

EXOPOLYSACCHARIDES ET PUCE D'ISOLEMENT : GLUANT MAIS INNOVANT!

Katy LEDUC^{a,b}, Nanouk ABONNENC^a, Patrik QUESSY^a
et Jean-François LEMAY^a

^aCentre national en électrochimie et en technologies environnementales (CNETE), Shawinigan
^bDépartement de biologie et biotechnologies, Collège Shawinigan, Shawinigan



1. INTRODUCTION

Que sont les exopolysaccharide (EPS)?

- Polymères naturels produits et sécrétés par des microorganismes dans leur environnement.
- Composés principalement d'une répétition d'unités de sucres (monosaccharides) et de dérivés de sucres (dont les acides uroniques).

Où trouver des bactéries produisant des EPS?

Environnement froid



Produits pour assurer la protection des microorganismes dans des environnements extrêmes, notamment en termes de température et de salinité¹.

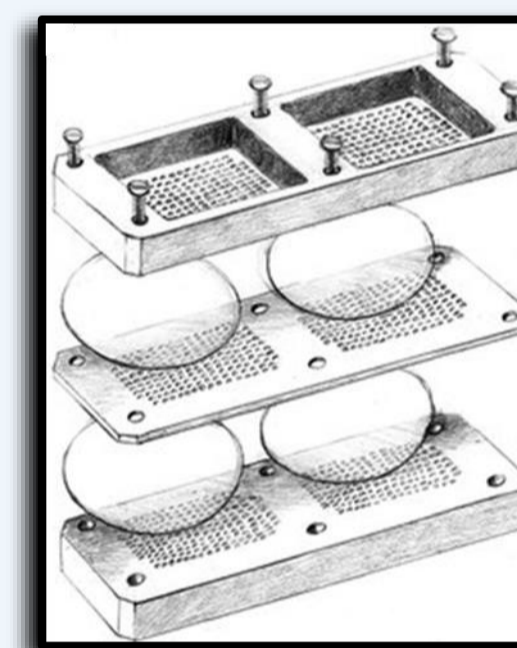
Environnements salins



Comment isoler des bactéries produisant des EPS?

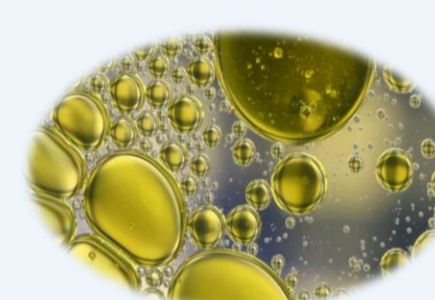
Les méthodes d'isolement classiques sur gélose permettent d'isoler tout au plus 1 % de tous les microorganismes dans un échantillon environnemental²⁻³.

La solution: la puce d'isolement!



Quel intérêt présentent les EPS?

Inclus dans la composition d'un grand nombre de produits dans plusieurs industries.



Alimentaire



Cosmétique



Pharmaceutique

2. OBJECTIFS

- Isoler des bactéries au moyen de puces d'isolement (et tenter d'isoler des bactéries difficilement cultivables).
- Procéder au criblage des bactéries à la recherche de nouveaux producteurs d'EPS.
- Décrire les caractéristiques physicochimiques des EPS bactériens.

