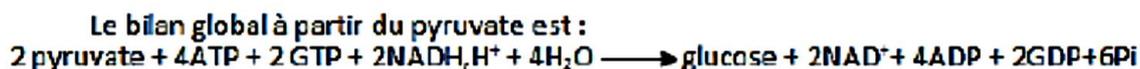
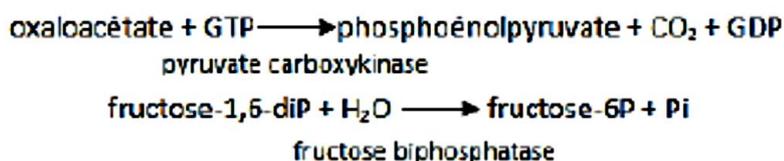


## Anabolisme : production de biomasse et de métabolites

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 phosphofructokinase ne sont pas réversibles :



### 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 y a 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

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».

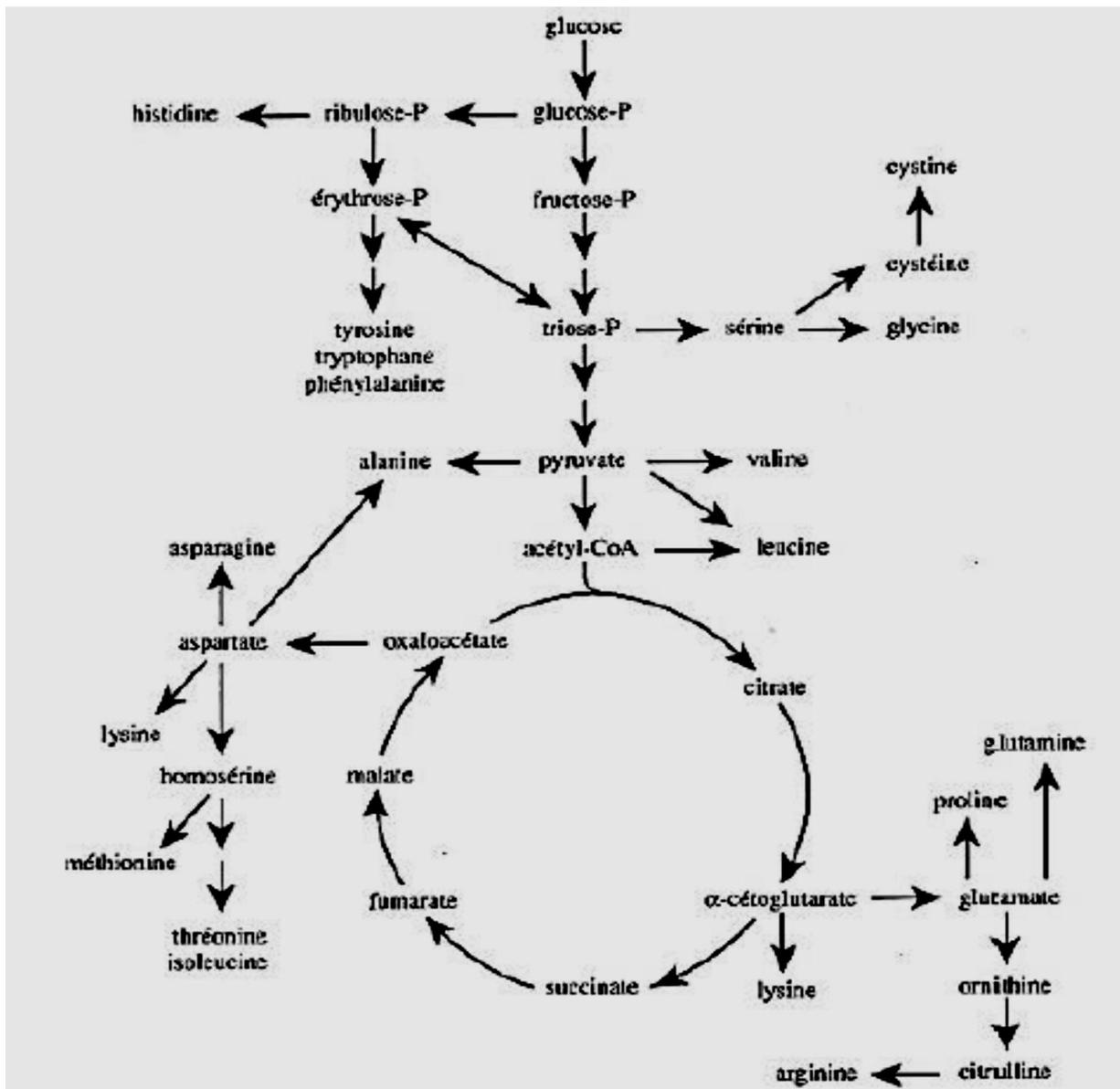


Figure : Schéma simplifié de la biosynthèse des acides aminés à partir du métabolisme glucidique

