

CARNETS
DE
SCIENCES

Jean Guézennec

Bactéries marines et biotechnologies

éditions
Quæ

Jean Guézennec

**Bactéries
marines
et
biotechnologies**

Éditions Quæ

Collection Carnets de sciences

Nos abeilles en péril

Vincent Albouy, Yves Le Conte
2014, 192 p.

Étonnantes plantes de montagne

François Couplan
2013, 160 p.

Quel avenir pour le cerf, le chevreuil et le sanglier ?

Roger Fichant
2013, 176 p.

Le désert source de vies

Joël Lodé
2012, 192 p.

Biofilms, quand les microbes s'organisent

Romain Briandet, Lise Fechner, Murielle Naïtali, Catherine Dreanno
2012, 176 p.

Bonnes bactéries et bonne santé

Gérard Corthier
2011, 128 p.

Éditions Quæ

RD 10

78026 Versailles Cedex, France

www.quae.com

© Éditions Quæ, 2014 ISBN :

978-2-7592-2145-5

ISSN : 2110-2228

Le Code de la propriété intellectuelle interdit la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Le non-respect de cette disposition met en danger l'édition, notamment scientifique, et est sanctionné pénalement. Toute reproduction partielle du présent ouvrage est interdite sans autorisation du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC), 20 rue des Grands-Augustins, Paris 6^e.

SOMMAIRE

Préface	5
Remerciements.....	7
Avant-propos	9
Biotechnologies qui êtes-vous ?	11
Importance des produits naturels marins en biotechnologie.....	13
Que serait notre quotidien sans biotechnologies ?	16
Et les microorganismes dans tout cela ?	24
Et si nous avions oublié l'invisible ?	27
Là où la vie microscopique foisonne... ..	29
Bactéries et molécules bioactives	30
Macroorganismes ou microorganismes ?	34
Milieus extrêmes et atypiques	39
Quelles applications pour ces bactéries ?	47
Les molécules associées aux bactéries.....	50
Les métabolites secondaires : un avenir pour la santé.....	51
Les polymères et biopolymères dans notre quotidien.....	53
Des sucres et des bactéries	59
Les exopolysaccharides et l'agroalimentaire	68
Les exopolysaccharides et la santé	69
Les exopolysaccharides en cosmétique et dermo-cosmétique.....	71
Les exopolysaccharides et l'environnement.....	75
Les exopolysaccharides et l'exploitation pétrolière	78

Des plastiques bactériens biodégradables	83
Les polymères synthétiques : des bioplastiques bactériens	85
Les polyesters biodégradables sont-ils les polymères de demain ?	91
Au fond des océans...	97
Un écosystème atypique : le domaine abyssal	100
Les sources hydrothermales profondes	103
Des pôles au tapis du paradis I	121
Les écosystèmes froids : Arctique et Antarctique	123
Les mares à Kopara	126
Autres milieux	131
Quelles autres applications ?	135
Les biotechnologies et l'environnement	137
Les molécules <i>antifouling</i>	145
D'autres pistes prometteuses	149
De l'échantillon à la molécule	153
L'échantillonnage et la création d'une souchothèque	156
De la bactérie aux polymères	158
De la bactérie aux métabolites secondaires	164
Les bactéries marines, un potentiel très prometteur	169
Glossaire	172
Bibliographie	175
Crédits photographiques	176

PRÉFACE

Le monde marin était connu de beaucoup comme étant le « Monde du silence ». L'ouvrage préparé par Jean Guézennec montre qu'il est également, et surtout, le monde de l'infiniment petit vivant, le monde des bactéries marines.

