



HAL
open science

Système intrinsèquement structuré: Le corps lipidique isolé ou in vivo

Marine Froissard

► **To cite this version:**

Marine Froissard. Système intrinsèquement structuré: Le corps lipidique isolé ou in vivo. Workshop sur les systèmes intrinsèquement structurés - INRA CEPIA, Nov 2013, Paris, France. hal-02803958

HAL Id: hal-02803958

<https://hal.inrae.fr/hal-02803958>

Submitted on 5 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.

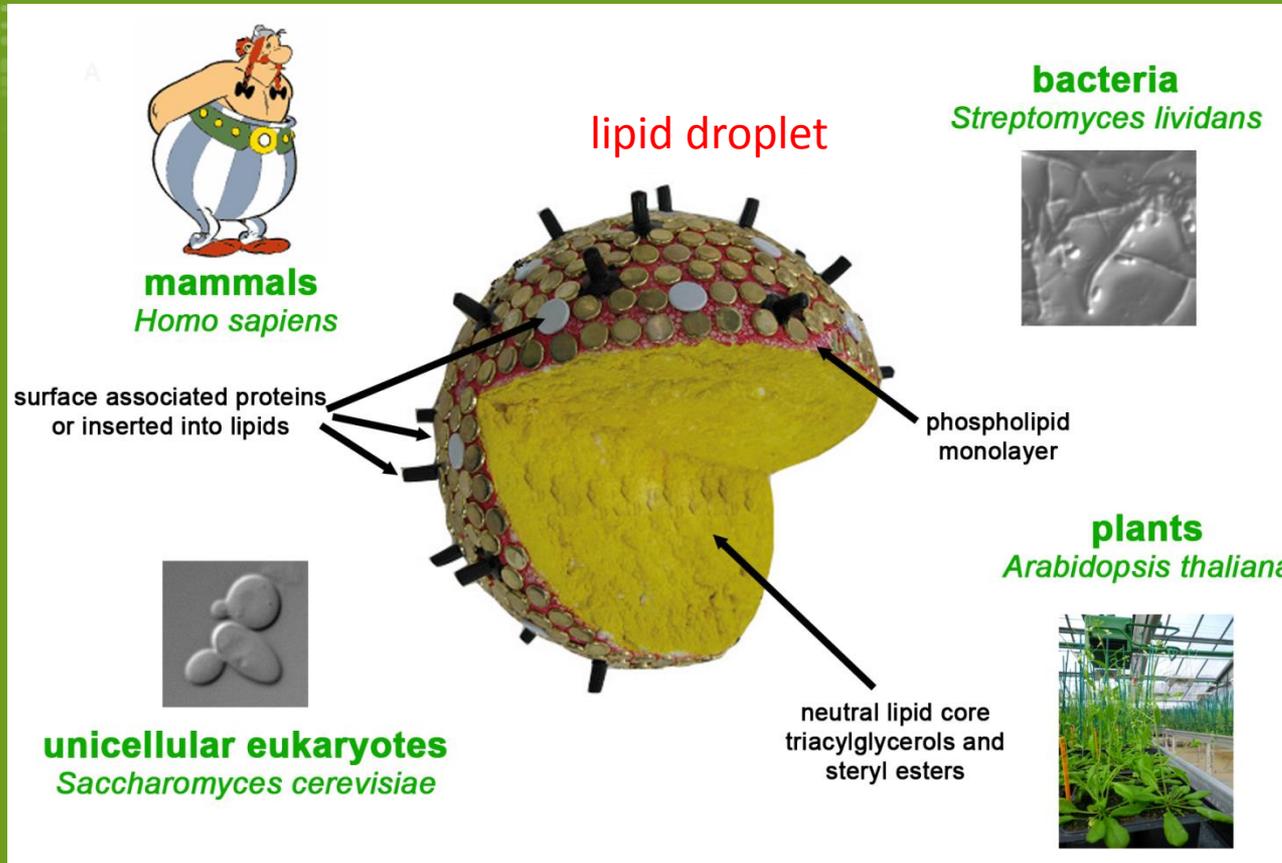


INRA
SCIENCE & IMPACT

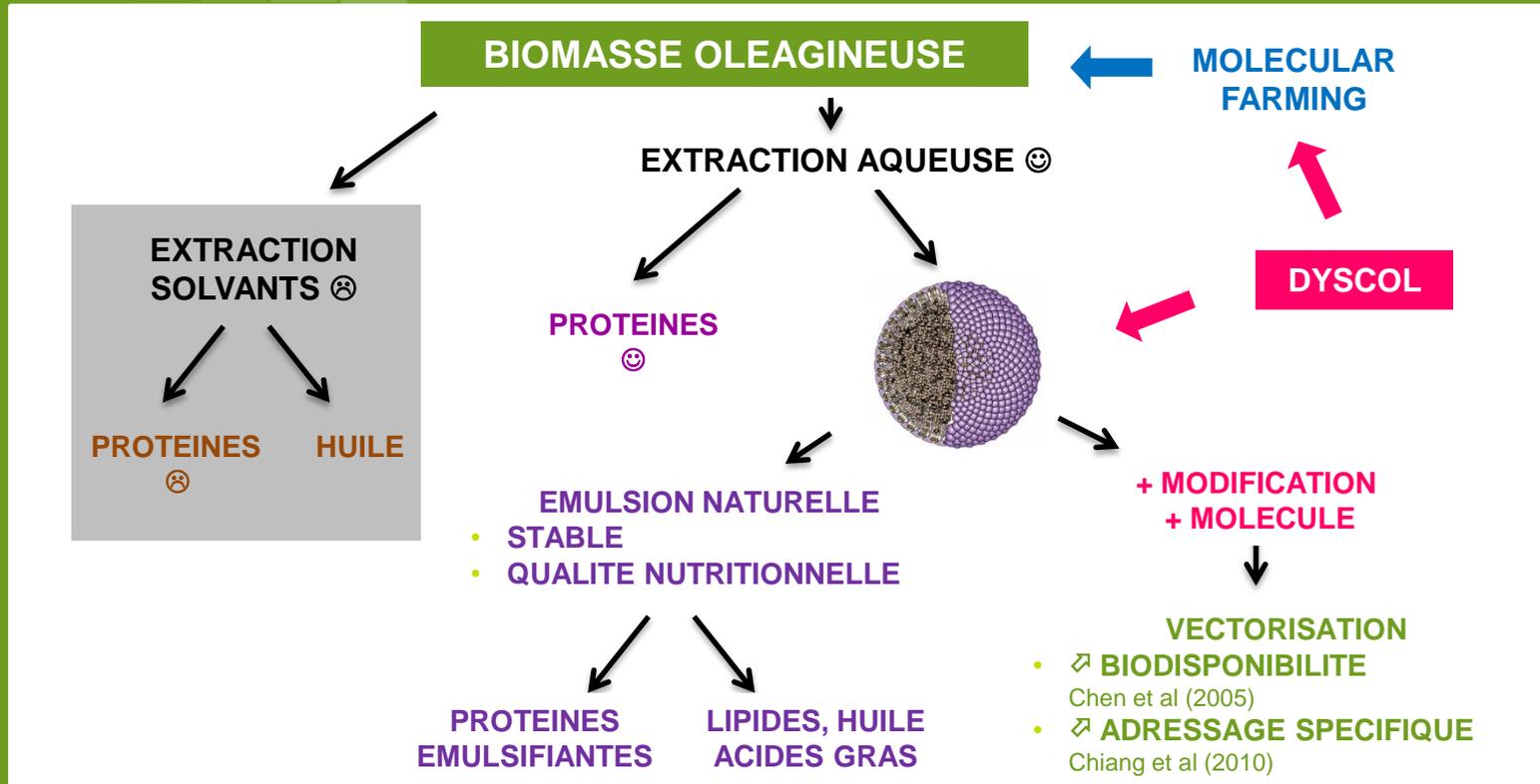
Systeme Intrinsèquement Structuré : Le corps lipidique isolé ou *in vivo*



