametes sp.

- 40 % Ascomycetes



Trichoderma lycogaloides



Xylaria sp.



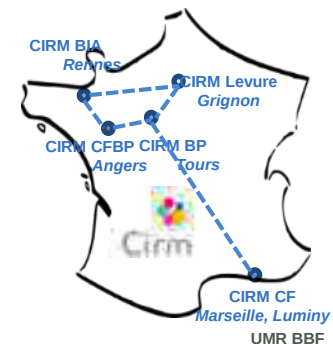
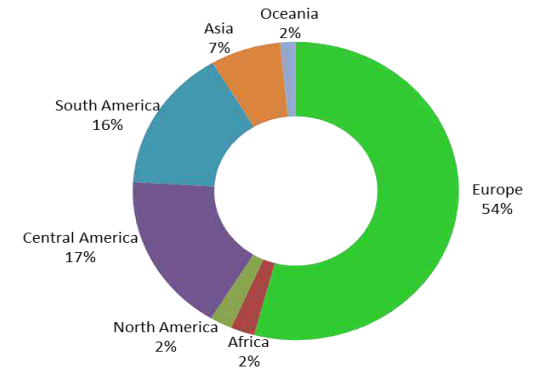
Trichoderma reesei

❑ Plateforme stratégique nationale (BRC)

- Préservation, enrichissement et diffusion des ressources fongiques
- Authentification des souches
- Services de génotypage et de dépistage



https://www6.inra.fr/cirm_eng/Filamentous-Fungi



CIRM-CF est une plateforme labellisée nationale dédiée à la préservation et aux applications scientifiques et industrielles des champignons filamenteux d'intérêt agro-industriel.



PLATEFORME
TECHNOLOGIQUE
AIX-MARSEILLE

www.univ-amu.fr

Plateforme *Pichia* *Pastoris* Protein Express

Recherche &
Développement

Prestation
analyse / service

Formation
Utilisateurs

Expertise

Ressources Matérielles – Moyens remarquables

ROBOT : Tecan Freedom-EVO 200
FPLC : Akta Xpress, Akta Purifier, Akta Pure
HPAEC-PAD : DIONEX ICS-3000, DIONEX ICS-6000
BIOREACTEUR : New-Brunswick Bio-Flo 120



La Plateforme 3PE offre des services personnalisés de production de protéines recombinantes chez la levure à différentes échelles.



Responsable
Mireille HAON
mireille.haon@univ-amu.fr



Responsable
Sacha Grisel
sacha.grisel@univ-amu.fr



3BcAR



NOTRE SCIENCE

Les champignons comme agents de déconstruction des plantes

- On estime que 3 à 4 millions d'espèces fongiques existent sur cette planète.
- Les champignons sont un acteur majeur dans la décomposition de la matière végétale
- L'étendue des enzymes qu'ils ont développées au cours de leur évolution répond à la matrice végétale diversifiée et complexe.
- Plus de 60% des enzymes commerciales sont d'origine fongique
- Cette diversité de souches fongiques et de leurs enzymes représente une source exceptionnelle d'innovations
-

Décomposeurs de bois (Basidiomycètes et Ascomycètes)

Champignons dégradant la biomasse

➤ Champignons de pourriture molle:

- Ascomycètes et Deutéromycètes
- Feuillus saturés d'eau
- Dégrade la cellulose et l'hémicellulose
-



➤ Champignons de pourriture brune:

- Basidiomycètes et peu d'Ascomycètes
- Dégradation de la cellulose et de l'hémicellulose
- Modification de la lignine
-



➤ Champignons à pourriture blanche:

- Basidiomycètes et peu d'Ascomycètes
- Dégradation de la cellulose, de l'hémicellulose et de la lignine
- Dégradeurs simultanés et sélectifs
-



APPROCHE STRATÉGIQUE

De la biodiversité fongique à la structure-fonction enzymatique

Explorer la biodiversité fonctionnelle
fongique pour les traits phénotypiques



Fungal abilities for plant
biomass degradation and
bioremediation

Comparatif « -Omics »



