

Séance du 17 mars 2014

## Aux limites du vivant

par Claude BALNY

---

### MOTS-CLÉS

Extrêmophile – température – pression – biotechnologie - exobiologie.

### RÉSUMÉ

Nous savons depuis longtemps que certaines espèces vivent dans des conditions physico-chimiques extrêmes de température, de pression, d'acidité, de salinité, de radiations, de déshydratation, etc. Les recherches actuelles tentent de comprendre quels sont les mécanismes moléculaires mis en jeu et quelles sont les utilisations potentielles de tels organismes à des fins biotechnologiques, industrielles ou médicales. Divers aspects de ces limites du vivant seront décrits.

---

### Introduction

La vie risquée dans les conditions extrêmes - les confins du vivant - fascine, stimule la curiosité et sollicite l'imagination. Depuis l'Antiquité, l'homme cherche à voler, à explorer la lune ou les fonds marins. Icare et Jules Verne en témoignent. L'espace et les abysses paraissent peuplés de créatures redoutables. On y frôle les dieux, on commet l'hybris, la menace est extrême. Quels êtres y vivent, comment ? L'irrationnel nourrissait l'imaginaire jusqu'au cœur même des premières analyses scientifiques. A la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, Lord Kelvin, thermodynamicien célèbre, soutenait, équations à l'appui, que la vitesse causerait de graves dommages aux voyageurs des trains rapides... Cependant, le progrès des connaissances accélère les démarches et le problème de l'adaptation physiologique aux conditions extrêmes est posé. En 1877, dans la préface de son livre "La pression barométrique", Paul Bert notait (1) :

*"Lorsque, dans les puits de mine ou dans les tubes destinés à devenir des piles de pont, les ouvriers travaillent ... ils éprouvent, pendant ou après leur séjour dans l'air comprimé, des accidents singuliers et parfois redoutables. De même, les plongeurs ... sont fréquemment frappés de paralysie ou de mort." Quant à la vie en haute altitude, il ajoute : "Nous pouvons citer tout d'abord les accidents qui menacent les aéronautes lorsque leur course verticale les entraîne à des hauteurs qui dépassent 4 000 mètres : nausées, vertiges, hémorragies, syncopes... sur ce mal des montagnes, sur la cause duquel ont été émises tant et de si étranges hypothèses."*

Au point le plus élevé du globe culminant à 8 848 mètres règne une pression de 0,330 atmosphère (330 mbar) soit une pression partielle en oxygène de l'ordre du tiers de celle du niveau de la mer et une température de  $-20$  à  $-40^{\circ}\text{C}$ . A l'opposé, les fosses marines les plus profondes sont à 11 000 mètres sous les eaux, sous une pression de 1 100 atmosphères (1 100 bar), à une température de  $2^{\circ}\text{C}$  dans une obscurité totale. On sait depuis longtemps que la vie existe dans ces habitats où les conditions physico-chimiques imposent aux organismes des stratégies d'adaptation. La vie s'est donc adaptée au froid, au chaud, à la pression, à la raréfaction ou à l'absence d'oxygène, etc. Les conditions extrêmes sont un défi pour l'adaptation des êtres vivants. P. Hochachka et G. Somero ont parfaitement posé le problème :

*“The central question to be addressed in this volume (Biochemical Adaptation, Oxford University Press, 2002) is, How have living systems, which are based on a common set of biochemical structures and processes and subject to a common set of physical-chemical laws, been able to adapt to the enormously wide spectrum of environmental conditions found in the biosphere ?”* (2)

Notre propos n'est pas de traiter de l'adaptation, mais de décrire, en termes physico-chimiques ou thermodynamiques les plus simples possibles comment les systèmes vivants réagissent à de telles conditions. Ceci nous permettra d'aborder des questions passionnantes qui restent encore ouvertes :

- La connaissance de la vie dans les conditions extrêmes permet-elle de mieux comprendre comment l'homme vit dans les conditions climatiques “normales”, révélant de nouveaux phénomènes qui régissent et régulent le vivant ?
- L'homme peut-il se servir de ces conditions pour exploiter le vivant à des fins industrielles via une nouvelle biotechnologie ?
- Ces conditions limites, sont-elles favorables pour conserver l'intégrité cellulaire qui caractérise le vivant, déjouant ainsi l'apoptose et accéder, peut-être, à l'immortalité (que peu de gens souhaitent) ?
- Les conditions originelles de la vie sur terre étaient hostiles à la vie telle que nous la connaissons aujourd'hui. Il faisait à la fois très chaud et très froid, les rayonnements solaires et cosmiques étaient intenses et l'atmosphère était dépourvue d'oxygène. Comment ces conditions ont-elles pu laisser émerger le vivant ? quels composés très simples ont-elles suscité en favorisant une chimie prébiotique ? et cela permet-il de mieux envisager une vie extra-terrestre ?