INTRODUCTION



INTRODUCTION



SOMMAIRE

1. Le corps lipidique usine de production et de stockage d'huiles à façon pour l'alimentation et la chimie verte

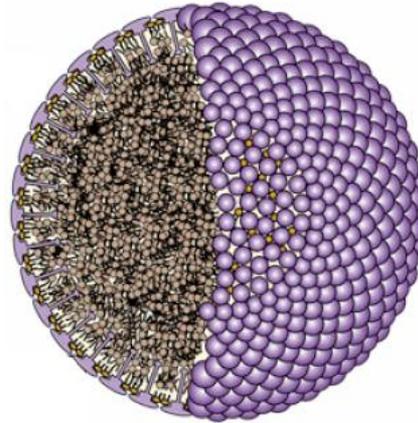
1.1 Les oléosines : actrices majeures du remplissage de la stabilité et de la mobilisation

1.2 remplissage et mobilisation « à façon »

Energie

Nutrition - Santé

Chimie du carbone renouvelable



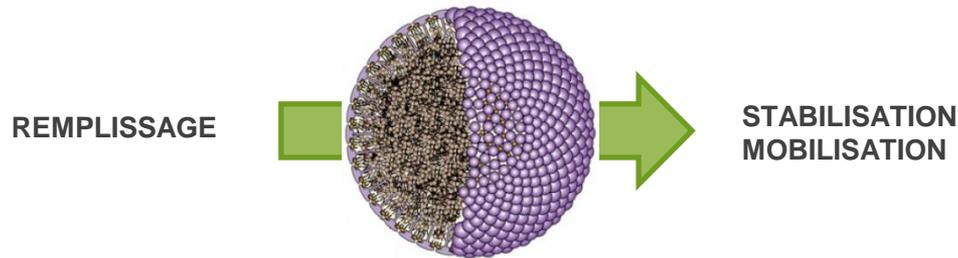
Buchanan et al. (2000). Biochemistry & Molecular Biology of Plants

2. Le corps lipidique isolé pour l'analyse structurale
3. Le corps lipidique isolé pour la vectorisation

1- Le corps lipidique *in vivo* : usine de production et de stockage

Questions de recherche : comprendre la dynamique du corps lipidique

- Améliorer le remplissage et stabilité des émulsions
- Améliorer les procédés d'extraction d'huile
- Nouvelle biomasse pour la chimie verte (agrocarburant, synthons)



Les modèles :

- La levure *S. cerevisiae*
- Les graines en germination chez *A. thaliana*
- Les graines en développement chez *B. napus*

} Infrastructures et compétences IJPB
(seulement depuis 2011)

1-1 Les oléosines : actrices majeures du remplissage de la stabilité et de la mobilisation

Développement d'une « boîte à outils » de suivi des oléosines *in vivo*

- Adaptation des protocoles de purification des corps lipidiques
- Manipulation biochimique des protéines hydrophobes (isolement ou purification de complexes)
- Protéines de fusion
- Immunodétection avec anticorps spécifiques
- Protéomique dynamique et structurale
- Organismes à composition contrastée en oléosines

Investissement
long terme

Résultats majeurs

Chez *S. cerevisiae* : L'expression hétérologue de l'oléosine S3 stabilise les réserves lipidiques et permet de stocker plus d'huile dans la levure. Froissard et al. (2009) FEMS Yeast Res, 9 428-438 ; Jamme et al. (2013) PLoS one, 8 e74421 (Contact : M. Froissard)

Chez *A. thaliana* : Compréhension des mécanismes de dégradation des oléosines lors de la destabilisation des CL (graine germée). Deruyffelaere et al. (en préparation) (Contact : S. D'Andréa)

Chez *B. napus* : Les corps lipidiques de l'accession Amber qui sont très stables sont enrichis en certaines isoformes d'oléosines ce qui suggère une rigidité et une couverture plus importante de leur surface. Jolivet et al. (2013) Ind. Crops Prod. 44, 549-557 (Contact : P. Jolivet)

