Le bulletin d'information du Réseau National Biofilms

RNB.info

Numéro 4 (2011)

Des biofilms au service du nucléaire

Par Valérie Desjardin[1], Mathilde DumonT[2] , Agnès Rodrigue[3] et Corinne Dorel[1]

[1] Laboratoire de Génie Civil et Ingénierie Environnementale, INSA-Lyon, [2] ENS de Lyon, [3] UMR Microbiologie Adaptation Pathogénie, CNRS-UCB-INSA-Bayer-Crop-Science, Lyon.
Contact : corinne.dorel@insa-lyon.fr

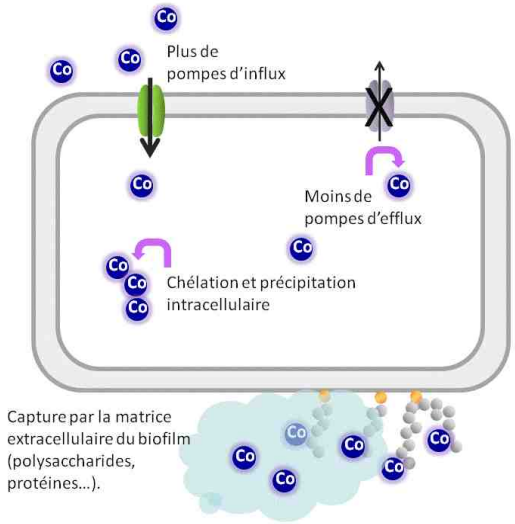
Les biofilms au service de la dépollution. Bien que fréquemment associés à la maladie ou aux salissures des surfaces, les biofilms jouent aussi un rôle capital dans les domaines de la bioremédiation, de la biocatalyse ou des piles microbiennes. Les procédés de bioremédiation reposent sur les capacités des microorganismes à dégrader les substances organiques, ou à modifier la distribution (immobilisation, volatilisation…) et la spéciation des métaux. Ces activités bénéfiques sont observées dans les écosystèmes aquatiques ou terrestres mais également dans les systèmes artificiels mis en place pour traiter les eaux usées ou les déchets industriels et ménagers. L'intensité et la qualité de l'activité microbienne dépend des facteurs physico-chimiques du site, mais aussi du mode de vie des microorganismes (flottaison libre ou biofilm). La formation de biofilms, mixtes ou monospéciés, est associée à un métabolisme favorisant la résistance aux biocides par divers mécanismes. Il s'agit donc d'un phénomène que l'on cherche à encourager dans la plupart des activités de bioremédiation.

Stratégie: dopage des capacités naturelles. La conjonction de différents mécanismes permet l'adaptation des microorganismes à la présence de métaux, parmi lesquels se comptent l'adsorption du composé toxique sur la matrice extracellulaire, la mise en place de pompes d'efflux et l'activation de transporteurs permettant de concentrer puis de séquestrer le métal à l'intérieur de la cellule. L'ingénierie génétique des microorganismes permet de doper ces activités et de faciliter le traitement des pollutions métalliques, tout spécialement lorsque l'on a affaire à des métaux très toxiques présents en faible quantité. En effet, les procédés chimiques classiques de traite-

Dans ce numéro :

Des biofilms au service du nucléaire 1-5
L'agenda du RNB 5
Colloque Adebiotech/RNB 6
Colloque RNB 7

PDF compression, OCR, web optimization using a watermarked evaluation copy of CVISION PDFCompressor