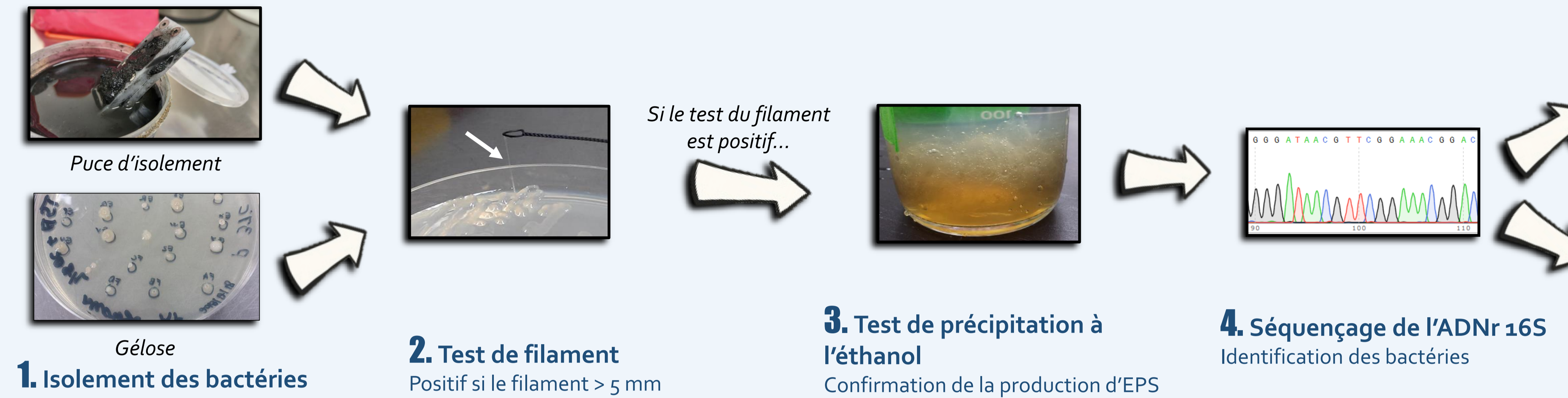
REMERCIEMENTS

Nous remercions Christophe Damour, technicien de laboratoire au CNETE, pour la réalisation des analyses instrumentales ayant permis de déterminer les caractéristiques chimiques des EPS. Nous remercions aussi Vincent Maire, professeur à l'UQTR, pour nous avoir aimablement fourni des échantillons environnementaux en provenance de l'île Bylot.



Ce projet a été soutenu financièrement par le ministère de l'Éducation et de l'Enseignement supérieur via le programme PART.

3. MÉTHODOLOGIE



5a. Caractérisation chimique des EPS

Spectre FT-IR, masse moléculaire (chromatographie d'exclusion), composition en sucres et des acides organiques (HPLC) et microscopie électronique à balayage.

5b. Caractérisation microbiologique des producteurs d'EPS

Divers tests biochimiques

4. RÉSULTATS

Isolement de producteurs d'EPS

À partir de 6 échantillons environnementaux (eau et sol), nous avons isolé...

Méthode d'isolement	Nb bactérie total	Nb producteur EPS	% producteurs d'EPS
Gélose	107	15	14
Puce d'isolement	165	28	17
Total	272	43	16

L'analyse BLASTn de l'ADNr 16S a permis l'identification des producteurs d'EPS.

Genre	Producteur d'EPS isolé avec...		Total
	Gélose	iChip	
<i>Bacillus</i>	1	0	1
<i>Herbaspirillum</i>	0	1	1
<i>Janthinobacterium</i>	1	2	3
<i>Pseudomonas</i>	12	24	36
<i>Rhizobium</i>	0	1	1
<i>Sphingomonas</i>	1	0	1
Total des bactéries	15	28	43

Caractéristiques microbiologiques de *Janthinobacterium*

Aspect sur gélose



Janthinobacterium (AD-001)



Janthinobacterium (DJ-001)

