



HAL
open science

Dégradation d'un anticancéreux dans les eaux usées - Une médaille d'or pour l'équipe GO Paris-Saclay

William Briand, Ousmane Dao, Guillaume Garnier, Raphaël Guegan, Britany
Marta, Clémence Maupu, Julie Miesch, Kenn Papadopoulo, Arthur Radoux,
Julie Rojahn, et al.

► To cite this version:

William Briand, Ousmane Dao, Guillaume Garnier, Raphaël Guegan, Britany Marta, et al.. Dégradation d'un anticancéreux dans les eaux usées - Une médaille d'or pour l'équipe GO Paris-Saclay. Médecine/Sciences, 2018, 34 (12), pp.1111–1114. 10.1051/medsci/2018304 . hal-02176491

HAL Id: hal-02176491

<https://hal.science/hal-02176491v1>

Submitted on 25 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License



Compétition iGEM 2018

Une médaille d'or pour l'équipe GO Paris-Saclay

METHO TREXIT



> iGEM (pour *international genetically engineered machine*) est un concours international autour de la biologie synthétique réunissant des étudiants de toutes disciplines (mathématiques, physique, biologie, arts, etc.). « L'objectif est de construire un système biologique fonctionnel complexe, en assemblant des composants individuels moléculaires simples et standardisés (fragments d'ADN), appelés « briques biologiques » (biobriques), sorte de « legos » moléculaires, entreposés au MIT (*Massachusetts Institute of Technology*) (le *registry of standard biological parts* contient environ 20 000 biobriques). C'est une démarche proche de celle de l'ingénieur qui assemble des circuits électroniques ». En 2004, lors de sa création par le

MIT (→), la compétition iGEM regroupait une quarantaine de projets ; 14 ans plus tard, elle accueille 350 équipes (6 000 étudiants, avec leurs instructeurs) issues des universités du monde entier. Elle culmine en un *Giant Jamboree*¹ de quatre jours à Boston en novembre, au cours duquel les équipes présentent leur projet. Le « wiki » de la compétition (www.igem.org) présente l'ensemble des projets ainsi que le palmarès. Cette année, ont été décernées 114 médailles d'or, 68 d'argent et 107 de bronze. Neuf équipes françaises étaient engagées. <

(→) Voir l'article de J. Peccoud et L. Coulombel, dont certains passages sont repris dans ce « chapo », *m/s* n° 5, mai 2007, page 551

NOUVELLE

Dégradation d'un anticancéreux dans les eaux usées

Équipe iGEM GO Paris-Saclay 2018

William Briand¹, Ousmane Dao¹, Guillaume Garnier¹, Raphaël Guegan¹, Britany Marta¹, Clémence Maupu¹, Julie Miesch¹, Kenn Papadopoulos¹, Arthur Radoux¹, Julie Rojahn¹, Yueying Zhu¹

Superviseurs : Céline Aubry^{1,2}, Phillipe Bouloc^{1,2}, Stéphanie Bury-Moné^{1,2}, Arnaud Ferré^{1,3}, Sylvie Lautru^{1,2}, Olivier Namy^{1,2} et Mahnaz Sabeti-Azad^{1,2}

¹Université Paris-Saclay, 91405 Orsay, France ;

²Institute for Integrative Biology of the Cell (I2BC), CEA, CNRS, Université Paris-Sud, Université Paris-Saclay, Gif-sur-Yvette, France ;

³MalAGE (mathématiques et informatique appliquées du génome à l'environnement), Inra, Université Paris-Saclay, 78350 Jouy-en-Josas, France.

stephanie.bury-mone@i2bc.paris-saclay.fr

philippe.bouloc@i2bc.paris-saclay.fr

sylvie.lautru@i2bc.paris-saclay.fr

Cette équipe a obtenu la médaille d'or

Le problème : la pollution de l'eau par les médicaments

D'après l'Organisation de coopération et de développement économiques (OCDE), une augmentation drastique de la consommation de médicaments a été observée depuis le début des années 2000. En effet, la consommation d'antidiabétiques, d'antidépres-

seurs, d'antihypertenseurs et d'hypocholestérolémiants a doublé entre les années 2000 et 2005 [1]. N'étant pas complètement métabolisés par le corps humain, certains médicaments sont rejetés dans les eaux usées. Ainsi, plusieurs molécules ont été trouvées en quantité importante dans les eaux des effluents proches des hôpitaux, mais aussi dans les eaux de surface, la concentration de chaque médicament

pouvant atteindre le microgramme par litre [2]. Si ces quantités ne semblent pas alarmantes, elles représentent néanmoins un réel risque pour l'écosystème, mais également pour l'être humain. D'une part, l'accumulation des antibiotiques dans les eaux contribue à amplifier la résistance bactérienne à ces molécules [3]. D'autre part, ces substances menacent également certaines espèces aquatiques

¹ Mot anglais issu de l'hindi, apparu en 1910, qui désignait initialement un rassemblement de scouts.