Evolutionary and environmental
adaptations for plant cell wall
degradation

Études ciblées sur des
souches sélectionnées



Integrated biology

Fonction enzymatique
individuelle ou
synergique



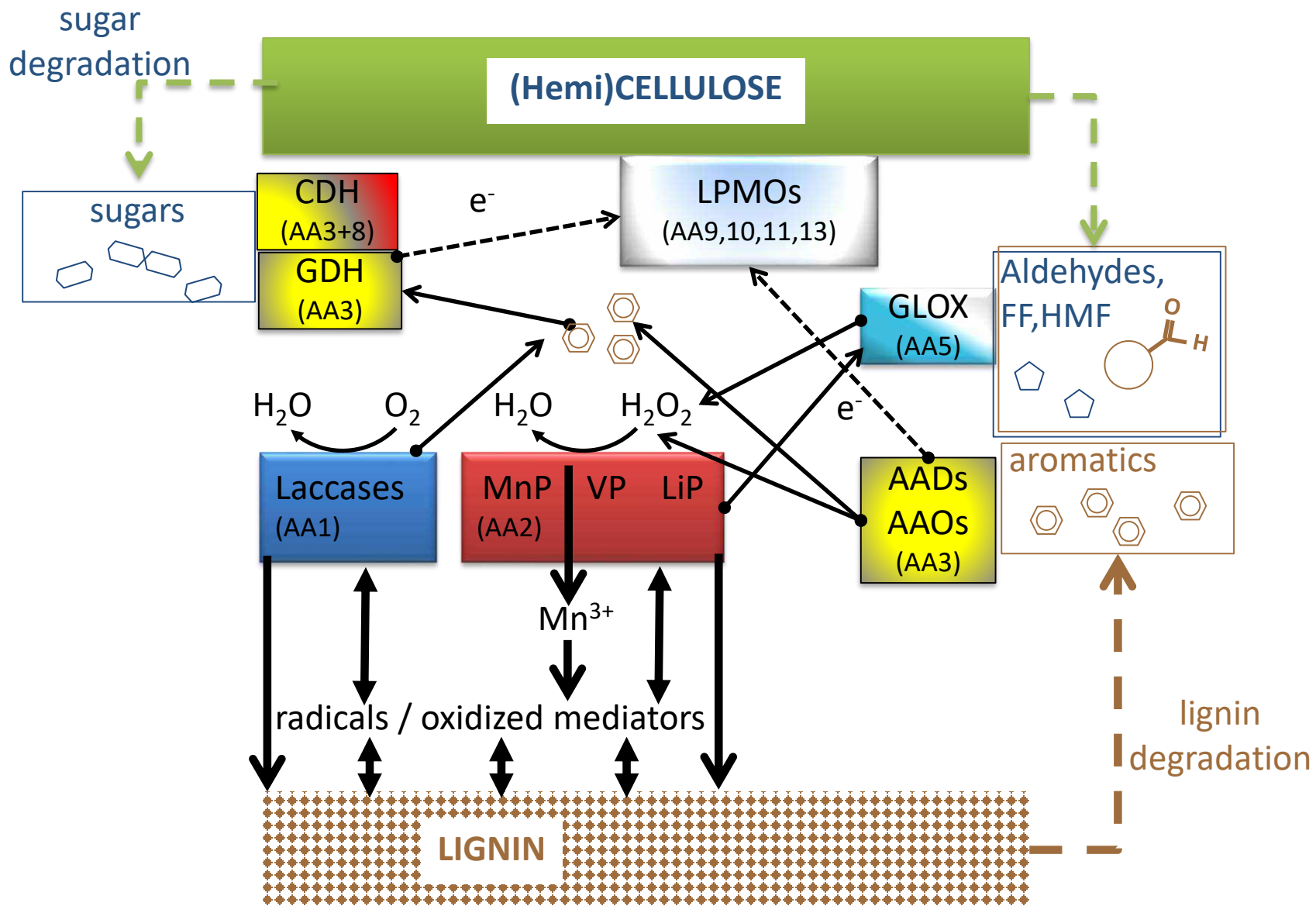
Oxidative modification of
polysaccharides and
aromatics

Mécanisme
enzymatique



Enzyme structure-function

Savoir-faire enzymatique fongique



QUELQUES EXEMPLES

Prétraitement de la biomasse végétale

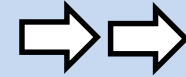
Paille de blé
Miscanthus



Fongique
« délignification »



