

Cours biotechnologie

Prof : Siouane Noureddine

Définition la **biotechnologie** :

L'application à des organismes vivants des principes scientifiques et de l'[ingénierie](#) à la transformation de matériaux vivants ou non-vivants ¹aux fins de la production de connaissances, de biens et de services.

La biotechnologie, résulte 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 [biophysique](#), la [génétique](#), la [biologie moléculaire](#), l'[informatique](#)..

Les différents types de la biotechnologie :

Devant les innombrables applications des biotechnologies, la profession a senti le besoin de clarifier et classer les domaines d'utilisation. Plutôt connues dans le grand public par leur usage controversé dans l'industrie agro-alimentaire (les OGM), il était important de ne pas mettre dans le même sac toutes les déclinaisons de ce mariage entre sciences du vivant et... toutes les autres sciences et technologies.

C'est ainsi que sont nées les grandes branches des biotechnologies, baptisées par des noms de couleurs :

1. Biotechnologies blanches : *consistent à appliquer des procédés naturels à la production industrielle* » ; il s'agit donc notamment de [génie biologique](#) appliqué au service de la [chimie](#)). Les biotechnologies blanches permettent la fabrication de produits tel que les biocarburants, les biogaz... Pour cela, on va prendre de la matière première (maïs, colza...) que l'on va transformer en produits fini (bioéthanol...) grâce à des micro-organismes. Les *technologies blanches* ont généralement recours à des [bactéries](#) utilisées comme vectrices et/ou productrices d'enzymes ou d'autres substances d'intérêt technique et commerciales.
2. Biotechnologies jaunes (traitement et élimination des pollutions) : L'usage des biotechnologies s'est développé dans la gestion de la pollution. Les biotechnologies jaunes utilisent les bioréacteurs pour cultiver des microorganismes capables de dégrader les produits toxiques ou diluer les éléments nocifs comme le mercure, afin de les rendre bénins. Ces techniques sont plus douces et meilleures marchés que la chimie traditionnelle.
3. Biotechnologies bleues : liées à l'exploitation de la diversité génétique des organismes marins, par exemple pour créer de nouveaux cosmétiques, médicaments, produits aquacoles, agroalimentaires, etc.
4. Biotechnologies vertes (d'intérêt agricole) : concernent l'agro-alimentaire et regroupent une série de technologies utilisant l'organisme des plantes et leurs cellules pour produire et transformer des produits alimentaires, des biomatériaux et de l'énergie.
5. Biotechnologies rouges (d'intérêt médical) : touchent le domaine de la santé, en particulier l'industrie pharmaceutique dont une grande partie de la recherche actuelle repose sur les biotechnologies

2. les biomatériaux

2.2. Définition des biomatériaux

Les biomatériaux sont des matériaux non viables qui sont implantés pour remplacer ou réparer des tissus. Ils peuvent être d'origine naturelle ou synthétisés en laboratoire.

2.3. Propriété des biomatériaux

Ils doivent respecter plusieurs obligations :

- **être bien tolérés par le receveur**, c'est à dire ne pas provoquer d'infection, d'inflammation, d'allergie, voire de réaction de rejet s'il s'agit de matériel vivant
- **ne pas contenir de substance toxique**, comme des perturbateurs endocriniens ou des agents cancérogènes
- **répondre à des contraintes mécaniques** pour s'adapter aux pressions exercées par l'environnement (la pression sanguine pour les prothèses vasculaires, des millions d'ouvertures et fermetures pour une valve cardiaque, le poids du corps pour des prothèses de hanche ou de genou...)

2.4. Les différents types des biomatériaux

On peut dire que quatre grandes catégories de biomatériaux peuvent être envisagées :

- ❖ les métaux et alliages métalliques,
- ❖ les céramiques au sens large,
- ❖ les polymères et la matière "molle",
- ❖ les matériaux d'origine naturelle.

2.4.1. Les matériaux d'origine naturelle.

Le souci de biocompatibilité des implants a orienté les chercheurs vers des matériaux logiquement biocompatibles puisque d'origine naturelle.

Outre les tissus biologiques retraités (valves porcines, carotide de boeuf, veine ombilicale, ...), le sulfate de chondroïtine et l'acide hyaluronique, on trouve parmi ceux-ci :

1. les greffes

Une **AUTOGREFFE** : greffe des propres tissus d'un individu à lui-même.

Les sites de prélèvement sont l'os iliaque, le ramus, la zone rétromolaire et l'os pariétal.

Une **XENOGREFFE** : greffe des tissus d'un individu à un autre d'une autre espèce.

Le porc est l'un des meilleurs animaux donneurs d'organes pour l'humain, en raison notamment de sa disponibilité et de la taille de ses organes mais nous pouvons également utiliser comme donneurs le corail, la seiche et les mammifères (cheval, vache, cochon, mouton).

Une **ALLOGREFFE** : greffe des tissus d'un individu à un autre d'une même espèce.

