

La levure de boulanger : un outil innovant pour la détection de micropolluants

Les problématiques environnementales sont au cœur des préoccupations de chaque citoyen, politique, chercheur. Développer de nouvelles techniques de détection de polluants simples à mettre en œuvre, précises et sensibles représente un enjeu majeur. Et pourquoi pas un bio-capteur à base de levure ?



La levure de boulanger, *Saccharomyces cerevisiae*, un outil technologique ?

La levure de boulanger, *Saccharomyces cerevisiae*, nous est familière dans notre vie quotidienne. On la retrouve naturellement dans le pain, la bière, le vin. Dans l'Antiquité, les égyptiens l'utilisaient déjà de façon empirique pour leurs besoins alimentaires. Louis Pasteur a révélé son existence en 1857. La levure *Saccharomyces cerevisiae* trouve aussi toute sa place dans les laboratoires de recherche. D'ailleurs, plusieurs lauréats de prix Nobel sont des "levuristes" !

Cet organisme est un être unicellulaire eucaryote : une seule cellule qui a de nombreuses similitudes avec les cellules humaines (un noyau, des chromosomes, des voies de signalisation cellulaire très semblables à celles des cellules humaines). C'est le premier organisme dont le génome a été entièrement séquencé en 1996 grâce à un consortium international : 16 chromosomes pour environ 6000 gènes¹, dont un tiers est conservé entre la levure et l'homme et interchangeable. Il est facile de cultiver la levure, à moindre frais, avec des rendements de production élevés. Par ailleurs, il est aisé aux biologistes de manipuler son patrimoine génétique : pas besoin d'outil génétique sophistiqué. Elle possède son propre système de recombinaison homologue, c'est-à-dire de modification de son ADN. Aussi, de nombreuses découvertes fondamentales ont été réalisées grâce à la levure : les bases moléculaires de la transcription, la mise en évidence des protéines régulant le cycle cellulaire, le trafic vésiculaire ou encore l'autophagie.

Et puis, c'est un outil biotechnologique précieux. Elle permet la production à faible coût et en grande quantité de protéines

humaines recombinantes comme par exemple le collagène, l'hormone de croissance, l'hydrocortisone ou l'insuline.

" La détection, de ces micropolluants, un défi sociétal fort "

QUE SONT LES MICROPOLLUANTS ?

Les micropolluants ont envahi notre vie et on les retrouve partout dans notre environnement. Ils constituent une source de pollution préoccupante. "Micro", ils passent inaperçus, mais ce sont de véritables fléaux pour l'environnement, la faune, la flore et la santé humaine. Selon la définition du Plan Micropolluants (2016-2021) : "un micropolluant est une substance indésirable détectable dans l'environnement à très faible concentration (μg voire ng/L). Sa présence est, au moins en partie, due à l'activité humaine et peut à ces très faibles concentrations engendrer des effets négatifs sur les organismes vivants en raison de sa toxicité, de sa persistance et de sa bioaccumulation. De nombreuses molécules présentant des propriétés chimiques différentes sont concernées (plus de 110 000 molécules sont recensées par la réglementation européenne), qu'elles soient organiques ou minérales, biodégradables ou non tels les plastifiants, détergents, métaux, hydrocarbures, pesticides, cosmétiques ou encore les médicaments".

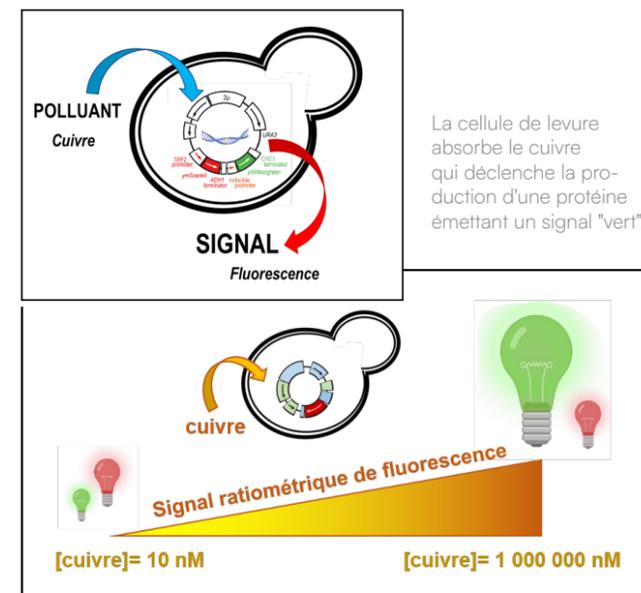
La détection et l'élimination de ces micropolluants représentent un défi sociétal fort. Actuellement, leur détection repose sur des techniques analytiques pointues qui nécessitent des appareils

onéreux et des expertises dédiées. En outre, ces analyses peuvent être longues et coûteuses. De plus, ces analyses ne quantifient pas les micropolluants assimilables par les organismes vivants, c'est-à-dire la fraction biodisponible des micropolluants.

