

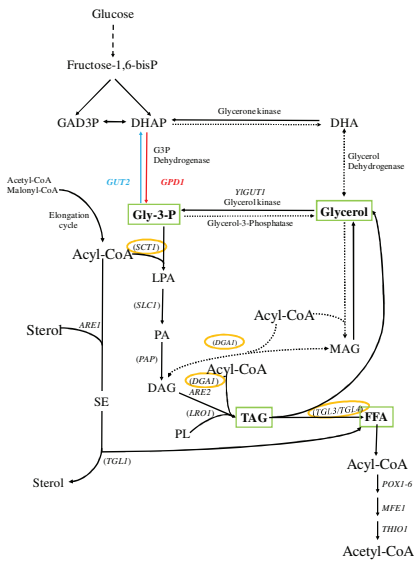
# Implication de la navette G3P et de la $\beta$ -oxydation dans le contrôle de la synthèse des TAG et de l'accumulation lipidique chez *Yarrowia lipolytica*

Dulermo T<sup>1</sup>, Nicaud JM<sup>1</sup>.

Adresse

<sup>1</sup> INRA-AgroParisTech, UMR1319, Micalis, AgroParisTech, Centre de Biotechnologie Agro-Industrielle, F-78850 Thiverval-Grignon, France

E-mail : [jean-marc.nicaud@grignon.inra.fr](mailto:jean-marc.nicaud@grignon.inra.fr) Tel : 01 30 81 54 50 ; Fax : 01 30 81 54 57



*Yarrowia lipolytica* est l'une des levures non conventionnelles les plus étudiées et présente comme particularité d'être une levure oléagineuse. *Y. lipolytica* est capable d'accumuler jusqu'à 35% de sa masse sèche en lipides. Les facteurs clés impliqués dans l'accumulation lipidique et plus particulièrement dans l'accumulation des TAG sont relativement méconnus. La première étape de synthèse des TAG est la condensation d'un acyl-CoA sur un glycérol-3-phosphate (G3P). Notre équipe a récemment montré qu'il était possible d'augmenter la capacité d'accumulation de lipides et plus particulièrement de TAG de *Y. lipolytica* en inactivant le gène *GUT2*, impliqué dans la navette G3P, constituée des protéines Gut2 et de Gpd1 (Beopoulos *et al.*, 2008). Ces deux protéines sont des G3P déshydrogénases, Gut2 convertie le G3P en DHAP alors que Gpd1 est impliqué dans la réaction inverse.

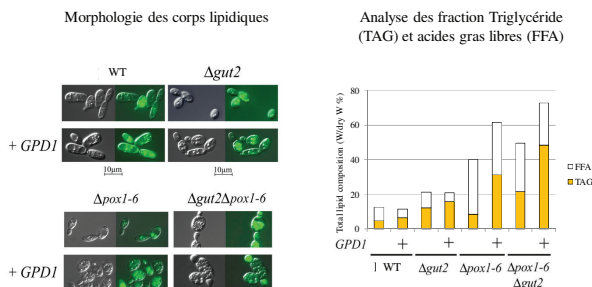
Afin de mieux comprendre les mécanismes impliqués dans la synthèse et l'accumulation des TAG et des lipides, et le lien entre niveau d'accumulation et G3P, nous avons étendu l'analyse au gène *GPD1*. Pour cela le gène *GPD1* a été surexprimé dans différents contextes génétiques : sauvage,  $\Delta gut2$  et souche inactivée pour la  $\beta$ -oxydation ( $\Delta pox1-6$ ). Des analyses métaboliques (<sup>31</sup>P- RMN et GC), et transcriptionnelles (Q-PCR) axées sur les voies de synthèse et de dégradation des TAG ont été entreprises sur les souches sauvages,  $\Delta gut2$  et inactivées pour la  $\beta$ -oxydation ainsi que sur leurs dérivées surexprimant *GPD1*.

