

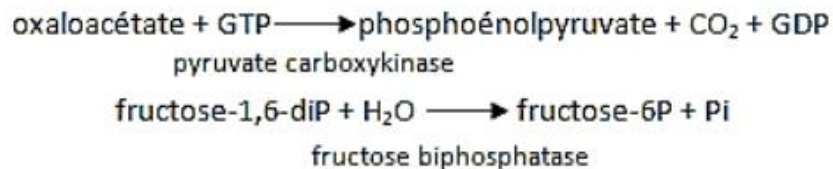
CHAPITRE IV:

ANABOLISME : Production de biomasse et de métabolites

Les réactions **anaboliques** ont pour **but** la **synthèse** des **constituants cellulaires**.

1-Production de biomasse et de protéines

Au **cours** de la **synthèse** de la **biomasse**, il y a **formation** de composés **glucidiques** par une **gluconéogénèse** qui résulte de l'activité de **différentes** voies **métaboliques** : il s'agit de **voies inverses** (« réverses ») issues du **pyruvate** si le **microorganisme** est **cultivé** sur des **substrats** autres que des **sucres** (**acides**, **alcools**...). Cependant la pyruvate kinase et la phospho fructokinase **ne sont pas réversibles** :



Le bilan global à partir du pyruvate est :

$$2 \text{ pyruvate} + 4\text{ATP} + 2 \text{GTP} + 2\text{NADH,H}^+ + 4\text{H}_2\text{O} \longrightarrow \text{glucose} + 2\text{NAD}^+ + 4\text{ADP} + 2\text{GDP} + 6\text{Pi}$$

Applications

La **production** de **biomasse** constitue souvent le but de **nombreuses** « **fermentations** » **industrielles** :

Production de « biomasse-aliment » et plus particulièrement production de protéines (Single Cell Proteins = Protéines d'Organismes Unicellulaires), **essentiellement** de **levures**, plus **rarement** de **bactéries**, **moisissures** ou **algues**. Lorsque la **biomasse** est **produite** dans ce but, les **protéines** ne sont que **rarement** **extraites** et **purifiées** et le produit, en **contenant environ 50%**, est habituellement **utilisé** tel quel (**alimentation animale**).

Production de levure **diététique**

Production de **levains** pour les **industries** de fermentations

Production d'agents biologiques pour **bioconversion** (cellules utilisées libres ou immobilisées, comme catalyseur)

Production pour des **applications particulières** comme la **lutte biologique** (action insecticide).

Pour obtenir de **bonnes productions de biomasse**, il est nécessaire de **se placer** dans des **conditions** où le rendement **énergétique** est le **meilleur**, c'est-à-dire lorsqu'il ya **oxydation**

complète du substrat par l'oxygène de l'air et que toute l'énergie potentielle est libérée et utilisée pour les synthèses. Il est donc préférable, lorsqu'il est possible, d'utiliser des germes aérobies ne possédant pas de métabolisme fermentaire ou d'orienter le métabolisme d'un germe ayant plusieurs voies énergétiques vers la voie oxydative. Pour obtenir les meilleurs résultats, il faut fournir une quantité d'oxygène pour permettre l'oxydation complète et tenir compte des mécanismes de régulation.