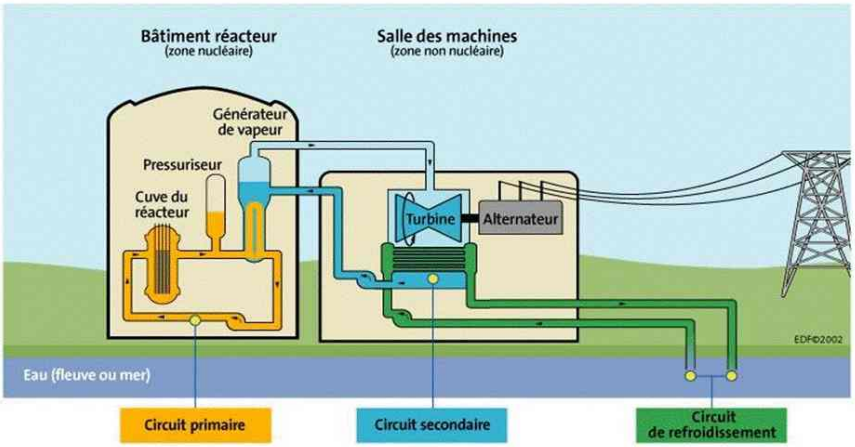


ment par résines échangeuses d'ions sont alors économiquement inadaptés et l'utilisation des micro-organismes s'avère particulièrement performante.

Des biofiltres à OGM pour le traitement des déchets nucléaires ? Bien qu'actuellement traités uniquement par voie chimique, les effluents de centrales nucléaires constituent une cible prometteuse pour un traitement biologique de la contamination métallique. En effet, le confinement est le principal frein à l'usage massif des biofiltres à bactéries génétiquement modifiées dans le traitement des déchets. Or, les déchets radioactifs produits par l'activité des centrales nucléaires doivent être pris en charge de manière spécifique dans le cadre d'un confinement strict et réglementé. Compte-tenu du haut degré de confinement des opérations, l'utilisation d'OGM dans le traitement des déchets de la filière nucléaire devrait être bien acceptée par la société civile, comme on le constate pour l'utilisation des OGM dans la production de médicaments.

Les activités nucléaires produisent des isotopes radioactifs qui émettent différents types de rayonnement préjudiciables aux écosystèmes et à la santé humaine en cas de pollution. Ces éléments radioactifs proviennent des réactions nucléaires qui ont lieu dans le combustible constitué d'uranium (U) et de plutonium (Pu). Suite à la capture de neutrons, des radionucléides artificiels appelés produits de fission sont créés. Ceux sous forme gazeuse (Kr, Xe ou encore ^{131}I) diffusent à travers la gaine du combustible et se retrouvent dans le circuit d'eau primaire. Les neutrons produits lors de la fission de l'uranium ou du plutonium sont extrêmement pénétrants et vont bombarder les atomes des structures qui accueillent le combustible et en particulier la cuve dont l'acier contient du cobalt et du nickel. Il y a alors formation de produits d'activation tels que le ^{58}Co (demi-vie 71 jours) et le ^{60}Co (demi-vie 5,3 ans). Par corrosion, ces produits d'activation peuvent être solubilisés et circuler dans l'eau. L'eau du circuit primaire circule à l'intérieur de générateurs de vapeur (GV) qui sont des échangeurs de chaleur. Les générateurs de vapeur utilisent l'énergie du circuit primaire pour transformer l'eau du circuit secondaire en vapeur qui alimentera la turbine produisant de l'électricité. Leur surface d'échange est constituée d'un faisceau tubulaire dans lesquels circule l'eau primaire portée à haute température

Principe de fonctionnement d'un REP
(Réacteur à Eau sous Pression)



Espace Information Public EDF

PDF compression, OCR, web optimization using a watermarked evaluation copy of CVISION PDFCompressor

(320°C) et haute pression (155 bars). L'eau du circuit secondaire est ensuite refroidie au niveau du condenseur alimenté par l'eau du fleuve adjacent.

