



**HAL**  
open science

## Identification de protéines impliquées dans la dynamique des corps lipidiques chez *S. cerevisiae*

Marie Pouteaux, Michel Canonge, Thierry Chardot, Marine Froissard

### ► To cite this version:

Marie Pouteaux, Michel Canonge, Thierry Chardot, Marine Froissard. Identification de protéines impliquées dans la dynamique des corps lipidiques chez *S. cerevisiae*. *Levures, Modèles et Outils IX*, 2010, Strasbourg, France. 2010. hal-02752193

**HAL Id: hal-02752193**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02752193>**

Submitted on 3 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# Identification de protéines impliquées dans la dynamique des corps lipidiques chez *S. cerevisiae*



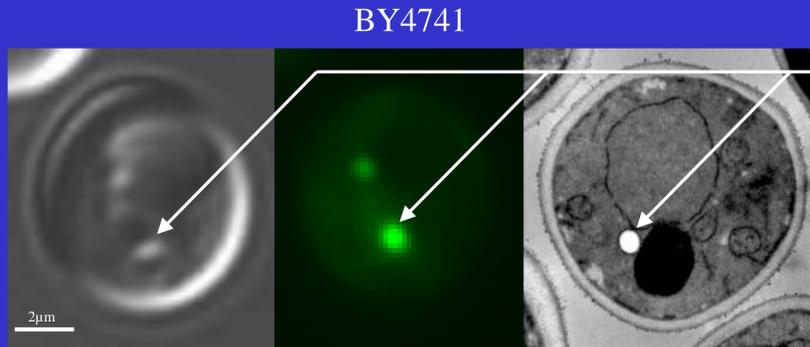
Marie Pouteaux, Michel Canonge, Thierry Chardot, Marine Froissard



Équipe Dynamique et Structure des Corps Lipidiques, UMR 1318 Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA AgroParisTech, 78 850 Thiverval-Grignon

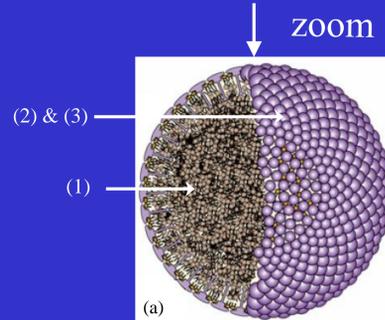
## INTRODUCTION

### Étude de la dynamique des corps lipidiques (CL) chez *Saccharomyces cerevisiae*



Nomarski Lumière visible BODIPY 493/503 épifluorescence Microscopie électronique à transmission

#### Corps lipidiques zoom



Au sein de la cellule les lipides ont à la fois un rôle structural, un rôle dans la signalisation et un rôle énergétique. Ils peuvent être stockés dans des granules de réserve, les corps lipidiques qui sont constitués d'un cœur de lipides neutres (triglycérides) (1), entourés par une monocouche de phospholipides (2) et par des protéines (3). Ces réserves peuvent être mobilisés en cas de besoins nutritionnels. Le corps lipidique apparaît aujourd'hui comme un organite complexe et dynamique, présentant des statuts métaboliques variés.

## RESULTATS

### Protéomique du CL de *S. cerevisiae*

<i>S. cerevisiae</i>	<i>Y. lipolytica</i>
<b>60 protéines (b)</b>	<b>80 protéines (c)</b>
Pas de protéines de structure identifiées	
Nombreuses enzymes (voie Kennedy)	

#### Sélection de 2 gènes

Un gène bien connu, codant pour la lipase majoritaire du CL, TGL3, qui nous servira de témoin positif pour notre gène d'intérêt YPT7 codant une protéine de type Rab.

Création de mutants de délétion, de sur-expression et étiqueté par recombinaison au locus

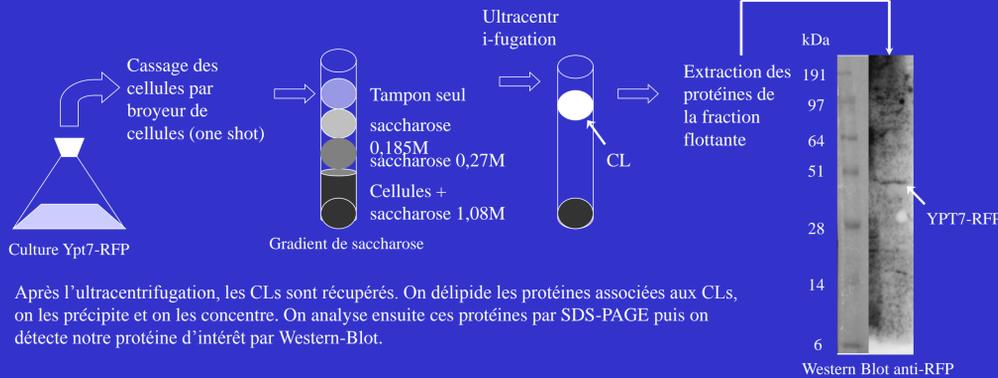
### Analyse de la teneur en acides gras des mutants délétants et sur-expresssurs par Chromatographie en Phase Gazeuse