2-Production d'acides aminés

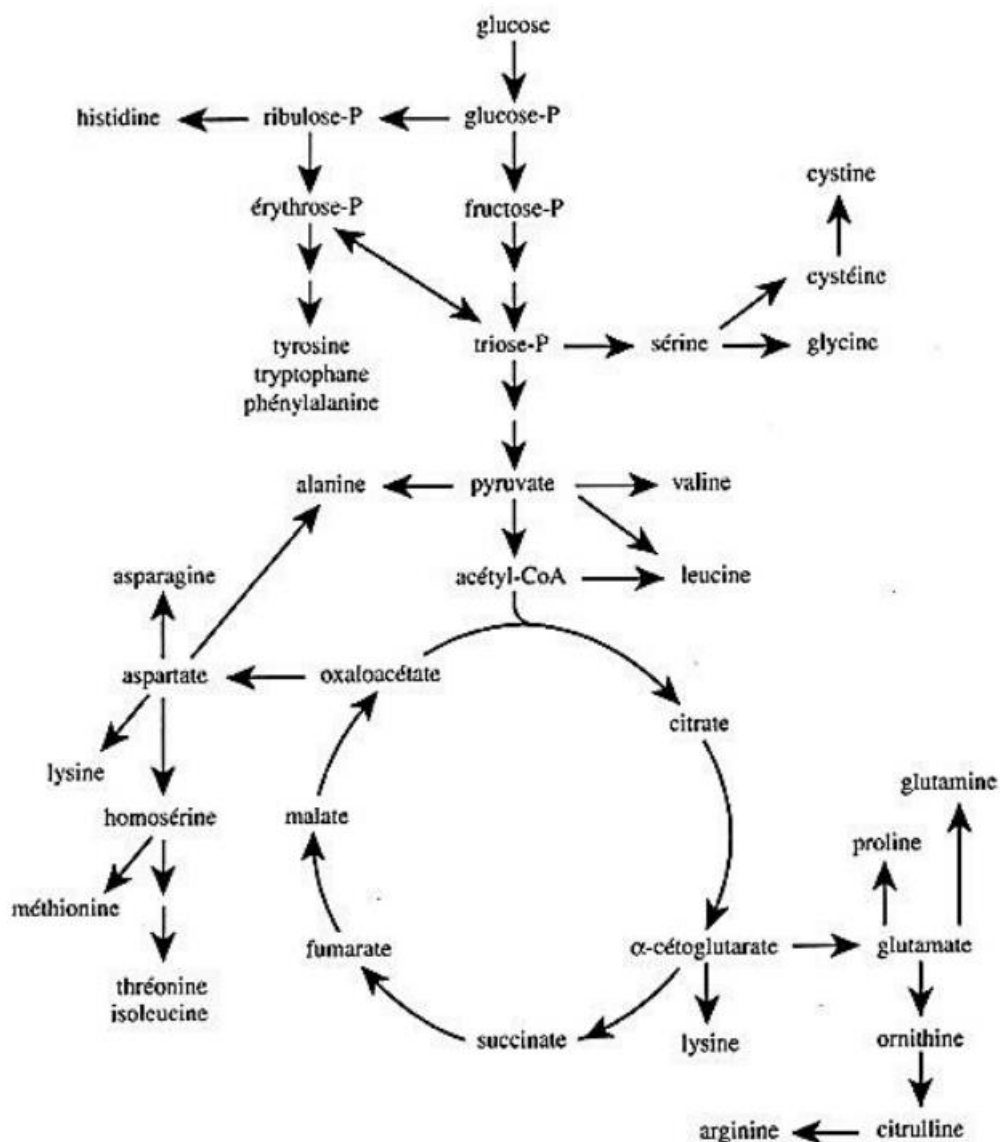


Figure 26 ■ Schéma simplifié de la biosynthèse des acides aminés à partir du métabolisme glucidique

Les acides aminés synthétisés dans la cellule sont utilisés, pour la plus grande partie d'entre eux, pour la formation de protéines car de nombreux systèmes de régulation sont présents dans la cellule. De nombreux mutants ont été isolés pour augmenter la production d'acides aminés.

Les acides aminés les plus intéressants du point de vue industriel sont les acides aminés « indispensables ».