## **I – Les organismes extrémophiles et leurs habitats** (3)

Au cours de leur évolution, les systèmes vivants ont développé des stratégies adaptées aux modifications de leurs environnements. Comme tout système ouvert, ils sont en équilibre dynamique adaptant leur complexité à leur environnement pour survivre. Chaque réaction élémentaire qui les compose et les régule obéit à la fois aux lois de la thermodynamique (où les paramètres essentiels sont la température et, dans une moindre mesure, la pression) et aux contraintes physico-chimiques du milieu (hydratation, salinité, acidité, radiations, etc.). Observons quelques-uns de ces êtres vivant dans l'extrême pour explorer leur stratégie.

### I.1 – Les archaebactéries

Les stratégies d'adaptation les plus intéressantes sont mises en œuvre par les archaebactéries (à l'instar des eubactéries, ce sont des procaryotes dont le noyau cellulaire, contrairement aux eucaryotes, ne possède pas de membrane) qui se classent de la manière suivante :

- **Thermophiles** : Sulfolobales, Thermoprotéales, Thermococcales. Ce sont des espèces isolées de sources chaudes, de résidus fumants de charbon, de solfatares (sources soufrées en ébullition des “fumeurs noirs” – “*black smokers*” – des dorsales océaniques). Le pH du milieu est, de plus, souvent très acide ou très basique. Certains organismes tirent leur énergie de la réduction du soufre à partir de matières organiques, d'autres de l'oxydation de composés soufrés, entraînant l'acidification de leur habitat.
- **Méthanogènes** : Méthanobactériales, Méthanomicrobiales. Ils tirent leur énergie de la réduction du dioxyde de carbone par l'hydrogène pour donner du méthane. C'est une réaction anaérobique. Ils peuplaient la biosphère de la terre primitive. On les trouve également dans le sol, les océans, les eaux riches en matériaux en décomposition, les intestins des mammifères, les glaces antarctiques, les geysers, là où ils peuvent prospérer en oxydant des composés inorganiques ou en décomposant les matières organiques.
- **Halophiles** : Halobactériaceae. Ils croissent sur des sources d'énergie ordinaires, mais ont besoin d'importantes concentrations en sels pour se développer. On les trouve sur les frontières océaniques, dans les marais salants, les lacs salés, la Mer Morte.

Les archaebactéries sont donc équipées pour affronter les conditions les plus extrêmes de la vie : concentration saline de 30 %, pH voisin de zéro, température dépassant 100°C, etc.

A titre de comparaison, on admet une température supérieure maximale de survie de 110° C pour les archaebactéries, de 95° C pour certaines bactéries, et de 60° C pour les eucaryotes.

### I.2 – Milieux physiques extrêmes

En ne considérant que les seuls paramètres thermodynamiques température et pression, on observe que la vie existe dans une large gamme de température, de – 20 à presque + 100°C, et sous une pression pouvant aller jusqu'à 1 000 atmosphères. Les communautés des microorganismes vivant dans de telles conditions, thermophiles (à haute température), hyperthermophiles (à très haute température), psychrophiles (à basse température), barophiles ou piézophiles (sous pression hydrostatique élevée) commencent à être bien étudiées. Collectant un nombre important de biotopes à plus de 10 000 mètres de profondeur, il avait déjà été observé dès 1870, l'existence d'une vie abyssale très active dans des zones riches en composés sulfurés. Cent ans plus tard, en 1977, on a découvert que ces écosystèmes marins étaient associés à une activité hydrothermale infléchissant notre pensée selon laquelle le soleil n'était pas la seule source d'énergie pour qu'une vie existe, mais que certains biotopes puisaient leur énergie dans des sources géochimiques. Cette observation est à l'origine d'une hypothèse très féconde sur l'origine de la vie. Des découvertes récentes montrent que la communauté des organismes vivant dans ces sources hydrothermales ne représentent qu'une fraction de la vie adaptée à la

pression. Des micro-organismes ont été isolés de nombreux environnements, pratiquement totalement dépourvus d'eau, de la croûte terrestre profonde comme dans les nappes pétrolifères, les mines aquifères, les sédiments océaniques, les roches sédimentaires terrestres, le granite ou le basalte. Il semblerait donc que la vie sur terre puisse exister partout où l'eau, même en très faible concentration, est présente, quel que soit le milieu. Mais en est-on réellement certain ? Des réactions biochimiques effectuées en milieu totalement anhydre, voire solide, semblent démontrer le contraire.

Le chaud et le froid qui régissent une bonne partie de la vie sur terre sont, comme le soulignait P. Douzou (4), sources de conflits. L'illustration de tels concepts trouve toute sa signification dans le monde végétal où de nombreuses plantes doivent, très rapidement, s'adapter pour survivre à des variations de température de plus de 50 degrés, sur une base de temps quotidienne. Des habitats terrestres chauds, autres que les sources hydrothermales océaniques, existent également à la surface de la terre, soit dans les régions désertiques chauffées par le soleil, soit dans des régions volcaniques comme près des geysers islandais ou des solfatares des volcans d'Italie. Les vecteurs de chaleur peuvent être soit l'eau au voisinage de son point d'ébullition ou des gaz riches en soufre (SH<sub>2</sub>) et en composés salins. Dans ces exemples, ce sont les entrailles de la terre qui génèrent l'énergie thermique. Ces milieux, particulièrement hostiles, sont souvent pauvres en oxygène. Cependant les archaebactéries comme *Sulfolobus acidocaldarius* vivent dans les solfatares et puisent leur énergie d'une réaction entre le soufre et l'oxygène qui forme de l'acide sulfurique. Alors que les êtres évoluant dans les conditions aérobiques trouvent leur énergie en métabolisant les glucides, les *Sulfolobus* fabriquent la leur en consommant des composés soufrés.