## 1 - La concentration de G3P est augmentée dans les souches $\Delta gut2$ et *GPD1*+

|     | <sup>31</sup> P métabolites (μmoles/g of dry mass) |               |               |               |                 |               |                 |               |
|-----|--|---------------|---------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|---------------|
|     | WT   |               | $\Delta gut2$ |               | $\Delta pox1-6$ |               | $\Delta gut2$   |               |
|     | WT   | <i>GPD1</i> + | $\Delta gut2$ | <i>GPD1</i> + | $\Delta pox1-6$ | <i>GPD1</i> + | $\Delta pox1-6$ | <i>GPD1</i> + |
| G3P | 5  | 7.7           | 14.4          | 28.5          | 7               | 10.3          | 14.6            | 11.7          |

La délétion de *GUT2* et la surexpression de *GPD1* ont pour effet d'augmenter la concentration en G3P

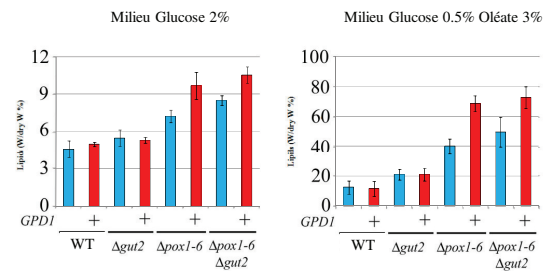
## 3 - Impact de la surexpression de *GPD1* sur les corps lipidiques et les lipides de réserves



La surexpression de *GPD1* a un effet majeur en contexte  $\Delta pox1-6$

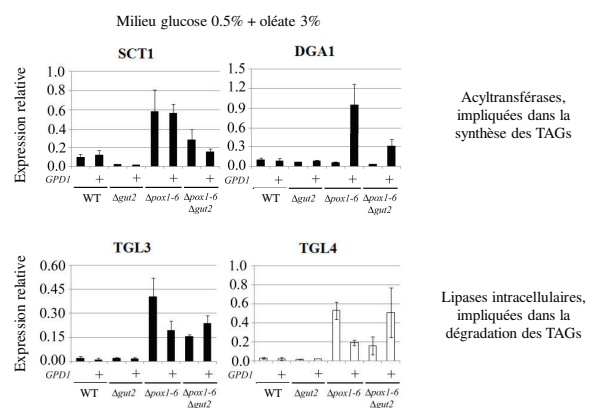
- Augmentation de la taille et du nombre de corps lipidiques
- Accroissement important de la teneur en TAG

## 2 - La surexpression de *GPD1* induit la synthèse et l'accumulation de lipides chez *Y. lipolytica*



La surexpression de *GPD1* a un effet sur l'accumulation de lipide uniquement en contexte  $\Delta pox1-6$

## 4 - Les souches accumulant le plus de lipides et de TAG, surexpriment les gènes *SCT1* et *DGA1* et répriment les gènes *TGL3* et *TGL4*



Contexte  $\Delta pox1-6$

→ induction de l'expression des acyltransférases et des lipases intracellulaires

Si inactivation de *GUT2* et/ou surexpression de *GPD1*

→ répression de l'expression des lipases intracellulaires

## Conclusion

- L'augmentation du pool de G3P a un effet positif sur la synthèse et l'accumulation des TAG. Cependant, les souches accumulant le plus de G3P ne sont pas celle qui accumulent le plus de lipides ou de TAG. Il est vraisemblable que la concentration en G3P des souches suraccumultrices de TAG soit faussée, une importante quantité de G3P devant être absorbée par la synthèse des TAG.
- L'analyse des souches inactivées pour la  $\beta$ -oxydation, et/ou délétées de *GUT2* et/ou surexprimant *GPD1* indique que l'accumulation de TAG résulte à la fois d'une surexpression de gènes impliqués dans la synthèse des TAG mais également d'une répression des gènes impliqués dans la dégradation des TAG. La forte quantité de FFA retrouvé dans certaines souches s'explique par le fait que ces souches expriment fortement les lipases intracellulaires.

→ La navette G3P ainsi que la  $\beta$ -oxydation, sont important dans la régulation de la synthèse et de l'accumulation des TAG et par extension des lipides