Avec passion et avec le souci constant de mettre sa prodigieuse connaissance au service du plus grand nombre, l'auteur nous décrit le gisement extraordinaire de diversité et de découvertes que constitue cette composante du monde microbien. Il montre et souligne la contribution majeure que peut constituer la collecte et la caractérisation des bactéries marines au développement d'applications concernant des domaines aussi variés que ceux de la santé, de la chimie, des matériaux... Bien que n'ayant fait l'objet que d'efforts finalement assez limités, c'est là que pointe toute la frustration de l'auteur, les travaux conduits sur ces bactéries n'en ont pas moins permis de caractériser, d'ores et déjà, de nombreux biopolymères (exopolysaccharides, polyhydroxyalcanoates...), des molécules bioactives, des organismes totalement originaux... La quantité d'énergie et de motivation nécessaires pour transformer ces résultats de recherche en produits commercialisés est particulièrement soulignée. Qui dit application du vivant et/ou de ses constituants dit « biotechnologie ». Celles provenant du monde marin ont reçu le qualificatif de « biotechnologies bleues », en hommage à cette merveilleuse couleur que sait prendre la mer pour nous charmer.

Il est évident que l'effort ne doit pas se relâcher pour augmenter la connaissance du monde microbien marin. La contribution à la découverte d'une nouvelle famille de microorganismes à partir des sources hydrothermales profondes, les Archées, qui peuvent se développer jusqu'à des températures de 110 °C, est tout à fait remarquable.

À la lecture de l'ouvrage, il est clair que la diversité des biotopes existants, associée au développement de nouvelles méthodologies performantes, et notamment les approches métagénomiques basées sur l'extraction de l'ADN, ne peut que déboucher sur de fantastiques découvertes et de nombreuses innovations. Il n'en demeure pas moins aléatoire de trouver la molécule ou le polymère candidat à un développement industriel. Ce n'est surtout pas une raison pour baisser les bras !

La recherche est riche en surprises pour ceux qui y croient, elle permet souvent de trouver ce que l'on ne cherchait pas ! C'est la définition de la sérendipité. Mais, comme l'écrivait J.H. Comaer, n'est-ce pas en cherchant l'aiguille dans la botte de foin que l'on rencontre la fille (ou le fils !) du fermier ?

Pierre Monsan

Directeur de *Toulouse White Biotechnology*

Professeur Mines ParisTech, professeur émérite INSA, université de Toulouse,

Membre fondateur de l'Académie des technologies

REMERCIEMENTS

Ayant passé toute ma jeunesse au bord de la mer, elle m'a toujours fasciné par son immensité, sa beauté et ses couleurs changeantes, parfois aussi par ses colères. Pour peu que l'on prenne le temps de mieux la connaître et de s'intéresser à sa biodiversité, elle peut aussi devenir un formidable champ de recherches et d'investigations, notamment dans le domaine des biotechnologies marines. Cette biodiversité est porteuse de beaucoup d'attentes et d'espoirs s'agissant notamment de nouveaux principes actifs. Que dire alors lorsqu'il s'agit d'étudier « le presque invisible », les microorganismes, dont ceux associés à des écosystèmes que l'on qualifiera, pour certains d'entre eux, d'extrêmes et pour d'autres, d'atypiques.

Imaginer que l'on pourrait identifier, dans ces environnements, des molécules originales et intéressantes concernant leurs applications dans les secteurs des biotechnologies : un challenge certes, mais quel challenge et surtout quelle chance de pouvoir y travailler. Je souhaite remercier toutes les personnes avec lesquelles j'ai eu la chance de partager cette passion des biotechnologies bleues et qui, pour certaines d'entre elles, m'ont accompagné pendant de nombreuses années.

Je voudrais particulièrement remercier Gérard Raguènes, Christelle Simon-Colin, Joël Quérellou, Sylvia Colliec-Jouault, Éric Deslandes, Lionel Lemoine, Marc Mittelman, et David C. White. David m'a enseigné et transmis cette passion de la recherche et je lui en suis profondément reconnaissant.

Je souhaite également remercier ceux qui m'ont fait part de leurs remarques et commentaires sur certains chapitres de l'ouvrage, Bernard Guillou, Yannick Guéguen et Michel Magot ainsi que ceux qui ont mis à ma disposition leurs photos personnelles, Xavier Moppert, Elefthérios Chalkiadakis, Yves-Marie Corre, Xavier Sprungli, Barbara Nicolaus, Manfred Zinn, Pauline Bosserelle, Fabien Michenet, Françoise Monniot, et Cécile Debitus.

