

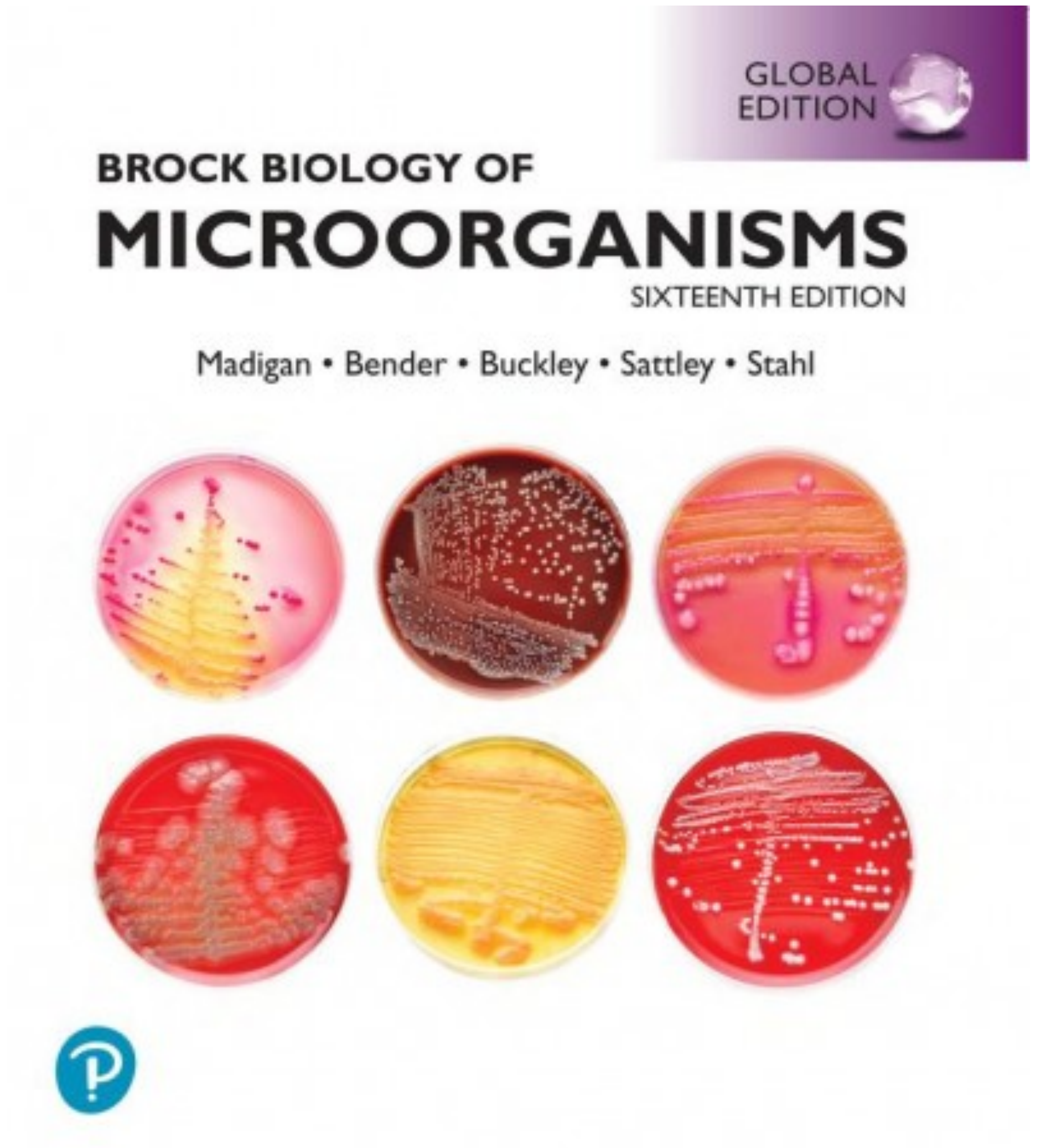
Introduction à la microbiologie (II)

Biologie Générale - BioEng-110 - CG 6

Camille Goemans - 2025

Plan

- **Biotechnologie et biologie synthétique**
- Microbiologie humaine: le microbiote



La biotechnologie

La **biotechnologie** est l'utilisation de systèmes biologiques, organismes ou dérivés pour créer des produits et technologies pour de nombreuses applications en médecine, agriculture, industrie, gestion de l'environnement, etc.

Les outils - ingénierie génétique*

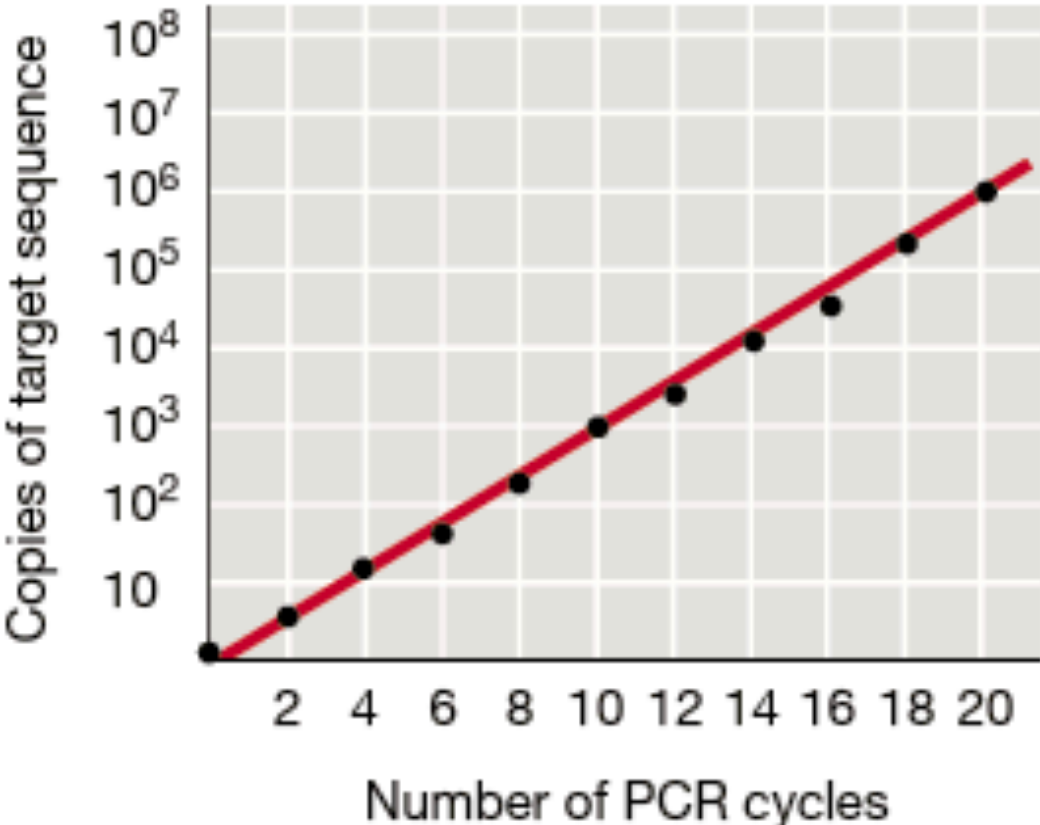
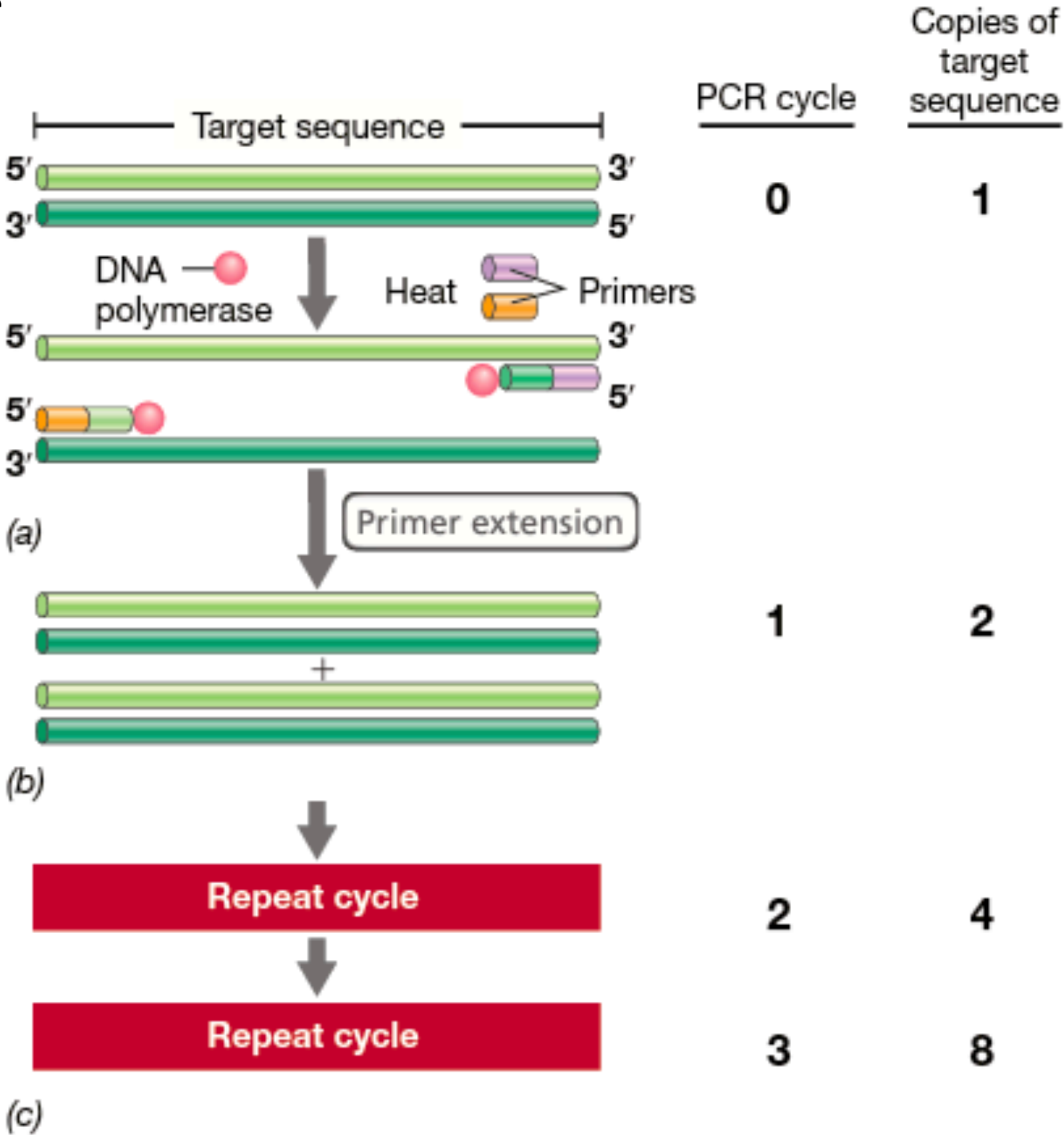
L'**ADN** peut être modifié en laboratoire pour obtenir différents produits. Pour cela, l'ADN doit être purifié, amplifié, coupé et/ou assemblé.

* plus de détails en BIO-205

Les outils - ingénierie génétique*

1. La PCR ou polymerase chain reaction

But: amplifier une région spécifique d'ADN, pour en avoir de nombreuses copies



* plus de détails en BIO-205

Les outils - ingénierie génétique

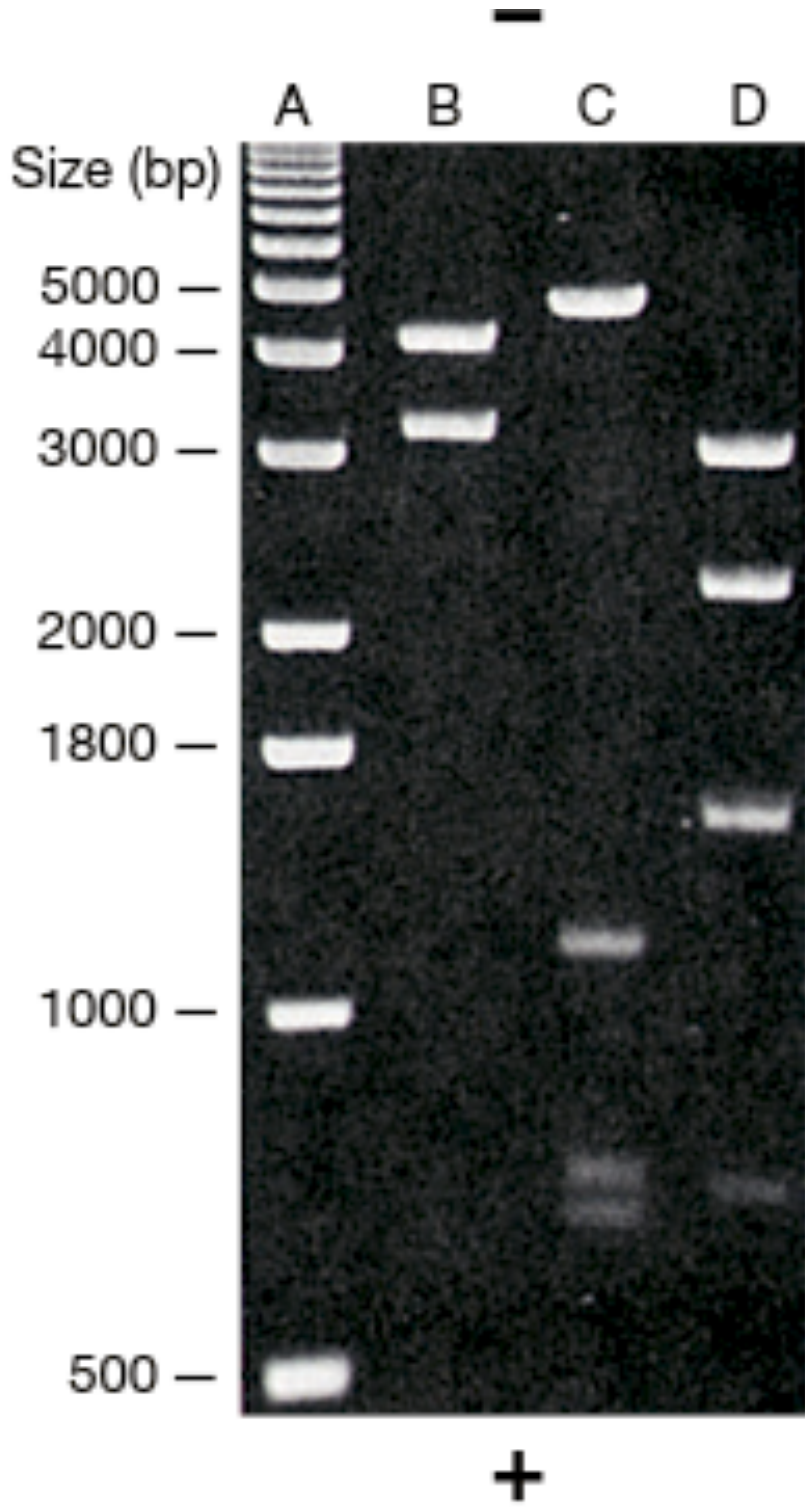
2. Electrophorèse sur gel

But: visualiser des fragments d'ADN qui ont migré en fonction de leur taille

Utilisation d'un agent intercalant pour la visualisation



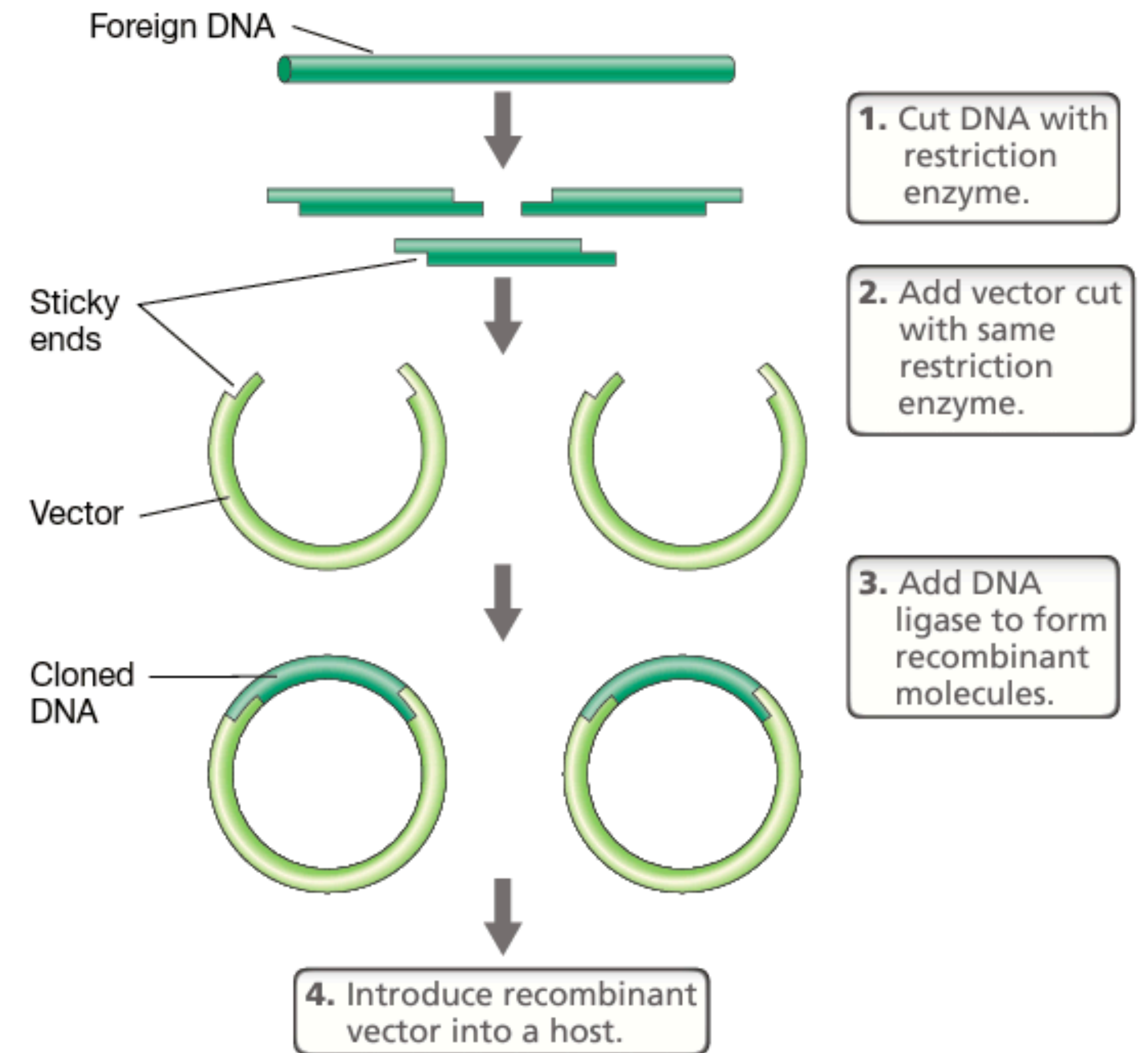
(a)



Les outils - ingénierie génétique

3. Clonage et plasmides

But: assembler des morceaux d'ADN afin de les transformer (=insérer dans une cellule bactérienne)



