



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Regulation of the biosynthesis of cyclic lipopeptides from *Pseudomonas putida* PCL1445

Dubern, J.F.

Citation

Dubern, J. F. (2006, June 19). *Regulation of the biosynthesis of cyclic lipopeptides from Pseudomonas putida PCL1445*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/4408>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Leiden University Non-exclusive license](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/4408>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Résumé

Les biosurfactants regroupent une classe de molécules tensioactives, structurellement variées, et communément synthétisées par les micro-organismes. Les molécules de surfactant se localisent préférentiellement à l'interface entre deux milieux fluides ayant différents degrés de polarité. Cette propriété rend les surfactants capables de former des émulsions entre le milieu huileux et le milieu aqueux. Les biosurfactants offrent des applications variées aussi bien dans le domaine environnemental que le domaine médical. Dans le domaine environnemental, les biosurfactants sont capable de solubiliser les composés xénobiotiques (polluants issus des activités humaines) améliorant ainsi leur biodégradabilité et de chélater les métaux lourds (e.g. le cadmium, le cuivre, le plomb et le zinc) permettant ainsi leur élimination des sols contaminés. Récemment le rôle et les multiples applications des biosurfactants (principalement les lipopeptides et glycolipides) ont fait l'objet d'intenses recherches dans les domaines médical et thérapeutique. Certains lipopeptides et glycolipides sont d'excellent agents anti-bactériens, anti-fongiques et anti-viraux et font aussi l'objet de recherches approfondies dans le domaine de la thérapie génique.

Les biosurfactants, de par leur faible toxicité vis-à-vis de l'environnement et de la santé humaine, leur compatibilité, leur sélectivité pour une classe de polluant ou une espèce pathogène et pour des milieux extrêmes (e.g. variations élevées de températures, pH et salinité), possèdent de nombreux avantages par rapport aux surfactants synthétiques. Une des raisons limitant leur utilisation à grande échelle est leur coût de production. Par conséquent les recherches sur les biosurfactants se sont orientées vers la découverte de nouvelles molécules, l'étude de leur rôle naturel, et l'identification des gènes régulant leur biosynthèse.

La souche bactérienne décrite dans cette thèse est *Pseudomonas putida* PCL1445. *P. putida* PCL1445 produit deux biosurfactants formant une nouvelle classe de lipopeptides cycliques, putisolvin I et putisolvin II. Putisolvin solubilisent le naphthalène et le phénanthrène (deux composés hautement toxiques) et émulsifient le toluène. Ces propriétés rendent l'utilisation de putisolvin possible dans le traitement des sols contaminés par ces polluants.

Dans la nature, les bactéries forment des communautés de cellules adhérentes à une surface (e.g. sur la racine des plantes) et appelées biofilms. Les biofilms ont un énorme impact dans les milieux médical, industriel et agricole,

arborant des activités aussi bien bénéfiques que nuisibles. Les molécules de Putisolvin sont capables de solubiliser les biofilms incluant ceux, hautement résistants aux traitements par les antibiotiques, formés par le pathogène opportuniste *Pseudomonas aeruginosa* responsable d'infections graves acquises en milieu hospitalier (maladies nosocomiales). Cette propriété rend l'utilisation de biosurfactant putisolvin possible dans le domaine médical et notamment dans l'éradication des biofilms formés par les bactéries pathogènes pour l'homme. Le potentiel de ces biosurfactants stimule l'élucidation de leur biosynthèse et des mécanismes régulant leur production. Le but des travaux décrits dans cette thèse a donc été l'identification des systèmes de régulations jouant un rôle dans la biosynthèse de putisolvin, l'évaluation de leur rôle dans le fonctionnement de la bactérie, et l'amélioration de leur production pour de futures applications.

Trois approches ont été utilisées afin d'identifier les gènes contrôlant la production de putisolvin. Premièrement, la stratégie de la mutagenèse au hasard (ou « random mutagenesis ») de PCL1445 a conduit à l'identification de deux systèmes de régulation composés de gènes «heat-shock» (gènes dont l'expression est induite par une brusque variation de température dans l'environnement) et un système de transduction du signal (composé par une protéine sensorielle activée par un signal environnemental et une protéine transmettant le signal à travers une cascade de régulation conduisant à l'activation de gènes). (**Chapitre 2**). Deuxièmement, plusieurs gènes susceptibles de jouer un rôle dans la production de putisolvin et affectant la formation de biofilm ont été mutés dans PCL1445, ce qui a conduit à l'identification d'un système basé sur le « quorum sensing » contrôlant la communication intercellulaire et par conséquent le comportement de la communauté bactérienne toute entière. Les effets de ce système sur la production de putisolvin et sur la formation de biofilm par PCL1445 ont été étudiés dans le **Chapitre 3**. Troisièmement, la séquence d'ADN localisée en amont du gène biosynthétique dédié à la production de putisolvin a été analysée afin de détecter la présence de gènes régulateurs. Cette étude a conduit à l'identification d'un nouveau gène régulant la biosynthèse de putisolvin (**Chapitre 4**). Enfin les effets de facteurs environnementaux ont été analysés afin d'améliorer la production de putisolvin (**Chapitre 5**).