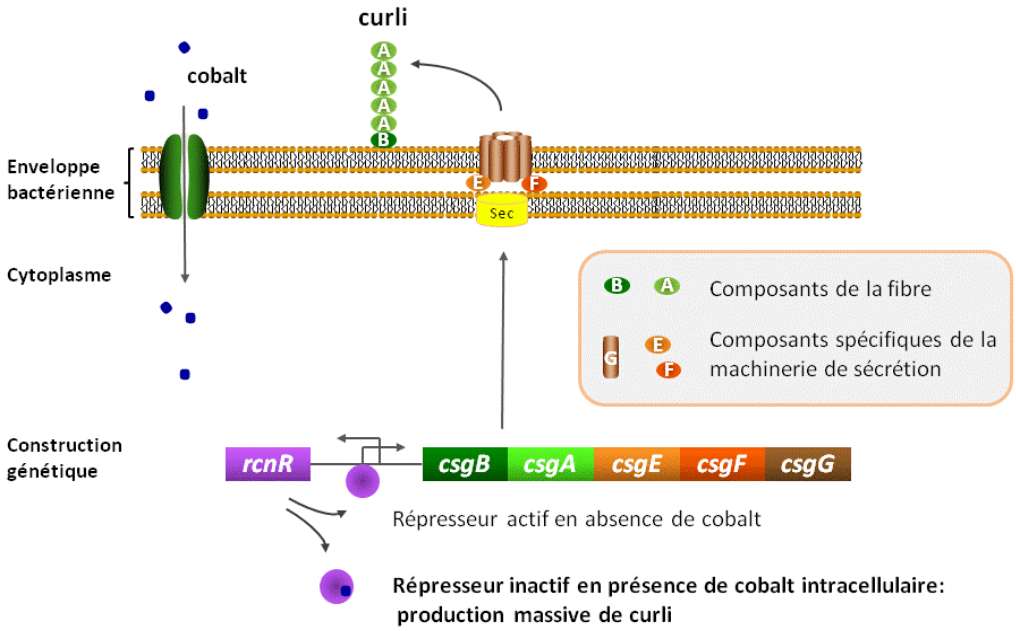
Un problème : le ^{60}Co, un radioélément persistant et hautement radiotoxique.

L'eau du circuit primaire est particulièrement surveillée, et filtrée en permanence par des résines échangeuses d'ions, qui adsorbent de façon non sélective les métaux. Or, si en fonctionnement la contamination due au ^{60}Co est de 5MBq/m^3, elle passe à 300 GBq/m^3 lors de l'arrêt du réacteur lors des opérations de maintenance (X 60 000) (chiffres: J.P. Meunier, chimiste à la centrale nucléaire de Bugey).

Une solution : le biofiltre « Cobalt Buster ».

Dans le cadre du concours international de biologie de synthèse iGEM organisé par le MIT, l'équipe Lyon-INSA-ENS a choisi de concourir dans la catégorie « Environnement », en proposant un biofiltre épurateur de cobalt destiné au traitement des effluents de centrales nucléaires. La biologie de synthèse est un nouveau domaine de la recherche en biologie qui combine Science et Ingénierie par différentes disciplines (biologie, physique, chimie, informatique). Le but visé est la conception et la construction de nouveaux systèmes ou fonctions biologiques utiles à la société civile, la démarche visant à montrer que les biotechnologies peuvent être utilisées à la fois de façon éthique et productive.

L'équipe INSA-ENS de Lyon se propose de favo-



Ingénierie de « Cobalt Buster ». Les capacités d'accumulation du cobalt par la souche d'*Escherichia coli* MC4100 ont été dopé par insertion du gène codant un transporteur spécifique du cobalt (CoT) et inactivation de la pompe d'efflux (non figuré). Les gènes codant les protéines de structure des curlis (B et A) ainsi que les gènes codant la partie spécifique de la machinerie de sécrétion (E, F et G) sont placés sous contrôle d'un promoteur sensible au cobalt. Le gène codant le répresseur de ce promoteur (*rcnR*) est placé en position divergente pour conserver la précision de la régulation. La présence de cobalt dans le milieu provoque l'accumulation intracellulaire de cobalt. Lorsqu'il est en concentration suffisante, le cobalt se fixe sur le régulateur RcnR et l'inactive. Les gènes nécessaires à la production de curli peuvent alors être transcrits: la production massive de curlis permet aux bactéries d'adhérer à un grand nombre de supports (PVC, PS, sable, verre…).