1-2 remplissage et mobilisation « à façon »

Ingénierie de *S. cerevisiae*

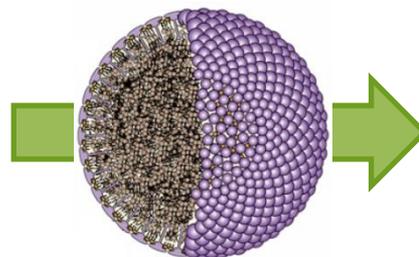
Moduler les profils en lipides par

- Expression hétérologue d'acyltransférases et d'estérases végétales
- Inactivation de gènes endogènes
- Modifications des conditions de culture (milieux et températures)

Améliorer le remplissage par

- Expression hétérologue de protéines structurales des corps lipidiques

ANR LIPICAERO 2008-2010 (T. Chardot) ; Projet DGA CAER 2012-2014 (T. Chardot)
Incitatif CEPIA/MICA 2011-2012 (M. Froissard) ; ANR LIPIDHEMI lettre d'intention déposée (M. Froissard)



Limiter la dégradation par

- Inactivation des voies de dégradation des corps lipidiques
- Modifications des conditions de culture (milieux et températures)

Verrous à lever ⇒ objectifs DYSCOL

- Dynamique du corps lipidique
- Transposition de voies enzymatiques complètes

2- Le corps lipidique isolé pour la vectorisation

Questions de recherche :

Corps lipidiques
naturels ou artificiels
=
nouveaux systèmes
de vectorisation



comportement en fonction de :

- composition en lipides
- composition en protéines

Projet VectOB
non retenu par SPS

Recherche de partenariat
infructueuse
(industriels, pharmacologie)

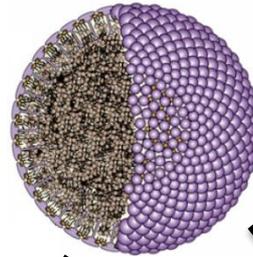
Modèle :

Levures

S. cerevisiae (+/- oléosine)
Y. lipolytica (oléagineuse)
D. arctica (riche en $\omega 3$)

Artificiels

TG + PL +/- oléosines



Plantes

A. thaliana (WT et Δ oléosines)
B. napus (plante de grande culture)
C. sativa (riche en $\omega 3$)

Caractérisation
biochimique et biophysique

marquage fluorescent
lipides et/ou protéines

Comportement au contact de
cellules en cultures



2- Le corps lipidique isolé pour la vectorisation



Projet d'ingénieur de deuxième année

UE Projet « Valorisation de molécules bio-sourcées pour la cosmétique et l'agroalimentaire »

Valorisation d'une émulsion de graines de colza



11/05/2012

Contact : S. D'Andréa

Ana Patricia CAMPOS, Rudy DAHAN, Alix DARRIBAU, Amélie IZAUTE, Mathilde LAGESSE, Oriane LARCHEVEQUE, Valentin PARTULA, Léa RISPARD BORNEMANN, Adrien RIVAYRAND, Coralys ROBERT, Yves WANG.

1



Hydresia® - Oleosomes Technology Overview

Oleosomes are structures found naturally in oil bearing plant seeds and serve as natural storehouses of energy used by the seed until germination. They are found in virtually all crops, including safflower, almond and sunflower.

Oleosomes are naturally occurring spheres 1-5 µm in diameter which consist of a center core of emollient plant oils and vitamin E, surrounded by a phospholipid membrane and stabilized by a protein coat. Botaneco has developed and patented a large scale, process to extract these unique structures intact, which have powerful and proven benefits in personal care. A certified organic variety of oleosomes is also available.