Saccharide
récupération

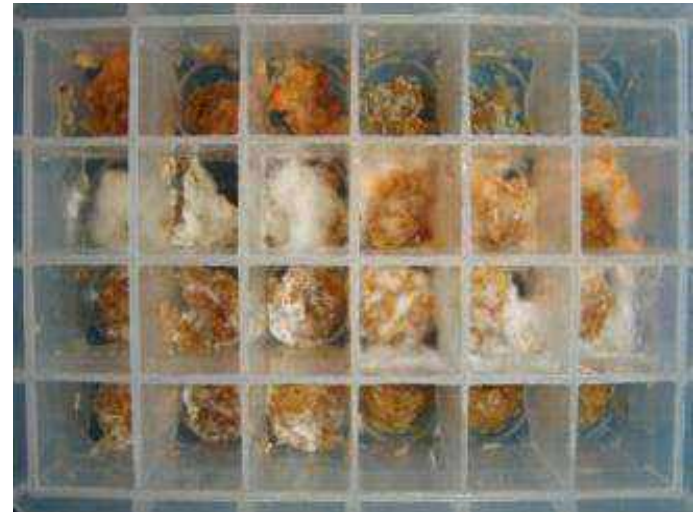


Methane
Éthanol



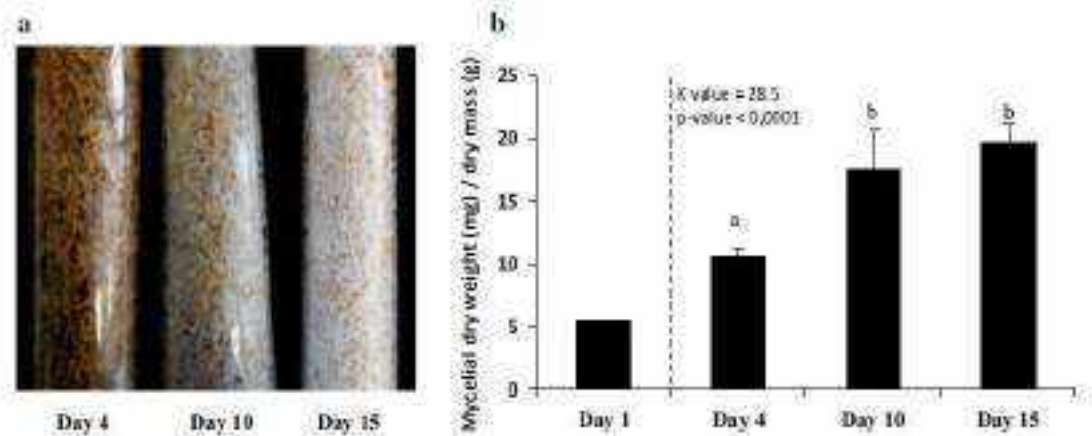
Dépistage de
177 souches

En raison de la nécessité d'améliorer le rendement des sucres disponibles pour la fermentation, il était important de trouver des souches capables de dégrader la lignine mais de ne pas consommer beaucoup de polysaccharides.



Fermentation à l'état solide à petite échelle
(100 mg de substrat)

5 souches

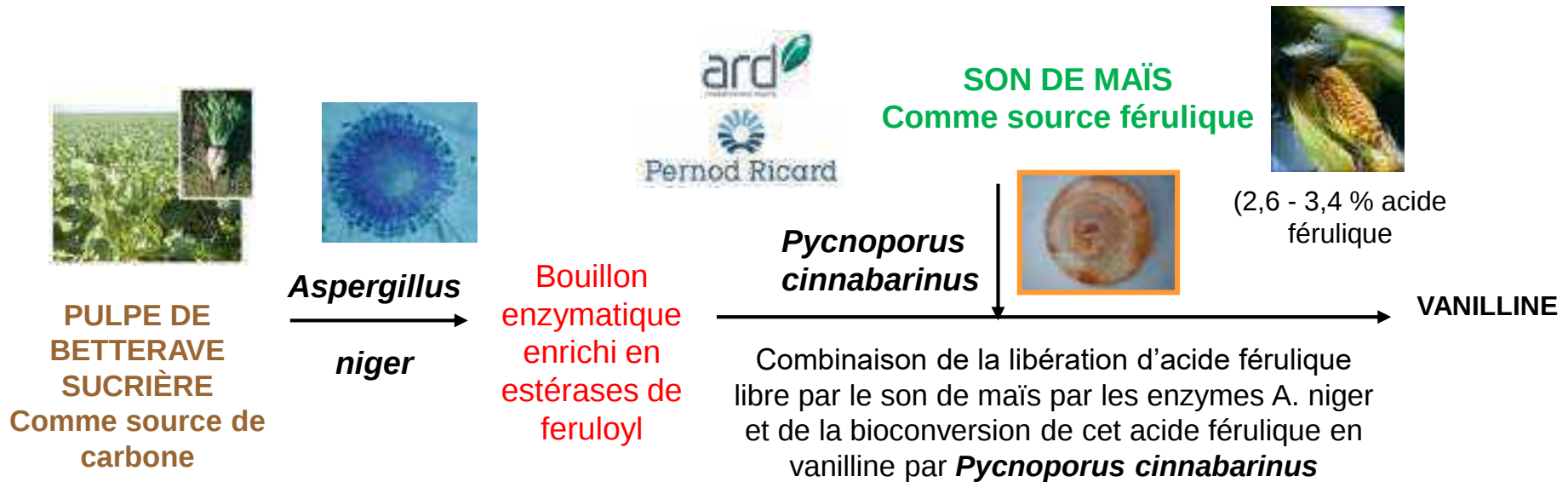


Bioréacteur à lit emballé de 250 ml (substrat de 20 g)