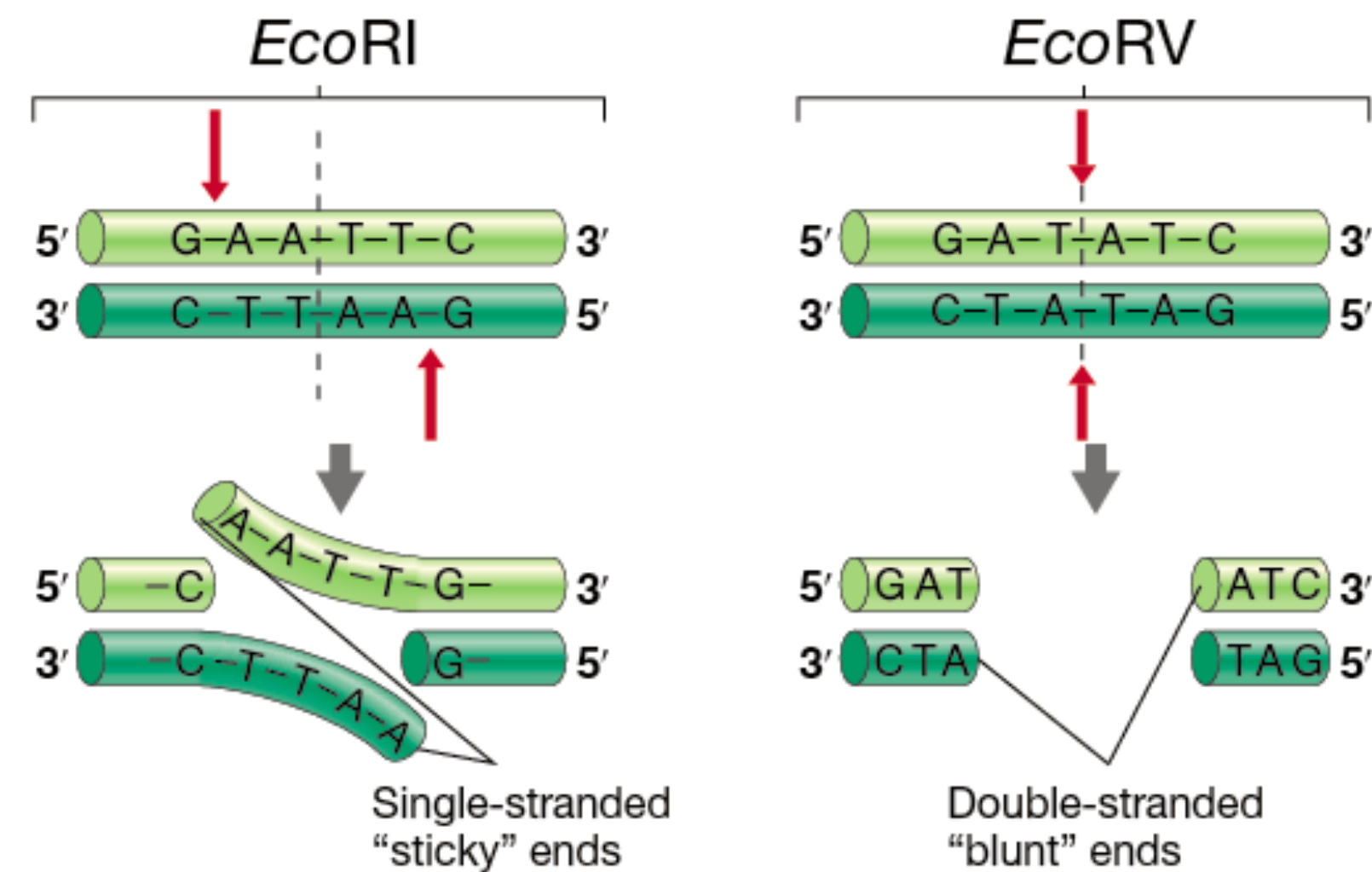
Les outils - ingénierie génétique

3. Clonage et plasmides

But: assembler des morceaux d'ADN afin de les transformer (=insérer dans une cellule bactérienne)

Les **enzymes de restriction** permettent de couper l'ADN à un endroit bien précis qui dépend de la séquence.

A l'origine, les enzymes de restriction viennent des bactéries et elles servent de **défense anti-phages** (=virus qui infectent les bactéries). Ces enzymes ont pour rôle de détruire le génome viral lors de l'attaque.

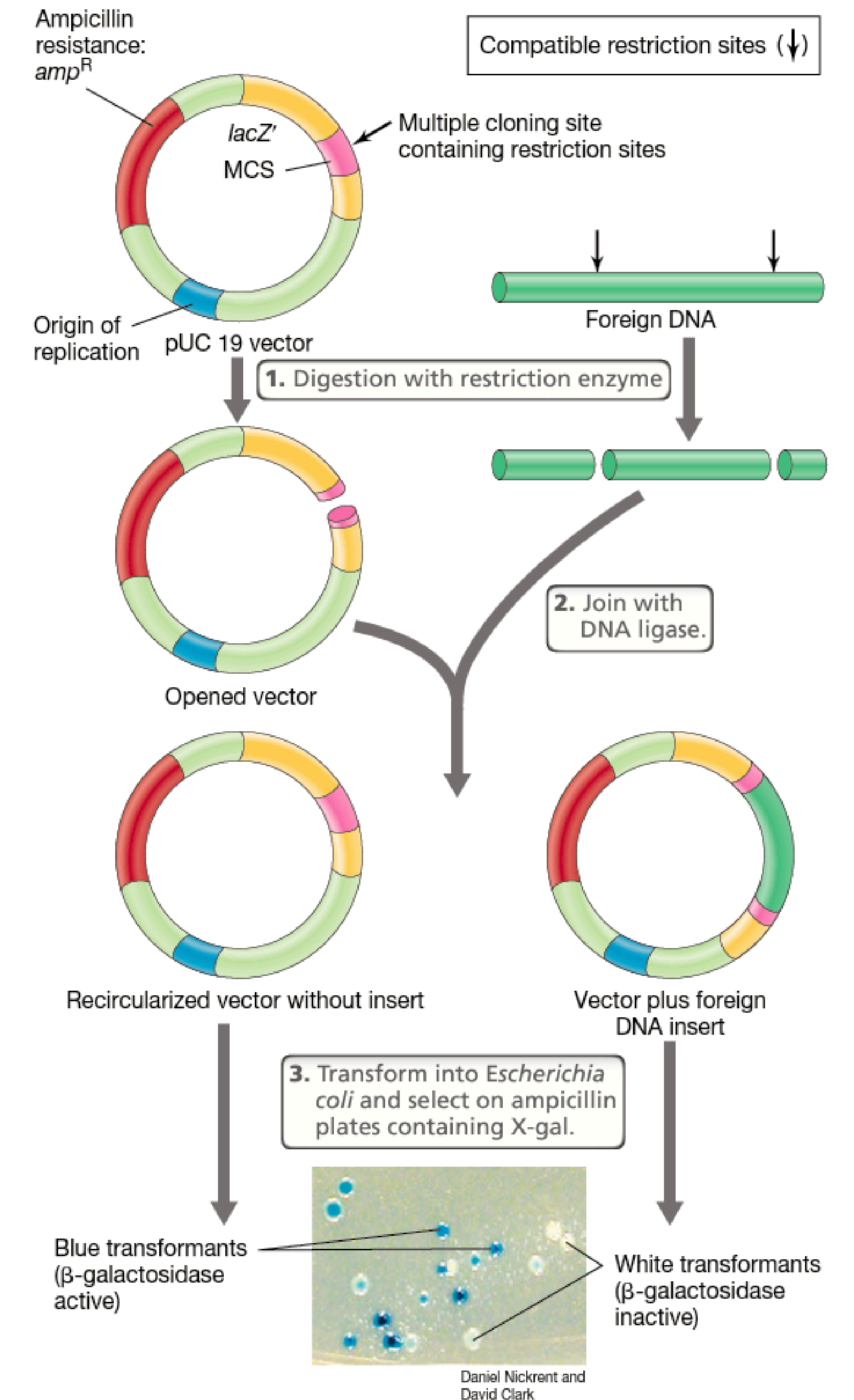


Les outils - ingénierie génétique

3. Clonage et plasmides

But: assembler des morceaux d'ADN afin de les transformer (=insérer dans une cellule bactérienne)

Les **plasmides** sont de l'ADN double brin circulaire naturellement présents dans les bactéries. Ils servent de **matrice** pour le clonage.

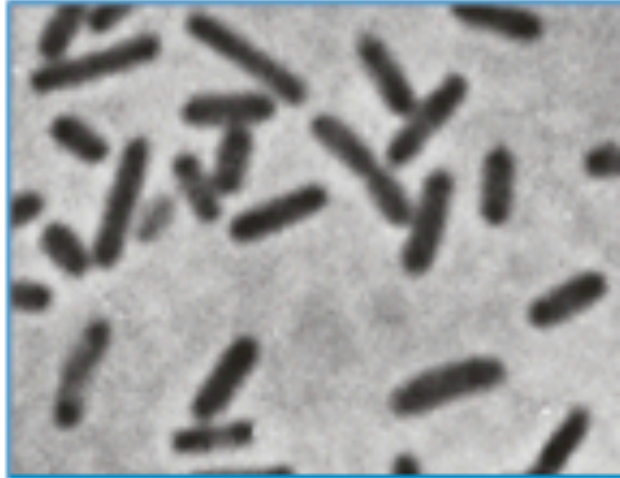
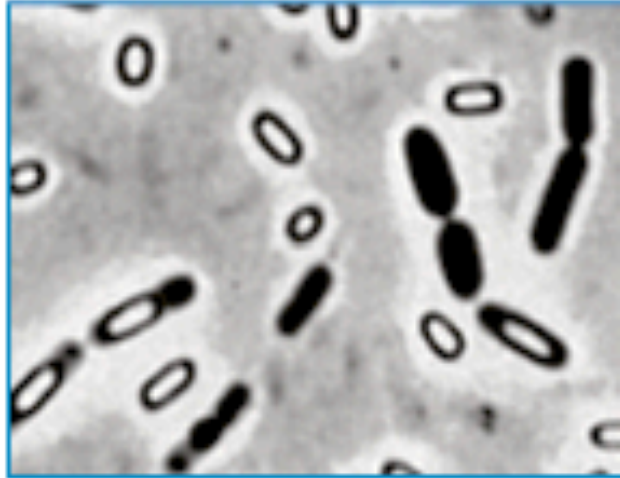
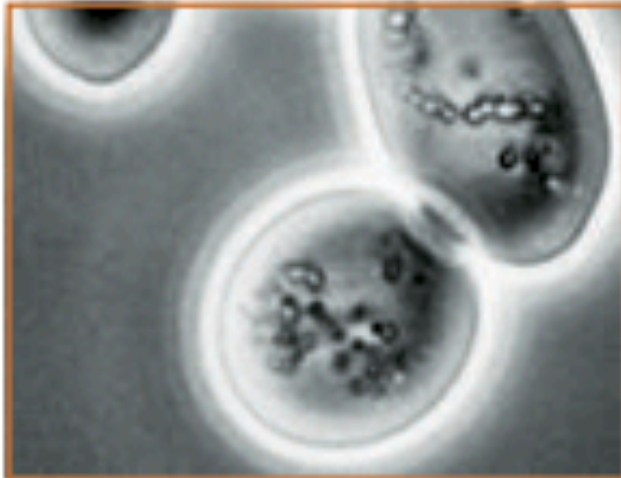


Les outils - ingénierie génétique

3. Clonage et plasmides

But: assembler des morceaux d'ADN afin de les transformer (=insérer dans une cellule bactérienne)

Une fois les plasmides assemblés, ils sont insérés dans des **cellules hôtes** qui vont ensuite exprimer la protéine d'intérêt.

Bacteria		Eukaryote
<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
		
Well-developed genetics Many strains available Most-studied bacterium	Easily transformed Nonpathogenic Naturally secretes proteins Endospore formation simplifies culture	Well-developed genetics Nonpathogenic Can process eukaryotic mRNAs Easy to grow
Potentially pathogenic Periplasm traps proteins	Genetically unstable Genetics less developed than in <i>E. coli</i>	Plasmids unstable Will not replicate most bacterial plasmids
Advantages		Disadvantages

La biotechnologie

- Utilisation de **microbes non modifiés**
 - boissons, alimentation, enzymes, etc.



La biotechnologie

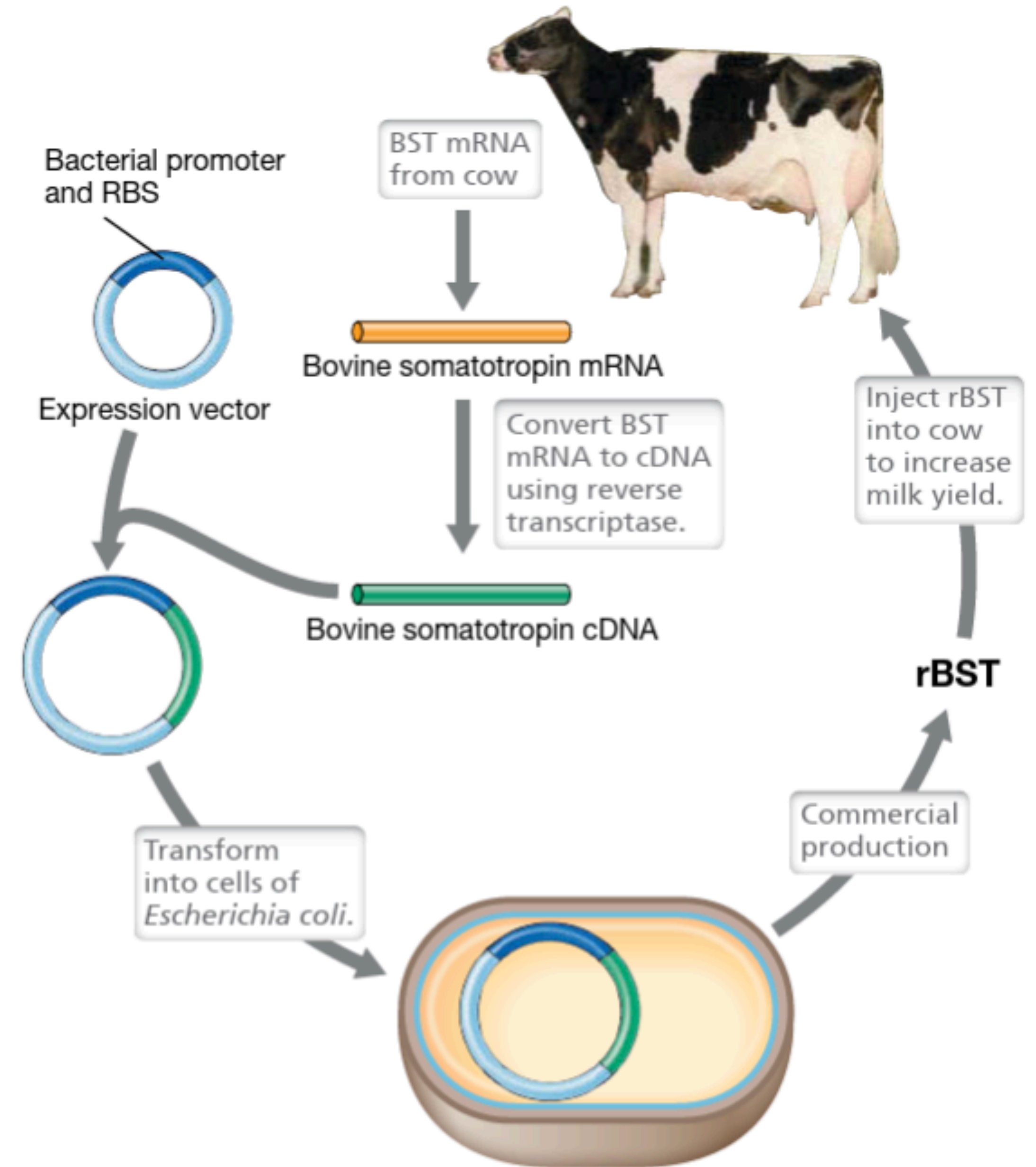
- Utilisation de **microbes génétiquement modifiés**
 - **Comment?** voir cours Molecular and Cellular Biology I next semester
 - **Pourquoi?**
 - La production de **protéines humaines** (insuline, somatotropin = hormone de croissance, ...)
 - La production de **protéines animales**

TABLE 12.1 A few human medical products made by genetic engineering

<i>Product</i>	<i>Function</i>
Blood proteins	
Erythropoietin	Treats certain types of anemia
Factors VII, VIII, IX	Promotes blood clotting
Tissue plasminogen activator	Dissolves blood clots
Urokinase	Promotes blood clotting
Human hormones	
Epidermal growth factor	Wound healing
Follicle-stimulating hormone	Treatment of reproductive disorders
Insulin	Treatment of diabetes
Nerve growth factor	Treatment of degenerative neurological disorders and stroke
Relaxin	Facilitates childbirth
Somatotropin (growth hormone)	Treatment of some growth abnormalities
Immune modulators	
α -Interferon	Antiviral, antitumor agent
β -Interferon	Treatment of multiple sclerosis
Colony-stimulating factor	Treatment of infections and cancer
Interleukin-2	Treatment of certain cancers
Lysozyme	Anti-inflammatory
Tumor necrosis factor	Antitumor agent, potential treatment of arthritis
Replacement enzymes	
β -Glucocerebrosidase	Treatment of Gaucher disease, an inherited neurological disease
Therapeutic enzymes	
Human DNase I	Treatment of cystic fibrosis
Alginate lyase	Treatment of cystic fibrosis

La biotechnologie

- Utilisation de **microbes génétiquement modifiés**
 - **Comment?** voir cours Molecular and Cellular Biology I next semester
 - **Pourquoi?**
 - La production de **protéines humaines** (insuline, somatotropin = hormone de croissance, ...)
 - La production de **protéines animales**

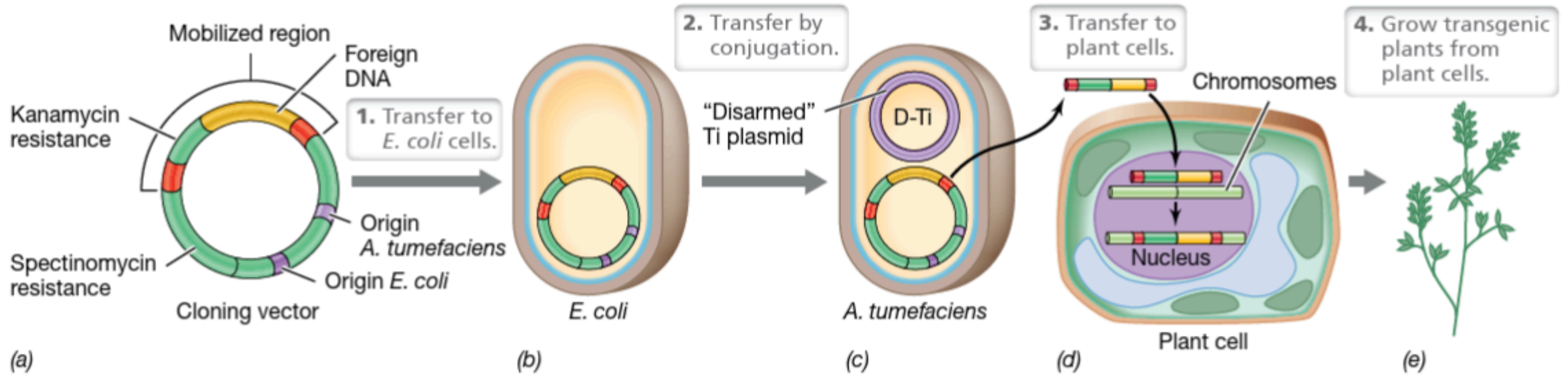


La biotechnologie

- Utilisation de **microbes génétiquement modifiés**

- **Pourquoi?**

- En **agriculture**, pour produire des plantes génétiquement modifiées (OGM) qui résistent par exemple aux herbicides ou pesticides

