

Optimiser la fixation de CO₂ par la biologie de synthèse

FICHE QUESTIONS SUR... n° 06.02.Q06

Mots clés : gaz effet serre - CO₂ - photosynthèse - autotrophie - environnement - biologie synthèse

On entend souvent que le dioxyde de carbone (ou CO₂) est un gaz à effet de serre.

Un tel genre de gaz, répandu dans l'atmosphère, a pour particularité d'absorber le rayonnement thermique émis par la surface terrestre, comme le fait une serre en agriculture. En d'autres termes, plus il y a de CO₂ dans l'atmosphère, plus s'accroît le réchauffement climatique. Comme pour tout autre gaz à effet de serre, se pose donc la question du bilan production/consommation.

Le dérèglement climatique résulte en partie d'un excès de production ou d'un défaut de consommation. Cette fiche concerne la consommation du CO₂.

Chimie du Vivant

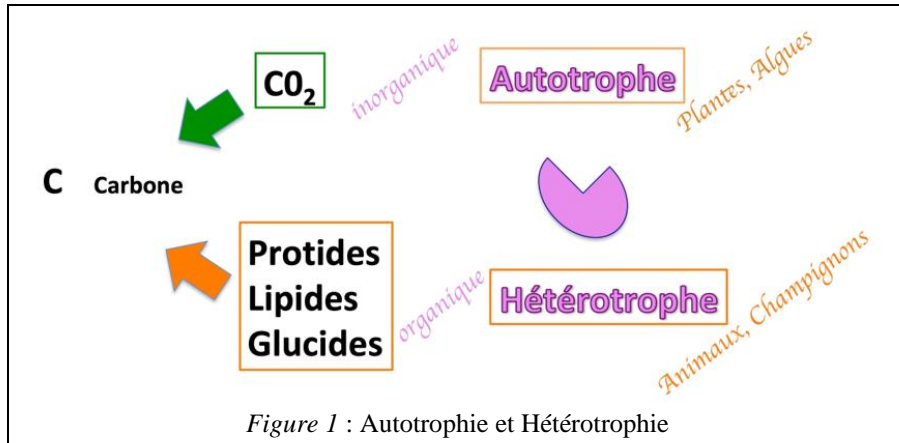
Pour bien comprendre ce qui suit, il est bon de rappeler que le vivant est massivement fondé sur une chimie "CHON", c'est-à-dire à base d'atomes de Carbone, Hydrogène, Oxygène et Nitrogène (azote en français) ; d'autres atomes sont essentiels à la vie, mais en quantités plus limitées.

Un organisme vivant devant couvrir ses besoins en carbone, il trouve deux manières de le faire : l'hétérotrophie et l'autotrophie.

- Si l'organisme couvre ses besoins en carbone en fixant le CO₂ de l'atmosphère, on dit qu'il est autotrophe ; la famille des autotrophes comprend les plantes, les algues et certains micro-organismes comme les cyanobactéries.

- S'il les couvre en assimilant des composés organiques, on dit qu'il est hétérotrophe. Les humains sont des hétérotrophes, auxquels leur nourriture apporte toutes sortes de composés organiques : protéides, lipides, glucides (*Figure 1*).

À noter que les hétérotrophes (dont les humains) dépendent entièrement des ressources organiques générées par les organismes autotrophes : même lorsque nous nous nourrissons de viande, cette dernière provient d'animaux herbivores qui, en dernier ressort, ont consommé des plantes ou autres organismes autotrophes. Les relations trophiques (*qui mange qui ?*) forment donc une pyramide à la base de laquelle se trouvent toujours les



autotrophes, ce qui implique aussi qu'ils forment la grande majorité (80 %) de la biomasse (masse vivante globale). En d'autres termes, le carbone de la biomasse, même pour les animaux, provient *de facto* du CO₂ fixé par autotrophie. Il faut savoir que, chaque année, plus de 350 milliards de tonnes de CO₂ atmosphérique sont consommées par la nature, grâce à un processus appelé "fixation autotrophique de CO₂". Parmi ces tonnes, plus de 90 % sont fixées par un cycle de réactions biochimiques appelé le "cycle¹ de Calvin", qui opère chez les plantes, les algues et certains micro-organismes. Ce cycle peut être subdivisé en trois phases :

- Phase 1 : fixation du CO₂ sur le sucre ribulose, donnant ainsi deux glycérate.
- Phase 2 : réduction de glycérate en glycéraldéhyde.
- Phase 3 : en plusieurs étapes, régénération de ribuloses à partir de glycéraldéhydes.

