

### 3. Production des métabolites et molécules d'intérêt

#### 3.1. Métabolites primaires et métabolites secondaires.

• Les produits microbiens qui intéressent l'industrie sont :

- des **métabolites primaires** : associés à la synthèse des cellules microbiennes. Ils sont impliqués dans la phase de croissance (AA, nucléotides, produits de fermentation, enzymes,...). Les voies de biosynthèse sont en général simples.

- des **métabolites secondaires** : ne sont pas indispensables au développement de l'organisme. Synthétisés dans des conditions particulières, s'accumulent pendant la période suivant la phase de croissance active et n'ont pas de relation directe avec la synthèse des matières cellulaires et la croissance normale (antibiotiques et toxines). Voies de biosynthèse complexes et longues. Spécifique à une espèce voire à une souche microbienne.

- Production des métabolites primaires et secondaires au cours de la croissance

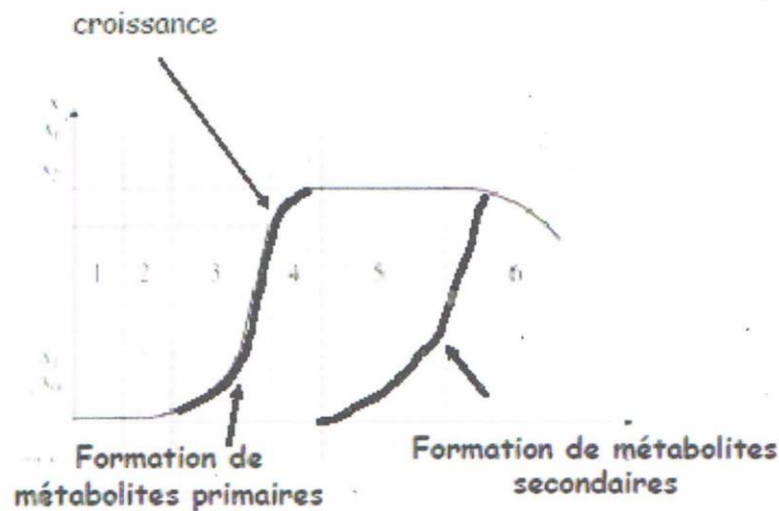


Fig. - production de métabolites primaires et secondaires au cours de la croissance.

Les phases de la croissance doivent donc être parfaitement maîtrisées pour optimiser la production des métabolites d'intérêt.

#### 3.2. Stratégie globale de production

• Produits associés à la production d'énergie :

- **Conditions optimales** : celles qui vont conduire à la production maximale du produit recherché associé à une production faible de biomasse = conversion optimale de la source de carbone en produit.

Ex : produits de fermentation.

- **Produits associés à la biomasse** : rechercher les conditions de production maximale de cellules.
- **Produits inductibles** (protéines recombinantes) : leur production est dépendante de l'induction du gène correspondant (fusionné avec un promoteur inductible : tac, Trp,...).

### 3. Principales familles de produits en microbiologie industrielle.

#### 3.1. Métabolites primaires

##### 3.1.1. Acides aminés : à l'aide de mutants dérégulés

- Cas général : produits par perturbation des systèmes de production : accumulation intracellulaire. L'intérêt de production par voie bactérienne est la stéréospécificité de l'AA obtenu (on obtient uniquement des acides aminés L).
- Acide glutamique : formé par amination de l'acide cétoglutarique (αKG) (du cycle de Krebs) avec utilisation de *C. glutamicum*, fermentation en présence d'un excès de NH<sub>3</sub>, la souche a perdu la capacité à former le succinate à partir de l'αKG ; en outre, carence en biotine et ajout d'AG permettent d'augmenter la perméabilité membranaire.
- Synthèse ou bioconversion d'AA essentiels ou non : Asp, Ala, Arg, Citrulline, Cys, DOPA (dihydrophénylalanine, par *Erwinia herbicola*), Gln, His, ornithine, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Val, Tyr, Ile, Leu.

##### 3.1.2. Vitamines : Produits souvent intracellulaires.

- **Vitamine B12** (cyanocobalamine), seule source de production par culture microbienne (*Streptomyces olivaceus*, *Propionobacterium shermanii*, *P. denitrificans*).
- **Vitamine B2** (riboflavine) par *Ashbya gossypii* & *Eremothecium ashbyi*.
- **β-carotène** précurseur vitamine A, par *Blakeslea trispora*,...
- Ergosterol, α-tocophérol (vit. A), acide ascorbique (vit. C)...