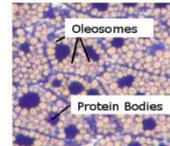


Figure 1 - Plant seed cross section

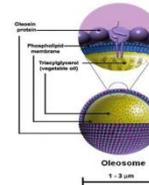


Figure 2 - Structure of an Oleosome

<http://www.youtube.com/watch?v=Cvw8vHT2qSA>



HydrePure Mother Nature's Delivery System Platform

Oleosomes are naturally occurring spherical structures that have the ability to act as Mother Nature's delivery systems for oil-soluble actives. Botaneco has successfully loaded a variety of actives, including essential oils, fragrances, vitamins and sunscreens, and we call this new technology platform HydrePure. Possible applications for an Oleosome delivery system include the protection of actives from degradation, the release of actives over time for enhanced performance, and prolonging the presence of fragrances on the skin or hair.

Our first launch based on the HydrePure delivery technology is HydrePure Retinol. Retinol, a natural form of vitamin A, has been used as a leading anti-aging active in the personal care industry for over a decade, however, is well documented to have stability concerns as well as can cause irritation on the skin. HydrePure Retinol solves these problems in the following two ways:



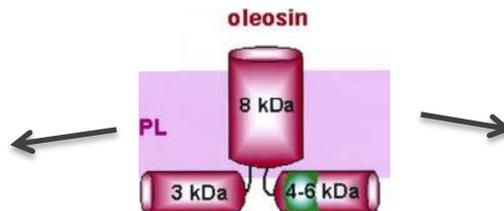
3- Le corps lipidique isolé pour l'analyse structurale

Questions de recherche : comprendre la structure du corps lipidique et des protéines associées

- Améliorer les procédés d'extraction d'huile
- Connaissance de la structure des oléosines (émulsifiants 😊 /allergènes ☹)

CD et FT-IR détergents ou solvants
fait MAIS contradictoire

Li et al., 1993 ; Li et al., 2002 ; Gohon et al., 2010
Vargo et al., 2012 ; Vindigni et al., 2013



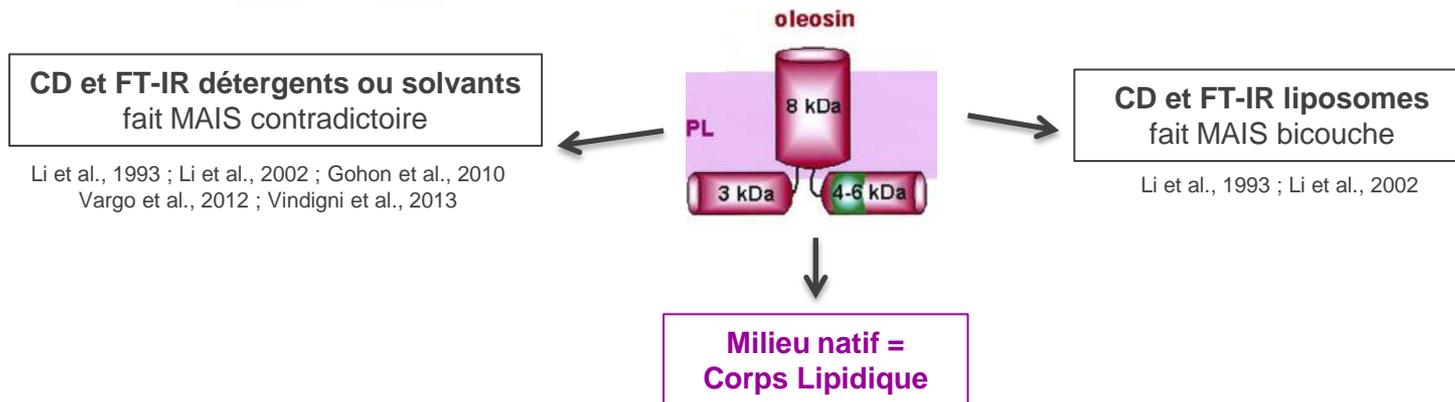
CD et FT-IR liposomes
fait MAIS bicouche

Li et al., 1993 ; Li et al., 2002

3- Le corps lipidique isolé pour l'analyse structurale

Questions de recherche : comprendre la structure du corps lipidique et des protéines associées