2. la chitine, polysaccharide extrait des coquilles de crabe, qui est susceptible d'application pour les fils de suture, la chirurgie reconstructive et la peau artificielle ;

3. les fucanes, polysaccharides extraits des algues marines (anticoagulants - anticomplémentaires, etc...);

4. les dextrans et autres polysaccharides fonctionnalisés (le dextrane est préparé par transformation de saccharose par des bactéries) ;

5. la cellulose, traditionnellement utilisée pour les membranes de dialyse, mais dont d'autres applications sont à l'étude, notamment comme ciment de prothèse de

hanche ;

6.le corail, qui pourrait être utilisé en chirurgie orthopédique et/ou maxillo-faciale, grâce à la possibilité de recolonisation de ce matériau par les cellules osseuses ;

7.le collagène, d'origine animale (extrait de la peau) ou humaine (extrait du placenta humain) et dont les applications existantes ou envisageables sont très nombreuses :

- cosmétologie et chirurgie esthétique,
- pansements et éponges hémostatiques,
- implants oculaires et pansements ophtalmologiques,
- reconstitution de tissus mous et durs à l'aide de mélanges collagène-facteurs de croissance-hydroxyapatite,
- peau artificielle (derme).

L'avantage du collagène réside dans le fait que :

- c'est un produit hémostatique,
- il a certaines propriétés mécaniques qui permettent de le manipuler,
- il est indispensable au développement cellulaire,
- il est biodégradable.

2.4.2. Les métaux et alliages métalliques (acier inoxydable, titane, cobalt, chrome, molybdène, tantale...)

Ce sont en quelque sorte les "ancêtres" des biomatériaux puisque ce sont les premiers à avoir été utilisés pour faire des implants. Le plus important par les volumes est sans doute **l'acier inoxydable**, encore largement utilisé en chirurgie orthopédique. L'intérêt de l'acier inoxydable dans ce domaine réside dans ses propriétés mécaniques.

Il faut également mentionner particulièrement le titane, qui est utilisé principalement en chirurgie orthopédique et pour réaliser des implants dentaires. On le trouve également dans les stimulateurs cardiaques et les pompes implantables. L'un des avantages principaux du titane est sa bonne biocompatibilité : l'os adhère spontanément au titane. Les alliages à mémoire de forme sont une variante intéressante de cette catégorie. On utilise également des alliages cobalt, chrome, molybdène, du tantale, etc.

Les principaux problèmes mal résolus avec les métaux et alliages métalliques sont les suivants :

- ✓ corrosion électrochimique et durabilité,
- ✓ mécanismes de dégradation non électrochimiques incluant les interactions protéine/métal,
- ✓ réactions immunitaires et d'hypersensibilité,
- ✓ adaptation des propriétés mécaniques,
- ✓ propriétés de frottements et problèmes de débris.

2.4.3. Les céramiques (alumine, zircone, hydroxyapatite, phosphate tricalcique...)

Ce sont matériaux non métalliques et non organiques obtenus par l'action de fortes températures. Ce sont ces fortes températures qui induisent, au cœur de la matière première, une transformation irréversible qui confère à la céramique produite, des propriétés nouvelles : solidité et résistance à l'usure

, résistance à la chaleur, propriétés isolantes, etc.

Les céramiques sont obtenues par frittage Récemment, l'homme a constaté que les céramiques et leurs composites peuvent être utilisées pour réparer ou remplacer plusieurs organes dans le corps et en particulier l'os

Les céramiques utilisés dans la fabrication des implants peuvent être classées en deux catégories:

- bio-inertes ou non résorbables (relativement inerte)
- biodégradables ou résorbables (non inertes)
- L'alumine, le zircon, les nitrures de silicone, et les fibres de carbones sont des biocéramiques inertes.
- L'hydroxyapatites denses et le phosphate tricalcique sont des céramiques résorbables.

Propriétés des céramiques

Les biocéramiques ont les propriétés mécaniques suivantes:

- ❖ très grande résistance à la compression
- ❖ très dures
- ❖ Bonne résistance à l'usure
- ❖ Résistance à la traction faible mais peut être amélioré dans les composites de céramiques
- ❖ grande résistance au cisaillement
- ❖ non résilient (ne résiste pas au choc) donc fragile
- ❖ non ductile (pas de déformation plastique)

Les biocéramiques ont les propriétés biologiques suivantes:

- ✓ Non toxiques
- ✓ Non cancérogènes
- ✓ Non allergiques
- ✓ Non inflammatoires
- ✓ biocompatibles
- ✓ biofonctionnelles pendant toute la durée d'implantation

Les biocéramiques ont aussi les propriétés suivantes:

- mauvais conducteur d'électricité
- mauvais conducteur de chaleur
- température de fusion très élevée

Hydroxyapatites HA

Les hydroxyapatites synthétiques, de formule $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$, sont ostéophiles, ostéoconducteurs, non résorbables et biocompatibles. Il existe des hydroxyapatites poreuses ou denses (peu utilisés car ils ne permettent pas l'envahissement cellulaire et osseux).

Phosphate tricalcique : α TCP – β TCP

Forme poreuse du phosphate de calcium. Généralement encapsulé par du tissu conjonctif, le phosphate tricalcique $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ne stimule pas la croissance osseuse. La forme la plus utilisée en odontologie.

L'alumine et la zircon

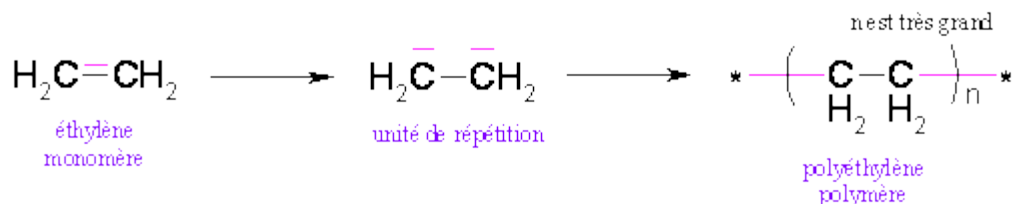
Utilisées dans les têtes de prothèses de hanche, ainsi qu'en odontologie pour les implants dentaires

4. les polymère

Définition de polymère

Polymère une grande molécule constituée d'unités fondamentales appelées **monomères** (ou motifs monomères) reliées par des liaisons covalentes.

