

Biologie synthétique Passé, présent et futur

Colloque Aviesan - Allenvi

Jean Weissenbach
(CEA/Genoscope)

La biologie synthétique peut être considérée comme une ingénierie de systèmes biologiques

- L'ingénierie de systèmes biologiques se pratique depuis la nuit des temps
- Elle s'appuie en premier lieu sur des observations de systèmes biologiques suivies d'applications

Ingénierie de systèmes biologiques à l'ère préscientifique



De manière plus ou moins reproductible le fait de planter les graines, permet à une nouvelle plantule de se développer à partir d'une graine. Le système est partiellement soustrait aux conditions naturelles de développement et de croissance.

On peut donc considérer la première tentative de plantation de graines comme une expérience scientifique, à partir de laquelle va s'élaborer un savoir-faire permettant d'exercer un contrôle de plus en plus efficace du processus.

Ingénierie de systèmes biologiques à l'ère préscientifique

L'observation de transformations de la matière, en particulier des aliments, donne naissance à des procédés permettant de maîtriser le phénomène de transformation de matières organiques.

Ces observations et les procédés qui en dérivent constituent l'origine lointaine de la biochimie et de la microbiologie moderne jusqu'à la biologie synthétique.

Les progrès seront lents jusqu'au début du 19^{ème} siècle.



Une recherche des acides gras majeurs du lait sur plus de 2000 tessons de poteries atteste de l'utilisation de lait (et dérivés) au 7^{ème} millénaire ac au Proche-Orient et dans le Sud de l'Europe orientale

Ingénierie de systèmes biologiques à l'ère préscientifique



Caverne "Areni-1" (Arménie), le plus ancien "chai" connu (>6000 ans)

On y a trouvé des cuves de fermentation, un pressoir, des récipients de vin, des tessons et des grains de raisins de *Vitis vinifera*



Ingénierie de systèmes biologiques passage à l'ère scientifique

Les processus de transformation de la matière par des systèmes biologiques sont de plus en plus nombreux et mieux maîtrisés en dépit de l'ignorance persistante de la nature des phénomènes impliqués.

Cette situation va se modifier au début du 19^{ème} siècle avec la découverte des enzymes capables de transformer l'amidon en sucre (Kirchhof, 1814 ; Payen et Persoz, 1831) et de la nature des ferments vivants (levure) capables de réaliser la fermentation alcoolique du glucose en éthanol.

La controverse vitaliste à propos de la nature de la fermentation alcoolique naît à cette époque et va faire rage pendant plus d'un demi-siècle.

Ingénierie de systèmes biologiques

les débuts de l'ère scientifique

Hydrolyse de l'amidon par un processus biologique

En 1816 Kirchhoff décrit la saccharification de l'amidon à partir d'un composant du gluten de blé



Anselme Payen

23 / 38

(73)

ANNALES

DE

CHIMIE ET DE PHYSIQUE,

PAR MM. GAY-LUSSAC ET ARAGO.

TOME CINQUANTE-TROISIÈME.

A PARIS,

CHEZ CROCHARD, LIBRAIRE,

RUE ET PLACE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, N° 15.

1833.

des rayons rouges dans le spectre, donné par le sel gemme (1).

La distribution des températures dans le spectre solaire est donc un phénomène tout-à-fait dépendant de l'ordre que nous avons trouvé pour les transmissions calorifiques des substances diaphanes.

Ce phénomène constitue déjà une relation frappante entre les propriétés des rayons calorifiques du soleil et celles de la chaleur rayonnante des corps terrestres ; mais nous verrons paraître des rapports encore plus intimes entre ces deux espèces de rayons, lorsque nous examinerons les altérations qui s'opèrent dans les transmissions calorifiques par l'effet du changement de température de la source rayonnante.

MÉMOIRE sur la Diastase, les principaux Produits de ses Réactions, et leurs applications aux arts industriels ;

PAR MM. PAYEN ET PERSOZ.

Depuis les savantes recherches et les travaux laborieux de Luwenhoeck, Saussure, Kirschhoff, Vanquelin ; des brasseurs anglais, de MM. Dubrunfaut, Raspail, Guibourt, Couvêrchel, etc., on connaissait la conformation physiologique de l'amidon ; on savait qu'une en-

(1) J'ai obtenu depuis le même résultat avec cinq prismes de sel gemme dont les angles réfringens varient entre 50° et 70°. Ces prismes proviennent de plusieurs pièces tirées des mines de



Ingénierie de systèmes biologiques

les débuts de l'ère scientifique

La controverse vitaliste

Pour les pères de la chimie allemande, la levure n'est pas un organisme vivant et la fermentation alcoolique est uniquement causée par l'action de l'oxygène (Wöhler 1830 puis Liebig)

