

## Offre de Stage de Master 2 : Chimie – Matériaux – Biochimie - Biologie



**Titre :** Extraction et identification des colorants présents dans les radioles de différentes couleurs et les cellules à sphérules rouges des oursins *Paracentrotus lividus* : compréhension des phénomènes de pigmentation et de biominéralisation

### Laboratoire d'accueil :

Intitulé : Sorbonne Université - Laboratoire Chimie de la Matière Condensée de Paris, France

Directeur : Christian Bonhomme

### Équipe d'accueil :

Responsable d'équipe : Thierry Azaïs ; Responsable du stage : Marie Albéric

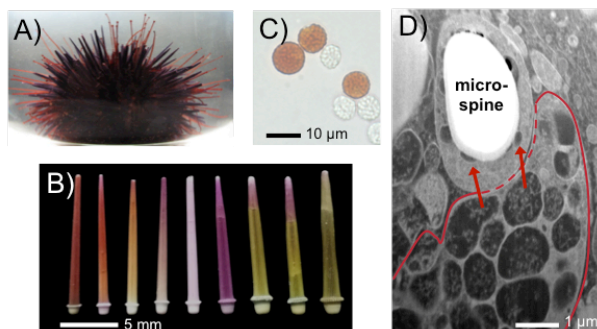
Tél : 01 44 27 56 75 E-mail : [marie.alberic@sorbonne-universite.fr](mailto:marie.alberic@sorbonne-universite.fr)

Site Web : <https://lcmcp.upmc.fr/site/smiles/> ; <https://lcmcp.upmc.fr/site/biomineralization-bicolors/>

**Période de stage :** 5 mois à partir de février 2020 – stage rémunéré, financement ANR JCJC CoLMhyBio

**Description du projet :** Les radioles d'oursin présentent des couleurs intenses et diverses (du violet au vert) qui sont dues à une famille de molécules organiques, les naphthoquinones polyhydroxylées (PHNQ)[1]. Les PHNQ sont biosynthétisées par l'oursin dans les cellules à sphérules rouges situées dans le fluide coelomique. Lors des phénomènes de biominéralisation [2, 3], les molécules de PHNQ semblent intégrer la phase minérale en croissance, formant ainsi un matériau hybride organique-inorganique coloré dans la masse dont les couleurs résistent remarquablement bien à la lumière et aux solvants. Cependant, l'origine des différentes couleurs ainsi que les phénomènes couplés de biominéralisation et de pigmentation chez l'oursin restent inconnus.

L'objectif de ce stage est donc d'extraire et d'identifier les mélanges de molécules de PHNQ présents dans les radioles de différentes couleurs et les cellules à sphérules rouges des oursins *Paracentrotus lividus* afin de contribuer à la compréhension des phénomènes de pigmentation et de biominéralisation.



**Figure.** A) Oursin *Paracentrotus lividus*, B) radioles de différentes couleurs, C) cellules à sphérules rouges et D) incorporation des PHNQ d'une cellule au minéral en croissance.

**Méthodes et techniques utilisées :** Les mélanges de molécules de PHNQ seront extraites : 1) des radioles d'oursin de différentes couleurs en suivant des protocoles d'extraction basés sur la dissolution de la phase minérale, la séparation des molécules organiques solubles et insolubles des PHNQ par ultrafiltration, l'élimination des sels par dialyse et extraction par solvant et 2) des cellules des sphérules rouges situées dans le fluide coelomique des oursins par des techniques de centrifugation et de choc osmotique. Les différents mélanges de PHNQ seront conservés sous forme de lyophilisats. Les mélanges de PHNQ extraits seront analysés par Spectroscopie UV-Visible, ATR-FTIR et la structure moléculaire des molécules de PHNQ sera élucidée par la  $^1\text{H}/^{13}\text{C}$  RMN en solution et HPLC-MS. Finalement, l'ultrastructure des vésicules de 1 micron contenant les PHNQ au sein des cellules sera éventuellement observée par (cryo)-TEM.

### Références :

[1] T.W. Goodwin, S. Srisukh, 1950, 47, 8.

[2] Y. Politi, T. Arad, E. Klein, S. Weiner, L. Addadi, *Science* 2004, 306, 1161.

