



**MARENNINE ET EXOPOLYSACCHARIDES DE LA
MICROALGUE BLEUE *HASLEA OSTREARIA* : POTENTIEL
D'APPLICATION COSMÉTIQUE ET PHARMACEUTIQUE**

Mémoire présentée

dans le cadre du programme de maîtrise en océanographie
en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc)

PAR

© **MARIAME CHEHOURI**

Novembre 2024

Composition du jury :

El Mahdi Bendif, président du jury, Institut des sciences de la mer de Rimouski

Réjean Tremblay, directeur de recherche, Institut des sciences de la mer de Rimouski

**Bertrand Genard, codirecteur de recherche, Les Laboratoires Iso-Biokem Inc,
Rimouski**

**Jean-Sébastien Deschênes, codirecteur de recherche, Université du Québec à
Rimouski**

Jean-Luc Mouget, examinateur externe, Le Mans Université

Dépôt initial le 30 Juillet 2024

Dépôt final le 22 Novembre 2024

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

Two years of emotions
captured in just 55 seconds.



REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer mes plus sincères remerciements à mon directeur de recherche, Réjean Tremblay. Merci pour sa patience, sa considération, sa confiance, son attitude positive et son soutien constant tout au long de ce projet de recherche. Ses conseils avisés et sa sagesse ont été d'une valeur inestimable, et je suis reconnaissante d'avoir pu bénéficier de son expérience et de son point de vue éclairé.

Un merci particulier à mes deux co-directeurs, Bertrand Genard et Jean-Sébastien Deschênes, pour leur appui et encouragement dans le laboratoire. Leur influence combinée a créé une dynamique unique, transformant cette expérience en une aventure académique inoubliable.

Je tiens à exprimer ma gratitude sincère à l'ensemble du jury, et tout particulièrement à mon président de jury, El Mahdi Bendif, ainsi qu'à mon examinateur externe, Jean-Luc Mouget. Merci d'avoir consacré de votre temps à lire et évaluer mon mémoire.

Je tiens également à remercier l'équipe d'Iso-BioKem. Kim Doiron, Mathieu Millour, Amélie St-Pierre et William Bélanger. Leur expertise technique, leur dévouement et leur soutien logistique ont été essentiels à la réussite de cette recherche.

Je tiens à remercier Nathalie Gauthier pour la culture d'*Haslea* à la station, et pour avoir été une ressource indispensable tout au long de cette démarche de maîtrise. Merci pour votre soutien précieux.

Je remercie tout particulièrement ma famille. À mes parents, mes frères, mes belles-sœurs, mes nièces et mon neveu, votre soutien et votre amour inconditionnels ont été une source constante d'inspiration.

Je voudrais également exprimer ma reconnaissance envers Elodie Pedron pour son soutien indéfectible, ainsi que pour tous les moments partagés à essayer de comprendre les résultats et les bêtas des projets d'escalade. Merci infiniment !

Merci à tous mes ami.es et à ma famille rimouskoise. Vos rires, vos encouragements et vos partages ont rendu cette période mémorable et unique. Avec un remerciement spécial à mes ami.es de bureau POLR, Rosalie Shink, Margaux Rougier, Jérôme Lemelin, pour tous les midis passés ensemble à faire les Wordle et Bandle. Merci beaucoup de m'avoir accepté avec vous en sachant pertinemment que je suis nulle en physique, mais bon !!

Enfin, un grand merci à la région de l'Est du Québec pour les souvenirs gravés dans chaque coin.

RÉSUMÉ

Haslea ostrearia, une diatomée pennée marine largement distribuée, est renommée pour la production de la marennine, un pigment bleu unique, et d'autres extraits tels que les exopolysaccharides (EPS). Alors que les activités biologiques de la marennine ont été largement étudiées dans divers domaines, le potentiel de la marennine et des EPS dans les cosmétiques reste largement inexploité. Cette étude vise à explorer les effets de la marennine et des EPS sur les cellules de la peau des fibroblastes dermiques à des concentrations variables ($1 \mu\text{g ml}^{-1}$, $10 \mu\text{g ml}^{-1}$ et $100 \mu\text{g ml}^{-1}$), avec un accent particulier sur leur application potentielle dans les cosmétiques. Notre objectif central tourne autour de la compréhension de l'utilité de la marennine et des EPS dans les formulations de soins de la peau, en particulier pour améliorer l'hydratation de la peau, son élasticité et ses propriétés anti-âge. Pour ce faire, nous avons mené une évaluation complète ciblant les gènes associés à ces caractéristiques cutanées essentielles. De plus, une analyse avancée de la lipidomique utilisant LC-QTOF a été utilisée pour étudier les changements potentiels dans la composition lipidique des cellules cutanées exposées aux deux extraits. Nos résultats mettent en évidence une notable surexpression des gènes liés à l'hydratation et aux propriétés anti-âge, soulignant le potentiel prometteur de la marennine et des EPS dans ces aspects cruciaux des soins de la peau. De plus, notre analyse de la lipidomique ne révèle aucune altération discernable dans les structures lipidiques des cellules cutanées aux concentrations testées par rapport au groupe témoin. Cette recherche offre des perspectives précieuses sur les avantages cosmétiques offerts par la marennine et les EPS, éclairant leurs applications potentielles dans l'industrie cosmétique, tout en précisant également leurs plages de concentrations permettant une efficacité maximale.

Mots clés : Haslea ostrearia ; Marennine ; Exopolysaccharides (EPS) ; Cosmétiques ; Lipidomique.

ABSTRACT

Haslea ostrearia, a widely distributed marine pennate diatom, is renowned for producing marennine, a unique blue pigment, and other extracts such as exopolysaccharides (EPS). While marennine's biological activities have been extensively studied across various domains, the potential of marennine and EPS in cosmetics remains largely unexplored. This study aims to delve into the effects of marennine and EPS on dermal fibroblast skin cells at varying concentrations ($1 \mu\text{g ml}^{-1}$, $10 \mu\text{g ml}^{-1}$, and $100 \mu\text{g ml}^{-1}$), with a specific focus on their prospective application in cosmetics. Our central objective revolves around discerning the utility of marennine and EPS in skincare formulations, particularly in enhancing skin hydration, elasticity, and anti-aging properties. To achieve this, we conducted a comprehensive evaluation targeting genes associated with these essential skin attributes. Additionally, advanced lipidomic analysis using LC-QTOF was employed to investigate potential lipid composition changes within skin cells exposed to both extracts. Our findings underscore a notable upregulation of genes linked with hydration and anti-aging, highlighting the promising potential of marennine and EPS in these pivotal aspects of skincare. Furthermore, our lipidomic analysis reveals no discernible alterations in skin cell lipid structures across the tested concentrations when compared to the control group. This research offers valuable insights into the cosmetic advantages provided by marennine and EPS, shedding light on their potential applications in the cosmetic industry, while also pinpointing optimal concentration ranges for maximal efficacy.

Keywords: Haslea ostrearia; Marennine; Exopolysaccharide (EPS); Cosmetics; Lipidomics.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	ix
RÉSUMÉ.....	xii
ABSTRACT	xiv
TABLE DES MATIÈRES	xvi
LISTE DES TABLEAUX.....	xix
LISTE DES FIGURES.....	xxi
LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES	xxiii
INTRODUCTION GÉNÉRALE.....	1
CHAPITRE 1 : “BLEUE VS JAUNE”: MARENNINE ET EXOPOLYSACCHARIDES POUR DES APPLICATIONS COSMÉTIQUES	19
1.1 INTRODUCTION.....	22
1.2 MATERIALS AND METHODS	24
1.2.1. Algal culture.....	24
1.2.2. Marennine and Exopolysaccharide extraction	24
1.2.3. Preparation, exposure, and detachment of skin cells	25
1.2.4. Cell viability.....	26
1.2.5. Lipidomic analysis	26
1.2.6. Quantification of gene expression	27
1.2.7. Statistical analysis.....	31
1.3 RESULTS.....	32
1.3.1. Cell Viability.....	32
1.3.2. Lipidomic analysis	32
1.3.3. Quantification of gene expression	34
1.4 DISCUSSION.....	38
1.4.1. Lipidomic analysis	38
1.4.2. Quantification of gene expression	39

1.5	CONCLUSION.....	41
1.6	ACKNOWLEDGMENTS.....	42
	CHAPITRE 2 : ANALYSE DU MÉTABOLISME OXYDATIF : RÉPONSE ANTI- INFLAMMATOIRE	43
2.2	INTRODUCTION	45
2.3	MATERIALS AND METHODS	45
2.4	STATISTICAL ANALYSIS.....	50
2.5	RESULTS	51
2.6	DISCUSSION	53
2.7	CONCLUSION.....	55
	CONCLUSION GÉNÉRALE.....	57
	RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	60
	ANNEXES I	78
	ANNEXES II.....	82

LISTE DES TABLEAUX

Table 1: Primer design for targeted genes with forward and reverse sequences (5' – 3').	28
Table 2: Experimental Design for Anti-inflammatory Response Testing Marennine and Extracellular Polymeric Substances (EPS) Concentrations in Blood Samples with and without Induced Inflammation.	46
Table 3: Summary of each compound's precursor, production, RT, and QQQ parameters.	47
Table 4: Analysis of Variance (ANOVA Test) one factor with 4 levels of concentrations (0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) for both Marennine and EPS.	51
Table 5: ANOVA test results of the significant lipid classes for skin cells exposed to marennine.	78
Table 6: ANOVA test results of the significant lipid classes for skin cells exposed to EPS.	79
Table 7: ANOVA test results of the significant targeted genes exposed to marennine.	82
Table 8: ANOVA test results of the significant targeted genes exposed to marennine.	83

LISTE DES FIGURES

<p>Figure 1: Diversité de la structure des frustules siliceux des diatomées observées en microscopie électronique à balayage (MEB). (A,F) Diatomées centriques, radiales (B,C) diatomées pennées et (D,E) diatomées centriques polaires. Les frustules des diatomées sont constitués de deux valves : l'épivalve et l'hypovalve liées par un ensemble de bandes cingulaires (le cingulum). Barres d'échelles : 10 μm. Cette figure est adaptée de photographies provenant de Losic et al., (2009).....</p>	4
<p>Figure 2: <i>Haslea ostrearia</i>. (A) Observations en microscopie permettant de distinguer les deux chloroplastes pariétaux et la présence de vésicules contenant le pigment bleu, la marennine. Barre d'échelle de 5 μm. (B-E) Photographies au microscope électronique à balayage (MEB) du frustule siliceux avec observations des apices cellulaires (B, C) et du centre de la cellule (D, E) en vue externe (B, D) et interne (C, E). Barres d'échelle de 1 μm (Falaise et al., 2019). (F) Image microscopique d'<i>Haslea ostrearia</i> montrant la marennine dans l'apex cellulaire. L'échelle correspond à 10 μm (Pedron et al., 2023).....</p>	6
<p>Figure 3: L'effet du pH sur la couleur de la marennine intracellulaire (IMn) (Gastineau et al., 2018).....</p>	6
<p>Figure 4: Lien entre les activités biologiques des EPS, leurs propriétés physico-chimiques et le potentiel du marché (Laroche, 2022)</p>	9
<p>Figure 5: Évolution du marché des cosmétiques naturels en milliards de dollars américains (Ustymenko, 2023).</p>	13
<p>Figure 6: Application des extraits dérivés de microalgues et des composés bioactifs dans l'industrie cosmétique (Yarkent et al., 2020).....</p>	14
<p>Figure 7: La structure moléculaire des composés bioactifs dérivés de microalgues pour diverses applications biotechnologiques (Martínez-Ruiz et al., 2022).</p>	16
<p>Figure 8: Multivariate data analysis of lipidomic for positive ions for both marennine and EPS. A principal Component Analysis (PCA) scores plots (left panels), Variable Importance in Projection (VIP) (right panels). (a) Principal Component Analysis (PCA) score plot for EPS (EPS1, EPS10). (b) VIP score plot of the top lipid classes exposed to EPS (EPS1, EPS10). (c) Principal Component Analysis (PCA) score plot for marennine (M1, M10, M100). (d) VIP score plot of the top lipid classes exposed to marennine (M1, M10, M100).....</p>	33

- Figure 9: Multivariate data analysis of Genomics for both marennine and EPS. (a) Principal Component Analysis (PCA) score plots for EPS. (b) Principal Component Analysis (PCA) score plots for marennine. 35
- Figure 10: (a) Variable Importance in Projection (VIP) of top 17 genes for Marennine. (b) Fold change of DNA expression in targeted genes for Marennine. (c) Variable Importance in Projection (VIP) of top 17 genes for EPS. (b) Fold change of DNA expression in targeted genes for EPS. Categories from left to right: SHP (Skin hydration products), AAP (Anti-aging products), WP (Whitening products), SP (Slimming products), OSA (Oxidative stress and antioxidants), IRI (Immune response-inflammation), CR (Cell repair), MI (Mitochondrial integrity), and SC (Skin structure). 37
- Figure 11: (a) Inflammation Response of PGE2 in plasma treated to EPS. (b) Inflammation Response of PGE2 in plasma treated to marennine. Both extracts were treated with 3 concentrations $1 \mu\text{g ml}^{-1}$, $10 \mu\text{g ml}^{-1}$, $100 \mu\text{g ml}^{-1}$. $0 \mu\text{g mL}^{-1}$ was considered as the control. Groups: a and b..... 52

LISTE DES ABRÉVIATIONS, DES SIGLES ET DES ACRONYMES

Fe	Fer
N	Azote
P	Phosphore
Si	Silicium
MEB	Microscope électronique à balayage
IMn	Marennine intracellulaire
EMn	Marennine extracellulaire
EPS	Exopolysaccharides
HSV-1	Herpès simplex de type 1
UVA	Ultraviolet A
SKOV-3	Cancer de l’ovaire
SW116	Cancer du côlon
M113	Mélanome
CMI	Concentrations minimales inhibitrices
DPPH	Test du radical libre 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
TNBC	Cancer du sein triple négatif

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Le milieu marin recouvre une vaste portion de notre planète et abrite une part importante de la biodiversité. Il a le potentiel d'améliorer considérablement le bien-être nutritionnel des citoyens, sert de base essentielle à de nombreuses activités économiques et offre d'immenses possibilités d'applications biotechnologiques dans divers domaines (Guedes et al., 2011). Les milieux marins abritent une grande diversité de phytoplanctons constitués d'organismes unicellulaires autotrophes qui tirent leur énergie de la photosynthèse. On les trouve principalement dans les couches superficielles bien éclairées de l'océan, mais ils peuvent descendre jusqu'à 200 mètres de profondeur dans les eaux les plus claires. Bien qu'ils représentent moins de 1% de la biomasse photosynthétique de la Terre, ils captent autant de carbone que l'ensemble des plantes terrestres (Field et al., 1998) et leur rôle dans l'écosystème marin est crucial (Bestion et al., 2021). Des recherches approfondies ont été menées sur de nombreuses espèces de phytoplanctons marins capables de synthétiser des nutriments précieux pour l'alimentation humaine et animale, la production de molécules fonctionnelles et la production de biocarburants. Ces recherches ont démontré le potentiel de ces produits pour utilisation dans variété d'industries, soulignant l'importance de la poursuite de l'exploration et du développement dans ce domaine (Maeda et al., 2018).

Les diatomées sont une composante essentielle et prédominante de la communauté phytoplanctonique, en particulier dans des conditions de fortes concentrations de nutriments et de fer (Fe) (Buesseler, 1998). Il convient de noter qu'elles représentent environ 40% de toutes les espèces connues de phytoplancton marin (Simon et al., 2009). Les diatomées jouent un rôle crucial dans le cycle écologique et biogéochimique du carbone (C), contribuant à plus de 45% de la production primaire nette annuelle de notre planète (Nelson et al., 1992). En outre, ils ont un impact significatif sur les cycles biogéochimiques d'autres macro-nutriments tels que l'azote (N), le phosphore (P) et le silicium (Si) (Buesseler, 1998). Le fer (Fe) est un

nutriment crucial pour les diatomées, ayant un impact sur presque tous leurs paramètres biogéochimiques, à la fois directement et indirectement (Sarhou et al., 2005). Les diatomées ont la capacité de produire une paroi cellulaire de silice poreuse, complexe, fantaisiste et élégante, appelée frustule (Round, 1990). Les frustules de ces microalgues présentent une remarquable variété de formes et de motifs de pores spécifiques à chaque espèce, comme le montre la figure 1. Cette caractéristique a rendu les diatomées très attrayantes pour la communauté des microscopistes du 19^e siècle (Ross et al., 1972). Grâce à leurs caractéristiques uniques, les diatomées sont un sujet de grand intérêt et d'étude depuis de nombreuses années. La structure complexe des frustules a été utilisée pour évaluer la qualité de l'optique des microscopes (Round, 1990). Au fil des ans, les applications des frustules de diatomées se sont multipliées. Le processus de silicification des diatomées joue un rôle clé dans le lien entre les cycles marins du carbone et du silicium (De Tommasi et al., 2017). On estime qu'environ 240 Tmol de silice biogène sont précipitées chaque année, ce qui souligne l'impact significatif des diatomées sur l'écosystème marin et les cycles interconnectés du carbone et du silicium (Raven et al., 2017). Les applications des frustules de diatomées vont au-delà des tests de qualité des microscopes. La biosilice de diatomées fossilisées, également connue sous le nom de diatomite ou de terre de diatomées, est utilisée dans le dentifrice, les exfoliants pour le visage et la filtration de l'eau. En outre, les propriétés physiques des frustules ont trouvé des applications dans les domaines du micro-, de la nano- et de la biotechnologie (De Stefano et al., 2004). Il a été démontré que les frustules centriques des diatomées sont des microlentilles très efficaces, capables de comprimer la lumière au-delà de la limite de diffraction. Cette remarquable capacité à collecter efficacement la lumière offre des opportunités intéressantes pour le développement de nouvelles générations de cellules solaires biosourcées et bioinspirées, comme le notent Wang et al. (2019). En outre, la photoluminescence des frustules a été efficacement utilisée dans la création de capteurs optiques et de biocapteurs, ce qui montre la polyvalence et le potentiel des frustules de diatomées pour faire progresser la technologie (De Stefano et al., 2009; De Tommasi et al., 2018). Les diatomées sont un sujet de grande importance pour la recherche en biotechnologie en raison de leur histoire évolutive unique, de leur capacité à fixer le CO₂ par photosynthèse

et de leurs niveaux élevés de biomasse et de productivité lipidique. Leur teneur élevée en lipides en fait des candidats particulièrement prometteurs pour la production de biocarburants (Yi et al., 2017). Selon une étude de Singh et al., (2011) certaines espèces de diatomées ont une teneur en huile supérieure à 80% du poids de leur biomasse sèche. En outre, les diatomées se sont révélées très prometteuses dans le domaine des tests cliniques et des produits pharmaceutiques. Actuellement, les composés dérivés des diatomées sont utilisés dans le domaine thérapeutique particulièrement pour des problématiques liées aux canaux ioniques, enzymes métaboliques, microtubules et l'ADN (Kuppusamy et al., 2017). Malgré l'isolement d'environ 18500 nouveaux composés à partir de diatomées entre 1965 et 2006, il est généralement admis qu'environ 97% de tous les composés existants n'ont pas encore été isolés (Kuczynska et al., 2015). Notamment, cinq de ces composés appartiennent à de nouvelles classes, dont les médicaments antitumoraux Yondelis^{VR} et Prialt^{VR}, qui sont utilisés respectivement pour traiter les tumeurs et la douleur. Il y a également les médicaments dérivés des diatomées Citarabina^{VR}, un antitumoral, et Virabadina^{VR}, un antiviral, qui sont commercialisés (Haefner, 2003). En outre, les pigments de diatomées, notamment l'astaxanthine, la diadinoxanthine, la diatoxanthine, la zéaxanthine, la fucoxanthine et la violaxanthine, sont très recherchés par les industries pharmaceutiques et cosmétiques en raison de leurs bioactivités (Hu et al., 2018). La fucoxanthine et l'astaxanthine gagnent toutes deux en popularité en raison de leurs avantages potentiels pour les aliments fonctionnels anti-obésité, les applications anti-cancer, anti-inflammatoires et anti-diabétique (D'Alessandro et al., 2016). Il a également été démontré que l'astaxanthine possède des propriétés antioxydantes (Kumar et al., 2022). Ces résultats suggèrent que ces deux composés pourraient être des compléments précieux à un mode de vie sain (Bayu et al., 2020).