L'iconographie a largement bénéficié de la mise à disposition gracieuse par Danièle Lemerrier de l'exceptionnelle photothèque de l'Ifremer, avec l'accord de la directrice de l'information scientifique, de la communication, de la médiation et des relations institutionnelles, Pascale Pessey-Martineau.

Enfin, je tiens également à remercier Nelly Courtay de m'avoir incité à rédiger ce livre – un autre challenge pour moi ! – pour sa patience, sa compétence, ses conseils avisés et son aide précieuse dans son montage.



AVANT-PROPOS

Cet ouvrage n'a pas d'autres prétentions que de rendre compte de quelques opportunités offertes par la composante bactérienne du milieu marin en termes de développements biotechnologiques. Cette composante invisible sera très probablement la source de découvertes de molécules innovantes dans les toutes prochaines années, et ce notamment, grâce à une meilleure connaissance de la biodiversité liée à l'utilisation d'outils moléculaires de plus en plus performants et à la maîtrise des technologies de fermentation. Mais pour qu'il y ait développement, il faut qu'il y ait une demande. Cette demande existe dans pratiquement tous les secteurs industriels, en premier lieu, celui de la santé avec la recherche de nouveaux médicaments que l'on pourrait alors qualifier de biomédicaments de la mer.

Cet ouvrage évoque aussi les premiers résultats obtenus à ce jour à partir des microorganismes issus d'**écosystèmes** atypiques *i.e.* présentant des caractéristiques physico-chimiques particulières. Il se réfère à des données connues au moment de la rédaction de ce livre. Cette recherche n'en est qu'à ses balbutiements, elle s'enrichit régulièrement de nouvelles découvertes. Des molécules sont isolées sans pour autant qu'elles soient associées systématiquement à un développement industriel. Le temps est parfois long, surtout dans le domaine des molécules bioactives, entre la découverte de l'activité et son exploitation dans le domaine industriel.

L'observation de la nature et de son fonctionnement doit être source d'inspirations. Elle nous renseigne sur les formes de stratégie mises en place par les organismes vivants pour survivre ou s'adapter à leur environnement. Les microorganismes n'échappent pas à la règle et ont développé, au cours du temps, des moyens de lutte pour survivre dans un milieu parfois défavorable, voire hostile. Ces moyens de lutte passent par de nouvelles voies métaboliques, la production de molécules tels les **métabolites** secondaires, ou encore celle de **biopolymères** qui pourraient trouver des applications dans de nombreux secteurs industriels.

Malgré une nécessaire prudence quant à la réalité économique de certaines découvertes, ce livre aborde quelques opportunités. Il se veut résolument optimiste quant à l'exploitation de cette composante microbienne encore mal connue.



A large flock of seabirds, possibly terns, is captured in flight over a deep blue body of water. The birds are scattered across the frame, with some in sharp focus and others blurred, creating a sense of movement and a large gathering. The water's surface is textured with small ripples, and the overall color palette is dominated by various shades of blue.

**Biotechnologies
qui êtes-vous ?**



Biotechnologies : qui êtes-vous ?

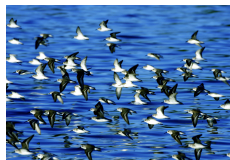
*La mer est un immense désert où l'homme n'est jamais seul
car il sent frémir la vie à ses côtés*
Jules Verne

La mer nourrit mais la mer peut également soigner et guérir. Poissons, micro- et macroalgues, crustacés, éponges, coraux... autant de sources marines pour des molécules isolées, caractérisées et déjà utilisées, que ce soit dans le domaine de l'agroalimentaire, de la cosmétique que celui de la santé. Ce chapitre aborde quelques exemples de ces molécules de la mer et de leurs applications.

L'OCDE (Organisation de coopération et de développement économiques) a défini en 2005, les biotechnologies comme étant « l'application de la science et de la technologie aux organismes vivants, à d'autres matériaux vivants ou non vivants, pour la production de savoirs, biens et services ».

Les biotechnologies sont un champ d'investigation multidisciplinaire. Elles résultent d'un mariage entre la science des êtres vivants – la biologie – et un ensemble de techniques nouvelles issues d'autres disciplines, telles que la microbiologie, la biochimie, la chimie, la physico-chimie, l'ingénierie, la génétique, la biologie moléculaire, la bioinformatique...

