

## Production des métabolites

(PARTIE 1)

### La production des protéines

#### 1. Définition

Les protéines présentes chez tous les êtres vivants, des Bactéries à l'Homme. Elles sont des macromolécules formées à partir de seulement 20 monomères différents. Ces monomères sont des  $\alpha$ -aminoacides qui s'unissent par des liaisons peptidiques pour former des chaînes polypeptidiques.

#### 2. Les $\alpha$ -aminoacides

Les  $\alpha$ -aminoacides ont pour une formule générale  $R - C_{\alpha} - (H, NH_3^+) - COO^-$  où un carbone tétraédrique chiral  $C_{\alpha}$  est uni à un carboxyle  $-COO^-$ , une amine primaire  $-NH_3^+$ , un hydrogène  $-H$  et une chaîne latérale  $-R$  propre à chaque  $\alpha$ -aminoacide (Fig. 1).

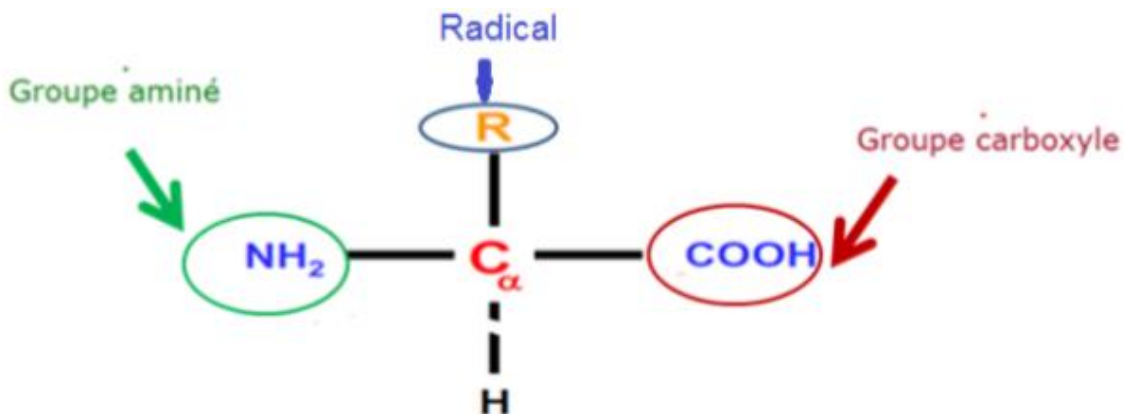


Figure 1. Structure générale d'acide aminé.

Selon la nature de la chaîne latérale, on distingue trois groupes d' $\alpha$ -aminoacides: apolaires, polaires neutres et polaires ionisables (Fig. 2).

On peut aussi diviser les acides aminés en deux catégories : essentiels et non essentiels. Les essentiels doivent arriver à l'organisme à partir d'aliments ou de suppléments alimentaires que nous ingérons, puisque notre corps ne peut pas les produire par lui-même d'autres sources.

Chez l'Homme, il y a huit acides aminés essentiels: le tryptophane, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la thréonine, la valine, la leucine et l'isoleucine. Deux acides aminés de plus

sont essentiels pour l'enfant: l'arginine et l'histidine. Seuls deux sont strictement indispensables (lysine et thréonine).