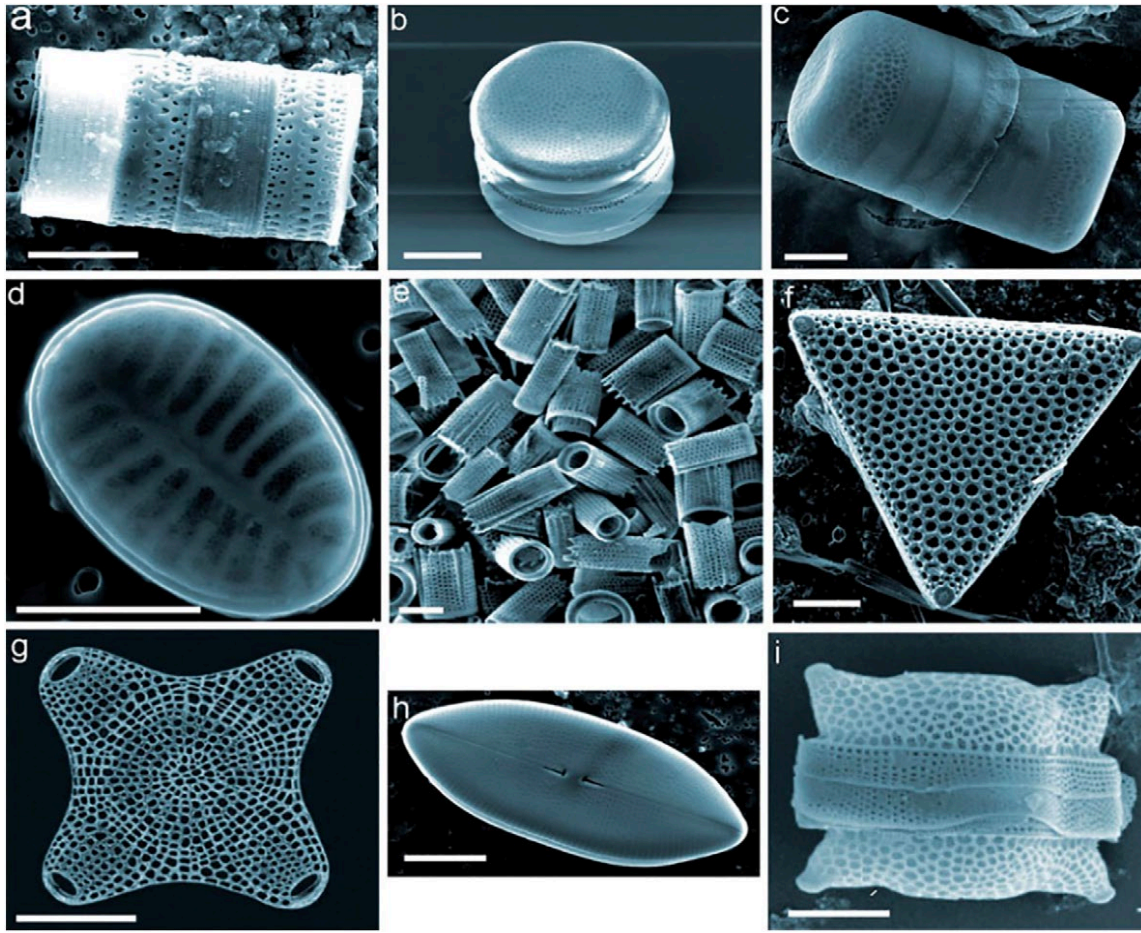


Figure 1: Diversité de la structure des frustules siliceux des diatomées observées en microscopie électronique à balayage (MEB). (A,F) Diatomées centriques, radiales (B,C) diatomées pennées et (D,E) diatomées centriques polaires. Les frustules des diatomées sont constitués de deux valves : l'épivalve et l'hypovalve liées par un ensemble de bandes cingulaires (le cingulum). Barres d'échelles : 10 μm . Cette figure est adaptée de photographies provenant de Losic et al., (2009).

1. *HASLEA OSTREARIA*

Haslea ostrearia, illustrée dans la figure 2, est une diatomée pennée qui produit, au cours de son processus de croissance et de maturation, un pigment bleu hydrosoluble appelé « marennine » qui provoque le verdissement et améliore la qualité organoleptique des huîtres qui la filtrent (Gastineau et al., 2014). Des efflorescences bleues naturelles d'*H. ostrearia* ont été observées dans divers habitats, notamment sur la côte Atlantique Française, en mer Méditerranée et sur la côte Est des États-Unis. Ces occurrences sont corrélées avec des

observations d'huîtres présentant des branchies vertes dans plusieurs régions du monde, telles que la France, le Royaume-Uni, le Danemark et l'Australie (Falaise et al., 2019a). La marennine, produite par *H. ostrearia*, existe sous deux formes : la marennine interne (IMn), s'accumulant temporairement au niveau des apex cellulaires (figure 2), et la marennine extracellulaire (EMn), éjectée des cellules par exocytose à travers de petites vésicules qui libèrent la marennine dans le milieu environnant (Nassiri et al., 1998). Il est important de noter que ces deux formes de pigment présentent des poids moléculaires distincts et des caractéristiques spectrales UV-visibles spécifiques (Pouvreau et al., 2006). Dans les deux formes, la couleur de la marennine change en fonction du pH (figure 3), passant du bleu violet dans des conditions acides au vert dans des conditions neutres à basiques (Pouvreau et al., 2006). En raison de ses propriétés biologiques remarquables, il existe un intérêt croissant pour la production à grande échelle de *H. ostrearia* au-delà de l'industrie aquacole des huîtres (Adjout et al., 2022).

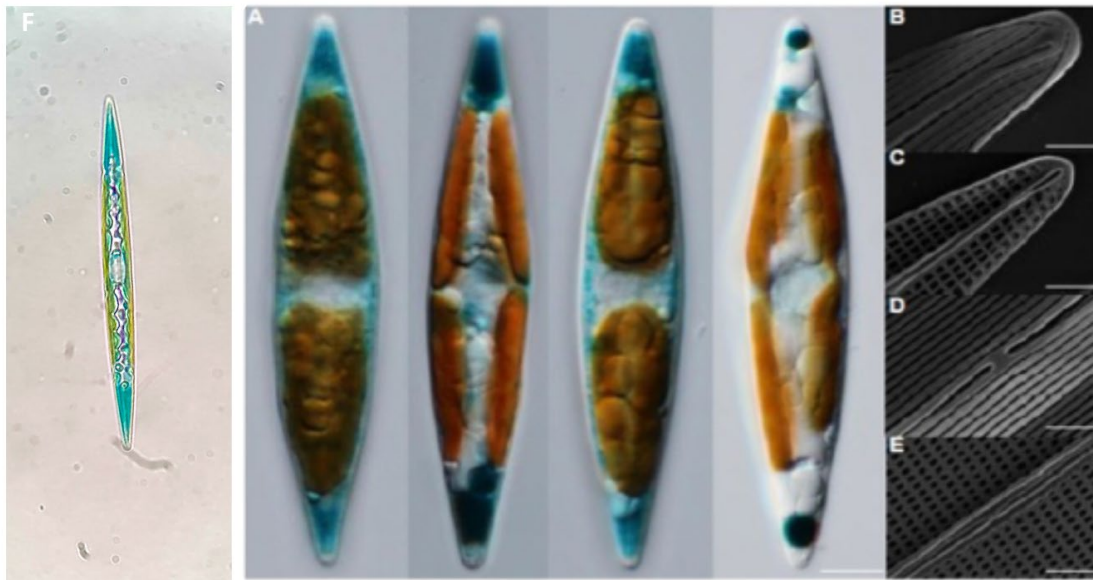


Figure 2: *Haslea ostrearia*. (A) Observations en microscopie permettant de distinguer les deux chloroplastes pariétaux et la présence de vésicules contenant le pigment bleu, la marennine. Barre d'échelle de 5 μm . (B-E) Photographies au microscope électronique à balayage (MEB) du frustule siliceux avec observations des apices cellulaires (B, C) et du centre de la cellule (D, E) en vue externe (B, D) et interne (C, E). Barres d'échelle de 1 μm (Falaise et al., 2019). (F) Image microscopique d'*Haslea ostrearia* montrant la marennine dans l'apex cellulaire. L'échelle correspond à 10 μm (Pedron et al., 2023).

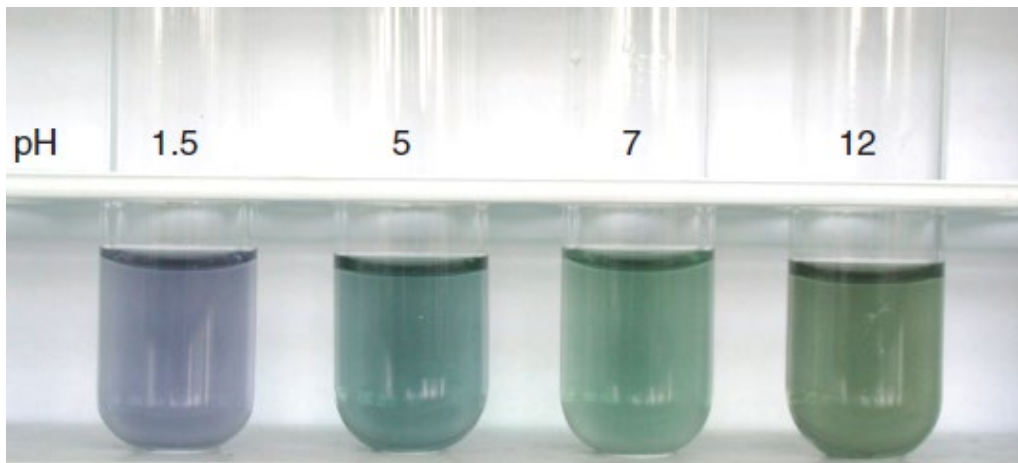


Figure 3: L'effet du pH sur la couleur de la marennine intracellulaire (IMn) (Gastineau et al., 2018).

2. MARENNINE : ACTIVITE BIOLOGIQUE

De nombreuses études ont démontré les diverses activités biologiques de la marennine, que ce soit sous forme en partie purifiée ou sous forme d'extraits bruts, englobant des propriétés antioxydantes (Pouvreau et al., 2008), des effets antiprolifératifs (Carbonelle et al., 1998; Gastineau et al., 2012a) une activité antivirale (Bergé et al., 1999), anticoagulante (Carbonelle et al., 1998) et une efficacité antibactérienne (Falaise et al., 2016) La marennine a également démontré des influences allélopathiques, entravant la croissance de certaines espèces de microalgues spécifiques (Pouvreau et al., 2007 ; Prasetya et al., 2019). La réponse bactérienne face à la marennine est complexe et varie en fonction des espèces ou même des souches bactériennes, suggérant des interactions moléculaires ciblées (Falaise et al., 2016). Des expériences impliquant des bactéries à Gram négatif ont indiqué que la marennine impacterait les membranes cellulaires, particulièrement en se liant aux lipopolysaccharides d'*Escherichia coli* (Tardy-Laporte et al., 2013) et de *Vibrio splendidus* (Bouhleb et al., 2021). De plus, des recherches ont révélé l'utilité potentielle de la marennine comme probiotique en aquaculture, particulièrement dans les systèmes d'eau « verte » (Turcotte et al., 2016). La marennine purifiée extraite de *H. ostrearia* a montré une activité antibactérienne in vitro contre trois bactéries pathogènes marines pertinentes pour l'aquaculture : *Polaribacter irgensii*, *Pseudoalteromonas elyakowii* et *Vibrio aestuarianus* (Gastineau et al., 2012). Au-delà de ses implications en aquaculture, la marennine présente un spectre d'effets biologiques prometteurs pour des applications médicales et un potentiel pharmaceutique, notamment des propriétés antivirales, antiprolifératives et antioxydantes (Falaise et al., 2016; Gastineau et al., 2012; Gastineau et al., 2014). Par exemples, les extraits hydrosolubles et les formes pures de marennine extracellulaire (EMn) et de marennine interne (IMn) ont démontré une activité contre le virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1) (Gastineau et al., 2014). Une compréhension approfondie des propriétés de la marennine et une clarification de ses activités biologiques pourrait ouvrir la voie à son utilisation dans le domaine pharmaceutique et cosmétique. Dans une évaluation expérimentale impliquant l'œdème de l'oreille de la souris, les effets anti-inflammatoires d'un crème contenant 10 % (p/p) de marennine ont été

étudiés, montrant un effet modéré avec un taux d'inhibition de l'œdème de 62,5 % (Gastineau et al., 2018). Ces résultats suggèrent que la marennine pourrait avoir un potentiel d'inclusion dans des crèmes apaisantes. De plus, des évaluations *in vitro* ont sondé les capacités de photoprotection de la marennine pour déterminer sa pertinence en tant que protection solaire et UVA, mais n'ont pas fourni de preuves convaincantes (Gastineau et al., 2014). En revanche, des activités antiprolifératives associées à la marennine pure et ses extraits bruts ont été documentées pour différentes lignées cellulaires cancéreuses humaines, notamment SKOV-3 (cancer de l'ovaire), SW116 (cancer du côlon) et M113 (mélanome) (Carbonelle et al., 1998 ; Gastineau et al., 2012). Enfin, la marennine a montré d'importantes capacités antioxydantes, surpassant l'efficacité de certains antioxydants conventionnels, tels que les flavonoïdes (Pouvreau et al., 2008).

3. EXOPOLYSACCHARIDES (EPS) DES MICROALGUES : COMPOSITION ET FONCTIONS

La capacité des espèces phytoplanctoniques, particulièrement les diatomées à relâcher des polysaccharides, dénommés substances polysaccharides extracellulaires (EPS), dans leur environnement a suscité un intérêt marqué (Wolfstein et al., 2002). Ces EPS présentent une structure complexe (Tamaru et al., 2005). Les EPS sont des composés macromoléculaires libérés à l'extérieur de la cellule, formant une barrière visqueuse protectrice autour des cellules pour se défendre contre les stress environnementaux (Palmer et al., 2007). Ces polysaccharides jouent ainsi un rôle crucial dans des processus physiologiques tels que l'adhésion cellulaire, l'interaction, la protection contre la dessiccation et la formation de biofilms (Magaletti et al., 2004 ; Underwood et al., 2004). Enfin, les recherches ont mis en lumière le potentiel significatif des EPS dans le développement de produits innovants, offrant une diversité de caractéristiques biologiques, physiques, chimiques influençant leur potentiel économiques, comme Laroche (2022) le mentionne (figure 4) pour la création d'antiadhésifs, d'agents hydratants, d'émulsifiants, d'agents antitumoraux, anti-inflammatoires, antiviraux, antibactériens, antifongiques, ou immunomodulateurs, de biosurfactants et de bio-émulsifiants (Sibilla et al., 2015; Tannin-Spitz et al., 2005). Ils sont particulièrement

reconnus pour leurs propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes et antivirales (Raposo et al., 2014).

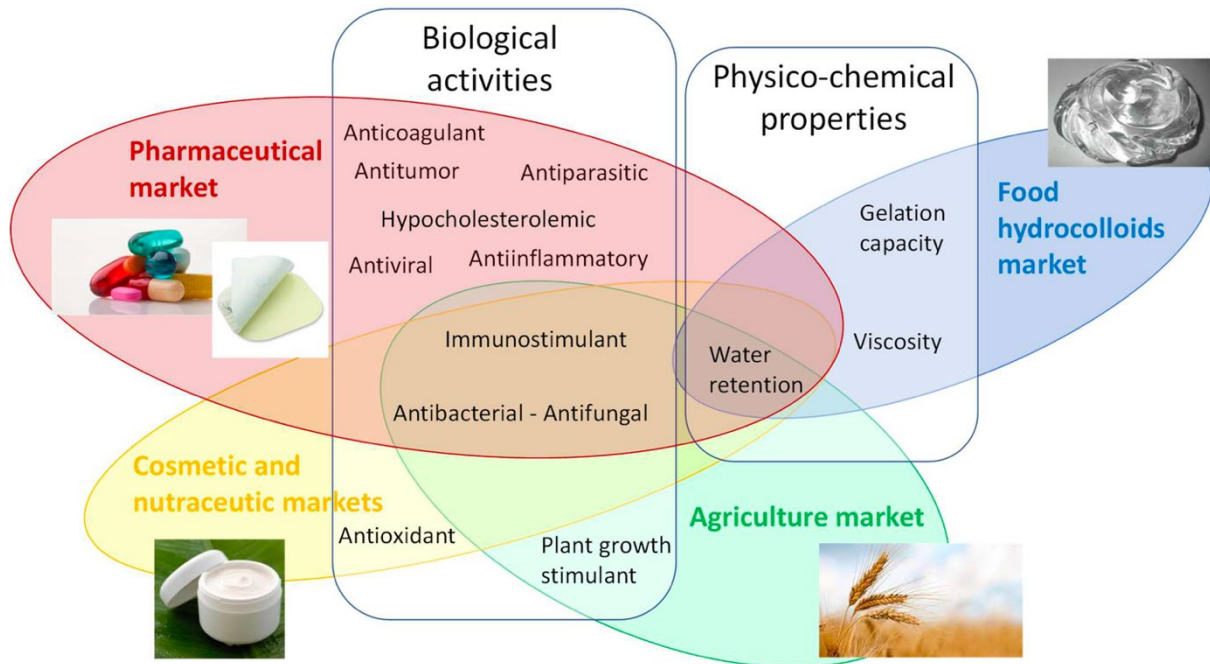


Figure 4: Lien entre les activités biologiques des EPS, leurs propriétés physico-chimiques et le potentiel du marché (Laroche, 2022)

Les EPS ont été associées à la coagulation sanguine, aux effets antilipidémiques et principalement aux propriétés immunomodulatrices (Bellou et al., 2014 ; Majtan et al., 2018). De plus, ces composés peuvent stimuler la synthèse du collagène et protéger contre la protéolyse enzymatique (Sibilla et al., 2015). Ces propriétés font des EPS une ressource naturelle prometteuse dans la recherche de composés naturels bioactifs, ce qui souligne l'importance d'études approfondies pour promouvoir le développement d'applications à valeur ajoutée dans ce domaine (Laroche, 2022). Malgré l'utilisation répandue des EPS dans les cosmétiques, leurs diverses activités biologiques suggèrent des applications potentielles dans l'industrie pharmaceutique. Les propriétés antibactériennes et antifongiques ont été signalées avec des variations significatives dans les concentrations minimales inhibitrices

(CMI) selon les différentes souches bactériennes. Comme l'a montré Najdenski et al., 2013 une inhibition de la prolifération de *Staphylococcus aureus* a été observée pour l'extrait des EPS dérivés de *Gloeocapsa sp*, *Rhodella reticulata* et *Synechocystis sp*. En ce qui concerne l'activité antitumorale, l'étude des EPS de *Porphyridium cruentum* a montré leur capacité à améliorer la réponse immunitaire en favorisant la prolifération des macrophages et des lymphocytes (Sun et al., 2012). De plus, la recherche menée par Yim et al. (2004) a démontré les capacités antiprolifératives des EPS de *Porphyridium marinum* sur les cellules du carcinome mammaire, avec une efficacité accrue observée à mesure que la masse molaire diminuait. Comme indiqué précédemment, les EPS sont également utilisées dans la formulation d'agents hydratants. À titre d'exemple, les EPS extraits de la cyanobactérie *Aphanothece sacrum* présentent une capacité hydratante dix fois supérieure à celle de l'acide hyaluronique (Li et al., 2011; Okajima et al., 2008). De plus, une étude menée par Cristian et al. (2012) a évalué l'impact des EPS extraits de *P. cruentum* sur trois enzymes: l'hyaluronidase, l'élastase et la collagénase. Bien qu'aucune activité contre la collagénase n'ait été observée, les EPS ont significativement réduit l'activité de l'hyaluronidase à des concentrations comprises entre 0,25 et 2,5 mg mL⁻¹ (96,6 ± 0,3 %) et l'activité de l'élastase à une concentration de 5 mg mL⁻¹ (46,0 ± 7,1 %). Ces résultats ont été brevetés par la société Solazyme en vue de leur incorporation dans des formulations cosmétiques (Dillon et al., 2007). Les EPS de *Porphyridium sp* ont été reconnus pour leurs propriétés antivirales et pour le traitement de l'arthrite (Arad et al., 2006) tandis que ceux issus de microalgue rouges *P. marinum* pourrait servir d'agents antiparasitaires (Michaud et al., 2014). Enfin, les EPS peuvent être utilisés comme pansements hydrocolloïdes (Alvarez et al., 2021). Ces pansements favorisent la cicatrisation des plaies en venant absorber et retenir les liquides provenant des plaies, contribuant ainsi à prévenir les infections bactériennes. Les versions commercialisées intègrent le plus souvent des polysaccharides comme l'acide hyaluronique, la gélatine ou les alginates (Piacquadio et al., 1992). Récemment, des pansements contenant des EPS de *Nostoc sp* démontré, par des tests *in vitro*, leur capacité à améliorer la migration des fibroblastes et la régénération cutanée (Alvarez et al., 2021).

4. COSMETIQUES

Le terme "cosmétique" a ses origines dans les anciens bains publics romains, où un système complexe d'hygiène physique était pratiqué (Chaudhri et al., 2009). Il dérive du mot grec "Kosm tikos" ou "kosmos", signifiant ordre et harmonie (Butler, 1993). Les premiers enregistrements de cosmétiques remontent aux Égyptiens, qui se préoccupaient principalement des rides du visage. En raison du climat sec et chaud auquel ils étaient exposés, leurs routines quotidiennes de soins de la peau impliquaient l'utilisation d'huiles et de crèmes. Actuellement, le terme "cosmétique" a évolué pour désigner l'embellissement du corps (Blanco-Dávila et al., 2000).

Le règlement n° 1223/2009 de la Commission européenne offre une définition complète des produits cosmétiques. Il les classe comme des substances ou des mélanges conçus pour être appliqués sur les régions externes du corps humain, incluant l'épiderme, le système capillaire, les ongles, les lèvres, les organes génitaux externes, les dents, et les muqueuses de la cavité buccale (Union, 2009). En général, un produit cosmétique est utilisé pour le traitement direct de la surface externe du corps humain, remplissant quatre fonctions principales: maintien de la condition optimale, modification de l'apparence, fourniture de protection, et correction de l'odeur corporelle. Cependant, le terme cosméceutiques (cosmétiques actifs) désigne une fusion de cosmétiques et de produits pharmaceutiques, caractérisant des produits capables d'apporter des effets bénéfiques sur la peau sans avoir un impact thérapeutique biologique clairement défini (Shai et al., 2009 ; Siemer, 1991).

Les cosmétiques peuvent être catégorisés selon divers critères tels que leur usage prévu, les zones d'application, les fonctions, le type de formulation, et la démographie des consommateurs (âge ou sexe) (Mitsui, T 1997). Une classification complète (Mitsui, T 1997 ; Shai et al., 2009) comprend :

1. Les cosmétiques de nettoyage personnel (savons, déodorants, shampoings).

2. Les cosmétiques pour le soin de la peau, des cheveux et de l'intégument (dentifrice, produits pour les soins intimes externes).
3. Les cosmétiques d'embellissement (parfums, rouges à lèvres).
4. Les cosmétiques de protection (produits solaires, antirides).
5. Les cosmétiques correcteurs (masques de beauté, colorants capillaires).
6. Les cosmétiques d'entretien (crème à raser, crèmes hydratantes).
7. Les cosmétiques actifs (antiseptique).

Les objectifs principaux de ces produits englobent le nettoyage, la parfumerie, l'amélioration esthétique, la protection, la préservation et la remédiation (Guillerme et al., 2017). L'industrie cosmétique émerge comme l'un des secteurs connaissant la croissance la plus rapide de la dernière décennie, faisant preuve de résilience face aux fluctuations des marchés financiers mondiaux. Selon une étude récente, le marché mondial des produits cosmétiques a atteint la somme de 500 milliards de dollars américains (USD) en 2017 et était projeté dépasser les 800 milliards de dollars américains (USD) en 2023, résultant d'une augmentation de la consommation à l'échelle mondiale avec un taux de croissance annuel d'environ 7% (Liu, 2022). Cependant, une croissance notable a également été observée sur le marché des cosmétiques naturels, comme illustré dans la figure 5, avec une progression annuelle, passant de 35 milliards de dollars en 2018 à 50 milliards de dollars d'ici 2027 (Ustyomenko, 2023). Ces données témoignent d'une expansion notable de l'industrie cosmétique, mettant en lumière une tendance positive en faveur des produits cosmétiques naturels.