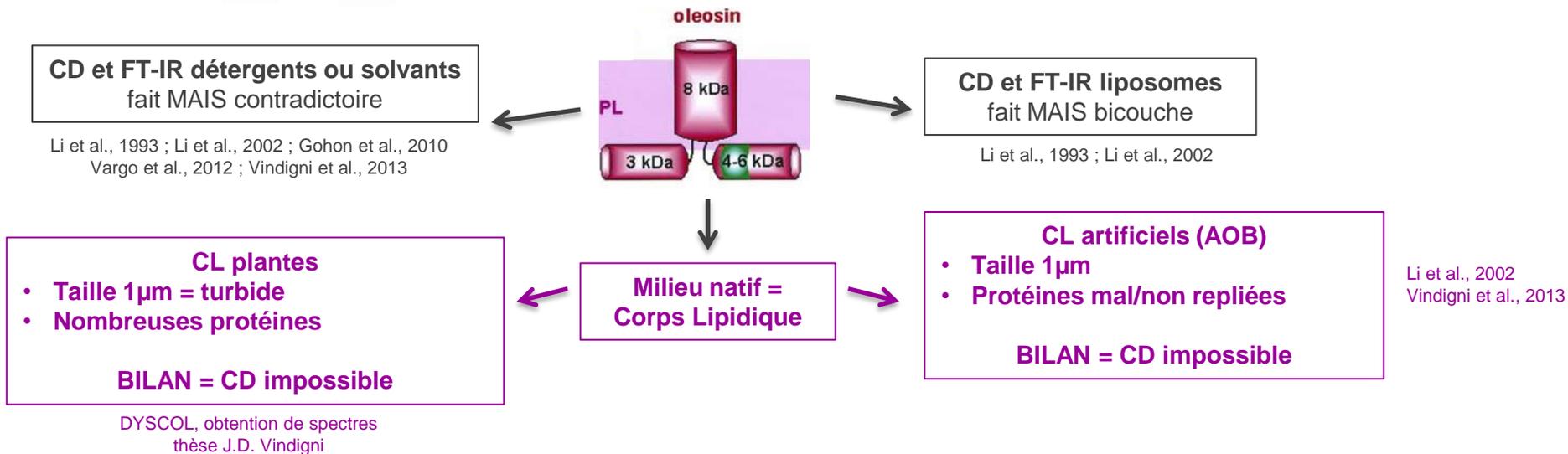
- Améliorer les procédés d'extraction d'huile
- Connaissance de la structure des oléosines (émulsifiants 😊 /allergènes ☹)



3- Le corps lipidique isolé pour l'analyse structurale

Questions de recherche : comprendre la structure du corps lipidique et des protéines associées

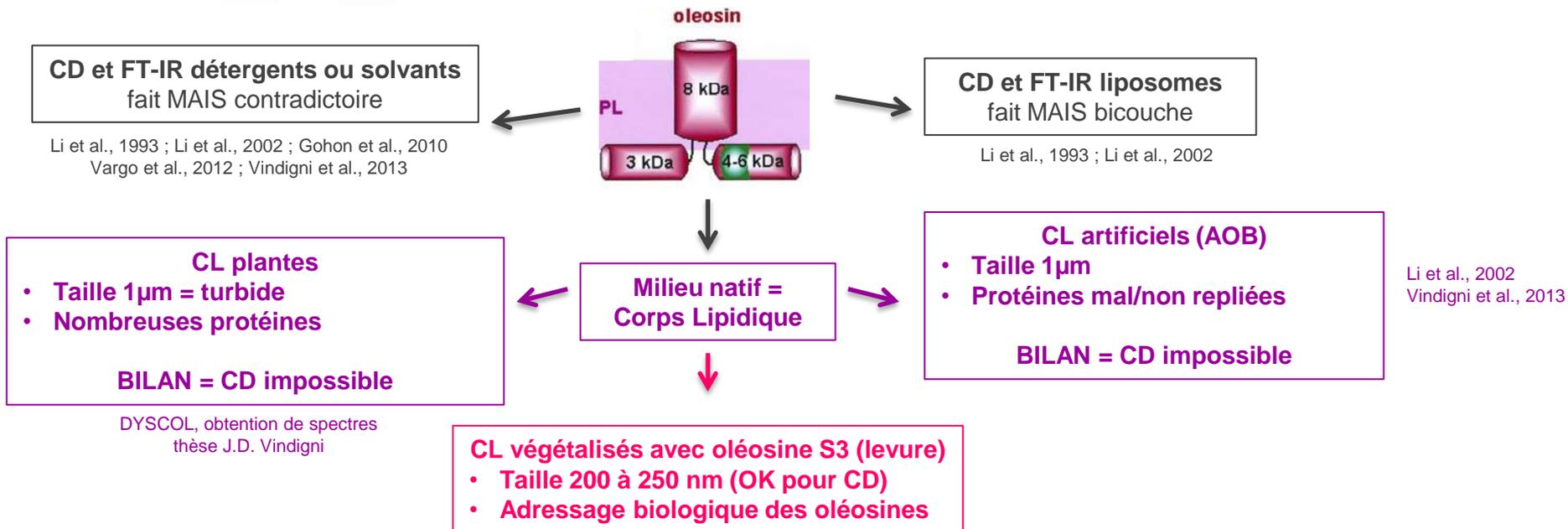
- Améliorer les procédés d'extraction d'huile
- Connaissance de la structure des oléosines (émulsifiants ☺ /allergènes ☹)