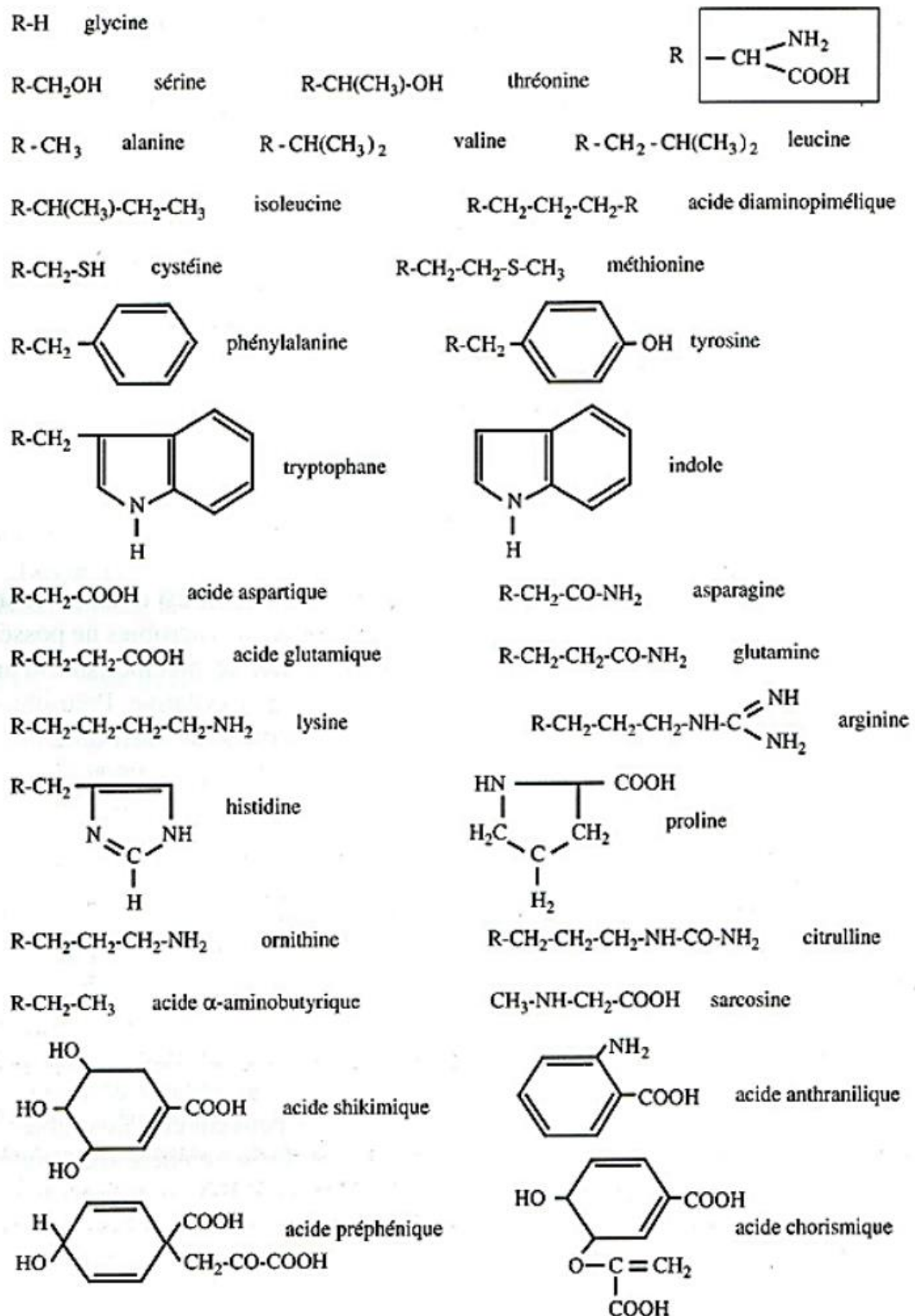


Figure 27 ■ Structure des acides aminés et de divers précurseurs

2-2- Synthèse des acides aminés issus de l'aspartate

Le L-aspartate est formé par amination du fumarate (produit du cycle de Krebs).