##### 3.1.3. Polysaccharides

- Production spécifique par des microorganismes dont le polymère est extrait. Peut nécessiter la culture en conditions spécifiques (induction de la synthèse par carence d'un élément, par culture anaérobie, en phase stationnaire,...).
- Xanthane, alginate, PHB polyhydroxybutyrate (dans les plastiques biodégradables), caraghénanes et agar (algues rouges), cellulose, chitosane, dextrane, gellane, pullulane,...

---

### 3.1.4. Divers

- **Acides organiques** : ac. Acétiques (anaérobie, *Clostridium thermoaceticum*: 35 g/L, fed-batch), ac. Citrique ( *Aspergillus niger*,...), ac. Lactique, ac. Gluconique,...
- **Alcools et solvants** : acétone ( *Clostridium acetobutylicum*), dihydroxyacétone, polyols, butanol, éthanol,...
- **Carburant** : éthanol (80% de la production mondiale est produite par fermentation, à partir de cellulose, glucose, amidon), méthane (par décomposition anaérobie de la matière organique) et d'autres hydrocarbures.
- **Lipides** (sphingolipides: cosmétologie,...)

### 3.2. Métabolites secondaires

#### 3.2.1. Antibiotiques

- Produits en particulier par les actinomycètes ( *Streptomyces*) et par des mycètes filamenteux.
- Avec souvent des souches améliorées par mutation ou génie génétique (transfert du gène de résistance à l'AB permettant une hyperproduction sans inhibition).
- La production a lieu au cours de la phase stationnaire de croissance, excepté pour les tétracyclines.
- + concentrations en sels minéraux (Fe, Mn, Zn) 10 à 100 X supérieures à celles requises pour la croissance.
- point crucial : contrôle du milieu.
- **Les conditions optimales requises pour la production des antibiotiques ne sont pas nécessairement identiques à celles permettant une bonne croissance !**
- **Exemple de la pénicilline** : La production de pénicilline par *Penicillium chrysogenum* nécessite un ajustement soigneux de la composition du milieu, de l'air et de l'agitation. En présence de lactose ou d'amidon et avec limitation en azote, la pénicilline s'accumule.

Le maintien du pH proche de la neutralité assure plus de stabilité à l'antibiotique. Une source facilement assimilable de carbone exerce une action négative sur la biosynthèse. Avec le glucose les rendements en antibiotiques sont faibles. C'est néanmoins possible en réacteur de type fed-batch avec un contrôle fin de la concentration en glucose.

- Analgésiques
- Anti-inflammatoires
- Antitumoraux
- Immunodépresseurs
- Toxines (toxine botulique,...)
- ...
- Pesticides : nématocides, fongicides, insecticides (protoxine par *Bacillus thuringiensis*),...

### 3.3. Enzymes

- Endo ou exocellulaires. Les exoenzymes seront plus faciles à extraire...
- Leur synthèse est souvent inductible par le substrat, sensible au pH, les sources de carbone et/ou d'azote peuvent influencer sur leur synthèse.
- Une bonne connaissance des conditions de production est donc nécessaire pour une production optimale.
- Recherche des souches ou production de mutants permettant une production maximale de l'enzyme recherchée (absence de répression dans leur synthèse,...), associée à une production minimale de sous produits (toxines, antibiotiques, pigments, protéases,...).
- Applications : analyses, agro-alimentaire, synthèses, génie génétique, industries diverses, domaine de la santé...

Ex : catalase

### 3.4. Biotransformations

- = réaction chimique catalysée par une enzyme (la réaction correspondante par voie abiotique est souvent impossible ou difficile).
- Concerne la synthèse d'acides aminés, d'antibiotiques, de vitamines, d'hormones (stéroïdes), de prostaglandines.
- Très souvent il s'agit de simple bioconversion à partir d'un composé naturel ou obtenu par synthèse chimique.

Ex: biotransformation de bases purique et de thymidine en ribothymine (5-méthyluridine), procédé à l'origine de l'AZT (3'azido-3' désoxythymidine) par *Erwinia carotovora*.

## 4. Production de molécules étrangères par des cellules transformées

L'utilisation de micro-organismes transformés permet de produire des substances thérapeutiques jusqu'alors impossibles à synthétiser :

- hormone de croissance humaine ou bovine par *E. coli*

- 
- Insuline humaine par *E. coli*
  - Interférons humains par *E. coli* et *B. subtilis*
  - Stéroïdes : hydrocortisone récemment obtenu par utilisation d'un panel de souches de levures transformées (Ménard Szczebara, Chandelier et al. , 2003, Nature Biotechnol.) et à partir de glucose.
  - Leptine (hormone protéique associée à l'obésité) par *E. coli*