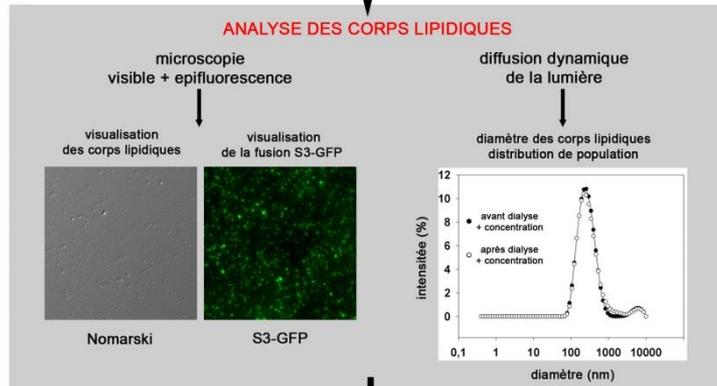
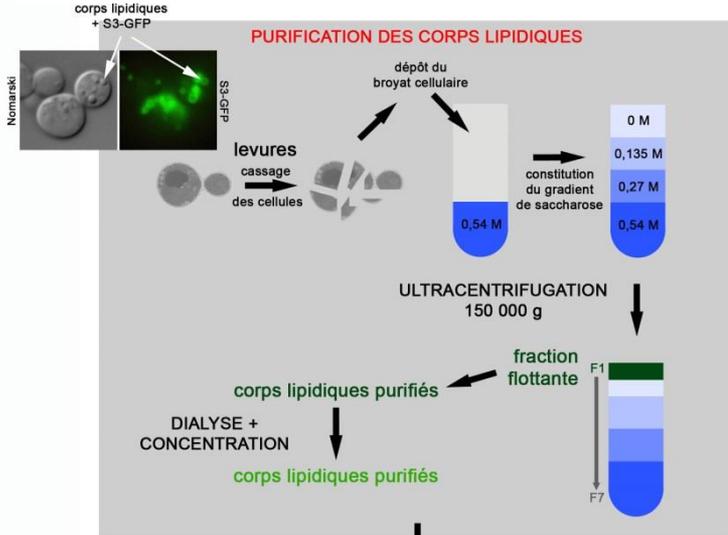
3- Le corps lipidique isolé pour l'analyse structurale

Questions de recherche : comprendre la structure du corps lipidique et des protéines associées

- Améliorer les procédés d'extraction d'huile
- Connaissance de la structure des oléosines (émulsifiants ☺ /allergènes ☹)