### I.3 – Milieux chimiques extrêmes

**Les pH extrêmes.** Certains organismes, non seulement adaptés aux températures élevées évoluent, de plus, dans des environnements très acides. Cette adaptation résulte de modifications dans la composition et la structure des membranes cellulaires qui contrôlent les échanges ioniques entraînant une modification des pH intra et extracellulaires. C'est dans les lacs renfermant une forte teneur en hydroxydes alcalins que l'on rencontre les bactéries alcaliphiles. Dans ces lacs, la chaleur et la sécheresse favorisent l'évaporation de l'eau alors que le carbonate de sodium et le bicarbonate de soude provenant des roches environnantes se concentrent. La concentration en protons dans l'eau peut être jusqu'à 10 000 fois plus faible qu'à l'intérieur des organismes qui y vivent. Dans les deux cas, acidophiles et alcaliphiles, l'adaptation biologique permet à ces organismes de réaliser une correction intracellulaire des contraintes imposées par le milieu extérieur trop extrême.

**Les milieux hypersalins.** Pour les organismes de ces milieux, plusieurs stratégies d'adaptation existent selon qu'il s'agisse d'organismes vivant dans des conditions de salinité élevée (on les appelle les halotolérants) ou d'organismes qui ont besoin d'une forte concentration saline pour vivre (les halophiles).

Dans les sources hydrothermales abyssales, se trouvent par ailleurs des organismes évoluant en présence de très importantes concentrations en sels métalliques. L'exemple le plus significatif est celui du vestimentifère *Rifta pachyptila* que nous verrons plus loin.

**L'absence d'eau.** C'est tout le problème de la vie en zone désertique, chaude et sèche qui recouvre le tiers de la partie continentale du globe. Il est admis que les plantes du désert comme *Welwitschia mirabilis* qui reçoivent moins de 10 millimètres d'eau par an et qui fleurissent régulièrement, ont développé toute une stratégie pour éviter l'évaporation de leur eau.

**Radioactivité intense.** D'autres organismes, les xérophiles, résistent aux rayons X et ultraviolets ou à la radioactivité  $\gamma$  comme *Deinococcus radiodurans*. L'explication de tels comportements (*D. radiodurans* est capable de survivre à des radiations de plus de 10 000 grays alors qu'*Escherichia coli* ne suit pas à plus de 100 grays, et l'homme à plus de 10 grays) se trouve au niveau de son cycle cellulaire via une protéine qui a la faculté de réparer rapidement son ADN chromosomal des dommages causés par les radiations pour pouvoir être ensuite dupliqué. On conçoit que les études sur ces systèmes sont porteuses d'informations précieuses sur le comportement des cellules vis-à-vis des rayonnements ionisants avec des implications en radiothérapie pour la destruction spécifique des cellules cancéreuses ou pour l'analyse quantitative des effets de l'exposition de l'homme aux faibles doses de rayonnement. Une application potentielle serait le traitement des déchets radioactifs.

#### I.4 – Cas particulier du *Riftia pachyptila* (5)

En 1977, tout à fait fortuitement, une mission océanographique de l'université d'Oregon découvrit à 2 600 mètres de fond sur la dorsale océanique des Galápagos des communautés animales vivant autour de sources hydrothermales et représentant une biomasse de plusieurs kilogrammes par mètre carré. L'élément le plus caractéristique de ces oasis sous-marines est un ver géant, le *Riftia pachyptila* pouvant atteindre 2 mètres de long avec un diamètre de 4 à 5 centimètres, dépourvu de bouche, de tube digestif et d'anus. Il vit en symbiose avec des bactéries qui lui apportent les nutriments nécessaires à son métabolisme. Ces vers forment des communautés de plusieurs centaines d'individus fixés sur le fond à la base des cheminées hydrothermales actives, sous une pression de 250 atmosphères, dans une obscurité totale. Ce monde, parallèle, indépendant de l'énergie solaire, bien que fascinant, est particulièrement difficile à étudier, car, pour préserver ces animaux vivants, il faut continuellement maintenir un environnement semblable à celui où ils évoluent naturellement, c'est-à-dire une pression de plusieurs centaines d'atmosphères et une composition chimique de l'eau rigoureuse. Le contrôle de la température est beaucoup plus difficile à réaliser en raison de la forte pente des gradients thermiques et des courants de convection importants au voisinage des bouches hydrothermales (la température peut en effet varier de 250°C à 2°C sur quelques centimètres). Une des particularités de cette espèce est que son hémoglobine est extracellulaire se combinant avec une forte affinité à SH<sub>2</sub>, évitant ainsi l'empoisonnement de la chaîne respiratoire par ce poison, tout en ayant un autre site de fixation, spécifique à l'oxygène. C'est ce rôle clef des hémoglobines extracellulaires qui explique que *Riftia* peut vivre. Il y a donc une coopération endosymbiotique étroite entre l'organisme pluricellulaire de *Riftia* et des bactéries localisées dans des bactériocytes. Les vers fournissent aux bactéries les éléments inorganiques (oxygène, dioxyde de carbone, hydrogène sulfuré) indispensables à leur métabolisme.