PDF compression, OCR, web optimization using a watermarked evaluation copy of CVISION PDFCompressor

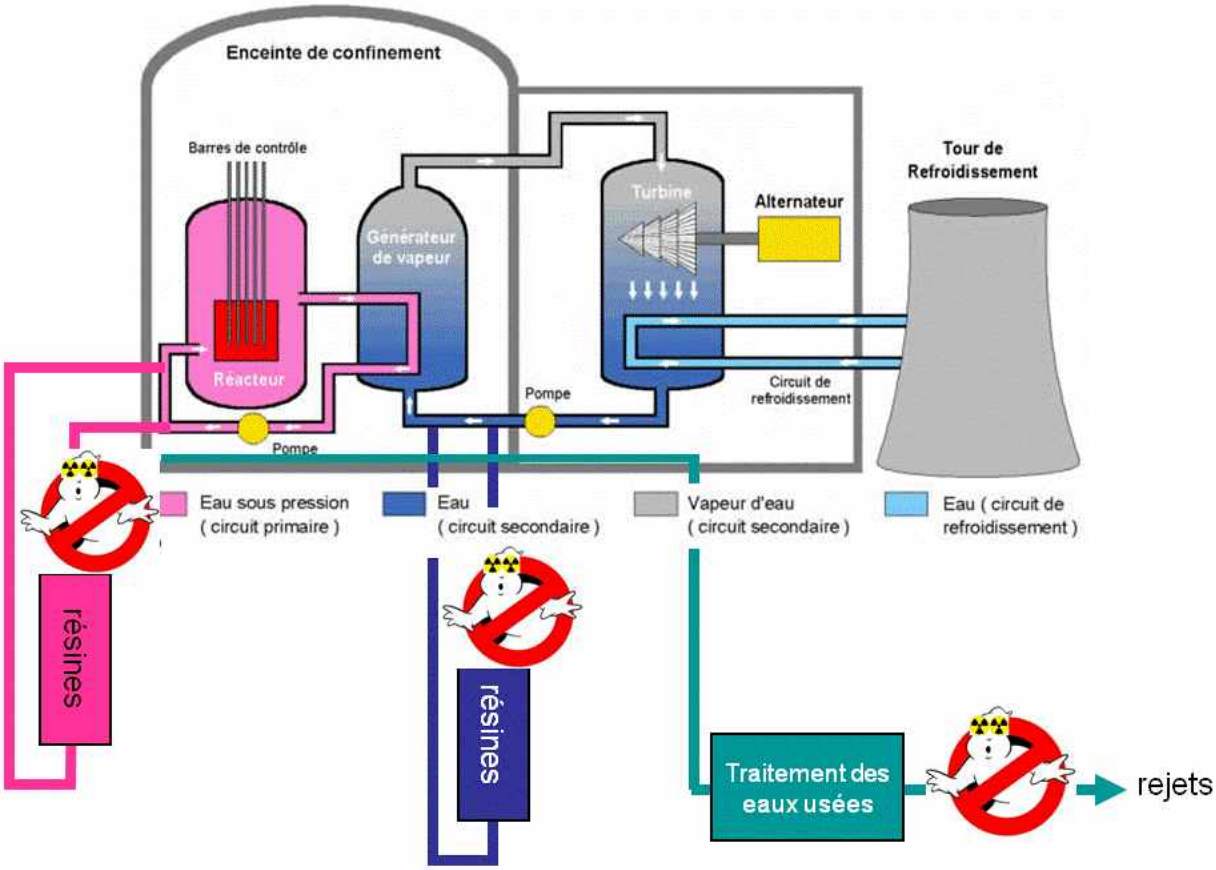
riser la formation de biofilm bactérien par une souche d'*Escherichia coli* accumulatrice de Cobalt baptisée « Cobalt Buster ». La souche « Cobalt Buster » a été modifiée génétiquement à deux niveaux ; d'une part, par inactivation de la pompe d'efflux qui vide habituellement la cellule du cobalt en excès, et d'autre part, par greffage d'un transporteur spécifique du Cobalt provenant de *Rhodopseudomonas palustris* (Appl Microbiol Biotechnol 81 (3) : 571-578) .

Notre objectif est d'induire la fixation de ces bactéries « dopées » en réponse à la présence du contaminant dans l'effluent à traiter**.** Pour cela, la production de curlis, polymères protéiques très adhérents sera rendu dépendante de la présence de cobalt. Cette 3ème modification génétique de la bactérie procure l'avantage évident de pouvoir rapidement et efficacement séparer le métal concentré au sein du biofilm de l'effluent traité. Par ailleurs, de part leur nature amyloide, les curlis présentent la propriété d'adsorber les métaux (Appl Environ Microbiol. 2010 76(20):6939-41). Par conséquent, l'importante matrice extracellulaire mise en place par les bactéries fixées devrait permettre de compléter le nettoyage de l'effluent par adsorption des métaux. Cette modification du mode de vie de la bactérie sera réalisée en plaçant les gènes structuraux (*csgA* et *csgB*) et les gènes de l'appareil de sécrétion des curlis (*csgE, csgF* et *csgG*) sous contrôle du promoteur inductible par le nickel *PrcnR*.