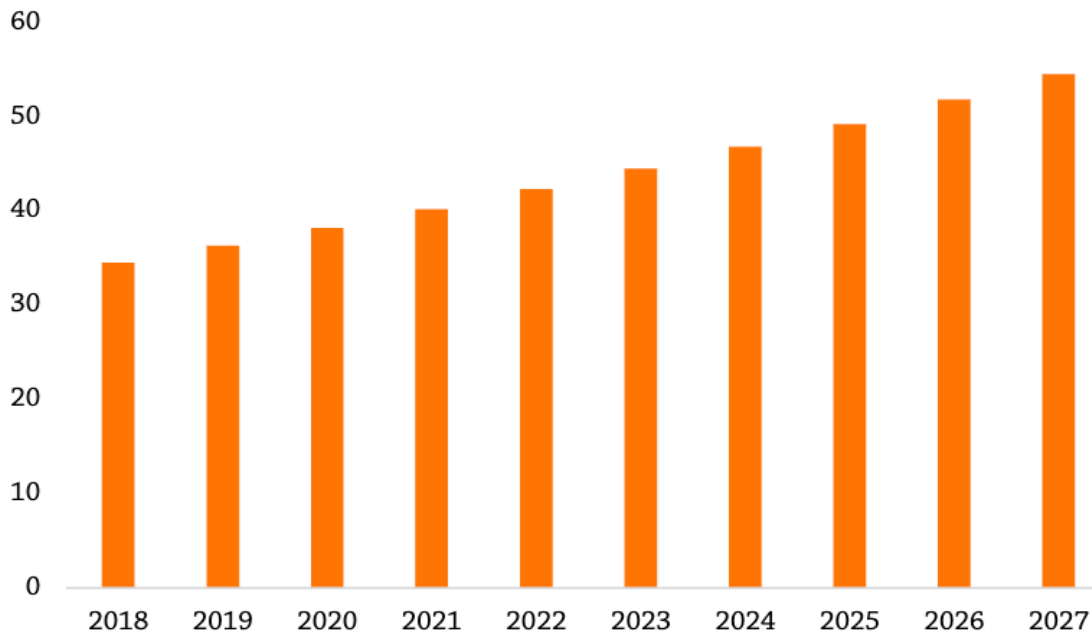


Figure 5: Évolution du marché des cosmétiques naturels en milliards de dollars américains (Ustymenko, 2023).

Avec l'intérêt grandissant de la société pour la préservation de l'environnement, l'industrie cosmétique rivalise de plus en plus pour fournir des produits durables (Guzmán et al., 2021). Pour cette raison, l'industrie intègre davantage d'éléments naturels pour répondre aux exigences des consommateurs (Guillerme et al., 2017; Wang et al., 2015). Les formulations cosmétiques disponibles sur le marché incluent fréquemment une variété d'additifs d'origine biologique ou de synthèse, chacun possédant des caractéristiques distinctes. Ces additifs peuvent remplir plusieurs rôles tels que des agents bactériostatiques, des promoteurs de croissance cellulaire, des agents anti-âge, des agents raffermissants cutanés, des atténuateurs de rougeurs, et présentent également des propriétés thérapeutiques (Prokopowicz et al., 2017).

Les microalgues constituent l'une des ressources naturelles les plus importantes qui ont captivé l'attention de l'industrie cosmétique. Ces organismes photosynthétiques produisent des métabolites et divers composés bioactifs, exhibant des activités biologiques comme des effets antioxydants, antiviraux, cytotoxiques, anticancéreux et antibactériens (De Luca et al., 2021). Les molécules bioactives dérivées des microalgues sont fréquemment intégrées dans

les produits de soins personnels, comme illustré dans la figure 6. Cela englobe des lotions pour le visage, des crèmes, des shampoings, des savons pour le corps, ainsi que des formulations cosmétiques telles que les ombres à paupières, les rouges à lèvres et le maquillage pour le visage (Yarkent et al., 2020). Par exemple Ariede et al., (2017) ont suggéré que des microalgues telles que *Nannochloropsis sp*, *Chlorogloeopsis sp*, *P. tricornutum*, *Chlamydocapsa sp* et *Chlorococcum sp* présentent des propriétés cosméceutiques. Ces propriétés englobent la prévention de la photo-oxydation, l'hydratation de la peau et des cheveux, la fonction de protection solaire, la stimulation du collagène, la promotion de l'éclaircissement de la peau, la prévention de la perte de cheveux, ainsi que la réduction de l'affaissement cutané et la formation de rides (Georgakopoulou, 2018).

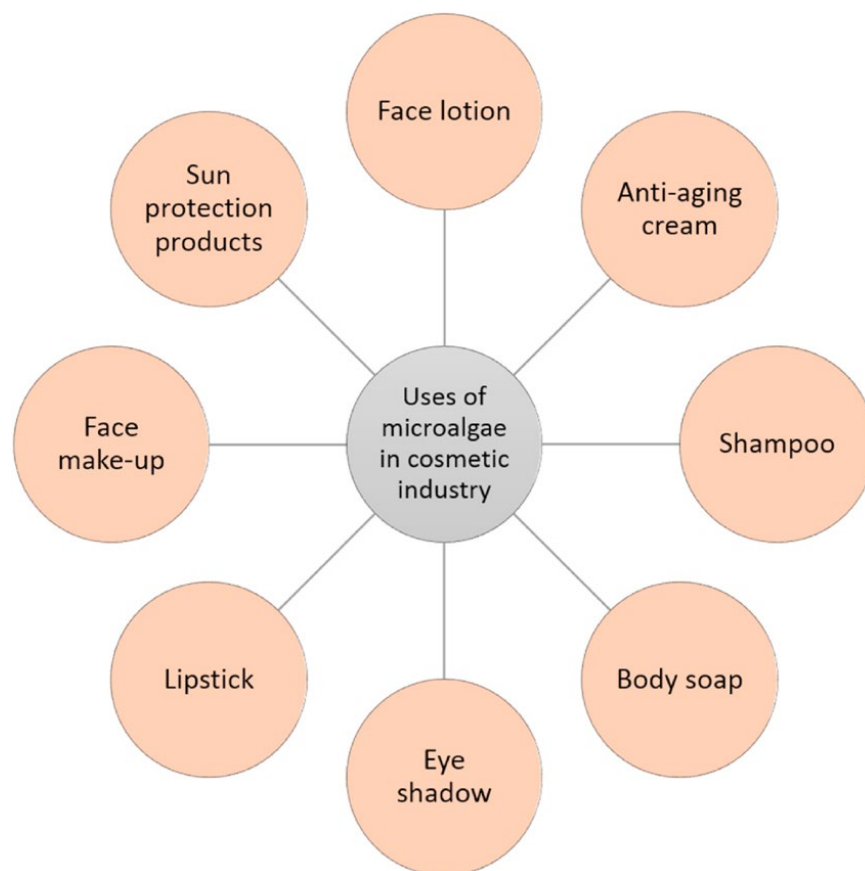


Figure 6: Application des extraits dérivés de microalgues et des composés bioactifs dans l'industrie cosmétique (Yarkent et al., 2020).

5. PHARMACEUTIQUES

Les microalgues représentent une source renouvelable de composés pharmaceutiques. Les composés bioactifs dérivés des microalgues sont considérés comme naturels (Jha et al., 2017). Par leur métabolisme, les microalgues ont le potentiel de générer de nouvelles molécules complexes difficiles à obtenir par synthèse chimique (Falaise et al., 2019). Cela a conduit à la production d'une gamme diversifiée de produits pharmaceutiques à partir de microalgues (Priyadarshani et al., 2012). Les composés bioactifs possèdent un spectre d'activités englobant des propriétés antioxydantes (figure 7). Widowati et al., (2017) ont évalué l'activité antioxydante à l'aide du test DPPH et la teneur phénolique dans l'extrait de trois souches de microalgues : *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis chuii* et *Dunaliella salina* à différentes concentrations (50-1000 ppm). Les résultats ont indiqué que l'extrait de la souche *I. galbana* présentait la plus forte activité antioxydante, avec une inhibition de 61,6 % à 50 ppm, suivie de *D. salina* (58,5 %) et *T. chuii* (52,6 %). L'activité anticancéreuse a également été évaluée. Par exemple Elleuch et al., (2021) ont étudié les extraits de la microalgue *Dunaliella sp* pour leur activité anticancéreuse *in vitro* et *in vivo* contre le cancer du sein triple négatif (TNBC). Les résultats ont révélé que l'extrait présentait une cytotoxicité plus importante que la nécrose cellulaire induisant l'apoptose. De plus, les composés des microalgues possèdent des activités antibactériennes et antivirales (El Gamal, 2010 ; Sahin et al., 2019). Maadane et al. (2017) ont démontré une activité antifongique de certains extraits de microalgues contre la levure *Candida albicans*. Dans une autre étude de Mathimani et al. (2019), des composés antimicrobiens ont été extraits de *Tetraselmis sp* contre des bactéries Gram positifs, des bactéries Gram négatifs et des champignons pathogènes. Les résultats ont révélé que l'extrait de *Tetraselmis sp* présentait la plus forte activité inhibitrice sur antibiogramme, avec des zones d'inhibition allant de 15 à 16 mm contre les bactéries et 7 mm contre les champignons pathogènes. Ces composés ont également des effets anti-inflammatoires, modulant la fonction des macrophages pour maintenir l'équilibre du système immunitaire (Pangestuti et al., 2020). L'inflammation, marquée par des interactions complexes entre les médiateurs inflammatoires et les cellules, est cruciale dans le mécanisme

de défense de l'hôte. Une inflammation non régulée peut conduire à des lésions tissulaires et au développement de maladies chroniques. Par conséquent, les stratégies de gestion de l'inflammation cherchent à inhiber l'activité des cellules inflammatoires ou à réduire la production de médiateurs inflammatoires (El Gamal, 2010).

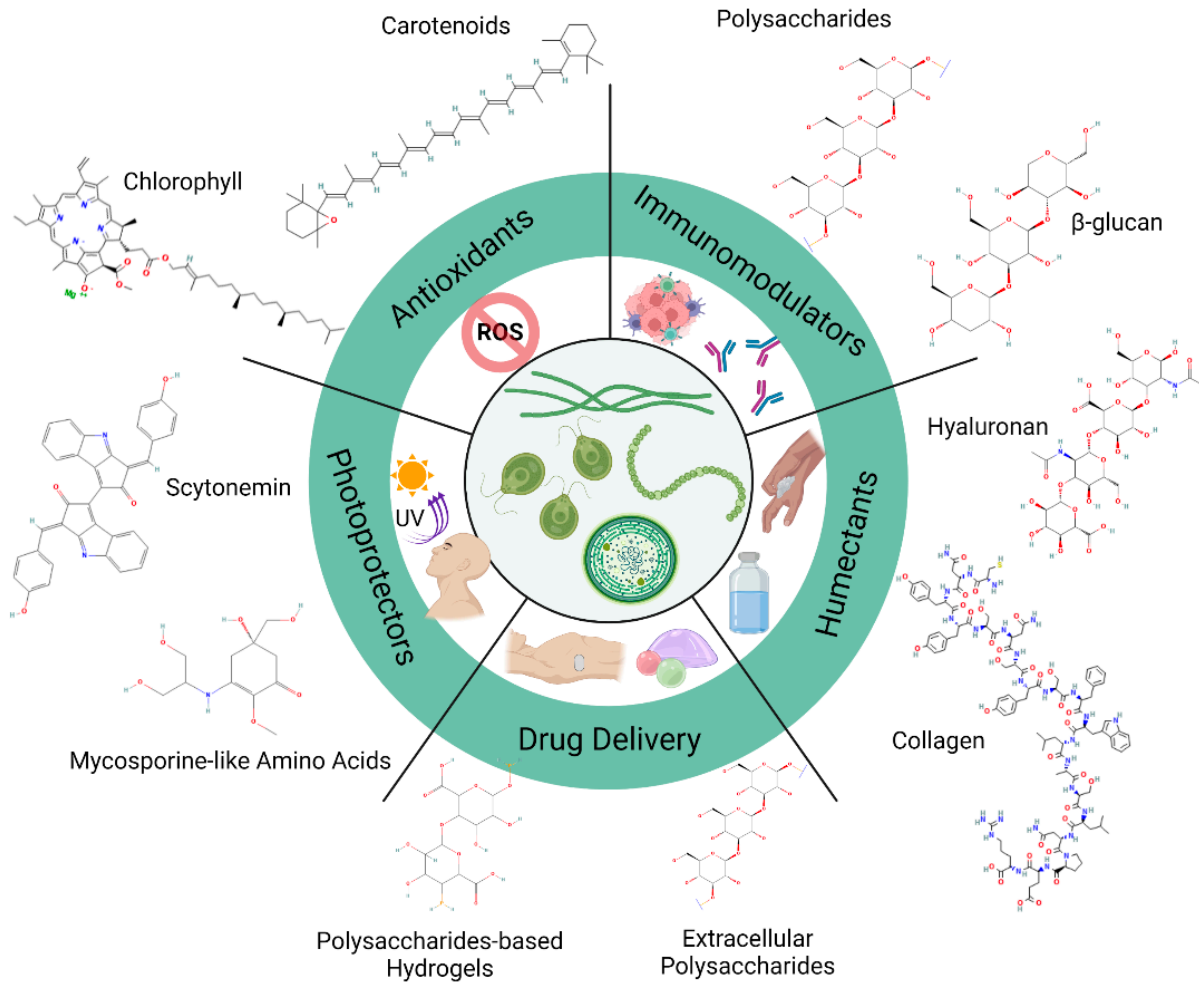


Figure 7: La structure moléculaire des composés bioactifs dérivés de microalgues pour diverses applications biotechnologiques (Martínez-Ruiz et al., 2022).

En résumé, les extraits de microalgues et les composés bioactifs dérivés des microalgues trouvent des applications primaires dans l'industrie cosmétique en tant que filtres solaires, formulations anti-âge et dans l'industrie pharmaceutique en tant qu'agents anti-inflammatoires, etc. (Yarkent et al., 2020). Parmi les diverses espèces de microalgues, *H. ostrearia* est une candidate particulièrement intéressante pour son potentiel d'utilisation en cosmétique et pharmaceutique

6. OBJECTIFS & METHODE

Compte tenu des compréhensions actuelles de l'activité biologique de la marennine et des EPS, notre hypothèse suggère que ces molécules peuvent être des composants fondamentaux dans les bases de crèmes pour des applications dans les secteurs des cosmétiques et de la pharmaceutique.

Les principaux objectifs de l'étude sont les suivants :

Secteur pharmaceutique

a- Analyse de la réponse anti-inflammatoire et de la proinflammation

- Déterminer à partir des 4 concentrations (CTRL, 1, 10, et 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) de marennine et d'EPS une réponse anti-inflammatoire sur les cellules macrophagiques.
- Analyser si les deux composés induisent une réponse pro-inflammatoire.

Secteur cosmétiques

a- Analyses de l'hydratation, l'élasticité et la régulation cutanée

- Analyser l'activité des gènes ciblés sur la peau native exposée aux même 4 concentrations de marennine et d'EPS.

- Effectuer des tests lipidomique sur la peau native exposées aux même 4 concentrations de marennine et d'EPS afin d'obtenir des informations sur la composition et la structure des lipides qui la composent.

Ces objectifs visent collectivement à fournir à approfondir notre compréhension des effets de la marennine et des EPS valorisables dans les secteurs pharmaceutiques et cosmétiques. Les résultats de cette étude pourraient encourager l'utilisation de la marennine et des autres EPS d'*H. ostrearia* pour le développement de formulations de crèmes et autres produits aux applications diverses en cosmétique et pharmaceutique.

Ce mémoire est présenté sous la forme de 2 chapitres expérimentaux, soit un article scientifique traitant des résultats sur le potentiel cosmétique à publier dans Algal Research et un 2^{ème} chapitre sous forme de courte note sur les résultats anti-inflammatoires.

CHAPITRE 1 : “BLEUE VS JAUNE”: MARENNINE ET EXOPOLYSACCHARIDES POUR DES APPLICATIONS COSMÉTIQUES

RÉSUMÉ

Mariame Chehouri¹, Bertrand Genard², Kim Doiron², Samuel Fortin¹, William Bélanger¹, Jean-Sébastien Deschênes³, Réjean Tremblay¹

¹Institut des Sciences de la Mer, Université du Québec à Rimouski, 300, Rimouski, Québec, Canada

²Les laboratoires Iso-BioKem Inc, Rimouski, Québec, Canada

³Département de mathématiques, informatique et génie, Université du Québec à Rimouski, 300, Rimouski, Québec, Canada

Haslea ostrearia, une diatomée pennée marine largement distribuée à travers le monde, est renommée pour la production du pigment bleu unique, la marennine, et la synthèse d'autres extraits tels que les exopolysaccharides (EPS). Des recherches précédentes ont largement exploré les activités biologiques de l'extrait de marennine purifié, y compris les effets antibactériens, antioxydants et antiprolifératifs. Cependant, le potentiel des EPS est resté en grande partie inexploré, malgré ses applications prometteuses dans divers domaines cosmétiques. Cette étude examine l'impact de la marennine et des EPS à différentes concentrations (1, 10 et 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) sur les cellules cutanées fibroblastes dermiques à des fins cosmétiques. Nous avons utilisé divers gènes ciblés pour évaluer des fonctions spécifiques et réalisé une analyse lipidomique pour évaluer l'impact sur la composition lipidique des cellules cutanées à différentes concentrations. Nos résultats ont démontré une régulation positive des gènes responsables de l'hydratation et de l'anti-âge, soulignant le potentiel de la marennine et des EPS dans ces domaines. De plus, notre analyse lipidomique n'a montré aucun changement significatif dans les structures lipidiques des cellules cutanées, à toutes les concentrations étudiées. Ainsi, la production de *H. ostrearia* pourrait fournir des molécules intéressantes anti-âge et hydratantes pour un usage cosmétique.

Mots-clés : *Haslea ostrearia*, marennine, exopolysaccharides (EPS), cosmétiques, lipidomique, cellules cutanées dermiques.

ABSTRACT

Haslea ostrearia, a widely distributed marine pennate diatom, is renowned for producing the unique blue pigment, marennine as well as various exopolysaccharides (EPS). Previous research has extensively explored the biological activities of purified marennine extracts, including their antibacterial, antioxidant, and antiproliferative effects. However, the potential of the EPS fraction has remained largely understudied, despite its promising applications in various cosmetic domains. This study thus investigates the impact of both marennine and EPS at different concentrations (1, 10, and 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) on dermal fibroblast skin cells for cosmetic purposes. We employed various targeted genes to assess specific functions and performed lipidomic analyses to evaluate the impacts on skin cells lipid composition across the selected concentrations. Our results demonstrated an upregulation of genes responsible for hydration and anti-aging, highlighting the potential of marennine and EPS in these areas. Additionally, our lipidomic analyses showed no significant changes in the lipid structures of the skin cells, at all concentrations studied. Thus *H. ostrearia* production could provide interesting anti-age and hydrating molecules for cosmetic use.

Keywords: *Haslea ostrearia*, marennine, exopolysaccharides (EPS), cosmetics, lipidomic, dermal skin cells.

1.1 INTRODUCTION

Marennine refers to a water-soluble blue-green pigment synthesized by a benthic pennate diatom called *Haslea ostrearia* (Gastineau et al., 2014). The pigment is produced during growth and is influenced by factors like light characteristics, extended photoperiod, and potential nutrient limitation (Mouget et al., 2004). There are two distinct forms of marennine: one intracellular (IMn), which accumulates in diatom vesicles, and another extracellular (EMn), released into the culture medium (Pouvreau et al. 2006). EMn has shown diverse biological activities, encompassing antioxidant properties (Pouvreau et al., 2008), antiproliferative effects (Carbonnelle et al., 1999; Gastineau et al., 2012), antiviral activity (Gastineau et al., 2012; Bergé et al. 1999), antibacterial efficacy (Falaise et al., 2016) and antitumor properties (Hussein et al., 2020). EMn has exhibited promising prophylactic activity against bacteria, reducing the pathogenicity of some species and demonstrating the probiotic potential of this natural pigment (Falaise et al., 2019; Turcotte et al., 2016, Bouhleb et al., 2021; Latour et al., 2023). Recent research utilizing in-vivo nuclear magnetic resonance has identified that marennine at low concentration acts by stiffening bacterial membranes without affecting the bilayer's integrity and limiting the pathogenicity of Gram-negative bacteria (Bouhleb et al., 2021b). Moreover, the antiproliferative activities of marennine have been documented across various human cancer cell lines, including SKOV-3 (ovarian cancer), SW116 (colon cancer), and M113 (melanoma) (Carbonelle et al., 1999; Gastineau et al., 2012). Additionally, marennine has exhibited substantial antioxidative and free radical scavenging capabilities, surpassing the efficacy of certain conventional antioxidants in the food industry, such as the flavonoid apigenin (Pouvreau et al., 2008). Furthermore, in addition to its established antioxidant and antiproliferative characteristics, Gastineau et al., (2012) provided empirical evidence supporting the antiviral efficacy of marennine against the HSV-1 herpes virus. The study showed an EC50 value of 27 µg/mL, indicating marennine's potency to be twice that of the reference drug Zovirax in mitigating viral activity. Moreover, a recent study by Méresse et al., (2023) revealed that marennine

exerts a time- and concentration-dependent significant impact on the dynamic alterations of neuroinflammatory processes.