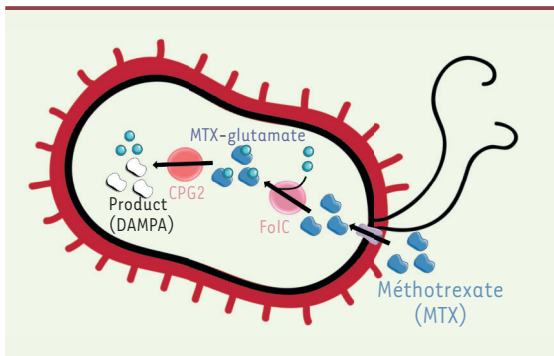


Figure 1. Voie de biotransformation du méthotrexate dans *E. coli*. Les gènes *folc* et *cpg2* ont été introduits dans la souche *E. coli* châssis. *Folc* permet l'ajout d'un glutamate à la molécule de MTX. *Cpg2* convertit le complexe MTX-glutamate en DAMPA et en glutamate, métabolites peu toxiques.

en inhibant leur développement ou leur croissance, et provoquent des changements de comportement chez certaines d'entre elles [4]. Une étude démontre également que, *in vitro*, le développement de cellules embryonnaires humaines dans un milieu contenant une mixture de médicaments présents dans les eaux usées est altéré [5]. Enfin, peu d'études s'intéressent aux expositions chroniques et à l'effet synergique (bien qu'il soit établi) des médicaments dans les écosystèmes proches des effluents des hôpitaux, deux paramètres qui pourraient pourtant être une cause majeure de toxicité [6].

Notre projet avait pour objectif de travailler sur la dégradation d'un médicament utilisé en chimiothérapie antitumorale, le méthotrexate (MTX). La concentration de cet anticancéreux, mesurée dans certains effluents d'hôpitaux, peut atteindre 4 689 ng/μl [7]. Ceci peut s'expliquer par le fait que 60 à 90 % du MTX ingéré est excrété dans les urines sous forme active. De plus, il est rapidement métabolisé en 7-OH-MTX, un composé hautement toxique, qui n'a, quant à lui, jamais été recherché dans les eaux usées. À ce jour, peu d'études ont été réalisées concernant les effets du MTX dans l'environnement. Néanmoins, l'apport de petites doses de MTX dans l'habitat de poissons zèbres altérerait leur développement (nécrose de la tête et problème cardiaque congénital), pouvant aller jusqu'à l'arrêt de ce dernier [8, 9].

[10]. Nous proposons dans ce projet une solution adaptée à ce problème : celle-ci est principalement fondée sur l'expression, par une souche d'*Escherichia coli*, d'une carboxypeptidase hétérologue, actuellement utilisée sous forme purifiée pour lutter contre les effets d'une intoxication au MTX chez les patients traités par ce médicament [11]. Nous avons conçu notre système synthétique de telle façon qu'il soit susceptible d'être modifié et complété par l'ajout d'autres voies de dégradation d'un large panel de molécules produites par l'industrie pharmaceutique.

La solution : « Methotrexit », une usine bactérienne de nettoyage « HeteroGenious »

Nous proposons un bioréacteur confiné contenant une population de bactéries *E. coli* modifiées capables de dégrader les anticancéreux des eaux usées. Nous avons synthétisé et exprimé dans *E. coli* les gènes codant pour deux enzymes, la folylpolyglutamate synthase (FolC) et la carboxypeptidase G2 (Cpg2) ; la première ajoute une queue polyglutamate au MTX et la seconde coupe les liaisons amides de la molécule. L'ajout d'une queue polyglutamate au MTX est susceptible d'augmenter sa dégradation par des cellules exprimant Cpg2 [12, 13]. Cpg2 est, quant à elle, l'enzyme clé de notre système dans la mesure où elle permet la biotransformation du MTX en produits peu toxiques, le glutamate et le DAMPA (2,4-diamino-N10-méthylpteroïque acide-d3) (Figure 1). Nos expériences ont montré que le MTX était dégradé de manière efficace après