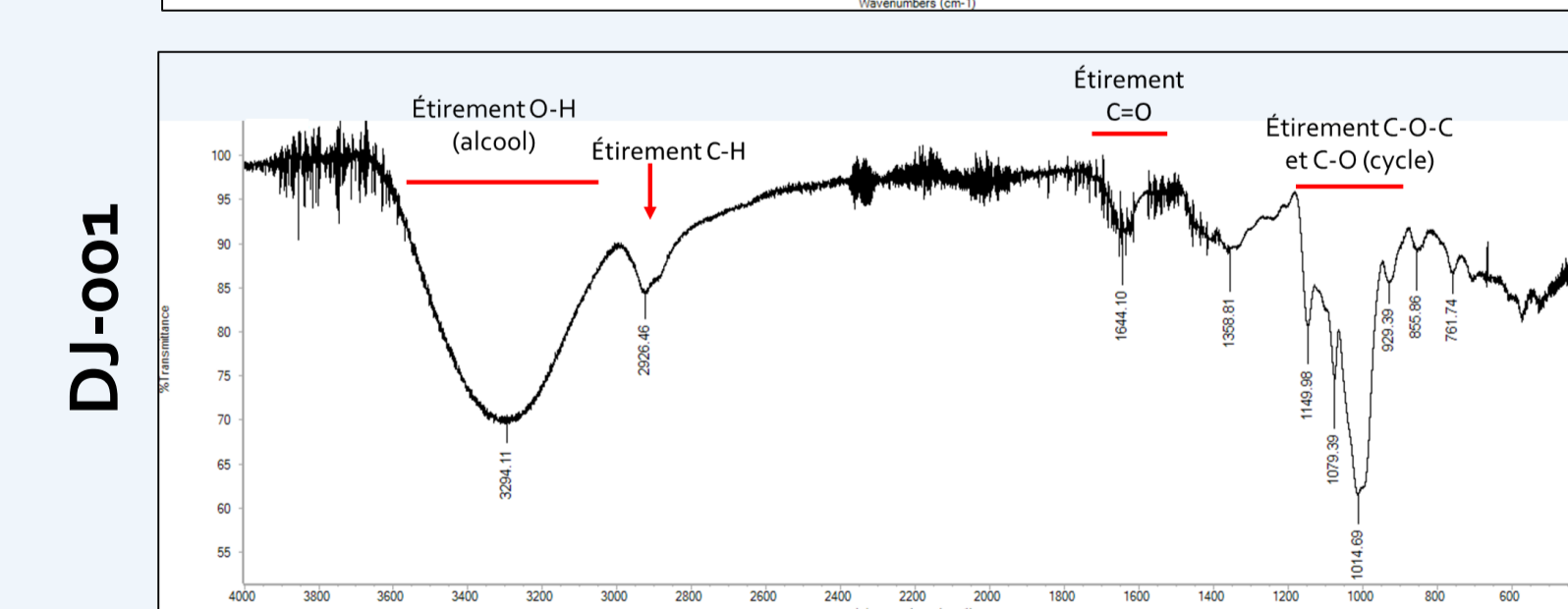