	Weight loss (%)	Selectivity	
		Lignin/Cellulose loss	Lignin/Hemicellulose loss
Day 4	0 ± 1.9	ND	ND
Day 10	10.7 ± 0.1	1.84	1.81
Day 15	19.6 ± 1.2	2.08	2.29

Biotransformations Fongiques

Production de vanilline à partir de pulpe de betterave sucrière et de sons de maïs

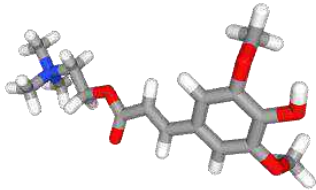


Nous examinons
actuellement les
enzymes impliquées
dans cette histoire de
transformation

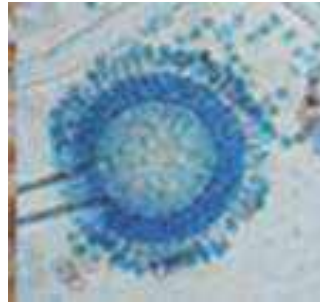
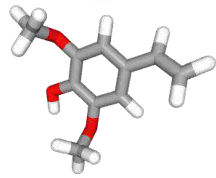
Biotransformations Fongiques

Un composé phénolique peut être extrait des repas de colza et biotransformé en un puissant antioxydant naturel par des enzymes fongiques

SINAPIC ACID



CANOLOL



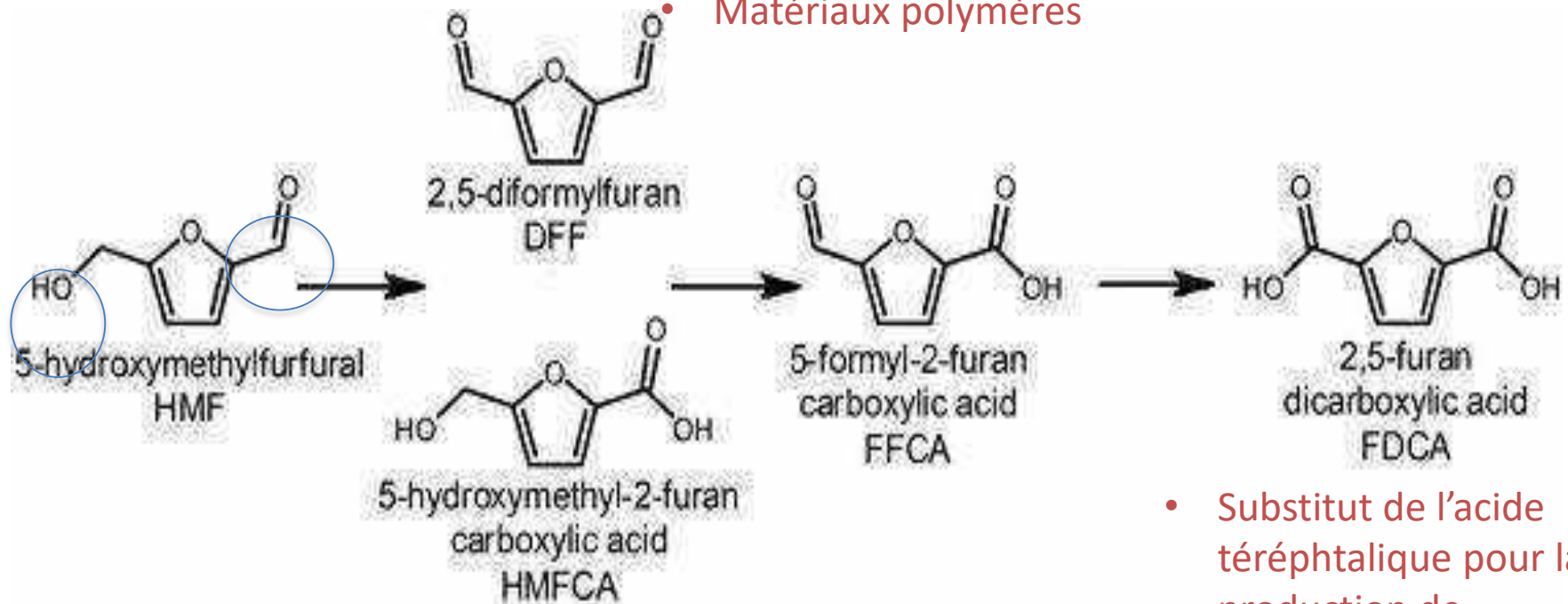
Patent WO2017072450A1

Nutraceutique, cosmétique, pharmaceutique

Biotransformation Enzymatique

Oxydation enzymatique du 5-HMF et de ses dérivés

- Produits pharmaceutiques
- Produits antifongiques
- Électroconducteurs
- Matériaux polymères



