

TITRE DU PROJET : Rôle de l'ergostérol dans la résistance de levures à des traitements photo-oxydatifs intenses

1) Renseignements administratifs sur la direction de thèse (1 page maximum) :

Directeur de thèse HDR :

Nom : DUPONT

Prénom : Sébastien

2) Descriptif du projet de thèse (devra inclure les rubriques suivantes) :

UMR Procédés Alimentaires et Microbiologiques (UMR PAM 1517)

Université de Bourgogne Franche-Comté, Université de Bourgogne, Institut Agro Dijon,
INRAE

1, esplanade Erasme - 21000 DIJON

Directeur de thèse : Sébastien DUPONT

Contact scientifique : sebastien.dupont@agrosupdijon.fr

Titre de la thèse : Rôle de l'ergostérol dans la résistance de levures à des traitements photo-oxydatifs intenses

Description du projet de thèse (2 pages max) :

Les micro-organismes fongiques, tels que les levures et les champignons filamenteux, sont utilisés depuis très longtemps par l'Homme dans la fermentation des aliments. Cependant, certains de ces micro-organismes sont impliqués dans l'altération des aliments et dans des pathologies pouvant toucher les végétaux ou les animaux, incluant les humains. Le principal moyen de maîtrise des micro-organismes fongiques repose sur l'application de molécules chimiques antifongiques. L'utilisation massive de ces molécules est néanmoins à l'origine de problèmes toxicologiques et environnementaux. Des phénomènes de résistance à ces molécules peuvent également être observés (Dai and Hamblin 2017). L'application de traitement physiques d'inactivation pourrait être une alternative ou participer à une réduction de l'utilisation des molécules antifongiques. Parmi ces traitements, l'utilisation de la lumière visible permet l'inactivation de micro-organismes fongiques par photo-oxydation lorsque celle-ci est appliquée dans des plages de longueurs d'onde autour de 400 nm, correspondant au bleu profond. Les études réalisées sur ce thème ont montré que les temps d'application requis pour l'inactivation sont généralement longs, de l'ordre de plusieurs dizaines de minutes à plusieurs heures (Murdoch et al. 2013 ; Zhang et al. 2016) représentant ainsi un frein à l'application des traitements lumineux comme moyen d'inactivation des micro-organismes fongiques. Les mécanismes létaux lors de l'application de ces traitements, et notamment les cibles cellulaires, ne sont également pas encore clairement identifiés.

Mieux comprendre les effets cellulaires de ces traitements pourrait permettre de les optimiser et notamment réduire les temps de traitement et l'énergie utilisée. Dans ce cadre, l'UMR PAM étudie depuis quelques années les effets de l'intensité de la lumière visible bleue sur l'inactivation de micro-organismes. L'intensité lumineuse, correspondant à la puissance, a jusqu'à maintenant été peu considérée dans l'effet létaux des traitements. En effet, la

grande majorité des études se sont focalisées sur la quantité d'énergie requise pour inactiver les micro-organismes sans prendre en compte la vitesse à laquelle cette énergie est apportée. En plus de réduire les temps de traitements, nos premiers travaux ont montré que l'augmentation de la puissance lumineuse permet de réduire l'énergie requise pour inactiver des micro-organismes (Lang et al. 2022 ; Thery et al. 2023). Nous avons également pu identifier que la membrane plasmique est le site où la photo-oxydation est créée et est ainsi une cible majeure des traitements lumineux (Grangeteau et al. 2018). Le projet de thèse s'inscrit dans la suite de ces travaux et vise à caractériser les effets cellulaires de traitements lumineux à ultra haute intensité (UHI). Depuis l'invention des LED bleues en 1990 (Nakamura et al. 1994), les développements et le perfectionnement des LED a permis d'augmenter les performances de cette technologie. Sur cette base, le laboratoire a développé un réacteur lumineux UHI sur la base de LED bleues permettant d'illuminer des échantillons jusqu'à 30 kW/m². Ce dispositif permet d'appliquer des puissances lumineuses pour lesquelles les effets biologiques ne sont pas connus. Il permet également de maîtriser les modalités d'application permettant ainsi d'appliquer des traitements continus ou de manière pulsée. Il sera ainsi utilisé pour visiter les effets cellulaires des traitements UHI et, d'une manière originale, caractériser l'effet de la puissance lumineuse.