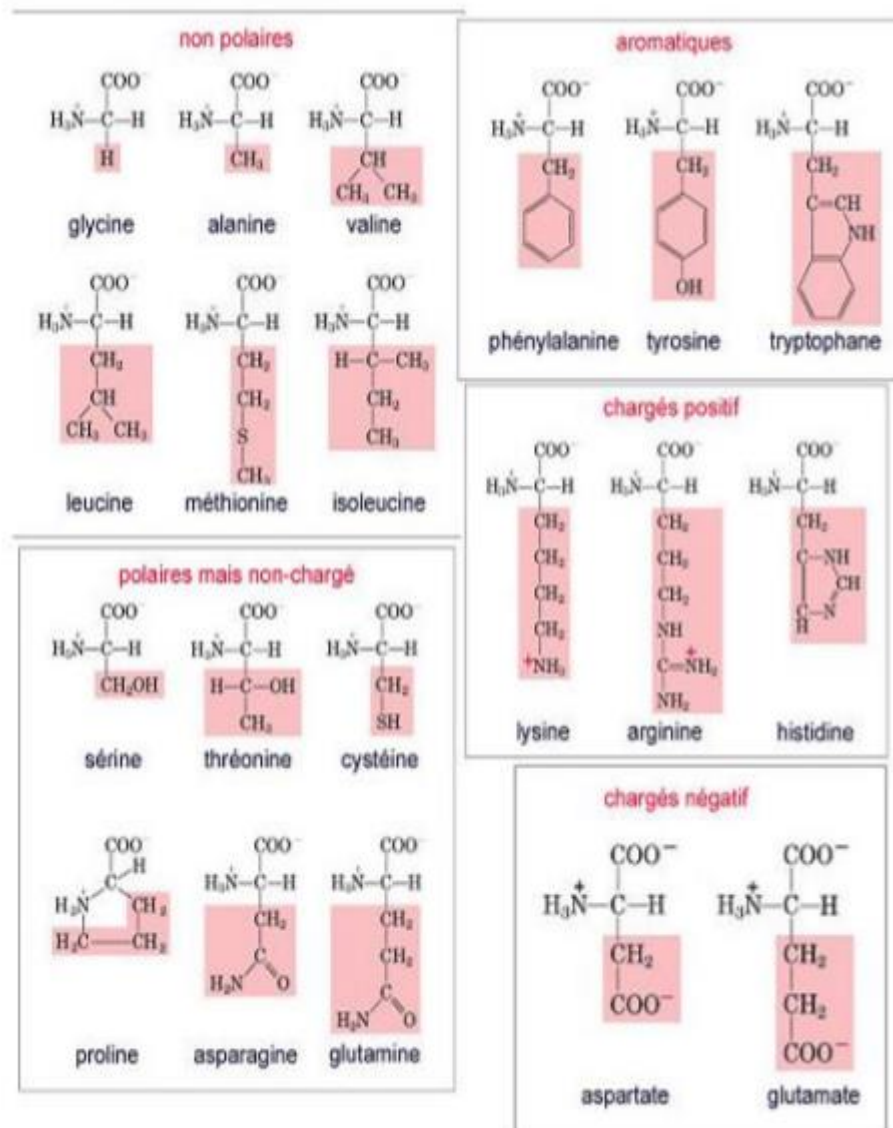
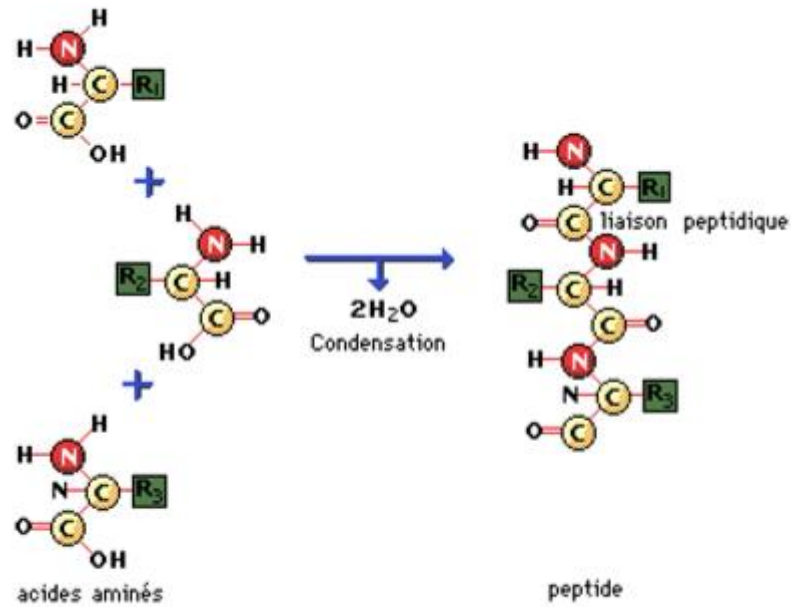


Figure 2. Structures des vingt acides aminés.