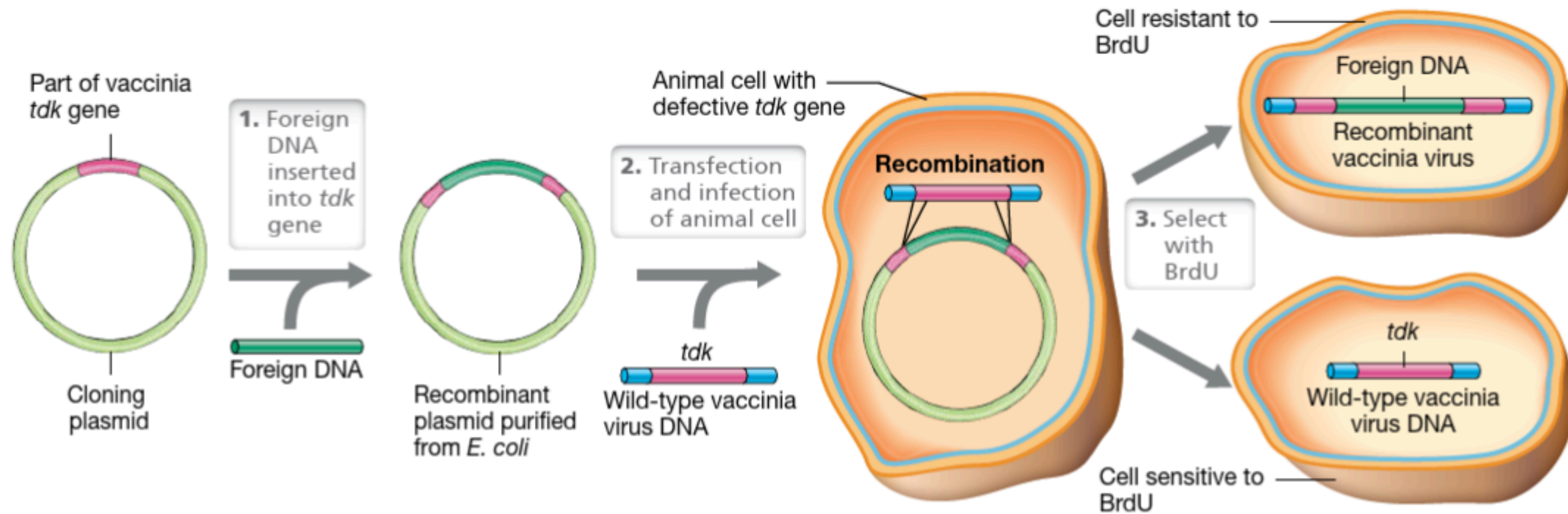


La biotechnologie

- Utilisation de **microbes génétiquement modifiés**

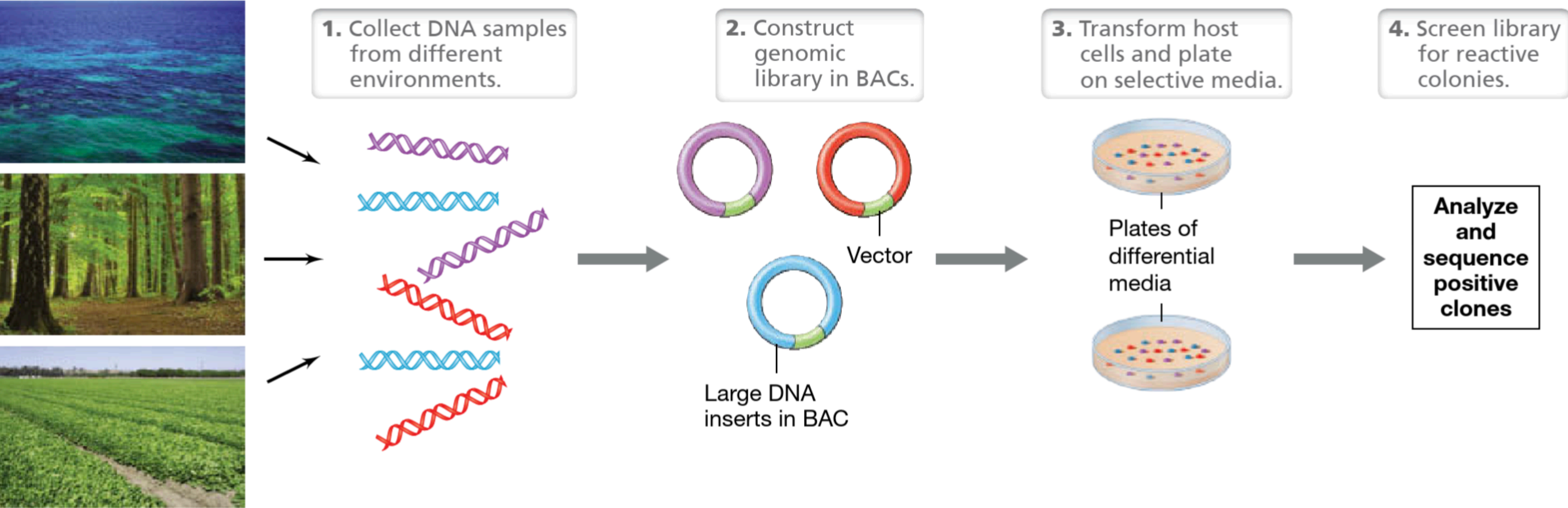
- **Pourquoi?**

- En **médecine**, pour produire des vaccins (ex: vaccin contre le virus vaccinia)



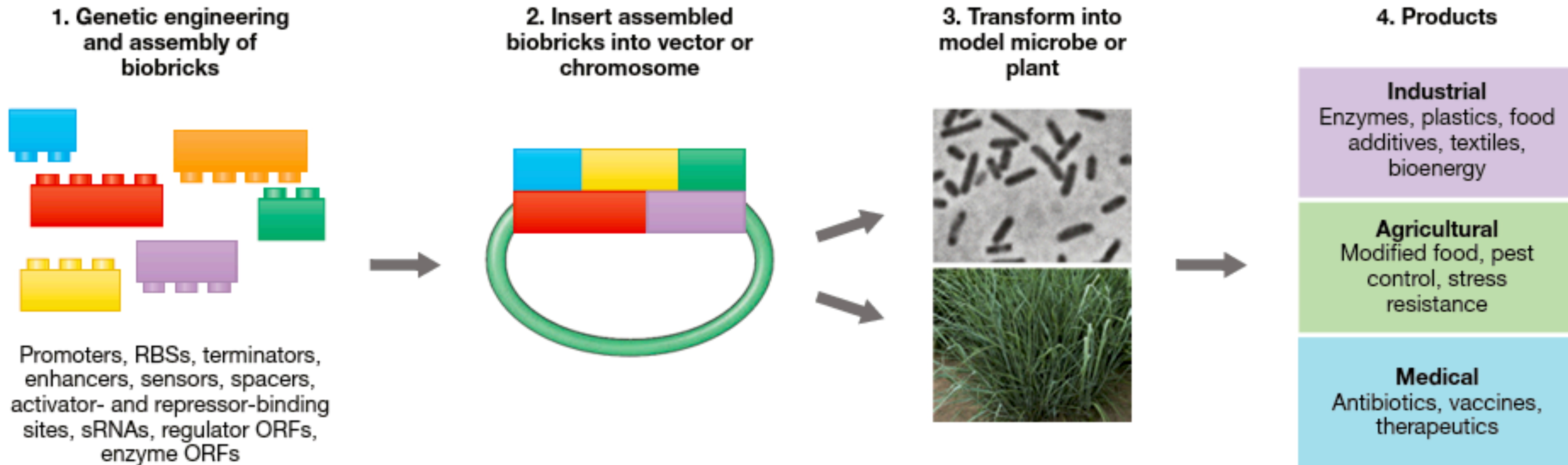
La biotechnologie

- Recherche **métagénomique** pour trouver des **nouveaux gènes** utiles



La biologie synthétique

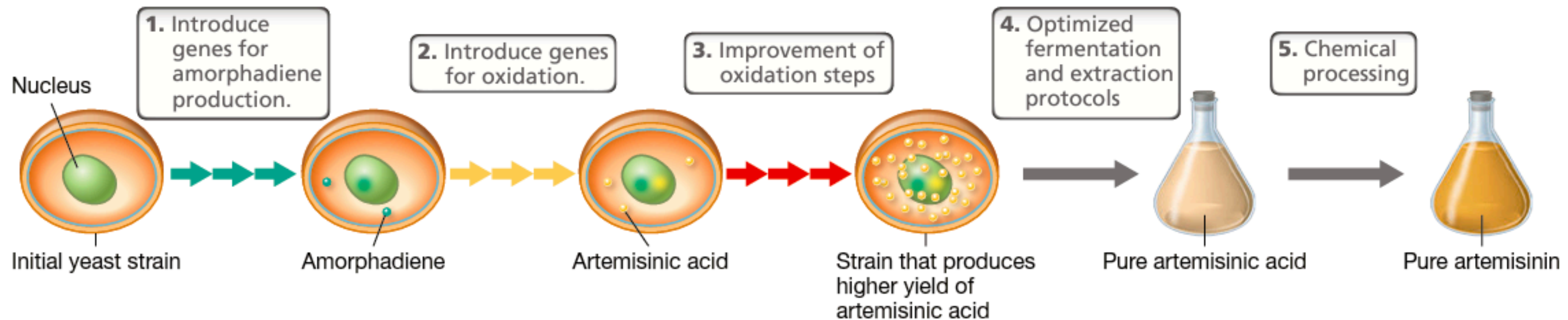
La **biologie synthétique** est la création de nouveaux systèmes biologiques en utilisant des pièces biologiques disponibles qui proviennent de différents organismes (= biobricks)



<https://competition.igem.org/>

Voie métaboliques synthétiques

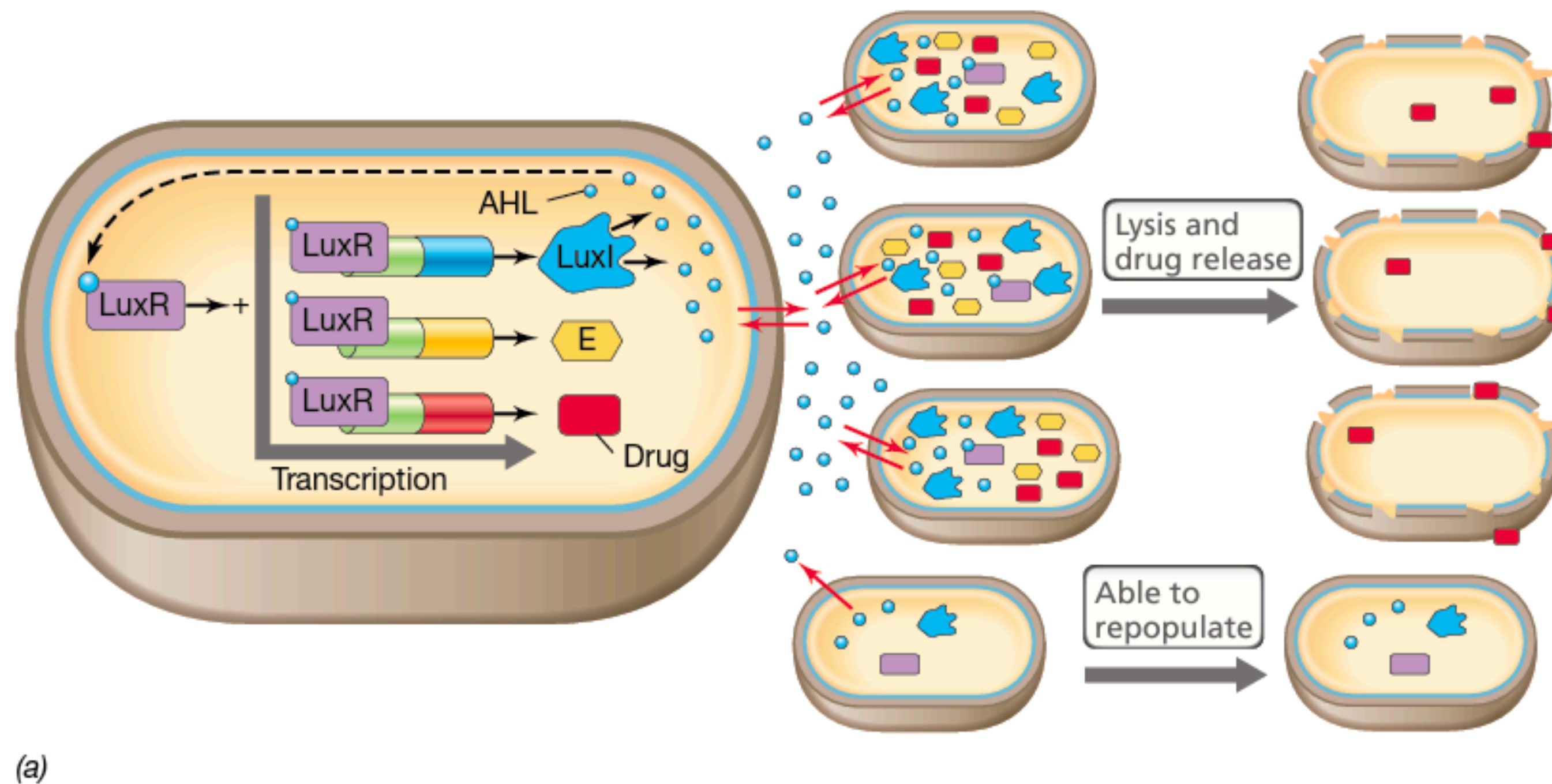
- Purifier un **produit naturel** peut être complexe et coûter très cher
- Ex: un **additif alimentaire** - la vanilline
 - la vanilline est un métabolite naturellement présent dans les gousses de **vanille** (rendement faible)
 - après avoir analysé la **voie métabolique** qui produit la **vanilline**, des scientifiques l'ont reproduite chez les **bactéries** (expression de 5 enzymes)
- Ex: certains **médicaments** - l'artémisinine contre la malaria



