

Proposition de stage

Parcours Master 2 « Microbiologie, Environnement, Santé »

1. Laboratoire / Entreprise d'accueil :

Intitulé : I2BC/B3S/MROP

Adresse : I2BC, CEA Saclay, Bât 532

Responsable du Laboratoire: Thierry Meinell ; Responsable de l'équipe : Diana Kirilovsky

Responsable de l'encadrement : Diana Kirilovsky

Téléphone : 0169089571

E-mail : diana.kirilovsky@cea.fr

Co-encadrant éventuel : Adjélé Wilson

2. Titre, description du sujet, approches utilisées, références (1 page maximum) :

L'Orange Carotenoid Protein, une protéine modulaire et photoactive chez les cyanobactéries

La lumière est essentielle aux organismes photosynthétiques, qui, tout en produisant de l'oxygène, convertissent l'énergie solaire en énergie chimique lors de la synthèse de molécules carbonées organiques. Cependant la lumière devient nocive lorsque l'excitation atteignant les centres réactionnels photosynthétiques excède les capacités de l'organisme à utiliser cette énergie par différents processus cellulaires. Pour répondre aux différents stress, les plantes, algues et cyanobactéries ont développé des mécanismes de réponse rapide qui utilisent les machineries enzymatique et photosynthétique existantes. Ces réponses visent à équilibrer les quantités d'énergie absorbée et utilisée et à diminuer la formation des ROS. Un de ces mécanismes est la dissipation de l'énergie d'excitation au niveau d'antennes collectrices de lumière. Chez les cyanobactéries, le détecteur du stress et le déclencheur du mécanisme de défense est une protéine pigmentée soluble (« Orange Carotenoid Protein » OCP). **L'OCP, fait partie d'une nouvelle famille des photorécepteurs, éléments essentiels pour détecter les changements environnementaux afin de s'y adapter rapidement.** L'absorption d'une lumière bleu-vert induit des changements conformationnels dans le caroténoïde et dans la protéine transformant la forme inactive (orange) en une forme active (rouge). L'OCP est composée par deux domaines (NTD et CTD) qu'ont des fortes interactions dans sa forme orange inactive. Les domaines sont reliés par un « loop » et le caroténoïde traverse les deux domaines. Les interactions entre les domaines sont rompues pendant la photoactivation et la protéine active adopte une conformation ouverte. Chez les génomes de certaines cyanobactéries existent de gènes codant seulement pour la partie N-terminal de l'OCP (NTDH ou HCP) et pour la partie C-terminal (CTDH) qui en se combinant peuvent former des OCP nouvelles. De plus, ces protéines ont des rôles spéciaux dans la cellule. Ces caractéristiques permettent d'envisager l'utilisation de l'OCP et des nouvelles OCPs pour le développement de nouveaux photoswitches pour utiliser en optogénétique (activation des enzymes par la lumière) ou visant à réguler la captation de lumière dans les systèmes photosynthétiques artificiels. Un prérequis est cependant de comprendre le mécanisme de photoactivation de l'OCP et des interactions entre CTDH et NTDH. **L'objectif de nos recherches est de d'élucider le mécanisme d'action des protéines OCP, CTDH et NTDH et des construire par biologie synthétique des nouvelles OCP photoactives.** Nos

études sont également importantes pour d'autres applications biotechnologiques dans la mesure où plantes et cyanobactéries sont au centre de nombreux programmes de bioénergie. Nos études aideront à la détermination des meilleures espèces et des meilleures conditions pour cette production.

Le but du stage est d'élucider l'interaction entre les deux domaines de l'OCP et essayer de construire d'OCPs chimériques à partir des différents NTDH et CTDH dans un programme de biologie synthétique. Nous avons récemment développé un système à 3 ou 2 plasmides pour synthétiser d'holo-OCPs (protéine+ caroténoïde), CTDH et NTDH chez *E coli*. L'étudiant utilisera ce système pour produire les protéines. L'étudiant aussi construira des mutants de ces protéines. Les relations entre CTDH et NTDH seront étudiés ainsi que l'incorporation du caroténoïde. Des OCP-like seront créés. Les protéines seront isolées et leur activité testée ainsi que sa capacité pour induire un quenching de fluorescence du phycobilisome, l'antenne des cyanobactéries. L'étudiant fera des expériences en biologie moléculaire, biochimie et biophysique.

Review sur le sujet : **Kirilovsky D** and Kerfeld CAK (2016) Cyanobacterial photoprotection by the orange carotenoid protein. **Nature Plants**, vol 2, 2 december 2016, doi: 10.1038/NPLANTS.2016.180

Leverenz R, Sutter M, Wilson A, Gupta S, Thurotte A, Bourcier de Carbon C, Petzold C, Ralston C, Perreau F, **Kirilovsky D**, Kerfeld C (2015) A carotenoid translocation activates photoprotection in cyanobacteria. **Science** **348**, 1463-1466

López-Igual R, Wilson A, Leverenz RL, Melnicki MR, Bourcier de Carbon C, Sutter M, Turmo A, Perreau F, Kerfeld CA, **Kirilovsky D**. (2016) Different functions of the paralogs to the N-terminal domain of the Orange Carotenoid Protein in the cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC7120. **Plant Physiol** 171 (3), 1852-1866.

Muzzopappa F, Wilson A, Yogarajah V, Cot S, Perreau F, Mongtigny C, Bourcier de Carbon C and **Kirilovsky D** (2017) The paralogs to the C-terminal domain of the cyanobacterial OCP are carotenoid donors to HCPs. **Plant Physiol** **175**, 1283-1303 doi: 10.1104/pp.17.01040