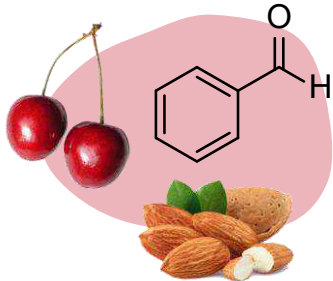
- Polyesters
- Inhibiteurs de l'interleukine
- Activité anti-tumorale

- Substitut de l'acide téréphthalique pour la production de bioplastiques
- Activité fongicide
- Inhibiteur de corrosion

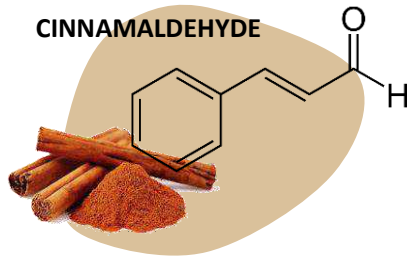
Biotransformation Enzymatique

Importance des aldéhydes en tant qu'arômes et parfums

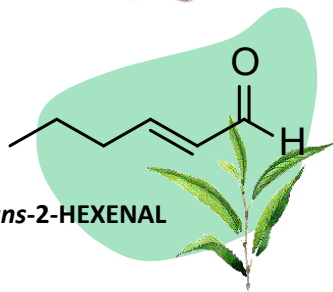
BENZALDEHYDE



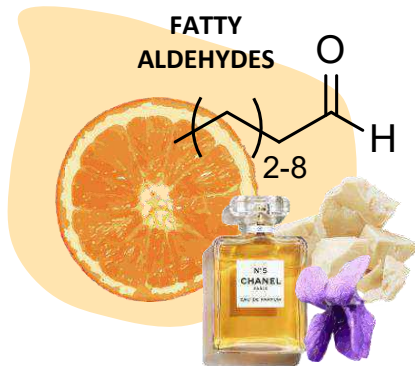
CINNAMALDEHYDE



trans-2-HEXENAL



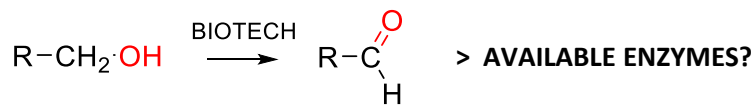
FATTY
ALDEHYDES



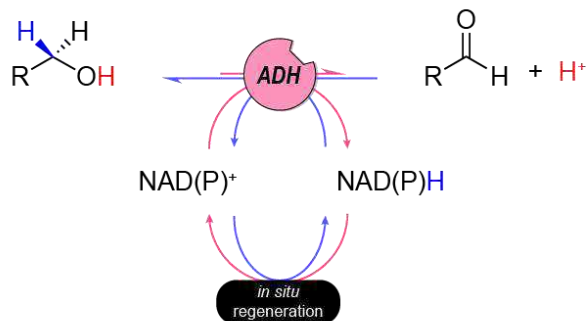
MOLECULE	#C	SCENT	FORMULA
Hexanal	C ₆	Fruity, « green »	$(CH_2)_4CHO$
Octanal	C ₈	Citrus, fruity	$(CH_2)_6CHO$
Nonanal	C ₉	Citrus, floral (rose)	$(CH_2)_7CHO$
Decanal	C ₁₀	Citrus, waxy	$(CH_2)_8CHO$
Dodecanal	C ₁₂	Fatty, waxy, citrus	$(CH_2)_{10}CHO$