La synthèse des acides aminés s'effectue à partir de produits intermédiaires du métabolisme des glucides : érythrose-P, trioses-P (phosphoénolpyruvate, phosphoglycérate), pyruvate, acétyl-CoA, oxaloacétate, α-cétoglutarate.



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' $\alpha$ -ABA (acide  $\alpha$ -aminobutyrique) par des souches de *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas*, *E. coli*... L' $\alpha$ -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

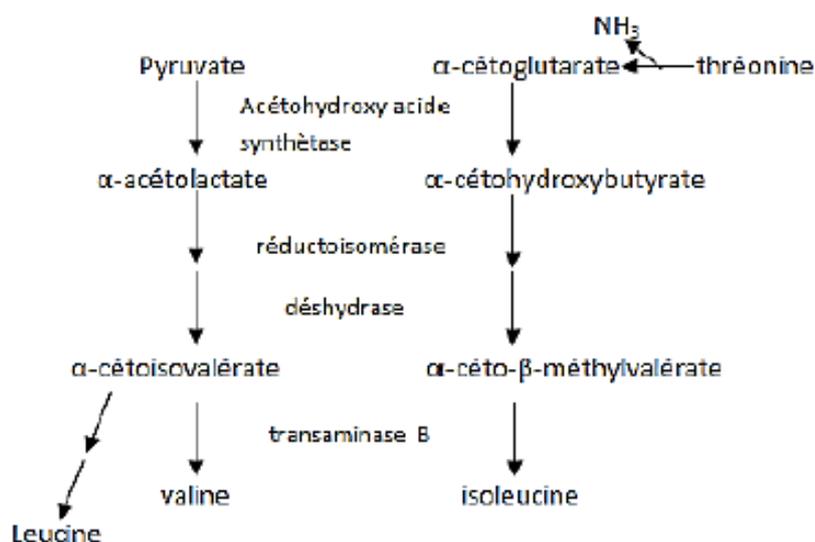


Figure : Voies de biosynthèse de la leucine, de la valine et de l'isoleucine

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. LES LIPIDES :

Les lipides sont d'importants constituants de la membrane cytoplasmique et de la paroi. Ils servent aussi comme réserves énergétiques. Les lipides bactériens sont dominés essentiellement par les acides gras à longues chaînes (C<sub>14</sub>-C<sub>18</sub>) saturés et mono-insaturés. Les poly-insaturés ne sont pas retrouvés chez les bactéries. Les stérols et les triglycérides sont rares.

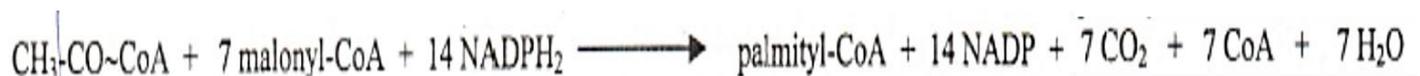
Les lipides complexes sont d'une grande importance. Le glycérol est estérifié par deux acides gras, le troisième groupement hydroxyl est estérifié par le phosphate ou un sucre. Le résidu phosphate est, à son

tour, estérifié par la sérine, l'éthanolamine ou le glycérol. Le phosphatidylglycérol, la phosphatidyléthanolamine et (rarement) le phosphatidylinositol sont retrouvés chez la plupart des bactéries. La biosynthèse des acides gras à longues chaînes consiste en une réduction puis une oxydation des groupements acétyl. En premier lieu, le groupement méthyl de l'acétyl-CoA est activé suite à une carboxylation biotine-dépendante pour former le malonyl-CoA.



Le groupement carboxyl est ensuite libéré sous forme de CO<sub>2</sub> dans une nouvelle réaction de condensation faisant au préalable intervenir l'Acyl Carrier Protein (ACP). L'acéto-acétyl-ACP est obtenu. L'intervention de deux molécules de NADPH<sub>2</sub> est nécessaire pour les prochaines étapes jusqu'à l'obtention du butyryl-ACP. Le butyryl-ACP se condense alors avec une autre molécule de malonyl-ACP, le résultat est l'addition de deux autres atomes de carbone. L'étape d'élongation, ainsi amorcée, est répétée jusqu'à l'obtention du palmityl-CoA.