(http://2011.igem.org/Team:Lyon-INSA-ENS)

Des applications prometteuses!

Deux types d'applications peuvent être retenus pour les biofiltres « Cobalt Buster ».



Emplacements stratégiques pour le biofiltre « Cobalt Buster »

PDF compression, OCR, web optimization using a watermarked evaluation copy of CVISION PDFCompressor

Tout d'abord, ce dispositif innovant permettrait de préserver les résines échangeuses d'ions utilisées pour le traitement de l'eau des circuits primaires lors des arrêts de tranches. En effet, les résines échangeuse d'ions sont utilisées pour retenir les produits de fission, tels que l'iode ou le césium, mais aussi les produits d'activation (cobalt, manganèse, argent…) qui circulent dans l'eau du circuit primaire. Lors de l'arrêt de tranche, l'ouverture du réacteur conduit à la dispersion massive de particules très irradiantes composées essentiellement de ^{60}Co. Le cobalt minoritaire lorsque la tranche est en fonctionnement devient une source de problèmes. Préfiltrer sélectivement le cobalt permettrait d'augmenter la durée d'utilisation des résines et ainsi réduire significativement les coûts et la quantité de déchets radioactifs produits (4 kg de bactéries modifiées= 50 kg de bactéries non modifiées= 8000 kg de résine échangeuse d'ions (Appl Microbiol Biotechnol 81 (3) : 571-578). Par ailleurs, si les rejets actuels respectent la réglementation, ils ne sont pas nuls. Le biofiltre « Cobalt Buster », grâce à sa sélectivité, permettrait d'abaisser encore les concentrations dans les rejets et d'anticiper de nouvelles restrictions réglementaires concernant le traitement des effluents nucléaires en visant le rejet 0.

Objectifs à plus long terme: Développer un système permettant de construire des souches «biofilm inductibles » sur mesure en construisant des capteurs capables de déclencher la formation de biofilm en réponse à la présence de différents polluants radioactifs ou non (ingénierie des systèmes de transduction du signal à 2 composants). A suivre !

Pour en savoir plus :

-L'équipe Lyon-INSA-ENS. ***Students:*** Viviane Chansavang,, Mathilde Dumont, Alexandre Duprey, Mélanie Geffroy, Clémence Gonthier, Margaux Jaulin, Aurélie Haag, Goki Ly, Thomas Poinsot, Béryl Royer-Bertrand, Julie Soula, Michael Vonzy, Pierre Yves Zundel. ***"Advisors":*** Soufiane Bouhmadi, Olivier Brette, Bruno Cedat, Gaël Chambonnier, Laura Izard, Aurianne Kroiss, Philippe Lejeune, Agnès Rodrigue, Sylvie Reverchon, Philippe Thomas. ***"Supervisors":*** Laurent Balvay, Valérie Desjardin, Corinne Dorel, Benoît Drogue.

-iGEM 2011, travaux en cours sur : http://ung.igem.org/m_Wikis?year=2011

-Manipulating bacterial cell fate: key role of surface-sensing and signal transduction http://www.formatex.info/microbiology2/791-800.pdf

L'agenda du RNB

27-29 septembre 2011 Nancy:
"Voyages au centre d'un biofilm : physico-chimie des exopolymères de l'espace inter-cellulaire"
http://lcpe.cnrs-nancy.fr/angd/angdbiofilm.html

12-14 octobre 2011 Nice:
BIOADH 2011
http://webs.unice.fr/cmom-interface/bioadh.html

13 octobre 2011 Romainville :
Colloque Adebiotech/RNB
"Gestion des biofilms, enjeux industriels"
http://www.adebiotech.org/colloque_biofilms/

24-26 janvier 2012 Narbonne :
5eme journées du RNB
"Les biofilms au service des Biotechnologies"
https://colloque2.inra.fr/reseau_national_biofilm