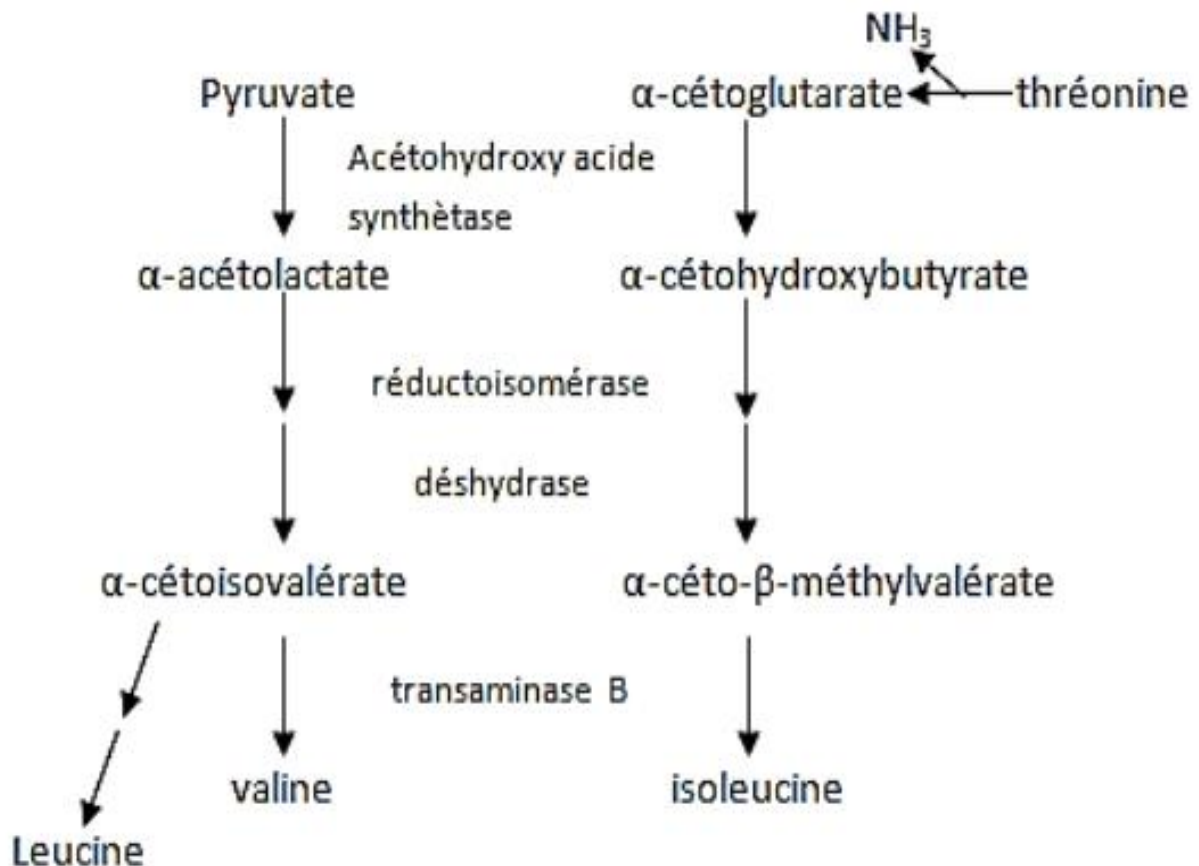


A partir de l'aspartate, s'ouvrent les voies de la biosynthèse de la lysine (bactéries), de la méthionine, de la thréonine et de l'isoleucine.

L'accumulation de lysine peut être obtenue chez des mutants auxotrophes pour la méthionine et la thréonine. La thréonine peut quant à elle, être accumulée par des mutants d'Escherichia coli auxotrophes pour la lysine et la méthionine.

L'isoleucine (la L-isoleucine est l'un des acides aminés les plus chers) peut être préparée à partir de milieux riches en thréonine par Streptomyces rimosus ou Serratia et à partir de milieux contenant de l' α -ABA (acide α -aminobutyrique) par des souches de Bacillus subtilis, Pseudomonas, E.coli... L' α -ABA et l'isoleucine exercent un effet stimulant sur l'accumulation d'homosérine par des mutants auxotrophes pour la thréonine.

2-3- Synthèse de la leucine et de la valine



Voies de biosynthèse de la valine, de la leucine et de l'isoleucine

La voie de biosynthèse de ces deux acides aminés se rattache au pyruvate et utilise des enzymes communes à la voie de transformation de la thréonine en isoleucine.

La valine peut être accumulée par des mutants de certains *Aerobacter* ou de *Micrococcus glutamicus* auxotrophes pour l'isoleucine et la leucine.

3- Biosynthèse des lipides

Les lipides microbiens sont constitués essentiellement de glycérides. Il peut y avoir aussi présence de stérols (en particulier chez les organismes eucaryotes) mais aussi des glycolipides, des phosphoglycérides, des alkyl-1-ényl éthers, parfois des alkyls éthers... La composition en lipides et en acides gras est une caractéristique qui dépend, outre de l'espèce et de la souche, du stade physiologique de croissance et surtout des conditions de culture : paramètres physiques (température, aération) ou chimiques (constituants du milieu, rapport C/N) qui peuvent modifier des activités biologiques.

Les glycérides sont synthétisés à partir de glycérol et d'acides gras (mono, di et surtout triglycérides). Le glycérol est un produit intermédiaire du métabolisme des glucides et les acides gras sont synthétisés à partir d'acétyl-CoA. Les bactéries contiennent en général peu d'acides gras à plus de 19 atomes de carbone. L'acide gras le plus abondant est généralement l'acide palmitique (acide gras saturé à 18 C), les principaux acides gras insaturés sont monoéniques. Il y a aussi des acides gras banchés ou contenant un cycle. Chez la levure, l'acide gras prédominant est l'acide palmitoléique (acide gras monoinsaturé à 16 C). Les stérols sont synthétisés selon une voie commune à celle des terpènes. Par condensation de deux acétyl-CoA, il ya formation d'acide mévalonique, qui évolue en isopentényl-pyrophosphate ou en diméthylallylpyrophosphate, produits de base des chaînes terpéniques (géranyl C10, farnesyl C15 géranylgéranyl C20, géranylfarnesyl C25...), d'où dérivent les terpènes, stéroïdes, caroténoïdes, ubiquinones... Les stéroïdes sont formés à partir de deux farnesyl-pyrophosphate par l'intermédiaire du squalène (C30). Il y a dans les stéroïdes microbiens de l'ergostérol et divers autres composés (fucostérol, lanostérol,...). La formation des stérols et de certains acides gras insaturés n'est parfois possible que dans des conditions aérobies (levures). En anaérobiose, ces produits doivent se trouver dans le milieu pour permettre la croissance.

La production de lipides microbiens s'effectue toujours par production de biomasse puis extraction et purification.