## II – Mécanismes moléculaires et cellulaires des adaptations aux confins des extrêmes

Il existe deux grands types d'espèces, celles à sang froid, les ectothermes, et celles à sang chaud, les homéothermes. Les premières sont entièrement tributaires de la température externe qui module leurs fonctions biologiques. Les secondes n'ont pas cette dépendance, disposant de systèmes de régulations thermiques qui maintiennent une température optimale de vie. Au cours de l'évolution des espèces, il y a eu passage progressif de l'ectothermie vers l'homéothermie.

L'évolution a donc développé une série de stratégies pour que des êtres puissent vivre dans des conditions physico-chimiques relativement restreintes alors que leurs constituants (protéines, acides nucléiques, lipides) pris individuellement, se dénaturent à des valeurs très au-delà des limites de la vie intégrée. L'organisation (cellulaire ou moléculaire) et la vie intégrée fragilisent les êtres en contingentant leur viabilité et en les confinant dans des états métastables.

Du point de vue structural, c'est la flexibilité des protéines qui leur permet, dans la majorité des cas, de résister aux conditions extrêmes de température et de pression. Les mécanismes sont différents pour les acides nucléiques. Par exemple, l'élévation de température a tendance à dissocier les deux chaînes de l'ADN (acide désoxyribonucléique).

En se limitant aux conditions "normales" de vie, les scientifiques ne disposent que de relativement peu de moyens d'investigation car tout dépassement de cette normalité risque d'entraîner dénaturation ou destruction des entités étudiées. En s'inspirant du comportement des êtres vivant dans les conditions extrêmes et en "copiant" certains de leurs comportements, il y a tout un champ d'investigation où il devient possible de dépasser les limites imposées par la vie "normale". Cette approche nécessite des pré-requis. Tout d'abord, le comportement des êtres vivant dans les conditions extrêmes doit être bien compris, deuxièmement, il faut "simuler" les conditions physico-chimiques qui se rapprochent des conditions extrêmes qui ne doivent être ni dénaturantes et ni destructrices, et enfin il est indispensable d'avoir une bonne compréhension de la physique et de la thermodynamique qui régissent et régulent les phénomènes car ce sont souvent la température et la pression qui sont les paramètres les plus impliqués.

### II.1 – Effet de la pression et de la température sur les interactions, les structures et les vitesses réactionnelles<sup>(6)</sup>

Les paramètres température (T) et pression (P), en temps qu'outils pour étudier les systèmes vivants, sont les plus utilisés, thermodynamiquement liés par les expressions de Van't Hoff.

$$\Delta G = \Delta H - T \cdot \Delta S = - RT \ln K = \Delta E - P \cdot \Delta V - T \cdot \Delta S$$

$\Delta G$  est la variation d'énergie libre,  $\Delta H$ , la variation d'enthalpie,  $\Delta S$ , la variation d'entropie,  $\Delta E$ , la variation d'énergie d'activation et  $\Delta V$  la variation de volume.

Plusieurs forces contribuent à la stabilité des entités biologiques contrôlant l'équilibre entre stabilisation et dénaturation. Parmi les forces stabilisatrices, il y a les liaisons hydrophobes qui permettent aux acides aminés (valine, leucine,

isoleucine et tryptophane) de rester enfouis à l'intérieur des protéines, en évitant tout contact avec l'eau grâce aux interactions entre les chaînes latérales de leurs groupes non-polaires. Les interactions ioniques, hydrogène et van de Waals contribuent également au maintien de la stabilité. Ces interactions non-covalentes sont différemment affectées par la température et par la pression qui sont donc des outils extrêmement précieux pour l'étude des équilibres protéiques (formes natives ↔ formes dénaturées), des interactions protéine-ligand et de la solvation. Par contre, la compressibilité des protéines est faible.

En fonction de la température, les vitesses réactionnelles suivent la loi d'Arrhenius :

$$k = A. \exp (- \Delta G_{\text{activé}} / RT)$$

A étant un terme pré-exponentiel,  $\Delta G_{\text{activé}}$  la variation d'énergie libre d'activation et R la constante des gaz parfaits. Une augmentation de température accélère donc une réaction.

Selon la réaction étudiée, la pression induit des variations de vitesse (ralentissement ou accélération) dont le sens dépend du signe du volume d'activation de la réaction  $\Delta V_{\text{activé}}$ .

$$k_p = k_{p0} \exp (- P. \Delta V_{\text{activé}} / RT)$$

P étant la pression d'étude,  $p_0$  la pression de référence, R la constante des gaz parfaits ( $82 \text{ cm}^3 \text{ atm.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$  avec  $1 \text{ atm} = 1013 \times 10^5 \text{ Pa}$ ) et T la température d'étude.