Exemple :



Un **monomère** est un composé constitué de molécules simples pouvant réagir avec d'autres monomères pour donner un polymère. Contrairement au polymère, un monomère a une faible masse moléculaire.

Exemple : $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ est l'unité du polymère.

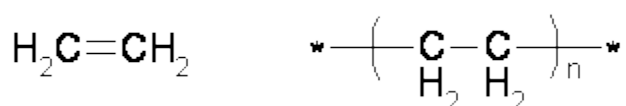
Les polymères peuvent être d'**origine naturelle** (animale ou végétale) ou d'**origine synthétique**. Les macromolécules naturelles sont les caoutchoucs, les polysaccharides, le glycogène, l'ADN, les protéines

Les macromolécules synthétiques sont représentées par exemple par le polyéthylène, le polypropylène, le polystyrène, le PVC, le PTFE, les polyesters, les polycarbonates, les polysiloxanes, les polyimides

Exemple

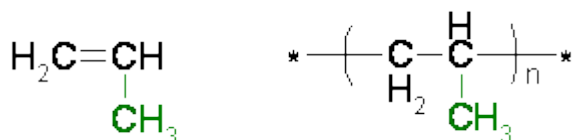
des polymères d'origine synthétique

Le polymère le plus utilisé est le polyéthylène



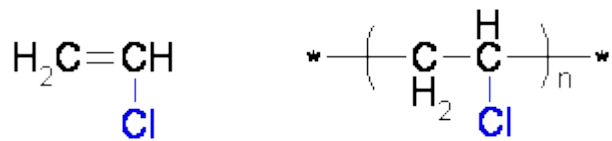
C'est le matériau d'emballage par excellence.

Le deuxième polymère fort utilisé est le polypropylène



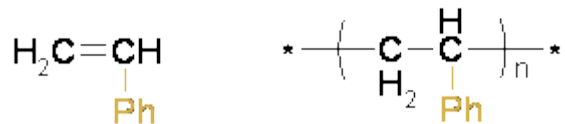
C'est un plastique dur. On le retrouve dans tous les matériaux de plomberie.

Le polychlorure de vinyle



On l'utilise pour la fabrication des chaussures synthétiques et des disques.

Le polystyrène

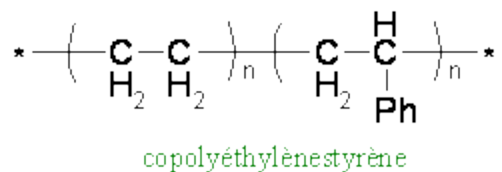


On s'en sert pour les emballages.

Un **homopolymère** est un polymère qui comporte des motifs monomères tous identiques.

Un **copolymère** est un polymère qui comporte des motifs monomères de deux ou plus sortes différentes.

Exemple d'un copolymère :



Chapitre 2

Biotechnologie environnementale

Introduction

Le traitement biologique, qu'il concerne des terres excavées ou des sols et nappes phréatiques encore en place, consiste à utiliser des micro-organismes pour transformer des substances chimiques toxiques en substances non toxiques. Les micro-organismes sollicités sont souvent des bactéries bien que les champignons jouent un rôle dans certains traitements ex situ

1. Définition de biorestauration

La **biorestauration** est une action de restauration d'un écosystème dégradé par le recours à des organismes vivants (microbes par exemple) pour éliminer les déchets toxiques qui s'y trouvent.

Exemple : Dans le cadre d'une bioremédiation, des roseaux peuvent par exemple être plantés en bordure d'un plan d'eau dans le but d'en extraire des phosphates présents en trop grande concentration



2. Types de biorestauration

Les principaux types de biorestauration sont les suivants:

- **Biostimulation** -- Ajout de substances nutritives et d'oxygène, sous forme liquide ou gazeuse, aux eaux usées ou aux sols contaminés pour favoriser la croissance et le développement de bactéries déjà présentes dans le milieu. La disparition des contaminants est contrôlée afin de garantir l'efficacité des mesures correctives.
- **Bioaugmentation** -- Ajout de micro-organismes aptes à nettoyer un polluant particulier aux eaux ou aux sols contaminés. La bioaugmentation est généralement utilisée avec succès sur des polluants retirés de leur site d'origine, comme par exemple dans des installations municipales de traitement des eaux usées. Jusqu'à présent, cette méthode n'a pas eu beaucoup de succès dans les sites pollués, en raison de la difficulté de contrôler les conditions du site pour optimiser la croissance des micro-organismes introduits. Comme les scientifiques n'ont pas encore compris tous les mécanismes que comporte la biorestauration, les organismes introduits dans un environnement étranger ont parfois de la difficulté à survivre.

- **Biorestauration intrinsèque** -- Aussi connue sous le nom d'atténuation naturelle, ce type de biorestauration se produit naturellement dans les sols et les eaux contaminés. Cette biorestauration naturelle est le travail de micro-organismes que l'on retrouve dans les sites contaminés par des produits pétroliers, tels que les anciennes stations d'essence dont les réservoirs souterrains fuyaient. Les chercheurs tentent de déterminer si la biorestauration intrinsèque se produit dans des zones contaminées par d'autres types de produits chimiques. L'application de cette technique exige un contrôle étroit de la dégradation des polluants afin de veiller à la protection de l'environnement et de la santé humaine.