¹ on utilise le terme "cycle" pour signifier que la suite de réactions biochimiques se referme sur elle-même en un cercle

Au vu de l'importance cruciale de la photosynthèse pour l'existence même du monde vivant, le cycle de Calvin est central. Or il souffre de "défauts" ; l'un des pires tient au double rôle de l'enzyme RuBisCo.

La RuBisCo est la protéine la plus abondante du monde vivant, en raison de son rôle central puisqu'elle fixe le carbone atmosphérique dans la biomasse végétale ; elle est également importante en conséquence de sa relative lenteur, et enfin de son inefficacité car RuBisCo catalyse (= accélère) deux réactions :

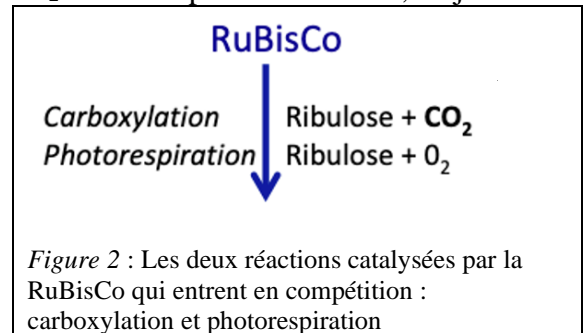
- La première (la fixation autotrophique) consiste à combiner le ribulose au CO_2 : on parle de carboxylation.
- La seconde consiste à combiner le ribulose à l'oxygène (O_2) : on parle de photorespiration.

Comme le ribulose est concerné dans les deux cas, ces deux réactions de carboxylation et de photorespiration sont en compétition ; en moyenne, la carboxylation l'emporte sur l'oxygénation dans un rapport d'environ 4 à 1, donc globalement il y a bien fixation de CO_2 durant la phase lumineuse, en journée.

Aussi conduit-on, depuis quelques années de nombreuses recherches pour tenter d'améliorer ou remplacer le cycle de Calvin. Une autre option est de porter le cycle de Calvin dans des organismes ne le possédant pas.

De tels organismes sont choisis pour leur utilité dans la manufacture humaine. Par exemple, parce qu'ils produisent des composés utiles ; en pareil cas, la production, par ces organismes, au lieu de se faire au détriment de ressources précieuses, va consommer une source de carbone gratuite et

abondante, le CO_2 (notons au passage que de tels organismes, cultivés à grande échelle, représenteraient des puits de carbone). Ces recherches ont donné lieu à des réalisations concrètes, parce que récemment les outils à la disposition des biotechnologies se sont largement affinés, avec l'arrivée de la "biologie de synthèse".



Biologie de synthèse

La biologie de synthèse est l'ingénierie rationnelle de la biologie. La finalité de ce domaine, apparu en 2004, est de concevoir de nouveaux systèmes inspirés par la biologie ou fondés sur ses composants. Cette ingénierie fait progresser les connaissances sur le monde vivant, et permet de développer de nombreuses applications industrielles dont le potentiel économique est considérable ; enfin, elle vise à réduire – dans les biotechnologies – l'impact environnemental, l'empreinte carbone, ainsi que les coûts et délais de mise sur le marché de nouveaux produits.

La biologie de synthèse a ouvert un champ de créativité dans lequel se sont engouffrés des chercheurs de grand talent, entre autres dans le domaine de la fixation autotrophique de CO_2 . Avant d'examiner cette voie, faisons le tour des autres objectifs de modifications à apporter aux plantes, que vise la biologie de synthèse dans le cadre de l'agriculture :

- modifier leur métabolisme à des fins de bio-production de composés chimiques utiles ;
- optimiser leur croissance ;
- altérer leur composition pour faciliter leur usage ;
- recourir à moins de produits phytosanitaires ;
- les adapter au changement climatique ;
- modifier le riz élaborant naturellement des composés à 3 carbones (C3) vers 4 carbones (C4) ;
- permettre aux céréales d'utiliser l'azote atmosphérique ;
- améliorer leur photosynthèse et fixation de CO_2 .

Applications à la fixation autotrophique du carbone par cycle optimisé totalement artificiel

Améliorer ou remplacer le cycle de Calvin – notamment en optimisant le fonctionnement de RuBisCo – est donc un défi d'autant plus passionnant qu'il touche à la source même de toute la biomasse terrestre.