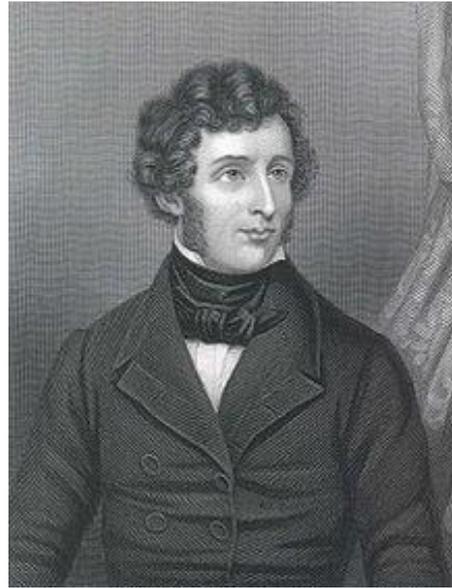
Mais pour Theodor Schwann, biologiste cellulaire et médecin, la levure est constituée de cellules vivantes (1840)

La fermentation se produit en l'absence d'oxygène après ensemencement par des organismes vivants (Pasteur 1857)

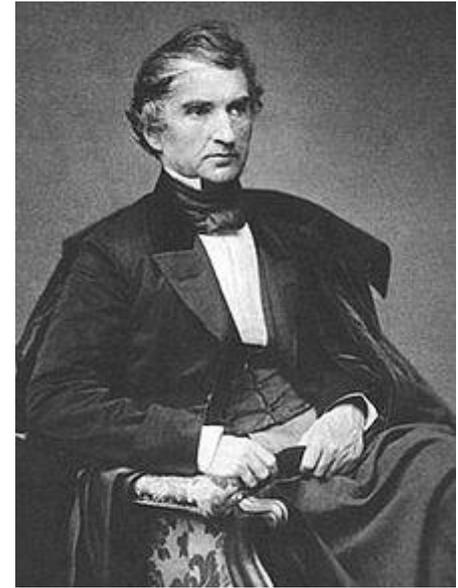
Buchner met tout le monde d'accord (1897) en montrant qu'un extrait acellulaire de levure est capable de fermenter le glucose



Theodor Schwann



Friedrich Wöhler



Justus von Liebig



Louis Pasteur

Eduard Buchner



CHIMIE ORGANIQUE. — *Note sur un Mémoire de M. Liebig, relatif aux fermentations; par M. PASTEUR.*

« M. Liebig a publié, en 1870, un grand Mémoire sur les fermentations qui vient d'être traduit dans les *Annales de Chimie et de Physique*. C'est une critique très-approfondie, en apparence, de quelques-unes de mes études sur le même sujet.

» Le travail du savant chimiste de Munich est très-soigné, rempli des discussions les plus habiles, et l'auteur nous apprend qu'avant de le produire, il y a songé pendant près de dix années. Si je voulais en faire, à mon tour, une critique détaillée, il me faudrait suivre M. Liebig, pas à pas, et écrire un Mémoire presque aussi long que le sien. Je n'en ai pas le loisir; mais si j'entends aujourd'hui laisser de côté tout le menu de la question, je m'empresse d'ajouter que c'est pour aller droit aux deux négations dans lesquelles se concentrent toutes les objections du chimiste allemand, et qui d'ailleurs résument le fond du débat.

» Dans la première de ces deux négations, M. Liebig conteste formellement que j'aie pu produire de la levûre de bière et la fermentation alcoolique dans un milieu minéral sucré où j'avais semé une quantité extrême-



Ingénierie de systèmes biologiques

les débuts de l'ère scientifique

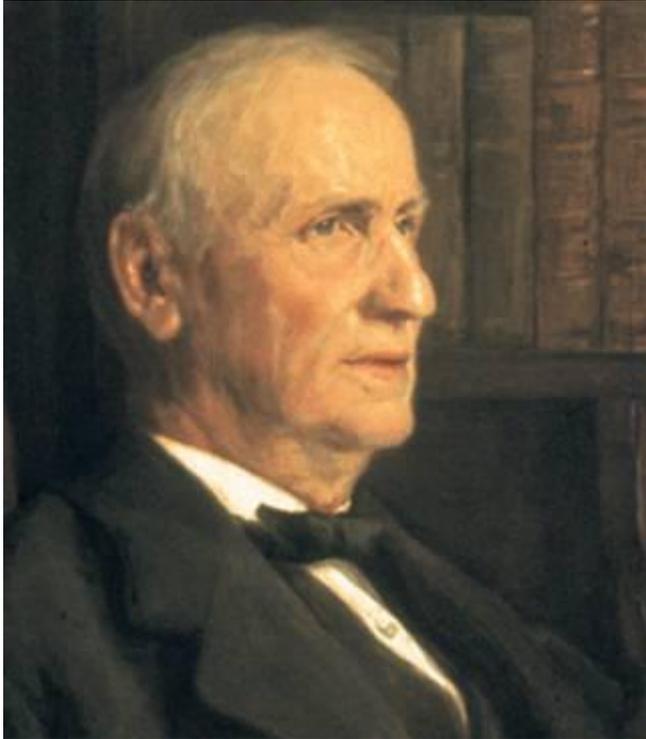
Les fermentations occupent une place centrale dans l'essor des procédés industriels au début du 19^{ème}