Alors que la pression a des effets importants sur la structure des protéines, son action est beaucoup moins marquée sur d'autres composés comme les acides nucléiques où des liaisons hydrogènes (peu sensibles ou même renforcées par la pression) sont mises en jeu. Par contre, au niveau des lipides et donc des membranes biologiques, la pression induit généralement une diminution de la fluidité (cristallisation), observation d'importance pour l'utilisation de ces systèmes sous pression lors d'applications biotechnologiques.

Les conditions extrêmes T et P sont alors utilisées pour comprendre les variations conformationnelles des protéines. Un des exemples intéressants est celui des protéines prions, modèle pour l'étude de la flexibilité des protéines impliquées dans les maladies neurodégénératives (7).

## II.2 – L'adaptation au froid et la biosynthèse des composés antigels

Certains organismes sont capables de vivre dans des environnements très froids synthétisant des enzymes particulièrement adaptées aux basses températures. C'est le monde des psychrophiles, micro-organismes qui sont caractérisés par une activité catalytique plus élevée à basse température que leurs homologues mésophiles (organismes vivant à température normale). Représentant un enjeu important au plan des applications industrielles, beaucoup d'études sont entreprises pour comprendre leur fonctionnement. Isolés de micro-organismes provenant du continent Antarctique, l'objectif majeur de ces études est de mettre en évidence les facteurs qui contrôlent et permettent l'adaptation au froid tout en gardant une activité catalytique élevée dans ces conditions. Cette observation va à l'encontre de la relation d'Arrhenius où un abaissement de température induit un ralentissement des vitesses.

Il faut distinguer les micro-organismes qui se sont adaptés aux froids (comme les archéobactéries) et les organismes plus évolués qui ont développé des stratégies d'adaptation qui les empêchent de geler aux températures inférieures à zéro degré.

Dès le XVIII<sup>e</sup> siècle, Hearne avait observé que des grenouilles déterrées, gelées, aussi dures que de la glace, (leurs pattes se brisant comme du verre) reviennent à la vie si elles sont lentement réchauffées. Nous savons maintenant que la résistance au gel est apparue au cours de l'évolution dans plusieurs lignées chez des insectes et des larves. Certaines espèces gèlent, comme les grenouilles d'autres, comme les insectes, synthétisent des composés "antigel" protéiques ou chimiques. Dans ces dernières conditions, il y a un phénomène de surfusion, c'est-à-dire le maintien de l'état liquide en dessous du point de congélation du milieu intracellulaire. Les espèces produisent soit des protéines "antigel", soit des composés organiques de faible poids moléculaire du type polyols. Les espèces résistantes au froid sont nombreuses : grâce à une teneur importante en sucres et sels elles évoluent dans les régions polaires où la température de l'eau de mer est sensiblement inférieure à zéro degré. Si des sels et des ions sont présents dans leur sang à des concentrations parfois supérieures à celles d'espèces évoluant dans des eaux moins froides, leur présence n'est responsable que de la moitié des dépressions thermiques observées. Les cinquante autres pourcents manquants sont attribués à la présence de protéines et glycoprotéines de poids moléculaire élevé. Des protéines "antigel" furent identifiées dans les fluides circulants de nombreux poissons polaires (*Notothenoidei Antarctique* et morue Arctique). Ces composés favorisent la diminution de la température à laquelle la glace se forme d'une manière non-colligative. Un effet d'hystérésis est observé entre le point de fusion à l'équilibre de ces fluides circulants et la température à laquelle la glace se forme normalement. Cette propriété permet aux poissons de survivre dans des eaux plus froides que celles de leurs fluides circulants en modifiant ou supprimant la formation de glace intracellulaire qui détériore les parois membranaires. En plus de l'intérêt physiologique, ces propriétés très versatiles sont intéressantes pour de potentielles applications industrielles ou médicales où les basses températures sont nécessaires (pour la conservation, par exemple) alors que la formation de cristaux de glaces est dommageable. Le comportement de ces protéines ou enzymes "froides" serait dû à une flexibilité structurale plus importante que celle de leurs homologues mésophiles.

Les polyols sont d'autres composés "antigel" synthétisés *in vivo* par des animaux qui survivent au gel, comme les insectes accumulant glycérol ou sorbitol pouvant représenter jusqu'à 10% de leur poids corporel. La larve de la guêpe *Bracon cephi* est capable de synthétiser à partir de ses réserves en sucre 25% de son poids en glycérol, assurant une surfusion jusque vers - 45°C. Lors de l'élévation saisonnière de la température, le glycérol sera retransformé en sucre. D'autres composés antigels sont synthétisés, comme le tréhalose (un sucre synthétisé à partir du glycogène). La glycémie de la grenouille atteint presque 100 g/l chez l'animal congelé, soit deux cents fois son taux normal. Les sels (chlorure de sodium) sont également des composés antigels trouvés en très fortes concentrations chez des invertébrés marins.