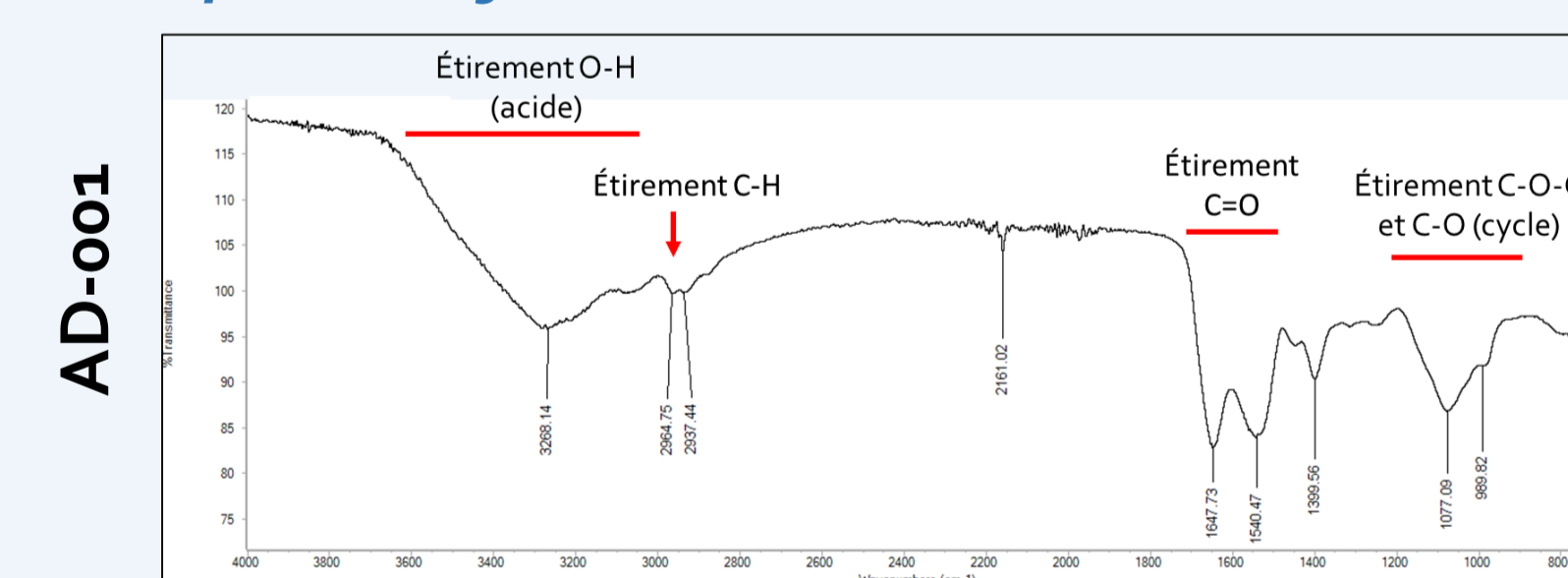
Tests biochimiques

