

## Proposition de stage

### Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

#### 1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : Laboratoire d'Océanographie Microbienne  
Adresse : Observatoire de Banyuls sur Mer, Avenue Pierre fabre, 66650 Banyuls sur Mer  
Responsable du Laboratoire / Entreprise : Fabien Joux  
Responsable de l'encadrement : François-Yves Bouget  
Téléphone : 04.68.88.73.50  
Fax : 04.68.88.73.95  
E-mail : francois-yves.bouget@obs-banyuls.fr  
Co-encadrant éventuel : Jean-Baptiste Guyon

#### Perspectives de poursuite de thèse :

oui

avec une bourse spécifique

non

#### 2. Titre, description du sujet, approches utilisées, références (2 pages maximum) :

Titre : « Optimisation de la synthèse de caroténoïdes chez *Ostreococcus tauri* par ingénierie génétique de la lycopène cyclase »

#### Description :

Les microalgues sont une source de composés d'intérêt pour les biotechnologies, tels que les caroténoïdes. Ces molécules possèdent de nombreux rôles chez les microalgues allant de la photoprotection à la captation de l'énergie lumineuse. Les activités antioxydantes ont été souvent observées au sein de cette famille moléculaire notamment sur des composés tels que l'astaxanthine, la lutéine, le  $\beta$ -carotène ou encore le lycopène. Pour optimiser la production quantitative et qualitative de caroténoïdes, plusieurs approches sont possibles : (1) par optimisation des conditions de culture, notamment en appliquant des stress thermiques, salins ou lumineux, (2) par ingénierie métabolique en modifiant les voies de biosynthèse par génie génétique.

Nous avons promu la picoalgue verte eucaryote *Ostreococcus tauri* (Mamiellophyceae) comme organisme modèle, notamment en développant les techniques de transformation génétique par recombinaison homologe (Lozano et al., 2014).

Les approches physiologiques ont montré qu'il est possible d'améliorer quantitativement et qualitativement la production de caroténoïdes (alpha et beta) en

condition de stress, le pigment majoritaire étant l'alpha caroténoïde Prasinoxanthine (Guyon et *al.*, in prep). Chez *O. tauri*, la synthèse des alpha et beta carotènes, fait intervenir une lycopène cyclase particulière (fusion de domaine Epsilon et Beta) dont l'expression chez *E. coli* permet de moduler les ratios alpha/beta caroténoïdes. (Blatt et *al.*, 2015). Nous avons produit, par génie génétique, plusieurs mutants de la lycopène cyclase d'*O. tauri*.

L'objectif de ce stage est de caractériser ces mutants afin de comprendre le rôle de la lycopène cyclase d'*O.tauri* dans la modulation de la synthèse des alpha et beta caroténoïdes. L'étude permettra aussi d'orienter la voie de biosynthèse, vers les dérivés alpha (Prasinoxanthine) ou Beta (Violaxanthine, Zeaxanthine...) caroténoïdes.

La construction insérée dans l'organisme *Ostreococcus tauri* est munie d'un promoteur inductible par le phosphate qui permet de moduler le niveau d'expression du transgène. Le travail consistera à déterminer la croissance par cytométrie en flux de 5 mutants de lycopène cyclase dans des conditions standards et en réponse à différentes concentrations de phosphate. Les effets de la lumière, la photopériode et la température seront également testés. Les activités photosynthétiques seront mesurées en parallèle par Phyto-Pam. Les profils en caroténoïdes seront déterminés par chromatographie en couche mince (HPTLC), l'objectif étant de caractériser les contenus en caroténoïdes de chaque lignée en condition standard et optimales de lumière et température.

Nous recherchons un candidat motivé, autonome, ayant des capacités de synthèse et de rédaction.

#### Référence :

Blatt, A., Bauch, M. E., Pörschke, Y. & Lohr, M. A lycopene  $\beta$ -cyclase/lycopene  $\epsilon$ -cyclase/light-harvesting complex-fusion protein from the green alga *Ostreococcus lucimarinus* can be modified to produce  $\alpha$ -carotene and  $\beta$ -carotene at different ratios. *Plant J.* **82**, 582–95 (2015).

Lozano, J-C., Schatt, P., Botbol, H., Verge, V., Lesuisse, E., Blain, S., Carré, I.A. & Bouget, F-Y. Efficient gene targeting and removal of foreign DNA by homologous recombination in the picoeucaryote *Ostreococcus*. *The Plant Journal.* **78**, 1073-1083 (2014).

Guyon et *al.*: Comparative analysis of culture condition for the optimization of carotenoids in several strains of the picoeucaryote *Ostreococcus* (*submitted to Marine Drugs*)