

Développement de la bactérie *Methylobacterium extorquens* ATCC 55366 comme système d'expression

GROLEAU Denis, MIGUEZ Carlos et CHOI Young Jun

Groupe de technologie microbienne et enzymatique, Secteur Bioprocédés, Institut de recherche en biotechnologie, CNRC, Montréal, QC, Canada

Notre groupe s'intéresse aux microorganismes méthylotrophes et méthanotrophes depuis plus de 12 ans. Ce groupe de microorganismes offre beaucoup de potentiel pour le développement de produits et de procédés applicables dans divers domaines tels la santé, le développement durable, l'écologie microbienne, et l'environnement. La bactérie *Methylobacterium extorquens* ATCC 55366 fut isolée en 1988 d'un échantillon de sol contaminé par des hydrocarbures durant plusieurs décennies. Dans un premier temps, ce microorganisme servit de base au développement d'un procédé de production à haut rendement d'un plastique biodégradable, l'acide poly- β -hydroxybutyrique (PHB). Vers 1998, constatant le besoin de développer des technologies d'expression génique non seulement supérieures mais aussi libres de tout droit touchant la propriété intellectuelle, la décision fut prise de "recycler" la bactérie *M. extorquens* et de tenter d'en faire un système d'expression procaryote de deuxième génération. Nous avons plusieurs atouts : (a) des brevets sur le microorganisme ; (b) un procédé de culture à haut rendement et bien contrôlé du microorganisme ; (c) un milieu de culture complètement synthétique ; (d) une compétition très limitée. Un premier essai avec le gène de la GFP (GFP = Green Fluorescent Protein) donna des résultats concluants, soit une production cytoplasmique de GFP de l'ordre de plusieurs grammes au litre. D'autres résultats positifs d'expression suivirent : une bactériocine, une estérase, un insecticide protéique, une chitinase, ainsi qu'une β -glucosidase. Malgré ces résultats prometteurs, le nouveau système souffrait de deux lacunes importantes : (a) absence d'un protocole d'expression des gènes par induction ; et (b) absence d'un mécanisme d'intégration des gènes dans le "chromosome". Des progrès très importants ont été générés sur ces deux aspects depuis environ 18 mois. Nous avons développé une stratégie d'induction très efficace employant un mécanisme de régulation développé originalement par des collègues pour des systèmes d'expression à base de cellules de mammifères. Nous avons aussi développé un mécanisme d'intégration spécifique des gènes dans le "chromosome" de *M. extorquens*, mécanisme qui permet de contrôler le nombre de copies du gène et, ainsi, de moduler l'expression en fonction de l'objectif désiré. Après plus de six années de développement, nous croyons que *M. extorquens* ATCC 55366 offre beaucoup de potentiel comme système d'expression, comme mini usine pour le génie métabolique et comme vecteur pour diverses applications en écologie microbienne.