EMn released by *Haslea sp* in the culture medium culture is associated with the presence of polysaccharides. These extracellular polysaccharides (EPS) are commonly produced by microalgae (Delattre et al., 2016) and serve as a physical barrier, protecting cells from harmful agents and environmental stressors. They also play vital roles in various physiological processes such as cell adhesion, interaction, and biofilm formation. EPSs are actively released by various marine organisms (Raposo et al., 2014), including *Haslea ostrearia*. In a study conducted by Bélanger et al., (2020) the identification of sulfated polysaccharides following EMn purification was observed. The research suggested that these findings hold significant scientific value emphasizing its potential importance in a broader aspect. EPSs are renowned for their anti-inflammatory, antimicrobial, and antiviral properties. These principal sugars structuring polysaccharides include xylose, glucose, mannose, and galactose (Raposo et al., 2014). Sulfated polysaccharides have been associated with blood coagulation, antilipidemic effects, and immunomodulatory properties (Bellou et al., 2014; Majtan et al., 2018). In recent years, there has been a growing trend in incorporating bioactive molecules as ingredients in cosmetic products. These bioactive molecules, also called 'actives', are distinguished by their ability to actively regulate biological processes in human skin (Goyal & Jerold, 2023).

This study examines the applications of marennine and exopolysaccharides (EPS) from *Haslea ostrearia* in the cosmetic and pharmaceutical industries. Using genomic and lipidomic tools on skin cells, we tested the hypothesis that marennine and/or EPS act on hydration, elasticity, and skin regulation. Lipidomics involves the detailed and comprehensive identification and quantification of the main molecular species of lipids. Mass spectrometry (MS)-based approaches support current lipid analysis techniques, which enable profiling of the total lipid extract from algae material without chemical modification, requiring a relatively small sample amount (Ivanova et al., 2009).

1.2 MATERIALS AND METHODS

1.2.1. Algal culture

Biomass production, following the methodology by Prasetya et al. (2022), was conducted at our wet laboratory facility (Station aquicole de Pointe-aux Pères) at Université du Québec à Rimouski. *Haslea ostrearia* (strain B-48), provided by the Nantes Culture Collection, was used for algal production. The cultures were maintained semi-continuously in 30 L flat-bottomed circular Photobioreactors (PBRs) using 50 kDa ultrafiltered seawater enriched with F/2 media and supplemented with 30 mg L⁻¹ of silicates. Batch cultures were grown under controlled conditions (light intensity: 180 mol photons m⁻² s⁻¹, temperature: 20 °C, salinity: 28). Extracellular marennine, at approximately 10 mg L⁻¹, was collected after 35 days, and a 1 µm filtration process was applied to remove cellular or particulate matter. The marennine content was then quantified in the filtered culture water using a 0.22-micron syringe filter.

1.2.2. Marennine and Exopolysaccharide extraction

Marennine and Exopolysaccharide (EPS) samples were prepared according to the protocol described in (Bélanger et al. 2024, submitted). Briefly, graphite flakes were mixed into the culture supernatant of *Haslea ostrearia* (BW) through mechanical stirring and allowed to settle. The supernatant was discarded, and the solid phase was loaded in a chromatography column for elution with an aqueous butanone solution (20 %, v/v). The raw extract was then converted into a gel by adding disodium phosphate and calcium acetate, followed by centrifugation to separate the marennine hydrogel from other EPS. The marennine fraction was washed with nanopore water (NW) and dissolved in an aqueous EDTA solution. EPS was extracted from the gelation supernatant using a rotary evaporator to dry the sample, followed by its dissolution in dilute HCl and neutralization with NaOH. The solution was then filtered on a cellulose filter, diafiltrated on a 1kDa MWCO membrane,

and freeze-dried. Finally, the extract was washed with methanol and centrifuged to preserve only the lipophobic pellet, which was freeze-dried again and dissolved in NW.

1.2.3. Preparation, exposure, and detachment of skin cells

Primary skin cells of the dermal fibroblast type, sourced from BJ (ATCC CRL-2522) were employed in this study. These were cultured in ATCC-formulated Eagle's Minimum Essential Medium (EMEM) (Multicell, Wisent, INC). Fetal bovine serum was added to complete the growth medium, achieving a final concentration of 10%. Triplicates of skin cell cultures were exposed to varying concentrations of marennine and extracellular polymeric substances (EPS) after achieving cell confluence for around 3 weeks. The samples were categorized into control (CTRL), 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$, and 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. A minimum exposure period of 24 hours was established for the cells (5×10^5 cells) across the three concentrations of marennine and EPS extract. The exposure duration was meticulously determined, considering cell growth rates, to ensure an optimal cell quantity for subsequent extractions.

After 24 hours of exposure, the skin cells were prepared for detachment. Initially, the culture medium was removed, and the cells were rinsed with 5 ml of phosphate-buffered saline (PBS) (Multicell, Wisent, INC) to eliminate any residual medium. Subsequently, 10 ml of Accutase in DPBS with 0.5 mM EDTA (sterile-filtered and cell culture tested) (EMD Millipore Corp, SCR005) was added to detach the cells from the bottom of the flasks. After an incubation period of 10 to 15 minutes, cell detachment was monitored using a microscope. Once detached, the cells and Accutase solution were transferred to a 15 ml Falcon tube and centrifuged at 4 000 g for 5 minutes at 20°C. Following centrifugation, the supernatant containing Accutase was discarded, and the cell pellet was washed with 5 ml of PBS to remove any remaining Accutase. A second round of centrifugation was then performed. Finally, after discarding the PBS, the cells exposed to both marennine, and EPS were sub-sampled in two sections one for lipidomic and the second for gene expression analyses.

1.2.4. Cell viability

Cell viability was analyzed using the Thermo Scientific Invitrogen Countess 3 automated cell counter. A total of 12.5 μL of cells was mixed with 12.5 μL of trypan blue staining solution to achieve a 1:1 ratio. The mixture was then loaded onto Countess cell counting chamber slides to differentiate viable cells. Measurements were performed in duplicate, and the average viability was calculated.

1.2.5. Lipidomic analysis

Lipidomic analysis was applied on exposed skin cells with 1 mL of methyl tert-butyl ether TFE: 2,2,2 trifluoroethanol 5/1 (v/v) (MTBE/TFE) solution added to 500 μL of the cell suspension in a sonicator bath during 1 min followed by centrifugation during 5 min at 2935 rcf. MS analysis of lipide extracts was performed with an Agilent 6546 LC-QTOF using Mass Hunter acquisition software with an Agilent Jet Stream Technology ion Source at Les laboratoires IsoBioKem (Rimouski, Qc, Canada). Q-TOF was operated at 10 GHz in high-resolution mode in a 1700 m/z mass range. Analysis parameters used for the lipidomic study were like those described in Koelmel et al. (2020). Briefly, the lipids extracts were chromatographically separated on an HPLC 1260 Infinity II (Agilent Technologies) using the Agilent ZORBAX Eclipse Plus C18 Rapid Resolution HD column (2.1×50 mm, 1.8 μm) and a C18 guard column (3.0×5 mm, 2.7 μm) at 50 $^{\circ}\text{C}$. Mobile phase A was 90/10 water/methanol (v/v) containing 10 mM ammonium acetate, 0.2 mM ammonium fluoride, and 5 μM InfinityLab deactivator additive, mobile phase B was 50/30/20 isopropanol/methanol/acetonitrile (v/v/v) without ammonium acetate, 0.2 mM ammonium fluoride and 5 μM InfinityLab deactivator additive. The gradient elution used was maintained at 30%B 0-3 min, increased to 70% B from 3-5 min, increased to 86% B 5-13 min, held at 86%B 13-20 min, increased to 100% B 20-21 min, maintained at 100% B 21-27 min, and return to initial condition 27-28 min, with a flow rate at 0.35 mL min^{-1} . The total run was 30 min, followed by a 3 min post-run. The injection volumes were 2 μL for approving samples, 5 μL for negative samples, and a 15-second in-wash port for needle wash (50:50

methanol/isopropanol). Source parameters were gas temperature at 200°C, gas flow 10 L min⁻¹, nebulizer 50 psi, sheath gas temperature at 300°C, sheath Gas flow 12 L min⁻¹, VCap at 3000 V in negative mode and 3500 V in positive mode, nozzle voltage 0 V and fragmentor at 150 V. Reference mass ions used are: in negative mode m/z 112.98, 119.03, 980.01 and 1033.98 and positive mode m/z 121.05 and 922.00. The sample employed two data acquisition modes. First, a scan at a rate of 1 spectra second⁻¹ was performed in the m/z range of 100-1700. Second, an iterative workflow was conducted at three collision energies 5/15/40 with three iterations by collision energy. For iteration, the MS scan was at 3 spectra second⁻¹ and the MS/MS scan at 3 spectra second⁻¹ in the m/z range of 100-1700 for both. Subsequently, lipid annotator software analysis was employed to process all data, ensuring lipid entities were well-annotated by providing structural information confidently informed by MS/MS spectra.

1.2.6. Quantification of gene expression

For RNA extraction, the second part of exposed skin cells was processed using the RNeasy® Micro Kit (Qiagen), strictly following the manufacturer's guidelines. Following extraction, RNA concentrations were quantified with an absorbance ratio of 260/280 using the (NanoVue Plus spectrophotometer, GE Healthcare, Pittsburgh, PA, USA). Subsequently, the RNA was reverse transcribed into cDNA for increased stability using the QuantiTect Reverse Transcription kit (50) (Qiagen). The cDNA concentration was verified via the NanoVue plus spectrophotometer, and a total concentration of 5 ng µl⁻¹ was employed for calculating the total volume. Following cDNA synthesis, the quantification of gene expression was performed. The choice of target genes and the testing methodology were determined based on the modified protocol by Kong et al., (2016). Real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) via Bio-Rad iCycler MyIQ PCR (thermal cycler, 19599) was conducted using the Qiagen 1 and 2 programs. The procedure involved an initial incubation period of 2 minutes at 42°C, 15 minutes at 42°C, and a final denaturation step of 3 minutes at 95°C. Custom-designed primers and probes specific to the genes listed in Table 3 were employed for this analysis.

In this study, the housekeeping gene 36B4 served as the reference standard for evaluating the expression of various target genes. Each gene was systematically compared with the housekeeping gene (36B4), and subsequently, the Fold Change (\log^2) was computed for every sample dose ($1 \mu\text{g mL}^{-1}$, $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, $100 \mu\text{g mL}^{-1}$) represented as (M1, M10, M100 and EPS1, EPS10, EPS100) for each targeted gene. As a result, a threshold amplification value of 1 was assigned where values surpassing it denoted overexpression, while those below indicated under expression. The mean ($n=3$), standard deviation (STDV), and standard error (SE) were then calculated.

Table 1: Primer design for targeted genes with forward and reverse sequences (5' – 3').

Targeted genes	Primer names	Usage	Forward Sequence (5' – 3')	Reverse Sequence (5' – 3')
Housekeeping	36B4	Reference gene	ATGCAGCAGATCC GCATGT	TGCGCATCATGGTGTTT TT
Cellular retinoic acid-binding protein II	CRABPII		CAAGACCTCGTGG ACCAGAGA	ACCCTGGTGCACACAA CGT
Ceramide synthase 4	LASS4	Skin Hydration Products	GTTTCAACGAGTG GTTTTG	TGAATCTCTCAAAGGC AAG
Fibrillin-1	FBN1		CCCTGGGATTTAC CGTGCTT	CTGCCCGTTGTTCTGGA TCT
Aquaporin	AQP3		TCAAAGACCTGTG GAACTGGTATC	TGATGGTGAGGAAACC ACCG
Collagen Type I	COL1A1	Anti-aging products	GATTCCCTGGACC TAAAGGTGC	AGCCTCTCCATCTTTGC CAGCA
Collagen Type III	COL3A1		TGGTCTGCAAGGA ATGCCTGGA	TCTTCCCTGGGACACC ATCAG

Corneodesmosin	CDSN	Whitening products	TCTGGTTCAGGC ATGACCTAC	GCTGGAGAAGTATTTG CCCTCAG
Acetyl-Coenzyme-A carboxylase 1	ACACA		CCCAGATTCTGCG TTTAAGA	CATCCACAATGTAAGCA CCA
Human 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A reductase	HMGCR	Slimming products	GACGTGAACCTAT GCTGGTCAG	GGTATCTGTTTCAGCCA CTAAGG
Thioredoxin	TRX		GACAAGAGAAAG AAGTGAAAAGATA AA	TGGACCCCTTTATTGAA ACGTT
		Oxidative stress and antioxidants		
Copper-zinc-superoxide dismutase	CuZnSOD		ATGATCTCATTGG ATCTTCACG	CTCCTGAAAAGAGAGC TGCAC
Glutathione peroxidase 1	GPX		TTCCCGTGCAACC AGGTTT	AGGGAATTCAGAATCT CTTCGTT
Dynamin 1 like	DRP1		GGACGCTAATTCC TGTCATAA	CAGGCTTTCTAGCACTG AGC
Interleukin 1 beta	IL-1B	Immune response-inflammation	TTCTTCGACACAT GGGATAAC	TCCCGGAGCGTGCAGT TCA
Interleukin 6	IL6		GATGGATGCTTCC AATCTGGAT	AGGTA CTCTAGGTATAC CTCAA ACTCCAA

Tumor protein p53	P53		CTGGCACGGAAC AGCTTTGA	CCTTTCTTGCGGAGATT CTCTTC
ERCC excision repair 1, endonuclease non-catalytic subunit	ERCC	Cell repair	GAAATTTGTGATA CCCCTCGAC	GATCGGAATAAGGGCT TGG
Hypoxanthine phosphoribosyl transferase	HPRT	Cell repair	GCTATAAATTCTTT GCTGACCTGCTG	AATTACTTTTATGTCCC CTGTTGACTGG
Matrix metalloproteinase 1	MMP1		GGGAGATCATCGG GACAACTC	AATACCTGGGCCTGGTT GAAA
Mitochondrial nucleoid factor 1	MNF1		ATATGGAAGACGT ACGCAGAC	CCCCTGTGCTTTTTGCT TTC
OPA1 Mitochondrial dynamin like GTPase	OPA1	Mitochondrial integrity	GGCTCCTGACACA AAGGAAA	TCCTTCCATGAGGGTCC ATT
Cellular Communication Network Factor 1	CCN1		TCAAAGACCTGTG GAACTGGTATC	CACAAATCCGGGTTTCT TTCA
Glucuronidase beta	GUSB		TGCAGGTGATGGA AGAAGTG	TTGCTCACAAAGGTCA CAGG

Skin structure			
Periaxin	PRX	CAGGCTTGATGGT ATCACTGC	AGGCCTTCCAGTTCCT GAC

Quantitative PCR (qPCR) analyses were performed using a comparative Ct method. The procedure consisted of two stages: an initial denaturation stage at 95°C for 20 minutes, followed by an annealing and extension stage at 60°C for an additional 20 minutes. Notably, a melting stage was omitted. These reactions were conducted through 40 cycles and were carried out in triplicate. The reactions were executed in MicroAmp™ Fast Optical 96-Well Reaction Plates with a 0.1 mL volume, employing Fast SYBR™ Green Master Mix from Applied Biosystems. The qPCR assays were validated using the QuantStudio™ 3 System Real-time PCR platform from Thermo Fisher.

1.2.7. Statistical analysis

Cell viability was analyzed by one-way ANOVA analysis performed following validation of assumptions was met, normality distribution by Shapiro-Wilk test and homoscedasticity by the Ben-Levene test on XLSTAT for both marennine and EPS tested at four concentrations (CTRL, 1 µg mL⁻¹, 10 µg mL⁻¹, and 100 µg mL⁻¹).

MetaboAnalyst version 6.0, an advanced web-based analytical platform for high-throughput visualization of lipidomic data (Ni et al., 2023), was utilized for both univariate and multivariate statistical analyses of Lipidomics and genomics data. Initially, MS-DIAL was employed for lipid identification and ion separation. Principal component analysis (PCA) was conducted on autoscaled data. Statistically significant differences among the examined groups of concentrations of marennine and EPS (CTRL, 1 µg mL⁻¹, 10 µg mL⁻¹, and 100 µg mL⁻¹) were evaluated using a one-way ANOVA test, with a threshold of $p < 0.05$ denoting statistical significance.

1.3 RESULTS

1.3.1. Cell Viability

ANOVA results demonstrated no significant difference between both extracts at all three concentrations and the control, with a P-value of 0.458, degrees of freedom (DF) = 6, and F = 1.008.

1.3.2. Lipidomic analysis

LC-QTOF results identified 191 lipid classes in skin cells exposed to EPS and marennine. Among these, 44 lipid classes were significant for EPS exposure compared to 32 classes for marennine, as determined by the ANOVA test. Subsequent analyses focused on these significant classes.

The Principal Component Analysis (PCA) for skin cells exposed to EPS, as shown in Figure 8(a), produced a 2-D score plot containing two distinct clusters of samples. These clusters were separated along PC1, which accounts for 46.9% of the total variance. Notably, there was an overlapping of ellipses for EPS1 and EPS10, with a partial separation of the EPS1 cluster. The Variable Importance in Projection (VIP) score plot shown in Figure 8(b), highlighted the 6 highest classes having a VIP score higher than 1.8, primarily related to the phosphatidylcholine (PC) class. Specifically, PC 35:1 was predominantly associated with the control (CTRL) group, whereas PC 32:1:16:0, PC 31:0, PC 38:4, PC 34:2, and phosphatidylethanolamine (PE) 38:5 was more associated with EPS 100. For marennine, the PCA shown in Figure 8(c) indicated heterogeneity in the lipid classes across all concentrations. The ellipses for the three marennine concentrations overlapped with PC1 explaining 64.8% of the variance. The VIP score plot in Figure 8(d), identified six lipid classes with VIP scores exceeding 2.3, mainly within the PC class. Specifically, PC 32:1 was significantly associated with M10, like PC 34:2 and ether-linked PC 33:6. Meanwhile, PC 30:0 14:0 was associated with M10, PC 36:2 was more significant for M100, and sphingomyelin (SM) M1 predominantly explained 34:1.

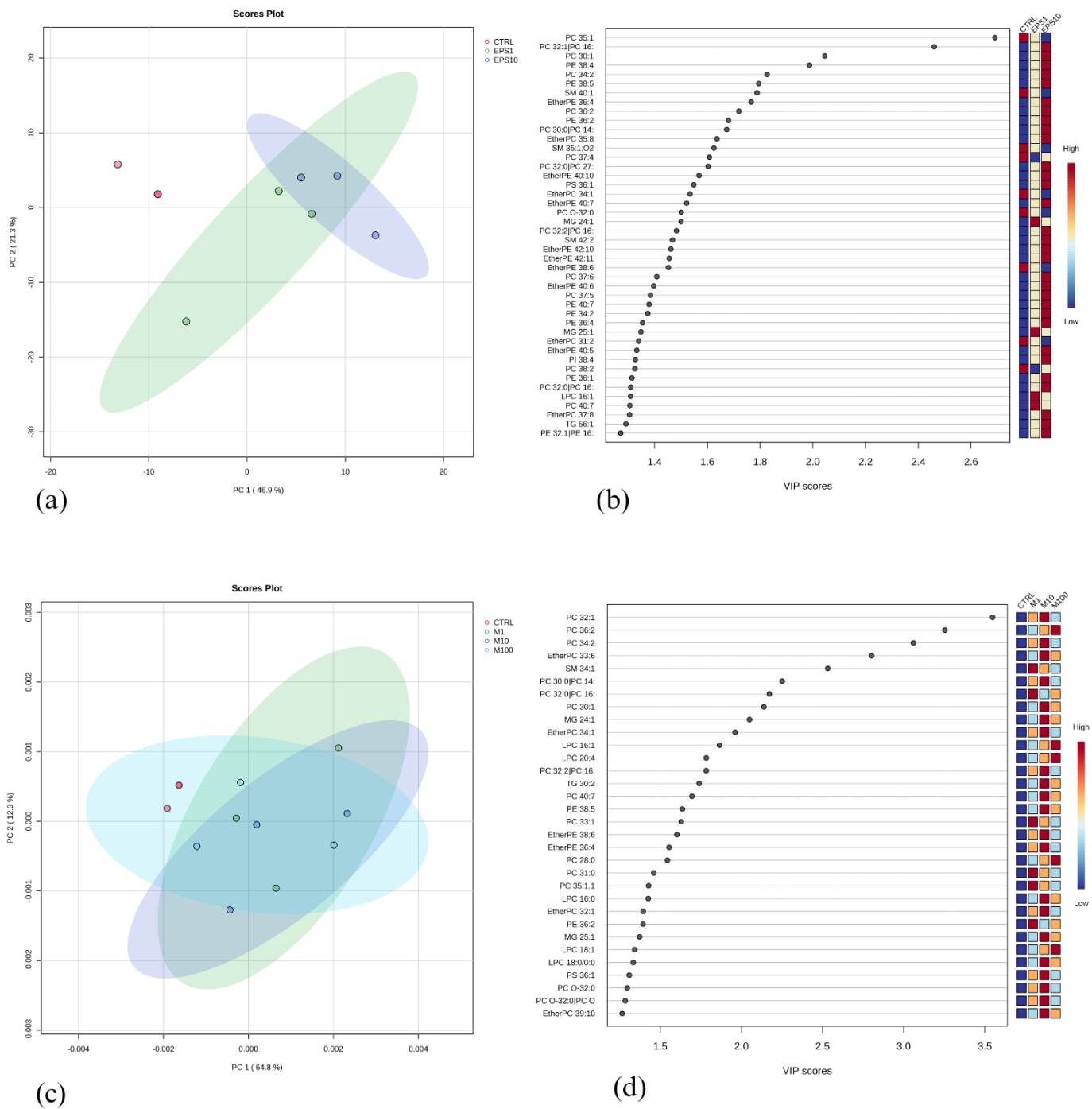


Figure 8: Multivariate data analysis of lipidomic for positive ions for both marennine and EPS. A principal Component Analysis (PCA) scores plots (left panels), Variable Importance in Projection (VIP) (right panels). **(a)** Principal Component Analysis (PCA) score plot for EPS (EPS1, EPS10). **(b)** VIP score plot of the top lipid classes exposed to EPS (EPS1, EPS10). **(c)** Principal Component Analysis (PCA) score plot for marennine (M1, M10, M100). **(d)** VIP score plot of the top lipid classes exposed to marennine (M1, M10, M100).

1.3.3. Quantification of gene expression

In this study, 27 targeted genes, each with different roles in skin products, were analyzed. Results obtained using real-time qPCR identified the gene expression profiles in skin cells exposed to EPS and marennine. Among these 27 genes, 17 showed significant expression changes for EPS exposure, while 7 genes were substantial for marennine, as determined by the ANOVA test.