Dans un effort de simplification didactique et de rationalisation, il a été proposé de classer les biotechnologies selon cinq couleurs.



■ Page précédente

L'envol des biotechnologies marines



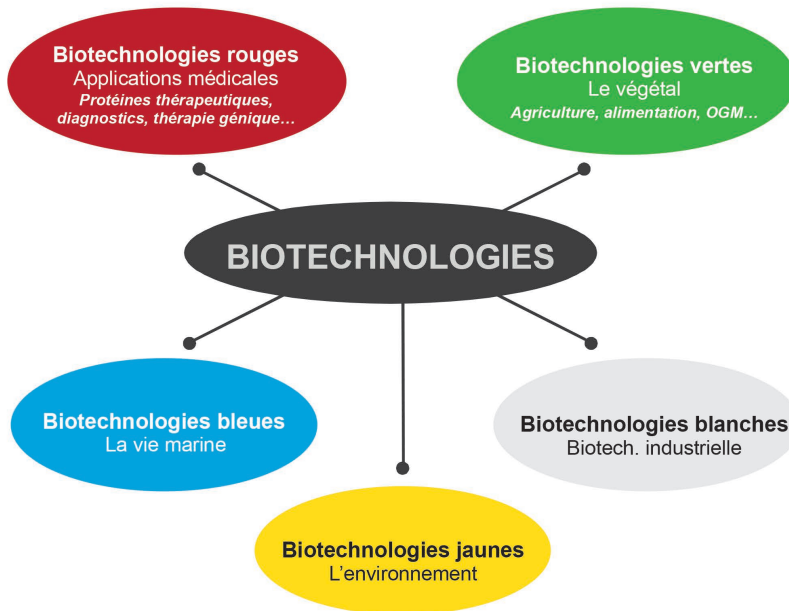
■ Importance des produits naturels marins en biotechnologie

Les océans sont une richesse inestimable pour l'homme, ils lui procurent nourriture, énergie et eau. Ils sont le gagne-pain de millions de personnes à travers le monde. Enfin, ils offrent les principales voies de circulation autour de notre planète et participent, de manière considérable, à l'équilibre de son climat.

Si l'homme interagit avec le milieu terrestre et les plantes depuis près de 3 000 ans, la connaissance du milieu marin, dans sa globalité, est beaucoup plus récente. Le développement de l'exploration *in situ* du milieu profond ne date réellement que des années 1940 ! N'oublions pas que ce seul domaine abyssal est le plus grand écosystème de notre planète puisqu'il s'étend depuis le talus continental (profondeurs comprises entre 100 et 200 mètres) jusqu'aux plus grandes profondeurs de l'océan avec 11 020 mètres de profondeur dans la fosse des Mariannes (nord-ouest de l'océan Pacifique). Il couvre les deux tiers de la surface du globe et représente, en volume, 62 % de la biosphère. Le milieu marin est également un milieu bien spécifique de par sa chimie. Outre des teneurs variables en sels, les eaux marines sont riches en halogènes avec le chlore comme élément dominant, le brome, l'iode et le fluor mais elles sont également riches en sulfates. Ces caractéristiques chimiques peuvent conditionner les équipements enzymatiques de nombreux macro- et microorganismes et se retrouver dans la composition chimique d'un grand nombre de substances naturelles synthétisées par ces organismes.

Contrairement au milieu terrestre, les organismes marins ont une très large distribution géographique. Ils ont dû s'adapter aux différentes conditions écologiques rencontrées. Schématiquement, ils se répartissent entre le pelagos – organismes vivant dans la colonne d'eau (plancton, poissons, méduses...) – et le benthos – organismes vivant sur le fond – fixés comme les algues ou les coraux, ou libres, comme les crustacés, mollusques ou autres échinodermes. Ces organismes benthiques vivent souvent en fortes interactions et, du fait de

Les **termes en bleu** sont définis dans le glossaire en fin d'ouvrage.