### 3. Structures des protéines

#### 3.1. Structure primaire

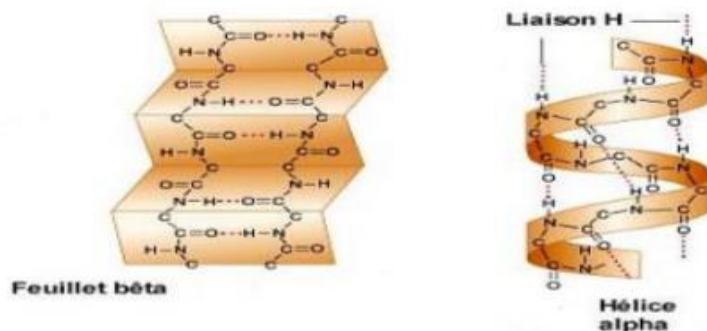
La structure primaire est formée par des aminoacides unis par des liaisons peptidiques. Elle se présente donc comme une succession de plans contenant des unités peptidiques  $-C\alpha-CO-NH-C\alpha-$  qui crée une chaîne principale d'où se projettent les chaînes latérales (Fig. 3).



**Figure 3.** Formation de la structure primaire des protéines.

### 3.2. Structure secondaire

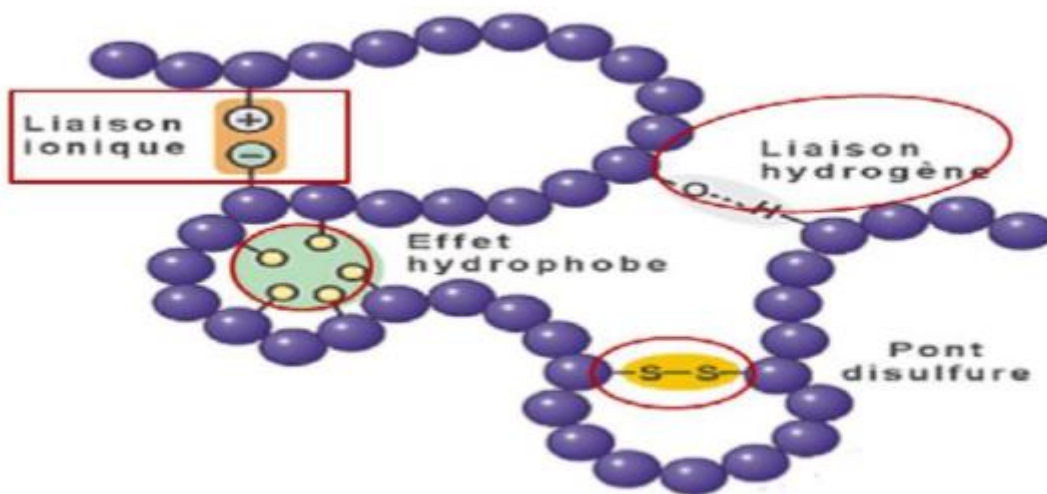
Lorsque certaines régions de la chaîne polypeptidique se replient de manière hélicoïdale ou parallèle en formant des régions pliées de feuillet bêta. Il s'agit de la structure secondaire (Fig. 4).



