



HAL
open science

Mise en évidence des modifications métaboliques induites par l'accumulation de lipides dans la levure *S. cerevisiae* par sFTIR sur cellules uniques

Marine Froissard, Frederic Jamme, Jean-David J.-D. Vindigni

► To cite this version:

Marine Froissard, Frederic Jamme, Jean-David J.-D. Vindigni. Mise en évidence des modifications métaboliques induites par l'accumulation de lipides dans la levure *S. cerevisiae* par sFTIR sur cellules uniques. 2012. hal-02804352

HAL Id: hal-02804352

<https://hal.inrae.fr/hal-02804352>

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 en
LUMIÈRE
5 ANS DE PARTENARIAT
AVEC SOLEIL



SOMMAIRE

ÉDITO

SOLEIL	4
INRA	5

SYNCHROTON SOLEIL

Le synchrotron SOLEIL, un centre de recherches et un outil au service des scientifiques	6
Les modalités d'accès à SOLEIL	9

PANORAMA DES RECHERCHES

ENZYMES ET PROTÉINES

Étude structurale des prolamines isolées à partir de l'albumen de blé	12
D. Renard et al. - Ligne DISCO	
Étude structurale de la protéine salivaire humaine IBS seule et en interaction avec un tanin	14
P. Sarni-Manchado et al. - Ligne DESIRS	
Relations structure-allergénicité dans les protéines de blé	16
J. Snégaroff et al. - Ligne DISCO	
Structures tridimensionnelles de protéines résolues sur la ligne de lumière PROXIMA-1	18
P. Briozzo et al. - Ligne PROXIMA1	
Cartographie UV à haute résolution et hydrolyse enzymatique de l'amidon	20
A. Buléon et al. - Ligne DISCO	
Structure – fonction des protéines phloémiennes PP2 chez <i>Arabidopsis thaliana</i>	22
D. Renard et al. - Ligne SWING	
Conformation en solution de protéines salivaires révélée par diffusion de rayons X aux petits angles (SAXS)	24
A. Vermhet et al. - Ligne SWING	
Structure des protéines stabilisatrices des réserves lipidiques de plantes oléagineuses	26
Y. Gohon et al. - Ligne DISCO	

MATIÈRES MOLLE & PHYSICO-CHIMIE

Structure de la micelle de caséine : une nouvelle proposition	28
A. Bouchoux et al. - Ligne SWING	
SAXS et synthèse enzymatique de polymères : détermination simultanée des conformations de transglucosidases et des polysaccharides produits	30
P. Robin et al. - Ligne SWING	
Oxydation des tanins en solution et diffusion de rayons X aux petits angles (SAXS)	32
C. Poncet-LeGrand et al. - Ligne SWING	
Structures cristallines formées par les triglycérides du lait : identification par diffraction des rayons X en utilisant le rayonnement synchrotron	34
C. Lopez et al. - Ligne SWING	
Agrégation entre tanins condensés et le polysaccharide hyaluronane	36
F. Cam et al. - Ligne SWING	
Caractérisation des couches de protéines accumulées lors des opérations de filtration et diffusion de rayons X	38
G. Gesan-Guizou et al. - Ligne SWING	

PRODUITS ANIMAUX

Étude de la dénaturation thermique des composants musculaires par microscopie infrarouge	40
T. Astruc et al. - Ligne SMIS	
Caractérisation de la composante protéique du foie gras en imagerie de fluorescence haute résolution	42
L. Theron et al. - Ligne DISCO	

PAROIS VÉGÉTALES ET FIBRES

Orientation sous contrainte des polysaccharides de la paroi du grain de blé : couplage sollicitation mécanique – microscopie infrarouge	44
C. Barron et al. - Ligne SMIS	
Imagerie du fer dans la cellule végétale : découverte d'un nouveau pool de fer dans le nucléole	46
H. Roschztardt et al. - Ligne LUCIA	
Hétérogénéité chimique des parois de tige de blé et modifications par saccharification enzymatique	48
A. Habrant et al. - Ligne SMIS	
Apport de la microscopie infrarouge et de l'imagerie de fluorescence haute résolution pour l'étude du grain de <i>Brachypodium</i>	50
F. Guillon et al. - Ligne SMIS	
Cartographie de la distribution des polymères dans les tiges de maïs par couplage d'images hyperspectrales dans le moyen infrarouge, en fluorescence UV et Raman	52
F. Allouche et al. - Lignes DISCO et SMIS	
Microanalyse à haute résolution du bois et dendrochronologie des arbres tropicaux	54
S. Ponton et al. - Ligne DIFFABS	