The Principal Component Analysis (PCA) results for skin cells exposed to EPS, depicted in Figure 9(a), produced a 2-D score plot demonstrating two distinct sample clusters. These clusters were separated along PC1, which accounts for 72.9% of the total variance. Notably, there was a significant distance between the ellipse for EPS100 and those for EPS1 and EPS10, which exhibit overlapping ellipses. As for marennine shown in Figure 9(b), we noticed the clusters were separated along PC1, which accounts for 53.5% of the total variance. Remarkably, we observed an important distance between the ellipse for M1 and M10. In the evaluation of marennine concentrations within this study, data for M10 was excluded due to missing information. As illustrated in Figure 10(a) through the Variable Importance in Projection (VIP) score plot, the four most significant gene classes with VIP scores exceeding 1.5 were Prx, FBN1, HMGCR, and MMP1, which were primarily associated with skin structure, skin hydration, slimming, and cell repair products, respectively. The fold change regulation presented in Figure 10(b) further elucidates these findings. Specifically, for skin hydration, Fibrillin-1 (FBN1) exhibited significant upregulation at 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, standing out as the only gene in this category with notable expression. In the anti-aging category, Collagen Type III (COL3A1) showed upregulation at 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Among the genes associated with skin-whitening products, Corneodesmosin (CDSN) showed no amplification. For the slimming category, Human 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A Reductase (HMGCR) demonstrated substantial amplification at 100 μL . Within the oxidative stress and antioxidant category, both Thioredoxin (Trx) and Glutathione Peroxidase 1 (GPX) displayed significant amplification at concentrations of 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$. The immune response-inflammation category revealed

downregulation of Dynamin 1 (DRP1), Interleukin 1 Beta (IL-1B), and Tumor Protein p53 (P53), while Interleukin 6 (IL-6) was notably upregulated at 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. In terms of cell repair, ERCC excision repair 1, endonuclease non-catalytic subunit (ERCC) was upregulated at both tested concentrations, and Mitochondrial Nucleoid Factor (MMP1) showed upregulation at 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$. For mitochondrial integrity, Mitochondrial Dynamin-Like GTPase (OPA1) was upregulated at 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$, with the highest expression observed at 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Finally, no genes within the skin structure category exhibited significant amplification. These findings underscore the varied gene expression profiles elicited by different marennine concentrations, highlighting the specific genes that were

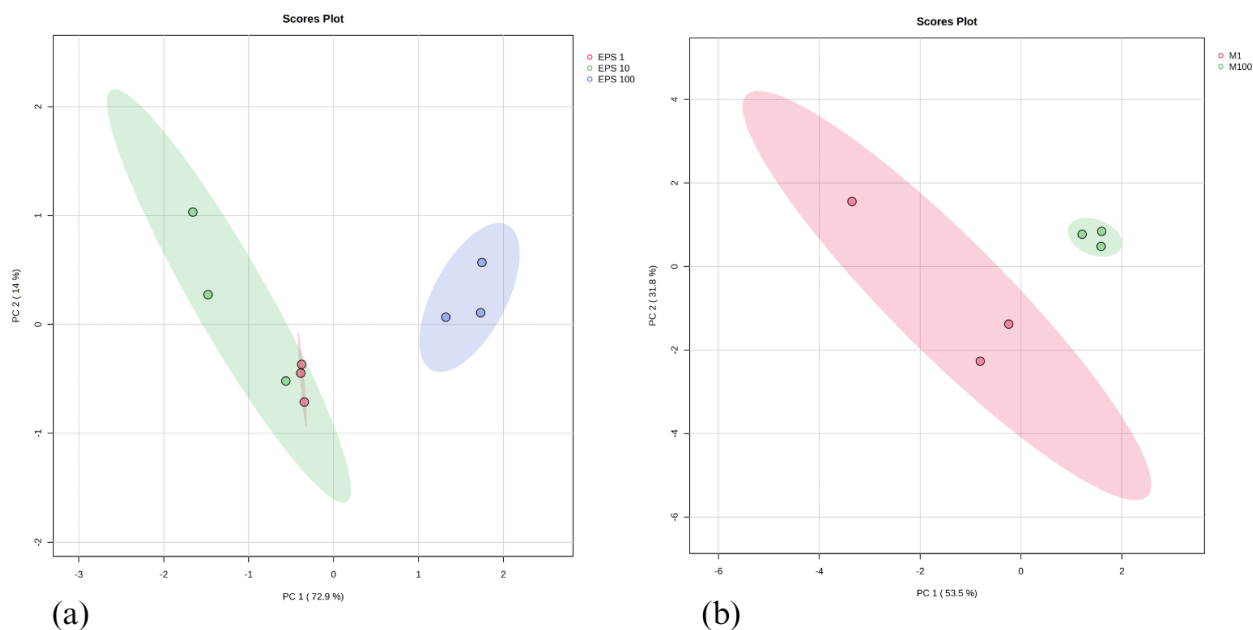


Figure 9: Multivariate data analysis of Genomics for both marennine and EPS. (a) Principal Component Analysis (PCA) score plots for EPS. (b) Principal Component Analysis (PCA) score plots for marennine.

significantly modulated.

ANOVA analysis identified 17 significant genes within skin cells exposed to EPS, as illustrated in Figure 10(c) using the Variable Importance in Projection (VIP) score plot. Notably, the four most significant classes with VIP scores exceeding 1.5 are FBN1, ACACA, COL1A1, and IL-1B, which were primarily associated with skin hydration, slimming, anti-

aging, and immune response-inflammation products, respectively. Additionally, the analysis of EPS gene expression, depicted in Figure 10(d), revealed that among genes pertinent to skin hydration, only Fibrillin-1 (FBN1) showed significant expression at a concentration of $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. In the anti-aging category, Collagen Type I (COL1A1) exhibited significant amplification at $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, while Collagen Type III (COL3A1) showed significance at $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. As for the gene associated with skin-whitening products, Corneodesmosin (CDSN) showed no amplification. For slimming products, Acetyl-Coenzyme A Carboxylase 1 (ACACA) and Human 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzyme A Reductase (HMGCR) manifested significant amplification at $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. Within the oxidative stress and antioxidant domain, Thioredoxin (Trx) and Glutathione Peroxidase 1 (GPX) showed minimal amplification across all concentrations. In contrast, Copper-Zinc-Superoxide Dismutase (CuZnSOD) demonstrated amplification at $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ and $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, with peak expression at $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. In the immune response-inflammation category, Interleukin 1 Beta (IL-1B) exhibited significant amplification at $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ and $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, with maximal expression observed at $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. Tumor Protein p53 (P53) showed minimal amplification at $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, while Interleukin 6 (IL-6) and Dynamin 1 (DRP1) showed no gene expression. No significant gene amplification was detected in the cell repair category. For mitochondrial integrity, Mitochondrial Nucleoid Factor 1 (MNF1) and OPA1 Mitochondrial Dynamin-Like GTPase (OPA1) displayed amplification at $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. Conversely, no gene amplification was observed among the targeted genes in the skin structure category.

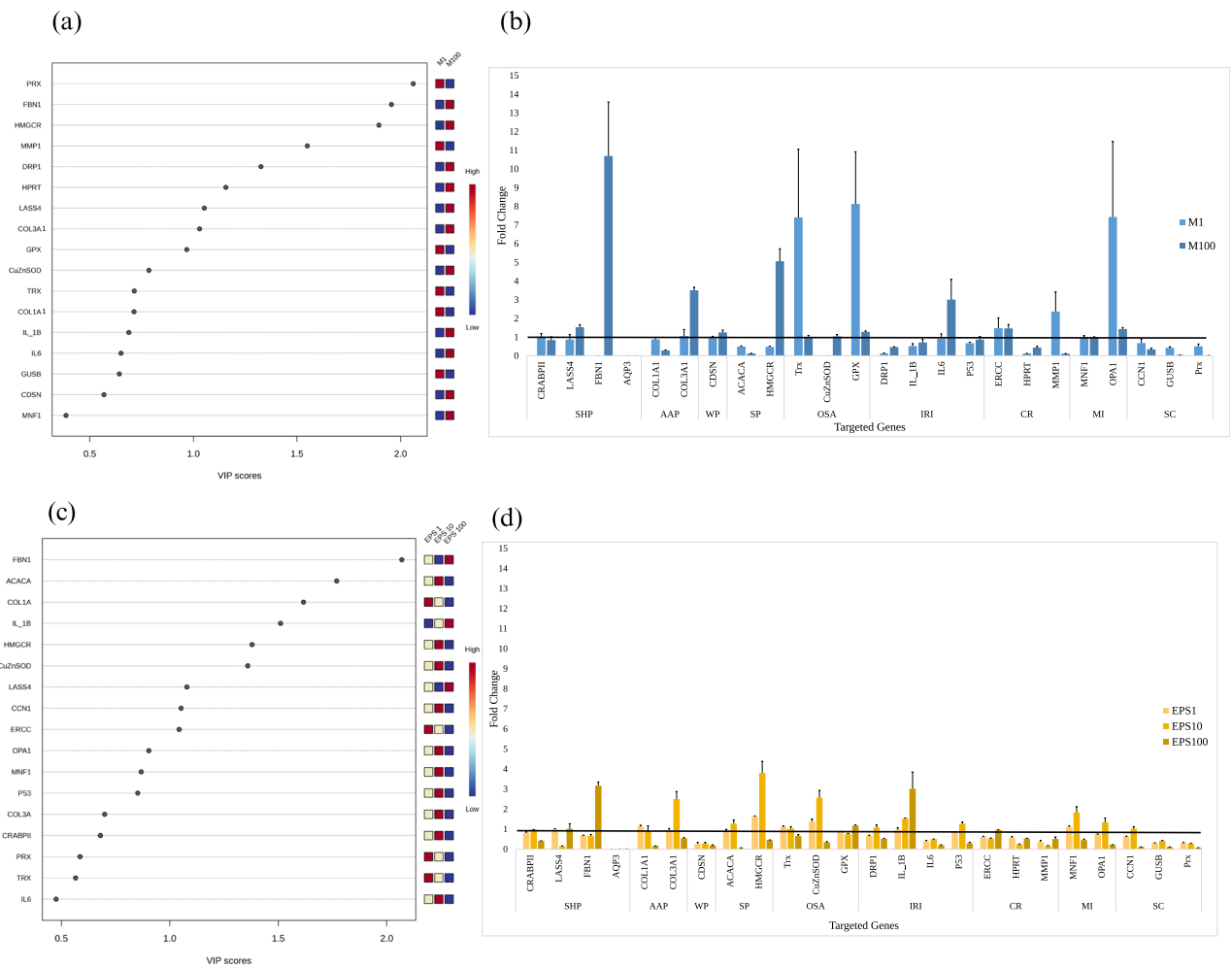


Figure 10: (a) Variable Importance in Projection (VIP) of top 17 genes for Marennine. (b) Fold change of DNA expression in targeted genes for Marennine. (c) Variable Importance in Projection (VIP) of top 17 genes for EPS. (d) Fold change of DNA expression in targeted genes for EPS. Categories from left to right: SHP (Skin hydration products), AAP (Anti-aging products), WP (Whitening products), SP (Slimming products), OSA (Oxidative stress and antioxidants), IRI (Immune response-inflammation), CR (Cell repair), MI (Mitochondrial integrity), and SC (Skin structure).

1.4 DISCUSSION

1.4.1. Lipidomic analysis

Lipidomic results showed no significant change in the lipid classes of skin cells exposed to both marennine and EPS, as indicated by the PCA results, which showed no distance between ellipses for both EPS ($1 \mu\text{g mL}^{-1}$, and $10 \mu\text{g mL}^{-1}$) and marennine ($1 \mu\text{g mL}^{-1}$, $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, $100 \mu\text{g mL}^{-1}$) treatments. Noted that EPS $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ were lost. Based on these findings, we suggest that neither marennine nor EPS induces skin structure or composition changes. This can be considered a positive outcome, as it indicates that incorporating marennine or EPS in whatever concentrations into cosmetic creams does not cause any adverse impact on the skin. In contrast, other research has shown different results for microalgae extract exposed to dermal skin cells. For instance, Łuczaj et al. (2023), studied the impact of *Nannochloropsis oceanica* lipid extract on the phospholipid profile of human keratinocytes subjected to UVB radiation. The outcomes revealed that treating keratinocytes with the lipid extract from microalgae reduced sphingomyelin (SM) levels, with a more pronounced effect observed in UVB-irradiated cells. At the same time, there was a notable increase in ceramides CER[NDS] and CER[NS], as well as heightened sphingomyelinase activity. Moreover, the rise in alkylacylPE (PEo) and diacylPE (PE) species content seen in UVB-exposed keratinocytes after being treated with the microalgal extract indicated a possible activation of pro-survival pathways

The most prevalent lipid class in skin cells was phosphatidylcholine (PC), which, along with phosphatidylglycerol (PG), phosphatidylethanolamine (PE), phosphatidylinositol (PI), phosphatidic acid (PA), and phosphatidylserine (PS), belongs to the glycerophosphate lipids. These lipids serve as essential cell signaling molecules and components of the plasma membrane, contributing significantly to its integrity and stability. Phospholipids and ceramides are the primary lipid fractions found in skin cells (Knox et al., 2021). They function as structural components of the cell membrane, affecting its permeability, and play a vital role in cell signaling (D'Orazio et al., 2013). Research indicates that among these

lipids, PC and PE have specific roles in decreasing lipofuscin levels in cuticle cells, with PC demonstrating a more pronounced effect (Cui et al., 2018).

Phosphatidylcholine (PC) is notable for its intrinsic hydration force and metabolites that act as essential osmoprotectants in skin cells. Hydrogenated phosphatidylcholine (HPC), composed of saturated fatty acids, shares physical properties with components of the skin permeability barrier. PC and HPC and their metabolites demonstrate preventive efficacy against pathological states caused by redox imbalance and free radical generation. This property is advantageous in drug formulations, where PC helps mitigate certain drug side effects (Ghyczy et al., 2002).

1.4.2. Quantification of gene expression

This study investigated the effects of the bioactive molecules marennine and EPS on primary dermal fibroblast-type skin cells. Our findings revealed that marennine increases gene expression in primary cells, specifically targeting Trx, FBN1, HMGCR, and GPX. Regarding EPS our results showed an upregulation in targeting genes like FBN1, ACACA, COL1A1, and IL_1B genes. The FBN1 gene is identified as encoding fibrillin-1, a significant extracellular matrix glycoprotein integral to the structural framework of 10-12 nm calcium-binding microfibrils. These microfibrils are essential architectural elements within the upper dermis, forming part of the dermal elastic fiber network that supports the integrity and functionality of all connective tissues (Sakai et al., 2016; Watson et al., 1999). The ACACA gene was shown to encode a multifunctional enzyme system critical for fatty acid synthesis (Bhattacharjee et al., 2020). As the HMGCR gene also functions as the pivotal enzyme that catalyzes the rate-limiting step in the de novo synthesis of cholesterol in the liver, specifically transforming HMG-CoA into mevalonate, both ACACA, and HMGCR are genes responsible for slimming and reducing fatty acids (Dong et al., 2024). The genes Trx and GPX, belong to the cellular antioxidant systems. Thioredoxin (Trx) and glutathione peroxidase (GPX) systems play a crucial role in reducing oxidative stress. These antioxidant defense mechanisms are essential for maintaining an optimal redox balance in melanocytes by

neutralizing reactive oxygen species (ROS). This protective function helps guard against oxidative stress, excessive melanogenesis, and photo-damaged skin (Lu et al., 2021). Additionally, the COL1A1 gene, which provides instructions for synthesizing type I collagen, was highlighted. Type I collagen is the most prevalent collagen form in the human body and is crucial for the structural support of various tissues, including cartilage, bone, tendons, and skin (X. Li et al., 2022). Furthermore, the IL1B gene, responsible for encoding interleukin-1 beta (IL-1 β), plays a pivotal role in the body's inflammatory response. IL-1 β is involved in inducing fever and promoting the production of additional proinflammatory cytokines, underscoring its significance in immune response and inflammation (Yin et al., 2023).

Our findings align with those of Han et al. (2024), who investigated mRNA expression levels and wound healing effects in human skin cells and assessed the skin improvement effects of EPS derived from *P. cruentum*. They proposed a mechanism for skin condition improvement by integrating individual skincare mechanisms of six genes such as aquaporin 3, filaggrin, involucrin, loricrin, elastin, and fibrillin-1. Likewise, they discovered that the exopolysaccharides from *P. cruentum* increased the expression of genes linked to skin hydration, barrier strengthening, and elasticity, and facilitated wound healing by promoting fibroblast migration. Another study by Letsiou et al. (2017) found that *Nannochloropsis gaditana* extract possesses significant in vitro skin protection activity against induced oxidative stress, highlighting its potential to protect skin from oxidative stress. Results of this study are in agreement with the statement as upregulation of the CuZnSOD gene responsible for oxidative stress was observed. Regarding the upregulation of the COL1A1 gene, a similar trend was observed by Toucheteau et al. (2023), who investigated the effect of six different microalgae EPS extracts on fibroblast skin cells. They examined both native and depolymerized forms of EPS. They observed that the depolymerized forms exhibited significantly higher pro-collagen activity, increasing collagen production by at least 100% for the less active forms and over 300% for the most active forms. For instance, collagen production was enhanced by approximately 394%, 388%, and 326% by the RFB-Dep forms of EPS from *D. ennoorea*, *Glossomastix sp.*, and *P. tricornutum*, respectively. They also noted

that microalgae EPS could inhibit up to 27% of human matrix metalloproteinase-1 (MMP-1) activity, consistent with our findings of downregulating the MMP1 gene. Similarly, Abdolbaghian et al. (2020) study found that *C. vulgaris* extract on fibroblast skin cells increased the gene expression of type I collagen and decreased the MMP-1 expression, supporting our results. Furthermore, our results showed an expression of genes responsible for antioxidant activities, aligning with the findings of Lu et al. (2021). They found that *Chlorella minutissima* extract exhibited high inhibitory potency towards tyrosinase and elastase, suggesting a potential role in controlling skin aging, inflammatory processes, and pigmentation. Additionally, the impact of *C. minutissima* extract on a human hepatoma cell line (Huh-7) was evaluated to analyze the expression of genes (SOD1, GPx1, GPx2) involved in the oxidative stress response. The results indicated the absence of cytotoxic effects from the aqueous extracts. Specifically, SOD1 and GPx1 expression levels were slightly upregulated and downregulated, respectively, while GPx4 expression remained unaffected.

PCA results on EPS and marennine extracts indicated a noticeable difference between concentrations, particularly with $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ for both extracts showing a visible distance between ellipses. This can be interpreted as $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ being a high concentration, potentially unsuitable for use in creams. Additionally, $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ is a concentration of marennine or EPS requiring a significant amount of biomass, reducing its economic potential. Therefore, using $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ or $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ as optimal concentrations can be more cost-effective and sustainable.

Our findings in genomics revealed that the most upregulated genes for both marennine and EPS were those targeting hydration. Interestingly, our lipidomic results showed an abundance of PC, further suggesting that these extracts positively affect the skin barrier through their hydration properties.

1.5 CONCLUSION

In summary, this study provides new insights into the beneficial role of *Haslea ostrearia* bioactive compounds in the domain of cosmetics. Marennine and exopolysaccharides (EPS)

demonstrate promising potential in cosmetic formulations, being rich in ingredients that offer hydration, anti-aging benefits, and antioxidant properties. Additionally, these compounds are efficient without altering the skin's lipid composition, as evidenced by an elevated amount of phosphatidylcholine (PC) in skin cells. Our findings also present a new understanding of the optimal concentrations of both extracts for use in cosmetics. While $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ produced significant differences, 1 and $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ yielded promising results, suggesting that these lower concentrations are both effective and more economical. This study broadens our understanding of how marennine and EPS can be utilized in cosmetic applications, providing valuable guidelines for their effective and sustainable use.

1.6 ACKNOWLEDGMENTS

We want to express our sincere gratitude to all those who have contributed to the successful completion of this research. Firstly, we thank Nathalie Gauthier for microalgae production and the research team at Iso-Biokem for their collaboration, insightful discussions, and technical assistance.

We also appreciate the financial support from MITACS (no FRB3111) Ministère de l'Économie et de l'Innovation du Québec (no PADS- 56972) and Ressources Aquatiques Québec, Research network funded by Fonds de Recherche du Québec Nature et Technologies (no. 2014-RS-171172)

CHAPITRE 2: ANALYSE DU MÉTABOLISME OXYDATIF : RÉPONSE ANTI-INFLAMMATOIRE

RÉSUMÉ

Mariame Chehouri¹, Kim Doiron², Bertrand Genard², Jean-Sébastien Deschênes³, Mathieu Millour², Réjean Tremblay¹

¹Institut des Sciences de la Mer, Université du Québec à Rimouski, 300, Rimouski, Québec, Canada

²Les laboratoires Iso-BioKem Inc, Rimouski, Québec, Canada

³Département de mathématiques, informatique et génie, Université du Québec à Rimouski, 300, Rimouski, Québec, Canada

Haslea ostrearia, une diatomée pennée marine largement répandue, est renommée pour sa production du pigment bleu distinctif, la marennine, ainsi que d'autres substances bioactives telles que les exopolysaccharides (EPS). Bien que de nombreuses recherches aient détaillé les propriétés antibactériennes, antioxydantes et antiprolifératives de la marennine, les EPS restent encore peu explorées. Cette étude vise à évaluer les effets de la marennine et celles des EPS sur les voies anti-inflammatoires en testant différentes concentrations (0, 1, 10 et 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) et en examinant leur impact sur la suppression de l'interleukine PGE2 dans des échantillons de plasma, utilisant un spectromètre de masse à triple quadrupôle (QqQ) LC pour un profil métabolique complet. Nos résultats montrent que la marennine pourrait présenter des propriétés pro-inflammatoires, tandis que les EPS n'ont pas révélé d'activité inflammatoire significative. Ces découvertes offrent de nouvelles perspectives sur les effets individuels et combinés de la marennine et des EPS, ouvrant la voie à des applications potentielles de ces composés dans les formulations cosmétiques et pharmaceutiques.

Mots-clés : *Haslea ostrearia*, marennine, exopolysaccharides (EPS), produits pharmaceutiques, analyse métabolique, plasma.