**Figure 4.** Feuillet B et l'hélice  $\alpha$  de la structure secondaire des protéines.

### 3.3. Structure tertiaire

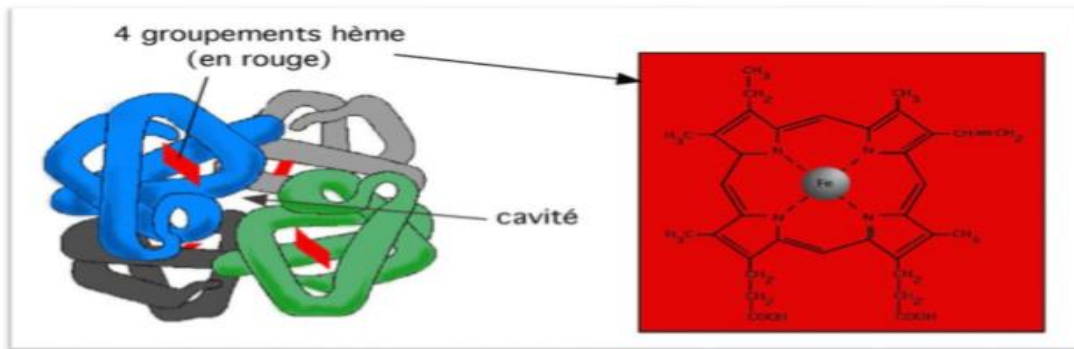
La structure tertiaire est le repliement dans l'espace d'une chaîne polypeptidique. Ce repliement donne une fonctionnalité à la protéine, notamment par la formation du site actif des enzymes. La structure tertiaire correspond au degré d'organisation supérieur aux hélices  $\alpha$  ou aux feuillets  $\beta$ . Le repliement et la stabilisation de protéines à structure tertiaire dépend de plusieurs types de liaisons faibles qui stabilisent la structure (interactions hydrophobes, des liaisons ioniques, des liaisons de Van der Waals) et parfois des liaisons covalentes (Fig. 5).



**Figure 5.** Structure tertiaire d'une protéine.

### 3.4. Structure quaternaire

Lorsque 2 ou plusieurs sous-unités polypeptidiques sont associées dans une protéine, on parle alors de structure quaternaire. Les sous-unités sont reliées par des liaisons non covalentes et parfois des ponts disulfures. On distingue, selon leur forme, deux groupes principaux de protéines, les protéines globulaires, solubles ou transmembranaires, de beaucoup les plus nombreuses, où le repliement des chaînes polypeptidiques conduit à une structure compacte, et les protéines fibreuses qui sont des molécules très allongées (Fig. 6).



**Figure 6.** Structure quaternaire de protéine. L'hémoglobine est constituée de 4 sous-unités: 2 sous-unités  $\alpha$  et 2 sous-unités  $\beta$ .

#### 4. Différentes fonctions des protéines

Les protéines sont une des trois grandes familles de macronutriments essentielles à l'organisme. Elles y jouent un rôle structural (au niveau musculaire ou encore cutané) mais sont également impliquées dans de très nombreux processus tels que la réponse immunitaire (anticorps) ou le transport de l'oxygène dans l'organisme (hémoglobine). Elles peuvent être des enzymes qui catalysent et régulent les réactions du métabolisme. Les protéines contractiles des fibres musculaires, des cils ou des flagelles interagissent entre elles pour créer une force contractile ou motrice. De nombreux facteurs protéiques s'associent aux gènes pour réguler leur réplication et leur transcription.

#### 5. Sources des protéines

Certains aliments sont relativement riches en protéines (10 à 25 %) comme la viande, le poisson, les fromages, les légumes secs, les céréales. D'autres en sont moins riches parce que leur quantité d'eau est très élevée (cas du lait et des légumes et fruits). D'autres, les protéagineux, en contiennent jusqu'à 45 % (Tab.1). Les protéines animales sont relativement riches en acides aminés indispensables et généralement plus riches que les protéines végétales.

**Tableau 1.** Sources animales et végétales

Produits animaux		Produits végétaux	
Fromage (moyenne)	24 %	Légumes secs	24 %
Emmenthal	29 %	Noix/amandes	15 %
Camembert	21 %	Pâtes	13 %
Viande	18 %	Farines	11 %
Poisson	18 %	Pain	7 %
Œufs	12 %	Pommes de terre	2 %
Lait	3,5 %	Riz	7 %

### 5.1. Sources animales

Les viandes sont composées essentiellement de myosine, de myoalbumine et de collagène. Pour la myosine et la myoalbumine sont concernées comme de protéines d'excellente qualité comportant tous les acides aminés indispensables. Les poissons représentent des protéines de bonne qualité que la viande. Ils contiennent d'actine, myosine, collagène et myoalbumine. Les protéines de l'œuf (l'albumine et globuline dans le blanc et vitelline dans le jaune) ont une excellente valeur biologique. Leur composition en acides aminés parfaitement équilibrée. Le lait contient principalement de caséine, de lactalbumine et de lactoglobuline. Tous les acides aminés indispensables sont présents. Ces protéines sont très bien assimilées par l'organisme.