seulement cinq heures de culture en présence de bactéries exprimant Cpg2. Toutefois, l'expression de voies de biotransformation de composés toxiques peut altérer la croissance bactérienne, ce que nous avons observé dans le cas des bactéries exprimant à la fois FolC et Cpg2. Pour résoudre cet obstacle, nous avons développé un système permettant l'apparition de deux sous-populations bactériennes dont une n'exprime pas la voie de dégradation et donc échappe à sa toxicité (Figure 2A). Notre stratégie se fonde sur un système présent dans la souche de *E. coli*, EPEC [14]. Elle repose sur l'expression des protéines Ler (*LEE-encoded regulator*) et H-NS, respectivement un activateur et un inhibiteur de l'activité du promoteur *lee5*. *Lee5* étant un activateur de la transcription, les gènes sous son contrôle (dans notre cas, FolC-Cpg2) seront activés ou réprimés, selon son niveau d'activité. H-NS est exprimé de façon constitutive. Ainsi, le contrôle du niveau d'expression de la protéine Ler nous permet de déterminer la proportion des deux sous-populations (Figure 2B). La preuve de concept de cette stratégie a été testée avec le gène codant une GFP (*green fluorescent protein*), protéine fluorescente verte. Nous avons modélisé ce système : la division du travail entre les bactéries qui dégradent un toxique et celles qui assurent le renouvellement de la population peut permettre un maintien à long terme de populations bactériennes dépolluantes dans les cas de voies de dégradation très coûteuses pour le *fitness* des bactéries.

Conclusion

Nous avons construit des souches bactériennes capables de dégrader efficacement le MTX, ainsi qu'un système synthétique permettant de