Voie métaboliques synthétiques

- Biosenseurs et circuits génétiques

- Ex: bactéries qui produisent et relâchent des médicaments anti-cancer

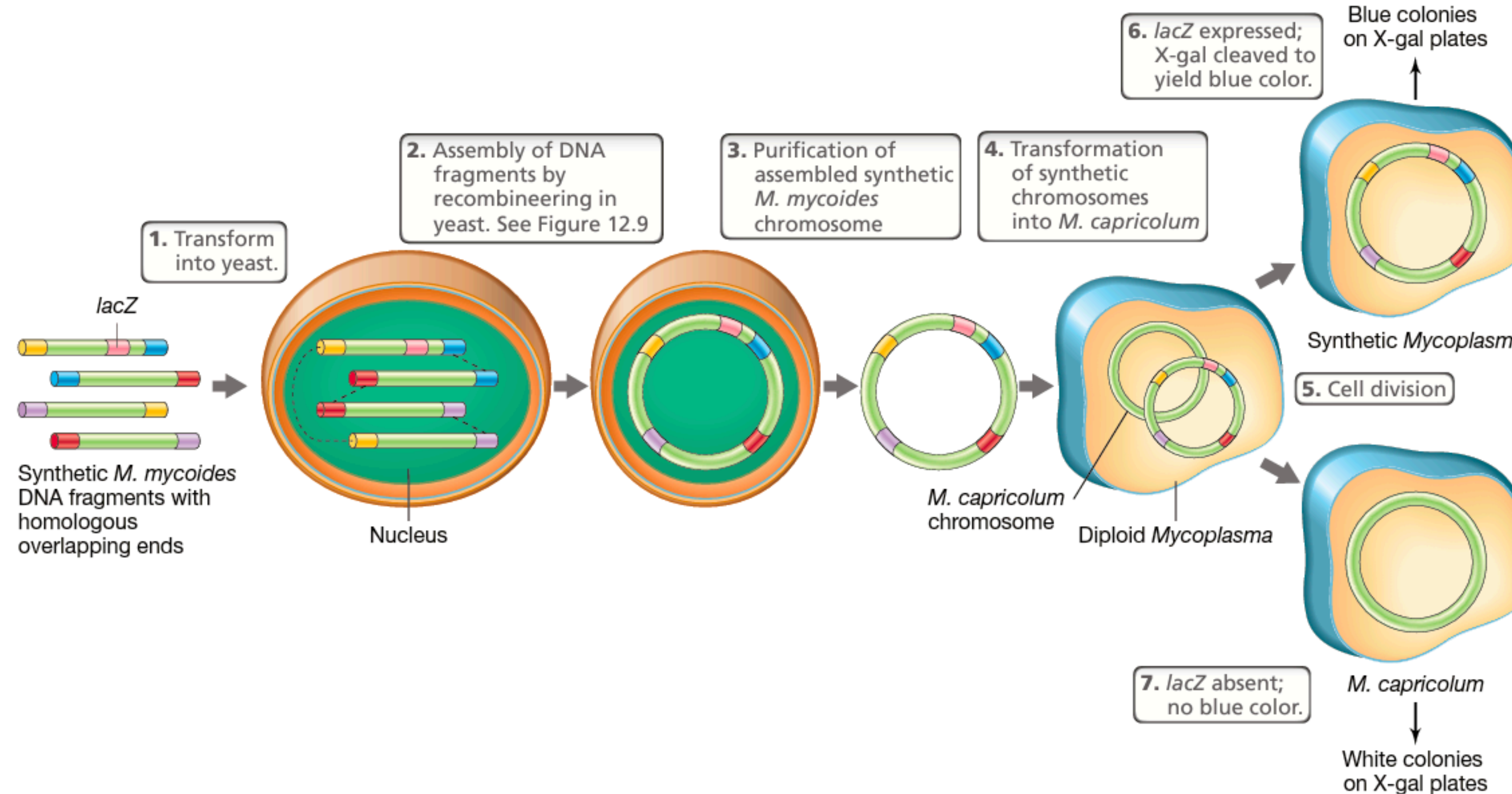


Voie métaboliques synthétiques

- La cellule synthétique

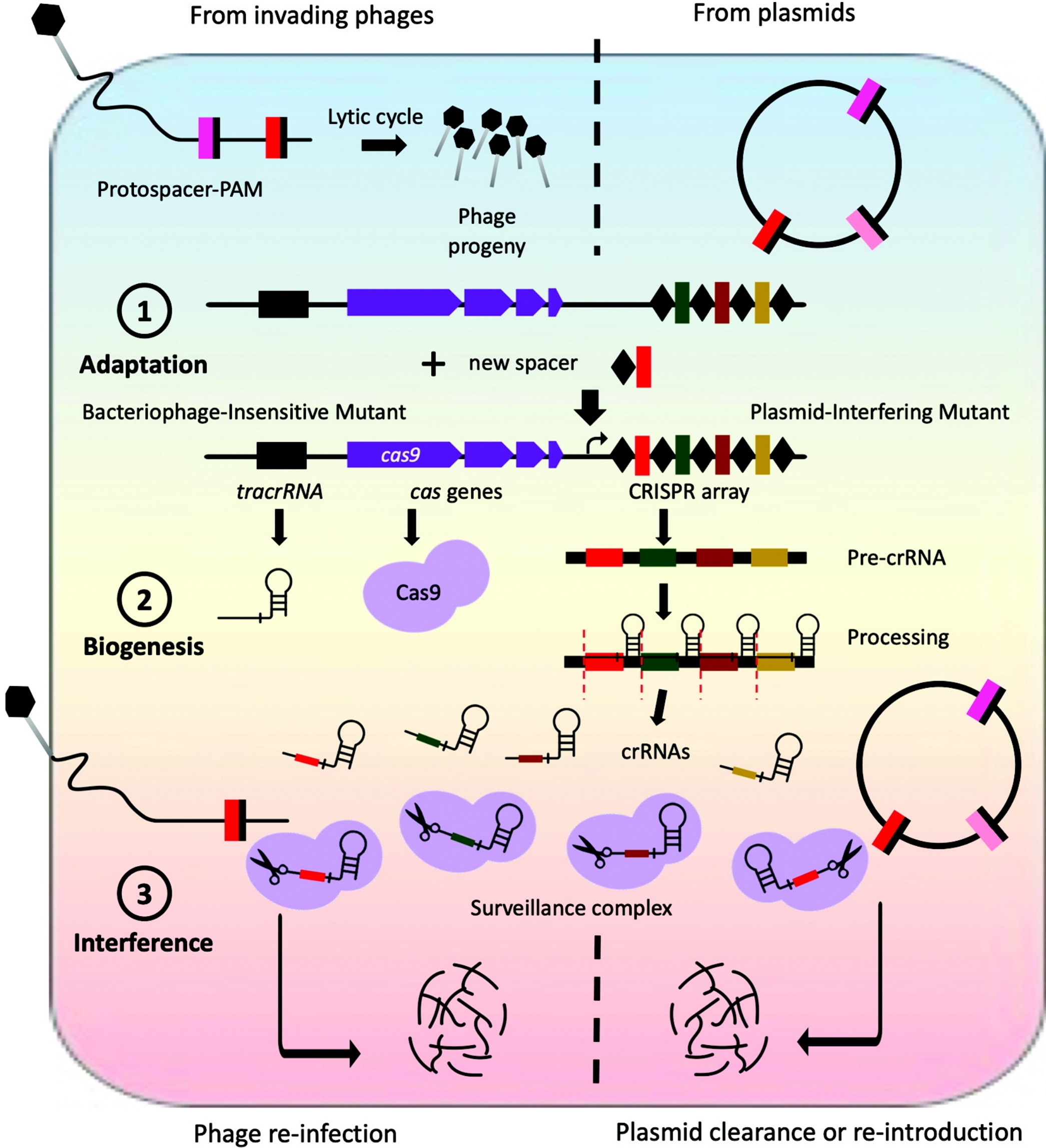
- Pas encore possible

- Premières tentative en 2010 - mais ne part pas uniquement de biobriques

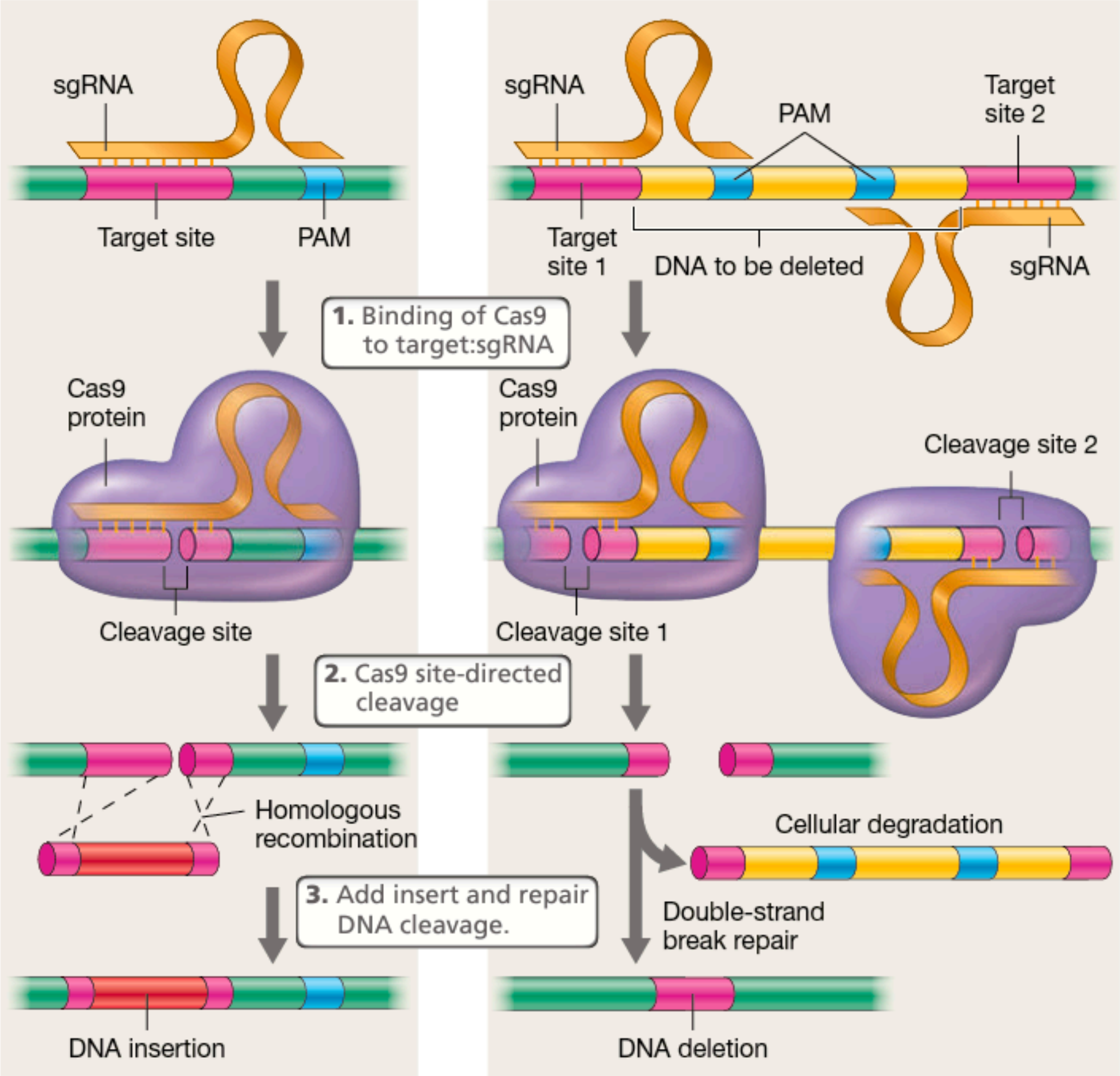


Edition de génomes et CRISPR

- Le système **CRISPR** est un système présent naturellement chez certaines bactéries et qui sert d'immunité contre l'infection par les phages

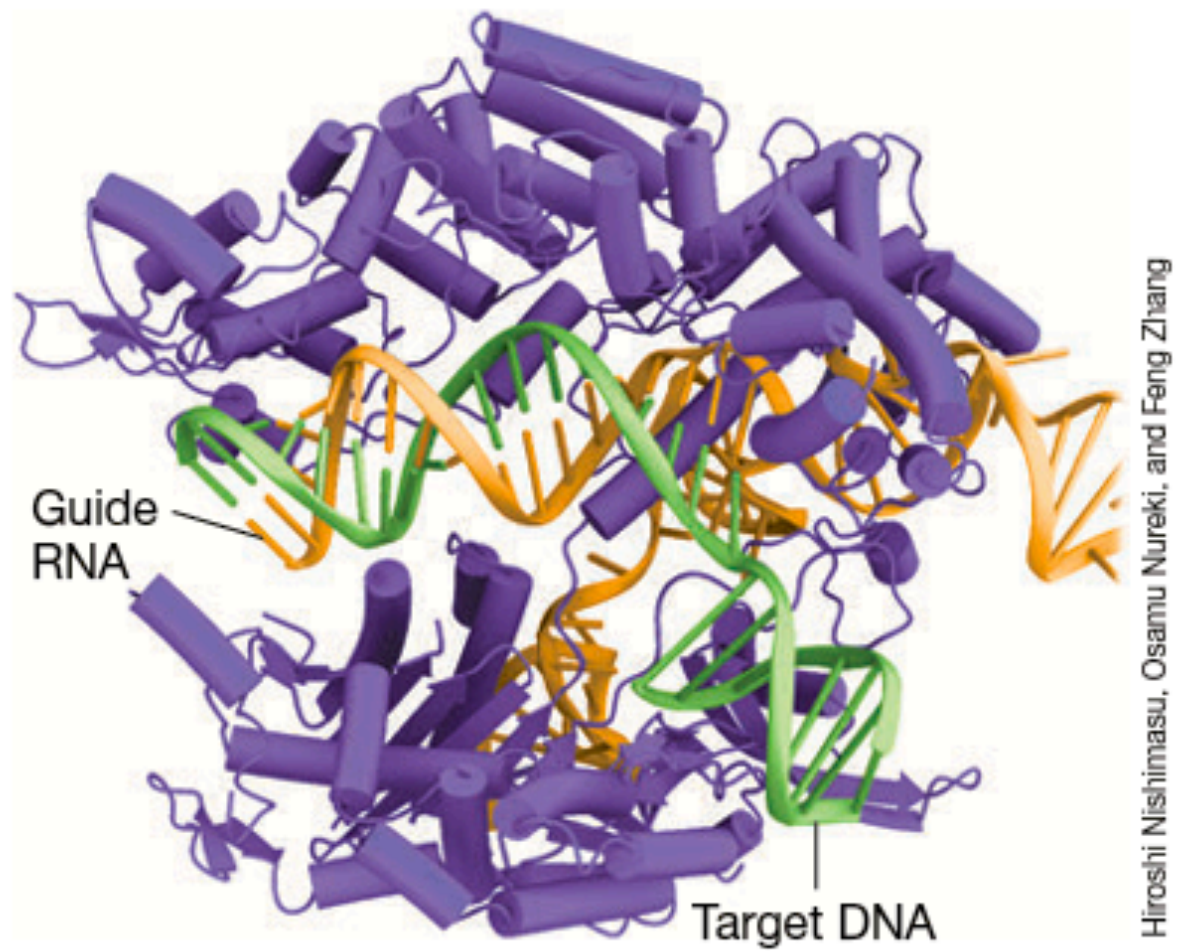


Edition de génomes et CRISPR



(a) **Genome insertion**

(b) **Genome deletion**

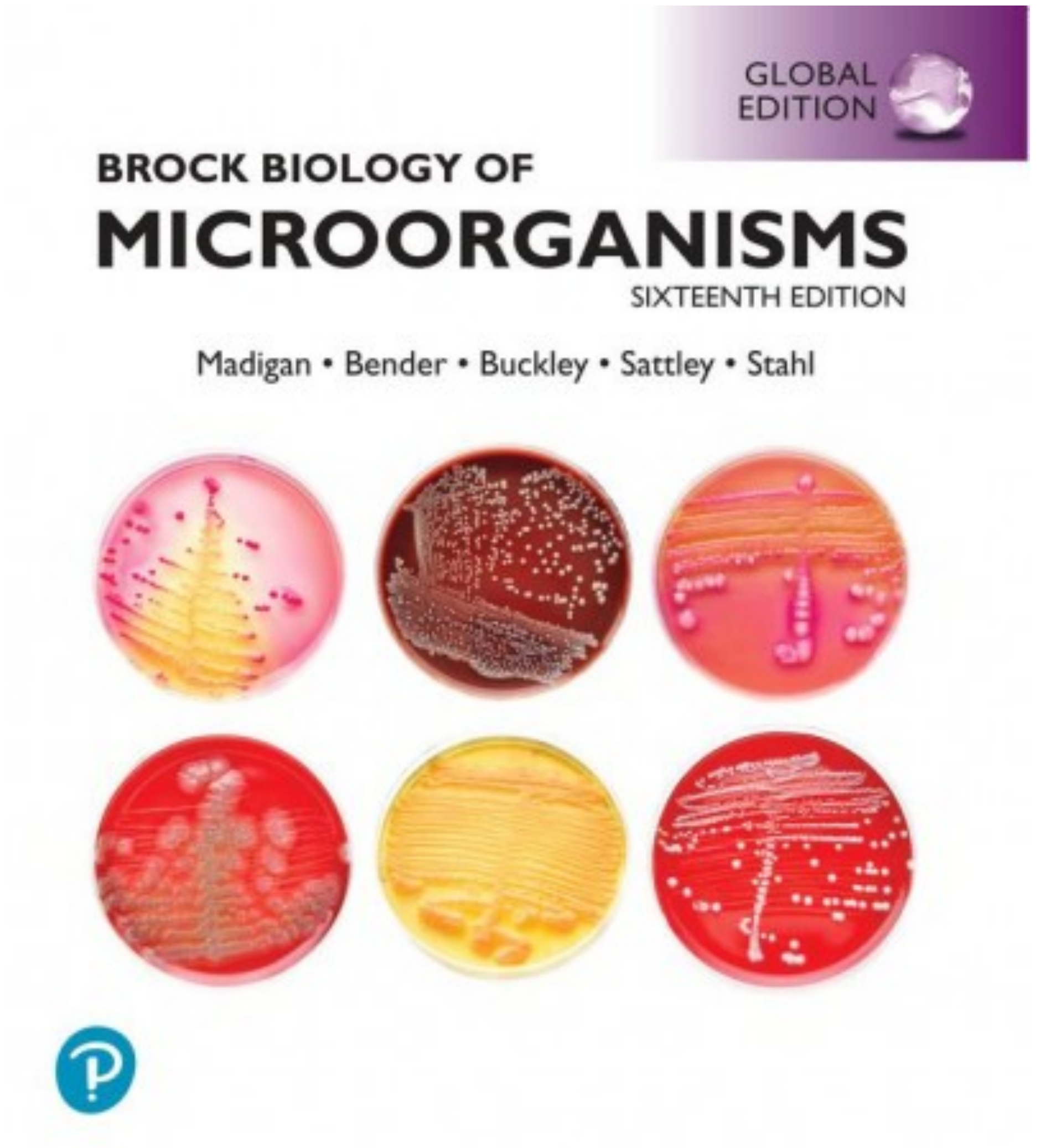


Hiroshi Nishimasu, Osamu Nureki, and Feng Zhang

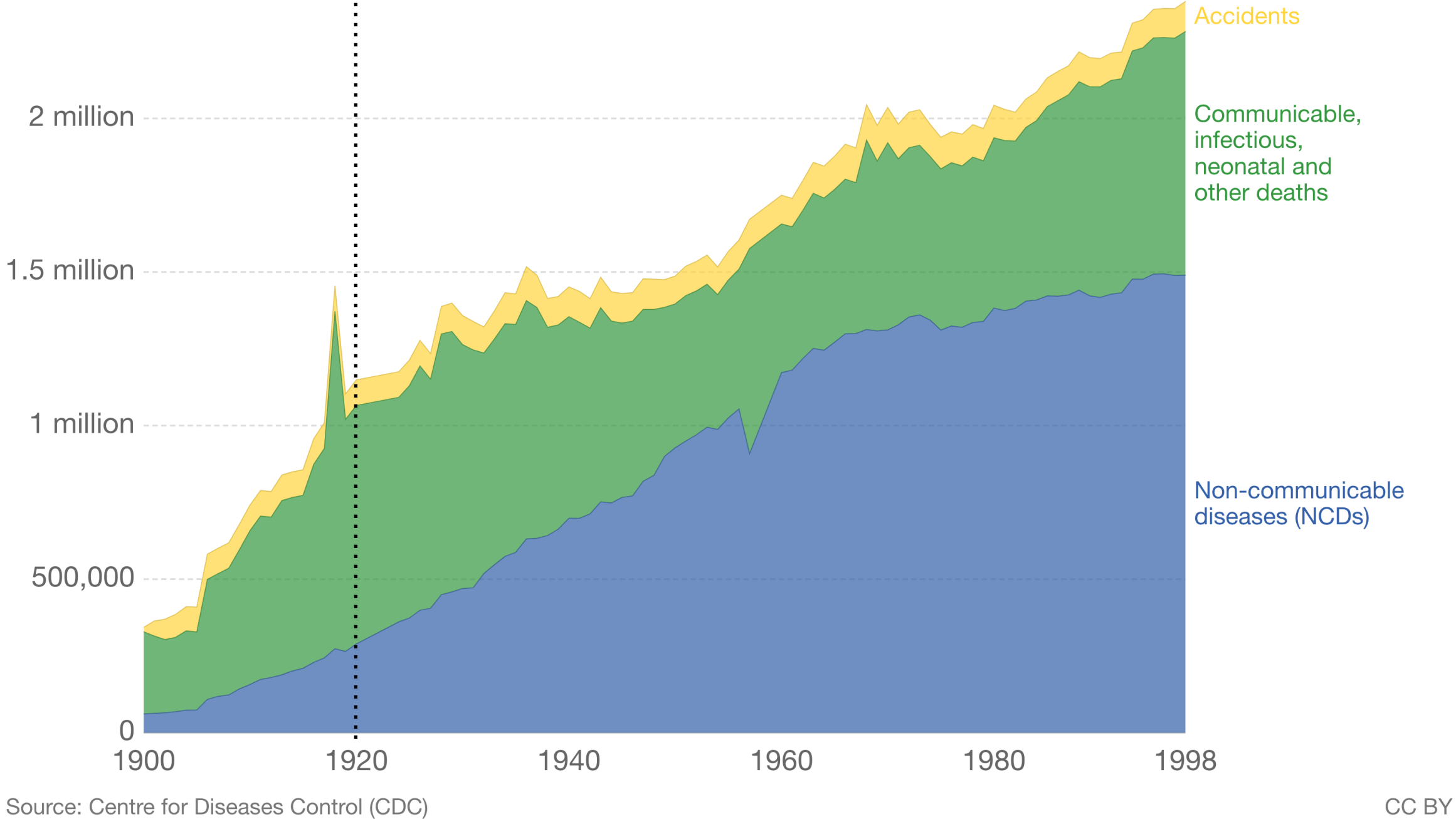
(c)

Plan

- Biotechnologie et biologie synthétique
- **Microbiologie humaine: le microbiote**



Evolution des maladies au 20^e siècle



Maladies infectieuses

Découverte des antibiotiques, vaccins, hygiène

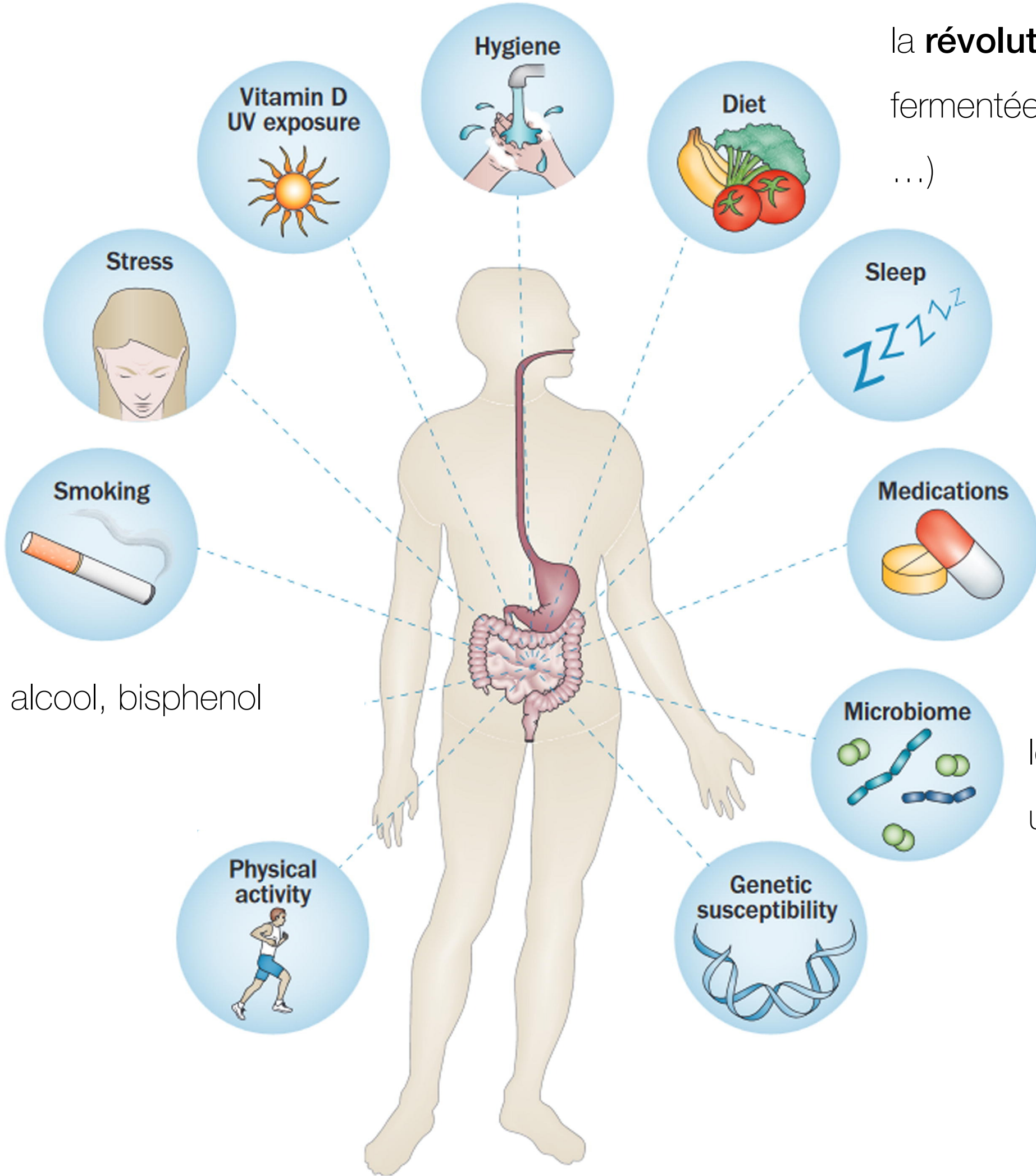
Maladies non-transmissibles

Cancers, maladies cardio-vasculaires, diabète, syndrome métabolique, obésité, autisme, dépression, anxiété, allergies, Alzheimer, maladie coeliaque, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, lupus, arthrose, hypo/hyper-thyroïdie,...