### 5.2. Sources végétales

Certaines protéines végétales peuvent présenter une teneur faible en certains acides aminés indispensables, la lysine pour les céréales, et les acides aminés soufrés pour les légumineuses. Les légumes secs riche en légumine, les ceréales en gliadine et gluténine du blé, zéine du mais...

## **6. Production des protéines à partir des microorganismes (MO)**

L'orientation pour la fabrication de protéines en utilisant des micro-organismes pour les raisons suivantes:

- Les protéines des microorganismes sont très importantes dans l'alimentation humaine et animale car elles sont équilibrées en acides aminés indispensables.
- La récupération et la valorisation de sous produits des industries agroalimentaires à des fins alimentaires peut constituer une alternative intéressante. Il s'agit de la création de biomasse sous forme de protéines d'organismes unicellulaires 'P.O.U'.
- Les protéines des microorganismes sont fabriquées pour les domaines thérapeutiques.

## **7. Les avantages d'utilisation des micro-organismes**

L'utilisation de micro-organismes pour produire des protéines pour les raisons suivantes:

- Extrême rapidité de croissance des cellules microbiennes (50 fois plus rapide que la production bovine).
- Le fait qu'elle ne nécessite pas de terres cultivables de grands espaces.
- L'absence de contraintes saisonnières, cette production étant possible toute l'année sans interruption.
- La modification génétique des micro-organismes.
- Elle demande peu d'espace et peu d'eau, un contenu protéique élevé et génère peu de résidus.

## 8. Les inconvénients d'utilisation des microorganismes

Bien qu'il existe des points positifs pour les micro-organismes, mais il y a quelques points négatifs.

- Les protéines produites peuvent présenter un contenu élevé en acides nucléiques.
- Les microorganismes peuvent produire des toxines ou autres métabolites nuisibles.
- Les protéines produites possèdent des propriétés physiologiques qui peuvent ne pas convenir à la consommation directe par les humains.

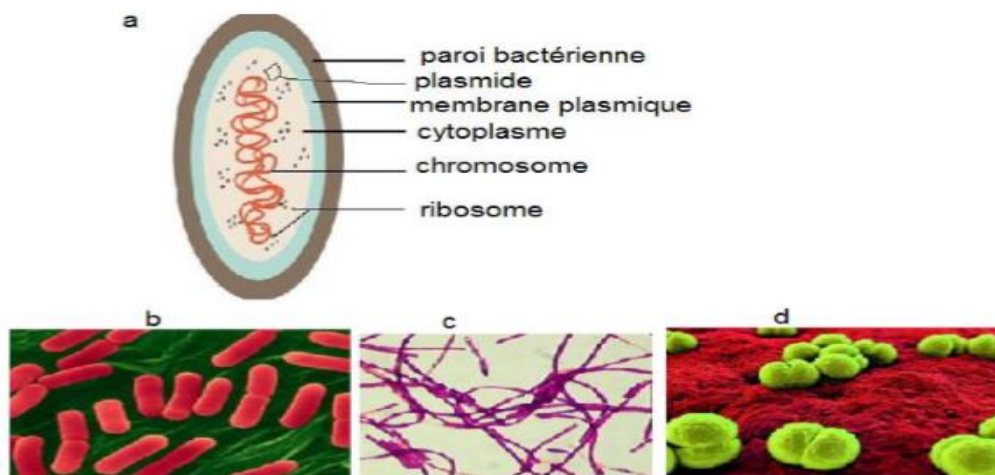
## 9. Micro-organismes producteurs des protéines

### 9.1. Définition

Micro-organismes ou microbes sont des organismes invisibles à l'œil nu, qui ne peuvent être observés qu'à l'aide d'un microscope. Ils sont divisés en trois classes ; les procaryotes, les eucaryotes et non cellulaires (virus). quatre types de micro-organismes sont utilisés pour la production des protéines . Il s'agit des micro-algues, des bactéries, des levures et des champignons (fungi) filamenteux.