ABSTRACT

Haslea ostrearia, a marine pennate diatom with widespread distribution, is renowned for its production of the distinctive blue pigment marennine and other bioactive substances like exopolysaccharides (EPS). Although substantial research has detailed the antibacterial, antioxidant, and antiproliferative properties of marennine, EPS remain underexplored. This study aims to evaluate the effects of marennine and EPS on anti-inflammatory pathways by testing various concentrations (0, 1, 10, and 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) and examining their impact on the suppression of interleukin PGE2 in plasma samples, utilizing an LC-triple quadrupole (QqQ) mass spectrometer for comprehensive metabolic profiling. Our results show that marennine may exhibit proinflammatory properties, whereas EPS did not show significant inflammatory activity. These findings provide new insights into the individual and combined effects of marennine and EPS, offering potential applications for these compounds in cosmetic and pharmaceutical formulations.

Keywords: *Haslea ostrearia*, marennine, exopolysaccharides (EPS), pharmaceuticals, metabolic analysis, plasma.

2.2 INTRODUCTION

Haslea ostrearia, is a widely distributed marine pennate diatom, producing a unique blue pigment, marennine. This pigment has been extensively studied for its antibacterial, antioxidant, and antiproliferative effects (Falaise et al., 2016; Gastineau et al., 2012; Pouvreau et al., 2008). In addition to marennine, *H. ostrearia* synthesizes various other extracts, including exopolysaccharides (EPS), which have not been as thoroughly investigated. Prior research has demonstrated the dual effects of EPS from *C. stigmatophora*, including anti-inflammatory activity against carrageenan-induced paw edema and immunosuppressant effects on phagocytic activity, both in vivo and in vitro (Guzmán et al., 2021). Furthermore, EPS extracted from *Scenedesmus sp.*, *C. pyrenoidosa*, *C. vulgaris*, *C. zofingiensis*, and *Chlorococcum sp.* have shown antitumor effects in human colon cancer cell lines (Zhong et al., 2021). Despite these findings, there remains a notable gap in exploring *H. ostrearia* EPS potential, in combination with marennine. This study aims to evaluate the effects of marennine and EPS on anti-inflammatory responses, specifically targeting the inhibition of interleukin PGE2 in plasma samples, while integrating a comprehensive metabolic analysis. By conducting this thorough analysis, we aspire to highlight the synergistic action of marennine and EPS, thereby elucidating their potential applications in the cosmetics and pharmaceutical sectors.

2.3 MATERIALS AND METHODS

The study categorized 3 patients as A, B, and C, each providing 20 mL of blood. Different concentrations of marennine and extracellular polymeric substances (EPS) were investigated separately for two tests: one without induced inflammation (Group 1) and another with induced inflammation (Group 2) using 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of bacterial lipopolysaccharide (LPS). Concentrations for both marennine and EPS were tested gradually from 0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$, to 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, with 1 mL of blood for each sample.

Each group was tested in triplicates, resulting in an annotation detailed in Table 1. Afterward, all samples were incubated at 37°C for 24 hours, followed by centrifugation to separate red blood cells and plasma.

Table 2: Experimental Design for Anti-inflammatory Response Testing Marennine and Extracellular Polymeric Substances (EPS) Concentrations in Blood Samples with and without Induced Inflammation.

Patients	Without induced inflammation		With induced inflammation	
	Group 1		Group 2	
	Marennine	EPS	Marennine	EPS
A	MA1 – 0	EPSA1 – 0	MA2 – 0	EPSA2 – 0
	MA1 – 1	EPSA1– 1	MA2 – 1	EPSA2– 1
	MA1 – 10	EPSA1– 10	MA2– 10	EPSA2– 10
	MA1 – 100	EPSA1– 100	MA2 – 100	EPSA2– 100
B	MB1 – 0	EPSB1 – 0	MB2 – 0	EPSB2 – 0
	MB1 – 1	EPSB1– 1	MB2 – 1	EPSB2– 1
	MB1 – 10	EPSB1– 10	MB2– 10	EPSB2– 10
	MB1 – 100	EPSB1– 100	MB2 – 100	EPSB2– 100
C	MC1 – 0	EPSC1 – 0	MC2 – 0	EPSC2 – 0
	MC1 – 1	EPSC1– 1	MC2 – 1	EPSC2– 1
	MC1 – 10	EPSC1– 10	MC2– 10	EPSC2– 10
	MC1 – 100	EPSC1– 100	MC2 – 100	EPSC2– 100

A total of 200 µL of plasma was utilized for the analysis, to which 200 µL of 2,2,2-trifluoroethanol (TFE) was added, followed by a protein crash with 400 µL acetonitrile/

methanol 1:1 v/v. After a centrifugation at 15000 g, during 5 min at 4 °C, 250 µL supernatant was added to 1 mL of water (LC-MS grade) with 47 mM ammonium formate at pH 3 containing 10 ng ml⁻¹ of internal standard (ISTD) Prostaglandin PGE2-d9. The resulting plasma solution was analyzed in Multiple Reaction Monitoring (MRM) on a 6470B LC-triple quadrupole (QqQ) mass spectrometer (Agilent Technologies) at Les laboratoires IsoBioKem (Rimouski, Qc, Canada). The samples were separated using a Gemini C6-Phenyl 100Å column (2 x 150 mm 3 µm, Phenomenex) and a Gemini C6-Phenyl guard column as on-line SPE (4 x 2.0 mm, SecurityGuard, Phenomenex) with a column temperature maintained at 40°C. 1 mL sample was injected on the SPE with a mobile phase of 90/10 water/methanol (v/v) with 20 mM ammonium formate at pH 3 at 1 mL/min flow rate. A 3-second in-flush port for needle wash (isopropanol) was used. The extract trapped on SPE was washed with the mobile phase for 4 min, and the eluent was sent to the waste. The flow rate was reduced by 4-4.5 min at 0.450 µL and maintained from 4.5 to 7 min. After 7 min, the SPE was connected to the analytical column. For the analytical column, mobile phase (A) consisted of water/methanol (90:10, v/v) with 0.01% ammonium fluoride, and mobile phase (B) of methanol/isopropanol (65:35, v/v) with 0.01% ammonium fluoride. A gradient elution was applied to separate analytes. The gradient elution used was maintained at 0%B 0-7 min, increased to 30%B from 7 to 11 min, increased to 50%B 11-37 min, held at 50%B 37-41 min, increased to 90%B 41-51 min, maintained at 100%B 51-57 min and return to initial condition 57-61 min, with a flow rate at 0.45 mL/min. The total run was 61 minutes, followed by a 4 min post-run. Analytes were quantified in a negative mode using MRM, as shown in Table 3. Subsequently, MassHunter QQQ quantitative (Quant-my-Way) Agilent Technologies software was employed to quantify the analytes.

Table 3: Summary of each compound's precursor, production, RT, and QQQ parameters.

Compound	Precursor ion	Product ion	Retention time	Dwell (ms)	CE (V)	FRAG (V)	Polarity
PGE3	349,2	269,2	19,753	12,5	12	100	Negative

PGF3a	351	193	20,127	12,5	24	136	Negative
15-Keto-PGE2	349	113	20,862	12,5	23	80	Negative
11b-PGF2a	353	193	21,000	12,5	28	80	Negative
THXB2	369	169	21,390	12,5	25	164	Negative
15-Keto-PGF2a	351	315	21,859	12,5	18	80	Negative
PGE2-d9	360	280	21,859	12,5	12	84	Negative
PGE2	351	271	21,985	12,5	12	84	Negative
PGD2	351	233	22,625	12,5	4	80	Negative
13,14-dihydro-15-keto-PGF2a	353	113	22,874	12,5	36	80	Negative
13,14-dihydro-15-keto-PGD2	351	207	23,000	12,5	28	80	Negative
PGA2	333	271	24,518	12,5	8	104	Negative
PGJ2	333	189	24,816	12,5	12	84	Negative
PGB2	333	235	25,049	12,5	16	104	Negative
(±)12(13)-DiOME	313	183	27,741	12,5	20	116	Negative
(±)9(10)-DiHOME	313	201	28,490	12,5	20	136	Negative
9(S)-HOTrE	293,2	171,1	29,960	12,5	8	116	Negative
13(S)-HOTrE	293,2	195	30,163	12,5	8	116	Negative

15-deoxy-d12,14-PGJ2	315	203	30,348	12,5	16	160	Negative
13(S)-HOTrE(g)	293	193	30,710	12,5	15	120	Negative
18-HEPE	317,2	215,2	30,923	12,5	8	116	Negative
13-OxoODE	293	113	31,460	12,5	20	164	Negative
15-HEPE	317,2	219,1	31,469	12,5	4	116	Negative
11-HEPE	317,2	195,1	31,751	12,5	8	96	Negative
12-HEPE	317,2	179,1	32,001	12,5	8	116	Negative
9-OxoODE	293	185	32,084	12,5	16	124	Negative
8-HEPE	317,2	155,1	32,298	12,5	12	96	Negative
15-oxoETE	317	113	32,468	12,5	12	116	Negative
9-HEPE	317,2	123,1	32,501	12,5	8	116	Negative
13-HODE	295	195	32,722	12,5	12	152	Negative
(±)12(13) - EpOME	295	195	33,019	12,5	12	116	Negative
9-HODE	295	171	33,191	12,5	12	136	Negative
15-HETE	319,2	219,1	33,341	12,5	8	96	Negative
(±)9(10) - EpOME	295	171	33,488	12,5	12	144	Negative
20-HDHA	343,2	241,1	33,696	12,5	8	136	Negative
22-HDHA	343	313	33,714	12,5	4	116	Negative
5-HEPE	317,2	115,1	33,906	12,5	8	116	Negative
11-HETE	319	167	33,952	12,5	8	116	Negative

16-HDHA	343,2	233,1	34,024	12,5	8	116	Negative
12-HETE	319,2	179,1	34,154	12,5	12	116	Negative
17-HDHA	343,2	201,1	34,196	12,5	12	96	Negative
13-HDHA	343,2	193,1	34,524	12,5	8	116	Negative
8-HETE	319,2	155,1	34,591	12,5	12	96	Negative
14-HDHA	343,2	161,1	34,649	12,5	8	116	Negative
9-HETE	319,2	151,1	34,763	12,5	8	96	Negative
10-HDHA	343,2	153,1	34,915	12,5	12	96	Negative
11-HDHA	343,2	149,1	35,103	12,5	4	96	Negative
8-HDHA	343,2	189,1	35,727	12,5	8	116	Negative
7-HDHA	343,2	141,1	35,743	12,5	8	116	Negative
12-OxoETE	317	153	35,859	12,5	12	116	Negative
5-OxoETE	317	203	35,874	12,5	16	136	Negative
5-HETE	319,2	115,1	36,106	12,5	8	116	Negative
4-HDHA	343,2	101,1	37,539	12,5	12	96	Negative

2.4 STATISTICAL ANALYSIS

One-way ANOVA was used for both marennine and EPS results to test concentration effects (0,1, 10, and 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$). Following normality assessment with the Shapiro-Wilk test and homoscedasticity by the Ben-Levene test on XLSTAT.

2.5 RESULTS

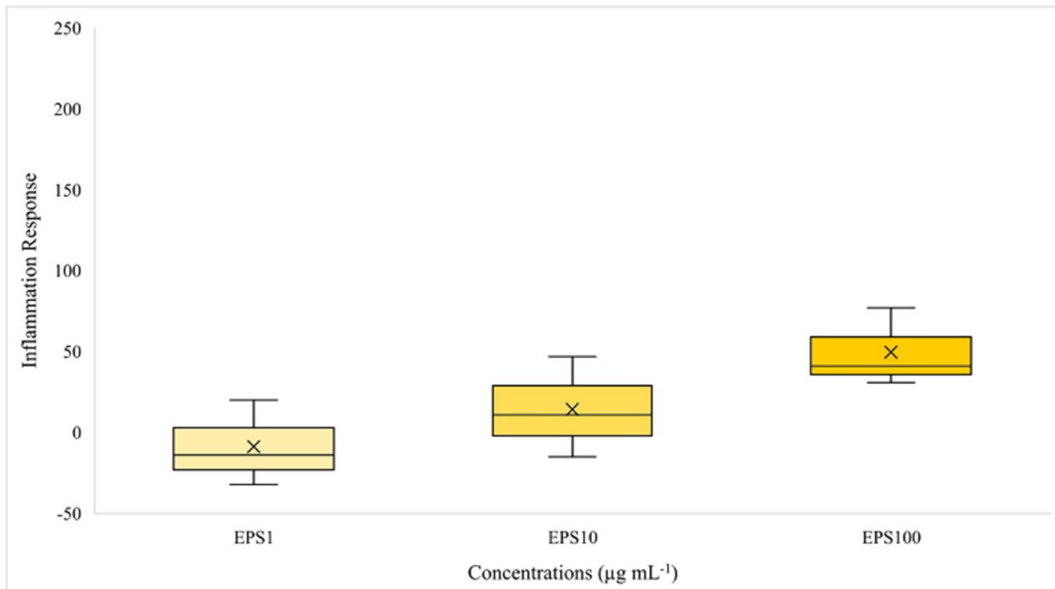
Following exposure to marennine and EPS prostaglandin PGE2 concentration was measured in plasma, with a focus on Group 2 subjects with induced inflammation (LPS). Normal inflammation response was obtained on the control without marennine and EPS exposition. The ANOVA results revealed a response for marennine, but not for EPS (Table 4).

Marennine started with an inflammation response close to the control at 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$. There was a minimal increase in inflammation at 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$, reaching around 10% of inflammation. However, at 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$, marennine induced a substantially higher response, reaching approximately 150% of the control level. EPS showed a nonsignificant response with higher values at 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ inducing less than 50% of the inflammation response obtained for the control. These findings suggest that marennine exhibits concentration-dependent pro-inflammatory effects. EPS results were not significant but similar concentrations of independent pro-inflammatory effect were observed.

Table 4: Analysis of Variance (ANOVA Test) one factor with 4 levels of concentrations (0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ and 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) for both Marennine and EPS.

Concentrations	DF	SS	MS	F	P-value
Effect					
Marennine	3	42864.33	14288.11	13.35	0.002
EPS	3	5945.66	1981.88	3.52	0.069

(a)



(b)

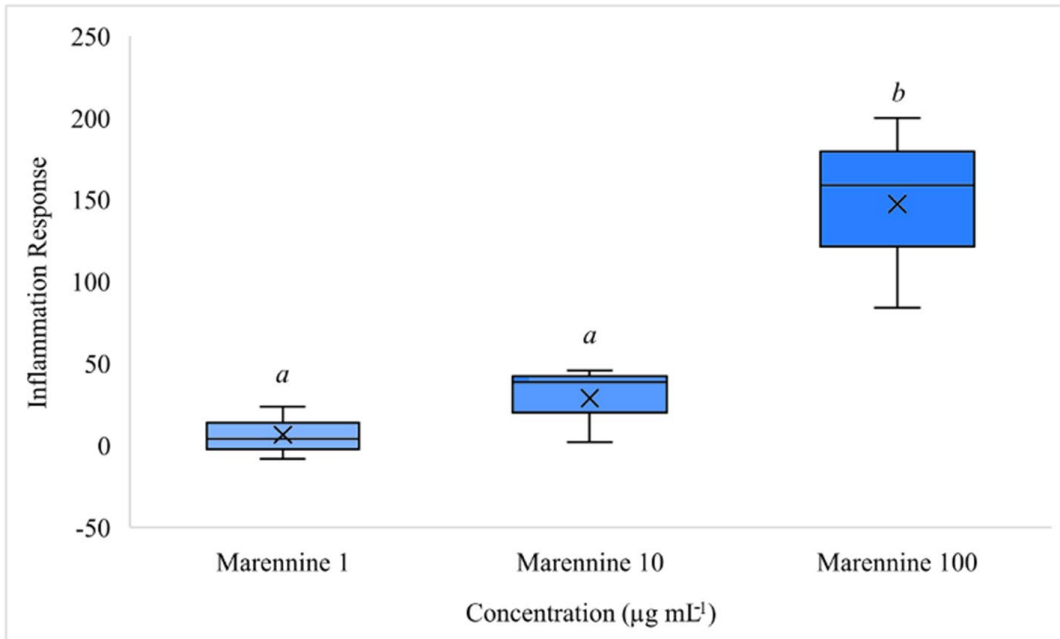


Figure 11: (a) Inflammation Response of PGE2 in plasma treated to EPS. (b) Inflammation Response of PGE2 in plasma treated to marennine. Both extracts were treated with 3 concentrations $1 \mu\text{g mL}^{-1}$, $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. $0 \mu\text{g mL}^{-1}$ was considered as the control. Groups: a and b.

2.6 DISCUSSION

Inflammation constitutes a fundamental physiological response aimed at safeguarding the body against deleterious agents, including pathogens, cellular injury, and environmental stressors (Medzhitov, 2010). Its primary function involves localizing and eliminating harmful entities, thereby facilitating the removal of infected or damaged tissue constituents and initiating repair processes (Ferrero-Miliani et al., 2007). Acute inflammatory reactions are transient and typically serve a protective role, minimizing cellular damage while effectively neutralizing potential threats. Conversely, chronic inflammation, characterized by prolonged activation and accumulation of pro-inflammatory mediators such as cytokines and chemokines, can culminate in tissue deterioration and eventual destruction (Zhou et al., 2016). Notable pro-inflammatory cytokines, including IL-6, TNF- α , and IL-1 β , exert diverse immunomodulatory functions, orchestrating inflammatory responses across various disease paradigms (Lee et al., 2021). Among these, prostaglandins, notably PGE₂, play a pivotal role in inflammation by inducing vasodilation, edema, fever, and pain. These bioactive lipid mediators exert a plethora of physiological and pathological effects, encompassing inflammation, platelet aggregation, neurotransmitter release, and smooth muscle contraction. Prostaglandins, derived from C₂₀ polyunsaturated fatty acids via the action of cyclooxygenase (COX) and subsequent prostaglandin synthases, also find extensive application as pharmaceutical agents (Maeda et al., 2021). In this study, we evaluated the response of PGE₂ within the exposure of two products marennine and EPS in the plasma. EPS showed no statistical inflammatory response contrary to the pro-inflammation response for EMn, particularly at a high concentration of 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. The concentration-dependent effect of marennine on inflammation suggest that 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ seem to be the limit concentration not to be used or to be avoided. In Méresse et al. (2023) study, the exclusion of the 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of marennine aimed to circumvent cytotoxic effects. Moreover, their findings suggest a non-canonical influence of marennine on inflammatory status. Notably, a trend towards an anti-inflammatory state at 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ in microglial populations contrasted with an inclination towards activation in proinflammatory processes at 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Following 48 hours of exposure, microglial populations diminished across all concentrations, coinciding with the development of a pro-inflammatory status. This aligns with our observations, where marennine demonstrated a propensity for pro-inflammatory effects at higher concentrations.

Although the precise chemical composition of these products remains subject to ongoing investigation, literature suggests intriguing findings regarding their potential effects. For instance, Méresse et al. (2023) demonstrated that marennine exhibits a time- and concentration-dependent impact on dynamic changes in neuroinflammatory processes, indicating its role in immunomodulation by regulating intercellular communications between astrocytes and microglial cells. Moreover, *Haslea ostrearia* is not the sole microalgae-producing extract with pro-inflammatory and anti-inflammatory effects. Gallego et al., (2022) evaluated extracts from *Haematococcus pluvialis*, *Tisochrysis lutea*, and *Porphyridium cruentum*, among others, and found that various microalgae induce pro-inflammatory cytokine release in THP-1 microglial-like cells, with *Nannochloropsis oceanica* being the exception. Conversely, many microalgae extract exhibited a partial anti-inflammatory effect by attenuating LPS-induced inflammation in THP-1 cells, with *N. oceanica* extract notably decreasing the release of all cytokines, even reaching basal levels. Additionally, numerous studies indicate the potential anti-inflammatory properties of other microalgae in the pharmaceutical industry. For instance, Sibi et al. (2016) demonstrated that treatment with *C. vulgaris* extracts inhibits the inflammatory response by reducing the production of NO, PGE2, TNF- α , and IL-6 in LPS-activated RAW 264.7 cells in vitro, suggesting significant anti-inflammatory activity and potential as a source of natural anti-inflammatory agents. In a separate investigation, El-Baz et al. (2022) observed a significant anti-inflammatory effect of *D. salina* microalgae against carrageenan-induced paw edema in rats, achieved through the downregulation of TNF- α , IL-6, and the COX-2/PGE2 pathway. Similarly, Neumann et al. (2018) noted the anti-inflammatory effects of aqueous *P. tricornutum* extract, providing foundational insights into its safety and potential health benefits for future applications in animal and human nutrition. As for exopolysaccharides (EPS), while our findings suggest modest efficacy, research indicates more promising results

with other microalgae. For instance, Zampieri et al. (2020) demonstrated the potential of EPS produced by *Phormidium sp.* ETS05 in exerting anti-inflammatory and pro-resolution activities in chemical and injury-induced zebrafish inflammation models. Additionally, Levy et al. (2017) reported the anti-inflammatory effects of red microalga *Porphyridium sp.*, highlighting its bioactivities in human skin inflammation. All these results revealed the complexity of inflammation mechanisms and the importance of evaluating diverse factors for a proper selection of potential anti-inflammatory agents for future pharmaceutical evaluation.

2.7 CONCLUSION

This study demonstrated that marennine exhibited a proinflammatory response across all concentrations, with the more important response at $100 \mu\text{g mL}^{-1}$. This suggests that marennine may act as a proinflammatory agent. In contrast, EPS showed no significant effect, indicating that it is neither inflammatory nor proinflammatory. However, we observed a trend similar to those of marennine with gradual pro-inflammatory effect increasing with EPS concentration. This suggests that EPS is potentially less harmful than marennine when used in medical or pharmaceutical applications.