3- Le corps lipidique isolé pour l'analyse structurale



Difficultés rencontrées

- Choix de la méthode de cassage
Billes de verres/Sphéroplastes+Dounce/One Shot
- Choix du tampon
HEPES KCl puis dialyse Tris NaF / Tris NaF direct
- Nombre de purifications
1 gradient/2 gradients successifs
- Concentration des échantillons

limiter les
contaminations
turbidité/signal CD

Compromis

3- Le corps lipidique isolé pour l'analyse structurale



Collaborations
A. Giuliani, F. Wien

SRCD A SOLEIL

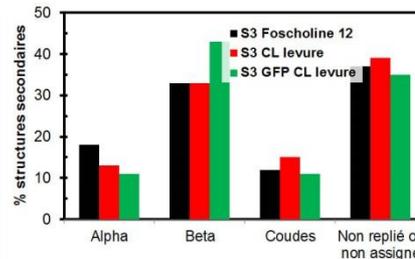
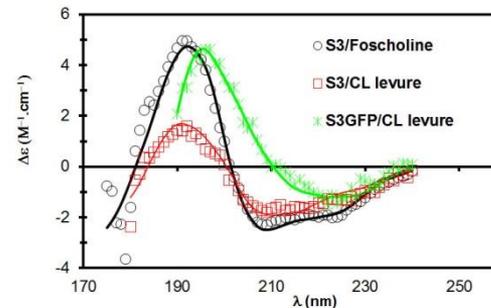
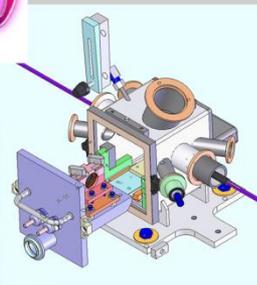
montage des échantillons



porte échantillon et cellules quartz



chambre et tiroir



J.D. Vindigni, F. Wien, A. Giuliani, Z. Erpapazoglou, R. Tache, F. Jagic, T. Chardot, Y. Gohon, M. Froissard, Fold of an oleosin targeted to cellular oil bodies, *Biochim Biophys Acta*, 1828 (2013) 1881-1888.

3- Le corps lipidique isolé pour l'analyse structurale



Collaborations : A. Giuliani, F. Jamme,
P. Roblin, M. Réfrégiers, F. Wien

**Dichroïsme circulaire (SRCD)
Imagerie UV lointain**



SOLEIL Proposal 20110107 (M. Froissard et Y. Gohon)
ANS CEPIA 2010-2011 (M. Froissard et Y. Gohon)

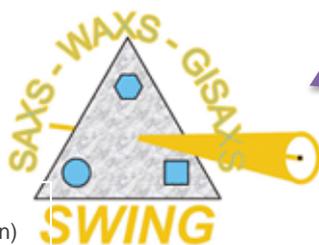
Levures



**Spectroscopie
Infra Rouge
(sFT-IR)**

SOLEIL Proposal 20110107 (M. Froissard et Y. Gohon)
ANS CEPIA 2010-2011 (M. Froissard et Y. Gohon)

**Diffusion des rayons X
aux petits angles
(SAXS)**



Proposal SOLEIL déposé (Y. Gohon)
ANS CEPIA SALTO demandée (Y. Gohon)

Plantes



**Empreinte X
+ protéomique
structurale**

SOLEIL Proposal (T. Chardot)
ANS CEPIA OSOLEILMIOX 2012-2013 (T. Chardot)
ANR SKIMSEEDS lettre d'intention déposée (T. Chardot)

L'équipe DYSCOL

Direction Thierry CHARDOT, INRA

Pierre BRIOZZO, AgroParisTech

Pascale JOLIVET, INRA

Sabine D'Andréa, AgroParisTech

Marine FROISSARD, INRA

Yann GOHON, AgroParisTech

Isabelle BOUCHEZ, INRA

Carine DERUYFFELAERE, INRA

Franjo JAGIC, INRA

Michel CANONGE, AgroParisTech

Roselyne TACHE, INRA

Bernard CINTRAT, AgroParisTech



Non permanents

Nawel HAILI CDD ProBio3

Zita PURKRTOVA CDD CAER

Laure AYME Thèse CJS

Radka KONCITIKOVA Thèse (accueil ponctuel)