Chacun des trois types de biorestauration peut être utilisé sur le site contaminé (in situ) ou sur des produits contaminés prélevés sur le site et transportés ailleurs (ex situ). Dans le cas de sols, de sédiments et de boues pollués, la technique peut nécessiter la préparation de la terre afin que les micro-organismes soient bien pourvus en substances nutritives et en oxygène.

3. Fonctionnement de la biorestauration

La biorestauration repose sur les processus biologiques naturels des micro-organismes, dont le métabolisme.

3.1. **Métabolisme microbien**

Le métabolisme est l'ensemble de toutes les réactions chimiques qui se produisent dans une cellule ou un organisme. Tous les processus de la vie sont basés sur une série complexe de réactions chimiques. Le processus métabolique se divise en deux phases : l'anabolisme, qui élabore des structures moléculaires complexes à partir de molécules plus simples, et le catabolisme, qui dégrade les molécules complexes en molécules plus simples. Les produits chimiques des sites pollués peuvent être dégradés par l'un ou l'autre de ces processus, ou les deux.

3.2. **Anabolisme – la construction**

Dans le cas de l'anabolisme, les produits chimiques absorbés par le micro-organisme sont utilisés pour bâtir diverses parties de la cellule. Le carbone et l'azote sont les produits chimiques de base des protéines, des sucres et des acides nucléiques qui composent les cellules microbiennes. Les micro-organismes puisent le carbone et l'azote du sol, de l'eau et de l'air qui les entourent. Pour absorber les substances nutritives et les transformer en éléments de cellules, les micro-organismes ont besoin d'énergie. C'est là que le catabolisme entre en jeu.

3.3. **Catabolisme – la dégradation**

Le catabolisme permet aux micro-organismes de puiser de l'énergie dans les produits chimiques disponibles dans l'environnement. Bien que la plupart des micro-organismes soient exposés à la lumière et aux sources chimiques d'énergie, ils comptent généralement sur les produits chimiques pour se doter d'énergie. Lorsque les produits chimiques se dégradent, ils libèrent de l'énergie, que les micro-organismes utilisent pour effectuer des fonctions cellulaires telles que celles de l'anabolisme.

4. Rôle de l'anabolisme et du catabolisme en biorestauration

Les produits chimiques présents dans les sites contaminés prennent part aux processus d'anabolisme et de catabolisme. Par exemple, les hydrocarbures (qui sont des dérivés du carbone) présents sur les sites renfermant des produits pétroliers peuvent être absorbés par les micro-organismes, qui les utilisent comme éléments cellulaires de base. Les micro-organismes ont besoin de certains autres produits chimiques, notamment les composés chimiques associés au phosphore, au potassium, au calcium et au sodium. Les micro-organismes ont également besoin d'infimes quantités de certains autres éléments chimiques, y compris le chrome, le cobalt, le cuivre et le fer, disponibles en abondance dans les sites contaminés.

5. Traitement des eaux usées.

5.1. Définition de la pollution de l'eau

La pollution de l'eau toute modification chimique, physique ou biologique de la qualité de l'eau qui a un effet nocif les êtres vivants la consommant. Quand les êtres humains consomment de l'eau polluée, il y a en général des conséquences sérieuses pour leur santé. La pollution de l'eau peut aussi rendre l'eau inutilisable pour l'usage désiré.

5.2. Les paramètres qui définissent la qualité de l'eau

Les paramètres fréquemment réglementés sont :

- la qualité organoleptique (couleur, turbidité, odeur, saveur) ;
- certains paramètres physico-chimiques naturels (température, pH, chlorures : 200 mg/l, sulfates : 250 mg/l, etc.) ;
- la présence de substances dites *indésirables* (nitrates : 50 mg/l, nitrites, pesticides, etc.) ;
- la présence de substances toxiques (arsenic, cadmium, plomb, hydrocarbures, etc.) ;
- certains paramètres microbiologiques ; l'eau ne doit pas contenir d'organismes pathogènes, notamment de coliformes fécaux).

Ces paramètres peuvent être assurés par un traitement spécifique de l'eau ; dans certains cas il pourra s'agir d'un simple stockage en milieu hermétique (citerne souple) ou autre, permettant la stabilisation biologique.

5.2. Les principaux types de pollutions

5.2.1 Pollution physique : IL s'agit d'une pollution qui se traduit par la présence des particules de taille et de matière très variés dans l'eau, qui lui confèrent un caractère trouble. On distingue aussi les matières décantées (plus lourdes que l'eau), les matières flottables (plus légères que l'eau) et les matières non séparables (de même densité que l'eau). La pollution physique désigne l'autre type de pollution, telle que la pollution thermique due aux températures élevées qui cause une diminution de la teneur en oxygène dissous ainsi qu'une réduction de la solubilité des gaz et la pollution radioactive.

5.2.2. Pollution chimique : La pollution chimique de l'eau est due essentiellement aux déversements de polluants organiques et des sels de métaux lourds par les unités industrielles. L'enrichissement des sols pour intensifier l'agriculture par diverses catégories d'engrais et de pesticides est également à l'origine de la pollution chimique des sources et des nappes souterraines. Ces substances exercent un

effet toxique sur les matières organiques et les rendent plus dangereuse. Les polluants chimiques sont classés en cinq catégories :

- ✓ Les polluants chimiques dits indésirables (nitrate, les composés phosphorés et les sels ammoniacaux).
- ✓ Les polluants chimiques toxiques.
- ✓ Les pesticides et produits apparentés.
- ✓ Les hydrocarbures.
- ✓ Les détergents.