La réaction globale est :



Chez *E. coli* les acides gras saturés et insaturés sont synthétisés simultanément. Les quantités d'acides gras insaturés synthétisés sont plus importantes. L'acide cis-vaccénique, l'isomère All de l'acide oléique, est le produit majeur. La voie de synthèse des deux types d'acides gras diverge au niveau de l'étape C<sub>10</sub> (β-hydroxydécanoate).

#### 4. LES NUCLEOTIDES :

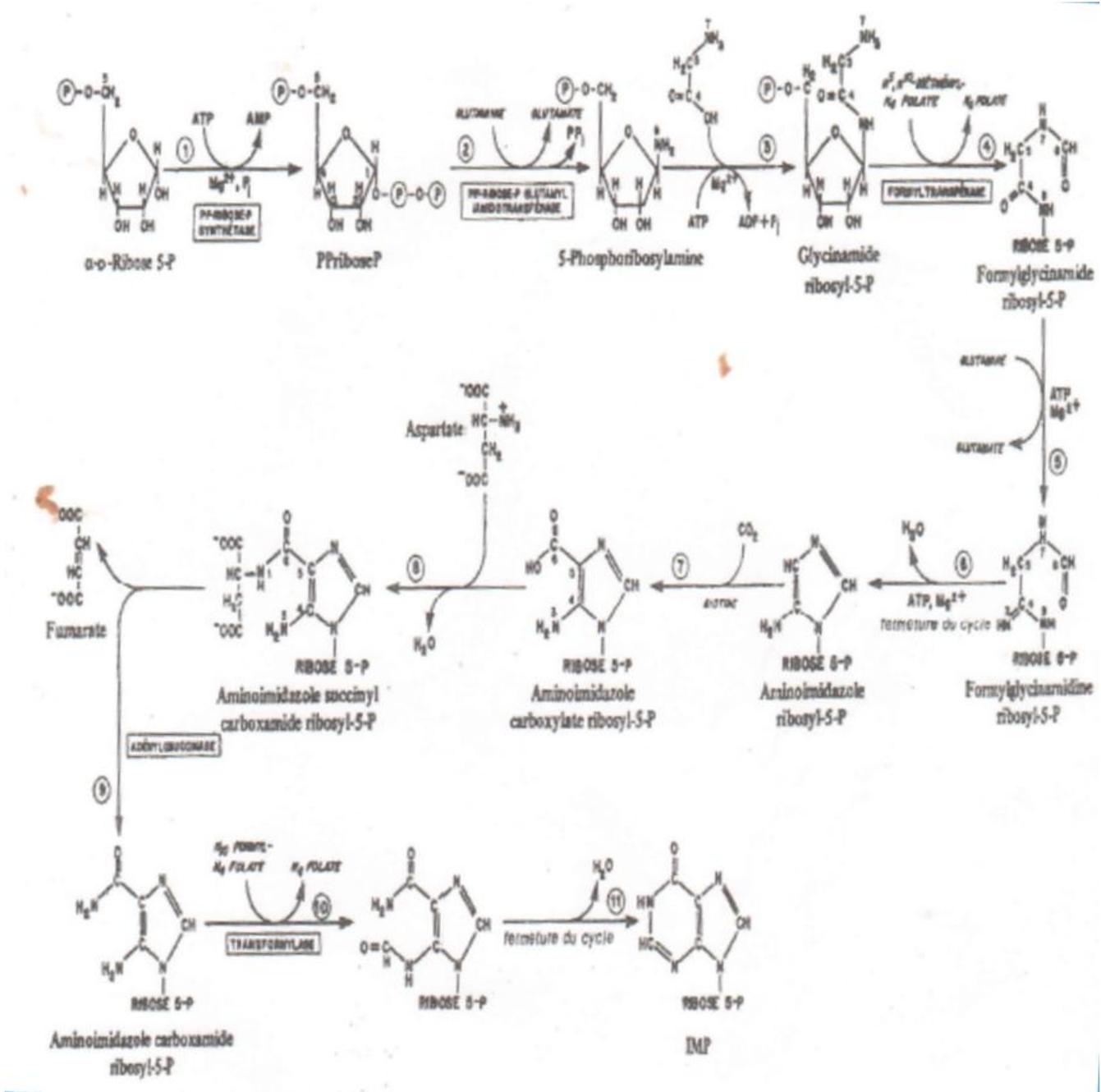
La biosynthèse des ribo- et des désoxyribonucléotides est un processus vital puisqu'ils sont les précurseurs immédiats du RNA, du DNA et des coenzymes nucléotidiques. La voie de formation des bases pyrimidiques et puriques est essentielle pour la biosynthèse des mononucléotides. presque tous les organismes vivants, à l'exception de quelques bactéries, peuvent synthétiser ces bases à partir de précurseurs très simples.