Les cinq couleurs des biotechnologies

- Les **biotechnologies rouges** concernent le secteur de la santé et, notamment, la recherche et le développement de nouvelles molécules dites bioactives.
- Les **biotechnologies vertes** (agriculture, alimentation...) regroupent également les transgénèses végétales (OGM) sur lesquelles se focalisent les réticences envers des risques de dissémination non contrôlée de gènes.
- Les **biotechnologies blanches** proposent, dans des conditions en milieu confiné (et donc sans risques de dissémination), l'utilisation d'organismes génétiquement modifiés ou non, ou encore d'**enzymes**, pour la production de composés d'intérêt.
- Les **biotechnologies jaunes** rassemblent toutes les biotechnologies se rapportant à la préservation et à la protection de l'environnement et au traitement, ou à l'élimination, des pollutions (ex : **bioremédiation**, biodétoxification...).
- Les **biotechnologies bleues** — ou biotechnologies marines — occupent dans cette classification, une place particulière : elles concernent la valorisation du potentiel incommensurable, et surtout très peu connu, des mers et des océans ; un écosystème qui, à lui seul, couvre plus de 70 % de notre planète. La connaissance de ce milieu est encore bien moindre que celle du milieu terrestre, donc est tout naturellement source de découvertes.

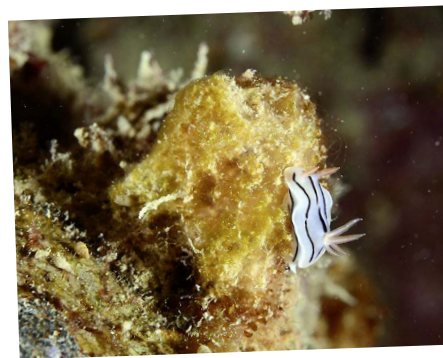
Il conviendrait peut-être également de considérer le milieu marin comme une ressource plus qu'un secteur spécifique des biotechnologies, tant il peut contribuer à tous les autres secteurs des biotechnologies.



leur faible mobilité, ils ont dû mettre en place des défenses chimiques pour survivre et se développer. Quelques-uns de ces organismes, comme les spongiaires, sont des organismes dépourvus de coquilles. Ils renferment un squelette de spicules siliceux, calcaires ou de fibres de spongine, rarement suffisant pour les protéger des prédateurs (poissons, échinodermes, nudibranches...). Ils ne doivent alors leur protection qu'en développant leurs propres armes chimiques.

C'est cette capacité de réponse à des environnements hostiles qui constitue une base de recherche de molécules à forte activité biologique : « Le poison pour tuer le poison ». Ces molécules doivent être très efficaces à très faibles concentrations, du fait d'une dilution possible. Le milieu marin recèle ainsi les toxines les plus puissantes connues à ce jour comme les palytoxines, les saxitoxines, la tétrodotoxine ou les ciguatoxines par exemple. Ces molécules, très complexes, sont élaborées par les organismes pour agir sur des cibles bien précises. Mais conséquences négatives, certaines d'entre elles sont aussi responsables de graves problèmes de santé publique, notamment par ingestion de fruits de mer (saxitoxines) ou de poissons (intoxication par le fugu au Japon ou ciguatera dans les régions coralliennes). Les palytoxines ont été mises en évidence dans le corail mais aussi dans des algues rouges, anémones de mer, et récemment dans des dinoflagellés. Il s'agit des toxines non peptidiques les plus complexes dont la structure a été élucidée à ce jour. Ces toxines sont à l'origine d'effets graves par exposition cutanée ou oculaire. Toutes ont un intérêt, celui de pouvoir être utilisées comme outils de laboratoire pour la compréhension de phénomènes cellulaires et physiologiques.

Les organismes marins possèdent un potentiel immense de synthèse de molécules originales d'intérêt biotechnologique. Selon l'United States Environmental Protection Agency (US EPA), il existerait près de 178 000 espèces marines qui se diviseraient en 34 phyla (embranchements). On estime à ce jour que moins de 5 % de ces espèces ont fait l'objet d'études quant à un éventuel potentiel de développement biotechnologique ! L'intérêt de ces organismes se situe dans tous les domaines des **biotechnologies**. Les molécules synthétisées peuvent constituer des modèles moléculaires pour l'élaboration de produits, notamment pour la santé humaine ou l'environnement. Ces molécules naturelles peuvent être modifiées pour les rendre, soit plus actives, soit moins toxiques.



