

Sujet de stage en français : Étude du métabolisme du soufre au cours de la fermentation alcoolique par *Saccharomyces cerevisiae* : analyse fonctionnelle de gènes de la voie d'assimilation du soufre.

Niveau : M2 - 6 mois

Responsable (s) de stage : Dr James Duncan, Dr Carole Camarasa

Emails : james.duncan@umontpellier.fr, carole.camarasa@inrae.fr

Laboratoire d'Accueil et nom du Directeur : Unité Mixte de Recherche (UMR) Sciences pour l'œnologie (SPO), Montpellier SupAgro, 2 Place Pierre Viala, Montpellier (Prof. Fabienne Remize)

Equipe d'Accueil : LIGEM Levures : Interactions, Génétique, Évolution & Métabolisme

Contexte : Ce stage vous plonge au cœur d'un projet visant à comprendre comment les gènes influencent la production de composés soufrés volatils responsables d'arômes... parfois nauséabonds ou considérés comme des défauts dans le vin. Vous participerez à un travail de recherche innovant sur le métabolisme du soufre chez la levure, avec l'opportunité de relier biologie moléculaire et analyses chimiques pour explorer ce mécanisme fascinant.

Problématique : Le soufre est un élément indispensable de la composition cellulaire, que l'on retrouve dans les acides aminés, certaines vitamines et cofacteurs, et les molécules de résistance au stress oxydatif. Son métabolisme, qui joue un rôle fondamental dans la physiologie cellulaire chez *Saccharomyces cerevisiae*, peut conduire à la formation de composés soufrés volatils. Ces molécules, associées à des descripteurs sensoriels négatifs : ail, oignon, chou, réduit, peuvent influencer significativement les propriétés organoleptiques du vin. La voie de réduction du sulfate (SRS), qui permet l'assimilation du soufre inorganique vers la production d'acides aminés soufrés est bien décrite. Par contre, les bases moléculaires et les réseaux de régulation qui contrôlent la formation des CSVs à partir de cette voie, restent mal caractérisés. Ce projet vise à déterminer l'impact de la délétion de gènes ciblés liés au métabolisme du soufre sur les performances fermentaires et le profil des CSVs, pour mieux comprendre leur contribution à la formation de ces molécules.

Rationnel scientifique : Des travaux antérieurs ont montré que des altérations du métabolisme du soufre, qu'elles soient d'origine génétique (mutations, ...) ou environnementales (stress nutritionnels) modifient significativement la production de CSVs. Cependant, la contribution spécifique de gènes ciblés à ces mécanismes reste à élucider. Ce projet vise à pallier ce manque de connaissances, en utilisant une approche intégrée de génétique inverse couplée à des fermentations contrôlées et des analyses chimiques du profil des CSVs. Cette méthodologie permettra de relier les modifications génétiques aux profils métaboliques et aromatiques, afin d'identifier les gènes clés impliqués dans la conversion du soufre inorganique en composés volatils à impact sensoriel.

la science pour la vie, l'humain, la terre

Objectif du stage : L'objectif de ce stage est de déterminer comment la délétion de gènes clés de la voie d'assimilation du soufre influence les performances fermentaires de *S. cerevisiae* et la production de composés soufrés volatils au cours de la fermentation alcoolique. Plus spécifiquement, il s'agit d'identifier les gènes jouant un rôle déterminant dans la régulation de l'assimilation du soufre et sa conversion en molécules aromatiques actives, afin de mieux comprendre les bases moléculaires de la variabilité des profils aromatiques liés au métabolisme du soufre.

Question de recherche : Comment la délétion de gènes clés de la voie d'assimilation du soufre (SRS) affecte-t-elle les performances fermentaires de *S. cerevisiae* et la production de composés soufrés volatils au cours de la fermentation alcoolique ?

Hypothèses de travail : La délétion de certains gènes de la voie SRS va perturber l'assimilation du soufre et modifier le flux métabolique vers les composés volatils réduits. Ces altérations génétiques vont entraîner des différences significatives dans les profils de production de composés soufrés volatils au cours de la fermentation alcoolique. La comparaison des profils de fermentation et de production des CSVs des souches sauvages et mutées nous permettra de mieux comprendre le rôle des gènes délétés.

Techniques principales :

- Techniques de microbiologie (culture de levures, suivi de croissance)
- Biologie moléculaire (PCR de validation des mutants de délétion)
- Fermentation contrôlée en moût synthétique
- Analyses chimiques par chromatographie (HPLC, GC-MS)
- Quantification des métabolites primaires et des composés volatils

Description du stage : Le stage utilisera des souches mutantes de délétion dont les gènes cibles de la voie SRS ont été préalablement inactivés. La première étape consistera à confirmer les délétions par PCR. Les fermentations seront ensuite conduites en moût de raisin synthétique avec suivi de la cinétique fermentaire et de la croissance levurienne. Les analyses chimiques finales quantifieront les composés soufrés, les métabolites primaires et les volatils majeurs par HPLC et GC-MS, permettant d'établir les corrélations entre modifications génétiques et profils métaboliques.