PETITES MOLÉCULES ET LIPIDES

Suivi de l'oxydation d'une émulsion lipidique par imagerie dynamique de fluorescence	56
M.-E. Cuvelier et al. - Ligne DISCO	
Corrélation entre la répartition des lipides et de FABP7 dans des cerveaux embryonnaires de rat	58
J. Aïoun et al. - Ligne SMIS	
Mesure des énergies d'ionisation de l'E-lycopène, de ses isomères Z et de ses produits d'oxydation par photoionisation à pression atmosphérique couplée à la spectrométrie de masse	60
M. Carail et al. - Ligne DISCO	

MICRO-ORGANISMES

Levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i> soumise au stress nano-argent : analyse haute résolution de la composition cellulaire par microscopie infra-rouge	62
C. Saulou et al. - Ligne SMIS	
Vers la compréhension de la résistance à la congélation de bactéries lactiques grâce à la microscopie infrarouge haute résolution	64
F. Fonseca et al. - Ligne SMIS	
Mise en évidence des modifications métaboliques induites par l'accumulation de lipides dans la levure <i>S. cerevisiae</i> par sFTIR sur cellules uniques	66
M. Froissard et al. - Ligne SMIS	

PROCÉDÉS

Imagerie dynamique de l'imprégnation en huile de produits frits étudiée en fluorescence UV	68
O. Vitrac et al. - Ligne DISCO	
Mécanismes moléculaires de diffusion de substances de type additifs dans les matrices plastiques étudiés par imagerie de fluorescence : application à la sécurité sanitaire des emballages	70
O. Vitrac et al. - Ligne DISCO	
Orientation macromoléculaire déterminée par microscopie infrarouge dans les matériaux à mémoire de forme en amidon	72
A. Buléon et al. - Ligne SMIS	

DÉVELOPPEMENTS INSTRUMENTAUX POUR LES LIGNES DE LUMIÈRE

SMIS : Spectroscopie et Microscopie Infrarouge utilisant le rayonnement Synchrotron	74
F. Jamme et al. - Ligne SMIS	
La ligne de lumière DISCO, de sa conception à son exploitation	76
A. Giuliani et al. - Ligne DISCO	
Imagerie sur la ligne de lumière DISCO (Dichroism, Imaging and mass Spectrometry for Chemical and biological systems)	78
F. Jamme et al. - Ligne DISCO	
Utilisation du rayonnement synchrotron pour l'activation d'ions en spectrométrie de masse tandem	80
A. Giuliani et al. - Ligne DESIRS	
La ligne de lumière SWING : Small and Wide angles X-rays scatterING	82
J. Periz et al. - Ligne SWING	

PORTRAITS 84

INDEX 87

Mise en évidence des modifications métaboliques induites par l'accumulation de lipides dans la levure *S. cerevisiae* par sFTIR sur cellules uniques

Chercheurs impliqués

M. Froissard¹, F. Jammé^{2,3}, J.D. Vindigni¹

1. UMR 1318 Institut Jean-Pierre Bourgin, INRA AgroParis-Tech, Versailles, France

2. UAR 1008 CEPIA, INRA, Nantes, France

3. Synchrotron SOLEIL, Gif-sur-Yvette, France

Contact

Marine Froissard, Institut Jean-Pierre Bourgin, Versailles
marine.froissard@versailles.inra.fr



RÉSUMÉ

L'utilisation combinée du faisceau synchrotron de la ligne SMIS et d'hémisphère en ZnSe nous a permis d'obtenir des spectres FTIR sur cellules uniques. Nos résultats ont révélé une hétérogénéité du métabolisme cellulaire au sein d'une population issue d'une même souche. Nous avons également observé de fortes modifications entre souches ayant une capacité variable de stockage des lipides neutres.

ABSTRACT

The combination of SMIS beamline synchrotron radiation and ZnSe hemisphere led us to obtain single-cell FTIR spectra. Our results revealed cell metabolism heterogeneity in a population coming from a single clone. We also observed clear modifications between strains exhibiting various capacities in neutral lipid storage.

Dans le contexte actuel d'épuisement des ressources fossiles, d'augmentation du prix du pétrole et de protection de l'environnement, la valorisation énergétique des huiles issues de la biomasse et la chimie verte prennent de l'importance. En effet, ces huiles et leurs dérivés biodégradables présentent un intérêt grandissant en remplacement des produits d'origine fossile. Deux sources sont envisagées, celle des huiles végétales déjà bien implantées, et celle des huiles de microorganismes (algues et levures), actuellement en plein essor. C'est dans ce cadre que se positionnent nos recherches visant à identifier des facteurs influant sur la qualité et la quantité de lipides produits par la levure. Grâce à la modification génétique de *S. cerevisiae* par l'expression de protéines impliquées dans le stockage des huiles chez les plantes, nous avons obtenu des souches capables d'accroître leur capacité de stockage des lipides de réserve. Ces souches apparaissent comme un outil de choix pour évaluer la dynamique du stockage des lipides et son impact sur le métabolisme général des cellules. Grâce à la présence du laboratoire de biologie au sein de SOLEIL, nous avons pu développer un protocole qui permet l'analyse par