La fermentation alcoolique de malt suivie de distillation produisant un azéotrope de l'alcool (1830) peut être considérée comme le premier procédé biotechnologique industriel de fabrication d'un composé organique quasi pur

A la suite des travaux de Payen l'utilisation de diastase se substitue à celle d'acide sulfurique pour hydrolyser l'amidon pour des raisons de coût

Ingénierie de systèmes biologiques

De la science à l'industrie



En 1872 Christian Hansen développe un procédé industriel pour extraire une présure purifiée et standardisée (Rennet) à partir de caillottes de veaux.

C'est le début de la fermentation industrielle des produits laitiers

Ingénierie de systèmes biologiques

De la science à l'industrie

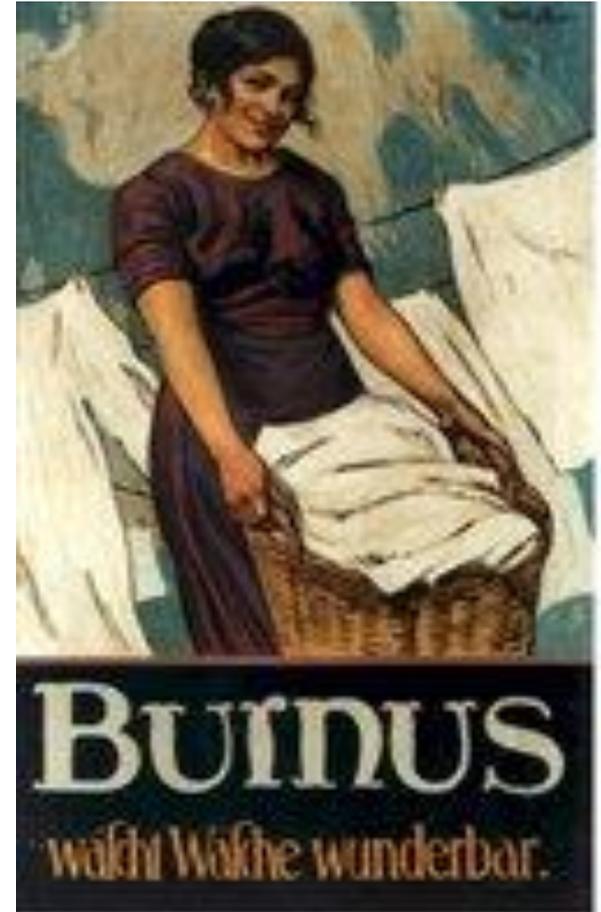
Jokichi Takamine



Ingénierie de systèmes biologiques de la science à l'industrie



Werk Röhms & Haas Darmstadt, 1909
Enzymes de prêtannage du cuir (protéases)



premières lessives aux
enzymes (1914)



Ingénierie de systèmes biologiques

les débuts de l'ère scientifique

Sur une période allant de la deuxième moitié du 19^{ème} à la fin de la deuxième guerre mondiale on observe un progrès ininterrompu de la maîtrise des systèmes de fermentation

- exploitation de la fermentation *in vivo* et *in vitro*
- la science avance lentement, mais le passage aux applications est rapide
- utilisation de souches naturelles pour diverses fermentations
- le nombre d'applications croît lentement
- la biodiversité est une source majeure du renouvellement des procédés.
- les considérations de coût des procédés sont primordiales



Ingénierie de systèmes biologiques première moitié du 20^{ème}

Acétone et n-butanol, Weizmann (1915)
Clostridium acetobutylicum et amidon de maïs comme source de C

Acide citrique, Currie (1923), *Aspergillus niger*

Précurseur de l'éphédrine (~1930) (énantiosélectivité, utilisation de cellules entières comme réacteur)

Acide ascorbique par biosynthèse, Reichstein (1934)

antibiotiques, hormones

Production de **cortisone** par hémisynthèse (Upjohn 6 étapes de synthèse chimique de diosgénine suivies d'une biotransformation par *Rhizopus* par 11-alpha-hydroxylation de la structure stéroïdique (réaction régio- et stéréospécifique))



Ingénierie de systèmes biologiques entrée dans l'ère moléculaire

A partir des années 40 sur le plan fondamental

- Obtention de mutants spontanés par sélection
- Utilisation d'agents mutagènes
- ADN support de l'information génétique
- Débuts de la génétique bactérienne



Ingénierie de systèmes biologiques entrée dans l'ère moléculaire

Recombinaison in vitro (décennie 70)

arsenal méthodologique pour améliorer les souches

- sélection (décennies 30-40, puis progrès méthodologiques)