##### 4-1/ Les ribonucléotides puriques (Adénine, Guanine) :

La synthèse des ribonucléotides puriques commencent à partir du ribose-5P (Fig. 28-Z) phosphorylé en PRPP. Le PRPP réagit avec la glutamine pour donner la 5-phosphoribosylamine, du glutamate et du pyrophosphate. La phosphoribosylamine réagit ensuite avec la glycine et l'ATP pour former la 5-phosphoribosyl-glycineamide.

L'étape suivante est l'addition d'un groupe formyl qui constituera le carbone 8, elle aboutit à la formation du 5-phosphoribosyl-N-formylglycineamide, précurseur de l'IMP (Inosine 5'- monophosphate ou acide inosinique). Le groupe formyl a pour précurseur le formate et est cédé par un transporteur de radicaux

formyl le N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>-méthényl tétrahydrofolate. La source biologique au formyl est le carbone β de la sérine mais le formyl peut aussi provenir du formate endogène ou exogène.

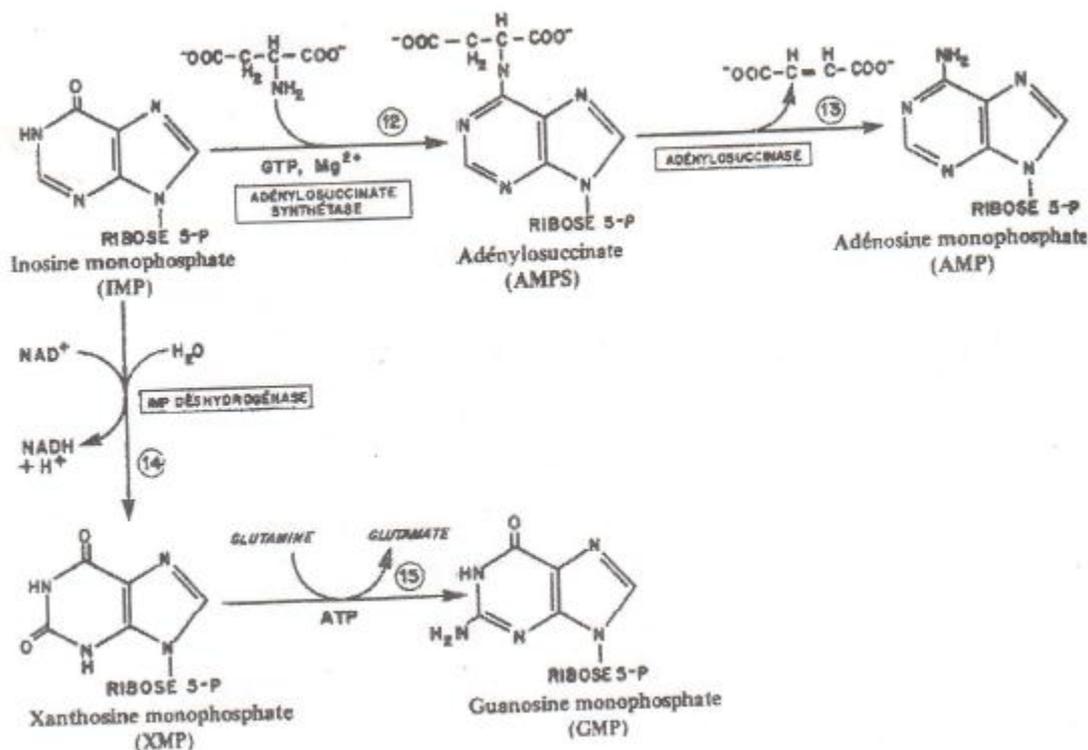


**Figure :** la voie de la biosynthèse de novo des purines à partir du ribose-4-phosphate et de l'ATP.

L'IMP est le précurseur de l'AMP et du GMP

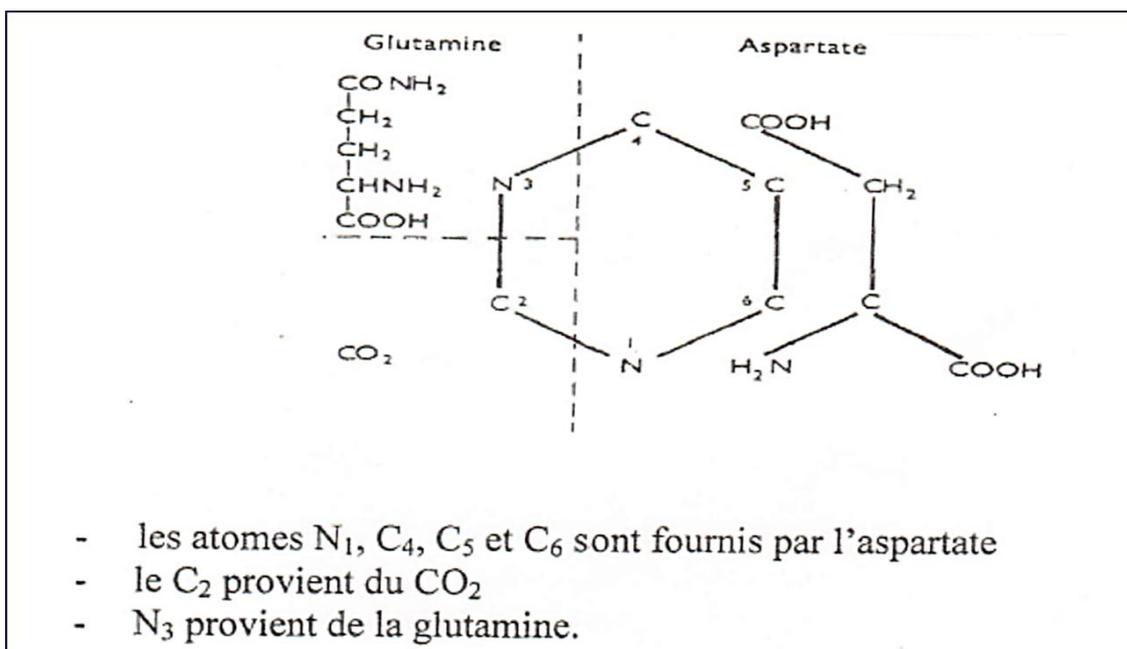
L'AMP est formée par introduction d'un groupement amine. L'atome N dérive de l'aspartate et est introduit par l'intermédiaire de l'acide adénylesuccinique. Le GMP est formé par oxydation de l'acide inosinique en acide xanthilyque (xanthosine 5'-phosphate, XMP).

L'AMP et Le GMP sont ensuite successivement convertis en 5'-di et 5'-tri-phosphate par phosphorylations p\* f nfp catalysées par des kinases.