6. Les différents procédés d'épuration des eaux usées

Il existe différents procédés d'épuration des eaux usées des agglomérations

6.1. Les stations d'épuration

Principe de fonctionnement d'une station d'épuration urbaine.

Il existe différents procédés d'épuration des eaux usées des agglomérations. Si les petites collectivités peuvent recourir à des procédés dits « rustiques » (lagunages naturels, lits à macrophytes, filtres à sable,....).

La chaîne de traitement des effluents urbains comprend en général dans l'ordre :

Une première phase d'élimination des petits déchets flottants et des matières en suspension :

le dégrillage : passage des effluents à travers un crible pour enlever les petits déchets (morceaux de plastique, de papiers,...)

le déssableur : fosse où sont piégés par gravité les graviers et sables. Cette opération permet que ces éléments durs ne provoquent pas de dégâts dans les installations d'épuration et notamment les pompes.

le déshuileur : piège les huiles et les graisses qui flottent naturellement à la surface de l'eau. L'injection de bulles d'air dans l'effluent favorise la remontée des huiles à la surface,

le décanteur primaire : est un grand bassin où les matières restantes se déposent au fond par gravité pour former des boues.

Les boues sont retirées par pompage et dirigées pour être stockées en attendant leur évacuation dans un silo à boues....

Une seconde phase d'élimination des produits dissous dans les eaux :

Dans le **bassin d'activation**, on transforme la matière organique dissoute en accélérant les processus d'autoépuration naturels qui se développent dans les rivières, par une oxygénation poussée (injection d'air ou brassage mécanique) qui va favoriser la consommation par les bactéries des matières organiques, transformées essentiellement en nitrates dissous dans l'eau.

Ensuite, dans une phase **de clarification** (appelée aussi de « décantation secondaire »), les eaux déposent encore des boues. Une part de ces boues, très riches en micro-organismes, peu être pompée pour être réinjectée dans le bassin d'activation pour le réensemencer, c'est à dire l'enrichir en bactéries et augmenter l'épuration. L'excédent des boues est envoyé dans le silo à boue.

Après épuration, les eaux sont rejetées dans le milieu naturel.

Ces eaux épurées contiennent en solution : des nitrates provenant de la décomposition des matières organiques, des phosphates provenant en grandes parties des lessives des traces de produits chimiques qui n'ont pas été dégradés ou piégés dans les boues de la station.

Le rendement de la station d'épuration se mesure en comparant la charge organique des eaux à l'entrée et à la sortie de la station.

Le rejet de nitrates et de phosphates favorise l'eutrophisation des rivières. Pour pallier à cette situation, certaines stations d'épuration peuvent être équipées de traitements complémentaires pour réduire la présence d'azote et de phosphore dans le rejet.

La dénitrification : pour éliminer l'azote, la station d'épuration doit être équipée d'un système de dénitrification des eaux épurées avant leur rejet en le faisant passer dans un bassin spécifique d'anoxie ; On y prive d'air les bactéries d'épuration qui s'emparent des atomes d'oxygène des molécules de nitrates, ce qui libère de ce fait leurs atomes d'azote qui s'échappent sous forme gazeuse vers l'atmosphère.

La déphosphatation Un flocculant (chlorure ferrique, sulfate d'aluminium, ..) est ajouté dans la station d'épuration aux effluents. Les molécules de ce flocculant fixent les particules phosphorées de suspension qui s'agglutinent pour former un floc qui précipite au fond du bassin traitement pour former de la boue d'épuration.