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'utilisation de microalgues et de leurs produits dérivés dans les cosmétiques représente une alternative intéressante pour développer de nouveaux ingrédients naturels issus de source plus durable. L'entièreté des cellules des microalgues peut être valorisée et fournir un mélange de molécules aux diverses propriétés divers, tandis que les molécules extraites peuvent être ciblées pour des effets spécifiques (Morocho-Jácome et al., 2020). Dans cette étude, nous nous sommes concentrés sur la microalgue *Haslea ostrearia*, connue pour sa production de marennine, un pigment bleu de nature polysaccharidique (Zebiri et al., 2023). Si cet exopolysaccharides (EPS) atypique a longtemps été étudié pour ses propriétés bioactives, notamment antibactériennes, antioxydantes et antivirales (Falaise et al., 2016; Gastineau et al., 2012; Pouvreau et al., 2008), de récents travaux (Bélanger et al. 2024, soumis) ont mis en avant la diversité d'EPS, autres que la marennine, aussi produits par la microalgue *Haslea ostrearia*. Ainsi dans le cadre de cette étude, le potentiel de valorisation de *Haslea ostrearia* dans le secteur de la cosmétique a pour la première fois pris en compte la marennine et ses coproduits afin d'analyser les propriétés bioactives portées par ces différentes fractions. L'objectif était de définir des premières gammes d'activités en passant par le biais d'analyses génomiques ou encore lipidomique.

Nos résultats démontrent les effets prometteurs de la marennine et des autres fractions d'EPS sur les cellules dermiques fibroblastiques, en ciblant spécifiquement l'expression génique pertinente pour une valorisation en cosmétiques. Un potentiel effet d'hydratation a pu être relevé au travers d'une surexpression du gène FBN1, tandis qu'un effet antiâge reposerait sur la surexpression du gène COL3A1. En outre, nos résultats génomiques ont permis de définir une première limite d'utilisation et montré une différence significative dans les différentes concentrations testées, notamment avec $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, qui a démontré une variation distincte par rapport à 1 et $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. Cela peut être considéré comme positif, car

100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ est une quantité importante de marennine nécessitant une biomasse substantielle, donc éviter cette concentration ou en utiliser une plus faible est économiquement avantageux.

En outre, les analyses lipidomiques soutiennent les résultats d'analyses génomiques en démontrant que la classe lipidique prédominante est la phosphatidylcholine (PC), un lipide clé responsable de l'hydratation et de la moisturisation de la peau. Il est important de noter que les résultats lipidomiques ont montré que, quelle que soit la concentration utilisée pour les deux extraits, il n'y avait aucun changement dans la composition lipidique ou la structure de la peau, ce qui suggère une influence positive lorsqu'ajouté à des crèmes ou des sérums.

Enfin, nos résultats relatifs aux aspects pharmaceutiques de la marennine et des EPS ont révélé que la marennine induisait une réponse pro-inflammatoire à toutes les concentrations, avec une réponse particulièrement marquée à 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Cela suggère que la marennine pourrait jouer un rôle d'agent pro-inflammatoire. À l'inverse, les EPS n'ont montré ni activité inflammatoire ni pro-inflammatoire significative. Cependant, une tendance similaire à celle de la marennine a été observée, avec un effet pro-inflammatoire progressif à mesure que la concentration en EPS augmente. Cela indique que les EPS sont potentiellement moins nocifs que la marennine pour les applications médicales ou pharmaceutiques.

Perspectives

Bien que cette étude ait exploré le potentiel des extraits de *Haslea ostrearia* pour les applications cosmétiques et ait démontré des résultats initiaux prometteurs, des recherches comparatives supplémentaires sont nécessaires. Il serait pertinent et particulièrement intéressant de comparer la marennine avec des extraits d'autres microalgues bien connues pour leurs applications cosmétiques, telles que *Chlorella sp.* et *Nannochloropsis sp.*, qui sont réputées pour leur production de lipides et de pigments.

Cette étude représentant la première investigation sur les exopolysaccharides (EPS) autre que la marennine produite par *Haslea ostrearia*. La comparaison de ces EPS avec ceux

d'autres microalgues, telles que *Porphyridium cruentum* (Han et al., 2024), pourrait fournir des informations supplémentaires. Cette comparaison pourrait se concentrer sur les profils d'expression génique, en ciblant différents gènes associés aux avantages cosmétiques. L'élargissement de la gamme des types de cellules cutanées utilisées dans les tests pourrait également améliorer la compréhension de l'effet bénéfique observée lors de nos analyses. Alors que cette étude a utilisé des cellules dermiques fibroblastiques, les recherches futures pourraient inclure d'autres types de cellules, telles que les astrocytes ou même les cellules cancéreuses de la peau, pour évaluer les effets différentiels et les propriétés anticancéreuses potentielles de la marennine et des autres EPS de *Haslea*.

Enfin, l'exploration d'une gamme plus large de concentrations d'extraits pourrait permettre de mieux cerner les concentrations limites d'utilisation, de sécurité ou les limites d'activités. Dans cette étude, des concentrations de 1, 10 et 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ont été testées. Les recherches futures devraient envisager des concentrations intermédiaires, telles que 20 et 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$, pour déterminer si elles présentent des effets distincts ou améliorés.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abdolbaghian, S., Jamili, S., Manayi, A., & Mashinchian Moradi, A. (2020). Effect of microalga *Chlorella vulgaris* extract compared to vitamin C on collagen I and MMP-1 genes expression in human skin fibroblast cells. *Journal of Animal Environment*, *12*(4), 551–556.
- Adjout, R., Mouget, J. luc, Pruvost, J., Chentir, I., Loiseau, C., & Baba Hamed, M. B. (2022). Effects of temperature, irradiance, and pH on the growth and biochemical composition of *Haslea ostrearia* batch-cultured in an airlift plan-photobioreactor. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *106*(13–16), 5233–5247. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-12055-1>
- Alvarez, X., Alves, A., Ribeiro, M. P., Lazzari, M., Coutinho, P., & Otero, A. (2021). Biochemical characterization of Nostoc sp. exopolysaccharides and evaluation of potential use in wound healing. *Carbohydrate Polymers*, *254*. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117303>
- Arad, S., & Atar, D. (2006). *Viscosupplementation with Algal Polysaccharides in the Treatment of Arthritis*. (Patent Patent 9119870B2).
- Ariede, M. B., Candido, T. M., Jacome, A. L. M., Velasco, M. V. R., de Carvalho, J. C. M., & Baby, A. R. (2017). Cosmetic attributes of algae - A review. In *Algal Research* (25), (5) (483–487). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.05.019>
- Bayu, A., Rachman, A., Noerdjito, D. R., Putra, M. Y., & Widayatno, W. B. (2020). High-value chemicals from marine diatoms: A biorefinery approach. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *460*(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/460/1/012012>
- Bélangier, W., Arnold, A. A., Turcotte, F., Saint-Louis, R., Deschênes, J. S., Genard, B., Marcotte, I., & Tremblay, R. (2020). Extraction Improvement of the Bioactive Blue-Green Pigment “Marennine” from Diatom *Haslea ostrearia*’s Blue Water: A Solid-Phase Method Based on Graphitic Matrices. *Marine Drugs*, *18*(12) (4). <https://doi.org/10.3390/md18120653>

- Bellou, S., Baeshen, M. N., Elazzazy, A. M., Aggeli, D., Sayegh, F., & Aggelis, G. (2014). Microalgal lipids biochemistry and biotechnological perspectives. In *Biotechnology Advances* (32), (8), (1476–1493). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.10.003>
- Bergé, J. P., Bourgougnon, N., Alban, S., Pojer, F., Billaudel, S., Chermann, J. C., & Franz, G. (1999). Antiviral and anticoagulant activities of a water-soluble fraction of the marine diatom *Haslea ostrearia*. *Planta Medica*, 65(07), (604–609).
- Bestion, E., Haegeman, B., Alvarez Codesal, S., Garreau, A., Huet, M., Barton, S., & Montoya, J. M. (2021). *Phytoplankton biodiversity is more important for ecosystem functioning in highly variable thermal environments*. 118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2019591118/-/DCSupplemental>
- Bhattacharjee, K., Nath, M., & Choudhury, Y. (2020). Fatty acid synthesis and cancer: Aberrant expression of the ACACA and ACACB genes increases the risk for cancer. In *Meta Gene* (26) (3) (4-5). <https://doi.org/10.1016/j.mgene.2020.100798>
- Blanco-Dávila, F., & León, N. (2000). *Cosmetic Special Topic Beauty and the Body: The Origins of Cosmetics* (Vol. 105).
- Bouhleb, Z., Arnold, A. A., Deschênes, J. S., Mouget, J. L., Warschawski, D. E., Tremblay, R., & Marcotte, I. (2021). Investigating the action of the microalgal pigment marennine on *Vibrio splendidus* by in vivo ²H and ³¹P solid-state NMR. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1863(9) (2). <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2021.183642>
- Buesseler, K. O. (1998). The decoupling of production and particulate export in the surface ocean. *Global Biogeochemical Cycles*, 12(2), 297–310. <https://doi.org/10.1029/97GB03366>
- Butler, H. (Ed.). (1993). Poucher's perfumes, cosmetics and soaps. *Springer Science & Business Media*.
- Carbonelle. Delphine, Philippe Pondaven, Michèle Morançais, Guillaume Masse, Steffi Bosh, Cyril Jacquot, Glen Briand, Jean-Michel Robert, & Christos Roussakis. (1998). Antitumor

and antiproliferative effects of an aqueous extract from the marine diatom *Haslea ostrearia* (Simonsen) against solid tumors: Lung carcinoma (NSCLC-N6), Kidney carcinoma (E39) and Melanoma (M96) Cell lines. *Anticancer Research* 19(1A) , 621–624.

Chaudhri, S. K. , & Jain, N. K. (2009). History of cosmetics. *Asian Journal of Pharmaceutics (AJP)* 3(3).

Cristian, K., Bayona, D., Lara, D. R., Colorado-Rios, J., Martinez Martinez, A., Díaz Bayona, K. C., Navarro, S. M., Lara, A. D., Colorado, J., Lucía, A. G., & Martínez, A. (2012). Activity of sulfated polysaccharides from microalgae *Porphyridium cruentum* over degenerative mechanisms of the skin. In *International Journal of Science and Advanced Technology* (2), (8). <http://www.ijSAT.com>

Cui, L., He, C. fen, Fan, L. na, & Jia, Y. (2018). Application of lipidomics to reveal differences in facial skin surface lipids between males and females. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 17(6), 1254–1261. <https://doi.org/10.1111/jocd.12474>

D'Alessandro, E. B., & Antoniosi Filho, N. R. (2016). Concepts and studies on lipid and pigments of microalgae: A review. In *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (58), (20), (832–841). Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.162>

De Luca, M., Pappalardo, I., Limongi, A. R., Viviano, E., Radice, R. P., Todisco, S., Martelli, G., Infantino, V., & Vassallo, A. (2021). Lipids from microalgae for cosmetic applications. In *Cosmetics* (8), (2). <https://doi.org/10.3390/cosmetics8020052>

De Stefano, L., Rea, I., Rendina, I., De Stefano, M., & Moretti, L. (2004). Fibre-optical features of a glass sponge. In *Lenses. References 1. Enabling Technology for MEMS and Nanodevices* (424) (5) (6-7). Cambridge University Press.

De Stefano, L., Rotiroti, L., De Stefano, M., Lamberti, A., Lettieri, S., Setaro, A., & Maddalena, P. (2009). Marine diatoms as optical biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, 24(6) (1580–1584). <https://doi.org/10.1016/j.bios.2008.08.016>

- De Tommasi, E., Congestri, R., Dardano, P., De Luca, A. C., Managò, S., Rea, I., & De Stefano, M. (2018). UV-shielding and wavelength conversion by centric diatom nanopatterned frustules. *Scientific Reports*, 8(1) (4-5). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34651-w>
- De Tommasi, E., Gielis, J., & Rogato, A. (2017). Diatom frustule morphogenesis and function: a multidisciplinary survey. In *Marine Genomics* (35), (6) (1–18). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.margen.2017.07.001>
- Delattre, C., Pierre, G., Laroche, C., & Michaud, P. (2016). Production, extraction and characterization of microalgal and cyanobacterial exopolysaccharides. In *Biotechnology Advances* (34), (7), (1159–1179). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.08.001>
- Dillon, H., Somanchi, A., Zaman, A., Rao, K., & Wolfson, J. (2007). *U.S. Patent Application No. 11/337,103*.
- Dong, J., Li, M., Peng, R., Zhang, Y., Qiao, Z., & Sun, N. (2024). ACACA reduces lipid accumulation through dual regulation of lipid metabolism and mitochondrial function via AMPK- PPAR α - CPT1A axis. *Journal of Translational Medicine*, 22(1) (5-7). <https://doi.org/10.1186/s12967-024-04942-0>
- D’Orazio, J., Jarrett, S., Amaro-Ortiz, A., & Scott, T. (2013). UV radiation and the skin. In *International Journal of Molecular Sciences* (14), (6), (12222–12248). <https://doi.org/10.3390/ijms140612222>
- El Gamal, A. A. (2010). Biological importance of marine algae. In *Saudi Pharmaceutical Journal* (18), (1), (1–25). <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2009.12.001>
- El-Baz, F. K., Aboul-Enein, A. M., Abdel-Fatah, O. M., El-Baky, H. H. A., Hagag, A. M., Ali, S. I., & Salama, A. (2022). Anti-inflammatory role of *Dunaliella salina* carotenoid enrich fractions in paw oedema via down-regulation of COX-2/PGE2 pathway. *Egyptian Journal of Chemistry*, 65(2), (223–233). <https://doi.org/10.21608/EJCHEM.2021.84702.4135>

- Elleuch, J., Hmani, R., Drira, M., Michaud, P., Fendri, I., & Abdelkafi, S. (2021). Potential of three local marine microalgae from Tunisian coasts for cadmium, lead and chromium removals. *Science of the Total Environment*, 799. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149464>
- Falaise, C., François, C., Travers, M. A., Morga, B., Haure, J., Tremblay, R., Turcotte, F., Pasetto, P., Gastineau, R., Hardivillier, Y., Leignel, V., & Mouget, J. L. (2016). Antimicrobial compounds from eukaryotic microalgae against human pathogens and diseases in aquaculture. In *Marine Drugs* (14), (9), (3-4). <https://doi.org/10.3390/md14090159>
- Falaise, C., James, A., Travers, M. A., Zanella, M., Badawi, M., & Mouget, J. L. (2019a). Complex relationships between the blue pigment marennine and marine bacteria of the genus *Vibrio*. *Marine Drugs*, 17(3) (5-6). <https://doi.org/10.3390/md17030160>
- Ferrero-Miliani, L., Nielsen, O. H., Andersen, P. S., & Girardin, S. E. (2007). Chronic inflammation: Importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1 β generation. In *Clinical and Experimental Immunology* (147), (2), (227–235). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03261.x>
- Field, C. B., Behrenfeld, M. J., & Randerson, J. T. (1998). Primary Production of the Biosphere: Integrating Terrestrial and Oceanic Components. *New Series* (281) (5374).
- Gallego, R., Valdés, A., Suárez-Montenegro, Z. J., Sánchez-Martínez, J. D., Cifuentes, A., Ibáñez, E., & Herrero, M. (2022). Anti-inflammatory and neuroprotective evaluation of diverse microalgae extracts enriched in carotenoids. *Algal Research*, 67. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102830>
- Gastineau, R., Davidovich, N., Hansen, G., Rines, J., Wulff, A., Kaczmarska, I., Ehrman, J., Hermann, D., Maumus, F., Hardivillier, Y., Leignel, V., Jacquette, B., Méléder, V., Hallegraeff, G., Yallop, M., Perkins, R., Cadoret, J. P., Saint-Jean, B., Carrier, G., & Mouget, J. L. (2014). *Haslea ostrearia*-like Diatoms. Biodiversity out of the Blue. In *Advances in*

Botanical Research (71), (30) (441–465). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408062-1.00015-9>

- Gastineau, R., Pouvreau, J. B., Hellio, C., Morançais, M., Fleurence, J., Gaudin, P., Bourgougnon, N., & Mouget, J. L. (2012). Biological activities of purified marennine, the blue pigment responsible for the greening of oysters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(14), 3599–3605. <https://doi.org/10.1021/jf205004x>
- Gastineau, R., Prasetya, F. S., Falaise, C., Cognie, B., Decottignies, P., Morançais, M., Méléder, V., Davidovich, N., Turcotte, F., Tremblay, R., Pasetto, P., Dittmer, J., Bardeau, J.-F., Pouvreau, J.-B., & Mouget, J.-L. (2018). *Marennine-Like Pigments: Blue Diatom or Green Oyster Cult?*
- Gastineau, R., Turcotte, F., Pouvreau, J. B., Morançais, M., Fleurence, J., Windarto, E., Prasetya, F. S., Arsad, S., Jaouen, P., Babin, M., Coiffard, L., Couteau, C., Bardeau, J. F., Jacquette, B., Leignel, V., Hardivillier, Y., Marcotte, I., Bourgougnon, N., Tremblay, R., ... Mouget, J. L. (2014). Marennine, promising blue pigments from a widespread *Haslea* diatom species complex. In *Marine Drugs* (12), (6), (3161–3189). <https://doi.org/10.3390/md12063161>
- Georgakopoulou, M. (2018). *The use of microalgae in biotechnological applications: Case Studies*.
- Ghyczy, M., & Vladimir, V. (2002). *Phosphatidylcholine and skin hydration*. In *Skin moisturization : Vol. CRC Press*.
- Goyal, N., & Jerold, F. (2023). Biocosmetics: technological advances and future outlook. In *Environmental Science and Pollution Research* (30), (10), (25148–25169). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17567-3>
- Guedes, A. C., Amaro, H. M., & Malcata, F. X. (2011). Microalgae as sources of high added-value compounds—a brief review of recent work. In *Biotechnology Progress* (27), (3), 597–613). <https://doi.org/10.1002/btpr.575>

- Guillerme, J. B., Couteau, C., & Coiffard, L. (2017). Applications for marine resources in cosmetics. In *Cosmetics* (4) (3). <https://doi.org/10.3390/cosmetics4030035>
- Guzmán, E., & Lucia, A. (2021). Essential oils and their individual components in cosmetic products. In *Cosmetics* (8) (4). <https://doi.org/10.3390/cosmetics8040114>
- Haefner, B. (2003). Drugs from the deep: marine natural products as drug candidates. *Drug Discovery Today* 8(12), 536–544.
- Han, S.-I., Heo, Y. M., Jeon, M. S., Kyung, S., Kang, S., Kwon, S.-J., Ryu, J. H., Kim, J. H., & Ahn, J.-W. (2024). The effect of exopolysaccharides from EMS-induced *Porphyridium cruentum* mutant on human epidermal and dermal layers. *Frontiers in Marine Science*, 12 11. <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1365311>
- Hu, J., Nagarajan, D., Zhang, Q., Chang, J. S., & Lee, D. J. (2018). Heterotrophic cultivation of microalgae for pigment production: A review. In *Biotechnology Advances* (36), (1), (54–67). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.09.009>
- Hussein, H. A., & Abdullah, M. A. (2020). Anticancer Compounds Derived from Marine Diatoms. In *Marine Drugs* (18), (7) (1-2). <https://doi.org/10.3390/md18070356>
- Jha, D., Jain, V., Sharma, B., Kant, A., & Garlapati, V. K. (2017). Microalgae-based Pharmaceuticals and Nutraceuticals: An Emerging Field with Immense Market Potential. In *ChemBioEng Reviews* (4), (4), (257–272). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/cben.201600023>
- Knox, S., & O’Boyle, N. M. (2021). Skin lipids in health and disease: A review. In *Chemistry and Physics of Lipids* (236) (5) (5-7). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2021.105055>
- Koelmel, J., Sartain, M., Salcedo, J., Murali, A., Li, X., & Stow, S. (2020). *Improving Coverage of the Plasma Lipidome Using Iterative MS/MS Data Acquisition Combined with Lipid Annotator Software and 6546 LC/Q-TOF*.