L'identification et le rôle de trois gènes dont l'expression est induite par une brusque variation de température et particulièrement par une brusque augmentation de celle-ci sont décrits dans le **Chapitre 2**. Ces trois gènes (*dnaK*, *dnaJ* et *grpE*) forment un système de réponse au stress et jouent un rôle crucial

dans la survie de la bactérie en contrôlant l'expression d'autres gènes qui protègent la bactérie contre les agressions extérieures à la cellule. Dans ce chapitre, nous avons démontré que la biosynthèse de putisolvin est régulée par ce système de réponse au stress. Cette découverte indique que le biosurfactant putisolvin joue un rôle central dans la survie de la bactérie dans son propre environnement. La seconde découverte est que la production de biosurfactant putisolvin augmente fortement à basse température et que cette production est sous le contrôle des gènes « heat-shock », indiquant que PCL1445 est adapté à une vie à basse température. L'identification d'un système de transduction du signal (appelé « two-component system ») jouant un rôle dans le contrôle de la production de putisolvin indique enfin que la production de ce biosurfactant est modulée par les conditions environnementales. Cette étude conforte l'hypothèse selon laquelle les biosurfactants jouent un rôle dans l'adaptation de la bactérie productrice dans des conditions environnementales changeantes.

Les bactéries ne sont pas des organismes unicellulaires autonomes au comportement collectif limité. Les cellules bactériennes sont en fait hautement communicatives et possèdent un comportement social. Les bactéries sont capables de coordonner leurs activités en produisant et en détectant des petites molécules signales diffusibles qui permettent à une population toute entière d'agir en groupe (formant ainsi un biofilm) plutôt que de manière individuelle. Un tel comportement social, appelé « quorum sensing », joue un rôle central dans le cycle de vie de la bactérie. En apprenant comment le système « quorum sensing » agit il est ainsi possible d'exploiter le système de communication intercellulaire bactérien et de découvrir le moyen de contrôler le comportement d'une communauté entière de cellules (le biofilm), et par conséquent le comportement nuisible ou bénéfique des micro-organismes. La bactérie *P. putida* PCL1445 est dotée d'un tel comportement social. Dans le **Chapitre 3**, nous avons découvert que PCL1445 produit des molécules signales (appelées *N*-acyl-homoserine lactones ou AHLs) contrôlant la production de putisolvin et participant à la formation de biofilm. Cette étude suggère que la communauté bactérienne coordonne la biosynthèse de biosurfactant lorsqu'une source nutritive devient limitante ou lors d'un stress environnemental conduisant ainsi grâce aux propriétés « tensioactives » de ces molécules au détachement d'une partie de la population bactérienne et ce afin de coloniser un autre milieu (ou niche écologique) plus favorable à leur établissement et à la formation de nouvelles communautés de bactéries

Le **Chapitre 4** décrit la découverte d'un autre gène important régulant l'expression du gène biosynthétique dédié à la production du biosurfactant putisolvin.

Dans le **Chapitre 5**, l'impact de différents facteurs environnementaux sur la production de putisolvin a été analysé. L'étude révèle que des stimuli spécifiques environnementaux, incluant la disponibilité de sources nutritives, une salinité élevée et une faible oxygénation du milieu jouent un rôle essentiel dans la biosynthèse de putisolvin en contrôlant l'expression des gènes *gacA* et *gacS* formant le système de transduction du signal.

En conclusion, de nouveaux mécanismes dédiés à la régulation de la biosynthèse de biosurfactants ont été décrits contribuant ainsi à la connaissance du rôle de ces molécules dans la prolifération bactérienne et de leur impact sur l'environnement. Cependant il reste encore à savoir si ces mécanismes de régulation sont répandus chez d'autres espèces bactériennes. Par conséquent l'accroissement des connaissances sur le fonctionnement des biosurfactants permettrait de manipuler leur production afin d'exploiter leur propriétés pour des applications dans les domaines médical, industriel ou agricole.