LE CUIVRE, ESSENTIEL ET TOXIQUE

Des chercheurs du Centre de Biophysique Moléculaire (CBM, UPR344 CNRS) ont choisi la levure *Saccharomyces cerevisiae* pour relever un nouveau défi : la transformer et l'optimiser pour détecter des micropolluants. Le concept : un micropolluant entre dans la cellule de levure, induit une réponse biologique qui va provoquer l'émission d'un signal qui sera mesuré et mettra en évidence la présence de ce micropolluant mais qui permettra aussi de déterminer sa quantité biodisponible (ingérée par la levure). Les chercheurs du CBM ont choisi la fluorescence pour le signal émis : sensible, facile à détecter et à mettre en œuvre, et le cuivre pour le micropolluant. Le cuivre est utilisé dans de nombreux domaines industriels : la construction (plomberie), le secteur de l'énergie (notamment dans la production de batteries pour les voitures électriques), des biens de consommation. C'est aussi un engrais, un fongicide ou encore un insecticide. Micronutriment essentiel à la vie, le cuivre est toxique à dose plus élevée. Il induit des troubles gastriques, hépatiques, ou neurologiques. Son suivi dans l'eau potable est une réelle problématique environnementale et sociétale.

De nombreux travaux sur la levure ont démontré la capacité du cuivre à induire l'expression de gènes grâce à la caractérisation fine d'un promoteur² sensible au cuivre. Les biologistes du CBM ont détourné ce système pour évaluer la quantité de cuivre biodisponible. Ils ont modifié génétiquement la levure *Saccharomyces cerevisiae* en lui ajoutant un chromosome synthétique qu'on nomme plasmide³. Sur ce plasmide, ils ont inséré un gène permettant l'expression d'une protéine qui va émettre de la fluorescence "verte" (NeonGreen). Cette expression est sous le contrôle d'un promoteur sensible à la présence du cuivre (en qualité et quantité). Sur ce même plasmide, les biologistes ont aussi inséré un gène permettant l'expression d'une autre protéine qui va émettre de la fluorescence "rouge" (Scarletl).



Principe du biocapteur levure permettant de quantifier le cuivre biodisponible. Plus il y a de cuivre, plus le signal vert sera intense.

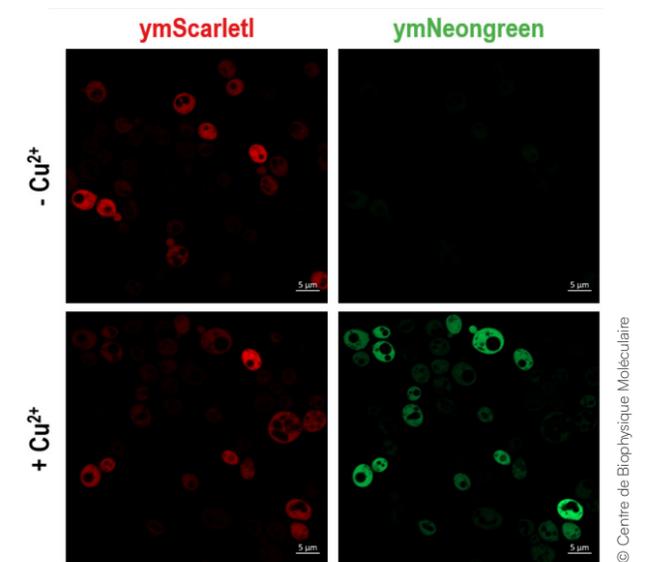
Cette expression est constitutive, c'est-à-dire qu'elle est toujours présente à partir du moment où la levure est vivante. Pourquoi une fluorescence verte et une fluorescence rouge ? Pour s'affranchir du nombre de levures présentes dans l'échantillon à analyser, c'est un système ratiométrique : la mesure du rapport vert/rouge reflète directement le rapport quantité de levures détectant du cuivre/quantité totale de levures et donc la concentration réelle de cuivre présent dans l'ensemble des levures quel que soit leur nombre.

Les scientifiques du CBM ont construit, testé et optimisé plusieurs plasmides. Ils peuvent ainsi détecter le cuivre biodisponible à une concentration inférieure limite de 10 nM surpassant ainsi tous les biocapteurs actuellement connus. Ce biocapteur a aussi été validé sur des échantillons "réels" (engrais, compléments alimentaires) pour lesquels les concentrations détectées sont tout à fait en accord avec celles annoncées par les fabricants.

Simple, robuste et facile à mettre en œuvre, ce biocapteur pourrait bien devenir un nouvel outil précieux pour évaluer la concentration de cuivre présent dans nos rivières. D'ailleurs, en collaboration, les chercheurs du CBM ont mis au point un système de polymère permettant de confiner et immobiliser les levures en préservant leurs propriétés pour éviter leur relargage dans la nature afin de pouvoir développer *in fine* un kit de détection. Ce biocapteur pourrait même être adapté à la détection d'autres micropolluants : métaux lourds, perturbateurs endocriniens, médicaments...

Béatrice VALLÉE - CBM
beatrice.vallee@cns.fr
<http://cbm.cnrs-orleans.fr/>

- 1 Gène : séquence d'ADN qui va permettre la production d'une protéine, les protéines sont les acteurs clés du fonctionnement de la cellule
- 2 Promoteur : séquence d'ADN en amont d'un gène qui va moduler son expression
- 3 Plasmide : molécule circulaire d'ADN double brin



Microscopie à fluorescence de levures portant le plasmide développé dans cette étude (d'après Zunar et al. 2022) - Colonne de gauche: Emission dans le rouge, Colonne de droite: Emission dans le vert. Cadrans supérieur: en l'absence de cuivre Cadrans inférieur: en présence de cuivre