Des algues, levures et moisissures peuvent être des sources importantes de lipides. Il est possible d'augmenter la production (plus de 20% de lipides en masse de la matière sèche) en effectuant des cultures carencées en azote ou en certains éléments minéraux.

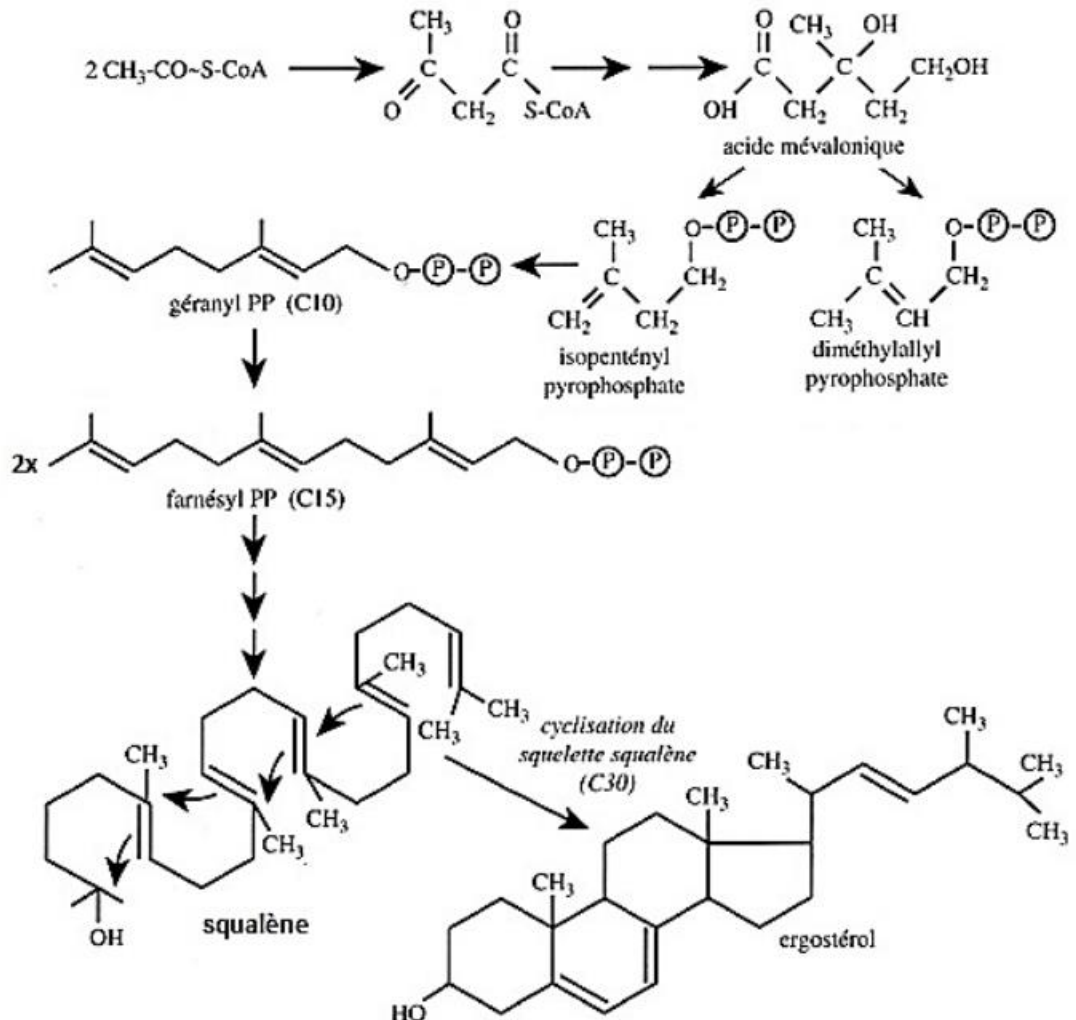


Figure 28 ■ Biosynthèse des terpènes et des stérols

4-Biosynthèse des nucléotides

Les nucléotides, composants de base des acides nucléiques sont synthétisés :

A partir de l'inosine-monophosphate, provenant du ribose-phosphate pour les nucléotides puriques.

A partir de l'aspartate et du cabamyl-phosphate par un intermédiaire commun, l'acide uridylique, pour les nucléotides pyrimidiques.