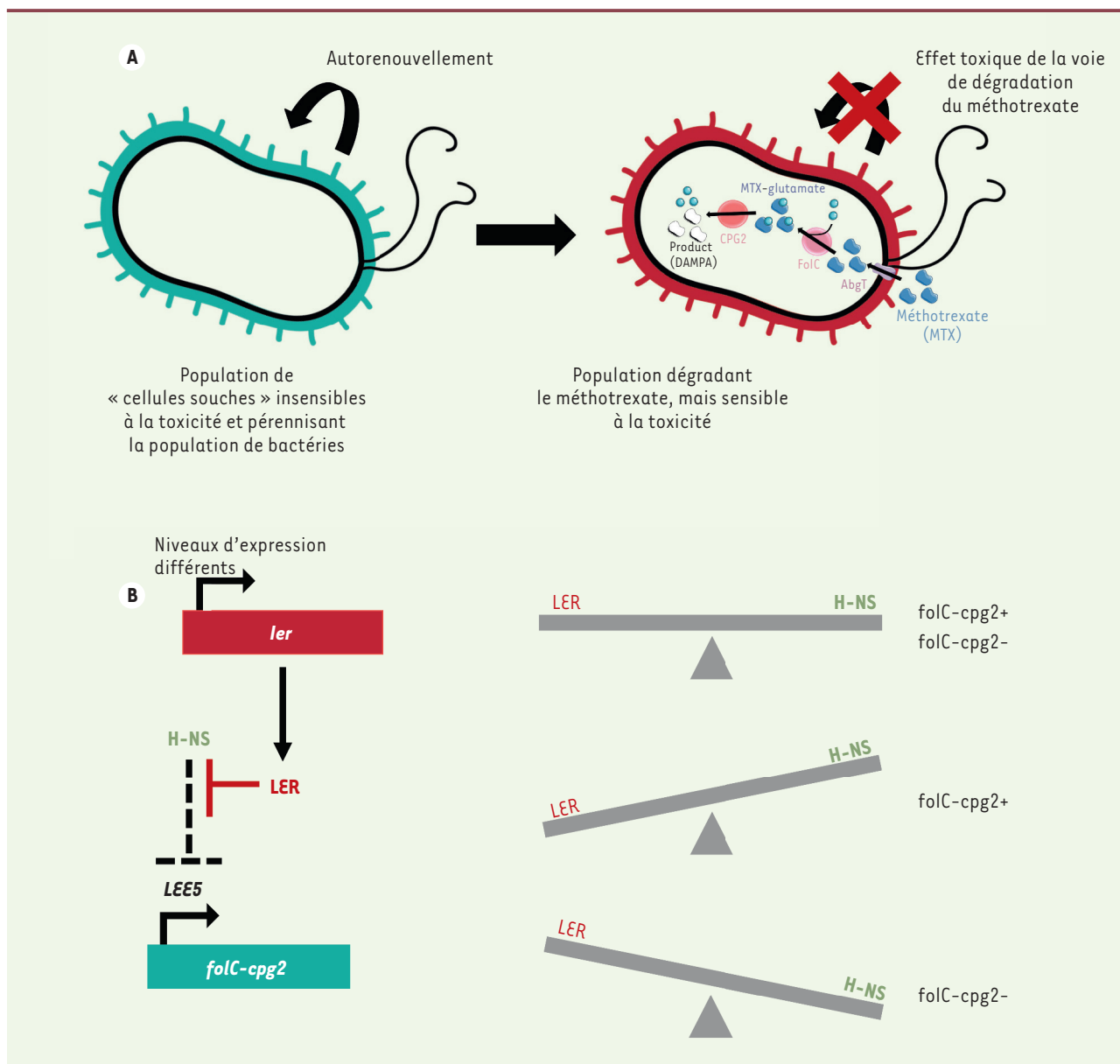


Figure 2. Principe du système « HeteroGenious ». **A.** Lors de nos expériences, nous avons remarqué que la coexpression de *folC* et *cpg2* était toxique pour nos bactéries. Pour éviter ce problème, nous avons conçu un système bimodal permettant la genèse de deux sous-populations : l'une exprime la voie de dégradation *FolC-Cpg2*, l'autre ne l'exprime pas et reste donc insensible à sa toxicité, permettant de pérenniser le réservoir de bactéries. Cette sous-population peut se diviser et engendrer à la fois des bactéries qui expriment, et d'autres qui n'expriment pas la voie de biotransformation du méthotrexate. La seconde sous-population exprime *folC* et *cpg2* permettant la dégradation du méthotrexate. **B.** La construction de notre système dit *HeteroGenious* est inspirée de l'article de H. Leh et al. [14]. La compétition entre deux facteurs de transcription régulant l'activité du promoteur *Lee5*, répression pour *H-NS* et activation pour *Ler*, peut générer une hétérogénéité dans la population de bactéries. Les proportions respectives de ces deux sous-populations peuvent être définies en modifiant le niveau d'expression de *Ler*.

générer une division du travail dans les populations bactériennes. Ce projet ouvre de nouvelles perspectives dans le cadre de la lutte contre les polluants issus des hôpitaux. Par ailleurs, il offre aussi une autre

perspective : en effet, les souches ainsi générées pourraient peut-être constituer des probiotiques d'intérêt thérapeutique pour des patients sous chimiothérapie souffrant d'une intoxication au MTX. ♦

Méthotrexit, a HeteroGenious cleaning factory

LIENS D'INTÉRÊT

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

POUR PLUS D'INFORMATIONS SUR L'IGEM

- Peccoud J, Coulombel L. Une compétition de biologie synthétique, ou comment créer l'« Eau d'E. coli » et des nano-barbies. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 551-2.
- Bikard D, Képès K, au nom de l'équipe iGEM Paris. Succès de la première équipe française lors de la compétition iGEM de biologie synthétique. *Med Sci (Paris)* 2008 ; 24 : 541-4.
- Häfner S. Les iGEM 2009 : la biologie synth-éthique. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 986-92.
- Häfner S. Compétition iGEM 2008 : deux équipes françaises ! *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 524-8.
- Cerisy T. Biologie de synthèse et société : le point de vue d'étudiants participant à la compétition iGEM : vision d'un scientifique. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 (hors série n° 2) : 28-30.
- Marquet C. Biologie de synthèse et société : le point de vue d'étudiants participant à la compétition iGEM : vision d'un philosophe. *Med Sci (Paris)* 2013 ; 29 (hors série n° 2) : 31-2.