Ce sont les observations du comportement d'espèces résistant au froid qui ont incités des chercheurs (dont ceux de l'ex Unité 128 de l'INSERM à Montpellier, il y a une quarantaine d'années) à les utiliser pour comprendre certains processus biochimiques (8).

### III – Biotechnologie en conditions extrêmes (9)

Fort des progrès réalisés dans la connaissance de la vie dans les extrêmes, chercheurs et industriels ont voulu exploiter ces conditions, soit pour obtenir des produits nouveaux (ou diversifiés), soit pour améliorer le rendement de certaines réactions. Nous ne ferons qu'évoquer ces applications à travers quelques exemples, car une étude complète dépasserait le cadre de cet article bien que ces approches représentent des enjeux biotechnologiques (et financiers) importants.

Au niveau du laboratoire, l'exemple le plus parlant est celui de la réaction de polymérisation en chaîne (la PCR, *Polymerase Chain Reaction*) qui est l'outil de choix pour les biologistes moléculaires, permettant de résoudre le problème d'amplification d'un segment d'ADN génomique pour l'obtenir en quantité importante à partir de faibles fractions. L'enzyme utilisée est isolée d'organismes thermophiles, stables à 95°C. La technique est maintenant utilisée de manière routinière à des fins diagnostiques pour détecter certains virus (Sida ou hépatite C, par exemple).

L'industrie alimentaire utilise des enzymes issues des thermophiles dans son secteur de transformation (amidon en dérivés sucrés, production d'acides aminés à partir de kératine) ; celle du papier pour son blanchiment par les xylanases.

Les psychrophiles permettent d'obtenir des enzymes "froides" (dont le marché se chiffre à plusieurs centaines de millions d'Euros) pour les lavages à basses températures, dans l'industrie laitière, dans l'agro-alimentaire (jus de fruits), pour les procédés de biodégradation (problèmes écologiques), etc.

La pression est utilisée pour "pascaliser", c'est-à-dire pasteuriser des composés à haute valeur ajoutée, dans l'agro-alimentaire, la pharmacie ou la médecine.

### IV – L'Homme et son adaptation aux conditions extrêmes

#### IV.1 – Comportement de l'homme aux variations de température : l'hypothermie et l'hyperthermie

Comme tous les homéothermes, l'homme accepte une certaine hétérothermie, surtout de surface et d'extrémité (peau, mains, pieds, doigts). L'hypothermie humaine est étudiée dans quelques laboratoires spécialisés pour plusieurs objectifs : environnemental, pour évaluer les limites, médical, pour l'appliquer. Les conséquences directes de l'hypothermie sont des tremblements (contrôlés par l'hypothalamus), des variations de débit sanguin (par vasoconstriction, symptôme dangereux pour les malades cardiaques), des troubles du métabolisme, et une sensation d'inconfort dont les signes cliniques sont en rapport avec le psychisme. Ces manifestations apparaissent lorsque l'abaissement de la température corporelle est de l'ordre de 2 °C par rapport à la température normale de 37 °C. L'abaissement de la température ralentit les vitesses réactionnelles sans détruire l'ensemble des fonctions métaboliques qui continuent à fonctionner plus lentement permettant de pratiquer l'hypothermie en médecine et en chirurgie.

Si l'hypothermie suscite de nombreux travaux sur le comportement de l'homme, il y en a relativement peu sur l'**hyperthermie** en général, mais beaucoup sur l'hyperthermie médicale. Pour l'homme (et les mammifères vertébrés en général)

un stress à la chaleur est plus dangereux qu'un stress au froid. L'hyperthermie est cependant un phénomène courant exploité avec succès dans le traitement de certains cancers.

#### **IV.2 L'acclimatation aux altitudes**

Les alpinistes subissent l'hypoxie hypobarique (raréfaction de l'air due à la baisse de la pression atmosphérique), qui s'aggrave au fur et à mesure de l'ascension et qui affecte leur physiologie générale et leurs performances. Les hommes natifs des altitudes (les Sherpas, par exemple) se sont acclimatés (adaptés) à ces conditions qui leur permettent d'évoluer dans les hauteurs sans troubles majeurs. Le facteur temps est important car les réactions qui favorisent l'acclimatation sont lentes alors que les effets de l'hypoxie sont rapides.