Enzymes oxydatives pour les bioaldéhydes



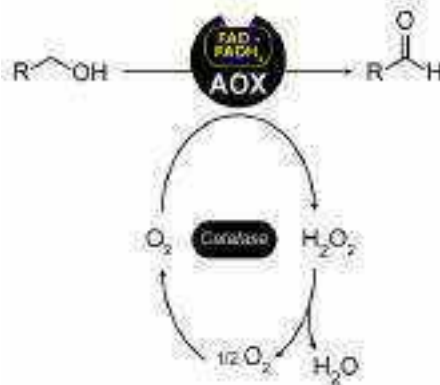
ALCOHOL DEHYDROGENASES



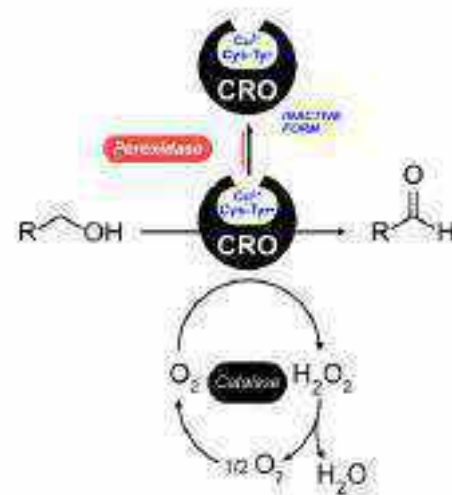
— Dehydrogenase activity
— Reductase activity



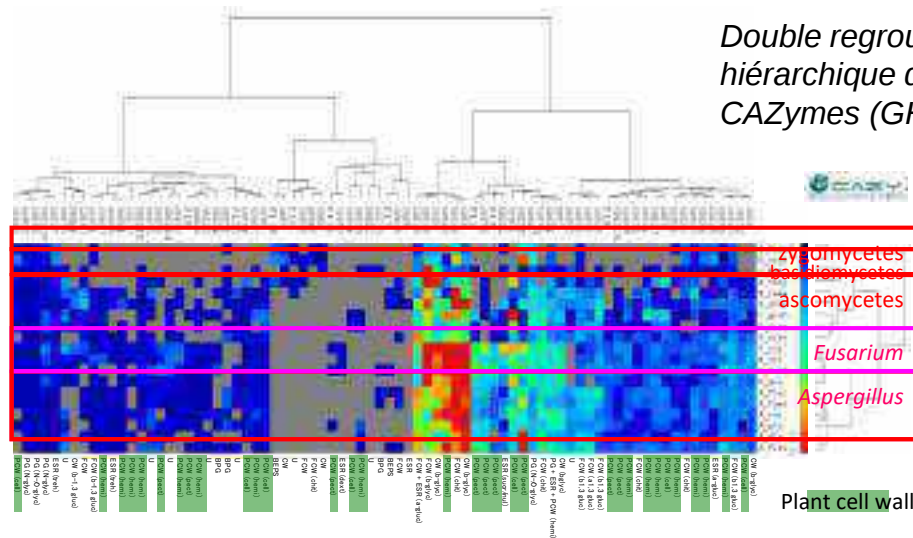
FLAVIN-DEPENDANT ALCOHOL OXIDASES



COPPER RADICAL ALCOHOL OXIDASES



Coup de pouce à la saccharification et nouvelles découvertes d'enzymes



- Formation de grappes fongiques en fonction de leurs espèces de phylum
- Indiquer différentes stratégies pour dégrader la paroi cellulaire des plantes

Couturier et al (2012) BMC Genomics

Trichoderma reesei

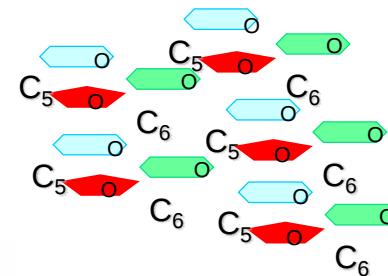
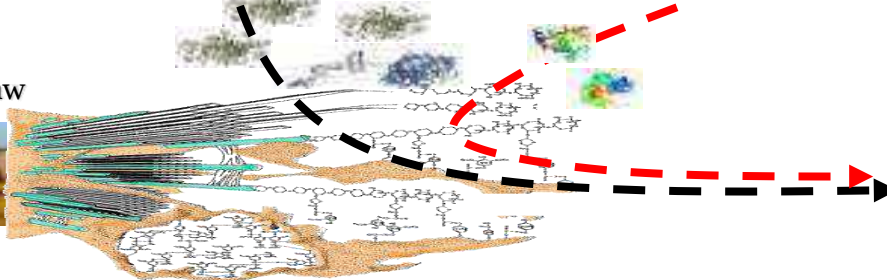