Quelles sont les causes ?

l'**urbanisation** (la pollution, peu de contact avec les animaux, excès d'hygiène)

la **révolution alimentaire** (nourriture stérile, plus de nourriture fermentée, plats préparés trop gras, trop salés, trop sucrés, ...)



les **antibiotiques** et leur utilisation en excès

les modes **d'accouchement** (césarienne, utilisation de lait en poudre)

utilisation de molécules **toxiques** (tabac, alcool, bisphenol A, Round Up, ...)

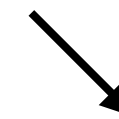
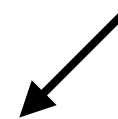
Quelles sont les causes ?

2003- Human **Genome** Project

20 000 gènes, 99.9 % identiques entre 2 individus



Le génome ne suffit pas pour expliquer nos différences (ex: clonage)



Epigénétique

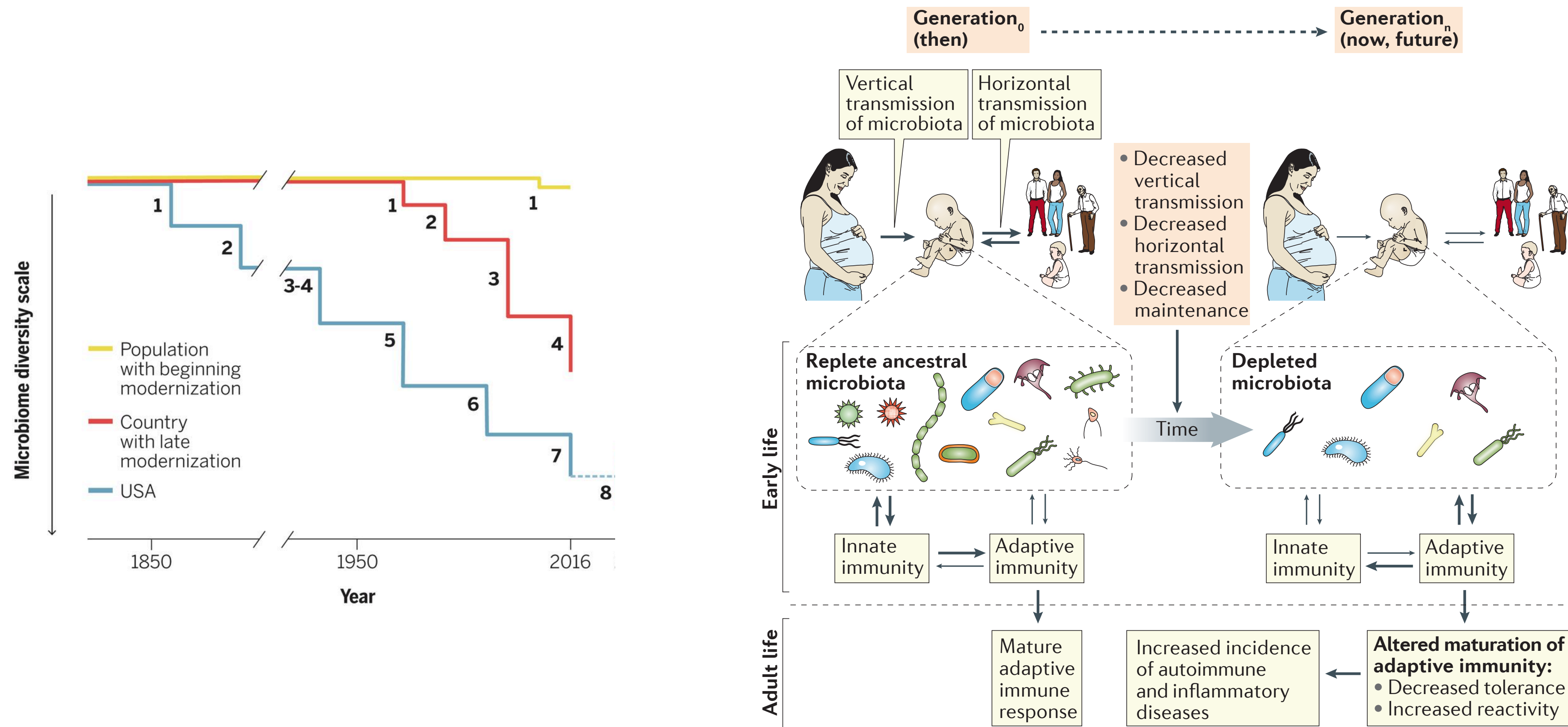
Microbiote

Human Microbiome Project

MetaHIT (Metagenomics of Human GastroIntestinal Tract)

Nous avons tous un **microbiote unique** qui influence notre façon de digérer, de métaboliser les médicaments, ...
et donc notre santé

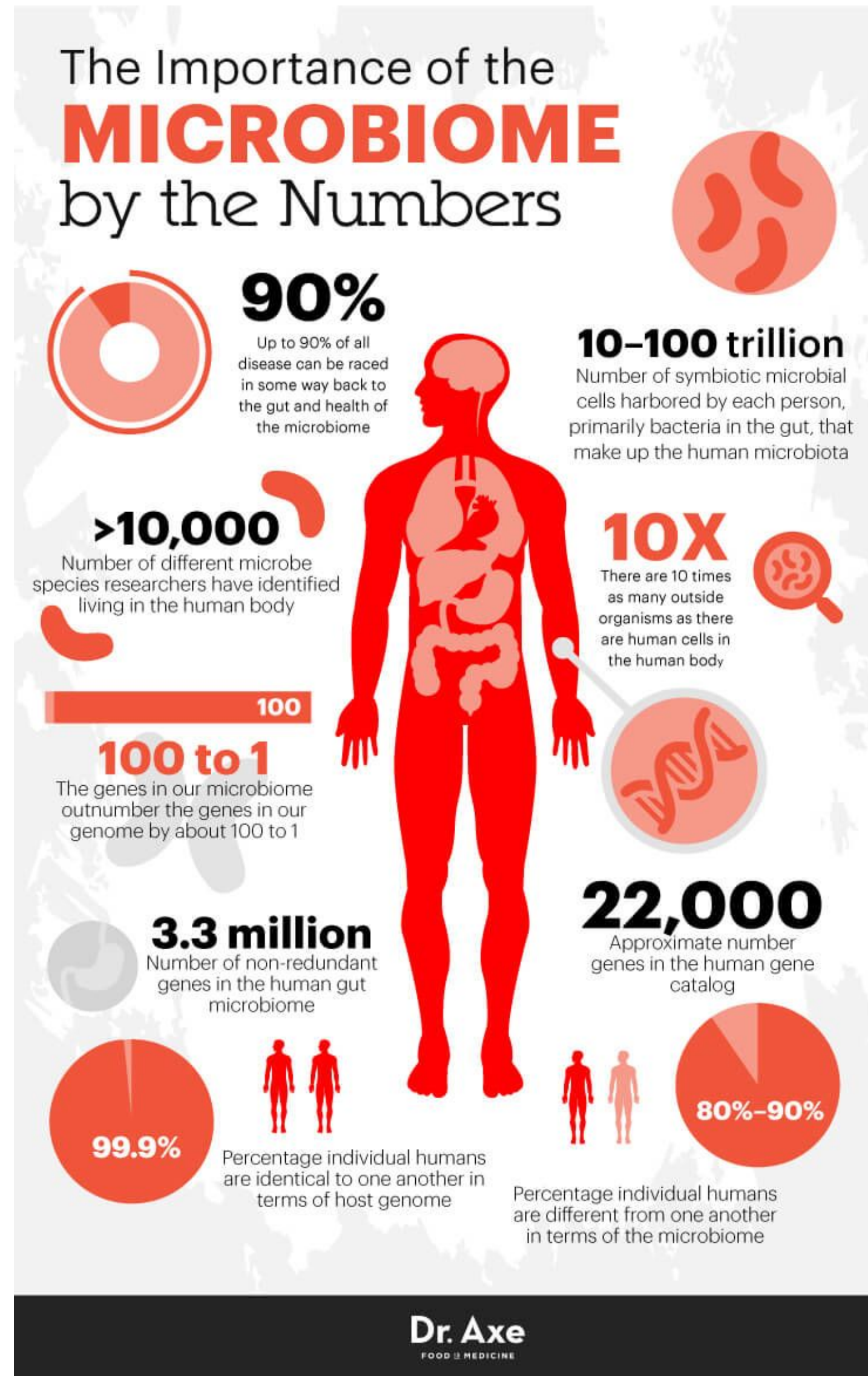
Quelles sont les causes ?



Maladies non-transmissibles augmentent \longleftrightarrow Lien ? \longleftrightarrow Diversité de notre microbiote diminue

Blaser et al, 2016, Science
Blaser et al, 2017, Nature

Le microbiote: qu'est-ce que c'est?



- Composé de **bactéries, levures, archées et virus**
 - Entre **2 et 10X plus de cellules bactériennes** que de cellules humaines dans notre corps
 - Pèse **~1.5 kg**
 - Entre **100 et 1000X plus de gènes bactériens** que de gènes humains
microbiome= ensemble des gènes du microbiote
- => nous sommes des **écosystèmes**

Chez l'homme sain, le microbiote et son hôte partagent une relation de **symbiose**.

Exemple: lorsque le nouveau-né boit du lait maternel, certaines bactéries de son microbiote digèrent les sucres complexes du lait. Cela nourrit les bactéries mais permet aussi au bébé d'absorber les nutriments du lait.

Le microbiote: qu'est-ce que c'est?

The Importance of the **MICROBIOME** by the Numbers

90%
Up to 90% of all disease can be traced in some way back to the gut and health of the microbiome

10-100 trillion
Number of symbiotic microbial cells harbored by each person, primarily bacteria in the gut, that make up the human microbiota

>10,000
Number of different microbe species researchers have identified living in the human body

10X
There are 10 times as many outside organisms as there are human cells in the human body

100 to 1
The genes in our microbiome outnumber the genes in our genome by about 100 to 1

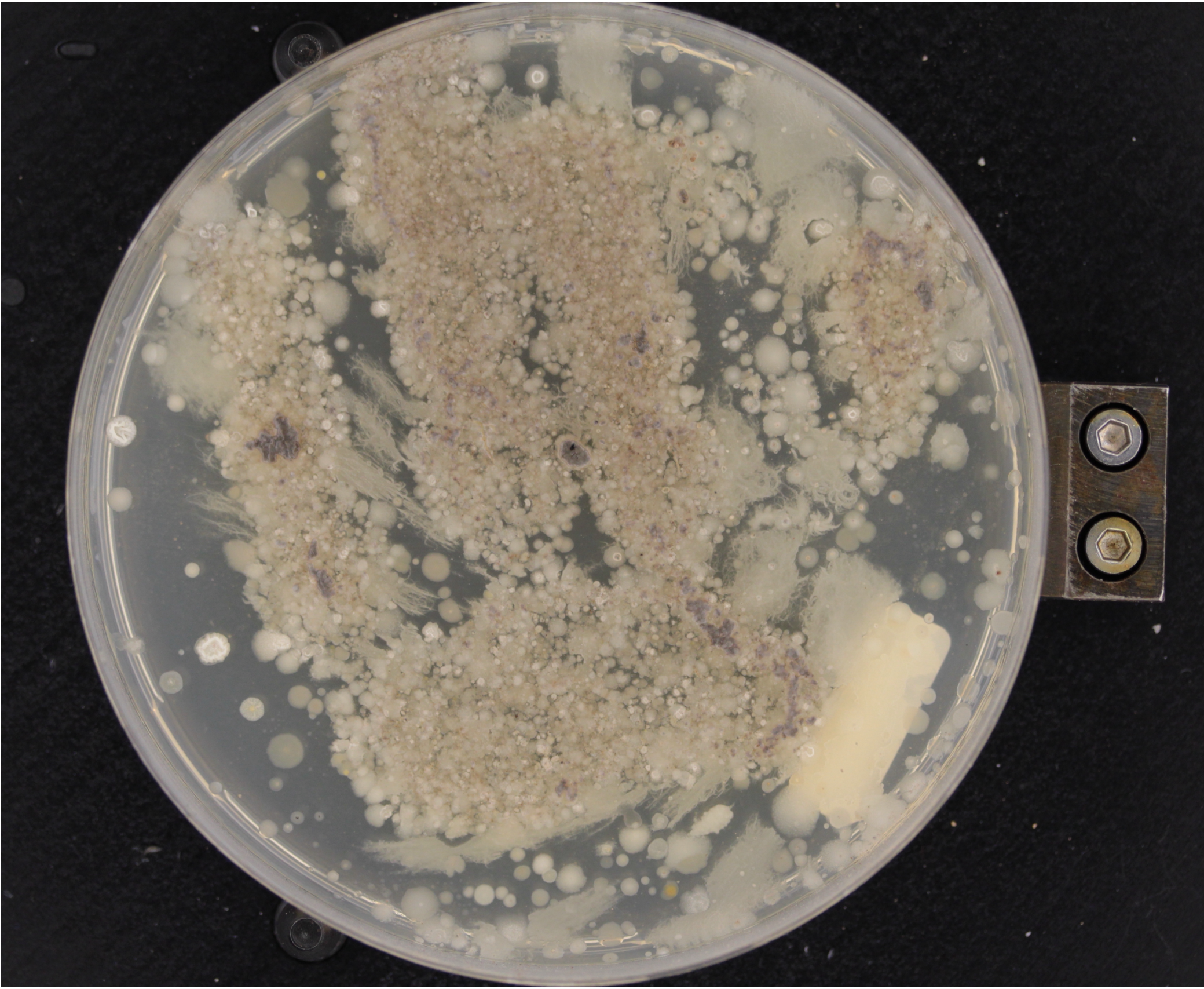
3.3 million
Number of non-redundant genes in the human gut microbiome

22,000
Approximate number genes in the human gene catalog

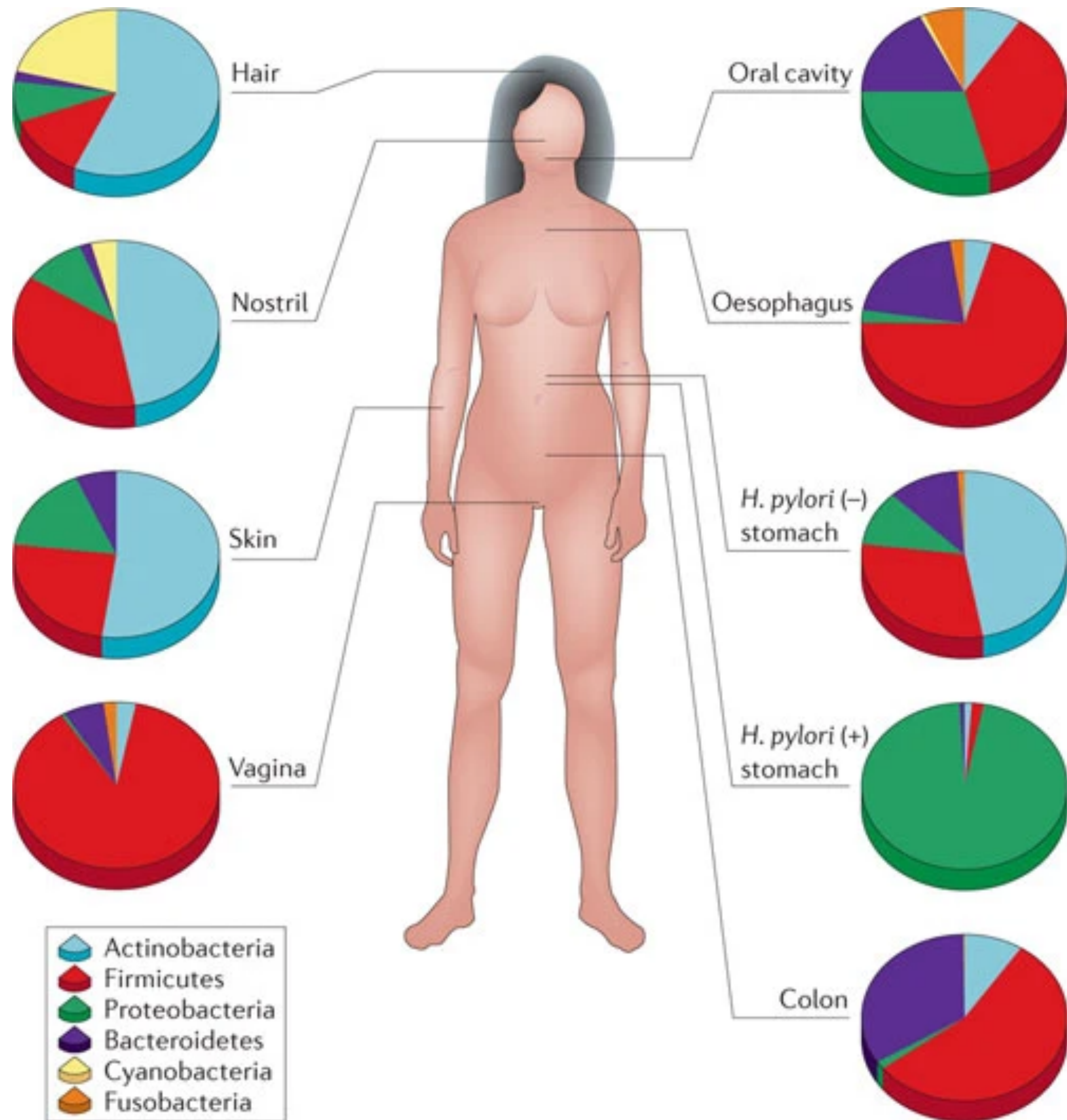
99.9%
Percentage individual humans are identical to one another in terms of host genome

80%-90%
Percentage individual humans are different from one another in terms of the microbiome

Dr. Axe
FOOD IS MEDICINE



Le microbiote humain: quelles bactéries?



Nature Reviews | Genetics

- Les bactéries sont présentes sur virtuellement toutes les **surfaces** (placenta, sang et urine sont actuellement sujets à débats)
- Entre **15 000 et 30 000 espèces** identifiées provenant de **5 divisions** (cfr image)
- Le type de bactérie dépend de **l'oxygène, du pH, des nutriments disponibles, humidité ...**
- Chez 1 individu (pour info)
 - ~1000 espèces intestinales
 - 100-300 espèces buccales
 - ~900 espèces sur la peau
 - 10-100 espèces vaginales

Focus: le microbiote intestinal



- ~**1000 espèces bactériennes** (grande variabilité d'une personne à l'autre);
- dominé par des bactéries **anaérobies strictes** (ne tolèrent pas la présence d'oxygène);
- chez l'individu sain, la plupart des bactéries appartiennent à la famille des **Firmicutes** et **Bacteroidetes**.

Outils pour étudier le microbiote

Isoler et cultiver les bactéries du microbiote

Dans le passé

- Echantillons de selles/ souches isolées
- Microscopie + coloration de Gram
- Culture sur boîte de Petri ou en milieu liquide

Identification de 0,1% de
la communauté



Outils pour étudier le microbiote

Aujourd'hui

En milieu liquide ou solide (boîtes de Petri)

Dans des **milieux de culture spéciaux** et si nécessaire, dans une **chambre anaérobie**.