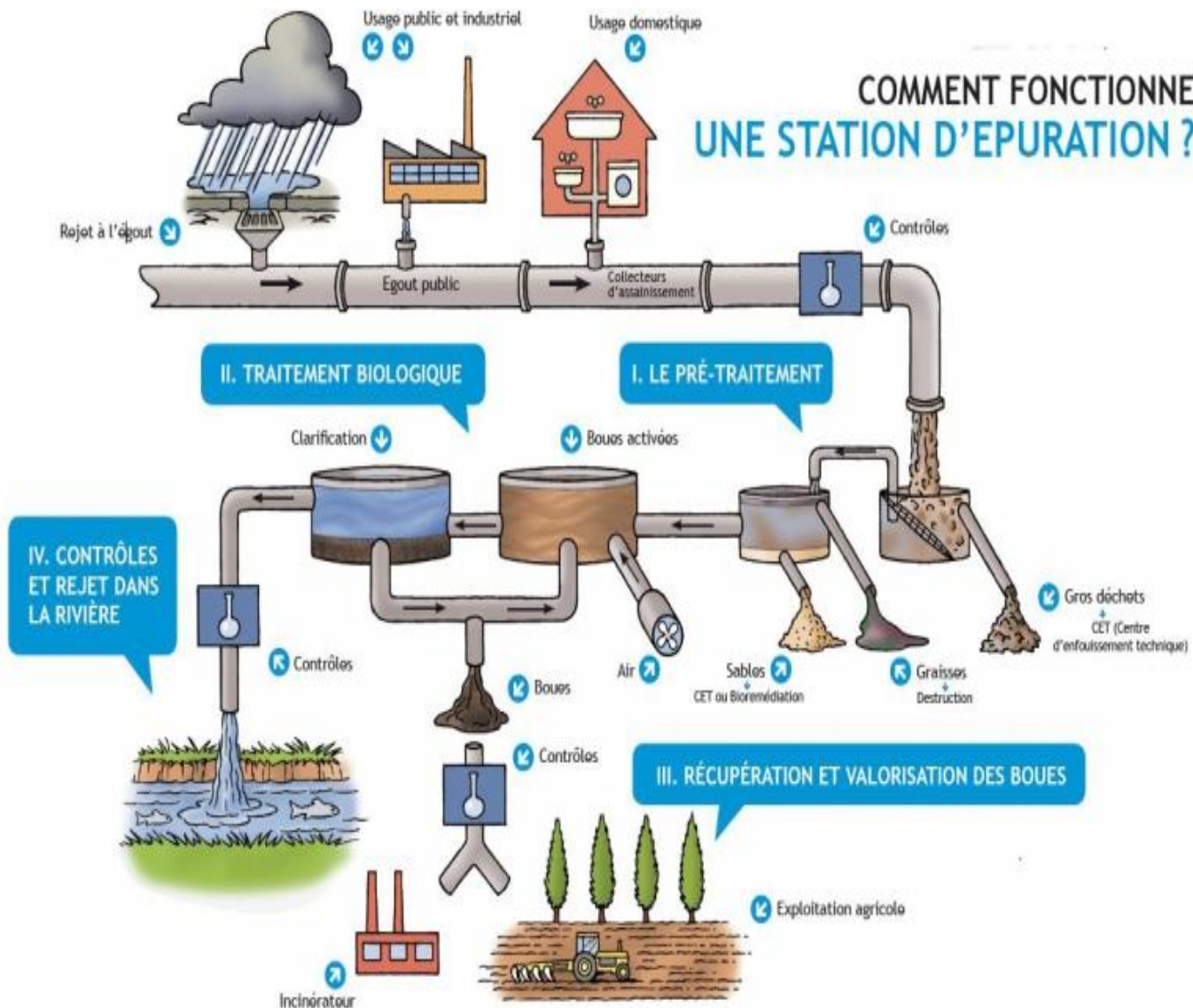


Figure 01 : principe de fonctionnement d'une station d'épuration.

6.2. La phytoépuration

6.2.1. La définition de La phytoépuration :

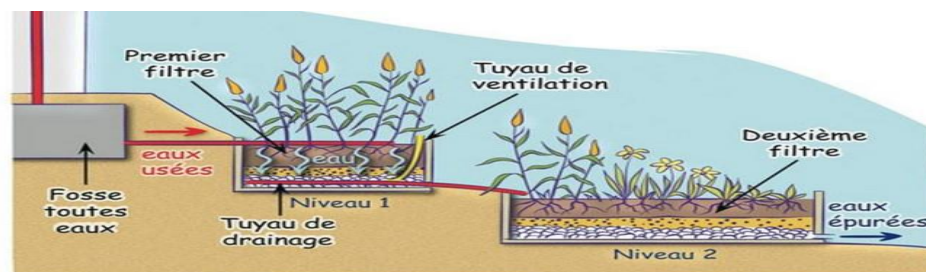
La phytoépuration est pour ainsi dire, un ensemble de techniques naturelles issues de la combinaison des végétaux du sol et des micro-organismes dans un écosystème qui a été créé spécifiquement pour cela. La phytoépuration permet surtout de traiter les nitrates et les phosphates, ainsi que des métaux qui sont les principaux polluants des eaux. En ce sens, le procédé de phytoépuration élimine les agents biologiques infectieux présents dans les eaux.

6.2.2. Fonctionnement de la phytoépuration

Tout d'abord, il conviendra de sélectionner des plantes spécifiques possédant la capacité d'absorber les polluants. Ces plantes sont accessibles par tout un chacun qui veut investir dans le procédé de phytoépuration. Les plantes épuratrices les plus communes sont les bambous, les roseaux, les massettes ou encore les laïches. Les bactéries présentes dans les racines de ces plantes ont la propriété de purifier l'eau, de par leurs spécificités organiques. En général, le procédé est constitué de trois étapes distinctes, notamment : le prétraitement, le traitement des composés chimiques et le traitement biologique de l'eau.

6.2.3. Les différentes étapes de purification d'eau par la phytoépuration

- **1^{ère} étape** : la première étape de ce procédé d'épuration d'eau, les petits cailloux préinstallés dans un bassin et les racines des roseaux plantés dans ce bassin gardent les macros particules à la surface de l'eau et les autres éléments se changeront ensuite en compost.
- **2^{ème} étape** : la deuxième étape, qui est le traitement des composés chimiques, les plantes aspirent les nitrates et les phosphates et les métaux qui sont présents dans l'eau. Cette deuxième étape assure aussi la décomposition de polluants, surtout ménagers, présents dans l'eau.
- **3^{ème} étape** : le traitement biologique est la phase finale pendant laquelle les bactéries décomposent les composts stockés au niveau des racines pour les modifier en matières minérales nourrissantes des plantes. En ce sens, la purification de l'eau sera effective en quelques étapes.