- criblage moléculaire (décennie 70)

- synthèse d'ADN (décennies 70-80)

mutagénèse in vitro (décennie 80) ; on commence à manipuler des gènes

- PCR (décennie 80)

- ingénierie de protéines (décennie 80)

- ingénierie métabolique (décennie 90)

- évolution dirigée (décennie 90)



Ingénierie de systèmes biologiques le basculement conceptuel s'accompagne d'avancées méthodologiques

- progrès de la synthèse d'ADN (décennie 2000) étapes *in vitro* et *in vivo*
- recombinaison homologue *in vivo* chez les eucaryotes supérieurs (décennie 2000)
- progrès en modélisation de systèmes biologiques, réseaux métaboliques etc.
- remplacement de génomes (décennie 2000)
- nouvelles méthodes d'évolution dirigée
- progrès en bioinformatique



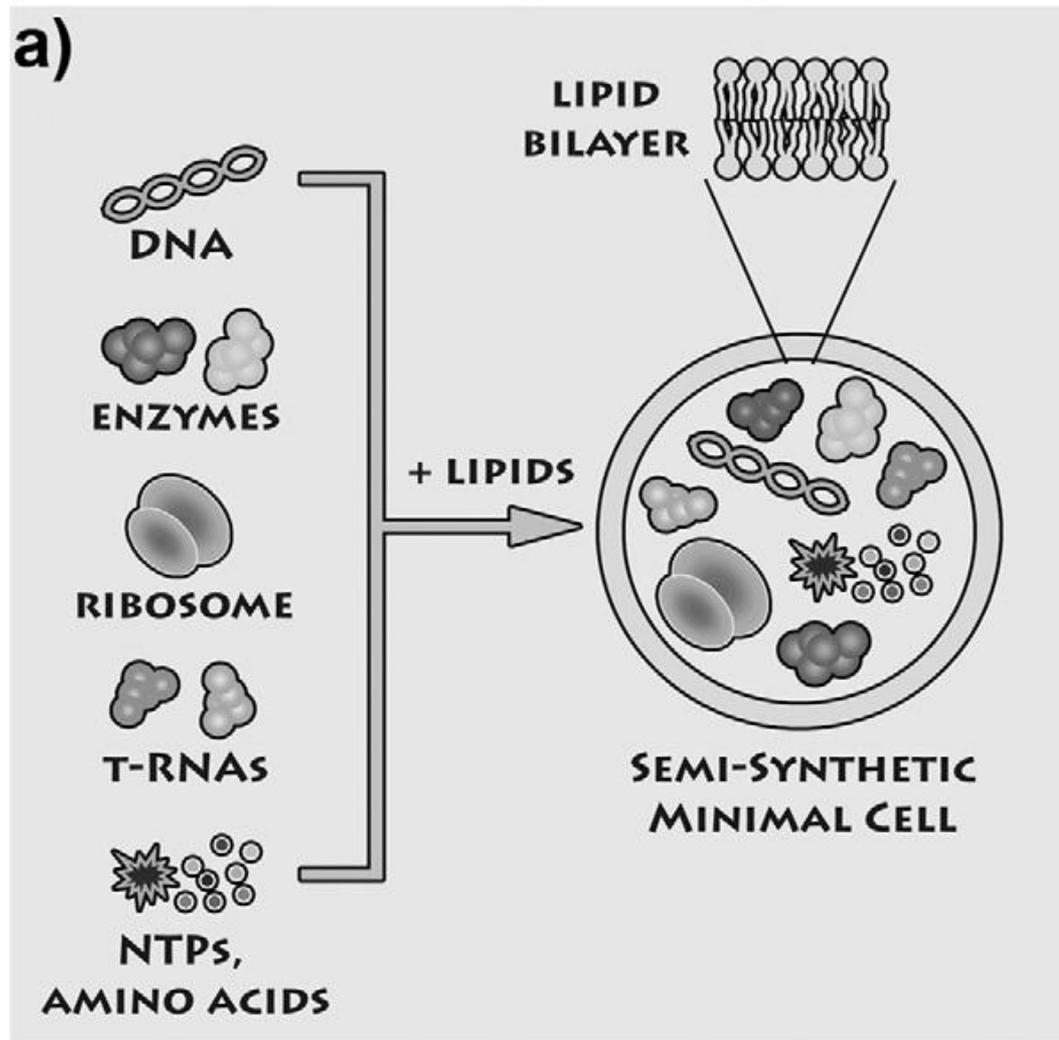
Biologie Synthétique : définitions

1) conception et réalisation (ingénierie) de composants et de systèmes biologiques qui n'existent pas dans la nature.