Perspectives scientifiques : Le ou la stagiaire apprendra à travailler dans un environnement de laboratoire international et collaboratif, développant des compétences expérimentales et analytiques avancées. Si les résultats sont concluants, il ou elle pourra être affilié(e) à une publication scientifique, offrant une première expérience de valorisation de travaux de recherche dans le domaine de l'œnologie.

la science pour la vie, l'humain, la terre

UMR Sciences pour l'œnologie
2 place Viala
34060 Montpellier

Rejoignez-nous sur :



Site internet de l'UMR



Internship title in English: Study of sulfur metabolism during alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*: functional analysis of genes in the sulfur assimilation pathway

Level: Master 2 – 6 months

Supervisors: Dr James Duncan, Dr Carole Camarasa

Emails: james.duncan@umontpellier.fr, carole.camarasa@inrae.fr

Host laboratory and director: Unité Mixte de Recherche (UMR) Sciences pour l'œnologie (SPO), Montpellier SupAgro, 2 Place Pierre Viala, Montpellier (Prof. Fabienne Remize)

Host team: LIGEM Levures: Interactions, Génétique, Évolution & Métabolisme

Context: This internship will immerse the student in a research project aiming to understand how genes influence the production of volatile sulfur compounds (VSCs) responsible for complex aromas that are sometimes unpleasant, “stinky”, or considered spoilage defects in wine. The student will take part in innovative research on sulfur metabolism in yeast, with the opportunity to link molecular biology and chemical analyses to explore this fascinating metabolic mechanism.

Scientific background and objectives: Sulfur metabolism in *Saccharomyces cerevisiae* plays a key role in cell physiology and significantly influences the organoleptic properties of wine through the formation of VSCs. The sulfate reduction sequence (SRS) enables the assimilation of inorganic sulfur and regulates the production of these aroma-active compounds. Despite the recognised importance of VSCs in determining wine quality, the molecular bases and regulatory networks controlling their formation remain poorly understood. This project aims to determine the impact of targeted gene deletions in the SRS pathway on yeast fermentation performance and sulfur compound production.

Scientific rationale: Previous studies indicate that perturbations in the SRS (both genetic and environmental) can significantly alter the production of VSCs. However, the individual contribution of each gene remains unclear. This project employs an integrated approach combining genetics, controlled fermentations, and chemical analyses to link genetic modifications with fermentation performance and aroma production. It will help identify the key genetic determinants controlling sulfur assimilation and its redirection toward volatile aroma-active molecules.

Objective of the internship: The objective of this internship is to determine how the deletion of key genes in the sulfur assimilation pathway affects *S. cerevisiae* fermentation performance and the production of VSCs during alcoholic fermentation. More specifically, the aim is to identify genes that play a critical role in regulating sulfur assimilation and its conversion into aroma-active molecules, thereby improving our understanding of the molecular basis underlying the variability of sulfur-derived aroma profiles.

Research question: How does the deletion of specific genes in the SRS pathway influence *S. cerevisiae* fermentation performance and the production of volatile sulfur compounds during alcoholic fermentation?

la science pour la vie, l'humain, la terre

UMR Sciences pour l'œnologie
2 place Viala
34060 Montpellier

Rejoignez-nous sur :



Site internet de l'UMR



Working hypotheses: Deletions of specific SRS genes disrupt sulfur assimilation and alter the metabolic flux toward reduced volatile compounds. These genetic alterations lead to measurable differences in VSC profiles during alcoholic fermentation. Changes in sulfur metabolism also influence general fermentation physiology, including kinetics and primary metabolite production.

Main techniques and methods:

- Microbiological techniques (yeast culture and growth monitoring)
- Molecular biology (PCR validation of deletion mutants)
- Controlled fermentations in synthetic must
- Chemical analyses using chromatography (HPLC, GC-MS)
- Quantification of primary metabolites and volatile compounds

Internship description: The internship will involve working with deletion mutant strains in which target genes of the SRS pathway have been previously inactivated. The first step will consist of confirming these deletions by PCR. Controlled fermentations will then be carried out in synthetic grape must, with monitoring of fermentation kinetics and yeast growth. Final chemical analyses will quantify sulfur compounds, primary metabolites, and major volatiles using HPLC and GC-MS, allowing correlations to be drawn between genetic modifications and metabolic profiles.

Scientific perspectives: The student will gain experience working in an international and collaborative research environment while developing advanced experimental and analytical skills. If the results are promising, the intern may be included as a co-author on a scientific publication, offering a first experience in the dissemination of research findings in the field of microbial biotechnology and oenology.

la science pour la vie, l'humain, la terre

UMR Sciences pour l'oenologie
2 place Viala
34060 Montpellier

Rejoignez-nous sur :



Site internet de l'UMR

