



POLYTECH.MONS

Biosynthèse de métabolites

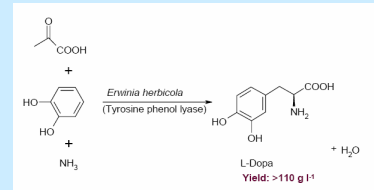
M. De Meyer, A.L. Hantson, C. Decamps

De nombreux métabolites sont présents dans la nature, et présentent une activité biologique très intéressante. Certains d'entre eux sont notamment à la base du développement de thérapies spécifiques.

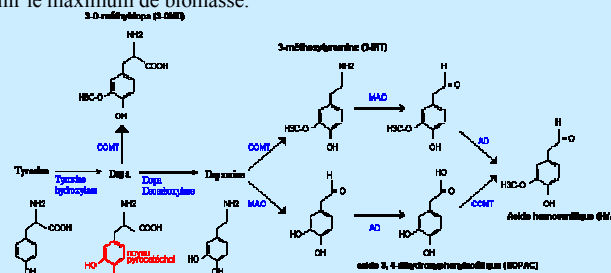
Plusieurs voies de synthèse de biomolécules sont possibles : la synthèse en phase liquide et en phase solide. Cette dernière présente de nombreux avantages : limitation de pertes en produits de synthèse, récupération aisée des composés intermédiaires, rapidité, réduction des réactions secondaires, maintien de la configuration spatiale de la molécule...

Cette recherche est centrée sur l'étude de la biosynthèse de la L-dopa (intervenant dans le traitement de la maladie d'Alzheimer) sur un support solide (billes d'alginate) avec comme objectif une amélioration du rendement et l'obtention d'un seul isomère biologiquement actif.

La biosynthèse se déroule à partir de catechol et de pyruvate de sodium, à l'aide d'une enzyme, la tyrosine phénol lyase. Plusieurs micro organismes dont *Erwinia Herbicola* (ATCC 21434) permettent d'obtenir cette enzyme. Les milieux de culture pour *Erwinia Herbicola* ont également été optimisés afin d'obtenir le maximum de biomasse.



Composant	% poids	
pyroocatechol	0.8	8 g/l
Sodium pyruvate	2.5	25 g/l
Ammonia	5	50 g/l
Sodium sulfite	0.2	2 g/l
EDTA	0.1	1 g/l



Etude du processus

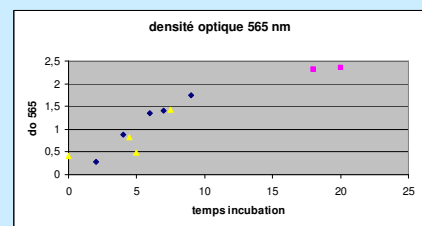
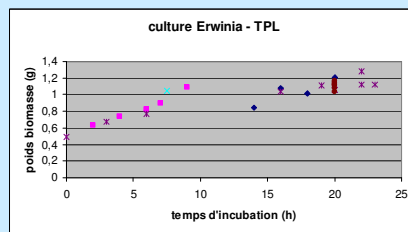
Cette biosynthèse se déroule en quatre étapes : culture du micro organisme, enrichissement du milieu en tyrosine phénol lyase (obtention d'une biomasse suffisante), immobilisation des cellules sur billes d'alginate et production de la L-dopa. Les paramètres à exploiter afin d'optimiser le processus sont : la température (30 à 50°C), le pH (8), la concentrations en catechol, la concentration et le diamètre des billes d'alginate, le poids de biomasse.

1. Optimisation de la synthèse de tyrosine phénol lyase

Afin d'optimiser le poids de biomasse obtenu, le développement du micro organisme a été étudié. Pour ce faire, les cultures sont stoppées à des temps d'incubation différents et les solutions sont passées au spectrophotomètre. Cette mesure permet d'obtenir une relation entre la densité optique de la solution et le nombre de micro organisme présents.

Milieu de culture pour l'enzyme

L-tyrosine	2 g/l
KH ₂ PO ₄	2 g/l
Pyridoxine.HCl	0,1 g/l
Peptones	5 g/l
Extrait de levure	10 g/l
pH	7,5 (NaOH)
Eau de ville	



2. Optimisation de la synthèse de L-dopa et dopamine

La biomasse est ensuite transférée dans le milieu de culture contenant du catechol et du pyruvate de sodium afin de synthétiser la L-dopa.

Pour suivre la synthèse de la L-dopa, la technique de la chromatographie liquide haute pression (HPLC) est utilisée.