Peut être abordé de différentes manières

L'objectif à moyen terme (qui reste cependant lointain) consisterait à réaliser un système biologique avec un minimum de constituants (**protocellules**)

Chemical synthetic biology





Biologie Synthétique : définitions

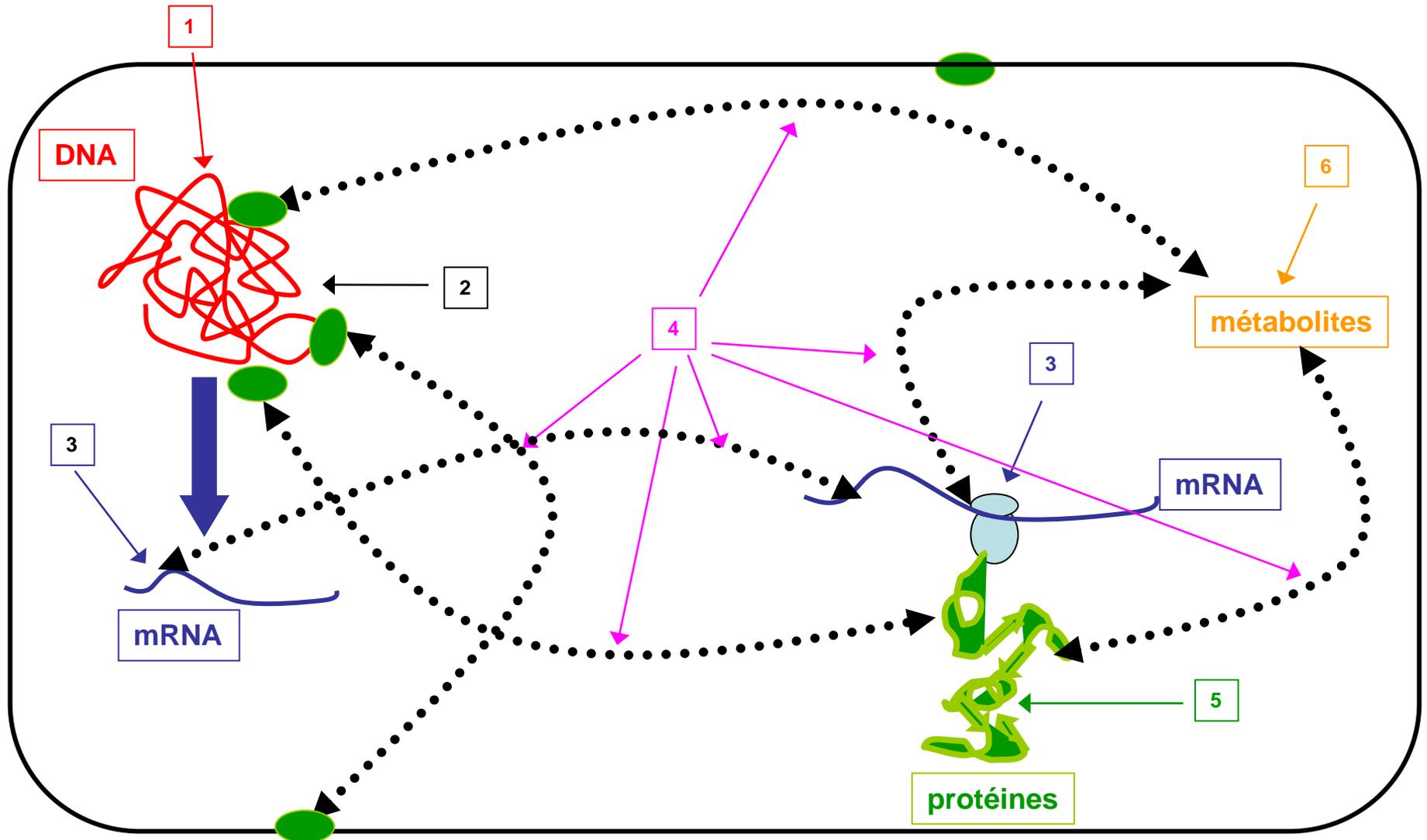
2) modification de systèmes ou d'éléments biologiques existants

en vue de réaliser des systèmes à des fins définies par le concepteur

systèmes qui ne pourraient apparaître comme simple action de l'évolution naturelle

Biologie Synthétique 0.1

Les principaux leviers d'action



1 synthèse de gènes, génomes, transplantation ; **2** xénome ; **3** xéno-aminocides ;
4 régulation de circuits ; **5** ingénierie protéique ; **6** ingénierie métabolique



Biologie Synthétique 0.1

Les principaux leviers d'action

Les projets de biologie synthétiques en vue d'applications utilisent comme point de départ des souches de laboratoires encore relativement proches génétiquement de souches "naturelles" des mêmes organismes.