No bactérie	Forme	Gram	NO ₃	Urée	Esc	Gel	Ara	Mal	Adi
AD-001	Bacilles, arrondis	Nég	Pos	Nég	Pos	Nég	Pos	Pos	Pos
DJ-001	Bacilles courts, arrondis	Nég	Pos	Nég	Pos	Nég	Pos	Pos	Pos

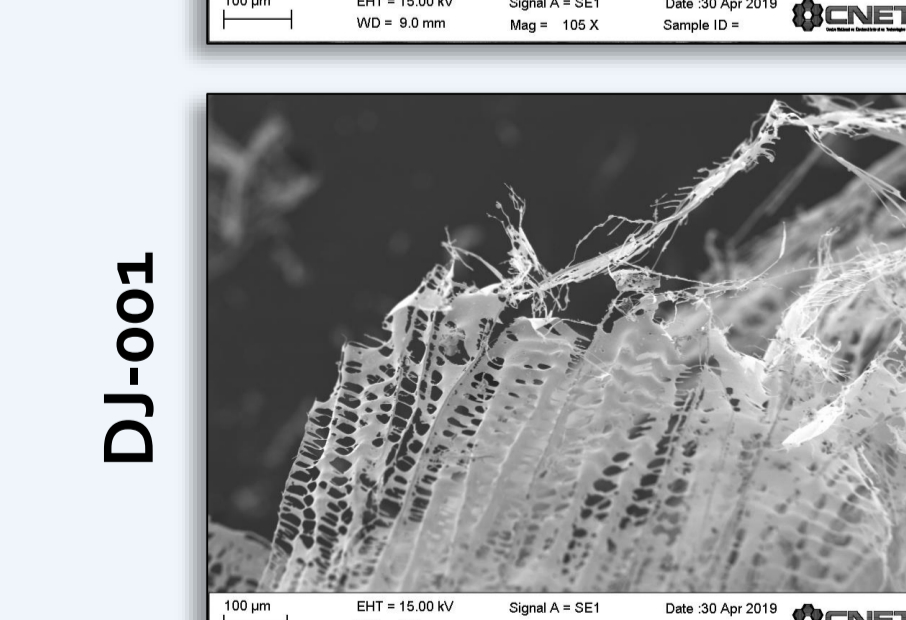
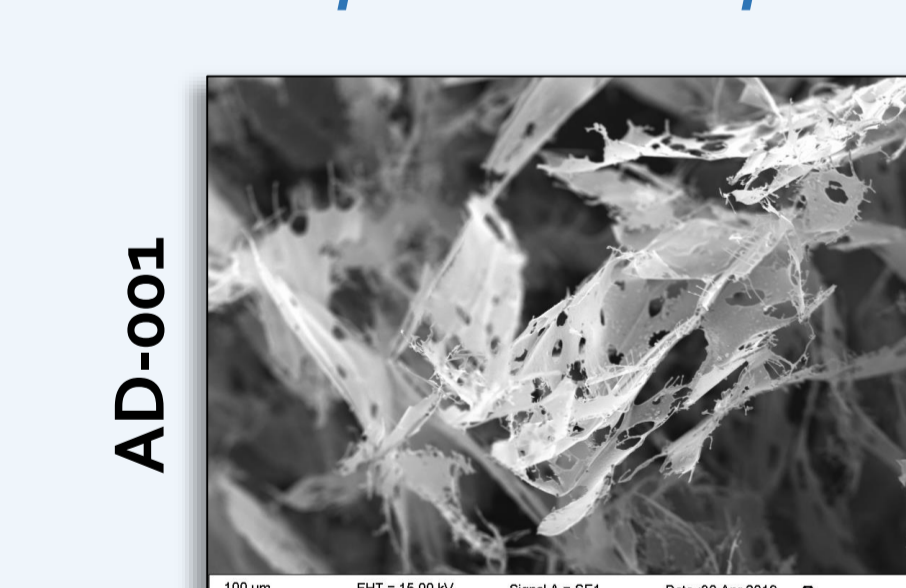
NO₃: nitrate; Esc: esculine; Gel: gélatine; Ara: arabinose; Mal: maltose; Adi: acide adipique

Caractéristiques physicochimiques des EPS de *Janthinobacterium*

Groupements fonctionnels (FT-IR)



Microscopie électronique à balayage



Taille et composition chimique (HPLC et chromatographie d'exclusion)

Origine des EPS	Masse moléculaire (Da)		Composition chimique					
	Pic mineur	Pic majeur	Arabinose	Fructose	Glucose	Rhamnose	Ac. glucuronique	Protéines
AD-001	16,6 x 10 ⁴	3,2 x 10 ³	Absent	Absent	Absent	Absent	Présent	Absentes
DJ-001	1,73 x 10 ⁵	13,1 x 10 ⁴	Absent	Absent	Absent	Absent	Présent	Absentes

À ce jour, la composition en monosaccharides des EPS n'a pas pu être déterminée. L'acide glucuronique est présent, mais d'autres acides organiques non identifiés ont aussi été détectés. La composition des EPS de *Janthinobacterium* est toujours en cours d'élucidation.

5. CONCLUSION

- L'isolement de producteurs d'EPS a été possible sur gélose et à l'aide des puces d'isolement.
- Les EPS produits par *Janthinobacterium* sont en voie d'être décrits. Cette description pourra permettre d'évaluer leurs applications.
- **Les puces d'isolement sont des outils alternatifs pour explorer les communautés microbiennes et découvrir de nouvelles biomolécules d'intérêt industriel.**

6. RÉFÉRENCES

1. Poli, A., Anzelmo, G. & Nicolaus, B. Bacterial exopolysaccharides from extreme marine habitats: Production, characterization and biological activities. *Mar. Drugs* 8, 1779–1802 (2010).
2. Harwani, D. The Great Plate Count Anomaly and the Unculturable Bacteria. *Int. J. Sci. Res.* 2, 350–351 (2012).
3. Ling, L. L. et al. A new antibiotic kills pathogens without detectable resistance. *Nature* 517, 455–459 (2015).