

Introduction à l'USP - Paramètres critiques en biotechnologie

Vos objectifs:

A la fin de cette leçon, vous devriez être capable d'identifier les paramètres biotechnologiques critiques.

Les fonctions d'un bioréacteur

Le bioréacteur est équipé d'un ou de tous les éléments suivants :

- un environnement (souvent contrôlé) qui diffère de tout environnement extérieur
- (par exemple : température, pression, potentiel d'oxydoréduction*, force ionique, etc.)
- un support (si nécessaire)
- des conditions stériles (si nécessaire)
- une enceinte de confinement
- une agitation/un mélange (conditions homogènes)
- une aération (si nécessaire)
- des conditions en anaérobie (si nécessaire)

Dispositions d'un environnement de croissance contrôlé

Un environnement de croissance contrôlé implique le contrôle des éléments suivants:

- la culture de cellules en suspension ou adhérentes, c'est-à-dire liquides (STR) ou solides (lit fixe)
- l'apport d'oxygène en cas d'aérobie ou, en cas d'anaérobie, exclusion de l'oxygène en cas d'aérobie

(*Le potentiel redox (Eh) est une mesure du degré d'oxygénation d'un milieu)

- la température
- la pression
- la force ionique
- le pH

Aération (oxygénation)

Les quatre types de bioprocédés sont les suivants : (mnémotechnique : "A.F.M.A.")

1. Aérobie
2. Anaérobie facultatif
3. Micro-aérophile
4. Anaérobie

Cellules aérobie

La plupart des types de cellules, par exemple toutes les cellules animales, la plupart des levures et de nombreuses bactéries sont aérobies.

Aérobie signifie que les cellules ont besoin d'oxygène pour se développer et se métaboliser. Les aérobies obligatoires doivent avoir de l'oxygène, sinon ils perdent leur viabilité et meurent (par exemple, les cellules animales).

Certaines cellules ont besoin d'oxygène et se développent de manière aérobie. Mais si, pour une raison quelconque, l'oxygène n'est pas disponible, elles peuvent se développer de manière anaérobie. On les appelle les anaérobies facultatifs.

Certaines cellules (cellules animales) se développent en aérobie, mais si on leur fournit des niveaux trop élevés de sucres (glucose), elles commencent à fermenter. C'est ce qu'on **appelle l'effet Crabtree, le métabolisme de débordement ou la répression des catabolites.**

Cellules anaérobiques facultatives

De nombreuses cellules bactériennes (E. coli) et de levures (par exemple ** Saccharomyces cerevisiae) peuvent se développer soit en aérobie, soit en anaérobie - également **appelées anaérobies facultatifs.**

Si ces cellules se développent sans oxygène (fermentation) et qu'on leur donne soudainement de l'oxygène, elles passent automatiquement à la croissance avec l'oxygène (respiration) - c'est ce qu'on appelle **l'effet Pasteur.**

La croissance en présence d'oxygène est plus courante et plus efficace qu'en son absence. Le taux de croissance et le rendement de la biomasse sont tous deux plus élevés en cas de croissance en aérobie.

Les cellules microaérophiles

Certaines cellules microbiennes (par exemple, les lactobacilles) et les levures (par exemple, *S. cerevisiae*) ne peuvent pas se développer en l'absence totale d'oxygène.

Les lactobacilles n'ont pas besoin d'oxygène pour se développer mais peuvent mieux se développer (taux de croissance et rendement plus élevés) en sa présence.

Le *S. cerevisiae* ne peut pas se développer totalement en anaérobie ; il a besoin de traces d'oxygène pour pouvoir produire les acides gras dont il a besoin pour sa croissance.

Le *S. cerevisiae* peut se développer en anaérobie à condition que le milieu lui fournisse certains acides gras (par exemple l'acide oléique) ainsi que l'ergostérol, pour lesquels l'oxygène était initialement nécessaire pour les produire (brassage) !

Les cellules anaérobiques

D'une manière générale, les organismes anaérobiques sont exclusivement des bactéries, les plus connues étant les espèces Clostridia. - Par exemple, *Clostridium tetani* (*Cl. tetani*) ; *Clostridium difficile* (*Cl. difficile*) ; *Clostridium botulinum* (*Cl. botulinum*) - d'autres incluent *Bacillus anthracis* ; *Methanobacteria*, etc.

La culture de ces organismes nécessite un milieu dont l'oxygène a été éliminé. Des agents réducteurs sont souvent ajoutés au milieu pour s'assurer que chaque molécule d'oxygène est éliminée. L'oxygène est un poison (toxique) pour ces cellules, et les cellules mourraient instantanément. Les agents réducteurs sont particulièrement importants dans la production de biogaz et pour certains produits cosmétiques.

Aération (oxygénation)

Comment l'oxygène est-il apporté à une culture ?

- Par l'**espace libre** au-dessus du milieu de culture
- Par l'**injection d'air** ou d'air enrichi en oxygène, d'éther dans le milieu dans le bioréacteur.

Niveaux de pH

- Les cellules animales se développent à un pH compris entre 7,2 et 7,4.
- Les cellules de levure se développent généralement à un pH compris entre 4 et 6
- Les bactéries à un pH de 2 à 8

Températures

- Psychrophiles (-5°C - 20°C)
- Mésophiles (15°C - 42°C)
- Thermophiles (38°C - 65°C)
- Extrémophiles (<5°C ou >65°C)

La croissance cellulaire est basée sur plusieurs réactions chimiques ; à ce titre, la température a un effet sur les réactions chimiques. En effet, la vitesse de réaction double approximativement avec une augmentation de 10 degrés Celsius.

Niveaux de pression

Il existe deux types de pression dans un bioréacteur :

- La pression atmosphérique
 - Acidophiles, Neutrophiles et Basophiles
- La pression osmotique*.
 - 330-360 mOsmole, Osmophiles

Les cellules de mammifères sont neutrophiles et nécessitent des limites strictes de pression osmotique.

* Osmose : tendance d'un solvant à passer à travers une membrane semi-perméable, comme la paroi d'une cellule vivante, dans une solution de concentration plus élevée, de manière à égaliser les concentrations des deux côtés de la membrane. La pression osmotique empêche donc l'osmose de se produire.

Environnement stérile

Obtenir la stérilité d'un bioréacteur nécessite :

- Une stérilisation thermique
- Une stérilisation chimique
 - Liquides (par exemple, NaOH 0,1-1N)
 - Gaz (par ex. oxyde d'éthylène)
- Irradiation
- Irradiation par faisceau électronique (faisceau E)