Leur production est obtenue par perturbation des systèmes de régulation

5-Biosynthèse des vitamines

Les microorganismes **prototrophes** sont **capables** de **synthétiser** tous les **facteurs** de **croissance**, et en particulier toutes les **vitamines** dont ils ont **besoin** ; certains en **libèrent** dans le **milieu** des **quantités intéressantes**. Il est possible, **par perturbation** du **métabolisme**, de faire **préparer** par des microorganismes la **plupart** des **vitamines** ou **provitamines** (panthoténate, pyridoxine, biotine, thiamine, acide folique, acide lipoïque, nicotinamide, riboflavine, cyanocobalamine, précurseurs des vitamines A, C, D, vitamine K, coenzyme Q, inositol...). Certaines de **ces productions** ont un **grand intérêt industriel**, comme la **vitamine B2** ou riboflavine et surtout la **vitamine B12** ou cyanocobalamine dont la seule source est microbienne. En outre, **le β -carotène**, précurseur de la vitamine A, est souvent **préparé** par voie **microbiologique**.

6-Biosynthèse des polysaccharides

Divers **microorganismes** **produisent** des **polysaccharides** d'importance industrielle comme les **dextranes**, les **levanes**, les **gommés** « xanthanes », **alginates**...

7-Biosynthèse des hormones

Des molécules jouant un rôle de type hormonal ont été découvertes chez des microorganismes eucaryotes. Certaines étant de nature stéroïde.

8-Biosynthèse des toxines

Certaines bactéries et **moisissures** **excrètent** des **toxines**. Dans certains cas, la **production industrielle** de ces toxines présente un **grand intérêt** car elles sont utilisées pour la **fabrication d'antigènes**, de vaccins et **antitoxines** utilisés en **médecine**.

Chez les **bactéries**, il y a **deux** types de **toxines** :

Les exotoxines: de nature protéique, très actives mais thermolabiles, excrétées généralement pendant la croissance et rencontrées essentiellement chez des **bactéries à Gram positif**.

Les principales sont la toxine **diphthérique** (*Corynebacterium diphtheriae*), les entérotoxines **staphylococciques** (*Staphylococcus aureus*), la toxine **tétanique** (*Clostridium tetani*), les toxines **botuliniques** (*Clostridium botulinum*), les toxines de *Clostridium perfringens*. Elles sont utilisées comme source **d'antigènes** mais surtout comme source **d'anatoxines** (vaccins).

Les endotoxines: de nature plus complexe (glucidolipidoprotéiques), moins actives et thermostables, libérées par lyse des cellules et rencontrées surtout chez les bactéries à Gram négatif. Les principales sont l'entérotoxine cholérique (Vibrio cholerae) et l'endotoxine typhoïdienne (Salmonella).

Certains produits peuvent jouer un grand rôle dans la lutte biologique (insecticide). Diverses moisissures excrètent aussi des substances toxiques :

Alcaloïdes de l'ergot de seigle : ces substances sont produites par Claviceps purpurea et sont dotées de propriétés pharmacologiques et ont un intérêt médical.

Aflatoxines et autres mycotoxines : les aflatoxines dérivées de la coumarine sont produites par Aspergillus flavus. De nombreuses autres moisissures produisent des mycotoxines. L'intérêt de la production de ces mycotoxines est faible.

9-Biosynthèse des antibiotiques

Les antibiotiques sont des substances produites par des microorganismes et ayant le pouvoir d'inhiber ou de détruire d'autres microorganismes. Leur intérêt économique provient de l'utilisation médicale pour lutter contre les maladies infectieuses.

Ce sont des substances spécifiques, ils n'ont pas une distribution généralisée parmi les microorganismes et ne sont produits que par un nombre limité d'espèces. Le genre Streptomyces contient une grande partie des microorganismes producteurs d'antibiotiques.

La production d'antibiotique fait appel à des souches améliorées par mutation, par recombinaison et par génie génétique. Le génie génétique permet, par exemple, le transfert du gène de l'acyl-transférase (pénicilline acylase) de Penicillium dans diverses souches. Le gène de la résistance aux aminoglycosides peut aussi être transféré, ce qui se traduit par la possibilité d'une hyper-production sans inhibition.

Il existe divers types d'antibiotiques selon leur structure chimique. Leurs voies de synthèse sont différentes.

9-1-β-lactames : pénicillines et céphalosporines

-Pénicilline

Les pénicillines naturelles (G et V) sont des substances à hétérocycle β-lactame-thiazolidine produites par Penicillium chrisogenum. Des pénicillines semi-synthétiques sont préparées par voie chimique ou enzymatique à partir des pénicillines naturelles : par hydrolyse chimique ou action d'une acylase microbienne (Escherichia coli, Bacillus megaterium, Kluyvera citrophila,

Pseudomonas melagenum, *Streptomyces* sp...) pour donner des composés actifs nouveaux (phénéticilline, méthicilline, oxacilline, ampicilline, azidocilline, carbenicilline, ticarcilline,...).

