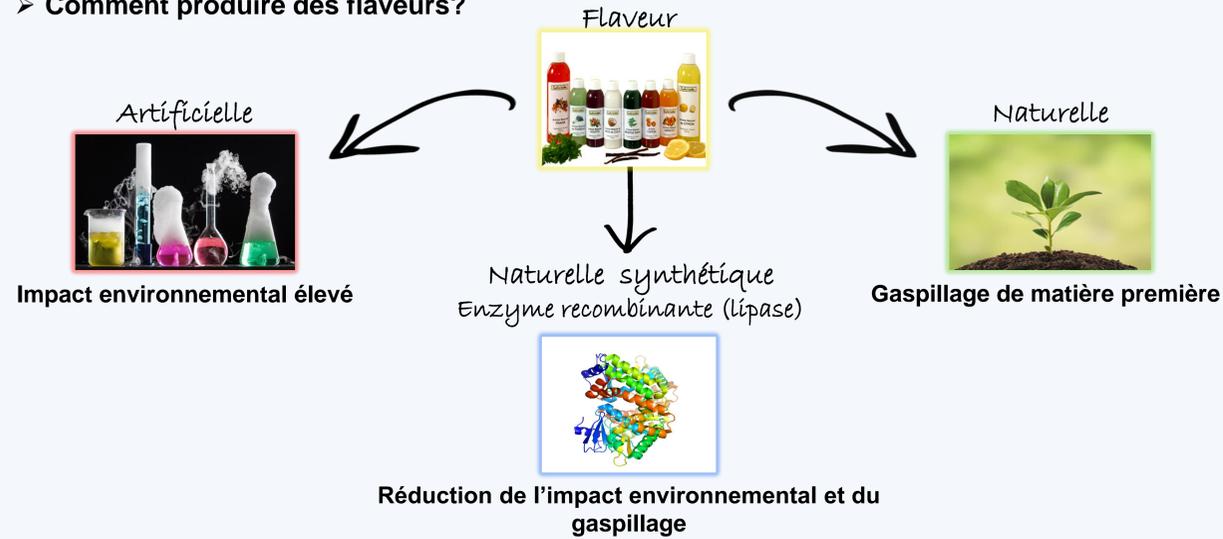


1. INTRODUCTION

➤ **Qu'est-ce qu'une flaveur?**

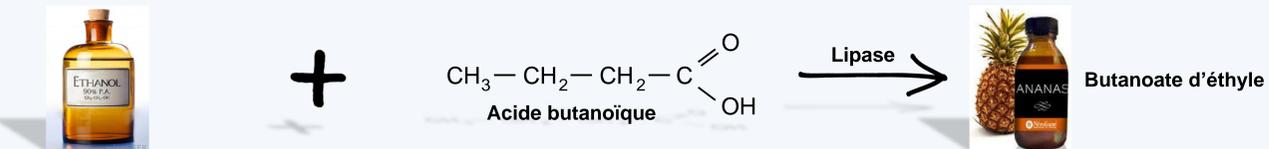
Additif cosmétique ou alimentaire donnant une odeur et/ou une saveur particulière

➤ **Comment produire des flaveurs?**



➤ **Le défi:** démontrer la faisabilité de la production d'une flaveur naturelle en utilisant une lipase recombinante sous une forme peu contraignante, le biocatalyseur à cellule entière

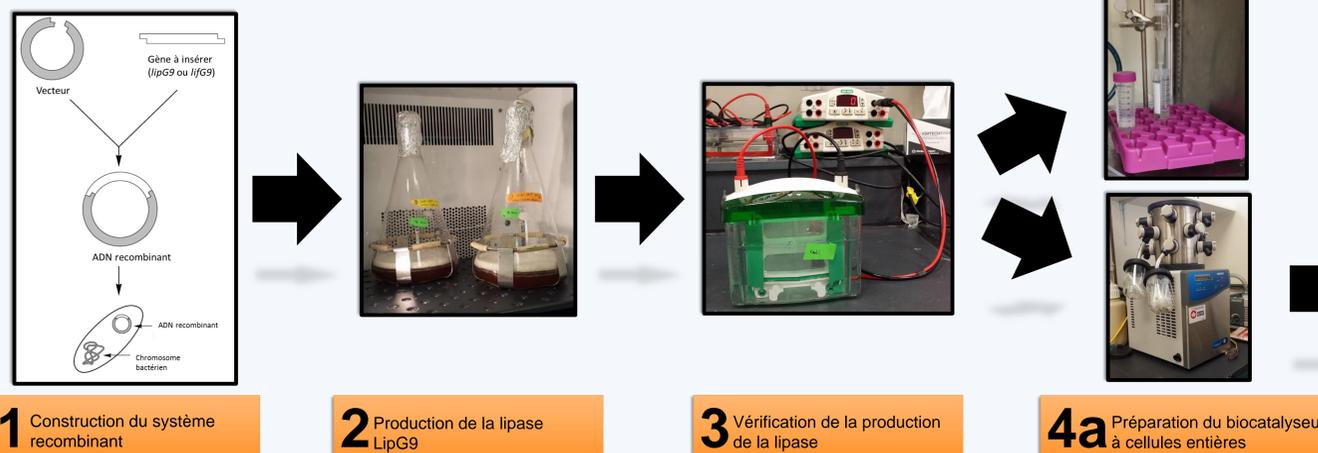
➤ **Comment démontrer l'efficacité d'un tel système?**