Le modèle d'étude utilisé pendant la thèse sera la levure *Saccharomyces cerevisiae* qui présente l'avantage de pouvoir être produite en grande quantité facilement et pour laquelle le laboratoire dispose de nombreux mutants permettant d'évaluer le rôle de certains gènes et fonctions physiologiques dans la résistance aux traitements lumineux. Un focus particulier sera porté sur la membrane plasmique des levures et notamment sur l'un de ses lipides, l'ergostérol. Chez les champignons supérieurs, l'ergostérol est le principal stérol accumulé et peut représenter jusqu'à un tiers des lipides de la membrane plasmique. Par rapport à la plupart des autres stérols, l'ergostérol présente deux doubles liaisons conjuguées dans un de ses cycles lui conférant des propriétés antioxydantes (Dupont et al. 2021). Il pourrait ainsi jouer ainsi un rôle crucial dans la résistance des micro-organismes fongiques aux traitements photo-oxydatifs. Une partie des antifongiques, comme l'amphotéricine B, cible la synthèse ou la fonctionnalité de l'ergostérol des champignons. L'étude de la combinaison de ce type de molécules avec des traitements lumineux pourrait donc se révéler intéressante.

Ce projet de thèse ambitionne ainsi de développer des connaissances fondamentales sur l'effet de la puissance lumineuse sur les structures cellulaires mais aussi de caractériser le rôle de l'ergostérol dans la résistance des micro-organismes fongiques aux traitements photo-oxydatifs. Ces connaissances pourraient se révéler cruciales pour développer de nouveaux procédés d'inactivation basés sur l'utilisation de la lumière bleue UHI.

Références :

- Dai T, Hamblin MR (2017) Visible Blue Light is Capable of Inactivating *Candida albicans* and Other Fungal Species. *Photomed Laser Surg* 35:345–346. <https://doi.org/10.1089/pho.2017.4318>
- Dupont S, Fleurat-Lessard P, Cruz RG, Lafarge C, Grangeteau C, Yahou F, Gerbeau-Pissot P, Abrahão Júnior O, Gervais P, Simon-Plas F, Cayot P, Beney L (2021) Antioxidant Properties of Ergosterol and Its Role in Yeast Resistance to Oxidation. *Antioxidants* 10:1024. <https://doi.org/10.3390/antiox10071024>
- Grangeteau C, Lepinois F, Winckler P, Perrier-Cornet J-M, Dupont S, Beney L (2018) Cell Death Mechanisms Induced by Photo-Oxidation Studied at the Cell Scale in the Yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Front Microbiol* 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02640>
- Lang E, Thery T, Peltier C, Colliau F, Adamuz J, Grangeteau C, Dupont S, Beney L (2022) Ultra-high irradiance (UHI) blue light: highlighting the potential of a novel LED-based device for short antifungal treatments of food contact surfaces. *Appl Microbiol Biotechnol* 106:415–424. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11718-9>

- Murdoch LE, McKenzie K, Maclean M, MacGregor SJ, Anderson JG (2013) Lethal effects of high-intensity violet 405-nm light on *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, and on dormant and germinating spores of *Aspergillus niger*. *Fungal Biol* 117:519–527. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.05.004>
- Nakamura S, Mukai T, Senoh M (1994) Candela-class high-brightness InGaN/AlGaIn double-heterostructure blue-light-emitting diodes. *Appl Phys Lett* 64:1687–1689. <https://doi.org/10.1063/1.111832>
- Thery T, Beney L, Grangeteau C, Dupont S (2023) Sporicidal efficiency of an ultra-high irradiance (UHI) near UV/visible light treatment: An example of application to infected mandarins. *Food Control* 147:109568. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109568>
- Zhang Y, Zhu Y, Chen J, Wang Y, Sherwood ME, Murray CK, Vrahas MS, Hooper DC, Hamblin MR, Dai T (2016) Antimicrobial blue light inactivation of *Candida albicans*: In vitro and in vivo studies. *Virulence* 7:536–545. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1155015>

Financement du projet – partie Recherche (montants acquis, type de contrat)

Le financement du fonctionnement de la thèse sera assuré par le financement Inter Instituts Carnot Qualiment-Plant2Pro EFFINOX obtenu en 2022 et se poursuivant jusqu'en 2025 (15 k€ dédiés à la thèse). Des fonds de l'équipe gérés par Sayens pourront également être mobilisés pour le projet de thèse.