Une fois les bactéries isolées et stockées, il est possible de les étudier:

- en **monoculture** (chacune individuellement)
- en **communauté synthétique** (reconstitution d'une communauté dont on connaît les membres)
- *in vitro* (dans un tube) ou *in vivo* (chez la souris ou autre animal, dans des organoïdes)

Outils pour étudier le microbiote

Souris axéniques

- Pas de microbiote
- Nées par césarienne
- Gardées dans un environnement stérile
- Mangent de la nourriture stérile



omrf.org



Picture from the walk Lab

Souris gnotobiotiques

- ont un microbiote connu et défini
- souris axéniques nourries avec une culture bactérienne définie

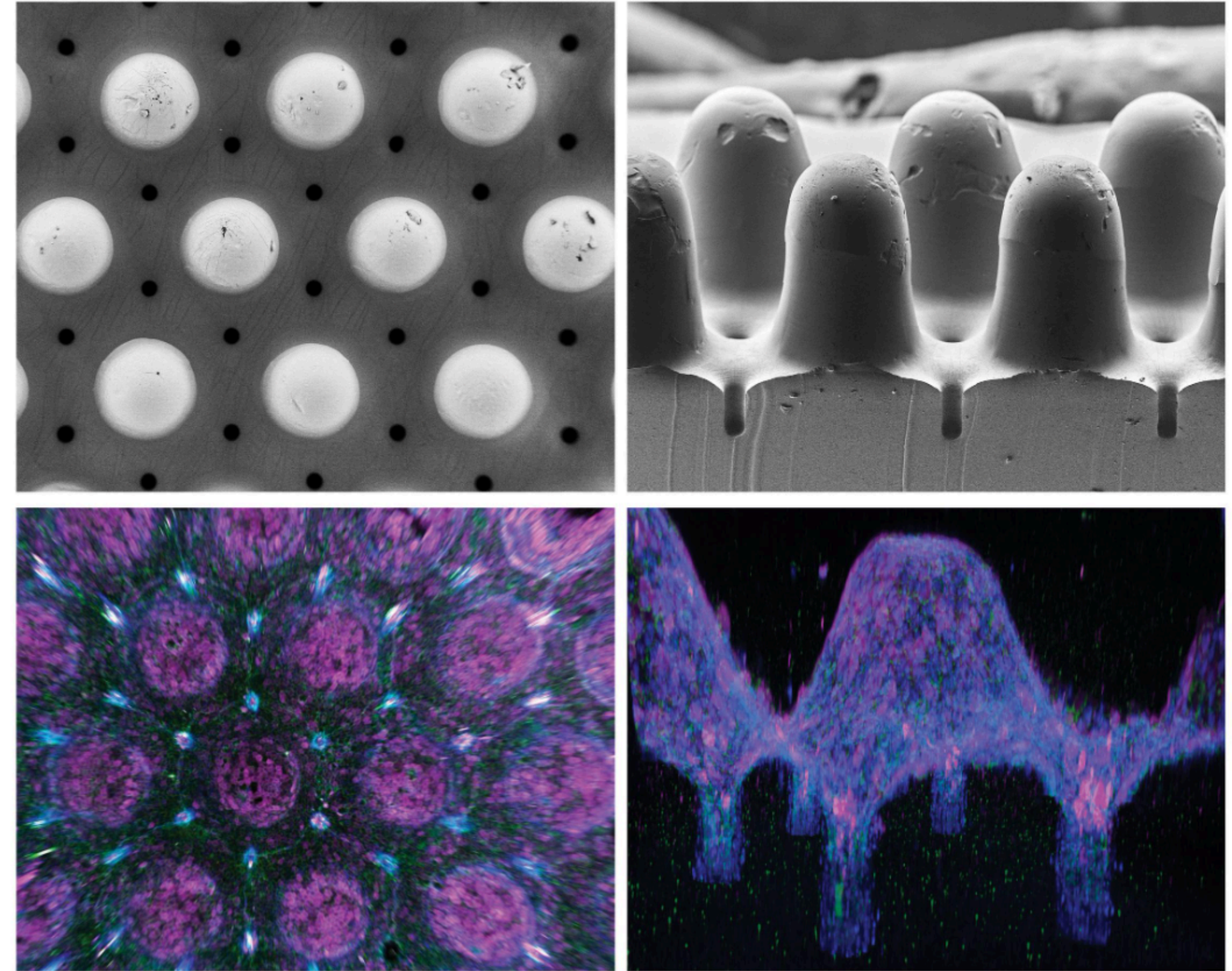
Observations intéressantes:

- Ont besoin de nutriments en plus pour survivre (vitamine K);
- Avec un régime alimentaire normal, elles meurent en 3 jours;
- En milieu normal, elles meurent d'infection;
- Ont beaucoup moins d'interactions sociales que les souris normales.

Outils pour étudier le microbiote

Organoïdes

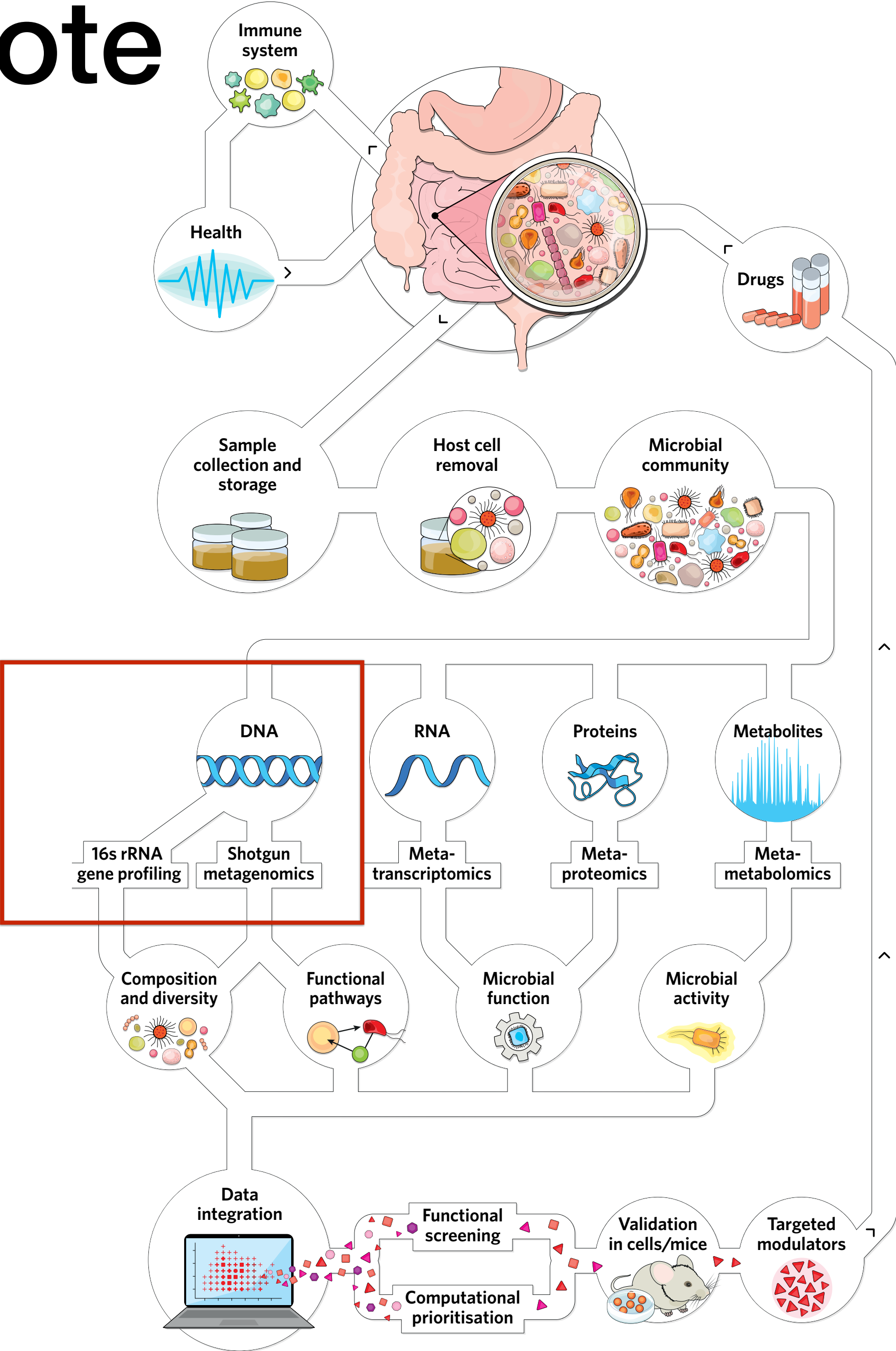
- Organe miniature généré à partir de cellules souches in vitro
- Avantages: adapté aux besoins, pas d'utilisation d'animaux, plus physiologique
- Inconvénients: encore en développement



Outils pour étudier le microbiote

Séquençage et les méthodes “omics”

- obtenir un snapshot complet du microbiote à un instant donné

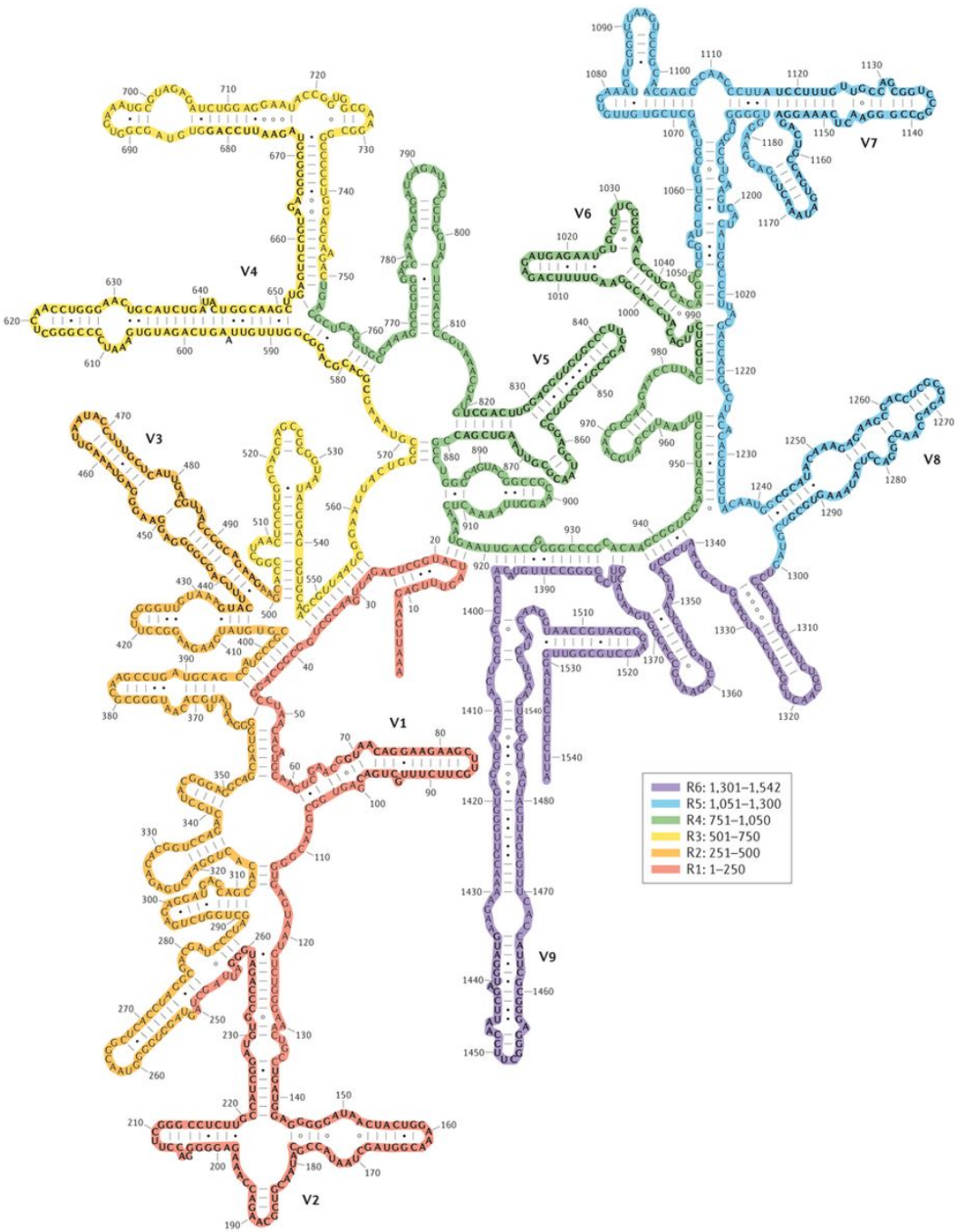
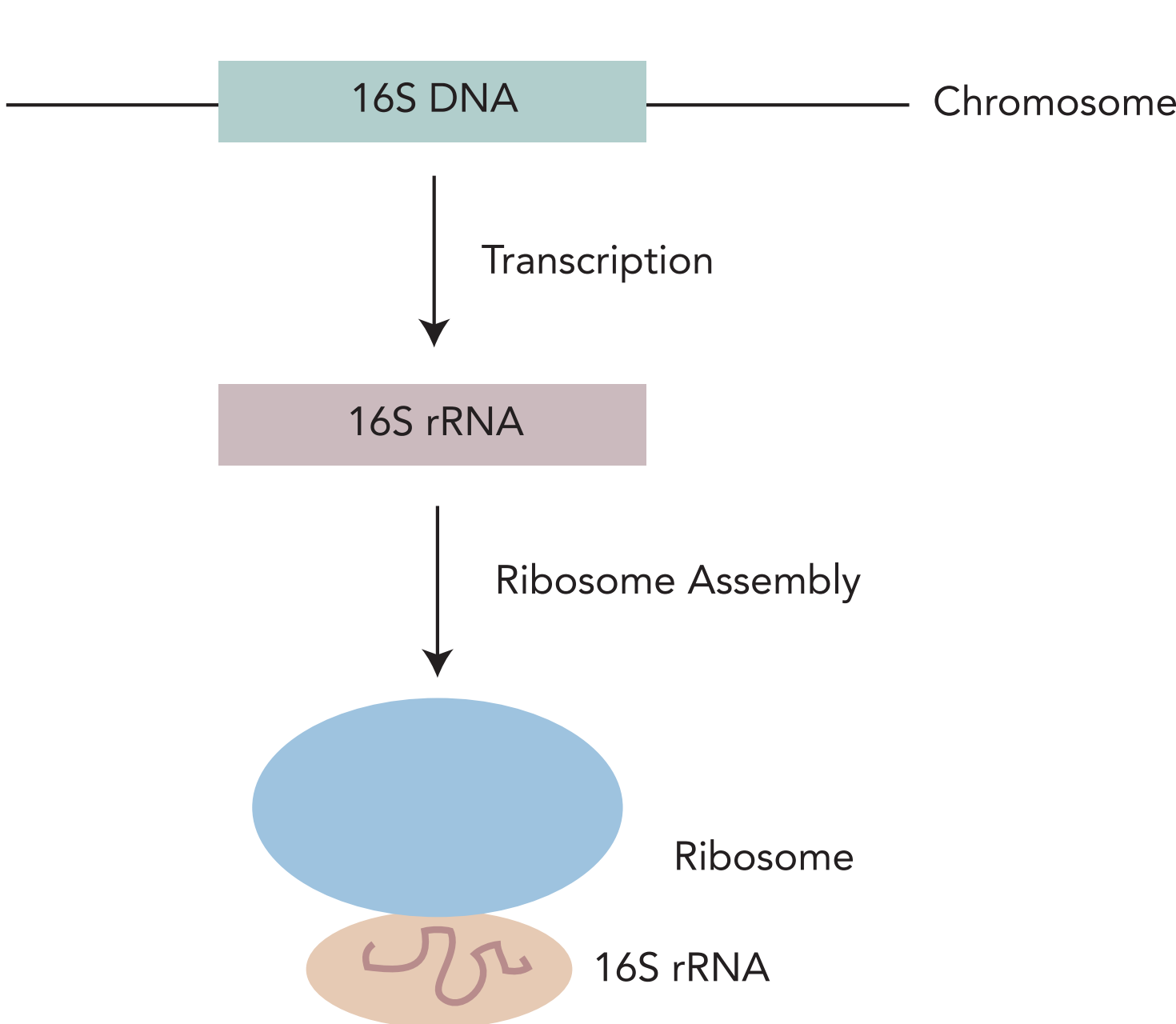


Outils pour étudier le microbiote

16S rRNA gene sequencing

Séquençage: obtention de la séquence en nucléotides d'un fragment d'ADN

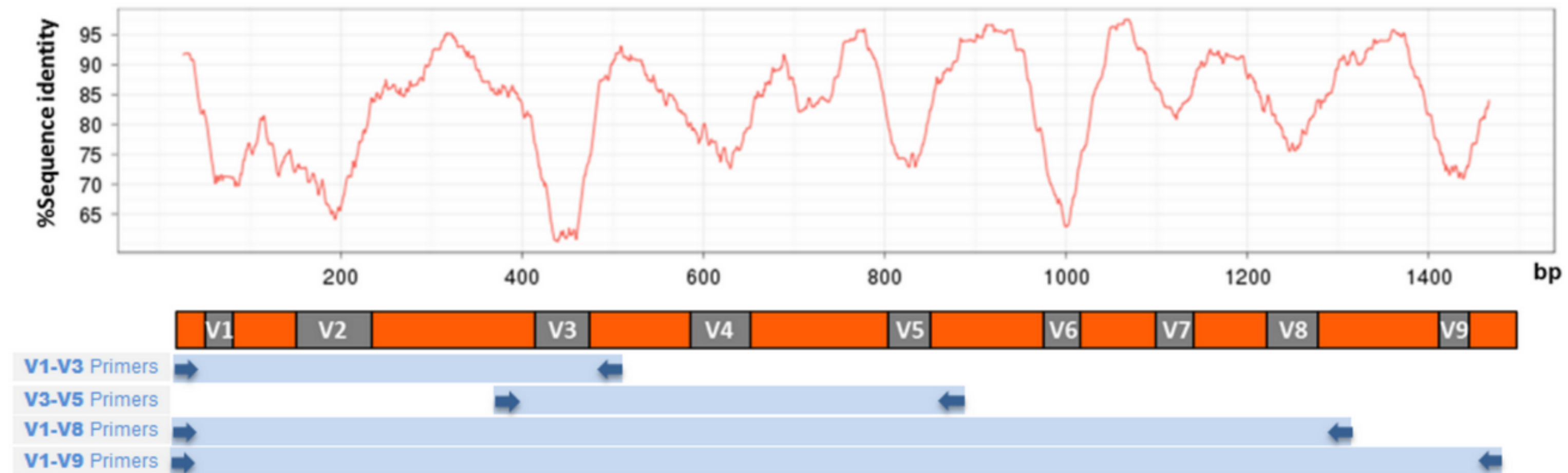
Les chercheurs séquencent les fragments d'ADN isolés et les comparent aux bases de données ou assemblent les nouveaux génomes identifiés



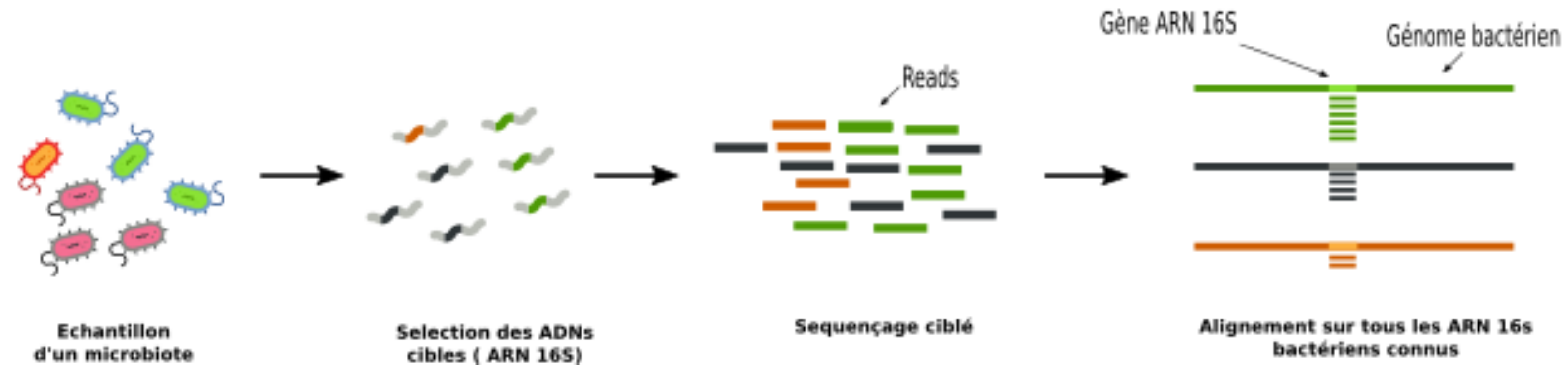
Nature Reviews | Microbiology

Outils pour étudier le microbiote

- gène composé de régions variables et régions conservées
- régions conservées permettent de reconnaître le gène 16S chez de nombreuses bactéries
- amplification d'une région variable
- séquençage (200 paires de bases)
- comparaison aux bases de données