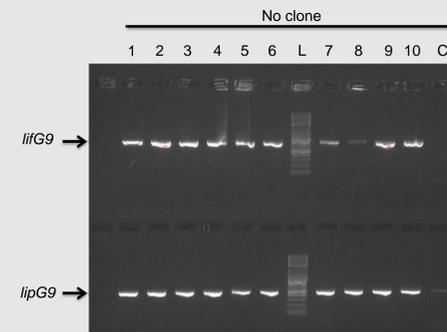
2. OBJECTIFS

- Mise au point d'une souche recombinante de *E. coli* produisant la lipase LipG9
- Déterminer l'activité enzymatique de LipG9 lors d'une estérification, réaction impliquant un acide gras à chaîne courte et un alcool, permettant la synthèse d'une flaveur naturelle à l'ananas

3. MÉTHODOLOGIE

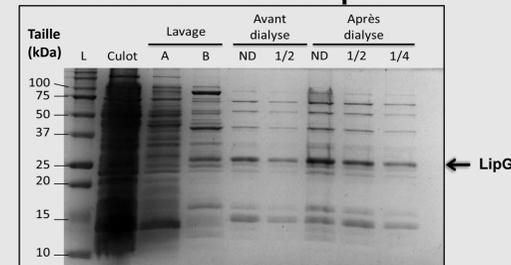


1. Construction du système recombinant



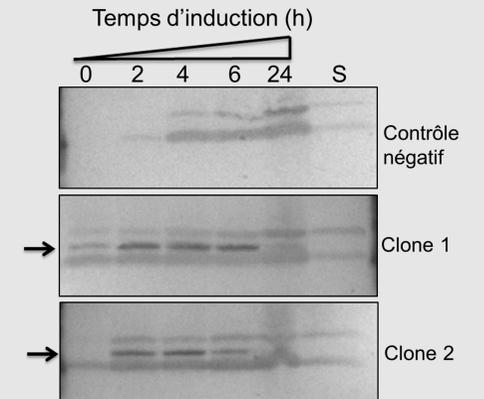
La présence de lifG9 (en haut) et de lipG9 (en bas) est confirmée par PCR colonie. Tous les transformants portent les deux gènes.
L: Marqueur de poids moléculaire (2-Log DNA ladder)
C: contrôle négatif (amplification sans ADN matrice)

3. Purification de la lipase



La lipase LipG9 a été purifiée par chromatographie d'affinité.
L: Marqueur de poids moléculaire (Precision plus Protein Kaleidoscope)
ND: Non dilué
1/2 et 1/4 représentent la dilution des échantillons

2. Expression de la lipase



La production de lipase est vérifiée par Western Blot. L'intensité de noir de la bande est relative à la quantité produite.
→ Bande relative à la lipase
S: Surnageant prélevé à t=0h

4. Production du biocatalyseur à cellule entière et synthèse d'une flaveur à l'ananas



Le biocatalyseur a été préparé avec succès, cependant les essais de production de la flaveur à l'ananas sont toujours en cours.

5. CONCLUSION

- ✓ Nous avons réussi à mettre au point la bactérie recombinante produisant la lipase LipG9
- Nous avons produit le biocatalyseur à cellules entières mais nous travaillons toujours à déterminer son activité enzymatique lors d'une réaction d'estérification

Remerciements

Nous tenons à remercier Manuella Demora pour sa précieuse collaboration à la réalisation d'une grande part des expérimentations. Nous remercions aussi l'équipe du CNETE pour leur contribution au projet et, plus particulièrement, Patrik Qessy pour son aide technique au cours du projet et Jean-François Lemay pour le partage de son expertise en biologie moléculaire.

Références

Brault, G., Shareck, F., Hurtubise, Y., Lépine, F. & Doucet, N. Short-Chain Flavor Ester Synthesis in Organic Media by an *E. coli* Whole-Cell Biocatalyst Expressing a Newly Characterized Heterologous Lipase. *PLoS ONE* 9, e91872 (2014).
Martini, V. P. et al. First co-expression of a lipase and its specific foldase obtained by metagenomics. *Microbial Cell Factories* (2014) 13:171.doi:10.1186/s12934-014-0171-7