+

1- Sécrétomes fongiques

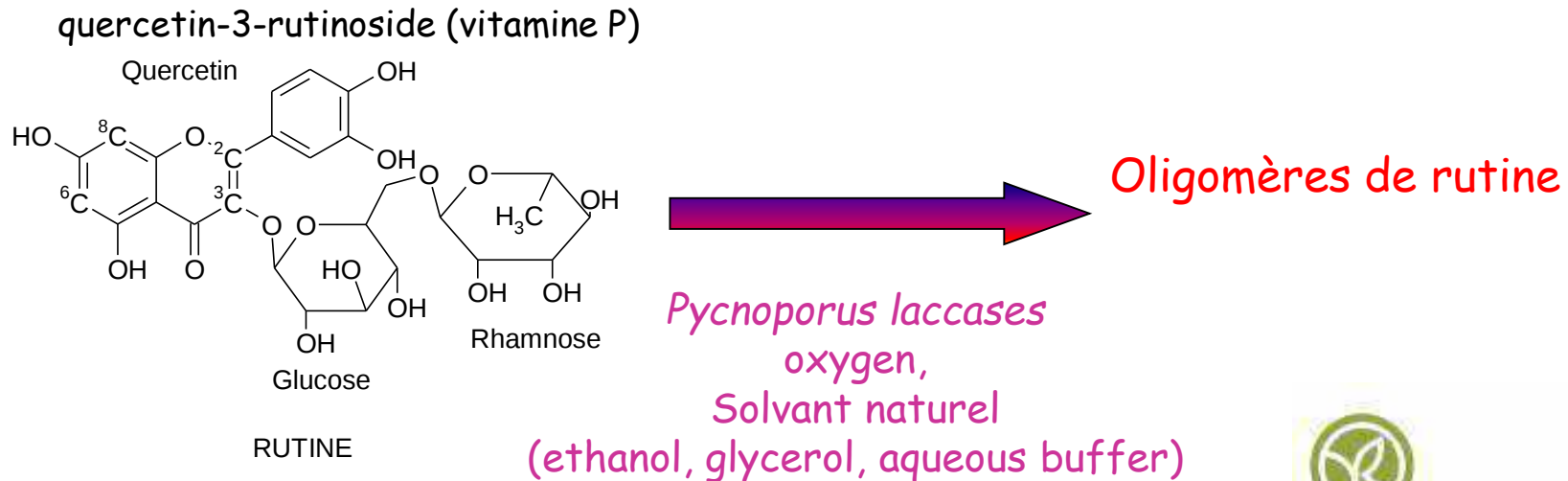
2- Enzymes fongiques recombinantes

Wheat straw



Bioprocessus pour la synthèse d'oligomères de rutine avec des enzymes oxydatives fongiques

✓ Compatible avec les contraintes de formulation en cosmétique



Oligomères de rutine

- ✓ Augmentation de l'activité antioxydante
- ✓ Inhibition de la COX-2 cyclooxygénase (marqueur inflammatoire)
- ✓ Inhibition de la métalloprotéinase 3 MMP-3 (vieillesse des tissus tels que le marqueur du derme)

Modification ou fonctionnalisation des lignines ou des fibres lignifiées

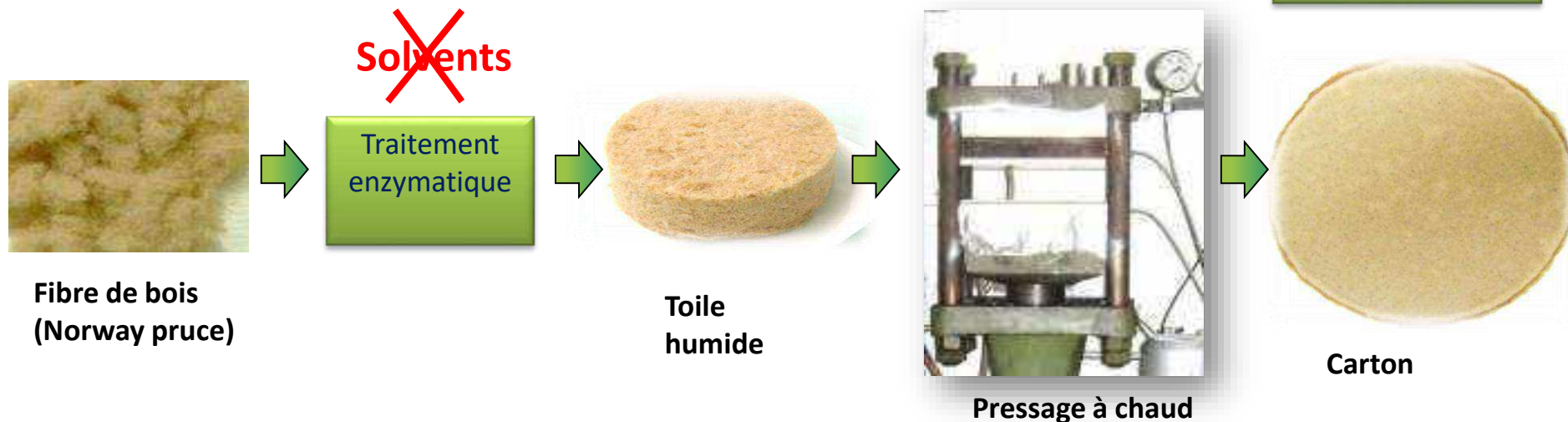
Production d'adhésifs verts, de matériaux ligneux ou transformation de résidus riches en lignine dans les secteurs de l'alimentation humaine/animale, de la santé et non alimentaire

