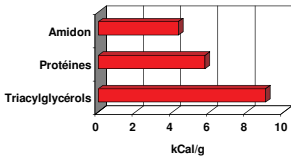


## Microalgues et biodiesel

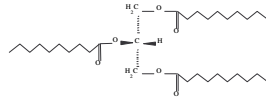
### Les triacylglycérols (TAG), lipides de réserve

- Dans la plupart des organismes, les triacylglycérols constituent la principale forme de réserve en lipides
- Ce sont les constituants majeurs des huiles végétales
- Ils sont formés de trois acides gras estérifiés à une molécule de glycérol
- Dans une cellule, c'est la forme de stockage d'énergie et de matière carbonée la plus compacte

#### Contenu en énergie



Molécule de triacylglycérol (ou triglycéride, TAG). Les trois acides gras représentés ici sont identiques mais ils peuvent être de nature variable.



- Les triacylglycérols des huiles végétales sont utilisés pour faire du biodiesel (transestérification chimique)

### Les microalgues, un système attractif de production de triacylglycérols

- En conditions de stress (e.g. carence en azote), certaines microalgues peuvent accumuler des TAGs
- Cette accumulation peut représenter jusqu'à 60% de leur biomasse
- La productivité observée en photobioréacteurs est très supérieure aux meilleures plantes oléagineuses

	Palmer à huile	Colza	Microalgues
Productivité en lipides (T. ha <sup>-1</sup> .an <sup>-1</sup> )	4-7	0.5-0.6	40-60

#### MAIS:

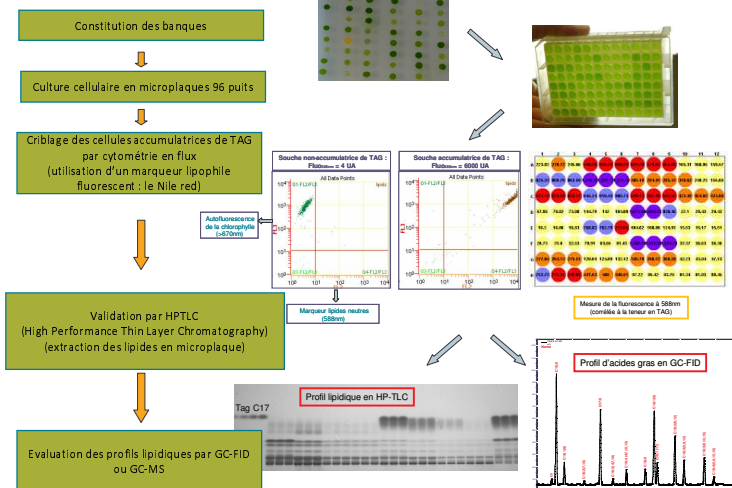
- Les coûts de production en photobioréacteurs sont encore prohibitifs
- La culture de masse en systèmes ouverts pose le problème des contaminations par d'autres organismes
- Les TAG ne s'accumulent qu'en conditions limitant la biomasse (stress)
- ⇒ La domestication du métabolisme lipidique des microalgues afin de produire des TAG dans des conditions ne limitant pas la biomasse est un verrou biotechnologique majeur à lever.

Les recherches menées au LB3M visent à comprendre les mécanismes fondamentaux de production des lipides dans des microalgues modèles, en vue de leur application à des espèces d'intérêt industriel.

## Criblage de la biodiversité et de banques de mutants

La sélection de souches hyper-accumulatrices de TAG est une étape essentielle pour la production de biodiesel. La plateforme HélioBiotech a mis au point un protocole de screening haut-débit dédié au criblage de la biodiversité et de banques de mutants. Ce protocole est utilisé par les équipes de recherche du LB3M et dans le cadre de partenariats avec des laboratoires et entreprises externes. La collaboration avec l'entreprise FERMENTALG depuis mars 2009 en est un premier exemple (voir encadré ci-dessous).