**4.2. Bases pyrimidiques (Cytosine, Uracile, Thymine) :**

L'origine des atomes du noyau pyrimidique est indiqué par la figure

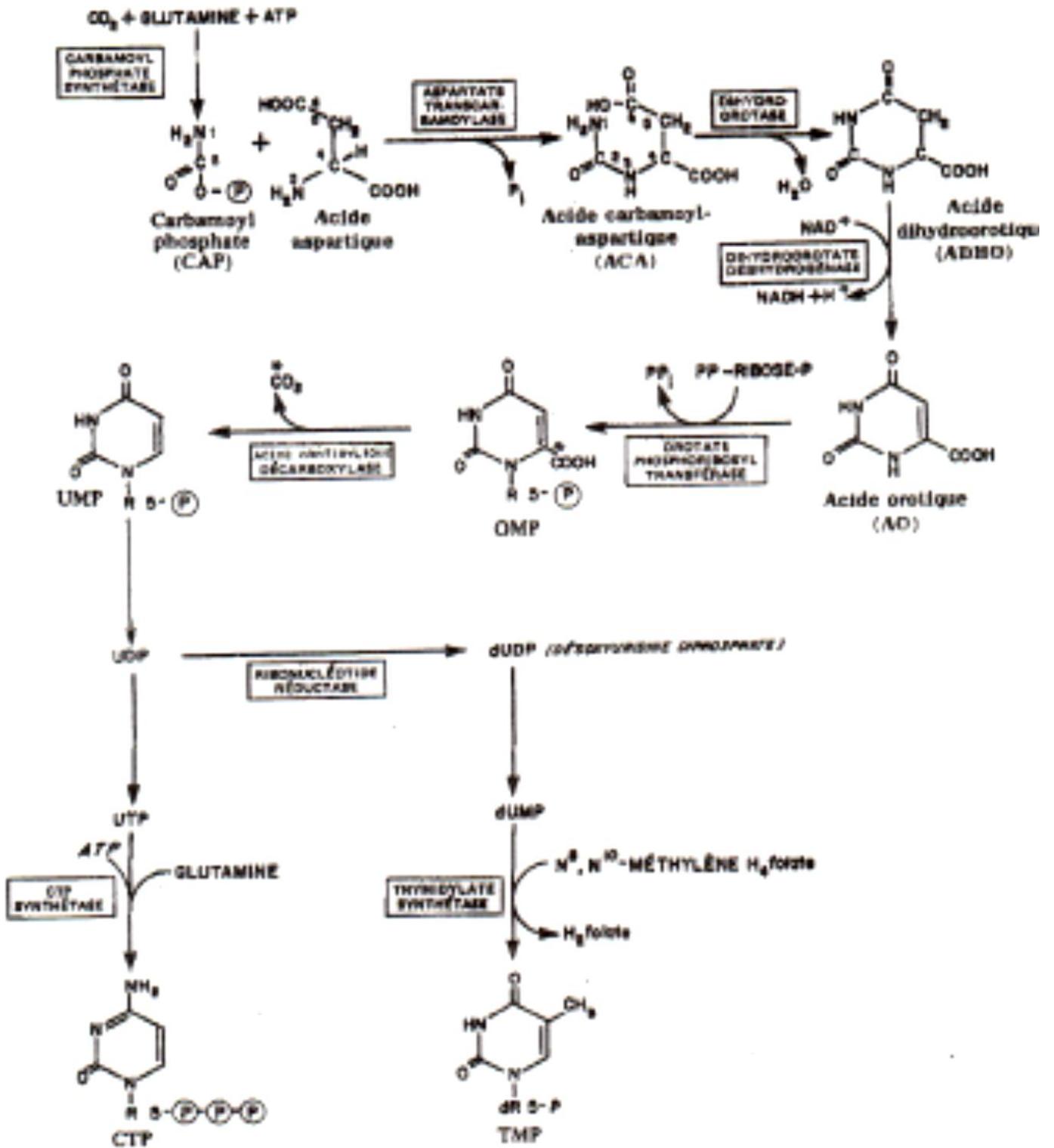


La synthèse des ribonucléotides pyrimidique commence à partir de l'aspartate et du carbomyle phosphate. Le **carbomyle phosphate** se condense avec l'**aspartate** pour former le **carbomyle-l'aspartate**

Le **noyau pyrimidique** est formé suite à une élimination d'une molécule d'eau sous l'action d'une **dihydroorotase**.

L'acide dihydroorotique est alors oxydé en acide orotique qui ensuite donnera l'UMP (acide uridylique ou uridine 5'-phosphate) puis l'UTP.

L'UTP est alors aminé sur le C4 pour donner le CTP (cytidine 5'- phosphate)



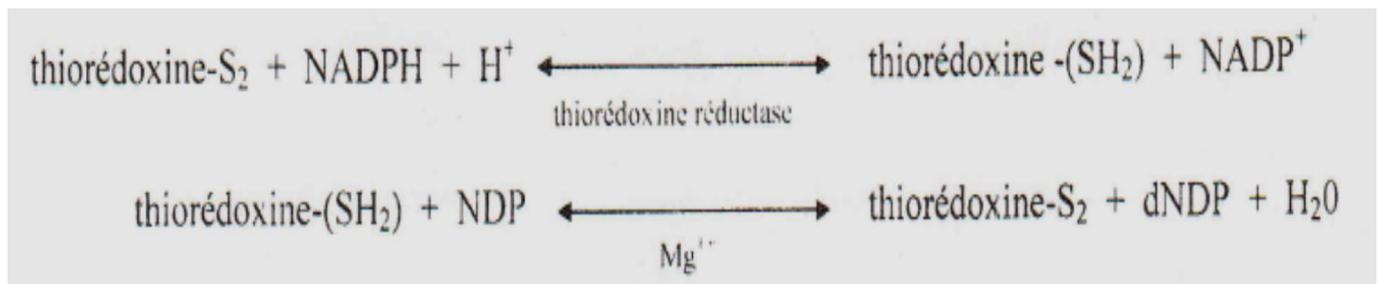
**Figure :** La voie de biosynthèse de nucléotides pyrimidiques