Les pénicillines sont capables d'inhiber la synthèse de la paroi bactérienne. Elles agissent sur les bactéries Gram positives (*Staphylococcus*, *Streptococcus*...), quelques bactéries Gram négatives (*Neisseria*) et sur *Treponema* (agent de la syphilis). La plupart des pénicillines peuvent être décomposées par des germes dotés d'une pénicillinase (*E. coli*, *Bacillus*...) qui les transforment en acide pénicilloïque inactif.

-Céphalosporine

Les céphalosporines sont des molécules très voisines des pénicillines. Les céphalosporines agissent surtout sur les bactéries Gram+ par inhibition de la synthèse de la paroi. La céphalosporine N est également active sur *Salmonella*. La céphalothine est un dérivé très actif et à large spectre, obtenu par modification chimique de la céphalosporine.

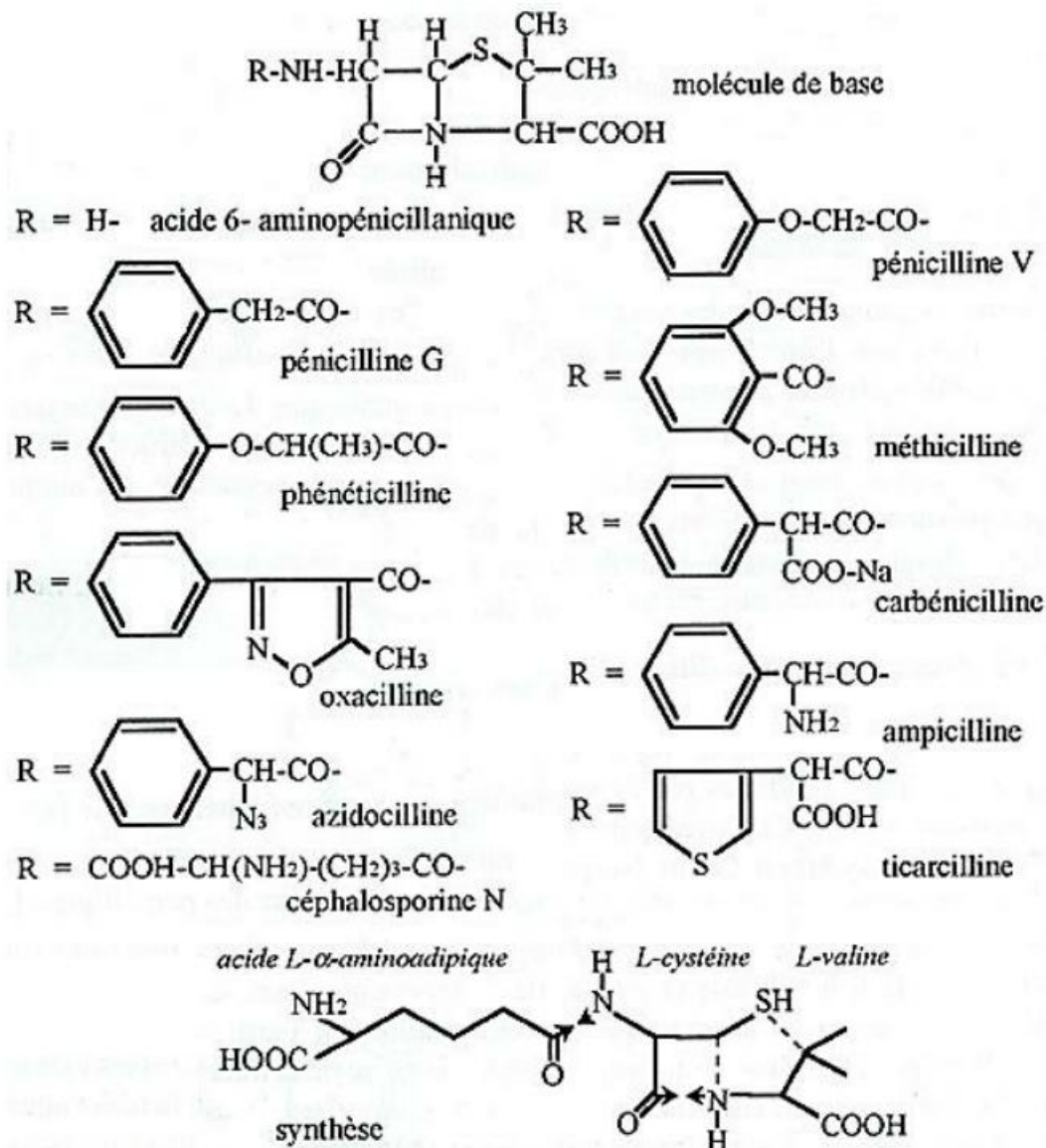