### Protocole de screening haut-débit :



### Collaboration avec FERMENTALG :

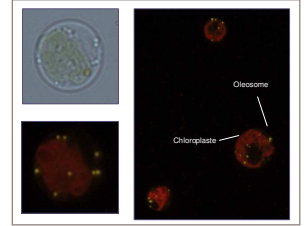
FERMENTALG est une start-up créée en janvier 2009 par Pierre CALLEJA. Implantée à Libourne (33), cette jeune entreprise innovante s'est orientée vers la production de biomasse microalgale et de lipides d'intérêts en fermenteurs par voie hétérotrophe. Les marchés visés par FERMENTALG sont principalement l'aquaculture, la nutrition/santé (w3, EPA, DHA) et le biodiesel. Pour cette dernière application, FERMENTALG a établi un partenariat de recherche avec le LB3M.



## Étude du stockage lipidique intra-cellulaire chez *C. reinhardtii*

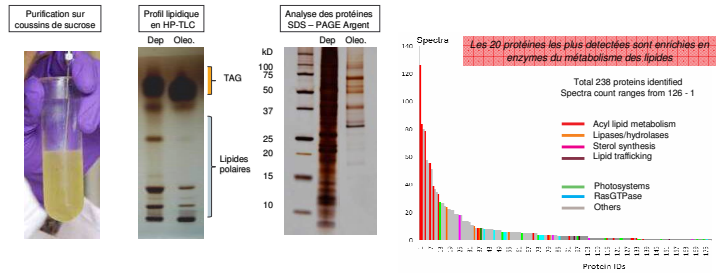
### Approche microscopique

Observation au microscope à fluorescence de mutants de *Chlamydomonas reinhardtii* après marquage au Nile Red des lipides neutres.

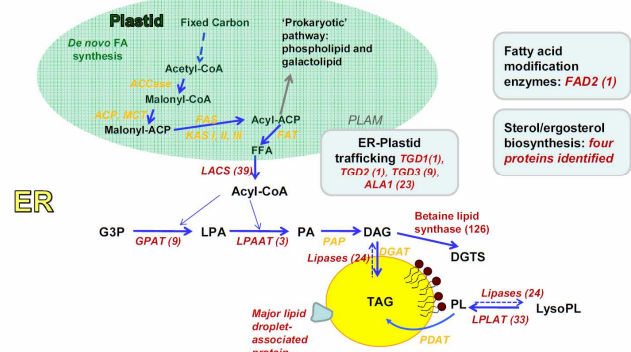


### Approche protéomique

Purification des organelles de stockage des lipides (Oléosomes) et identification des protéines associées par nano LC-MS/MS (Collaboration Laboratoire Edyp au CENG Grenoble-ANR Algonics)



Rôles possibles des protéines identifiées lors de l'étude protéomique des oléosomes dans le métabolisme des lipides. Valeurs des spectral counts entre parenthèses. Note: Les protéines en orange ne sont PAS détectées dans cette expérience.

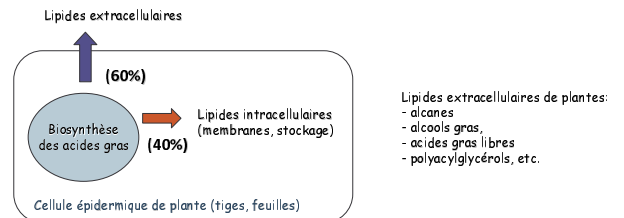


## La sécrétion de lipides dans le milieu extérieur, une stratégie alternative

### Avantages attendus de la production de lipides dans le milieu extérieur

- Pas de limitation de l'accumulation par des facteurs génétiques ou des régulations métaboliques
- Production en continu
- Evite les coûts élevés liés à l'extraction de l'huile de la biomasse

### Certaines cellules végétales sont spécialisées dans la sécrétion de lipides



### Objectifs

- Identification des protéines permettant la sécrétion de lipides chez la plante modèle *Arabidopsis thaliana*
- Recherche et caractérisation d'homologues chez les microalgues
- Caractérisation des lipides extracellulaires et recherche de mutants de sécrétion de lipides chez *Chlamydomonas reinhardtii*

## A suivre ...

- Acquisition d'une HPLC-MS en vue d'une caractérisation poussée des classes de lipides (accès aux espèces moléculaires).
- Caractérisation des mutants de *Chlamydomonas* sélectionnés dans les cribles
- Mise en évidence de voies de sécrétion de lipides chez les microalgues