Chapitre 03

BIOTECHNOLOGIE INDUSTRIELLE (blanche)

1. Clonage par recombinaison

Le microbe *Escherichia coli* (*E. coli*) est probablement l'organisme le plus étudié et le plus compris de la planète. La plupart de ses gènes et de ses mécanismes biochimiques ayant été identifiés par les scientifiques, il nous est ainsi plus facile de le manipuler afin de pouvoir en profiter pleinement. Bien que cette bactérie ait toujours eu mauvaise presse, son utilité dans le domaine de la biotechnologie ne fait aucun doute. Les bactéries emmagasinent la plupart de leurs gènes (parties d'ADN qui servent à encoder les protéines) dans une seule molécule d'ADN, mais elles comprennent également des fragments mobiles d'ADN; ce sont les **plasmides** (voir la Figure 1). Les bactéries contiennent souvent des plasmides dans leurs cellules et les utilisent en cas « d'urgence »; par exemple, les plasmides renferment généralement des gènes qui favorisent la **résistance aux antibiotiques**. Ce sont des gènes qui ne seraient pas nécessaires dans des conditions normales, mais qui sont très utiles en présence d'un antibiotique (la pénicilline, l'ampicilline, l'érythromycine, etc.) qui normalement détruirait la cellule.

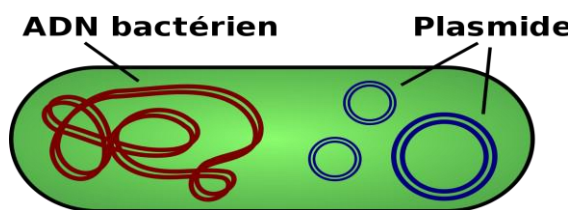


Figure 1 : ADN bactérien et plasmides.

Ces mêmes plasmides (aussi appelés **vecteurs**) sont le moyen utilisé par les scientifiques pour insérer des « gènes d'intérêt » dans les bactéries. Un « gène d'intérêt » est un gène qu'un scientifique peut vouloir étudier afin d'en apprendre davantage sur sa fonction (son action), sa structure (son apparence) ou sa séquence (le codage de l'ADN). Le processus qui consiste à insérer des gènes dans un vecteur pour former une nouvelle molécule d'ADN qui pourra se répliquer en cellule hôte est appelé **clonage par recombinaison** (aussi connu sous le nom de **clonage moléculaire**). Ici, « recombinaison » signifie que deux différents brins d'ADN qui ne coexisteraient pas normalement sont combinés; le « clonage » consiste à créer de multiples copies d'organismes génétiquement identiques (**clones**).

Le processus de clonage bactérien par recombinaison est constitué de quatre étapes fondamentales. Ces étapes sont :

1. Réactions de ligature
2. Transformation
3. Sélection et propagation
4. Isolement

Examinons de plus près chacune de ces étapes.

1. Réactions de ligature

La première étape de ce processus consiste à transférer le « gène d'intérêt » dans le plasmide qui sera absorbé par la bactérie *E. coli*. Mais comment les scientifiques s'y prennent-ils au juste pour introduire le gène dans le plasmide? Premièrement, ils utilisent des protéines spéciales appelées **enzymes de restriction** afin de couper le gène et le plasmide à des endroits précis qui sont complémentaires. Les deux parties d'ADN libres se rencontrent avec l'aide d'une autre enzyme appelée l'ADN **ligase** et se combinent (**ligature**) pour former un **plasmide modifié** (voir la Figure 2).

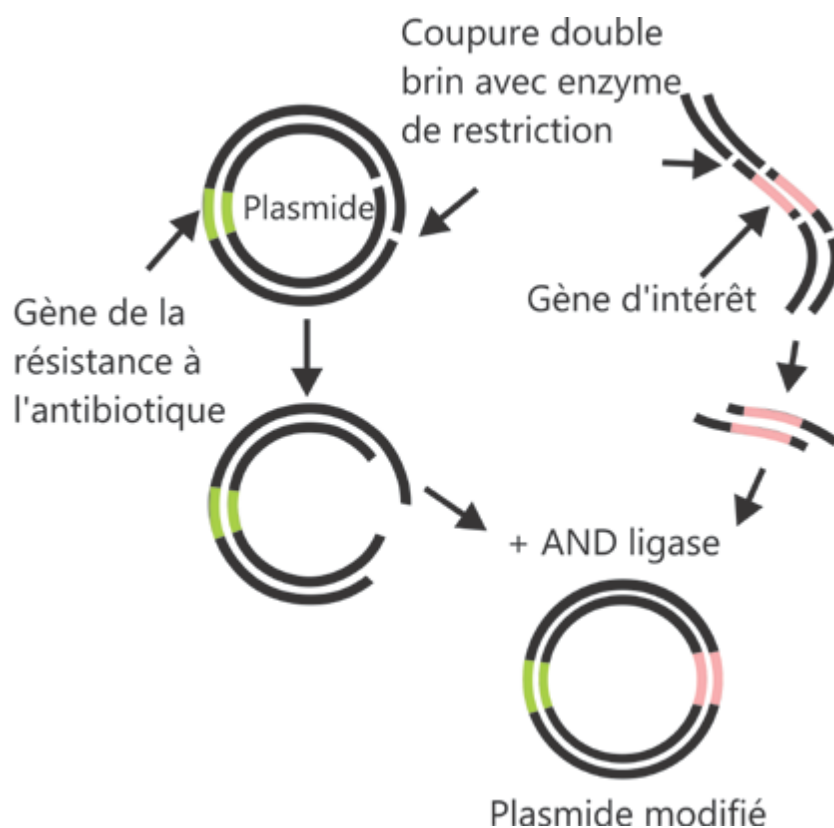


Figure 2 : Les brins d'ADN sont coupés et se réassocient avec l'ADN ligase.