L'introduction de nouvelles fonctionnalités se fait au niveau de l'ADN du génome (1 figure précédente). Agir au niveau du génome permet

- de modifier les machineries d'expression du génome (transcription, traduction) (2,3 figure précédente)
- de modifier ou d'introduire des circuits de régulation. Ces circuits associent au moins 2 types de molécules interagissant entre elles ((4 figure précédente)
- de modifier des fonctions cellulaires, d'introduire de nouvelles fonctions (enzymes, riboswitch, etc.) (3, 5 figure précédente)
- de modifier les concentrations de métabolites, d'introduire de nouveaux métabolites (6 figure précédente)
- de reconnaître de signaux (physiques, chimiques),
- d'utiliser les procédés cellulaires de logistique et adressage (vecteurs etc.)

Biologie Synthétique 0.1

- pas de véritable rupture avec le génie génétique
- mais vise à la conception de systèmes aux propriétés exhaustivement définies
- comme toute ingénierie elle n'est pas un champ disciplinaire en soi, mais fait appel à une variété de disciplines (biologie, mathématiques, physique, informatique, chimie ...)



Biologie Synthétique 0.1

Le vivant peut être utilisé pour certaines de ses capacités

- récupération de l'énergie
- transformations chimiques
- reconnaissance de signaux (physiques, chimiques)
- logistique et adressage (vecteurs etc.)

Les limitations actuelles

- économiques
- techniques
- sociétales/culturelles

Limitations économiques

- développements trop contraignants
 - temps/travail
 - résultat hasardeux
- coût final non compétitif
- concurrence des procédés établis
- investissements

Limitations techniques

- éléments fonctionnels non disponibles (enzymes, régulation)
- dispositifs existants inappropriés (pas de voie métabolique connue)
- système hôte (châssis) inadapté
- autres limitations qualitatives ou quantitatives
- pas de processus de sélection

Au-delà de la biologie synthétique 0.1

Systemes hôtes (châssis)

- amélioration de systèmes existants
- domestication de nouveaux systèmes naturels
- conception rationnelle de systèmes hôtes

Au-delà de la biologie synthétique 0.1

Amélioration de systèmes existants

Cibles génomiques

minimiser le nombre de fonctions

gènes non essentiels (transposons, IS, phages cryptiques,
gènes non fonctionnels ou de fonction inconnue.
systèmes futiles

inactiver ou enlever les puits de carbone, les fonctions de réponse au stress, aux agents toxiques

optimiser l'efficacité des éléments critiques

optimiser les régulation (suivi du procédé de production)