### 9.2. Les bactéries

Une bactérie est un micro-organisme unicellulaire procaryote, elle n'a pas un véritable noyau mais le matériel génétique baigne directement dans le cytoplasme. Les bactéries ont des formes variées (bâtonnet, en filament, arrondie) (Fig. 7).



**Figure 7.** Structure de la bactérie (a); les formes des bactéries : bâtonnet (b), filament (c) et arrondie (d).

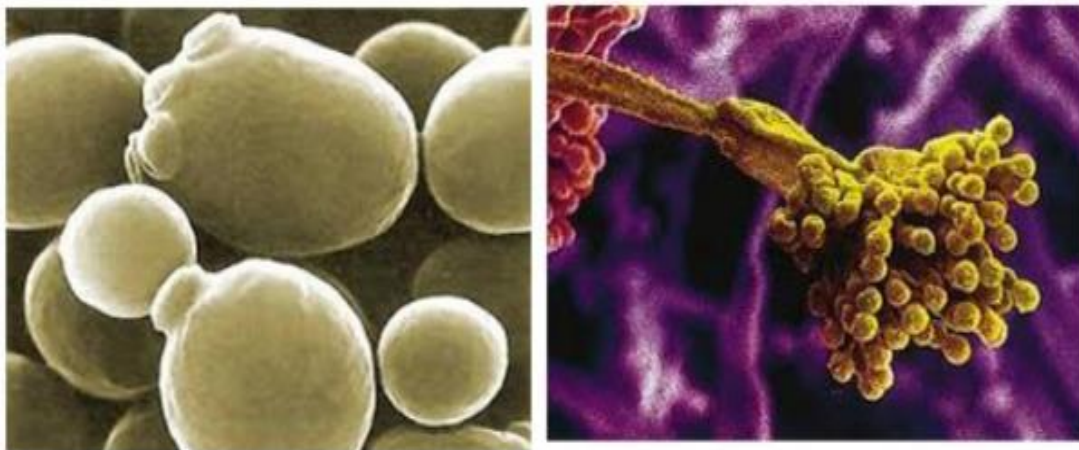
La bactérie *Escherichia coli* est largement utilisée dans la production de protéines parce que leur matériel génétique est connu. Il est également facile à implanter dans le fermenteur (les conditions de croissances sont connues).

De plus l'expression de protéines est élevée à l'aide de ces bactéries (plusieurs grammes / L de protéine produites).

Autres bactéries sont utilisées comme *Bacillus subtilis*, *Streptomyces*. Elles sont caractérisées par un fort potentiel de sécrétion mais elles sont génétiquement moins connues et les niveaux de la production sont inférieurs.

### 9.3. Les champignons microscopiques

sont des organismes uni ou pluri cellulaires eucaryotes. Ils se trouvent partout où il existe une source alimentaire. Il y a deux types de champignons: Levures (organismes unicellulaires) et les moisissures (organismes pluricellulaires) (Fig. 8).



**Figure 8.** La forme d'une levure (gauche) et moisissure (droite).

*S. cerevisiae* a été la première levure utilisée dans la production de protéines, protéines recombinantes et plusieurs produits biopharmaceutiques. Il existe plusieurs caractéristiques intrinsèques, comme la stabilité du système d'expression et la facilité de la culture. Les protéines à *S.*

*cerevisiae* représente déjà un processus industriel bien établi, assurant des titres de production allant jusqu'à centaines de mg / l. En alternative à *S. cerevisiae*, les levures *P. pastoris* et *Kluyveromyces fragilis* peuvent être utilisées pour la production des protéines. Parmi les moisissures utilisés dans la production des protéines, il y a *Rhizopus oligosporus*, *Zygorrhynchus meyeri*, *Oosporalactis*, *Penicillium roqueforti*...etc.