- Kong, R., Cui, Y., Fisher, G. J., Wang, X., Chen, Y., Schneider, L. M., & Majmudar, G. (2016). A comparative study of the effects of retinol and retinoic acid on histological, molecular, and clinical properties of human skin. *Journal of Cosmetic Dermatology*, (20) (4) (49–57). <https://doi.org/10.1111/jocd.12193>
- Kuczynska, P., Jemiola-Rzeminska, M., & Strzalka, K. (2015). Photosynthetic pigments in diatoms. In *Marine Drugs* (13), (9), (5847–5881).. <https://doi.org/10.3390/md13095847>
- Kumar, S., Kumar, R., Kumari, A., & Panwar, A. (2022). Astaxanthin: A super antioxidant from microalgae and its therapeutic potential. In *Journal of Basic Microbiology* (62), (9), (1064–1082). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/jobm.202100391>
- Kuppusamy, P. , Soundharrajan, I. , Srigopalram, S. , Yusoff, M. M. , Maniam, G. P. , Govindan, N. , & Choi, K. C. (2017). *Potential pharmaceutical and biomedical applications of Diatoms microalgae-An overview*.
- Laroche, C. (2022). Exopolysaccharides from Microalgae and Cyanobacteria: Diversity of Strains, Production Strategies, and Applications. In *Marine Drugs* (20), (5). <https://doi.org/10.3390/md20050336>
- Lee, A. H., Shin, H. Y., Park, J. H., Koo, S. Y., Kim, S. M., & Yang, S. H. (2021). Fucoxanthin from microalgae *Phaeodactylum tricorutum* inhibits pro-inflammatory cytokines by regulating both NF- κ B and NLRP3 inflammasome activation. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-80748-6>
- Letsiou, S., Kalliampakou, K., Gardikis, K., Mantecon, L., Infante, C., Chatzikonstantinou, M., Labrou, N. E., & Flemetakis, E. (2017). Skin protective effects of *Nannochloropsis gaditana* extract on H₂O₂-stressed human dermal fibroblasts. *Frontiers in Marine Science*, 4(5) (2). <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00221>
- Levy-Ontman, O., Huleihel, M., Hamias, R., Wolak, T., & Paran, E. (2017). An anti-inflammatory effect of red microalga polysaccharides in coronary artery endothelial cells. *Atherosclerosis*, (264), (11–18). <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2017.07.017>

- Li, H., Xu, J., Liu, Y., Ai, S., Qin, F., Li, Z., Zhang, H., & Huang, Z. (2011). Antioxidant and moisture-retention activities of the polysaccharide from *Nostoc commune*. *Carbohydrate Polymers*, 83(4) (1821–1827). <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.10.046>
- Li, X., Sun, X., Kan, C., Chen, B., Qu, N., Hou, N., Liu, Y., & Han, F. (2022). COL1A1: A novel oncogenic gene and therapeutic target in malignancies. In *Pathology Research and Practice* (236). (3) Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2022.154013>
- Liu, J. K. (2022). Natural products in cosmetics. In *Natural Products and Bioprospecting* (12), (1). Springer. <https://doi.org/10.1007/s13659-022-00363-y>
- Losic, D., Mitchell, J. G., & Voelcker, N. H. (2009). Diatomaceous lessons in nanotechnology and advanced materials. *Advanced Materials*, 21(29), 2947–2958. <https://doi.org/10.1002/adma.200803778>
- Lu, Y., Tonissen, K. F., & Di Trapani, G. (2021). Modulating skin colour: Role of the thioredoxin and glutathione systems in regulating melanogenesis. In *Bioscience Reports* (41) (5) (7). Portland Press Ltd. <https://doi.org/10.1042/BSR20210427>
- Łuczaj, W., Gęgotek, A., Conde, T., Domingues, M. R., Domingues, P., & Skrzydlewska, E. (2023). Lipidomic assessment of the impact of *Nannochloropsis oceanica* microalga lipid extract on human skin keratinocytes exposed to chronic UVB radiation. *Scientific Reports*, 13(1) (3). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49827-2>
- Maadane, A., Merghoub, N., El Mernissi, N., Ainane, T., Amzazi, S., Wahby, I., & Bakri, Y. (2017). Antimicrobial activity of marine microalgae isolated from Moroccan coastlines. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 6(6), 1257–1260. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2017.6.6.1257-1260>
- Maeda, Y., Tsuru, Y., Matsumoto, N., Nonoyama, T., Yoshino, T., Matsumoto, M., & Tanaka, T. (2021). Prostaglandin production by the microalga with heterologous expression of cyclooxygenase. *Biotechnology and Bioengineering*, 118(7), 2734–2743. <https://doi.org/10.1002/bit.27792>

- Maeda, Y., Yoshino, T., Matsunaga, T., Matsumoto, M., & Tanaka, T. (2018). Marine microalgae for production of biofuels and chemicals. In *Current Opinion in Biotechnology* (50), (111–120). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2017.11.018>
- Magaletti, E., Urbani, R., Sist, P., Ferrari, C. R., & Cicero, A. M. (2004). Abundance and chemical characterization of extracellular carbohydrates released by the marine diatom *Cylindrotheca fusiformis* under N- and P-limitation. *European Journal of Phycology*, 39(2), 133–142. <https://doi.org/10.1080/0967026042000202118>
- Majtan, J., & Jesenak, M. (2018). β -Glucans: Multi-functional modulator of wound healing. In *Molecules* (23), (4), (2). AG. <https://doi.org/10.3390/molecules23040806>
- Mathimani, T., & Pugazhendhi, A. (2019). Utilization of algae for biofuel, bio-products and bio-remediation. In *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* (17), (326–330). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.12.007>
- Medzhitov, R. (2010). Inflammation 2010: New Adventures of an Old Flame. *Cell* (140), (6), (771–776). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.03.006>
- Méresse, S., Gateau, H., Tirnan, T., Larrigaldie, V., Casse, N., Pasetto, P., Mouget, J. L., Mortaud, S., & Fodil, M. (2023). *Haslea ostrearia* pigment marennine affects key actors of neuroinflammation and decreases cell migration in murine neuroglial cell model. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(6). <https://doi.org/10.3390/ijms24065388>
- Michaud, P., Laroche, C., Villay, A., Roussel, M., Diogon, M., El Alaoui, H., & Delbac, F. (2014). *Sulphated Polysaccharide Composition*. (Patent WO Patent 2014076261A1).
- Mitsui, T. (Ed.). (1997). New cosmetic science. . *Elsevier*.(20) (6) (11-35).
- Morocho-Jácome, A. L., Ruscinc, N., Martinez, R. M., de Carvalho, J. C. M., Santos de Almeida, T., Rosado, C., & Baby, A. R. (2020). Technological aspects of microalgae pigments for cosmetics. *Applied Microbiology and Biotechnology* 104, 9513-9522, 4–5.

- Mouget, J. L., Rosa, P., & Tremblin, G. (2004). Acclimation of *Haslea ostrearia* to light of different spectral qualities - Confirmation of “chromatic adaptation” in diatoms. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 75(1–2), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2004.04.002>
- Najdenski, H. M., Gigova, L. G., Iliev, I. I., Pilarski, P. S., Lukavský, J., Tsvetkova, I. V., Ninova, M. S., & Kussovski, V. K. (2013). Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria. *International Journal of Food Science and Technology*, 48(7), 1533–1540. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12122>
- Nassiri, Y., Robert, J.-M., Rince, Y., & Ginsburger-Vogel, T. (1998). The cytoplasmic fine structure of the diatom *Haslea ostrearia* (Bacillariophyceae) in relation to marennine production. In *Phycologia* (37), (2).
- Neumann, U., Louis, S., Gille, A., Derwenskus, F., Schmid-Staiger, U., Briviba, K., & Bischoff, S. C. (2018). Anti-inflammatory effects of *Phaeodactylum tricornutum* extracts on human blood mononuclear cells and murine macrophages. *Journal of Applied Phycology*, 30(5), 2837–2846. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1352-7>
- Okajima, M. K., Bamba, T., Kaneso, Y., Hirata, K., Fukusaki, E., Kajiyama, S., & Kaneko, T. (2008). Supergiant ampholytic sugar chains with imbalanced charge ratio form saline ultra-absorbent hydrogels. *Macromolecules*, 41(12), 4061–4064. <https://doi.org/10.1021/ma800307w>
- Palmer, J., Flint, S., & Brooks, J. (2007). Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 34(9), 577–588. <https://doi.org/10.1007/s10295-007-0234-4>
- Pangestuti, R., Noerdjito, D. R., Siahaan, E. A. , Sapulete, S. , & Kim, S. K. (2020). *Marine microalgae in food and health applications*. *Encyclopedia of Marine Biotechnology*.
- Pedron, E., Gargouch, N., Mouget, J. L., Tremblay, R., Deschênes, J. S., Massé, A., & Gonçalves, O. (2023). Hybrid photobioreactor operation for the intensified production of *Haslea*

ostrearia and marennine in function of strain variability. *Algal Research*, (75) (12) (3).
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103285>

PIACQUADIO, D., & NELSON, D. B. (1992). Alginates: A “New” Dressing Alternative: A “New” dressing alternative. *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*, 18(11), 992–995.

Pouvreau, J. B., Morançais, M., Fleurence, J., & Pondaven, P. (2007). Method for the quantification of the blue-green pigment “marennine” synthesized by the marine diatom *Haslea ostrearia* (Gaillon/Bory) Simonsen using HPLC gel-filtration and photodiode-array detection. *Journal of Applied Phycology*, 19(3), 263–270. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9133-8>

Pouvreau, J. B., Morançais, M., Fleury, F., Rosa, P., Thion, L., Cahingt, B., Zal, F., Fleurence, J., & Pondaven, P. (2006). Preliminary characterisation of the blue-green pigment “marennine” from the marine tychopelagic diatom *Haslea ostrearia* (Gaillon/Bory) Simonsen. *Journal of Applied Phycology*, 18(6), 757–767. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9087-x>

Pouvreau, J. B., Morançais, M., Massé, G., Rosa, P., Robert, J. M., Fleurence, J., & Pondaven, P. (2006). Purification of the blue-green pigment “marennine” from the marine tychopelagic diatom *Haslea ostrearia* (Gaillon/Bory) Simonsen. *Journal of Applied Phycology*, 18(6), 769–781. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9088-9>

Pouvreau, J. B., Morançais, M., Taran, F., Rosa, P., Dufossé, L., Guérard, F., Pin, S., Fleurence, J., & Pondaven, P. (2008). Antioxidant and free radical scavenging properties of marennine, a blue-green polyphenols pigment from the diatom *Haslea ostrearia* (Gaillon/Bory) Simonsen responsible for the natural greening of cultured oysters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(15), 6278–6286. <https://doi.org/10.1021/jf073187n>

Prasetya, F. S., Decottignies, P., Tremblay, R., Mouget, J. L., & Cognie, B. (2019). Does culture supernatant of *Haslea ostrearia* containing marennine affect short-term physiological traits

- in the adult blue mussel *Mytilus edulis*? *Aquaculture Reports*, 15. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100228>
- Prasetya, F. S., Foret, M., Deschênes, J. S., Gastineau, R., Mouget, J. L., & Tremblay, R. (2022). Semi-continuous system for benthic diatom cultivation and marennine production. *Algal Research*, 62. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102633>
- Priyadarshani, I., & Rath, B. (2012). Commercial and industrial applications of micro algae—A review. *Journal of Algal Biomass Utilization*, 3(4), 89–100.
- Prokopowicz, M., & Różycki, K. M. (2017). *Innovation in cosmetics*. www.worldscientificnews.com
- Raposo, M. F. D. J., De Morais, A. M. M. B., & De Morais, R. M. S. C. (2014). Influence of sulphate on the composition and antibacterial and antiviral properties of the exopolysaccharide from *Porphyridium cruentum*. *Life Sciences*, 101(1–2), 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2014.02.013>
- Raven, J. A., & Giordano, M. (2017). Acquisition and metabolism of carbon in the ochrophyta other than diatoms. In *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* (372), (1728) (33). Royal Society Publishing. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0400>
- Ross, R., & Sims, P. A. (1972). The fine structure of the frustule in centric diatoms: A suggested terminology. *British Phycological Journal*, 7(2), 139–163. <https://doi.org/10.1080/00071617200650171>
- Round, F. E. (1990). Diatom communities-their response to changes in acidity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 327(1240), , 243–249.
- Sahin, M. S., Khazi, M. I., Demirel, Z., & Dalay, M. C. (2019). Variation in growth, fucoxanthin, fatty acids profile and lipid content of marine diatoms *Nitzschia* sp. and *Nanofrustulum shiloi*

- in response to nitrogen and iron. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 17, 44 390–398. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.12.023>
- Sakai, L. Y., Keene, D. R., Renard, M., & De Backer, J. (2016). FBN1: The disease-causing gene for Marfan syndrome and other genetic disorders. In *Gene* (592), (1), (279–291). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2016.07.033>
- Sarthou, G., Timmermans, K. R., Blain, S., & Tréguer, P. (2005). Growth physiology and fate of diatoms in the ocean: A review. *Journal of Sea Research*, 53(1-2 SPEC. ISS.), 25–42. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2004.01.007>
- Shai, A., Baran, R., & Maibach, H. I. (2009). Cosmetics and cosmetic preparations: basic definitions. *Informa UK Ltd.: London, UK*, , 1–3.
- Sibi, G., & Rabina, S. (2016). Inhibition of Pro-inflammatory mediators and cytokines by *Chlorella Vulgaris* extracts. *Pharmacognosy Research*, 8(2), 118–122. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.172660>
- Sibilla, S., Godfrey, M., Brewer, S., Budh-Raja, A., & Genovese, L. (2015). An overview of the beneficial effects of hydrolysed collagen as a nutraceutical on skin properties: Scientific background and clinical studies. *The Open Nutraceuticals Journal* 8(1) (22).
- Siemer, E. (1991). *Preparations for cleansing and caring for blemished skin*.
- Simon, N., Cras, A. L., Foulon, E., & Lemée, R. (2009). Diversity and evolution of marine phytoplankton. In *Comptes Rendus - Biologies* (332), (2–3), (159–170). <https://doi.org/10.1016/j.crv.2008.09.009>
- Singh, N. K., & Dhar, D. W. (2011). Microalgae as second generation biofuel. A review. In *Agronomy for Sustainable Development* (31), (4), (605–629). <https://doi.org/10.1007/s13593-011-0018-0>

- Sun, L., Wang, L., & Zhou, Y. (2012). Immunomodulation and antitumor activities of different-molecular-weight polysaccharides from *Porphyridium cruentum*. *Carbohydrate Polymers*, *87*(2), 1206–1210. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.08.097>
- Tamaru, Y., Takani, Y., Yoshida, T., & Sakamoto, T. (2005). Crucial role of extracellular polysaccharides in desiccation and freezing tolerance in the terrestrial cyanobacterium *Nostoc commune*. *Applied and Environmental Microbiology*, *71*(11), 7327–7333.
- Tannin-Spitz, T., Bergman, M., Van-Moppes, D., Grossman, S., & Arad, S. (2005). Antioxidant activity of the polysaccharide of the red microalga *Porphyridium sp.* *Journal of Applied Phycology*, *17*(3), 215–222. <https://doi.org/10.1007/s10811-005-0679-7>
- Tardy-Laporte, C., Arnold, A. A., Genard, B., Gastineau, R., Morançais, M., Mouget, J. L., Tremblay, R., & Marcotte, I. (2013). A 2H solid-state NMR study of the effect of antimicrobial agents on intact *Escherichia coli* without mutating. *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, *1828*(2), 614–622. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2012.09.011>
- Toucheteau, C., Deffains, V., Gaignard, C., Rihouey, C., Laroche, C., Pierre, G., Lépine, O., Probert, I., Le Cerf, D., Michaud, P., Arnaudin-Fruitier, I., Bridiau, N., & Maugard, T. (2023). Role of some structural features in EPS from microalgae stimulating collagen production by human dermal fibroblasts. *Bioengineered*, *14*(1), (14-16). <https://doi.org/10.1080/21655979.2023.2254027>
- Turcotte, F., Mouget, J. L., Genard, B., Lemarchand, K., Deschênes, J. S., & Tremblay, R. (2016). Prophylactic effect of *Haslea ostrearia* culture supernatant containing the pigment marennine to stabilize bivalve hatchery production. *Aquatic Living Resources*, *29*(4). <https://doi.org/10.1051/alr/2016032>
- Underwood, G. J. C., Boulcott, M., Raines, C. A., & Waldron, K. (2004). Environmental effects on exopolymer production by marine benthic diatoms: Dynamics, changes in composition, and pathways of production. *Journal of Phycology*, *40*(2), 293–304. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2004.03076.x>

- UNION, P. (2009). Regulation (EC) No 1223/2009 of the European parliament and council. *Official Journal of the European Union L*, 59–342.
- Ustymenko, R. (2023). Trends and innovations in cosmetic marketing. *Economics & Education*, 8(3), 12–17.
- Wang, H. M. D., Chen, C. C., Huynh, P., & Chang, J. S. (2015). Exploring the potential of using algae in cosmetics. *Bioresource Technology* (184), (355–362). <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.001>
- Wang, W., Yu, L. J., Xu, C., Tomizaki, T., Zhao, S., Umena, Y., Chen, X., Qin, X., Xin, Y., Suga, M., Han, G., Kuang, T., & Shen, J. R. (2019). Structural basis for blue-green light harvesting and energy dissipation in diatoms. *Science*, 363 (45)(6427). <https://doi.org/10.1126/science.aav0365>
- Watson, R. E. B., Christopher, Griffiths, E. M., Craven, N. M., Shuttleworth, C. A., & Kielty, C. M. (1999). *Fibrillin-Rich Microfibrils are Reduced in Photoaged Skin. Distribution at the Dermal-Epidermal Junction*.
- Widowati, I., Zainuri, M., Kusumaningrum, H. P., Susilowati, R., Hardivillier, Y., Leignel, V., Bourgougnon, N., & Mouget, J. L. (2017). Antioxidant activity of three microalgae *Dunaliella salina*, *Tetraselmis chuii* and *Isochrysis galbana* clone Tahiti. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 55(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/55/1/012067>
- Wolfstein, K., & Stal, L. J. (2002). Production of extracellular polymeric substances (EPS) by benthic diatoms: effect of irradiance and temperature. *Marine Ecology Progress Series*, (236), (5) (13–22).
- Yarkent, Ç., Gürlek, C., & Oncel, S. S. (2020). Potential of microalgal compounds in trending natural cosmetics: A review. In *Sustainable Chemistry and Pharmacy* (17) (5) (4-6). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2020.100304>

- Yi, Z., Xu, M., Di, X., Brynjolfsson, S., & Fu, W. (2017). Exploring valuable lipids in diatoms. In *Frontiers in Marine Science* (4), (50) (5). Frontiers Media S. A. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00017>
- Yim, J. H., Ahn, S. H., Kim, S. J., Lee, Y. K., Park, K. J., & Lee, H. K. (2004). Production of novel exopolysaccharide with emulsifying ability from marine microorganism, *Alteromonas sp.* strain 00SS11568. . *Key Engineering Materials* 277, 155–161.
- Yin, J., Wang, C., Vogel, U., Ma, Y., Zhang, Y., Wang, H., Sun, Z., & Du, S. (2023). Common variants of pro-inflammatory gene IL1B and interactions with PPP1R13L and POLR1G in relation to lung cancer among Northeast Chinese. *Scientific Reports*, 13(1) (7). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-34069-z>
- Zampieri, R. M., Adessi, A., Caldara, F., Codato, A., Furlan, M., Rampazzo, C., De Philippis, R., La Rocca, N., & Valle, L. D. (2020). Anti-inflammatory activity of exopolysaccharides from *Phormidium sp.* ETS05, the most abundant cyanobacterium of the therapeutic euganean thermal muds, using the zebrafish model. *Biomolecules*, 10(4) (7). <https://doi.org/10.3390/biom10040582>
- Zebiri, I., Jacquette, B., Francezon, N., Herbaut, M., Latigui, A., Bricaud, S., Tremblay, R., Pasetto, P., Mouget, J. L., & Dittmer, J. (2023). The Polysaccharidic Nature of the Skeleton of Marennine as Determined by NMR Spectroscopy. *Marine Drugs*, 21(1) (7). <https://doi.org/10.3390/md21010042>
- Zhou, Y., Hong, Y., & Huang, H. (2016). Triptolide attenuates inflammatory response in membranous glomerulo-nephritis rat via downregulation of NF-κB signaling pathway. *Kidney and Blood Pressure Research*, 41(6), 901–910. <https://doi.org/10.1159/000452591>

ANNEXES I

LIPIDOMICS

Table 5: ANOVA test results of the significant lipid classes for skin cells exposed to marennine.

Name	P-value	FDR
EtherPC 33:6	5.9302e-08	1.1327e-05
TG 72:9	8.7347e-05	0.008
TG 73:9	0.000	0.017
MG 24:1	0.000	0.017
MG 25:1	0.001	0.017
TG 22:1	0.001	0.017
DHSph 16:0	0.001	0.017
LPC 14:0	0.001	0.019
EtherPE 23:3	0.001	0.019
PS 34:1	0.001	0.019
LPC 16:1	0.001	0.019
MG 23:1	0.001	0.019
TG 48:0	0.001	0.019
EtherLPE 16:0	0.002	0.023
PI 76:19	0.002	0.023
TG 55:1	0.002	0.023
LPC 17:0	0.002	0.023

TG 54:1	0.002	0.023
LPC 16:0	0.002	0.023
EtherLPC 16:0	0.004	0.037
EtherPE 40:5	0.004	0.038
LPC 20:4	0.005	0.038
EtherPE 40:7	0.005	0.038
LPC 18:1	0.005	0.042
EtherPE 38:6	0.005	0.042
DG 36:0	0.006	0.045
TG 48:2	0.007	0.045
Cer_NS 34:2	0.007	0.045
PC 36:3	0.007	0.045
EtherPE 40:10	0.007	0.045
TG 30:2	0.007	0.045
PC 32:0	0.008	0.049

Table 6: ANOVA test results of the significant lipid classes for skin cells exposed to EPS.

Name	P-value	FDR
PC 38:2	0.000	0.002
PC 30:1	0.000	0.002
EtherPE 40:7	0.000	0.002
PS 34:1	0.000	0.004
PC 34:4	0.000	0.004

PE 38:4	0.000	0.004
PC 36:6	0.000	0.004
PI 38:4	0.000	0.005
PE 38:5	0.000	0.007
MG 25:1	0.000	0.008
EtherPE 42:11	0.000	0.008
PS 36:1	0.001	0.008
PC 35:1	0.001	0.008
EtherLPE 16:0	0.001	0.010
EtherPE 40:10	0.001	0.010
MG 24:1	0.001	0.012
PE 36:4	0.001	0.014
PC 35:3	0.002	0.017
PC 30:1 PC 12:0_18:1	0.002	0.017
PC 37:4	0.002	0.017
LPC 16:1	0.002	0.017
EtherPE 40:5	0.002	0.017
PC 32:0 PC 27:0_5:0	0.003	0.023
PE 36:2	0.003	0.024
TG 49:9	0.003	0.024
TG 73:9	0.004	0.026
PC 40:7	0.004	0.026
PS 38:4	0.004	0.027

LPC 14:0	0.004	0.027
PC 30:0 PC 14:0_16:0	0.004	0.027
PC 32:2 PC 16:1_16:1	0.004	0.027
PC 38:3	0.005	0.029
PC 36:5 PC 16:1_20:4	0.005	0.030
EtherPC 35:8	0.006	0.032
TG 48:1	0.006	0.032
EtherPE 36:4	0.006	0.032
TG 57 :2	0.007	0.036
TG 48 :2	0.008	0.038
PC 29 :0	0.008	0.038
PC 34 :2	0.008	0.038
EtherPE 40 :6	0.008	0.038
PE 40 :7	0.010	0.044
PS 40 :6	0.010	0.044
TG 56 :1	0.010	0.044

ANNEXES II

GENOMICS

Table 7: ANOVA test results of the significant targeted genes exposed to marennine.

Name	P-value	FDR
FBN1	0.000	0.000
ERCC	0.000	0.000
CRABPII	0.000	0.000
CCN1	0.000	0.001
GUSB	0.000	0.001
AQUA	0.000	0.001
PRX	0.000	0.002
P53	0.001	0.004
ACACA	0.001	0.004
CuZnSOD	0.003	0.008
GPX	0.004	0.008
IL6	0.004	0.008
HMGCR	0.005	0.009
OPA1	0.008	0.014
COL3A	0.015	0.025
MNF1	0.026	0.039

HPRT	0.035	0.049
-------------	-------	-------

Table 8: ANOVA test results of the significant targeted genes exposed to marennine.

Name	P-value	FDR
ACACA	0.037	0.042
AQUA	0.029	0.001
CuZnSOD	0.043	0.001
DRP1	0.039	0.001
GUSB	0.034	0.002
HPRT	0.038	0.002
PRX	0.038	0.002