2. Transformation

Nous sommes maintenant en présence d'un plasmide contenant le « gène d'intérêt ». Cependant, un plasmide ne peut pas cloner un gène par lui-même; il a besoin d'un système hôte pour faire des copies du plasmide (et ainsi, faire des copies du « gène d'intérêt »). Le système hôte le plus efficace est une bactérie, en particulier les bactéries *E. coli* puisque celles-ci se divisent et croissent rapidement. Une seule cellule *E. coli* peut se croître et se diviser en milliards de cellules en seulement 24 heures! Si une bactérie *E. coli* est porteuse d'un plasmide renfermant le « gène d'intérêt », le plasmide sera dupliqué chaque fois que la bactérie se dupliquera. Par conséquent, au cours d'un cycle de croissance d'une durée de 24 h, des milliards de copies (clones) du gène pourraient être produites!

Maintenant, comment pouvons-nous convaincre les bactéries de devenir des hôtes pour nos plasmides? Dans un premier temps, de nombreux types de bactéries absorberont naturellement les molécules d'ADN dans leur environnement, mais pour maximiser l'assimilation, il est possible de traiter les bactéries *E. coli* avec des produits chimiques afin qu'il soit plus facile pour elles d'absorber l'ADN plasmidique. Un des moyens d'y parvenir est de faire croître la bactérie *E. coli* avec un mélange contenant les plasmides et du sel. La pression osmotique (c.-à-d. une concentration élevée de sel à l'extérieur des cellules et une faible concentration de sel à l'intérieur des cellules) et la présence des plasmides provoqueront l'introduction des plasmides dans les cellules *E. coli* (voir la Figure 3).

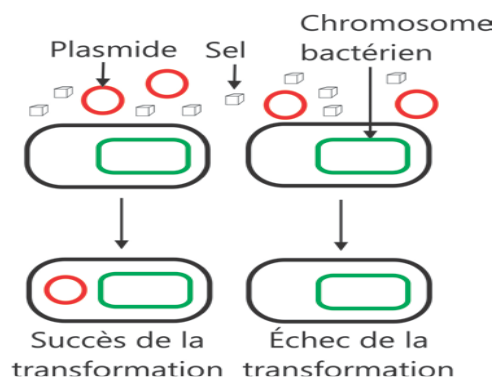


Figure 3 : Des bactéries sont amenées à absorber des plasmides.

3. Sélection et propagation

Malheureusement, comme tu peux le voir à la Figure 3, ce ne sont pas toutes les cellules qui intégreront les plasmides, alors les cellules doivent être sélectionnées afin d'identifier celles qui auront intégré les plasmides et celles qui ne l'auront pas fait. Comment savoir quelles bactéries ont intégré les plasmides et quelles ne l'ont pas fait? Le plasmide renferme un **agent de sélection spécifique**, qui est généralement un gène codant une résistance antibiotique (voir la Figure 4). Étant donné que les bactéries se développent en présence d'un antibiotique, les bactéries AVEC des plasmides seront viables et pourront se développer, alors que les bactéries SANS plasmides mourront (voir la Figure 4). C'est ce qu'on appelle la **sélection antibiotique**. Une fois qu'une **colonie** (groupe de bactéries) possède le plasmide (parce qu'elle a su résister aux antibiotiques), elle est isolée et peut se multiplier. Ainsi, un bon nombre de bactéries contiennent le « gène d'intérêt ».

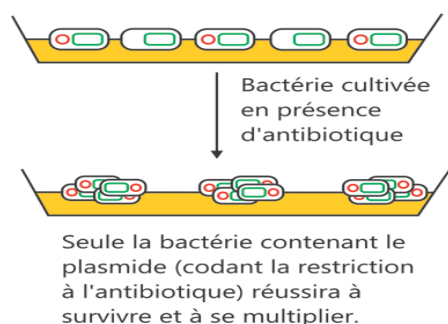


Figure 4 : Sélection antibiotique de bactéries contenant des plasmides.

4. Isolement

L'étape finale consiste à prélever les plasmides (et donc le « gène d'intérêt ») des bactéries (voir la Figure 5). Pour ce faire, les bactéries sont **lysées** (la membrane cellulaire est brisée) (A) et les plasmides sont séparés de l'ADN bactérien à l'aide d'une solution acide (pH faible) à teneur élevée en sel (puisque l'ADN plasmidique peut résister à ces conditions, mais pas l'ADN normal) (B).

Finalement, les plasmides sont séparés de toutes les autres parties de la cellule à l'aide du procédé de **centrifugation** (rotation à grande vitesse) (C).

Le clonage par recombinaison est une méthode hautement contrôlée et efficace pour produire des composés comme la vitamine C, l'enzyme chymosine (présure) qui est utilisée dans la fabrication du fromage et du colorant indigo (l'indigo est le colorant qui donne aux jeans bleus leur couleur).

Aujourd'hui, on retrouve l'ADN recombiné dans l'industrie, la production alimentaire, la médecine humaine et vétérinaire, l'agriculture et la bio-ingénierie.

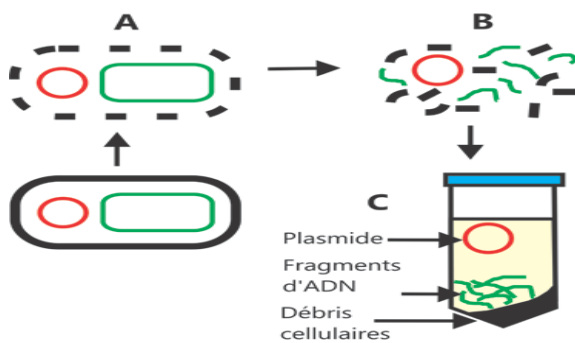


Figure 5 : Prélèvement de plasmides des bactéries.