Connaissances et compétences requises

Le candidat devra avoir acquis lors de sa formation de solides connaissances académiques justifiées par un classement dans le premier quartile de l'effectif de la promotion des derniers diplômes obtenus. Idéalement, les connaissances acquises par le candidat lors de sa formation et de ses stages devront couvrir les champs de la microbiologie et du génie des procédés.

Résumé en français (limité chacun à 1800 caractères)

Dans le cadre de la réduction de l'utilisation de molécules chimiques pour contrôler des micro-organismes fongiques d'altération ou pathogènes, l'effet de la lumière visible bleue sur l'inactivation de micro-organismes fait l'objet d'un nombre croissant d'études. Les études ont cependant montré que les temps d'application requis étaient longs et n'ont que très peu considéré l'effet de la puissance lumineuse. Le mécanisme létal de ces traitements repose sur la photo-oxydation mais les cibles cellulaires de ces traitements ne sont pas clairement définies. La thèse vise à comprendre les effets de traitements lumineux appliqués autour de 400 nm à de fortes puissances. Pour cela, le laboratoire a développé un réacteur LED Ultra Haute Intensité (UHI) permettant de contrôler la puissance et le mode d'application (continu ou pulsé) de la lumière. Ce réacteur permet d'appliquer des traitements jusqu'à des puissances de 30 kW/m². Aucune donnée n'est actuellement disponible sur les effets cellulaires de telles puissances ou sur le mode d'application de la lumière. Le modèle d'étude utilisé pendant la thèse sera la levure *Saccharomyces cerevisiae* pour laquelle le laboratoire dispose de nombreux mutants permettant d'évaluer le rôle de certains gènes dans la résistance aux traitements lumineux. Un focus particulier sera porté sur la membrane plasmique des levures et notamment sur l'un de ses lipides, l'ergostérol. Ce lipide présente des propriétés antioxydantes et pourrait ainsi jouer un rôle crucial dans la résistance des micro-organismes fongiques aux traitements photo-oxydatifs. Au-delà des aspects fondamentaux de cette thèse, les connaissances produites seront essentielles pour le développement de nouveaux procédés d'inactivation basés sur l'utilisation de la lumière bleue UHI.

Résumé en anglais (limité chacun à 1800 caractères)

In the context of reducing the use of chemical molecules to control fungal spoilage or pathogenic micro-organisms, the effect of visible blue light on the inactivation of micro-organisms is the subject of a growing number of studies. However, the studies have shown that the application times required are long and have given very little consideration to the effect of light power. The lethal mechanism of these treatments is based on photo-oxidation, but the cellular targets of these treatments are not clearly defined. The aim of this thesis is to understand the effects of high-power light treatments applied around 400 nm. To achieve this, the laboratory has developed an Ultra High Irradiance (UHI) LED reactor that allows the power and mode of light application (continuous or pulsed) to be controlled. This reactor can be used to apply treatments at powers of up to 30 kW/m². No data is currently available on the cellular effects of such power levels or on the mode of light application. The study model used during the thesis will be the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, for which the laboratory has numerous mutants enabling the role of certain genes in resistance to light treatments to be assessed. A particular focus will be placed on the yeast plasma membrane and in particular on one of its lipids, ergosterol. This lipid exhibits antioxidant properties and could therefore play a crucial role in the resistance of fungal micro-organisms to photo-oxidative treatments. Beyond the fundamental aspects of this thesis, the knowledge generated will be essential for the development of new inactivation processes based on the use of UHI blue light.

Préciser le domaine de compétence dans la liste ci-dessous (2 choix possibles maximum – ne pas modifier les intitulés : ils sont imposés par certains sites web) :

Biologie

Sciences de l'ingénieur

Mots clés : Photo-oxydation – Inactivation microbienne – Champignons – Ergostérol