Outils pour étudier le microbiote

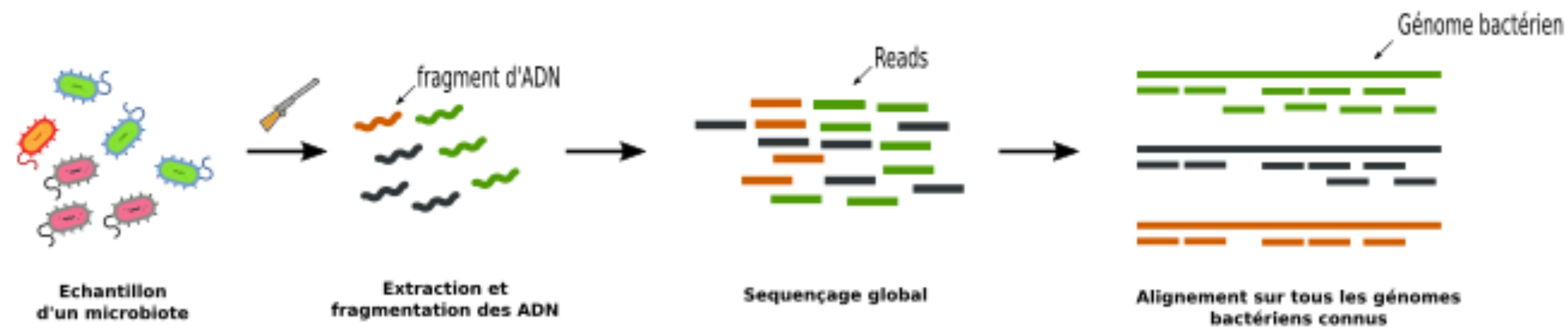


- Identifie les souches de bactéries présentes dans l'échantillon
- La composition est influencée par la méthode de préparation de l'échantillon (lyse bactérienne, échantillon fécal, etc)
- Les régions conservées sont "universelles" mais certains groupes bactériens sont mieux amplifiés que d'autres, ce qui modifie les proportions réelles

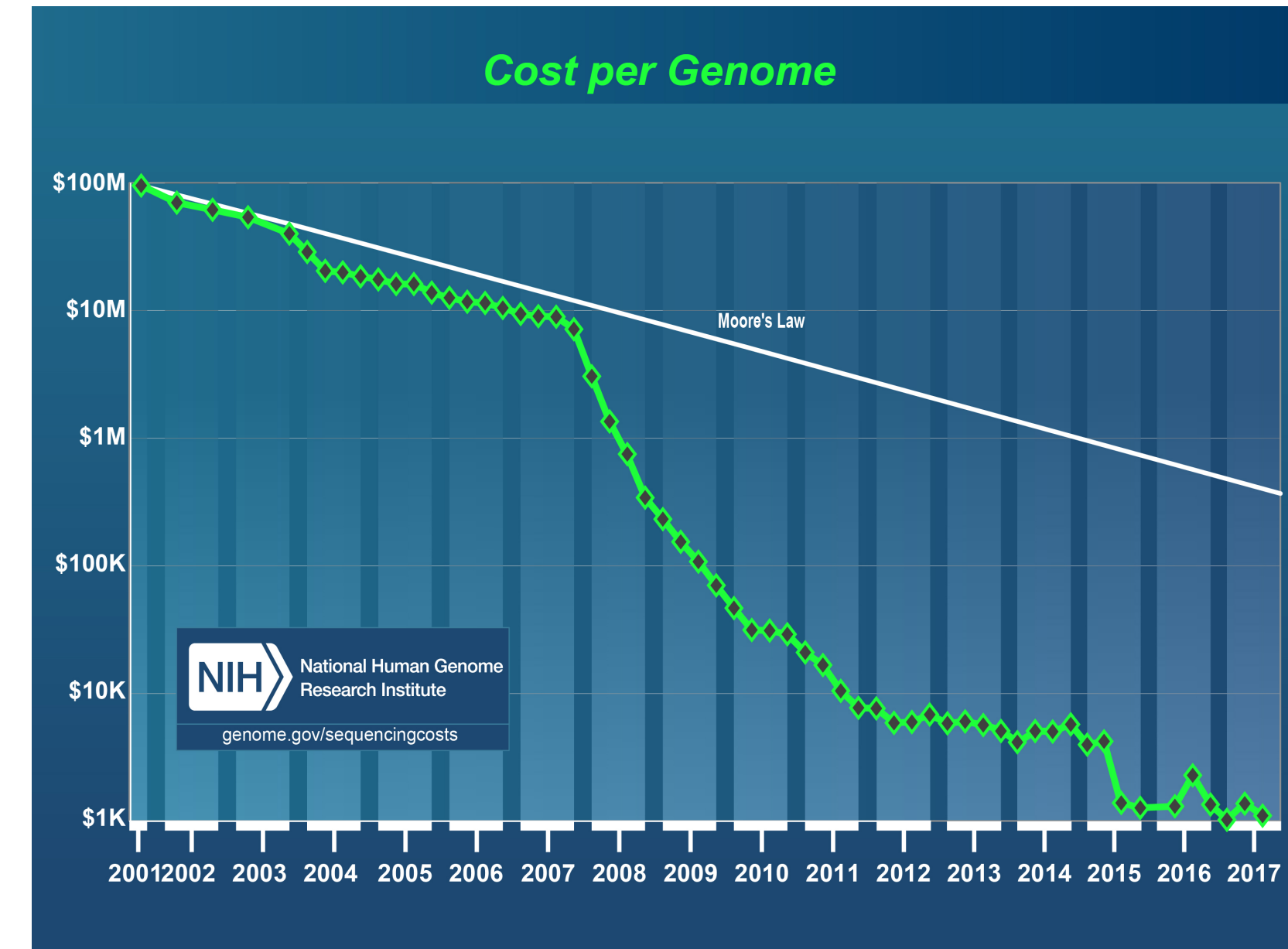
Outils pour étudier le microbiote

Whole-genome sequencing

Le prix du séquençage a baissé, les technologies se sont améliorées



- moins de biais
- informations sur les autres gènes présents
- si l'ADN vient d'une communauté bactérienne, on parle de "métagénomique"
- cette technologie peut être appliquée à l'ARN (métatranscriptomique) et permet de connaître les gènes exprimés par les différentes bactéries (information sur les processus physiologiques actifs)
- génération de grandes quantités de données, besoin de bioinformatique



Origine du microbiote

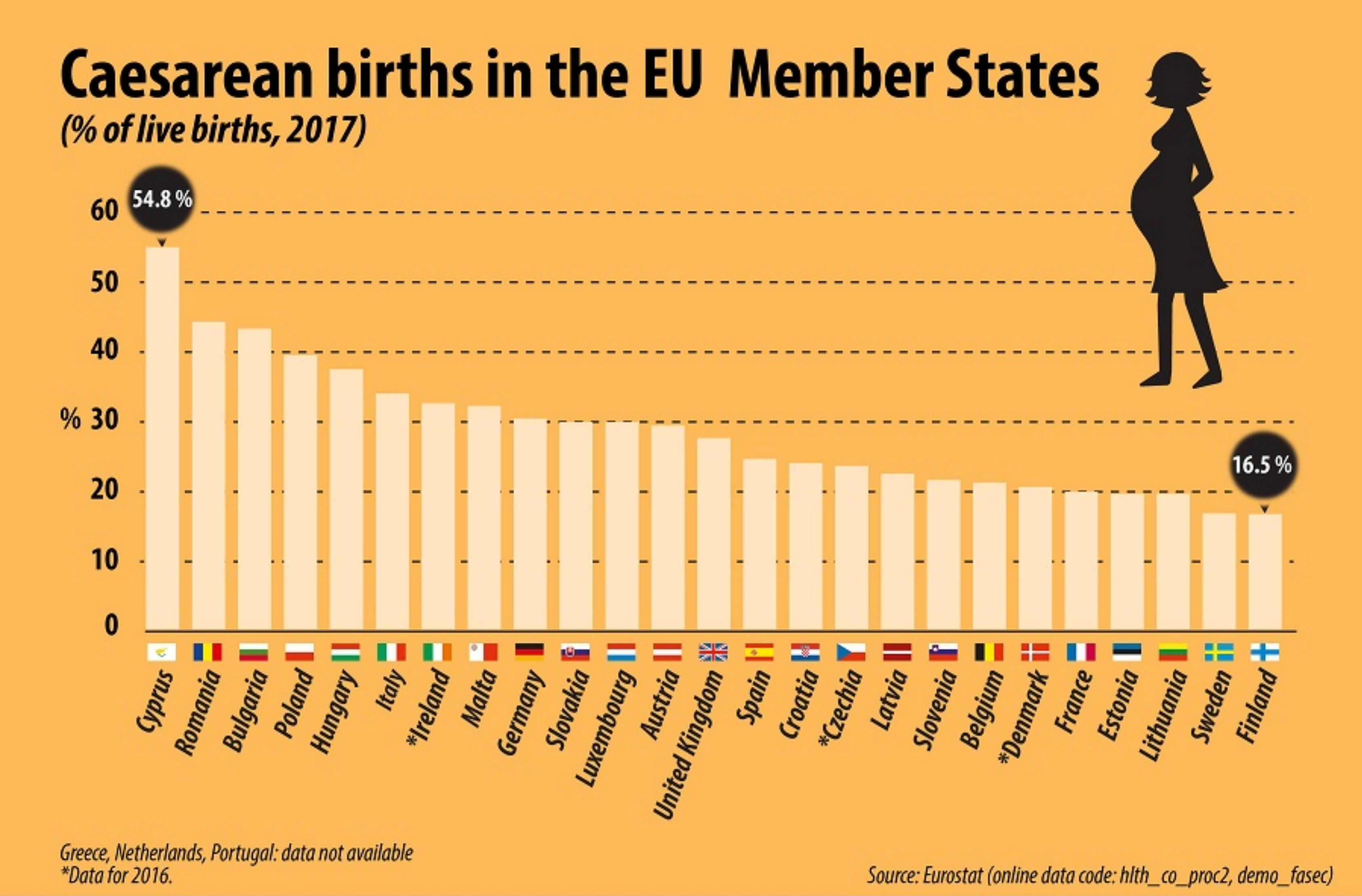
1. Accouchement

- Dans l'utérus, le fœtus est stérile
- Au moment de la naissance, le bébé rencontre ses premiers microbes:
 - flore vaginale de la mère sur la peau du bébé
 - flore cutanée de la mère dans le tube digestif du bébé

Problème: augmentation du nombre de **césariennes** (dont césariennes dites "de confort")

- procédure chirurgicale donc prise d'antibiotiques
- pas les microbes du vagin mais ceux de la peau (s'il en reste) qui colonisent le bébé
- ces microbes ne peuvent pas digérer le lait maternel, produire les vitamines, etc.
- la naissance par césarienne est maintenant associées à plusieurs maladies: asthme, maladies chroniques inflammatoires de l'intestin, leucémie, obésité, autisme, maladie coeliaque,..

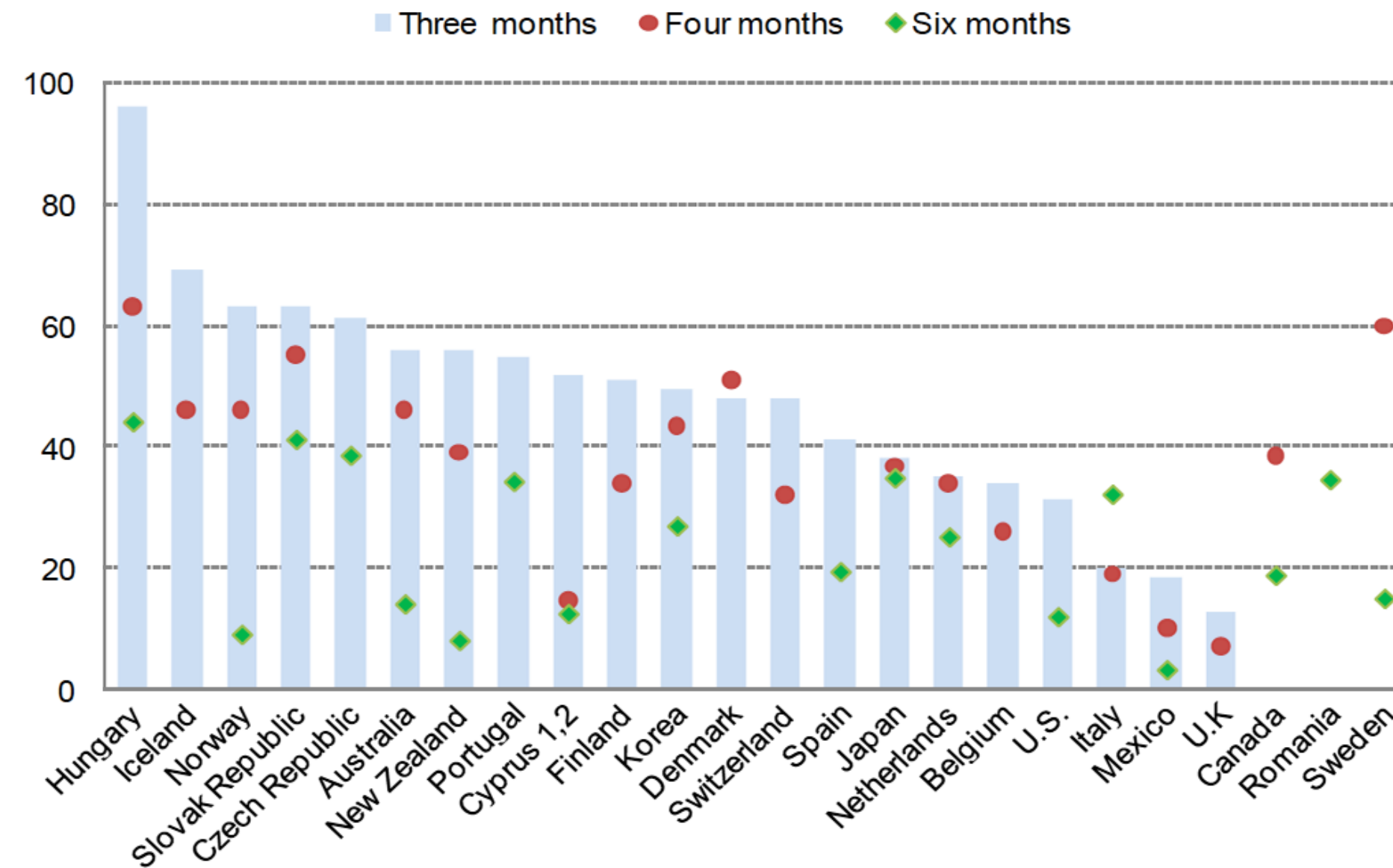
Origine du microbiote



Origine du microbiote

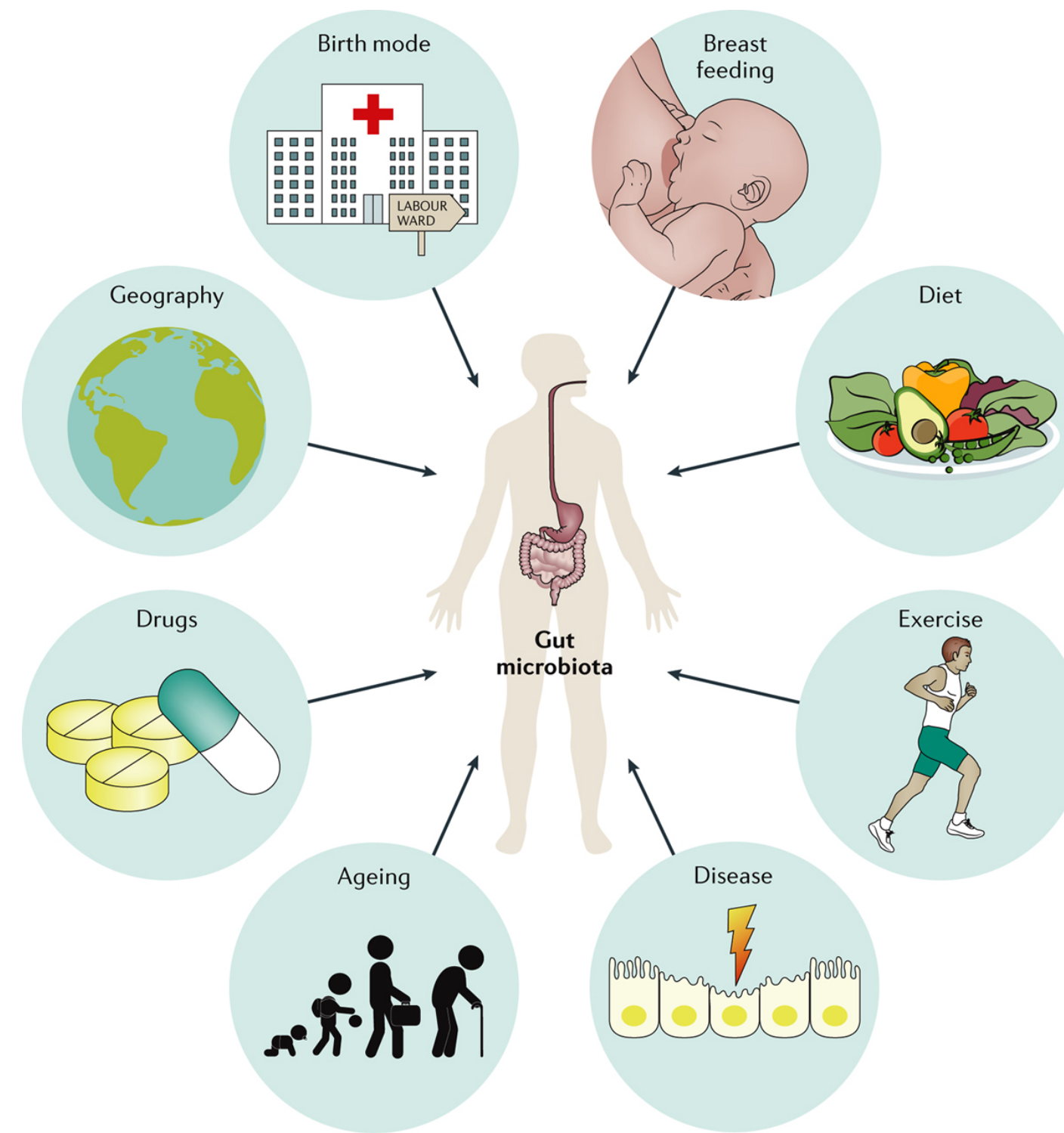
2. Allaitement

- Le lait maternel n'est pas stérile, il se compose d'une communauté complexe de bactéries.
- Ces bactéries proviennent de la peau et de l'intestin de la mère.
- La composition du lait en sucres complexes assure la sélection et la survie des bactéries bénéfiques dans le tube digestif de l'enfant.