Des travaux récents ont appliqué les principes de la biologie de synthèse, afin de remplacer le cycle de Calvin par un cycle artificiel, totalement différent mais rendant les mêmes services avec un meilleur rendement. Précisons que ce cycle synthétique (dont l'acronyme est CETCH), ne fonctionne pour l'instant que dans l'éprouvette, *in vitro*, et non dans le vivant, *in vivo* ; plus bas seront discutées les premières tentatives de l'insérer dans un système plus grand, voire une cellule vivante. Au total, ce cycle artificiel CETCH comporte 17 enzymes différentes (dont certaines altérées par génie enzymatique), issues de 9

organismes appartenant aux 3 domaines du vivant (une performance rare). Il convertit efficacement le CO₂ en molécules organiques.

Suivant la philosophie de la biologie de synthèse, ces travaux découplent conception et construction.

A) Conception

1) Identification d'une carboxylase efficace

Les chercheurs ont classé des carboxylases naturelles de divers organismes selon leur efficacité dans la réaction de carboxylation normalement effectuée par la RuBisCo. Une part de leur efficacité tient à l'absence de la réaction parasite de photorespiration.

2) Rétro synthèse métabolique

Partant de cette carboxylation (dite *réaction 0*), les chercheurs sont remontés vers la réaction qui la précède (dite *réaction -1*) dans le cycle en cours de conception. Pour chaque possibilité en *réaction -1*, ils sont ensuite remontés à ce que pourraient être des réactions se produisant encore avant, dites *réactions -2*, et ainsi de suite. Si, comme souvent, il y a plusieurs possibilités pour toute réaction amont, on se retrouve vite avec un immense arbre de combinaisons possibles ; or l'objectif est de déterminer le meilleur chemin, donc le meilleur ensemble de réactions successives finissant par la carboxylation de la *réaction 0*.

3) Élagage

Pour élaguer l'arbre touffu en ne gardant qu'une branche à chaque niveau, les auteurs ont utilisé une série de critères. En particulier, chaque réaction doit être possible au plan thermodynamique ; par exemple, elle ne se produirait pas si, pour avoir lieu, elle avait besoin d'une énergie qui ne lui serait pas fournie. Ou encore, le cycle global s'arrêterait rapidement si les cofacteurs biochimiques n'étaient pas régénérés. En outre, un cycle synthétique intéressant doit produire beaucoup d'énergie sous forme biochimique.

L'arbre est tellement touffu qu'une inspection à l'œil nu n'y suffit pas. Heureusement, les chercheurs disposent d'outils informatiques pour appliquer l'ensemble de ces critères à l'élagage.

4) Identification d'enzymes candidates

Pour chaque réaction du futur cycle, des enzymes capables de la catalyser doivent être identifiées dans la littérature scientifique et dans les bases de données alimentées par les chercheurs du monde entier.

B) Construction

1) Vérification des enzymes candidates

Une à une, les enzymes identifiées au point A4 sont maintenant caractérisées à la paille, en mesurant leurs paramètres.

2) Reconstruction de la voie métabolique

Dans la même éprouvette sont réunies toutes les enzymes requises pour la voie métabolique cyclique. En ajoutant les réactifs initiaux, le flux de leurs transformations successives à travers cette voie est mesuré.

3) Optimisation de la voie métabolique

À ce stade, des modifications destinées à harmoniser le fonctionnement de la voie métabolique dans son entier deviennent nécessaires. Par exemple, il est indispensable de s'assurer du recyclage des cofacteurs afin que la voie puisse "tourner" cycliquement ; durant cette étape, certaines enzymes vont être altérées par génie enzymatique, pour favoriser l'activité catalytique souhaitée.

4) Évaluation finale du cycle métabolique complet

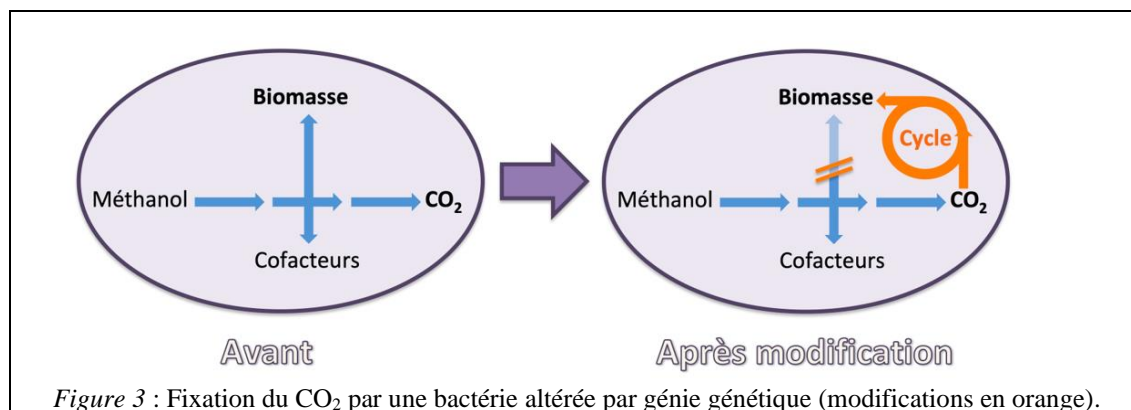
La voie cyclique est mise en œuvre, et les paramètres globaux sont mesurés et comparés au cahier des charges initial. Si besoin, l'expérimentaliste revient à l'étape précédente.