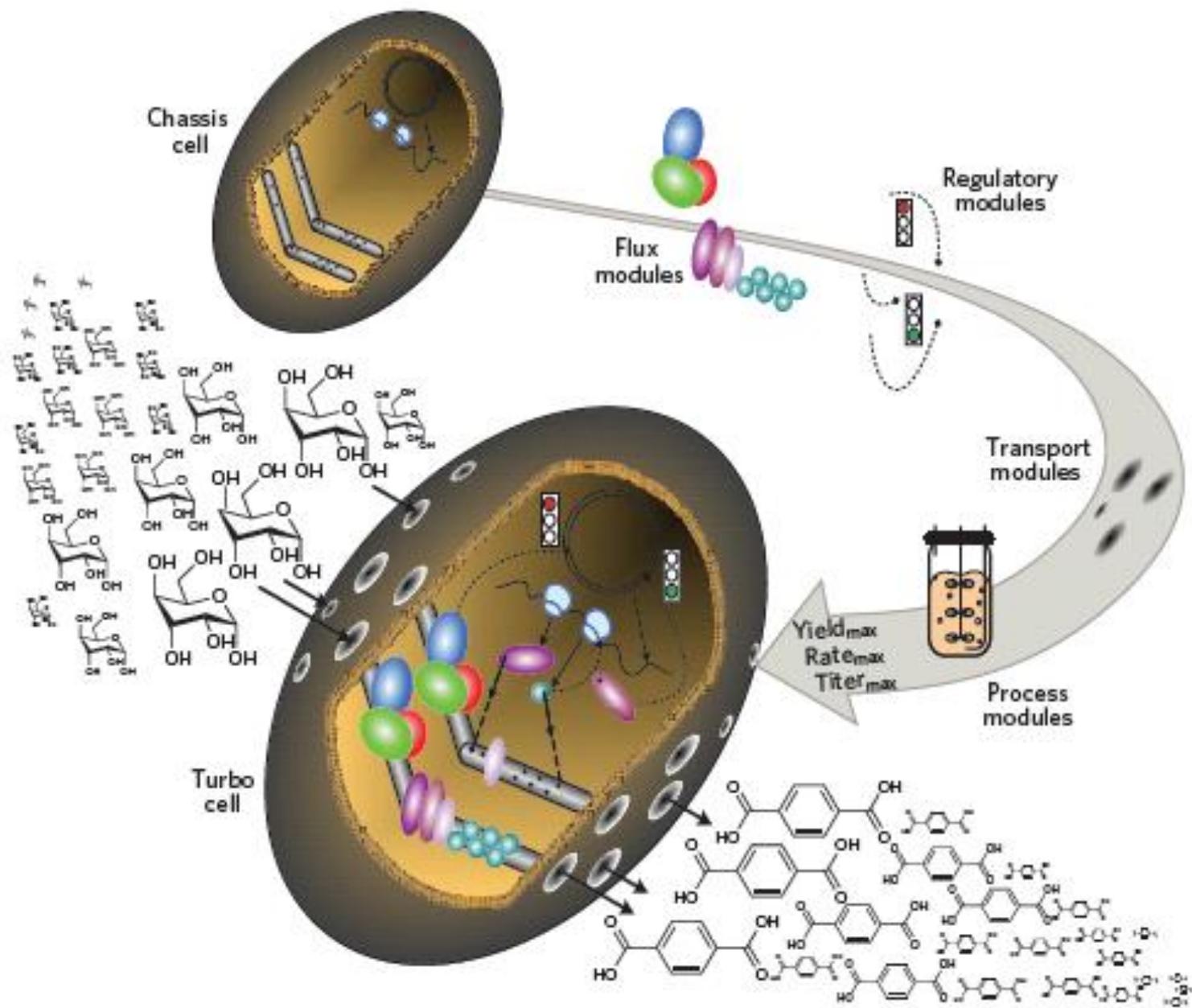


Figure 1 | Designing hyper-producing whole-cell catalysts. Cell construction starts with a minimal

Au-delà de la biologie synthétique 0.1

Modifications en profondeur de systèmes existants

- système d'information
- membranes
- compartiments cellulaires/organites cellulaires
- métabolisme central
- capture de l'énergie lumineuse
- chimie de l'anaérobiose