[3] M. Albéric, C.A. Stiffler, Z. Zou, C.-Y. Sun, C.E. Killian, S. Valencia, M.-A. Mawass, L. Bertinetti, P.U.P.A. Gilbert, Y. Politi, *Journal of Structural Biology: X* 2019, 1, 100004.

**Modalités de candidature :** CV, dernières notes de master et une lettre de motivation.

## Internship offer Master 2: Chemistry - Materials - Biochemistry - Biology



**Title:** Extraction and identification of the organic colorants present in the spines of different colors and in the red spherule cells of *Paracentrotus lividus* sea urchins: understanding the coupled mechanisms of pigmentation and biomineralization

### Hosting laboratory:

Name: Sorbonne Université - Laboratoire Chimie de la Matière Condensée de Paris, France

Director: Christian Bonhomme

### Hosting team:

Team leader: Thierry Azaïs; Internship supervisor: Marie Albéric

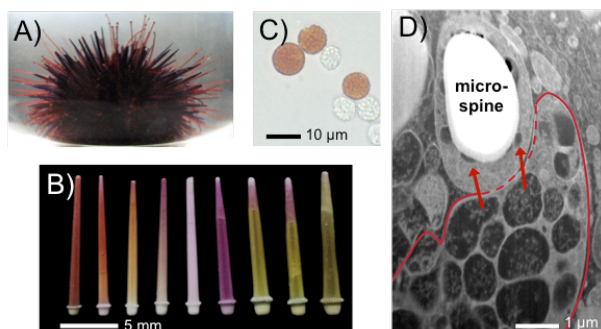
Tel: 01 44 27 56 75 E-mail : [marie.alberic@sorbonne-universite.fr](mailto:marie.alberic@sorbonne-universite.fr)

Website: <https://lcmcp.upmc.fr/site/smiles/> ; <https://lcmcp.upmc.fr/site/biomineralization-biocolors/>

Internship period: 5 months starting in February 2020 – internship funded by ANR JCJC ColMhyBio

**Projet description:** Sea urchin spines present intense and diverse colors (from purple to green) which are due to a family of organic molecules, the polyhydroxylated naphthoquinones (PHNQ) [1]. PHNQ are bio-synthesized by sea urchins in the red spherules cells located in the coelomic fluid. During biomineralization [2, 3], the PHNQ molecules integrate the growing mineral phase, forming a mass-colored organic-inorganic hybrid material whose colors are remarkably resistant to sun light and solvents. However, the origin of the different colors as well as the coupled phenomena of biomineralization and pigmentation in sea urchins remain unknown.

The objective of this internship is thus to extract and identify the mixtures of PHNQ molecules present in the spines of different colors and the red spherule cells of the *Paracentrotus lividus* sea urchins in order to contribute to the understanding of the coupled pigmentation and biomineralization mechanisms.



**Figure.** A) Sea urchin *Paracentrotus lividus*, B) spines of different colors, C) red spherule cells and D) incorporation of the PHNQ molecules form a cell to the growing mineral.

**Analytical techniques and methods:** Mixtures of PHNQ molecules will be extracted from: 1) sea urchin spines of different colors following extraction protocols based on dissolution of the mineral phase, separation of soluble and insoluble organic molecules from the PHNQ molecules by ultrafiltration, removal of salts by dialysis and solvent extraction and 2) the red spherule cells located in the coelomic fluid of the urchins by centrifugation and osmotic shock techniques. The different mixtures of PHNQ will be then preserved as lyophilizates. The extracted mixtures will be analyzed by UV-Visible Spectroscopy, ATR-FTIR and the molecular structure of the PHNQ molecules will be elucidated by  $^1\text{H}/^{13}\text{C}$  NMR in solution and HPLC-MS. Finally, the ultrastructure of 1-micron vesicles containing the PHNQ molecules within the cells will eventually be observed by (cryo)-TEM.

### References:

[1] T.W. Goodwin, S. Srisukh, 1950, 47, 8.

[2] Y. Politi, T. Arad, E. Klein, S. Weiner, L. Addadi, *Science* 2004, 306, 1161.

[3] M. Albéric, C.A. Stiffler, Z. Zou, C.-Y. Sun, C.E. Killian, S. Valencia, M.-A. Mawass, L. Bertinetti, P.U.P.A. Gilbert, Y. Politi, *Journal of Structural Biology: X* 2019, 1, 100004.

**Application modalities:** CV, last grades of the master and a cover letter.