Origine du microbiote

3. Facteurs qui influencent sa composition: alimentation



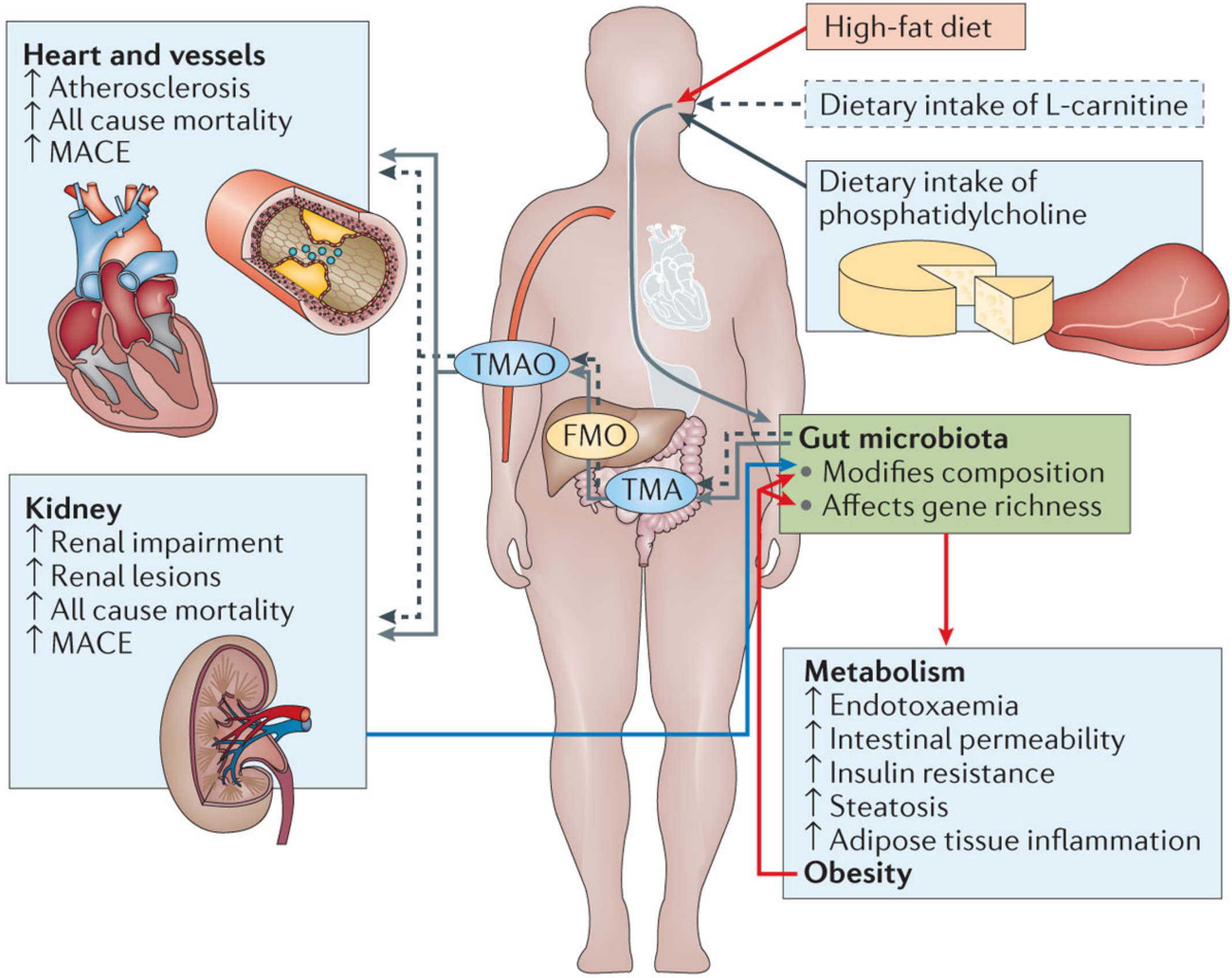
Nature Reviews | Gastroenterology & Hepatology

Quigley, E. M. M. (2017) Gut microbiome as a clinical tool in gastrointestinal disease management: are we there yet?
Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. doi:10.1038/nrgastro.2017.29

Origine du microbiote

3. Facteurs qui influencent sa composition: alimentation

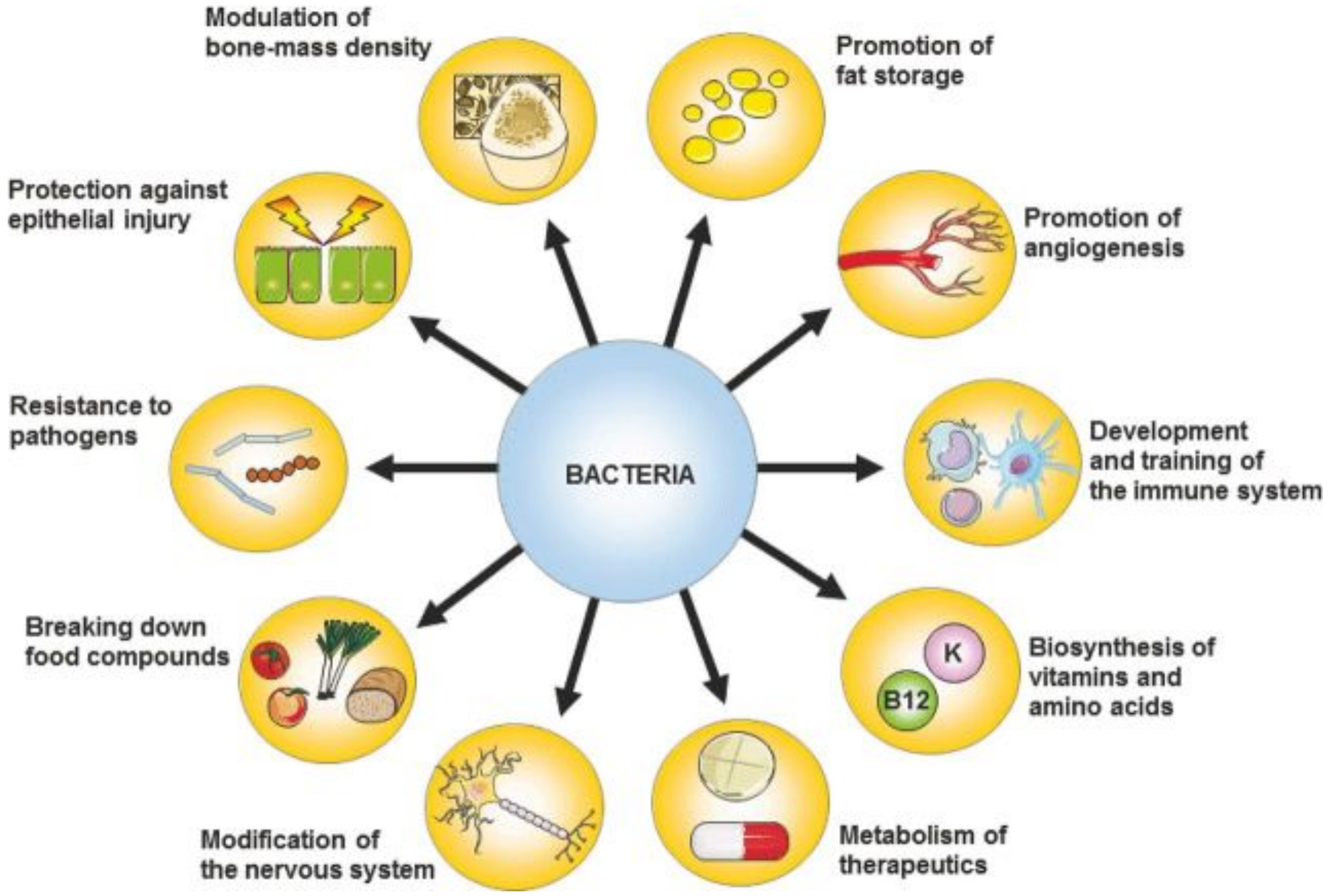
Pour info



Nature Reviews | [Nephrology](#)

Aron-Wisnewsky, J. & Clément, K. (2015) The gut microbiome, diet, and links to cardiometabolic and chronic disorders *Nat. Rev. Nephrol.* doi:10.1038/nrneph.2015.191

Les rôles du microbiote



Modifier son microbiote

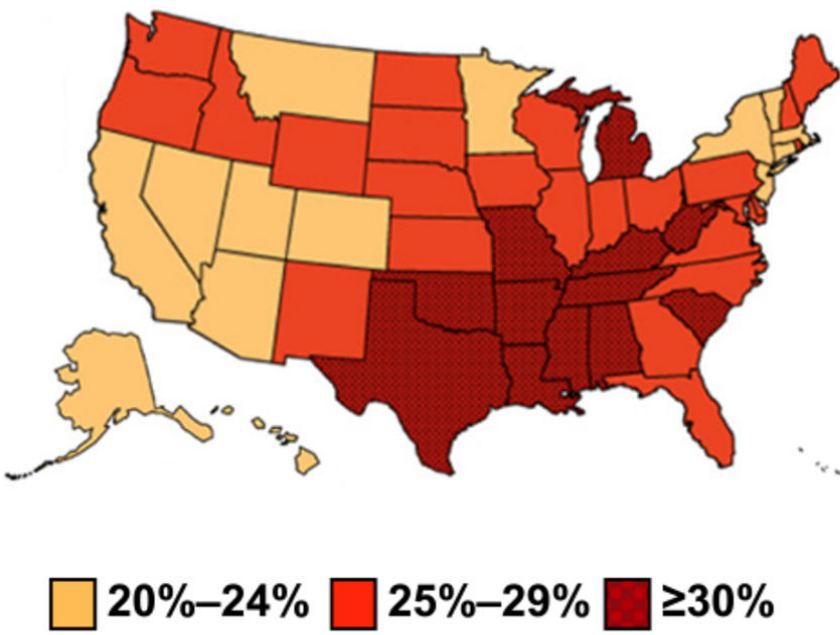
1. Antibiotiques

- La prise d'antibiotiques modifie la composition du microbiote, et sélectionne les bactéries résistantes
- Chez les jeunes enfants (avant 2 ans), cela peut avoir des conséquences sur la santé

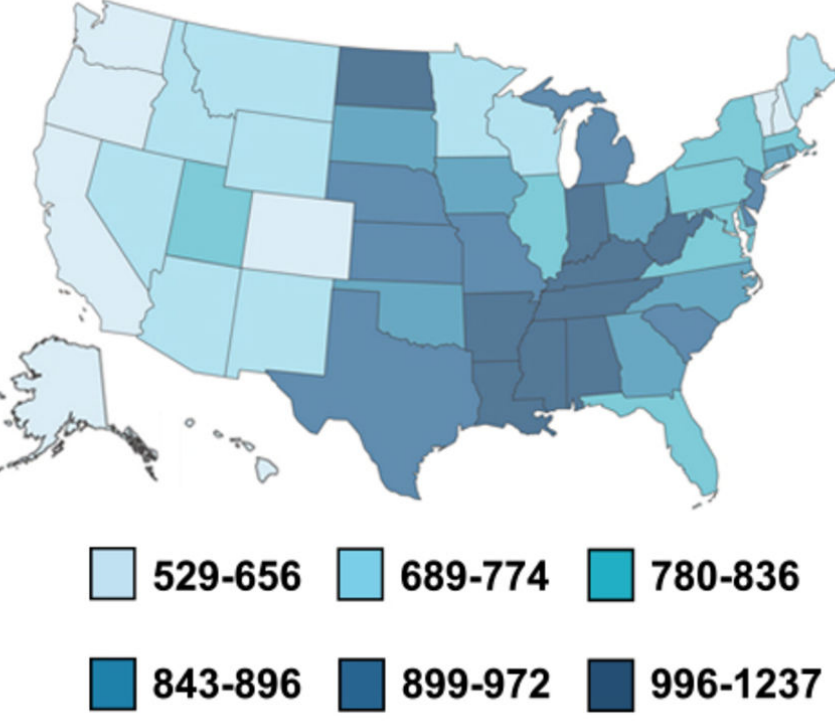


Science Translational Medecine

PERCENT OF OBESE ADULTS IN 2010



RATE OF ANTIBIOTIC PRESCRIPTIONS IN 2010



The resemblance between rates of obesity and of antibiotic use across the US is strikingly nonrandom.

- D'autres médicaments, additifs alimentaires, etc. ont aussi un effet

Modifier son microbiote

2. Prébiotiques et probiotiques

Probiotiques: (définition floue) organisme non pathogène/toxique capable de survivre dans le tube digestif.



Est-ce que ça marche?

- Cela dépend des souches de bactéries, de leur nombre (vivant!), du patient, de la maladie etc...
- La prise doit être basée sur des études solides
- Cela doit être conseillé et suivi par un médecin



Modifier son microbiote

2. Prébiotiques et probiotiques

Prébiotiques: carbohydrates (sucres) qui atteignent le colon et nourrissent les microbes intestinaux

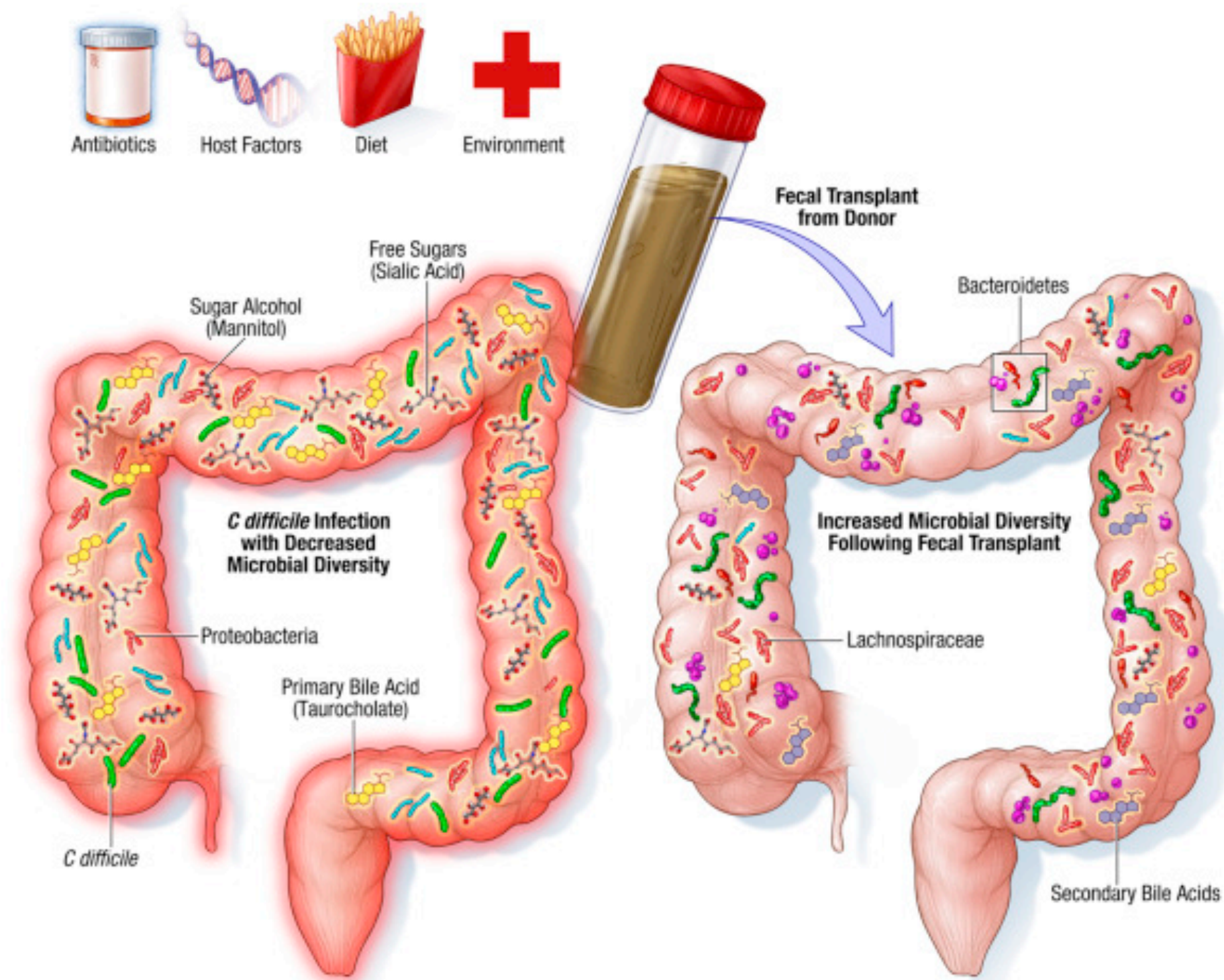
- La définition n'est pas claire: ce n'est ni un médicament, ni un organisme vivant (pas testé comme tel)
- Un prébiotique devrait améliorer la santé (comment quantifier ?) via modulation du microbiote.
- Ne peut que favoriser la croissance de bactéries présentes



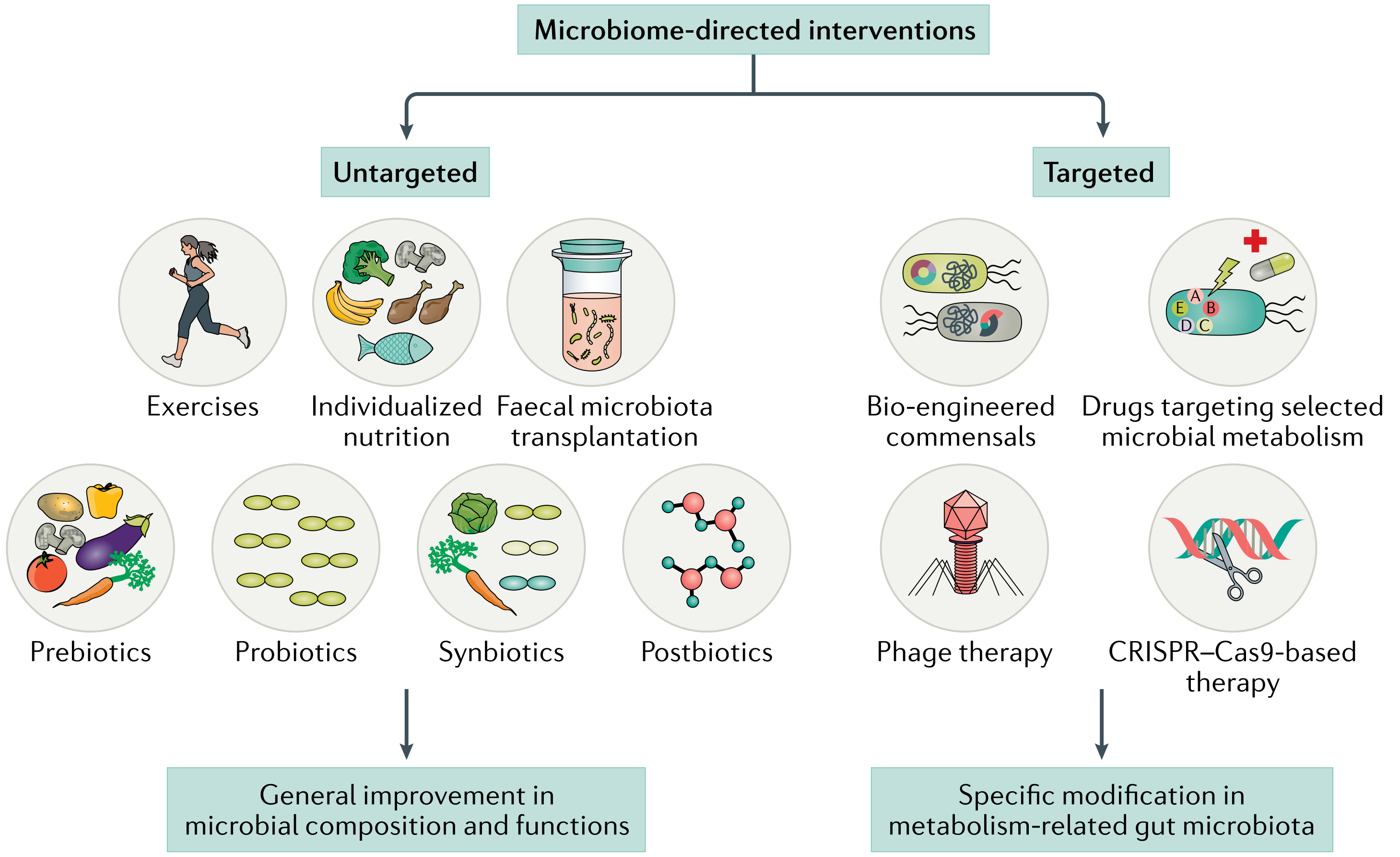
Modifier son microbiote

3. Transplantations du microbiome fécal (FMT)

- Transplantation du microbiote intestinal d'un patient sain à un patient malade
- Principalement utilisé pour traiter les infections causées par *Clostridioides difficile* (90% succès)
- Autres maladies ? Il faut identifier quelle bactérie manque et définir "donneur sain"



Modifier son microbiote



Belle journée à tous!