Exemples de nudibranches (Tahiti). Une molécule anti-tumorale dont la « Kahalalide F » a été extraite de spécimens hawaïens d'*Elysia rufescens* (en haut). Elle est actuellement testée dans le traitement de certaines tumeurs chez l'homme



■ Que serait notre quotidien sans biotechnologies ?

Aperçu très général des applications majeures des organismes marins		
Domaines d'application	Organismes considérés	Exemples de molécules et produits
Cosmétologie Dermo-cosmétologie	Macro- et microalgues, cyanobactéries, bactéries, champignons, crustacés...	Peptides, exopolymères, enzymes, composés antimicrobiens, pigments...
Environnement	Macroalgues, microalgues cyanobactéries, bactéries, crustacés	Molécules <i>antifouling</i> et antibiofilm bioremédiation : biopolymères (PS, EPS, PHA, polyphosphates)...
Industrie pétrolière	Bactéries	Exopolymères, glycolipides, biosurfactants...
Agroalimentaire	Tous organismes	Enzymes, biopolymères, pigments...
Pharmacologie/Santé	Tous organismes	Principes actifs...

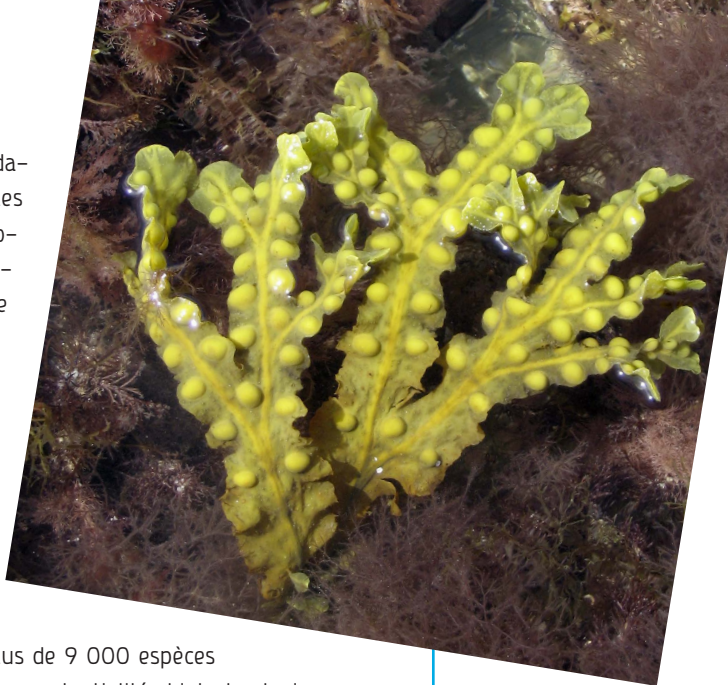
PS : polysaccharide ; EPS : exopolysaccharide ; PHA : polyhydroxyalcanoate

Voici quelques exemples de leur utilité dans ce quotidien. L'exploitation des ressources marines remonte au début de l'humanité avec, en tout premier lieu, la pêche et les algues. De nos jours, qui n'a pas entendu parler des oméga-3, oméga-6... bons pour le cœur, bons pour le cholestérol, bons pour notre santé et notre système cardio-vasculaire ! Une des principales sources de ces acides gras polyinsaturés (EPA = acide eicosapentaénoïque, DHA = acide docosahexaénoïque) n'est-elle pas la consommation de produits de la mer, en particulier de certains poissons ? Il convient d'être prudent car l'exploitation excessive de cette dernière ressource peut, à moyen terme, poser problèmes quant à la disponibilité de ces acides gras. D'où l'intérêt de l'aquaculture et de la recherche de nouvelles sources comme les microalgues et microorganismes contenant ces composés afin d'en pérenniser la production. C'est un autre débat.