#### **IV.3 – L'acclimatation aux profondeurs sous-marines**

L'hypoxie est également le problème rencontré par les plongeurs auquel s'ajoute celui de la pression. A une profondeur de 100 mètres sous le niveau de la mer règne une pression de 10 atmosphères. Sans assistance respiratoire, un plongeur ne dépasse pas une profondeur de quelques dizaines de mètres, et ce, durant des périodes très courtes. Des gaz respiratoires doivent être utilisés. Cependant, il n'est pas possible de plonger à des profondeurs supérieures à 50 - 70 mètres en n'utilisant que de l'air comprimé. Le problème réside dans le fait que l'azote devient toxique dès que la pression dépasse 5 ou 6 atmosphères. Les plongeurs en mer profonde qui doivent supporter des pressions aussi élevées que 15 - 20 atmosphères (c'est-à-dire plongeant à 200 mètres) respirent à l'aide de mélanges gazeux comprimés hélium-oxygène qui peuvent entraîner des dysfonctionnements au niveau électrophysiologique qui sont bien connus sous le nom de "*High Pressure Nervous Syndrome*" qui se traduisent par des tremblements, une diminution des performances psychométriques (i.e. modification des réflexes), une somnolence. Divers moyens sont utilisés pour atténuer ce syndrome : adaptation des vitesses de compression, ajustement du mélange gazeux respiratoire autour des trois gaz : oxygène, azote, hélium et contrôle de la remontée des plongeurs à la pression de surface pour éviter toute formation de bulles de gaz dans la circulation veineuse, la solubilisation des gaz étant plus importante sous pression qu'à la pression atmosphérique.

#### **IV.4 – L'homme dans l'espace**

Les problèmes économiques et médicaux liés au comportement en microgravité sont de la plus grande importance. Cette vie dans l'espace (et d'une moindre mesure, la vie dans les airs) rassemble pratiquement tous les problèmes de la vie dans les conditions extrêmes : apesanteur, accélération, pression, soit élevée, soit basse pouvant varier rapidement, variations importantes de la température, radiations, époxie. La NASA développe des programmes de médecine spatiale importants. Les objectifs de telles études visent à la compréhension de l'adaptation des astronautes et des cosmonautes à ces conditions extrêmes. Les effets de la microgravité sur la santé relèvent encore du domaine exploratoire : nature des pathologies encourues, effets physio-pathologiques et altérations de la pharmacodynamique des traitements médicaux compensatoires.

## V – Le froid extrême pour conserver l'intégrité des systèmes issus de vivant

### V.1 – Conservation par le froid

Dès 1912, Alexis Carrel eut l'idée d'utiliser le froid pour conserver des fragments osseux destinés à des greffes qu'il pratiqua effectivement avec succès. Ce fut le début de la cryoconservation où l'objectif est de conserver, sans les dénaturer, des tissus ou des organes. La température n'est pas le seul paramètre à contrôler. Il est indispensable de trouver des moyens pour éviter que la congélation du milieu aqueux produise des effets cellulaires irréversibles comme la formation de glace intracellulaire. Un des moyens pour éviter ce stress cellulaire est d'ajouter au milieu des agents chimiques cryoprotecteurs comme le glycérol ou le diméthylsulfoxyde et, parfois même, des sucres. Une des applications les plus importantes est celle de la congélation des embryonnaires.

La lyophilisation est également très pratiquée. C'est un procédé qui met en œuvre la congélation du produit suivie d'une déshydratation par le vide. L'eau intracellulaire est éliminée par sublimation. Les produits ainsi traités se conservent à température ambiante. Cette méthode est largement employée pour la conservation (et le transport facile) d'un grand nombre de micro-organismes qui sont actifs après réhydratation.

La congélation rapide est également à l'étude pour diminuer la taille des cristaux qui se forment lors de la congélation sans cryoprotecteurs.

### V.2 – La vie suspendue ou l'utopie du froid

La cryoconservation fascina bon nombre de biologistes tels Réaumur ou Jean Rostand qui n'hésitèrent pas à parler de résurrection de certaines espèces à sang froid telles le crapaud et la grenouille inanimés au froid et de nouveau actifs après réchauffement. Ce courant de pensée s'est renforcé grâce aux progrès faits depuis sur la compréhension de la survie de certaines espèces animales aux conditions hivernales et des stratégies biochimiques qu'elles développent. Ces acquis ont fait dévier la pensée de plus d'un chercheur. Pourquoi ne pas les transposer et les adapter à l'Homme ? Depuis plusieurs décennies certains scientifiques en rêvent. Pourquoi ne pas perfuser un individu venant de décéder avec une solution "antigel" à base de glycérol, par exemple, et placer le cadavre dans l'azote liquide à 77°K en le conservant jusqu'à ce que la science et la médecine résolvent les problèmes qui ont causé sa mort ? Le terme **cryonie** a ainsi été forgé pour définir une telle démarche. Ces idées furent soutenues par des spécialistes de la cryobiologie comme G.M. Fahy qui s'intéressa particulièrement à la conservation du cerveau. Il définit parfaitement la démarche : *"First, the brain must be preserved well enough to repair, i.e. it must be possible today to preserve with some reasonable fidelity the basic biological components of the brains of humans shortly after these humans have clinically died. Second, repair technology must be available to carry out any repairs required"*. La conservation du cerveau permettrait, en outre, de sauver certains acquis mémorisés... Forts de ces considérations, il y a actuellement plusieurs compagnies qui proposent leur service, telles Alcor Life Extension Foundation à Scottsdale, Arizona, Cryonics Institute à Clinton Township, Michigan ou Collectis avec sa filiale Scéil à Dubaï et Singapour. (Montant minimal pour "cryoniser" un corps : 146 000 euros.)