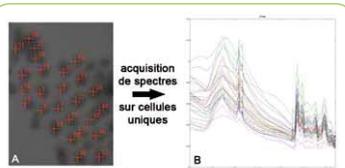


Figure 1 Spectres FTIR sur cellules uniques de *S. cerevisiae* exprimant AtClo1 après 42 heures de culture.
A, image en lumière visible de cellules séchées sur hémisphère de ZnSe.
B, spectres obtenus à partir de cellules d'une même hémisphère.

infrarouge de cellules à différents temps de croissance (1 jour = 18 heures et 2 jours = 42 heures) et récoltées fraîchement. Les cellules ont ainsi pu être prélevées, concentrées par centrifugation puis lavées à l'eau quelques minutes avant les observations. Une goutte de la suspension cellulaire a été séchée sur hémisphère ATR de zinc séléniure (ZnSe) de 4 mm de diamètre.

Les spectres (Figure 1) ont été enregistrés en utilisant le microscope Continuum XL disponible sur la ligne SMIS³ avec une résolution spatiale de 4x4 µm, correspondant à la taille moyenne d'une cellule (Figure 1). Nous avons analysé une souche accumulant des lipides de réserve suite à l'expression d'une protéine du corps lipidique d'*A. thaliana*, la caléosine AtClo1, ainsi qu'une souche de référence n'exprimant pas de protéine hétérologue. Un traitement statistique (analyse en

composantes principales, ACP) a été effectué sur l'ensemble des spectres obtenus et a révélé des variations significatives. La large répartition des nuages de points sur la représentation des individus de l'ACP (Figure 2A, population témoin/none ou avec AtClo1/clo) reflète l'hétérogénéité de la composition cellulaire (lipides, protéines, sucres) au sein d'une même population clonale. L'analyse nous montre également que les deux populations ont des compositions cellulaires significativement différentes (Figure 2A, séparation des populations none et clo). On observe dans la population exprimant la protéine AtClo1 une augmentation significative des lipides révélée par des modifications au niveau des bandes de vibration des esters et des CH, mais également une augmentation des phosphates. À l'inverse, il est possible de détecter une diminution du glycogène et des modifications au niveau des protéines (Figure 2B).

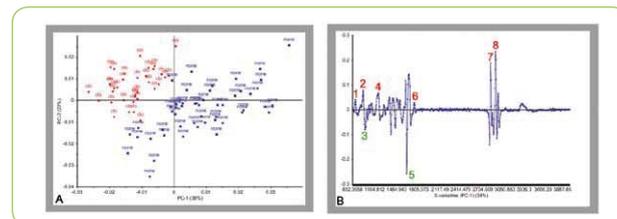


Figure 2 Analyse en composantes principales des spectres obtenus sur les cellules de référence (none) et sur des cellules exprimant AtClo1 (clo) après 42 heures de culture.
A, représentation des individus.
B, variables et corrélations. 1 : 890 cm⁻¹ C-C, C-O acide gras ; 2 : 1008 cm⁻¹ C-C ; 3 : 1032 cm⁻¹ C-O glycogène ; 4 : 1226 cm⁻¹ PO2 ; 5 : 1640 cm⁻¹ amide 1 ; 6 : 1740 cm⁻¹ C=O ester ; 7-8 : 2850, 2930 cm⁻¹ C-H.

CONCLUSION

Avec une résolution spatiale de 4x4 µm, obtenue par le passage de la lumière infrarouge synchrotron au travers d'un hémisphère de ZnSe, nous avons analysé la composition chimique de cellules uniques de *S. cerevisiae*. Nous avons ainsi mis en évidence qu'une augmentation de la teneur en lipides neutres induit d'importantes modifications métaboliques, ce qui prouve que la cellule régule ses pools de carbone. Nous avons observé une corrélation inverse entre teneur en lipides et glycogène. Ces résultats ont permis d'orienter la suite de nos recherches. Nous avons confirmé la corrélation inverse entre lipides de réserve et sucres de réserve par des dosages biochimiques. Nous allons maintenant procéder à des analyses transcriptomiques afin d'identifier les régulateurs et les mécanismes cellulaires mis en jeu lors du stockage des lipides de réserve pour aller vers l'obtention de levures performantes pour des applications biotechnologiques.

Références

1. M. Froissard, S. D'Andréa, C. Boulard, T. Chardot (2009), *FEMS Yeast Res.*, 9, 428-438
2. C. Boulard, M. Froissard, *Techniques de l'Ingénieur*, sous presse.
3. P. Dumas, F. Polack, B. Lagarde, O. Chubar, J.L. Giorgetta, S. Lefrançois (2006) *Infrared Phys. Tech.*, 49, 152-160