Vers des applications au Vivant

Bien entendu, un long chemin reste à effectuer pour insérer ce cycle synthétique dans un métabolisme photosynthétique complet, donc impliquant aussi la phase lumineuse qui précède.

En 2020, le cycle synthétique CETCH décrit ci-dessus a été couplé chimiquement à des membranes photosynthétiques isolées à partir de feuilles d'épinard. Ce système mixte, d'origines artificielle et naturelle, a fonctionné en présence de lumière dans de petites vésicules (mélange de lipides et d'eau) censées reproduire l'environnement cellulaire ; il est contrôlé et protégé dans de minuscules chambres (microfluidiques). Ce succès reste cependant partiel, car les membranes photosynthétiques naturelles, sorties de leur contexte physiologique, s'endommagent rapidement.

Un autre objectif serait de transposer, au sein d'une cellule vivante, un cycle fonctionnant déjà dans l'éprouvette. Quelques étapes ont récemment été franchies (cf. *Figure 3*). En particulier, le métabolisme d'une bactérie a été profondément modifié, afin d'y introduire un équivalent du cycle de Calvin pour fixer le CO₂ ; cette bactérie est naturellement apte à croître avec le méthanol pour unique source de carbone. Dans la bactérie génétiquement altérée, le méthanol reste utilisé comme source d'énergie, donc l'autotrophie n'est pas totale ; ce qui est nouveau est que le CO₂ devient sa seule source de carbone pour fabriquer sa biomasse. Cette altération a demandé que les productions de biomasse et d'énergie soient découplées par l'inactivation de trois gènes, et qu'un équivalent hétérologue du cycle de Calvin soit implémenté pour utiliser le CO₂ afin de produire la biomasse.



Indépendamment, d'autres travaux ont altéré le métabolisme d'une levure hétérotrophe d'intérêt industriel pour la rendre totalement autotrophe, et capable de pousser en continu avec pour seule source de carbone du CO₂ ; cette levure a naturellement la capacité d'assimiler le méthanol. Le circuit métabolique d'assimilation du méthanol a été "détourné" pour réaliser une voie de fixation du CO₂ ressemblant au cycle de Calvin ; pour cela, il a fallu inactiver 3 gènes de cette levure, et importer 8 gènes venant d'autres organismes.

Ce qu'il faut retenir :

Ces approches novatrices à la fixation autotrophique du CO₂ ne font actuellement qu'effleurer le monde Vivant, généralement celui des microorganismes.

Une fois ces approches portées vers les plantes et algues, resteront encore à valider des solutions appropriées au champ, pour lequel d'autres facteurs environnementaux viennent limiter la production de biomasse.

Un compromis se dessine entre solutions basées ou non sur le Vivant, compromis qui évoluera avec les progrès techniques.

Pour en savoir plus :

- François KEPES : fiche Question sur "06.06.Q02 : *Biologie de synthèse*", Académie d'Agriculture de France, 2022
- François KEPES : *La biologie de synthèse, plus forte que la Nature ?* Le Pommier, 2011
- François KEPES : *Biologie de synthèse et agronomie*, Les Potentiels de la Science, Académie d'Agriculture, 2018
- François KEPES : *Apport de la biologie de synthèse en agriculture*. In *Chimie et agriculture durable* (EDP Sciences 2022)
- Jean-François MOROT-GAUDRY : fiche Questions sur "06.02.Q01 : *Qu'est-ce que la photosynthèse ?*", Académie d'Agriculture, 2021
- Jean-François MOROT-GAUDRY, Jean-Claude PERNOLLET : *Les cyberchloroplastes et la photosynthèse artificielle*. Académie d'Agriculture, 2020
- Jean-François MOROT-GAUDRY : *Peut-on améliorer les capacités photosynthétiques des plantes ?* Les Potentiels de la Science, Académie d'Agriculture, 2018
- Georges PELLETIER : *Mutants et mutagenèse dans le domaine végétal*. Questions sur ... n° 06.01.Q01, Académie d'Agriculture, 2021