### 4.3. Les désoxyribonucléotides

Les désoxyribonucléotides ne sont pas synthétisés à partir du désoxyribose mais sont formés par une réduction directe des ribonucléotides sur leur carbone 2'

Chez *E. coli* les quatre **ribonucléosides diphosphate** (ADP, GDP, UDP et CDP) peuvent être réduits directement en leurs analogues **désoxy** correspondants (dADP, dGDP, dUDP, dCDP) par un système multienzymatique,

L'agent réducteur immédiat est la **thiorédoxine** qui est elle-même réduite par le **NADPH** et la **thiorédoxine réductase**.



Chez certaines bactéries (*Lactobacillus*, *Rhizobium*, *Euglena* et *Clostridium*) la s'effectue sur les nucléosides tri-phosphate. La **vitamine B12** est nécessaire. L'agent peut être la **thiorédoxine** ou l'**acide dihydrolipoïque**.

La formation du dTMP (L'ADN contient la thymine au lieu de L'uracile) est formé à dUMP par la **thymidilate synthétase** qui catalyse la méthylation de la fraction uracile.

### 5-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 (*Stapylococcus*, *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.

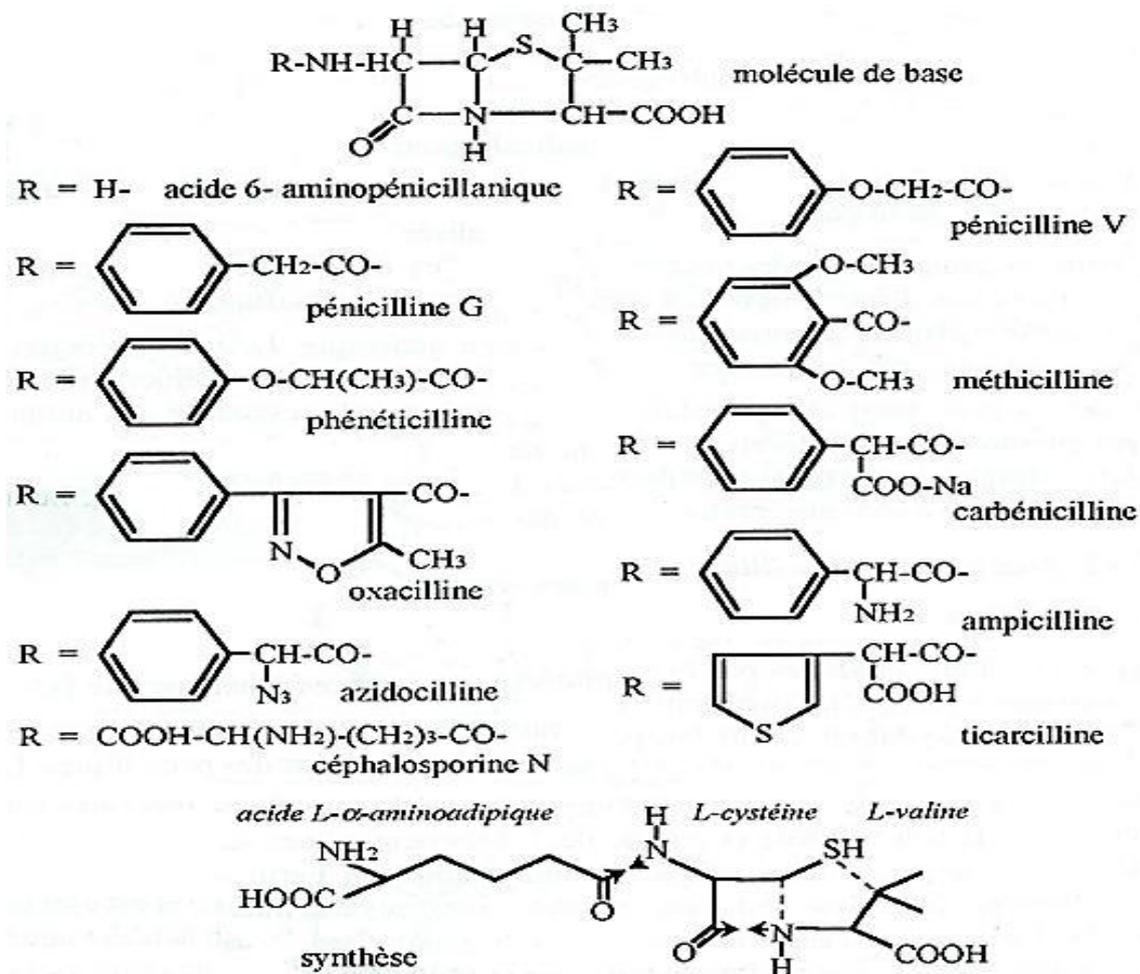


Figure : Pénicillines naturelles et semi-synthétique

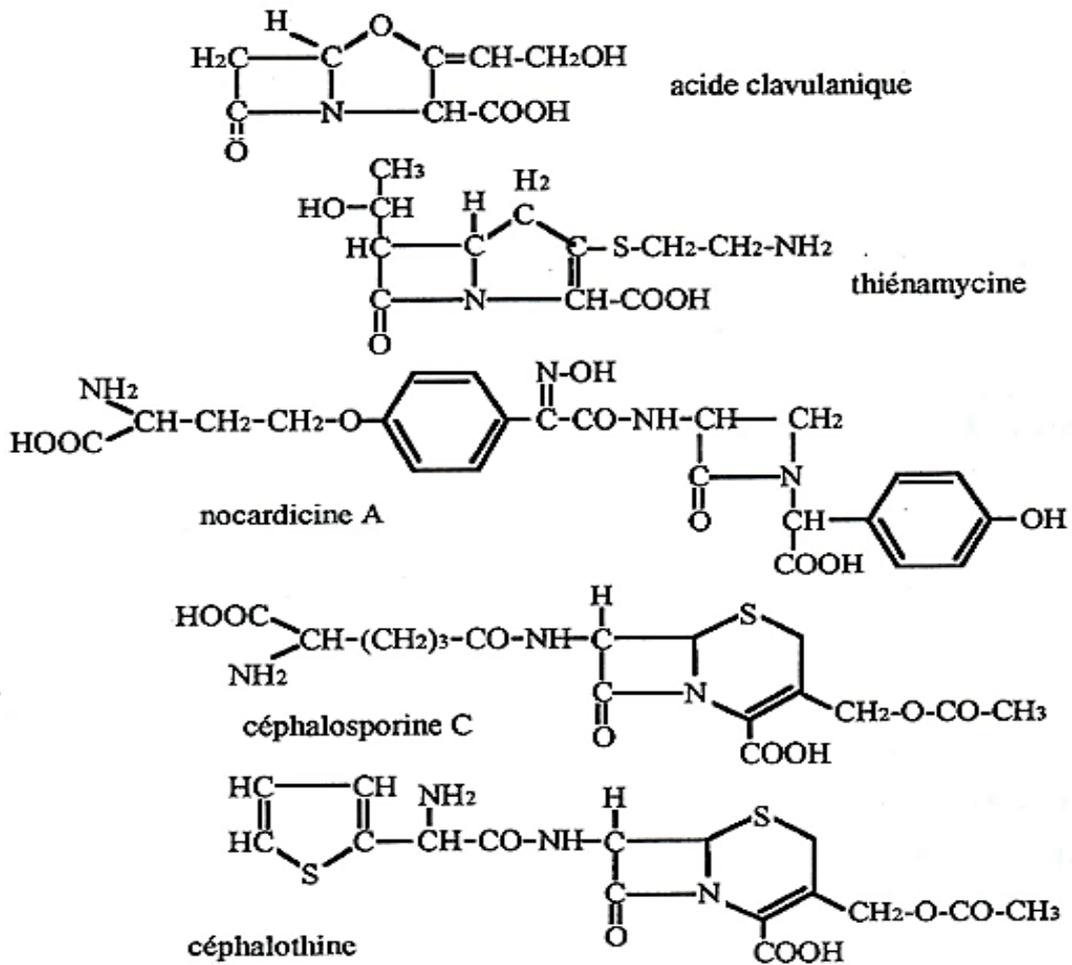


Figure : Antibiotiques divers de type  $\beta$ -lactame

## 6-Biosynthèse des hormones

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

## 7-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 diphtérique (*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.

## 8-Biosynthèse des polysaccharides

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

## 9-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  $\beta$ -carotène, précurseur de la vitamine A, est souvent préparé par voie microbiologique.

## 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, le glucose oxydase, le glucose isomérase, la dextrane sucrase, la pénicillinase, la catalase.