Gène cible	souche	Teneur en acides gras totaux Carence carbonée Relatif à la souche de référence	Teneur en acides gras totaux Carence azotée Relatif à la souche de référence	Modification profil acides gras
TGL3	TGL3Δ	<b>1.18</b>	<b>1.64</b>	<b>oui</b>
	TEF-TGL3	1.13	Pas de croissance	<b>oui</b>
	GPD-TGL3	1.09	<b>1.42</b>	non
YPT7	YPT7Δ	<b>1.19</b>	<b>1.35</b>	<b>oui</b>
	TEF-YPT7	<b>1.30</b>	<b>1.41</b>	<b>oui</b>
	GPD-YPT7	1.15	1.01	non

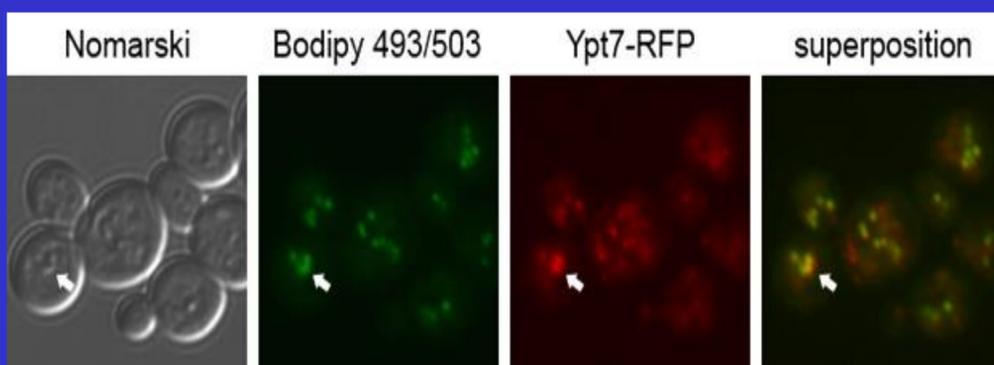
• Le mutant TEF-YPT7 présente la plus forte augmentation en acides gras totaux (proche des mutants de lipase)

### Localisation de Ypt7p

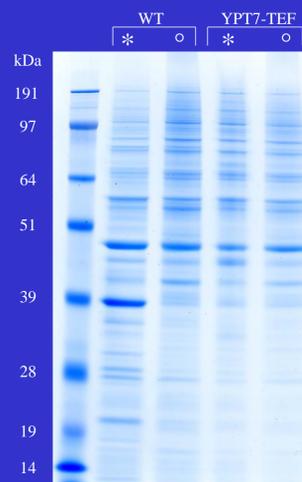
#### Fractionnement cellulaire



#### Microscopie



### Profils protéiques des CLs en fonction du stade de croissance des levures



Des modifications des profils protéiques importantes apparaissent entre la phase exponentielle de croissance et la phase stationnaire chez la souche le sauvage. Ces modifications n'existent pas chez le mutant qui ressemble dans les deux cas au témoin en phase stationnaire.

- \* Culture en phase exponentielle de croissance
- o Culture en phase stationnaire

Les observations microscopiques sont réalisées sur des cultures en milieu carencé en azote de Ypt7-RFP en phase stationnaire. A noter la fragmentation des vacuoles observée indiquant le dysfonctionnement du cycle des GTPases.

On retrouve du signal RFP aux mêmes localisations que le Bodipy 493/503 par microscopie à fluorescence. On observe également un signal RFP en Western Blot sur la fraction flottante contenant les CLs. On en conclue donc que la protéine Ypt7p est associée dans ces conditions au CL.

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

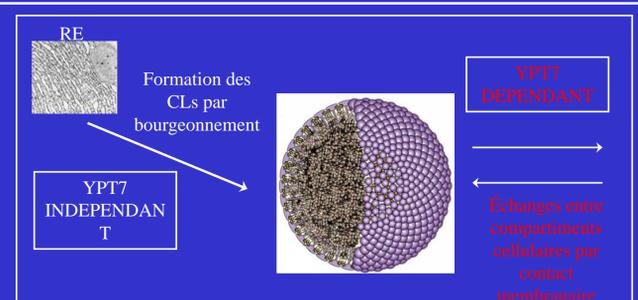
La protéine de trafic de type GTPase Ypt7p est associée aux CLs en phase stationnaire en carence azotée chez *S. cerevisiae*.

La délétion et plus encore la sur-expression de YPT7 permet l'augmentation de la teneur en acides gras totaux des levures.

↳ Vérification de l'augmentation de lipide neutre par Chromatographie sur Couche Mince en cours

La sur-expression de cette protéine influe sur le profil protéique des CL et ceux-ci quelque soit le stade de croissance des levures.

↳ Induit une perte de la dynamique des CLs?



Proposition d'un modèle de la perte de la dynamique des CLs

Bibliographie: (a) Buchanan *et al.* 2000

(c) Athenstaedt *et al.* 2006

(b) DSCL IJPB non publié