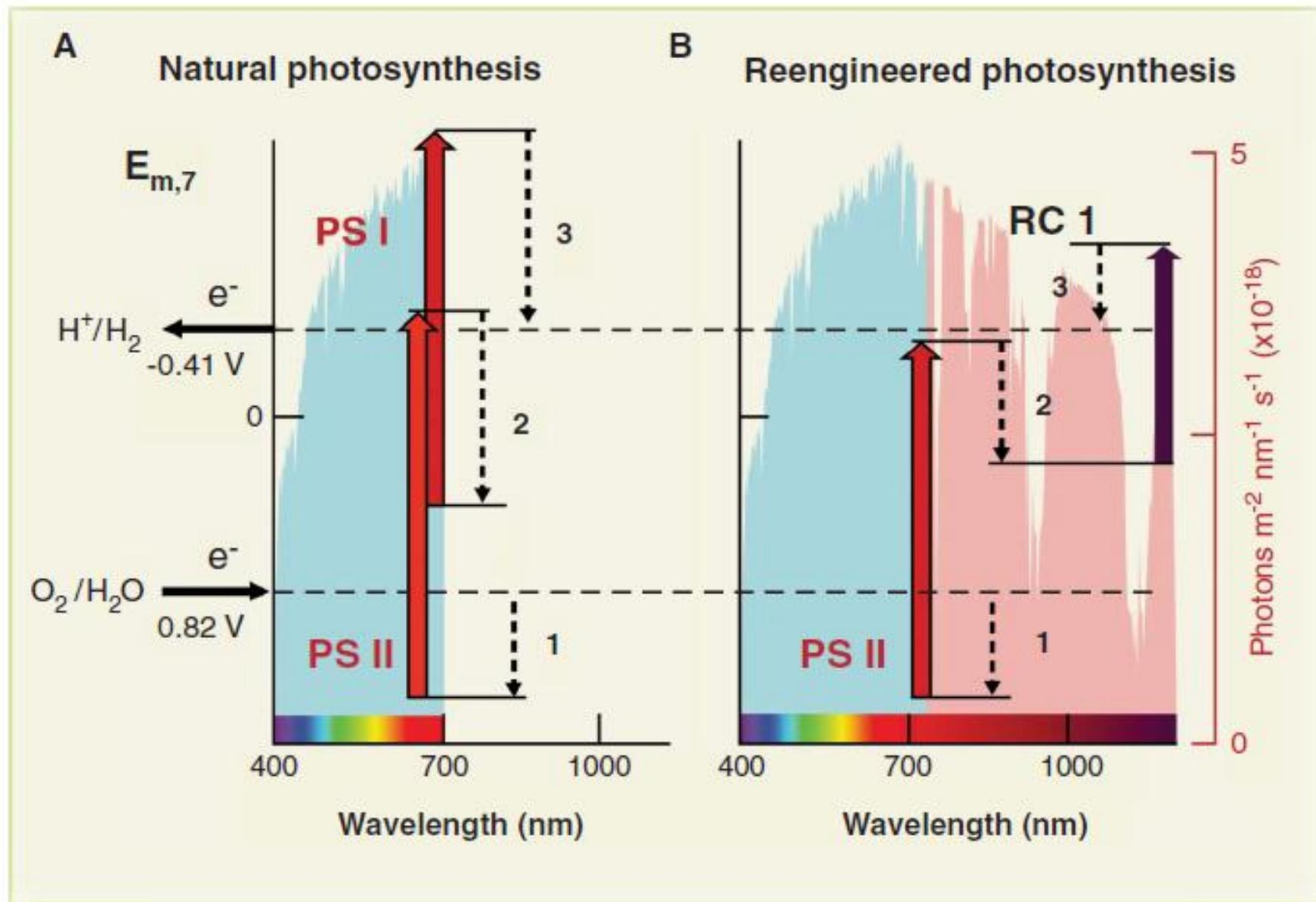


Fig. 3. (A) Photoelectrochemical energy capture diagram for photosynthesis and (B) photosynthesis reengineered following the thermodynamic principles in (19) for improved efficiency. The lengths of the

Au-delà de la biologie synthétique 0.1

Limitations sociétales et culturelles

- aspects culturels , philosophiques et religieux
 - acceptation de la bio-ingénierie
 - jouer au "Créateur"
 - frontière entre le naturel et le non-naturel
- pas de biologie synthétique sans OGM
 - confinement
 - dissémination accidentelle ou délibérée
 - risques pour la santé et/ou l'environnement
- activités humaines traditionnelles supplantées
- propriété intellectuelle

Build your own cell with
Synthetic Biology 2.0

The next generation
of bioengineering

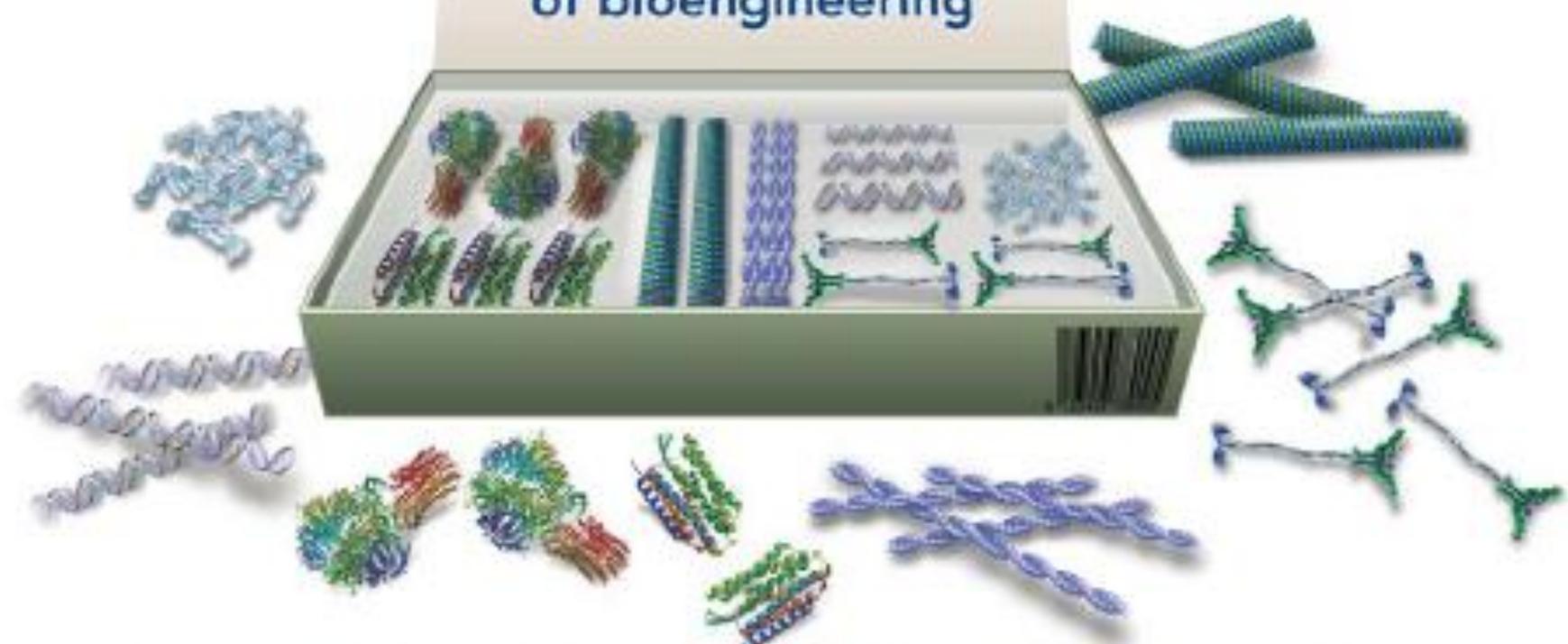


Fig. 1. The biological toolkit: Will it become reality? [Image source courtesy of Jakob Schweizer, BIOTEC/TU Dresden]