10-12 décembre 2012 Paris :
Biofilms 5
https://colloque.inra.fr/biofilms5

PDF compression, OCR, web optimization using a watermarked evaluation copy of CVISION PDFCompressor

Colloque Adebiotech / Réseau National Biofilms

Gestion des biofilms, enjeux industriels

Le 13 Octobre 2011, Biocitech, ROMAINVILLE

Les biofilms sont présents dans tous les secteurs d'activité développés par l'homme où ils jouent un rôle économique considérable, aussi bien par leurs effets négatifs (contamination d'implants, biocorrosion, colmatage...) que par leurs effets positifs (dépollution, production de molécules...). En effet, la flexibilité des fonctions et des comportements des microorganismes leur permet de coloniser une grande variété d'environnements où ils peuvent se développer préférentiellement sous la forme de biofilms.

Adebiotech organise en partenariat avec le Réseau National Biofilms (RNB), un colloque qui réunira les industries et les laboratoires académiques impliqués dans l'étude des biofilms. Cette journée reposera sur la présentation par les industriels des principaux défis auxquels ils font face, des innovations qu'ils mettent en place et des besoins auxquels pourraient répondre les recherches en cours dans les centres de R&D publics.

Les domaines d'activités ayant une dimension économique forte, et pour lesquels la recherche sur les biofilms est active, seront abordés sous la forme de conférences, d'une session de posters puis d'une table ronde.

Ainsi, cette journée se veut être un moyen efficace pour renforcer le canevas des acteurs publics et privés impliqués dans la R&D française sur les biofilms et favoriser, sur le long terme, le montage de partenariats privé/public sur des projets de recherche innovants.

http://adebiotech.org/colloque_biofilms/
biofilms@adebiotech.org

PDF compression, OCR, web optimization using a watermarked evaluation copy of CVISION PDFCompressor

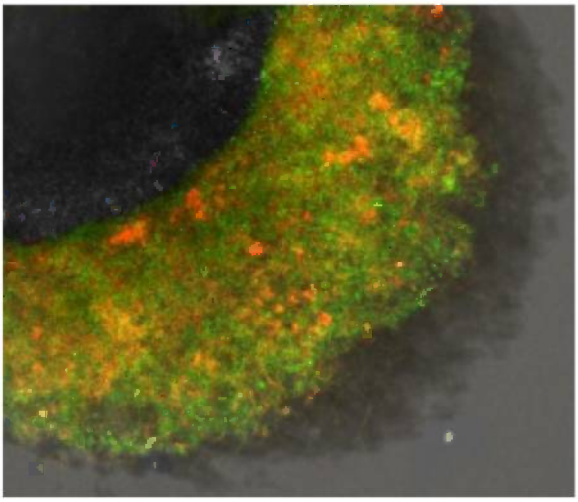
RESEAU NATIONAL BIOFILMS

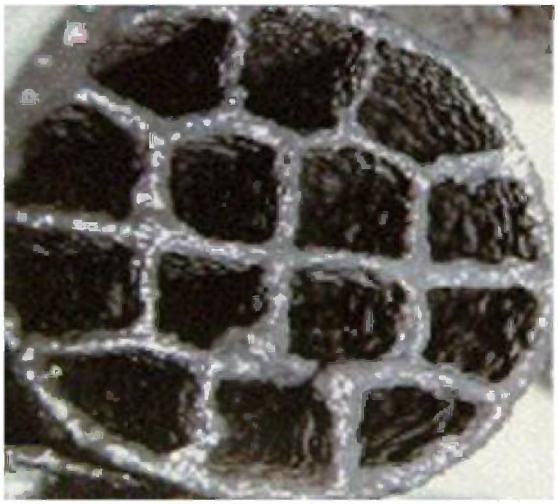
5èmes Journées Thématiques

Les Biofilms au service des Biotechnologies

Bioénergies, Agro-Alimentaire, Environnement

24 - 26 Janvier 2012 - Narbonne





INRA

Le Grand Narbonne

Narbonne l'esprit d'ouverture

PDF compression, OCR, web optimization using a watermarked evaluation copy of CVISION PDFCompressor