Objectifs

Procédés verts pour les meubles en bois (avec moins ou sans solvants)
Caractériser la lignine à partir de fibres de bois prétraitées par des enzymes fongiques



Isorel:



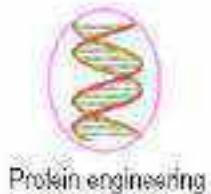
Ingénierie enzymatique



In vivo or in silico
Identification of
enzymes of applied
interest
(«omics» approaches)



"Wild" enzyme



Protein engineering



Characterization
of biochemical
properties



"Tailor-made" enzyme

« Facilities »:

- Systems of Eukaryotic heterologous expression (*Pichia pastoris*, *Aspergillus niger*)
- Microcultures and high-throughput screening robot
- Scaling-up pilot fermentation hall (2-100L)



Applications

Lignin



Emulsifiers



New polymers



Board adhesives



Concrete admixture

Cellulose



Cl-free bleaching



Biochemical pulp



Bio mechanical pulp



Speciality paper

Others (future)



Food improvement



New dyes



Jean washing



Bioethanol

Projets européens



Donc, ce que BBF peut offrir Novachim?

- Bien que la plupart de nos recherches aient porté sur du matériel lignocellulosique, cela peut être appliqué à d'autres ressources (alimentaires et non alimentaires).
- De nombreux partenaires fournissent des matières premières ou fractionnées avec lesquels nous pourrions travailler
 - Travailler avec des fournisseurs de matériaux
 - Prétraitements fongiques pour modifier la composition du matériau (nécessité de prendre en compte les aspects alimentaires par rapport aux aspects non alimentaires)
- Ou nous pouvons leur envoyer des enzymes caractérisées et des cocktails fongiques
 - Collaboration avec les producteurs d'enzymes pour la mise à l'échelle
 - De quelle fonction auriez-vous besoin dans un matériau modifié?
 - Groupes fonctionnels (auraient besoin de collaborateurs ayant de bonnes installations d'analyse et un bon savoir-faire)
 - Alternatives vertes aux méthodes chimiques
 - Enzymes tolérantes à différentes conditions environnementales

Mastère Spécialisé®
Economie Circulaire et Organisation Durable (ECOD)



Fouzia Ounnar
Patrick Pujo

Recrutement dans le MS ECOD :

- diplômés Bac+5 (Titre ingénieur, diplômés M2, titre RNCP niveau 7)
- diplômés M1, associé à 3 ans minimum d'expérience professionnelle
- de Polytech'Marseille, du **réseau Polytech** ou de toute autre école
- en congé individuel de formation, demandeur d'emploi...

- en Formation Initiale

	Quadrimestre1	Quadrimestre2	Quadrimestre3	
Lu	UE1, UE2, UE3, UE5 <i>option UE6x</i>	UE7 Stage en entreprise Thèse Professionnelle		
Ma				
Me				
Je	UE4 Eco-Projets			
Ve				

- en Alternance *(contrat de professionnalisation)*

	Quadrimestre1	Quadrimestre2	Quadrimestre3
Lu	UE1, UE2, UE3, UE5 <i>option UE6x</i>	UE4 <i>Eco-Projets</i>	
Ma			
Me			
Je	UE7 <i>Stage en entreprise - Thèse Professionnelle</i>		
Ve			

Collaboration avec la PRECI PACA, l'UIMM...
(Plateforme Régionale de l'Economie Circulaire de la région Sud)

Financement de la formation MS ECOD :

- Frais de scolarité (titre individuel) : 7000 €
- Financement des entreprises :
 - Etablissements publics / collectivités : 9 000 €
 - PME : 10 000 €
 - Grands groupes : 13 000 €
 - Entreprises membres du Club des partenaires de Polytech Marseille : remise de 10%.
- Prise en charge variable selon les OPCO
 - CFAI Provence (UIMM)
 - CQPM 142 (CPI)