Ils caractérisent par:

- La production de protéines ont une valeur nutritive pour l'animal et même l'humain.
- Protéines servant de complément des produits céréaliers.

#### 9.4. Les micro-algues

Les micro-algues sont des espèces microscopiques unicellulaires ou pluricellulaires. Ce sont des micro-organismes eucaryotes ou procaryotes. Une micro-algue spirulina est connue pour élaborer toute une gamme de produits intéressants (via la photosynthèse) à intérêt pharmaceutique, cosmétique et plus particulièrement alimentaire. Sur le plan de la composition chimique, les spirulines contiennent environ 70 % de protéines. La teneur en acides aminés essentiels est mieux équilibrée que celles issues de plantes (déficience en lysine).

### **10. La composition d'un milieu**

Plusieurs types de résidus organiques peuvent être utilisés lors de la production des protéines; notamment, les résidus agricoles, de l'industrie forestière et des usines de transformation d'aliments. Les trois critères principaux qui servent au choix d'un substrat sont, par ordre d'importance, le prix (normalement nul ou négatif), les frais de transport et la qualité du substrat.

#### 10.1. Besoins élémentaires

Les micro-organismes se multiplient à partir des aliments ou nutriments présents dans les milieux de culture. Ils ont tous un certain nombre de besoins communs: nécessité de source d'énergie, de source de carbone, de source d'azote et d'éléments minéraux. Ces besoins de base sont appelés besoins élémentaires.

##### 10.1.1. Source d'énergie

Selon le type d'énergie utilisée, on peut reconnaître deux catégories des micro-organismes:

➤ Les phototrophes, ou photosynthétiques, qui puisent leur énergie dans le rayonnement lumineux. ➤ Les chimiotrophes, ou chimiosynthétiques, qui utilisent l'énergie de l'oxydation de produits chimiques organiques ou minéraux.

##### 10.1.2 Source de carbone

Le carbone est constituant de base de la cellule et doit être fourni en quantité suffisante. Les exigences nutritionnelles en carbone conduisent à envisager deux catégories de microorganismes :

➤ Les autotrophes qui sont capables de se développer en milieu inorganique contenant le CO<sub>2</sub> comme seule source de carbone.

➤ Les Hétérotrophes exigent des composés organiques pour se produire.

### 10.1.3. Source de phosphore

Parmi les constituants minéraux des microorganismes, le soufre et le phosphore tiennent une place de choix. Le premier est présent dans certains acides aminés et donc dans les protéines sous forme de groupements thiols (-SH). Il est principalement incorporé sous forme de sulfate ou de composés soufrés organiques, rarement sous forme de soufre réduit. Le second fait partie des acides nucléiques, de nombreuses coenzymes et de l'ATP. Il est incorporé dans la cellule sous forme de phosphate inorganique.

### 10.1.4. Source d'azote

Pour synthétiser leurs protéines, les microorganismes ont besoin de substances azotées organiques (acides aminés) ou inorganiques (les nitrates et les nitrites).

### 10.1.5. Les oligoéléments

Les oligo-éléments sont de molécules indispensables en très faibles quantités. On peut citer le cobalt, le sodium, le potassium, le zinc, le cuivre, le manganèse, le sélénium...etc.

Ils sont très importants pour le fonctionnement des enzymes. Ils ne sont pas tous requis par une même espèce. 10.2. Besoins spécifiques Les microorganismes exigent des substances organiques qu'elles ne peuvent pas synthétiser. Ces substances sont nommées facteurs de croissance. Beaucoup de ces substances sont des vitamines et des acides aminés. Les microorganismes qui doivent trouver ces facteurs de croissance dans leur alimentation sont appelés auxotrophes, mais qui n'ont pas besoin de tels facteurs sont dites prototrophes.

## **11. Types et formes des milieux des cultures**

Un milieu de culture est une préparation de substances biologiques ou chimiques, reproduit un environnement favorable (nutriments, pH, pression osmotique ...). Ces milieux sont utilisés par les microbiologistes pour : isoler, produire, identifier les micro-organismes.