Si ces acides gras polyinsaturés constituent une première réponse à une demande sociétale croissante, nous ne consomons et n'utilisons pourtant que moins de la moitié de ce que nous retirons des océans. Il peut donc s'avérer intéressant de chercher à valoriser l'autre moitié. Les déchets, comme les peaux, les viscères et les cartilages, peuvent être utilisés en alimentation animale. Il est possible également d'utiliser le potentiel d'enzymes spécifiques

ou d'hydrolysats qui résultent de la dégradation enzymatique contrôlée de molécules biologiques. Enfin, l'hydrolyse de macromolécules comme les protéines ou les polysaccharides, conduit à la production de peptides et d'**oligosaccharides** pouvant présenter des activités biologiques intéressantes et permettre des applications en santé humaine. C'est ce que l'on appelle la valorisation des co-produits de la pêche. On pourrait presque dire que dans le poisson tout est bon !

Les algues connaissent depuis plusieurs années un fort développement au regard de la diversité des espèces (plus de 9 000 espèces répertoriées à travers le monde) et de leurs potentialités biotechnologiques. Si l'on remonte le temps, l'utilisation des macroalgues marines dans l'alimentation ou comme engrais (source d'azote, de carbone et d'oligo-éléments) est très ancienne. Cette utilisation a été retrouvée dès le IV^e siècle au Japon, puis chez certaines populations d'Europe et d'Amérique. Elles étaient également utilisées dans la fabrication du verre au XVI^e siècle, comme source d'iode à partir du XIX^e siècle, et enfin dans l'industrie des colloïdes dès le début du siècle dernier. L'utilisation de ces composés, en particulier à travers les composés de la paroi des algues tels les alginates, carraghénanes, agar, etc., comme additifs texturants et auxiliaires technologiques (connus sous les codes européens E400, E404, E407, E406...) en est le meilleur exemple. Mais bien d'autres composés issus de ces macroalgues marines possèdent des activités spécifiques exploitables dans le domaine de la cosmétique, de la nutrition (animale et humaine) et de la santé. Citons comme exemples, les protéines, peptides et acides aminés, les acides gras polyinsaturés, les vitamines, pigments et composés polyphénoliques, et surtout les polysaccharides et oligo-saccharides qui suscitent un grand intérêt compte tenu de leurs propriétés biologiques maintenant avérées. Il en est ainsi des propriétés hémostatiques, du reflux gastro-œsophagien (acide alginique et alginates) ou encore de l'hyperphosphorémie (carraghénanes).



Algue brune
(*Fucus vesiculosus*)



Algue rouge
(*Dilsea carnosa*)



Algue verte
(*Codium tomentosum*)

Que dire des microalgues qui, selon les estimations, varient de 200 000 à plus d'un million d'espèces ! Les microalgues sont également connues de très longue date. Les scientifiques ont découvert que les Aztèques au Mexique consommaient le phytoplancton. Certains peuples d'Afrique en faisaient tout autant avec la spiruline pour sa valeur nutritionnelle et ses nombreuses vitamines antioxydantes et β (Bêta)-carotène. Cette grande diversité permet d'imaginer un vaste panel d'applications pour de nombreux secteurs industriels. L'industrie pharmaceutique, l'industrie cosmétique, l'alimentation animale mais également humaine, les fertilisants, l'environnement, et plus récemment le domaine de l'énergie et des biocarburants, sont autant de pistes de valorisation prometteuses pour ces microorganismes marins.

La chitine est un autre exemple de molécule marine à fort potentiel et aux multiples applications. Sa teneur varie de 15 à près de 40 % dans les crevettes, crabes, homards, langoustines et krill. Sa modification *via* une déacétylation, conduit au chitosane soluble dans l'eau. Ces deux polymères, ainsi que leurs éventuels dérivés ont, d'ores et déjà, trouvé des applications dans l'agro-alimentaire, comme antimicrobiens, dans les films alimentaires, et dans le

Production d'un pigment violet par une algue (*Zygonium ericetorum*) se développant en milieu acide (Yellowstone National Park, États-Unis), pigment probablement utilisé par cette algue comme « crème solaire »