## VI – La vie terrestre née des conditions extrêmes<sup>(10)</sup>

C'est certainement en étudiant la vie aux conditions extrêmes que l'on comprendra, en dehors de toutes considérations philosophique ou religieuse, l'origine même de la vie. Son émergence sur terre est le produit d'une longue évolution qui a débuté il y a 3 - 4 milliards d'années après la formation de la terre (4,5 milliards d'années). Sur l'échelle du temps (avec pour temps zéro celui du début de notre ère), et selon les traces fossiles trouvées, les bactéries seraient apparues vers 3,5 milliards d'années et les premiers eucaryotes vers 1,5 milliard d'années. Les premières plantes, quant à elles, sont apparues vers 1,5 milliard d'années, les reptiles vers 345 millions d'années, les mammifères vers 225 millions d'années. Il y a donc un changement notable dans l'échelle du temps entre l'apparition des formes très élémentaires de la vie et les systèmes plus organisés. Ceci est d'autant plus vrai pour les primates dont l'apparition se situe il y a 135 millions d'années alors qu'il a fallu encore attendre plus de 100 millions d'années pour que l'homme naisse (il y a 3 millions d'années). Schématiquement, plusieurs étapes sont à prendre en considération résumant ce qu'a pu être l'évolution primitive : formation des molécules organiques à partir de composés chimiques simples (chimie prébiotique), organisation moléculaire, organisation cellulaire, métabolisme, respiration, réplication cellulaire, reproduction.

Le long cheminement de la pensée débuta par Aristote, plus de 300 ans avant notre ère dont la théorie dite de la génération spontanée sera pendant longtemps la seule capable de s'accorder avec l'un des dogmes centraux de la chrétienté, et en particulier de l'Eglise catholique. Ce fut Pasteur qui, en 1860, réalisa l'expérience définitive montrant que les micro-organismes étaient indispensables pour qu'il y ait prolifération alors qu'un milieu stérile empêchait tout développement. Au début du XX<sup>e</sup> siècle, l'hypothèse admise était celle d'une origine terrestre primitive. Ces dernières décennies, elle s'est infléchie, après les travaux de Miller. D'autres idées s'orientent maintenant vers une origine hydrothermale et spatiale car ces deux domaines apparaissent comme pouvant être le siège d'une chimie plus complexe, donc plus riche. Un autre infléchissement date des années 1970 après la mise en évidence de l'existence des fosses sous-marines hydrothermales et des micro-organismes qui y vivent. La découverte des archéobactéries hyperthermophiles au voisinage des sources hydrothermales abyssales a fait naître l'hypothèse d'une émergence de la vie dans ce milieu. Actuellement, une chimie prébiotique en milieu solide est envisagée selon un schéma du type : argile à enzymes à cellules à gènes.

## Conclusions

La connaissance des limites de la vie imposées par les conditions physico-chimiques environnementales extrêmes est une démarche de recherche très actuelle qui met en œuvre presque toutes les disciplines scientifiques. Se posant parfois des questions qui relèvent de la pure fantasmagorie (pourra-t-on ressusciter après congélation ? existe-t-il une vie extraterrestre ?), elle a permis des avancées notables pour la compréhension de la vie dans les conditions normales, tout en favorisant l'émergence d'une biotechnologie novatrice qui trouve ses applications industrielles, pharmacologiques et médicales.

## Remerciements

L'auteur tient à remercier chaleureusement le Dr Patrick Masson, membre de l'Académie nationale de pharmacie avec qui il a échangé, durant de nombreuses années, ces idées sur les limites de la vie dans les extrêmes.

*La conférence était illustrée par un diaporama.*

## BIBLIOGRAPHIE

- (1) Bert, P. *La pression barométrique*, Paris, Masson, 1878, Editions du CNRS, 1979
- (2) Hochachka, P.W. & Somero, G. *Biochemical Adaptation*, Princeton University Press, 1984
- (3) Auteurs multiples, *La Recherche*, 317, février 1999
- (4) Douzou, P. *Le chaud et le froid*, Paris, Fayard, 1984
- (5) Zal, F. "Rifta pachyptila" le ver géant des abysses, *La Recherche*, 317, février 1999, p. 90-95.
- (6) Mozhaev, V.V., Heremans, K., Frank, J., Masson, P. & Balny, C. *High pressure effects on protein structure and function*. *Proteins: Struct. Func. Genetics*, 1996, 24, 81-91.
- (7) Torrent, J., Alvarez-Martinez, M.T., Harricane, M.C., Heitz, F., Liautard, J.P., Balny, C. & Lange, R. *High pressure induces scrapies-like prion misfolding and amyloid formation*. *Biochemistry*, 2004, 43, 7162-70.
- (8) Douzou, P. *Cryobiochemistry, an introduction*, Academic Press, 1977. Balny, C. *et al. Cryobaroenzymologic studies as a tool for investigating activated complexes*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1979, 76, 681-4.
- (9) Balny, C., Hayashi, R., Heremans, K. & Masson, P. (eds) *High pressure and biotechnology*, Montrouge, J. Libbey Eurotext, 1992.
- (10) Maurel, M.C. *Les origines de la vie*, Paris, Syros, 1994. *La naissance de la vie*, Paris, Dunod, 2003