RÉFÉRENCES

1. OCDE. *Consommation de produits pharmaceutiques. Panorama de la santé 2017*. Paris : OCDE, 2017.

2. Deblonde T, Cossu-Leguilleb C, Hartemanna P. Emerging pollutants in wastewater: a review of the literature. *Int J Hyg Environ Health* 2011 ; 214 : 442-8.
3. Millar JA, Raghavan R. Accumulation and expression of multiple antibiotic resistance genes in *Arcobacter cryaerophilus* that thrives in sewage. *Peer J* 2017 ; 5 : e3269.
4. Patneedi BC, Prasadu KD. Impact of pharmaceutical wastes on human life and environment. *Rasayan J Chem* 2015 ; 8 : 67-70.
5. Pomati F, Castiglioni S, Zuccato E, et al. Effects of a complex mixture of therapeutic drugs at environmental levels on human embryonic cells. *Environ Sci Technol* 2006 ; 40 : 2442-7.
6. Hernando MD, Petrovic M, Fernández-Alba AR, Barcelo D. Analysis by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry and acute toxicity evaluation for beta-blockers and lipid-regulating agents in wastewater samples. *J Chromatogr A* 2004 ; 1046 : 133-40.
7. Yinn J, Shao B, Zhang J, Li K. A preliminary study on the occurrence of cytostatic drugs in hospital effluents in Beijing, China. *Bull Environ Contam Toxicol* 2010 ; 84 : 39-45.
8. Lee MS, Bonner JR, Bernard DJ, et al. Disruption of the folate pathway in zebrafish causes developmental defects. *BMC Dev Biol* 2012 ; 12 : 12.
9. Galusa M, Jeyaranjana J, Smith E, et al. Chronic effects of exposure to a pharmaceutical mixture and municipal wastewater in zebrafish. *Aquatic Toxicol* 2013 ; 132 : 212-22.
10. Lutterbeck CA, Kern DI, Machado ÊL, et al. Evaluation of the toxic effects of four anti-cancer drugs in plant bioassays and its potency for screening in the context of waste water reuse for irrigation. *Chemosphere* 2015 ; 135 : 403-10.
11. Buchen S, Ngampolo D, Melton R, et al. Carboxypeptidase G2 rescue in patients with methotrexate intoxication and renal failure. *Br J Cancer* 2005 ; 92 : 480-7.
12. Chabner BA, Allegra CJ, Curt GA, et al. Polyglutamation of methotrexate. Is methotrexate a prodrug? *J Clin Invest* 1985 ; 76 : 907-12.
13. Kwon YK, Lu W, Melamud E, et al. A domino effect in antifolate drug action in *Escherichia coli*. *Nat Chem Biol* 2008 ; 4 : 602-8.
14. Leh H, Khodr A, Bouger MC, et al. Bacterial-chromatin structural proteins regulate the bimodal expression of the locus of enterocyte effacement (LEE) pathogenicity island in enteropathogenic *Escherichia coli*. *MBio* 2017 ; 8 : pii: e00773-17.

De la jaunisse à l'hépatite C

5 000 ans d'histoire



2^e édition mise à jour
Jean-Louis Payen



ISBN : 978-2-8425-4136-1 128 pages

La jaunisse est un symptôme facilement identifiable ; il paraissait bien naturel que l'homme, confronté à une modification de la couleur de ses yeux et de sa peau ait de tous temps recherché les causes de cette transformation.

Il n'est donc pas surprenant que le premier traité de médecine, écrit 3 000 ans avant J.C. par un médecin sumérien, décrive déjà la jaunisse. À chaque époque de l'histoire de la médecine, les praticiens, influencés par les concepts médicaux de leur temps, attribuèrent une ou plusieurs explications particulières à ce symptôme. Ainsi, du démon *Ahhâzu* des Sumériens à la sophistication des biotechnologies qui permirent la découverte du virus de l'hépatite C, le lecteur cheminera sur une période de 5 000 ans au travers des différents continents.

Ici encore, l'histoire se révèle une formidable source de réflexion : le foie souvent impliqué dans l'apparition des jaunisses est-il le siège de l'âme ?

Les expérimentations humaines chez des volontaires ou chez des enfants handicapés mentaux étaient-elles justifiées pour permettre la découverte des virus des hépatites ?

Le formidable développement de la transfusion sanguine, des vaccinations, mais aussi de la toxicomanie explique-t-il les épidémies d'hépatites du xx^e siècle ?

Autant de questions qui sont abordées dans ce livre passionnant et accessible à tous.

À retourner à EDP Sciences, 17 avenue du Hoggar, 91944 Les Ulis Cedex

Tél. : 01 49 85 60 69 - Fax : 01 49 85 03 45 - E-mail : francois.flori@edpsciences.org

NOM : Prénom :

Adresse :

Code postal : Ville :

Pays :

Fonction :

Je souhaite recevoir l'ouvrage **De la jaunisse à l'hépatite C, 5 000 ans d'histoire** : 12 € + 3 € de port = **15 € TTC**

en exemplaire, soit un total de €

Par chèque, à l'ordre de **EDP Sciences**

Par carte bancaire : Visa Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | |

BON DE COMMANDE