Figure 29 ■ Pénicillines naturelles et semi-synthétiques

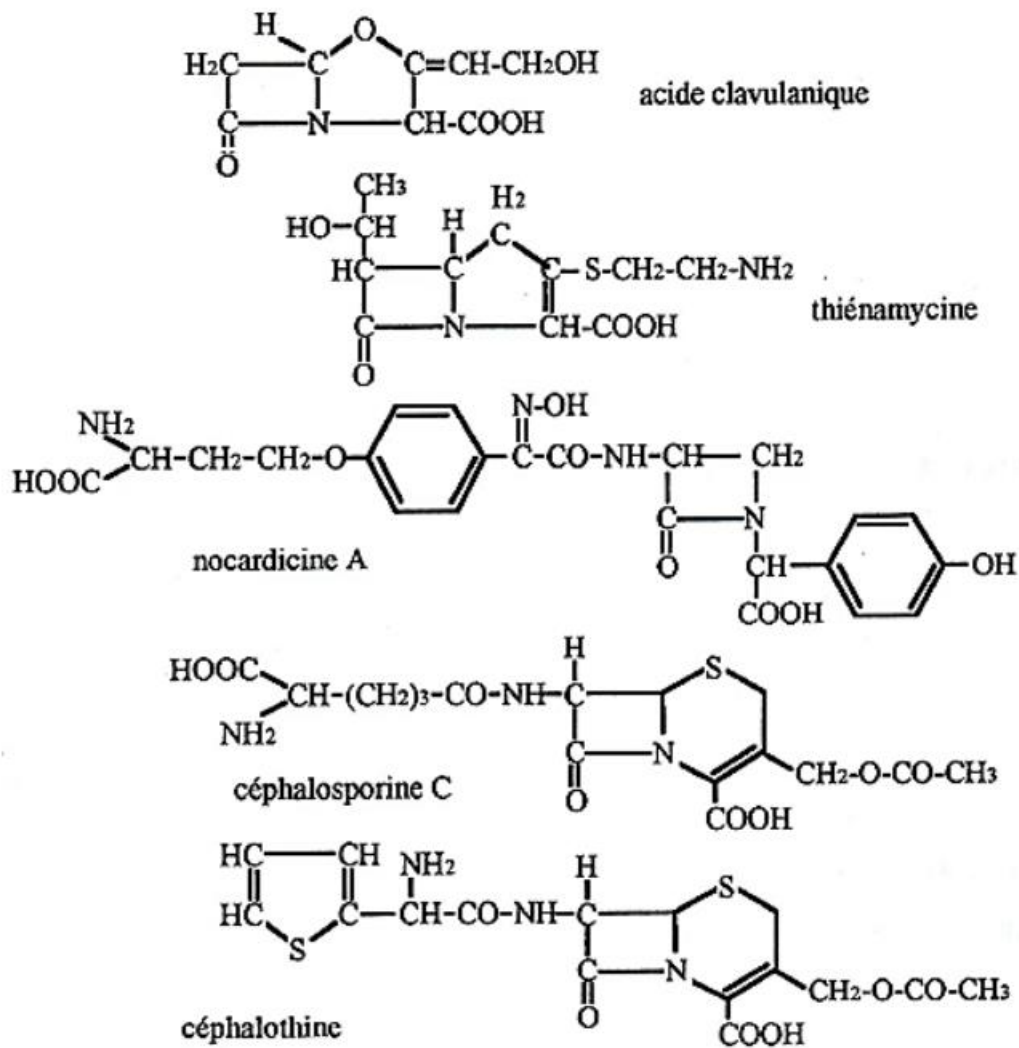


Figure 30 ■ Antibiotiques divers de type β -lactame

10-Biosynthèse des enzymes

De nombreuses enzymes peuvent être produites par culture microbienne (souvent grâce à des mutants hyper-producteurs et hyper-excréteurs) : il s'agit aussi bien d'enzymes recueillies dans le milieu de culture, que d'enzymes à localisation interne qu'il faut ensuite extraire du corps microbien. Elles sont utilisées comme agent de transformation sous forme libre ou immobilisée, sous forme d'additifs, de biocapteurs... Les enzymes de grande importance industrielle sont : les cellulases, les pectinases, les amylases, les lipases, les protéases, l'invertase, la glucose oxydase, la glucose isomérase, la dextrane sucrase, la pénicillinase, la catalase.